

苦水湖沉积物中的硫酸盐还原细菌及其应用的初步研究

印明善 马秀贞 叶乃芝

(中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州)

从苦水湖沉积物中分离到了一株革兰氏阴性、弧形、大小为 $0.3-0.6 \times 1.4-2.0 \mu\text{m}$ 、无芽孢和荚膜、中温性、耐盐、专性还原硫酸盐的菌株。该菌除利用蛋白胨、甘油、天门冬素和乳酸盐等有机物外还利用醋酸盐、丙酸盐和丁酸盐等。属于 *Desulfovibrio* sp.。

用该菌所进行的淡化苦水试验表明：它能把苦水中的硫酸根全部还原，并使钙、镁离子产生部份沉淀，同时也使苦水中某些有害的金属离子以硫化物形式沉淀掉，从而使苦水水质有所改善。因此，利用微生物来淡化苦水是一个值得进一步研究的课题。

关键词 硫酸盐还原细菌；苦水；脱硫弧菌属

我国西北五省的大部分地方属于干旱区，雨量稀少，气候干燥，地面和地下的淡水不能满足工农业生产和人民生活的需要。然而在这些地区的地面和地下却往往存在着大量的苦水。它含盐量高，硬度大，尤其含有高浓度的硫酸盐，工农业生产和人民生活都不能直接应用它。为此如何简单便宜地将它所含的硫酸盐等有害离子除去具有重要的意义。

1969年美国 Moore^[1] 虽曾利用菌藻类进行苦水的改良并获专利。但迄今尚未见到有关利用细菌除去苦水中硫酸盐的文献记载。本文报导了从苦水湖沉积物中分离硫酸盐还原细菌并进行去除苦水中硫酸盐的初步试验结果。

材料和方法

(一) 菌株的分离

样品取自甘肃省会宁县苦水湖的淤泥，采样后一星期以内，按 Butlin, Adams 和 Thomas^[2] 的分离步骤用 Baars 氏培养基，加 3% Na_2SO_3 作为选择剂，并加入 2—3g 淤泥和 25ml 的苦水湖水于 250ml 的磨口三角瓶中，在 30°C 下进行富集培养。7 天后培养物中出现大量黑色硫化铁沉淀。经显微镜检查弯曲弧菌占绝对优势，再将此培养

物经 2—3 次的移种富集培养后，按印明善等人^[3] 所报导的方法进行单株分离，获得了纯株。菌株系革兰氏阴性，弯曲或弧状多形态，单个端生鞭毛，运动，嫌氧，大小为 $0.3-0.6 \times 1.4-2.0 \mu\text{m}$ ，无芽孢和荚膜。

(二) 培养条件

试验中所使用的培养基成分为 K_2HPO_4 0.5g, NH_4Cl 1.0g, Na_2SO_4 1.0g, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0g, 乳酸钠 (70W/V) 5.0g, NaCl 3.0g, 自来水 1000ml, pH 7.0—7.5。在 100ml 磨口三角瓶中装上上述培养基，15 磅灭菌 30 分钟，另外配制 10% $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 装入安培瓶中灭菌，接种时加入微量。用同样培养基培养 7 天后的菌种作为种子，接种量为 1/20，在 30°C 下进行培养。

(三) 分析方法

硫化氢测定法：将 10% 的醋酸镉 10ml 加入 10ml 已培养菌的培养液中，使硫化氢以硫化镉的形式沉淀下来，用蒸馏水洗涤过滤后，然后再加入 20ml 0.1N 的碘液和 5ml 1:3 的硫酸溶液，最后以淀粉作指示剂，用 0.1N 的标准硫代硫酸钠滴定之。

结果与讨论

(一) 生理实验

本文于 1984 年 12 月 28 号收到。

1. 温度: 硫酸盐还原细菌的生长温度一般为 0—100℃, 我们对该菌分别进行了 5、10、15、20、25、35 和 45℃ 的温度培养试验。发现该菌在 25—35℃ 生长最好, 45℃ 则不生长, 故该菌属中温型。

2. pH: 硫酸盐还原细菌耐 pH 范围受培养基的 Eh 和化学成份的影响。通过 6.0、6.5、7.0、7.5 和 8.0 不同 pH 范围的培养试验。该菌最适 pH 为 7.0, Eh 为 -50—-150 mV。

3. 耐盐度: 在培养基中分别加入 1、5、10、15 和 20% 不同浓度的 NaCl。在培养 6、11、18、30 和 35 天后, 分别测其 H₂S 的产量。由图 1 可知 1—5% 浓度的 NaCl 是该菌的最适耐盐度, 10% 生长缓慢, 15% 和不加 NaCl 的对照都不生长。故该菌属弱嗜盐菌 (Slightly halophilic strain)。

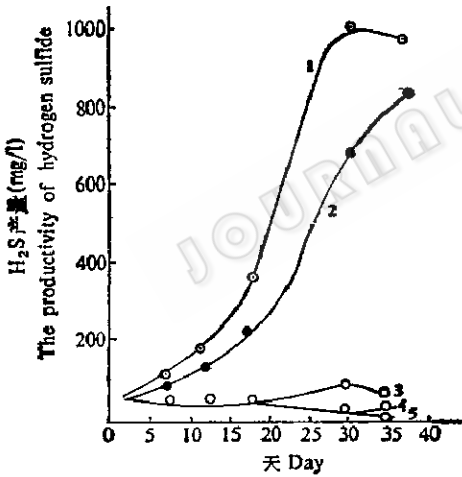


图 1 NaCl 浓度对硫酸盐还原细菌生长的影响
Fig. 1 Effect of NaCl conc. on growth of sulfate-reducing bacteria

1. 1% 2. 5% 3. 10% 4. 15% 5. 0%

4. 生长素: 为了促进该菌更快地还原硫酸盐, 在培养基中分别进行了加和不加酵母浸汁(0.6g/l)的对比试验。由图 2 可知酵母浸汁有促进该菌还原硫酸盐的作用。

5. 碳源: 在培养基中分别加入蛋白胨、天门冬素、甘油、醋酸盐、丙酸盐和丁酸

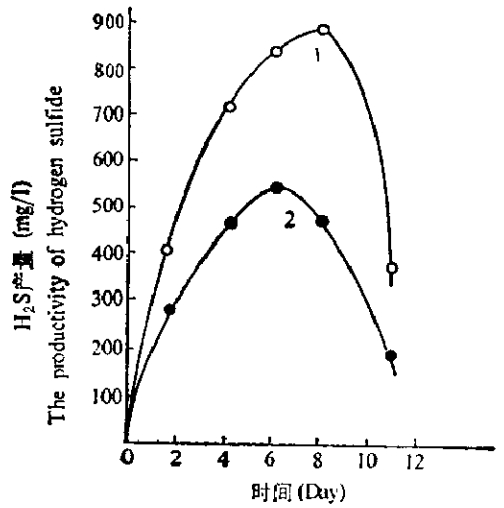


图 2 酵母浸汁对硫酸盐还原细菌生长的影响
Fig. 2 Effect of yeast extract on growth of sulfate-reducing bacteria

1. 加酵母汁 + yeast extract 2. 不加酵母浸汁 - yeast extract

盐代替乳酸钠为碳源作为给氢体来还原硫酸盐, 发现该菌都能利用, 生长良好。例如: 我们加入 8g 醋酸钠为碳源, 培养 60 天后, 硫酸根的含量由最初的 2635mg/l 降为 0。因此可知该菌利用各种有机物作碳源的范围是比较广泛的, 并具有咸水型硫酸盐还原细菌利用醋酸盐等有机酸的特征。

根据该菌的形态和某些生理特征, 可以初步鉴定为 *Desulfovibrio* sp。

(二) 淡化苦水实验

甘肃省会宁县的苦水属硫酸盐型, 硫酸根含量可高达 3077mg/l, 钙离子为 331 mg/l, 镁离子 494mg/l, 总硬度 160.05。苦水导致人畜腹泻的主要原因是含有硫酸镁和硫酸钠。我们在含硫酸根 1842mg/l 的苦水湖水中加乳酸钠 5g, K₂HPO₄ 0.5g, NH₄Cl 1.0g, FeCl₃ 0.5g, pH 7.0—7.2, 接入种子细菌悬浮液 10ml, 在 28—30℃ 下进行培养。经 7、14 和 21 天不同的培养时间后, 取出分别测其硫酸根的含量, 见图

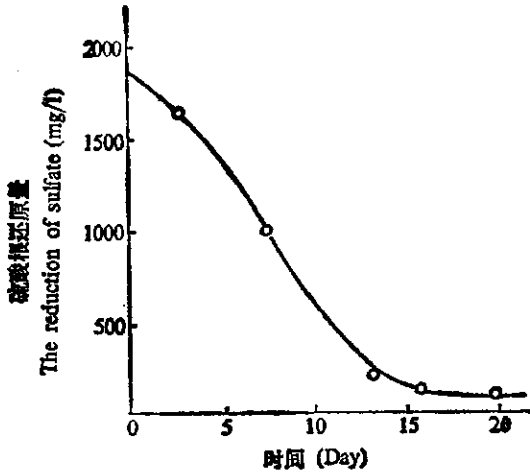


图3 硫酸盐还原细菌还原苦水中的硫酸根
Fig. 3 Sulfate reduced in saline water by sulfate-reducing bacteria

3. 培养 14 天后, 90% 以上的硫酸根被还原。

同样, 我们又在含硫酸根量为 129.26 mg/l 的机井苦水中加入上述各种成份和硫酸盐还原细菌悬浮液, 培养 14 天后(表 1), 苦水水质起了明显的变化。经细菌作用后, 苦水的总硬度下降 49.7%, 硫酸根全部被还原, 其中 $K^+ + Na^+$ 和 Cl^- 离子有所增加是由于向培养的苦水中加入了这些盐类所致。因此也可推测如在机井苦水中不加入细菌及其所需的盐类, 则原有细菌只要条件适合, 就有可能发挥还原硫酸盐的作用。

我们又将未经细菌作用的苦水和经细菌作用后的上层清水及其沉淀物进行了光谱定性分析, 结果见表 2。

表 1 苦水经细菌作用后的脱盐效果

Table 1 Desalting effect after the bacteria act on saline water (mg/l)

盐类 Salt	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺⁺ +Na ⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ⁻	NO ₃ ⁻	总离子 Total ions	总硬度 Total hardness
	水样 Water sample								
作用后的机井苦水 Treated saline water	8.34	48.98	113.61	6.31	133.19	0	0	310.43	80.64°
未处理 Untreated	33.12	81.04	104.19	4.02	88.59	129.26	3.98	444.20	160.05°

表 2 细菌作用后的苦水及其沉淀物的光谱定性分析

Table 2 Spectral analysis of saline water and precipitate after the bacteria act

元素 Element	Ca	Al	Sr	Cu	Bi	Mg	Si	Mn	Ti	Na	Fe	K
	样品 Sample											
作用后的上层清水 Treated upper water	✓*	✓	✓			✓	✓			✓		✓
作用后的沉淀物 Treated precipitate	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
未处理 Untreated	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

* ✓表示金属元素的存在 Metal elemental existence

由上表可看出细菌在还原硫酸盐产硫化氢的过程中, 硫化氢与苦水中的金属离

子作用产生了硫化物沉淀, 例如: Cu、Bi、Ti、Mn 和 Fe 等有害离子。而结合表 1 得

知 Ca、Mg 和 Al 等则部份地被沉淀下来，使水质有所改善。

综上所述，如用硫酸盐还原细菌还原硫酸盐为硫化氢，一方面使某些有害的金属离子产生沉淀。另一方面也使镁离子成为碳酸镁沉淀掉。如再利用紫色或绿色硫细菌将其中多余的硫化氢以硫的形式沉淀下来，使苦水水质得到进一步的改善，这样就有可能使苦水成为工农业生产和人畜的饮用水。这在经济上是便宜的，技术上是

可行的。例如：将各种腐烂的蔬菜等放入苦水中作为细菌的碳源、它就能生长繁殖、还原硫酸盐。这将对干旱和沙漠地区的苦水改良具有广阔的发展前景。

参 考 文 献

- [1] Woore, D. E.: US Patent 3,432, 427, 1969.
 [2] Bućin, K. R. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 3: 46, 1969.
 [3] 印明善、王大珍: *微生物学报*, 11(2): 295—297, 1965。

PRELIMINARY STUDIES ON THE SULFATE-REDUCING BACTERIA IN SALINE LAKE SEDIMENT AND ITS APPLICATIONS

Yin Mingshan Ma Xiuzhen Ye Naizhi

(Lanzhou Institute of Chemical Physics, Academia Sinica, Lanzhou)

A strain was isolated from saline lake sediments. It is Gram-Negative, rod-shaped organism with curved axes (not spiral), 0.3—0.6 by 1.4—2.0 μm , non-sporing, non-capsules, motile with a single polar flagellum, halophilic. It is strict anaerobion which is capable of reducing sulfates with liberation of hydrogen sulfide. It can utilize peptone, glucerol, asparagine, lactate, prepionate, and butyrate. The strain falls into genus *Desulfovibrio* sp.

Reclaiming of saline waters with the aid of sulfate-reducing bacteria has shown

that it can reduce the sulfate in saline water thoroughly and precipitate the ionic calcium and magnesium partly. In the meantime it can also precipitate some harmful metal ions in sulfides. Therefore the property of saline water could be improved. It would be doubly valuable research subject to utilize microorganism to reclaim saline water.

Key Words

Sulfate-reducing bacteria; Saline water; *Desulfovibrio*