

# 黄原酸盐高效降解菌的降解特性研究

舒生辉<sup>1</sup>, 孙水裕<sup>2</sup>

(1 广东建设职业技术学院, 广东广州, 510440;

2 广东工业大学环境科学与工程学院, 广东广州 510006)

**摘要:**从矿山废水富集分离再经紫外诱变筛选出突变菌株 2#, 此菌株降解黄原酸盐的最佳条件为: 在 pH 为 10, 温度为 30 °C, 振荡速率 120 r/min, 有光照, 接种量为 10% 时能高效降解黄药, 降解率可达 78.1%, COD<sub>Cr</sub> 去除率达到 66.2%。研究发现 Pb<sup>2+</sup> 和 Zn<sup>2+</sup> 对菌株生长和降解黄药均有抑制作用, 前者的抑制作用更强。当加入 0.2 g/L 的葡萄糖时可大大提高菌对黄原酸盐的降解率。

**关键词:**黄原酸盐; 浮选废水; 生物技术; 突变菌株; 生物降解。

中图分类号: X703

文献标识码: A

文章编号: 1006-8759(2013)02-0031-05

## BIODEGRADATES CHARACTERISTICS OF XANTHATES – DEGRADING STRAIN OF BACILLUS

SHU Sheng-hui<sup>1</sup>, SUN Shui-yu<sup>2</sup>

(1. *Guangdong Construction Vocational Technology Institute, Guangzhou 510450, China*; 2. *Environmental Science and Engineering School, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China*)

**Abstract:** Bacterial strain 2# was obtained from mining wastewater xanthates-degrading strain mutated by the technique of UV-induced, the examination of degradation characteristics of strain 2# were conducted in the further studies. The result showed that the strain 2# can highly degrade xanthates and the biodegradation rates were above 78.1%. In pH is 10.0 definite values, The optimum temperature and shaking speed of xanthate degrading are 30°C and 120 r/min, under the illumination and the bacterial consortium is 10% (volume percent). and when the concentration of xanthate is 100 mg/L, 66.2% of COD<sub>Cr</sub> were removed, 82.1% of xanthate were removed. The results showed that the ions of Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> both restrain the biodegradation on xanthate, and the latter stronger. Adding the glucose at the concentration of 0.2 g/L could greatly enhance degrading efficiency.

**Keywords:** Xanthates; Flotation wastewater; Biological technology; Degradation strain; Ultraviolet ray mutation; Mutant.

黄原酸盐俗称黄药(ROCSSNa), 是有色金属硫化矿物(如 PbS、ZnS、FeS<sub>2</sub>)浮选生产中最为有效的捕收剂。黄药具有恶臭, 嗅觉值为 0.05 mg/L,

即使浮选废水中残存量极少, 也可使水质发臭, 并严重影响附近水域的生态平衡, 当 C<sub>ROCSSMe</sub> = 5 mg/L, 在 3 d 内可杀死大部分鱼类<sup>[1]</sup>。黄药对人畜的危害主要表现在伤及神经系统和肝脏器官, 对造血系统也有不良影响<sup>[2]</sup>。目前国内该类废水中黄药的净化处理所采用的都是物理、化学氧化方法, 用生物

收稿日期: 2012-10-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(50274034)

第一作者简介: 舒生辉(1980.11-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为水污染控制技术。

法降解黄药仅国外有少量报道,大量试验表明黄药能被生物降解法有效地破坏<sup>[3-6]</sup>。我们课题组的张萍做了关于“一株黄原酸盐生物降解菌的特性研究”,筛选出一株黄原酸盐降解菌,经鉴定为铜绿假单胞菌,实验表明:pH=8.0 该菌株降解模拟废水中黄药的效率达 95.7%,COD<sub>Cr</sub> 的去除率达到 84.7%<sup>[7]</sup>,而南京某矿山锌精矿溢流废水的 pH 高达 11.36,因此选育出能降解高 pH 黄药废水的优势菌株有重要的实践意义。在前期的研究中,以黄药为目标污染物,通过筛选纯化南京某矿山锌精矿溢流废水的微生物得到菌株 1#,再经紫外诱变技术诱变菌株 1# 得到了高 pH 下对黄药有特殊降解功能的变异菌株 2#<sup>[8]</sup>,以菌株 2# 作为降解菌,对黄药的降解特性进行了研究。

## 1 试验部分

### 1.1 菌种

南京某矿山锌精矿溢流废水经驯化筛选得到的菌株 1# 和经紫外诱变技术获得的变异菌种 2#。

### 1.2 仪器设备

TU2100-紫外分光光度计;XJ- 消解装置;721 分光光度计;SPX-150BS- 生化培养箱;冰箱;超净操作台;高压灭菌锅;80-2B 电动离心机;pH 计;摇床。

### 1.3 培养基

降解菌培养基:NaHCO<sub>3</sub>8.0g, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>32.0g,

MgSO<sub>4</sub> 0.06g, CaCl<sub>2</sub>1mg,

NH<sub>4</sub>Cl1.0g, 黄药 100mg,pH

值约为 10.0,葡萄糖 0.2g,定容至 1 升;固体培养基:牛肉浸膏 5 g/L,蛋白胨 10 g/L,氯化钠 5 g/L,琼脂 20 g/L, pH=10.0;富集培养基:牛肉浸膏 5 g/L,蛋白胨 10 g/L,氯化钠 5 g/L, pH=10.0;以上培养基和试剂在使用前均需经 121 °C、0.1 Mpa 下灭菌 20 min。

### 1.4 菌悬液的制备

将纯化的菌株 1# 和变异菌种 2# 分开接种至富集培养基中培养 1 d,培养液经离心及清洗,制备成一定浓度(约 0.5 g 湿菌体/mL 菌悬液)作为实验用菌液,将其置于 4 °C 冰箱保存。把此种培养液作为降解试验的接种菌液,降解特性试验中菌体的接种量为 10%(体积比)。

### 1.5 黄药降解特性试验

在菌株的紫外诱变过程中 pH 为 11.0 以上时

诱变不出菌株,pH=10.0 时诱变出优势菌株 2#,因而在整个降解特性实验中,pH 值取定值 10.0,黄药初始浓度为 100 mg/L。以温度、振荡速率、太阳光照、重金属离子、外加碳源、接种量作为影响因素<sup>[9-19]</sup>,试验时以出发菌株 1# 作为对比测定黄药降解率。

### 1.6 黄药降解的分析项目和测定方法

黄药浓度:采用紫外分光光度法,在最大吸收峰波长为 301 nm 处测定其吸光度。培养基经 4000 r/min 高速离心 30 min,取上清液测定。若黄药浓度超过 25 mg/L 均稀释后测定。

COD<sub>Cr</sub>:采用 COD<sub>Cr</sub> 快速测定法,培养基经 4000 r/min 高速离心 30 min,取上清液测定。

## 2 结果讨论

### 2.1 温度的影响

接种量为 10%(体积比)、120 r/min,将菌株 1# 和菌株 2# 分别接种于温度 20 °C、30 °C、35 °C、40 °C 和 45 °C 黄药含量 100 mg/L 的黄药降解菌培养基中,摇床培养 3 d,测定黄药降解率(图 1 所示)。结果表明:菌株 2# 生长的温度范围较宽,在 25 °C~45 °C 之间,菌株对黄药均有一定的去除效果,其中 30 °C 最佳,为 70.4 %,说明菌株 2# 是中温菌。温度越高对照瓶中(菌株 1#)的黄药热分解越快。2# 菌株降解黄药溶液最佳温度为 30 °C。

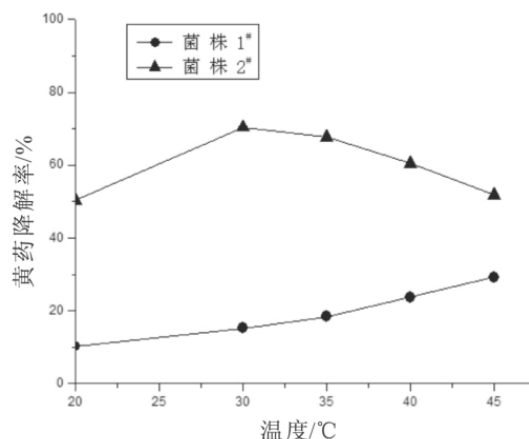


图 1 温度对黄药降解率的影响

### 2.2 通气量(振荡速率)的影响

温度为 30 °C、接种量为 10%(体积比)的条件下,将菌株 1# 和菌株 2# 接种于振荡速率分别为 0、45 r/min、90 r/min、120 r/min、150 r/min、180 r/min 黄药含量为 100 mg/L 的黄药降解菌培养基

中,摇床培养 3 d,测定黄药降解率(图 2 所示)。结果表明,随着摇床转速的加快,菌株 2<sup>#</sup> 的黄药降解率越大,在 180 r/min 时黄药降解 3 d 后降解率可达 80.2%,但是将培养瓶静置时菌株 2<sup>#</sup> 对黄药的降解率也达到了 49.2%,说明菌株 2<sup>#</sup> 为好氧菌。另外,从图中可以看出:120 r/min 时菌株的降解率达到了 71.32%,继续加大转速,黄药降解率提高不大,但同时增大了能耗。因此,结合黄药的降解率及实际应用的可行性,确定 120 r/min 是菌株 2<sup>#</sup> 降解黄药的最佳振荡速率。

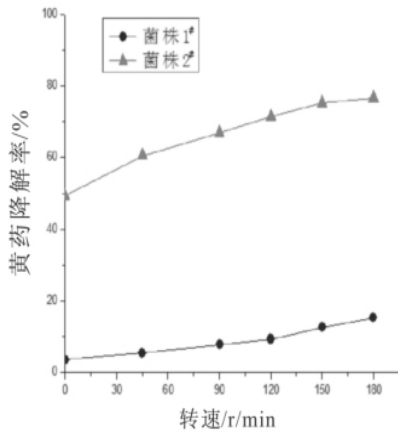
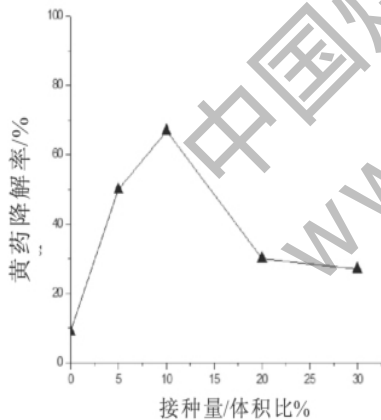


图 2 振荡速率对黄药降解率的影响

图 3 接种量对黄药溶液 COD<sub>cr</sub> 去除率的影响

### 2.3 接种量的影响

分别按 5%、10%、20%、30% 的体积比将 2<sup>#</sup> 菌接种于含黄药 100 mg/L 的黄药降解菌培养基中 30 ℃、120 /min, 摇床培养 3 d 后取样测定黄药溶液的 COD<sub>cr</sub> 去除率,结果见图 3 所示。结果表明,当接种 10% 的体积比菌液时,COD<sub>cr</sub> 去除率达到最大 70%,处理效果较好。接种量以接种微生物悬浊液的体积/培养基总体积来计算,当接种量小于 10% 时,随接种量的增加生物量也随之提高。当接种量

大于 10% 时,提高接种量反而不利于微生物的生长。过高的接种量使微生物对能源(黄药)的竞争加剧,不利于微生物量增长,同时很有可能是微生物的延迟效应所致。因而,确定最佳接种量为 10%。

### 2.4 太阳光照的影响

将菌株 2<sup>#</sup> 在振荡速度为 120 r/min、温度为 30 ℃、接种量为 10%、黄药 100 mg/L 的黄药降解菌培养基中,分别在有自然太阳光照与无光照情况下摇床培养 3 d,测定黄药降解率(图 4 所示)。结果表明:有太阳光照(有太阳的晴朗的夏天,摇床的盖子敞开)条件下,黄药降解率为 75.1%,无光照(阴天,摇床的盖子盖着)条件下黄药降解率为 60.2%,因而,有太阳光照有利于黄药的降解。这是由于有太阳光照废水温度稍有提高(30℃左右)的缘故,也可能是紫外线的照射有利于菌株的正向突变,从而提高降解率。

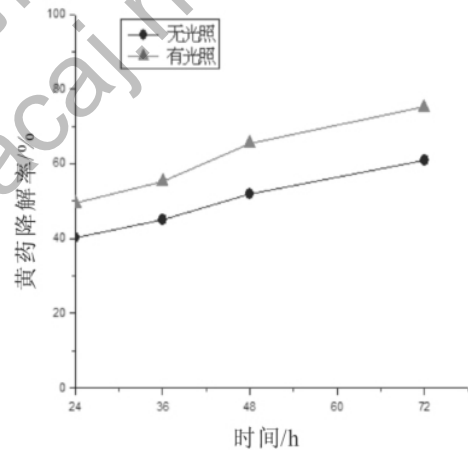


图 4 太阳光照对黄药降解率的影响

### 2.5 重金属离子的影响

在含有 100 mg/L 的黄药的降解菌培养基(pH=10.0)中,添加 Pb<sup>2+</sup>和 Zn<sup>2+</sup>(其浓度均为 5 mg/L),按接种量为 10%接入菌株 2<sup>#</sup>,温度 30 ℃、120 r/min 摇床培养 3 d 后取样测定黄药降解率,结果见图 5。结果表明:重金属离子抑制黄药的降解,Pb 的抑制作用比 Zn 要大,说明 Pb 的毒性比 Zn 要强。这可能是由于 Pb 和 Zn 均是两性物质,在碱性条件下(pH=10.0)生成 Pb(OH)<sub>2</sub> 和 Zn(OH)<sub>2</sub> 沉淀物质所致。同时也可能是 Pb 和 Zn 和废水中的黄药生成络合物所致。

### 2.6 葡萄糖浓度的影响

黄药初始浓度为 100 mg/L、pH=10、振荡速度为 120 r/min、接种量为 10%、30 ℃、有太阳光照的

条件下,分别添加 0、0.2、0.5、1.0 g/L 的葡萄糖,摇床培养 3 d 后测定溶液的降解率。从图 6 可以看出,菌株 2# 能利用黄药作为生长的唯一碳源,适量的外在碳源对菌株的生长有很大的促进作用,黄药的降解率随外在碳源(葡萄糖)添加量的增加而增大。但培养基中不添加葡萄糖时,即黄药作为菌株生长的唯一碳源和能源,菌株对黄药的降解率明显小于添加了外在碳源,降解率只有 36.8%,而加了 0.2 g/L 葡萄糖,降解率升至 82.1%,继续加大葡萄糖量,虽然黄药降解率仍上升至 84.2%,但这将意味着成本的增加。结合黄药的降解率及实际应用的可行性,确定加入 0.2 g/L 葡萄糖量为合适的加入量。从以上的分析可以说明黄药作为难降解有机物,并不是菌株 2# 新陈代谢理想的碳源。此种难降解化合物在被降解之前,往往需要利用一些简单的初级碳源(葡萄糖)生长,并产生相应的诱导酶,从而使黄药得到降解。

### 2.7 黄药降解途径的初步探讨

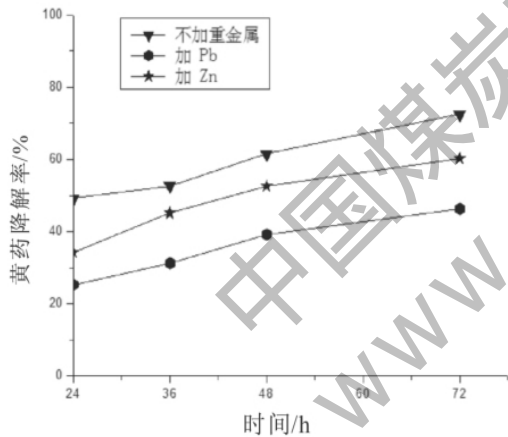


图 5 重金属离子对黄药降解率的影响

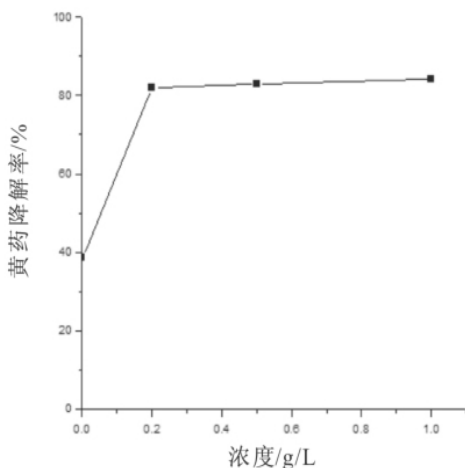
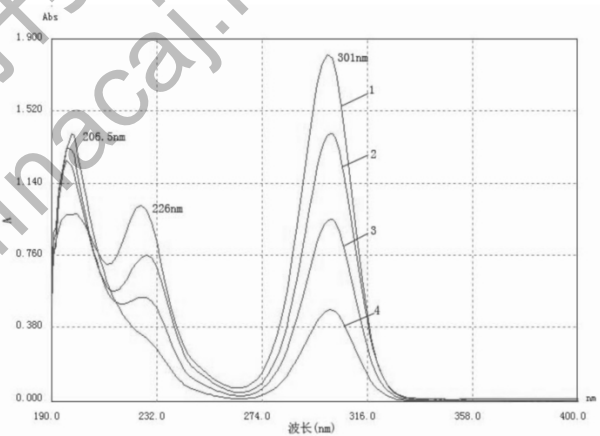


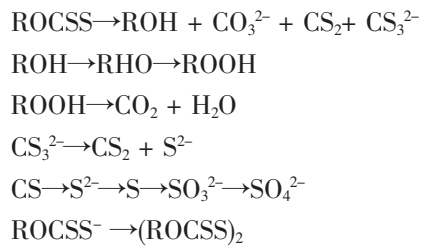
图 6 葡萄糖浓度对黄药降解率的影响

图 7 是黄药浓度为 100 mg/L 振荡培养隔一定时间的紫外扫描谱图。从图中可以看出,随着降解时间的增加,黄药的特征吸收峰不断降低,3 d 后为刚开始时的 22%左右,即黄药的降解率最终为 78%左右。黄药经过降解后,在 206.5 nm 处有强吸收峰,随着时间的延长,黄药吸收峰下降了,而 CS<sub>2</sub> 的吸收峰增加了,但增加的程度不大,表明黄药被降解成 CS<sub>2</sub>, 而 CS<sub>2</sub> 亦可能被菌株 2# 利用或自行降解。此外,在加菌的培养瓶中,培养一段时间后,出现了少量的黄色油状颗粒,用正己烷萃取,证明是双黄药。COD<sub>Cr</sub> 的去除率为 66.2%,对比黄药降解率及其 COD<sub>Cr</sub> 的去除率可知,菌株基本可以将黄药降解完全,原因推测为:黄药降解产生的 CS<sub>2</sub> 可能继续被菌株利用,或在碱性条件下转化为菌株可以利用的物质,从而使得 COD<sub>Cr</sub> 去除率较高。由此结合黄药在碱性条件下的物化特性推测黄药的生物降解的可能途径如下:



注: 1-0d; 2-1d; 3-2d; 4-3d

图 7 不同时间下降解黄药的紫外吸收谱图



### 3 结论

1.2# 菌株降解黄药的最佳试验条件为: 当黄药初始浓度为 100 mg/L、pH=10.0、温度为 30 ℃、振荡速率为 120 r/min、有太阳光照、接种量为 10 % (体积比)、葡萄糖浓度为 0.2 g/L 的条件下,黄



药降解率达到 78.1%，废水中  $\text{COD}_C$  去除率达到 66.2%。

2. 研究发现  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对菌株生长和降解黄药的均有抑制作用，前者的抑制作用更强。

3. 添加 0.2 g/L 葡萄糖作为外加碳源可大大提高黄药的降解率。不加葡萄糖时，即黄药作为菌株生长的唯一碳源和能源，菌株对黄药溶液的降解率明显小于添加了外在碳源，去除率只有 38.6%，而加了 0.2 g/L 葡萄糖后，去除率升至 82.1%。

4. 经过菌株 2# 处理后，黄药在紫外最大吸收峰波长 301 nm 处的波峰降低了，而波长 206.5 nm 处的波峰增加了，经标准谱图对比证明是  $\text{CS}_2$ ，并有油状颗粒双黄药的生成。

## 参考文献

- [1] 赵玉斌. 黄药、黑药、二号油在水体中的降解实验[J]. 黄金, 1995(7): 47.  
 [2] 朱潜力. 黄药废水治理的新工艺研究[J]. 有色矿冶, 1997, 13(1): 53-54, 59.

(上接第 25 页)

3. 污泥和神府烟煤的混合物随污泥质量分数的增加，其  $\text{NO}$  生成量呈现先上升后下降的趋势。污泥和印尼褐煤的混合物随污泥质量分数的增加，其最终的  $\text{NO}$  浓度反而逐渐下降。对于高挥发分和高含氮量的煤种，混烧污泥后有利于减少  $\text{NO}$  的排放。

## 参考文献

1. 李培生, et al., 基于 DTA 方法的污泥与煤混合物燃烧反应动力学[J]. 华中科技大学学报, 2008. 36(6): p. 91-93.  
 2. 李培生, et al., 水处理污泥焦颗粒内部孔结构在燃烧过程中变化[J]. 工程热物理, 2007. 28-29.  
 3. Werther, J. and T. Ogada, Sewage sludge combustion. Progress in Energy and Combustion Science, 1999. 25(1): p. 55-116.  
 4. Shimizu, T., M. Toyono, and H. Ohsawa, Emissions of  $\text{NO}_x$  and  $\text{N}_2\text{O}$  during co-combustion of dried sewage sludge with coal in a bubbling fluidized bed combustor. Fuel, 2007. 86(7-8): p. 957-964.  
 5. Friebel, J. and R.F.W. Ksel, The fate of nitrogen during pyrolysis of German low rank coals -- a parameter study. Fuel, 1999. 78(8): p. 923-932.  
 6. M. Wirsum, Experimental investigation and theoretical description of the combustion of sewage sludge in a bubbling fluidised bed combustor. 1997, University of Siegen: Germany.  
 7. M.P. Rumphorst, Investigation of the sludge pyrolysis process and use of pyrolysis char. 1995, RWTH Aachen: Germany.

- [3] 孔荃. 日本矿山废水的治理[J]. 冶金矿山设计与建设, 1998, 30(5): 58-62.  
 [4] 史密. RW. 选矿厂的废水和废料的处理 [J]. 国外金属选矿, 1998, 35(12): 2-12.  
 [5] Carta, M., Ghiana, M. and Rossi, G. Biochemical Beneficiation Of Mining Industry Wastes. Biochemistry Ancient and Modern Environments. 1980: 669-688.  
 [6] Solozhenkin, P.M. and Lyubavina, L. Bacterial Leaching of Antimony and Bismuth Bearing Ores and the Utilization of Sewage Water. Biochemistry Ancient and Modern Environments. 1980: 669-688.  
 [7] 张萍, 孙水裕, 徐劲. 一株有机浮选药剂-黄原酸盐降解菌的特性研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2005, 22(2): 53-55.  
 [8] 舒生辉, 孙水裕, 温康文. 黄原酸盐高效降解菌的紫外诱变选育[J]. 广西轻工业, 2007, 22(2): 53-55.  
 [9] 沈萍, 范秀容等主编. 微生物学实[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004. 100-114.  
 [10] 蔡邦成, 肖琳等. 一株硝基苯高效降解菌的筛选及其降解特性[J]. 环境科学与技术, 2003, 26(4): 1-3.  
 [11] 朱卫, 张瑞福等. 一株杀虫单降解细菌的筛选与生物学特性研究[J]. 南京农业大学学报. 2003, 26(1): 100-103.  
 [12] 曹微寰, 徐德强等. 烷烃降解菌的筛选及其降解能力[J]. 中国环境科学. 2003, 23(1): 25-29.

8. Shimizu, T. and M. Toyono, Emissions of  $\text{NO}_x$  and  $\text{N}_2\text{O}$  during co-combustion of dried sewage sludge with coal in a circulating fluidized bed combustor. Fuel, 2007. 86(15): p. 2308-2315.  
 9. 朱珍平, et al., 二种高硫煤中硫氮化学形态的研究[J]. 环境化学, 1995.  
 10. 谭厚章, et al., 煤燃烧过程中吡啶型氮迁徙规律的实验研究[J]. 西安交通大学学报, 2004.  
 11. 姚明宇, 刘艳华, and 车得福, 宜宾煤中氮的形态及其变迁规律研究[J]. 西安交通大学学报, 2003.  
 12. 冯志华, et al., 煤热解过程中氮的分配及存在形态的研究进展[J]. 煤炭转化, 2000.  
 13. Hu, Y., et al., Determination of the Forms and Evolution of Nitrogen in Sewage Sludge and Coal and Their Chars with X-Ray Photoelectron Spectroscopy Method. The Proceedings of the 32nd International Technical Conference on Coal Utilization & Fuel Systems, 2007: p. 1281-1286.  
 14. Hu, Y., et al. The characteristic and evolution of nitrogen functional groups in coal and sewage sludge during their co-combustion. in Proceedings of the 6th International Symposium on Coal Combustion. 2007.  
 15. Van Doorn, J., Combined combustion of biomass, municipal sewage sludge and coal in an atmospheric fluidized bed installation. Fuel and Energy Abstracts, 1996. 37(3): p. 204.  
 16. D.J. Morgan and W.v.d. Kamp. The co-firing of biomass and municipal sewage sludge with pulverised coals in utility boilers. in Second International Conference Combustion and Emissions Control. 1995. London. UK.