

# 不同碳源中硫酸盐还原菌生长状况及 对砷、锑去除效率研究

柳凤娟<sup>1,2</sup>, 张国平<sup>2,\*</sup>, 付志平<sup>2</sup>, 余乐正<sup>1</sup>

(1. 贵州师范学院 化学与生命科学学院, 贵阳 550018;

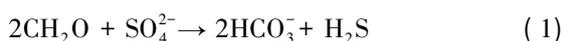
2. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081)

**摘要:** 分别以乳酸、乙醇、糖蜜和米酒作为碳源, 研究硫酸盐还原菌在不同碳源中的生长状况及对 As 和 Sb 的去除效率。硫酸盐还原菌接种到各碳源培养基后 14 d 的生长状况显示, 硫酸盐还原菌在乳酸中生理活性最佳, 在乙醇中也有明显的生理活性, 但需要一个较长的启动期, 而在糖蜜和米酒中没有明显的生理活性。当硫酸盐还原菌接种到各碳源培养 12 h 后加入酸性 As(V) 和 Sb(V) 储备液, 由于 12 h 内尚未生成足够的碱度和硫化物来应对酸性储备液冲击, 硫酸盐还原菌在所有碳源中均失去生理活性; 虽然硫酸盐还原菌已失活且基质中只含有少量硫化物 ( $\leq 3.62 \text{ mg/L}$ ), 乳酸培养基中总锑和总砷的去除率仍可达到 89.7% 和 65.6%, 糖蜜和米酒培养基中总锑去除率达到 81.2% 和 97.3%、总砷去除率为 10.0% 和 17.1%, 不过乙醇培养基中砷和锑均没有明显的去除。后以能显著促进硫酸盐还原菌生长的乳酸和乙醇作为碳源, 调节培养基初始 pH 约为 7, 并接种培养 48 h 后加入酸性 As(V) 和 Sb(V) 储备液, 储备液加入前乳酸和乙醇培养基的硫化物质量浓度分别达到 70.73 mg/L 和 18.58 mg/L, 储备液加入后细菌仍能继续生长, 最终总锑去除率可达 97.8% 和 98.4%, 总砷去除率则为 27.8% 和 24.6%。实验结果表明, 糖蜜和米酒作为碳源需进一步优化, 乙醇则体现出了可替代乳酸的潜在优势; 砷和锑的去除效率除了与硫酸盐还原菌活性有关外, 也与砷、锑自身的化学性质及反应基质有密切关系。

**关键词:** 硫酸盐还原菌; 碳源; 砷和锑去除

中图分类号: X703.X702 文献标识码: A 文章编号: 1672-9250(2018)02-0179-09 doi: 10.14050/j.cnki.1672-9250.2018.46.023

硫酸盐还原菌 (sulfate-reducing bacteria, SRB) 是一类能够利用外在碳源作为能源及电子供体, 把硫酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐、连二亚硫酸盐等硫化物以及元素硫等还原生成硫化氢 ( $\text{H}_2\text{S}$ ) 的细菌的统称<sup>[1-2]</sup>。SRB 生物还原生成  $\text{H}_2\text{S}$  的特性因能同时提高 pH 值、降低  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度和沉淀去除重金属等, 自 19 世纪末 SRB 被首次发现以来已被广泛应用于酸性重金属废水——特别是酸性矿山废水的处理过程<sup>[3]</sup>。其原理简括如下:



式中,  $\text{CH}_2\text{O}$  指代碳源,  $\text{M}^{n+}$  为过渡元素或重金属离子。

砷 (As) 和锑 (Sb) 是含硫化物矿山开采和冶炼

中释放的常见有毒物质, 二者常相伴存在<sup>[4-5]</sup>。这两种元素均不是生物生理代谢的必需元素并且对生物体有害<sup>[6-7]</sup>, 对人则有致病性、致癌性和致畸性<sup>[8]</sup>。国内现行的生活用水标准中, 砷、锑最高允许含量分别为  $10 \mu\text{g/L}$  和  $5 \mu\text{g/L}$ 。尽管水体的稀释作用使得排放到地表水体中的砷、锑可能只在  $\mu\text{g/L}$  级别, 但因沉积物理化学环境的复杂性以及微生物的作用等将成为潜在的非点源污染源<sup>[9]</sup>。因此, 从源头尽可能控制砷、锑的排放尤为必要<sup>[8]</sup>。

由于砷污染备受全球关注, 近年来涉及 SRB 与砷的生物地球化学关系、应用 SRB 处理含砷废水等方面的研究也越来越多<sup>[10-15]</sup>。随着全球对锑污染的重视, 有关锑理化性质及各类治理技术的研究也日趋增多。因锑的硫化物及氢氧化物溶度积更小, SRB 生物沉淀技术处理锑污染物具备理论可行性,

收稿日期: 2017-04-13; 改回日期: 2017-07-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21305096); 贵州省科学基金 (黔科合 J 字 (2014) 2134 号); 贵州省普通本科高等学校青年科技人才成长项目 (黔教合 KY 字 (2016) 219)。

第一作者简介: 柳凤娟 (1984-), 女, 博士研究生, 主要研究方向为矿山环境污染与修复治理。E-mail: liufengjuan@gznc.edu.cn.

\* 通讯作者: 张国平 (1966-), 男, 博士, 研究员, 主要从事矿山环境中锑的地球化学过程及影响的研究。E-mail: zhangguoping@vip.gyig.ac.cn.

并有研究证实了其较高的处理效率<sup>[16-19]</sup>。在以往的研究中,SRB大多生长于以乳酸(lactate)作为碳源的培养基中,从工艺推广角度来看实用性不强<sup>[20-21]</sup>。基于这些因素,本研究尝试比较SRB在其他相对廉价的碳源与乳酸培养基中的生长差异,并初步探讨SRB处理这两类污染物时的去除机理及效率差异。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 SRB菌种来源

取静水池塘的底泥少许并立即放入盛有液体培养基的厌氧瓶内,之后将厌氧瓶放入恒温培养箱中于30℃静置培养。液体培养基采用改良后的Postgate B培养基,培养基成分、菌种富集及纯化操作详见欧阳小雪等<sup>[17]</sup>。培养基主要成分所用药品为分析纯或更优级试剂,实验用水均为去离子水。

### 1.2 实验过程

实验操作采用批量模式(batch-mode),SRB培养及对砷和锑的处理均在200 mL的血清瓶内进行,除碳源不同及不使用 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 外,培养基成分与上述改良后的Postgate B培养基完全一致。实验分两部分进行。

第一部分采用不同碳源来比较SRB的生长状况及对砷和锑的去除率。试验采用4种常见碳源,其中乳酸钠(70%~80%)和乙醇(>99.5%)均为分析纯试剂,糖蜜及米酒均为食用商品(其碳水化合物含量分别为36%和6.7%)。碳源含量以其碳水化合物含量计算,在培养基中的质量浓度约为2.40 g/L。这4种碳源培养基pH约在6.0~6.5之间,符合SRB的适宜pH范围,故不再调节pH。每种碳源培养基分为两组处理,一组接种10%菌液后于0 h、6 h、12 h、1 d、3 d、5 d、7 d、10 d及14 d取样测Eh、pH、 $\text{OD}_{600}$ 、碱度、硫化物和 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度等以表征SRB生长状况;另一组接种10%菌液并培养12 h后按比例加入As(V)、Sb(V)储备液,使得As和Sb初始浓度均为5 mg/L,以加入储备液的时间作为0点,接种时为-0.5 d,加入储备液前取样为0点,于接种后0 h(-0.5 d)、6 h(-0.25 d)、12 h(0点)及加样后0 h(0点)、12 h、1 d、3 d、5 d、7 d、10 d及14 d取样测Eh、pH、 $\text{OD}_{600}$ 、碱度、硫化物和 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度等生长状况参数及总As[As(T)],总Sb[Sb(T)],As(III)、Sb(III)浓度等参数。

As(V)和Sb(V)储备液分别由固体 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot$

$7\text{H}_2\text{O}$ (纯度98.5%,Fluka公司)及 $\text{H}_6\text{KO}_6\text{Sb}$ (纯度 $\geq 99.0\%$ ,Fluka公司)溶于水配制而成,浓度均为500 mg/L,加入时As(V)储备液、Sb(V)储备液和培养基的体积比为1:1:98,避免对培养液造成明显稀释。另外,Sb(V)储备液含有5% HCl(v/v)以制造酸性环境。

实验发现,SRB转接到各碳源培养基12 h即加入As(V)和Sb(V)储备液,使得各培养基pH急剧下降,SRB可能失活,从而无法揭示SRB去除砷、锑的效率和机理。结合SRB在各碳源中的生长状况,设计第二部分实验:以能显著支持SRB存活的乳酸和乙醇作为碳源,通过优化理化条件(采用1 mol/L HCl或1 mol/L NaOH调节初始pH值约为7,并使二者物质的量浓度相同—C源质量浓度分别为3.65和1.50 g/L,且SRB转接生长48 h后加入砷、锑储备液),从而探讨SRB生理活性较高时对砷和锑的去除效率。

### 1.3 分析方法

一部分样液立即用pHS-3C型数显酸度计测定pH和Eh,之后采用紫外/可见分光光度计于600 nm波长测定 $\text{OD}_{600}$ 值;另一部分样品经0.45  $\mu\text{m}$ 滤膜过滤后,测定碱度、硫化物、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、As(T)、Sb(T)、As(III)及Sb(III)等。碱度由0.02 mol/L HCl滴定并用mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ 计算,硫化物采用亚甲蓝分光光度法于665 nm测定, $\text{SO}_4^{2-}$ 的测定采用铬酸钡分光光度法(420 nm),As(T)、Sb(T)、As(III)及Sb(III)采用氢化物发生原子荧光光谱法(HG-AFS,海光AFS-2202E,北京)测定。

测定As(T)和Sb(T)时采用液态砷标(1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,2%  $\text{HNO}_3$ ,Accu Standard公司)和液态锑标(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,中国计量科学研究院)作基准物质,测定As(III)和Sb(III)时基准物质则在实验当天由固态 $\text{NaAsO}_2$ (纯度 $\geq 99.0\%$ ,Fluka公司)和 $\text{KSbC}_4\text{H}_4\text{O}_7$ (纯度 $\geq 99.0\%$ ,Acros Organics公司)溶于水配制而成。As(T)和Sb(T)可同时测定,取一定体积的样品滤液于25 mL容量瓶,以最终浓度为1 g/L的抗坏血酸和1 g/L的硫脲混合液将As和Sb全部预还原成三价,再加入1.25 mL浓盐酸,定容至刻度,放置30 min后用AFS测定。测定As(III)和Sb(III)时分别用18 g/L 8-羟基喹啉、10 g/L柠檬酸代替抗坏血酸和硫脲混合液,掩蔽As(V)或Sb(V),其他操作与总量测定完全相同。

样品分析所用试剂均为分析纯及以上,所有测

验用水均为去离子水。

## 2 结果

### 2.1 四种碳源培养基中 SRB 生长状况

在接种后 14 d 的培养周期中,以乳酸作为碳源的培养基 pH 从 6.16 上升到 6.72, Eh 从 -268 mV 降至 -320 mV,  $SO_4^{2-}$  减少 16.8%, 间接表明 SRB 转接后有较为明显的生理活性和菌群增长(表 1)。以米酒、糖蜜和乙醇为碳源的其他 3 种培养基 pH 和 Eh 变化趋势与乳酸相反,即接种后 pH 下降、Eh 升高,其中糖蜜和米酒培养基的 pH 甚至低于 5,这在某种程度上暗示转接后的 SRB 菌群在这些培养基中增长速率较之乳酸培养基明显降低甚或失去了

活性。同时,糖蜜和米酒培养基中  $SO_4^{2-}$  只有些微下降,不过乙醇培养基却呈现了比乳酸培养基更为明显的  $SO_4^{2-}$  去除率。

pH、 $OD_{600}$ 、碱度与硫化物等参数的时间序列则更为直观地呈现了 SRB 在不同碳源中的生长状态(图 1)。以乳酸为碳源时,接种后培养基 pH 在接种初期下降后随之升高,最高值出现在接种后第 5 d,之后呈下降趋势。 $OD_{600}$  自接种起持续升高,约在第 5 d 达到最高点,总体变化趋势与 pH 较为一致。碱度与硫化物的变化曲线极为相似,在接种 12 h 内变化较小,在 12 h~3 d 的时间段内大幅上升,之后维持在一个轻微起伏的状态。以乳酸培养基作为参照,与之近似的是乙醇培养基,所有参数变化趋

表 1 不同碳源培养基接种 SRB14 天后的理化参数变化

Table 1 Effects of 14 days growth of SRB in media with different carbon source

碳源	初始值		最终值		硫酸根去除率 / %
	pH	Eh/mV	pH	Eh/mV	
乳酸(Lac)	6.16±0.10	-268±7	6.72±0.11	-320±7	16.8
米酒(Vin)	6.08±0.01	-261±1	4.62±0.00	-186±5	7.0
糖蜜(Mol)	5.99±0.01	-249±2	4.24±0.01	-148±2	4.2
乙醇(Eth)	6.02±0.07	-251±8	5.70±0.04	-234±62	29.6

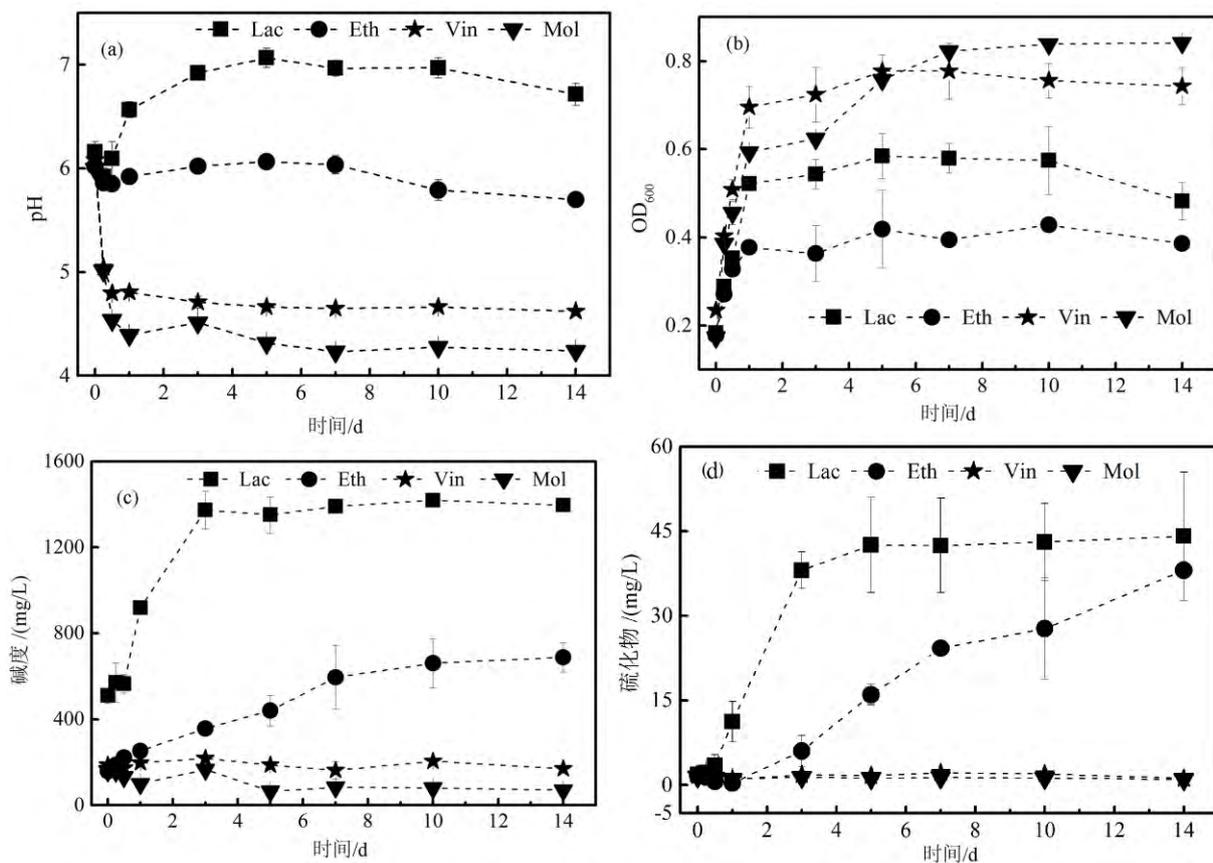


图 1 硫酸盐还原菌作用下四种 C 源培养基中几种生理生化参数随时间的变化

Fig.1 Variation of several biochemical parameters with time by sulfate reducing bacteria in four culture media with different carbon sources

势都较为一致,差异主要体现在变化幅度不及乳酸培养基大,碱度与硫化物的变化曲线呈现一个更长的迟缓期。糖蜜和米酒培养基的变化趋势相对一致,但与乳酸和乙醇培养基差异显著,二者 pH 与乳酸培养基呈现完全相反的趋势,自接种开始持续下降;碱度与硫化物自接种后几乎没有变化;只有 OD<sub>600</sub> 值的变化趋势与乳酸培养基相似,甚至 OD<sub>600</sub> 值上升幅度更大。初始碱度的差异是各碳源自身性质的差异导致,因为乳酸培养基所用的乳酸钠为强碱弱酸盐,故初始值比其他碳源培养基高。

## 2.2 含砷、锑培养基中 SRB 生长状况参数

接种 SRB 后,各培养基的初始 pH 和 Eh 与不加 As(V) 和 Sb(V) 储备液的同碳源培养基较为相似,

表明实验处理的平行性较好。加入 As(V) 和 Sb(V) 储备液后,各培养基的 pH 均低于 5, Eh 趋向正值, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 浓度也没有明显下降(表 2)。

pH、OD<sub>600</sub>、碱度与硫化物等参数的时间序列较为直观地反映了 As(V) 和 Sb(V) 储备液对 SRB 生理活性的影响(图 2)。在加入储备液后,4 种培养基的相关参数呈现出较为一致的变化趋势:pH 在急剧下降后趋于稳定;OD<sub>600</sub> 值在下降后逐渐上升;碱度的变化趋势类似于 pH, 剧降后小幅起伏;硫化物浓度持续下降。由于乳酸培养基初始碱度较高,且接种后 12 h 内 SRB 产生了少量碱度和硫化物,故相较其它 3 种培养基,乳酸培养基的 pH 和碱度下降幅度略小。

表 2 不同碳源培养基接种 SRB 和加入砷、锑 14 d 后的理化参数变化

Table 2 Effects of 14 days growth of SRB in media being fed with arsenic and antimony and different carbon sources

碳源	初始值		最终值		硫酸根去除率/%
	pH	Eh/mV	pH	Eh/mV	
乳酸钠(Lac)	6.19±0.07	-259±3	4.25±0.05	-31±70	4.0
米酒(Vin)	6.04±0.07	-241±13	2.65±0.04	1±0	0.6
糖蜜(Mol)	5.93±0.05	-233±8	2.61±0.02	65±4	0.4
乙醇(Eth)	5.98±0.04	-227±2	2.59±0.03	129±1	5.1

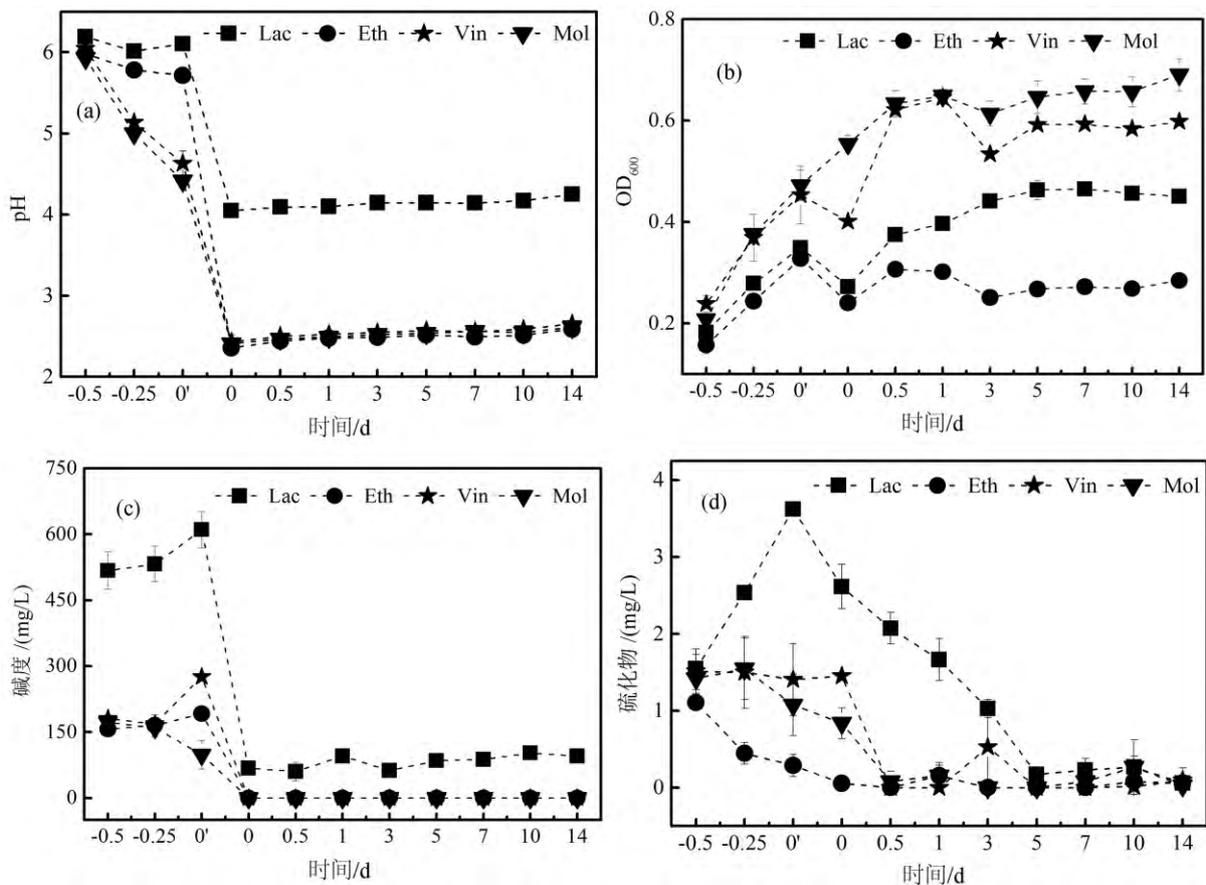


图 2 加入砷、锑废液后几种生理生化参数随时间的变化

Fig.2 Variation of several biochemical parameters with time by sulfate reducing bacteria in four culture media after addition of synthetic arsenic/antimony waste

### 2.3 不同碳源中砷、锑去除率

As(V)、Sb(V) 储备液加入后,随着反应的进行,乳酸、糖蜜和米酒培养基中砷、锑总量均呈现出不同程度的下降,只有乙醇培养基没有明显的变化(图 3、图 4)。乳酸作碳源时总锑去除率可达 89.7%,总砷去除率则为 65.6%。值得注意的是,糖蜜和米酒培养基中总锑去除率与乳酸培养基的较为接近,分别为 81.2%和 97.3%,但 As 去除率仅为 10%和 17%。乙醇培养基中总锑去除率仅为 15%,总砷浓度基本没有变化。在该反应过程中,As(V)、Sb(V) 被不同程度还原,As(III)、Sb(III) 随之出现。图 4 显示 4 种培养基中 As(III) 均呈现出逐渐升高的趋势,但乳酸培养基中 As(III) 浓度增幅相对较小;相对于 As(III),Sb(III) 的浓度较低,在乙醇和米酒培养基中随反应进行逐渐升高,而在糖蜜和乳酸培养基中则无明显变化(图 4)。

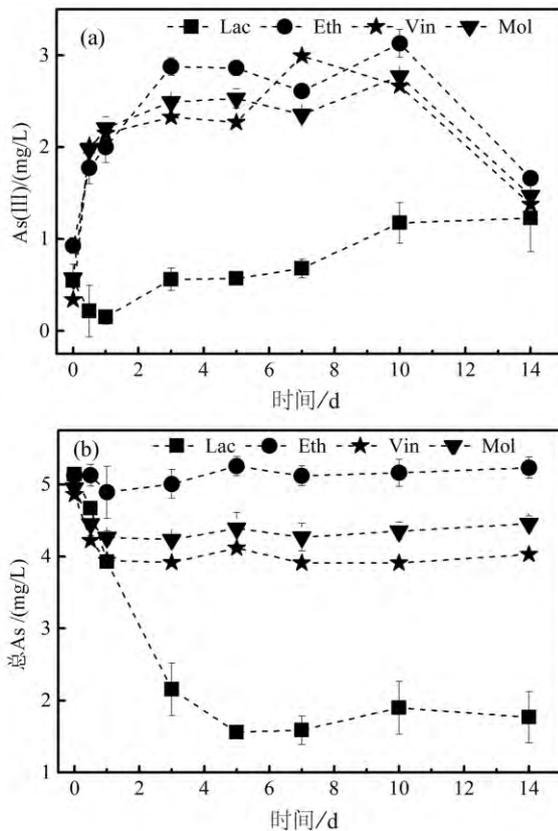


图 3 培养基中砷价态及总量随时间的变化

Fig.3 Variation of As(III) and total As by sulfate reducing bacteria in the four media

### 2.4 SRB 对砷、锑的去除率及差异

调整初始 pH 和碳源质量浓度后,以乳酸作碳源时,SRB 经历适应期后,48 h 内 pH 从初始 6.99 上升到 7.56,碱度从 330 mg/L 升至 1 083 mg/L,

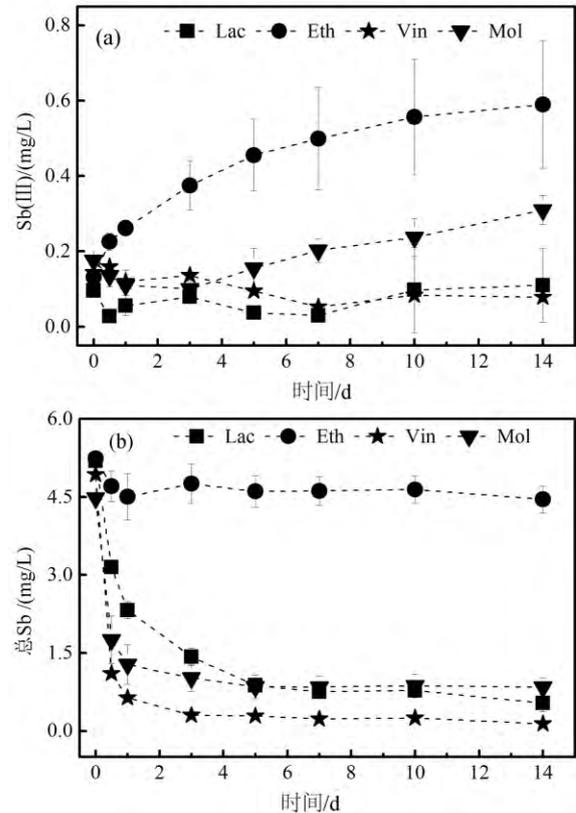


图 4 培养基中锑价态及总量随时间的变化

Fig.4 Variation of Sb(III) and total Sb by sulfate reducing bacteria in the four media

OD<sub>600</sub> 从 0.131 升至 0.394,硫化物浓度达到 70.73 mg/L。与第一部分各碳源生长状况结果相似,乙醇作碳源时培养基各参数的变化较乳酸培养基趋缓:48 h 内培养基 pH 从初始 6.97 下降后又升至 6.97,碱度从初始 160 升至 320 mg/L,OD<sub>600</sub> 从 0.126 升至 0.28,硫化物浓度从初始 9.89 升至 18.58 mg/L。乳酸和乙醇培养基中 pH、碱度、OD<sub>600</sub> 和硫化物等参数间的差异较 2.1 中更大,这是由于本实验中乳酸和乙醇采用了相同的物质的量浓度,使得乳酸的质量浓度有所升高(从 2.40 g/L 增至 3.65 g/L),而乙醇的质量浓度相对降低(从 2.40 g/L 降至 1.50 g/L)。此时添加 As(V) 和 Sb(V) 储备液,除 pH 和 OD<sub>600</sub> 稍微降低外,并没有改变 pH、OD<sub>600</sub>、碱度和硫化物随反应进行不断升高的变化趋势。相对 5 mg/L 的砷或锑而言,混合液中硫化物浓度充足,所以 As(V) 和 Sb(V) 储备液加入后瞬时即有反应,还原反应发生,三价砷、锑出现。但是,随着反应时间延长,水中总锑很快被去除至低于 0.2 mg/L,溶液中总砷却难以降到 3 mg/L 以下,即使乳酸培养基中硫化物浓度一直 > 60 mg/L。值得注意的是,总砷在反应后期都出现了一个明显起伏过程(图 5)。

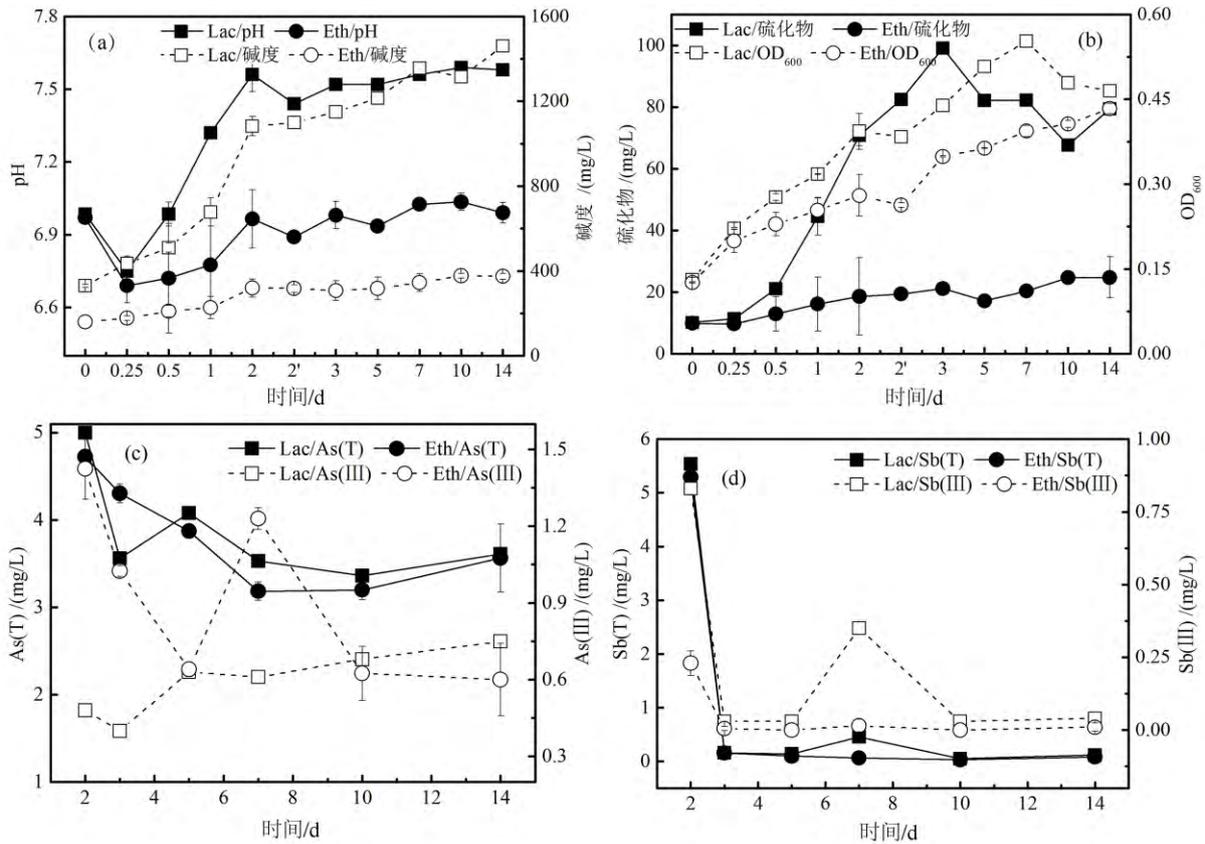


图5 硫酸盐还原菌对废水中 As、Sb 的去除效率

Fig.5 Removal efficiency of As and Sb in synthetic wastewater by sulfate-reducing bacteria

### 3 讨论

检测细菌存在和活性的最直观方式是镜检和细菌计数。不过,由于 SRB 能够利用底物中的硫酸盐代谢生成特定产物— $H_2S$ , SRB 的存在可通过与  $Fe(II)$  产生的黑色沉淀以及释放出的臭鸡蛋气味进行确认<sup>[22]</sup>,其筛选和纯化也是通过与  $Fe$  形成的黑色菌斑来进行的<sup>[17]</sup>,SRB 的生理活性高低则可通过硫酸盐的去除率及硫化物的产生量进行表征<sup>[20]</sup>。此外,SRB 利用碳源作为电子供体还原  $SO_4^{2-}$  生成硫化物的这一过程同时会使废水 pH、碱度升高,并使反应体系趋向还原环境,即导致 Eh 更负。因此,Eh、pH、碱度与硫化物等变化都能够用来表征 SRB 的生理活性高低。这些参数变化表明,乳酸仍然是最佳碳源,乙醇次之,糖蜜和米酒则不能被 SRB 直接利用。糖蜜和米酒培养基的  $OD_{600}$  变化趋势与其 SRB 生理活性不相符,推测是碳源自身的干扰作用所致<sup>[23]</sup>。由于二者初始的  $OD_{600}$  与乳酸或乙醇培养基近似,表明接种 SRB 后  $OD_{600}$  的持续升高源于失活的 SRB 菌体与糖蜜或米酒的大分子物质的相互

作用,如大分子物质对菌体的吸附作用。尽管在 14 d 的培养周期内乙醇培养基的硫化物浓度始终低于乳酸培养基,但其  $SO_4^{2-}$  去除量却高于乳酸培养基。这可能是因为实验后期乳酸培养基中 SRB 还原  $SO_4^{2-}$  的产物在基质中积累到一定程度而引起 SRB 中毒衰亡,使得一些被吸收到菌株体内的  $SO_4^{2-}$  重新释放到基质中<sup>[24-25]</sup>,而乙醇培养基在经过一个较长的停滞期后正进入旺盛生长期而吸收了较多的  $SO_4^{2-}$ 。

加入 As(V)、Sb(V) 储备液后,pH、碱度与硫化物浓度的变化表明 SRB 逐渐或立即失去了活性;同种碳源比较时, $OD_{600}$  值的变化趋势虽与不加储备液组一致,但明显低于不加储备液组。SRB 生理活性剧降推测可能是由培养基 pH 降低引起的,因为 5 mg/L 的砷或锑还不足以威胁 SRB 生存<sup>[17,23]</sup>。尽管相关研究表明 SRB 可在 pH 低至 3.5 的介质中存活<sup>[26]</sup>,但本研究中各培养基较低的 pH 值仍较大程度地抑制了 SRB 的活性。从实验操作来看,这显然是因过早加入酸性储备液所致,因为接种仅仅 12 h,SRB 还未跃过缓慢启动期,初始的碱度不足以中和

储备液酸性。这一结果与第二部分 SRB 转接 48 h 后再加酸性储备液时 pH 轻微降低后又升高的变化趋势对比明显。

在砷、锑处理过程中,无论二者残余总量是否相同,每种碳源中 As(III) 都远高于 Sb(III),表明在该体系中 As(V) 比 Sb(V) 更易接收电子<sup>[5]</sup>。与之相反,所有碳源中总锑的去除率显著高于总砷,即使没有明显去除效果的乙醇培养基也使得锑总量轻微下降,这是因为大部分锑化合物的溶解度都很低<sup>[27-28]</sup>。比较各类培养基中硫化物浓度及砷、锑去除效率,可知乳酸培养基中相对较高的硫化物浓度解释了砷、锑去除效果,但乙醇、糖蜜和米酒培养基中同样较低的硫化物浓度却导致了不同的总砷、总锑去除效率。这种差异也许能够通过 OD<sub>600</sub> 解释,因为糖蜜和米酒培养基中的有机大分子可能螯合或吸附了菌体及部分砷、锑化合物。同时,这也反衬出乙醇作为碳源的另一个优势,即使这些复合碳源能够被 SRB 利用,也可能因无法被完全利用而二次释放 COD 或因其他去除机理的存在(如吸附等)而使污染物去除难于定量化<sup>[20]</sup>。

各碳源培养 SRB 时因过早加入酸性储备液使得 SRB 失去活性,进而影响了硫化物产量及之后的砷、锑处理效率,但对比第二部分实验中较高浓度溶解态硫化物存在时砷、锑去除效率,依然能够发现砷、锑在 SRB 作用下去除率的显著差异。锑较为明显地体现了重金属的特性,即硫化物溶解度低及相对稳定;砷则明显更为活跃,不易去除,而且明显受到硫化物含量的影响,对比图 3 和图 5 中乳酸作

碳源时总砷残余量随时间的变化曲线,可知较低的硫化物含量反而降低了水相中总砷的浓度,这说明 SRB 处理过程中生成的砷硫化物沉淀在硫化物浓度升高时可再次溶解<sup>[10]</sup>,从而表明了定量生成硫化物的必要性和处理过程的复杂性。

## 4 结 论

SRB 能够利用乳酸或乙醇作为碳源,还原  $\text{SO}_4^{2-}$  生成硫化物,进而导致溶液中碱度及 pH 升高。但利用糖蜜或米酒作为碳源时,SRB 没有呈现明显的生理活性。在相同质量浓度时,SRB 氧化乳酸所产生的碱度和硫化物含量远高于乙醇,因而 pH 有明显升高。

以乳酸或乙醇作为碳源,SRB 产生的硫化物和碱度充足时,酸性储备液不会对 SRB 的生理活性产生抑制作用,并能使水相中锑总量从 5 mg/L 降至 0.2 mg/L 及以下,As 总量降至约 3.60 mg/L。当 SRB 产生的硫化物浓度较低时(< 5 mg/L),总锑去除率仍可高达 90%,总砷去除率也达到 65% 以上,表明 As 的溶解度受溶液中硫化物浓度的影响更大。

同为 1~1.5 mg/L 的初始硫化物含量,SRB 没有呈现明显生理活性时,米酒或糖蜜培养基中总锑去除率分别达到 97% 和 81%,总砷去除率为 17% 和 10%;乙醇培养基中总锑去除率仅能达到 15%,总砷基本没有变化。研究结果表明砷、锑的去除受 SRB 活性或硫化物浓度影响的同时,还受培养基组分及砷、锑自身化学性质的制约。

## 参 考 文 献

- [1] 王方. 硫酸盐还原菌对酸性废水中重金属的生物沉淀作用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [2] 杨根祥,沙日娜,乌云高娃. 酸性矿山废水的污染与治理技术研究[J]. 西部探矿工程, 2000, 12(6): 51-52.
- [3] 李福德,李昕,谢翼飞,等. 微生物去除重金属和砷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 1-10.
- [4] 李玲,张国平,刘虹,等. 广西大厂多金属矿区河流中 Sb 和 As 的迁移及环境影响[J]. 环境科学研究, 2009, 22(6): 682-687.
- [5] Kulp T R, Miller L G, Braiotta F, et al. Microbiological reduction of Sb(V) in anoxic freshwater sediments[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 48(1): 218-226.
- [6] Tsai S L, Sing H S, Chen W. Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(6): 659-667.
- [7] Fowler B A, Goering P L. Antimony [A]. In Metals and their compounds in the environment: Occurrence, analysis, and biological relevance [M]. Ernest M (Ed.). Weinheim, VCH, 1997, 743-750.
- [8] Ungureanu G, Santos S, Rui B, et al. Arsenic and antimony in water and wastewater: Overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption[J]. Journal of Environmental Management, 2015, 151: 326-342.
- [9] Mok W M, Wai C M. Distribution and mobilization of arsenic and antimony species in the Coeur d'Alene River, Idaho[J]. Environmental Science & Technology, 2002, 24(1): 102-108.
- [10] Altun M, Sahinkaya E, Durukan I, et al. Arsenic removal in a sulfidogenic fixed-bed column bioreactor[J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 269(1): 31-37.

- [11] Teclu D ,Tivchev G ,Laing M , *et al.* Bioremoval of arsenic species from contaminated waters by sulphate-reducing bacteria[J]. *Water Research* , 2008 , 42( 19) : 4885-4893.
- [12] Jong T ,Parry D L. Adsorption of Pb( II) , Cu( II) , Cd( II) , Zn( II) , Ni( II) , Fe( II) , and As( V) on bacterially produced metal sulfides[J]. *Journal of Colloid & Interface Science* , 2004 , 275( 1) : 61 - 71.
- [13] Jong T ,Parry D L. Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs[J]. *Water Research* , 2003 , 37( 14) : 3379-3389.
- [14] Newman D K , Beveridge T J , Morel F M M. Precipitation of Arsenic trisulfide by *Desulfotomaculum auripigmentum* [J]. *Applied & Environmental Microbiology* , 1997 , 63( 5) : 2022 - 2028.
- [15] Rittle K A , Drever J I , Colberg P J S. Precipitation of arsenic during bacterial sulfate reduction[J]. *Geomicrobiology* , 1995 , 13( 1) : 1-11.
- [16] Zhang G , Ou-Yang X , Li H , *et al.* Bioremoval of antimony from contaminated waters by a mixed batch culture of sulfate-reducing bacteria[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation* , 2016 , 115: 148-155.
- [17] 欧阳小雪,张国平,李海霞,等. 用硫酸盐还原菌去除废水中锑的实验研究[J]. *地球与环境* , 2014 , 42( 5) : 663-668.
- [18] Wang H , Chen F , Mu S , *et al.* Removal of antimony ( Sb( V) ) from Sb mine drainage: Biological sulfate reduction and sulfide oxidation - precipitation[J]. *Bioresource Technology* , 2013 , 146( 10) : 799-802.
- [19] Polack R , Chen Y W , Beizile N. Behaviour of Sb( V) in the presence of dissolved sulfide under controlled anoxic aqueous conditions[J]. *Chemical Geology* , 2009 , 262( 3) : 179 - 185.
- [20] Pagnanelli F , Viggi C C , Cibati A , *et al.* Biotreatment of Cr ( VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol[J]. *Journal of Hazardous Materials* , 2012 , 199: 186-192.
- [21] 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( 3) : 207-217.
- [22] Kim G M , Kim D H , Kang J S , *et al.* Treatment of synthetic acid mine drainage using rice wine waste as a carbon source[J]. *Environmental Earth Sciences* , 2014 , 71( 10) : 4603-4609.
- [23] Teclu D , Tivchev G , Laing M , *et al.* Determination of the elemental composition of molasses and its suitability as carbon source for growth of sulphate-reducing bacteria[J]. *Journal of Hazardous Materials* , 2009 , 161( 2-3) : 1157 - 1165.
- [24] 任南琪,王爱杰. 厌氧生物技术原理与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 142-143.
- [25] 曹威. 改性稻草去除水中  $\text{SO}_4^{2-}$  和 Cr( VI) 的特性和机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [26] Jong T , Parry D L. Microbial sulfate reduction under sequentially acidic conditions in an upflow anaerobic packed bed bioreactor[J]. *Water Research* , 2006 , 40( 13) : 2561 - 2571.
- [27] Filella M , Beizile N , Lett M C. Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions[J]. *Earth-Science Reviews* , 2007 , 80( 3) : 195-217.
- [28] Takayanagi K , Cossa D. Vertical distributions of Sb( III) and Sb( V) in Pavin Lake , France[J]. *Water Research* , 1997 , 31( 3) : 671-674.

## A Study on the Growth State of Sulfate-reducing Bacteria and Removal Efficiency of Arsenic and Antimony in Culture Media with Different Carbon Sources

LIU Fengjuan<sup>1,2</sup> , ZHANG Guoping<sup>2</sup> , FU Zhiping<sup>2</sup> , YU Lezheng<sup>1</sup>

( 1. School of Chemistry and Life Science , Guizhou Education University , Guiyang , 550018 , China; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry , Institute of Geochemistry , Chinese Academy of Sciences , Guiyang , 550081 , China)

**Abstract:** The growth state of sulfate-reducing bacteria ( SRB) and the removal efficiency of arsenic and antimony by SRB were investigated , when each of sodium lactate , ethanol , molasses and vinasse was used as carbon source. Batch studies show that sulfate-reducing bacteria have the best physiological activity on sodium lactate , apparent physiological activity on ethanol but with a longer lag phase and hardly any biological activity in either molasses or vinasse media. After addition of acidic arsenic and antimony stock solutions , SRB of all media lost physiological activity because there are not enough alkalinity and sulfide produced by SRB during 12 hours to neutralize and precipitate acidic waste water. Though SRB lost physiological activity and there are minute quantities of sulfide (  $\leq 3.62$  mg/L) in the media , 65.6% of total As and 89.7% of total Sb could be removed from lactate media; only 10.0% and 17.1% of total arse-

nic could be removed from the media with molasses or vinasse as carbon source but 81.2% and 97.3% of total Sb are removed in these media, respectively, and neither arsenic nor antimony is reduced distinctly with ethanol. Another batch test was performed that either lactate or ethanol that could apparently support SRB growth were used as carbon source and target elements stock solutions were supplemented into the media 48 hours after inoculation. The instantaneous concentrations of dissolved sulfide in the media with sodium lactate or ethanol are 70.73 and 18.58 mg/L before addition of arsenic and antimony, respectively. In this test, SRB could survive acidic stock solutions and finally could remove 97.8% and 98.4% of total antimony, 27.8% and 24.6% of total arsenic in sodium lactate media and ethanol media, respectively. Therefore, it could be concluded that molasses and vinasse need further performance optimization and ethanol offering its potential alternative to sodium lactate as carbon source for growth of sulfate-reducing bacteria, and removal efficiency of arsenic and antimony has close connection with their own chemical property and reaction media besides physiological activity of sulfate-reducing bacteria.

**Key words:** sulfate-reducing bacteria; carbon source; removal; arsenic; antimony