

微生物在酸性矿井水形成过程中的作用

王立艳, 王璐, 张云剑, 张欣

(中国矿业大学(北京) 化学与环境工程学院, 北京 100083)

摘要:研究了山西某煤矿煤炭开采过程中不同阶段矿井水中微生物的种类、数量及其对矿井水酸化的作用。结果表明:煤层里的硫分和巷道中的氧气在煤层中的扩散是酸性矿井水产生的必备条件,同时,在矿井水不断酸化的过程中,微生物起到了至关重要的作用。前期起主要作用的是细菌如氧化亚铁硫杆菌、氧化硫硫杆菌及其它一些好氧硫杆菌等,后期某些具有氧化作用的霉菌如产黄青霉也起到了一定的作用,并由此推导出更为合理完善的酸性矿井水形成过程系列反应式。

关键词:酸性矿井水;微生物;酸化

中图分类号:X752

文献标识码:A

文章编号:1006-6772(2010)03-0104-04

煤炭是中国的主要能源,煤炭中一般都含有约0.3%~5%的硫,主要以黄铁矿(FeS_2)形式存在,约占煤含硫量的2/3,在采煤过程中这些硫成分因受到一系列的氧化作用而产生了酸性矿井水^[1]。酸性矿井水(AMD)一般指pH小于6的矿井排水,其形成是在煤层或硫铁矿等矿床开采过程中,原来处于强还原环境的黄铁矿(FeS_2)与矿井水及空气中的氧接触,经过一系列的氧化、水解等反应,生成硫酸(H_2SO_4)而使水呈酸性^[2-3]。酸性矿井水的形成对地下水造成了严重的污染,同时还会腐蚀管道、水泵、钢轨等井下设备和混凝土井壁^[4],也严重污染地表水和土壤,影响人畜饮用水资源^[5-6]。因此,煤矿开采企业更为关注的是如何从根本上消除或大幅度降低酸性矿井水的产生,而不是酸性矿井水形成后的处理措施^[7-8]。

笔者从生物学角度对采煤过程产生的矿井水进行实验和分析,研究矿井水酸化过程中各个阶段微生物的种类和数量,以期从根本上解决酸性矿井水的危害及污染问题。

1 实验材料与方法

1.1 实验水样

实验水样选自临汾市某开采煤矿,根据采矿过

程中矿井水产生的不同阶段,选取了酸性矿井水从煤层中渗出直至排出井外整个过程中具有代表性的4个不同位置,其中A水样为煤层顶板来水,B水样为巷道水仓储水,C水样取自开采区水泵采样点,D水样取自矿井外中央水泵房采样点。

1.2 微生物培养基

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏,5.0 g/L;蛋白胨,10.0 g/L;NaCl,5.0 g/L;琼脂,20 g/L;蒸馏水,1000 mL;pH,7.0~7.2。

高氏1号培养基:可溶性淀粉,20.0 g/L;KNO₃,1.0 g/L;NaCl,0.5 g/L;K₂HPO₄,0.5 g/L;MgSO₄·7H₂O,0.5 g/L;FeSO₄,0.01 g/L;琼脂,20 g/L;蒸馏水,1000 mL;pH,7.2~7.4。

马丁氏培养基:葡萄糖,10.0 g/L;蛋白胨,5.0 g/L;KH₂PO₄,1.0 g/L;MgSO₄·7H₂O,0.5 g/L;1/3000 孟加拉红,100 mL;琼脂,20 g/L;蒸馏水,800 mL;pH 自然。

完全培养基:(NH₄)₂SO₄,0.2 g/L;KH₂PO₄,3.0 g/L;MgSO₄·7H₂O,0.5 g/L;CaCl₂,0.2 g/L;硫粉,10 g;蒸馏水,1000 mL。

模拟培养液:(NH₄)₂SO₄,0.15 g/L;KCl,0.05 g/L;

收稿日期:2010-03-01

基金项目:2008年中国矿业大学(北京)大学生创新性实验计划项目(08212);中央高校基本科研业务费资助

作者简介:王立艳(1976—),女,内蒙古赤峰人,讲师,博士研究生,主要研究方向为煤炭生产环境与生物技术。

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g/L; K_2HPO_4 , 0.05 g/L; $Ca(NO_3)_2$, 0.01 g/L; FeS_2 , 25 g/L; 蒸馏水, 1000 mL。

1.3 实验方法

矿井水预处理:用于测定 COD 的水样在采样现场用 HNO_3 酸化至 pH 小于 2。用于水质离子含量分析的水样用 0.45 μm 聚酯纤维滤膜过滤水样后转移至经过处理的聚乙烯瓶(用 3% 的 HNO_3 浸泡 24 h)中,置于 2~5 $^{\circ}C$ 冰箱中冷藏。

微生物培养:分别取 2 mL 水样接种于新鲜的液体培养基中进行富集培养,然后各取 0.5 mL 菌悬液涂布于相应的固体培养基进行培养,细菌类培养温度为 37 $^{\circ}C$, 2~3 d;放线菌类培养温度为 28 $^{\circ}C$, 1~2周;酵母及真菌类培养温度为 30 $^{\circ}C$, 培养时间 1~2周。

水质测定:水样的 pH 用酸度计测定,水样 COD 值用重铬酸钾法测定,总 Fe 离子含量(包括 Fe^{3+} 和 Fe^{2+})、 Mn^{2+} 浓度、 SO_4^{2-} 浓度和 Cl^- 浓度分别用邻菲罗啉分光光度法、甲醛脲分光光度法、EDTA 滴定法和硝酸银滴定法进行测定。

微生物鉴定:参照《伯杰细菌鉴定手册》(第 8 版)与《真菌鉴定手册》。

2 实验结果与讨论

2.1 矿井水水质分析

在采样后,现场测定各水样的 pH 值。样品运送到实验室后,测定各水样的 pH 值、COD 值、总铁离子浓度及 Mn^{2+} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 含量,测定结果见表 1。

表 1 各采样点矿井水水质指标

测定项目	A	B	C	D
pH	3.81	6.15	6.50	4.08
COD/($mg \cdot L^{-1}$)	90.94	89.6	78.85	58.69
总铁离子浓度/($mg \cdot L^{-1}$)	852.08	26.72	0.39	64.13
Mn^{2+} 浓度/($mg \cdot L^{-1}$)	13.74	4.44	1.56	2.21
SO_4^{2-} 浓度/($mg \cdot L^{-1}$)	3015.29	120.53	10.96	232.78
Cl^- 浓度/($mg \cdot L^{-1}$)	23.52	68.88	74.44	157.12

沿井内矿井水的水流流程,水样中的总铁离子含量与 Mn^{2+} 含量变化如图 1 所示。由表 1 和图 1 分析可得,两者的变化趋势一致,矿井水顶板来水沿流程,A、B、C 水样的总铁和总锰离子含量急剧降低,这可能是由于矿井水一方面被用于冲洗巷道的积水所稀释,另一方面则是由于矿井水在流程中因微生物的作用和物理化学反应导致铁、锰离子被水

解沉淀等。D 水样是矿井中央泵房的水,各采区的矿井水混合后水样中总铁含量升高。从两者的比较来看,锰含量变化没有总铁含量变化明显。

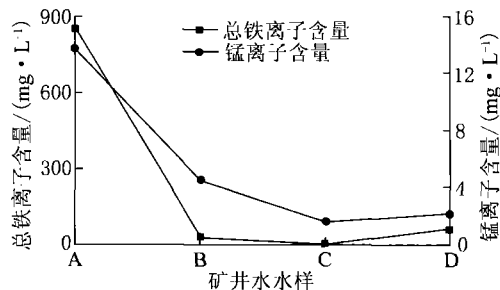


图 1 总铁离子与锰离子浓度变化趋势

就目前的研究现状来看还没有找到可以直接使水体中锰离子含量降低的微生物。如果是由于稀释作用导致总铁含量和锰含量的降低,则降低的变化程度应该是一致的。因此可以排除由于巷道内积水将顶板来水的总铁含量稀释导致其急剧降低的可能。铁离子在沿着排水路径流动过程中发生了水解反应,产生沉淀,或者是微生物在流程中对矿井水中的铁离子起到了固定或转化作用。同时,测定结果显示 A、B、C 水样中 SO_4^{2-} 含量较高,反映了该矿井水水样中的致酸物质主要是硫酸,硫酸主要是矿区煤层中所含硫分在微生物及本身的物理化学反应的共同作用下被氧化而产生的。

2.2 矿井水中微生物的种类与数量

经培养分离和统计分析:从水样中共分离到 500 多个微生物菌株,观察其菌落培养特征及显微特征,统计结果见表 2,由表 2 可以看出水样中细菌的种类含量较多,可初步推测在酸性矿井水中细菌占大多数,导致矿井水变酸的微生物大多为细菌类。

表 2 矿井水水样中各类微生物相对数量

水样	总和	细菌	放线菌	真菌
A	65	45	0	20
B	47	10	35	2
C	356	253	54	49
D	70	55	0	15

2.3 微生物对矿井水 pH 的影响

在研究分离到的各种微生物在矿井水的酸化过程中所起作用时,因为用于分离微生物的样品已经是暴露于空气中被氧化或还原过的,所以只以水样作为进一步研究的目标接种各种菌株已不能完

全正确地反映矿井水的真正变化过程。根据所报道的研究成果^[9],用模拟的试验培养液作为同步对照,分别试验2种环境中各种微生物对水质的影响。

从分离的微生物菌株中选择数量占优的20株,分别接种至酸度不高的矿井水(C水样)和模拟试验培养液中,培养3~7d后分别测定其pH的变化,结果如图2所示。

由图2可知:在细菌中,编号为B2-1、B10-4和B9-3的3种菌对水样的酸化过程有着较为明显的影响,放线菌中目前尚未得出有显著效果的致酸菌株,真菌中的E17-3对水样的酸化有较大影响。事实已证明,硫铁矿氧化产酸的速率会由于某些嗜酸性细菌的作用而大大加速^[9-10],如氧化硫硫杆菌属、氧化亚铁硫杆菌属,该菌在矿井水的酸化中对硫铁矿起着间接的氧化作用,它催化亚铁离子形成三价铁。该菌属也能在有氧时直接催化硫铁矿的氧化。所以将这几株分别进行初步的鉴定研究。

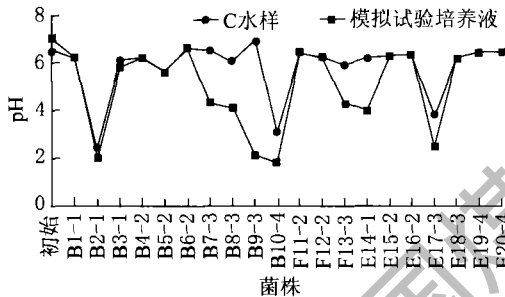


图2 微生物对矿井水C水样和模拟试验培养液的pH的作用

2.4 有致酸作用微生物的初步鉴定

分别对B2-1、B10-4、B9-3和E17-3等4个菌株进行初步鉴定,对其形态特征(电镜观察、各种染色后及菌株的直接显微镜观察)、培养特征以及生理生化特征等方面进行鉴定。结果如下:3株细菌的革兰氏染色鉴定均为阴性,根据其培养特征和生理生化反应特征等判断,菌株B2-1很可能是能够代谢硫磺的细菌即硫杆菌,菌株B9-3属于假单胞菌,菌株B10-4属于氧化亚铁硫杆菌。菌株E17-3为真菌,经鉴定其大体上与产黄青霉特征接近。

2.5 矿井水酸化过程机理探索

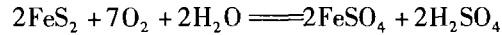
矿井水的酸化是一个相当复杂漫长的过程。由以上研究结果深入分析酸性矿井水的产生原因及相关的生物化学作用。煤层中存在的硫分是形成酸性水的物质基础,在煤层的裂痕或接缝处,有些黄铁矿残留在采空区,处于氧化环境,与矿井水

和空气接触后,经过一系列的氧化、水解等反应,生成硫酸和氢氧化铁,使水呈酸性,即生产了酸性矿井水,系列反应如下:

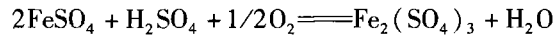
(1) 硫铁矿:在干燥的环境条件下,发生氧化反应:



(2) 在潮湿的环境条件下:硫铁矿发生非生物学的化学反应:



(3) 在有硫酸的情况下,由微生物的催化作用将 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} ,此时起作用的微生物是氧化亚铁硫杆菌,这是一个间接的作用,不直接产生硫酸,但为下一步硫酸的生成提供了条件:

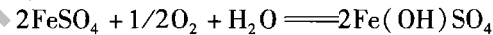


(4) 3价的硫酸铁盐可以继续被水解、羟化,形成所谓的“红水”:

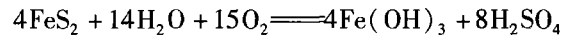


甚至继续水解、羟化,最终形成 $\text{Fe}(\text{OH})_3$,即硫酸铁在弱酸性水中发生水解而最终产生红色的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 和游离的 H_2SO_4 。矿井区“红水”的主要成份是 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 $\text{Fe}(\text{OH})\text{SO}_4$ 和 $\text{Fe}(\text{OH})_3$,反应式为: $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 6\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2\text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}_2\text{SO}_4$

(5) 即使不用硫酸的催化,硫酸亚铁盐也能被空气中的 O_2 氧化成碱性的三价硫酸铁盐:

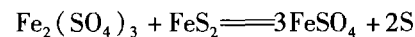


总结(3)(4)(5),硫铁矿在有氧、潮湿的环境中,可以被氧化成 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 $\text{Fe}(\text{OH})\text{SO}_4$ 和 H_2SO_4 ,直至最终形成 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 和 H_2SO_4 ,总反应式为:

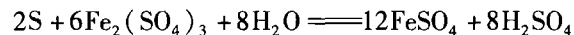


此反应由氧化亚铁硫杆菌或好氧硫杆菌催化。

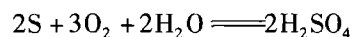
(6) 随着三价硫酸铁盐的快速形成,其反过来与原来的硫铁矿(FeS_2)发生细微反应,结果3价硫酸铁盐被还原,同时硫铁矿被氧化:



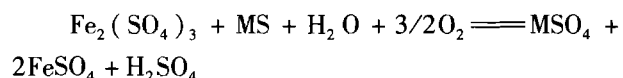
接着进一步反应,生成的S与三价硫酸铁盐进一步反应,生成 H_2SO_4 :



(7) 被释放出来的天然硫很可能是在一种细菌——氧化硫硫杆菌的作用下被氧化成 H_2SO_4 :



(8) 矿井水中的硫酸铁具有进一步溶解各种硫化矿物(MS)的作用,同时产生硫酸盐和硫酸:



(9)在矿井的深部,硫化氢含量高时,在还原条件下富含硫酸亚铁的矿井水也可产生游离硫酸:



由以上的化学反应式可以看出,煤层里的硫分是最终的硫酸产生的直接原料。从另一方面来看,巷道中氧在煤层中的扩散也是酸性矿井水产生的不可缺少的条件。各种有机与无机的硫分都是在与氧气接触后,发生各种化学反应或通过微生物的作用而被氧化,进而被水解形成酸。酸的产生与氧化过程是分不开的,这个氧化过程中的氧化剂就是氧气。在井下潮湿的环境中,硫化物氧化的速度与所在煤层的氧的浓度呈现明显的正相关性。因此,酸性矿井水的形成是物理、化学和生物综合作用的结果。

3 结 论

(1)酸性矿井水中的主要致酸物质是硫酸,主要是由于煤层中所含硫分在微生物的作用及本身的反应过程中所积累的。

(2)通过对水样中的微生物进行分离培养,共获得 500 多株微生物,其中细菌占大多数。

(3)通过模拟酸性矿井水实验,编号为 B2-1、B10-4 和 B9-3 的细菌和 E17-3 真菌对矿井水的酸化有较大的影响,经鉴定,其中以氧化亚铁硫杆菌、氧化硫硫杆菌等一些好氧硫杆菌为主,在矿井水形成的后期,致酸性霉菌也起到了一定的作用。

(4)根据微生物的作用及模拟矿井水,推导出了酸性矿井水形成的完整过程反应式。

通过试验结果可知,微生物在矿井水变酸过程中起到了至关重要的作用,从其生物学根源出发,

可以抑制或减弱酸性矿井水的形成,这为从源头上防治酸性矿井水提供了一种可能,从而改善煤炭开采的井下环境,保护井下设备,促进安全生产,同时也减轻后期环境治理的压力。

参考文献:

- [1] 孙红福,赵峰华,李文生,等. 煤矿酸性矿井水及其沉积物的地球化学性质[J]. 中国矿业大学学报,2007,36(2):221-226.
- [2] 胡文容. 煤矿矿井水及废水处理技术[M]. 北京:煤炭工业出版社,1998.
- [3] 尹国勋,王宇,许华,等. 煤矿酸性矿井水的形成及主要处理技术[J]. 环境科学与管理,2008,33(9):100-102.
- [4] Katrina J. Edwards, Thomas M. Gihring, Jillian F. Banfield. Seasonal Variations in Microbial Populations and Environmental Conditions in an Extreme Acid Mine Drainage Environment [J]. Appl Environ Microbiol, 1999,65(8):3627-3632.
- [5] 赵峰华,孙红福,李文生. 煤矿酸性矿井水中有害元素的迁移特性[J]. 煤炭学报,2007,32(3):261-266.
- [6] 刘勇,孙亚军,王猛. 矿井水水质特征及排放污染[J]. 洁净煤技术,2007,13(3):83-86.
- [7] Singer, P.C, W. Stumm. Acidic Mine Drainage: The Rate Determining Step[J]. Science, 1970,167:1121-1123.
- [8] 郑顺朝. 酸性矿井水的成因及治理[J]. 山西建筑,2009,35(23):190-191.
- [9] 沈士德. 酸性矿井水的形成与组成[J]. 江苏环境科技,1999(1):7-8.
- [10] 郑仲,蔡昌凤. 煤矿酸性矿井水形成机理的研究进展[J]. 资源环境与工程,2007,21(3):323-327.

The role of microorganism during acidic mine drainage

WANG Li-yan, WANG Lu, ZHANG Yun-jian, ZHANG Xin

(College of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology, Beijing, 100083)

Abstract: The varieties, quantities and action of microorganism from acidic mine drainage (AMD) were investigated at different stages of mining. The results show that sulfur and oxygen are necessary conditions and the microorganisms also play an important part in the process of AMD. Bacteria is primary in early stage, such as Thiobacillus ferrooxidans, Thiobacillus ferrooxidans and some other aerobic sulfur bacteria, and at the later stage some mildew strains with biological oxidation have an effect on the formation of AMD, such as Thiobacillus ferrooxidans. A series of integrate equations are deduced for the formation of AMD in the study.

Key words: acidic mine drainage (AMD); microbe; acidification