

## 硫酸盐还原菌治理煤矿酸性废水的试验研究

### 摘要

我国是煤炭生产大国，但又是水资源贫国。采煤生产将宝贵的地下水变成酸性废水排出，排出的酸性废水又再次污染洁净的地表水和地下水资源及土地资源，危害农作物、水生生物和人体的健康。煤矿酸性废水资源化与无害化，既保护了水土环境，又将废水变成可利用的水资源，对我国特别是西部地区有着重要的意义。我国中西部地区为干旱、半干旱地区，水资源严重短缺，水是制约该地区发展的重要因素；中西部地区煤炭资源丰富，是我国煤炭主要产区，也是中西部经济发展的重要组成部分。如何保护水资源、提高水资源的利用率，是中西部经济的重要环节。

目前硫酸盐还原菌处理高硫酸盐废水，主要通过污水处理厂来实现，而酸性煤矿废水利用污水处理厂来处理的主要缺点是基建工程和设备投资大，运行费用高，耗能大，处理量小，企业很难负担。因此，降低煤矿废水处理成本的研究就显得很有意义。采煤导致地表变形，部分塌陷地带形成积水，本文研究以天然积水洼地作为反应器，通过向其中投加适量微生物以及所需要的基质碳源来处理煤矿废水的可行性。

本研究试验首先分离出两株硫酸盐还原菌，并对此两种菌进行鉴定，研究了菌株生长和脱硫的适宜条件范围，然后利用敞口反应器模拟煤矿酸性废水的天然条件，人为投加菌种和碳源，创造硫酸盐还原菌治理煤矿酸性废水的环境，通过分析有机酸的利用，pH 值变化，硫酸根的去除率以及重金属的去除率，研究天然条件下利用生物法处理煤矿酸性废水的可行性；并对几种廉价碳源作初步试验。以期为今后进一步研究提供思路 and 方向，对学科发展起推动作用。经过对试验结果整理分析，得到以下结论：

(1) 由太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥中分离出两株硫酸盐

还原菌，经鉴定，一株为脱硫脱硫弧菌，另一株为脱硫肠状菌；经试验知脱硫脱硫弧菌的生物活性要优于脱硫肠状菌，选取脱硫脱硫弧菌作为修复煤矿酸性废水的试验菌种。

(2) 脱硫脱硫弧菌在以下范围内生长较好：pH 值在 5~8，温度 20℃ 以上，接种量在 20% 以上。pH 值 4 时菌体也可以生长；接种量越大  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率越好； $\text{SO}_4^{2-}$  的初始浓度对菌体处理  $\text{SO}_4^{2-}$  绝对量没有影响， $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率随着初始浓度的升高而降低；随着温度降低，对  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物还原能力依次降低。

(3) 以乳酸钠作碳源脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟试验时发现，使其利用天然积水洼地作为反应器的思路是可行的。使煤矿酸性废水的 pH 值都达到 6.5 以上，对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率最大为 61.98%，并且对铁的去除率为 100%，对锰的去除率也都在 85% 以上。

(4) 碳源选择的试验发现，糖蜜可以做脱硫脱硫弧菌的碳源，在煤矿酸性废水进行中和反应后效果更好，对煤矿废水中  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率最大为 64.75%，并且对锰的去除率最大为 90.46%，对铁的去除率为 79.5%；生活污水和腐殖质在目前所采用的模拟试验条件下不能被脱硫脱硫弧菌利用。

通过本文研究，可以印证硫酸盐还原菌治理煤矿废水在理论上是正确的，实践上是可行的。

关键词：硫酸盐还原菌，煤矿酸性废水，廉价碳源，敞口反应器

**THE EXPERIMENTAL RESEARCH  
ON THE DISPOSITION OF ACID  
COAL MINE DRAINAGE BY SRB**

**ABSTRACT**

China is a big coal production country where the water resources are insufficient. The precious underground water is turned into acid waste water through mining and discharged which in turn pollutes clean surface water, underground water and land resources, damages crops, aquatic lives as well as human health. If the acid waste water could be used reasonably and turned to harmless, water and land resources can be protected and waste water can be turned into useful water resources which has significant meaning to our country-especially the western district. Water is of severe shortage in the dry and semi-dry middle and western parts of China, therefore water is a crucial factor for the development of the area. The middle and western parts which are the main coal output districts are abound with coal which are the important components of their economic development. Consequently, it is a significant part for the economy of the districts to protect and raise the utilization of water resources.

In recent years, the disposition of high sulfate waste water by sulfate reducing bacteria is carried out mainly passing sewage treatment factory. The main disadvantages of using sewage treatment factory are as follows: the project and equipments need large investment, running fee is high, energy consuming is large, and disposition amount is small, which cause that the enterprises couldn't afford to. It is very necessary to study how to reduce the processing cost of the coal mine drainage. The surface subsidence due to coal mining usually formate

accumulating water area. The text research the possibility to dispose the acid coal mine drainage using natural surface subsidence for the reactor and throwing the right amount microorganism as well as carbon source.

In this research, we first separated and identified two strains of sulfate reducing bacteria and studied the condition scope of suitable desulphurization and the strain growth. SRB and carbon source were artificially added to the reactor which simulated the natural condition of the coal mine drainage. The feasibility to dispose acid coal mine drainage by sulfate reducing bacteria under the natural condition is researched through the analysis of the organic acid use, the change of pH, the removal efficiency of  $\text{SO}_4^{2-}$  and heavy metal. The experiment of the cheap carbon sources was also attempted. After the neatening and analyzing of the experimental results, the following conclusions can be drawn:

(1) Two strains of sulfate reducing bacteria which were isolated from the pond backflow sludge of Taiyuan sewage treatment factory are identified as *Desulfovibrio desulfuricans* and *Desulfotomaculum sp.* respectively. It is confirmed that the biological activity of *Desulfovibrio desulfuricans* is better than that of *Desulfotomaculum sp.*, therefore *Desulfovibrio desulfuricans* is selected as experimental bacterium.

(2) The optimum growth range of the *Desulfovibrio desulfuricans* is pH 5~8, above 20°C, inoculating amount above 20%. *Desulfovibrio desulfuricans* also can grow when pH is 4 and the removal efficiency of  $\text{SO}_4^{2-}$  became higher as the increasment of inoculating amount. The effect of original concentration of  $\text{SO}_4^{2-}$  on absolute treatment quantity is not significant, but removal efficiency of  $\text{SO}_4^{2-}$  became lower as the increasment of the original concentration. Bioreduction ability is decreasing with temperature reducing.

(3) It can be concluded that it is practicable to dispose acid coal mine

drainage by sulfate reducing bacteria under the natural condition from the simulating experiment on the disposition of acid coal mine drainage when sodium lactate as carbon source of *Desulfovibrio desulfuricans*. It can be concluded following results after disposition: the pH value is over 6.5, the removal efficiency of  $\text{SO}_4^{2-}$  is 61.98%, the removal efficiencies of Fe and Mn are 100% and 85% respectively.

(4) From the experiment of selecting cheap carbon sources, we can concluded that molasses can be used as carbon source of *Desulfovibrio desulfuricans* and the results are better after the coal mine drainage is moderated. The removal efficiencies of  $\text{SO}_4^{2-}$ , Fe and Mn are 64.75%, 79.5% and 90.46% respectively. Sewage and humic can't be used by *Desulfovibrio desulfuricans* under the current test conditions.

Through the research, it can be concluded that it is feasible in theory and practice treating acid coal mine drainage by sulfate reducing bacteria.

**KEY WORDS:** sulfate reducing bacteria (SRB) , acid coal mine drainage (ACMD) , cheap carbon source, unsealed reactor

## 声 明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在指导教师的指导下，独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名： 尹秀贞 日期： 2007.5.25

### 关于学位论文使用权的说明

本人完全了解太原理工大学有关保管、使用学位论文的规定，其中包括：①学校有权保管、并向有关部门送交学位论文的原件与复印件；②学校可以采用影印、缩印或其它复制手段复制并保存学位论文；③学校可允许学位论文被查阅或借阅；④学校可以学术交流为目的，复制赠送和交换学位论文；⑤学校可以公布学位论文的全部或部分内  
容（保密学位论文在解密后遵守此规定）。

签 名： 尹秀贞 日期： 2007.5.25

导师签名： 李+志+明 日期： 2007.5.25

# 第一章 引言

## 1.1 研究课题的目的及意义

煤炭是我国的支柱能源，在能源结构中占 70%以上，煤炭产量呈加快态势，“十一五”规划力争到 2010 年将煤炭产量控制在 25 亿吨。因此，伴随着煤炭工业的发展所引起的一系列环境污染问题也日益严重。煤矿酸性废水（ACMD）的排放就是其中突出的水污染问题。

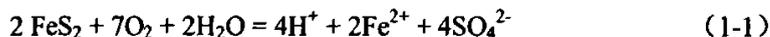
### 1.1.1 酸性煤矿废水的成因<sup>[1]</sup>

在煤层的形成过程中，由于受到还原的作用，煤层及其围岩中含有硫铁矿（FeS<sub>2</sub>）等还原态的硫化物。煤炭的开采破坏了煤层原有的还原环境，提供了氧化这些还原态硫化物所必须的氧。地下水的渗出并与残留煤以及顶底板的接触，促使煤层或者顶底板中的还原态硫化物氧化成硫酸。

硫铁矿氧化产酸过程可划分为两个阶段：第一阶段是以自然界中的氧参加为主的反应，主要生成产物为硫酸和硫酸亚铁，且在氧充足时亚铁可被氧化成高铁，但此过程极为缓慢；第二阶段是 pH 值降至 4.5 以后，细菌参与了硫铁矿氧化过程，这时的反应比第一阶段快。其主要过程如下：

#### 1. FeS<sub>2</sub> 的氧化作用

(1) 在氧和水存在的条件下，煤层或者顶、底板岩层中硫铁矿被氧化，生成硫酸和亚铁离子：



(2) 在酸性条件下，亚铁离子被进一步氧化成铁离子：

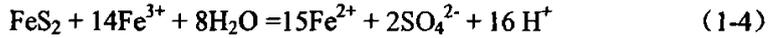


(3)由于  $\text{Fe}^{3+}$  在 pH 值大于 3.5 时, 水解生成氢氧化铁, 增加了煤矿矿井水的酸度:



从以上反应式可以看出, 2mol 的  $\text{FeS}_2$  氧化产生 6mol 的  $\text{H}^+$  和 2mol 的  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , 结果不但使矿井水呈酸性, 而且因  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  悬浮于水中, 使其呈黄褐色。

同时研究发现,  $\text{FeS}_2$  的氧化产物  $\text{Fe}^{3+}$  对  $\text{FeS}_2$  具有氧化作用:



因此加快了  $\text{FeS}_2$  氧化速度, 增加了矿井水的酸度。

综合上述过程,  $\text{FeS}_2$  氧化形成煤矿酸性矿井水的过程如图 1-1 所示。

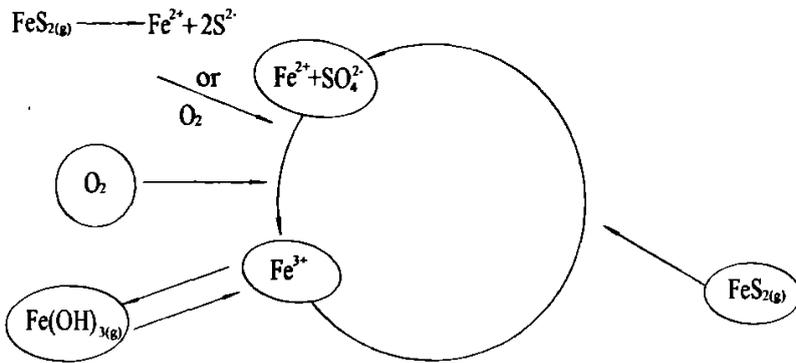


图 1-1  $\text{FeS}_2$  形成酸性矿井水的过程示意

Fig1-1 The process of the  $\text{FeS}_2$  the formation ACMD singsals hint

## 2. 细菌的催化作用

BARNES H.L、张连瑞等人研究发现, 细菌在酸性矿井水形成过程中起重要的催化作用。与硫铁矿类产酸有关的细菌主要是氧化亚铁硫杆菌、氧化硫杆菌、氧化铁硫杆菌生金属菌<sup>[2]</sup>。它们在一定的 pH 值和温度范围内有较强的催化氧化活力, 在常温下能使硫铁矿的氧化速率提高几十倍。Walsh 实验表明<sup>[3]</sup>, 氧化铁硫杆菌将亚铁氧化的同时, 二氧化碳被细胞利用, 转化为细菌体物质。如此循环使生物氧化持续发展, 导致大量酸性废水产生。

### 1.1.2 我国煤矿酸性废水的现状

据统计, 每开采 1 吨煤排放废水 1~1.5 吨, 破坏水资源达 2.5 吨左右。煤系地层和煤中的硫铁矿是形成酸性矿井水的物质基础, 硫铁矿在空气和水的共同作用下, 经化学

和生物氧化作用产生  $\text{H}_2\text{SO}_4$  以及以  $\text{Fe}^{2+}$  为主的各种金属离子, 矿井水酸性的强弱, 既取决于煤层及围岩中含硫量, 又与开采方式、地质条件等密切相关。

我国各成煤地质年代中, 石炭纪上统太原组煤和晚二叠纪乐平组煤系的平均含硫量为最高水平, 前者 3.5%, 后者 4.43%, 长江以南乐平组煤系分别占当地有关各省区全部含煤量的 50%~90%, 煤中含硫量为 2%~9%, 硫的成分分析表明, 硫铁矿硫占全硫的 2/3。因此, 我国南方许多煤矿矿井排水为酸性矿井水。在北方, 一些开采海陆交互沉积或浅海相沉积的石炭二迭纪太原统煤层的煤矿, 因煤层含硫量高, 其矿井排水往往呈酸性。如我国陕西、宁夏、内蒙、山东等省(区)的部分矿井。煤矿酸性水的 pH 值一般在 3.0~3.5 之间, 我国南方大部分酸性水 pH 值介于 2.3~5.7 之间。此外酸性水一般还含有大量的  $\text{Fe}(\text{Fe}^{2+}, \text{Fe}^{3+})$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  及一定量的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  等金属离子及  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{HCO}_3^-$  等阴离子<sup>[1]</sup>。

### 1.1.3 煤矿酸性废水的危害

我国是煤炭生产大国, 但又是水资源贫国。采煤生产将宝贵的地下水变成酸性废水排出, 排出的酸性废水又再次污染洁净的地表水和地下水资源及土地资源, 危害农作物、水生生物和人体的健康。

ACMD 不经处理直接排入水体将会污染地表水体, 破坏生态环境, 由于酸性矿井水的 pH 值较低, 通常  $\text{pH} < 5.0$ , 导致鱼类、藻类、浮游生物等绝大多数水生生物死亡, 既减少了水生生物的数量, 也限制了生物的多样性, 如美国宾夕法尼亚州, 超过 3000 英里的河流受到酸性矿井水的污染, 由此造成的渔业损失每年接近  $6.7 \times 10^7$  美元, 而要恢复这些遭到破坏的流域, 费用估计超过  $5 \times 10^9$  美元; 酸性矿井水在井下与围岩裂隙水存在着一定的水力联系, 因此有可能在未排放前, 直接污染地下水; 酸性矿井水 pH 值较低, 因而导致强烈的腐蚀, 酸性水腐蚀水泵配件、管材、坑道设备, 在前苏联布里亚矿区, 由于酸性水的产生, 在 8h 内, 使钻杆直径减少 1mm, 酸性矿井水甚至会影响下游桥梁的安全; 酸性水在向深部排泄过程中, 可能发生脱硫酸作用, 生成的硫化氢毒性很强, 极有可能造成对井下工人身体健康的损害; 酸性矿井水在排放过程中, 由于产生  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  沉淀, 使接受它的水体两岸和底部变成令人厌恶的红褐色, 破坏了当地的自然环境景观, 有可能影响附近的旅游观光产业<sup>[4]</sup>。

硫酸盐废水潜伏周期长,虽然有自然的稀释作用,即在短时间内不会有明显的负面作用,但是一旦大面积的形成污染,则其治理难度很大<sup>[5]</sup>。这是因为硫酸盐在水体中的性质很稳定,不像一些有机废水可以比较容易的依靠自然的作用而逐渐的消除污染,污染作用因此会很容易积累。

#### 1.1.4 研究课题的目的及意义

采煤将宝贵的地下水资源变成酸性废水排出,排出的酸性废水又再次污染洁净的地表水和地下水资源及土地资源、危害农作物、水生生物和人体健康。我国中西部地区为干旱、半干旱地区,水资源严重短缺,如山西省人均水资源量仅为全国人均水资源的 19%,而山西省 2006 年煤产量占全国总产量的 1/4,水是制约该地区发展的重要因素;中西部地区煤炭资源丰富,是我国煤炭主要产区,也是中西部经济发展的重要组成部分。如何保护水资源、提高水资源的利用率,是中西部经济发展的重要环节。

对于 SRB 生物处理酸性煤矿废水的技术,过去已有许多学者进行了研究。在前人的实验中,所采用的生物反应器、载体介质,尤其是基质碳源等各有特色,这些实验成果要应用于实践中,就需要成立污水处理厂来实现,而酸性煤矿废水利用污水处理厂来处理的主要缺点是基建工程和设备投资大,运行费用高,耗能大,处理量小,企业很难负担,尤其是那些分散的乡镇煤矿是很难做到的。因此,降低煤矿废水的处理成本的研究就显得很有意义。本文就是研究在天然条件下,以天然积水洼地作为微生物的反应器,通过向其中投加适量微生物以及所需要的基质碳源等来处理煤矿废水的可行性。

本课题是国家自然科学基金资助项目“黄土—湿地植物—微生物生态系统处理煤矿酸性废水”中的子课题,探讨微生物在天然状态下处理煤矿酸性废水的生长环境影响因子,研究生物模拟处理煤矿酸性废水的效果,来揭示其规律及机理。

## 1.2 国内外的研究现状及其进展

酸性煤矿废水的污染是一个全球性问题,处理、利用煤矿酸性废水得到国内外学者的广泛关注。自 20 世纪 40 年代以来,国外对煤矿酸性废水的成因和防治就进行了大量的研究。从 70 年代开始,我国也积极采用各种措施对煤矿废水进行治理。目前国内

外采取的方法主要有沉淀法、粉煤灰法、湿地法、微生物法等。

## 1. 沉淀法处理煤矿酸性废水

沉淀法又包括中和沉淀法和硫化物沉淀法。

### (1) 中和沉淀法<sup>[6]~[8]</sup>

中和沉淀法就是向酸性污水中投入中和剂,使重金属离子与氢氧根离子反应,生成难溶于水的氢氧化物沉淀,使污水净化,最后使污水达到排放标准。目前,国内通常是采用石灰或石灰石中和沉淀法,以石灰石为中和剂的主要有石灰石中和滚筒过滤法、升流膨胀过滤中和法;以石灰为中和剂主要有石灰乳井下注入中和法和石灰乳中和处理法。

石灰石中和滚动过滤法和升流膨胀过滤法的基本原理均是采用石灰石作中和剂与酸性矿井水中  $H_2SO_4$  进行中和反应。产生微溶  $CaSO_4$  和易分解的  $H_2CO_3$ ,由于滤料处于不断的滚动和摩擦状态,使滤料不断产生新的反应表面,从而使反应能够连续进行。此法优点是操作简单,管理方便,工作环境较好,处理费用低。缺点有:在中和反应后的出水中存在着大量的  $H_2CO_3$ ,使出水的 pH 值难以达到排放标准,一般只能维持在 4.0~4.5 之间;对二价铁的去除效果差;在中和滚筒过滤法中,因大量的  $CaSO_4$  在滚筒内壁和出水口处产生沉淀,造成滚筒内径有效尺寸减少,堵塞滚筒出水口,故要经常进行清洗。

石灰乳中和法和石灰乳井下注入中和法的处理原理是利用石灰( $CaO$ )与酸性矿井水中  $H_2SO_4$  产生反应,生成  $CaSO_4$  沉淀,同时使酸性矿井水得到中和。石灰中和法的优点是操作方便,价格合理。缺点是反应池一般采用隔板式,由于矿井水中悬浮物浓度高,这些颗粒将同石灰乳包裹在一起,形成较大颗粒而沉淀于池底,降低石灰的利用率。此外,由于不设搅拌器,石灰乳在反应池内仅靠水力作用与  $H_2SO_4$  产生反应,因此,混和不均匀,造成出水 pH 值仍达不到排放标准。

### (2) 硫化物沉淀<sup>[9]~[11]</sup>

金属硫化物溶解度通常比金属氢氧化物低几个数量级,因此,在廉价可得硫化物(如  $Na_2S$ 、 $(NH_4)_2S$  和  $H_2S$ ) 的场合,可考虑使用硫化物作沉淀剂,在废水中添加硫化物离子使金属硫化物沉淀。一般采用二段处理:首先石灰中和,然后硫化物沉淀。

谢光炎、戴文灿等对广西某铅锌矿酸性废水进行了试验,发现采用离子浮选和中和

沉淀浮选法进行处理时,沉淀物可浮性相对较差,处理效果不十分好,采用硫化沉淀浮选法后,排放废水达到了国家污水综合排放一级标准,排入附近水体中不会对环境产生污染。黄万抚、王淑君等采用选择性沉淀-浮选技术,不仅能处理矿山含重金属离子废水,同时还能回收其中的有用金属。

然而,如果这些硫化物沉积污泥不在水下封存或排除氧化条件,其可能再氧化生成硫酸,使 pH 降低,金属沉淀物溶解,重新造成环境问题。因此,采用硫化物沉淀方案必须综合考虑。

## 2. 粉煤灰处理<sup>[12]~[14]</sup>

粉煤灰不仅含有碱性氧化物,而且具有一定的吸附特性。中国矿业大学张雁秋等人 1994 年采用粉煤灰处理模拟酸性矿井水的试验研究,取得了显著的效果。研究成果证明,粉煤灰不仅可中和酸性矿井水,而且对水的  $\text{Fe}^{2+}$  离子的去除率可分别达到 95%~100%。对  $\text{Fe}^{2+}$  离子的饱和去除量可达到 42.0mg  $\text{Fe}^{2+}$ /g 粉煤灰。

粉煤灰对酸性水的中和反应为负反馈反应,中和反应速度常数明显受起始 pH 值的影响,反应所需时间一般为 20~30min。试验同时发现,当 pH < 2.0 时,则  $\text{Fe}^{2+}$  离子的去除率很低,仅为 12.9%因此,从工艺设计上应先用其它中和剂将 pH 值提高至 3.0 以上,再用粉煤灰进行处理为佳,这样不仅可以减少粉煤灰的消耗,而且相应降低了沉淀负荷。

虽然粉煤灰对  $\text{Fe}^{2+}$  离子的去除机理尚待进一步研究,但因粉煤灰的来源广泛,取材容易,价格低廉,用它处理酸性矿井水,无疑又开辟了一条以废治废的、充满希望的环保之路。

## 3. 湿地法

湿地是介于陆地和水生环境之间的过渡带,是一种具有多种功能和使用价值的生态系统。人工湿地法就是利用自然湿地生态系统中物理、化学、生物的协同作用,通过沉淀、吸附、阻隔、微生物同化分解、硝化、反硝化以及植物吸收等途径去除悬浮物、有机物、N、P 和重金属等<sup>[15]</sup>。美国学者 Chironic 在总结了 50 块湿地处理含硫酸盐酸性废水的成功经验后提出,湿地中存在着大量的硫酸盐还原菌,这种细菌在厌氧环境中能将  $\text{SO}_4^{2-}$  还原为  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  随后又与金属离子作用,生成不溶性硫化物,沉淀于湿地底部<sup>[16]~[17]</sup>。

阳承胜等人<sup>[18]</sup>对广东省韶关市凡口铅/锌矿采矿废水的研究表明,经湿地系统处理后, COD、SS、Pb、Zn、Cu 和 Cd 的去除率分别为 92.19%、99.62%、93.98%、97.02%、96.87%和 96.39%,主要污染物 TSS、Pb、Zn 等均达到工业排放标准。此外,人工湿地在处理铁矿酸性废水的试验结果表明<sup>[19]</sup>,酸水 pH 值由 2.6 升高到 6.1;铜离子由  $25.79 \times 10^{-6}$  减少到  $0.099 \times 10^{-6}$ ,去除率为 99.7%;铁离子由  $36.50 \times 10^{-6}$  降到  $0.031 \times 10^{-6}$ ,去除率为 99.8%;锰离子从  $393.6 \times 10^{-6}$  降低到  $107.20 \times 10^{-6}$ ,去除率为 70.9%。

湿地法处理酸性矿山废水具有投资少,运行费用低,易于管理等优点;但是,湿地法占地面积大,处理受环境影响很大,而且对  $H_2S$  的处理也不彻底。残余  $H_2S$  从土壤中逸出进入大气,污染环境。而且湿地法还需要一定的自然条件。因此,湿地法在应用上受到了限制。

#### 4. 微生物法

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  $H_2S$ ,并利用某些微生物将  $H_2S$  氧化为单质硫<sup>[20]</sup>。生物脱硫的概念始于 20 世纪 30 年代,当时人们发现煤矿周围的环境总是酸性的,这引起人们的注意。研究发现自然界中存在某些细菌能氧化无机硫化物,使环境变酸,1947 年 Clomerts 等从煤矿酸性矿井水中分离得到一种无机化能自养菌-氧化亚铁硫杆菌(*T.ferrooxidans*, 简称 T.f 菌)。50 年代到 60 年代 Leathan<sup>[21]</sup>等首先将该菌用于脱硫研究。Silverman<sup>[22]</sup>研究了 T.f 菌氧化黄铁矿的机制及生理特性,证实了其能加速黄铁矿的氧化。20 世纪 80 年代初荷兰和德国科学家将其应用于有机废气净化领域且获得良好净化效果后才开始的,随即引起美、日、英、法等国的重视。自 80 年代末期开始,该方法已逐渐成为工业废气净化研究的前沿热点课题之一,并已在世界上一些工业发达国家得到应用<sup>[23]</sup>。1984 年, J.R.Postgate 在其著作中对硫酸盐还原菌进行了系统的阐述<sup>[24]</sup>,这类微生物能利用各种有机物作为电子供体使亚硫酸盐和硫酸盐作为最终电子受体并还原为硫化物,这一过程就是异化硫酸盐还原。

由于利用硫酸盐还原菌的微生物法处理酸性矿山废水费用低,适用性强,无二次污染,还可以回收重要的物质单质硫,因此受到环境工作者的广泛关注,成为酸性矿山废水处理技术研究的前沿课题。

Middleton 和 Lawrence<sup>[25]</sup>于 1977 年在小试研究中确定了在完全混合反应器内利用乙酸作为碳源进行  $\text{SO}_4^{2-}$  生物还原的动力学, 并且观察到  $\text{SO}_4^{2-}$  还原速率为  $0.29\text{g/l}\cdot\text{d}$ 。

1985 年 Maree 和 Strydom<sup>[26]</sup>在对  $\text{SO}_4^{2-}$  进行生物还原的实验中, 对反应器类型、最合适的碳源、填充床最佳介质类型、终产物的去除方法进行了研究。实验中分别采用糖蜜、洗矿余液和纯污水污泥作为碳源, 指出还原  $1.8\text{g SO}_4^{2-}$  需  $1.6\text{g}$  糖蜜或  $16.7\text{ml}$  洗矿余液或  $172\text{ml}$  纯污水污泥。在使用糖蜜作为碳源时, 研究显示  $\text{HRT}=11\text{h}$  是进行  $\text{SO}_4^{2-}$  还原的最佳水力停留时间, 经过厌氧处理后,  $\text{pH}$  值由  $7.4$  升至  $7.6$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度由  $1980\text{mg/l}$  还原为  $230\text{mg/l}$ , 总硫化物浓度由  $1\text{mg/l}$  升至  $50\text{mg/l}$ ,  $\text{COD}$  值由  $100\text{mg/l}$  提高到  $300\text{mg/l}$ 。

Maree、Gerber 和 Melaren<sup>[27]</sup>在 1987 年对金矿排水的研究中以白云石作为厌氧填充床反应器中的载体填料, 以  $3\text{ml}$  糖蜜/l 原水作为碳源, 进水流速为  $1\text{ l/d}$ , 回流速度为  $100\text{ l/d}$ , 通过提高回流流速为  $50\text{m/h}$  来定期冲洗。经过厌氧处理后,  $\text{pH}$  值由  $5.3$  升至  $7.0$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度由  $2050\text{mg/l}$  还原为  $100\text{mg/l}$ , 总硫化物由  $0$  升至  $1400\text{mg/l}$ ,  $\text{CODcr}$  值由  $3300\text{mg/l}$  降解为  $1662\text{mg/l}$ 。实验中指出, 对  $\text{H}_2\text{S}$  采用吹脱后有利于提高出水的  $\text{pH}$  值, 降低出水的  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度。

Maree 和 Strydom<sup>[28]</sup>1987 年对  $\text{SO}_4^{2-}$  生物还原所进行的研究中, 以  $3\text{ml}$  糖蜜/l 原水作为碳源, 以白云石作为载体填料对  $\text{SO}_4^{2-}$  进行了 3 个阶段处理。并对  $\text{SO}_4^{2-}$  进行了动力学研究<sup>[29]-[31]</sup>, 认为在  $\text{SO}_4^{2-}$  和有机碳源浓度不限的情况下,  $\text{SO}_4^{2-}$  还原遵循零级动力学, 即无论是反应物还是生成物, 其浓度不影响反应。经过厌氧处理后,  $\text{pH}$  值由  $5.0$  升至  $8.1$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度由  $1331\text{mg/l}$  还原为  $217\text{mg/l}$ , 总硫化物由  $0$  升至  $200\text{mg/l}$ ,  $\text{CODcr}$  值由  $3300\text{mg/l}$  降解为  $713\text{mg/l}$ 。实验表明,  $\text{SO}_4^{2-}$ 、硫化物、糖蜜、碱度对  $\text{SO}_4^{2-}$  反应无影响, 并把温度对  $\text{SO}_4^{2-}$  还原速率的影响作了公式总结, 得出最佳实验温度为  $30^\circ\text{C}$ 。

Preez 等<sup>[32]</sup>(1990) 利用发生炉煤气( $\text{H}_2$ 、 $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$  和  $\text{N}_2$ )作为碳源, 以  $35\text{ ml/min}$  的速率注入厌氧填充床反应器内。反应亦分为初级厌氧、好氧分解和二级厌氧硝化 3 个阶段, 实验工艺包括一个厌氧反应器和一个  $\text{Fe}^{3+}$  反应器。厌氧反应器内以沙粒作为载体介质( $d=2\sim 3\text{ mm}$ , 孔隙率为  $0.5$ ), 进水为  $2\text{ l/d}$ 。经过厌氧处理后,  $\text{pH}$  值由  $6.1$  升至  $8.0$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度由  $3700\text{ mg/l}$  还原为  $100\text{ mg/l}$ , 反应的比还原速率为  $0.13\text{ g SO}_4^{2-}/(\text{gVSS}\cdot\text{d})$ , 容积还原速率为  $1.6\text{g SO}_4^{2-}/(\text{l}\cdot\text{d})$ 。

Maree 和 Hulse<sup>[33]</sup>1991 年在小试研究中, 以未被发酵的和部分发酵的糖蜜作为碳源 (3 ml 糖蜜/l 原水)研究了  $\text{SO}_4^{2-}$  生物还原的可行性。实验中采用上向流厌氧填充床反应器, 以沙粒 ( $d=2\sim 3$  mm, 孔隙率为 0.5)作为载体介质, 同时采用  $\text{N}_2(6\text{l/h})$ 吹脱  $\text{H}_2\text{S}$ 。HRT 介于 8d~12h, 回流流速为 1 m/h, 通过提高回流流速为 50 m/h 来冲刷过量的污泥。经过厌氧生物处理, pH 值由 3.0 提高到 7.0,  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度由 2200mg/l 降至 300mg/l, 总硫化物由 0 至 600 mg/l, COD 值由 3 000 mg/l 降解到 1 500mg/l, 微生物量为 27g/l, 反应的比还原速率为  $0.05 \text{ g SO}_4^{2-}/(\text{gVSS}\cdot\text{d})$ 。实验结果表明,  $\text{SO}_4^{2-}$ 还原所能达到的最小 HRT 主要受微生物体的浓度和所提供的基质类型影响。HRT 的减少直接对  $\text{SO}_4^{2-}$ 的去除率产生影响, HRT 减少, 使  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率降低, 但当给微生物的进一步生长提供了足够的时间后, 仍会获得良好的  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率。

Renze 等<sup>[34]</sup>在 1994 年在气提反应器中以  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$  作为碳源, 以白云石、玄武岩作载体, 对 HRT 为 27h、13.5h、4.5h 和 2.25 h 时  $\text{SO}_4^{2-}$ 还原效果进行了研究。通过将空床上升流速由 1 m/h 提高到 50 m/h 来对反应器定期反冲洗。当游离  $\text{H}_2\text{S}$  浓度保持在低于 450 mg/l 时, 在 30℃的条件下得到  $\text{SO}_4^{2-}$ 的负荷率为  $30 \text{ g SO}_4^{2-}/\text{l}\cdot\text{d}$ 。Renze 等<sup>[16]</sup>在 1996 年利用  $\text{H}_2$ 、 $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$  的混合气体作为能量和碳源对  $\text{SO}_4^{2-}$ 的微生物还原进行了实验研究。研究中以白云石颗粒作为载体填料, 在温度为 30℃, pH 值为 7.0 的条件下, 对 HRT 分别为 27 h、13.5 h、13 h、4.5 h 时  $\text{SO}_4^{2-}$ 的还原效果进行了研究。研究表明, 被冲刷出的微生物回流到生物反应器中可大大提高  $\text{SO}_4^{2-}$ 的转化率。研究中还分析了  $\text{CO}$  对  $\text{SO}_4^{2-}$ 转化率的影响, 认为  $\text{CO}$  不作为微生物法还原  $\text{SO}_4^{2-}$ 的电子供体, 当混合气体中的  $\text{CO}$  浓度达到 20%时引起了不可逆的抑制作用, 但这时 SRB 的生长仍有可能。

Sergey<sup>[35]</sup>1997 年在 UASB 反应器中以乙醇作为碳源, 在 35℃条件下进行了  $\text{SO}_4^{2-}$ 生物还原的研究。结果证明, 当  $\text{SO}_4^{2-}$ 负荷率  $6\text{g/l}\cdot\text{d}$ , HRT 为 5~0.85d, 进水  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度为 0.84~5g/l 时,  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率达到 80%。另外, Sergey 还指出,  $\text{SO}_4^{2-}$ 的负荷率不取决于进水  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度, 它随着 HRT 的减少而轻微降低, 并随着游离  $\text{H}_2\text{S}$  浓度的降低而线性提高。

James 等<sup>[36]</sup>在 1999 年关于修复矿山废水水质的研究中, 采用当地较易获得的有机物马铃薯加工厂的废物马铃薯皮和肉牛厂粪便的混合物来充当电子供体, 当研究所选取的有机物的添加量适中时, 实验废水水质有了很大的改观,  $\text{SO}_4^{2-}$ 、Fe、As 的浓度分别

由 1200mg/l、100mg/l、5mg/l 降为接近零，pH 由 6 升至近似中性。

李亚新、苏冰琴等<sup>[37]</sup>在 1999 年采用以陶粒为填料的有回流的上向流厌氧反应器，利用生活垃圾酸性发酵产物作 SRB 碳源，在 35℃ 条件下进行了利用 SRB 处理酸性矿山废水的小试研究， $\text{SO}_4^{2-}$  去除率达到 87% 以上，并能使反应器出水的单质硫回收率达 76.1%~80.0%。

李龙海等<sup>[38]</sup>在 2003 年探索以玉米芯做 SRB 的碳源来处理酸性矿井废水，对适应硫酸盐还原菌生长的各种条件——pH 值、温度、COD/  $\text{SO}_4^{2-}$  进行了实验研究。结果发现玉米芯可以作为 SRB 法处理矿井废水的碳源，处理出水硫酸根离子浓度小于 250 mg/l，废水中的许多重金属离子能与水中的硫离子反应生成硫化物沉淀。

### 1.3 本文研究的思路与内容

首先分离出两株硫酸盐还原菌，并对两株菌进行鉴定，研究了菌株生长和脱硫的适宜条件范围，然后利用敞口反应器模拟煤矿酸性废水的天然条件，向其中投加菌种和碳源，人为的创造硫酸盐还原菌治理煤矿酸性废水的环境，通过分析有机酸的利用，pH 值变化，硫酸根的去除率以及重金属的去除率，研究天然条件下利用生物法处理煤矿酸性废水的可行性；并对几种廉价碳源作初步试验。以期为今后进一步研究提供思路和方向，对学科发展起推动作用。

本文研究内容如下：

(1) 从太原市杨家堡污水净化厂的二沉池回流污泥中分离出两株纯硫酸盐还原菌菌株，并进行相应的生理生化鉴定。

(2) 用分离出来的菌株进行静态试验，研究硫酸盐还原菌的脱硫条件。分别对不同菌株、不同 pH 值、不同温度、不同接种量、不同初始硫酸根浓度下，硫酸盐还原菌对培养基中硫酸根的去除率、pH 值的变化情况以及菌体浓度的变化进行分析，以获得优良菌株，并寻找菌体适宜的生长条件范围。

(3) 在敞口反应器中，完成 2 组不同高度、4 组不同接种量、两种硫酸根浓度以及不同 pH 值下的煤矿酸性废水处理模拟试验，测定  $\text{SO}_4^{2-}$ 、pH 值、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、有机酸等

的变化，并结合测定过程中氧化还原电位（Eh）的变化进行机理分析。

（4）为了获得廉价的碳源，分别用生活污水、腐殖质、废糖蜜及其发酵液作为乳酸钠的替代碳源，进行了硫酸盐还原菌的生长试验，测定了  $\text{SO}_4^{2-}$  去除率、pH 值的变化以及菌体的生长情况，初步探索出 SRB 可利用的碳源；然后对筛选出的碳源在敞口反应器中对煤矿酸性废水进行模拟试验处理，测定  $\text{SO}_4^{2-}$ 、pH 值、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  等的变化，进一步分析所选廉价碳源的可行性。

## 第二章 硫酸盐还原菌的分离与鉴定

### 2.1 SRB 的介绍

硫酸盐还原菌是首先由 Beijerinck 于 1895 年发现的<sup>[39]</sup>。SRB 是一类形态、营养多样化的,是在无氧或极少氧条件下,以有机物(如乳酸等)作电子供给体,硫酸盐作为末端电子受体,营异养生活、繁殖,即通过异化作用进行硫酸盐还原反应的厌氧细菌的总称。所有的硫酸盐还原菌都不能以氧作为电子受体,氧能抑制 SRB 生长。

SRB 广泛存在于由微生物分解作用造成的缺氧的水陆环境之中。最著名的是脱硫弧菌属,它通常生活在含有丰富有机物的高含量硫酸盐的水中或有积水的土壤中。脱硫肠状菌是土壤中发现的内生芽孢杆菌并且有一个亚种是嗜热的。这种菌在罐头食品中生长并还原硫酸盐而导致食物腐败称为硫化物恶臭。其他种类的 SRB 是无氧淡水或海洋中的土著菌群;脱硫单胞菌也可从哺乳动物的肠道内分离出来。

SRB 的一个重要生理特征是生长力强<sup>[40]</sup>。它广泛存在于水田、湖泊、沼泽、河川底泥、石油矿床、反刍动物的第一胃等自然界中。SRB 不仅具有广泛的基质谱,生长速度快,还具有某些特殊的生理性质,如含有不受氧毒害的酶系,因此可以在广泛的环境中生存,甚至包括有氧环境,保证了 SRB 有较强的生存能力和适应环境变化的能力。

#### 2.1.1 SRB 的分类

SRB 是一类形态、营养多样化的微生物。SRB 利用硫酸盐作为有机物异化作用的电子受体,是革兰氏阴性的严格厌氧菌。近年来,人们对 SRB 的分类法和生理学研究取得了重大突破,据不完全统计,SRB 已有 15 个属 40 多个种<sup>[24, 42]</sup>。其中参与废水处理的有 8 个属,分别是:

脱硫弧菌属 (Desulfovibrio); 脱硫单胞菌属 (Desulfomonas); 脱硫叶菌属 (Desulfobulbus); 脱硫肠状菌属 (Desulfotomaculum); 脱硫菌属 (Desulfobacter); 脱硫球菌属 (Desulfococcus); 脱硫八叠球菌属 (Desulfosarcina); 脱硫线菌属

(Desulfonema)。主要的两个属为 Desulfovibrio 和 Desulfotomaculum。

根据营养代谢产物不同, SRB 可分为完全氧化型和不完全氧化型<sup>[43]</sup>: 前者最终代谢产物为 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O, 如 Desulfonema; 不完全氧化型最终产物为乙酸, 这些 SRB 不能利用乙酸, Desulfovibrio 属的许多种属于不完全氧化型, 但是 Desulfovibrio baarsi 属于完全氧化型。

根据 SRB 生长对温度的要求, 可将其分为中温菌和嗜热菌两类。虽然这两种菌属不能完全相互转化, 但有机体对温度和盐度具有较高的适应力。一般来说, 氧抑制 SRB 生长, 与普通的土壤或水体中的微生物如假单胞菌相比, SRB 生长速率相当缓慢, 但是它们也有极强的生存能力, 且分布广泛。

### 2.1.2 SRB 的代谢机理

硫酸盐的存在能促进 SRB 的生长, 但不是其生存和生长的必要条件。在缺乏硫酸盐的环境下, SRB 通过进行无 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>参与的代谢方式生存和生长, 但环境中出现了足量的硫酸盐后, 因为硫酸盐还原反应的产能水平更高, 硫酸盐还原反应立即发生, 即 SRB 的代谢方式发生转变, 此时以 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>为电子受体氧化有机物, 通过对有机物的异化作用, 而获得生存所需的能量, 维持生命活动<sup>[44]</sup>。

一般好氧细菌的新陈代谢能够分为合成代谢和分解代谢, 对其分解代谢有人作了不少研究。可以简单的将 SRB 的代谢过程分为 3 个阶段<sup>[45]</sup>: 分解阶段、电子传递阶段和氧化阶段, 如图 2-1。

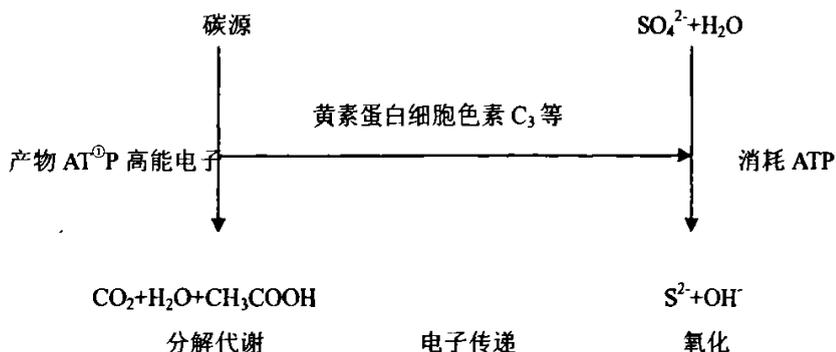


图 2.1 SRB 代谢过程

Fig.2-1 Metabolic process of SRB

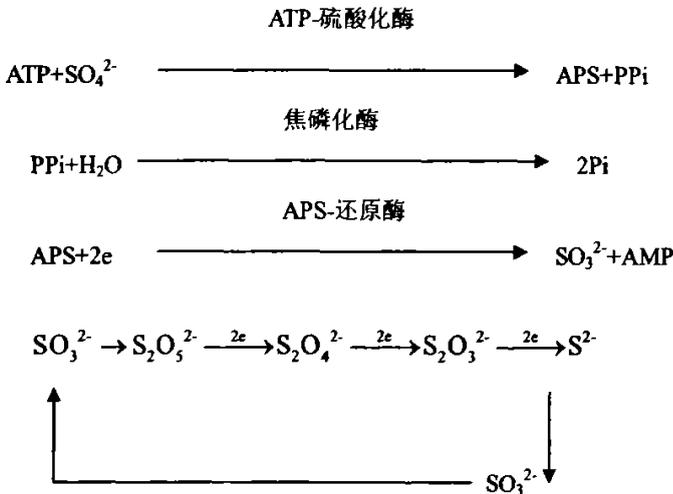
①ATP 硫酸化酶

1. 分解代谢阶段, 有机物碳源的降解是在厌氧状态下进行的, 同时通过“基质水平磷酸化”产生少量 ATP;

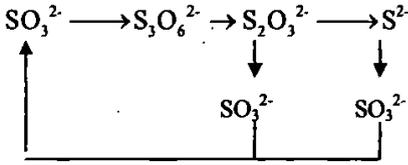
2. 电子传递阶段, 前一阶段释放的高能电子通过硫酸盐还原菌中特有的电子传递链(如黄素蛋白、细胞色素 C 等)逐级传递产生大量的 ATP;

3. 氧化阶段, 电子被传递给氧化态的硫元素, 并将其还原为  $S^{2-}$ , 此时需要消耗 ATP 提供能量。

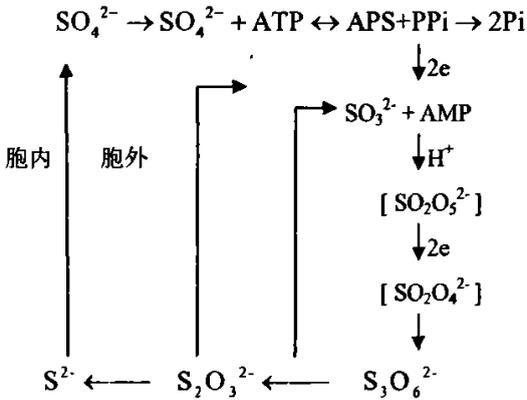
从这一过程可以看出, 有机物不仅是 SRB 的碳源, 也是其能源, 硫酸盐(或氧化态的硫元素)仅作为最终电子受体起作用, 即 SRB 利用  $SO_4^{2-}$  作为最终电子受体, 将有机物作为细胞合成的碳源和电子供体, 同时将  $SO_4^{2-}$  还原为硫化物。它首先在细胞外积累, 然后进入细胞。在细胞内, 第一步反应是  $SO_4^{2-}$  的活化, 即  $SO_4^{2-}$  与 ATP 反应转化为腺苷酰硫酸(APS)和焦磷酸(PPi), PPi 很快分解为无机磷酸 (Pi), 推动反应不断前进。APS 继续分解成  $S_2O_5^{2-}$ ,  $S_2O_5^{2-}$  极不稳定, 很快转化为中间产物连二亚硫酸盐( $S_2O_4^{2-}$ ),  $S_2O_4^{2-}$  又迅速转化为  $S_3O_6^{2-}$ ,  $S_3O_6^{2-}$  分解成硫代硫酸盐( $S_2O_3^{2-}$ )和亚硫酸盐( $SO_3^{2-}$ ),  $S_2O_3^{2-}$  又经自身的氧化还原作用, 变成  $SO_3^{2-}$  和最终代谢产物  $S^{2-}$ ,  $S^{2-}$  被排出体外, 进入周围环境, 有关方程式如下:



上述  $SO_3^{2-}$  还原成  $S^{2-}$  的过程中需要 6 个电子, 由亚硫酸还原酶复合物系统逐步催化进行。但又有研究者提出了不同的还原途径, 如下:



但这两种还原途径都显示出  $\text{SO}_3^{2-}$  还原成  $\text{S}^{2-}$  的过程中有 3 种酶参与了  $\text{SO}_3^{2-}$  还原, 即: 连三亚硫酸盐形成酶, 连三亚硫酸盐还原酶或硫代硫酸盐形成酶和硫代硫酸盐还原酶。因此把硫酸盐还原过程的三个阶段连接起来, 即为:



## 2.2 硫酸盐还原菌的分离与鉴定试验

在生物脱硫的过程中, 关键的一环是获得高转化活性的菌株。本章试验述及的硫酸盐还原细菌的分离纯化和鉴定属于该技术的基础研究。该试验分出两株菌, 以下称菌株 I, 菌株 II。

### 2.2.1 试验材料与仪器

#### 1. 试验种泥来源

SRB 分布范围较广, 可在大多数土壤和水体中获得, 本试验所接种的种泥取自太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥。

#### 2. 富集、分离培养基

A 液: 蒸馏水 980ml,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2.0g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.0g,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  1.0g, 乳酸钠 (70%) 3.5ml, 酵母膏 1.0g,  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.1g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5g

B 液:  $\text{FeSO}_4$  10ml

C 液: 蒸馏水 10ml, 抗坏血酸 0.1g

A 液和 C 液分别用 0.1mol/l NaOH 调节 pH 到 7.4 最终 pH 为中性

高压蒸汽 121℃灭菌 30 分钟。

### 3. 试验仪器

恒温水浴锅; UNICO—PC2102 紫外可见分光光度计; pHs—3C 精密 pH 计; 保温培养箱; 垂直超净工作台; TGL—16G 高速台式离心机; 电热手提高压蒸汽灭菌锅。

培养皿、试管、接种环、酒精灯、量筒、电炉、PSH-200 生化培养箱、显微镜、氮气钢瓶

试剂: 蒸馏水, 碱性美兰染液, 番红水溶液, 荚膜染色液

## 2.2.2 试验方法

### 2.2.2.1 硫酸盐还原细菌的富集培养

采用 500ml 葡萄糖注射液瓶, 分装一定体积的未灭菌的富集培养基, 按 20% 的接种量接种具有黑臭特征的厌氧污水和污泥至充满状态, 盖紧盖子于 28℃~30℃恒温箱内黑暗培养; 约一周后, 培养液呈现极浓的墨子黑色, 瓶口处散发出  $\text{H}_2\text{S}$  的臭鸡蛋味; 表明硫酸盐还原细菌已大量繁殖。然后重新按 20% 的接种量接种入另一瓶培养基中, 继续在 28℃~30℃恒温箱内进行培养, 如此反复操作四次, 最后一次的培养基要进行灭菌。

### 2.2.2.2 硫酸盐还原细菌的分离

#### 1. 稀释系列的制备<sup>[46]</sup>

将富集好的菌液 1ml 采用无菌操作进行 10 倍梯度稀释, 依次得到 10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>、10<sup>-7</sup>、10<sup>-8</sup>、10<sup>-9</sup> 浓度的菌悬液。

#### 2. 培养皿操作<sup>[47]</sup>

配好 200ml 的营养琼脂固体培养基, 琼脂浓度为 2.0%, 灭菌后保温在 45℃左右, 采用 5 个 60mm×12mm 的培养皿(大号培养皿则所需的培养基量应相应增大), 培养皿经

121℃灭菌后无菌倒入一层营养琼脂，厚度可视培养皿高度一半为宜。待琼脂冷却后，分别采取  $10^5$ ~ $10^9$  稀释度的菌悬液 0.1ml 无菌操作在各琼脂平板上进行涂布。涂布完后，让菌液渗透五分钟。

### 3. 厌氧充气

将涂布后的培养皿密封后作好标记，放入真空干燥器中，并在干燥器内放入一定量的吸氧剂，然后用真空泵抽真空—充入脱氧高纯氩气的方法反复操作三次，直到真空干燥器中充满氩气，最后用气体封口膜将真空干燥器密封。

### 4. 培养

将真空干燥器在 28℃~30℃培养箱内黑暗培养 8~10 天，直到培养皿内长出黑色小菌落。

### 5. 挑取单菌落

在无菌操作台上挑取合适稀释度的培养皿(菌落生长数为 1-20 个为宜)，无菌操作揭开上盖，对我们要分的硫酸盐还原细菌来说，菌落由于自身代谢产生的硫化氢与培养基中亚铁盐反应生成黑色沉积物，形成小黑球状菌落，很容易就可定点挑取。用接种环挑取单菌落后接种入已灭菌的培养基中，密封后在 28℃~30℃培养箱内黑暗培养，直到液体呈现较浓的墨子黑色。

## 2.2.2.3 硫酸盐还原细菌的鉴定

### 1. 分离物纯度检查

对两株菌利用相差显微镜或普通光学显微镜观察活菌形态、大小是否一致，初步判断是否污染杂菌。在含有葡萄糖、蛋白胨的营养琼脂平板上涂布培养，观察平板上是否长出好氧菌的菌落以检查是否污染有好氧菌。

采用如下的培养基检查是否污染有其他非硫酸盐还原细菌的厌氧菌：蛋白胨(0.4%)、葡萄糖(1.0%)、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ (0.2%)、 $\text{MgSO}_4$ (0.1%)、琼脂(1.5%)灭菌后加入单独灭菌的  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  到终级浓度为 0.05%，调 pH 到 7.0~7.6。采用琼脂振荡稀释法稀释培养，30℃恒温培养 3~4 天后观察。若出现菌落不为黑色，产气或形成晕圈则说明污染有其他非硫酸盐还原细菌的厌氧菌。菌种只有确认已经纯化后方可进入下一步鉴定。

## 2. 菌体染色及形态特征观察

将两株处于对数生长期的菌株培养物分别进行革兰氏染色、鞭毛染色、芽孢染色、各染色方法见 Bergey 细菌手册<sup>[48]</sup>。光学显微镜下观察各菌株形态、大小、革兰氏染色结果、有无鞭毛及有无芽孢等。

用普通光学显微镜或相差显微镜观察活菌运动与否及运动特征。

## 3. 菌株抗热性检查<sup>[48]</sup>

对菌株 I 不同生长期的液体培养物分别在 100℃ 水浴保温 5min, 检查其是否在生长过程中形成抗热的内生孢子。方法如下: 在几支试管中边用氮气流驱赶空气边移入 2ml~3ml 处于不同时期的菌液, 经 100℃、5min 条件处理后, 将其倾倒入一定量灭菌的液体培养基中进行厌氧培养, 一周后观察待测菌株在培养液中是否生长。若生长, 则表明该菌株可形成抗热的芽孢。

## 4. 脱硫绿叮的定性检测<sup>[48]</sup>

对菌株 I 进行脱硫绿叮的定性检测。脱硫绿叮属于亚硫酸盐还原酶中的一种, 可以通过以下方法测定: 采用培养基接种培养待测菌株, 30℃ 恒温培养 3d~6d, 取 30ml~40ml 菌液于 8000 r/min 下离心 20min, 弃上清液, 往沉淀的菌体上滴加几滴 2.0mol/l NaOH, 然后用吸管将其移到滤纸上, 在 365nm 紫外灯光下进行观察。若菌体能够发出红色荧光, 则说明菌体内含有脱硫绿叮, 否则说明脱硫绿叮为阴性。

## 5. 对有机碳源利用能力的测定

该项测定作为种的主要鉴定依据之一, 以除去有机碳源和酵母膏, 并补充四种维生素 VB1、VB2、生物素和对氨基苯甲酸的培养基作为基础培养基, 分别补加待测碳源 (与乳酸钠等摩尔量加入), 对菌株 I 所测碳源有: 乳酸、丙酮酸、乙酸、丁酸、苹果酸, 对菌株 II 所测碳源有: 乳酸、丙酮酸、乙醇、甲酸、乙酸。在以上培养基中分别加入 2% (V/V) 接种量接种待测株, 培养一周后再连续转接 2~3 天, 检查最后一次培养物的生长情况, 以不同碳源的培养液接种做对照。

### 2.2.2.4 菌体生长曲线的测定

配置 700ml 的硫酸盐还原菌培养基(不含  $Fe^{2+}$ )灭菌, 分装于 14 个 50ml 的小瓶中, 在无菌操作条件下分别接种入 10% 的已培养好的菌液, 放置在 30℃ 恒温箱中厌氧培养。

每隔 4h 取一次菌液，12000r/min 离心 5min 后，将沉淀用等量蒸馏水悬浮，用 UNICO—PC2102 紫外可见分光光度计在 400nm 处比色，以水作参比测定菌体的 OD 值。

### 2.2.3 试验结果与讨论

挑取单菌落，各菌落在光学显微镜下观察，分出两株菌，对菌株 I 鉴定到种，对菌株 II 的鉴定只鉴定到属。

#### 2.2.3.1 菌株分离纯化及纯度检查结果

菌株 I 在光学显微镜下观察：菌体均为 S 形或链状，进行较慢的直进运动，没有其他异常形状和运动状态发生。

菌株 II 在光学显微镜下观察：菌体均为杆状，进行较慢的翻滚运动，没有其他异常形状和运动状态发生。

两株菌分别在含有葡萄糖、蛋白胨的营养琼脂平板上涂布培养，平板上没有发现好氧菌落生长；含  $\text{Fe}^{2+}$  盐培养基中生长，由于  $\text{H}_2\text{S}$  与  $\text{Fe}^{2+}$  生成  $\text{FeS}$  黑色沉淀的缘故，菌落全部呈黑色，直径达 1~3mm，菌落中央有 0.5 mm 直径的突起，菌落可于培养基表面及内层生长。这一结果特征说明两株分离菌属于 SRB，而且纯度较高。

#### 2.2.3.2 菌体染色及形态特征观察结果

通过试验，所得菌株 I 形状为弧形或 S 形、有的成链状，革兰氏染色为阴性，鞭毛染色显示具单根极生鞭毛，芽孢染色为阴性；在光镜下观察具运动性，运动特征为直进式运动，而不是翻筋斗或扭曲状运动，菌株大小为  $0.5\sim 0.8\mu\text{m}\times 2.5\sim 5\mu\text{m}$ 。菌株染色后在光学显微镜下的细胞形态见图 2-2:

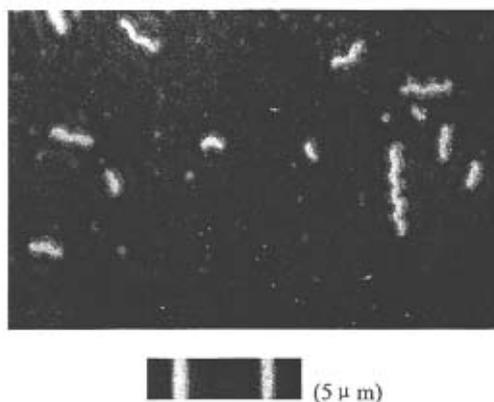


图 2-2 菌株 I 细胞形态图

Fig2-2 Germ appearance diagram of stum I

所得菌株 II 形状为杆形、革兰氏染色为阴性，鞭毛染色显示具单根极生鞭毛；在光镜下观察具运动性，运动特征为翻滚式运动，菌株大小为  $0.5\sim 0.7\mu\text{m}\times 3\sim 5\mu\text{m}$ 。菌株染色后在光学显微镜下的细胞形态见图 2-3：

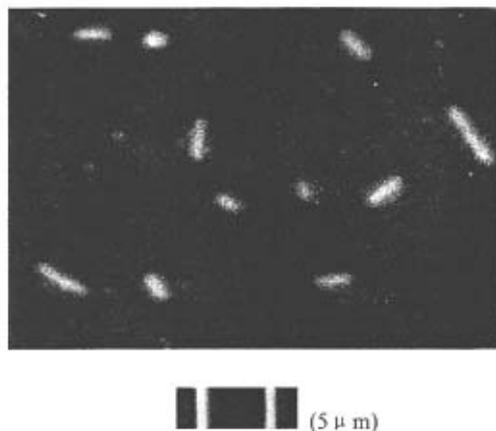


图 2-3 菌株 II 细胞形态图

Fig2-3 The morphology of stum II

### 2.2.3.3 菌株抗热性检查结果

菌株 I 在  $100^{\circ}\text{C}$  保温 5min 后，不能再恢复生长，表面菌株体内不形成抗热的芽孢而被高温灭活。

### 2.2.3.4 脱硫绿叮的活性检查结果

菌株 I 在 365nm 紫外光激发下发出很强的红色荧光，表明该菌株胞内含脱硫绿叮类

的亚硫酸盐还原酶。

### 2.2.3.5 菌株有机碳利用情况

菌株 I 在以下营养组合时显示良好生长：(1) 乳酸+硫酸盐，(2) 丙酮酸（未加硫酸盐），(3) 苹果酸+硫酸盐；在以下营养组合时不能生长：(1) 乙酸+硫酸盐，(2) 丁酸+硫酸盐，(3) 苹果酸（未加硫酸盐）。

菌株 II 在以下营养组合时显示良好生长：(1) 乳酸+硫酸盐，(2) 丙酮酸+硫酸盐，(3) 甲酸+硫酸盐，(4) 乙醇+硫酸盐；该菌株在以下营养组合时不能生长：乙酸+硫酸盐。

### 2.2.3.6 硫酸盐还原细菌菌株属的鉴定

依据文献[48]中对硫酸盐还原菌属的鉴定特征描述，菌株 I 形状均为弧形、S 形或链状，不产生抗热的芽孢，含有脱硫绿叮，且具有直进性的运动，四项主要特征与脱硫弧菌属的特征吻合，故该菌株均应归入脱硫弧菌属；根据菌株 I 有机碳(能)源利用情况测定结果，对照文献中硫酸盐还原菌脱硫弧菌属中各个种的鉴定特征描述，菌株所有形态特征、生理生化特性均与脱硫脱硫弧菌一致，故该菌株可鉴定为脱硫脱硫弧菌。

菌株 II 形状均为杆状，具有翻滚运动，根据菌株有机碳(能)源利用情况测定结果，对照文献中硫酸盐还原菌脱硫肠状菌属中的鉴定特征描述，主要特征与脱硫肠状菌属的特征吻合，故该菌株均应归入脱硫肠状菌属。

### 2.2.3.7 菌体的生长曲线

结果显示：通过在不同时间采样，利用 UNICO—PC2102 紫外可见分光光度计在 400nm 处进行检测，如图 2-4 为菌株 I 脱硫脱硫弧菌的生长曲线图，图 2-5 为菌株 II 脱硫肠状菌的生长曲线图。

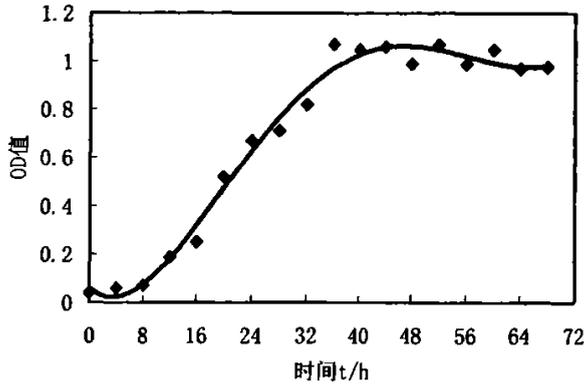


图 2-4 脱硫脱硫弧菌的生长曲线

Fig2-4 The growth curve of the *Desulfovibrio desulfuricans*

由图 2-4 知，测出菌株 I 脱硫脱硫弧菌生长的前 8 小时处于生长的延滞期，从 8 小时后菌体开始进入对数生长期，并持续 32 小时左右，40 小时之后菌体进入稳定期。

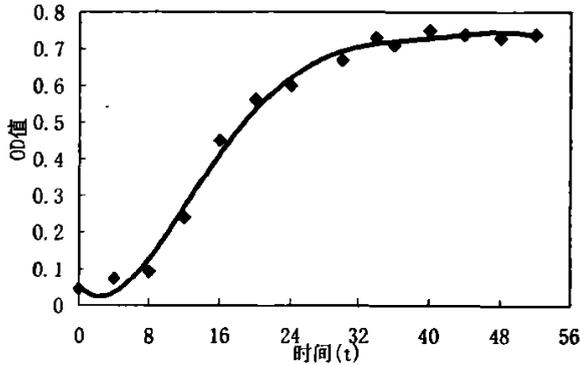


图 2-5 脱硫肠状菌的生长曲线

Fig2-5 The growth curve of the *Desulfotomaculum sp.*

由图 2-5 知，测出菌株 II 脱硫肠状菌生长的前 8 小时处于生长的延滞期，从 8 小时后菌体开始进入对数生长期，并持续 28 小时左右，36 小时之后菌体进入稳定期。

#### 2.2.4 试验结论

本章试验由太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥分离纯化出菌株，并鉴定得出以下结论：

1. 由太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥分离纯化，得出两株硫酸盐还原菌。经纯度检查，两株菌纯度较纯。

2. 菌株 I 经菌体染色及形态特征观察、抗热性检查、脱硫绿叮活性检查、有机碳利用情况检查,对照文献鉴定菌株 I 为脱硫脱硫弧菌。测定其生长曲线发现,脱硫脱硫弧菌前 8 小时处于生长的延滞期,从 8 小时后菌体开始进入对数生长期,并持续 32 小时左右,40 小时之后菌体进入稳定期。

3. 菌株 II 经菌体染色及形态特征观察、有机碳利用情况检查,对照文献鉴定菌株 II 为脱硫肠状菌。测定其生长曲线发现,脱硫肠状菌前 8 小时处于生长的延滞期,从 8 小时后菌体开始进入对数生长期,并持续 28 小时左右,36 小时之后菌体进入稳定期。

## 第三章 硫酸盐还原菌脱硫条件的试验研究

厌氧反应中,各种生物因子、非生物因子的改变都直接影响 SRB 的适应能力,决定其生长和活性,也决定了生态演替过程中对不同 SRB 种群的选择,其中较重要的生态因子有 pH 值、温度、抑制剂、溶解氧等。

影响硫酸盐还原菌生长的因子已经被广泛研究,但是,如果硫酸盐还原菌直接运用到实际工程中处理煤矿酸性废水,还要再做具体试验分析,因为从不同途径分离取得的脱硫酸菌对不同的生长环境适应能力有很大差别<sup>[49]</sup>。因此,本章就太原市杨家堡污水净化厂二沉次池回流污泥分离出来的脱硫脱硫弧菌和脱硫肠状菌的生长影响条件进行研究,并对两种菌在相同条件下的生长繁殖能力做相应对比,以便选择适宜的菌种并在适宜的条件下应用于煤矿酸性废水的修复处理中。

### 3.1 试验材料与方法

#### 3.1.1 试验材料

##### 1. 培养基:

1.0g  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 2.0g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.0g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 1.0g 酵母膏, 0.1g  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.5g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.1g 抗坏血酸, 3.5ml 乳酸钠 (70%), 蒸馏水 1000 ml。

用 0.1mol/L 的 NaOH 调节 pH 到中性, 高压蒸汽 121℃ 灭菌 30 分钟。

##### 2. 试验仪器

DHP-420S 电热恒温培养箱; 垂直超净工作台; TGL-16C 高速台式离心机; 电热水提高压蒸汽灭菌锅; 721 分光光度计; pH-2S 型 pH 计。

#### 3.1.2 试验方法

试验采用静态试验方法,分批进行,不同的条件做平行试验进行对比,同一种条件下接种每组六瓶。试验采用 138ml 的医用葡萄糖瓶,除接种量的试验外,其它试验都是

108ml 的培养基，经高温灭菌 30 分钟，冷却后，经紫外线杀菌 30 分钟，在超净工作台上接入 30ml 的培养好的菌种，保证液体充满葡萄糖瓶，然后用橡胶塞塞紧，摇匀，放培养箱中培养。

从放进培养箱算起每隔 12h 取一瓶测试，菌的生长情况由以下三个指标来反应：菌体浓度 OD 值、溶液的 pH 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  的浓度。试验主要分为以下几批：

1. 脱硫脱硫弧菌在接种量 30%、温度为 30℃、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度 1700mg/l 时，不同 pH 值下生长情况的对比。分别用盐酸调节 pH 值为 2、3、4、5、6、7、8 的七组培养基，每组 6 瓶，接入脱硫脱硫弧菌培养。

2. 脱硫肠状菌在接种量 30%、温度为 30℃、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度 1700mg/l 时，不同 pH 值下生长情况的对比。培养步骤同 1，由 1、2 对比选出一种优势菌。

3. 优势菌在 pH 值为 4、温度为 30℃、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 1700mg/l 时，不同接种量下生长情况的对比。接种量多少按接进所接培养好的菌液占葡萄糖瓶容积的百分比来衡量，选择的接种量分别为：5%、10%、20%、30%，其余统一配制培养基充满葡萄糖瓶。

4. 优势菌在 pH 值为 4、温度为 30℃、接种量为 30% 时，不同  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度下生长情况的对比。 $\text{SO}_4^{2-}$  浓度用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4$  按 2: 1 的比例称取调节。选择的初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度分别为：1000mg/l、1700mg/l、2500mg/l、3000mg/l、4500mg/l。

5. 优势菌在 pH 值为 4、接种量为 30%、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 1700mg/l 时，不同温度下生长情况的对比，选择天然条件下适宜的生长温度。选择的培养温度分别为：5℃、10℃、20℃、30℃。

### 3.1.3 分析方法

1. 硫酸根的测定采用铬酸钡光度法，使用 721 分光光度计；
2. 采用 pHS-2S 型 pH 计测定 pH 值；
3. 菌体浓度采用 OD 值法：取一定体积溶液，用 TGL-16C 高速离心机在 1 2000r/min 下离心 6min，倾去上清液，用蒸馏水把离心的菌体稀释，摇匀，在分光光度计 420nm 下比色。

## 3.2 试验结果与讨论

### 3.2.1 pH 值对硫酸盐还原菌活性的影响

硫酸盐还原菌的活性用硫酸根的去除情况，菌的菌体浓度 OD 值以及溶液的 pH 值来表示。

#### 3.2.1.1 pH 值对脱硫脱硫弧菌活性的影响

在温度为 30℃，接种量为 30% 时，不同 pH 值对脱硫脱硫弧菌的活性有一定的影响。由图 3-1 可知，pH 为 2 时，硫酸根浓度几乎不变；pH 值为 3 时，硫酸根稍有降低，但都在 1600 mg/l 以上；pH 为 4 时，硫酸根浓度有大幅度的降低，从 1762 mg/l 最低降到 750.3 mg/l；pH 为 6、5、7、8 时脱硫脱硫弧菌对硫酸根的去除率依次增加，但差别不是很大。

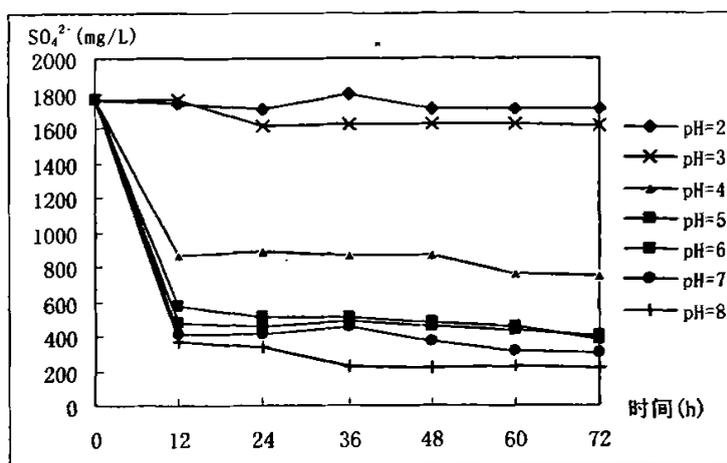


图 3-1 不同 pH 值下  $SO_4^{2-}$  浓度的变化

Fig3-1 The changes of  $SO_4^{2-}$  concentrations under different pH

由图 3-2 可知，菌体浓度 OD 值的变化规律与硫酸根浓度变化规律大致相反，硫酸根浓度降低对应的 OD 值升高。pH 值为 2 时 OD 值几乎不变；pH 值为 3 时 OD 值稍有变大；pH 值为 4 时 OD 值变化比较明显，从 0.12 最大增大到 0.62；pH 值为 5、6、7、8 时 OD 值较大，从 0.12 分别上升到最大为 0.73、0.78、0.83、0.85。OD 值的变化与硫酸根的去除率变化规律一致。说明脱硫脱硫弧菌适宜生长的 pH 值范围为 5~8，这与 Bergey 细菌鉴定手册<sup>[48]</sup>中所述一致。

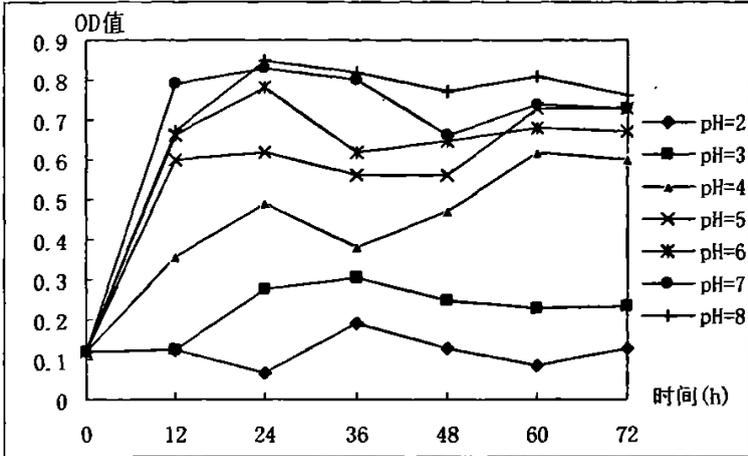


图 3-2 不同 pH 值下 OD 值的变化

Fig3-2 The changes of OD under different pH

溶液 pH 值的变化情况如图 3-3 所示。pH 值为 2 时，溶液的 pH 值几乎没有变化，说明菌株没有生长；pH 值为 3 时稍有增大，溶液 pH 值由 3 增大到 4；pH 值为 4 时，溶液 pH 值变化幅度又有所增加，由 4 增大到 6.23；pH 值为 5、6 时都升为 6.5~6.8 之间；pH 值为 7、8 时，与酸性环境规律相反，pH 值反而下降，其中 pH 值为 7 时，pH 值降为 6.7 左右，pH 值为 8 时，降为 7.3 左右。这与文献[50]所描述的 pH 值变化规律一致。

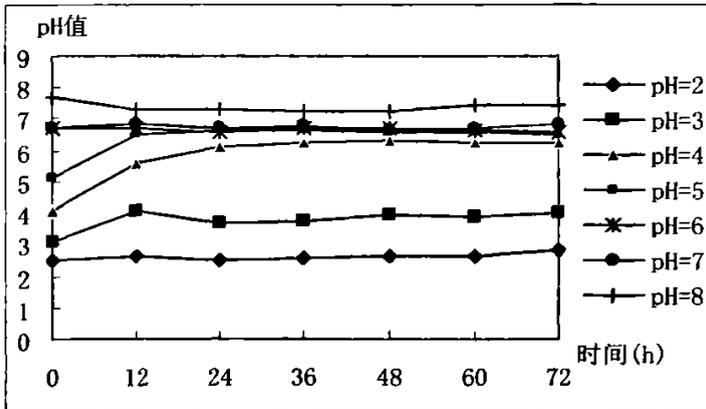


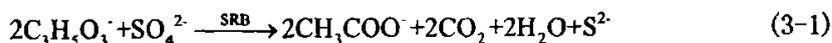
图 3-3 pH 值的变化

Fig3-3 The change of pH

在没有其它杂质存在的情况下，菌体浓度 OD 值越大，说明脱硫脱硫弧菌繁殖的越快，同时脱硫脱硫弧菌生长消耗硫酸根越多，硫酸根的浓度降低越多，对应的去除率越高，脱硫脱硫弧菌活性越好；溶液 pH 值反应脱硫脱硫弧菌对溶液酸度的调节缓冲能力，

这是因为：

SRB 以乳酸作为其有机碳源，其新陈代谢反应如下式<sup>[43]</sup>：



匡欣等人认为<sup>[50]</sup>， $SO_4^{2-}$ 还原产物的存在形态与 pH 值相关。pH 值升高，是由于菌的生长繁殖，产生硫化物，水分解为氢离子和氢氧根离子，一部分氢与硫化物接合产生硫化氢，氢氧根离子则增加了溶液的 pH 值，可以表示为：



即  $SO_4^{2-}$ 还原增加了体系中的  $OH^-$ ，使得 pH 值上升，而较高的 pH 值使  $H_2S$  向  $S^{2-}$  转化。 $H_2S$ 、 $HS^-$  及  $S^{2-}$  之间的平衡关系如图 3-4 所示，即较高的 pH 值使  $H_2S$  含量下降，有利于体系承受高浓度的  $S^{2-}$ ，并能缓解厌氧体系中酸化或碱化现象的出现。

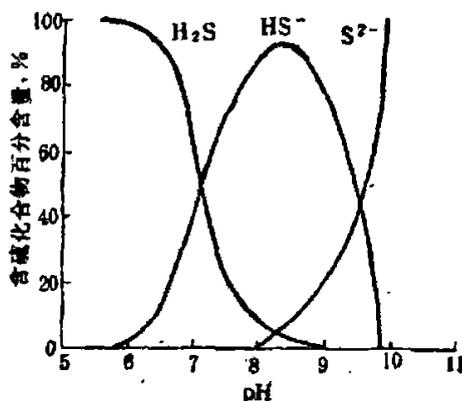


图 3-4 含硫化合物之间的平衡关系<sup>[50]</sup>

Fig.3-4 The effect of pH on sulfur balance

### 3.2.1.2 pH 值对脱硫肠状菌活性的影响

不同 pH 值对脱硫状菌处理  $SO_4^{2-}$  的影响如图 3-5，基本规律和脱硫脱硫弧菌的规律相似，pH 值为 2、3 时硫酸根几乎无去除；pH 值为 4 时硫酸根浓度有大幅下降，最低降到 1038.2 mg/l；pH 值为 5、6、7、8 时硫酸根浓度下降幅度更大，且四种情况浓度下降程度差不多，都降到 700 mg/l 左右。

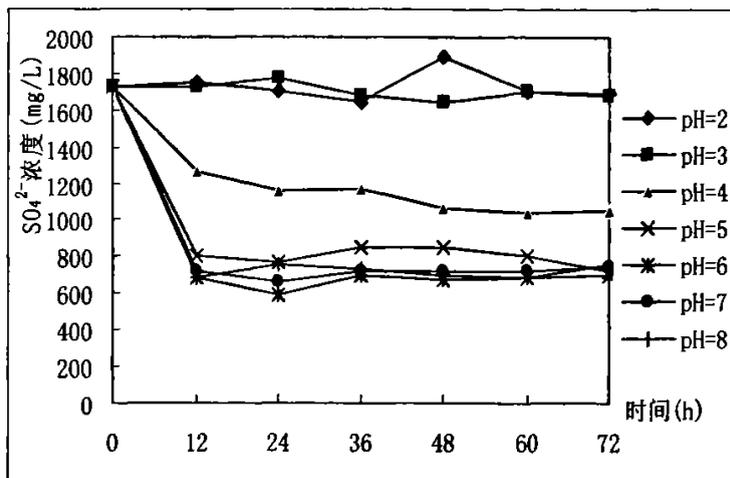


图 3-5 pH 值对脱硫肠状菌处理  $SO_4^{2-}$  的影响

Fig3-5 The effect of pH on the treatment of  $SO_4^{2-}$  by *Desulfotomaculum* sp.

不同 pH 值对脱硫肠状菌 OD 值的影响如图 3-6, 与硫酸根浓度的变化规律相反, pH 值为 2、3 时, OD 值都在 0.045 至 0.065 之间波动, 没有变大的趋势; pH 值为 4 时, OD 值有较大范围的增大, 由 0.045 逐渐增大到 0.42; pH 值为 5、6、7、8 时, OD 值有更大范围的增大, 由 0.045 增大到 0.55 左右。这与  $SO_4^{2-}$  浓度的变化趋势正好相反, pH 值大于 5 时, 菌体生长较好, 菌体浓度 OD 值变大, 消耗的  $SO_4^{2-}$  也增多, 相应的  $SO_4^{2-}$  浓度降低也较大。

各种微生物需要在一定的 pH 环境下方能正常生长繁殖。如果 pH 不适, 不但妨碍菌体的正常生长, 而且还会改变微生物代谢途径和产物的性质。一般来说, 细菌在中性或弱碱性条件下生长良好<sup>[41]</sup>。由前面分析知, 脱硫肠状菌适宜的 pH 值生长范围为 5~8, pH 值在 4 以下时, 菌体生长情况较差, 这与脱硫脱硫弧菌的变化规律一致。

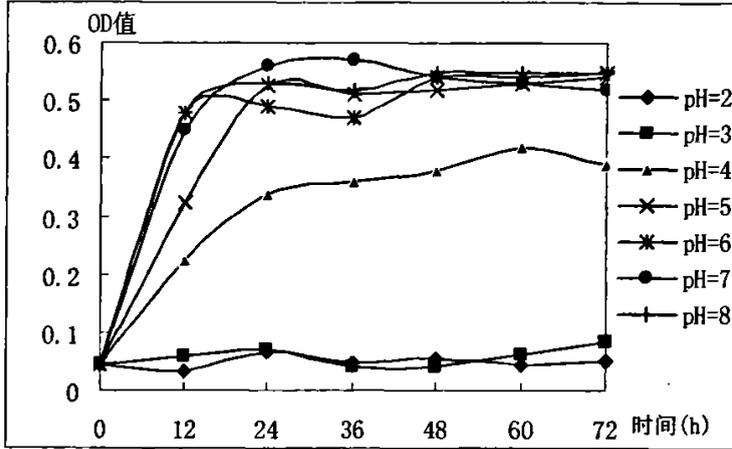


图 3-6 pH 值对脱硫肠状菌 OD 值的影响

Fig3-6 The effect of pH on OD of *Desulfotomaculum sp.*

### 3.2.1.3 pH 值对两株菌脱硫效果对比

由图 3-1~3-3, 3-4~3-5 可以看出, 以乳酸钠作有机碳源, 两种菌在 24 小时后  $SO_4^{2-}$  浓度、OD 值和 pH 值都趋于稳定, 取 24 小时的反应参数做不同 pH 值下的硫酸根的去除率曲线和 OD 值对比曲线, 如图 3-7, 3-8。

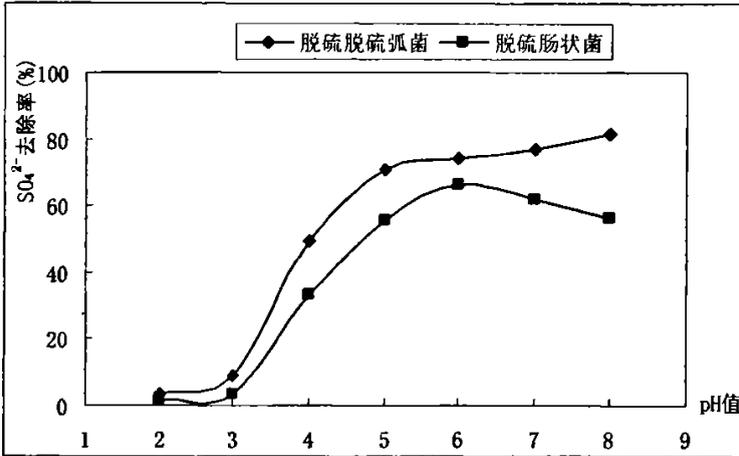


图 3-7 pH 值对两种菌在  $SO_4^{2-}$  去除率上影响的对比

Fig3-7 The contrast of pH effects on  $SO_4^{2-}$  removal efficiency by two strains

由上图可看出, 在 pH 值从 8 降到 5 时, 两种菌对  $SO_4^{2-}$  的生物去除率有小幅度的降低, 脱硫脱硫弧菌对  $SO_4^{2-}$  的生物去除率分别为 81.3%、76.8%、74.1%、70.9%, 脱硫肠状菌对  $SO_4^{2-}$  的生物去除率分别为 56.1%、61.6%、66.1%、55.8%; 当 pH 值由 5 向下降时,

$\text{SO}_4^{2-}$ 的生物还原能力开始下降,尤其 pH 值降到 4 以下时,  $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物还原能力下降幅度较大。由以上分析可得出, 脱硫脱硫弧菌和脱硫肠状菌的最适宜的 pH 值范围为 5-8。

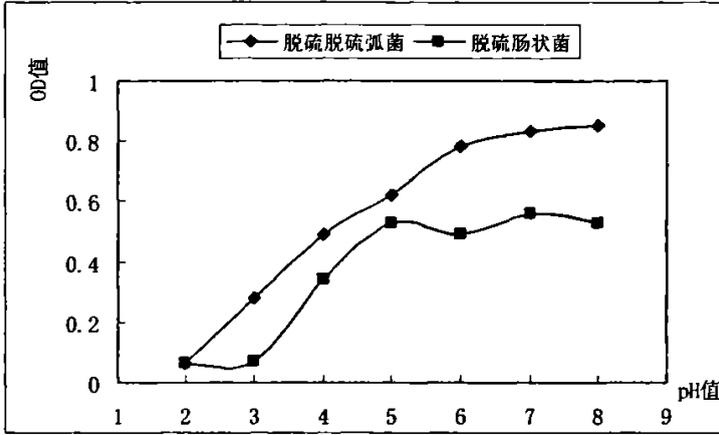


图 3-8 pH 值对两种菌在 OD 值上的影响对比

Fig3-8 The contrast of pH effects on OD of two strains

由图 3-7、3-8 看出, 相同 pH 值下脱硫脱硫弧菌对硫酸根的去除率都要高于脱硫肠状菌对硫酸根的去除率, 尤其在 pH 值大于 3 时, 脱硫脱硫弧菌对  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率比脱硫肠状菌对  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率在相同 pH 值下要高出 15%以上; 弧菌的菌体浓度 OD 值也要高于肠状菌的 OD 值, 在 pH 值大于 3 时, 脱硫脱硫弧菌的 OD 值比脱硫肠状菌的 OD 值在相同 pH 值下要高出 0.15 以上。

脱硫脱硫弧菌随着 pH 值的升高活性越来越好, 对硫酸根的去除率和 OD 值逐渐增大; 脱硫肠状菌在酸性条件下也是如此变化, 只是 pH 值到 6 以上对活性影响相差不大, pH 值为 6、7、8 时对硫酸根的去除率和 OD 值变化不明显。

在 pH 值为 4 时, 脱硫脱硫弧菌对  $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物去除率为 50%, OD 值为 0.49, 脱硫肠状菌对  $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物去除率为 33%, OD 值为 0.34, 说明这两种菌都有一定的耐酸性, 可以适应 pH 值在 4 以上的煤矿酸性废水。我国酸性煤矿废水的 pH 值一般在 4.5~6.5 左右, 某些硫铁矿含量较高的煤矿, pH 值低至 2.5~3.0, 因此采用微生物法处理一般性的煤矿酸性废水时不需要中和预处理。

总体来说, pH 值对脱硫脱硫弧菌和脱硫肠状菌的活性影响规律大致相同, 以乳酸钠作有机碳源, 菌在 24 小时后  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度、OD 值都趋于稳定, 且 pH 值初始值为 2、3 时几乎不能生长, 4 时可以生长, 5、6、7、8 时生长更好。但 pH 值对两种菌的影响程

度不同，脱硫脱硫弧菌对硫酸根的去除率要高于脱硫肠状菌去硫酸根的去除率，脱硫脱硫弧菌的 OD 值也要高于脱硫肠状菌的 OD 值。综合 pH 值对两种菌的活性影响对比，选取脱硫脱硫弧菌作为修复煤矿酸性废水的试验菌种。

### 3.2.2 接种量对脱硫脱硫弧菌活性的影响

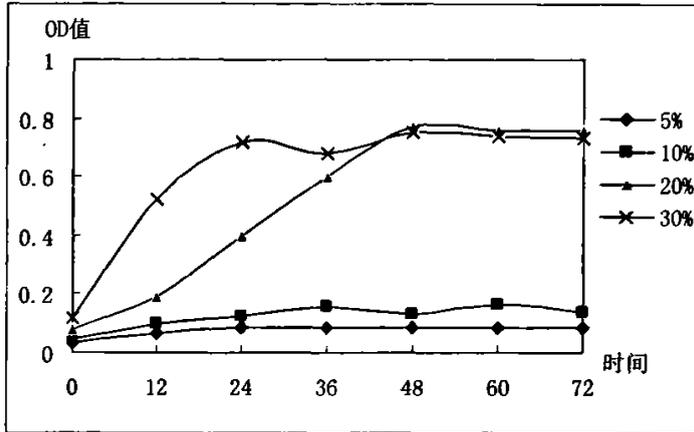


图 3-9 接种量对 OD 值的影响

Fig3-9 The effect of inoculating amount on OD

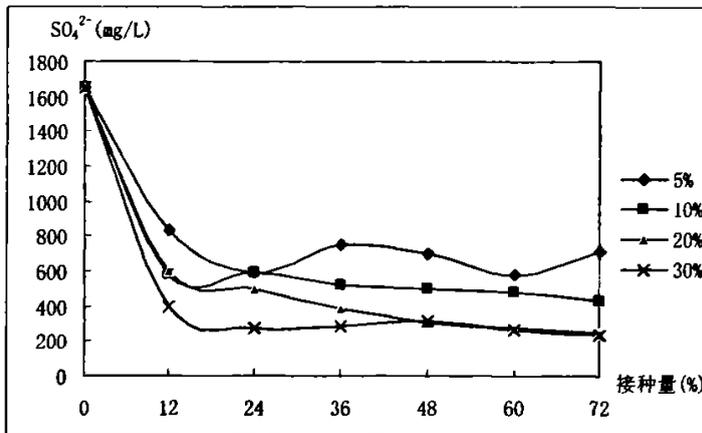


图 3-10 接种量对  $SO_4^{2-}$  浓度的影响

Fig3-10 The effect of inoculating amount on  $SO_4^{2-}$

由图 3-9、3-10 可以看出，接种量在 5%、10% 时，OD 值稍有增大，变化不大，接种量为 10% 时的 OD 值增幅要高于接种量为 5% 时的 OD 值增幅， $SO_4^{2-}$  浓度由 1650 mg/l 最低分别降到 586.3 mg/l 和 423.6 mg/l；接种量在 20%、30% 时，OD 值大幅度增大， $SO_4^{2-}$

浓度也大幅度降低，只是两者变化不同步，30%接种量的菌体浓度和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度在 24h 就达到稳定，20%接种量的菌体浓度和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度在 48h 达到稳定，20%接种量和 30%接种量对  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度的最大去除率都在 85%以上。每组接种量在 72 小时内达到的最大 OD 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  最大变化情况如表 3-1。

表 3-1 接种量对脱硫脱硫弧菌的影响表

Table3-1 The effect of inoculating amount on *Desulfovibrio desulfuricans*

参数 \ 接种量	5%	10%	20%	30%
初始 OD 值	0.035	0.045	0.08	0.12
最大 OD 值	0.087	0.163	0.76	0.73
$\text{SO}_4^{2-}$ 浓度 (mg/l)	583.6	423.6	244.9	238.6
$\text{SO}_4^{2-}$ 去除率 (%)	64.5	74.3	85.2	85.5

$\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率与接种量的大小成正比关系，随着接种量的增大呈上升趋势。但接种量在 20%、30% 时变化不大，接种量降到 20% 以下时， $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率有较大幅度下降。

接种量的大小对脱硫脱硫弧菌有一定的影响，接种量大，相应的菌体浓度 OD 值增幅变大， $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率也增大，说明脱硫脱硫弧菌生长在接种量较大时要比接种量较小时好，这是因为接种量较大时，脱硫脱硫弧菌对酸性条件的缓冲能力较强，对恶劣环境的耐受性也增大。

较大的接种量可以缩短菌体繁殖到达高峰的时间，一般说来，接种量和培养物生长过程的延滞期长短成反比<sup>[41]</sup>。脱硫脱硫弧菌接种量为 30% 时反应在 24h 就能达到稳定，接种量为 20% 时反应在 48h 达到稳定，接种量大了能加快微生物处理煤矿酸性废水的反应速度。

### 3.2.3 硫酸根浓度对脱硫脱硫弧菌的影响

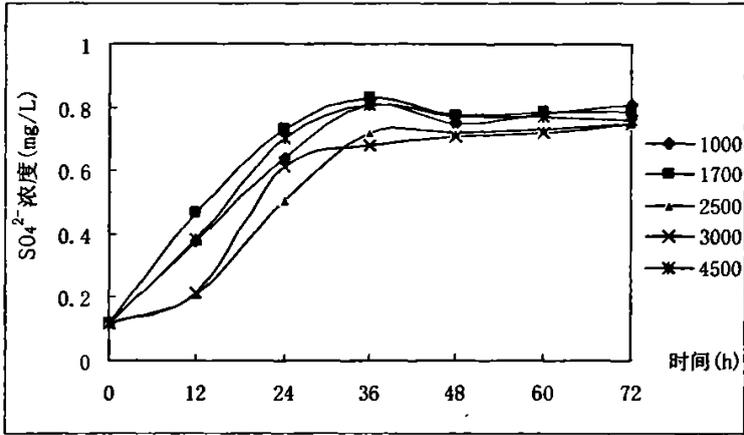


图 3-11  $SO_4^{2-}$  浓度对 OD 值的影响

Fig3-11 The effect of  $SO_4^{2-}$  on OD

不同初始  $SO_4^{2-}$  浓度下，脱硫脱硫弧菌的菌体浓度 OD 值在 24h 都增大到很大的数值，由 0.12 都变到 0.75 以上， $SO_4^{2-}$  浓度随着时间的推移也在降低，说明初始  $SO_4^{2-}$  浓度的大小对脱硫脱硫弧菌的生长没有影响。

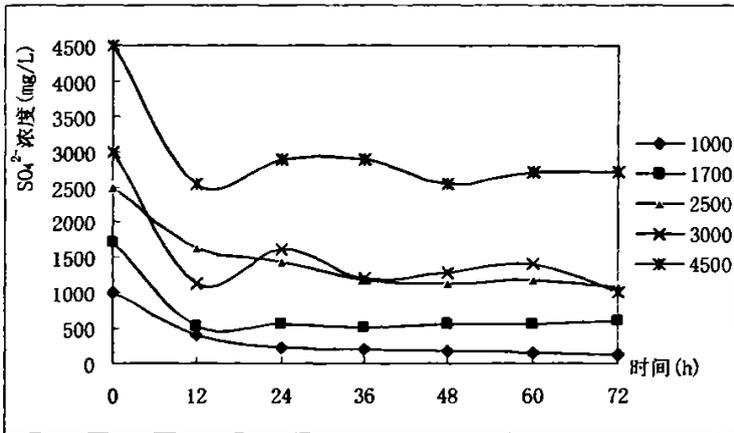


图 3-12 初始  $SO_4^{2-}$  浓度对  $SO_4^{2-}$  变化的影响

Fig3-12 The effect of  $SO_4^{2-}$  concentration on  $SO_4^{2-}$  removal efficiency

分析表 3-2 中  $SO_4^{2-}$  的生物去除率，发现除个别点， $SO_4^{2-}$  去除率基本上随着起始浓度的升高降低的，初始  $SO_4^{2-}$  浓度在 3000mg/l 以下时， $SO_4^{2-}$  的减少量是随着初始浓度的增大而增大的，也就是说对  $SO_4^{2-}$  的处理的绝对量在增加，但是去除率降低， $SO_4^{2-}$  的生物去除率的增高小于  $SO_4^{2-}$  浓度的增高值；初始  $SO_4^{2-}$  浓度达到 3000mg/l 以上时， $SO_4^{2-}$

的处理的绝对量由 1989.9mg/l 降到 1935.4mg/l, 变化极少。也就是说, 在  $\text{SO}_4^{2-}$  充足的情况下, 一定量的菌体处理  $\text{SO}_4^{2-}$  的量一定, 而随着初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度的增大, 去除的硫酸根量一定, 去除率也相应降低。

表 3-2  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度对脱硫脱硫弧菌的影响表

Table3-2 The effect of  $\text{SO}_4^{2-}$  on *Desulfovibrio desulfuricans*

初始 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度 (mg/l)	1000	1700	2500	3000	4500
最小 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度 (mg/l)	125.7	508.3	1088.4	1010.1	2546.6
$\text{SO}_4^{2-}$ 减少量 (mg/l) (mg/l)	874.3	1191.7	1311.6	1989.9	1953.4
$\text{SO}_4^{2-}$ 去除率 (%)	87.4	70.1	56.5	66.3	43.4

### 3.2.4 温度对脱硫脱硫弧菌的影响

SRB 可分为中温菌和嗜热菌两类, 目前所研究的大部分为中温菌。考虑天然条件下, 水体温度达到  $30^\circ\text{C}$  以上的情况很少, 试验只对  $30^\circ\text{C}$  和  $30^\circ\text{C}$  以下做对比研究。选取  $5^\circ\text{C}$ 、 $10^\circ\text{C}$ 、 $20^\circ\text{C}$ 、 $30^\circ\text{C}$  四组试验。OD 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  变化如图 3-13、3-14。

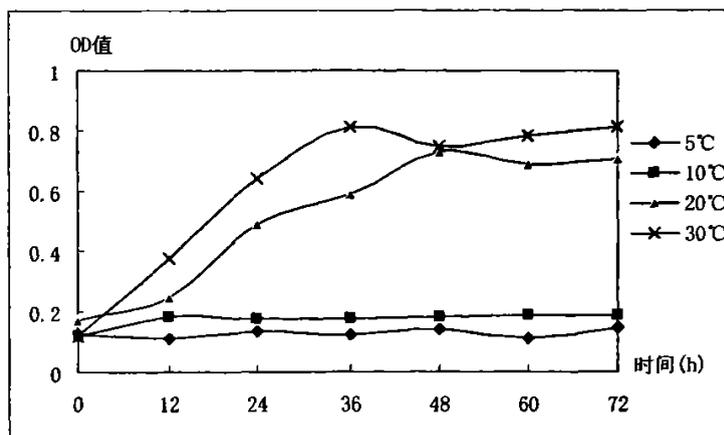


图 3-13 温度对 OD 值的影响

Fig3-13 The effect of the temperature on OD

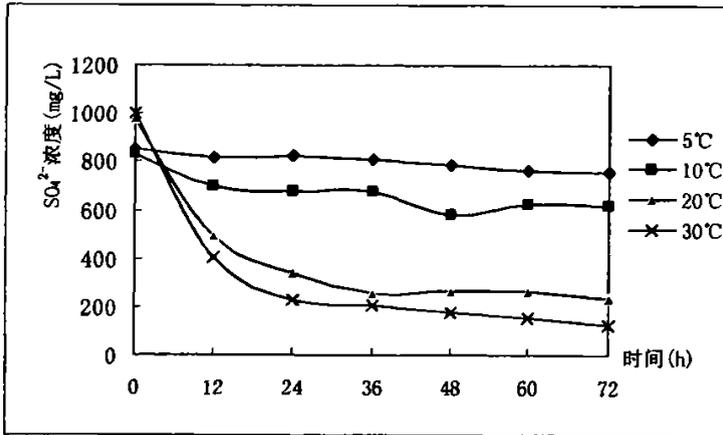


图 3-14 温度对  $SO_4^{2-}$  浓度的影响

Fig3-14 The effect of the temperature on  $SO_4^{2-}$  concentration

由上图可以看出，OD 值随温度的升高增大， $SO_4^{2-}$  浓度随温度的升高降低，在所选择的几组中低温度中，温度越高，脱硫脱硫弧菌生长的越好，菌体浓度也越大，对  $SO_4^{2-}$  的消耗也越多， $SO_4^{2-}$  的浓度也越低。选取各组的最小  $SO_4^{2-}$  浓度点，算其最大生物去除率，5°C、10°C、20°C、30°C 温度下分别为：11.6%、25.7%、76.2%、87.4%。

微生物的生长实际上是生物体的一系列生物化学反应、酶反应的有机组合，而温度是这些反应的必需条件。因此，温度对微生物生长具有极其重要的作用。在一定温度范围内，随着温度的升高，细胞的生长速率随之增加<sup>[41]</sup>。因此脱硫脱硫弧菌在 5°C、10°C、20°C、30°C 四种温度下，随着温度的升高菌体生长越好，对  $SO_4^{2-}$  去除率越高。脱硫脱硫弧菌在 30°C 时为最佳试验温度；当试验温度低至 20°C 时， $SO_4^{2-}$  的生物还原有所降低；当试验温度降到 10°C、5°C 时， $SO_4^{2-}$  的生物还原受到了抑制，在 10°C 时有一定的去除效果，5°C 时处理效果更差。

### 3.3 结论

本章就太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥分离出来的脱硫脱硫弧菌和脱硫肠状菌的生长影响条件进行了试验研究，经过对不同环境影响因子的试验分析，得出以下结论：

1. 硫酸盐还原菌适宜的生长范围为：pH 值在 5~8，温度在 20°C 以上，接种量在 20%

以上。pH 值从 8 降到 5 时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物去除率基本上保持不变，当 pH 值由 5 向下降时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物还原能力开始下降，尤其 pH 值降到 4 以下时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物还原能力下降幅度较大。但在 pH 值为 4 时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物去除率为 50%，说明它有一定的耐酸性，可以适应 pH 值在 4 以上的煤矿酸性废水。

2. 综合 pH 值对两种菌的活性影响对比，发现脱硫脱硫弧菌的生物活性要优于脱硫肠状菌，选取脱硫脱硫弧菌作为治理煤矿酸性废水的试验菌种。

3.  $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物去除率与接种量的大小成正比关系，随着接种量的增大呈上升趋势。但接种量在 20%、30%时变化不大，接种量降到 20%以下时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物去除率有较大幅度下降。

4.  $\text{SO}_4^{2-}$ 的初始浓度对菌体处理  $\text{SO}_4^{2-}$ 绝对量没有影响，在  $\text{SO}_4^{2-}$ 充足的情况下，一定量的菌体处理  $\text{SO}_4^{2-}$ 的量一定，而随着初始  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度的增大，去除的硫酸根量一定，去除率也相应降低。

5. 脱硫脱硫弧菌在 30℃时为最佳试验温度；当试验温度低至 20℃时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物还原有所降低；当试验温度降到 10℃、5℃时， $\text{SO}_4^{2-}$ 的生物还原受到了抑制，在 10℃时有一定的去除效果，5℃时处理效果更差。

## 第四章 以乳酸钠作碳源脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的

### 模拟试验

第3章试验分析得出的试验所采用脱硫脱硫弧菌的脱硫条件,是菌体在培养基中生长的适宜范围,而煤矿酸性废水对脱硫脱硫弧菌来说是一个复杂的生长环境,它含有更多的离子成分,大量的 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ ,以及 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等重金属,用脱硫脱硫弧菌来处理煤矿酸性废水,还要考虑脱硫脱硫弧菌在煤矿酸性废水中的生存能力,去除硫酸根和重金属的效果。

微生物处理煤矿酸性废水前人做过很多研究,但都是运用各种密闭装置采用工艺的形式来完成,这样应用于实践,需要建污水处理厂来处理煤矿酸性废水,无疑增加了投资费用,并且运行费用也较高。降低煤矿废水的处理成本,使其利用天然积水洼地作为反应器,通过向其中投加适量微生物以及所需要的基质碳源等来处理煤矿废水的研究很有必要。本章就是模拟天然条件下微生物处理煤矿酸性废水而进行的试验研究。

#### 4.1 材料与方法

##### 4.1.1 试验材料

###### 1. 试验水样

本试验所用本底水样采自山西孝义偏店煤矿, pH 值为 3.2, 离子成分见表 4-1。

表 4-1 煤矿废水水样的化学成分特征

Table4-1 The background of the sample of acid water sampling

项目	Cl <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	COD	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>
浓度(mg/l)	24.5	0.0	0.0	465	397.7	2671	4.39	0.16	40.04
项目	Cr <sup>6+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Cu	Cd	S <sup>2-</sup>	酚
浓度(mg/l)	<0.004	3.4	66.0	0.42	1.55	0.07	0.0022	0.14	0.002
项目	CN <sup>-</sup>	As	Hg	BOD <sub>5</sub>					
浓度(mg/l)	0.0048	0.0104	0.000004	<2					

在取样过程中发现矿坑水的酸度受环境影响比较大，而且试验需要大量的酸性水，取样不是非常便利，因此，试验所用水样采用自来水和相关药品人工配制而成，（自来水在太阳下曝晒两天，并不时的搅拌，去除自来水中的余氯），主要模拟煤矿酸性废水中的几个重要离子：Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、F<sup>-</sup>。具体数值见表 4-2。

表 4-2 试验所用水样的水化学成分特征

Table4-2 The background of the sample of acid water used in the trial

项目	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>
浓度(mg/l)	322.7~567.5	304.13~493.6	2000~2800	39.7~56.8	30.5~40	91.3~98.3
项目	Mn <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	F <sup>-</sup>	pH		
浓度(mg/l)	<2.4	<14	<2	4~5		

## 2. 其它成分的补充

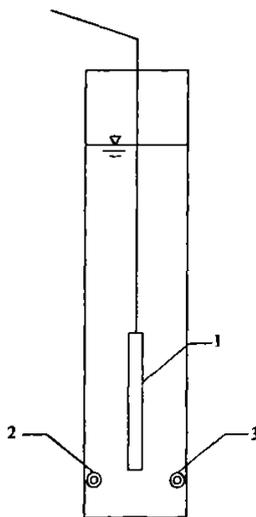
微生物的营养物有六大要素：碳源、氮源、能源、生长因子、无机盐和水<sup>[51]</sup>。废水中含有大量的能源（SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>）、无机盐和水，还要补充碳源、氮源以及生长因子。N、P 营养物是常见的微生物生长的限制条件，补充 N、P 营养能够显著提高降解菌的数量和活性，缩短污染物去除所需要的时间<sup>[52]</sup>。模拟试验所要补充物质按照培养基的成分和量来添加：乳酸钠 3.5ml/l，NH<sub>4</sub>Cl 1g/l，酵母膏 1g/l，K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5g/l。

## 3. 菌株来源

试验采用太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥分离出的脱硫脱硫弧菌。

### 4.1.2 试验装置

本试验采用静态模拟方法，试验装置见图 4-1。反应器为直径为 14.4 cm、高度为 1.2m 的 PVC 管，下端封口，上面敞口，取水孔距离管底 10cm 左右，在与取水孔相同高度处固定氧化还原电位电极，在线测定氧化还原电位。由于试验在冬天进行，温度较低，恒温装置控制水温在 23℃。模拟试验用两个相同的反应器同时进行。



1—恒温控制装置 2—取水孔 3—氧化还原电位测孔

图 4-1 模拟试验装置图

Fig.4-1 The equipment of imitate experimentation

### 4.1.3 试验方法

试验以乳酸钠为碳源，探讨水深为多少时能达到脱硫脱硫弧菌所需要的厌氧条件，接种量减少到什么程度，脱硫脱硫弧菌对煤矿酸性废水的处理效果能保持较好。以及天然条件下煤矿酸性废水可能的 pH 值、 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度和四季温度对处理效果的影响。

试验预先培养菌株，培养基不灭菌的情况下，接入脱硫脱硫弧菌，密封容器，在 DHP-420S 电热恒温培养箱中恒温 30℃培养 2~3 天。按设计水深来配制相应量的煤矿酸性废水，另外加入除酵母膏、 $\text{FeSO}_4$ 、乳酸钠以外的补充营养成分，搅拌均匀，倒入反应器中。配好的废水静置 6h，让 SRB 之外的杂菌生长来消耗水中的溶解氧，以利于 SRB 接入后生长。酵母膏、 $\text{FeSO}_4$ 、乳酸钠在废水静置后加入，防止杂菌过多生长抑制硫酸盐还原菌的生长，以及  $\text{Fe}^{2+}$ 的氧化。然后按反应器中水样的体积百分比量取所需菌液，

在 TDL-5 低速台式大容量离心机中 5 000 r/min 离心 30min, 弃其上清液, 把菌加入反应器中的废水中。每隔 12h 取一次水样, 水样中硫化物较多时颜色发黑, 为了去除颜色的影响, 向水样中滴加过量的乙酸锌, 在 TGL-16C 高速台式离心机中 12 000 r/min 离心 6min, 并用微孔滤膜过滤, 取其上清液做化学分析, 并记录氧化还原电位的数值。

具体试验步骤如下:

1. 不同水深下脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟。配制 pH 值为 5、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000 mg/l 的酸水, 分别加入两个反应器中, 使其水深分别达到 0.5m 和 0.8m, 接入 30% 的菌种, 其中接种量是按接进所接培养好的菌液占所处理废水的百分比。

2. 不同接种量下脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟。水深 0.5m, pH 值为 5、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000 mg/l, 水温在 23℃ 时, 分别按 20%、10%、3% 接入菌种进行三次试验。

3. pH 值为 4 和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2800 mg/l 时脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟。水深 0.5m, 其中一份 pH 值为 4、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000 mg/l, 另一份 pH 值为 5、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2800 mg/l, 控制水温在 23℃ 时, 10% 接种量接入菌种进行试验。

4. 室温 13~15℃ 脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟。水深为 0.5m, pH 值为 5、初始  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000 mg/l, 接种量 10%, 室温 13~15℃ 下进行模拟试验。

#### 4.1.4 分析方法

1.  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度用 721 分光光度计采用铬酸钡光度法分析;

2. pH 值、氧化还原电位用 PHS-3C 精密 pH 计测定;

3. 重金属用火焰原子吸收法测定, 在空气-乙炔火焰中,  $\text{Fe}^{2+}$  于波长 248.3nm, 灯电流 12.5mA, 0.2nm 光谱通带, 7.5nm 观测高度;  $\text{Mn}^{2+}$  于波长 279.5nm, 灯电流 7.5mA, 0.2nm 光谱通带, 7.5nm 观测高度处, 测量铁、锰基态原子对铁、锰空心阴极灯特征辐射的吸收进行定量;

4. 乳酸和乙酸采用 SHIMAGU 液相色谱仪测定, 样品制备: 将水样通过离子交换树脂使其中的乳酸盐和乙酸盐转化为乳酸和乙酸, 流动相为 0.1mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 其中含有 5% 的甲醇, 用磷酸调至 pH 值为 3, 色谱仪条件: C18-ODS 色谱柱, UV 检测器波长

为 215nm, 温度为 30℃, 进样量为 10 $\mu$ L。

## 4.2 结果与讨论

### 4.2.1 不同深度下脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟

#### 1. Eh 和 pH 值变化

表 4-3 不同深度 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化对比表

Table4-3 The contrast of Eh and pH under diffrent depth

时间(h)		0	4	8	12	24	36	48	60	72	84
Eh (mV)	0.8m	17	-	-	-446	-490	-484	-485	-443	-443	-439
	0.5m	9	-266	-369	-414	-420	-412	-412	-417	-423	-428
	0.5m 无菌	10	-	-	-21	-30	-33	-39	-38	-44	-45
pH 值	0.8m	5	-	-	6.26	6.56	6.74	6.79	6.87	6.87	6.82
	0.5m	5	5.64	5.98	6.32	6.49	6.55	6.62	6.75	6.74	6.75

表 4-3 给出了水深为 0.8m 和 0.5m 时不同时间的氧化还原电位值 Eh 和 pH 值, 以及 0.5m 时不加菌的氧化还原电位值。可以看出, 氧化还原电位开始都为正的, 且接近 0, 这是因为水中有一部分溶解氧, 开始加入管内的水为氧化态, 没投放 SRB 的管内氧化还原电位逐渐有所下降, 但在 -50mv 以上, 而加入 SRB 管的水在加入菌 12 个小时后, 氧化还原电位便下降到 -400mV 以下。加入菌的 pH 值也由 5 上升到 6.7 以上, 也是由于 SRB 使  $SO_4^{2-}$  转化为还原态的  $S^{2-}$ 、 $HS^-$ , pH 值上升, 这与第 3 章的试验结果一致。

氧化还原电位逐渐下降是因为水中有一部分好氧菌的存在, 消耗掉水中一部分的溶解氧, 使得氧化还原电位由正逐渐变到负的, 达到还原状态。而投加菌的酸水氧化还原电位由正的, 很快下降到 -400 mV 以下, 这是由于脱硫脱硫弧菌生长消耗的  $SO_4^{2-}$ , 使其转化为还原态的  $S^{2-}$ 、 $HS^-$ , 反应式见 3-1, 3-2。同时, 极低的氧化还原电位也完全达到 SRB 所需要的厌氧环境, 即 Eh 到 -150 mV 以下<sup>[53]</sup>, 更加促进了脱硫脱硫弧菌在这种环境中的生长。

#### 2. $SO_4^{2-}$ 浓度变化

图 4-2、4-3 是水深为 0.8m、0.5m 时的  $SO_4^{2-}$  浓度曲线、 $SO_4^{2-}$  去除率曲线, 可以看

出水深为 0.8m 时  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率比水深为 0.5m 时的  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率要稍高一些，水深为 0.8m 时， $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率最高为 61.98%，水深为 0.5m 时， $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率最高为 60.43%； $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率和水深高度有一定关系，水深大了去除率要高一些，水深为 0.8m 时比 0.5m 时稍高，平均去除率高 4% 左右。

选择取样时间为每隔 12h，由 0.8m 水深的模拟试验发现，以乳酸钠作碳源，生物反应在 12h 基本达到稳定，因此水深为 0.5m 的试验时，前 12h 内每 4h 取一次样分析  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度。由图可以看出，前 12h 内， $\text{SO}_4^{2-}$  浓度的下降以及去除率大致呈直线下降或上升，12h 后  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度趋于稳定。对比表 4-3，0.5m 水深时前 12h 内，pH 值和 Eh 变化也是逐渐变化的，12h 后趋于稳定，与  $\text{SO}_4^{2-}$  的变化一致。

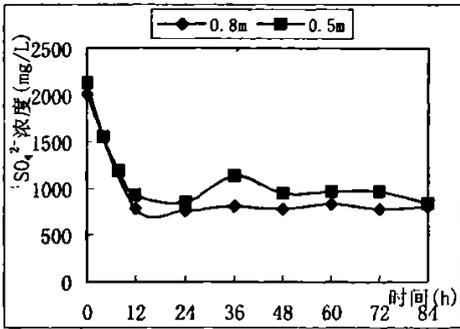


图 4-2 不同深度下  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度变化曲线

Fig4-2 The change of  $\text{SO}_4^{2-}$  under different depth

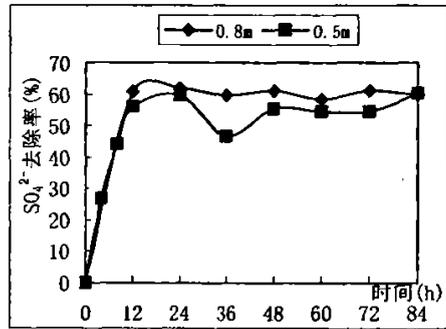


图 4-3 不同深度下  $\text{SO}_4^{2-}$  去除率

Fig4-3 The removal efficiency of  $\text{SO}_4^{2-}$  under different depth

脱硫脱硫弧菌生长产生  $\text{S}^{2-}$ 、 $\text{HS}^-$ 、 $\text{OH}^-$  使得氧化还原电位降低，pH 升高，对比表 4-3 中水深为 0.8m 和 0.5m 的水体氧化还原电位和 pH 值，发现 0.8m 比 0.5m 的水氧化还原电位低、pH 高，这是由于水深大一些的管内还原反应进行得要更充分一些，因此  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率要大于水深小时的  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率。

但考虑到实际煤矿水外排治理过程中，是黄土-湿地植物-微生物生态系统综合治理，植物的生长受高度的限制，不可能把水深设计得太大，而 0.5m 与 0.8m 水深氧化还原电位都可以达到 -400mv 以下，对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除效果差别又不太大，以下试验暂且选择 0.5m 做为试验水深。

### 3. 重金属变化

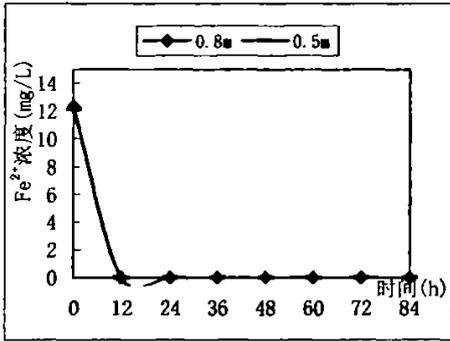


图 4-4 不同深度 Fe<sup>2+</sup>浓度变化曲线

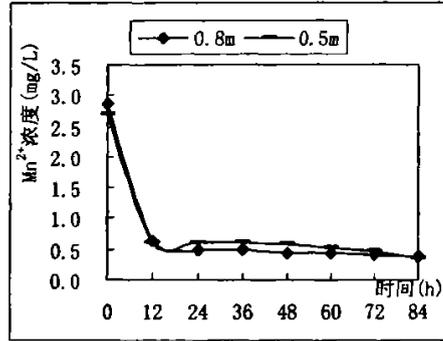
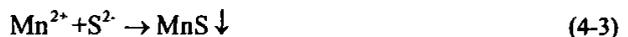
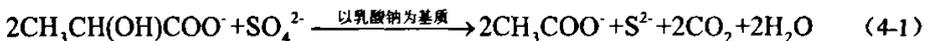


图 4-5 不同深度 Mn<sup>2+</sup>浓度变化曲线

Fig4-4 The change of Fe<sup>2+</sup> under different depth Fig4-5 The change of Mn<sup>2+</sup> under different depth

测 Fe<sup>2+</sup>的浓度变化曲线如图 4-4, 水深为 0.8m 时, Fe<sup>2+</sup>的初始浓度为 12.35mg/l,水深为 0.5m 时, Fe<sup>2+</sup>的初始浓度为 12.15mg/l, 12h 后, 测 Fe<sup>2+</sup>的离子浓度都为 0, 脱硫脱硫弧菌对 Fe<sup>2+</sup>的去除率为 100%; 水深为 0.8m 时, Mn<sup>2+</sup>的初始浓度为 2.87mg/l,其浓度随时间降低, 12h 时就降到很低的数值, 84h 时降到最低为 0.39mg/l,脱硫脱硫弧菌对 Mn<sup>2+</sup>的去除率为 86.4%。水深为 0.5m 时, Mn<sup>2+</sup>的初始浓度为 2.69mg/l, 其浓度随时间降低, 12h 时就降到很低的数值, 84h 时降到最低为 0.35mg/l, 脱硫脱硫弧菌对 Mn<sup>2+</sup>的去除率为 87.0%。

SRB 利用 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>作为最终电子受体, 将有机物作为细胞合成的碳源和电子供体, 同时将 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>还原为硫化物。金属的去除便是由于 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>被脱硫脱硫弧菌还原为负二价硫, S<sup>2-</sup>和 Fe<sup>2+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>结合生成不可溶的金属硫化物而沉淀, 反应式见式 4-1~4-3。产生的不可溶的金属硫化物比传统的中和法形成的沉淀物稳定性好, 体积只是其 1/4<sup>[54]</sup>。含重金属离子废水的生物处理法作为一项新的实用技术极具潜力。



### 4. 有机酸变化

测 0.5m 水深时的有机酸浓度变化, 如图 4-6。CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup>呈下降趋势, 由 29.21m mol/l 下降到 1.72m mol/l, 而 CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>呈上升趋势, 由 0 上升到 27.48mmol/l。

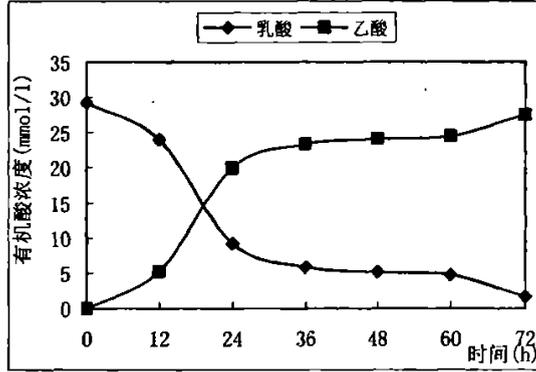


图 4-6 有机酸的变化曲线

Fig4-6 The change of organic acid

由式 4-1 可以看出, 以乳酸盐为碳源时, 脱硫脱硫弧菌生长的过程就是以乳酸提供电子, 消耗  $\text{SO}_4^{2-}$  的过程, 乳酸盐被转化为乙酸, 理论上 1mol 乳酸盐转化成 1mol 乙酸,  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$  和  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  浓度之和应该不变, 而实际所测两者总量保持在 29.21mmol/l 左右, 理论值与实际值一致。

#### 4.2.2 不同接种量下脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟

表 4-4 给出了不同接种量下 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化, 可以看出, 四种不同接种量下, 煤矿酸性废水的氧化还原电位都是由 10mv 左右变化到 -400mv 以下, 即由初始氧化态在加入菌 12h 后即变化到还原态, 达到 SRB 所需要的厌氧环境; 脱硫脱硫弧菌还原  $\text{SO}_4^{2-}$  的同时产生  $\text{OH}^-$ , pH 值由 5 升到 6.6 以上。

表 4-4 不同接种量下 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化对比表

Table4-4 The contrast of Eh and pH under different inoculating amount

时间(h)		0	12	24	36	48	60	72	84
Eh (mV)	30%	9	-446	-490	-484	-485	-443	-443	-439
	20%	8	-488	-491	-465	-442	-434	-431	-
	10%	16	-542	-509	-455	-439	-431	-	-
	3%	13	-506	-490	-450	-441	-436	-	-
pH 值	30%	5	6.26	6.49	6.76	6.77	6.79	6.78	6.75
	20%	5	6.16	6.06	6.55	6.62	6.75	6.74	-
	10%	5	6.12	6.49	6.67	6.68	6.70	-	-
	3%	5	6.19	6.3	6.58	6.61	6.66	-	-

图 4-6, 4-7 给出了四种接种量下  $SO_4^{2-}$  浓度的变化和去除率的变化曲线, 发现  $SO_4^{2-}$  的去除率随接种量的减少依次降低, 接种量 30% 时  $SO_4^{2-}$  的最大去除率为 60.43%, 20% 时  $SO_4^{2-}$  的最大去除率为 56.13%, 10% 时  $SO_4^{2-}$  的最大去除率为 54.96%, 3% 时  $SO_4^{2-}$  的最大去除率为 36.85%。接种量在 10%~30% 时, 对  $SO_4^{2-}$  去除率变化不大, 低于 10% 时  $SO_4^{2-}$  的生物去除率大幅降低。

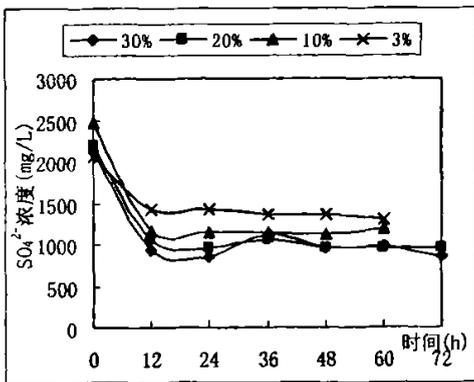


图 4-6 不同接种量时  $SO_4^{2-}$  浓度变化

Fig4-6 The change of  $SO_4^{2-}$  concentration under different inoculating amount

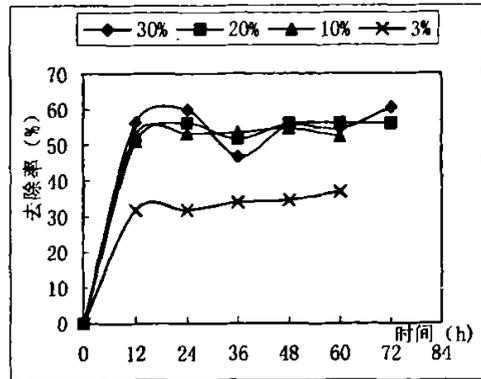


图 4-7 不同接种量时  $SO_4^{2-}$  去除率

Fig4-7 The change of  $SO_4^{2-}$  removal efficiency under different inoculating amount

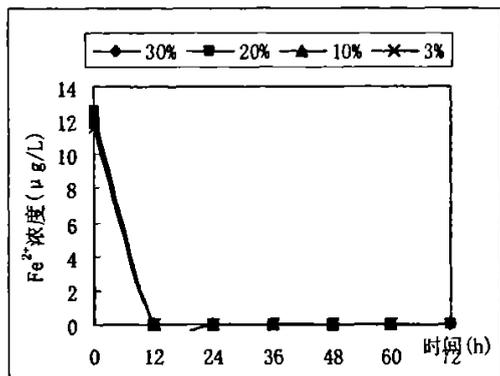


图 4-8 不同接种量时 Fe<sup>2+</sup> 浓度变化

Fig4-8 The change of Fe<sup>2+</sup> under diffrent inoculating amount

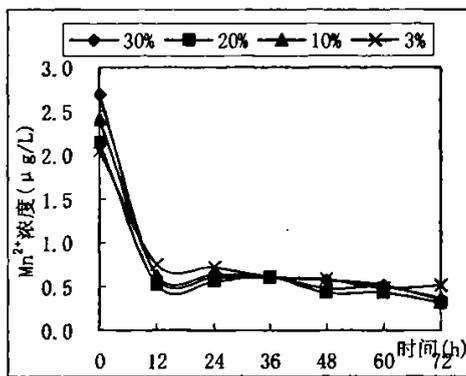


图 4-9 不同接种量时 Mn<sup>2+</sup> 浓度变化

Fig4-9 The change of Mn<sup>2+</sup> under diffrent inoculating amount

不同接种量的金属浓度变化曲线如 4-8, 4-9, Fe<sup>2+</sup> 在 12h 处浓度全都达到 0, 去除率为 100%, 接种量从大到小 Mn<sup>2+</sup> 的去除率依次为 87.0%, 85.58%, 85.06%, 75.12%, 接种量在 10% 以上时, 对 Mn<sup>2+</sup> 的去除率都在 85% 以上。

接种量由小变大时, 管中水的氧化还原电位稍有降低, pH 值也略有升高, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 去除率增高, Fe<sup>2+</sup> 的去除率都为 100%, Mn<sup>2+</sup> 的去除率也增高, 这是由于脱硫脱硫弧菌的菌体浓度大了, SRB 利用 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 作为最终电子受体消耗的 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 变大, 产生的硫化物也增多, 从而金属的去除率更高, 氧化还原电位和 pH 值变化也更多。综合考虑几种接种量对煤矿酸性废水的治理效果以及节约资源的根本, 10% 接种量为理想接种量。

#### 4.2.3 pH 为 4 和 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 浓度为 2800mg/l 时脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟

表 4-5 和图 4-10 给出了接种量为 10%, 温度为 23℃, 初始 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 在 2000mg/l, pH 值为 4 时, 脱硫脱硫弧菌处理模拟煤矿酸性废水的情况, 氧化还原电位和 pH 值都能达到 SRB 生长的要求, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的最终去除率为 47.26%, 比相同条件下 pH 值为 5 时, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的最终去除率 54.96% 低 7.7%。

表 4-5 pH=4 和  $SO_4^{2-}=2800\text{mg/l}$  时 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化对比表

Table4-5 The contrast of Eh and pH under pH 4 or  $SO_4^{2-}=2800\text{mg/l}$

时间(h)		0	12	24	36	48	60
Eh (mV)	pH=4	12	-464	-497	-457	-456	-454
	$SO_4^{2-}=2800\text{mg/L}$	19	-401	-456	-432	-427	-410
pH 值	pH=4	4	5.97	6.23	6.37	6.40	6.43
	$SO_4^{2-}=2800\text{mg/L}$	5	6.29	6.61	6.55	7.03	6.68

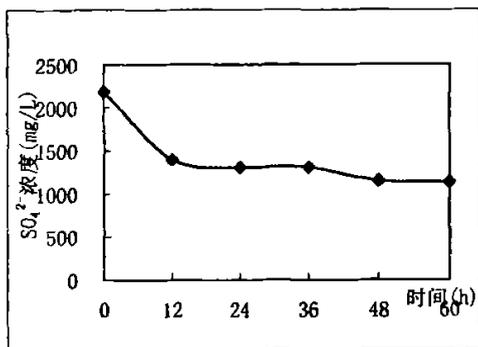


图 4-10 pH=4 时  $SO_4^{2-}$  浓度变化

Fig4-10 The change of  $SO_4^{2-}$  under pH 4

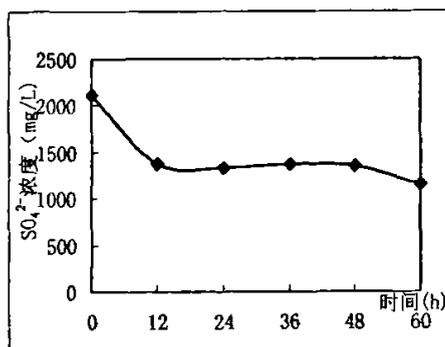


图 4-11 初始  $SO_4^{2-}$  浓度为 2800mg/l 时  $SO_4^{2-}$  变化

Fig4-11 The change of  $SO_4^{2-}$  under  $SO_4^{2-}=2800\text{mg/l}$

表 4-5 和图 4-11 给出了接种量为 10%，温度为 23℃，pH 值为 5，初始  $SO_4^{2-}$  在 2800mg/l 时，脱硫脱硫弧菌处理模拟煤矿酸性废水的情况，氧化还原电位和 pH 值也都能达到 SRB 生长的要求， $SO_4^{2-}$  的最终去除率为 45.58%，比相同条件下初始  $SO_4^{2-}$  在 2000mg/l 时， $SO_4^{2-}$  的最终去除率 54.96% 低 9.38%。

相同条件下，初始 pH 值高时  $SO_4^{2-}$  的去除率要高； $SO_4^{2-}$  初始浓度大时对  $SO_4^{2-}$  的去除率要低，这和第三章结论一致。只是 pH=4，初始  $SO_4^{2-}$  浓度为 2800mg/l 时， $SO_4^{2-}$  的最终去除率在 50% 以下，对煤矿酸性废水的治理效果较差。

4.2.4 室温时脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟

表 4-6 室温下 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化对比表

Table4-6 The contrast of Eh and pH under room temperature

时间(h)	0	21	33	45	57	76	88	112
Eh(mV)	37	-127	-184	-260	-316	-412	-427	-420
pH 值	5	5.32	5.44	5.81	5.87	6.08	6.15	6.21

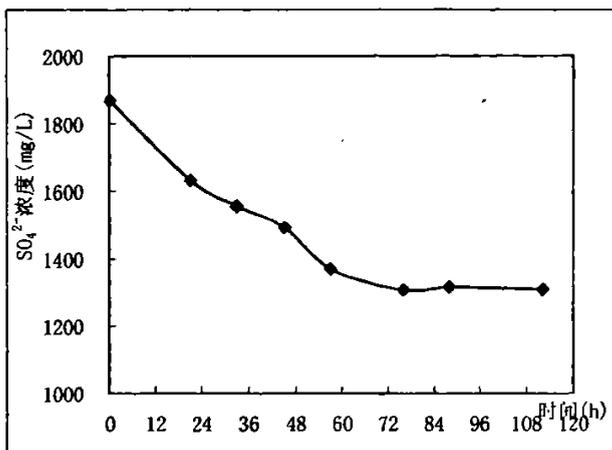


图 4-12 11°C 时 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 变化曲线

Fig4-12 Changing curve of SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> under 11°C

表 4-6 和图 4-12 给出了接种量为 10%，pH 值为 5，初始 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 在 2000mg/l，温度为 13~15°C 时，脱硫脱硫弧菌处理模拟煤矿酸性废水的情况，分析模拟试验的参数情况，发现与温度为 23°C 时所不同的是，氧化还原电位不是在 12h 内就达到 -400mv 以下，而是一个慢慢降低的过程；pH 值的变化规律也一样，不是在 12h 内就达到 6 以上，而是慢慢增加的过程；SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的最终去除率为 30%，比相同条件下温度为 13~15°C 时，SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的最终去除率 54.96% 低 24.96%，并且去除速度缓慢。

SRB 利用 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 作为最终电子受体，温度较低时，菌体生长缓慢，使得 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 浓度也在缓慢降低，pH 值、氧化还原电位都在缓慢变化，不同于温度较高时，SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 浓度、pH 值、氧化还原电位在 12h 内就达到稳定，温度对脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的影响较大。

### 4.3 结论

本章以乳酸钠作为脱硫脱硫弧菌的碳源，模拟天然条件下微生物处理煤矿酸性废水进行试验分析，得出以下结论：

1. 水深对煤矿酸性废水的处理效果有影响，水深大时脱硫脱硫弧菌进行的生物还原更充分，使得  $\text{SO}_4^{2-}$ 、金属的去除率更高，pH 值也更接近于中性。但考虑到实际煤矿水外排的综合治理，植物的生长受高度的限制，选择 0.5m 作为设计水深。

2. 接种量越大对煤矿酸性废水质的处理效果越好，接种量在 10%~30%时，对治理效果变化不大，低于 10%时  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率大幅降低，10%接种量为理想接种量。

3. 相同条件下 pH 值初始值为 4 比初始值为 5 的酸水  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率低 7.7%；初始  $\text{SO}_4^{2-}$  为 2800mg/l 比 2000mg/l 的酸水  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率低 9.38%。且都在 50%以下，对煤矿酸性废水的治理效果较差。

4. 温度为 13~15℃时，菌体生长缓慢，使得  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度也缓慢降低，pH 值、氧化还原电位都在缓慢变化， $\text{SO}_4^{2-}$  的最终去除率较低，对煤矿酸性废水的治理效果较差。

## 第五章 碳源的选择

以往认为 SRB 仅利用有限的基质作为有机碳源和电子供体<sup>[55]</sup>, 如乳酸盐、丙酸盐、反丁烯二酸、苹果酸、乙醇、甘油, 个别也利用葡萄糖和柠檬酸盐, 最后形成 HAC 和 CO<sub>2</sub> 作为终产物。近 20 余年来, 由于选用不同碳源的培养基, SRB 利用的有机碳源和电子供体的种类不但扩大, 发现 SRB 还能利用乙酸、丙酸、丁酸和长链脂肪酸及苯甲酸等, 对其作用的认识也不断深化。SRB 在利用多种多样的化合物作为电子供体时表现出了很强的能力和多样性, 迄今发现可支持其生长的基质已超过 100 种。另外, SRB 除了能利用单一有机碳化合物作为碳源和能源外, 还可利用不同的物质分别作为碳源和能源。

近年来许多研究结果表明, 在有硫酸盐存在的条件下, SRB 能以厌氧硝化器中最常见的挥发有机酸(主要是乙酸、丙酸、丁酸、氯酸)为电子供体来还原硫酸盐。不同的污泥来源, 不同的驯化条件得到的生态系统中利用各种碳源基质的 SRB 的分布必然有较大差别, 从而表现为污泥对于各种碳源具有不同的硝化能力, 进而影响到它们对硫酸盐的还原速率。据研究报告<sup>[56]</sup>, SRB 分别利用乳酸、丙酸、丁酸为碳源时, 其对硫酸盐还原的速率依次降低。而钱泽澎等人认为<sup>[57]</sup>, SRB 利用丙酸盐、丁酸盐、乳酸盐、乙酸盐的硫酸盐还原强度依次降低。

只有当存在电子供体时 SRB 才能将 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>还原为 H<sub>2</sub>S。酸性矿山废水中有机物含量通常很低, 所以利用 SRB 还原 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>的关键是选择技术可行、经济合理的碳源物质<sup>[58]</sup>。一些学者曾采用过多种碳源对 SRB 还原 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>进行了研究, 如乙酸、糖蜜、乙醇、发生炉煤气、H<sub>2</sub>/CO/CO<sub>2</sub> 混合气体、初沉池污泥、剩余活性污泥、橡胶废水以及经过气提的乳清废水等。

用乳酸钠作 SRB 的碳源代价太高, 寻找廉价碳源成了微生物处理煤矿酸性废水关键的一环。考虑到碳源的经济可行, 本章选取生活污水、腐殖质、糖蜜三种廉价碳源, 探索几种廉价碳源做 SRB 碳源的可行性。

## 5.1 材料与方法

### 5.1.1 试验材料

#### 1. 四种廉价碳源

##### (1) 生活污水

城市生活污水包括了大量的有机污染物和高浓度的氮磷。试验生活污水取自太原市杨家堡污水净化厂初沉池配水处。

##### (2) 腐殖质 I、腐殖质 II

土壤腐殖质是一种黑色的胶体状物质，根据其在酸碱溶液中的溶解度分为胡敏酸、富里酸和胡敏素三部分，而主要成分为前二者。从对多种不同腐殖质的元素及官能团组成进行的常规分析结果看<sup>[59]~[60]</sup>，土壤腐殖质主要含 C、H、N、O、S 5 种元素，不同的地区，腐殖质的元素组成有显著差别。对腐殖酸的官能团分析表明，腐殖酸的官能团组成主要有羧基、醇羟基、酚羟基、醌型羰基和酮型羰基。各种官能团的含量，在不同的土壤中差异也较大。就胡敏酸和富里酸的比较来看，富里酸含羟基、醇羟基、酚羟基和酮羰基的量较胡敏酸多，而胡敏酸含醌羰基的量要比富里酸高。腐殖质取自两个地方，一种取自山西大学西边的污水沟，水深 20~30cm，下文称腐殖质 I，另一种取自汾河下游有植被生长的岸边，水深在 50 cm 以上，下文称腐殖质 II。

##### (3) 糖蜜

甘蔗废糖蜜是糖厂的副产品，含蔗糖和还原糖 30%~50%，但由于废糖蜜成分复杂，混有大量的非糖成分和杂质(如黑色素、重金属离子、胶体物质等)，所以分离较困难。目前，大部分废糖蜜仍只作为饲料或肥料，没有被增值作用，糖蜜可以在乳酸菌作用下发酵制取乳酸<sup>[61]</sup>。本实验所用糖蜜来源于广东糖厂，是典型的甘蔗糖蜜，其主要组成成分见下表：

表 5-1 甘蔗糖蜜成分含量表 (%)

Table 5-1 The content of molasses

项目	锤度 Bx	全糖分	蔗糖	纯度	胶体	非发酵性糖	酸度	*磷酸	转化糖	总氮量
亚硫酸法	85.5	50.8	29.7	59.4	11.1	4.57	9.5	0.59	20.0	0.46
碳酸法	82	54.8	35.8	59	7.5	5.06	10.0	0.12	19.0	0.54

\*:以含 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 计

## 2. 菌株来源

试验采用太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥分离出的脱硫脱硫弧菌。

### 5.1.2 试验方法

本试验分为两部分：初步筛选碳源，模拟试验。

#### 5.1.2.1 初步筛选碳源

用 138ml 葡萄糖瓶做廉价碳源的初步筛选试验，容器及试验材料与第 3 章相同，只是培养基不用高温灭菌，碳源由乳酸钠分别替换成所选碳源。选用的廉价碳源分别为生活污水、废糖蜜以及不同污水沟取的腐殖质，探索这几种碳源在发酵与不发酵，以及加不同量的情况下，初步筛选哪种更适宜作 SRB 的碳源。

试验步骤如下：

1. 四种碳源的比较。取四种碳源，分别在三种情况下比较脱硫脱硫弧菌的生长情况：一直接接入碳源；二接入由太原市杨家堡污水净化厂二沉池取的活性污泥，再加碳源；三接入在 30℃ 下厌氧发酵过的碳源。

第一次试验的培养比例为：

生活污水：98ml 培养基（无乳酸钠）+ 30ml 菌液 + 10ml 污水；

腐殖质 I（II）：98ml 培养基（无乳酸钠）+ 30ml 菌液 + 5ml 腐殖质 + 5ml 水；

乳酸钠：98ml 培养基（加乳酸钠）+ 30ml 菌液 + 10ml 水。

第二次试验的培养比例为：

生活污水：107ml 培养基（无乳酸钠）+ 30ml 菌液 + 1ml 污水；

腐殖质 I（II）：107ml 培养基（无乳酸钠）+ 30ml 菌液 + 1ml 腐殖质；

乳酸钠：107ml 培养基（加乳酸钠） + 30ml 菌液+ 1ml 水。

2. 增加腐殖质的量，138ml 总溶液腐殖质的量由 1ml 分别增加到 1.5ml, 2ml, 3ml, 对比加不同量腐殖质时脱硫脱硫弧菌的生长及去除  $\text{SO}_4^{2-}$  的效果。

3. 复合碳源的探索。做糖蜜和腐殖质的复合碳源，分别按糖蜜与腐殖质比例为 1:1, 1:2, 2:1 来加入；同时做单纯碳源的作对比。

### 5.1.2.2 模拟试验

用由 5.1.2.1 筛选出的碳源做静态模拟试验，试验装置与试验材料与第 4 章相同。只是把碳源由乳酸钠替换成廉价碳源，分析脱硫脱硫弧菌在煤矿酸性废水环境下初步所选碳源的可行性。

试验步骤：

1. 以腐殖质作碳源，水深为 1.1m, pH 值为 4 和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2800mg/l, 控制水温 23℃, 模拟脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的试验。

2. 以腐殖质作碳源，改变水深，增大 pH 值，降低  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度，看是否有处理效果。水深 0.8m, pH 值为 5 和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000mg/l, 控制水温 23℃, 模拟脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的试验，分析以腐殖质作碳源的可行性。

3. 利用发酵糖蜜作碳源，水深 0.8m, pH 值为 5 和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000mg/l, 控制水温 23℃, 模拟脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的试验。把糖蜜稀释五倍，接入少量活性污泥，30℃ 下厌氧发酵。三天后取发酵糖蜜作碳源，用水柱模拟处理煤矿酸性废水的静态试验，糖蜜作碳源的接入量按 1L 废水加 45ml 糖蜜。

4. 未发酵糖蜜作碳源，并改变所加碳源量，用未发酵糖蜜按 5.2.1 葡萄糖瓶所摸索出来的糖蜜所加量来进行试验，即 138mL 废水加 0.5mL 糖蜜，水深 0.5m, pH 值为 5 和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000mg/l, 控制水温 23℃, 模拟脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的试验。

5. 未发酵糖蜜作碳源，调整煤矿酸性废水初始 pH 值到 7 时，水深 0.5m,  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 2000mg/l, 控制水温 23℃, 模拟脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的试验，分析以糖蜜作碳源的可行性。

### 5.1.3 分析方法

1.  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度用 721 分光光度计采用铬酸钡光度法分析；
2. pH 值、氧化还原电位用 PHS-3C 精密 pH 计测定；
3. 重金属用火焰原子吸收法测定；
4. 乳酸和乙酸采用 SHIMAGU 液相色谱仪测定。

## 5.2 结果与讨论

### 5.2.1 葡萄糖瓶作碳源选择的探索试验

#### 5.2.1.1 四种碳源比较

第一次试验经过三天的培养，发现发酵前四种碳源的 pH 值都为中性，发酵后只有糖蜜呈酸性，pH 值为 4。由于所接碳源的量太多，所有葡萄糖瓶内液体颜色都很浓，无法判断菌是否长起来，并且影响  $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度的测定。

调整碳源量，第二次试验培养两天后，开瓶后在光学显微镜下观察菌的生长情况，发现生活污水的三瓶脱硫脱硫弧菌长得最差，并且杂菌较多；糖蜜和腐殖质的生长较好，腐殖质的杂菌生长较糖蜜的多；相比两种腐殖质，发现腐殖质 II 中的菌比腐殖质 I 中菌长得稍好，可能是由于所取腐殖质 I 的污水较浅，溶解氧较多，而腐殖质 II 取自汾河，河水较深，且有植被生长，有机质较多的缘故。

比较四种碳源在直接填加、发酵与加活性污泥三种情况下对  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率，发现除了发酵的生活污水比直接加生活污水的  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率稍高一点，其它三种碳源都是直接加碳源的  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率要高于碳源发酵的和加污泥的  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率，选直接加碳源的情况做  $\text{SO}_4^{2-}$ 去除率对比图 5-1。发现乳酸钠为碳源时去除率最高，为 84.6%；糖蜜去除率其次为 59.2%；取自两个不同地方的腐殖质和生活污水去除率较差，在 40%左右，根据光学显微镜观察脱硫脱硫弧菌的生长情况，生活污水和腐殖质 I 中脱硫脱硫弧菌长得最差，且杂菌较多，发酵后 pH 值都呈中性，说明其中有机酸较少，SRB 能利用的营养成

分少，因此排除生活污水和腐殖质 I 的碳源。

表 5-2 OD 值和  $SO_4^{2-}$  浓度

Table5-2 OD and  $SO_4^{2-}$

碳源		OD 值	$SO_4^{2-}$ 浓度(mg/l)
乳酸钠	参照	0.68	269.92
生活污水	-	0.48	1065.10
	发酵	0.43	1034.04
	加污泥	0.38	1173.81
腐殖质 I	-	0.44	1065.10
	发酵	0.48	1121.01
	加污泥	0.44	1071.31
腐殖质 II	-	0.43	1040.25
	发酵	0.43	1102.37
	加污泥	0.59	1096.16
糖蜜	-	0.79	713.14
	发酵	0.52	844.56
	加污泥	0.90	738.95

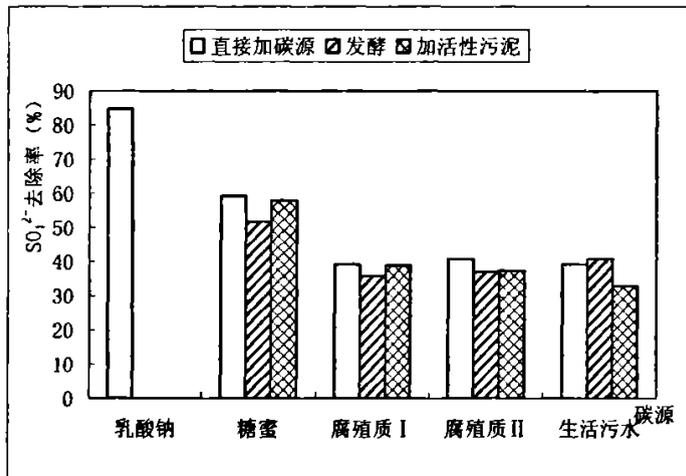


图 5-1 不同碳源三种情况下的  $SO_4^{2-}$  去除率

Fig5-1 The removal efficiency of  $SO_4^{2-}$  under different carbon sources

5.2.1.2 三种碳源延长时间的比较

由 5.2.1.1 所得试验结果, 排除生活污水和腐殖质 I 作碳源, 对乳酸钠、糖蜜和腐殖质 II 三种延长时间做对比。用 138mL 的葡萄糖瓶按 1 的培养比例接入碳源和菌, 每种碳源培养四瓶, 三天后开始测 OD 值和  $SO_4^{2-}$  浓度。OD 值变化如表 5-3,  $SO_4^{2-}$  浓度变化如图 5-2。

表 5-3 三种碳源下 OD 值变化表

Table5-3 The change of OD under three carbon sources

时间 (d)	乳酸钠	糖蜜	腐殖质 II
3	0.51	0.51	0.34
4	0.48	0.50	0.31
5	0.45	0.465	0.31
6	0.465	0.495	0.275

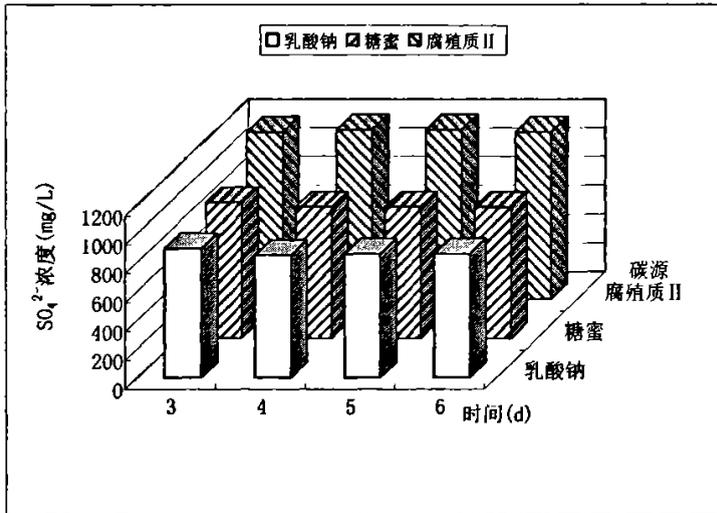


图 5-2 三种碳源下  $SO_4^{2-}$  变化对比图

Fig5-2 The contrast of  $SO_4^{2-}$  under three carbon sources

由图 5-2 可以看出,  $SO_4^{2-}$  浓度在三天后变化不大, 也就是说  $SO_4^{2-}$  浓度在第三天就已经稳定, 糖蜜作碳源  $SO_4^{2-}$  最终浓度为 908.98mg/l, 乳酸钠作碳源  $SO_4^{2-}$  最终浓度为 857.87mg/l, 糖蜜作碳源时对  $SO_4^{2-}$  的去除效果稍差于乳酸钠作碳源时对  $SO_4^{2-}$  的去除, 腐殖质最差, 最终  $SO_4^{2-}$  浓度为 1158.28mg/l。

### 5.2.1.3 加不同量腐殖质的对比

表 5-4 加不同量腐殖质时 OD 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度对比表

Table5-4 The contrast of OD and  $\text{SO}_4^{2-}$  under differnt quantity of humic

碳源	碳源量 (ml/瓶)	OD 值	$\text{SO}_4^{2-}$ 浓度(mg/l)	$\text{SO}_4^{2-}$ 去除率(%)
腐殖质	0.5	0.36	1152.07	34.17
	0.75	0.39	1158.28	33.81
	1	0.31	1158.28	33.81
	1.5	0.33	1111.69	36.47

由表 5-4 可以看出, 加不同量的腐殖质作碳源, OD 值都在 0.3~0.4 之间, 差别不大, 对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率也在 33%~37% 之间, 去除率都较低。究其原因, 可能腐殖质含胡敏酸、富里酸等有机物难以被脱硫脱硫弧菌分解利用。

### 5.2.1.4 复合碳源探索

表 5-5 复合碳源时 OD 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度对比表

Table5-5 The contrast of OD and  $\text{SO}_4^{2-}$  under compound carbon source

碳源	碳源量 (ml/瓶)	OD 值	$\text{SO}_4^{2-}$ 浓度(mg/l)	$\text{SO}_4^{2-}$ 去除率(%)
乳酸钠	0.37	0.72	599.17	65.76
糖蜜	0.5	0.83	692.52	60.64
腐殖质	1.5	0.33	1111.69	36.47
糖蜜+腐殖质	0.25+0.25	0.56	878.12	49.82
	0.17+0.33	0.34	1158.28	33.81
	0.33+0.17	0.66	732.97	58.12

由表 5-5 可以看出, 有糖蜜的 OD 值较高, 其次是乳酸钠的 OD 值, 但对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除乳酸钠作碳源的最好, 这是因为糖蜜作碳源, 会有一些杂菌存在。糖蜜为碳源时  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率为 60.64%, 仅次于乳酸钠作碳源时  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率, 腐殖质作碳源时  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率为 36.47%,  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率最低, OD 值也很低, 增加腐殖质的量时 OD 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率没多大变化。

做糖蜜和腐殖质的复合碳源时, 糖蜜的比例越高, OD 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率越高, 腐殖质作碳源时脱硫脱硫弧菌的活性低于糖蜜和乳酸钠作碳源的情况。腐殖质难以被脱硫脱硫弧菌分解利用, 但有腐殖质存在的沼泽地经常会有  $\text{H}_2\text{S}$  的产生, 理论上应该是可

以被 SRB 利用的，下一步的静态模拟试验来继续分析其是否可用。

### 5.2.2 廉价碳源的选择模拟试验

由 5.2.1 初步探索选择出的腐殖质和糖蜜两种廉价碳源进一步模拟处理煤矿酸性废水来选择合理的碳源。

#### 5.2.2.1 腐殖质为碳源的模拟试验

##### 1. 以腐殖质为碳源两种深度的模拟试验

由 4.3.1 知道，以乳酸钠为碳源时， $SO_4^{2-}$  的去除率与深度有一定关系，水深越大， $SO_4^{2-}$  的生物去除率越高。现以腐殖质为碳源，pH 值为 4，初始  $SO_4^{2-}$  浓度为 2800mg/l，用 0.8m 和 1.1m 高度的水柱同时做模拟试验，测氧化还原电位，pH 值和  $SO_4^{2-}$  浓度，如表 5-6，图 5-3 所示。

从表 5-6 可以看出，以腐殖质为碳源时，两种深度下，氧化还原电位都由正的慢慢下降，即由氧化态变化到还原态，最后达到 -400mv 以下，pH 值也由 4 逐渐升高至 6 以上，氧化还原电位和 pH 值都能达到 SRB 所需要的范围。但从图 5-3 看， $SO_4^{2-}$  浓度几乎没什么变化，两种深度下  $SO_4^{2-}$  浓度都在 2800mg/l 上下波动，即以腐殖质为碳源，脱硫脱硫弧菌对煤矿酸性废水的  $SO_4^{2-}$  几乎没有去除。在试验进行第五天，取水样在光学显微镜下观察发现，水中脱硫脱硫弧菌大部分死亡，有一些杂菌存在。

表 5-6 以腐殖质为碳源不同深度 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化表

Table5-6 The change of Eh and pH under different depth using humic carbon source

时间(h)	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	
Eh (mV)	0.8m	11	-341	-357	-361	-365	-367	-376	-383	-385	-390	405
	1.1m	10	-270	-276	-343	-378	-387	-393	-400	-406	-412	-412
pH 值	0.8m	4	5.73	5.75	5.77	5.77	5.78	5.82	5.87	5.93	6.02	6.16
	1.1m	4	5.95	5.88	5.87	5.95	5.86	5.94	5.99	6.04	6.07	6.16

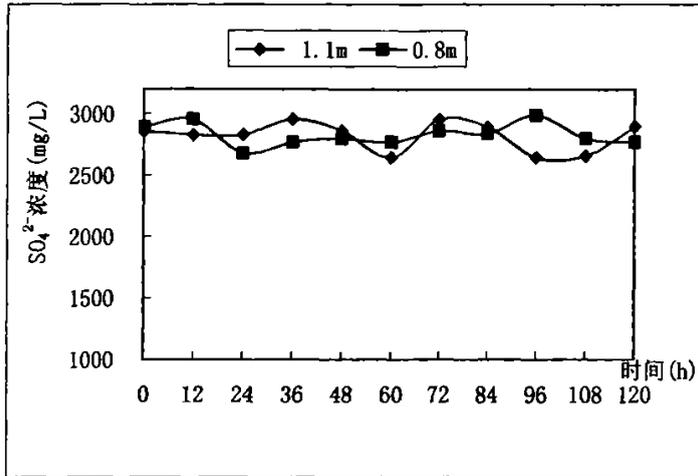


图 5-3 腐殖质作碳源时不同深度下 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>去除率

Fig5-3 The removal efficiency of SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> under different depth using humic carbon source

分析原因，可能是因为好氧菌的存在，消耗了水中的溶解氧，使得氧化还原电位下降，pH 值上升。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度没有降低，而且水中脱硫脱硫弧菌大部分死亡，说明腐殖质中的有机酸在目前条件下不能被利用。

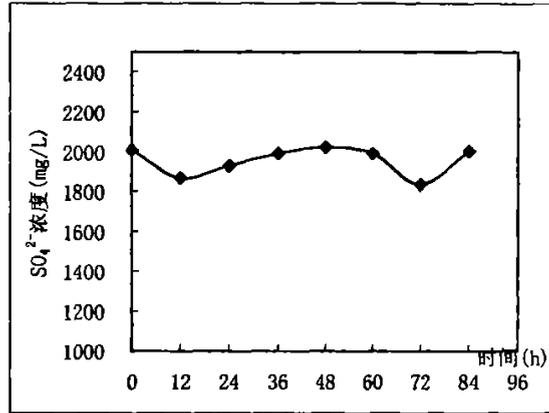
## 2. 改变 pH 值和初始 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度模拟试验

把配制煤矿酸性废水的 pH 值调到 5，SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度降到 2000mg/l，水深为 0.8m，以腐殖质为碳源，再做模拟试验。所测数据如表 5-7 和图 5-4。

表 5-7 以腐殖质为碳源改变条件 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化表

Table5-7 The change of Eh and pH under different condition using humic carbon source

时间(h)	0	12	24	36	48	60	72	84
Eh(mV)	17	-349	-384	-388	-394	-401	-408	-413
pH 值	5	5.99	5.93	6.00	6.10	6.04	6.11	6.17

图 5-4 腐殖质作碳源改变条件  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度变化曲线Fig5-4 The change of  $\text{SO}_4^{2-}$  under different condition using humic carbon source

调整 pH 值和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度后，由表 5-7 可以看出，氧化还原电位都由正的慢慢下降，即由氧化态变化到还原态，最后达到 -400mv 以下，pH 值也由 5 逐渐升高至 6 以上，氧化还原电位和 pH 值都能达到 SRB 所需要的范围。 $\text{SO}_4^{2-}$  浓度在 2000mg/l 上下波动，没有生物去除率，84h 时用光学显微镜观察发现菌已很少，大部分已死亡。SRB 脱硫的原理就是利用  $\text{SO}_4^{2-}$  作为最终电子受体，将有机物作为细胞合成的碳源和电子供体，将  $\text{SO}_4^{2-}$  还原为硫化物，在 pH、Eh、 $\text{SO}_4^{2-}$  浓度都能达到要求的情况下， $\text{SO}_4^{2-}$  没有去除，说明腐殖质在这种条件下还是不能被 SRB 利用作碳源，原因有待于下一步试验继续研究。

#### 5.2.2.2 糖蜜为碳源的模拟试验

由 5.2.1 廉价碳源的探索试验发现，废糖蜜作碳源时煤矿酸性废水  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率在 60% 左右。Maree 等曾利用糖蜜（发酵或未发酵）作碳源，白云石做载体介质，填充床生物反应器或完全混合反应器做过试验， $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率能达到 80% 以上<sup>[25, 30, 32]</sup>。糖蜜是一种较为成熟的 SRB 的廉价碳源。本试验模拟研究在天然情况下，以糖蜜作碳源，脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的情况。

1. 利用发酵的糖蜜作碳源

表 5-8 以糖蜜为碳源 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化表

Table5-8 The change of Eh and pH using molasses carbon source

时间(h)	0	12	24	36	48	60	72	84	96
Eh(mV)	15	-152	-216	-248	-267	-323	-337	-347	-359
pH 值	5	4.03	3.72	4.30	3.54	3.48	3.54	3.55	3.48

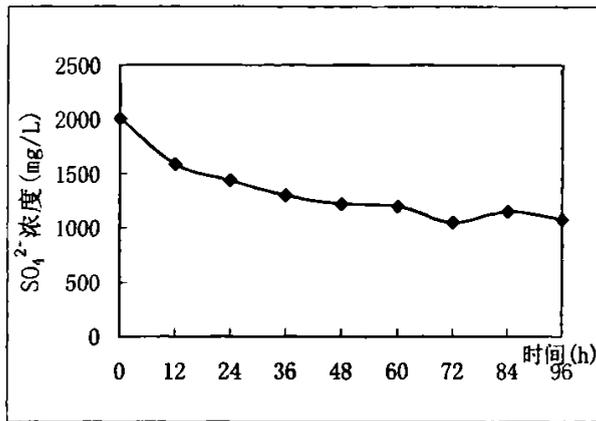


图 5-5 发酵糖蜜作碳源的 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度曲线

Fig5-5 The curve of SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> using ferment molasses carbon source

由表 5-8 可以看出水的氧化还原电位在逐渐降低，由氧化态降到还原态，和乳酸钠作碳源时的区别在于，氧化还原电位降低不到-400mv 以下，而且是慢慢降低到-359mv，乳酸钠作碳源时氧化还原电位在 12h 内就降到-400mv 以下；乳酸钠为碳源时由于硫酸盐还原菌能产生一定的碱度，水的 pH 值是逐渐升高的，糖蜜为碳源时 pH 值是逐渐降低的，由 5 降低至 3.48，这是由于糖蜜发酵产酸，而脱硫弧菌所产的碱度不足以中和发酵产生的酸。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度由 2006.3mg/l 逐渐降到 1078.6mg/l，去除率为 46.24%。

糖蜜中含有大量的蔗糖和转化糖，在厌氧条件下会被厌氧菌降解，在酸性消化的前期，厌氧菌首先分解碳水化合物，在内酶的作用下转化糖中的葡萄糖会被降解产生大量的有机酸。主要遵循葡萄糖厌氧发酵途径（HMP 途径、EMP 途径和 ED 途径），而后丙酮酸被继续降解，通过异型乳酸发酵和混合酸发酵途径，其最终产物为乳酸、乙醇和乙酸等物质<sup>[62]</sup>。根据伯杰细菌鉴定手册，脱硫弧菌可以利用乳酸、乙醇、苹果酸、丙酮酸、甲酸、延胡索酸作为碳源<sup>[48]</sup>。因此，糖蜜可以作为脱硫弧菌的碳源。

以糖蜜作碳源时，组成了产酸-硫酸盐还原系统，完成有机物产酸发酵和硫酸盐还原功能的主要菌群是产酸菌(Acidogens,AB)和硫酸盐还原菌。含硫酸盐有机废水进入产酸—硫酸盐还原系统后，产酸菌首先将碳水化合物发酵为小分子挥发酸，然后硫酸盐还原菌利用其中的某些挥发酸还原硫酸盐。

刘广民等<sup>[49]</sup>曾试验表明，AB 的液相末端产物中乙醇占 35.6%、乙酸占 37.7%，同时有氢气产生，属于乙醇型发酵类型。SRB 容易利用的底物为氢气、乙醇和乳酸，不易利用乙酸、丙酸和丁酸。SRB 将乙醇转化为乙酸，而乙酸极少被继续转化，导致反应器内出现乙酸积累现象。并且在产酸-硫酸盐还原系统中，硫酸根还原效果与产酸菌和硫酸盐还原菌的协同作用状态密切相关：当产酸菌和硫酸盐还原菌处于较好的协同作用状态时，系统对硫酸根的转化率较高；反之则使硫酸根的转化率降低。

用光学显微镜观察发现模拟试验废水中杂菌较多，如图 5-6 的电镜照片，原因可能是所加碳源量较多，产酸速率大于硫化物产生速度率，产酸菌和硫酸盐还原菌的协同失衡，以下试验减少所加碳源量，并试验糖蜜不发酵的情况。

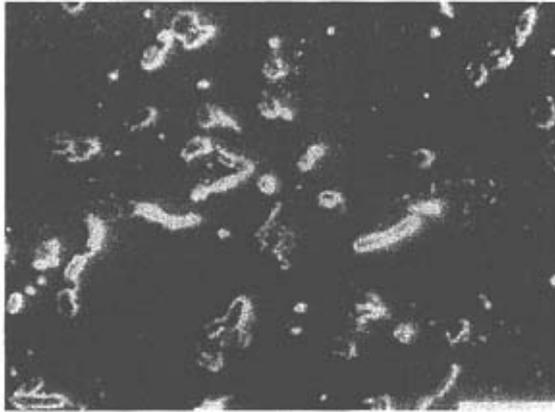


图 5-6 模拟试验水中菌体图

Fig5-6 SEM morphology of bacteria in simulating experimental water

2. 未发酵糖蜜作碳源

表 5-9 以糖蜜为碳源 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化表

Table5-9 The change of Eh and pH under molasses carbon source

时间(h)	0	12	24	36	48	60	72
Eh(mV)	15	-157	-170	-237	-264	-332	-367
pH 值	5	4.27	3.53	3.53	3.56	3.49	3.47

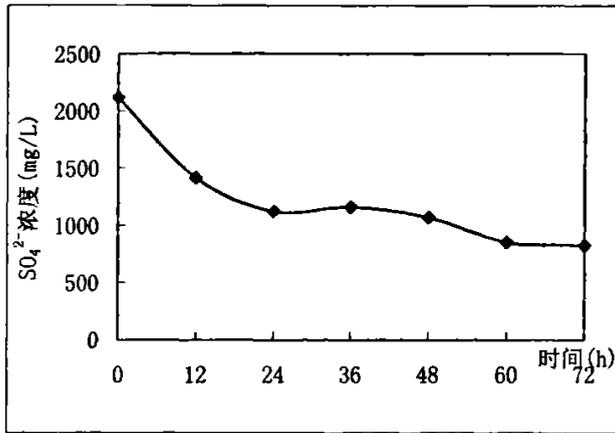


图 5-7 未发酵糖蜜作碳源的 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度曲线

Fig5-7 The curve of SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> using molasses carbon source

由表 5-9 可以看出,氧化还原电位值稳定在-350mv 上下,pH 值由 5 逐渐降低至 3.47,图 5-7 中,SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度由 2115.89mg/l 降到 825.32mg/l 达到基本稳定,去除率为 61%。这说明以糖蜜作碳源,初始环境为酸性时,脱硫脱硫弧菌可以生长,但生长缓慢。

资料表明,AB 的乙醇型发酵可以在 pH 值低至 3.8 的条件下进行<sup>[63]</sup>。产酸-硫酸盐还原体系的正常 pH 值为 5.5~6.0,当 pH 值为 4.8 时,尽管 AB 活性受影响较小,但 SRB 会受到严重抑制,出现 AB 与 SRB 协同作用失调,导致 AB 产物(氢气、乙醇)积累、硫酸根转化率降低<sup>[49]</sup>。提高进水 pH 值再试验。

3. 废水 pH 值为 7 的模拟试验

表 5-10 以糖蜜为碳源 ACMD 的 Eh 和 pH 值变化表

Table5-10 The change of Eh and pH using molasses carbon source

时间(h)	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
Eh(mV)	9	-348	-403	-442	-447	-444	-442	-443	-441	-439	-437
pH 值	7.28	6.88	4.21	4.14	4.07	4.07	3.78	3.64	3.89	5.42	6.05

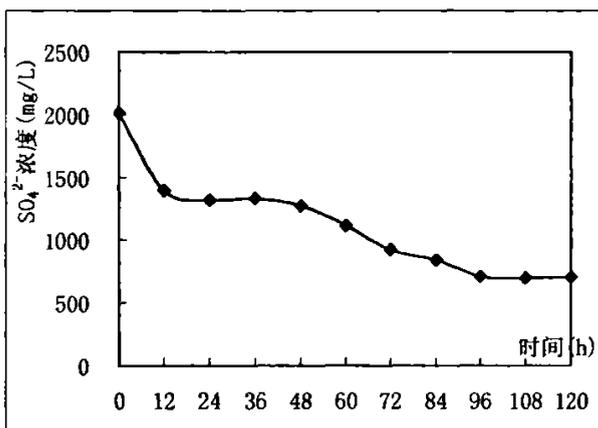


图 5-8 pH 为 7 时 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 浓度曲线

Fig5-8 Curve of SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> under pH 7

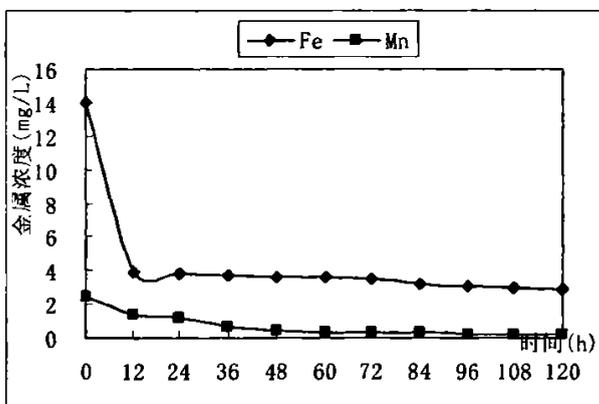


图 5-9 糖蜜作碳源时金属浓度变化曲线

Fig5-9 The change curve of metals using molasses carbon source

由表 5-10 可以看出,氧化还原电位在 24h 达到-400mv 以下,并且最终稳定在-440mv 上下, pH 值由 7.28 降到 3.64, 再升到 6.05, 与乳酸钠作碳源时的氧化还原电位、pH 值

差不多，能满足硫酸盐还原菌的生长需求。 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度由 2010.8mg/l 降到 708.9mg/l，去除率为 64.75%，达到较好的去除效果。

同时测重金属离子的浓度变化，如图 5-9。 $\text{Fe}^{2+}$ 的浓度由 14mg/l 逐渐降到 2.87mg/l，去除率为 79.5%； $\text{Mn}^{2+}$ 的浓度由 2.41mg/l 降到 0.23mg/l，去除率为 90.46%。SRB 利用  $\text{SO}_4^{2-}$ 作为最终电子受体，将糖蜜发酵物作为细胞合成的碳源和电子供体，将  $\text{SO}_4^{2-}$ 还原为硫化物，硫化物与  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 接合生成沉淀，以此达到对  $\text{SO}_4^{2-}$ 和重金属的去除。与乳酸钠作碳源相比，糖蜜作碳源对  $\text{Mn}^{2+}$ 的去除效果要高于乳酸钠作碳源的去除效果，而对  $\text{Fe}^{2+}$ 的去除不如乳酸钠为碳源的去除效果。

综上所述，糖蜜作碳源时，微生物处理煤矿酸性废水能达到很好的处理效果。以糖蜜作碳源，脱硫脱硫酸弧菌治理煤矿酸性废水的思路是可行的。初始 pH 值是需要考虑的问题，初始环境为酸性时处理效果较差，这需要与其它子系统结合起来，先把煤矿酸性废水处理成中性再用微生物系统来处理。

### 5.3 结论

本章用葡萄糖瓶做反应器初步探讨试验了几种廉价碳源被脱硫脱硫酸弧菌的利用情况，并做了模拟试验，得出以下结论：

1. 廉价碳源选择的初步试验发现，生活污水和腐殖质在目前所采用的模拟试验条件下不能被脱硫脱硫酸弧菌利用，糖蜜作碳源脱硫脱硫酸弧菌对煤矿废水有较好的处理效果。

2. 糖蜜作碳源与乳酸钠作碳源时脱硫脱硫酸弧菌对煤矿废水的治理结果稍有差别：乳酸钠作碳源时，脱硫脱硫酸弧菌对煤矿水的治理在 12h 就达到稳定，速度很快，对 Fe 能达到完全去除，对 Mn 的去除率达到 85%以上；糖蜜作碳源时，脱硫脱硫酸弧菌对煤矿废水的治理速度没有那么快，离子是逐渐降低的过程，对  $\text{SO}_4^{2-}$ 的去除要略高于乳酸钠作碳源的去除，同时对 Fe 的去除要低一些，对 Mn 的去除效果要好于乳酸钠作碳源时。

3. 糖蜜作碳源时，初始环境为酸性时对废水处理效果较差。微生物处理煤矿酸性废水要想达到很好的处理效果，初始 pH 值是需要考虑的问题，这需要与其它子系统结合起来，先把煤矿酸性废水处理成中性再用微生物系统来处理。

## 第六章 结论与建议

### 6.1 结论

本文通过对由污水净化厂取来的污泥分离出来的硫酸盐还原菌分离、鉴定、脱硫条件试验研究、处理煤矿酸性废水的模拟试验以及几种廉价碳源的选择试验,初步揭示了脱硫脱硫弧菌治理煤矿酸性废水的条件,现将本文研究的主要结论叙述如下:

1. 由太原市杨家堡污水净化厂二沉池回流污泥中分离出两株硫酸盐还原菌,经鉴定,一株为脱硫脱硫弧菌,另一株为脱硫肠状菌;综合两种菌在相同条件下的活性对比,发现脱硫脱硫弧菌的生物活性要优于脱硫肠状菌,选取脱硫脱硫弧菌作为修复煤矿酸性废水的试验菌种。

2. 脱硫脱硫弧菌脱硫条件试验研究发现,脱硫脱硫弧菌以下条件范围下生长较好:pH 值 5~8,温度在 20℃以上,接种量在 20%以上。菌体在 pH 为 4 时,脱硫脱硫弧菌也可以生长,对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率为 50%; $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率随着接种量的增大呈上升趋势,接种量在 20%以上时, $\text{SO}_4^{2-}$  的生物去除率在 85%以上; $\text{SO}_4^{2-}$  的初始浓度对菌体处理  $\text{SO}_4^{2-}$  绝对量没有影响, $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率随着初始浓度的升高而降低;脱硫脱硫弧菌在中低温时试验发现,随着温度降低,对  $\text{SO}_4^{2-}$  的生物还原能力依次降低。

3. 以乳酸钠作碳源脱硫脱硫弧菌处理煤矿酸性废水的模拟试验时发现,使其利用天然积水洼地作为反应器的思路是可行的,使煤矿酸性废水的 pH 值都达到 6.5 以上,对  $\text{SO}_4^{2-}$  的去除率最大为 61.98%,并且对铁的去除率为 100%,对锰的去除率也大都在 85%以上。

4. 廉价碳源的选择的试验发现,糖蜜可以做脱硫脱硫弧菌的碳源。并且糖蜜作碳源时脱硫脱硫弧菌对煤矿废水有较好的处理效果,对  $\text{SO}_4^{2-}$  的最大去除率为 64.75%,高于乳酸钠作碳源时的去除率,并且对锰的去除率最大为 90.46%,对铁的去除率为 79.5%;生活污水和腐殖质在目前所采用的模拟试验条件下不能被脱硫脱硫弧菌利用。

## 6.2 建议

由于本次试验到目前为止还在继续进行,因此本文的研究也只是一个大项目的阶段研究,在后续的研究中,我们将继续探索和实践。从本次研究过程和取得到研究成果来看,今后需要加强以下几个方面的研究:

1. 在本文研究的基础上,进一步研究腐殖质、生活污水在什么条件下可以被 SRB 利用,或者继续探讨其它的廉价碳源。
2. 继续研究怎样提高脱硫脱硫弧菌的活性,使脱硫脱硫弧菌对煤矿酸性废水的治理效果更好。
3. 在定性分析的基础上,把有机质、微生物、离子成分等之间的数量关系用数学公式表达出来,建立数学模型,为进一步开展生物处理系统的最优化设计和运行的研究,提供新的可能。
4. 与其它子系统结合起来,先把煤矿酸性废水用土地处理系统处理成中性再进入微生物系统,能达到更好的处理效果。
5. 硫酸盐还原菌把硫酸根转化为黑臭硫化物,在这方面对环境的污染更厉害,系统试验需要进一步把硫化物转化为有用的硫单质。

## 参考文献

- [1] 胡文容. 煤矿矿井水及废水处理利用技术. 北京. 煤炭工业出版社. 1998.2: 219~221
- [2] 华凤林, 王姗, 王则成. 矿山酸性废水的形成机理及防治途径探. 河海大学学报, 1993, 21 (5): 55~61
- [3] 陈海峰. 酸性矿井水的成因和防治对策. 煤矿环境保护, 1992, 7 (1) : 7~10
- [4] 丛志远, 赵峰华, 郑晓燕. 煤矿酸性矿井水研究进展. 煤矿环境保护, 2002, 16(5): 8~11
- [5] 康凤先, 伦世仪. 硫酸盐还原——甲烷发酵两步厌氧法处理含高浓度硫酸盐有机废水可行性研究 [J]. 工业水处理, 1993, Vol. 13, No.1: 13~16
- [6] 胡文容, 高廷耀. 酸性矿井水的处理方法和利用途径[J]. 煤矿环境保护, 1994. 8(1), 17~19
- [7] 刘心中, 姚德, 董风芝. 煤矿酸性废水处理方法研究[J]. 淄博学院学报(自然科学与工程版), 2000. 2(3): 29~32
- [8] 崔玉川, 杨石龙, 谢锋. 煤炭矿井水处理利用技术进展[J]. 工业用水与废水 2000. 31 (2): 1~3
- [9] 张子间. 酸性矿山废水处理技术研究进展. 金属矿山. 2005. 9: 10~13
- [10] 谢光炎, 戴文灿. 硫化沉淀浮选法处理矿山井下废水研究. 有色金属(选矿部分), 2003, (2): 21~24
- [11] 黄万抚, 王淑君. 硫化沉淀法处理矿山酸性废水研究. 环境污染治理技术与设备. 2004. 5(8): 60~62
- [12] 张建平. 粉煤灰处理废水机理及应用[J]. 粉煤灰综合利用, 1996, 10 (4): 33~35
- [13] 马志毅, 任志宏, 刘瑞强. 用粉煤灰中和酸性废水的试验研究[J]. 太原工业大学学报, 1997, 41(1) : 78~83
- [14] 刘心中, 姚德, 董风芝等. 粉煤灰在废水处理中的应用[J]. 化工矿物与加工, 2002. 31 (8) : 4~7, 41
- [15] 格鲁德夫 S N. 重金属和砷污染土壤的微生物净化. 国外重金属选矿. 1999(10): 40~42
- [16] M. Kalin Biogeochemical and ecological consideration in designing wetland treatment systems in post-mining landscapes. Waste Management. 2001, 21: 191~196
- [17] Kyle M. StepHens, John C. Sencindiver, Jeffery G. Skousen. Characterization of natural wetland soils receiving acid mine drainage. 20th National Conference-ASMR/9th billings Land Reclamation Symposium. 2003. P: 1240~1265
- [18] 阳承胜. 等. 宽叶香蒲人工湿地对铅/锌矿废水净化效能的研究. 深圳大学学报, 2000(17): 2~3
- [19] 唐述虞. 铁酸性排水的人工湿地处理. 环境工程, 1996, 14(4): 17~20
- [20] 钱泽澎, 莫文英, 阎航, 等. 硫酸盐浓度与不同基质有机废水厌氧消化的关系. 中国沼气, 1993, 11(1): 7~11
- [21] 丘建辉. 氧化亚铁硫杆菌在酸性工业气体生物脱硫中的固定化及其氧化  $Fe^{2+}$  动力学的研究. 河北工业大学硕士论文, 2001
- [22] Silverman M P, Lundgren D G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus*

- ferrooxidans. *J. Bacteriol.*, 1959, 77: 642~6470
- [23] 王伟,屠传经,胡亚才.微生物烟气脱硫技术的展望[J].环境污染与防治, 1997, 19(2):28~31
- [24] Postgate J R. *The Sulfate Reducing Bacteria*. Cambridge. UK :Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1984
- [25] Maree J.P.,Gerber A.And Hill E.,An Integrated Process for Biological Treatment of Sulphate-Containing Industrial Effluents,WPCF,1987,59(12)
- [26] Maree J.P.and Strydom Wilma F.,Biological Sulphate Removal in an Upflow Packed Bed Reactor,Wat.Res.,1985,19(9):1101~1106
- [27] Maree J.P.,Gerber A.,Melaren A.R.and Hill E.,An Biological Treatment of Mining Effluents,Environ.Tech.Letters,1987(8):53~64
- [28] Maree J.P. and Strydom Wilma F.,Biological Sulphate Removal from Industrial Effluents in an Upflow Packed Bed Reactor,Wat.Res., 1987,21(2):141~146
- [29] Jukka A.Rintala,Sulphate Reduction on Acetate in Thermophilic Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactor at 55 and 70°C,Proc.8th International Conf.on anaerobic Digestion,Vol.3,May 25~29,1997,Sendai,Japan
- [30] Maree J.P.and Hill E.,Biological Removal of Sulphate from Industrial Effluents and Concomitant Production of Sulphur,Sci. Tech.,1989,(21):265~276
- [31] Du Preez L A, et al. Biological Removal of Sulphate from Industrial Effluents Using Producer Gas as Energy Source. *Environmental Technology*,1992 (13) :875~882
- [32] Maree J P and Hulse G Pilot Plant Studies on Biological Sulphate Removal from Industrial Effluent. *War .Sci. Tech*,1991(23 ):1293~1 300
- [33] Renze T,et al. Biological Sulphate Reduction Using Gas-Lift Reactor Fed with Hydrogen and Carbon Dioxide as Energy and Carbon Source. *Biotech. Bioeng*,1994,44 (5) :586~594
- [34] Renze T. Van Houten and G Lettinga. A Novel Reactor Design fox Biological Sulphate Removal. *Proc. 8th International Conf. on An-aerobic Design*, Vol. 3, May 25-29 ,1997 , Sendai, Japan
- [35] Sergey Kalyuzhnyi. Claudia de Leon Fragoso and Jesus Rodriguez Martinez. Investigation of Sulphate Reduction in a UASB Reactor U-sing Ethanol as Electron Donor,Proc. 8th International Conf. on An-aerobic Digestion, Vol. 3, May 25-29,1997, Sendai, Japan
- [36] James M. Castro, et al; Stimulation of sulfate-Reducing Bacteria in Lake Water from a former Open-pit Mine Through Addition of organic Waste; *Water Environ Res* 1999,71:218~223
- [37] 李亚新,苏冰琴,等.硫酸盐还原菌和酸性矿山废水的生物处理.环境污染治理技术与设备.2000.1(5):1~11
- [38] 李由令,含硫酸盐矿井废水的资源化处理研究.江苏大学硕士论文,2003
- [39] Jukka A. Rintala. *Sulphate-Reducing Bacteria(second edition)*. Cambridge University Press. 1984
- [40] 李新荣,沈德中.硫酸盐还原菌的生态特性及其应用[J].应用与环境生物学报,19999 No. 5:10~13
- [41] 李再资,黄肖容,谢逢春.生物化学工程基础(第二版).北京.化学工业出版社.2006.1:25~39

- [42] 张小里,陈志听,刘海洪等.环境因素对硫酸盐还原菌生长的影响.中国腐蚀与防护学报, 2000,(8): 224~229
- [43] 缪应祺.废水生物脱硫技术[M].北京.化学工业出版社,2004,7:5~37
- [44] 付玉斌.硫酸盐还原菌诱发腐蚀的研究特点[J].材料开发与应用, 1999, Vol. 14, No. 5:45~47
- [45] 缪应祺,水污染控制工程[M],东南大学出版社,2002
- [46] 范秀容,李广武,沈萍.微生物学试验.北京:高等教育出版社,1988.6
- [47] 穆军,张肇铭.一种分离纯化厌氧细菌的新方法—平皿夹层厌氧法.山西大学学报(自然科学版). 1998,21(4): 363~367
- [48] John G.Holt. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology(9th Edition). Williams and Wilkns Co., Baltimore. 1994
- [49] 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.环境科学学报.2004.9,24(5):782~788
- [50] 匡欣,王菊思.硫酸盐在厌氧生物过程中的行为.环境科学学报,1993,13 (4) :405~419
- [51] 沈德中.污染环境的生物修复.北京:化学工业出版社,2002.3:26~29
- [52] JIM NEWTON P E. Remediation of petroleum contaminated soils[J]. Pollution Engineering, 1990, 12: 46~52
- [53] Postgate J. R. , Frs , The Sulphate-Reducing Bacteria ,Cambridge University Press , 1984
- [54] 吴烈, 潘志平.含重金属离子废水的生物处理.中国给水排水.2001.17(10):31~34
- [55] 刘玉秀,刘贵昌,战广深.硫酸盐还原菌引起的微生物腐蚀的研究进展[J].腐蚀与防护,2002,Vol.23, No. 6: 245~248
- [56] 赵字华, 叶央芳硫酸盐还原菌及其影响因子[J].环境污染与防治> 1997, Vol. 19, No. 5:41~43
- [57] 施华均, 钱泽澎, 阎航.硫酸盐对厌氧消化产甲烷的影响[J].浙江农业大学学报, 1995, Vol. 21,No.1: 27~32
- [58] S Kalyuzhnyi, et al. Investigation of Sulfate Reduction in a UASB Reactor Using Ethanol AS Electron Donor Proc.8th International Conf on Anaerobic Digestion. Sendai Japan, 1997,3(5):25~29
- [59] Yonebayashi K, Hattori T. Soil Sci. Plant Nutr., 1988, 34(4):571~584
- [60] Watambe A, Itoh K, Arai S, Kulvatsuka S. Soil Sci. Plant Nutr.,1994, 40(4):601~608
- [61] 黎海彬,赵颖怡,雷雨.化学絮凝分离净化甘蔗废糖蜜研究.韶关学院学报.2001.6,22(6):104~107
- [62] 卫杨保.微生物生理学[M].北京:高等教育出版社:80~105
- [63] RenN,WangB,Huang J.Ethanol-type Fermentation from Carbohydrate in High Rate Acidogenicreactor[J].Biotechnol & Bioeng.1997,54:428~433.

## 致 谢

本人在太原理工大学三年的研究生学习期间,得到了导师赵志怀副教授的许多关怀和指导,使我能顺利完成学业。三年多来赵志怀副教授严谨的治学态度、渊博的学识、勇于创新的精神和宽以待人的作风使我受益匪浅并将激励我在今后人生道路上不断开拓进取。在此谨向我的导师赵志怀副教授表示由衷的感谢和深深的敬意!

本论文是国家自然科学基金项目“黄土-湿地植物-微生物生态系统处理煤矿酸性废水”的课题研究的一部分,从试验的设计到定稿都倾注了武胜忠教授、苑连菊教授、赵志怀副教授、杨军耀副教授、贡俊讲师的智慧与心血,尤其要感谢贡俊老师在试验过程中给予的指导和教诲,贡俊老师务实严谨的学术作风将对我一生的学习和生活产生重要的影响。值此论文完成之际,特向所有给予我指导和帮助的老师致以衷心的感谢!

在完成硕士论文期间,得到了张宗元、刘洁、陈宇松等同学的协助支持,在此,对他们表示感谢!

感谢国家自然科学基金项目(30470269)对本论文提供资助。

最后,还要特别感谢所有家人在我攻读硕士研究生期间给予的支持和鼓励!

由于时间仓促,本人水平有限,论文存在不少欠缺,衷心恳请各位专家、老师不吝赐教,谢谢!

## 攻读硕士期间发表的文章

1. 尹秀贞, 赵志怀, 等. 煤矿酸性废水的生物处理方法分析. 科技情报开发与经济, 2007, 17 (4): 163-165
2. 赵志怀, 尹秀贞, 等. 利用天然黄土中的脱硫酸菌去除硫酸盐的初步研究. 太原理工大学学报, 2007, 38 (2): 112-115