

# 硫酸盐还原菌分离及其处理煤矿酸性 废水工艺的实验研究

董艳荣, 狄军贞, 胡海洋, 周君厚, 阮 贞, 孙雪莹, 赵中茜  
(辽宁工程技术大学 土木工程学院, 辽宁 阜新 123000)

**摘 要:** 针对煤矿酸性废水直接排放污染水资源的问题, 试验选用污泥样作为筛选样品富集硫酸盐还原菌, 采用稀释涂布-叠皿夹层厌氧培养法分离纯化 SRB, 研究了 SRB 对煤矿酸性废水中  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除效果。试验结果表明: 分离纯化得到的 SRB 符合典型的“S”型生长曲线, SRB 的最佳生长条件为  $34^\circ\text{C}$ 、pH 为 7、70% 乳酸钠作为碳源。综合比较接种不同量 SRB 对煤矿酸性废水的处理效果可知, 接种 10% SRB 的处理效果较好, 接种时间为 5d 时对煤矿酸性废水中  $\text{SO}_4^{2-}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  的去除率分别为 74.71% 和 99.18%。

**关键词:** 硫酸盐还原菌; 煤矿酸性废水; 工艺优化;  $\text{Fe}^{2+}$  去除;  $\text{SO}_4^{2-}$  去除

中图分类号: X703

文献标识码: A

文章编号: 1672-643X(2019)02-0025-06

## Experimental study in isolation of sulfate reducing bacteria and treatment of acid mine drainage process

DONG Yanrong, DI Junzhen, HU Haiyang, ZHOU Junhou, RUAN Zhen, SUN Xueying, ZHAO Zhongqian  
(College of Civil Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China)

**Abstract:** Aiming at solving the problem of the water pollution by acid waste water discharged directly from the coal mine, this study enriched sulfate-reducing bacteria (SRB) from river sludge as a screening sample, separated and purified SRB using dilution coating-lamination plate anaerobic culture method, and studied the removal effects of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  in acid mine drainage from coal mine by SRB. The results showed that the SRB obtained from the isolate coincided with the typical “S” growth curve. The optimum growth conditions of SRB was  $34^\circ\text{C}$ , pH was seven, and 70% sodium lactate was added as carbon source. The treatment effect on acid mine drainage from coal mine of 10% SRB was optimum by comprehensive comparison of SRB different inoculation amount. The removal rates of  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  in coal mine wastewater were 74.71% and 99.18%, respectively, when the inoculation time was five days.

**Key words:** sulfate-reducing bacteria; acid mine drainage; process optimization;  $\text{Fe}^{2+}$  removal;  $\text{SO}_4^{2-}$  removal

## 1 研究背景

煤矿酸性废水(acid mine drainage, AMD)具有高酸度、高硫酸盐的特点,其中往往还含铜、锌、镍、铅、铬、铁、汞、锰等多种毒性很强和浓度很高的重金属离子<sup>[1]</sup>。若不经修复处理直接排放,就会造成矿区周边水资源大面积的酸污染和重金属含量超标<sup>[2]</sup>。煤矿酸性废水对生态环境具有严重的危害性,已成为一个全球性的问题,受到人们普遍关注<sup>[3]</sup>。以硫酸盐

还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)为优势菌种的微生物法处理煤矿酸性废水具有成本低、效率高、环保等特点<sup>[4-5]</sup>。SRB 可以利用有机碳异化还原  $\text{SO}_4^{2-}$  生成  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  与水中溶解态的金属离子反应产生不溶于水的硫化物沉淀,从而有效治理  $\text{SO}_4^{2-}$  和重金属污染<sup>[6]</sup>。Wosiack 等<sup>[7]</sup> 研究表明厌氧条件下 SRB 能异化还原硫酸盐,并有效沉淀重金属离子。Miao Zhenyong 等<sup>[8]</sup> 分离得到 S-7 型硫酸盐还原菌菌株对煤矿酸性废水中  $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  的去除率分别

收稿日期:2018-10-13; 修回日期:2018-12-12

基金项目:国家自然科学基金项目(41672247); 国家级大学生创新训练项目(201710147000235); 辽宁省教育厅科学技术研究项目(LJ2017FAL016)

作者简介:董艳荣(1992-),女,辽宁凌源人,博士研究生,研究方向为煤矿酸性废水污染控制理论与技术。

通讯作者:狄军贞(1979-),男,甘肃甘谷人,博士,教授,博士生导师,研究方向为水污染控制理论与技术。

为93%和90%。SRB处理煤矿酸性废水具有处理效率高、酸度提升能力强等优点,具有广阔的应用前景。目前,矿区生态环境的综合治理已经成为一个极其重要且需迫切解决的课题。

因此,针对含 $\text{Fe}^{2+}$ 煤矿酸性废水直接排放污染水资源的问题,本试验选用辽宁省阜新海州露天煤矿矸石堆放区周边的污泥样作为筛选样品富集培养SRB,采用稀释涂布-叠皿夹层厌氧培养法分离纯化SRB,并对SRB生理生化特性进行分析,研究不同SRB接种量对煤矿酸性废水中pH的修复、 $\text{Fe}^{2+}$ 和 $\text{SO}_4^{2-}$ 离子的去除情况。

## 2 材料和方法

### 2.1 实验仪器

SY11/X-280A型手提式压力蒸汽灭菌锅、FA2104N型电子分析天平、100级超净工作台、THZ-92A型气浴恒温振荡器、Q/TBCR1型752紫外可见分光光度计等。

### 2.2 培养基及模拟废水的配制

培养基:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.5 g;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 1.0 g;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2.0 g;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 0.5 g; 酵母膏, 1.0 g; 70% 乳酸钠溶液, 4 mL;  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ , 1.2 g; 抗坏血酸, 0.5 g; 蒸馏水, 1 000 mL; pH = 7.0, 121℃ 灭菌 30 min (固体培养基是在液体培养基的基础上加入 20 g 琼脂粉)。其中,  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  和抗坏血酸不能进行高温灭菌, 用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌。除富集培养及分离纯化的培养基中加入  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  外, 其它试验的培养基中均不添加  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ 。

模拟废水: 试验模拟水样根据辽宁省阜新市某煤矿采区矿井水的水质实测数据, 设定模拟的煤矿酸性废水中含硫酸盐浓度约为 1 000 mg/L, 铁离子浓度约为 55 mg/L, COD 约为 700 mg/L, pH 值为 5。

上述氯化钙、硫酸镁、氯化铵等试剂均为分析纯, 试验用水为蒸馏水。

### 2.3 实验及分析方法

2.3.1 SRB 的富集培养、分离纯化及菌种鉴定 将 120 mL 已灭菌的液体培养基和 5 mL 煤矸石堆放区取样的种泥样添加到 250 mL 锥形瓶中, 再添加 10 mL 已灭菌的液体石蜡起液封作用, 用橡胶塞密封, 置于 35℃、150 r/min 的恒温振荡培养箱中进行振荡培养, 观察培养基变化情况。取 500  $\mu\text{L}$  稀释度分别为  $1$ 、 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  的 SRB 菌悬液, 采用稀释涂布-叠皿夹层法进行固体分离, 将

分离得到的单一 SRB 转移到液体培养基中进行扩大培养。针对分离得到 SRB 菌株进行革兰氏染色、芽孢染色和鞭毛染色(银染法), 利用油镜观察拍片, 进行菌株初步鉴定。

2.3.2 温度、pH 值对 SRB 生长的影响 采用单因素试验法探究温度、pH 值对 SRB 生长的影响, 每个试验样品做 3 个重复, 以培养液的光密度间接表示 SRB 数量, 以相同条件下未接种 SRB 的培养基作为空白对照, 振荡培养一定时间后取适量液体用分光光度计测  $\text{OD}_{600}$  值。

(1) 温度对 SRB 生长的影响: 按 6% 的接种量将 SRB 接种到 pH = 7 的等量培养基中, 将试验样品分别置于 25℃、28℃、31℃、34℃ 和 37℃ 的培养箱中以 105 r/min 进行振荡培养, 一定时间后取适量液体测  $\text{OD}_{600}$  值。

(2) pH 值对 SRB 生长的影响: 按 6% 的接种量将 SRB 接种到 pH 值分别为 5、6、7、8、9 的等量培养基中, 将试验样品置于 34℃、105 r/min 的培养箱中振荡培养, 一定时间后取适量液体测  $\text{OD}_{600}$  值。

2.3.3 SRB 的生长曲线 按 6% 的接种量将 SRB 接种到已灭菌的培养基中, 将接种好的样品置于 34℃、105 r/min 的培养箱中进行振荡培养, 培养一定时间后取适量液体用分光光度计测  $\text{OD}_{600}$  值, 试验做 3 个重复。

2.3.4 SRB 最佳生长条件正交试验设计 试验选定温度、pH 和碳源 3 个因素, 采用  $L_9(3^3)$  正交表(表 1)安排试验。按 6% 的接种量将 SRB 接种到培养基中, 将接种好的样品放置在相应温度下、105 r/min 振荡培养, 培养 2 d 后分别取适量液体测定  $\text{OD}_{600}$  值。

表 1 正交试验因素与水平

水平	因素		
	温度(A)/℃	pH(B)	碳源(C)
1	31	5	葡萄糖 2 g/L
2	34	7	蔗糖 2 g/L
3	37	9	70% 乳酸钠 2 mL/L

2.3.5 SRB 处理煤矿酸性废水 用 SRB 处理煤矿废水时向锥形瓶中添加 400 mL 煤矿废水, 并添加 100 mL 培养基来补充 SRB 生长所需的 C、N、P 元素, 控制 SRB 的接种量分别为 0%、5%、10%、15%、20%, 最后加入 10 mL 石蜡液封并用橡胶塞密封, 置于 34℃、105 r/min 进行振荡培养, 培养一定时间后

分别测定水样中  $\text{SO}_4^{2-}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  的含量并计算去除率。其中,  $\text{SO}_4^{2-}$  采用铬酸钡分光光度法测定、 $\text{Fe}^{2+}$  采用邻菲罗啉分光光度法测定、pH 采用玻璃电极法测定<sup>[9]</sup>。离子去除率公式为:

$$\text{去除率} = (c_0 - c_t) / c_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $c_0$  为接种当天测得的初始离子浓度, g/L;  $c_t$  为 SRB 接种第  $t$  天后的剩余离子浓度, g/L。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 富集培养及分离纯化 SRB

图1为不同密封条件下 SRB 培养情况比照。由图1知,添加液体石蜡、塞橡胶塞的培养基在  $t = 7$  d 时出现培养基变黑现象,且打开橡胶塞有臭鸡蛋气味。培养基变黑的原因是培养基中含有  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ , 当培养基中富集培养出 SRB 时, SRB 还原  $\text{SO}_4^{2-}$  生成  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  与  $\text{H}_2\text{S}$  反应生成  $\text{FeS}$  黑色沉淀,黑色沉淀可作为培养出 SRB 的标志,  $\text{H}_2\text{S}$  有臭鸡蛋气味<sup>[10]</sup>。而未加石蜡、塞棉塞的培养基变化不明显。因此,后续试验以添加液体石蜡和塞橡胶塞的试验方法作为保证 SRB 振荡培养时隔绝氧气影响的措施。

采用稀释涂布-叠皿夹层法分离纯化 SRB, 结果如图2所示。由图2可以看出,固体培养8 d后稀释度为  $10^{-2}$  的 SRB 固体培养基中出现黑色、单一的 SRB 菌落,其他稀释度的固体培养基中出现单一 SRB 菌落效果均不理想。选取单一 SRB 菌落移至液体培养基中进行扩大培养,培养10 d后可见液体培养基变黑且打开塞子时有臭鸡蛋气味,即得到分离纯化后的 SRB。

针对分离得到 SRB 菌株进行革兰氏染色、芽孢染色和鞭毛染色(银染法),利用油镜观察拍片,进行了菌株初步鉴定。由图3可知,SRB 菌株为革兰氏阴性,生长形态为卵圆形。该 SRB 菌株有芽孢和单极生鞭毛。因此,初步鉴定该菌株为脱硫叶菌属。



(1<sup>#</sup>、2<sup>#</sup>、3<sup>#</sup>为石蜡+橡胶塞,4<sup>#</sup>、5<sup>#</sup>为未添加石蜡+棉塞)

图1 不同密封条件下 SRB 培养情况比照

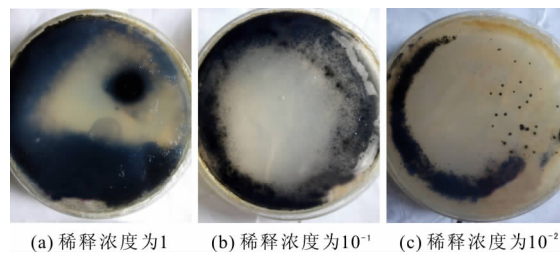


图2 SRB 的分离纯化

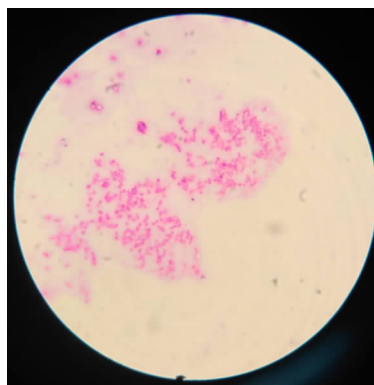


图3 革兰氏染色照片( $\times 1600$ )

#### 3.2 温度、pH 值对 SRB 生长的影响

3.2.1 温度对 SRB 生长的影响 在其他初始条件相同的条件下,考察温度对 SRB 生长的影响,结果如图4所示。

由图4可以看出,当培养温度为 25、28、31、34 和 37 $^{\circ}\text{C}$  时 SRB 均能生长,但生长繁殖速度存在不同。当培养温度为 34 $^{\circ}\text{C}$  时 48 h 内测得  $\text{OD}_{600}$  最大值为 0.824, SRB 生长状态最好;当培养温度为 28、31 和 37 $^{\circ}\text{C}$  时 SRB 菌体的增加量没有 34 $^{\circ}\text{C}$  时明显且培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$  时 SRB 菌体数量变化不明显。这说明 SRB 生长的最适温度为 34 $^{\circ}\text{C}$ , 高温或低温都会抑制 SRB 的生长。该结果与程健明等<sup>[11]</sup>的研究结果相一致,其研究表明,中温 SRB 最适生长温度在 28~38 $^{\circ}\text{C}$ 。

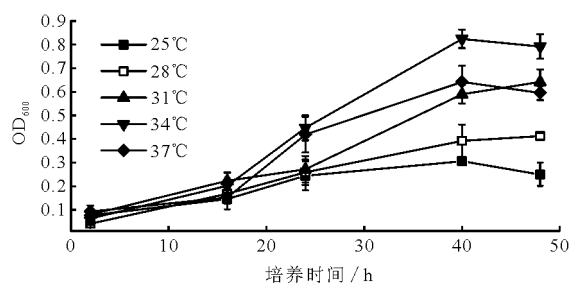


图4 温度对 SRB 生长的影响

3.2.2 pH 值对 SRB 生长的影响 pH 值对 SRB 生长的影响见图5。培养基初始 pH 值对 SRB 生长的

影响是通过影响  $H^+$  与细胞中的酶相互作用而间接影响菌体活动<sup>[10]</sup>。由图 5 可知,初始 pH 值为 7 和 8 时 SRB 菌体数量增加量较大。其中,初始 pH 值为 7 的培养基培养到 48 h 时,OD<sub>600</sub> 值为 0.729,是 48 h 内出现的最大值且还具有继续增大的趋势,说明 SRB 最适生长的 pH 为 7。该结果与谭向东等<sup>[12]</sup>的研究相一致,其研究发现,新疆油田回注水中的 SRB 有较广的 pH 值生长范围,且 pH 值为 6.0 ~ 8.0 区间是 SRB 的最佳 pH 值生长区间,在 pH 值小于 6 时,随着 pH 值的降低 SRB 的菌株数量将减少。由图 5 还可看出,当 SRB 的培养基初始 pH 为 5 时 SRB 菌体的数量也有增加,这说明 SRB 能够适应偏酸性的环境,可用于去除煤矿酸性废水中的离子。研究发现,SRB 的耐酸性在 pH = 5 ~ 7 之间<sup>[12]</sup>,当初始 pH 为 4 ~ 7 时,SRB 具有活性且对硫酸盐的去除率随着 pH 的升高而增加<sup>[13]</sup>。

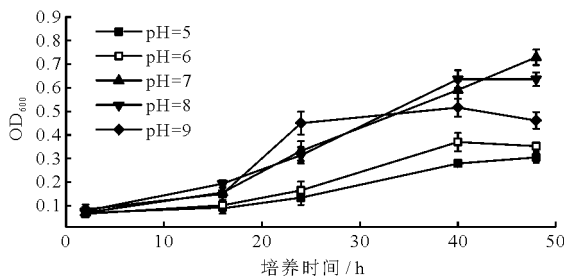


图 5 pH 值对 SRB 生长的影响

### 3.3 SRB 的生长曲线

SRB 的生长曲线见图 6。由图 6 可知,SRB 的生长曲线是典型的“S”型生长曲线。培养 0 ~ 16 h 处于停滞期,SRB 在适应新的培养条件,SRB 生长缓慢且菌种增加量小;16 ~ 40 h 处于对数期,SRB 菌种活性较高,SRB 菌种数量增加较快,适合用于处理煤矿酸性废水。该菌种与付坤等<sup>[15]</sup>分离的 SRB 菌种相比,OD<sub>600</sub> 达到最大值时所需的时间相对较短,

从修复废水的角度分析,该菌种缩短了其适应新环境的培养周期。

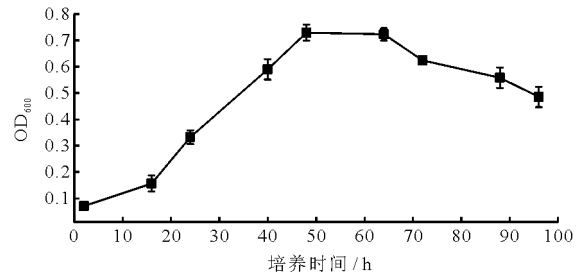


图 6 SRB 的生长曲线

### 3.4 正交试验分析

L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验结果如表 2 和 3 所示。

表 2 正交试验结果分析表

处理	因素			吸光度值 (y <sub>i</sub> )
	温度(A)/°C	pH(B)	碳源(C)	
1	1	1	1	0.456
2	1	2	2	0.863
3	1	3	3	0.834
4	2	1	2	0.708
5	2	2	3	1.035
6	2	3	1	0.573
7	3	1	3	0.882
8	3	2	1	0.565
9	3	3	2	0.959
T <sub>i1</sub>	2.153	1.594	1.594	6.875(T)
T <sub>i2</sub>	2.316	2.529	2.530	
T <sub>i3</sub>	2.406	2.750	2.751	
$\bar{x}_{i1}$	0.7177	0.8020	0.5313	
$\bar{x}_{i2}$	0.7720	0.8210	0.8433	
$\bar{x}_{i3}$	0.8020	0.7887	0.9170	

表 3 正交试验方差分析

因素	偏差平方和(SS)	自由度(df)	MS	F	F <sub>0.05</sub> (2,2)	显著性
温度(A)	0.0110	2	0.00550	0.5528	19.00	不显著
pH(B)	0.0318	2	0.01590	1.5980		不显著
碳源(C)	0.2515	2	0.12575	12.6382		不显著
误差	0.0199	2	0.00995			
总变异	0.3142	8				

通过对 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验结果进行方差分析,得出各因子对 SRB 生长影响都不显著,本试验误差的自由度相对较小,使正交试验检验结果的灵敏度有

所降低,从而在检验结果上掩盖了考察碳源、pH 和温度 3 个因素的显著性。导致正交试验结果不显著的原因也可能是不同碳源因素下选取的碳源浓度不

适宜,导致 SRB 菌种活性降低,掩盖了正交试验结果的显著性。从表 3 得出各因子对 SRB 生长影响的大小顺序是:碳源 > pH > 温度。直观地从表 2 中选择平均数大的水平  $A_2B_2C_3$  为最优组合即温度为 34℃、pH 值为 7、碳源为 70% 乳酸钠组合成 SRB 最佳生长条件。

### 3.5 SRB 对含 $Fe^{2+}$ 煤矿酸性废水的去除效果

3.5.1 SRB 对煤矿酸性废水 pH 的修复效果 不同 SRB 接种量对煤矿酸性废水 pH 的修复效果见图 7。由图 7 可以看出,SRB 接种第 1~3 d 时废水 pH 值迅速上升,第 4~5 d 时废水 pH 的变化趋于稳定。其中,添加 5%、10%、15% 和 20% SRB 菌液的煤矿酸性废水培养 5 d 后 pH 由 5 分别提高到 6.54、6.78、6.85 和 6.88。SRB 还原硫酸盐和催化氧化有机碳的同时使液体的 pH 值升高<sup>[16]</sup>,将煤矿酸性废水的 pH 由 5 提高到 7 左右,有利于加速 SRB 新陈代谢,促进煤矿酸性废水中  $SO_4^{2-}$  和  $Fe^{2+}$  的去除。

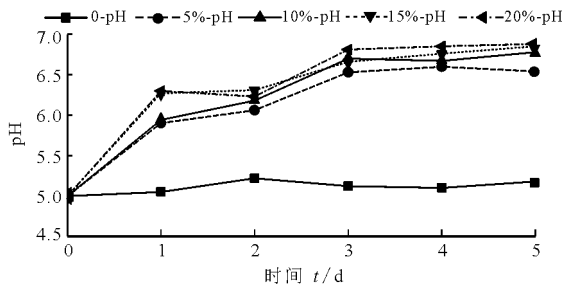


图7 不同SRB接种量对煤矿酸性废水pH的修复

### 3.5.2 SRB 对煤矿酸性废水中 $SO_4^{2-}$ 的去除效果

不同 SRB 接种量对煤矿酸性废水中  $SO_4^{2-}$  的去除效果见图 8。由图 8 可以看出,随着 SRB 处理时间的延长,SRB 对煤矿酸性废水中  $SO_4^{2-}$  的去除率不断提高,说明 SRB 异化还原废水中  $SO_4^{2-}$  的能力逐渐增强。SRB 接种第 1~3 d 对煤矿废水中  $SO_4^{2-}$  的去除效果明显提高。接种第 5 d 时,接种量为 10%、15% 和 20% 的样品对煤矿酸性废水中  $SO_4^{2-}$  的去除率均大于 74%,而接种量为 5% 的样品对煤矿废水中  $SO_4^{2-}$  的去除率仅为 38.68%。这说明菌液接种量较少时接种量对  $SO_4^{2-}$  的去除效果影响较大。本研究分离的 SRB 按 10% 接种量接种到废水中时,对  $SO_4^{2-}$  的去除率为 74.71%。杜刚等<sup>[17]</sup>研究表明,分离得到的 5 株 SRB 还原硫酸盐的能力有较大差异,对  $SO_4^{2-}$  的去除率分别为 44.69%、33.56%、52.05%、48.05% 和 88.83%。与上述学者分离的 SRB 相比,本研究分离的 SRB 还原硫酸盐的能力高于其分离的 4 株 SRB,低于其分离的 1 株 SRB,产生

差异的原因可能是菌株自身还原能力以及修复体系初始 pH 值不同造成的。

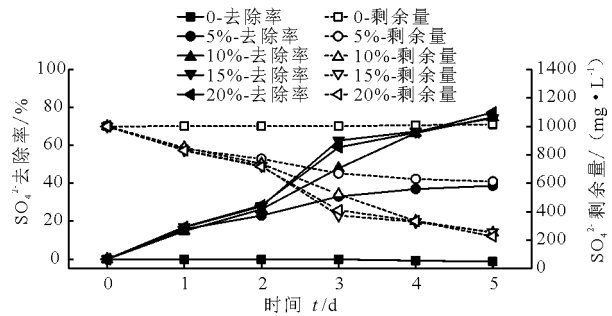


图8 不同SRB接种量对煤矿酸性废水中  $SO_4^{2-}$  的去除效果

### 3.5.3 SRB 对煤矿酸性废水中 $Fe^{2+}$ 的去除效果

不同 SRB 接种量对煤矿酸性废水中  $Fe^{2+}$  的去除效果见图 9。由图 9 可以看出,随着去除时间的延长,SRB 对煤矿酸性废水中  $Fe^{2+}$  的去除率不断提高,SRB 接种第 1~3 d 时对  $Fe^{2+}$  的去除效果增加明显,第 4 d 后去除效果增加幅度较小,接种第 5 d 时废水中的  $Fe^{2+}$  几乎全部去除。其中,接种 5%、10%、15% 和 20% SRB 对煤矿酸性废水中  $Fe^{2+}$  的去除率分别为 94.09%、99.18%、99.86% 和 99.89%。由 SRB 的生长曲线可知 SRB 接种后的 16~40 h 处于对数期,SRB 菌种活性较高,故接种第 1~3 d 时对  $Fe^{2+}$  的去除效果增加明显。此外,蒋永荣等<sup>[18]</sup>研究发现,初始  $Fe^{2+}$  浓度在低浓度范围内可以促进 SRB 的生长。SRB 对废水中  $Fe^{2+}$  的去除效果明显,且 SRB 接种量对  $Fe^{2+}$  的去除效果影响不大。SRB 去除废水中铁离子的机理可能有以下 3 个方面:(1)SRB 通过代谢作用,异化还原硫酸盐生成  $H_2S$ , $H_2S$  又与  $Fe^{2+}$  反应生成  $FeS$  沉淀;(2)SRB 代谢活动可以产生碱性,提高了酸性废水的 pH 值,使  $Fe^{2+}$  形成  $Fe(OH)_2$  沉淀;(3)SRB 代谢分泌到细胞外的胞外物和细胞膜表面带负电对铁离子的生物絮凝及静电吸附作用<sup>[19]</sup>。

已有研究数据显示,余水静等<sup>[20]</sup>应用 SRB 在温度 30℃、HRT=8 d、COD/ $SO_4^{2-}$ =1.6、进水  $SO_4^{2-}$  浓度为 2.3 g/L、进水 pH=4.5 的条件下,采用上流厌氧反应器运行 24 d 后,硫酸根平均去除率为 75.35%,铁离子的去除率为 88.87%。而本研究分离的 SRB 菌种在接种 5 d 后对  $SO_4^{2-}$  的去除率与以上学者相近, $Fe^{2+}$  的去除率却提高到 99.18%。产生  $SO_4^{2-}$  去除效果差异不大,而  $Fe^{2+}$  去除效果提高的原因,可能是在还原等量硫酸盐的条件下,本研究分离的 SRB 代谢产生碱度更高。

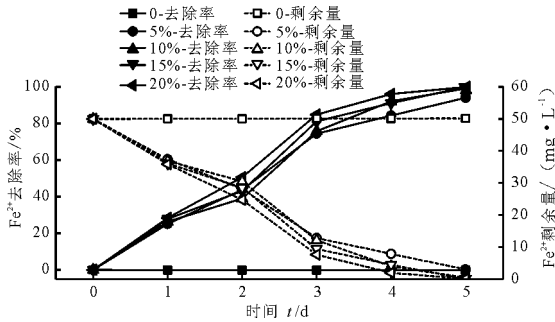


图9 不同SRB接种量对煤矿酸性废水中Fe<sup>2+</sup>的去除效果

## 4 结论

(1)经富集培养、稀释涂布-叠皿夹层法分离纯化得到的SRB的最适生长温度为34℃,高温或低温都会抑制SRB的生长;最适pH为7,且SRB能够适应pH为5的偏酸性环境,可用于去除煤矿酸性废水中的离子;SRB的生长曲线是典型的“S”型生长曲线,培养16~40h时处于对数期,SRB菌种活性较高。

(2)L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验确定SRB的最佳生长条件为:温度为34℃、pH值为7、碳源为70%乳酸钠,各因子对SRB生长影响的大小顺序是:碳源>pH>温度。

(3)接种5%、10%、15%和20%SRB对煤矿酸性废水中的Fe<sup>2+</sup>和SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>均有去除效果,综合比较,在接种10%SRB时对煤矿酸性废水中离子去除效果较好且用菌量较少,接种时间为5d时对SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>和Fe<sup>2+</sup>的去除率分别为74.71%和99.18%。

(4)本研究分离得到SRB的OD<sub>600</sub>达到最大值时所需的时间相对较短,且能够适应偏酸性的煤矿酸性废水环境,对废水中SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>的去除率相对较高,同时,对Fe<sup>2+</sup>的去除率可达到99.18%。这说明本研究分离的SRB菌种更适宜应用到处理含Fe<sup>2+</sup>煤矿酸性废水的工艺中,为矿区微生物修复含Fe<sup>2+</sup>煤矿酸性废水污染的技术提供了一定的科学依据。

### 参考文献:

[1] MIGASZEWSKI Z M, GALUSZKA A, MIGASZEWSKI A. The study of rare earth elements in farmer's well waters of the Podwiśńiówka acid mine drainage area (south-central Poland)[J]. Environmental Monitoring & Assessment, 2014, 186(3):1609-1622.

[2] 陈凤梅,李亚新. 硫酸盐还原菌处理酸性矿山废水的技术及思考[J]. 工业用水与废水,2007,38(1):17-20.

[3] 狄军贞,江富,朱志涛,等. 混合硫酸盐还原菌处理煤矿

酸性废水的固定载体研究[J]. 中国给水排水,2015,(7):100-103+108.

- [4] 王晓菲,向文英,杨静. 硫酸盐还原菌处理重金属铬离子废水的实验研究[J]. 水资源与水工程学报,2012,23(2):169-171.
- [5] 郭旭颖,里莹,董艳荣,等. SRB协同自燃煤矸石处理含Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>煤矿废水研究[J]. 工业水处理,2018,38(6):22-26.
- [6] 欧阳小雪,张国平,李海霞,等. 用硫酸盐还原菌去除废水中铊的实验研究[J]. 地球与环境,2014,42(5):663-668.
- [7] WOSIACK P A, LOPES D D, RISSATO ZAMARIOLLI DAMIANOVIC M H, et al. Removal of COD and nitrogen from animal food plant wastewater in an intermittently-aerated structured-bed reactor[J]. Journal of Environmental Management, 2015, 154:145-150.
- [8] MIAO Zhenyong, HE Huan, TAN Tian, et al. Biotreatment of Mn<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> with sulfate-reducing bacterium desulfuromonas alkenivorans S-7[J]. Journal of Environmental Engineering, 2018, 144(3):04017116.
- [9] 国家环境保护局. 水和废水监测分析方法:第四版[M]. 北京:中国环境科学出版社,2002.
- [10] 罗亚楠,蔡昌凤,黄志. 耐酸性硫酸盐还原菌的驯化及处理硫酸盐的研究[J]. 安徽工程大学学报,2013,28(1):9-12.
- [11] 程健明,汤浩,魏刚,等. 利用硫酸盐还原菌处理含重金属离子酸性废水研究进展[J]. 广东化工,2014,41(9):91-92.
- [12] 谭向东,严忠,张蕾蕾,等. 乌尔禾油田采出水中SRB生长规律研究[J]. 油气田地面工程,2016,35(7):24-27.
- [13] 江耀华,刘金辉,刘亚洁. 硫酸盐还原菌分离及其脱砷性能的研究[J]. 东华理工大学学报(自然科学版), 2014,37(2):236-239.
- [14] 王辉,戴友芝,刘川,等. 混合硫酸盐还原菌代谢过程的影响因素[J]. 环境工程学报,2012,6(6):1795-1800.
- [15] 付坤,李多,贾荣利. 煤化工废水中硫酸盐还原菌的分离及鉴定[J]. 化工环保,2018,38(4):408-412.
- [16] 胡振琪,马保国,张明亮,等. 高效硫酸盐还原菌对煤矸石硫污染的修复作用[J]. 煤炭学报,2009,34(3):400-404.
- [17] 杜刚,孙静贤,张广求,等. 硫酸盐还原菌的分离筛选及鉴定[J]. 基因组学与应用生物学,2017,36(1):246-251.
- [18] 蒋永荣,周晔,容翠娟,等. 高效硫酸盐还原菌的分离及特性研究[J]. 环境科学与技术,2009,32(11):13-17.
- [19] 王辉. 混合硫酸盐还原菌生长特性及处理重金属废水的研究[D]. 湘潭:湘潭大学,2011.
- [20] 余水静,彭艳平. 硫酸盐还原菌处理矿山酸性废水的试验研究[J]. 金属矿山,2011(1):124-127.