

多级生物系统处理工业废水的 微生物生态结构与功能

明新天* 刘期松

(中国科学院林业土壤研究所)

摘 要

本文对多级生物系统的微生物生态结构及净化功能进行了研究。研究表明：该系统的微生物生态是以细菌为主的菌藻共生系统。细菌类群随着处理的级数增多而增加，菌数却随之而减少。系统中的微生物对油、酚有较强的降解能力，对重金属有较高抗性。采用新的硝化细菌综合毒性检测法检测处理后的出水水质，降低原污水的毒性70%左右。

某市西部工业区多行业混合污水未经处理直接排入河流或灌溉农田，造成严重的污染。为解决这一问题，我们根据污水处理工程及污水生态学发展的特点，设计了多级生物处理工程。本处理系统由卵石网笼、生物绳索、生物转盘为基本单元，重复排列组成多级，具有氧化沟的特点：有菌藻共生，光合产氧，利用有机物；多级沉淀过滤，使生物稳定生长，生化反应充分。本文在室内试验基础上进行了系统内微生物生态结构、净化功能及废水毒性的生物学检测方法的研究。试图阐明各级系统中微生物的种群变化、对重金属的抗性、对有机物的降解力及重金属对降解力的抑制等问题。为改善系统结构、提高生态效益和净化功能提供依据。

一、材 料 与 方 法

1. 室内多级系统装置 (图1)

实验材料均采自该装置。

2. 细菌的计数和分离

水体中优势菌群的分离采用普通琼脂培养基、平板稀释法计数，按《一般细菌常用鉴定方法》(中国科学院微生物所，1978)鉴定到属。

3. 细菌生物量的测定

在无菌条件下，于Babich培养液(Babich等，1977)中加入所试重金属溶液使成一系列浓度，进行重金属对细菌生长抑制试验。将系统内水样接入无重金属的该培养液，30℃振荡培养24小时后作为试验细菌种液。然后再将种液接入重金属试验培养液中，30℃，24小时后于72-1分光光度计420μm处测定透光率表示细菌生物量的变化。

* 现在工作地址：大连辽宁师范大学生物系。

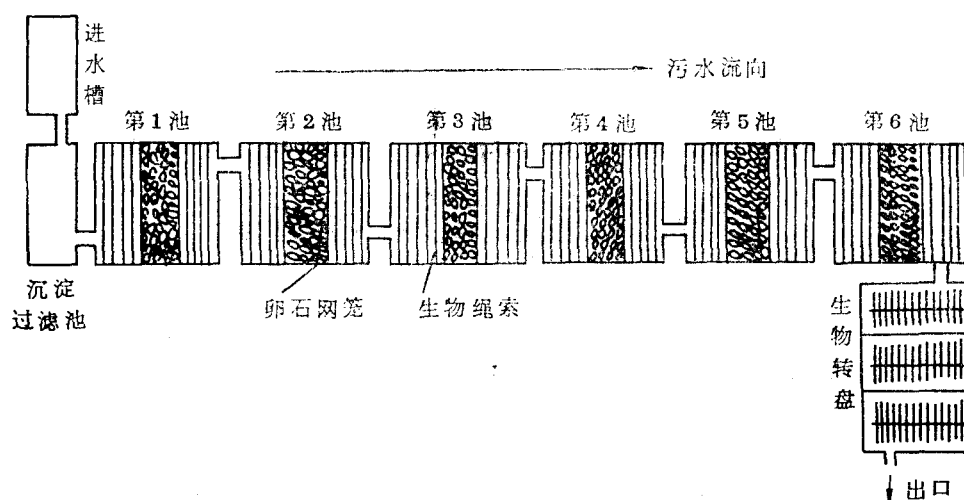


图1 多级生物处理系统模拟装置
fig. 1 the imitated equipment of multi-stages biosystem

4. 藻类生物量的测定

采用乌氏一号培养液测定重金属对系统内藻类群体生物量的影响。培养液添加不同浓度的重金属后接入系统内的水样，置于 25℃ 3,000Lux 下培养 5 天，用冷丙酮抽提法提取叶绿素a，于72-1 分光光度计665μm处测定叶绿素a的含量，以其含量表示藻类生物量。

5. 对油、酚降解力的测定

采用Stanley培养基（Stanley等，1977）进行细菌降解油能力的试验。以四氯化碳萃取-红外分光计法测定残油。采用基本培养基增加0.06%的重蒸酚为培养液测定细菌对酚的降解。以蒸馏-氨基比林比色法测定培养液中剩余酚量。

6. 硝化细菌毒性检测

用硝化细菌（*Nitrobacter*）作为生物检测菌。利用该菌对亚硝酸盐代谢率的变化指示废水和重金属的生物毒性。将待测水样、硝化菌液及适量亚硝酸钠标准溶液混合，置于30℃振荡培养，于0—4小时期间定时取样，按标准法（1976）测定培养液中残存的亚硝酸根。

二、结 果

1. 多级生物系统中的微生物生物量和优势类群

1) 细菌 用平板计数法分离各级水体中的细菌，根据不同的菌落形态和出现频率的差异选出优势菌群并鉴定到属，同时测定细菌的数量。

表1的结果表明，随各级水质的不断净化，水体中细菌数目趋于减少，而群体多样性增加。这说明：细菌群体多样性与污水水质及净化效果有关。污水入口处细菌数目庞大，但种类单调，占优势的是一些抗污能力强的细菌。随水质的逐步净化，细菌种类增加，原生动物及后生动物出现，显微镜下可观察到这些捕食者对细菌，藻类的吞噬作用，因而使细菌数量减少。

2) 藻类 各池藻类生物量测定数据见表2，叶绿素a含量按经验公式： $\mu\text{g叶绿素a/ml} = 11.9 \times \text{光密度计算}$ 。

表 1 各级水体细菌的数量和优势类群

table 1 biomass and dominant genus of bacteria in the different stages of the water

项 目	原 污 水	1 池	2 池	3 池	4 池	5 池	6 池
细菌量 菌数/毫升	2.5×10^8	9.2×10^7	6.7×10^7	2.5×10^7	7.8×10^6	2.8×10^6	9×10^5
细 菌 优 势 类 群	假单胞菌属	假单胞菌属	假单胞菌属	假单胞菌属	假单胞菌属	假单胞菌属	假单胞菌属
	黄杆菌属	黄杆菌属	黄杆菌属	黄杆菌属	黄杆菌属	黄杆菌属	黄杆菌属
	埃希氏菌属	埃希氏菌属	埃希氏菌属	埃希氏菌属	埃希氏菌属	丛毛单胞菌属	丛毛单胞菌属
		动胶菌属	动胶菌属	动胶菌属	动胶菌属	产碱菌属	产碱菌属
			产碱菌属	产碱菌属	产碱菌属	动胶菌属	动胶菌属
				黄单胞菌属	黄单胞菌属	黄单胞菌属	黄单胞菌属
					无色细菌属	无色细菌属	无色细菌属
					短杆菌属	短杆菌属	短杆菌属
							醋酸细菌属
							不动细菌属
类 群 数	3	4	5	6	8	8	10

表 2 各池生物绳索、水体中的藻类生物量

table 2 biomass of algae and bio-rope in the different stages of water

各 池	1	2	3	4	5	6
水外 $\mu\text{gchla} \times 10^{-3}/\text{ml}$	2.74	3.69	4.40	5.24	5.95	6.43
生物绳索 $\mu\text{gchla}/\text{mm}^2$	2.15	2.96	3.55	4.00	4.20	4.58

在显微镜下直接观察、记录系统中采集的藻类,并按B.福迪(1980)的图版鉴定。发现各池水体中及生物绳索上藻类分布的差异不大,整个系统中绿藻门的环丝藻、(*Ulothrixzonata*),小球藻(*Chlorella*)和各种硅藻占优势。其他藻种还有:

绿藻门:小桩藻(*Characium*)、对角栅藻(*S. opeiensis*)、绿球藻(*C. infusionum*)、球网藻(*D. uarians*)、金团藻(*V. aureus*)。

硅藻纲:窗格平板藻(*T. fenestrete*)、肠舟形藻(*N. gastrum*)、长圆舟形藻(*N. oblonga*)、美丽双菱藻(*S. tlagans*)、舟形桥穹藻(*C. navicaliformis*)、角异端藻(*G. angustatam*)、角菱形藻(*N. anstata*)、卵形双菱藻(*S. ovata*)、北方羽纹藻(*P. borealis*)。

藻类的生物量和种类表明:藻类光合产氧补充了系统中的溶解氧,可能促进了细菌的好氧分解作用,因而,藻类生物量在一定范围内与净化功能密切相关。

2. 细菌群体和藻类群体对重金属的抗性

多级生物系统处理的混合污水中有多种重金属,这些重金属抑制细菌和藻类的生长(Brigitte等,1982),但长期受污染物的驯化,微生物会产生抗性(Geoffrey等,1978)。

1) 细菌群体对重金属的抗性 所试重金属分别以 CdCl_2 、 HgCl_2 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 的形式加入。接入供试菌液(见前述)后,细菌群体将在各种重金属浓度下显示出不同程度的生长、繁殖。培养液的浊度可以清楚的反映出生长程度的不同。3种重金属对细菌群体生长的影响见图2—4。

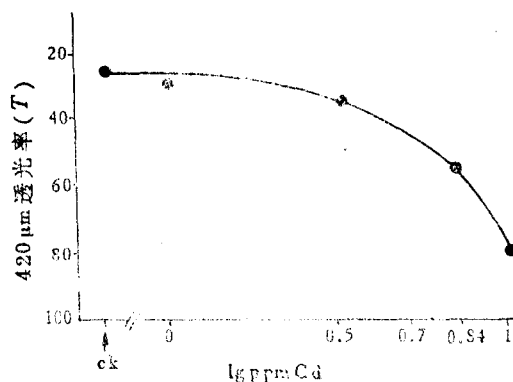


图2 Cd对细菌群体的抑制
fig. 2 the inhibition of Cd to bacteria

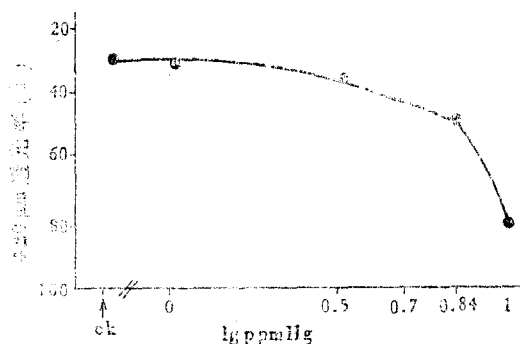


图3 Hg对细菌群体的抑制
fig. 3 the inhibition of Hg to bacteria

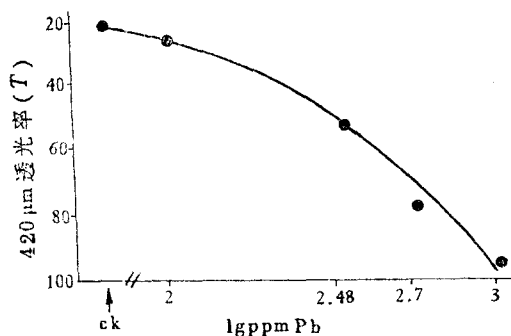


图4 Pb对细菌群体的抑制
fig. 4 the inhibition of Pb to bacteria

表3 混合重金属组及抑制百分数
table 3 the mixed heavy metal groups and the inhibition percent to bacteria

浓度 (ppm)	编组	1	2	3	4	5
Cd		0	1	3	5	7
Hg		0	1	3	5	10
Pb		0	50	100	300	500
透光率(T)		42.9	55.3	67	77.3	89.5
抑制百分数(%)		0	21.34	41.48	60.24	81.61

考虑到实际上混合污水中往往同时存在着多种重金属,因而进行了1组混合重金属试验。选取4组不同浓度的Cd、Hg、Pb,分别无菌加入培养液中,同前述方法测定抑制作用,结果见表3。

结果表明:混合重金属对细菌群体生长的抑制作用要比相应浓度下单独重金属的作用大。由此表明:应考虑到多种重金属之间存在着协同作用。

2) 系统中藻类群体对重金属的抗性 分别将 CdCl_2 、 HgCl_2 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 加入培养液中,藻种液由系统中多点采得,制成均一悬液,定量的加入300ml培养瓶。连同培养液最终培养量为100ml。以不加重金属组为对照。

图5—7的结果表明:藻类对重金属的抗性不如细菌,Cd在1ppm, Pb在5ppm, Hg0.1ppm以上开始对藻类生长产生明显抑制。

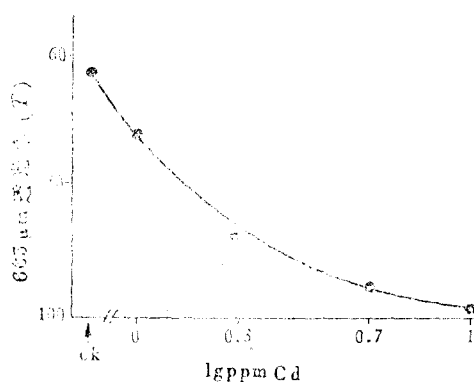


图5 Cd对藻类群体的抑制

fig. 5 the inhibition of Cd to algae

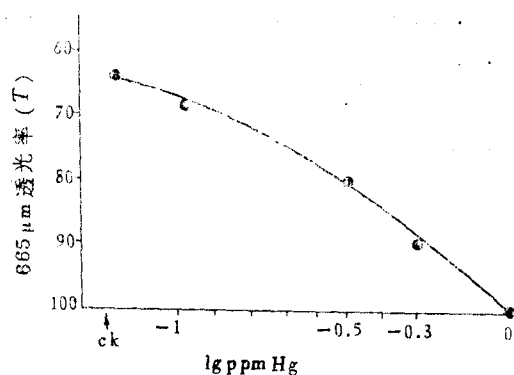
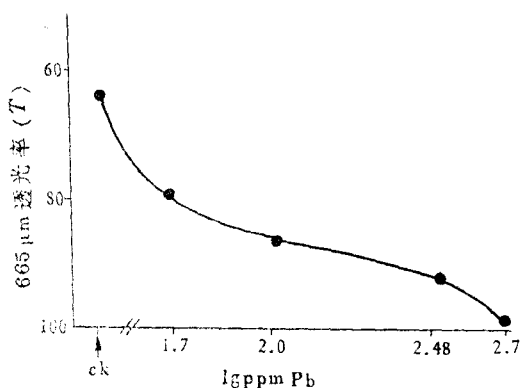


图6 Hg对藻类群体的抑制

fig. 6 the inhibition of Hg to algae



7 Pb对藻类群体的抑制

fig. 7 the inhibition of Pb to algae

从以上系统内菌藻的重金属抗性试验可以看出：多级生物系统中的细菌群体对低浓度重金属有一定抗性。目前接纳的混合污水中各种重金属含量还远远没有达到抑制细菌生长的程度，因而对细菌降解、生物净化作用影响不大。但藻类对重金属特别是 Hg 比较敏感，加之混合污水成分复杂，存在的多种重金属及污染物之间的相互作用往往使毒性增强。因而还应该在重金属污染源处施加一定处理，尽量减少进入河渠的重金属量，以避免对生物净化能力的抑制和进一步污染农田与河流。

3. 细菌对酚、油的降解及重金属对降解的抑制

酚、矿物油是污水中的主要有机污染物。细菌是降解有机污染物的主要菌群。因此，试验了本系统内细菌对这两种污染物的降解功能，及重金属对这一功能的影响。

1) 细菌群体对酚的降解及重金属的抑制作用 于培养液中加入混合重金属，浓度范围见表4。细菌种液采用系统内水体，由各级池水中多点采样混匀而成。将水样定量的加入培养液中，总体积为25ml。30℃振荡培养5天后测定各组的酚残留量。取3次测定的平均值。以不接种水样也不加重金属的组作为细菌降解酚作用的对照(0)，以接种水样，不加重金属的组作为重金属抑制作用的对照(1)。这一组的数据也反映了系统中细菌群体降解酚的能力。以酚的去除率反映降解力的大小，按下式计算：

$$\text{去除率} = \frac{0\text{组酚残留量} - \text{处理组酚残留量}}{0\text{组酚残留量}}$$

按下式计算重金属对降解作用的抑制百分数

$$\text{抑制百分数} = \frac{1\text{组去除数} - \text{处理组去除率}}{1\text{组去除率}}$$

表4、图8的结果表明：系统中的细菌群体对酚的降解能力较强，5天内培养液中的酚降解了75.25%。

低浓度重金属(Cd 1ppm、Pb 50ppm、Hg 1ppm)对酚的降解无明显抑制作用，说明降解酚的细菌有一定的重金属抗性。

表4 细菌群体对矿物油、酚的降解及重金属的抑制

table 4 the degradation of bacteria to oil and phenol and the inhibition of mixed heavy metals to it

编 组		0	1	2	3	4	5
重 金 属	Cd	0	0	1	3	5	7
	Hg	0	0	1	3	5	7
	Pb	0	0	50	100	300	500
酚残余量		392	97	104	249.7	303.4	390
去除率(%)		—	75.25	73.5	36.3	22.6	0
油残余量		140	25.2	28	64	105	139
去除率(%)		—	82	80	54.28	25	0

单位：ppm

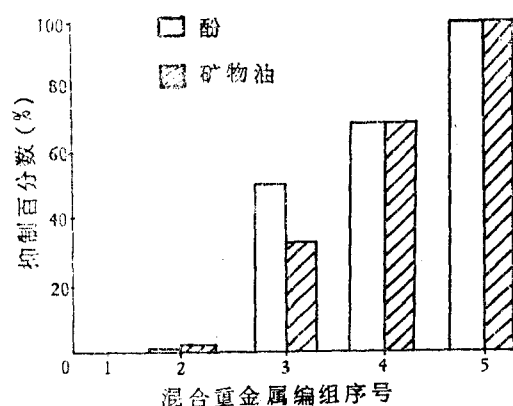


图8 混合重金属对酚、矿物油降解的抑制
fig. 8 the inhibition of mixed heavy metals to the biodegradation of phenol and oil

2) 细菌群体对矿物油的降解及重金属对矿物油降解的抑制 细菌降解油的功能及重金属抑制试验于培养液中加入轻质柴油为唯一碳源，油浓度为500ppm，水样做为细菌种液，30℃振荡培养6天后测残余油量。

表4 第一组的数据表明了系统中细菌群体对矿物油分解利用的能力，实验期间矿物油降解了82%。

重金属对矿物油降解的抑制与对酚的抑制程度近似。

从以上结果可观察到：多级生物系统中细菌群体对系统污水中的主要有机污染物油、酚均有较强的降解能力。并具有一定的重金属抗性。在目前污水中的重金属水平下，降解作用

所受的影响不大。由此推测系统内经过长期的驯化和选择已形成了有效分解利用酚、矿物油的生理群。在低浓度重金属存在下，这些生理群仍能保持较强的降解能力。对于这些特殊生理群的研究对于污水的生物净化具有重要意义。

4. 对多级生物系统净化后出水的毒性检验

要评价处理装置的净化效果及处理前污水的可生化性，除了要了解水质的各项理化指标

外, 还需了解污水对生物的综合毒性, 即生物检测的毒性指标。通常用鱼作为指示生物, 要求技术严格, 有选择鱼苗等困难 (Anne, 1976)。本文采用硝化细菌作为测试菌取得了较好效果。

硝化细菌 (*Nitrobacter*) 是对各种毒物均较敏感的细菌。该菌严格好氧, 专一性的利用亚硝酸盐为能源生长繁殖。测定培养液中亚硝酸盐的降低程度可对硝化细菌的代谢率进行简便定量 (Kenneth 等, 1981)。硝化细菌生长缓慢, 试验发现经 3 次转接、富集培养 10 天后, 硝化细菌的菌量达到最大, 培养液中残存的亚硝酸盐趋于消失。这种状态下的硝化菌液为供试菌液。分别对不同浓度的原污水、各级出水及重金属 Cd、Hg 进行毒性检测。取 3 次测定的平均值。以相对代谢率 F 表示被测样品的生物毒性。

$$F = \frac{\text{处理组的代谢率}}{\text{对照组的代谢率}} \times 100\%$$

反应系统由 25ml 被测水样 (对照由 25ml 去离子水代替) 和 25ml 硝化菌液组成。置于 300ml 培养瓶中, 分别加入 1ml 250ppm 的亚硝酸钠标准溶液, 按时取样测定。

据测得数据计算出每种处理方式的直线方程, 方程的斜率为该种方式下硝化细菌的代谢率。

图 9—13 的结果表明: 进入系统的原污水对硝化细菌有很大毒性。当原污水在被测水样中占 80% 时, 硝化细菌的代谢率仅是对照的 25%。随原污水比例减少, 硝化细菌代谢率明显上升。经多级处理系统处理后, 出水的毒性明显下降。本系统内的自净过程进行正常。

硝化细菌对 Cd、Hg 两种重金属的毒性检验表明: 重金属 Hg 的毒性是较强的, 在 0.1ppm 以上对硝化细菌代谢率产生明显抑制作用。Cd 则不如 Hg 的毒性强, 3ppm 明显抑制硝化细菌的代谢。

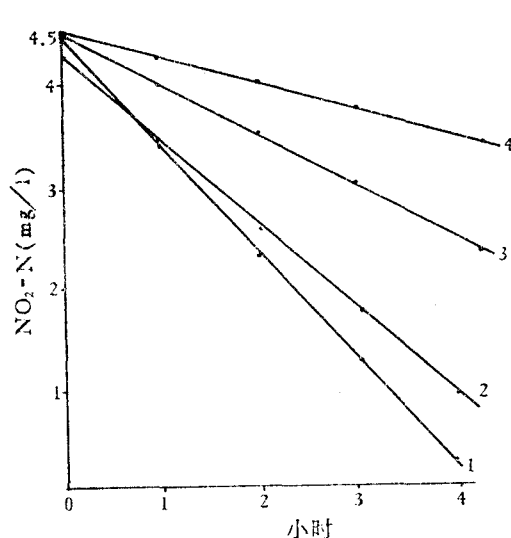


图 9 不同浓度的原污水对硝化细菌的毒性
fig. 9 the toxicity of different concentrations of the sewerage to *Nitrobacter*

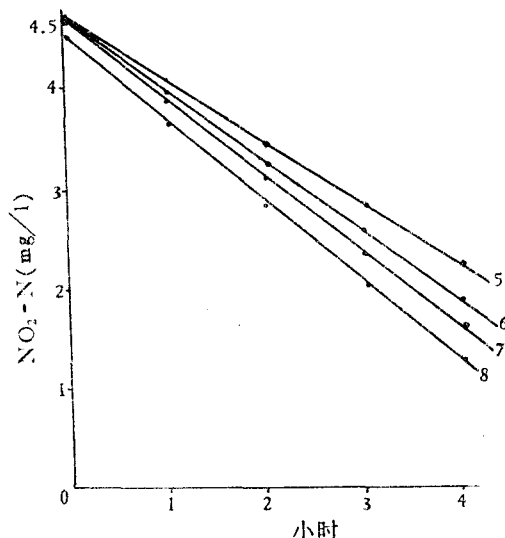


图10 各级出水对硝化细菌的毒性
fig.10 the toxicity of stages off-water to *Nitrobacter*

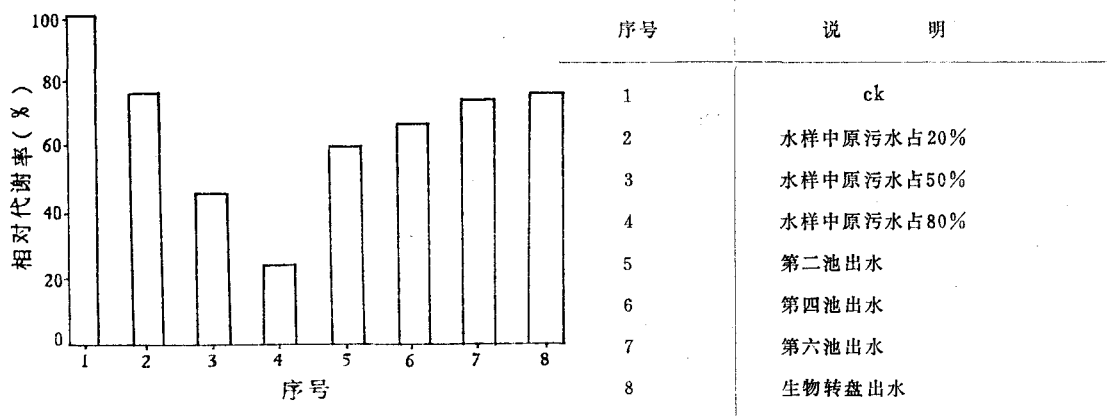


图11 硝化细菌在不同浓度的原污水和各级出水中的相对代谢率

fig.11 the relative metabolic rates of *Nitrobacter* in different concentration of the raw sewerage and stages off-water

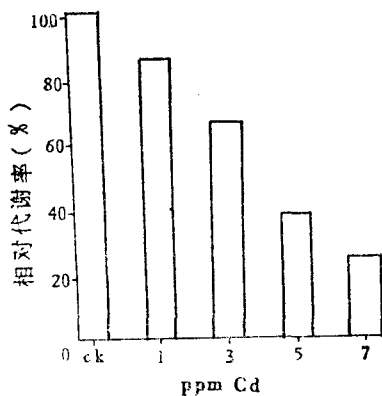


图12 硝化细菌在不同Cd浓度下的相对代谢率

fig.12 the relative metabolic rates of *Nitrobacter* in different Cd concentration

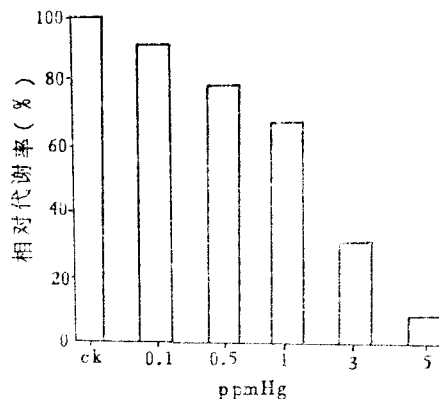


图13 硝化细菌在不同Hg浓度下的相对代谢率

fig.13 the relative metabolic rates of *Nitrobacter* in different Hg concentration

三、结 语

1. 多级生物系统对净化污水起主要作用的是菌藻共生系统。整个系统中占优势的细菌类群有：假单胞菌属、埃希氏菌属、芽孢杆菌属和黄杆菌属。各级水体中分离出的优势菌群共有十属，产色素种属占多数。细菌在多级生物系统中的分布规律是细菌总数随级数增加而减少，群体多样性则随级数增加而提高。

系统中藻类生物量有随级数增加而增加的趋势。主要藻类有绿藻，硅藻。其中环丝藻、小球藻及各种舟形硅藻占优势。

2. 系统中细菌群体对重金属镉、汞、铅有一定抗性。特别是对汞抗性较强。系统中藻类群体对重金属抗性不如细菌，特别是对汞较敏感。

3. 系统内的细菌群体对有机污染物酚、矿物油有较强降解作用。在低浓度重金属存在下，降解作用不受明显影响。说明系统内存在着重金属抗性的降解烃类化合物的特殊生理

群, 这些生理群降解有机污染物, 起着净化水体的作用。

4. 硝化细菌对各种污染物均较敏感, 可用于检测混合污水的水质及处理后出水的水质。本检测表明: 多级系统处理后, 污水的生物毒性大大下降, 相对代谢率达到去离子水的78%, 即原污水的毒性降低了70%左右。该法也可用于重金属的生物毒性检验, 作为重金属的生物毒性指标。

参 考 文 献

- 中国科学院微生物研究所编 1978 一般细菌常用鉴定方法。科学出版社。
B. 福迪 1980 藻类学。上海科技出版社。
Anne, M. 1976 Measurement of Metal Toxicity by Biochemical Oxygen Demand. *J. WPCF*, 48(5): 853—856.
Babich, H. and G. Stotzky 1977 Sensitivity of Various Bacteria, Including Actinomycetes, and Fungi to Cadmium and the Influence of pH on Sensitivity. *Appl. Environ. Microbiol.* 33(3): 681—695.
Brigitte, et al. 1982 Effects of Cadmium on Microorganisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 6: 157—165.
Geoffrey, M. G. et al. 1978 Microorganisms and Heavy Metal Toxicity. *Microbiol. Ecology*. 4: 303—317.
Kenneth, J. W. et al. 1981 A Bacteria Bioassay for Assessment of Waste Water Toxicity. *Water Res.* 15(3): 383—390.
Stanley W. W. et al. 1977 Determination of Bacterial Number and Biomass in the Marine Environment. *Appl. Microbiol.* 33(4): 940—946.

THE MICROBIAL ECOLOGICAL STRUCTURE AND PURIFICATION FUNCTION OF THE MULTI-STAGES BIOSYSTEM TREATING THE INDUSTRIAL WASTE WATER

Ming Xintian Liu Qisong

(Institute of Forestry and Soil Science, Academia Sinica)

This paper deals with the microbial ecological structure and purification function of the multi-stages biosystem. The results show that the microbial ecology of the system is a bacteria-algae symbiotic system and bacteria play an important role in the system. The bacteria genus increase with the increase of stages, but the biomass decrease with it. The microbial of the system degraded oil and phenol strongly and resisted the toxic of heavy metals to some extent.

A new bacteria method is successfully used in testing the biotoxicity of the waste water. The biotoxicity of effluent of the system is decreased to 70% compared with that of the raw sewage.