

微生物脱硫技术简介



李国强，魏东盛，邓飞

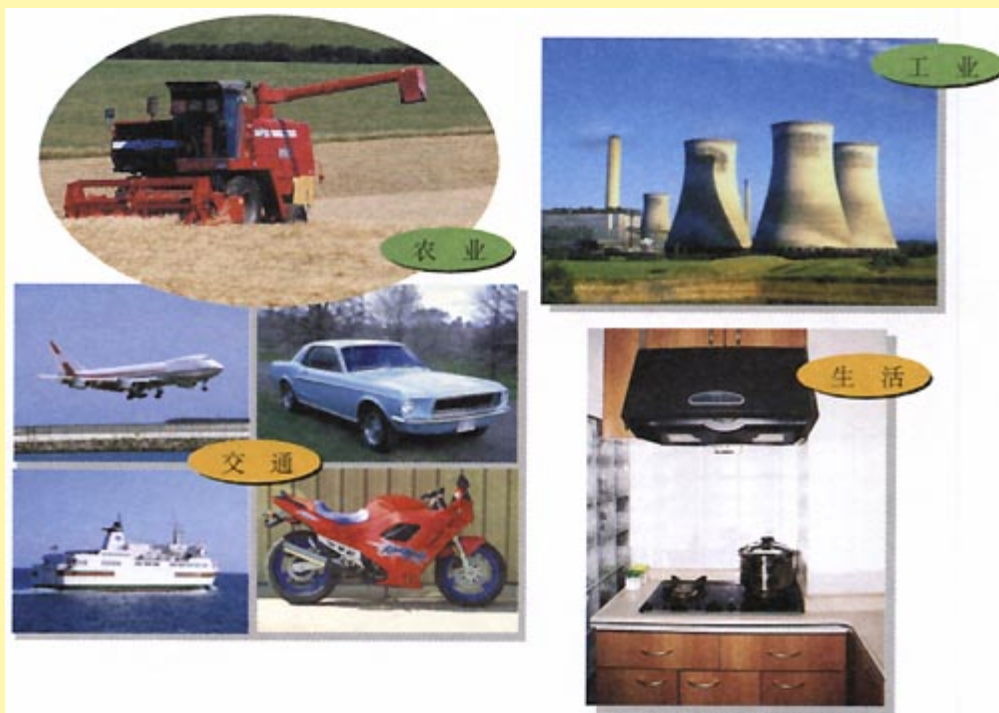
参考书目：

高培基等，资源环境微生物技术，化学工业出版社

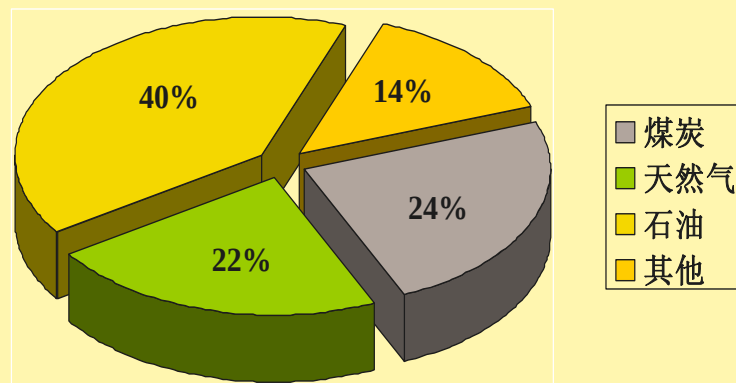
宋存江等，微生物发酵工程实验，南开大学出版社

一、燃料油脱硫的必要性

➤ 能源——约85%来自化石燃料



化石燃料的应用



能源消费量的分布

一、燃料油脱硫的必要性

➤ 可开采原油含硫量逐年上升

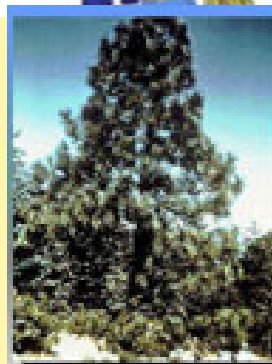
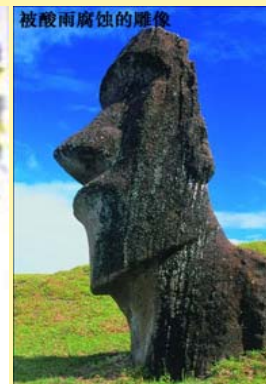
不同来源的燃油硫含量0.03~10%(w/w)。

➤ 含硫固体燃料或液体燃料

SO_2 和 SO_3 等

➤ 危害

SO_2 或 SO_3 与水蒸气化合
合成 H_2SO_3 或 H_2SO_4 酸雨



Healthy



Dying





一、燃料油脱硫的必要性

➤ 限制燃油中的含硫量法规（以车用燃油为例）

国家或地区	现行标准 mg/L	新标准 mg/L	生效时间
日本（政府案）	500	50	2005 年
美国（政府案）	500	15	2006 年
欧洲	350	50	2005 年

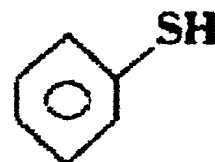
目前我国石化公司和环保局规定：

柴油含硫量 $\leq 800\text{mg/L(ppm)}$ ，欧美规定柴油含硫量 $\leq 50\text{mg/L}$

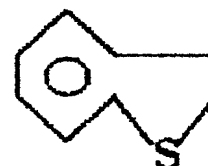
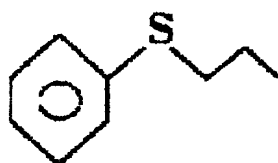
汽油含硫量 $\leq 300\text{mg/L(ppm)}$ ，欧美规定汽油含硫量 $\leq 15\text{mg/L}$ 。

二、原油中的含硫组分

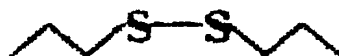
硫醇类



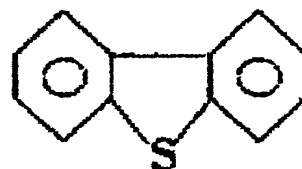
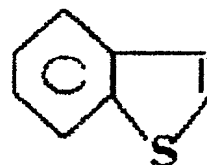
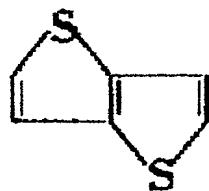
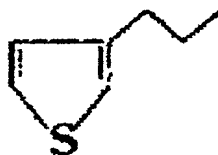
硫醚类



二硫化物



噻吩类





三、燃料油脱硫的常用方法

➤ 碱洗

长期以来，炼油工业一般采用碱洗的办法来脱除油品中的硫化物，这一方法较为简单，但存在环境污染严重，脱硫效率低等诸多问题。原油通过碱洗，可以去除绝大部分硫化物，但却产生大量的含硫废水，如果不加以妥善处理，对环境的危害会相当严重。此外，由于碱洗对有机硫化物的脱除率不高，油品中还含有不同程度的有机硫化物。

➤ 加氢脱硫法（Hydro-Desulfurization，简称HDS）

从燃料油中脱硫的一种传统技术。在加氢脱硫过程中，石油馏分在无机催化剂和氢气的催化下在高温高压下将有机硫分子转化成 H_2S ， H_2S 经过处理生成元素硫。但是加氢脱硫成本高，而且效率很低。特别是它对脱除有机硫，尤其是带苯环的硫化合物效果很差。



三、燃料油脱硫的常用方法

➤ 生物脱硫法（Bio-desulfurization，简称BDS）

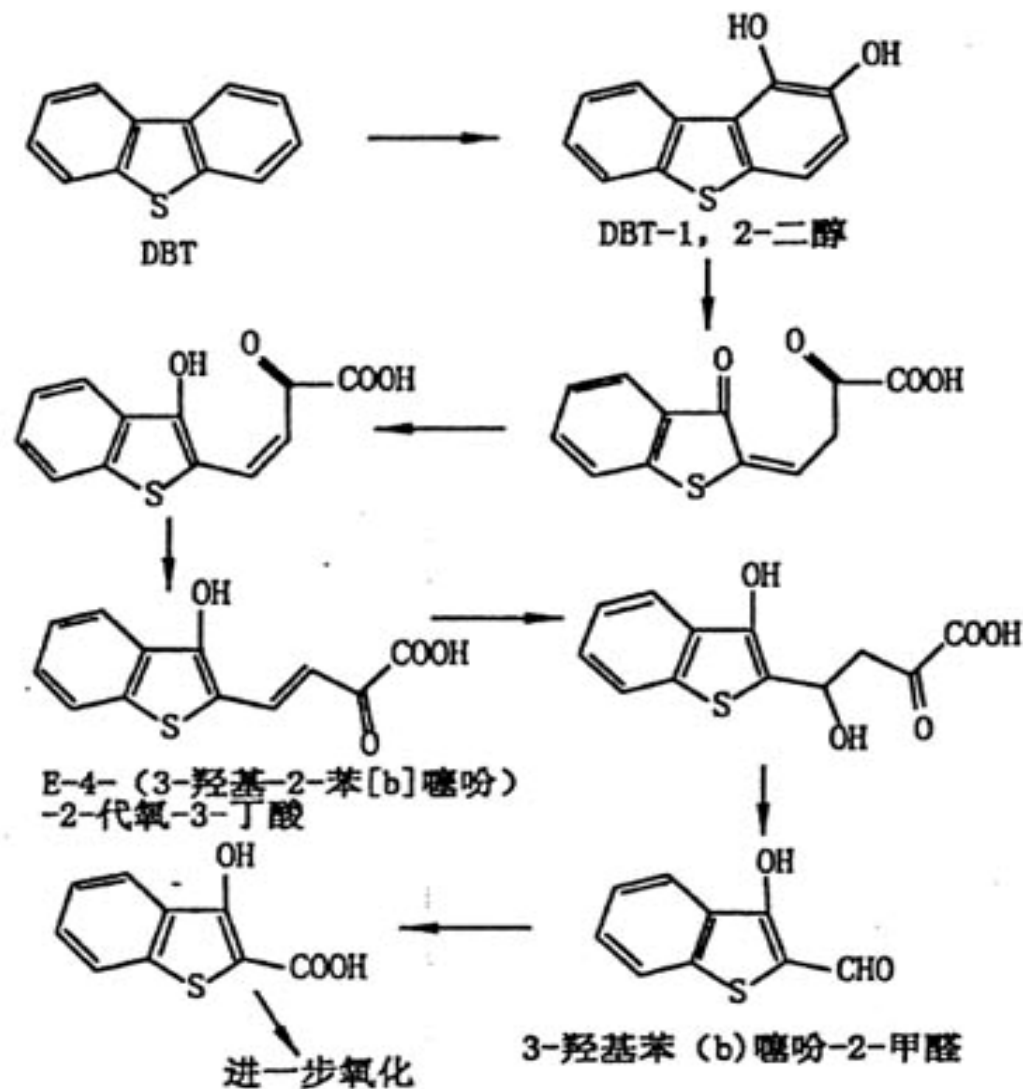
又称生物催化剂脱硫，这是一种在常温常压下利用需氧或厌氧菌去除结合在杂环化合物中的有机硫的一种新技术。脱硫细菌中的酶可以有选择地氧化硫原子进而切开碳硫键，而其烃骨架并不受到影响，也就是说并不影响烃的燃烧热值。

➤ BDS技术的优点

能在常温常压下操作；较低的二氧化碳排放量和较少的能耗；较少的投资和操作费用等。发展**BDS**并不是为了取代传统的**HDS**技术，而是作为**HDS**的补充。

Pseudomonas alcaligenes

损失燃油热值！



四、燃料油生物脱硫的机理

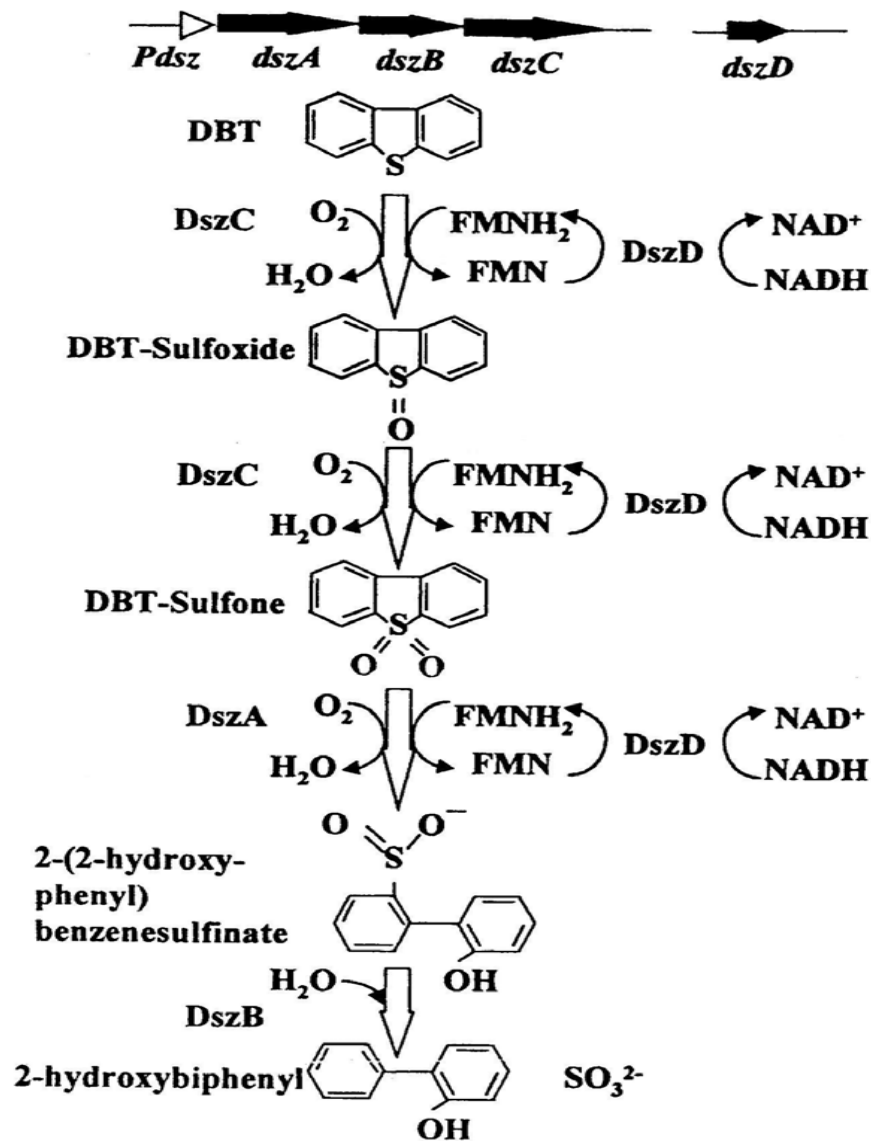
2. “4S”途径

1993年

Gallagher

Rhodococcus rhodochrous

可以经过4步反应将硫原子从DBT上脱下来，生成硫酸根，而烃结构以二羟联苯（2-HBP）的形式得以保持，因此这条途径被称之为“4S”途径。这条途径所需的三种酶基因呈簇排列，并受同一操纵元的调控。脱硫基因簇由三个开放阅读框架 $dszA$ 、 $dszB$ 和 $dszC$ 组成。 $dszA$ 编码DBT磺氧化酶； $dszB$ 编码脱硫酶； $dszC$ 编码DBT单加氧酶。此外在另一条基因簇上的NADH氧化还原酶基因（ $dszD$ ）也参与前两步反应。





五、脱硫细菌

➤能以“4S”途径脱硫的菌种

拉丁名	中文名	分离人	分离时间	参考文献
<i>Rhodococcus rhodochrous</i> IGTS8	玫瑰红球菌IGTS8	Kilbane	1973	Gallagher et al. 1993
<i>Rhodococcus erythropolis</i> D-1	红平红球菌D-1	Izumi	1994	Izumi et al. 1994
<i>Xanthomonas</i> sp.	黄单胞菌	Constanti	1994	Constanti et al. 1994
<i>Nocardia globelula</i>	戈比鲁诺卡氏菌	Wang	1994	Wang et al. 1994
<i>Gordona</i> sp. CYKS1	戈登氏菌CYKS1	Rhee	1998	Rhee et al. 1998
<i>Mycobacterium goodii</i> X7B	古地分支杆菌X7B	李福利	2001	Li et al. 2001
<i>Rhodococcus erythropolis</i> DS-3	红平红球菌DS-3	马 挺	2002	Ma et al. 2002

经“4S”途径的脱硫细菌不能以DBT作碳源，只能以脱下的 SO_3^{2-} 作硫源。



六、脱硫菌株的遗传改良

是不是我们得到了通过“4S”途径脱硫的菌株就可以对燃油进行生物脱硫了呢？

生物脱硫催化剂的活力达到**1.2~3 mmol S/g (dry cell weight)/h**

1. 生物催化剂的活力
2. 生物催化剂的底物识别范围
3. 脱硫工艺的选择
4. 反应器的设计
5. 菌/油/水的分离

.....



六、脱硫菌株的遗传改良

➤ 提高生物催化剂活力的方法？

1. 提高限速酶DszB的表达量

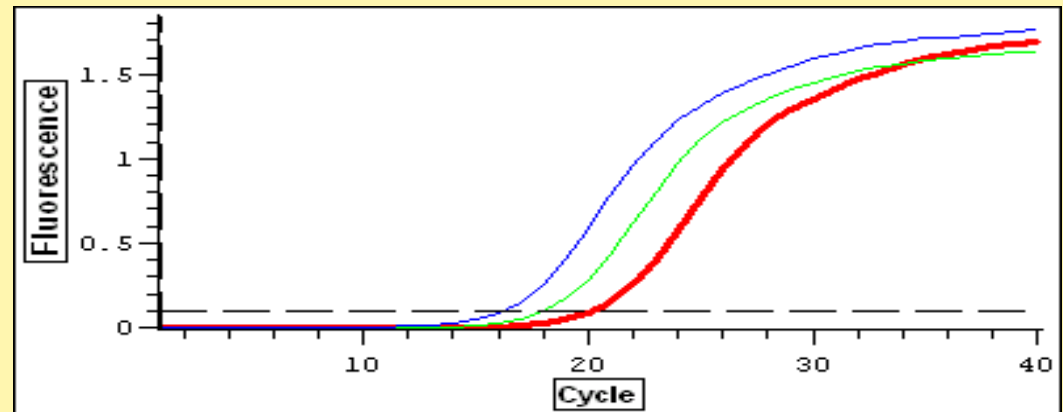
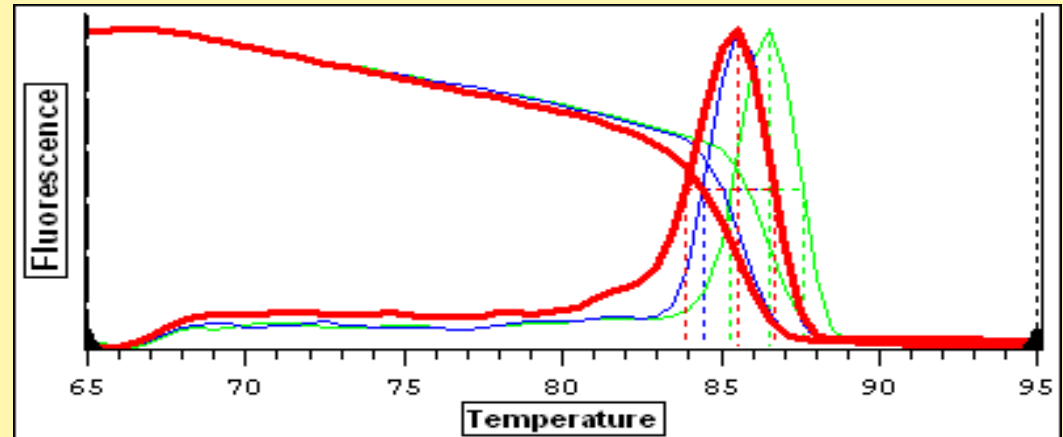
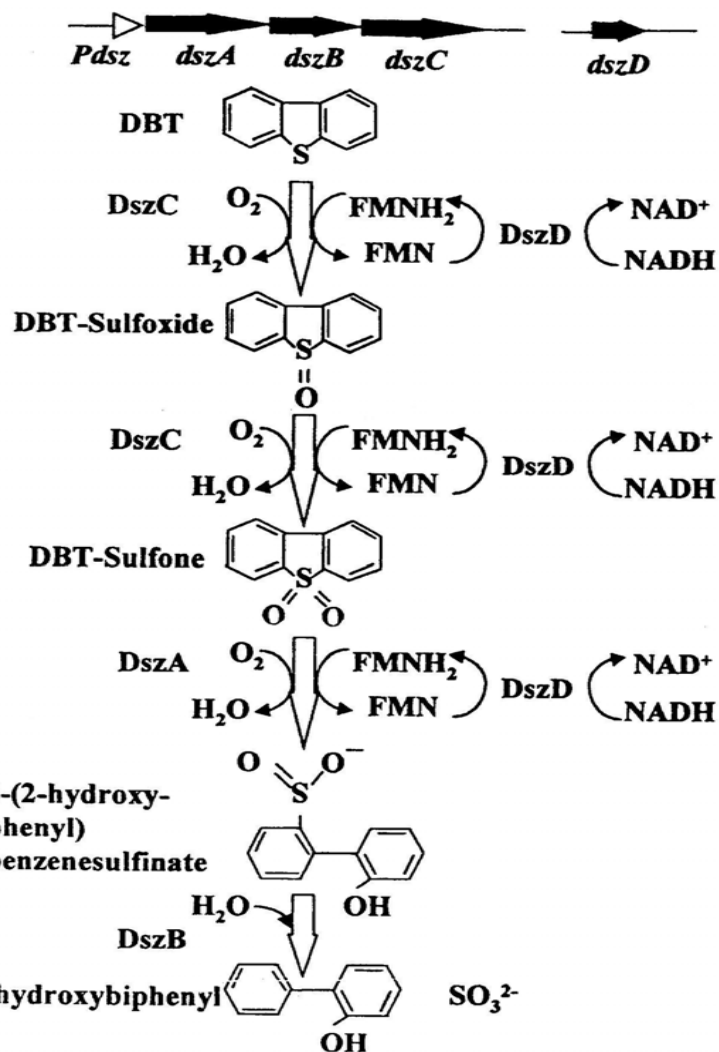
2. 共表达黄素还原酶DszD

3. 解除脱硫产物的抑制

.....

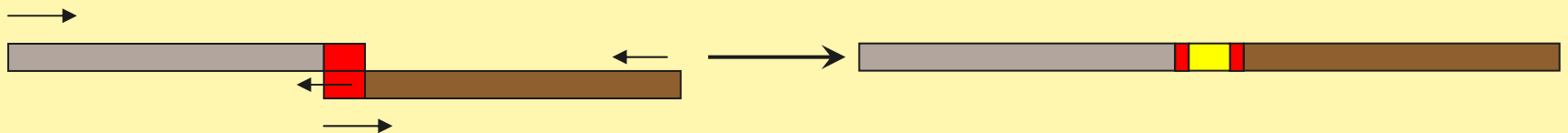
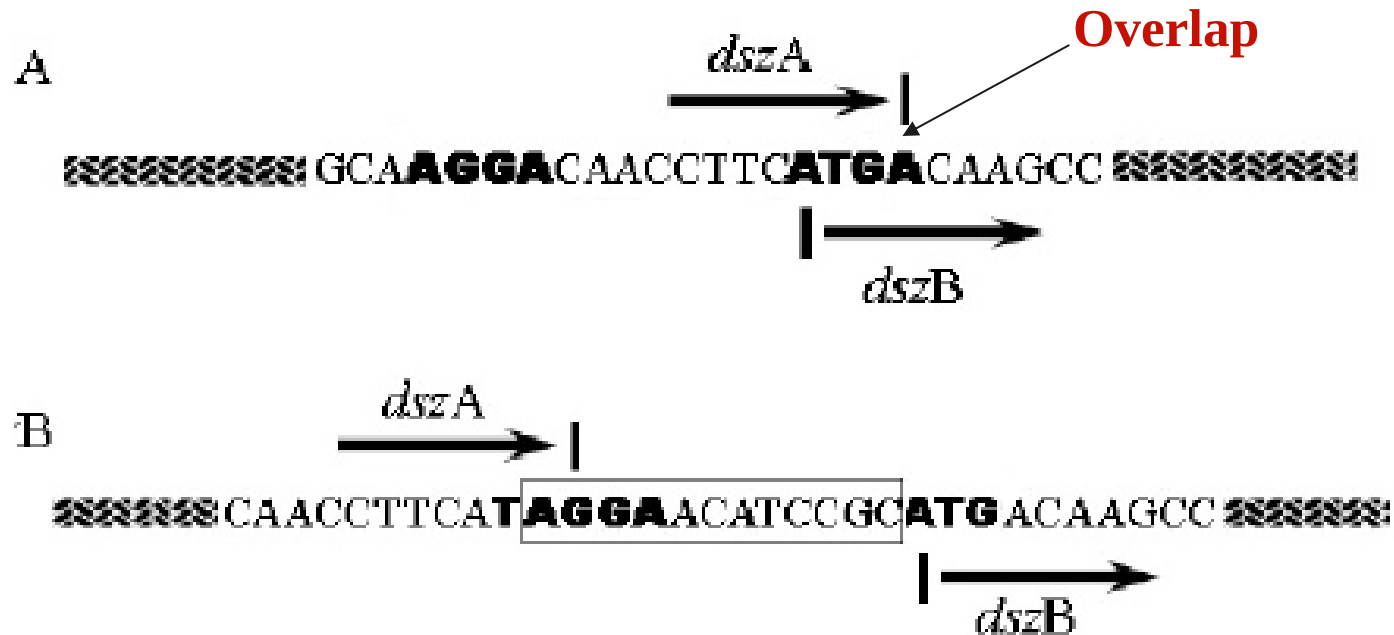


The redesigned operon strategy

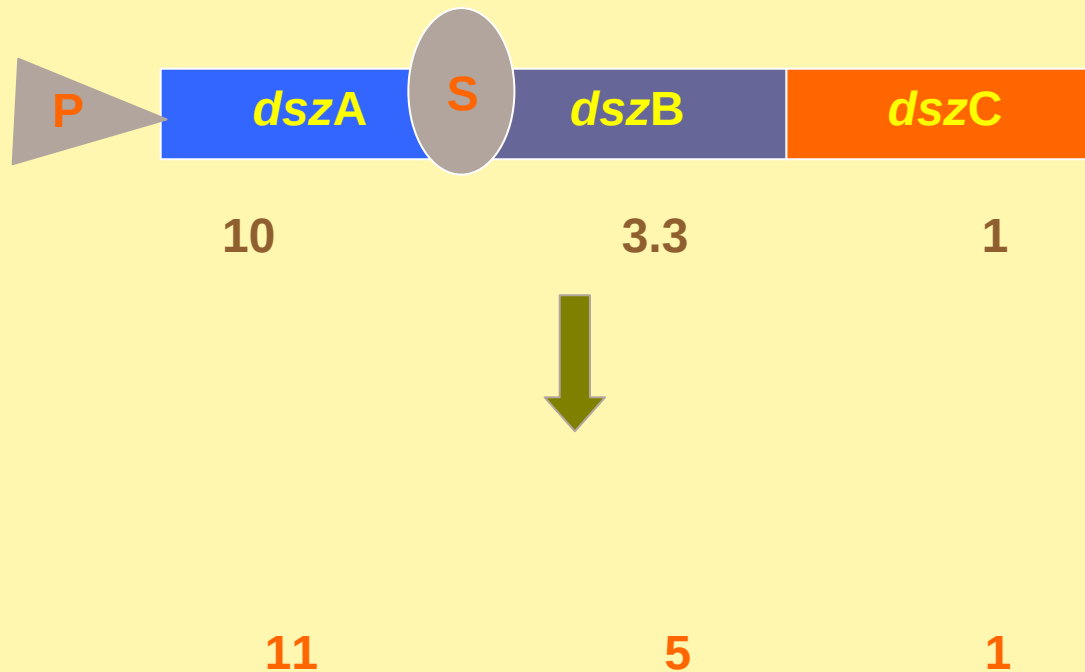
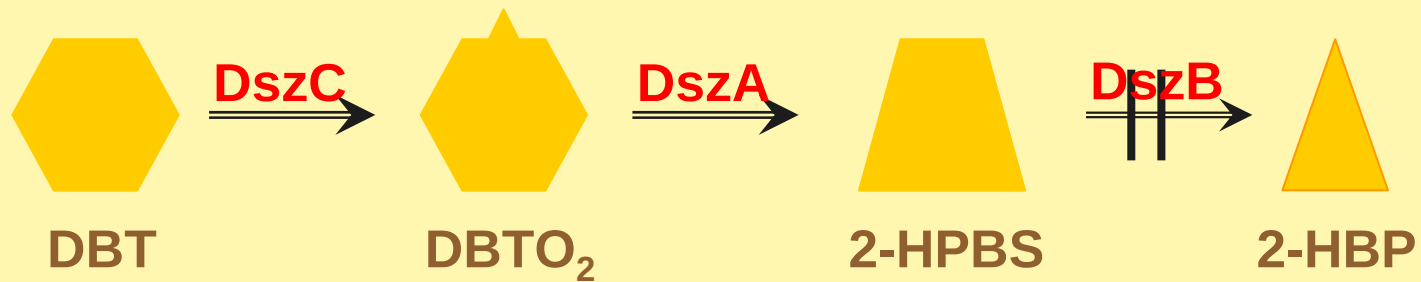


DszA:DszB:DszC=11:3.3:1

The redesigned operon strategy



The redesigned operon strategy



The redesigned operon strategy

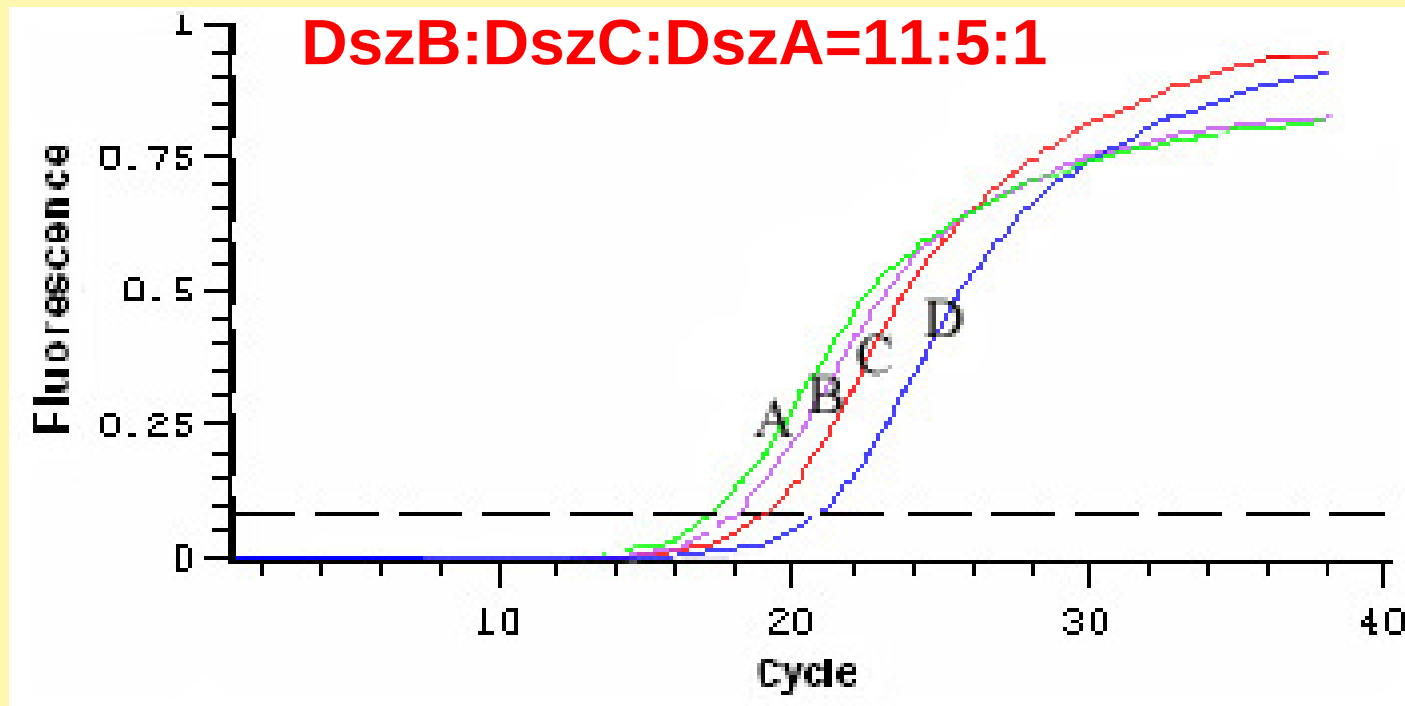


Fig. Amplification plots of rearranged *dsz* operon in the recombinant *Rhodococcus* sp.DRB
A *dszB*, B NADH dehydroxygenase gene, C *dszC*, D *dszA*.



七、生物脱硫菌株的筛选

➤ 脱硫菌株的筛选原则

1. 能以“4S”途径脱硫
2. 不能利用石油烃作为碳源
3. 可以最大范围地利用燃油中的含硫化合物
4. 具有较高的催化活力
5. 对燃油中的成份不敏感

.....

七、生物脱硫菌株的筛选

➤ 脱硫菌株的筛选方法

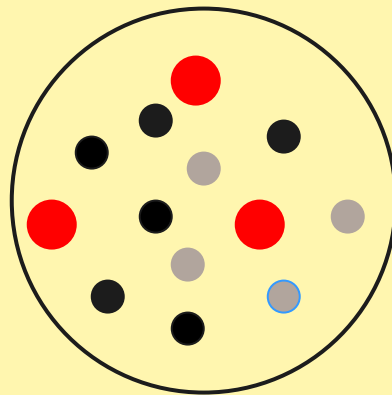
1. 培养基

组合培养基还是天然培养基？

菌株筛选：好气培养

富集培养： KH_2PO_4 ， Na_2HPO_4 ， FeCl_3 ， CaCl_2 ， MgCl_2 ， NH_4Cl ，Glc，DBT（乙醇溶），pH 7.2

2. 平板分离





七、生物脱硫菌株的筛选

3. 检测

产物是否为2-HBP?

脱硫活力如何?

能否利用DBT的类似物或其它含硫化合物?

对石油烃是否有降解作用?

在燃油存在条件下能否正常生长、代谢?

4. 驯化

在以DBT或菌株能利用的含硫化合物中反复传代培养，增加菌株的适应性及催化活力



八、脱硫条件的选择及优化

1. 培养基组成

碳源、氮源、无机盐、生长因子等

2. 发酵条件

pH、溶氧、温度等

3. 通过正交试验或响应面法进一步优化发酵培养基及发酵条件

4. 脱硫工艺的选择



八、脱硫条件的选择及优化

➤ 生长细胞（growing cells）

微生物在生长过程中利用脱除的硫作为硫源供自身生长繁殖需要，此时细胞所需硫源有限，且有反馈抑制。

➤ 固定化细胞（immobilized cells）

固定化细胞是将具有活性的微生物细胞包埋或吸附在固相介质上，通过介质传递底物和催化剂进行反应。其优点是可利用疏水性载体接近油相，提高底物接触效率；此外脱硫后催化剂和反应体系便于分离。

➤ 休止细胞（resting cells）

休止细胞法发酵是利用微生物自身生长代谢产酶的特点或是诱导产酶的特性将微生物培养到对数生长末期，分离菌体并以一定浓度重悬在生理缓冲液中，利用菌体已经大量产生的酶作用底物的方法，此时微生物已经基本停止生长代谢，但保持有系列酶的活性。休止细胞的主要优点是反应专一性强，可以提高底物转化率，不易污染杂菌，可以减少产物对菌体生长及酶合成的抑制，是提高生物脱硫效率的途径之一。