

生物脱硫中氧化亚铁硫杆菌固定化技术的研究

李志章^{1,3} 羊依金²

(昆明理工大学国土资源工程学院 昆明 650093)¹ (成都信息工程学院 成都 610041)²

(昆明冶金高等专科学校 昆明 650033)³

摘要: 在生物脱硫过程中, 以焦炭为填料作为固定化载体, 进行了氧化亚铁硫杆菌的固定化技术研究。在初始 pH2、温度为 30℃ 左右、通气量 0.5 m³/h、喷淋量 1.0 L/h 条件下, 挂膜后只需 12h, Fe²⁺ 氧化率可达 95.28%, 其 Fe²⁺ 平均氧化速率是游离细胞时的 8 倍。氧化亚铁硫杆菌固定化细胞经长期低 pH 值驯化后, 仍能保持对 Fe²⁺ 具有较高的氧化活性; 只需 20h Fe²⁺ 氧化率就达 95.05%, Fe²⁺ 平均氧化速率达 0.38 g/(L/h)。

关键词: 氧化亚铁硫杆菌, 生物脱硫, 固定化细胞, 低 pH 值

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 06-0057-05

Study on the Immobilization Technique of *Thiobacillus ferrooxidans* in the Process of Biodesulfurization

Li Zhi-Zhang^{1,3} YANG Yi-Jin²

(School of Territory and Resources Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093)¹

(Chengdu Information Engineering College, Chengdu 640041)²

(Kunming Metallurgy College, Kunming 650033)³

Abstract: The coke was used as support particles for the *Thiobacillus ferrooxidans* immobilization in the process of biodesulfurization. 95.28% of ferrous ions was oxidized by immobilized cells after the biofilm developing was within 12 hours under the condition of initial pH 2, temperature is 30℃, aeration for 0.5 m³/h and spray liquid flows for 1.0 L/h, and the average ferrous ions oxidation rate of immobilized cells was eight times that of free cells. After long-term low pH adaptation, the immobilized cells keep high oxidation vitality of ferrous ions. The conversion rate of ferrous ions was 95.05% after 20 hours, and the average oxidation rate of ferrous ions was 0.38 g/(L/h).

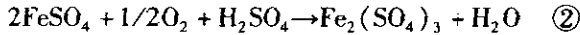
Key words: *Thiobacillus ferrooxidans*, Biodesulfurization, Immobilized cells, Low pH

石油化工、煤化工、造纸、制药、污水及城市垃圾处理等过程都会产生大量的 H₂S 气体。由于它具有毒性、腐蚀性和特有的臭鸡蛋味, 因此各国均制定了非常严格的排放标准^[1]。国内外处理 H₂S 方法很多, 基本上可分为吸收法、吸附法、氧化法、分解法和生物法^[2]。

氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*, 简称 T. f) 系短杆状, 嗜酸性化能自养菌, 专性好氧, 最佳生长 pH 值为 2.0 ~ 2.5, 最佳生长温度 28℃ ~ 35℃。氧化亚铁硫杆菌脱除 H₂S 的原理是利用 Fe³⁺ 的间接氧化还原作用, 见式①和②。其反应过程分为两步, 在化学反应器内 H₂S 被 Fe³⁺ 氧化生成单质 S, 同时 Fe³⁺ 又被还原成 Fe²⁺; 在生物反应器内氧化亚铁硫杆菌又将 Fe²⁺ 氧化成 Fe³⁺ 从而循环利用。

通讯作者 Tel: 0871-6610087, E-mail: lzzblake@163.com

收稿日期: 2006-02-15, 修回日期: 2006-04-25

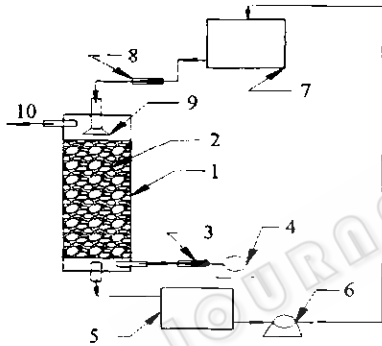


由于该法脱硫效率高、在常温常压下操作、脱硫过程中无废料排出，且生成的单质S还可被再利用，因此被认为是最有发展前途的生物脱硫方法之一。然而该法也存在着细菌氧化 Fe^{2+} 的速度慢这一制约其产业化应用的关键问题，而采用细胞固定化技术可大大提高细菌氧化 Fe^{2+} 的速度。氧化亚铁硫杆菌固定化方法主要采用吸附法和包埋法，而以吸附法的效果最理想，其原因主要是常用包埋材料在氧化亚铁硫杆菌生长的极端pH值范围内不稳定。有报道以聚胺脂树脂泡沫^[3]、砂粒与硅石^[4]等为填料的吸附法，和以海藻酸钙^[5]、角叉菜胶^[6]与聚乙烯醇等为填料的包埋法都能明显提高氧化亚硫杆菌的氧化活性。作者以焦炭为填料，采用吸附法构建了氧化亚铁硫杆菌的固定化生物反应器，运行结果表明其大大提高了 Fe^{2+} 的氧化速率且性能稳定。

1 材料与方法

1.1 实验菌种与培养基

实验菌种取自云南省某硫化矿坑酸性废水，经驯化、分离而得。实验所用培养基为9K培养基。



1.2 实验装置

实验装置示意图如图1，固定化细胞生物反应器填料塔1为有机玻璃制成，其内径为5cm、高100cm、填料层高90cm；气液逆流操作，新鲜空气通过气泵4和气体流量计3从下面鼓入，而循环液体经高位槽7和液体流量计8从喷淋头9喷出；另外通过对低位槽5和高位槽7的加热来控制生物反应器的操作温度为30℃左右。

实验所用填料焦炭的主要性能为：密度0.65kg/m³，比表面积240m²/m³，实验所用粒径为5mm~10mm。

1.3 生物反应器的挂膜

填料塔的挂膜采用快速排泥挂膜法，将填料焦炭放入已经培养好了含有大量氧化亚铁硫杆菌的培养液中浸泡48h，进行接种。然后取出加入填料塔内，通入新鲜空气，加入新鲜9K培养基，控制操作条件为：循环液体喷淋量1.0L/h，气体流量0.5m³/h，pH=2，温度30℃左右；等到9K培养基中 Fe^{2+} 基本氧化成 Fe^{3+} 时更换培养基，如此循环直到 Fe^{2+} 的氧化速率基本稳定且同时观测到填料表面生长出薄薄一层棕红色生物膜时表示挂膜已经完成。

1.4 分析方法与计算方法

Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的测定：邻菲罗林分光光度法检测，721型分光光度计。

Fe^{2+} 氧化率的计算式为： $A = (C_0 - C_t) / C_0 \times 100\%$ ，式中 C_0 为 Fe^{2+} 的初始浓度(g/L)， C_t 为t时 Fe^{2+} 的浓度(g/L)，A为 Fe^{2+} 的氧化率(%)。

2 实验结果与分析

2.1 游离细胞氧化 Fe^{2+} 的实验研究

首先用 250mL 锥形瓶按 10% 的比例接种 10mL 菌液到 90mL 的 9K 培养基中, 在不同温度、不同初始 pH 值、不同 Fe^{2+} 初始浓度条件下放入回转式恒温摇瓶柜进行培养实验, 摇瓶柜转速为 120r/min; 实验结果表明: 氧化亚铁硫杆菌的最佳生长温度为 30℃ 左右, 最佳初始 pH 值为 2.0 ~ 2.5, 最佳 Fe^{2+} 初始浓度为 8g/L 左右, 这与 9K 培养基中 Fe^{2+} 浓度基本一致。

然后在 1,000mL 烧杯中加入一定量的 9K 培养基, 并按 10% 的比例接种。控制反应条件为初始 pH 2、温度 30℃ 左右, 在不通气与充分通入新鲜空气的条件下进行实验研究, 实验结果如图 2。从图 2 中可以看出, 在不通气的条件下经过 96h, Fe^{2+} 氧化率仅为 20.12%; 而此时在通气条件下 Fe^{2+} 氧化率可达 95.44%, 说明氧化亚铁硫杆菌为典型的好氧菌, 供氧量的大小对其氧化 Fe^{2+} 起着非常重要的作用。

2.2 固定化细胞氧化 Fe^{2+} 的实验研究

2.2.1 在不同空气通气量条件下的实验研究: 取 9K 培养基 2L, 控制反应条件为: 初始 pH 2、温度为 30℃ 左右, 循环液体喷淋量为 1.0L/h, 改变通气量从 0.10m³/h ~ 0.65m³/h, 其实验结果如图 3。从图 3 中可以看出随着通气量的增大, 固定化细胞氧化 Fe^{2+} 的速度明显加快; 当通气量达 0.5m³/h 时, 只需要 12h Fe^{2+} 氧化率就可以达到 95.28%, 14h 高达 97.78%。但再增大进气量到 0.65m³/h 时; Fe^{2+} 氧化率不但不会提高, 反而还会有所下降。其原因主要是通气量达到一定程度时即可满足氧化亚铁硫杆菌对氧的需求; 此时再增大通气量反而会产生气体短路, 以及气量大对生物膜的冲刷作用而导致生物膜易于脱落, 不利于细胞的固定化。

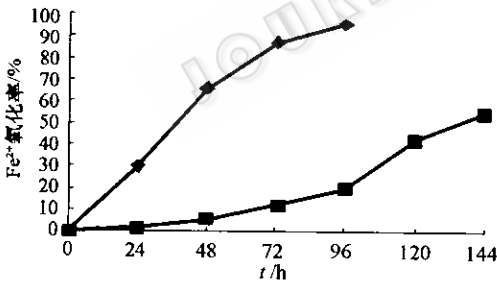


图2 游离细胞氧化 Fe^{2+} 的结果

◆ 充气, ■ 不充气

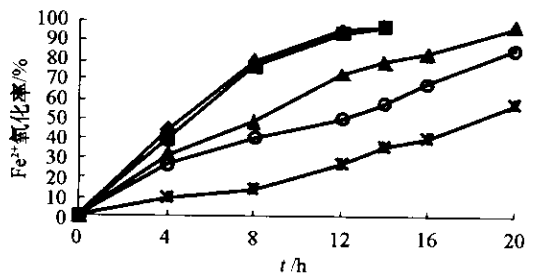


图3 不同通气量下 Fe^{2+} 氧化率的变化

◆ 0.5m³/h, ■ 0.65m³/h, ▲ 0.35m³/h,
○ 0.25m³/h, * 0.15m³/h

2.2.2 在不同循环液喷淋量下的实验研究: 取 9K 培养基 2L, 控制反应条件为: 初始 pH=2、温度为 30℃ 左右, 通气量为 0.5m³/h, 改变循环液喷淋量从 0.5 ~ 2.0L/h, 其实验结果如图 4。从图 4 中可以看出喷淋量在 1.0L/h 时, Fe^{2+} 的氧化速率最快, 12h 达 95.35%, 14h 高达 98.19%; 继续提高喷淋量到 2.0L/h 时, Fe^{2+} 的氧化速率反而会有所下降, 其原因主要是液体的停留时间不够, 另外增大喷淋量也会加大循环液泵的负荷, 因此确定循环液喷淋量为 1.0L/h。

2.2.3 低 pH 值驯化后固定化细胞的实验研究: 由于在 pH ≥ 2 时氧化亚铁硫杆菌氧化

Fe²⁺ 容易产生黄钾铁矾 [KFe₃(SO₄)₂(OH)₆] 沉淀^[7], 从而导致填料塔堵塞; 因此在 pH < 2 条件下逐步降低 pH 值经长期驯化后, 进行了固定化细胞的实验研究。取 9K 培养基 2L, 控制反应条件为: 初始 pH 1.6、温度 30℃ 左右、通气量 0.5m³/h、循环液喷淋量 1.0L/h, pH 值对 Fe²⁺ 的氧化率的影响见图 5。从图 5 中看出经长期驯化后在初始 pH 1.6 时, 氧化亚铁硫杆菌固定化细胞仍然保持较高的 Fe²⁺ 的氧化活性, 只需要 20h, Fe²⁺ 的氧化率就可达到 95.05%; pH 值的变化规律是先上升后下降, 最后稳定在 1.73, 这也与很多研究者的结果基本一致^[8], 其原因主要是氧化亚铁硫杆菌在氧化 Fe²⁺ 的过程中先消耗酸而后由于 Fe³⁺ 的水解又产生酸。

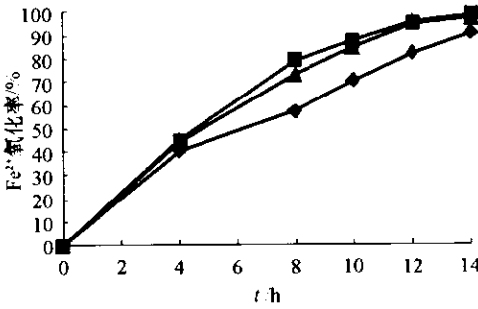


图 4 不同喷淋量下 Fe²⁺ 氧化率的变化
 ◆ 0.5L/h, ■ 1.0L/h, ▲ 2.0L/h

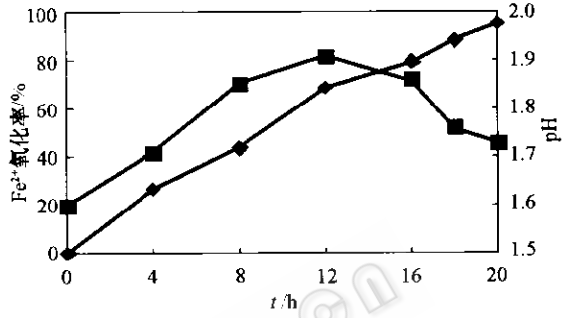


图 5 pH 1.6 条件下 Fe²⁺ 氧化率和 pH 值的变化
 ◆ Fe²⁺ 氧化率, ■ pH 值

2.3 游离细胞与固定化细胞实验结果比较

游离细胞与固定化细胞氧化 Fe²⁺ 的实验结果比较如表 1。从表 1 中看出在相同 pH 值和温度、初始 Fe²⁺ 浓度都为 8.0g/L 左右相差不大的条件下, 要达到 95% 以上 Fe²⁺ 的氧化率, 游离细胞需要 96h, 其 Fe²⁺ 平均氧化速率仅为 0.08g/(L/h); 而固定化细胞只需 12h, 其 Fe²⁺ 平均氧化速率高达 0.64 g/(L/h), 固定化细胞 Fe²⁺ 平均氧化速率将近是游离细胞的 8 倍, 可见氧化亚铁硫杆菌采用固定化技术是可大大提高其氧化 Fe²⁺ 的速率。另外固定化细胞在低 pH 值下经过长期驯化后仍能保持较高 Fe²⁺ 的氧化活性, 在初始 pH 1.6 时达到 95% 以上 Fe²⁺ 的氧化率只需 20h, 其 Fe²⁺ 平均氧化速率也高达 0.38 g/L/h。

表 1 游离细胞与固定化细胞氧化 Fe²⁺ 的实验结果比较

实验名称	培养时间 (h)	Fe ²⁺ 氧化率 (%)	Fe ²⁺ 平均氧化速率 (g/(L/h))	备注
游离细胞法	96	95.44	0.08	初始 pH 2, 初始 Fe ²⁺ 浓度 8.15g/L, 通气
固定化细胞法	12	95.28	0.64	初始 pH 2, 初始 Fe ²⁺ 浓度 8.06g/L, 通气量 0.5m ³ /h, 喷淋量 1.0L/h
固定化细胞低 pH 驯化法	20	95.05	0.38	初始 pH 1.6, 初始 Fe ²⁺ 浓度 8.01g/L, 通气量 0.5m ³ /h, 喷淋量 1.0L/h

3 结论

以焦碳为填料采用吸附法进行氧化亚铁硫杆菌细胞的固定化比游离细胞法明显提高了对 Fe²⁺ 的氧化速度, 固定化细胞法在通气量 0.5m³/h、循环液喷淋量 1.0L/h 条件

下, 要达到95%以上 Fe^{2+} 氧化率只需12h; 而游离细胞法则需96h, 固定化细胞法 Fe^{2+} 平均氧化速率将近是游离细胞法的8倍。

固定化细胞在低pH值下经过长期驯化后仍能保持较高 Fe^{2+} 的氧化活性, 在pH 1.6其它条件相同的情况下, 要达到95%以上 Fe^{2+} 的氧化率也只需20h, 其 Fe^{2+} 平均氧化速率也高达0.38 g/(L/h)。

参 考 文 献

- [1] 赵新巧, 耿冰, 邸进申. 精细石油化工, 2003, 3: 29~32.
- [2] 王学谦, 宁平. 环境污染治理技术与设备, 2001, 2(4): 77~85.
- [3] Nemati M, Webb C. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1999, 74(6): 562-570.
- [4] Wood T A, Murray K R, Burgess J G. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 56(3~4): 560~566.
- [5] 宣群, 肖文彦, 张玲琪, 等. 云南大学学报, 2003, 25(2): 157~160.
- [6] Wakao N, Endo K, Mino K, et al. Journal of General and Applied Microbiology, 1994, 40(4): 349-358.
- [7] 朱长见. 高校地质学报, 2005, 11(4): 234~238.
- [8] 孙先锋, 郭爱莲, 朱宏莉, 等. 西北大学学报(自然科学版), 2000, 30(2): 143~146.