

## 炼油厂冷却器管道生物垢中 铁细菌、硫细菌及硫酸盐还原菌的分离和鉴定

武汉大学生物系微生物专业毕业实践小组

(武汉)

长岭炼油厂

(湖南)

炼油厂污水经活性污泥处理及砂滤后,在冷却水系统中循环使用,冷却器管壁上有深棕色软垢形成。

从垢中分离到 11 株铁细菌,经鉴定其中 5 株为锈色纤毛菌 (*Leptothrix ochracea*); 3 株为浮游球衣细菌 (*Sphaerotilus natans*); 1 株为大单鞘铁细菌 (*Sideromonas major*); 2 株为有鞘丝状铁细菌,按其所具氧化铁及氧化锰的能力属于纤毛菌属,但其培养及形态特征与该属中已知种比较有较显著的差别。

分离到 22 株硫细菌。经鉴定其中 20 株为特劳威硫杆菌 (*Thiobacillus trautweinii*), 1 株为脱氮硫杆菌 (*Thiobacillus denitrificans*), 1 株为氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*)。另 5 株丝状硫细菌,经鉴定为雪白丝硫细菌 (*Thiothrix nivea*)。

所分离到的硫酸盐还原细菌,经鉴定为脱硫弧菌 (*Desulfovibrio desulfuricans*)。

前一报告<sup>[1]</sup>,报道了我们在冷却器管道生物垢中观察到存在某些铁细菌、硫细菌、藻类及原生动物的结果,并讨论了工业用水管道生物垢的组成及其形成原因。

Purkiss<sup>[2]</sup> 曾谈到过工业用水管道中微生物结垢对管道冷却效率的不良影响及对管道的堵塞和腐蚀; Yost<sup>[3]</sup> 及 Vera<sup>[4]</sup> 等报道过工业用水管道系统中的微生物种类。

本文报道炼油厂冷却器管道中某些危害严重的微生物的分离鉴定方法,并分析了生物垢及循环水中的微生物组成,为防止生物结垢及管道腐蚀提供依据。

### 材 料 和 方 法

所用分离细菌材料均来源于模拟炼油厂凉水塔系统的冷却器(RG-20-25 型,流量 14 吨/小时)管壁内积垢及循环水,水温  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

#### 一、铁 细 菌

##### 1. 分离及纯化

将管垢经适当稀释后,分别接种 Skerman, V. B. D.<sup>[5]</sup> 铁细菌培养基 [Skerman 培养基,以  $\text{CaCl}_2$  代替  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , pH7.0] 及 Холодный Н. Г.<sup>[6]</sup> 所述 Sartory、Meyer 铁细菌培养基,以本厂自来水配制, pH7.8,  $28-30^\circ\text{C}$  培养,挑取 Skerman 培养基上的白色及黄白色菌落, Sartory、Meyer 培养基上黑褐色菌落传代,以进一步纯化。

##### 2. 鞘的检查

参照 Farquhar, G. J. 和 Boyle, W. C.<sup>[7]</sup> 方法:

(1) 挑取 Skerman 液体培养基或 Skerman 及 Sartory 培养基上生长的菌落,用结晶紫染液或美蓝染液进行活体染色,细胞着色较深而鞘着色较浅。

(2) 用相差显微镜于高倍镜下观察,有鞘的微生物可见到明显的衣鞘及细胞结构。(图版 1-1)。

##### 3. 铁的氧化

参考 Skerman, V. B. D.<sup>[5]</sup> 及 Farquhar, G. J. 和 Boyle, W. C.<sup>[7]</sup> 方法,挑取 Skerman 培养基上

本文于 1976 年 4 月 27 日收到。

生长的细菌,用显微镜观察活菌与亚铁氰化钾的作用,沉积三价铁的靛显蓝色(普鲁士蓝反应)。

#### 4. 锰的氧化

在 Sattory 培养基上形成棕黑色菌落,(图版 I-2)。在 Mulder E. G.<sup>[9]</sup> Mn 琼脂 (pH7.0) 上形成棕褐色菌落者,即将二价锰氧化为四价锰。

#### 5. 菌落特征观察

将纯化的可能为球衣细菌者接种于 Stockes<sup>[10]</sup> 培养基 (pH7.0), 观察其菌落特征。

## 二、硫 细 菌

### (一) 分离方法

将管壁生物垢接种于 Hutchinson, M.K.I.<sup>[11]</sup> 等的  $S_6$  (pH7.0)、 $S_5$  (pH5.4) 硫杆菌及 Temple<sup>[12]</sup> 和 Colmer 氧化亚铁硫杆菌液体培养基(用  $H_2SO_4$  调 pH 至 3.0) 中, 30℃ 培养数天后, 取培养液分别接入  $S_6$ 、 $S_5$  及 5 号固体培养基中, 培养后挑取菌落再接入  $S_6$ 、 $S_5$  液体培养基中, 培养 4—10 天, 培养液与氯化钡生成白色沉淀者, 证明其有氧化硫代硫酸钠为硫酸钠或硫酸的能力。

在分离过程中, 同时进行细菌形态观察, 如发现丝状微生物则不一定要求纯培养。

### (二) 生理特性

除在分离过程中测定其氧化硫代硫酸钠的能力外, 对单细胞的杆状菌株, 按 Breed 等<sup>[13]</sup>《Bergey 细菌鉴定手册》硫杆菌属 (*Thiobacillus*) 的分类特征, 测定其生理特性。

1. 氧化硫代硫酸钠形成四硫酸盐作为中间产物; 按 Skerman<sup>[14]</sup> 所述方法进行。

2. 培养液最终 pH 测定: 将细菌接种  $S_6$ 、 $S_5$  液体培养基中于 30℃ 培养 10—25 天, 逐日测定培养液 pH 值的变化, 至 pH 稳定时止。

3. 氧化亚铁盐的能力: 在 Temple 固体培养基中由于氧化亚铁成为高铁而形成红褐色菌落。(图版 I-3)。

4. 有硝酸盐存在下兼性厌氧生活的能力: 将  $S_5$  液体培养基中  $(NH_4)_2SO_4$  改为  $KNO_3$  (含量 0.1%), 加入 0.05%  $NaHCO_3$ , 以液体石蜡覆盖, 灭菌后接种细菌, 观察其行厌氧生活能力。

5. 异氧生活能力: 将细菌接种在普通营养琼脂培养基上, 观察其行异养生活的能力。

### (三) 形态及细胞内硫粒的检查

1. 形态: 单细胞硫细菌以革兰氏染色法及 Leifson 氏染色法检查形态及鞭毛。

2. 细胞内硫粒的检查: 参考 Skerman<sup>[7,15]</sup> 等所述方法。

将在  $S_6$ 、 $S_5$  液体培养基中生长的丝状体, 置于相差显微镜下, 观察有无明亮的硫粒。(图版 I-4。) 用乙醇或吡啶可使硫粒溶解, 留下空胞, 而细胞内其他内含物仍保留。

(四) 鞘的检查方法与铁细菌相同。

## 三、硫酸盐还原细菌

### (一) 分离和纯化

1. 分离: 采用 Skerman<sup>[16]</sup> 所述 Starkey 分离脱硫弧菌时所用培养基, 加入 0.05% 滤过灭菌的  $FeSO_4$  作指示剂, 其中一组加入 2.5% 的  $NaCl$ , 另一组加入 3% 的  $Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$ , 覆盖液体石蜡以隔绝空气。

将管垢经过适当稀释后, 分别接入上述培养基中, 30℃ 培养数天后, 出现黑色  $FeS$  沉淀者为硫酸盐还原细菌, 再经同样培养基传代 1 次。

2. 纯化: 采用 Butlin<sup>[17]</sup> 等的培养基 C, 减去其中的酵母膏, 加入 2.5% 琼脂, 并按 Toerien<sup>[18]</sup> 等人所述方法在每 100 毫升培养基中加入刃天青溶液 1 毫升, 作氧化还原指示剂。用前再加入 0.01% 的巯基乙酸、0.01% 经滤过灭菌的维生素 C 及 0.05%  $FeSO_4$ 。

将生长在 Starkey 培养基中的硫酸盐还原细菌适当稀释后, 接入溶化并冷至 40℃ 的 Toerien 培养基, 混匀后倒平板。

将上述平板置干燥器中, 以焦性没食子酸法或抽气法(真空度 20 毫米), 进行厌气培养, 用甲基蓝作指示剂。30℃ 培养数天后, 挑取黑色菌落继续纯化。

### (二) 生长试验

按 Postage 和 Campbell<sup>[19,20]</sup> 的方法鉴定硫酸盐还原菌对供氢体的利用。

1. 含硫酸盐培养基: 基本上采用 Butlin<sup>[17]</sup> 等的培养基 C, 用前加入 0.01% 巯基醋酸, 0.01% 的维生素 C,  $FeSO_4$  的量减为 0.0002%, 并加入 0.6%  $NaHCO_3$ 。或在上述培养基中, 加入 0.6% 的苹果酸钠或 0.6% 的蚁酸钠或醋酸钠, 以液体石蜡覆盖。

2. 无硫酸盐培养基: 在 Butlin 培养基中减去硫酸盐, 加入 0.01%  $MgCl_2$ , 加入 0.6% 的丙酮酸盐或 0.6% 的胆碱, 以液体石蜡覆盖。

将细菌接种在 Butlin 培养基, 于 30℃ 培养 3—6 天, 生长出的细菌继续在减去酵母膏的 Butlin 培养基上传代 2 次以上, 如仍有生长时, 即为生长试验阳性。

将细菌接种在减去硫酸盐, 加入 0.01%  $MgCl_2$  上述 Butlin 培养基上, 于 30℃ 培养 3—6 天, 出现混浊者, 继续传代 3 次, 如仍有生长时, 即为生长试验阳性。

### (三) 需 NaCl 试验

将加有 NaCl 的 Starkey 培养基中分离所得菌株接种于 Butlin<sup>[17]</sup> 培养基 C 中, 用前加入 0.01% 巯基醋酸, 0.01% 维生素 C, 覆盖液体石蜡。培养后不生长者为需 NaCl 阳性。

### (四) 嗜温性

将菌接种于上述培养基中, 在 55℃ 培养, 生长良好者为嗜温硫酸盐还原菌。

### (五) 电子显微镜观察\*

将培养于 Butlin 培养基中运动活泼的细菌, 在 JEM-7 型电子显微镜下观察并拍照。(图版 II-1)。

## 实验结果

### 一、铁细菌

用 Skerman 和 Sartory 培养基由管壁生物垢中分离出 11 株可以氧化铁和锰、或氧化铁不氧化锰的、行自养生活的细菌。这 11 株菌均能在含有  $Fe^{++}$  的自养菌培养基中生长, 并在鞘中沉积  $Fe^{+++}$ 。除  $F_{26}$ 、 $F_{281}$  和  $F_{901}$  3 株菌不氧化  $Mn^{++}$ , 并且在 Sartory 培养基上不生长外, 其余菌株均能氧化  $Mn^{++}$  为  $Mn^{++++}$ ; 除  $F_{45}$  为类球状细菌外, 其余均为丝状细菌。

各菌株的形态 培养特征和生理特征及鉴定结果见表 1。

$F_{94}$  和  $F_{95}$  两株菌, 根据它们能氧化亚铁和二价锰, 有鞘及呈丝状细菌的形态等

特征, 应属于纤毛菌属。这两株菌的菌丝直径与耐热纤毛菌 (*Leptothrix themalis*) 及斯氏纤毛菌 (*L. Skujae*) 相等, 但由于该菌非直形而略呈扭曲, 没有许多菌丝成束而裹以共鞘, 与耐热纤毛菌有所不同, 同时菌丝粗细均匀, 先端不尖削, 也不扭曲缠绕在一起而被之以大鞘, 与斯氏纤毛菌也不相同。由于这两株菌的形态特征与相近的种比较, 有较明显的差异, 是否为纤毛菌属的一个新种, 有待进一步研究。

## 二、硫细菌

经  $S_6$ 、 $S_5$ 、Temple 培养基分离到 27 株可以氧化硫代硫酸钠为硫酸钠或硫酸取得能量行自养生活的细菌, 其中 5 株为丝状微生物。

1. 分离到的 22 株单细胞硫细菌均为革兰氏阴性小杆菌, 按其能氧化硫代硫酸盐为硫酸盐或硫酸行自养生活的能力, 应属于硫杆菌科 (Thiobacteriaceae) 硫杆菌属 (*Thiobacillus*)。各菌株的形态、培养特征、生理特性及鉴定结果见表 2。其中 20 株细菌在  $S_6$  液体培养基中的最终 pH 为 8.0—8.5, 形态大小均一致, 因此只取  $S_{60}$  1 株进行了鉴定。菌株  $S_{61}$ 、 $S_{63}$  因形态、特征均有不同, 所以分别鉴定。

2. 以  $S_5$  液体培养基从垢中分离到 5 株丝状硫细菌, 在  $S_5$  液体培养基中生长极慢, 15—20 天可见绒毛状菌丝, 传代 2—3 次后菌丝变短, 生长不良以至停止生长。在  $S_5$  固体培养基中不能形成菌落。对其中  $S_{82}$ 、 $S_{83}$ 、 $S_{76}$  3 株进行鉴定, 其特征完全相同。

在  $S_5$  液体培养基中固着生长, 用力摇动可使其脱落, 呈绒毛状。显微镜下呈丝条状, 有少数假分枝, 不运动。相差显微

\* 电镜观察及拍照由武汉大学生物系电镜室进行。

表1 铁细菌特征及鉴定结果

特征号	形态	氧化 Fe <sup>++</sup> 为	氧化 Mn <sup>++</sup> 为	5号培养基	24号培养基	17号培养基	27号培养基	鉴定
F <sub>241</sub> F <sub>242</sub> F <sub>243</sub> F <sub>29</sub> F <sub>902</sub>	丝状, 菌丝直径 0.8—1.0 微米, 细胞柱状, 0.8×1—2 微米, 有假分枝, 细胞脱出, 断片或分生孢子游离于环境中, 或附着于菌丝上, 有能运动的游泳细胞。相差显微镜观察, 稀结晶紫或美蓝染色, 均可见细胞外的鞘及无细胞的空鞘, 含 Fe <sup>++</sup> 培养基中的鞘, 普鲁士蓝反应阳性。	能	能	液体培养基中培养 6 天左右, 出现絮状菌团。	培养 3 天后出现菌落, 5—10 天后菌落直径达 1—2 厘米。沉积 MnO <sub>2</sub> , 菌落呈棕黑色。四周呈环状放射生长。	培养 5—6 天沉积 MnO <sub>2</sub> , 菌落中央呈棕色, 边缘较淡且较光滑。	培养 3—5 天出现无色至白棕褐色的菌落。	锈色纤毛菌 ( <i>Leptothrix ochracea</i> )
F <sub>24</sub> F <sub>241</sub> F <sub>901</sub>	S 型菌落为杆状单细胞, 两端圆, 1.2×1.5—3.5 微米, 运动。R 型菌落为丝状细菌, 直径 1.2—1.5 微米, 有假分枝, 不运动的分生孢子及运动的游泳细胞。中间型菌落主要为丝状细菌, 也有单个细胞及正在形成丝状体的细胞链。相差显微镜观察, 稀结晶紫或美蓝染色可见鞘及空鞘。含 Fe <sup>++</sup> 培养基中的鞘, 普鲁士蓝反应阳性。	能	不能	液体培养基中培养 6 天, 形成菌丝。固体培养基上培养 3—5 天, 形成白色菌落。	不生长	培养 5—6 天形成 1—4 毫米白色至灰白色菌落, 有 S 型及 R 型两种菌落, 边缘粗糙的菌落, 中间型三菌落, 呈纤毛状向外延伸。	培养 3—5 天后有 S 型, R 型及中央型菌落, 以 R 型为主。	浮游球衣细菌 ( <i>Sphaerosilus natans</i> )
F <sub>49</sub>	单个细胞类球状至杆状, 0.6×0.75—1.0 微米, 数十个至一百个以上的细胞, 不规则排列于沉积有 Fe <sup>+++</sup> 的荚膜物质中, 形成直径达 10 微米左右的菌胶团。以 1% HCl 可溶解此荚膜物质。含 Fe <sup>++</sup> 培养基中的荚膜, 普鲁士蓝反应阳性。	能	能	液体培养基中培养 8—10 天后, 形成沉淀。	培养 3 天后出现菌落, 5—10 天后由于沉积 MnO <sub>2</sub> , 菌落中央呈棕黑色。	培养 5—6 天后, 形成中央突起, 边缘光滑的棕褐色菌落。	培养 3—5 天出现无色、边缘光滑的菌落。	大单鞘铁细菌 ( <i>Sideromonas major</i> )
F <sub>94</sub> F <sub>95</sub>	菌丝直径 0.3—0.5 微米, 整个菌丝大小一致, 单个细胞不易辨认, 鞘极薄不易观察, 但以稀结晶紫或美蓝染色可见空鞘。含 Fe <sup>++</sup> 培养基中的鞘, 普鲁士蓝反应阳性。	能	能	固体培养基上培养 3—5 天出现无色至白色菌落。	培养 3—5 天后出现直径 1—2 毫米极其坚硬的铂耳, 不能捣碎的棕黑色菌落, 沉积 MnO <sub>2</sub> , 边缘粗糙。显微镜下菌落边缘菌丝向四周放射, 略呈扭曲, 顶端不尖削, 无分枝。	培养 5—6 天后菌落直径 2—4 毫米, 棕褐色, 中央突起, 边缘光滑。		待定

注: 主要依据 Bergey 《细菌鉴定手册》, 并参考 Farquhar G. J. 和 Boyle W. C. 的检索系统鉴定。

表 2 单细胞硫细菌特征及鉴定结果

特征号	形态	S <sub>8</sub> 液体培养基的最终 pH	S <sub>8</sub> 固体培养基	S <sub>8</sub> 液体培养基	5 号液体培养基	5 号固体培养基	氧化 Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 形成四硫酸盐为中间产物	营养琼脂	6 号培养基	鉴定
S <sub>60</sub>	杆状, 0.5×1—2 微米, 单极鞭毛	8.5	培养 5 天后, 出现黄白色中央有一黑点的光滑型菌落, 直径约 1 毫米。				形成			特劳威硫杆菌 ( <i>Thiobacillus trautweinii</i> )
S <sub>61</sub>	杆状, 0.5×1—3 微米, 单极鞭毛	6.0	培养 5 天后, 出现黄白色稍薄而不光滑的菌落, 直径 1—2 毫米。		不生长	不生长	不形成	生长	生长	脱氮硫杆菌 ( <i>Thiobacillus denitrificans</i> )
S <sub>63</sub>	杆状, 0.5×1.0 微米, 单极鞭毛	不生长		生长慢最终 pH3.0	5 天后培养基变红褐色, 形成大量 Fe(OH) <sub>3</sub> 沉淀。	5 天后出现红褐色菌落, 中央色深, 凸起, 质硬而脆, 为 Fe(OH) <sub>3</sub> 所组成。菌落四周有透明圈。	不形成	不生长		氧化亚铁硫杆菌 ( <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> )

镜下观察鞘极薄, 普鲁士蓝反应阴性。细胞柱状, 2.0 × 4—8 微米。细胞内沉积硫粒, 丝状体节段断裂附着于菌丝上或游离于环境中。

根据上述特征, 按 Breed<sup>[13]</sup> 氏《Bergey 细菌鉴定手册》及 Farquhar 和 Boyle<sup>[7]</sup> 的检索系统鉴定为雪白丝硫细菌 (*Thiothrix nivea*)。

### 三、硫酸盐还原细菌

管垢中的硫酸盐还原细菌在 Starkey 培养基中增殖后, 在 Toerien 培养基上进行单菌落分离, 得到 40 株可以在含硫酸盐及乳酸盐的培养基上行厌氧生长、并还原硫酸盐为 H<sub>2</sub>S 的硫酸盐还原细菌, 对其中 3 株菌(T<sub>b-1</sub>, W<sub>a-4</sub>, W<sub>b-12</sub>) 的形态、培养和生理特征观察结果如下:

弧状, 0.5—0.6 × 1—4.5 微米, 极生单鞭毛, 不形成芽孢。可利用乳酸钠为供

氢体还原硫酸盐为 H<sub>2</sub>S, 在有亚铁离子的环境中生成 FeS。严格厌氧。在液体培养基 (Starkey 培养基) 中培养 3—4 天后出现黑色沉淀, (图版 II-2)。在固体培养基 (Toerien 培养基) 上培养 3—5 天后出现黑色菌落 (图版 II-3), 随培养时间延长, 整个平板均可呈黑色。在含硫酸盐的培养基 (Butlin 培养基) 中, 能利用苹果酸盐生长, 但不能利用甲酸盐及乙酸盐生长; 在无硫酸盐的培养基 (去硫酸盐, 加入 0.01% MgCl<sub>2</sub> 的 Butlin 培养基) 中能利用丙酮酸盐及胆碱生长。不需 NaCl, 不嗜温。

根据上述结果, 按 Postgate 和 Campbell<sup>[19, 20]</sup> 的检索表, 均可定为脱硫弧菌 (*Desulfovibrio desulfuricans*)。

### 讨 论

一、管道中的微生物首先是由流动的水带入的, 因此管道微生物结垢的组成, 首

先决定于水中有哪些微生物。并且,只要有一部分微生物随水进入管中后,能在管壁上定居下来。Purkiss<sup>[2]</sup>认为金属管壁表面只要存在  $\pm 5$  微米的不规则凹凸,就可以为微生物逐渐粘附提供条件。这些微生物定居后,便利用流动的水源源不断带来的营养物质、而迅速发育成一层很薄的生物膜。这些有固着能力的微生物,主要是一些能产生所谓胶质坐垫 (Hold fasts), 以及粘多糖和粘蛋白类荚膜物质的微生物。我们在另一篇报道<sup>[1]</sup>中曾指出,水冷却循环装置运转 3 天后,在预先安置的载片上,即可发现丝状菌固着生长。

以炼油厂的污水经隔油、浮选和生化处理后作为循环水,在实验性冷水塔系统中循环,在冷却器管壁上即产生了生物垢。这是因为水中含有硫酸盐及硫化物,为某些微生物生长创造了条件。从生物垢中分离到的浮游球衣细菌 (*Sphaerotilus natans*)、锈色纤毛菌 (*Leptothrix ochracea*)、雪白丝硫细菌 (*Thiothrix nivea*)、大单鞘铁细菌 (*Sideromonas major*) 等都具有固着能力。这些都说明首先在管壁定居和生长的是有固着能力的微生物。此外还分离到氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*)、脱氮硫杆菌 (*T. denitrificans*)、特劳威硫杆菌 (*T. trautweinii*) 及脱硫弧菌 (*Desulfovibrio desulfuricans*) 等。

最初的生物垢形成后,为其它许多没有固着能力的微生物创造了粘附条件,同时由于微生物的代谢产物、死亡的微生物以及循环水中悬浮物的沉降,不断给各种微生物带来营养物,互相促进,使垢逐步增厚起来 (Yost<sup>[3]</sup> 曾提出过类似的看法)。

二、铁细菌、硫细菌、硫酸盐还原细菌的活动均可造成对金属的腐蚀,铁细菌将水中所含的  $\text{Fe}^{++}$  氧化为  $\text{Fe}^{+++}$ , 形成大量  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , 加速了管壁上铁离子进入水

中,从而加速了腐蚀过程。硫细菌氧化水中的硫代硫酸盐、亚硫酸盐、硫化物等形成硫酸,可造成对管壁的酸腐蚀。硫酸盐还原细菌是严格厌氧菌,在氧化还原电位较高的环境中不能生长,但当生物垢隔绝了氧气,则可在垢的底层金属表面上生长繁殖,造成严重的腐蚀。Lewis<sup>[21]</sup>, Walko<sup>[22]</sup>, Yost<sup>[3]</sup>, Hill<sup>[23]</sup> 和 Booth<sup>[24]</sup> 等都曾强调其对金属腐蚀的重要作用。如在高度污染的水和水浸土壤中的管线及设备,通常都有硫酸盐还原细菌造成的腐蚀,而硫酸盐还原细菌腐蚀钢铁的重要机制之一,是该菌的阴极去极化作用。

由于我们只用了少数特定的培养基,因此分离到的是有代表性的几种微生物。但已可证实确有这些微生物参与管道腐蚀过程。所以对凉水塔系统杀菌时,应选用针对上述引起腐蚀和结垢的细菌杀菌剂。

## 参 考 资 料

- [1] 武汉大学生物系微生物专业毕业实践小组等: 炼油厂污水循环使用冷却器管道中生物结构体防止, 武大学报, 第 2 期, 37 页, 1976。
- [2] Purkiss, B. E.: *Biotechnology of Industrial Water Conservation*, 9: 18—30, M and B Monograph CE/8, 1972.
- [3] Yost, W. H.: *Oil and Gas Journal*, 71: 107—109, 1973.
- [4] Vera, G. C.: *J. Appl. Bacteriol.*, 27: 143—150, 1964.
- [5] Skerman, V. B. D.: *Abstracts of Microbiological Methods*, John Wiley & Sons, Inc., p. 681, 1969.
- [6] Холодный, Н. Г.: 铁细菌, 王祖农译, 第 217 页, 科学出版社, 北京, 1957。
- [7] Farquhar, G. J. et al.: *JWPCF.*, 43: 604—622, 1971.
- [8] Skerman, V. B. D.: *A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*, p. 200, Williams & Wilkins Co. 1959.
- [9] Mulder, E. G.: *J. Appl. Bacteriol.*, 27: 151—173, 1964.
- [10] Stokes, J. L.: *J. Bacteriol.*, 67: 278—291, 1954.
- [11] Hutchinson, M. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 41: 357—366, 1965.

- [12] Temple, K. L. et al.: *J. Bacteriol.* **62**: 605—611, 1951.
- [13] Breed, R. S. et al.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed., London, Bailliere, Tindall Cox, Ltd., 1957.
- [14] Skerman, V. B. D.: *A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*, Williams & Wilkins Co. p. 163—167, 1959.
- [15] Skerman, V. B. D.: *ibid*, p. 167.
- [16] Skerman, V. B. D.: *ibid*, p. 192—194.
- [17] Butlin, K. R. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, **3**: 46—59, 1949.
- [18] Toerien D. F. et al.: *Water Research*, **2**: 505—513, 1968.
- [19] Postgate, J. R. et al.: *Bacteriol. Reviews*, **30**: 732—738, 1966.
- [20] Campbell, L. L. et al.: *ibid*, **29**: 359—363, 1965.
- [21] Lewis, R. F.: *J. Am. Water Works Assoc.* **57** (8): 1011—1015.
- [22] Walko, J. F.: *Chemical Engineering*, **79** (24): 128—132, 1972.
- [23] Hill, E. C.: *Process Biochemistry*, **6** (11): 17—18, 1971.
- [24] Booth, G. H.: *J. Appl. Bacteriol.*, **27**: 174—181, 1964.
- [25] Postgate, J. R.: *Appl. Microbiol.*, **11**: 265—267, 1963.

# ISOLATION, CULTIVATION AND IDENTIFICATION OF SOME IRON BACTERIA, SULFUR BACTERIA AND SULFATE REDUCING BACTERIA FROM FOULING OF HEAT EXCHANGERS AND RECIRCULATING WATER OF COOLING TOWER SYSTEM IN REFINERY

GRADUATION PRACTICE GROUP, MICROBIOLOGICAL LABORATORY,  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, WUHAN UNIVERSITY

(Wuhan)

CHANGLING REFINERY

(Hunan)

Petroleum refinery waste water was treated by activated sludge followed by filtration and then recirculated in cooling system. There was a heavy brown gelatinous deposit over the internal surface of multitube condensers and heat exchangers.

Eleven strains of iron bacteria were isolated from fouling of heat exchangers by using inorganic medium. Five isolates are identified as *Leptothrix ochracea*, three as *Sphaerotilus natans* and one as *Sideromonas major* respectively. In accordance with their capacity to oxidize ferrous to ferric iron and to oxidize manganous compounds to black

manganic oxide, two strains of sheath forming filamentous iron bacteria should belong to genus *Leptothrix*. But apparently they differ in morphological characteristics from any known species in the genus.

Twenty two strains of sulfur bacteria were isolated from the samples described above by using inorganic medium. Twenty strains are identified as *Thiobacillus trautweinii*, one as *Thiobacillus denitrificans*, one as *Thiobacillus ferrooxidans* respectively.

Five isolates of filamentous sulfur bacteria were isolated from the samples mentioned above by using inorganic

medium. These bacteria do multiply but can not form colonies on solid medium, so it is doubtful whether these bacteria have ever been cultivated in pure cultures. These isolates of filamentous bacteria were identified as *Thiothrix*

*nivea*, according to their capacity of depositing sulfuric granules in cells and their morphological characteristics.

Three isolates of sulfate reducing bacteria identified as *Desulforibrio desulfuricans*.