

一株硫酸盐还原菌 DSRBa 的分离鉴定及特性分析

刘 艳, 党 志*, 刘 云, 易筱筠, 郭楚玲, 卢桂宁, 周兴求

(工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510006)

摘 要: 从内循环厌氧反应器颗粒污泥中分离、纯化得到一株硫酸盐还原菌命名为 DSRBa, 经形态和基于 16S rDNA 序列分析, 该菌株归属于脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*)。分别以甲酸钠、乙醇、乳酸钠、葡萄糖等为碳源, 以硫酸盐、硫代硫酸盐、亚硫酸盐、单质硫为硫源, 研究了不同温度、pH 及不同硫酸根浓度对该菌株的影响。结果表明, 菌株最适宜生长温度为 30~35 °C, 最佳生长 pH 为 7.0, 无需绝对严格厌氧, 当溶液中氧化还原电位 (ORP) ≤ -40 mV 时, 该菌株能较好生长, 且生长 4 d 后使溶液内氧化还原电位值达到 -380 mV, 随后溶液内氧化还原电位基本保持不变。当系统内乳酸钠和酵母提取物浓度分别为 $3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 硫酸根浓度在 $1 \sim 4.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围对菌株生长无明显影响, 且当 SO_4^{2-} 浓度 $\leq 3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌株生长 4 d 对硫酸根的去除率达到 90% 以上。

关键词: 硫酸盐还原菌 分离鉴定 16S rDNA 序列 硫酸根去除 氧化还原电位

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2011)01-0176-07

Isolation and Identification of a Sulfate-reducing Bacteria DSRBa and Its Characterization

LIU Yan, DANG Zhi*, LIU Yun, YI Xiao-yun, GUO Chu-ling, LU Gui-ning, ZHOU Xing-qiu

(The Key Lab of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, School of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: A sulfate-reducing bacteria named DSRBa was isolated from the granular sludge in a internal cycle (IC) anaerobic reactor. It was identified as *Desulfovibrio* based on the phenotypic-characteristics and the analysis of the sequence of 16S rDNA. Strain DSRBa could use sodium formate, ethanol, sodium lactate and glucose as carbon source and use sulfate, thiosulfate, sulfite and sulfur as sulfur sources, respectively. The influences of temperature, pH value, various sulfate concentration on its living activity were studied. The results showed that the optimum growth temperature and pH values for strain DSRBa were 30~35 °C and 7.0, respectively. Strain DSRBa could grow well when the initial oxidation-reduction potential (ORP) in solution was below -40 mV, and the ORP could reach to -380 mV for 4 d incubation, while further increase of incubation time did not have significant effect on ORP. When the concentrations of lactate and yeast in the incubation medium were $3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, the growth of strain DSRBa hadn't been significantly restrained when the concentrations of sulfate were between $1 \sim 4.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. The removal rate of SO_4^{2-} was above 90% in 4 d when its concentration was below $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Keywords: sulphate reduction bacteria; isolation and identification; 16S rDNA sequence; removal of sulphate; oxidation-reduction potential

化工、制药、印染、制革、造纸食品加工等工业废水中含有大量高浓度的硫酸根离子, 它们对环境具有较高的潜在危害性且在环境中性质稳定, 依靠自然净化作用难以去除^[1]。另外在矿山废水 AMD 中也含有大量硫酸根离子, 同样给环境带来严重的危害^[2]。

硫酸盐还原菌 (sulphate-reducing bacterium, 简称 SRB), 是自然界中广泛存在的一类原核微生物, 它们以硫酸盐为电子受体, 消耗有机酸, 生成高反应性的硫化物, 发生反应 $\text{SO}_4^{2-} + 2[\text{CH}_2\text{O}] + \text{OH}^- = \text{HS}^- + 2\text{HCHO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$ ^[3]。国内外对以硫酸盐还原菌为优势菌群的产酸脱硫反应器去除硫酸根展开了较多的研究, Tony 等^[4]以乳酸为 SRB 的营养源启动了升流式厌氧反应器处理了酸性废水, 经过 75 d 的运行, 当进水 AMD 速度为 $1.19 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 、pH 在 5.0 以上时, 系统对硫酸根去除率均可以保持在 50% 以上。Kaksonen 等^[5]以乙醇为碳源处理含高浓度硫酸盐的酸性废水, 发现出水 pH

收稿日期 2010-07-21

基金项目 国家自然科学基金 (40730741、41073088) ; 广东省自然科学基金 (9351064101000001) ; 广东省科技计划国际合作项目 (2007A050100023)

作者简介 刘 艳 (1983—), 女, 重庆云阳人, 硕士研究生, 主要从事微生物处理硫酸盐和重金属的研究。E-mail: 124603808@qq.com

* 通讯作者 党 志 E-mail: chzdang@scut.edu.cn

从 2.5 提高到 7.5,整个系统的处理效率非常高,并经过计算得知碳源氧化的能量有 77%~95%被用来还原硫酸盐。

自 1895 年首先由 Beijerinck 发现第一株 SRB 菌以来,迄今为止,据不完全统计,已发现的该类微生物有 12 个属 40 多个种^[6]。在自然界中,SRB 除了具有一般特性(还原硫酸盐、严格厌氧)以外,由于生存环境不同,还发现一些具有特殊生理性质的 SRB。如杨丽平等^[7]分离得到一株可于好氧条件下生长的硫酸盐还原菌 SR3。

由于大部分硫酸盐还原菌只能存活于厌氧或缺氧状态,而严格的厌氧状态需要较为苛刻的条件,分离纯化 SRB 单菌株成为国内一个较为热门的课题。为了阐明其处理硫酸根的作用,充分发挥其处理硫酸盐的效能,有必要对单株硫酸盐还原菌去除废水中硫酸根离子过程予以深入的探讨。本研究利用某 IC 厌氧反应器^[8]颗粒污泥分离得到一株硫酸盐还原菌,在不同 pH、硫酸根浓度条件下,研究了其去除硫酸盐的效率以及去除过程中的参数变化情况,将为阐明单株硫酸盐还原菌去除硫酸根的内在机制,提高其去除硫酸根的能力,为高效去除废水中硫酸根提供必要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌种及培养基

1.1.1 菌种来源

菌株分离自经葡萄糖模拟废水驯化 2 个月后的 IC 厌氧反应器,污泥呈灰黑色,MLSS 为 $63.07 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, VSS/SS 为 92.43%,颗粒粒径介于 0.5~3 mm 之间,pH 值为 7。

1.1.2 培养基成分

培养基为改良的 Postgate B 培养基,其组分为: KH_2PO_4 0.65 g, NH_4Cl 1.0 g, Na_2SO_4 0.5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.04 g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.06 g, 乳酸钠 3.5 g, 酵母提取物 1.0 g。将上述试剂溶解在 1 000 mL 水中,调节 pH 值为 7.0, 121 °C 高压灭菌 20 min。冷却后再加入经过滤除菌的硫酸亚铁铵 1.2 g。

固体培养基成分在上述培养基中加入 2% 的琼脂粉, 121 °C 高压灭菌 20 min 即可。

1.2 菌株的分离鉴定

1.2.1 菌株的富集培养

取活性污泥 10 mL 盛装于 100 mL 带筛三角瓶内,向内加入 2 cm 转子搅拌 30 min 将污泥打散。取

1 mL 上述待分离样品加入装有 100 mL 培养基的盐水瓶中,盖好瓶口后放入厌氧培养箱(上海新苗, YQX-II)中 35 °C 静置富集培养,直到培养液变成墨黑色,用润湿的醋酸铅试纸检测有大量 H_2S 生成后转接,共转接 8 次,每次接种量 1%。

1.2.2 菌株的分离纯化

将富集培养后的菌液稀释成 10^{-2} ~ 10^{-6} , 平板划线,用封口胶密封后置厌氧培养箱中 35 °C 下培养,一周后长出黑色菌落,从中挑取长势良好、浓黑色的单菌落,接种于 100 mL 液体培养基中,检查是否液体培养基变黑,将变黑的菌液继续平板划线,挑取单菌落,作进一步的纯化。如此交替纯化直至平板菌落形态一致。

1.2.3 菌株的细胞染色及形态鉴定

在光学显微镜下观察活体细菌的细胞形态、运动特征,采用常规染色方法对分离菌株进行革兰氏染色、芽孢染色。

扫描电镜观察 取含铁培养基中处于对数生长期的菌液,离心收集菌体,用戊二醛固定 12 h; 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液冲洗 3 次,每次 40 min 羧酸固定 3 h; 每 8 min 一次用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液冲洗 3 次,每次冲洗结束放入冰箱。脱水 分别用 30%、50%、70% 的乙醇冲洗 8 min, 每次结束存于冰箱,然后分别用 80%、90% 的乙醇冲洗 8 min, 100% 的乙醇冲洗 3 次,每次 10 min, 叔丁醇冲洗 3 次,每次 10 min。0.5 h 后,冷冻干燥,粘台,喷金,观察。

1.2.4 分离菌株的 16S rDNA 测序

分别从 2 组平行的 SRB 菌液中取对数生长期新鲜菌液,离心收集菌体,用试剂盒(北京普博欣生物)按说明书提取菌株 DNA,采用通用引物进行 PCR 扩增,16S rDNA 序列的引物 27F 5'-AGAGTTTGATC-CTGGCTCAG-3', 1492R 5'-GGTTACCTTGTTACGAC TT-3', 引物由华大基因公司合成。

PCR 反应在 PCR 仪 (Master Cycler Gradient 5331) 上进行扩增,PCR 反应体系 (25 μL) 为: dNTPs 0.5 μL ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), Taq 酶 0.5 μL , 10×PCR 缓冲液 2.5 μL , 1.0 μL DNA, 两个引物 1.0 μL ($10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), ddH_2O 19.5 μL 。扩增程序^[9] 94 °C 预热 3 min, 94 °C 变性 1 min, 56 °C 复性 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 循环次数为 30 次,最后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。PCR 扩增产物用 1.0% 的琼脂糖检测。

序列分析 利用 BLAST 将所测得的序列与 GenBank/EMBL/DBJ 数据库中已登录的序列进行同源

性比较,采用 ClustalX 进行比对,通过邻接 (Neighbour Joining) 法构建系统发育树 (PHYLP, Version 315) [10]。

1.2.5 不同碳源及硫源的利用情况

分离菌株对不同碳源的利用:分别加入甲酸钠、乙酸钠、乙醇、酵母提取物、乙酸纤维素、乳酸钠、葡萄糖、蔗糖作为碳源,pH 为 7.0,生长 4 d 后用紫外分光光度计(岛津 UV-2550)测定 600 nm 波长下的吸光度 (OD_{600}),通过 OD_{600} 测量细菌培养液的浓度,测定细菌的生长情况,并用 $PbAc_2$ 试纸检测有无 H_2S 生成。

分离菌株对不同硫源的利用:分别加入硫酸钠、硫代硫酸钠、亚硫酸钠、硫单质作为硫源,其余同上。

1.2.6 生长曲线测定

分离菌的生长曲线测定周期为 240 h,在不加 $(NH)_2Fe(SO)_2 \cdot 6H_2O$ 的培养基中,将菌株分别接种到组平行的初始 pH7.0 的培养液中,接种量 1%,置于温度 35 °C、转速 150 $r \cdot min^{-1}$ 的摇床中。从接入菌开始不定时取样,用紫外分光光度计在 600 nm 波长下测定其 OD 值。

1.3 菌株对硫酸盐的还原特性

1.3.1 温度对 SRB 生长过程的影响

在不同温度 (20、25、30、35、40 °C 和 45 °C) 下,接种量 2%,用液体培养基厌氧培养 4 d 取样测定培养液 OD_{600} 值。实验重复 3 次。

1.3.2 pH、硫酸盐浓度对 SRB 生长过程的影响

分别调节培养基初始 pH 为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 的梯度,以及加入硫酸盐浓度梯度为 1 000、1 500、2 500、3 000、4 500,接种量 1%,培养 10 d,每日用注射器取样,测定 600 nm 波长下 OD 值、pH 值 (pHS-3 精密数显酸度计)、ORP 值 (OPR 仪 Global water)、以及剩余硫酸根的浓度 (铬酸钡光度法测定)。

以上均设 3 组平行。

1.4 统计分析

用算术平均值和标准偏差表示结果的精密度,利用 Excel 2003 软件、Origin 8.0 数据分析软件进行实验数据的统计计算和方差分析等工作,并用 Origin 8.0 对数据进行作图。

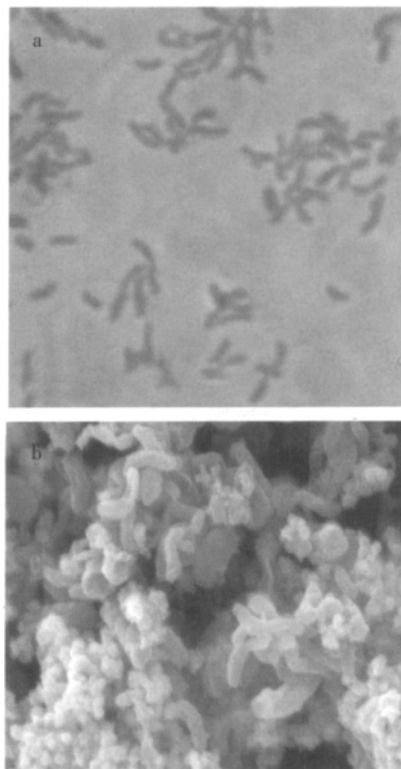
2 结果与分析

2.1 菌株的分离及特征

2.1.1 菌株的分离及其形态

经过富集分离,得到一株硫酸盐还原菌,命名为 DSRBa,该菌株做下列实验。未加铁培养基上 3 d 内长出乳白色圆形凸起斑点菌落直径 1~2 mm,含铁固

体培养基上呈凸起黑色,菌落直径 1~3 mm,该菌株革兰氏阳性 (如图 1a),无芽孢,菌株为弧形,做波浪式运动或翻转运动,大小 $(0.3 \sim 0.4) \times (1.8 \sim 2.0) \mu m$ 。加入铁后生长 4 d 的菌液扫描电镜观察其形态 (如图 1b)。



(a.显微镜图片;b.附着硫化亚铁沉淀的扫描电镜图片)
(a. microscope photo; b. SEM photo with sulfide precipitation)

图 1 菌株 DSRBa 电镜图片

Figure 1 SEM photo of strain DSRBa

不同碳源和硫源的实验发现,菌株 DSRBa 可利用甲酸钠、乙醇、乳酸钠、葡萄糖作为电子供体,产生大量的 H_2S ,较难利用蔗糖、酵母提取物作为唯一碳源,生成极少量的 H_2S ,但酵母提取物的加入比单一乳酸钠作为碳源能更好地促进菌株的生长,不能利用乙酸纤维素作为碳源进行硫酸盐异化还原。能分别以硫酸盐、硫代硫酸盐、亚硫酸盐、单质硫为硫源。生长良好,产生大量的 H_2S 。

2.1.2 DSRBa 的生长曲线

菌株 DSRBa 在 12 h 之前,处于生长延滞期,此时用 $PbAc_2$ 试纸检测显示无 H_2S 生成,12~50 h 菌株进入对数生长期,50~84 h 菌密度 OD_{600} 达到最大值 0.64 并进入稳定期,84 h 后开始进入衰亡期 (图 2)。由于生成的硫化氢的毒害作用,10 d 后体系内极少有存活的菌株。为保证菌量一致,一般在接种后 50 h 取

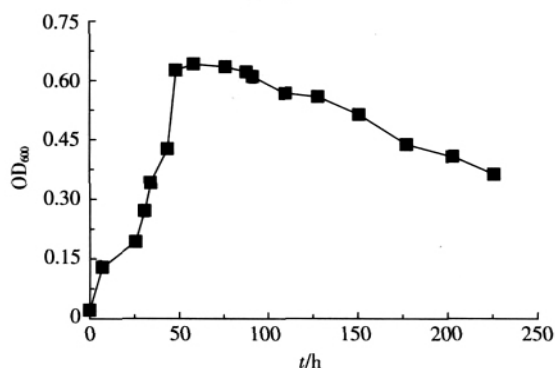


图2 菌株 DSRBa 的生长曲线

Figure 2 Growth curve of strain DSRBa

样进行实验。

2.2 分离菌株的 16S rDNA 序列分析

菌株 DSRBa 的 16S rDNA 序列分析所得到的碱基序列在 GenBank 上登录, 登录号为 HM475172。利用 GenBank 数据库进行同源序列搜索, 并将细菌 DSRBa 的 16S rDNA 序列与其他可能的 16S rDNA 序列进行对比, 确定与其最接近的种系群体, 通过邻接法构建了它和同源性较高的 7 个菌株的系统发育树 (图 3)。细菌 DSRBa 的基因 16S rDNA 序列与数据库中的 16S rDNA 比较结果表明, DSRBa 归属于脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*), 为脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*) 的一个分支, 据此初步断定 DSRBa 为脱硫弧菌 (*Desulfovibrio*)。细菌 DSRBa 与 *Desulfovibrio vulgaris* RCH1 ctg00052 的同源性达到 92%, 但系统发育树显示两者并不在种群的一个分支。

2.3 温度、pH 及 SO_4^{2-} 浓度对 DSRBa 生长的影响

2.3.1 温度对菌株 DSRBa 生长的影响

为了解温度对菌株 DSRBa 生长的影响, 本文研究了温度范围 25~45 °C 内 DSRBa 生长情况的变化 (图 4)。菌株在 30~35 °C 时 OD_{600} 最大, OD_{600} 最大值达 0.6 以上, DSRBa 生长最佳温度范围为 30~35 °C。

在温度为 20~25、40~45 °C 范围时, 菌株能生长但活性相对较低, OD_{600} 值在 0.2~0.3 之间。

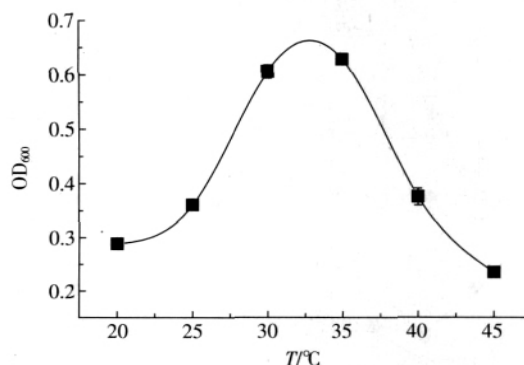


图4 初始温度对菌株 DSRBa 生长量的影响

Figure 4 Effects of initial temperatures on the biomass of strain DSRBa

2.3.2 培养基初始 pH 对菌株生长的影响

不同 pH 条件下菌株 DSRBa 生长特性见图 5, DSRBa 最佳生长 pH 为 7.0, 在 pH 为 5~8 的条件下都能较好地生长, 测定菌液的 OD_{600} 最大值都能达到 0.5 以上。当 pH 为 4 时菌株极少生长, 其 OD_{600} 基本与空白一致, 见图 5 (a)。

初始 pH 7.0 时, 菌株延滞期较短, 接种很快进入对数生长期, 1 d 后达到最大菌密度, 且其对应的最大菌密度最大, OD_{600} 为 0.7; 当初始培养基 pH 分别为 5、6 时, 菌株的延滞期较长, 系统 pH 在延滞期快速升高, 直至菌株接种后分别于第 3、2 d 系统内 pH 到达 6.5 以上, 菌株才进入对数生长期, 对数生长期 1 d 后细菌达到最大生长量。

当 pH 分别为 5、6 时, 培养基内 pH 随着 DSRBa 生长的延滞期和对数生长期快速升高直至达到 7.5 左右, 此后培养基的 pH 趋于平稳, 见图 5 (b)。

菌株 DSRBa 生长过程中体系的氧化还原电位

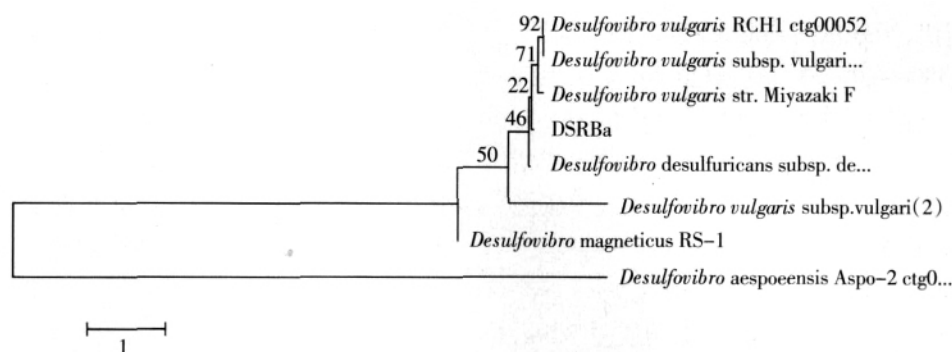


图3 以 16S rDNA 为基础的菌株 DSRBa 的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic analysis of strain DSRBa based on 16S rDNA

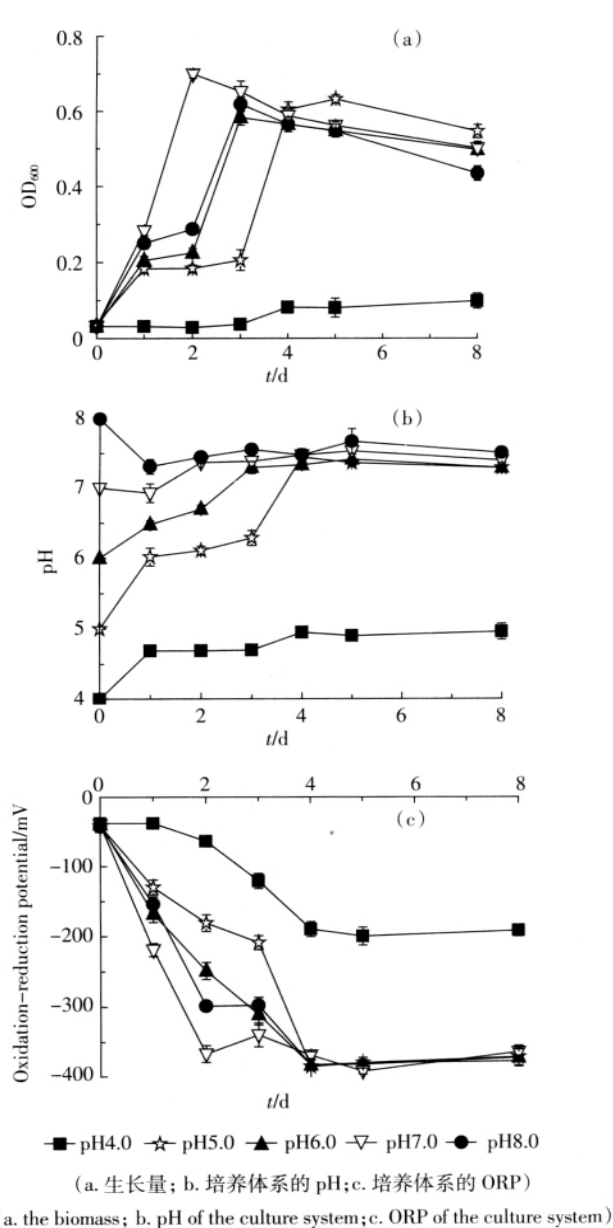


图 5 初始 pH 对菌株 DSRBa 的影响

Figure 5 Effects of initial pH on strain DSRBa

ORP 值不断降低,且随着 DSRBa 菌的生长进入对数生长期降低得越快,当菌量达到最大、进入稳定期后,ORP 也基本在 $-380 \sim -400$ mV 左右直至 8 d 后仍保持稳定,见图 5 (c)。这与菌株生长过程中产生的 H_2S 有关,系统 ORP 值可间接反映出溶液中 H_2S 的生成情况。此后由于系统中的 H_2S 的毒害作用,系统中碳源以及硫源减少,菌株生长慢慢进入衰亡期。

2.3.3 培养基初始 SO_4^{2-} 浓度对菌株生长的影响

如图 6 (a) 所示,1 L 培养基内乳酸钠质量 3.5 g,酵母提取物 1 g, SO_4^{2-} 浓度范围 $1 \sim 4.5$ g·L⁻¹,菌株 DSR-Ba 都能较快进入对数生长期,且 2 d 后菌密度达到最

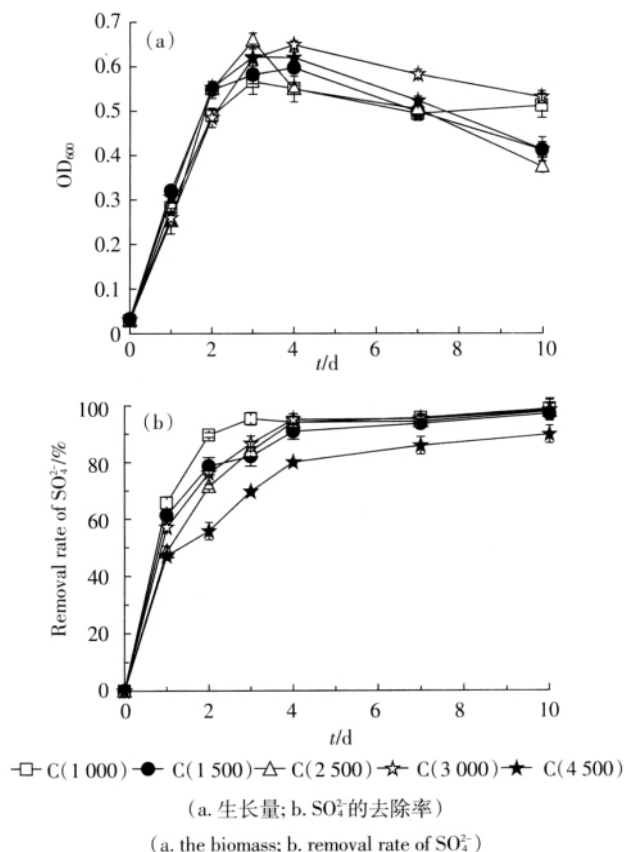
图 6 初始 SO_4^{2-} 浓度对菌株 DSRBa 的影响

Figure 6 Effects of initial sulfate concentration on strain DSRBa

大。可见 SO_4^{2-} 浓度在 $1 \sim 4.5$ g·L⁻¹ 范围内对菌株生长无抑制。当初始 SO_4^{2-} 浓度为 1 g·L⁻¹ 时,菌株的最大生长量较其他硫酸根浓度时小,表明此时碳源充足而硫源不充分;当初始 SO_4^{2-} 浓度为 $2.5 \sim 3$ g·L⁻¹ 时,系统内最大菌密度较其他浓度时菌密度大。

由图 6 (b) 可见,培养基内初始 SO_4^{2-} 浓度为 1 g·L⁻¹ 时,接种菌株 DSRBa 后第 2 d 的去除率达到 90%,10 d 后去除率达到 98%;当 SO_4^{2-} 浓度 ≤ 3 g·L⁻¹ 时,DSRBa 生长 4 d 后培养基内 SO_4^{2-} 的出去率达到 90%以上,10 d 去除率达到 95%以上;当 SO_4^{2-} 浓度为 4.5 g·L⁻¹ 时,菌株生长 4 d 后去除率为 80%左右,10 d 后 4.5 g·L⁻¹ 的硫酸盐溶液硫酸根去除率接近 90%。

第 1 d 消耗硫酸盐的速率最快,但是 H_2S 较少生成。可见 DSRBa 还原硫酸盐并非直接一步将硫酸根还原为 H_2S ,而是将硫酸盐转化为亚硫酸盐或者硫代硫酸钠盐,进一步还原最终生成硫化氢。

3 讨论

3.1 菌株 DSRBa 特性

分离得到的菌株 DSRBa 可利用甲酸钠、乙醇、乳

酸钠、葡萄糖作为唯一碳源,能分别以硫酸盐、硫代硫酸盐、亚硫酸盐、单质硫为硫源。这与蒋永荣等^[11]分离的SRB-22利用碳源情况基本一致,但是该菌可以利用单质硫,而SRB-22不能利用。微生物生长曲线反映生物的生长和死亡繁殖规律,既能作为营养和环境影响的理论研究指标,亦可作为调控微生物生长发育的依据。菌株DSRBa的生长曲线表明(图2),在适宜的条件下,作为厌氧菌株,DSRBa能较快生长,在0.5~2 d进入对数生长期,2 d即能达到最大生长量。

3.2 菌株的最佳生长条件

大多数硫酸盐还原菌是中温型,最佳生长温度为30~37℃;少数是高温型,最佳生长温度为40~70℃^[12];分离菌株DSRBa生长最佳温度为30~35℃,属于中温菌。多数硫酸盐还原菌在pH 6~8的范围内生长良好^[13],菌株DSRBa最佳生长pH为7.0,当pH范围为5~8时,菌株DSRBa都能较好生长,较杨丽平^[7]分离的一株硫酸盐还原菌SR3适宜的pH 6~8、最佳生长pH 8.0有较好的耐酸性。传统的严格厌氧SRB菌生长环境的氧化还原电位一般应保持-100 mV以下^[14],菌株DSRBa生长初始并非需要绝对严格厌氧,盛装盐水瓶的培养基,无需曝氮气,封口良好,初始ORP约-40 mV时菌株也能很好地生长。在反应器中,不同COD/SO₄²⁻的比例对SRB菌株生长影响很大,COD/SO₄²⁻值提高则SRB种群的电子流分量降低,硫酸盐的去除率提高^[15]。当乳酸钠质量浓度为3.5 g·L⁻¹、酵母提取物1 g·L⁻¹时,SO₄²⁻浓度范围为1~4.5 g·L⁻¹时,对菌株DSRBa生长无显著影响,且在此浓度范围内菌株DSRBa对溶液中硫酸根的去除率都能达到90%以上。这较Tony等^[4]研究的反应器内硫酸盐的去除率提高50%。

3.3 菌株DSRBa生长环境的变化

含硫酸盐的酸性矿山废水的污染是一个全球性问题,对高浓度硫酸盐废水的处理已成为目前研究的一个热点。硫酸盐还原菌可还原硫酸根改变环境的酸度,具有费用低、适用性强等优点^[9]。偏酸性的培养基内pH随着DSRBa生长快速升高直至达到7.5左右,此后培养基的pH趋于平稳。氧化还原电位随着DSRBa生长,快速降低到-380~-400 mV左右并基本保持稳定不变。

4 结论

(1) 从IC厌氧反应器颗粒污泥中分离得到一株硫酸盐还原菌,命名为DSRBa,从形态和16S rDNA

分析,初步鉴定为脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)的硫酸盐还原菌。

(2) 该菌株利用碳源广泛,能以甲酸钠、乙醇、乳酸钠、葡萄糖等作为唯一碳源进行良好的生长,能分别以硫酸盐、硫代硫酸盐、亚硫酸盐、单质硫为电子受体生长。该菌株属于中温菌,该菌生长过程无需极其苛刻的严格厌氧条件。该菌株耐酸性较强,最佳生长pH为7.0。

(3) 当pH过低时,菌株可调节系统内pH至高于6.5,此后菌株进入对数生长期,生成大量的H₂S,使系统内ORP迅速下降至-400 mV左右。系统内硫酸根浓度在1~4.5 g·L⁻¹范围对菌株生长无明显影响,当SO₄²⁻浓度≤3 g·L⁻¹时,菌株生长4 d的去除率达到90%以上。当SO₄²⁻浓度范围在3~4.5 g·L⁻¹时,菌株生长4 d对硫酸根的去除率也达80%以上。

参考文献:

- [1] 缪应祺. 废水生物脱硫机理及技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 123-124.
- [2] MIU Ying-qi. Mechanism and biological desulfurization wastewater technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 23-24.
- [3] Johnson D, Hallberg K. Acid mine drainage remediation options: A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2005, 338: 3-14.
- [4] Baumgartner L, Reid R, Dupraz C, et al. Sulfate reducing bacteria in microbial mats: Changing paradigms, new discoveries [J]. *Sedimentary Geology*, 2006, 185: 131-145.
- [5] Tony J, David L P. Microbial sulfate reduction under sequentially acidic conditions in an upflow anaerobic packed bed bioreactor [J]. *Water Research*, 2006, 40: 2561-2571.
- [6] Kaksonen A H, Franzmann P D, Puhakka J A. Performance and ethanol oxidation kinetics of a sulfate-reducing fluidized-bed reactor treating acidic metal-containing wastewater [J]. *Biodegradation*, 2003, 14: 207-217.
- [7] 马保国, 胡振琪, 张明亮, 等. 高效硫酸盐还原菌的分离鉴定及其特性研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27 (2): 608-611.
- [8] MA Bao-guo, HU Zhen-qi, ZHANG Ming-liang, et al. Isolation and identification of high efficient sulfate-reducing bacteria and its characteristics [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27 (2): 608-611.
- [9] 杨丽平, 郑小红, 曾国驱, 等. 一株具硫酸盐还原功能的柠檬酸杆菌的分离及其生理特性研究 [J]. *环境科学*, 2010, 31 (3): 815-820.
- [10] YANG Li-ping, ZHENG Xiao-hong, ZENG Guo-qu, et al. Isolation and characterization of a sulfate reducing citrobacter sp. strain SR3 [J]. *Environmental Science*, 2010, 31 (3): 815-820.
- [11] 林志福, 伍健东, 周兴求, 等. 厌氧颗粒污泥胞外聚合物的影响因素研究 [J]. *环境工程学报*, 2009, 3 (7): 1311-1316.
- [12] LIN Zhi-fu, WU Jian-dong, ZHOU Xing-qiu, et al. Study on influencing factors of EPS in anaerobic granular sludge [J]. *Chinese Journal of*

- Environmental Engineering*, 2009, 3 (7) :1311-1316.
- [9] Martins M, Faleiro M, Barros R, et al. Characterization and activity studies of highly heavy metal resistant sulfate-reducing bacteria to be used in acid mine drainage decontamination[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 166 :706-713.
- [10] Felsenstein J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) [M]. Version 3.15c. Cladistics, 1989, 5 :164-166.
- [11] 蒋永荣, 周 宣, 容翠娟, 等. 高效硫酸盐还原菌的分离及特性研究[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32 (11) :13-17.
JIANG Yong-rong, ZHOU Dan, RONG Cui-juan, et al. Isolation of high efficient sulfate-reducing bacteria and its biological desulfurization capability[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 32 (11) :13-17.
- [12] 任南琪, 王爱杰, 甄卫东. 厌氧处理构筑物中 SRB 的生态学 [J]. *哈尔滨建筑大学学报*, 2001, 34 (1) :39-45.
REN Nan-qi, WANG Ai-jie, ZHEN Wei-dong. Ecology of SRB in anaerobic bio-treatment reactor [J]. *Journal of Harbin University of Civil Engineering and Architecture*, 2001, 34 (1) :39-45.
- [13] 杨建设, 黄玉堂, 吴楚施, 等. 硫酸盐还原菌的分离与生态特点研究[J]. *水土保持研究*, 2006, 13 (4) :231-236.
YANG Jian-she, HUANG Yu-tang, WU Chu-shi, et al. The isolation and its eco-characteristics of SRB strains[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2006, 13 (4) :231-236.
- [14] John F H, Rekha S, Shelley H, et al. The genome sequence of the anaerobic, sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough[J]. *Nature Biotechnology*, 2004, 22 :554-559.
- [15] 王爱杰, 任南琪, 刘 伟, 等. 产酸脱硫反应器中 SRB 种群的功能与地位[J]. *中国环境科学*, 2001, 21 (2) :119-123.
WANG Ai-jie, REN Nan-qi, LIU Wei, et al. The role of sulfate reducing bacteria population in acidogenic-desulfate bioreactor[J]. *China Environmental Science*, 2001, 21 (2) :119-123.