

湖水净化微生物的筛选研究

刘国杰, 朱会霞, 孙金旭

(衡水学院 生命科学系, 河北 衡水 053000)

摘要:利用对湖水净化能力较强的枯草芽孢杆菌、贫营养菌、硝化细菌、乳酸菌、光合细菌, 采用 $L_{18} 7^3$ 正交实验设计优化复合菌剂配比, 对湖水净化微生物进行了筛选研究。结果表明:各菌的最佳配比为枯草芽孢杆菌 8 g/L; 光合细菌 6 g/L; 乳酸菌 0.4 g/L; 硝化细菌 10.2 g/L; 硝化细菌 20.6 g/L; 贫营养菌 0.2 g/L, 此配比条件下, 湖水经 30 d 净化, 总磷含量降低 85.71%, 总氮含量降低 75.69%, COD 值降低 74.68%, 表明该比例复合菌剂能够有效的降低湖水中的总磷、总氮、COD 值, 对湖水净化效果良好。

关键词:净化; 枯草芽孢杆菌; 配比

中图分类号:Q 938.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)23-0135-04

由于人类生活污水及工业污水的排放, 大量营养物质进入河流湖泊中, 从而引起藻类及其它浮游生物迅速繁殖^[1], 最终导致水体的溶解氧量下降, 水质恶化, 鱼类及其它生物大量死亡, 此种现象称之为湖水水华^[2], 其中能够引起湖水水体水华的主要成分为磷、氮和有机碳^[3]。微生物净化修复水体主要是依靠微生物的代谢作用起到脱氮、脱磷、转碳的目的, 从而达到净化、修复水体的目的^[4]。内陆湖水一般为静水, 更易发生水体富营养化, 加之工业废水和生活污水以及农田径流中的植物营养物质的排入, 更加加剧了湖水富营养化, 单单依靠湖水的自净已很难解决湖水的富营养化, 解决湖水富营养化已迫在眉睫^[5]。现通过对具有湖水净化修复能力的菌株的筛选, 菌剂的配比等研究, 以期得到对湖水具有明显净化、修复作用的微生物菌剂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

湖水(取自国家级湿地自然保护区衡水湖); 枯草芽孢杆菌、光合细菌、乳酸菌、硝化细菌、贫营养菌(该研究实验室保藏)。多参数水质分析仪(5b-6c 华联科技有限公司)。种子培养基: 枯草芽孢杆菌、光合细菌、乳酸菌、硝化细菌、贫营养菌种子培养基为牛肉膏蛋白胨培养基。增殖培养基(g/L): 葡萄糖 1; 酵母膏 0.7; 蛋白胨 1; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2; KH_2PO_4 1; 琼脂 18 g; pH 7.2。

1.2 试验方法

1.2.1 湖水净化修复菌的筛选 根据相关文献资料报道^[6-7], 分别选取具有污水净化功能的微生物枯草芽孢杆菌、光合细菌、乳酸菌、硝化细菌 1、硝化细菌 2、贫营养菌, 以湖水中的总磷、总氮、COD 值为测定指标, 取同一处湖水, 分装于 7 个容量为 1 L 的三角瓶中, 各种微生物的添加量分别为: 枯草芽孢杆菌 8 g/L; 光合细菌 2 g/L; 乳酸菌 0.4 g/L; 硝化细菌 10.1 g/L; 硝化细菌 20.2 g/L; 贫营养菌 0.6 g/L, 以未加菌剂湖水为对照, 添加菌剂 20 d 后分别测定湖水各项指标, 测定温度 20℃。

1.2.2 复合菌剂配比正交实验设计 根据相关试验报道及经验值^[8-9], 以枯草芽孢杆菌为主、其它 5 种微生物为附, 各取 3 个浓度进行 $L_{18} (3^7)$ 正交配比实验, 正交设计因素水平见表 1。

表 1 正交实验因素水平

Table 1 $L_{18} (3^7)$ orthogonal experimental design

水平	因素						误差
	A	B	C	D	E	F	
	枯草芽孢杆菌 /g · L ⁻¹	光合细菌 /g · L ⁻¹	乳酸菌 /g · L ⁻¹	硝化细菌 1 /g · L ⁻¹	硝化细菌 2 /g · L ⁻¹	贫营养菌 /g · L ⁻¹	
1	8	2	0.2	0.1	0.2	0.2	1
2	10	4	0.4	0.2	0.4	0.4	2
3	12	6	0.6	0.3	0.6	0.6	3

1.3 项目测定

细菌数量采用平板计数法测定, 总氮用《水质总氮的测定碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法》(GB11894-89)测定, 总磷用《水质总磷的测定钼酸铵分光光度法》(GB 11893-89)测定, COD_{Mn} 用《蛋白质-高锰酸盐指数的测定》(GB11892-89)测定。

第一作者简介:刘国杰(1969-), 男, 本科, 副教授, 现主要从事农学和园艺学及微生物学等方面的研究工作。

收稿日期:2012-08-20

2 结果与分析

2.1 湖水净化修复菌的筛选

由图 1 可知,添加菌剂 20 d 以后,测定各份水分的总磷、总氮、COD 值显示,所选的 6 种菌对湖水均有不同程度的净化能力,枯草芽孢杆菌对总磷净化能力最强,乳酸杆菌对总氮净化能力较强,光合细菌对 COD 净化能力较强,综合 3 项指标的测定,对比各菌的净化能力,枯草芽孢杆菌一组对湖水的净化能力最强,根据各菌的

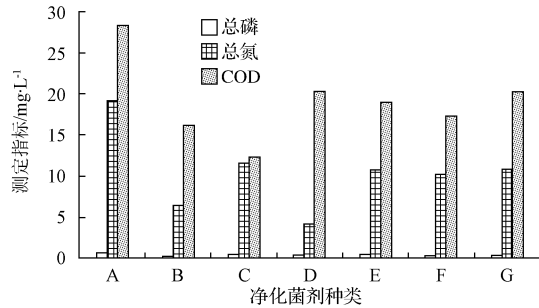


图 1 湖水净化菌的筛选

注:A:对照;B:枯草芽孢杆菌;C:光合细菌;D:乳酸菌;E:硝化细菌 1;F:硝化细菌 2;G:贫营养菌。

Fig. 1 The bacteria screening for lake water

表 2

复合菌剂配比正交实验直观分析

Table 2

Visual analysis for $L_{18}(3^7)$ orthogonal experimental design

试验	因素							COD	总磷	总氮
序号	A 枯草芽孢杆菌	B 光合细菌	C 乳酸菌	D 硝化细菌 1	E 硝化细菌 2	F 贫营养菌	误差	/mg · L ⁻¹	/mg · L ⁻¹	/mg · L ⁻¹
1	1	1	1	1	1	1	1	27.27	0.68	18.30
2	1	2	2	2	2	2	2	27.94	0.69	18.75
3	1	3	3	3	3	3	3	24.60	0.61	16.50
4	2	1	1	2	2	3	3	21.05	0.52	14.12
5	2	2	2	3	3	1	1	18.15	0.45	12.18
6	2	3	3	1	1	2	2	17.50	0.43	11.74
7	3	1	2	1	3	2	3	11.65	0.29	7.81
8	3	2	3	2	1	3	1	11.85	0.29	7.96
9	3	3	1	3	2	1	2	11.90	0.30	7.99
10	1	1	3	3	2	2	1	8.65	0.21	5.80
11	1	2	1	1	3	3	2	12.76	0.32	8.55
12	1	3	2	2	1	1	3	15.37	0.38	10.31
13	2	1	2	3	1	3	2	12.13	0.30	8.13
14	2	2	3	1	2	1	3	12.73	0.32	8.55
15	2	3	1	2	3	2	1	14.22	0.35	9.55
16	3	1	3	2	3	1	2	12.33	0.32	8.28
17	3	2	1	3	1	2	3	8.55	0.21	5.70
18	3	3	2	1	2	3	1	10.98	0.27	7.37
K_{COD1}	19.432	15.513	15.958	15.482	15.445	16.292	15.187			
K_{COD2}	15.963	15.330	16.037	17.127	15.542	14.752	15.760			
K_{COD3}	11.210	15.762	14.610	13.997	15.618	15.562	15.658			
R_{COD}	8.222	0.432	1.427	3.130	0.173	1.540	0.573			
$K_{总磷1}$	0.482	0.387	0.397	0.385	0.382	0.408	0.375			
$K_{总磷2}$	0.395	0.380	0.397	0.425	0.385	0.363	0.393			
$K_{总磷3}$	0.280	0.390	0.363	0.347	0.390	0.385	0.388			
$R_{总磷}$	0.202	0.010	0.034	0.078	0.008	0.045	0.018			
$K_{总氮1}$	19.432	15.513	15.958	15.482	15.445	16.292	15.187			
$K_{总氮2}$	15.963	15.330	16.037	17.127	15.542	14.752	15.760			
$K_{总氮3}$	11.210	15.762	14.610	13.997	15.618	15.562	15.658			
$R_{总氮}$	8.222	0.432	1.427	3.130	0.173	1.540	0.573			

净化特性,采用以枯草芽孢杆菌为主,其它 5 种菌为附的混合菌剂为净化剂进行研究。

2.2 复合菌剂配比研究

2.2.1 正交实验 以 COD 值作为 $L_{18} 7^3$ 正交实验测定结果,添加复合菌剂 20 d 后进行测定,结果如表 2~4 所示。由表 2~4 可知,各菌剂配比不同对测定 COD、总氮、总磷值的影响较大,各菌剂配比中枯草芽孢杆菌、硝化细菌 1 对湖水中的 COD 和总氮值的影响显著,枯草芽孢杆菌对总磷值的影响显著,其它菌对三者的影响均不显著,根据 F 值大小,得出各菌对降低 COD 和总氮的影响大小次序为:A>D>C>F>B>E,即:枯草芽孢杆菌>硝化细菌 1>乳酸杆菌>贫营养菌>光合细菌>硝化细菌 2;各菌剂对降低总磷的影响大小次序为:A>D>F>C>B>E,根据 K_{COD} 和 $K_{总磷}$ 值得出适宜的菌剂组合为 $A_1 B_3 C_2 D_2 E_3 F_1$,即:枯草芽孢杆菌 8 g/L;光合细菌 6 g/L;乳酸菌 0.4 g/L;硝化细菌 10.2 g/L;硝化细菌 20.6 g/L;贫营养菌 0.2 g/L。根据 $K_{总磷}$ 值得出各菌剂最佳组合为 $A_1 B_3 C_1 D_2 E_3 F_1$,即:枯草芽孢杆菌 8 g/L;光合细菌 6 g/L;乳酸菌 0.2 g/L;硝化细菌 10.2 g/L;硝化细菌 20.6 g/L;贫营养菌 0.2 g/L。

表 3 复合菌剂配合对 COD 及总磷影响正交实验方差分析

Table 3 Variance analysis of COD and total phosphorus

复合菌剂对 COD 影响方差分析						复合菌剂对总磷影响方差分析					
因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性	因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	204.439	2	182.047	19.000	*	A	0.123	2	123.000	19.000	*
B	0.563	2	0.501	19.000		B	0.000	2	0.000	19.000	
C	7.719	2	6.874	19.000		C	0.004	2	4.000	19.000	
D	29.416	2	26.194	19.000	*	D	0.018	2	18.000	19.000	
E	0.091	2	0.081	19.000		E	0.000	2	0.000	19.000	
F	7.121	2	6.341	19.000		F	0.006	2	6.000	19.000	
误差	1.123	2				误差	0.001	2			

表 4 复合菌剂配合对总氮影响正交实验方差分析

Table 4 Variance analysis for total nitrogen

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	92.058	2	189.420	19.000	*
B	0.263	2	0.541	19.000	
C	3.432	2	7.062	19.000	
D	13.388	2	27.547	19.000	*
E	0.045	2	0.093	19.000	
F	3.268	2	6.724	19.000	
误差	0.486	2			

2.2.2 最佳条件对比 以湖水中的总磷、总氮、COD 值为测定指标,取同一处湖水,分装于容量为 1 L 的三角瓶中,分别添加以正交实验得出的 2 组复合菌剂,以未加菌剂湖水为对照,添加菌剂 20 d 后分别测定湖水各项指标,测定温度 20℃,结果如表 5 所示。经对比可知,2 种最佳复合菌剂添加条件下,湖水中的 COD、总磷、总氮值相差不大,相对而言,A₁B₃C₂D₂E₃F₁ 条件略优于 A₁B₃C₁D₂E₃F₁,经 3 次试验验证相差不大,因此确定复合菌剂的添加条件为:枯草芽孢杆菌 8 g/L;光合细菌 6 g/L;乳酸菌 0.4 g/L;硝化细菌 10.2 g/L;硝化细菌 20.6 g/L;贫营养菌 0.2 g/L,此复合菌剂添加条件下,湖水中的 COD 相对降低 75.39%,总磷相对降低 83.12%,总氮相对降低 73.40%。

表 5 最佳条件对比

Table 5 Contrast in different conditions mg/L

培养条件	COD	总磷	总氮
对照	29.87	0.77	19.59
A ₁ B ₃ C ₂ D ₂ E ₃ F ₁	7.35	0.13	5.21
A ₁ B ₃ C ₁ D ₂ E ₃ F ₁	7.68	0.12	5.58

2.3 复合菌剂对总磷降低的影响

按最佳比例将复合菌剂加入湖水中,间隔 5 d 测定湖水中的总磷含量 1 次,结果如图 2 所示。由图 2 可知,最佳配比复合菌剂添加入湖水后,10 d 内湖水中的总磷含量迅速降低,10~30 d 之间,总磷含量虽有所降低,但降低速度缓慢,试验天数内,30 d 时总磷含量最低,最低值为 0.11 mg/L,总磷含量相对降低 85.71%,表明该比例复合菌体的添加能够有效的降低湖水中的磷含量。

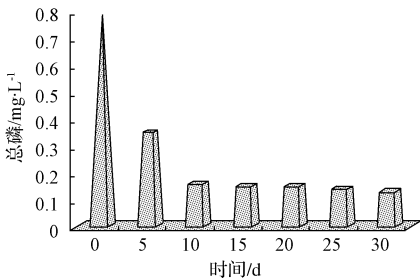


图 2 复合菌剂对湖水中总磷的影响

Fig. 2 The effect of complex bacteria on total phosphorus in lake

2.4 复合菌剂对总氮降低的影响

按最佳比例将复合菌剂加入湖水中,间隔 5 d 测定湖水中的总氮含量 1 次,结果如图 3 所示。由图 3 可知,在最佳比例复合菌剂添加条件下,湖水中的总氮含量在前 20 d 迅速降低,之后降速缓慢,30 d 后总氮含量最低,最低值为 4.68 mg/L,相对降低 75.69%,表明该比例复合菌剂对降低湖水中的氮含量效果良好。

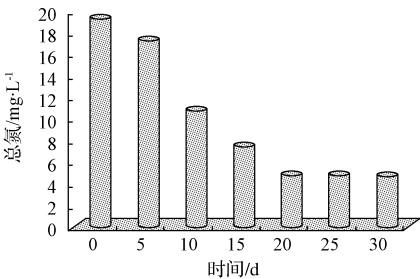


图 3 复合菌剂对湖水中总氮的影响

Fig. 3 The effect of complex bacteria on total nitrogen in lake

2.5 复合菌剂对 COD 的影响

按最佳比例将复合菌剂加入湖水中,间隔 5 d 测定湖水中的 COD 值,结果如图 4 所示。由图 4 可知,在最佳比例复合菌剂添加条件下,湖水中的 COD 值在前 20 d 降幅较大,分析原因为在此段时间内,复合菌剂作用效果较好,复合菌剂活性较强,20 d 后湖水中的 COD 值虽有小幅降低但基本变化不大,30 d 后湖水中的 COD 值最低,最低值为 7.30 mg/L,和未添加复合菌剂相比,COD 值降低 74.68%,表明添加最佳比例复合菌剂能够有效的降低湖水中的 COD 值。

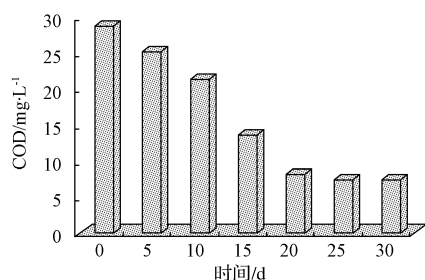


图4 复合菌剂对湖水中COD的影响

Fig. 4 The effect of complex bacteria on COD in lake

3 结论

水体富营养化会引起水质恶化、水体溶氧量下降,影响到水体生物的生存,利用微生物对水体的净化、修复作用能很好的起到净化水体的目的,通过对具有水体修复、净化能力的菌的筛选可知,枯草芽孢杆菌对湖水的净化能力最强,其它菌对湖水的净化、修复也有不同程度的作用,利用 $L_{18}(3^7)$ 正交实验设计优化复合菌剂配比,得到的各菌的最佳配比为枯草芽孢杆菌 8 g/L;光合细菌 6 g/L;乳酸菌 0.4 g/L;硝化细菌 10.2 g/L;硝化细菌 20.6 g/L;贫营养菌 0.2 g/L,此配比条件下,湖水经

30 d 净化,总磷含量降低 85.71%,总氮含量降低 75.69%,COD 值降低 74.68%,表明该比例复合菌剂能够有效的降低湖水中的总磷、总氮、COD 值,对湖水净化效果良好。

参考文献

- [1] Liu Z, Kingery W L, Huddleston D H. Assessment of water quality conditions in the St Louis Bay watershed[J]. Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng, 2008, 43: 468-477.
- [2] Dittman J A, Driscoll C T, Groffman P M. Dynamics of nitrogen and dissolved organic carbon at the Hubbard Brook Experimental Forest[J]. Ecology, 2007, 88: 1153-1166.
- [3] Pecharaply A, Annachatre A P, Parkpian A P. Influence of Anaerobic Co-digestion of Sewage and Brewery Sludges on Biogas Production and Sludge Quality[J]. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng, 2007, 42: 911-923.
- [4] Frijters C T, Silvius M, Fischer J. Applications for Both COD and Nutrient Removal in a CIRCOX Airlift Reactor[J]. Water Sci Technol, 2007, 55: 107-114.
- [5] Lee S T. Biodegradation of Pyridine by freely and suspended immobilized pimeobacter[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1994, 41: 652-657.
- [6] 焦燕. 南方典型重污染城市内河河水联合生物处理技术研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2010.
- [7] 常会庆. 水生植物和微生物联合修复富营养化水体试验效果及机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.

Study on Microorganismal Screening of Lake Water Purification

LIU Guo-jie, ZHU Hui-xia, SUN Jin-xu

(Department of Life and Science, Hengshui College, Hengshui, Hebei 053000)

Abstract: Taking *Bacillus subtilis*, *Oligotrophic Bacteria*, *Nitrifying bacteria*, *Lactic acid bacteria* and *Photosynthetic bacteria* which had higher purification ability as materials, the screening of purification microorganisms in lake water were studied, and the optimum proportion of the composite bacterial strains through orthogonal experiment. The results showed that 8 g/L *Bacillus subtilis*, 6 g/L *Photosynthetic bacteria*, 0.4 g/L *Lactic acid bacteria*, 0.2 g/L *Nitrifying bacteria* No. 1, 0.6 g/L *Nitrifying bacteria* No. 2, 0.2 g/L *Oligotrophic Bacteria* was the best proportioning. Under these conditions, the results of lake water purification showed that total phosphorus, total nitrogen and COD decreased 85.71%, 75.69% and 74.68% in 30 days, respectively. The composite bacterial strains could purify water obviously.

Key words: purity; *Bacillus subtilis*; proportioning