

# ZE-1 号印染废水脱色菌群结构与功能的研究

钱 兵\* 叶俊英 许光辉

(浙江省微生物研究所)

闵一珏 沈玉如

(浙江省环保科研所)

印染废水是水体的主要工业污染源之一。研究表明<sup>[2,3]</sup>,利用微生物对印染废水进行脱色处理是一条可行的途径。浙江省环保科研所曾选育得到一组脱色性能较好,具有应用前景的混合菌群,命名为 ZE-1 号脱色菌群<sup>[3]</sup>。

为了进一步查明 ZE-1 号脱色菌群中微生物的组成和不同微生物各自在印染废水脱色中的作用,对 ZE-1 号脱色菌群中的各类微生物进行了富集、分离、培养和鉴定。结果证明它们是由多种细菌组成的混合菌群。种类不同的细菌,对印染废水的脱色效果有所不同。本文对 ZE-1 号印染废水脱色菌群的结构与功能作一初报。

## 一、材料和方法

### 1. 样品来源

样品来自 ZE-1 号混合菌菌液和处理现场脱色池中所取得的水样。

### 2. 菌种分离

培养基种类: (1) 牛肉汁蛋白胨培养基; (2) 50% 牛肉汁蛋白胨培养基, 50% 无菌有色废水。有色废水的除菌用过滤除菌法; (3) 50% 无菌有色废水, 50% 自来水。

将上述三种培养基制成平板。分离时, 样品制成不同浓度的稀释液, 每一稀释度涂 4 个平板。其中取 2 个平板放置灭菌过的真空干燥器中, 用抽真空和置放焦性没食子酸法除氧, 以造成厌氧环境。2 个平板在好气条件下培养。培养温度为 30℃。待平板上

长出菌落后, 根据菌落不同形态, 从平板上挑出不同菌落。在牛肉汁蛋白胨琼脂平板上反复纯化, 选择部分典型菌株进行菌种鉴定。

### 3. 菌种鉴定

菌种的鉴定主要按照一般常用的细菌鉴定方法手册和有关的指导<sup>[1,4-8]</sup>。

### 4. 脱色试验

菌种的脱色能力测定: 在洗净的 500ml 试剂瓶中, 装满有色的印染废水。根据水质情况还可以补充一些染料。将所分得并经鉴定的菌种, 单株或多株菌种混合, 单种或多种菌种混合, 接入瓶内, 塞好瓶盖, 放在 30℃ 温箱中培养 24h。用稀释倍数法测定菌株或菌种的脱色效果。

## 二、结果和讨论

### (一) ZE-1 号脱色菌群的组成

将分离、纯化后的不同菌株进行鉴定, 结果列于表 1。

表 1 不同样品中脱色细菌的种类

| ZE-1 号混合菌液中的<br>细菌属名       | 中试现场水样中的<br>细菌属名           |
|----------------------------|----------------------------|
| 芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>      | 芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>      |
| 不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> | 不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> |
| 假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>   | 假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>   |
| 无色杆菌属 <i>Achromobacter</i> | 柠檬酸杆菌属 <i>Citrobacter</i>  |
|                            | 气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>     |

通过鉴定后已确定芽孢杆菌属有两个

\* 现工作单位: 浙江省科技开发总公司。

种,一个种为地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*),另一个种为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。其他各属只有一个种,即乙酸钙不动细菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*),中间柠檬酸细菌 (*Citrobacter intermedius*),裂环无色杆菌 (*Achromobacter cycloclastes*),产碱假单胞菌 (*Pseudomonas alcaligenes*) 和斑点气单胞菌 (*Aeromonas punctata*)。假单胞菌属中的另外 2 株菌的分类地位暂时还未确定。因它们和现已发表的菌株在生理、生化特征上有一定的差异,暂以 Ps. sp14 和 Ps. sp19 表示。

这里把已鉴定并确定了分类地位的一些种的形态、生理、生化、培养特征简要描述。

#### 1. 地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)

革兰氏阳性杆菌。无  $\beta$ -羟基丁酸盐。芽孢柱状,偏中生。接触酶阳性。能在 50℃ 生长。能在 7% NaCl 和在 pH5.7 生长。V-P 阳性。能在厌氧洋菜内生长。水解淀粉。硝酸盐还原到亚硝酸盐。

#### 2. 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)

革兰氏阳性杆菌。无  $\beta$ -羟基丁酸盐。芽孢柱状,偏中生。接触酶阳性。能在 50℃ 生长。能在 7% NaCl 和在 pH 5.7 生长。V-P 阴性。好氧。水解淀粉。硝酸盐还原到亚硝酸盐。

#### 3. 乙酸钙不动细菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*)

革兰氏阴性短粗杆菌。无芽孢、鞭毛。

无  $\beta$ -羟基丁酸盐。氧化代谢。氧化酶阴性。接触酶阳性。好氧。不产吡啶和  $H_2S$ 。能在铵盐和乙酸盐的简单无机培养基上生长。

#### 4. 中间柠檬酸细菌 (*Citrobacter intermedius*)

革兰氏阴性杆菌。以周身鞭毛运动。能利用柠檬酸盐为唯一碳源。发酵葡萄糖产酸、产气。接触酶阳性;氧化酶阴性。还原硝酸盐成亚硝酸盐。M-R 阳性;V-P 阴性。产生吡啶。在三糖铁培养基上不产生  $H_2S$ 。不液化明胶。

#### 5. 裂环无色杆菌 (*Achromobacter cycloclastes*)

革兰氏阴性杆菌。以周身鞭毛运动。呼吸代谢;氧化酶阴性。不形成色素。不液化明胶;能还原硝酸盐成亚硫酸盐。不水解淀粉;不从葡萄糖产酸。

#### 6. 产碱假单胞菌 (*Pseudomonas alcaligenes*)

革兰氏阴性杆菌。以单极生鞭毛运动。呼吸代谢;氧化酶阳性。无  $\beta$ -羟基丁酸盐、萤光色素。在 41℃ 生长。产精氨酸双水解酶;精氨酸可作为唯一碳源被利用。无反硝化作用;不水解淀粉;不利用葡萄糖。

#### 7. 斑点气单胞菌 (*Aeromonas punctata*)

革兰氏阴性杆菌。以单极生鞭毛运动。发酵葡萄糖产酸。氧化酶阳性。不发酵肌醇。能在 37℃ 营养肉汤中生长;能以精氨酸作为唯一碳源生长。不能在含 7.5% NaCl 的肉汤中生长。无 2, 3-丁二醇脱氢酶。水

表 2 ZE-1 号混合菌液中各类脱色细菌的菌株数量

| 属 名   | 芽孢杆菌属<br>( <i>Bacillus</i> ) |            | 不动细菌属<br>( <i>Acinetobacter</i> ) | 无色杆菌属<br>( <i>Achromobacter</i> ) | 假单胞菌属<br>( <i>Pseudomonas</i> ) |
|-------|------------------------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| 种 名   | 枯草<br>芽孢杆菌                   | 地衣<br>芽孢杆菌 | 乙酸钙不动细菌                           | 裂环无色杆菌                            | Ps. sp 14                       |
| 菌株数   | 4                            | 1          | 5                                 | 1                                 | 1                               |
|       | 5                            |            |                                   |                                   |                                 |
| 占总数的% | 50                           |            | 30                                | 10                                | 10                              |

表 3 中试现场样品中各类脱色细菌的数量

| 属 名   | 芽孢杆菌属<br>( <i>Bacillus</i> ) | 不动细菌属<br>( <i>Acinetobacter</i> ) | 柠檬酸细菌属<br>( <i>Citrobacter</i> ) | 气单胞菌属<br>( <i>Aeromonas</i> ) | 假单胞菌属<br>( <i>Pseudomonas</i> ) |          |
|-------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------|
| 种 名   | 枯草芽孢杆菌                       | 乙酸钙不动细菌                           | 中 间<br>柠檬酸细菌                     | 斑点气单胞菌                        | 产碱假<br>单胞菌                      | Ps. sp19 |
| 菌株数   | 3                            | 2                                 | 1                                | 2                             | 1                               | 1        |
|       |                              |                                   |                                  |                               | 2                               |          |
| 占总数的% | 30                           | 20                                | 10                               | 20                            | 20                              |          |

表 4 各类脱色细菌的脱色效果

| 编号 | 菌 名     | 稀释倍数 | 脱色率<br>(%) | 编 号 | 菌 名       | 稀释倍数 | 脱色率<br>(%) |
|----|---------|------|------------|-----|-----------|------|------------|
| 0  | 空白      | 1200 | 0          | 11  | 乙酸钙不动细菌   | 400  | 66         |
| 1  | 枯草芽孢杆菌  | 600  | 50         | 12  | 乙酸钙不动细菌   | 300  | 75         |
| 2  | 枯草芽孢杆菌  | 800  | 33         | 13  | 乙酸钙不动细菌   | 400  | 66         |
| 3  | 枯草芽孢杆菌  | 400  | 66         | 14  | 裂环无色杆菌    | 800  | 33         |
| 4  | 枯草芽孢杆菌  | 400  | 66         | 15  | Ps. sp 14 | 800  | 33         |
| 5  | 枯草芽孢杆菌  | 400  | 66         | 16  | Ps. sp 19 | 200  | 83         |
| 6  | 枯草芽孢杆菌  | 1000 | 17         | 17  | 产碱假单胞菌    | 1000 | 17         |
| 7  | 枯草芽孢杆菌  | 400  | 66         | 18  | 中间柠檬酸细菌   | 1000 | 17         |
| 8  | 地衣芽孢杆菌  | 1000 | 17         | 19  | 斑点气单胞菌    | 400  | 66         |
| 9  | 乙酸钙不动细菌 | 400  | 66         | 20  | 斑点气单胞菌    | 400  | 66         |
| 10 | 乙酸钙不动细菌 | 400  | 66         | 21  | 以上混合菌群    | 400  | 66         |

解淀粉；液化明胶。产生  $H_2S$ 、吲哚。

## (二) 混合菌群中各类脱色细菌的比例

从 ZE-1 号混合菌液和中试现场脱色池中所取水样分离出的各类脱色细菌的菌株相对数量，及其在混合菌群构成中所占的比例可以看出，ZE-1 号混合菌群中以芽孢杆菌和不动细菌占优势，它们占全部分得菌株的 80%，假单胞菌和无色杆菌较少。表 2 是实验室 ZE-1 号混合菌液中各类脱色细菌的数量。

在中试现场脱色池取得的样品中，出现了一些实验室样品中所没有的脱色细菌，但芽孢杆菌和不动细菌的数量仍然占有 50%，从表 3 看出，脱色菌群中占优势的种属主要是芽孢杆菌和不动细菌。它们在印染废水的脱色过程中，可能起重要的作用。

## (三) 各类细菌的脱色效能

将分离的各类细菌进行了单菌株和混合菌株的脱色试验，结果见表 4。试验菌株都具有脱色能力，只在脱色程度上有差异，其中枯草芽孢杆菌的大部分菌株，假单胞菌中的少数菌株，以及乙酸钙不动细菌和斑点气单胞菌脱色效果尤为理想。由此表明，在印染废水的特定环境中，具有脱色能力的细菌是多种多样的，只是在脱色能力上存在差异。从中试现场的印染废水样品中分离到的假单胞菌 Ps. sp. 19，是原 ZE-1 号样品中没有分到的一株脱色能力较强的菌株。由此可见，从印染废水这一生态环境中分离脱色能力更强的细菌是可能的。表 4 结果还说明了即使是同一细菌种的不同菌株，其脱色能力也是不同的。在 7 株枯草芽孢杆菌中，不同菌株表现的脱色能力不同。所有脱色菌株组成的混合菌群，其脱色效果和较好单菌株的

相同,并未表现出叠加效果。但在脱色速度、脱色率、存活时间、抗冲击性等综合特性上却表现出比任何单一菌株更优越的特性。

### 三、小 结

(一) ZE-1 号脱色菌群是一个由几种脱色细菌组成的混合菌群。通过分离、纯化、鉴定证明,在这一脱色菌群中包括了 4 个属的细菌。其中芽孢杆菌属、不动细菌属占优势。在芽孢杆菌属中有枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌两个种。不动细菌属为乙酸钙不动细菌。另外还有无色杆菌属中的裂环无色杆菌。一株假单胞菌和现已发表的菌株特性比较,差异不小,有待进一步确定。基本上搞清了脱色菌群的群体结构。

(二) 在印染废水这一生态环境中,具有脱色能力的细菌是多种多样的。除上述实验室样品外,在中试现场的样品中还存在有斑点气单胞菌、中间柠檬酸细菌和实验室样品中未分离到的假单胞菌。其中部分菌株具有良好的脱色效果。由此可见,在自然界中寻找脱色能力更强的细菌是可能的。

(三) 在多种多样具有脱色能力的细菌中,它们在脱色能力上有差异。这不仅表现在不同种之间,也表现在同一个种的不同菌株之间。研究结果表明,在脱色菌群中,以枯草芽孢杆菌和乙酸钙不动细菌脱色效果较

好。在中试现场分离到的斑点气单胞菌和一株假单胞菌也有很好的脱色效果。

(四) 脱色菌群中以芽孢杆菌和不动细菌占优势。同时,这些菌又具有较强的脱色能力。因此,这一菌群具有脱色快和抗冲击力两大优点。这已在中试中得到证实。

在应用脱色菌群时,原来存在于废水中具有较强脱色力的细菌在脱色过程中,可能也起着较大的作用。

(五) 某些菌株分类地位的确定以及如何利用脱色能力强的纯菌的混合菌群,有待进一步探索。

### 参 考 文 献

- [1] 中国科学院微生物研究所细菌分类组,一般细菌常用鉴定方法,科学出版社,北京,1978 年。
- [2] 沈玉如 闵一珏,环境污染与防治, (4), 8(1983)。
- [3] 钟秀清等,微生物学杂志, (3), 8(1985)。
- [4] Breed, R.S. et al., *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th ed., 417—423, the Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1948.
- [5] Buchanan, R. E. & Gibbons, N. E., *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., pp. 217—243, 290—348, 436—438, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1974.
- [6] Cordon R. E. et al., (蔡妙英译)芽孢杆菌属, 19—107, 农业出版社,北京,1983 年。
- [7] N. 冈查洛夫著(徐浩译),异养细菌鉴定的检索与方法,科学出版社,北京,1973 年。
- [8] V. B. D. 斯克尔曼著(蔡妙英译),细菌属的鉴定指导,科学出版社,北京,1978 年。

## 呋喃丹与稻田土壤生物活性的相互影响

黄 欣 樊德方 陈鹤鑫

(浙江农业大学农药残毒研究室)

呋喃丹 (Carbofuran, 2, 3-二氢-2, 2-二甲基-7-苯基呋喃甲基氨基甲酸酯) 是一种高效、广谱杀虫、杀线虫剂。自 1982 年国务院决

定停止生产 666 和 DDT 等农药后,它已作为有机氯农药的取代品种之一应用于农业害虫防治上。目前,呋喃丹不仅用于棉花、茶

Chemical Engineering, Shanghai University of Technology, Shanghai)

This work is designed to explore the regularity of organic and heavy metal pollutants released from re-suspended sediment in the Suzhouhe River of Shanghai, and to propose the classification standard of sediment on the basis of surface water quality standard. The proposed standard is classified into nonpollution, pollution and heavy pollution by comparing each of chemical parameters. Pollution assessment was done for the Suzhouhe River according to the standard. It is showed that when the sections of heavily polluted sediment are cleaned up, the sediment would no longer influence on water quality in the Suzhouhe River. (See pp. 26—30.)

### Buffering Mechanism of Soil for Acidic Precipitation

Liao Bohan and Li Changsheng (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica)

Buffering mechanism of soil for acidic precipitation is an important topic in studying the effects of acidic precipitation on soil. Based on simulation of leaching experiments of acidic precipitation for some forest soils in China, this paper brings forward a discussion about the buffering mechanism of soil for acidic precipitation. The soil consumes  $H^+$  ion through releasing cations, the total amount of released cations is equal to the total amount of consumed  $H^+$  ion in soil. The buffering mechanism of soil consists of three processes, which are the exchange of cations, hydrolysis of aluminum hydroxide, and weathering of primary minerals. The importance of each process is different in various conditions. (See pp. 30—34.)

### The Structure and Function of Microbial Population ZE-1 for Decolouring Dyeing Wastewater

Qian Bing, Ye Junying and Xu Guanghui (Zhejiang Institute of Microbiology, Hangzhou); Min Yijue and Shen Yuru (Zhejiang Institute of Environmental Protection, Hangzhou)

The principal purpose of this work is to explore the composition and activeness of microbial population ZE-1 which is able to decolour dyeing wastewater of silk goods more effectively. Ten strains of bacteria were isolated from the samples collected from experimental dyeing wastewater and ten strains from pilot plant dyeing wastewater of silk goods. The results showed that the composition of microbial population ZE-1 consisted of genera of *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Achromobacter* and *Pseudomonas* essentially. In microbial population ZE-1 conserved in the lab, the dominant bacteria were *Bacillus* and *Acinetobacter*, which occupied 80% of total number of the isolates. The more effective species or strains decolouring dyeing wastewater microbial population ZE-1 were *Bacillus subtilis* and

*Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas punctate* and *Pseudomonas* No. 19 isolated from pilot-plant samples were effective too. (See pp. 35—38)

### Interaction of Carbofuran and Activity of Soil Microorganisms in Paddy Field

Huang Xin, Fan Dejiang and Chen Hexin (Research Team of Pesticide Residues, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou)

An attempt was made to understand the biological degradation of Carbofuran in paddy soil and its effect on some microbial activities in soil. The results showed that the degradation of Carbofuran in paddy soil was affected by both biological factors and non-biological factors. Degradation of the pesticide had been retarded by the glucose at concentration of 1% during the early period, though the loss of the pesticide was accelerated during the late period. However, glucose at concentration of 0.1% did not retard degradation of Carbofuran.

Carbofuran at the concentration of 50ppm or more stimulated the degradation of cellulose in four types of soils. The ammonification increased significantly in silty loam while decreased in saline polder soil, when treated with high concentration of Carbofuran (500ppm). (See pp. 38—43)

### Treatment of Brewery Saccharification Waste water with the Anaerobic Attached Film Expanded Bed Reactor

Zheng Ping et al. (Department of Environmental Science, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou)

In this paper AAFEB reactor is considered to treat brewery saccharification wastewater. When influent COD concentration was 3808—13770 mg/L, operating temperature 28°C, HRT 6 hours, volumetric COD loading rate 33.76 kg/m<sup>3</sup>·day, the percentage of COD removal attained 86.88% and volumetric biogas production rate 13.90 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>·day. Per kg COD removed produced 0.34 m<sup>3</sup> of methane. When HRT was shortened to 3.5 hours, volumetric COD loading rate reached 20.35 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>·day. The critical bed expansion was about 10% and critical ratio of alkalinity to acidity about 3.0 (See pp. 44—48)

### Treatment of Urea-Plant Wastewater by Biological Hydrolysis

Cui Lianqi, Ji Biliang and Li Yaqi (Institute of Environmental Protection, Lanzhou Chemical Industry Co., Lanzhou)

Results of the experiments show that denitrifying bacteria were able to hydrolyze urea in the wastewater into CO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub> which could be recovered under suitable conditions. Sources of NH<sub>3</sub> or organic matters in the waste-