

# 一株硫酸盐还原菌的分离及处理含铁锰废水的实验

牛晓丽, 郑健, 李强, 谷洪雪

(辽宁工程技术大学 建筑工程学院市政系, 辽宁 阜新 123000)

**摘要:** 通过实验分离并纯化出一株硫酸盐还原菌(编号为SRBd),初步鉴定为脱硫杆菌属(Desulfobacter);对SRBd菌株在不同菌液投加量、pH值、振荡强度及其碳硫条件下进行 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 去除特性实验,得出反应的最佳条件为:温度为 $37^\circ\text{C}$ 、pH值为6、振荡强度为 $100\text{ r/min}$ 、 $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$ 为 $2/1$ ,在此最佳条件下对 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 的去除率分别为 $88.16\%$ 、 $99.37\%$ 、 $59.18\%$ ,SRBd具有较好的铁锰去除能力,该研究成果可为生物法处理AMD提供一定的参考依据。

**关键词:** 硫酸盐还原菌(SRB); 铁锰废水; 铁锰去除率

中图分类号:X703.1

文献标识码:A

文章编号:1672-643X(2012)02-0090-03

## Experiment of isolation of a sulfate reducing bacteria and treatment of iron manganese wastewater

NIU Xiaoli, ZHENG Jian, LI Qiang, GU Hongxue

(College of Architecture Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China)

**Abstract:** A strain of sulfate reducing bacteria is separated and purified by experiment (be named SRBd), and is identified to desulfobacter preliminarily. Characteristic experiment of SRBd strain to remove  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  in wastewater is made under different conditions of bacteria liquid dosage, pH value, oscillation intensity and carbon sulfur. The result indicated that  $37^\circ\text{C}$ , 6 of pH,  $100\text{ r/min}$  of shock strength,  $2/1$  of  $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$  are the best reaction conditions. Under the best condition, removal rate is  $88.16\%$ 、 $99.37\%$  and  $59.18\%$  to  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  respectively. So the SRBd has the better removal performance to  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ . This result can provide a certain reference for AMD treated by biological method.

**Key words:** sulfate-reducing bacteria (SRB); iron manganese wastewater; removal rate of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$

## 1 概述

当前,硫酸盐矿山废水的污染已经成为一个全球性的问题,全球很多城市的地下水和地表水系已经受到不同程度的硫酸盐酸性废水污染<sup>[1]</sup>。而含重金属离子的酸性硫酸盐废水对人类和环境的危害极大,对其治理已经迫在眉睫<sup>[2]</sup>。采用中和法等传统的物理化学方法具有运行成本高、产生二次污染等缺点<sup>[3-4]</sup>;微生物法处理酸性矿山废水就是利用硫酸盐还原菌(Sulfate - Reducing Bacteria, SRB)通过异化硫酸盐的生物还原反应,将硫酸盐还原为 $\text{H}_2\text{S}$ ,并利用某些微生物将 $\text{H}_2\text{S}$ 氧化为单质硫<sup>[5]</sup>。近年来,硫酸盐还原菌(SRB)在处理高硫酸盐有机

废水、电镀废水等方面取得了较大进展,具有以废治废、处理重金属种类多、处理彻底、处理潜力大等特点<sup>[6]</sup>。

本实验以微生物法处理含重金属离子的酸性矿山废水为背景,研究目的是通过微生物的富集、分离、纯化技术培养出一株性能优良生长迅速的高效菌株,并对其进行驯化,通过实验研究出适合其生长的环境条件和影响因素。

## 2 SRB的富集与分离

### 2.1 SRB驯化与富集

从阜新市清源污水处理厂二次沉淀池回流污泥取样,厌氧发酵15 d,严格按照要求配制硫酸盐还原菌

收稿日期:2011-12-05; 修回日期:2011-12-22

基金项目:国家“大学生创新性实验计划”项目(2008300)资助

作者简介:牛晓丽(1989-),女,河北邯郸人,大学本科,辽宁工程技术大学建筑工程学院给水排水专业2008级学生。

液体培养基,污泥按照5%的接种量,将污泥与培养基分装在5个250 mL的锥形瓶中,并在每个锥形瓶中加入10 mL液体石蜡,达到隔绝空气的作用,编号为A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>、A<sub>5</sub>进行富集,每天观察其生长状况并记录,五次富集之后,将长势最好的利用稀释涂布-叠皿夹层培养分离、筛选<sup>[7]</sup>。

## 2.2 SRB分离与初步鉴定

配制琼脂浓度为2%的培养基,灭菌后待温度降至50℃左右时,在无菌条件下,将培养基倒入已灭菌并编号的培养皿( $d \times h = 90 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ )的血盖中,其厚度为血盖高度的1/4左右为宜。待培养基平板冷却后,将富集液分别按 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 稀释度吸取0.2 mL均匀涂布在平板上。在37℃的条件下培养3~4 d。重复进行稀释涂布、夹层培养、挑选等3次,即可达到对SRB的分离纯化<sup>[8]</sup>。该菌在含Fe<sup>2+</sup>半固体培养基中菌落呈圆形,边缘整齐,培养3 d的菌落直径约3 mm,氧化酶阴性,具有运动性,革兰氏染色阴性,有芽孢,见图1;普通光学显微镜( $\times 1600$ )下观察到细胞形态呈棒状,见图2,细胞大小(0.2~0.4)  $\mu\text{m} \times (1 \sim$

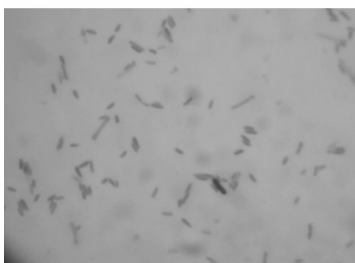


图1 SRBd简单染色  
(电子显微镜 $\times 1600$ )

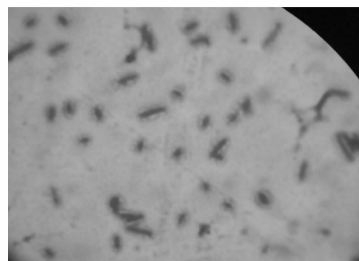


图2 SRBd革兰氏染色  
(电子显微镜 $\times 1600$ )

## 3.2 pH对去除率的影响

分别设定pH 5.0、6.0、7.0、8.0的梯度,菌液投加量为5 mL菌液/100 mL废水,碳硫比为2:1、温度为37℃厌氧条件下在恒温振荡器中以震荡强度为50 r/min培养3 d,测定废水中剩余的SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Fe<sup>2+</sup>和Mn<sup>2+</sup>的浓度,去除率见图4。实验结果得,对SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>的去除率分别为80.32%、86.93%、84.15%和73.41%,此时对Fe<sup>2+</sup>的去除率为98.61%、98.35%、98.93%和99.57%,对Mn<sup>2+</sup>的去除率为57.39%、54.62%、46.30%和48.38%。适合的pH值是SRB正常生长、有效去除重金属离子的关键。对于大多数SRB而言,其耐受的pH范围较窄,pH一般在7.0左右<sup>[8]</sup>。

SRBd的pH生长范围很宽,这对于今后将其应用于工业废水的处理是一个潜在优势。本实验需要

3)  $\mu\text{m}$ ,能利用乳酸钠、乙酸钠、牛肉膏、酵母膏和蛋白胨进行生长。根据文献<sup>[7]</sup>,该菌株为脱硫杆菌属细菌,对其编号为SRBd。

## 3 SRB处理酸性矿山废水的特性研究

### 3.1 菌液投加量对去除率的影响

分别吸取0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6 mL浓菌液加入到100 mL实验室配置废水中,以碳硫比为2:1、pH值为7、温度为37℃厌氧条件下在恒温培养箱中培养3天,测定废水中剩余的SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Fe<sup>2+</sup>和Mn<sup>2+</sup>的浓度,去除率见图3。结果表明当菌液为5 mL、5.5 mL和6 mL时,SRBd对SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>的还原能力达到饱和,其去除率分别为82.22%、83.63%和82.91%,此时对Fe<sup>2+</sup>的去除率为92.61%、91.65%和95.57%,对Mn<sup>2+</sup>的去除率为40.92%、38.14%和39.79%。最适菌废比不仅可以最大限度的发挥SRB去除SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Fe<sup>2+</sup>和Mn<sup>2+</sup>的作用,还可以为大规模处理废水降低成本。所以最佳菌液投加量为5 mL菌液/100 mL废水。

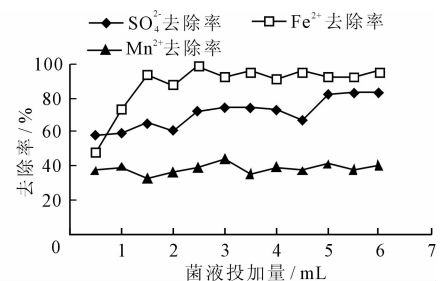


图3 不同菌液投加量对去除率的影响变化曲线

处理的废水是酸性矿山废水,其pH较低,根据不同pH时的去除率和SRBd的生长情况,确定最佳pH为6。

### 3.3 振荡强度对去除率的影响

不同振荡强度对SRBd去除SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Fe<sup>2+</sup>和Mn<sup>2+</sup>的影响。分别设定振荡强度0、50、100、150 r/min,其他条件相同:菌液投加量为每100 mL废水投加5 mL菌液,碳硫比为2:1、pH值为6、温度为37℃厌氧条件下培养3 d,测定废水中剩余的SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Fe<sup>2+</sup>和Mn<sup>2+</sup>的浓度,实验结果见图5,表明不同振荡强度对SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>的去除率分别为80.54%、86.93%、88.62%和38.94%,此时对Fe<sup>2+</sup>的去除率为99.17%、98.35%、98.85%和99.16%,对Mn<sup>2+</sup>的去除率为53.69%、54.62%、59.18%和45.15%。

适当的振荡强度会增加 SRBd 与废水的接触面积, 增加 SRBd 还原  $\text{SO}_4^{2-}$  的速度, 提高反应速度。根据实验数据, 确定反应的最佳振荡强度为 100 r/min。

### 3.4 碳硫比对去除率的影响

分别设定碳硫比为 1:1、2:1、3:1、4:1, 其他条件相同: 每 100 mL 废水菌液投加量为 5 mL 菌液, pH 值为 6、温度为 37°C 厌氧条件下在恒温振荡器中以震荡强度为 50 r/min 培养 3 d, 测定废水中剩余的  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$  的浓度, 并计算去除率, 实验结果见图 6。实验结果得, 对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率分别为

79.31%、86.93%、83.82% 和 80.97%, 此时对  $\text{Fe}^{2+}$  的去除率为 99.24%、98.35%、91.07% 和 99.12 对  $\text{Mn}^{2+}$  的去除率为 46.99%、54.62%、38.03% 和 51.15%。碳硫比对硫酸盐还原菌生长起着至关重要的作用, 这一比值决定了  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率, 在高浓度硫酸盐有机废水的厌氧处理中, 硫酸盐还原菌与产甲烷菌的竞争是必然的, 很多实验结果证实了在处理高浓度有机废水时, 如果碳硫比较大, 则产甲烷菌反应是主导反应, 因此硫酸盐还原被抑制<sup>[10]</sup>。结合本实验的实验数据, 得出最佳碳硫比为 2:1。

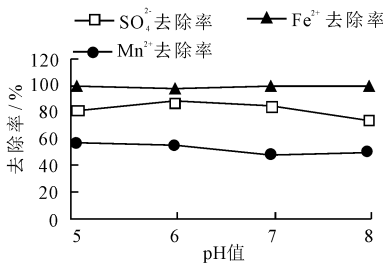


图 4 不同 pH 的去除率

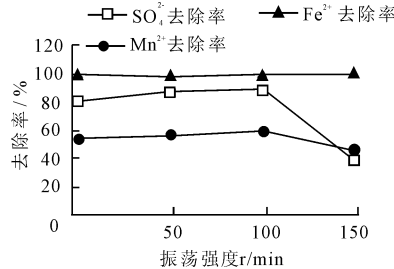


图 5 不同振荡强度的去除率

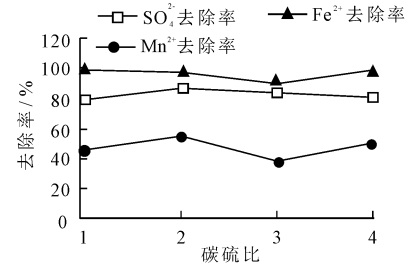


图 6 不同碳硫比的去除率

## 4 结 语

从污水处理厂污泥中分离得到一株高效耐酸硫酸盐还原菌 SRBd, 经初步鉴定为脱硫杆菌属 (*Desulfobacter*)。实验结果表明, SRBd 菌株具有较宽的 pH 生长范围, 对  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  去除特性实验表明: 最佳反应条件为温度 37°C、pH 6、震荡强度 100 r/min、碳硫比 2:1, 在此条件下对  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$  的去除率分别为 88.16%、99.37% 和 59.18%。

### 参考文献:

[1] 罗凯, 张建国. 矿山酸性废水治理研究现状[J]. 资源环境与工程, 2005, 19(1): 45-49.  
 [2] 马晓航, 贾小明, 赵宇华. 用 SRB 处理重金属废水的研究[J]. 微生物学杂志, 2003, 23(1): 36-40.  
 [3] Kyle M Stephens, John C Senicindiver, Jeffery G Skousen. Characterization of natural wetland soils receiving acid mine drainage[C] // . 20th National Conference - ASMR/9th bill-

ings Land Reclamation Symposium. 2003: 1240-1265.  
 [4] Kalin M. Biogeochemical and ecological consideration in designing wetland treatment systems in post-mining landscapes [J]. Waste Management, 2001, 21: 191-196.  
 [5] 魏榕, 黄健. 酸性矿山废水的污染与处理研究[J]. 能源与环境, 2006(2): 31-33.  
 [6] 饶俊, 张锦瑞, 徐晖. 酸性矿山废水处理技术及其发展前景[J]. 矿业工程, 2005, 3(3): 47-49.  
 [7] 万海清, 苏仕军, 等. 一种分离培养硫酸盐还原菌的改进方法[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(5): 561-562.  
 [8] 葛晓光, 杨柳, 彭申华, 等. 一株煤矿地下水硫酸盐还原细菌的分离、鉴定及性质研究[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2011, 34(3): 420-423.  
 [9] 冯颖, 康勇, 范福洲, 等. 酸性矿山废水形成与处理中的微生物作用[J]. 有机金属, 2005, 7(3): 103-108.  
 [10] Ata Akcil and Soner Koldas. Acid Mine Drainage (AMD) causes, treatment and case studies[J]. Journal of Cleaner Production, 2006, 14: 1139-1145.