

# 硫酸盐还原菌的微生物防治

赵波<sup>1</sup>, 贺承祖<sup>1,2</sup>, 李冬菊<sup>1</sup>

1. 新疆科力新技术发展有限公司, 新疆克拉玛依 834000

2. 成都理工大学材料与化学化工院, 成都 610059

**摘要** 硫酸盐还原菌(SRB)是一类能在厌氧条件下以有机物为电子供体,将硫酸盐还原为硫化物的原核微生物。SRB产生的硫化物具有毒性和腐蚀性,其腐蚀产物硫化铁会堵塞地层,历来为环保和石油工业所关注。杀菌剂虽广泛用于抑制SRB生长;但杀菌剂不但价格高,对人体和环境有毒害作用,而且由于生物膜会降低杀菌效果和SRB会产生抗药性,难以获得满意的效果。目前,提出用微生物方法解决这一问题:(1)用硝酸盐激活硝酸盐还原菌,通过生物竞争抑制硫酸盐还原菌生长繁殖;(2)用硫化物氧化菌,通过生物氧化除去硫化物;(3)用短芽孢菌,通过其分泌物抑制硫酸盐还原菌生长和繁殖;(4)用噬菌体杀死SRB。目前对方法(1)在油田和方法(2)在污水处理方面已做过很多研究和现场试验,对方法(3)和方法(4)也做过一些研究。这些方法都有各自的优缺点,本文对相关问题进行了分析。

**关键词** 硫酸盐还原菌;反硝化菌;硫氧化菌;短芽孢菌;噬菌体;微生物控制;生物竞争

中图分类号 X172

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.23.011

## Microbial Control of Sulfate-reducing Bacteria

ZHAO Bo<sup>1</sup>, HE Chengzu<sup>1,2</sup>, LI Dongju<sup>1</sup>

1. Xinjiang Keli New Technology Development Company Ltd., Karamay 834000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

2. College of Materials and Chemistry & Chemical Engineering, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China

**Abstract** Sulfate-Reducing Bacteria (SRB) is a group of prokaryotes which are capable of reducing the sulfate to sulfide under anaerobic condition with organic substance as electron donors. Sulfide production by SRB is a major concern for the petroleum industry, since it is toxic and corrosive, and causes plugging due to the formation of insoluble iron sulfides. Biocides are widely used to control SRB growth. Experience has shown that biocides are expensive and toxic to humans and environment, but more importantly, biocidal treatments are not always effective, since the biological film will reduce biocidal effect and SRB will eventually develop the resistance to biocides. Various microbial methods for inhibiting SRB have been proposed for different treatment purposes as follows: (1) application of nitrate to activate Nitrate Reducing Bacteria (NRB) for inhibiting the growth of sulfate reducing bacteria through biological competition; (2) application of Sulfide Oxidizing Bacteria (SOB) for removing hydrogen sulfide through biological oxidation; (3) application of *Brevibacillus brevis* for inhibiting SRB through the produced antagonistic substance; (4) application of phage for killing SRB. At present, application of method one in oil field and application of method two in sewage treatment have entered the industrial tests, both method three and method four are still in the basic research stage. These methods have great application prospect, however there are many problems to be solved. The analysis on these problems is carried on.

**Keywords** SRB; nitrate-reducing bacterium; sulfide oxidizing bacterium; bacillus bacterium; phage; microbial control; biological competition

## 0 引言

硫酸盐还原菌(Sulfate-Reducing Bacteria,SRB)广泛存在于土壤、海水、河水、地下管道和油气储层中。SRB可将硫酸

盐还原为硫化氢,腐蚀金属管线和污染环境。SRB可在营养物质极端缺乏的情况下将其体积缩小,在休眠状态下存活下来并浮游于水中,成为浮游菌(planktonic bacteria),随着注入水

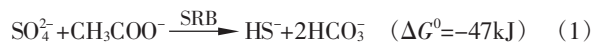
收稿日期:2011-12-26;修回日期:2012-07-20

基金项目:克拉玛依市指导性科技计划项目(SK2010-17);国家技术创新基金无偿资助项目(11C26216506451)

作者简介:赵波,高级工程师,研究方向为油气田开发新技术,电子信箱:xjklzb@126.com;贺承祖(通信作者),教授,研究方向为油层物理化学,电子信箱:Chengzumail@126.com

在岩石孔隙中运移,波及大片储层。SRB 在营养物水平较高时附着于固体表面,被多糖胶构成的生物膜保护起来,成为固着菌 (sessile bacteria) 而大量繁殖。

SRB 以低级脂肪酸为电子供体 (营养物), 硫酸盐为电子受体 (底物), 将前者氧化为二氧化碳, 后者还原为硫化氢, 从中获得能量而生长繁殖。以乙酸为例, 生化反应式为



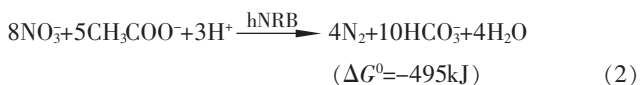
由于低级脂肪酸和硫酸盐在自然界普遍存在, 故 SRB 广泛存在于土壤、海水、河水、地下管道和油气储层中<sup>[1]</sup>。已分离研究的 SRB 有 18 个属, 近 40 多个种, 在污水中常见的有 9 个属, 主要为脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*) 和脱硫肠状菌属 (*Desulfotomaculum*)。前者不产生孢子, 一般为低、中温性, 超过 43℃ 时致死; 后者产生孢子, 为中、高温性。根据所利用的营养物, 可将 SRB 分为 3 类: 氢营养型 (HSRB)、乙酸营养型 (ASRB) 和高级脂肪酸营养型 (FASRB); 也有根据 rRNA 测序分析, 将 SRB 分为革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、嗜热细菌和嗜热古细菌<sup>[2]</sup>。

SRB 生活能力很强, 有的可在 -5℃ 以下生长, 有的可产生芽孢承受 80℃ 的高温, 而大多中温 SRB 的最适生长温度为 28—38℃, pH 值为 5.0—9.5。一些 SRB 呈现嗜盐性, 可生活于高盐环境 (如盐湖、死海) 中。已分离的嗜盐性 SRB 大多数是轻度嗜盐菌, 适宜生长的盐度范围为 1%—4%; 中度嗜盐性 SRB 为数不多, 适宜生长的盐度为 10% 左右。SRB 生长的氧化还原电位  $E_h$  低于 -150mV<sup>[1-3]</sup>。

油田上普遍采用氯、甲醛、戊二醛和季铵盐等杀菌剂抑制 SRB, 长期使用杀菌剂会使 SRB 产生抗药性, 而且生物膜使杀菌剂失去目标, 在膜中缓慢生长的 SRB 固着菌对杀菌剂不敏感<sup>[4]</sup>, 有毒杀菌剂的大量使用还会带来新的环境问题<sup>[5]</sup>。近年来人们发现, 利用微生物之间的竞争、拮抗和寄生作用可杀死或抑制 SRB, 在某些方面较杀菌剂优越, 因此受到国内外研究者的重视, 本文就相关问题作简要的评述。

## 1 硝酸盐的抑菌除硫功能

硝酸盐还原菌 (Nitrate-Reducing Bacterium, NRB) 亦称反硝化菌 (Denitrifying Bacteria, DNB), 可分为 2 大类: 一类为异养硝酸盐还原菌 (heterotrophic Nitrate-Reducing Bacteria, hNRB), 如地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheni-formis*)、脱氮副球菌 (*Paracoccus fenitricans*) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*), 以低级脂肪酸为电子供体, 将其氧化为  $\text{CO}_2$ , 以硝酸盐或亚硝酸盐为电子受体, 将其还原为亚硝酸盐及其各种中间氧化物, 直至氮气, 以此获得能量生长繁殖。以乙酸盐和硝酸盐为例, 反应式为



另一类为自养硝酸盐还原菌 (autotrophic Nitrate-Reducing Bacteria, aNRB), 亦称硝酸盐还原-硫化物氧化菌 (Nitrate-

Reducing Sulfide-Oxidizing Bacterium, NR-SOB), 如脱氮硫杆菌 (*Thiobacillus fenitricans*), 以硫化物为电子供体, 将其氧化为元素硫, 以硝酸盐或亚硝酸盐为电子受体, 将其还原为亚硝酸盐及各种中间氧化物, 直至氮气, 以此获得能量生长繁殖。以硝酸盐为例, 反应式为



油田水中大都含有 NRB, 尤其是 hNRB, 但这些物质由于缺乏硝酸盐而处于休眠状态。向油田水中加入硝酸盐后, 可通过激活 hNRB 生长繁殖, 如式(2)所示与 SRB 争夺低级脂肪酸, 抑制 SRB 生长繁殖; 也可如式(3)所示, 通过激活 aNRB 生长繁殖, 除去硫化氢。油田水中一般 hNRB 含量比 aNRB 高, 前者占优势。亚硝酸盐及其氧化氮还可作为 SRB 的代谢型抑制剂, 起抑菌作用。亚硝酸盐亦可通过化学反应将硫化氢氧化为元素硫。

### 1.1 作用机理

#### 1.1.1 竞争碳源

式(2)的自由能  $\Delta G^0$  比式(1)大, 说明在热力学上反硝化反应比硫酸盐还原反应占优势<sup>[6]</sup>。研究还表明, 式(2)比式(1)的反应速度快, 说明前者在动力学上亦占优势<sup>[7]</sup>; 故在水中 hNRB 和 SRB 共存时, 加入硝酸盐后 hNRB 可通过竞争碳源抑制 SRB 生长繁殖, 且该现象在碳源缺乏时尤为明显<sup>[8]</sup>。

#### 1.1.2 干扰酶代谢

SRB 依靠异化亚硫酸盐酶的生物催化作用将硫酸盐还原为硫化物; 亚硝酸盐及其氧化物  $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}$ 、 $\text{N}_2\text{O}$  可通过干扰亚硫酸盐酶抑制 SRB 生长繁殖<sup>[7,9]</sup>。有研究者认为<sup>[10]</sup>, 氧化氮对 SRB 的抑制效果甚至比亚硝酸盐好;  $\text{NO}_2^-$  抑制硫酸盐向硫化物还原过程中酶的活性;  $\text{NO}$  含有 1 个活化态的未成对电子, 活性更高, 对许多细菌都有非专性毒性抑制作用, 即使浓度很低时也很明显;  $\text{N}_2\text{O}$  通过与酶内的过渡金属形成复合键改变酶的活性, 进而抑制细菌代谢作用。研究表明<sup>[11-12]</sup>, 向生物膜反应器中加亚硝酸钠时, 2.5 个月后硫酸盐的还原作用才逐渐恢复至加入前水平, 可见药效持续作用长是亚硝酸钠突出的优点。一般认为, 应用硝酸钠时在其还原过程中产生的亚硝酸钠也会起到同一作用; 但有人指出<sup>[13-14]</sup>, 硝酸钠还原为亚硝酸钠时反应速度较慢, 为总还原过程的控制速度步骤, 因此难以在溶液中积累足够的亚硝酸钠而起到上述作用。

#### 1.1.3 氧化还原电位的提高

一般认为, 电位高于 -100mV 时不利于厌氧微生物 SRB 的生长, 故可通过增加氧化电位加以抑制 SRB。有人认为<sup>[15]</sup>, 加入高浓度的硝酸盐可以产生  $\text{N}_2\text{O}$ , 增加电位, 从而有利于长期控制硫化物的产生。有人认为<sup>[16]</sup>,  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}/\text{NO}_2^-$  和  $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$  体系具有高的氧化还原电位 (分别为 433、1175 和 1355mV), 可对 SRB 起到长期抑制作用。

亚硝酸盐也可通过化学反应将硫化氢氧化为元素硫<sup>[17]</sup>。研究表明, 生物膜中的生物氧化明显比化学氧化快, 在盐水中亚硝酸盐生物除硫占 89%—90%, 化学除硫仅占 10%—

11%。在污水中 2 者的比例因亚硝酸盐和硫化物的初始浓度以及管道半径等因素而变化,且大管道中化学氧化比生物氧化速度快<sup>[18]</sup>。

鉴于亚硝酸盐既能通过 hNRB 微生物竞争抑制 SRB 生长,又能通过 aNRB 生物氧化除去硫化氢,还能通过干扰酶代谢和提高氧化电位抑制 SRB 生长,故认为它的效果比硝酸盐好<sup>[7,19-20]</sup>。有人认为,亚硝酸盐与氧化容量高的硝酸盐复配使用可能更为适合<sup>[10]</sup>。

微生物竞争抑菌与传统抗菌剂方法的比较如表 1 所示。值得一提的是:

(1) 无论从热力学还是动力学角度,水中硫酸盐和低级

脂肪酸的含量(后者大致可用 COD 值表示),尤其是低级脂肪酸的含量对微生物竞争具有重要的影响。在它们含量较低时,SRB 的活性低,有利于微生物竞争抑菌。

(2) 前人认为,微生物竞争法的一个突出优点是注入硝酸盐后,NRB 会不断生长繁殖,从而能够不断起作用<sup>[10,21]</sup>。事实上,随着 NRB 的不断生长繁殖,硝酸盐也在不断消耗,当消耗至一定浓度时 NRB 便停止生长繁殖且不能持续进行下去。

(3) NRB 和 SRB 之间的竞争不存在抗药性的问题,也不存在生物膜构成的障碍;但就硝酸盐或中间生成物亚硝酸盐和氧化氮干扰代谢机理而言,同非氧化型抑菌剂的作用机理类似,仍然可能存在抗药性和生物膜问题。

表 1 微生物竞争法与传统抗菌剂方法比较

Table 1 Comparisons between biological competition technology and conventional antimicrobial method

原理和应用范围	传统抗菌剂方法		微生物竞争法	
	非氧化型	氧化型	(亚)硝酸盐	(亚)硝酸盐和 NRB
对 SRB	抑菌	杀菌	抑菌	抑菌
对硫化物	无	除硫	除硫	除硫
作用机理	干扰代谢	氧化破坏细胞杀菌	(1)竞争营养物质;(2)亚硝酸盐和氧化氮干扰代谢; (3)高氧化还原电位	
剂量/(mg·L <sup>-1</sup> )	100	200	200—1000 (COD 高时加量高)	
对生物膜	无效	有效	对某些 SRB 无效	
抗药性	有	无	作用(1)无,作用(2)和作用(3)可能仍然难以避免	
持久性	水稀释减效	杀死除去	硝酸盐耗尽后终止	
适用场合	处理地面水	间歇处理地面水或近井地带	水处理和提高采收率	水处理和提高采收率 (缺乏 NRB 时)

## 1.2 应用研究

Okabe 等<sup>[14]</sup>研究了硝酸盐和亚硝酸盐对活化污泥胶膜中就地产硫化物的作用。微电极测量 O<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>S、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度剖面表明,硝酸盐或亚硝酸盐浓度在 0.3—1.0mmol/L 范围时可使硫化物还原区达到凝胶较深部位,降低了硫化物产生程度。一旦硝酸盐或亚硝酸盐停止加入,就地产生的硫化物立刻恢复。他们认为,硝酸盐或亚硝酸盐的作用不在于杀死 SRB,而是诱导异氧 NRB 和 SRB 竞争电子给予体和增加硫化物氧化。

Jenneman 等<sup>[23]</sup>研究表明,向阴沟污水中加入 60mmol/L 硝酸盐可长期抑制硫化物生成,而加入 20mmol/L 硝酸盐时仅有短暂作用。在废水处理中用硝酸盐消除 SRB 产生的臭味需反复处理,需投入高的化学剂费用。Kjellerup 等<sup>[7]</sup>在填砂柱中的研究表明,加入 0.71mmol/L 硝酸盐可抑制生成硫化物,抑制之后用 0.36mmol/L 硝酸盐可维持药效,可见该技术在经济上有吸引力。

1996 年,加拿大 Coleville 油田进行了最早的现场试验。即 50d 连续加入 500mg/L 硝酸铵后,2 口注水井中的硫化物完全除去,且 2 口临近油井水中的硫化物含量降低 50%—60%,NR-SOB 增加,据认为是自养硝酸盐还原菌起到了作用<sup>[23]</sup>。Voordouw 等<sup>[24]</sup>调查了 8 个油藏和 2 个气藏(表 2),发现

SRB、hNRB 和 VFA (低级脂肪酸)普遍存在于储层中,NR-SOB 则分布有限,故认为当水中只有 SRB 时,宜加入亚硝酸盐(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>),通过化学反应除硫<sup>[23]</sup>或同时加入硝酸盐和 NRB<sup>[23,25-26]</sup>。当水中存在 hNRB 或(和)NR-SOB 时,用具有较强氧化容量的硝酸盐较为适合,亚硝酸盐可通过硝酸盐还原得到<sup>[9]</sup>。

1999 年,有人向北海 Veslefrikk 和 Gullfaks 油田连续注低浓度(0.25—0.33mmol/L)溶液,用最或然计数法(Most-Probable-Number method,MPN)测定了 SRB 和 NRB 的数目;用放射性计数法(radiorepiratory measurement)测定了硫化氢产生的速度,结果发现 2 油田水中的 SRB 数目在 1 个月之后明显减少,4 个月之后已检测不出,而随着 SRB 数目和活性的减少,NRB 的数目明显增加。注入低浓度硝酸盐期间,SRB 数目保持在 10<sup>2</sup>—10<sup>4</sup> 个/cm<sup>2</sup> 之间,SRB 的活性在 7—8a 期间长期保持在低水平上(分别不超过 0.3 和 0.9g H<sub>2</sub>S/(cm<sup>2</sup>·d<sup>-1</sup>));NRB 的数目保持在 10<sup>6</sup>—10<sup>7</sup> 个/cm<sup>2</sup> 之间<sup>[27]</sup>。

现场试验结果表明,亚硝酸盐浓度和作用时间对 SRB 的抑制作用如图 1 所示。可以看出,抑制作用随亚硝酸盐浓度和作用时间的增加而增加,亚硝酸盐为 100mg-N/L(即 N 元素质量浓度为 100mg/L)时,12d 后抑制率可达到 90%。加入亚硝酸盐后,水中硫离子浓度的变化如图 2 所示。可以看出,停止加亚硝酸 3d 后硫离子浓度趋近于 0,这说明 SRB 的活性

表 2 SRB、NRB 和 NR-SOB 在储层样品中的分布

Table 2 Distribution of SRB, NRB and NR-SOB in field samples

油田	所在地	类型	温度/°C	样品(数目)	SRB	hNRB	NR-SOB
DR	Oklahoma	油	35	油,水(3)	+	+	—
FU	Texas	油	30—35	水(3)	+	+	+
OR	Venezuela	油,气	60	水(1)	+	+	—
DA	Venezuela	油,气	40	水(1)	+	+	—
KO	Chad	油	50	油,水(3)	—	+	+
CA	Argentina	油	30	水(4)	+	+	+
EK	North Sea	油	60	水(2)	+	—	—
TS	Alberta	油砂	22	水(1)	+	+	+
RE	Iowa	储气	25	水(3)	—	+	—
ME	Alberta	储气	25	水(1)	+	+	+
NA	Ontario	储罐	50	油,水(3)	+	+	—

注：“+”表示存在；“—”表示不存在。

Notes: “+” means that the matter exists; “—” means that the matter does not exist.

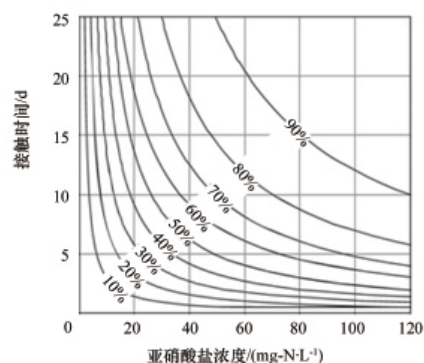


图 1 亚硝酸盐浓度和接触时间对抑制 SRB 的影响

Fig. 1 Effects of nitrite concentration and exposure time on the inhibition of SRB

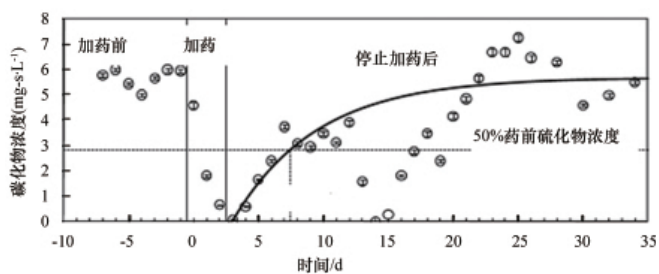


图 2 亚硝酸盐对 SRB 产生硫化物的影响

Fig. 2 Effects of nitrite on the sulfide production of SRB

完全被抑制;7d后 SRB 活性恢复至 50%,故认为在工业上间歇加亚硝酸盐可将 SRB 的活性控制在较低的水平<sup>[28]</sup>。

2006 年,在大庆油田用含油污水培养出含有硝酸盐还原菌等的菌液,在水处理厂进行了现场试验,使含油污水中 SRB 由 6000 个/mL 降至 18 个/mL,硫化物质量浓度由 7.8mg/L 降至 1.7mg/L。向废水系统过滤罐进口投加抑制剂后,硫化物的平均质量浓度由原来的 7.5mg/L 逐步降至 1.2mg/L,滤后水中硫化物的平均质量浓度由 10.2mg/L 逐步降至 1.0mg/L<sup>[29-30]</sup>。

虽然已有大量试验证明,注入硝酸盐或亚硝酸盐可以促进反硝化菌生长繁殖,有助于抑制 SRB 生长和除硫,并可能使原油增产,但在研究过程中也出现了一些矛盾现象。

(1) 有试验表明,为了有效抑制污泥中 SRB 生长,硝酸盐浓度需在 60mmol/L 左右,当浓度降至 20mmol/L 时只有短暂效果,故认为该法硝酸盐用量偏大,成本偏高<sup>[6]</sup>。另有试验表明,为了有效抑制填砂柱中 SRB 生长,硝酸盐浓度可低至 0.71mmol/L,在 SRB 生长受到抑制以后,硝酸盐浓度可降至 0.36mmol/L,因此认为该法硝酸盐用量少,成本低<sup>[5]</sup>。

(2) 硝酸盐处理有无长期效果亦有争论。有人认为有效时间短,必须连续加入<sup>[31]</sup>。在 Oklahoma、Kansas、Texas 和 Wyoming 油田多口气井上的试验却表明,加 1 次硝酸盐后抑制 SRB 生长的作用可达数周至数月之久<sup>[32]</sup>;向气井中停止加亚硝酸盐 7 个月后,采出气中 H<sub>2</sub>S 浓度仍然很低。向油水分离器中加入亚硝酸盐,使水相中 H<sub>2</sub>S 质量浓度从 40—60mg/L 降至 1mg/L 以下,60d 后气相中 H<sub>2</sub>S 浓度从 140mg/L 降至 1mg/L 以下,并发现油产量同时增加<sup>[33]</sup>。近年来有研究表明<sup>[34]</sup>,生物膜中某些 SRB 如 *Desulfomicrobium* 和 *Desulfovibrio* 即使在硝酸盐作用下也能成活下来,一旦硝酸盐耗尽之后会迅速恢复活性。

有人认为,亚硝酸盐及其氧化物对 SRB 有很强的毒性,故有长期效果,它们是硝酸盐还原的中间产物,所以硝酸盐也有类似效果。但如上所述,硝酸盐或亚硝酸盐与 H<sub>2</sub>S 反应后,亚硝酸盐及其氧化物的浓度很低,未必能起到延迟作用。

有人发现,将硝酸盐用于 Draugen 油田时,产出水变酸,腐蚀加剧,认为可能与 NR-SOB 的代谢产物有关<sup>[35]</sup>。有人则认为,腐蚀加剧与亚硝酸盐和硫化物的生物或化学反应生成的多硫化物有关;鉴于有机质易将这种多硫化物还原为硫化物,硝酸盐易将之氧化为硫酸盐,通过控制硝酸盐和硝酸盐还原菌的浓度可以控制多硫化物的生成<sup>[36]</sup>。

(3) 注入硝酸盐水溶液,通过生物竞争排除机理,解除了

含硫物质堵塞地层,释出的氮气有助于原油流动,提高了原油的产量;但有人在用岩心做试验时发现,注入硝酸盐水溶液使渗透率下降 20%左右,认为这是 NRB 产生细胞外多糖堵塞所致<sup>[31]</sup>。

## 2 硫氧化菌对硫化物的去除

硫氧化菌(Sulfide Oxidizing Bacteria,SOB)大致可分为 2 类:无色硫细菌和有色硫细菌。无色硫细菌(*Colorless Sulphur Bacteria*)如氧化硫杆菌(*Thiooxidans*)、氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus*)、排硫硫杆菌(*Thiopariis*)和脱氮硫杆菌(*Thiobacillus fenitricans*),除脱氮硫杆菌外均为好氧菌,将硫化物作为给电子体,还原为硫酸盐,以氧为受电子体,氧化硫化物获得能量,属于化能无机营养型(自养型)细菌。脱氮硫杆菌为兼性厌氧菌,有氧时与其他无色硫细菌相同,无氧时以硝酸盐为受电子体,还原为氨或氮气(后者包括各种中间产物),故该菌亦称自养硝酸盐还原菌。

硫化物的生物氧化比化学氧化速率高,且硫化物含量较低时尤为明显。早在 1994 年 Buisman 便已发现,当水中硫化物的质量浓度为 150mg/L 时,生物氧化的速度是化学氧化速度的 7 倍;当水中硫化物质量浓度降低至 10mg/L 时,生物氧化速度则为化学氧化的 75 倍。硫化物生物氧化较化学氧化不但可节约 62%左右的运行费用,而且单质 S 容易回收,处理过程中产生的硫酸盐及硫代硫酸盐较少,不产生化学污泥<sup>[37]</sup>。

有色硫细菌(*Color Sulphur Bacteria*)包括绿色硫细菌(*Green Sulphur Bacteria*)和紫色硫细菌(*Purple Sulphur Bacteria*),在光能作用下以硫化物作为给电子体,氧化为硫酸盐,以 CO<sub>2</sub> 为受电子体,还原为碳水化合物,属于光能无机营养型(亦称光能自养型)细菌。它们大多为光合厌氧细菌,生长环境需要隔绝氧气和耗费光能,未成为生物除硫工艺研究的重点。

## 3 短芽孢杆菌的抑制作用

短芽孢杆菌(*Bacillus* sp)分泌出的短杆菌肽 S(Gramicidin S,GS)是由 10 个氨基酸组成的环状肽类物质<sup>[38]</sup>。该分泌物可通过破坏 SRB 细胞膜结构,使细胞内含物释放,抑制其生长繁殖,减少金属腐蚀<sup>[39]</sup>。有人从油田水中分离出 40 种短芽孢杆菌,发现其中枯草短芽孢杆菌(LFE-1)、芽孢杆菌(*Bacillus firmus* H<sub>2</sub>O-1)和地衣芽孢杆菌(T6-5)对 SRB 有明显的抑制作用。短芽孢杆菌可直达生物膜,比化学杀菌剂优越<sup>[40]</sup>。短芽孢杆菌 T6-5 和 H<sub>2</sub>O-1 分泌的短杆菌肽 S 还可破坏、清除管线上的 SRB 生物膜,减少腐蚀<sup>[41]</sup>。

## 4 噬菌体的杀菌作用

噬菌体,又称细菌病毒,可以侵入“宿主”细菌细胞内,通过酶作用破坏细胞壁,使细菌裂解,通过“溶菌作用”将细菌杀死。现已鉴定出几百种这类病毒<sup>[42]</sup>。噬菌体可在 2d 内杀死 99.9%的大肠杆菌和产气肠杆菌等有害细菌,国外已用于杀

灭家畜体内的病原菌<sup>[43-44]</sup>,并有商业产品上市。应用噬菌体的优点是:(1) 具有高度的特异性,仅对“宿主”有作用,对其他微生物没有作用;(2) 每个噬菌体可以产生几百个子噬菌体,繁殖力极强,用量少;(3) 可在“宿主”细胞内通过变异适应细菌的变异,不会产生抗药性。采用噬菌体可能成为杀灭 SRB 的一种经济、有效的方法<sup>[5]</sup>。但由于噬菌体宿主范围窄且具有高度的特异性,很难筛选到对目的病原菌合适的噬菌体;SRB 种类繁多,不是微生物学中的一类严格菌种,所以其杀灭抑制尤为困难;加之对噬菌体不同种之间及噬菌体行为模式缺乏深层次了解,研究进展一直不大。有人从油田水中分离出以 SRB 为“宿主”的噬菌体,证明用它代替杀菌剂杀灭 SRB 是可行的<sup>[45]</sup>,但离实际应用还有很多工作。

## 5 结论

本文论述了用微生物控制硫酸盐还原菌及其代谢产物硫化氢方法的原理、研究进展以及存在的问题。其中,反硝化菌法在油田中以及硫氧化菌在污水处理中已做过工业试验,短芽孢菌法和噬菌体法还处于基础研究阶段。本文着重讨论了这些方法的基本原理和存在问题。

## 参考文献 (References)

- [1] Barton L L, Fauque G D. Biochemistry, physiology and biotechnology of sulfate reducing bacteria[J]. *Adv Appl Microbiol*, 2009, 68: 41-98.
- [2] Postgate J R. The sulfate-reducing bacteria [M]. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1984.
- [3] Li W, Fang M, Guang Z. Composition and dynamics of sulfate-reducing bacteria during the waterflooding process in the oil field application[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(8): 2643-2650.
- [4] Donlan R M, Costerton J W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2002, 15(2): 167-193.
- [5] Zhang L, Schryver P D, Gussem B D. Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems[J]. *Water Research*, 2008, 42(1-2): 1-12.
- [6] Eckford R E, Fedorak P M. Planktonic nitrate-reducing bacteria and sulfate-reducing bacteria in some western Canadian oil field waters[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2002, 29 (2): 83-92.
- [7] Nemati M, Jenneman G E, Voodouw G. Mechanistic study of microbial control of hydrogen sulfide production in oil reservoirs [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 74(5): 424-434.
- [8] 张照韩, 刘广民, 温青, 等. COD 对反硝化抑制硫酸盐还原的影响[J]. *水处理技术*, 2007, 33(11): 38-41. Zhang Zhaohan, Liu Guangmin, Wen Qing, et al. *Technology of Water Treatment*, 2007, 33(11): 38-41.
- [9] Hubert C, Nemati M, Jenneman G E, et al. Corrosion risk associated with microbial souring control using nitrate or nitrite [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 68(2): 272-282.
- [10] Dennis D M, Hitzman D O. Advanced nitrate based technology for control and improved oil recovery [C]//Society of Petroleum Engineers. International symposium on oilfield chemistry. Houston: Society of Petroleum Engineers, 2007.
- [11] Okabe S, Ito T, Satoh H, et al. Effect of nitrite and nitrate on biogenic sulfide production in sewer biofilms determined by the use of microelectrodes[J]. *Water Sci Technol*, 2003, 47(11): 281-288.

- [12] Yang W, Volleertesen J, Hvitved-Jacobsen T. Anoxic sulfide oxidation in wastewater of sewer networks [J]. *Water Sci Technol*, 2005, 52(3): 191-199.
- [13] Mohanakrishnana J O, Gutierrez R J, Meyer Z. Nitrite effectively inhibits sulfide and in a laboratory scale sewer reactor [J]. *Water Research*, 2008, 42(14): 3961-3971.
- [14] Mohanakrishnana J O, Gutierrez R L, Meyer Z. Impact of nitrate addition on biofilm properties and activities in rising main sewers [J]. *Water Research*, 2009, 43(17): 4225-4237.
- [15] Reinsel M A, Sears J T, Stewart P S, et al. Control of microbial souring by nitrate, nitrite or molybdate in a sandstone column [J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 17(2): 128-136.
- [16] Jenneman G E, McInemey M J, Knapp R M. Effect of nitrate on biogenic sulfide production [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51(6): 1205-1211.
- [17] Kjellerup B V, Veeh R H, Sumithraratne P, et al. Monitoring of microbial souring in chemically treated, produced-water biofilm systems using molecular techniques [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2005, 32(4): 163-170.
- [18] Mahmood Q, Zheng P, Cai J, et al. Anoxic sulfide biooxidation using nitrite as electron acceptor [J]. *J Hazard Mater*, 2007, 147 (1-2): 249-256.
- [19] 董慧明, 张颖, 王沈海, 等. 反硝化细菌对硫酸盐还原菌的竞争抑制研究 [J]. *环境工程学报*, 2008, 2(1): 130-133.  
Dong Huiming, Zhang Ying, Wang Shenhai, et al. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2008, 2(1): 130-133.
- [20] 庄文, 段继周, 邵宏波, 等. 油田采出液中硝酸盐还原菌的分离培养及对硫酸盐还原菌的抑制研究 [J]. *科学技术与工程*, 2010, 10(17): 4125-4129.  
Zhuang Wen, Duan Jizhou, Shao Hongbo, et al. *Science Technology and Engineering*, 2010, 10(17): 4125-4129.
- [21] Achliya A. New nitrate-based treatments—A novel approach to control hydrogen sulfide in reservoir and to increase oil recovery [C]//SPE, EAGE. Proceedings of 68th EAGE Conference & Exhibition. Vienna: SPE, 2006.
- [22] Garcia-de-Lomas J, Corzoa A, Carmen P M, et al. Nitrate stimulation of indigenous nitrate-reducing, sulfide-oxidizing bacterial community in wastewater anaerobic biofilms [J]. *Water Research*, 2007, 41(14): 3121-3131.
- [23] Jenneman G E, Moffitti P D, Bala G A, et al. Sulfide removal in reservoir brine by indigenous bacteria [J]. *SPEPF*, 1999, 14(3): 219-225.
- [24] Voordouw G, Buziak B, Lin S, et al. Use of nitrate for the management of the sulfur cycle in oil and gas fields [C]//Society of Petroleum Engineers. International symposium on oilfield chemistry. Houston: Society of Petroleum Engineers, 2007.
- [25] Hitzman O, Sperl Q T, Stantbeck K A. Method for reducing the amount of and preventing the formation of hydrogen sulfide in an aqueous system: US, 5405531[P]. 1995-04-11.
- [26] 魏利, 马放, 吕晓磊, 等. 油田地面水中硫酸盐还原菌活性的生态调控方法及所使用的抑制剂: 中国, 101313681[P]. 1995-12-03.  
Wei Li, Ma Fang, Lu Xiaolei, et al. Ecological method for controlling the activity of sulfate reducing bacteria in oil field surface water and the use of inhibitors: China, 101313681[P]. 1995-12-03.
- [27] Bødtker G, Thorstenson T, Lillebø B L. The effect of long-term nitrate treatment on SRB activity, corrosion rate and bacterial community composition in offshore water injection systems [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2008, 35(12): 1625-1636.
- [28] Jiang G M, Gutierrez O, Sharma K, et al. Effects of nitrite concentration and exposure time on sulfide and methane production in sewer systems [J]. *Water Research*, 2010, 44(14): 4211-4251.
- [29] Dongsheng L, Hongqi Z, Jianxing C. Field tests of sulfide removing biologically in system [C]//Society of Petroleum Engineers. Proceedings of SPE annual technical conference and exhibition. San Antonio: Society of Petroleum Engineers, 2006.
- [30] 陈忠喜, 冯英明. 利用反硝化技术解决油田水处理系统中硫化物问题的技术实践 [J]. *工业用水与废水*, 2011, 42(2): 40-42, 81.  
Chen Zhongxi, Feng Yingming. *Industrial Water & Wastewater*, 2011, 42(2): 40-42, 81.
- [31] Morris E A, Kenney T M, Pope D H. Field and laboratory tests on nitrate treatment for potential use in natural gas operator [C]//Society of Petroleum Engineers. Proceedings of SPE/EPA exploration and production environmental conference. Houston: Society of Petroleum Engineers, 1995.
- [32] Hitzman D O, Dennis D M. Sulfide removal and prevention in gas wells [C]//Society of Petroleum Engineers. SPE production operations symposium. Oklahoma City: Society of Petroleum Engineers, 1998.
- [33] Sturman P J, Goeres D M, Wintersm A. Control of hydrogen sulfide in oil and gas wells with nitrite injection [C]//Society of Petroleum Engineers. Proceedings of SPE annual technical conference and exhibition. Houston: Society of Petroleum Engineers, 1999.
- [34] Mohanakrishnana J, Kofoed M V W, Barr W. Dynamic microbial response of sulfidogenic wastewater biofilm to nitrate [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 91(6): 1647-1657.
- [35] Vik E A, Janbu A O, Henning L B, et al. Nitrate-based souring mitigation of produced water—side effect and challenges from draugen produced water reinjection pilot [C]//Society of Petroleum Engineers. International symposium on oilfield chemistry. Houston: Society of Petroleum Engineers, 2007.
- [36] Johnston S L, Cunningham G, Voordouw G, et al. Sulfur-reducing bacteria may lower corrosion risk in oil fields by coupling oxidation of oil organics to reduction of sulfur-polysulfide to sulfide [C]//NACE International. Corrosion conference series. San Antonio: NACE International, 2010.
- [37] Burgess J E, Parsons S A, Stuetz R M. Developments in odour control and waste gas treatment biotechnology: a review [J]. *Biotechnology Advances*, 2001, 19(1): 35-63.
- [38] Hiro Y Y, Koi O, Kazuhiko T. Mode of antibacterial action by gramicidin S [J]. *Biochem*, 1986, 100(5): 1253-1259.
- [39] Jayaraman A, Mansfeld F B, Wood T K. Inhibiting sulfate-reducing bacteria in biofilms by expressing the antimicrobial peptides indolicidin and bactenecin [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 1999, 22(3): 167-175.
- [40] Zuo R J. Biofilms: Strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 76(6): 1245-1253.
- [41] Korenblum E, der Weid I, Santos A S. Production of antimicrobial substances by *Bacillus subtilis* LFE-1, *B. firmus* H<sub>2</sub>O-1 and *B. licheniformis* T6-5 isolated from an oil reservoir in Brazil [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 98(3): 667-675.
- [42] Calendar R L. The bacteriophages [M]. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2006.
- [43] Verthe K, Possemiers S, Boon N, et al. Stability and activity of an *Enterobacter aerogenes*-specific bacteriophage under simulated gastrointestinal conditions [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, 65 (4): 465-472.
- [44] Verthe K, Verstraete W. Use of flow cytometry for analysis of phage-mediated killing of *Enterobacter aerogenes* [J]. *Res Microbiol*, 2006, 157(7): 613-618.
- [45] Summer E J, Summer N S, Janes C, et al. Phage of sulfate reducing bacteria isolated from high saline environment [C]//NACE International. Corrosion conference series. San Antonio: NACE International, 2011.

(责任编辑 孙秀云, 马骁骁)