

一株耐盐硫氧化细菌的分离鉴定及脱硫机理*

杨娟^{1,2} 谢翼飞^{1**} 李旭东¹ 陈瑜江¹ 赵玉萍¹

¹中国科学院成都生物研究所, 中国科学院环境与应用微生物重点实验室 成都 610041

²中国科学院大学 北京 100049

摘要 筛选高效脱硫菌株并揭示其去除硫化物的机理对生物脱硫技术的发展具有重要意义. 从天然气净化厂污水站废水中分离出一株化能自养型硫氧化细菌, 命名为DS-B. 根据16S rDNA基因序列相似性分析, 结合形态特征, 对该菌株进行鉴定. 进一步研究DS-B的硫代硫酸盐耐受性, 并通过测定培养体系中各价态含硫物质的含量, 探讨该菌的硫氧化性能. 结果显示, 菌株DS-B与*Thioalkalivibrio thiocyanoxidans* ARh2的序列相似性最高, 初步鉴定其属于*Thioalkalivibrio*. DS-B的最佳生长和降解温度为35 °C, 35 °C下培养7 d, 硫代硫酸盐($S_2O_3^{2-}$)的去除率能达到98.7%. 该菌对 $S_2O_3^{2-}$ 有较强的耐受性, 且最适 $S_2O_3^{2-}$ 浓度为 2×10^4 mg/L. 此外, 对各价态硫化物的分析表明该菌氧化 $S_2O_3^{2-}$ 的途径为: $S_2O_3^{2-} \rightarrow SO_4^{2-} / S_2O_3^{2-} \rightarrow S \rightarrow SO_4^{2-}$. 上述表明, 菌株DS-B具有较强的耐盐能力, 对硫代硫酸盐具有较高的去除能力, 是一株具有应用价值的硫氧化细菌. 图8 参22

关键词 硫氧化细菌(SOB); 16S rDNA; 硫代硫酸盐; 生物脱硫; 氧化机理; *Thioalkalivibrio*
CLC X172

Isolation, identification and desulfurization mechanism of a sulfur-oxidizing bacterium with salt tolerance*

YANG Juan^{1,2}, XIE Yifei^{1**}, LI Xudong¹, CHEN Yujiang¹ & ZHAO Yuping¹

¹Key Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Micro-organism with efficient desulfurization performance is a key factor in the biological desulfurization technology. This study aimed to seek such a sulfur-oxidizing strain and understand its desulfurization mechanism. Wastewater in a sewage station of natural gas purification plant was used to screen the sulfide-oxidizing strain, and to identify it based on sequence similarity analysis of 16S rDNA and the morphological characteristics. Thiosulfate was used as substrate for investigating the sulfur oxidation performance and salinity tolerance; the OD₆₀₀, content change of thiosulfate, sulfate, sulfur, pH and total alkalinity in the cultural system were also investigated. The strain DS-B was found to share the highest sequence similarity with *Thioalkalivibrio thiocyanoxidans* ARh2, therefore determined as *Thioalkalivibrio*. At the optimum temperature of 35 °C for growth and degradation, the removal efficiency of thiosulfate could reach 98.7% after 7 days. Strain DS-B had strong resistance to thiosulfate, and the optimal concentration of $S_2O_3^{2-}$ was 2×10^4 mg/L. The analysis for sulfur oxides showed that it could oxidize thiosulfate by the pathway of $S_2O_3^{2-} \rightarrow SO_4^{2-} / S_2O_3^{2-} \rightarrow S \rightarrow SO_4^{2-}$. Therefore the strain DS-B is a sulfur-oxidizing bacterium with great application prospect for its strong salt tolerance and conspicuous removal capability for thiosulfate.

Keywords sulfur-oxidizing bacterium; 16S rDNA; thiosulfate; bio-desulfurization; oxidation mechanism; *Thioalkalivibrio*

天然气作为一种新兴能源, 具有绿色环保、经济实惠等优点, 其应用越来越广泛. 但是, 部分天然气中的 H_2S 含量超标, 在输出使用之前必须经过脱硫处理^[1-4]. 天然气脱硫会产生大量的工艺废水, 该废水是一种含有多种无机盐成分的含硫废水. 含硫废水的处理主要采用化学脱硫和生物氧化, 化学氧化法运行成本太高, 而生物脱硫具有成本低、无二次污

染等优点, 其开发利用越来越受到国内外的关注^[5-6].

生物脱硫技术具有诱人的工业应用前景, 且其核心为脱硫微生物. 因此, 筛选具有更高脱硫性能和更好环境适应能力的新菌株是生物脱硫技术的基础和关键^[7]. 目前, 常见的生物脱硫菌种主要是硫氧化细菌^[8-10] (Sulfur-oxidizing bacteria, SOB), 包括氧化亚铁硫杆菌、脱氮硫杆菌等^[11-12]. 同时, 现有研究多注重单质硫或者硫化氢的生物氧化, 硫代硫酸钠作为硫氧化过程中的重要中间产物之一, 关于其生物处理的文献报道还较少^[13-15].

我们拟从某天然气净化厂污水站污水中筛选一株耐盐硫氧化细菌, 并以硫代硫酸盐为研究对象, 通过检测硫代硫

收稿日期 Received: 2015-02-04 接受日期 Accepted: 2015-06-24

*国家自然科学基金项目(51378013)和中国科学院STS计划项目资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (51378013) and the STS Program of Chinese Academy of Sciences

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: xieyf@cib.ac.cn)

酸盐氧化过程中各价态含硫化合物的含量, 探讨该菌氧化硫代硫酸盐的能力, 并初步考查硫代硫酸盐的氧化机理. 本研究旨在分离筛选经济高效的硫氧化细菌, 并在此基础上初步研究其硫氧化机理, 为含有硫代硫酸盐的天然气脱硫废水的处理提供技术依据和理论支持.

1 材料与方法

1.1 实验材料

水样为天然气净化厂污水站内污水.

选择培养基^[16] (g/L): $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 5.0, KNO_3 2.0, KH_2PO_4 2.0, NaHCO_3 1.0, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5, NH_4Cl 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, pH 7.0. 固体培养基添加2%的琼脂粉.

在选择培养基的基础上, 结合污水的水质分析结果, 对菌株进行耐盐和高负荷驯化, 逐步提高盐浓度, 获得高盐培养基 (g/L): $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 40.0, Na_2SO_4 10.0, NaHCO_3 32, KH_2PO_4 2.0, KNO_3 2.0, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5, NH_4Cl 2.0, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01微量元素溶液 10 mL, pH 9.0-9.2. 固体培养基添加2%的琼脂粉.

1.2 菌株的分离筛选

将1 mL废水水样梯度稀释后涂布于选择培养基平板上, 35 °C倒置培养2-3 d. 挑选不同形态特征的菌落分别接种于30 mL高盐液体培养基中, 35 °C、180 r/min摇床培养3-4 d. 选择生长状况良好的菌液梯度稀释后涂布于高盐培养基平板上, 35 °C倒置培养2-3 d. 挑取长出的单菌落进行四区划线, 使菌株纯化. 纯化后的菌株接种于高盐培养基制作的试管斜面上, 于4 °C冰箱保存.

1.3 菌株的形态观察

吸取少量活化的细菌培养液制片, 在光学显微镜下观察细胞的运动状态. 对培养好的菌株进行革兰氏染色, 染色方法按照标准方法^[17]进行. 通过扫描电镜观察细菌形态并测量细胞大小, 细胞的长度和宽度用随机抽取的10个细胞的平均值表示^[18].

1.4 16S rDNA序列分析及系统发育树构建

将菌株在液体培养基中培养到一定的浓度后, 采用细菌基因组DNA提取试剂盒 (购自天根生化科技有限公司) 提取细菌总基因组DNA. 将提取到的DNA样品进行16S rDNA PCR扩增反应, 通用引物为: 前引物27F: 5'-AGAGTTTGTATCTGGCTCAG-3'; 后引物1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'. PCR体系 (50 mL): 25 μL 2 × Taq PCR MasterMix + 19.8 μL ddH_2O + 1.6 μL 前引物 + 1.6 μL 后引物 + 2 μL 模板; PCR反应条件: 95 °C保持5 min; 94 °C保持30 s, 55 °C保持30 s, 72 °C保持100 s, 29个循环; 72 °C保持5 min. 扩增产物采用琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒 (购自天根生化科技有限公司) 纯化回收后送上海生工生物有限公司测序. 测序结果提交EzTaxon数据库进行identify比对, 并通过MEGA 5软件构建系统发育树, 构建方法为: Neighbour-joining (Kimura 2-parameter model, Bootstrap of 1 000).

1.5 菌株的生长特性及硫氧化特性

1.5.1 最适生长温度 配置适量的高盐液体培养基, 分装到5个锥形瓶中, 每个150 mL. 121 °C灭菌20 min, 冷却后分

别接种1%的DS-B菌液. 将5个锥形瓶分别于5 °C、15 °C、25 °C、35 °C、45 °C下180 r/min摇床震荡培养, 每天取样测定硫代硫酸根离子含量和 $\text{OD}_{600\text{ nm}}$ 值.

1.5.2 生长曲线测定 在最适温度下, 将培养至一定浓度的DS-B菌液按照1%的接种量接种到300 mL无菌高盐液体培养基中, 180 r/min摇床振荡培养, 每隔12 h取样分析. ① 样品3 000 r/min离心2 min后取上清测定 $\text{OD}_{600\text{ nm}}$; ② 样品梯度稀释后选取适当的3-4个梯度进行平板涂布, 恒温培养箱中倒置培养2-3 d, 统计菌落数.

1.5.3 硫代硫酸盐的氧化特性 在最适温度下, 先将DS-B细菌接种到30 mL高盐液体培养基中, 180 r/min摇床培养至一定浓度, 作为种子液备用. 将种子液按1%的接种量接种到300 mL高盐液体培养基中, 180 r/min摇床培养, 每天定时取样. 测定硫代硫酸盐的浓度变化来考察该菌的硫氧化性能, 同时通过测定样品的硫酸盐、单质硫浓度以及pH和总碱度, 探讨其降解机理. 实验设置3个平行样和一个空白样.

1.5.4 硫代硫酸盐的耐受性 设置高盐液体培养基中硫代硫酸盐的含量分别为 0.5×10^4 mg/L、 1×10^4 mg/L、 2×10^4 mg/L、 3×10^4 mg/L、 4×10^4 mg/L、 5×10^4 mg/L, 高压灭菌后按1%的接种量接种培养至一定浓度的DS-B菌液. 最适温度下, 180 r/min摇床振荡培养, 取样测定OD值, 分析不同硫代硫酸盐浓度下DS-B的生长情况.

1.6 检测与分析方法

pH: 使用pH510型pH酸度计检测.

硫酸根离子: 采用离子色谱仪测定 (761 compact IC); 分离柱型号: A SUPP 5 150 (150×4.0 mm); 淋洗液: Na_2CO_3 0.32 mol/L, NaHCO_3 0.1 mol/L, 丙酮 2%, 异丙醇 5%; 流速: 0.7 mL/min; 进样量: 20 μL .

硫代硫酸根离子测定: 碘量法^[19].

单质硫测定: 分光光度法^[20].

总碱度测定: 酸滴定法 (以 CaCO_3 计, 水和废水监测分析方法).

2 结果与分析

2.1 菌株的分离筛选和形态观察

经平板涂布和四区划线分离后, 筛选到一株纯菌, 命名为DS-B. 在高盐培养基平板上, 菌落呈圆形, 边缘整齐, 光滑湿润, 不透明, 前期为乳白色, 针尖大小, 培养后期乳白色开始消失变为淡黄色. 对菌株进行革兰氏染色, 结果显示革兰氏染色呈阴性. 在光学显微镜下观察, 细胞有游动性. 在扫描电镜下观察, 细胞呈短杆状, 菌体大小为 $(1.2 \pm 0.2) \mu\text{m} \times (0.35 \pm 0.05) \mu\text{m}$.

2.2 菌株16S rDNA序列分析及系统发育树构建

菌株DS-B的16S rDNA核苷酸序列为1 448 bp. 将所测序列提交到EzTaxon数据库中进行identify, 将结果通过ClustalW比对处理之后, 采用MEGA5.0 (Kimura 2-parameter model, Bootstrap of 1 000) 构建以16S rDNA全序列为基础的系统发育树, 如图1. 结果表明: DS-B与*Thioalkalivibrio thiocyanoxidans* ARh2相似性最高, 为98%. 结合菌落、细胞形态, 可以确定DS-B菌株属于*Thioalkalivibrio*.

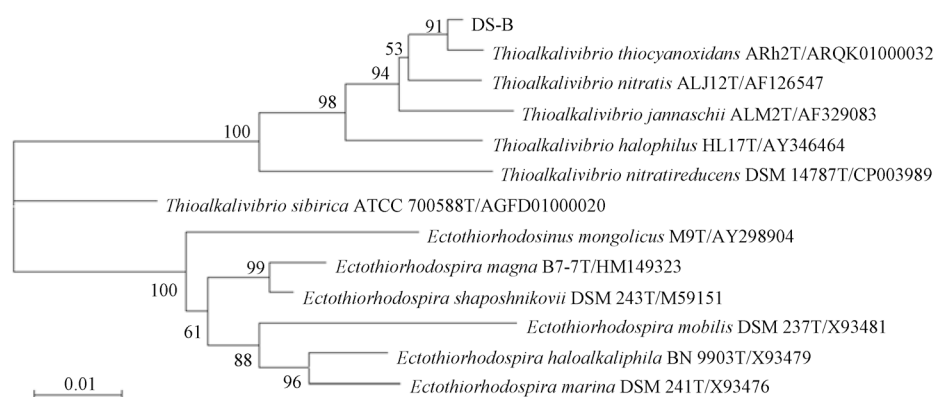
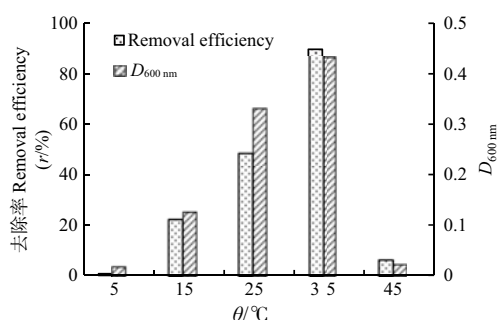


图1 菌株DS-B的系统发育树。

Fig. 1 Phylogenetic tree of strain DS-B.

2.3 菌株的生长特性及硫氧化特性

2.3.1 菌株DS-B的最适生长温度 如图2, 菌株DS-B在35℃左右的降解效率最高, 5 d时间对初始浓度为18 000 mg/L的硫代硫酸盐的去除率接近90%。温度高于或者低于此温度都会抑制细菌的生长, 去除率也随之降低。同时, 在35℃时, 菌体浓度也是最高的, 可见DS-B的最佳生长和降解温度均为35℃。

图2 温度对 $D_{600\text{ nm}}$ 及 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 去除率的影响。Fig. 2 Impact of temperature on $D_{600\text{ nm}}$ and removal efficiency of $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$.

2.3.2 菌株DS-B的生长曲线 由图3可知, 菌株DS-B的延滞期较短, 在12 h左右。之后细菌进入对数期, 此时菌体快速繁殖, 如图所示, 对数生长期长约60 h。70 h以后, OD值变化趋于稳定, 细菌进入稳定期。110 h以后OD值开始下降, 细菌处于衰退期。同时, 菌落计数结果显示, 培养3 d时其浓度可达到 $1.2 \times 10^7 \text{ cell mL}^{-1}$, 表明该菌具有较强的生长能力, 可达到较高的菌体浓度。

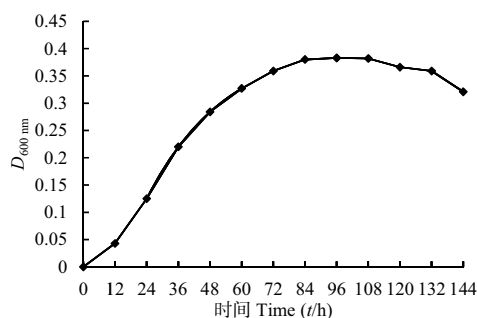
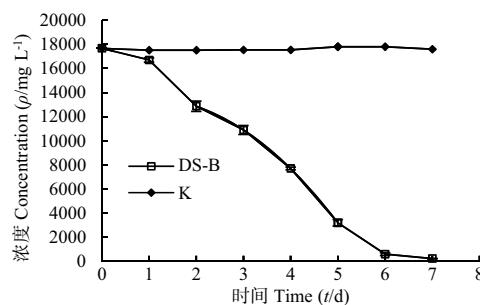


图3 菌株DS-B的生长曲线。

Fig. 3 Growth curve of strain DS-B.

2.3.3 菌株DS-B氧化硫代硫酸盐的能力 如图4, 培养基中硫代硫酸盐的初始浓度接近18 000 mg/L。7 d时间内, 没有接菌的空白对照中硫代硫酸盐的含量基本不变, 而接菌的实验组中 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的浓度不断降低, 第7天时其浓度降至约200 mg/L, 此时 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的去除率达到98.7%。加菌和不加菌的对比分析显示, 菌株DS-B对 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 有较强的去除能力。

图4 加菌与空白中 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的变化比较。K: 空白对照。Fig. 4 Comparison of $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ changes between the bacteria group and the blank control. K: blank control.

2.3.4 菌株DS-B的硫代硫酸盐耐受性 不同硫代硫酸盐浓度下DS-B菌株的OD值变化如图5所示。菌株DS-B对硫代硫酸盐有较强的耐受性, 在 0.5×10^4 – $5 \times 10^4 \text{ mg/L}$ 范围内均能生长, 0.5×10^4 – $2 \times 10^4 \text{ mg/L}$ 是比较适宜的生长浓度, 又以 $2 \times 10^4 \text{ mg/L}$ 时最优, 其菌体浓度在3 d内达到最高。硫代硫酸盐浓度在 $4 \times 10^4 \text{ mg/L}$ 以上时DS-B的生长则受到较为明显的抑制作用, 但仍然具有较强的生长能力, 可见菌株DS-B在处理高硫代硫酸盐浓度的废水时具有较强的耐冲击能力。

2.4 菌株对硫代硫酸盐的氧化机理

如图6, 在培养的第1天, 细菌处于延滞期, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 SO_4^{2-} 浓度基本稳定。随着时间的增加, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 浓度不断降低, 而 SO_4^{2-} 浓度不断升高。表明在DS-B菌株的作用下, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的氧化产物是 SO_4^{2-} 。

同时, 如图7所示, 在第1天, 由于细菌处于延滞期, pH和碱度基本没有变化。细菌大量繁殖后, pH则不断下降至8.4左右, 而总碱度从18 000 mg/L下降至10 000 mg/L左右。培养体系中的pH和碱度都呈明显的下降趋势, 说明 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 被氧化的过程也是一个产酸的过程。根据沈镭等的研究结果^[21], 推测

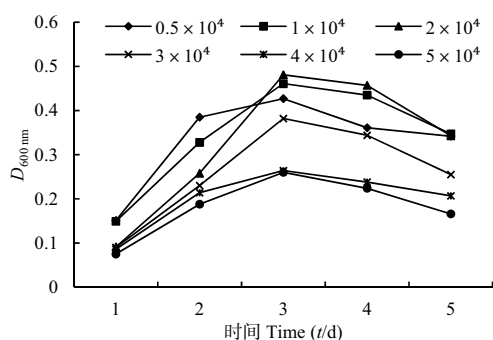


图5 不同硫代硫酸盐浓度下菌株DS-B的OD值比较.

Fig. 5 The OD value for DS-B grown in different concentrations of thiosulfate.

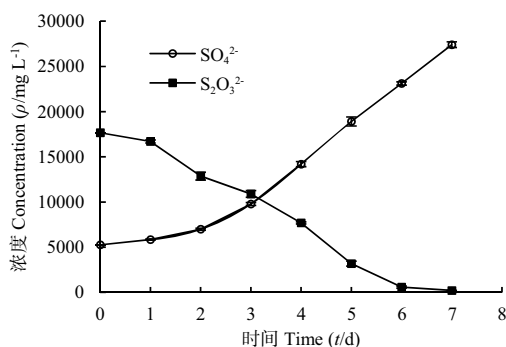


图6 培养体系中 SO_4^{2-} 和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 浓度的变化曲线.

Fig. 6 Concentration curves of SO_4^{2-} and $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$.

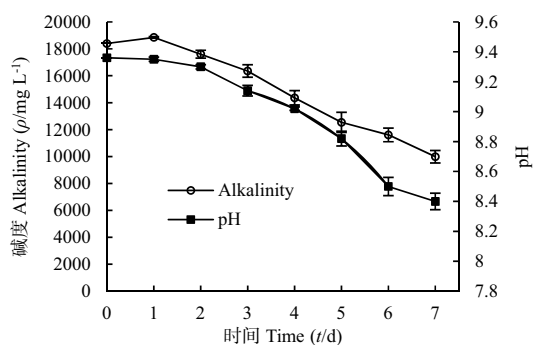
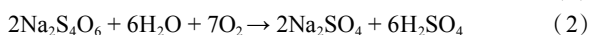
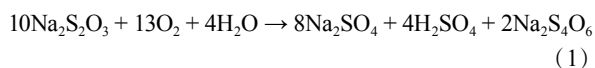


图7 pH和总碱度的变化曲线.

Fig. 7 Change of pH and total alkalinity.

培养体系中硫代硫酸根离子主要发生了以下反应:



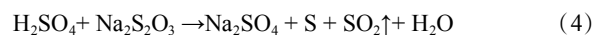
由反应(1)可知,绝大部分 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 转化为 SO_4^{2-} ,而生成的少量 $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ 不稳定,在曝气的情况下会通过反应(2)迅速被 O_2 氧化,因此, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的氧化反应也可以简化认为:



由反应(3)可知,在DS-B菌株的作用下,培养体系中硫代硫酸盐的代谢途径主要为: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$.

经计算得知 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 与 SO_4^{2-} 之间的转化比约为1:1.71,到第7天时,消耗的 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 若全部转化为 SO_4^{2-} , SO_4^{2-} 浓度应增加30 000 mg/L左右,而实际只增加了20 000 mg/L(图5),说明氧化过程中还有中间产物产生.培养过程中,培养体系经历

了从澄清到浑浊再到澄清的过程,检测发现为单质硫,如图8所示, S 的浓度呈先上升后下降的趋势.根据文献报道,推测有少量的 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 与其产生的酸反应生成单质 S 和 SO_2 气体,而单质 S 又进一步被氧化产酸,具体反应方程式^[22]为:



根据检测结果及分析可知 S 属于中间产物, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的氧化还存在副反应途径: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{S} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$.

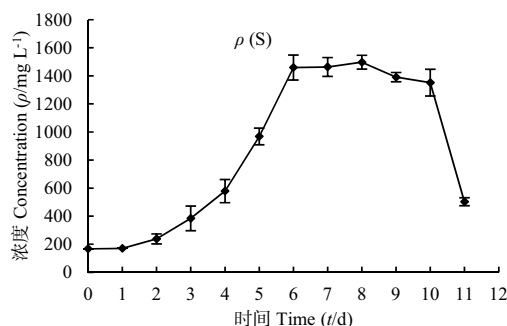


图8 培养体系中单质硫的浓度变化曲线.

Fig. 8 Change of sulfur concentration.

3 结论

从天然气净化厂污水站废水水样中分离到一株硫氧化细菌,命名为DS-B. DS-B菌株为革兰氏阴性菌,短杆状,有游动性,菌体大小为 $(1.2 \pm 0.2) \mu\text{m} \times (0.35 \pm 0.05) \mu\text{m}$.通过16S rDNA序列比对分析,初步确认其属于*Thioalkalivibrio*. DS-B是从高盐污水中筛选到的,根据污水水质分析,配制了含盐量高达60 000 mg/L的高盐培养基. DS-B能够在高盐培养基中大量繁殖,具有较强的耐盐能力.

在高盐培养基中培养时,菌株DS-B的最佳生长和降解温度为35℃.在最适温度下DS-B对硫代硫酸盐的去除率高达98.7%,具有较强的硫氧化能力.同时,菌株DS-B对硫代硫酸盐具有较强的耐受性,在 0.5×10^4 ~ 5×10^4 mg/L的硫代硫酸盐浓度范围内能够生长,其最适硫代硫酸盐浓度为 2×10^4 mg/L.对培养体系中的各价态硫化物进行检测分析,发现在菌株DS-B的作用下, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的主要代谢途径为: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$;但是还有少量的 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 通过副反应途径进行代谢,即: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{S} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$.

菌株DS-B对硫代硫酸盐具有较高的去除能力,是一株具有应用前景的硫氧化细菌.耐盐硫氧化细菌DS-B的获得以及对其 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 氧化机理的探讨,对生物脱硫技术工艺优化研究具有较好的参考价值.

参考文献 [References]

- 王钢,王欣,高德玉,刘伟,赫大新,陈薇.沼气生物脱硫技术研究[J].应用能源技术,2005,33(5):33-35 [Wang G, Wang X, Gao DY, Liu W, He DX, Chen W. Study on biological desulfurization technology for biogas [J]. Appl Energy Technol, 2005, 33(5): 33-35]
- 李国欣,杨俊仕,李旭东.天然气净化厂的废水处理设计与运行[J].中国给水排水,2009,25(22):49-55 [Li GX, Yang JS, Li XD. Design

- and operation of wastewater treatment process in natural gas purification plant [J]. *China Water Wastewater*, 2009, **25** (22): 49-55]
- 3 蒲万芬, 胡佩. 酸性气体中硫化氢的微生物脱除方法[J]. 天然气工业, 2005, **25** (3): 166-171 [Pu WF, Hu P. Method to remove hydrogen sulfide from sour gas by microorganisms [J]. *Nat Gas Ind*, 2005, **25** (3): 166-171]
- 4 汪家铭. Shell - Paques生物脱硫技术及其应用[J]. 化肥设计, 2010, **48** (2): 39-42 [Wang JM. Shell - Paques biodesulfur technology and its application [J]. *Chem Fertil Des*, 2010, **48** (2): 39-42]
- 5 李红菊, 唐晓东, 赵红义, 郭巧霞. 天然气脱硫技术[J]. 石油化工腐蚀与防护, 2009, **26** (5): 4-6 [Li HJ, Tang XD, Zhao HY, Guo QX. Natural gas desulfurization technology [J]. *Corr Prot Petrochem Ind*, 2009, **26** (5): 4-6]
- 6 Buisman CJN, Wit B, Lettinga G. Biotechnological sulfide removal in three polyurethane carrier reactors: stirred reactor, bio-rotor reactor and up-flow reactor [J]. *Water Res*, 1990, **24** (2): 245-251
- 7 李军幸, 张克强, 季民, 袁志华. 分光光度法测定微生物处理含硫化物废水中的单质硫含量[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25** (1): 261-265 [Li JX, Zhang KQ, Ji M, Yuan ZH. Spectrophotometric quantification of sulfur in sulfide-containing wastewater treated with microbial [J]. *J Agro Environ Sci*, 2006, **25** (1): 261-265]
- 8 王蕙祥, 姜理英, 吴晓薇, 陈建孟. 硫氧化细菌的分离鉴定及降解特性[J]. 应用与环境工程学报, 2011, **17** (5): 706-710 [Wang HX, Jiang LY, Wu XW, Chen JM. Isolation, identification and degradation characteristics of a sulfide-oxidizing bacterium [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2011, **17** (5): 706-710]
- 9 邓良伟, 唐一, 吴彦. 生物脱硫机理及其研究进展[J]. 上海环境科学, 1998, **17** (5): 35-39 [Deng LW, Tang Y, Wu Y. Mechanism of biological desulfurization and its progress [J]. *Shanghai Environ Sci*, 1998, **17** (5): 35-39]
- 10 顾运, 杨宏, 吴宣, 尚海源. 盐分对一株硫氧化细菌氧化能力的影响[J]. 环境工程学报, 2015, **9** (1): 491-494 [Gu Y, Yang H, Wu X, Shang HY. Effect of salinity on a sulfur-oxidizing bacteria oxidation ability [J]. *Chin J Environ Eng*, 2015, **9** (1): 491-494]
- 11 蒋永荣, 胡明成. 硫酸盐废水生物脱硫研究进展[J]. 环境科学与技术, 2008, **31** (9): 67-71 [Jiang YR, Hu MC. Biological desulfurization of sulfate containing wastewater [J]. *Environ Sci Technol*, **31** (9): 67-71]
- 12 王爱杰, 杜大仲, 任南琪, 赵秋实, 王文静. 脱氮硫杆菌在废水脱硫、脱氮处理工艺中的应用[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2004, **36** (4): 423-425, 429 [Wang AJ, Du DZ, Ren NQ, Zhao QS, Wang WJ. Application of *Thiobacillus denitrificans* in wastewater denitrification and de-sulfide treatment processes [J]. *J Harbin Inst Technol*, 2004, **36** (4): 423-425, 429]
- 13 Pethkar AV, Paknikar KM. Thiosulfate biodegradation/silver biosorption process for the treatment of photofilm processing wastewater. *Process Biochem*, 2003, **38** (6): 855-860
- 14 Lin BL, Hosomi M, Murakami A. Effects of high salinity and constitute organic compounds on treatment of photo-processing waste by a sulphur-oxidizing bacteria/granular activated carbon sludge system [J]. *Water Res*, 2002, **36** (4): 1076-1083
- 15 林栋青, 张彦科, 顾向阳. 硫代硫酸盐氧化菌TX的分离、鉴定及其生物学特性[J]. 微生物学通报, 2009, **36** (11): 1638-1644 [Lin DQ, Zhang YK, Gu XY. Isolation, identification and characterization of thiosulfate-oxidizing bacterium TX [J]. *Microbiology*, 2009, **36** (11): 1638-1644]
- 16 Baalsrud K, Kjellrun S Baalsrud. Studies on *Thiobacillus denitrificans* [J]. *Archiv Microbiol*, 1954, **20** (1): 34-62
- 17 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 353-356 [Dong XZ, Cai MY. System Identification Manual of Common Bacteria [M]. Beijing: Science Press, 2001: 353-356]
- 18 Mahmood Q, Hu B, Cai J, Zheng P, Azim MR, Jilani G, Islam E. Isolation of *Ochrobactrium* sp. QZ2 from sulfide and nitrite treatment system [J]. *J Hazard Mater*, 2009, **165** (1-3): 558-565
- 19 国家环保局. 水和废水监测分析方法[M]. 第4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002 [Ministry of Environmental Protection of China. Water and Wastewater Monitoring Analysis Method - IV [M]. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 2002]
- 20 李军幸, 张克强, 季民, 袁志华. 分光光度法测定微生物处理含硫化物废水中的单质硫含量[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25** (1): 261-265 [Li JX, Zhang KQ, Ji M, Yuan ZH. Spectrophotometric quantification of sulfur in sulfide-containing wastewater treated with microbial [J]. *J Agro Environ Sci*, 2006, **25** (1): 261-265]
- 21 沈镭, 张再丽, 贾晓珊. 氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌对硫代硫酸钠的代谢机理研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26** (12): 2000-2007 [Shen L, Zhang ZL, Jia XS. Study on metabolic mechanisms of sodium thiosulfate by *Thiobacillus Ferrooxidans* and *Thiobacillus Thiooxidans* [J]. *J Environ Sci*, 2006, **26** (12): 2000-2007]
- 22 Solicio C, Lodi A, Veglio F. Bioleaching of zinc and aluminium from industrial waste sludge by means of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. *Waste Mana*, 2002, **22**: 667-675