

1 株嗜酸硫杆菌的分离鉴定及其对污染底泥中重金属的去除效果

方迪^{1,2}, 赵亮², 单红仙^{1,2}, 王方², 赵阳国^{1,2}, 杨薇薇²

(1. 中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100; 2. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100)

摘要: 采用常规细菌分离方法, 从河流底泥中筛选到 1 株细菌 FD97, 通过序批式摇瓶培养考察了不同温度下(22~40℃)该菌株对污染底泥中 Zn、Cu 和 Cr 的去除效果. 结果表明, 形态学和 16S rDNA 序列同源性分析鉴定菌株 FD97 为嗜酸硫杆菌属(*Acidithiobacillus* sp.). 在 22~40℃ 条件下, 以 *Acidithiobacillus* sp. FD97 为主要菌株的生物沥浸作用可有效去除污染底泥中 Zn、Cu 和 Cr. 沥浸处理 16 d, Zn、Cu 和 Cr 的去除率可分别达 70%、90% 和 25%. 从底泥 pH 值变化、 SO_4^{2-} 产生以及重金属去除率角度衡量不同温度的底泥沥浸处理效果依次为: 34℃ > 28℃ ≈ 40℃ > 22℃. 控温 28℃ 较适宜今后的实际应用. 底泥重金属生物沥浸去除率的大小与底泥 pH 值变化密切相关, 与温度无直接关系. 当底泥 pH 值降至 5.0、3.5 和 2.5 时, 底泥中 Zn、Cu 和 Cr 分别开始溶出, pH 值降为 2.0, 重金属去除率达最大.

关键词: 嗜酸硫杆菌; 鉴定; 底泥; 重金属; 去除

中图分类号: X172; X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)11-3358-06

Isolation, Identification of *Acidithiobacillus* sp. and Its Role in the Removal of Heavy Metals from Contaminated Sediments

FANG Di^{1,2}, ZHAO Liang², SHAN Hong-xian^{1,2}, WANG Fang², ZHAO Yang-guo^{1,2}, YANG Wei-wei²

(1. Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: A sulfur-oxidizing bacterium FD97 was isolated from heavy metal-contaminated river sediments. According to the morphological characteristics and sequence analysis of 16S rDNA of FD97, the strain was identified as *Acidithiobacillus* sp.. The effects of temperature on heavy metals bioleaching efficiencies from contaminated sediments by using *Acidithiobacillus* sp. FD97 were investigated in shake flask experiments. The tests were performed at four different temperatures in the range of 22-40℃. The results showed that after 16 days of bioleaching, almost 70% of Zn, 90% of Cu, and 25% of Cr could be removed from the sediments, respectively. From the variations of pH reduction, sulfate production, and metals removal, the order of bioleaching efficiency at different temperatures was 34℃ > 28℃ ≈ 40℃ > 22℃. The preferable temperature used for the future larger-scale bioleaching process is 28℃. It was found that during the bioleaching process, temperature did not directly affect the metal removal process; the final level of metal removal achieved was highly correlated to sediment pH. When the pH decreased to 5.0, 3.5, and 2.5, the removal of Zn, Cu, and Cr began to increase sharply, respectively, and the maximum metal removal could be achieved when the pH decreased to below 2.0.

Key words: *Acidithiobacillus* sp.; identification; sediments; heavy metals; removal

河流、湖泊底泥含有丰富的氮、磷等植物养分, 是一种优质的农业有机肥源^[1,2]. 然而, 工业的迅猛发展和化石燃料的广泛使用使底泥中某些重金属元素日益蓄积(污染底泥中 Cu、Zn、Cr 和 Ni 等含量通常可达 200~2 000 mg·kg⁻¹)^[3~5], 已成为底泥安全农用的重要限制因子. 去除或降低污染底泥中重金属对于提高底泥资源化利用水平, 保障食品安全具有重要的实践意义.

20 世纪 90 年代, 德国学者 Seidel 等^[6]发现基于嗜酸硫杆菌(*Acidithiobacillus* sp.)生物氧化产酸原理的生物沥浸技术(bioleaching, 也称生物淋滤或生物沥滤)对污染底泥中 Cu、Zn 和 Cd 等重金属的去除率可达 80% 以上, 且底泥处理后养分损失不大. 近年

来, 该方法由于成本低、实用性强和重金属去除彻底而受到国内外研究人员的广泛关注, 可用于(或加速)重金属沥浸去除的新的微生物菌种也被不断分离, 如铁氧化钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*)、硫化杆菌(*Sulfobacillus* sp.)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、酒香酵母(*Brettanomyces* sp.)等^[7~9]. 其中, 以嗜酸硫杆菌为主要菌株, 以单质硫为其能源底物的“硫法”沥浸被认为是实现底泥重金属去除最为快捷的途径之一^[10]. 筛选分离高效的硫杆菌以及获得底

收稿日期: 2009-02-25; 修订日期: 2009-04-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(20707024); 国际科学基金项目(IFS-F/4737-1)

作者简介: 方迪(1980~), 男, 博士, 主要研究方向为固体废物处理与污染控制及环境污染化学, E-mail: dfang@ouc.edu.cn

泥生物沥浸的适宜工艺参数是该研究的关键。目前,国内有关该领域的研究还十分有限^[11]。本试验从污染底泥中直接分离嗜酸硫杆菌,通过序批式摇瓶培养,考察温度(22~40℃)对嗜酸硫杆菌去除底泥中 Zn、Cu 和 Cr 效果的影响,旨在为污染底泥生物沥浸修复技术的最终构建提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试底泥为青岛某污染河道清淤泥。该河道受生活污水和工业废水排放污染较为严重,底泥淤积明显,黑臭。样品采集后剔除泥样中石块、砂砾和动植物残体,统一保存于聚乙烯塑料桶中并置于 4℃ 冰箱备用。底泥 pH 值 7.96, 固体浓度 38%, 总氮 0.18%, 全磷 0.14%, 有机质 3.36%, Zn 731.5 mg·kg⁻¹, Cr 205.7 mg·kg⁻¹, Cu 173.6 mg·kg⁻¹, Pb 26.1 mg·kg⁻¹, Ni 29 mg·kg⁻¹, Cd 1.3 mg·kg⁻¹。

1.2 嗜酸硫杆菌的分离与鉴定

1.2.1 培养基

改进型 SM 培养基^[12]: KH₂PO₄ 3.0 g·L⁻¹, MgSO₄·7H₂O 0.1 g·L⁻¹, CaCl₂·2H₂O 0.25 g·L⁻¹, FeSO₄·7H₂O 0.02 g·L⁻¹, S⁰ 10 g·L⁻¹ (pH 值调至 4.0)。

1.2.2 菌株的富集与分离

取 10 mL 供试底泥至装有 100 mL SM 液体培养基的三角瓶中,于 28℃、180 r·min⁻¹ 摇床中振荡培养直至培养液 pH 值下降至 2.0 以下。随后将上述培养液转接 10 mL 至装有 100 mL SM 液体培养基的三角瓶,相同条件下振荡培养至 pH 值降到 2.0 以下。如此重复转接 5 次后,将所得培养液适当稀释,取不同稀释度的培养液于 SM 固体培养基上涂布,置于 28℃ 培养箱中培养 10~12 d。挑取平板上长势较好的单菌落在 SM 平板上反复划线纯化,最终获得目标菌株 FD97。

1.2.3 菌株的鉴定

(1)形态特征与培养特性 按文献[13]方法对菌株 FD97 进行革兰氏染色、菌体大小、需氧性和运动性等形态观察;自养(以 S₂O₃²⁻ 和 Fe²⁺ 为能源底物)和异养(以牛肉膏蛋白胨为能源底物)培养特性判别采用文献[14]方法。

(2)16S rRNA 测序及系统发育树的构建 细菌总 DNA 采用华舜细菌总 DNA 提取试剂盒提取。菌株 FD97 的 16S rRNA 基因序列的 PCR 扩增、产物纯化及克隆参照文献[15],所用 PCR 引物为:正向 BSF8/20, 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 20nt; 反

向 BSR1541/20, 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3', 20 nt。反应程序为:94℃ 5 min; 94℃ 50 s, 63℃ 50 s, 72℃ 1 min, 30 次循环; 72℃ 7 min, 4℃ 保存。测序由上海博亚生物技术有限公司完成。将序列登录 GenBank 进行同源性比较,应用 MEGA4.0 软件中 Neighbor-Joining 方法构建 16S rRNA 的系统发育树。

1.3 菌株 FD97 对污染底泥中 Zn、Cu 和 Cr 的生物沥浸去除试验

嗜酸硫杆菌为一类嗜中温菌,温度对其生长与增殖至关重要^[16]。研究温度对底泥生物沥浸的影响对于该技术的实际应用,特别是季节更替时适宜控温条件的选择十分重要。首先,参照文献[17]方法在供试底泥中驯化菌株 FD97,最终用于生物沥浸的接种菌液是以 FD97 占优势的驯化底泥(菌密度 1.6×10^8 个·mL⁻¹, 接种液 pH 值 2.0)。然后,在一系列 250 mL 三角瓶中分别加入 150 mL 供试底泥(固体浓度 10%),接种 5 mL 富含菌株 FD97 的接种物,同时添加 3 g·L⁻¹ 单质硫作为该菌的能源物,三角瓶纱布封口后将上述培养物分别置于 22、28、34 和 40℃ 等不同温度的回旋式摇床中 180 r·min⁻¹ 振荡培养。培养期间采用称重法补充蒸发的水分。此外,设置不接种菌株 FD97,只添加单质硫的对照处理(以 34℃ 培养为例)。

培养期间,单质硫逐渐被硫杆菌氧化为硫酸,底泥介质酸化,重金属随之从底泥固相溶出进入沥浸液。每 2 d 取 5 mL 底泥沥浸液,测定 pH 值和 ORP。随后于 6 000 r·min⁻¹ 下离心 15 min, 0.45 μm 滤膜抽滤,进行固液分离。采用原子吸收光谱(SOLAAR-M6, Thermo Jarrell Ash Corporation)测定沥浸液中 Zn、Cu 和 Cr。根据处理前后沥浸液中重金属含量的变化,计算重金属去除率。单质硫氧化产生的 SO₄²⁻ 采用比浊法测定^[18]。

2 结果与讨论

2.1 菌株 FD97 的分类鉴定

涂布培养 10~12 d 后,平板上出现 1~2 mm 直径大小的白色菌落。菌落呈圆形,中间突起,湿润,边缘整齐,延长培养时间后,老菌落中心渐变为淡黄色[见图 1(a)]。镜检发现,单个菌体为短杆状,菌体大小 (0.3~0.6) μm × (1.1~2.0) μm,革兰氏染色呈阴性,菌体着色均一[见图 1(b)]。自养、异养鉴别试验表明,菌株 FD97 可利用 S₂O₃²⁻,不能利用 Fe²⁺,在牛肉膏蛋白胨培养基上不能生长。半固体穿刺接种显示,沿穿刺线有明显的扩散带,说明该菌株具有运动性。

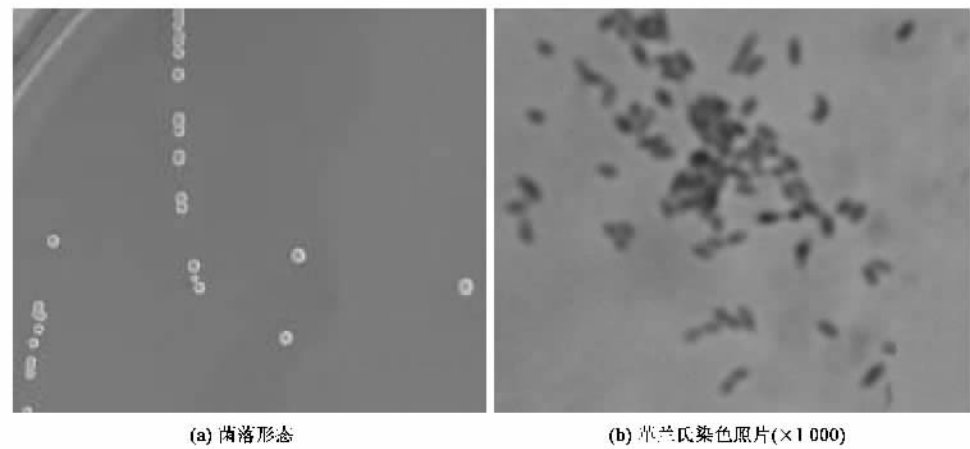


图 1 FD97 的菌落形态与革兰氏染色照片(×1 000 倍)
Fig.1 Colonies and unicell morphology of FD97 strain

将菌株 FD97 的 16S rRNA 基因测序结果登录 GenBank,用 BLAST 与 GenBank 中的 16S rRNA 基因序列进行同源比较.菌株 FD97 的 16S rRNA 在 GenBank 中登录的序列号为 FJ998186.发现该菌株

与 *Acidithiobacillus* sp. 同源性达 98%.下载相似序列构建出该菌株的系统发育进化树(图 2).结合菌株 FD97 的形态特征与培养特性,初步鉴定该菌株属于嗜酸硫杆菌属(*Acidithiobacillus* sp.).

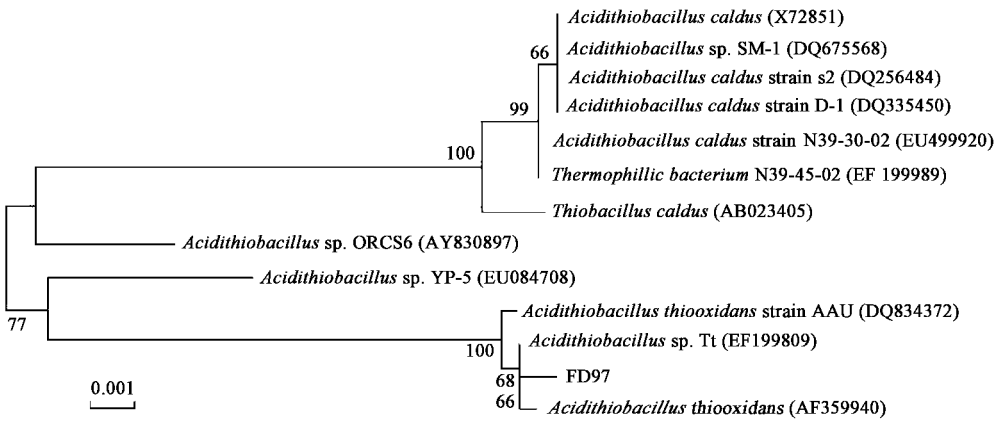


图 2 菌株 FD97 的 16S rRNA 的系统发育树
Fig.2 Phylogenetic tree of derived from 16S rRNA sequences of the strain FD97

2.2 嗜酸硫杆菌 FD97 对污染底泥中 Zn、Cu 和 Cr 的生物沥浸去除

2.2.1 底泥生物沥浸过程中 pH 和 SO₄²⁻ 的变化

嗜酸硫杆菌对单质硫的快速催化氧化并持续产酸(S→H₂SO₄)是生物沥浸脱毒的关键^[6-12].因而,底泥 pH 值和 SO₄²⁻ 的变化是衡量底泥沥浸作用强弱的重要指标.从底泥 pH 值的变化可见(图 3),本试验条件下(温度 22~40℃),接种嗜酸硫杆菌 FD97 的不同处理均可导致底泥介质的明显酸化.具体表现为,底泥 pH 值在经过起始的小幅升高后都呈现出快速下降,沥浸结束的第 16 d,22℃的底泥沥浸处

理 pH 值降为 2.5,28~40℃温度较高的 3 个处理的 pH 值则可降至极端酸性环境的 1.7~1.9.未接种 FD97 的对照处理在整个生物沥浸过程中 pH 值一直保持在 7.5~8.0,说明底泥沥浸作用没有启动.试验中发现,在一定温度范围内,升温可促进底泥酸化,而过高的温度则对生物沥浸不利.例如,22℃的沥浸处理,底泥 pH 值从初始时的 6.8 降至 2.5 需要 16 d,而相似的酸化程度对于 28℃和 34℃温度较高的 2 个处理则大大缩短,分别仅需要 4 d 和 2 d;但当温度升至 40℃时,底泥的酸化进程较 34℃又有所变慢,与 28℃沥浸处理基本相当.16 d 时的菌体计数

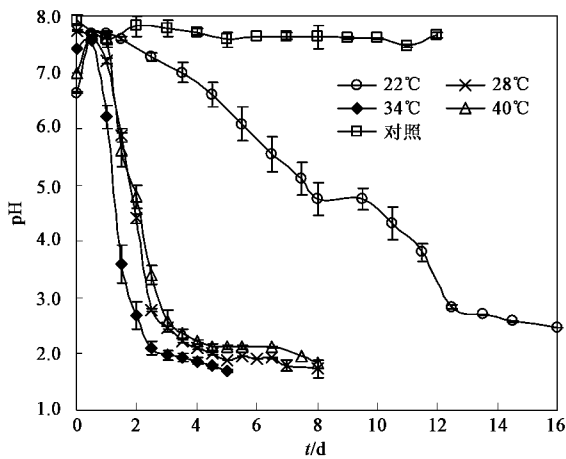


图 3 不同温度的底泥生物沥浸过程中 pH 值的变化动态

Fig.3 Variation of sediment pH in the bioleaching process

发现,28~40℃的沥浸液中 FD97 的菌密度在 $(3.8 \sim 4.3) \times 10^8$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间,而 22℃反应条件下仅为 1.7×10^8 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$. Anderson 等^[19]和 Tsai 等^[20]报道,当温度低于 10℃或高于 45℃时,嗜酸硫杆菌的生长与增殖均会受到抑制,此时生物沥浸明显受阻.显然,当环

境温度较低时($\leq 22^\circ\text{C}$),提供必要的加热、保温措施对于快速启动并加快生物沥浸进程十分必要.

与底泥 pH 值下降对应的沥浸液中 SO_4^{2-} 逐渐累积是生物沥浸持续进行的又一标志^[10].图 4 描绘了底泥沥浸过程中 SO_4^{2-} 的产生动态.结果表明,0~16 d,未接种硫杆菌 FD97 的对照处理, SO_4^{2-} 含量基本维持在 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,接种 FD97 的 4 个处理,随着沥浸时间的延长, SO_4^{2-} 含量均稳步增加,16 d 后,22℃的沥浸处理可达 $4\,600\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,控温在 28~40℃之间的 3 个处理 SO_4^{2-} 含量由起始时的 $1\,800\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 大幅升至 $7\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.4 个不同温度的处理的 SO_4^{2-} 产生速率大小依次为:34℃ > 28℃ ≈ 40℃ > 22℃,与底泥酸化呈现的趋势一致.已有研究显示^[21],残余在脱毒底泥中未被利用的硫会因继续被氧化而存在“后酸化”二次污染.因此能源底物硫的利用率(氧化率)是评价沥浸后去除了重金属的底泥(脱毒底泥)质量的重要指标.通过扣除来自于底泥内源的 SO_4^{2-} ,采用式(1)可粗略估算出本试验中硫的氧化率(oxidized sulfur, OS).

$$\text{OS}(\%) = \frac{(c_e - c_i) \times (V_i - \sum V_s) + \sum_s (c_s - c_i) \times V_s}{3M} \times 100\% \quad (1)$$

式中, c_e 为沥浸结束时沥浸液中 SO_4^{2-} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; c_i 为沥浸开始时底泥中 SO_4^{2-} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; c_s 为沥浸过程中每次取出的样品中 SO_4^{2-} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; V_i 为沥浸开始时底泥的体积, L; V_s 为沥浸过程中每次取样的体积, L; M 为沥浸开始时底泥中加入单质硫的质量, mg.

根据上式算出 22、28、34 和 40℃沥浸条件下硫的氧化率分别为 9.4%、33.0%、36.4% 和 32.5%.

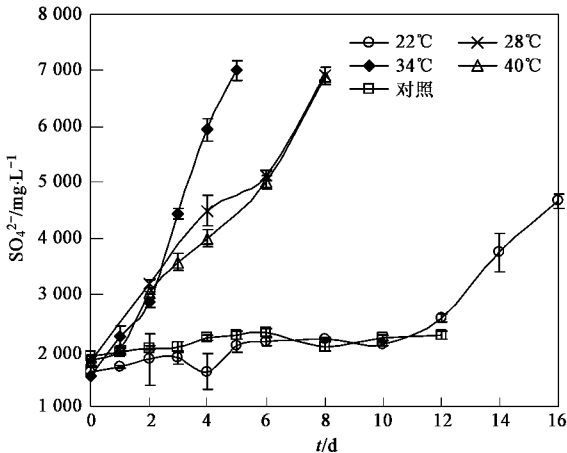


图 4 不同温度的底泥生物沥浸过程中 SO_4^{2-} 的变化动态

Fig.4 Variation of sulfate concentration in the bioleaching process

如何大幅度提高硫的利用率已成为“硫法”生物沥浸技术实际应用中面临的技术难题. Chen 等^[22]以及 Fang 等^[23]研究发现,通过将单质硫制备成易于分离回收的硫球、硫片或硫条等颗粒较大的模具硫可有效解决“后酸化”这一技术“瓶颈”,而且也可显著提高硫的循环利用,进一步降低处理成本.

2.2.2 底泥生物沥浸过程中 Zn、Cu 和 Cr 的去除

重金属的去除是生物沥浸作用成功的最终标志.本试验条件下,以嗜酸硫杆菌 FD97 为作用菌株不同温度下的 4 个生物沥浸处理对供试底泥中 Zn、Cu 和 Cr 的去除均有极为显著的作用(图 5).接种 FD97 的 4 个处理,随着 SO_4^{2-} 的不断产生,沥浸溶出的重金属稳步增加直至最大值,而添加能源物硫未接种 FD97 的对照则因沥浸产酸作用的未启动,重金属的去除一直不明显.笔者还发现,不同温度的沥浸过程中 SO_4^{2-} 产量接近时,其重金属的溶出量也基本相同(图 5),两者具有很好的相关性($R^2 > 0.87$).显然,温度对重金属的去除并无直接影响.事实上,从 pH 值和重金属去除率的对应关系(图 6)可以清楚地看出,底泥 pH 值对 Zn、Cu 和 Cr 的沥浸去除有极为显著的影响($R^2 > 0.85$),与温度无直接关系.

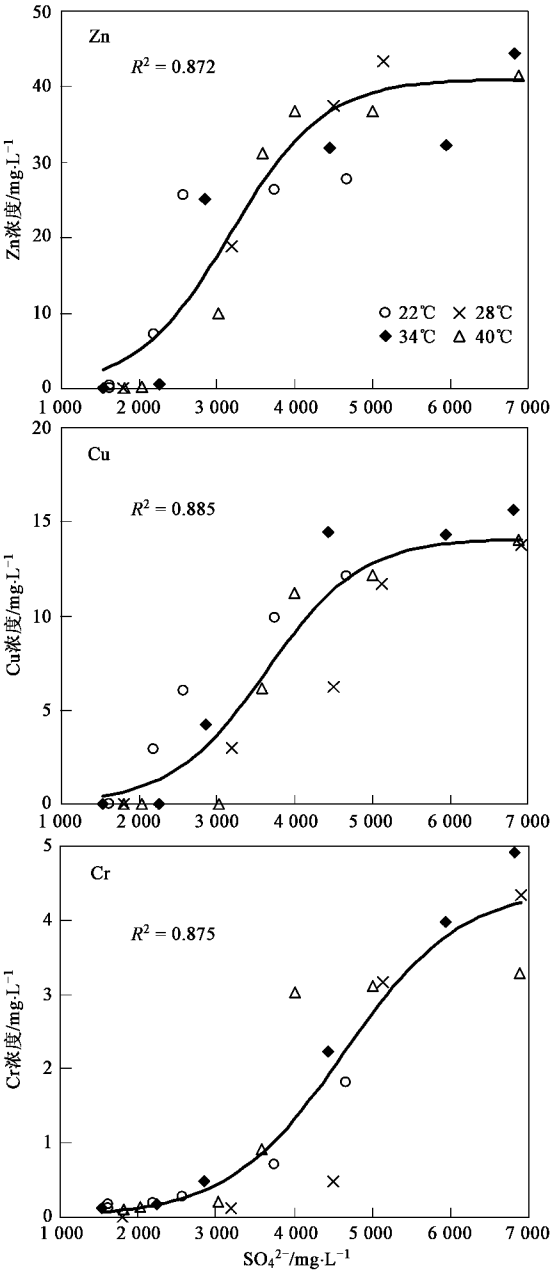


图5 沥浸过程中溶出的金属浓度随底泥中SO₄²⁻浓度的变化

Fig.5 Metal solubilized from sediment in the bioleaching process at various sulfate concentrations

以 Zn 为例,当不同温度的沥浸作用导致底泥 pH 低于 5.0 时,Zn 开始溶出,随后 pH 值每降低 1.0,Zn 的去除率则迅速增加 20%,底泥 pH 低于 2.0 或以下,Zn 的去除率可达 70% 以上.Cu 的去除动态与 Zn 相似,pH 值 3.5 开始大量溶出,最终的去除率可接近 90%.与 Zn 和 Cu 相比,Cr 的沥浸去除较为困难[图 5(c)],即使当底泥 pH 值降至极端酸性环境的 2.0 时,Cr 去除率也不足 25%.这一现象可能是由于底泥中 Cr 的赋存形态与 Zn、Cu 不同所致.有报

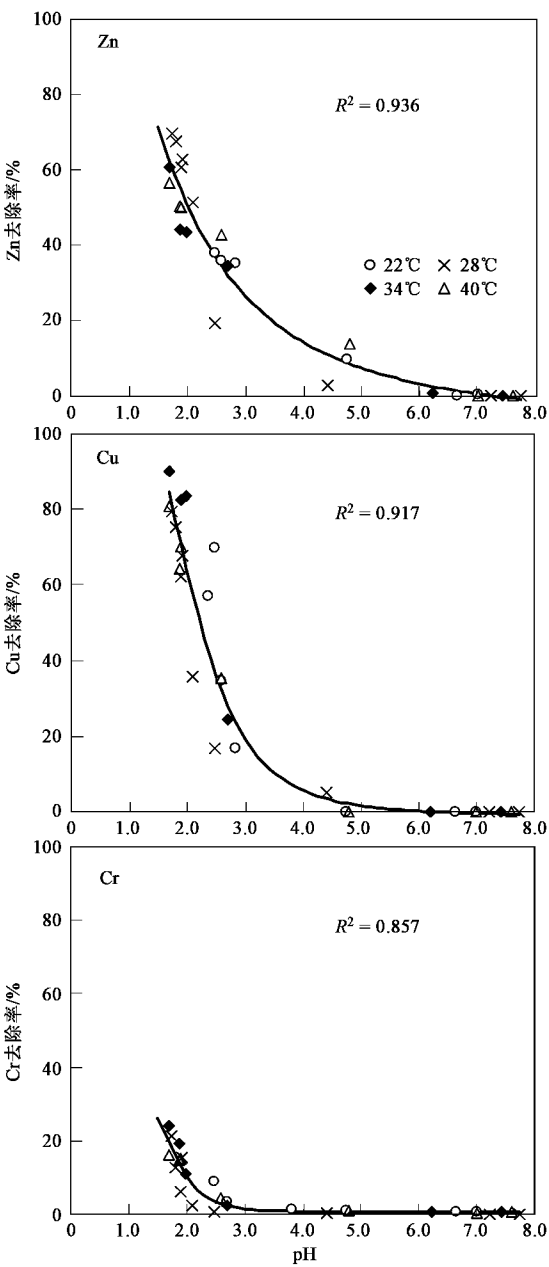


图6 底泥沥浸过程中 Zn、Cu、Cr 的去除率与底泥 pH 值变化的关系

Fig.6 Heavy metals removal from contaminated sediments in the bioleaching process at various pH values

道^[24],底泥重金属的生物沥浸去除效果与其赋存形态密切相关,与酸可提取态(可交换态及碳酸盐结合态)、可还原态(Fe/Mn 氧化物结合态)和可氧化态(有机物及硫化物结合态)相比,残渣结合态金属大多结合在硅铝酸盐矿物晶格中,很难通过生物沥浸去除.赵亮等^[25]的研究发现,本研究供试底泥中残渣态 Cr 所占比例高达 60%是 Cr 去除率较低的主要原因.

综上,本研究中 22~40℃ 的生物沥浸对污染底泥中 Zn、Cu 和 Cr 的去除均有极为显著的作用,28℃ 和 34℃ 的沥浸处理效率较为相近.生物沥浸是一个极为复杂的生物、化学过程,影响底泥脱毒效果的因素众多.将其推向工程化应用还面临许多问题,例如放大规模生物反应器中脱毒效果的验证、不同沥浸菌株(特别是与嗜酸异氧菌)的搭配以及沥浸工艺流程的优化等均有待于今后的进一步研究.

3 结论

(1) 从污染底泥中筛选得到一株能用于生物沥浸的细菌 FD97,经形态学以及 16S rRNA 基因序列分析初步鉴定该菌株为 *Acidithiobacillus* sp..

(2) 在温度 22~40℃ 条件下,以 *Acidithiobacillus* sp. FD97 为主要菌株的生物沥浸作用可有效去除污染底泥中 Zn、Cu 和 Cr,沥浸处理 16 d, Zn、Cu 和 Cr 的去除率分别达 70%、90% 和 25%.不同温度的底泥沥浸处理效率依次为:34℃ > 28℃ ≈ 40℃ > 22℃.控温 28℃ 较适宜于今后的实际应用.生物沥浸过程中,温度对底泥中 Zn、Cu 和 Cr 的去除无直接影响,重金属的去除率大小与底泥 pH 值变化密切相关.底泥 pH 值降至 2.0 时,重金属去除率达到最大值.

参考文献:

- [1] 朱广伟,陈英旭,周根娣,等.疏浚底泥的养分特征及污染化学性质研究[J].植物营养与肥料学报,2001,7(3):311-31.
- [2] Maine M A, Suñe N, Hadad H, *et al*. Temporal and spatial variation of phosphate distribution in the sediment of a free water surface constructed wetland[J].Sci Total Environ, 2007, 380:75-83.
- [3] Akcaya H, Oguzb A, Karapire C. Study of heavy metal pollution and speciation in Buyak Menderes and Gediz river sediments[J]. Water Res, 2003, 37:813-822.
- [4] Blandine C, Véronique R, Cédric D, *et al*. Origin and mobility of heavy metals in contaminated sediments from retention and infiltration ponds[J].Appl Geochem, 2006, 21:1781-1798.
- [5] 杨清伟,束文圣,李慧.乐昌铅锌矿区水道底泥中的重金属潜在生态风险评价[J].中国给水排水,2008,24(2):106-108.
- [6] Seidel H, Ondruschka J, Morgenstern P, *et al*. Bioleaching of heavy metals from contaminated aquatic sediments using indigenous sulfur-oxidizing bacteria: a feasibility study[J].Water Sci Technol, 1998, 37: 387-394.
- [7] Liu J S, Xie X H, Xiao S M, *et al*. Isolation of *Leptospirillum ferriphilum* by single-layered solid medium[J].J Cent South Univ Technol, 2007, 14(4):467-473.
- [8] Xu T J, Ting Y P. Optimisation on bioleaching of incinerator fly ash

- by *Aspergillus niger* — use of central composite design[J].Enzyme Microb Technol, 2004, 35:444-454.
- [9] Fang D, Zhou L X. Enhanced Cr bioleaching efficiency from tannery sludge with coinoculation of *Acidithiobacillus thiooxidans* TS6 and *Brettanomyces* B65 in an air-lift reactor[J].Chemosphere, 2007, 69:303-310.
- [10] Löser C, Zehndorf A, Görsch K, *et al*. Remediation of heavy metal polluted sediment in the solid bed: Comparison of abiotic and microbial leaching [J].Chemosphere, 2006, 65(1):9-16.
- [11] 张再利,贾晓珊.两种硫杆菌对河涌底泥重金属的生物沥滤[J].中国环境科学,2008,28(7):624-629.
- [12] Chan L C, Gu X Y, Wong J W C. Comparison of bioleaching of heavy metals from sewage sludge using iron- and sulfur-oxidizing bacteria [J].Adv Environ Res, 2003, 7(3):603-607.
- [13] 周德庆.微生物学实验教程[M].北京:高等教育出版社,2002.126-129.
- [14] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001.97-102.
- [15] Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press,2001.
- [16] 周顺桂,周立祥,黄焕忠.生物淋滤技术在去除污泥中重金属上的应用[J].生态学报,2002,22(1):167-176.
- [17] Zhou L X, Fang D, Wang S M, *et al*. Bioleaching of Cr from tannery sludge: the effects of initial acid addition and recycling of acidified bioleached sludge[J].Environ Technol, 2005, 26:277-284.
- [18] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,2000.198-200.
- [19] Anderson B C, Brown A T F, Watt W E, *et al*. Biological leaching of trace metals from stormwater sediments: influential variables and continuous reactor operation[J].Water Sci Technol, 1998, 38: 73-81.
- [20] Tsai L J, Yu K C, Chen S F, *et al*. Partitioning variation of heavy metals in contaminated river sediment via bioleaching: effect of sulfur added to total solids ratio[J].Water Res, 2003, 37:2449-2457.
- [21] Tyagi R D, Blais J F. Comparison of Microbial Sulfuric Acid Production in Sewage Sludge from Added Sulfur and Thiosulfate[J].J Environ Qual, 1994, 23:1065-1070.
- [22] Chen S Y, Chiu Y C, Chang P L, *et al*. Assessment of recoverable forms of sulfur particles used in bioleaching of contaminated sediments [J].Water Res, 2003, 37:450-458.
- [23] Fang D, Zhao L, Zhou L X, *et al*. Effects of sulfur forms on heavy metals bioleaching from contaminated sediments[J].J Environ Sci Health, Part A, 2009, 44:1-8.
- [24] Chartier M, Mercier G, Blais J F. Partitioning of trace metals before and after biological removal of metals from sediments[J].Water Res, 2001, 35:1435-1444.
- [25] 赵亮,方迪,单红仙,等.固体浓度对污染底泥中重金属生物沥浸去除效果的影响[J].环境科学,2009,30(8):2347-2352.