

海洋硫酸盐还原菌群处理烟气脱硫废水

潘嘉川^{1,2}, 曹宏斌^{1*}, 邵宗泽^{3*}, 盛宇星^{1,2}, 张懿¹

(1. 中国科学院过程工程研究所绿色过程与工程院重点实验室, 北京 100190; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 国家海洋局第三海洋研究所海洋生物遗传资源重点实验室, 厦门 361005)

摘要: 针对高盐硫酸根废水的特性, 从海底沉积物中富集得到1个硫酸盐还原菌菌群SRB-2, 并研究了盐度、温度、pH值、碳源、硫酸根浓度和铁形态对其活性的影响。结果表明, SRB-2为嗜盐中温硫酸盐还原菌群, 可以利用乙醇及乳酸为单一碳源, 最佳生长温度为30~40℃, 最佳生长pH值为7.4~8.3, SRB-2菌群能够在硫酸根浓度为5200 mg/L或盐度为60 g/L的条件下正常生长, 还原铁粉对该菌群还原硫酸根的能力具有加强作用, 而二价铁离子则抑制细菌活性。扫描电子显微镜及光学显微镜对菌体形态研究发现, 在反应器填料表面, 该菌群中有大量短杆状及螺旋状细菌黏附, 而在底部, 主要为表面覆盖大量黑色粘稠物质, 由短杆状细菌组成, 推测其可能是菌种SRB-2-64(GenBank序列号: EU167911)的堆积。

关键词: 烟气脱硫; 硫酸盐还原菌; 嗜盐; 最佳生长条件

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)02-0504-06

Marine SRB Community Reducing Sulfate Wastewater in Flue Gas Desulfurization

PAN Jia-chuan^{1,2}, CAO Hong-Bin¹, SHAO Zong-ze³, SHENG Yu-xing^{1,2}, ZHANG Yi¹

(1. Key Laboratory of Green Process and Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, The Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China)

Abstract: An SRB community (SRB-2) was enriched from marine sediment for the treatment of sulfate-rich wastewater of high salinity, and the effect of salinity, temperature, pH value, carbon source, concentration of sulfate and the form of Fe on the activity of SRB-2 was studied. The results show that SRB-2 is a halophilous and moderately mesophilous SRB community. The optimal conditions for its growth are as follows: temperature of 30~40℃ and pH value of 7.4~8.3; it can endure 5200 mg/L SO_4^{2-} and 60g/L NaCl. Zero-valent Fe can promote the reductive activity of SRB-2, while Fe^{2+} inhibits that. SEM and optical microscopic measurements indicate many rod-shaped and spiral bacteria on the surface of padding in reactor and black sticky substance composed of rod-shaped bacteria on the bottom of reactor. This sticky substance might be cumulus of culture SRB-2-64 (GenBank accession number: EU167911).

Key words: biological flue gas desulfurization; sulfate reducing bacteria; halophilism; optimal growing conditions

以火电为代表的燃煤设备所排放的烟气中, SO_2 已成为典型污染物, 是造成酸雨的重要原因^[1]。生物法是一种新型脱硫技术^[2], 不仅能够消除硫氧化物的环境污染, 而且还可以生产我国紧缺的硫磺资源^[3], 因此越来越受到人们的关注。利用SRB生物还原硫酸根或亚硫酸根为负二价硫是决定脱硫效率和脱硫成本的关键, 目前国内外对其研究主要集中在以下几方面: 耐盐^[4]及高温^[5,6]等SRB菌种的筛选及菌群的构建^[7,8]以及工程运行时COD/ SO_4^{2-} ^[9]、废水温度^[10]、溶液pH值^[11]、溶液盐度^[12]、溶液杂离子种类与浓度^[13]、可利用碳源^[14]、与产酸细菌的关系^[15]等因素对硫酸盐还原效率的影响。

自然界中SRB菌种类很多, 但是大部分细菌只能在低盐浓度下生长, 而在烟气生物脱硫过程中, 含硫酸根/亚硫酸根的吸收液随着循环次数的不断增加, 所含盐分将不断升高^[16], 造成大部分SRB菌无法使用。因此, 需要寻找一种能够耐受高盐度的

SRB, 并对其工作条件进行研究。

本研究通过对海底底泥富集驯化, 得到了1个海洋硫酸盐还原菌菌群SRB-2, 在对其耐盐性及脱硫效果进行了考察后, 研究了温度、初始pH值、碳源、不同价态铁元素等单因素对其脱硫效果的影响并对其菌体形态进行了检测。

1 材料与方法

1.1 材料

SRB-2菌群的富集驯化: 该菌群来源于我国近海海底沉积物; 底泥采集地点为: 东经121°22.351', 北纬27°13.334'; 采集方式为重力柱。富集温度为

收稿日期: 2008-02-21; 修订日期: 2008-04-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(20877075); 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2006CB2003)

作者简介: 潘嘉川(1983~), 女, 硕士研究生, 主要方向为生物修复,

E-mail: panjiaochuan@126.com

* 通讯联系人, E-mail: hbcaoz@home.ipe.ac.cn, shaozz@163.com

35℃,待菌群稳定后每30 d转接1次,共转接6次。图1为SRB-2菌群的SEM照片,可以发现,该菌群含有大量短杆状及螺旋状细菌黏附在填料表面。

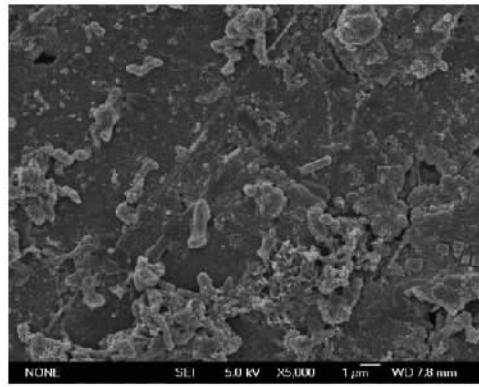


图1 硫酸盐还原菌菌群(SRB-2)的SEM照片

Fig.1 SEM photo of SRB-2 community

富集培养基组成:每1 kg天然海水中 K_2HPO_4 0.5 g, NH_4Cl 1.0 g, 酵母膏 0.4 g, $CaCl_2$ 0.1 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002 g, 唯一碳源为乙醇(4 mL),用1 mol/L的NaOH溶液将pH值调至7.6。培养基于121℃灭菌15 min。

人造烟气脱硫废水组成:每1 kg去离子水中 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 8.228 g, $NaCl$ 29.895 g。此外,加入微量元素 $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ 2.96 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.085 g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.147 g, H_3BO_3 0.062 g, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 0.04 g, $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ 0.027 g, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.025 g, $SrCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.024 g, $CaCl_2$ 0.1 g。加入其它生长因子、碳源及缓冲盐 NH_4Cl 1.0 g, 酵母膏 0.4 g, 乙醇4 mL, K_2HPO_4 0.5 g。

密封容器:600 mL的血清瓶。

还原铁粉:粒径80目,纯度95%,在接种富集液时一次性投加。

1.2 实验方法

分别配制不同 $NaCl$ 浓度(16, 20, 24, 28, 30, 32, 36, 40, 50, 60, 70, 80 g/L)、不同 SO_4^{2-} 浓度(1 600, 2 400, 3 200, 3 600, 4 000, 4 400, 4 800, 5 200 mg/L)及不同初始pH值(5.63, 6.21, 6.78, 7.07, 7.43, 7.73, 7.95, 8.26, 8.59)的人造烟气脱硫废水,置于血清瓶中,接种富集液10%,封口,每24 h测定废水中的硫酸盐含量。

在最佳盐度及初始pH值的条件下,将废水置于不同温度条件下(15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50℃),每24 h测定废水中的硫酸盐含量。

在人造烟气脱硫废水中加入不同碳源:乙酸(5.89 mL/L)、丙酸(4.40 mL/L)、丁酸(3.775 mL/L)、乙醇(4 mL/L)、乳酸(5.122 mL/L)、葡萄糖(6.18 g/L)、柠檬酸(8.79 g/L),甲醇(5.55 mL/L)在理论碳硫比相等的浓度条件下,接种富集液10%,每24 h测定废水中的硫酸盐含量及废水中的菌体浊度。

在最佳盐度、最佳初始pH值和最佳碳源的条件下,在血清瓶中接种富集液时,加入0.20 g/L还原铁粉,置于35℃条件下培养,每24 h测定废水中硫酸盐含量,同时做 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.89 g/L)及无铁条件下的对照试验。

1.3 分析仪器和方法

分析仪器:离子色谱(美国Dionex公司,DX-500),紫外可见分光光度计(中国莱伯泰科公司,UV-2000),冷场发射扫描电子显微镜SEM(日本电子公司,JSM-6700F),光学显微镜(日本Olympus公司,CX31RTSF)。

分析方法:硫酸盐的测定采用离子色谱法(GB/T 13580.5-1992),浊度的测定在420 nm波长下,以未接入富集液的人造硫酸盐废水为参比溶液。

2 结果与讨论

2.1 SRB-2菌群耐盐性

海水中盐度为3.5%,主要成分是 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} ;海洋中部分区域为高富盐地区,是耐盐和嗜盐微生物的重要来源^[17]。SRB-2菌群是从海洋底泥中富集得到的,受其生存环境的影响,虽然其耐盐机制尚未明确^[18],但在长期的进化过程中其耐盐机制与传统的硫酸盐还原菌有所不同。

图2反映了盐浓度对SRB-2菌群生物还原硫酸根浓度的影响,不难发现,SRB-2菌群在16~40 g/L $NaCl$ 浓度的条件下均具有良好的硫还原能力;当氯化钠浓度提高到60 g/L,该菌群仍然具有一定还原硫酸盐的能力,只是稳定性略差;而当氯化钠浓度提高到80 g/L时,该菌群几乎不能继续生长。

2.2 SRB-2菌群的脱硫性能

图3反映了初始硫酸根浓度对SRB-2代谢活性的影响。当初始硫酸根浓度为3 200 mg/L时,细菌还原硫酸根的速度最快,随着初始硫酸根浓度增加,细菌还原硫酸根速度有所降低,估计有可能是硫酸根还原过程产生的中间产物(如亚硫酸根)或产物(如负二价硫)的抑制作用。虽然如此,该菌群在硫酸根浓度5 200 mg/L条件下,仍然能够保持较高活性,更远远高于文献[19]报道的1 000 mg/L。值得关注的

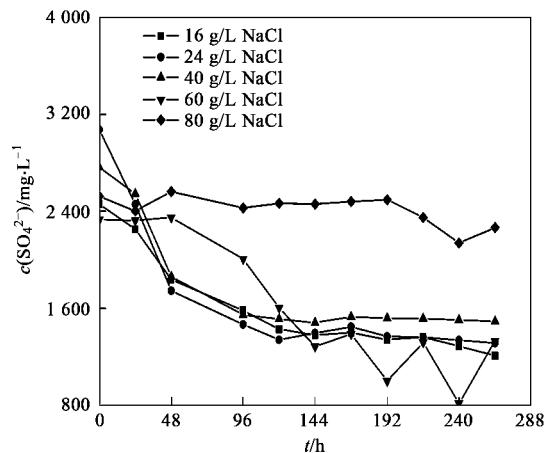


图2 在不同盐度条件下SRB-2菌群还原硫酸盐的效果

Fig.2 Effect of reducing SO_4^{2-} at different salinities

是，当初始硫酸根浓度低于3 200 mg/L（比如2 400 mg/L或1 600 mg/L）时，硫酸根的去除非常不明显，估计有可能是菌群中的微生物优先利用碳源，抑制了硫酸根的代谢。

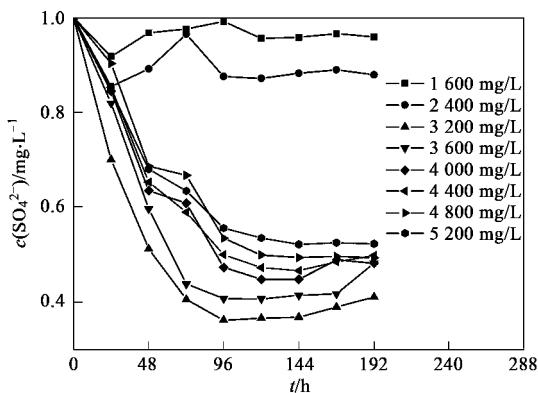


图3 在不同初始 SO_4^{2-} 条件下SRB-2菌群还原硫酸盐的效果

Fig.3 Effect of reducing SO_4^{2-} at different initial concentrations of SO_4^{2-}

2.3 pH值和温度对SRB-2菌群还原硫酸盐的影响

pH值对硫酸根还原的影响见图4。不难看出，SRB-2菌群的最佳pH值是7.4~8.3，不同于任南琪等^[20]报道的6.0~6.5。在传统的硫酸盐废水中，pH值影响着整个菌群中产甲烷菌、产酸菌及硫酸盐还原菌的结构及平衡，而对于从海洋中富集的SRB-2菌群，其菌群结构与传统硫酸盐还原菌菌群可能存在较大差异，导致最佳pH值改变。所以，在利用SRB-2菌群还原硫酸盐时，应在传统工艺的基础上提高进水pH值，使SRB-2菌群发挥更好的还原效果。

图5反映了温度对SRB-2活性的影响。不难看

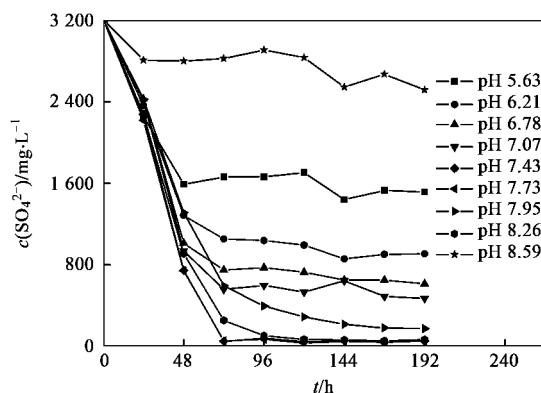


图4 在不同初始pH值条件下SRB-2菌群还原硫酸盐的效果

Fig.4 Effect of reducing SO_4^{2-} at different initial pH values

出，SRB-2菌群在20~40℃范围内均能较好生长，最佳生长温度为30~40℃，属于中温菌。

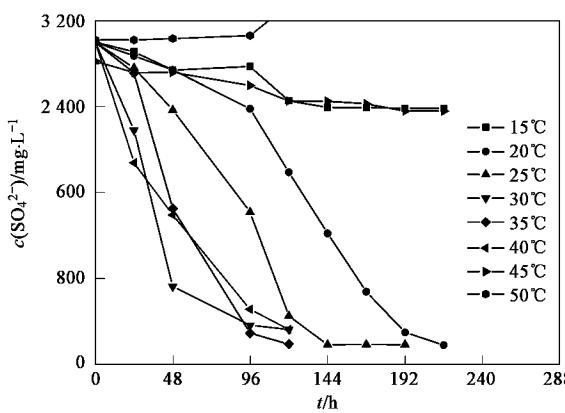


图5 在不同培养温度条件下SRB-2菌群还原硫酸盐的效果

Fig.5 Effect of reducing SO_4^{2-} at different temperatures

2.4 SRB-2菌群还原硫酸盐的可用碳源

图6及图7反映了碳源对SRB-2活性的影响。可以看出，对于海洋SRB菌群，最佳碳源为乙醇，其次是乳酸，而葡萄糖、乙酸、丙酸、正丁酸及柠檬酸均效果不佳，与文献[21]所报道的淡水SRB结果基本一致。从图7还可以看出，以葡萄糖为碳源时，废水浊度增加明显，而且在600倍光学显微镜下也能看到大量的细菌生长，很可能是菌群中存在非硫酸盐还原菌优势利用葡萄糖生长。

在所研究的各种碳源中，只有乙醇和乳酸为碳源的血清瓶瓶底上出现较厚的黑色粘稠物质，并且这种物质很难用接种环挑起。图8(a)为该物质40倍光学放大照片，主要为不规则分散的一些黑色块状物。图8(b)为该物质1 000倍光学放大显微图片，发

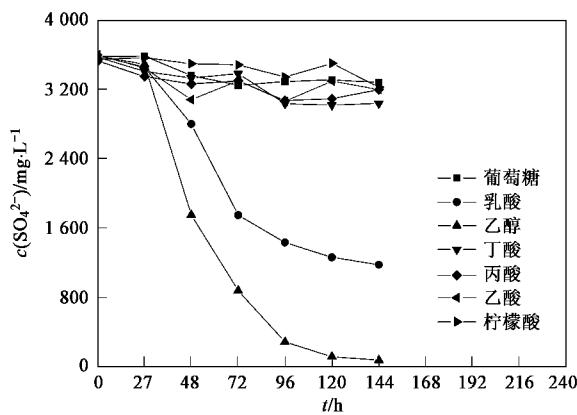


图 6 在不同单一碳源条件下 SRB-2 菌群还原硫酸盐的效果

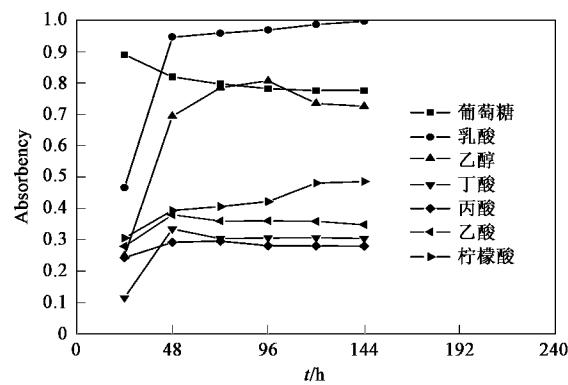
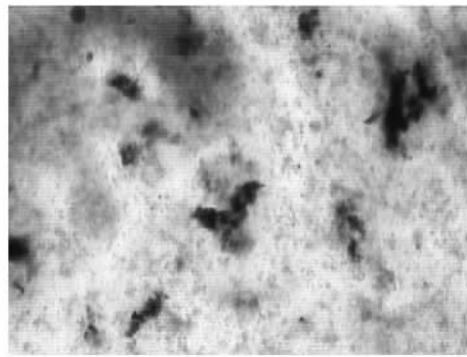
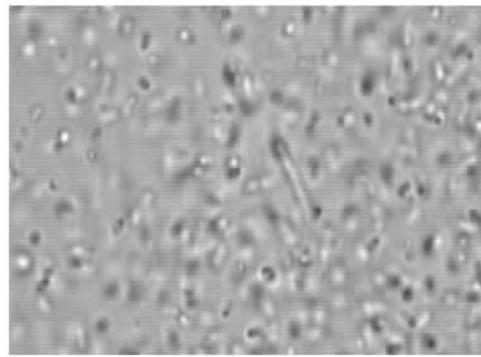
Fig.6 Effect of reducing SO_4^{2-} using different single carbon sources

图 7 在不同单一碳源条件下 SRB-2 菌群浊度的变化

Fig.7 Absorbency change using different single carbon sources



(a) 40 倍



(b) 1 000 倍

图 8 光学显微镜图片

Fig.8 Optical microscope photo of SRB-2-64

现主要为杆状细菌，且细菌有活动能力，不是死亡菌体的堆积。进一步分离 SRB-2 菌群发现，其中有 1 株黏度很大的硫酸盐还原菌 SRB-2-64，经 16S rRNA 鉴定^[22] 为 *Thioclava pacifica* (GenBank 序列号：EU167911)，其 TEM 照片曾显示其表面有一层黏度很大的物质(尚未发表)。由此推测，这种粘稠物质可能是 SRB-2-64 的堆积。

2.5 铁对 SRB-2 菌群还原硫酸盐的影响

图 9 反映了铁价态对 SRB-2 活性的影响。可以看出， Fe^0 粉末对菌群 SRB-2 还原硫酸盐有明显加强作用，而在等量的 Fe^{2+} 存在的条件下，硫酸盐浓度没有发生明显的降低。图 10 进一步直观反映了铁的加入对细胞浓度的影响。对比两图不难发现，当体系中直接加入 Fe^{2+} 后，溶液中细胞数非常低，但出现了一些不透明的固体颗粒[见图 10(a)]，有可能是 S^{2-} 与 Fe^{2+} 反应生成的 FeS 沉淀；当不加入铁时，虽然有细菌生长，但数量较少[见图 10(c)]；而当溶液

中加入 Fe^0 时，细菌生长速度明显加快[见图 10(b)]，导致硫酸根浓度迅速降低。与无铁条件及加入 Fe^{2+} 相比， Fe^0 强化硫酸根生物还原的原因可以解释如下。

首先， Fe 是脱硫弧菌等硫酸盐还原菌体内氢化酶的重要组成部分^[23]，每个酶分子中有 12 个铁原子， Fe 的存在对 SRB 生长具有重要意义^[24]。

其次， Fe 是催化硫酸盐还原反应的酶的激活剂，可与酶分子上的氨基酸侧链基团结合，是 SRB 细胞中各种酶，如细胞色素酶、铁还原酶、红素还原酶、过氧化氢酶等的活性基成分。 Fe 的激活作用在于它在细胞内部通过自身价态的相互转化实现所在酶传递电子的功能^[25]。

另一方面， Fe^0 可与水中的氢离子反应，缓慢生成 Fe^{2+} ，再与溶液中可溶性的 S^{2-} 生成溶解度极小的硫化物沉淀，这样不仅减轻了硫化物对 SRB 的毒害作用，还可以缓和硫化物对还原反应的产物抑制

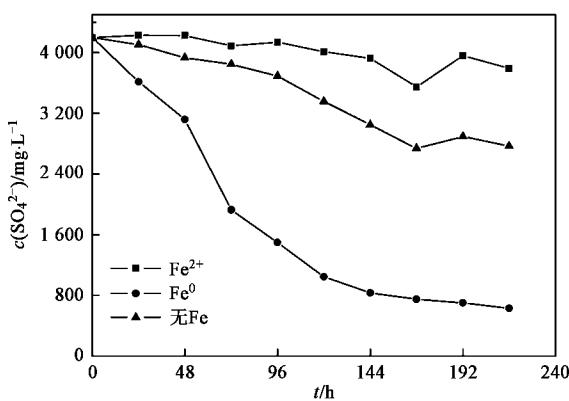


图 9 在 Fe^{2+} 、 Fe^0 及无 Fe 条件下, SRB-2 菌群还原硫酸盐的效果

Fig. 9 Effect of reducing SO_4^{2-} with Fe^{2+} , Fe^0 or Fe-free

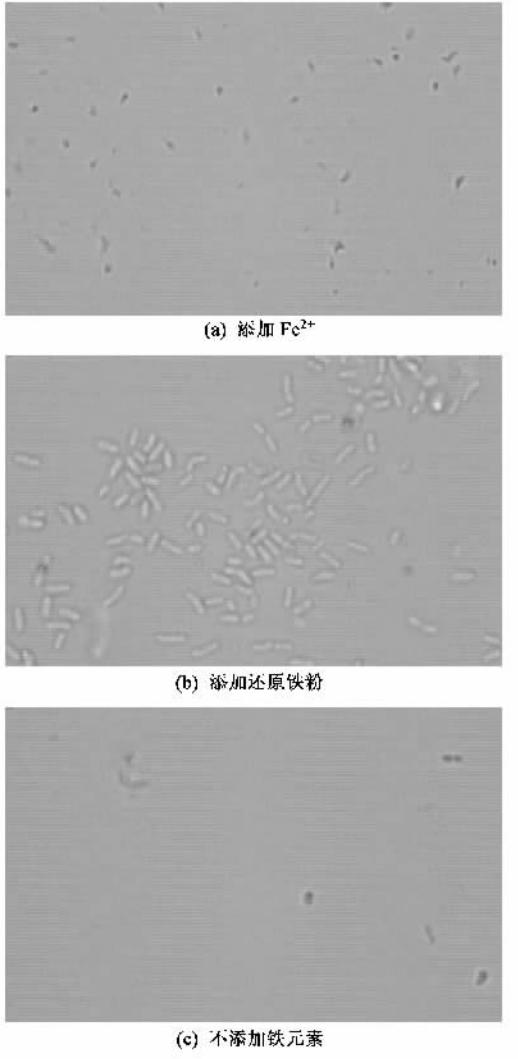


图 10 废水 1000 倍光学显微镜图片

Fig. 10 Optical microscope photo of waste water

作用,提高了 SRB 的活性,促进了还原反应的进行。

最后,加入 Fe^0 与 Fe^{2+} 的区别在于, Fe^{2+} 在短时

间内大量加入,会与接种液中的 S^{2-} 及其它离子(如磷酸盐)立刻产生大量极难溶的沉淀,使 SRB 难以获得必需的生长因子,限制了其还原硫酸盐的能力。

由图 9 还可以发现,在 Fe^0 存在条件下,海洋硫酸盐还原菌 SRB-2 可以在 216 h 内将溶液中的硫酸根还原 85%,远高于 Fe^{2+} 存在的 5% 和无铁存在的 30%。

3 结论

(1)SRB-2 为嗜盐硫酸盐还原菌群,能够在硫酸根浓度为 5 200 mg/L 或盐度为 60 g/L 的条件下正常生长。

(2)SRB-2 是典型中温菌群,在 20~40℃ 条件下均可还原硫酸盐,但最佳生长温度为 30~40℃;其最佳生长 pH 值为 7.4~8.3。

(3)乙醇或乳酸是菌群 SRB-2 生长的良好碳源,而且 SRB-2 利用这 2 种碳源时容易产生大量粘稠状胞外物质,这可能有利于细菌缔合成菌胶团。

(4)还原铁粉对 SRB-2 菌群还原硫酸盐能力有明显的强化作用,而等量 Fe^{2+} 则抑制 SRB-2 对硫酸盐的还原。

参考文献:

- [1] Cheng J, Zhou J, Liu J, et al. Sulfur removal at high temperature during coal combustion in furnaces: a review [J]. *Prog Energy Combust Sci*, 2003, **29**: 381-405.
- [2] 王艳锦, 郑正, 周培国, 等. 生物法烟气脱硫技术研究进展 [J]. 中国电力, 2006, **39**(6): 56-60.
- [3] 盛叶彬. 我国硫资源利用趋势及相对对策 [J]. 化工矿物与加工, 2004, **33**(11): 1-4.
- [4] Mirjam F, Dimitry Y S, Bart L, et al. Diversity, Activity, and Abundance of Sulfate-Reducing Bacteria in Saline and Hypersaline Soda Lakes [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73**(7): 2093-2100.
- [5] Kaksonen H A, Plumb J J, Robertson J W, et al. Novel Thermophilic Sulfate-Reducing Bacteria from a Geothermally Active Underground Mine in Japan [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(5): 2093-2100.
- [6] Thevenieau F, Fardeau L M, Ollivier B, et al. *Desulfomicrobium thermophilum* sp. nov., a novel thermophilic sulphate-reducing bacterium isolated from a terrestrial hot spring in Colombia [J]. *Extremophiles*, 2007, (11): 295-303.
- [7] 王爱杰, 刘伟. 产酸脱硫反应器中 SRB 种群的功能与地位 [J]. 中国环境科学, 2001, **21**(2): 119-123.
- [8] Shabir A D, Li Y, Udo V D, et al. Analysis of Diversity and Activity of Sulfate-Reducing Bacterial Communities in Sulfidogenic Bioreactors Using 16S rRNA and *dsrB* Genes as Molecular Markers [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73**(2): 594-604.
- [9] 崔高峰, 柯建明, 王凯军. $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$ 值对硫酸盐还原率的影响 [J]. 环境科学, 2000, **21**(4): 106-109.

- [10] Vallero M V G, Lettinga G. Effect of NaCl on Thermophilic (55°C) Methanol Degradation in Sulfate Reducing Granular Sludge Reactors [J]. *Water Res.*, 2003, **37**: 2269-2280.
- [11] Elliott P, Catcheside D. Growth of Sulfate-Reducing Bacteria under Acidic Conditions in an Upflow Anaerobic Bioreactors as a Treatment System for Acid Mine Drainage[J]. *Water Res.*, 1998, **32**(12): 3724-3730.
- [12] Vallero M V G, Lettinga G, Lens P N L. High rate sulfate reduction in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBaR) at high salinity[J]. *J Membr Sci.*, 2005, **253**: 217-232.
- [13] 马晓航,华尧熙,叶雪明.硫酸盐生物还原法处理含锌废水[J].*环境科学*,1995,**16**(4):19-21.
- [14] 王爱杰,任南琪,杜大仲,等.硫酸盐还原过程中乙酸型代谢方式的形成及其稳定性[J].*环境科学*,2004,**25**(2):73-76.
- [15] 赵阳国,任南琪,王爱杰,等.SSCP 技术解析硫酸盐还原反应器中微生物群落结构[J].*环境科学*,2005,**26**(4):171-176.
- [16] Vallero M V G, Sipma J, Lettinga G, et al. High-Rate Sulfate Reduction at High Salinity (up to 90 mS·cm⁻¹) in Mesophilic UASB Reactors[J]. *Biotechnol Bioeng.*, 2004, **86**(2): 226-235.
- [17] 林影,凌晨晖.海洋微生物极端酶的研究[J].*海洋科学*,1999, **2**: 19-21.
- [18] 刘爱民.嗜盐菌的研究进展[J].*安徽师范大学学报(自然科学版)*,2002,**25**(2):181-184.
- [19] 孔淑琼,张宏涛.SRB 处理硫酸盐废水的静态试验研究[J].*长江大学学报(自科版)*,2006,**3**(1):34-37.
- [20] 任南琪,王爱杰.厌氧生物技术原理与应用[M].北京:化学工业出版社,2004.136-137.
- [21] 刘广民,任南琪,王爱杰,等.产酸-硫酸盐还原系统中产酸菌的发酵类型及其与 SRB 的协同作用[J].*环境科学学报*,2004,**24**(5): 782-788.
- [22] 王亚南,王保军,戴欣,等.海水养殖场底泥中转化硫和磷化合物的微生物及其多样性[J].*环境科学*,2005,**26**(2):157-162.
- [23] 赵阳国,任南琪,王爱杰,等.铁元素对硫酸盐还原过程的影响及微生物群落响应[J].*中国环境科学*,2007,**27**(2):199-203.
- [24] 夏明珠,马家骥.硫酸盐还原菌对金属的腐蚀作用及其防治[J].*腐蚀与防护*,1996,**17**(4): 191-192.
- [25] 李栋,吕人豪.普通脱硫弧菌 D-2 氢化酶的提纯与性质[J].*微生物学报*,1990, **30**(4):267-272.