

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017.03.2016070301

张鸿郭, 熊静芳, 李猛, 等. 固定化硫酸盐还原菌处理含铊废水效果及其解毒机制[J]. 环境化学, 2017, 36(3): 591-597.

ZHANG Hongguo, XIONG Jingfang, LI Meng, et al. Effect and detoxification mechanism for treating wastewater containing thallium by immobilized sulfate reducing bacteria[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(3): 591-597.

## 固定化硫酸盐还原菌处理含铊废水效果及其解毒机制\*

张鸿郭<sup>1,2,3</sup> 熊静芳<sup>1</sup> 李猛<sup>1</sup> 庞博<sup>1</sup> 黄晓武<sup>1,2</sup>  
陈迪云<sup>1,3</sup> 罗定贵<sup>1,2</sup> 王伟彤<sup>1,3</sup> 陈永亨<sup>2\*\*</sup>

(1. 广州大学环境科学与工程学院, 广州, 510006; 2. 珠江三角洲水质安全与保护省部共建重点实验室, 广州, 510006;  
3. 广东省放射性核素污染控制与资源化重点实验室, 广州, 510006)

**摘要** 生物固定化是一种新型防控水源地水体重金属污染技术. 实验采用固定化硫酸盐还原菌(SRB)处理含铊废水, 并研究了SRB处理含铊废水的机理. 研究表明, 包埋后SRB仍能够保持较强活性, pH和接触时间对固定化SRB处理含铊废水具有较大影响, 包埋小球pH耐受性较好, 最适pH值是6, 处理在720min达到饱和量. 菌液包埋量和废水中硫酸根离子浓度对固定化处理含铊废水作用重要, 处理量高达253.94  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . 采用EDS和XRD分析了反应体系中沉淀物的组成, 表明溶液和小球沉淀物中均含有硫化铊, 硫化铊沉淀是固定化SRB处理含铊废水过程中铊污染去除的重要机制, 固定化SRB可有效防控水源地铊污染.

**关键词** 固定化硫酸盐还原菌, 毒性, 机理, 沉淀.

## Effect and detoxification mechanism for treating wastewater containing thallium by immobilized sulfate reducing bacteria

ZHANG Hongguo<sup>1,2,3</sup> XIONG Jingfang<sup>1</sup> LI Meng<sup>1</sup> PANG Bo<sup>1</sup> HUANG Xiaowu<sup>1,2</sup>  
CHEN Diyun<sup>1,3</sup> LUO Dinggui<sup>1,2</sup> WANG Weitong<sup>1,3</sup> CHEN Yongheng<sup>2\*\*</sup>

(1. School of Environmental Science and Engineering, Guangzhou University, Guangzhou, 510006, China;  
2. Key Laboratory for Water Quality Security and Protection in Pearl River Delta, Ministry of Education and Guangdong Province, Guangzhou, 510006, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Radionuclides Pollution Control and Resources, Guangzhou, 510006, China)

**Abstract:** Biological immobilization is a new method for the prevention and control of heavy metal pollution in the water source areas. In this study, immobilized sulfate reducing bacteria (SRB) was used to treat wastewater containing thallium, and the main mechanism of thallium removal was studied. The results indicate that the SRB retained its activity after immobilization, and pH and contact time had great impact on thallium removal. The beads had great tolerance to pH change, and the optimum value is 6. Saturated amount was reached at 720 min. The amount of bacteria entrapped and concentration of sulfate in wastewater played key roles in the process of treating thallium by immobilized SRB, and the max treatment amount of thallium was up to 253.94  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . The

2016年7月3日收稿 (Received: July 3, 2016).

\* 国家自然科学基金 (51208022, 41273100, 41372248), 广州市珠江科技新星项目 (2011061), 广州市科技计划项目 (2017027), 广州市教育局重大创新项目 (13XT02) 和广州大学高水平大学建设项目资助.

**Supported by** National Natural Science Foundation (51208022, 41273100, 41372248), New Technological Star Project of Pearl River (2011061), Science and Technology Program of Guangzhou (2017027), the Significant Innovation Project of Bureau Guangzhou Municipality (13XT02) and High Level University Construction Projects of Guangzhou City.

\*\* 通讯联系人, Tel: 020-39366943, E-mail: gzcyh@163.com

**Corresponding author,** Tel: 020-39366943, Email: gzcyh@163.com

composition of precipitation in the immobilized SRB system was analyzed by energy dispersive spectrometer (EDS) and X-ray diffraction (XRD). It was revealed that thallium sulfide existed in the precipitation of the solution and beads. Precipitation of thallium sulfide was the important mechanism for thallium removal during the course of treating wastewater containing thallium by the beads of immobilized SRB. Immobilized SRB can effectively prevent and control thallium pollution in water source areas.

**Keywords:** immobilized SRB, toxicity, mechanism, precipitation.

剧毒分散元素铊(Tl)对哺乳动物的毒性仅次于甲基汞,远大于Hg、Pb、As等,毒性为氧化砷的3倍多,我国《重金属污染综合防治“十二五”规划》将铊列为重点防控的重金属污染物之一<sup>[1-3]</sup>.当前含铊酸性废水处理方法有活性氧化铝法、离子交换法、饱和NaCl法、吸附分离法、超滤、反渗透、电渗析和菌株吸附法等,由于材料、维护费用较高或处理限制因素较多,而铊安全标准又极高,上述方法都难以实现低成本达标去除水体中微量铊的目的<sup>[4-7]</sup>.

硫酸盐还原菌(Sulfate reducing bacteria, SRB)能够利用通过硫酸盐还原作用,将废水中的硫酸盐还原成硫离子并与铊离子结合形成硫化铊沉淀而实现废水中铊污染的有效去除,但SRB易受铊离子毒害而死亡,且分散在废水中,难以回收再利用<sup>[8-9]</sup>.固定化技术可将SRB高度密集于一个有限空间内并使其保持一定活性,不断循环利用.该方法具有处理效果好、利于固液分离、可重复利用、回收方便和抗重金属离子抑制能力强等优点<sup>[8]</sup>.目前固定化SRB处理铊污染及其处理机理的研究仍相对匮乏.

本实验利用包埋SRB处理含铊废水,探讨包埋条件下菌株活性变化,pH条件和接触时间对包埋菌株处理含铊废水效果的影响,同时探讨包埋菌株对铊毒性的控制及处理机理.

## 1 材料和方法(Materials and methods)

### 1.1 实验器材

实验所涉及的主要仪器有PHS-25型实验室pH计,HYG-A全温摇瓶柜,YQX-II厌氧培养箱,SFC-01B型电热恒温鼓风干燥箱,01J2003-04型立式压力蒸汽灭菌器,TAS-990F型火焰原子吸收分光光度计(北京普析),JSM(7001F)-EDS高分辨率场发射电子显微镜与X射线能谱联用仪(日本电子),X'pert Powder型X射线粉末衍射仪(荷兰帕纳科).

### 1.2 实验材料

实验中所用菌株为本实验室从长期处理含高浓度硫酸盐废水反应器中筛选出来可有效处理硫酸盐的优势SRB菌株,目前保藏于广东省微生物菌种保藏中心(编号为GDMCC1.1031).实验药品:聚乙烯醇、海藻酸钠、二氧化硅、活性炭、硼酸、无水氯化钙、TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)、三羟甲基氨基甲烷和乳酸钠等(天津市大茂化学试剂厂,分析纯),微孔滤膜(天津津腾,0.45 μm),采用铊标液(国家钢铁材料测试中心,硝酸铊)配置成1 mg·L<sup>-1</sup>铊溶液备用.

### 1.3 菌的固定化

包埋法固定化SRB具体过程:首先将聚乙烯醇加热溶解于无菌蒸馏水中并添加二氧化硅和活性炭用玻璃棒不断搅拌直至所有材料完全溶于蒸馏水中,边搅拌边冷却至35—40℃,然后迅速加入硫酸盐还原菌(菌液浓度为654 μg·mL<sup>-1</sup>)和活性炭并混合搅拌.最后使用注射器吸取混合液,缓慢滴加到2%饱和硼酸氯化钙溶液中,交联18 h后取出成型小球,在乳酸钠溶液中浸泡30 min,取出并保存在4℃冰箱中备用<sup>[10]</sup>.

通过正交法确定固定化SRB最佳包埋质量比例为:聚乙烯醇为6%,二氧化硅为3%,海藻酸钠为0.5%,活性炭为2%,菌液含量为25%.

### 1.4 脱氢酶活性的测定

通过氯化三苯基四氮唑(TTC)比色法测定固定化前后细菌脱氢酶活性<sup>[11]</sup>.分别准确取定量湿菌体与固定化细胞(菌体包埋量与湿细胞的量相同)分别加入5 mL Tris-HCl缓冲溶液、5 mL蒸馏水、10 mL TTC溶液;然后加入0.5 mL甲醛固定作空白样品;将待测样品与空白样品置于全温振荡器中于30℃培



在分解代谢阶段,有机物碳源在厌氧条件下产生少量 ATP 和高能电子;在电子传递阶段,高能电子通过硫酸盐还原菌中电子传递链(细胞色素和黄素蛋白)传递并产生大量 ATP,在氧化还原阶段,氧化态硫元素获得高能电子,通过消耗 ATP,硫酸盐作为最终电子受体被还原为硫离子。

SRB 代谢过程中氧化还原阶段具体反应式(1、2)如下,其中  $\text{CH}_2\text{O}$  代表有机碳源。



在硫酸盐还原菌的作用下,硫酸盐被还原成硫化物,然后硫化物与铊(I)发生反应生成硫化铊而从溶液中去除.固定化小球处理含铊废水时涉及离子的扩散、硫酸盐厌氧还原,以及铊(I)与硫化物反应形成硫化铊沉淀.硫酸盐厌氧还原主要发生在固定化小球内部,而铊(I)与硫化物反应可以发生在小球内部和外部(图3)<sup>[17]</sup>.

如图3所示,硫化氢从细胞内扩散到细胞外与铊(I)在小球外部形成硫化铊沉淀或溶液中铊离子扩散到细胞内与硫化氢在小球内部形成沉淀.硫酸根离子浓度在反应中起到了重要的作用。

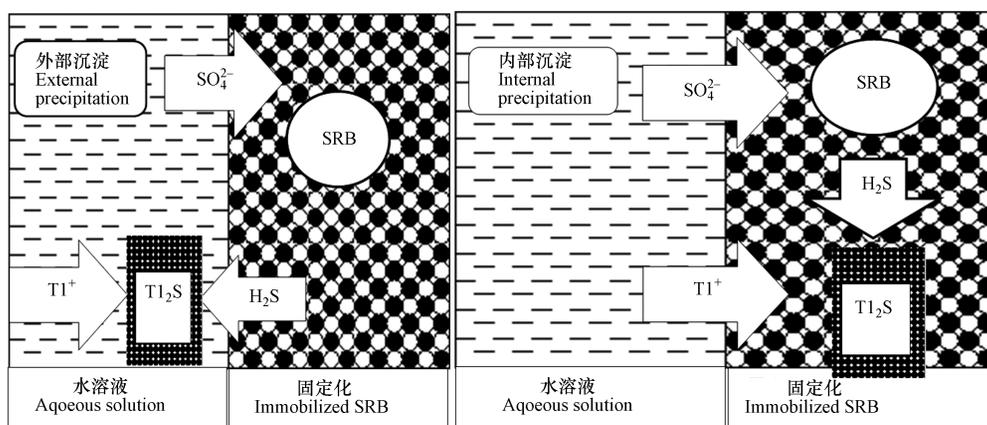


图3 沉淀过程示意图

Fig.3 Schematic diagram of precipitation process

## 2.5 硫酸根离子和菌液量影响

为研究初始硫酸根离子浓度和包埋菌液对固定化小球处理含铊废水的影响,在铊(I)含量为  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的废水中分别添加  $10\text{--}500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的硫酸根离子,置于转速为  $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、温度为  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  的摇床中处理  $24 \text{ h}$ ,用无火焰原子吸收光谱法(Flamless atomic absorption spectrophotometry, FAAS)检测其中的铊(I)(图4)。

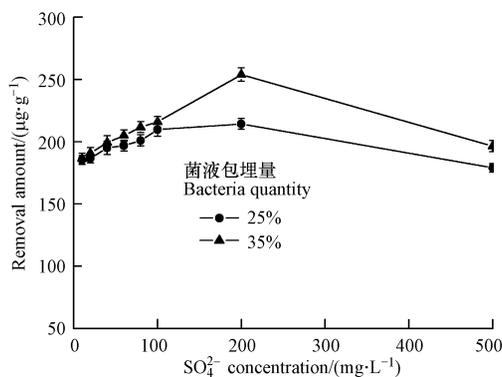


图4 硫酸根和菌液量的影响

Fig.4 Influence of sulfate and bacteria quantity

随着包埋菌液量增大,在  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度从  $0$  增加到  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,固定化小球对铊(I)的处理也逐渐增大,最大处理量分别为  $253.94 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  (35%菌液包埋量)和  $214.32 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  (25%菌液包埋量),表明包埋

菌液量越大,反应越强烈, $\text{SO}_4^{2-}$  浓度越高,形成硫化铊沉淀比例越高.随着硫酸根离子浓度继续增大,固定化 SRB 对铊处理量却逐渐降低,这和产生的硫化氢有关.硫化氢对 SRB 具有毒害作用,随着溶液中  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度继续增大,被细菌还原作用还原的硫化氢也逐渐增多.虽然固定化小球能够在一定程度上保护细菌免受金属离子和硫化氢的毒害,但逐渐增多的硫化氢很明显穿透了固定化小球对菌的保护,对 SRB 造成毒害,细菌活性下降,铊离子处理量也逐渐降低<sup>[18]</sup>.随着毒害强度越大,包埋菌液受到影响,处理效果下降,溶液中硫酸根浓度是一个非常重要的参数.

## 2.6 扫描电镜能谱测定

固定化 SRB 小球处理含铊废水前表面光滑呈球形个体状,处理含铊废水后变成不规则的球形且表面粗糙易粘连(图 5).扫描电镜(Scanning electron microscopy, SEM)进一步观察显示固定化 SRB 处理含铊废水后表面和内部疏松空隙被物质填满,且表面和剖面呈现不规则形状,表明处理含铊废水过程中固定化 SRB 小球表面和内部发生了一系列反应.为验证其过程是否与式(1、2)相符,通过能谱分析仪(Energy dispersive spectrometer, EDS)对小球表面和内部进行能谱分析(图 6),表明固定化 SRB 表面和内部都存在铊元素<sup>[19]</sup>.

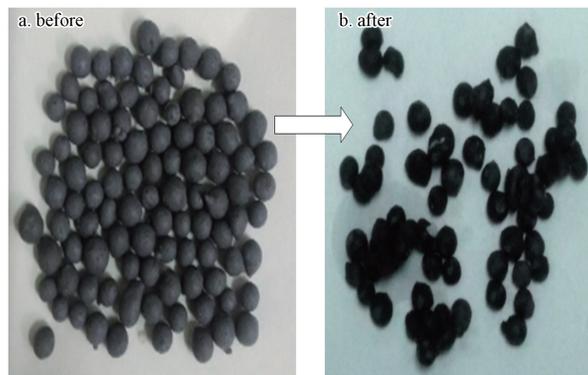


图 5 固定化 SRB 处理含铊废水前后形态变化

Fig.5 Morphology changes of immobilized SRB before and after processing Tl bearing wastewater

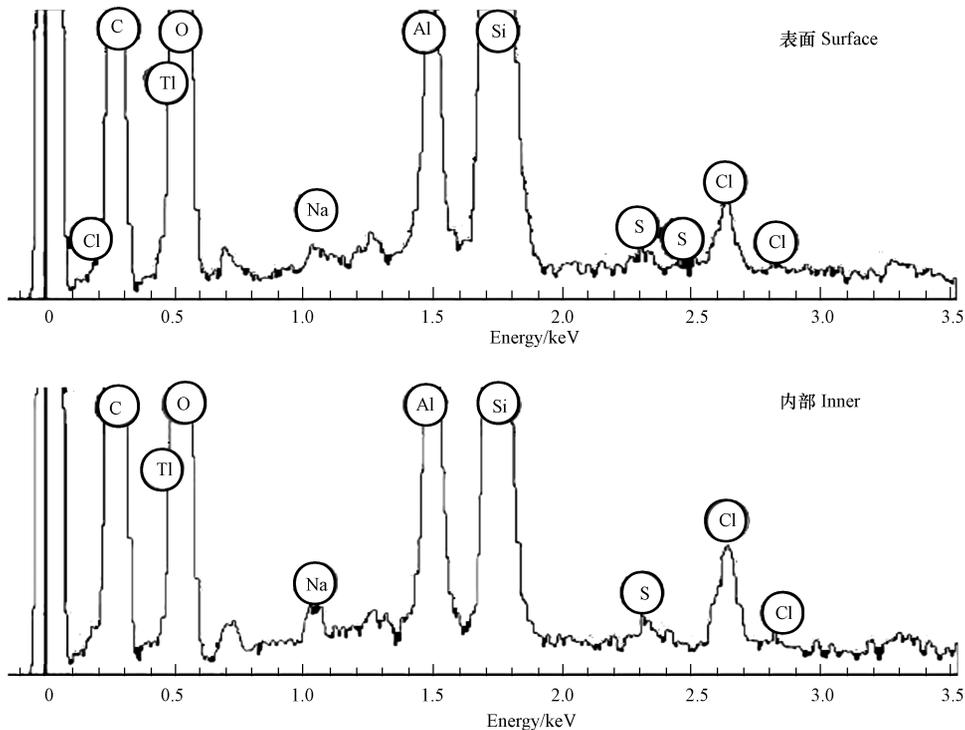


图 6 固定化 SRB 和能谱图

Fig.6 EDS diagram of immobilized SRB

## 2.7 XRD 测定

固定化小球处理含铊废水前后小球 X 射线粉末衍射图如图 7 所示。

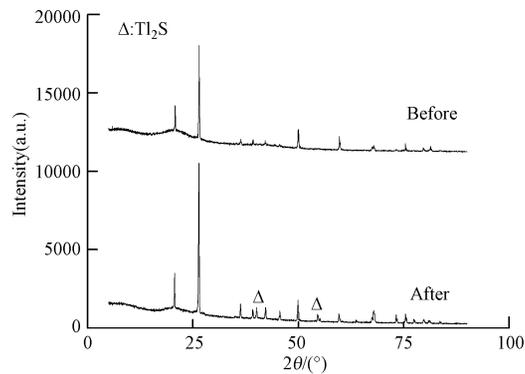


图 7 小球处理废水前后 XRD 衍射

Fig.7 X-ray diffraction patterns of beads before and after processing wastewater

为进一步证实小球中含铊沉淀物形式,通过 X 射线衍射(X-ray power diffraction, XRD)对包埋小球内沉淀物进行半定量分析.通过对比处理含铊废水前后小球 X 射线衍射图,发现处理废水后小球含有硫化铊沉淀,这和 2.4 节猜想的沉淀类型一致,说明硫化铊沉淀形式在铊去除过程中发挥了重要作用.小球中铊主要形态为硫化铊,证实固定化小球利用硫酸盐还原物与溶液中铊( $I$ )结合形成硫化铊沉淀.

## 3 结论 (Conclusion)

为探讨固定化 SRB 处理含铊酸性废水的影响及其解毒机制,利用聚乙烯醇和海藻酸钠包埋制备固定化 SRB 小球处理含铊酸性废水,得出研究结论如下:

(1) SRB 固定化后脱氢酶活性由固定化前的  $19.78 \mu\text{L}(\text{H}^+) \cdot \text{g}^{-1}$  降低到  $13.88 \mu\text{L}(\text{H}^+) \cdot \text{g}^{-1}$ ,硫酸盐还原菌活性有所降低.

(2) 固定化 SRB 处理含铊废水最佳 pH 值为 6,处理量在 720 min 达到饱和,当含铊废水中硫酸根离子浓度达到  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 25% 和 35% 菌液包埋量的最大处理量分别为  $214.32 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $253.94 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ .

(3) SEM-EDS 和 XRD 证实固定化小球处理含铊废水后,小球内存在硫化铊,固定化 SRB 通过还原硫酸根离子形成硫化铊沉淀去除废水中铊污染.

致谢:本实验样品测试在广州大学分析测试中心帮助与指导下完成,在此表示感谢.

### 参考文献 (References)

- [ 1 ] XIAO T, GUHA J, BOYLE D, et al. Naturally occurring thallium: A hidden geoenvironmental health hazard? [J]. *Environ Int*, 2004, 30: 501-507
- [ 2 ] JOHN PETER A L, VIRARAGHAVAN T. Thallium: A review of public health and environmental concerns [J]. *Environment International*, 2005, 31:493-501.
- [ 3 ] YANG C X, CHEN Y H, PENG P A, et al. Distribution of natural and anthropogenic thallium in highly weathered soils [J]. *The Science of Total Environment*, 2005, 341:159-172.
- [ 4 ] Twidwell L G, Williams-Beam C. Potential technologies for removing thallium from mine and process wastewater: An annotation of the literature[J]. *Euro-Miner Process Environ Prot* 2002, 2: 1-10.
- [ 5 ] 刘敬勇,常向阳,涂湘林.重金属铊污染及防治对策研究进展[J]. *土壤*, 2007, 39(4):528-535.  
LIU J Y, CHANG X Y, TU X L. Thallium pollution and its countermeasures[J]. *Soils*, 2007, 39(4):528-535 (in Chinese).
- [ 6 ] ZHANG L, HUANG T, ZHANG M, et al. Studies on the capability and behavior of adsorption of thallium on nano- $\text{Al}_2\text{O}_3$  [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 157:352-357.
- [ 7 ] 孙嘉龙,肖唐付,周连碧,等.铊矿山废水的微生物絮凝处理研究[J]. *地球与环境*, 2010, 38(3):383-385.  
SUN J L, XIAO T F, ZHOU L B, et al. Biofloculant treatment of mine water from tl mineralized area[J]. *Earth and Environment*, 2010, 38(3):383-385 (in Chinese).

- [ 8 ] QIN Z, CHEN Y, MING Y, et al. Enhanced bioremediation of heavy metal from effluent by sulfate-reducing bacteria with copper-iron bimetallic particles support[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 136(5):413-417.
- [ 9 ] 陈炜婷,张鸿郭,陈永亨,等. pH、温度及初始铊浓度对硫酸盐还原菌脱铊的影响[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(10):4105-4109.  
CHEN W T, ZHANG H G, CHEN Y H, et al. Effect of pH, temperature and initial concentration on thallium removal by sulfate-reducing bacteria [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(10):4105-4109(in Chinese).
- [ 10 ] WANNARAK N, PARICHAT N, ONRUTHAL P. Diesel oil removal by immobilized *Pseudoxanthomonas* sp. RN402 [J]. *Biodegradation*, 2013, 24(3):386-397.
- [ 11 ] 俞毓馨,吴国庆,孟宪庭,等. *环境工程微生物检验手册* [M]. 北京:中国环境科学出版社,1990:163-165.  
YU Y X, WU G Q, MENG X T, et al. *Environmental engineering microbiology examination handbook* [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1990:163-165(in Chinese).
- [ 12 ] MANSOUR M, OSSMAN M, FARAG H. Removal of Cd ( II ) ion from waste water by adsorption onto polyaniline coated on sawdust [J]. *Desalination*, 2011, 272(1):301-305.
- [ 13 ] PARK Y J, KO J J, YUN S L, et al. Enhancement of bioremediation by *Ralstonia* sp. HM-1 in sediment polluted by Cd and Zn [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(16):7458-7463.
- [ 14 ] XU X Q, LI X M, YANG L, et al. Biosorption of lead and copper ions by penicillium simplicissimum immobilized on a loofa sponge immobilized biomass [J]. *Acta Scientiae Circumstantia*, 2008, 28(1):95-100.
- [ 15 ] CAO J Y, ZHANG G J, MAO Z S, et al. Influence of  $Mg^{2+}$  on the growth and activity of sulfate reducing bacteria [J]. *Hydrometallurgy*, 2009, 95(1-2):127-134.
- [ 16 ] ZAGURY G J, KULNIEKS V I, NECULITA C M. Characterization and reactivity assessment of organic substrates for sulphate-reducing bacteria in acid -mine drainage treatment [J]. *Chemosphere*, 2006, 64(6):944-954.
- [ 17 ] MIN X B, CHAI L Y, ZHANG C F, et al. Control of metal toxicity, effluent COD and regeneration of gel beads by immobilized sulfate-reducing bacteria [J]. *Chemosphere*, 2008, 72(7):1086-1091.
- [ 18 ] FANG D, ZHANG R, LIU X, et al. Selective recovery of soil-borne metal contaminants through integrated solubilization by biogenic sulfuric acid and precipitation by biogenic sulfide [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 219-220(12):119-126.
- [ 19 ] CHEN J H, NI J C, LIU Q L, et al. Adsorption behavior of Cd ( II ) ions on humic acid-immobilized sodium alginate and hydroxyl ethyl cellulose blending porous composite membrane adsorption [J]. *Desalination*, 2012, 285(31):54-61.