

人工湿地中细菌污水处理能力的初步研究

魏铮, 胡彦春, 洪剑明* (首都师范大学生命科学学院, 北京 100037)

摘要 [目的]在人工湿地中筛选出一些具有潜在应用价值的细菌种类。[方法]于春、夏两季共从北京地区的人工湿地中分离并纯化出菌落形态有较大差异的细菌 26 株。通过测定这 26 株细菌对生活污水中的有机物、总氮、总磷的去除能力, 筛选出一些具有良好应用前景的菌株。[结果]26 株细菌中有 9 株细菌具有较好的有机物去除能力(去除率大于 30%), 其中对有机物去除能力最强的细菌为 X7, 去除率达 64.62%; 有 9 株细菌具有较好的总氮去除能力, 其中 X25 和 X26 细菌除氮能力最强, 去除率均达 90% 以上; 仅有 X7 细菌具有较好的总磷去除能力, 去除率为 32.25%。[结论]夏季生长的细菌去除总氮的能力更强, 细菌对总氮的去除效果随时间延长而增加。

关键词 人工湿地; 细菌; COD 去除; 总氮去除; 总磷去除

中图分类号 X52 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)05-01974-03

Primary Study on Ability of Wastewater Treatment of Bacteria in Constructed Wetland

WEI Zheng et al (College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100037)

Abstract [Objective] The purpose was to screen out some bacteria species with potential application value in constructed wetland. [Method] 26 strains of bacteria with bigger difference on colonial morphology were separated and purified from the constructed wetland in Beijing area in spring and autumn and some strains with good application foreground were screened out through determining the ability on removing the organic matter, total nitrogen and phosphor in living wastewater. [Result] Among 26 strains of bacteria, 9 strains of bacteria had good removal ability to organic matter with the removal rate of 30%, in which X7 had the strongest removal ability to organic matter with the removal rate of 64.623 0%; 9 strains of bacteria had good removal ability to total nitrogen in which X25 and X26 had the strongest removal ability to total nitrogen with the removal rate of over 90%; only X7 had good removal ability to total phosphor with the removal rate of 32.25%. [Conclusion] The removal ability to total nitrogen of bacteria grown in summer was stronger. The effect of bacteria on removing total nitrogen increases with the time prolonging.

Key words Constructed wetland; Bacteria; Organic matter removal; Total nitrogen removal; Total phosphor removal

微生物在人工湿地对污水的处理中起主导作用, 而细菌在人工湿地主要的微生物类群中^[1]占主导地位, 所以, 近年来人工湿地中的细菌已成为世界上研究的重点。为此, 笔者对人工湿地中细菌污水处理能力进行了初步研究, 旨在筛选出一些具有潜在应用价值^[2]的细菌种类, 为构建更有效的人工湿地污水处理系统奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种采集。人工湿地位于北京市顺义区杨镇一中内, 用平板划线法从该人工湿地土壤中分离纯化出菌落形态有较大差异的细菌共 26 株。

1.1.2 细菌培养基。细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基, 配方^[3]为: 牛肉膏 5 g, 蛋白胨 10 g, 氯化钠 5 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 000 ml, pH 值 7.2~7.4。

1.1.3 仪器。无菌操作台, 高压灭菌锅, 光照培养箱(培养时不进行光照), 恒温摇床, 分光光度计, 电子分析天平, 磁力振荡器。

1.1.4 污水来源。杨镇一中学生宿舍生活污水。

1.2 方法

1.2.1 细菌污水处理前期。

1.2.1.1 样品采集。于春(2007 年 4 月 3 日)、夏(2007 年 8 月 2 日)两季分别从人工湿地中取 0.5、10 cm 土层土样, 共计 6 份。

1.2.1.2 土壤菌悬液制备。每个土壤样品都进行 4 个梯度的稀释。首先将 4 g 土壤样品放入灭菌后的装有小玻璃珠的锥形瓶内, 加入 36 ml 无菌水, 摇床内 30 °C 100 r/min 振荡 3

h, 制成 10^{-1} 的土壤菌悬液; 吸取上清液 1 ml, 加到装有 9 ml 无菌水的试管中并混匀, 制成 10^{-2} 的土壤菌悬液; 同理制成 10^{-3} 及 10^{-4} 的土壤菌悬液备用。

1.2.1.3 接种。每个土样均吸取 $0.1 \text{ ml } 10^{-2}$ 、 10^{-3} 及 10^{-4} 的土壤菌悬液, 分别滴到牛肉膏蛋白胨固体培养基平板上并涂布接种, 30 °C 培养 2~5 d。

1.2.1.4 细菌分离纯化。从上述培养物中挑选出菌落形态差异较大的细菌共 26 株(春季 14 株, 夏季 12 株), 每株均挑取 1 接种环, 并用划线法接种于牛肉膏蛋白胨固体培养基平板上, 重复多次直到平板上出现单一形态菌落。纯化完成后的菌种接于牛肉膏蛋白胨斜面上, 并置于 4 °C 冰箱内备用。

1.2.2 细菌污水处理能力的测定。

1.2.2.1 生活污水中细菌的接种。首先将灭菌的生活污水分装于锥形瓶中, 每瓶装入 150 ml。分别挑取 1 环(每个菌种挑取量保持一致)纯化后的菌落, 接种于污水中并尽量打散, 置于摇床内 30 °C 120 r/min 振荡培养。

1.2.2.2 水质测量。对处理 1、3、5 d 的污水水质分别进行测量。测量的指标为化学需氧量(COD_{Cr}, 为评价有机物污染的重要指标), 总氮(TN)以及总磷(TP), 测定方法见参考文献[4]。

2 结果与分析

2.1 细菌菌落形态及个体形态 春季共分离纯化得到 14 株细菌, 编号为 X1~X14, 夏季共分离纯化得到 12 株细菌, 编号为 X15~X26。X1~X26 的菌落及个体形态见表 1。虽然夏季只分离出 12 株细菌, 但是是基于春季分离的基础之上的, 即夏季只分离出春季没有分离出的细菌, 并不是说明夏季细菌种类少。

2.2 春季分离出的细菌对污水的处理能力

2.2.1 对有机物的去除能力(表 2)。由表 2 可知, 除了 X2

基金项目 北京市教育委员会资助项目(KM200510028009)。

作者简介 魏铮(1981-), 男, 北京人, 硕士研究生, 研究方向: 人工湿地微生物与污水处理。* 通讯作者。

收稿日期 2007-10-24

表 1 26 种细菌菌落形态及个体形态
Table 1 Colony morphology and individual morphology of 26 kinds of bacteria

菌株编号 No. of strains	菌落形态 Colony morphology	个体形态 Individual morphology
X1	不规则圆形,呈白色致淡红色,边缘不规则,表面较粗糙	幼龄长杆状,老龄球状
X2	圆形,呈淡黄色,表面微凸起,边缘规则,表面较光滑	短杆状,接近球状
X3	圆形,白色,菌落中心有圆点状凸起,边缘规则	幼龄杆状,老龄球状
X4	圆形,橙黄色,表面较鼓,边缘规则,表面光滑	球状,类似念珠状
X5	圆形,呈鲜艳的柠檬黄色,边缘规则,表面光滑	球状
X6	圆形,白色,菌落直径较大,较鼓,边缘规则,表面光滑	短杆状,近似球形
X7	圆形,菌落中心呈深黄色,外缘呈白色,边缘规则	近似球状
X8	圆形,黄色,中心有明显颗粒状凸起,直径较小,边缘不规则	短杆状,两头较尖,极小
X9	圆形,黄色,边缘规则,表面光滑	近似球状
X10	圆形,较淡黄色,中心呈花状褶皱,蜡状,边缘不规则	球状,呈立方体式排列
X11	不规则圆形,白色,较薄,表面有大量褶皱,发干	幼龄杆状,老龄球杆状皆有
X12	形状不规则,白色,中心微突起,边缘不规则,表面粗糙	短杆状
X13	圆形,中心呈灰色,外缘颜色变淡,边缘规则,表面光滑	杆状
X14	圆形,中心呈红色,外缘呈白色,中心凸起,表面较粗糙	杆状,有芽孢
X15	圆形,淡黄色,边缘规则,表面光滑	近似球状,直径很小
X16	圆形,白色,较薄,边缘不规则,表面较光滑	短杆状
X17	圆形,呈较深的黄色,中心凸起且颜色更深,边缘光滑	短杆状
X18	圆形,呈肉色,较鼓,边缘规则,表面光滑	近似球状
X19	圆形,白色,中心有颗粒状凸起,直径较小,边缘规则	短杆状,近似球形
X20	圆形,呈深黄至橘红色,较鼓,直径小,边缘规则	杆状
X21	形状不规则,呈暗黄至灰色,半透明,表面粗糙	短杆状,近似球形
X22	不规则圆形,乳白色,外有蜡质厚缘,中心较平	杆状,形成长链状
X23	不规则圆形,白色,边缘规则,表面较光滑	杆状
X24	圆形,呈深紫色,较鼓,边缘规则,表面光滑	球状,近似短杆状
X25	圆形,淡黄色,表面有类似同心圆褶皱,边缘规则	球状
X26	形状不规则,呈白色至暗红色,表面较平,有少量褶皱	幼龄球状,老龄球状

以外,其余所有细菌在处理 5 d 后都对有机物有了一定的去除效果,其中以 X7、X12、X13 效果最明显,均接近或超过了 50%,X7 更是达到了 64.62% 的高去除率。这说明除个别菌外,春季分离出的可培养的细菌基本都有较理想的有机物去除能力。从时间角度上来说,这些细菌总体上呈现出随处理时间增加效果增加的规律。

表 2 春季分离出的细菌对有机物的去除能力
Table 2 Removal ability of bacteria isolated in spring to organic matters

菌株编号 No. of strains	处理后 1 d 1 d after treatment		处理后 3 d 3 d after treatment		处理后 5 d 5 d after treatment	
	CODcr 含量 //mg/L content	去除率 //% Removal	CODcr 含量 //mg/L content	去除率 //% Removal	CODcr 含量 //mg/L content	去除率 //% Removal
X1	202	7.34	175	3.31	110	15.38
X2	245	-12.39	320	-76.80	140	-7.69
X3	189	13.30	133	26.52	96	26.15
X4	180	17.43	119	34.25	115	11.54
X5	187	14.22	131	27.62	84	35.38
X6	162	25.69	117	35.36	83	36.15
X7	182	16.51	110	39.23	46	64.62
X8	228	-4.59	169	6.63	95	26.92
X9	295	-35.32	160	11.60	104	20.00
X10	195	10.55	96	46.96	81	37.69
X11	217	0.46	126	30.39	94	27.69
X12	172	21.10	84	53.59	66	49.23
X13	155	28.90	82	54.70	61	53.08
X14	221	-1.38	183	-1.10	111	14.62
Con-trol	218		181		130	

2.2.2 对 TN 的去除能力(表 3)。由表 3 可知,处理 1 d 后,各瓶污水的 TN 值几乎没有下降,只有 X14 菌株有一定效果,且普遍有升高的趋势;3 d 后,大多数 TN 值降低,5 d 后只有 3 个菌株对 TN 没有去除效果。但是从整体上看,春季分离出的细菌对 TN 的去除率普遍较低,只有 X4 及 X14 2 株细菌的 TN 去除率达到了 10% 以上。总体上,处理 3 d 后除氮率最高,5 d 后反而有所下降。

2.2.3 对 TP 的去除能力(表 4)。由表 4 可知,处理 5 d 后,

表 3 春季分离出的细菌对 TN 的去除能力
Table 3 Removal ability of bacteria isolated in spring to TN

菌株编号 No. of strains	处理后 1 d 1 d after treatment		处理后 3 d 3 d after treatment		处理后 5 d 5 d after treatment	
	TN 含量 mg/L content	去除率 % Removal	TN 含量 mg/L content	去除率 % Removal	TN 含量 mg/L content	去除率 % Removal
X1	62.772	-5.65	66.857	3.17	51.685	1.67
X2	61.605	-3.68	66.712	3.38	50.810	3.33
X3	65.399	-10.07	69.192	-0.21	53.581	-1.94
X4	59.125	0.49	63.210	8.45	46.579	11.38
X5	56.645	4.67	66.274	4.01	52.268	0.55
X6	59.417	0.00	66.857	3.17	48.913	6.94
X7	59.417	0.00	69.046	0	48.767	7.22
X8	54.019	9.08	64.377	6.76	51.247	2.50
X9	59.125	0.49	64.523	6.55	51.539	1.94
X10	57.666	2.95	74.006	-7.18	54.311	-3.33
X11	68.316	-14.98	71.088	-2.96	55.624	-5.83
X12	72.985	-22.83	69.921	-1.27	50.226	4.44
X13	63.064	-6.14	62.772	9.09	50.226	4.44
X14	50.226	15.47	58.250	15.64	44.390	15.54
对照 Con-trol	59.417		69.046		52.560	

除 X1、X2、X5、X6 外,其余 10 株对 TP 都有一定的去除能力,其中以 X7 处理效果最好,达到了 32.25%。除 P 的规律与除 N 的规律相似,即对 TP 的去除率普遍不高,只有个别菌有应用的前景,且处理 3 d 后的效果普遍要好于 5 d 后的处理效果。

2.3 夏季分离出的细菌的污水处理能力

2.3.1 对有机物的去除能力(表 5)。由表 5 可知,与春季的数据相比,夏季分离出的这 12 种细菌的 CODcr 去除率略低,各个菌种的去除率相差不大,最高的 X26 只比最低的 X21 高出 22 个百分点,这表明这些细菌都有一定的应用价值。

2.3.2 对 TN 去除能力(表 6)。由表 6 可知,与春季相比,夏季特有的这些细菌的 TN 去除能力要高出许多。处理 5 d 后,所有 12 种细菌均能去除污水中的 TN,最低的 X17 3 d 后的去除率也达到了 12%,而 X25、X26 2 株细菌的 TN 去

表 4 春季分离出的细菌对 TP 的去除能力
Table 4 Removal ability of bacteria isolated in spring to TP

菌株 编号 No. of strains	处理后 1 d		处理后 3 d		处理后 5 d	
	1 d after treatment		3 d after treatment		5 d after treatment	
	TP 含量 mg/L	去除率 %	TP 含量 mg/L	去除率 %	TP 含量 mg/L	去除率 %
X1	2.937	-6.54	2.797	-15.73	2.517	-8.65
X2	2.977	-7.99	2.537	-4.98	2.477	-6.92
X3	2.837	-2.91	2.477	-15.39	2.117	8.61
X4	2.857	-3.64	2.197	9.08	2.157	6.89
X5	2.797	-1.46	2.297	4.95	2.477	-6.92
X6	2.737	0.71	2.457	-1.67	2.497	-7.78
X7	2.677	2.89	1.638	32.25	1.638	29.32
X8	2.597	5.79	1.878	22.32	2.197	5.16
X9	2.697	2.17	2.517	-4.15	2.177	6.02
X10	2.637	4.34	2.217	8.26	2.297	0.85
X11	2.837	2.91	2.277	5.78	2.257	2.57
X12	2.837	-2.91	2.057	14.88	1.977	14.65
X13	2.717	1.44	2.317	4.12	2.177	6.02
X14	2.897	-5.09	2.497	-3.32	2.257	2.57
Con- trol	2.757		2.417		2.317	

表 5 夏季分离出的细菌对有机物的去除能力

Table 5 Removal ability of bacteria isolated in summer to organic matters

菌株 编号 No. of strains	处理后 1 d		处理后 3 d		处理后 5 d	
	1 d after treatment		3 d after treatment		5 d after treatment	
	CODcr 含 量 //mg/L	去除 率 //%	CODcr 含 量 //mg/L	去除 率 //%	CODcr 含 量 //mg/L	去除 率 //%
X15	188	-4.44	118	23.38	92	33.33
X16	216	-20.00	140	9.09	102	26.09
X17	188	-4.44	132	14.29	100	27.54
X18	188	-4.44	114	25.97	98	28.99
X19	168	6.67	116	24.68	92	33.33
X20	168	6.67	148	3.90	112	18.84
X21	144	20.00	106	31.17	116	15.94
X22	180	0	122	20.78	100	27.54
X23	176	2.22	108	29.87	110	20.29
X24	156	13.33	126	18.18	98	28.99
X25	132	26.67	110	28.57	102	26.09
X26	140	22.22	104	32.47	86	37.68
对照 Con- trol	180		154		138	

表 6 夏季分离出的细菌对 TN 的去除能力

Table 5 Removal ability of bacteria isolated in summer to organic matters

菌株 编号 No. of strains	处理后 1 d		处理后 3 d		处理后 5 d	
	1 d after treatment		3 d after treatment		5 d after treatment	
	TN 含量 mg/L	去除率 %	TN 含量 mg/L	去除率 %	TN 含量 mg/L	去除率 %
X15	29.218	6.97	18.860	3.00	5.729	47.13
X16	29.947	4.64	10.544	45.77	8.064	25.58
X17	29.801	5.11	16.963	12.76	10.836	0.00
X18	31.114	0.93	18.714	3.75	8.939	17.51
X19	28.342	9.75	15.504	20.26	7.626	29.62
X20	31.260	0.46	13.316	31.51	6.751	37.70
X21	31.698	-0.93	16.671	14.26	7.334	32.32
X22	24.841	20.90	15.358	21.01	5.146	52.51
X23	26.884	14.40	19.443	0.00	3.687	65.97
X24	19.443	38.09	13.608	30.01	4.416	59.24
X25	28.634	8.83	7.043	63.78	1.061	90.21
X26	27.321	13.01	1.127	94.20	0.010	99.99
对照 Con- trol	31.406		19.443		10.836	

表 7 夏季分离出的细菌对 TP 的去除能力

Table 7 Removal ability of bacteria isolated in summer to organic matters

菌株 编号 No. of strains	处理后 1 d		处理后 3 d		处理后 5 d	
	1 d after treatment		3 d after treatment		5 d after treatment	
	TP 含量 mg/L	去除率 %	TP 含量 mg/L	去除率 %	TP 含量 mg/L	去除率 %
X15	2.377	13.14	2.597	5.79	2.237	20.57
X16	2.797	-2.20	2.637	4.34	2.437	13.48
X17	2.837	-3.66	2.557	7.24	2.537	9.93
X18	2.757	-0.74	2.677	2.89	2.437	13.48
X19	2.937	-7.32	2.497	9.42	2.417	14.19
X20	2.717	0.72	2.577	6.52	2.617	7.09
X21	2.777	-1.47	2.597	5.79	2.557	9.22
X22	2.777	-1.47	2.877	-4.36	2.757	2.12
X23	2.657	2.91	2.677	2.89	2.557	9.22
X24	2.837	-3.66	2.797	-1.46	2.797	0.70
X25	2.897	-5.86	2.737	0.71	2.737	2.83
X26	2.937	-7.32	2.657	3.62	2.477	12.06
对照 Con- trol	2.737		2.757		2.817	

除率都超过了 90%，尤其是经 X26 处理后的污水中几乎检测不到 TN 的数值，拥有良好的应用前景。从时间上来说，各个菌种的 TN 去除率随处理时间的增加而增加，这与春季的规律相吻合。

2.3.3 对 TP 的去除能力(表 7)。由表 7 可知，夏季特有的这 12 种细菌对 TP 均有一定的去除能力。但是相比于 TN 及 CODcr，细菌去除 TP 的能力相对较低，处理效果最好的 X15 的去除率也只达到了 20% 左右，而 X22、X24、X25 的去除率均低于 5%，并没有太大的应用价值。从时间上来说，这些菌的 TP 去除率随时间增加而增加，这与春季的规律相符。

3 结论与讨论

(1) 26 种细菌中对有机物去除能力较好的(去除率大于 30%)有 X5、X6、X7、X10、X12、X13、X15、X19、X26，它们在有机物去除方面有较好的应用前景。

(2) 26 种细菌中对 TN 去除能力较好的(去除率大于 30%)有 X15、X16、X20、X21、X22、X23、X24、X25、X26，它们在 TN 去除方面有较好的应用前景。这些菌均是夏季才出现于人工湿地中的，说明适合夏季生长的细菌去除 TN 的能力更强。

(3) 26 种细菌中对 TP 去除能力较好的(去除率大于 30%)只有 X7，相对较好的(去除率大于 20%)的有 X8、X15。这说明细菌并不是人工湿地中去除 TP 的最主要因素，微生物与植物的协同作用是 TP 去除的主要手段。

(4) 细菌对 TN 的去除效果随时间增加而增加，在今后应用过程中应适量延长处理时间。而细菌对有机物的处理效果与其生长曲线有关系，所以今后应用过程中有必要对选取的细菌种类的生理特性进行进一步的研究，从而得出效果最佳的处理时间。

参考文献

- [1] 赵玉恒, 刘新宇, 韩勤, 等. 浅谈淡水湿地微生物主要类群及其作用[J]. 防护林科技, 2006(6): 75-77.
- [2] 宋志文, 赵月, 张锡义, 等. 人工湿地中降解有机污染物细菌的分离筛选[J]. 微生物学杂志, 2005(1): 29-32.
- [3] 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.
- [4] 国家环保局水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.