

不同底物驯化氧化亚铁硫杆菌的差异及对煤炭生物脱硫效率的影响

张德伟, 周立祥, 杨新萍, 王世梅*

(南京农业大学资源与环境科学学院环境工程系, 南京 210095)

摘要:分别以 FeS_2 和 FeSO_4 为底物培养驯化嗜酸性氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) LX5, 结果发现以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5, 在培养 20 d 时, 培养液中 LX5 的菌体数量达 3.0×10^7 个/mL, 对 FeS_2 中亚铁及还原性硫的氧化能力均较强. *A. ferrooxidans* LX5 在以 FeSO_4 为底物的培养液中生长, 培养 48 h 溶液中 Fe^{2+} 全部氧化成 Fe^{3+} , 菌体数量达到 1.0×10^8 个/mL. 以 FeS_2 为底物驯化培养 *A. ferrooxidans* LX5 产生的胞外多聚物的量 (以 DOC 计) 达到 $2\,395 \mu\text{g}/(10^{10} \text{ cells})$, 是同等条件下经 FeSO_4 培养后产生 EPS 量的 3 倍. 分别将经过 FeS_2 和 FeSO_4 驯化培养的 *A. ferrooxidans* LX5 菌液作接种物, 进行高硫煤生物浸出脱硫实验, 结果表明, 生物浸出脱硫 13 d, 接种 FeS_2 驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 处理, 脱硫率达 72.4%, 而接种 FeSO_4 培养的 *A. ferrooxidans* LX5 处理, 反应 13 d 煤炭脱硫率仅为 47.2%, 反应 20 d 煤炭脱硫率达 65.8%. 因此, 以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 可以提高煤炭的生物脱硫效率并缩短脱硫时间.

关键词:嗜酸性氧化亚铁硫杆菌; FeS_2 ; 驯化; 胞外多聚物; 煤炭脱硫

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301 (2011) 01-0272-05

Difference in Acclimation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* by Various Substrates and Its Effect on Coal Desulfurization Efficiency

ZHANG De-wei, ZHOU Li-xiang, YANG Xin-ping, WANG Shi-mei

(Department of Environmental Engineering, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In this study, *Acidithiobacillus ferrooxidans* LX5 was cultured in 9K medium with pyrite and ferrous sulfate as the substrates. Results showed that the number of *A. ferrooxidans* LX5 acclimated by pyrite for 20 d was 3.0×10^7 cell/mL in the liquid, and the oxidation activity to pyrite was stronger. *A. ferrooxidans* LX5 cultured for 48 h was 1.0×10^8 cell/mL in medium with FeSO_4 . Extracellular polymeric substance (EPS) produced from *A. ferrooxidans* LX5 acclimated by pyrite was $2\,395 \mu\text{g}/(10^{10} \text{ cells})$ three times as much as that cultured with FeSO_4 . A high-sulfur coal desulfurization experiment were carried out with *A. ferrooxidans* LX5 domesticated respectively in medium with ferrous sulfate and pyrite. The results showed that the coal desulfurization rate was up to 72.4% after bioleaching for 13 d by *A. ferrooxidans* LX5 acclimated by pyrite, at the same time, the desulfurization rate was only 47.2% with *A. ferrooxidans* LX5 cultured with ferrous sulfate and reached 65.8% in 20 d. Therefore, the desulfurization efficiency can be improved of coal and shorten the desulfurization time when *A. ferrooxidans* LX5 acclimated with pyrite as the substrate.

Key words: *Acidithiobacillus ferrooxidans*; pyrite; acclimation; extracellular polymeric substance; coal desulfurization

环境保护日益为全球所关注. 我国 SO_2 年排放量大, 酸雨已覆盖国土面积 40% 左右^[1], 如何降低和控制 SO_2 的污染变得尤为紧迫和重要. 煤炭是我国能源的支柱, 而煤炭中所含硫分在燃烧时产生硫氧化物, 造成大气污染. 我国煤炭的含硫量一般在 0.38% ~ 5.32%, 平均为 1.72%, 而高硫煤又多分布在煤炭资源较少的南方地区^[2]. 我国约 80% 的煤炭直接用于燃烧, 释放大量的 SO_2 , 而酸雨中的 SO_2 有 90% 来自煤的燃烧, 酸雨、酸雾在我国大部分地区日趋严重^[3,4], 因此研究经济而有效的煤炭脱硫方法具有重要的现实意义.

通常煤炭中黄铁矿 (FeS_2) 硫占总硫量的 60%

以上^[5]. 煤的浸出法脱硫条件温和, 成本低, 尽管周期长, 仍不失为一种煤炭燃前脱硫的重要方法. 其生物脱硫的机制是利用嗜酸性氧化亚铁硫杆菌 (*A. ferrooxidans*) 以 FeS_2 中亚铁和还原性硫为底物, 将 FeS_2 氧化溶解, 硫被细菌氧化成硫酸进入液相而得以去除^[6~8]. 由于嗜酸性氧化亚铁硫杆菌属于化能自养型细菌, 因此在脱硫过程中生长缓慢, 脱硫时间漫长, 且脱硫效率较低. 因此本研究以实验室保存的

收稿日期: 2010-03-30; 修订日期: 2010-06-17

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (40930738, 21077054); 江苏省自然科学基金项目 (BK2008332)

作者简介: 张德伟 (1987 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境工程微生物, E-mail: dwzhang689@163.com

* 通讯联系人, E-mail: smwang@njau.edu.cn

A. ferrooxidans LX5 为供试菌株,以不同的底物对其进行培养驯化,比较 *A. ferrooxidans* LX5 在 2 种基质中培养驯化的差异,以便得到氧化效率高、脱硫时间短的优化菌种,以便为规模化的煤炭生物脱硫提供依据。

1 材料与方法

1.1 黄铁矿 (FeS₂)

采自南京云台山的黄铁矿精矿,磨细过 200 目筛,备用。

1.2 高硫煤

采自山东滕州市某生产建设煤矿,供试煤样基本性质:水分 4%、灰分 11.53%、全 S 3.48%、低位发热量 1 572 kJ/kg,煤样经粉碎后过 200 目筛,备用。

1.3 菌种及培养活化方法

Acidithiobacillus ferrooxidans LX5 为本课题组保存菌株。用改进型 9K 培养基培养活化^[9,10];双层平板计数^[11],当 *A. ferrooxidans* LX5 的数量达到 10⁸ 个/mL 时收集菌体保存备用。

1.4 分别以 FeSO₄、FeS₂ 为底物驯化培养 *A. ferrooxidans* LX5

配制改进型 9K 无机盐培养液(同 1.3 节),取无机盐培养液 90 mL 于 250 mL 三角瓶中,以 FeSO₄ 为能源物质,FeSO₄·7H₂O 的加入量为 44.2 g/L,接入 10 mL 活化好的 *A. ferrooxidans* LX5 菌液,接种量 10%,置于 28℃,180 r/min 的摇床中培养。每隔 3 d 转接 1 次,如此重复 3 次。

取无机盐培养液 90 mL 于 250 mL 三角瓶中,以 FeS₂ 为能源物质,FeS₂ 的加入量为 10 g,接入 10 mL *A. ferrooxidans* LX5 的新鲜菌液,在同样的条件下进行驯化培养,每隔 20 d 转接 1 次,如此重复 3 次。

以最后一次培养驯化获得的 LX5 菌液为实验材料,以 FeSO₄ 为底物的培养液每 12 h 取样测定溶液中 Fe²⁺ 和 Fe³⁺ 的含量,计算 Fe²⁺ 的氧化率,Fe²⁺、Fe³⁺ 浓度的测定用邻菲罗啉分光光度法^[12];定时测定溶液 pH 值的变化;溶液中 *A. ferrooxidans* LX5 菌体数量;培养 3 d 结束后取样测定菌体产生的胞外多聚物 (extracellular polymeric substance, EPS) 的含量。

以 FeS₂ 为底物的培养液每隔 2 d 取样测定各参数,其反应液中 SO₄²⁻ 浓度的测定用离子色谱 (Dionex 320) 法^[13],20 d 后取样测定菌体产生 EPS 的含量。

1.5 *A. ferrooxidans* LX5 产生 EPS 的提取及测定方法

将上述分别以 FeSO₄ 为底物培养 3 d 及以 FeS₂ 为底物驯化 20 d 的 *A. ferrooxidans* LX5 培养液用新华滤纸抽滤,除去沉淀、杂质,然后取 20 mL 菌液 12 000 r/min,离心 3 min 除去菌体,留取含 EPS 的上清液^[14],测定上清液中的 TOC 值,用 DOC 值表征 EPS 的量。

1.6 不同底物培养驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 对煤炭生物脱硫效率的影响

在 250 mL 三角瓶中加入 90 mL 的 9K 无机盐溶液,10 g 煤粉(200 目)及分别以 FeSO₄、FeS₂ 为底物培养驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 新鲜菌液 10 mL,将摇瓶置 28℃,180 r/min 的摇床中培养,2 个处理各设置 3 个重复。定时取样测定溶液中 SO₄²⁻ 的浓度,根据 SO₄²⁻ 的浓度换算出煤炭中硫的脱除率。

2 结果与讨论

2.1 *A. ferrooxidans* LX5 在以 FeSO₄ 为底物的培养液中生长情况

A. ferrooxidans LX5 是嗜酸性化能自养细菌,最适生长 pH 值为 2.0~3.0,因此培养液的初始 pH 值调整为 2.5,以 FeSO₄ 为能源物质时,*A. ferrooxidans* LX5 将溶液中的 Fe²⁺ 氧化为 Fe³⁺ 获得能量生长。在 *A. ferrooxidans* LX5 作用下培养液的 pH 值及 Fe²⁺ 氧化率变化情况见图 1。

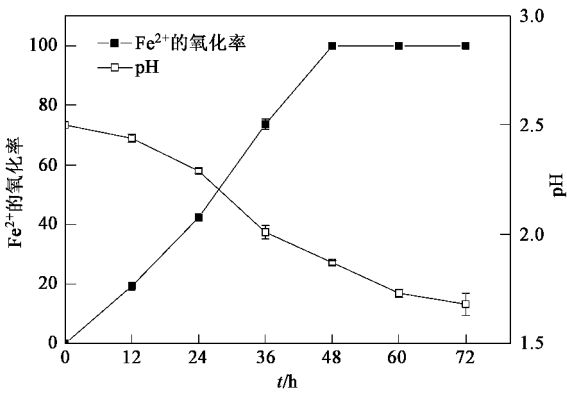


图 1 以 FeSO₄ 为底物培养 *A. ferrooxidans* LX5 时培养液 pH 值变化和 Fe²⁺ 氧化率

Fig. 1 Changes of pH and iron (II) oxidation rate in the medium when *A. ferrooxidans* LX5 incubated with FeSO₄

从图 1 可以看出,以 FeSO₄ 为底物培养 *A. ferrooxidans* LX5 时,溶液 pH 值缓慢下降,48 h 后 pH 值从起始时的 2.5 下降到 1.87,72 h 后下降到

1.68. *A. ferrooxidans* LX5 对 Fe^{2+} 的氧化速率较快, 反应 24 h Fe^{2+} 的氧化率为 42.3%, 48 h 后溶液中的 Fe^{2+} 被完全氧化, 全部转化为 Fe^{3+} . 反应结束后对培养液中的 *A. ferrooxidans* LX5 进行计数, *A. ferrooxidans* LX5 数量为 1.0×10^8 个/mL. 课题组成员前期研究发现未经转接驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 完全氧化 Fe^{2+} 需要 4~5 d 时间, 而经过 3 次转接驯化后获得 *A. ferrooxidans* LX5 菌液, 反应 48 h 即可将相同浓度的 Fe^{2+} 完全氧化, 其氧化率明显提高, 菌株 *A. ferrooxidans* LX5 在 9K 培养基中生长情况与课题组前期研究中所获得的结果基本一致^[15].

2.2 *A. ferrooxidans* LX5 在以 FeS_2 为底物的培养液中生长情况

2.2.1 以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时溶液 pH 和 Fe^{3+} 含量变化

A. ferrooxidans LX5 可以通过 2 个系统对 FeS_2 进行氧化, 即铁氧化系统和硫氧化系统^[16]. *A. ferrooxidans* LX5 既可以将 FeS_2 中的亚铁氧化成 Fe^{3+} , 亦可以将 FeS_2 中的还原态 S 氧化成 SO_4^{2-} 而获得能量. FeS_2 是以一种固体粉末的形式存在于培养液中, *A. ferrooxidans* LX5 对 FeS_2 的氧化以溶液中 Fe^{3+} 浓度及 SO_4^{2-} 浓度的增加表示. 在 *A. ferrooxidans* LX5 作用下以 FeS_2 为底物的培养液中 pH 值和 Fe^{3+} 含量变化情况见图 2.

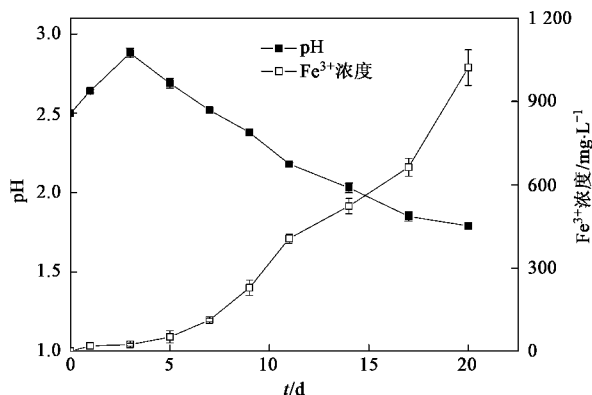


图 2 以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时培养液 pH 值和 Fe^{3+} 含量变化

Fig. 2 Changes of pH and iron (III) concentration in the medium when *A. ferrooxidans* LX5 incubated with FeS_2

由图 2 可以看出, 以 FeS_2 为底物培养 *A. ferrooxidans* LX5 时, 由于 FeS_2 具有很高的缓冲性, 前期溶液 pH 值有个先升高后下降过程, *A. ferrooxidans* LX5 在培养的第 3 d, 介质溶液的 pH 从起始时的 2.5 升高至 2.88, 以后溶液 pH 开始较

快下降, 在 20 d 时降到 1.8. 同样从图 2 可以看出, 培养液中的 Fe^{3+} 随着时间的延长逐渐增多, 第 7 d Fe^{3+} 含量为 112 mg/L, 7 d 后溶液中 Fe^{3+} 的浓度快速上升, 在第 7~11 d 期间 Fe^{3+} 的浓度升高较快, 由 112 mg/L 上升到 406 mg/L, 第 20 d 时 Fe^{3+} 的浓度达到 1 022 mg/L.

2.2.2 以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时溶液中 SO_4^{2-} 浓度和菌体数量变化

A. ferrooxidans LX5 在生长过程中将 FeS_2 中的还原态 S 逐渐氧化成 SO_4^{2-} , 溶液中 SO_4^{2-} 浓度和菌体数量随时间的变化情况见图 3.

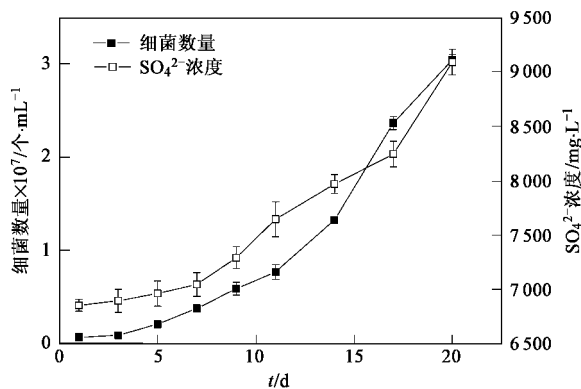


图 3 以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时培养液中菌体数量和 SO_4^{2-} 浓度变化

Fig. 3 Changes of *A. ferrooxidans* LX5 numbers and SO_4^{2-} concentration when *A. ferrooxidans* LX5 incubated with FeS_2

从图 3 可以看出, 培养液中 SO_4^{2-} 的浓度及菌体数量随着时间的增加逐渐上升, 反应前期变化趋势基本一致, *A. ferrooxidans* LX5 在以 FeS_2 为底物驯化时前 3 d 处于延滞期, 生长缓慢, 5 d 后菌体生长加快, 15~20 d 时生长速度最快, 20 d 时培养液中菌体数量达到 3.0×10^7 个/mL, 而同菌体生长曲线相似, SO_4^{2-} 的浓度在反应前期也变化较小, 在反应进行到第 7 d 时溶液中 SO_4^{2-} 的含量开始快速增长, 第 20 d 时溶液中 SO_4^{2-} 浓度达到 9 092 mg/L.

由 2.1 节可知, 以 FeSO_4 为底物培养 *A. ferrooxidans* LX5, 72 h 反应结束时菌体数量为 1.0×10^8 , 以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时溶液中的菌体数量只是以 FeSO_4 为底物驯化时的 1/3. Nikolov 等^[17] 在研究 *A. ferrooxidans* 形成的生物膜特性时发现, *A. ferrooxidans* 进行细胞繁殖时, 分裂产生的 2 个细胞中, 其中一个附着在 FeS_2 的表面, 另一个则进入溶液中, 因此溶液中的细菌数量多少

可以表征吸附在 FeS_2 上的细菌数量. 常志东等^[18] 研究发现, *A. ferrooxidans* 在 FeS_2 表面经过 3 h 的吸附达到平衡, 约有 50% ~ 60% 的 *A. ferrooxidans* 吸附在 FeS_2 的表面. 笔者的实验也证实, 8.0×10^8 个/mL 的 *A. ferrooxidans* LX5 在含 FeS_2 的溶液中经过 3 h 的吸附, 溶液中 *A. ferrooxidans* LX5 的数量降至 3.9×10^8 个/mL, FeS_2 对菌株 LX5 吸附量达 64%. 因此虽然以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 培养液中的细菌数量只有以 FeSO_4 为底物驯化时的 1/3, 但就其总量来说应该和后者相当. 由以上数据可知, *A. ferrooxidans* LX5 驯化 20 d 后, 培养液中 SO_4^{2-} 浓度从起始时的 6 855 mg/L 增加至 9 092 mg/L, 共增加了 2 237 mg/L, 其增加量是生成或增加的 Fe^{3+} 浓度 (1 022 mg/L) 的一倍多, *A. ferrooxidans* LX5 氧化 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 具有强氧化性与 FeS_2 中的 S 反应, 加速了 S 的氧化, 从而有利于 FeS_2 中 S 的去除, 此实验现象与 Sugio 等^[19] 的研究结果类似.

2.3 不同底物培养驯化*A. ferrooxidans* LX5 分泌 EPS 量的差异

分别以 FeSO_4 和 FeS_2 为底物培养驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时产生的 EPS 量见图 4, 从中可以看出以 FeSO_4 为底物培养 *A. ferrooxidans* LX5, 72 h 反应结束后, 菌株 LX5 产生的 EPS (以 DOC 计, 下同) 是 $704 \mu\text{g}/(10^{10}\text{cells})$, 而以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5, 驯化 20 d 后, 菌株 LX5 产生的 EPS 为 $2\,395 \mu\text{g}/(10^{10}\text{cells})$.

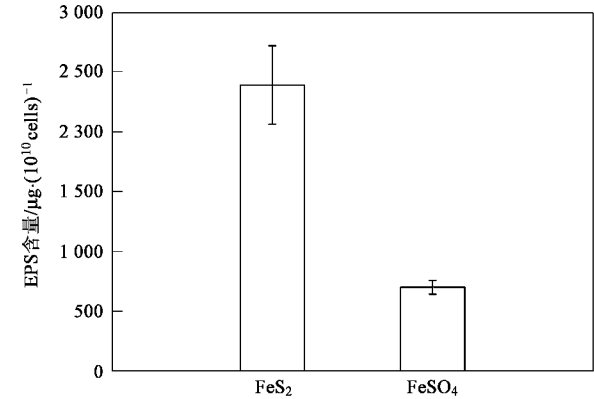


图 4 不同底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 时 EPS 的产生量
Fig. 4 Mass of EPS produced from *A. ferrooxidans* LX5 cultured with FeS_2 and FeSO_4

A. ferrooxidans LX5 分泌 EPS 的主要成分是多糖和多肽, 依靠这些大分子物质的粘附作用, 菌体得以吸附在矿物 (FeS_2) 表面^[20,21]. 而从以上实验数据

可以看出以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 产生的 EPS 大约是以 FeSO_4 为底物培养时产生量的 3 倍, 有研究表明以 FeSO_4 和 FeS_2 为底物培养驯化 *A. ferrooxidans* 时, 二者产生的 EPS 组成成分基本相似^[22], 因此, *A. ferrooxidans* LX5 经 FeS_2 驯化后应更有利于其在 FeS_2 表面的吸附.

2.4 2 种不同底物驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 对煤炭生物脱硫效率的影响

为了比较 *A. ferrooxidans* LX5 经不同底物驯化后对煤的脱硫效率, 分别将经 FeSO_4 培养 3 d 的 *A. ferrooxidans* LX5 及经 FeS_2 培养驯化 20 d 的 *A. ferrooxidans* LX5 做接种物进行煤生物脱硫反应, 结果见图 5. 从图 5 可以看出, 接种后前 3 d 二者脱硫速率基本相同, 都是缓慢上升, 而 3 d 以后接种以 FeS_2 为底物驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 的反应中, 硫的氧化率明显加快, 在第 13 d 就可以达到 72.4%, 此后硫的氧化速率趋于平缓, 氧化率增加缓慢. 而接种以 FeSO_4 为底物培养的 *A. ferrooxidans* LX5 时, 硫的氧化率直到第 7 d 才开始出现明显升高迹象, 13 d 时脱硫率仅为 47.2%, 反应 20 d 煤的脱硫率只达到 65.8%.

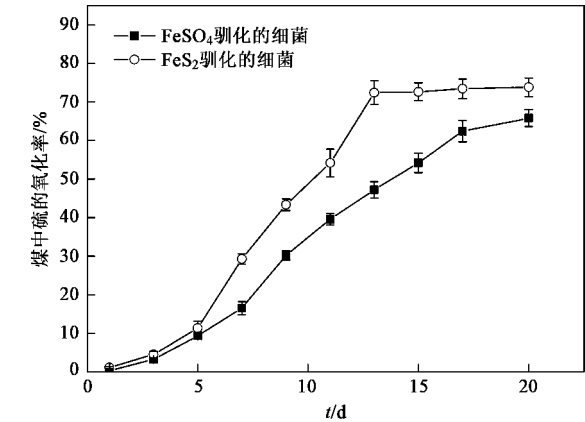


图 5 不同底物驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 对煤中黄铁矿硫的脱除效率比较
Fig. 5 Removal efficiency of sulfur in coal by *A. ferrooxidans* LX5 cultured with FeS_2 and FeSO_4

从 2.3 节可知, *A. ferrooxidans* LX5 经 FeS_2 驯化后产生大量的 EPS, 由于 EPS 的粘附作用, 更有利于菌体吸附在煤中 FeS_2 的表面, 从而更易于对 FeS_2 进行氧化, 蒋磊等研究表明, *A. ferrooxidans* LX5 可以粘附在矿物表面上, 经过氧化作用在 FeS_2 表面形成一个如细菌大小的溶蚀坑, 细菌位于其中, 更有利于 *A. ferrooxidans* LX5 对 FeS_2 的进一步氧化^[13]. 亦

有报道^[14,23] EPS 可以络合一定数量的 Fe^{3+} 离子, Fe^{3+} 作为一种强氧化剂在 FeS_2 的氧化过程中也有可能起着重要的作用,关于 EPS 络合 Fe^{3+} 及其氧化活性本实验室正在进一步的研究.

可见,以 FeS_2 为底物驯化 *A. ferrooxidans* LX5 后,可以产生大量的 EPS,有利于 *A. ferrooxidans* LX5 在煤中 FeS_2 表面的附着,使 *A. ferrooxidans* LX5 能更快地适应新环境,缩短脱硫时间,提高脱硫效率.

3 结 论

(1)*A. ferrooxidans* LX5 可以氧化 FeS_2 获得能量而生长,培养驯化 20 d 培养液中菌体数量可达到 3.0×10^7 个/mL.

(2)*A. ferrooxidans* LX5 以 FeS_2 为底物驯化 20 d 后, EPS 的产生量 (以 DOC 计) 为 $2\,395\text{ }\mu\text{g}/(10^{10}\text{ cells})$,约是以 FeSO_4 为底物培养时生成 EPS 量的 3 倍.

(3)以 FeS_2 为底物培养驯化的 *A. ferrooxidans* LX5 用于煤炭生物浸出脱硫,可明显提高脱硫效率,缩短脱硫时间.

参考文献:

[1] 戴和武,李连仲,谢可玉,等. 谈高硫煤资源及其利用[J]. 中国煤炭,1999,**11**:27-31.

[2] 李国辉,胡杰南. 煤的微生物法脱硫研究进展[J]. 化学进展,1997,**9**(1):79-89.

[3] 陈福林,唐云. 煤炭微生物脱硫技术研究进展[J]. 煤,2006,**15**(6):18-21.

[4] 武秀琴,张建云,谷立坤. 煤炭微生物脱硫技术的研究及进展[J]. 选煤技术,2009,**1**:65-67.

[5] 何京东,宋书宇,孙镇,等. 我国煤炭中硫的分布及脱硫发展方向[J]. 国外金属矿选矿,1999,**5**:30-33.

[6] 张丽芳,王清,孙玉凤. 氧化亚铁硫杆菌脱除煤中硫的研究[J]. 沈阳工业学院学报,2004,**23**(1):81-84.

[7] Cardona I C, Márquez M A. Biotransformation of two Colombian coals with native microorganisms [J]. Fuel Processing Technology,2009,**90**:1099-1106.

[8] Kelly D P, Wood A P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2000,**50**:511-516.

[9] 周立祥,方迪,周顺桂,等. 利用嗜酸性硫杆菌去除制革污泥中铬的研究[J]. 环境科学,2004,**25**(1):62-66.

[10] Janssen A, Grotenhuis J T C, Lettinga G, *et al.* Possibilities for using biologically-produced sulphur for cultivation of *Thiobacillus* with respect to bioleaching processes [J]. Bioresource Technology,1994,**48**:221-227.

[11] 王世梅,周立祥. 提高氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌平板检出率的方法: 双层平板法 [J]. 环境科学学报,2005,**25**(10):1418-1420.

[12] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社,2002. 225-227.

[13] 蒋磊,周怀阳,彭晓彤. 氧化亚铁硫杆菌对黄铁矿、黄铜矿和磁黄铁矿的生物氧化作用研究 [J]. 科学通报,2007,**52**(15):1802-1813.

[14] Gehke T, Telegdi J, Thierry D, *et al.* Importance of extracellular polymeric substances from *Thiobacillus ferrooxidans* for bioleaching [J]. Applied and environmental Microbiology,1998,**64**(7):2743-2747.

[15] 周顺桂,王世梅,余素萍,等. 污泥中氧化亚铁硫杆菌的分离及其应用效果 [J]. 环境科学,2003,**24**(3):56-60.

[16] Silverman M P, Lundgren D G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans* [J]. Bacteriology and Botany,1959,**77**:642-647.

[17] Nikolov L, Karamanev D, Mamatarikova V, *et al.* Properties of the biofilm of *Thiobacillus ferrooxidans* formed in rotating biological contactor [J]. Biochemical Engineering Journal,2002,**12**:43-48.

[18] 常志东,张晨鼎,王红旺,等. 氧化亚铁硫杆菌对硫铁矿和含铜硫铁矿浸矿动力学研究 [J]. 湿法冶金,1997,**3**:4-8.

[19] Sugio T, Katagiri T, Moriyama M, *et al.* Existence of a new type of sulfite oxidase which utilizes ferric ions as an electron acceptor in *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Applied and Environmental Microbiology,1988,**54**(1):153-157.

[20] Suci P A, Frwlund B, Quintero E J, *et al.* Adhesive extracellular polymers of *Hyphomonas* MNS-3: interaction of polysaccharides and proteins [J]. Biofouling,1995,**9**:95-114.

[21] Bruus J H, Nielsen P H, Keiding K. On the stability of activated sludge flocs with implications to dewatering [J]. Water Research,1992,**26**:597-604.

[22] Ramirez P, Guiliani N, Valenzuela L, *et al.* Differential protein expression during growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on ferrous iron sulfur compounds or metal sulfides [J]. Applied and Environmental Microbiology,2004,**70**(8):4491-4498.

[23] 傅建华,邱冠周,胡岳华,等. 氧化亚铁硫杆菌胞外多聚物在生物浸出中的作用 [J]. 激光生物学报,2004,**13**(1):62-66.