

综合生物塘中的藻类研究 I*

夏宜争 况琪军

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

本文报告了综合生物塘系统 (SBP System) 中有关藻类的部分研究结果。湖北省黄州市的城镇综合污水对藻类未显示毒性,且有刺激生长作用,但高浓度的污水可诱发出极少数畸形细胞,表明污水中可能存在诱变活性。进水的藻类生长潜力很高,和人工对照培养基相当。藻菌塘的光合生产与水温关系密切,低和高水温条件下的水柱生产率分别为 $1.8-4.1 \text{ gO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{d}$ 和 $7-10 \text{ gO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{d}$ 。水柱代谢的层化现象明显。藻类生物量 (鲜重, mg/L) 和 COD (mg/L) 之比值为 $1:0.21 \pm 0.02$ 。

关键词 综合生物塘, 藻类, 污水处理, 水柱代谢, 藻类 COD

利用氧化塘(稳定塘)处理污水已经有半个多世纪的历史,早在 1962 年 Porges 报告了美国用 827 个氧化塘处理 31 种工业废水的结果。传统的氧化塘技术一般区分为厌气塘、兼性塘、好气塘与高效氧化塘等类型,个别运用,或数塘串/并联运用,达到净化污水的目的^[1]。后三者均在不同程度上有藻类植物生长繁殖,并和微生物一起形成藻菌共生系统,对污水净化起着关键作用。从 1985 年开始,我们根据生态学中能流与物质循环原理以及水生态系统中不同生物之间相辅相克的关系,研究了处理城镇污水的综合生物塘技术系统,充分发挥各营养级水生生物的生理生化功能,将细菌、藻类,水生维管束植物,鱼类与河蚌等按适宜方式组合配置,形成一个由多种水生生物构成的污水净化系统,达到处理城镇污水的目的。

藻类在综合生物塘中仍然是不可缺少的组成部分,并且起着极其重要的作用。氧化塘中的藻类和藻菌共生系统,国内外都做了不少工作^[2-5]。我们在“综合生物塘技术及黄州城区污水综合生物塘处理”研究项目中,比较系统地研究了藻类方面的问题,内容包括:污水对藻类的毒性,藻类在污水中的生长潜力,藻菌塘的水柱代谢,藻类生物量与 COD 的关系,塘中的藻类种类及其季节变化,生态修饰除藻以及水草对藻类的影响等。本文先行报道前四部分的研究结果。

* 国家“七五”科技攻关项目(75-59-02-15)的研究内容之一。承蒙黎尚豪教授审阅原稿并提出宝贵修改意见,谨致衷心谢意。

1990年5月4日收到。

材 料 与 方 法

本研究在长江中游北岸湖北省黄州镇近郊的室外中试模型中进行，日处理综合污水 100t。整个综合生物塘由五个子塘组成，I 号塘原设计为厌气发酵和人工水草塘，后因黄州城镇污水 COD 和 BOD₅ 均不很高，无需厌气处理而废置未用。II 号塘为水草塘，种植水花生和凤眼莲等，水深 2m，面积 390m²。III 号塘为藻菌塘，水深和面积同 II 号塘一样。IV, V 号塘面积共计 840m²，作综合利用，养殖河蚌和鱼类等。整个综合塘的最前面建造了一个沉淀和控制水量的三角堰。综合塘运转三年期间进行的藻类研究工作的具体方法分述如下。

1. 污水毒性测试 污水毒性试验以室内人工纯培养的斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus* 为材料，试验用水取自黄州镇三医院附近喇叭口处城市地下水道中的黑浊污水，该处污水浓度较高，对黄州镇的城市污水具有代表性。由于污水的 COD 浓度常有波动，因此毒性试验多次采水，分批进行。污水采回后静置约 30min，测定 COD 浓度，离心 (3000r/min, 15min) 后，配制成初始培养物。试验污水最低的 COD 浓度为 86.5mg/L，最高达 351mg/L。试验用直径 2.5cm，高 20cm 的立式比色管进行，培养量为 50ml。6 支 40W 日光灯分两侧照光，光强 6000lx，光暗比为 12:12。温度控制在 24—25℃。用水生四号培养基 (HB No.4) 作对照培养。每批试验，栅藻的初始细胞密度都控制在大致相同的水平，即光密度 0.05 (比色杯 1cm，波长 650 nm)，细胞密度为 10⁵—10⁶ 个/ml。同一批试验的处理与对照，初始细胞密度完全相同。以 96h 的细胞密度为毒性试验终点，每种浓度重复 3 瓶。

2. 藻类生长潜力测试 (AGPT) 为了更接近实际，用于藻类生长潜力的试验的污水直接取自综合塘进水和 I, II 号塘。配制试验培养物前，测定污水的 COD 浓度，离心去除污水中的悬浮物和杂质。实验材料仍为斜生栅藻，方法、条件和毒性试验基本相同。但是每种处理中都加入了和对照等量的水生四号培养基。定期取样测定光密度和进行镜检计数。培养时间延长到藻类细胞密度停止增长为止。以最高增长量计算藻类在污水中的生长潜力，并以处理和对照最终细胞密度之比的百分数表示。每种处理重复 3 瓶。

3. 原地挂瓶测氧 挂瓶试验在 III 号藻菌塘浮游植物采样点进行。该塘平均深度 2 m，透明度全年均在 25—30cm 之间。根据水深和透明度，挂瓶试验分三层进行。第一层 (表层) 黑白瓶代表 0—50cm 水层，即 1m² 水柱最上部分 (第一个 500L)，第二层黑白瓶挂在 0.5—1.0m 深处，代表 1m² 水柱的第二层 (第二个 500L)，第三层挂在 1.0—1.5m 深处，代表 1m² 水柱的第三层 (第三个 500L)。三层挂瓶所代表的水层，从水表至 1.5m 深形成了 1m² 水面的连续水柱 (共 1.5m³ 水体积)，所取得的数据能代表全塘的基本情况和进行水柱代谢的分析^[4]。

测试时，将容量 2L 的采水器慢慢沉入水中至所要求的深度，随即轻轻提起。将放水橡皮管插入黑、白测试瓶 (250ml 容量) 底部，灌水，直到瓶满并溢出测试瓶 2—3 倍体积的水为止。小心取出放水管，用磨口塞密封黑、白瓶口，密封后瓶内不得有气泡。一次采水需同时灌注三瓶 (黑、白瓶和初始氧瓶)。初始氧瓶灌水后，当即加入 MnSO₄ 和碱性碘化

钾固定，密封带回实验室测定初始氧量。黑瓶装入小黑布袋内。同一层次的黑白瓶用特制的固定装置平行沉入预定的水层中，静放24h后，取出黑白瓶，按上述方法在现场进行固定并带回室内测氧。测氧采用碘量法，根据滴定结果分别计算出初始，白瓶和黑瓶的氧浓度(mg/L)。

4. 藻体 COD 测定 试验用人工栅藻培养物进行。将室内培养的栅藻，离心洗涤3次后，用新鲜蒸馏水将洗净的纯藻类细胞配制成一定浓度的藻类母液，以此母液为材料，测定 COD 浓度。采用离心(3000r/min)收集鲜重藻类和在显微镜下测量体积两种方法，测算出藻类生物量。用每种方法测6次，然后将结果进行统计，算出生物量与 COD 浓度之间的数量关系。

结 果 与 讨 论

1. 污水毒性与藻类在污水中的生长潜力

综合生物塘能否形成对污水起净化作用的特定生态系统，首先取决于被处理的污水对各类水生生物的毒性与生物在该污水中的生长潜力。如果污水毒性超过了各种水生生物所能忍受的范围，在工艺设计时就要采取必要的措施先降低进水的毒性，以便综合塘得以正常运转。因此，在开展综合生物塘处理污水的可行性研究时，就污水对藻类的毒性和藻类在污水中的生长潜力进行测试十分必要。

表1、图1和表2分别反映了黄州镇城市污水对藻类的毒性与藻类在其中的生长潜力的研究结果。从表1可看出，86.5至351mg/L COD 的污水，对藻类均未出现毒害作用。相反，却在不同程度上对藻类的生长起到了促进作用。COD 浓度小于200mg/L 时，刺激作用随浓度的升高而加强，96h的最大细胞密度相当于对照的1.83倍。在 COD 超过300mg/L 的两组高浓度污水中，生长速率稍低于 COD 为 200mg/L 的污水，但它们 96h 的细胞密度仍比对照高，是人工培养基的1.4和1.48倍。

表1 不同浓度污水对藻类生长的影响

Tab. 1 Effects of different concentrations of wastewater on algal growth

试验瓶号 Testing bottle No.	污水浓度 Concentration of wastewater (COD mg/L)	96h 各处理中细胞密度与对照之比(%) Growth rate at 96h compared with control
1—3	86.5	108
4—6	173.0	114
7—9	200.0	183
10—12	346.0	140
13—15	351.0	148
16—18	HB-4	100
Control	medium	

毒性试验开始后，每日观察测定生长情况并进行镜检。在 COD 浓度等于和超过 200mg/L 的高浓度污水中，试验在 16—24h 内可以观察到培养物颜色与对照相比略为变黄和瓶底出现微小藻块沉淀现象，在显微镜下观察，部分个体较大的栅藻细胞内匀质性

(Homogeneity) 下降, 内含物变粗, 细胞老化(图 1)。在试验的 24—48h 内, 各处理组的培养物均比对照组绿, 但在高浓度处理培养物中, 少数细胞(占细胞总数的 10% 以下)出现变形现象, 即原本呈椭圆形的栅藻, 变成裤形或人字形(图 1), 这种情形和作者以往用 γ 射线照射和用高温处理栅藻时发现的致畸现象相似^[7]。据孚根染色的结果观察, 都是细胞核未行分裂而母细胞质和细胞壁的分割半途中止的结果。发生在高浓度污水中的上述异常现象, 在试验的第 3 d 起逐渐消失并恢复正常, 目测培养物颜色比对照更加鲜浓。少数细胞出现畸形, 说明高浓度污水中可能存在某些诱变物质。

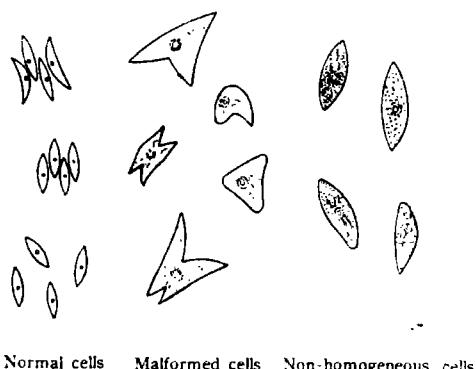


图 1 正常与异常细胞的比较

Fig. 1 Comparison of the normal and abnormal cells

陈军建等采用青蛙蝌蚪红血细胞微核测试方法证明, 黄州镇综合污水中的确存在诱变活性, 而且综合生物塘对去除诱变活性有明显效果^[8]。

生长潜力试验共进行 7d, 逐日测定生长情况的结果表明, 试验开始后的 48h 内, 栅藻的生长率最高, 到第 4d, 各处理均达到最高值, 从第 5d 开始, 生长处于停滞状态, 到第 7d, 细胞密度和光密度均开始下降。从表 2 列举的 3 次生长测定的结果中可以看出, COD 浓度较高的进水中藻类生长所需的营养物质最高, 96h 的细胞密度为对照的 194%, 扣除污水中添加的水生四号培养基所增长的生物量(应大致和对照相等), 由污水营养所增长的部分, 仍有对照的 94%, 即藻类在进水 (COD 94 mg/L) 中的生长潜力基本上接近人工培养基的水平。I、II 号塘水的藻类生长潜力略低于进水, 是对照的 60—80% 左右, 说明污水中藻类所需的营养成份已被部分消耗。3 种污水的藻类生长潜力的平均值可达对

表 2 污水中的藻类生长潜力

Tab. 2 The growth potential of algae in wastewater

试验瓶号 Testing bottle No.	污水来源 Source of wastewater	COD 浓度 COD (mg/L)	藻类生长量与对照之比(%) The ratio of algal growth production to control		
			48hr	96hr	168hr
1—3	进水 Influent	94	150	194	171
4—6	I 号塘 Pond I	70	125	179	154
7—9	II 号塘 Pond II	39	133	158	157
平均 Mean		68	136	177	161
对照 10—12 (Control)	人工培养基水生 4 号 HB-4 artificial medium	/	100	100	100

照的 77%。

根据毒性和生长潜力测试的结果可以预计，在综合生物塘中可以形成有效的藻菌共生系统，也不会出现藻类生物量过大的情况。综合生物塘模型运转三年的结果证明，这种预计是正确的。

2. 综合生物塘的代谢作用

一般的化学指标和生物指标只能比较直观地了解氧化塘或综合生物塘的运转情况与处理效果。浮游植物的光合放氧在水生态系统的功能中起着重要作用，Oswald 等人曾研究氧化塘藻类放氧问题^[9-11]。为了更深入地了解水体的代谢过程，原地挂瓶法对综合生物塘系统中的藻菌共生水域，在不同季节和不同水层的同化(光合生产)和异化(呼吸与有机物分解)作用进行了动态研究。

表 3 水层的同化、异化作用与水柱总代谢 (III 号塘)

Tab. 3 Assimilation and dissimilation and total metabolism in various layers of the water column in Pond III

测试日期 Testing date	天气与水温(℃) Weather & temperature	毛生产① (O ₂ mg/L·d)	呼吸与生 物降解③ (O ₂ mg/ L·d)	总产氧量④ (O ₂ mg/ L·d)	水柱代谢⑤ (O ₂ g/m ² ·d)		水柱总代谢⑥ (O ₂ g/m ² ·d)	
					同化作用 Assimi- lation	异化作用 Dissimi- lation	总同化 作用⑦	总异化 作用⑧
1988. 12.22	晴转多云 Clearcloudy 5—6°	②(a)0.88	0.68	1.56	0.78	0.34		
		(b)0.49	0.77	1.26	0.63	0.39	1.78	
		(c)0.19	0.55	0.74	0.37	0.28		
1989. 1.25	晴 Clear 6—8°	2.11	1.01	3.12	1.56	0.51		
		1.76	1.44	3.20	1.60	0.72	4.06	
		0.82	0.97	1.79	0.90	0.49		
1989. 5.18	阴 Overcast 21—23	6.24	2.26	8.5	4.25	1.13		
		0.12	0.50	0.62	0.31	0.25	4.74	
		0.0	0.36	0.36	0.18	0.18		
1989. 7.14	晴 Clear 28—37°	6.52	1.78	8.28	4.14	0.89		
		0.00	1.56	1.56	0.78	0.78	5.45	
		0.08	1.00	1.08	0.54	0.50		
1989. 8.24	晴 Clear 25—30°	11.36	1.92	13.28	6.64	0.96		
		1.00	1.66	2.66	1.33	0.83	7.48	
		0.08	1.40	1.48	0.74	0.70		
1989. 10.12	晴 Clear 20—25	11.20	1.70	12.90	6.45	0.85		
		3.70	1.76	5.46	2.73	0.88	10.72	
		1.04	1.84	2.88	1.44	0.92		
平均 Mean		2.64	3.39	1.29	1.97	0.64	5.7	1.9

① Gross production of oxygen; ② a:0.0—0.5m, b: 0.5—1.0m, c: 1.0—1.5m; ③ Respiration and biodegradation; ④ Total production of oxygen; ⑤ Metabolism of water column; ⑥ Total metabolism of water column; ⑦ Total assimilation; ⑧ Total dissimilation.

表3列举了1988至1989年黑白瓶的试验结果,从中可以看出,在综合塘的藻菌系统中,藻类的初级生产和水体的耗氧生理生化过程(生物呼吸与有机物降解)的速率,都与季节,特别是天气和水温密切相关。当水温低于10℃时,光合放氧和呼吸氧化作用都很弱。特别是水温低加之阳光不足时,更是如此。如1988.12.22,1m²水柱的日总代谢率合计只有2.75g 氧,水体中物质的同化与异化过程都十分微弱。但是在天气晴朗的冬天,即使水温较低,水体中的物质生产和分解过程仍然维持相当的水平,以氧量计算水柱日总代谢水平可达5.8g O₂/m²(如1989.1.25)。

阳光充足而水温又在25—30℃的情况下,水体的代谢过程十分旺盛,特别是同化作用的增强尤为明显。如1989.10.12和8.24,水柱日总代谢分别达到13.37g 和9.97g/m²,是低温和阴天(1988.12.22)的4.8和3.6倍。这种情况和作者以往测试藻类光合放氧的结果相一致¹⁾。此外,从表3所列水柱总代谢的数据中可以看出,综合塘中,合成与异化过程的变化幅度不成比例。合成速率的最大和最小值之比为10:1.7,而异化速率的最大和最小值之比是10:3.8可见藻菌塘中有机物分解过程全年的上下波动并不如所想像的那样剧烈。也就是说,足够的溶氧存在是降解污染物的必要条件,但降解的速率并不直接受制于水中溶氧浓度的多少。

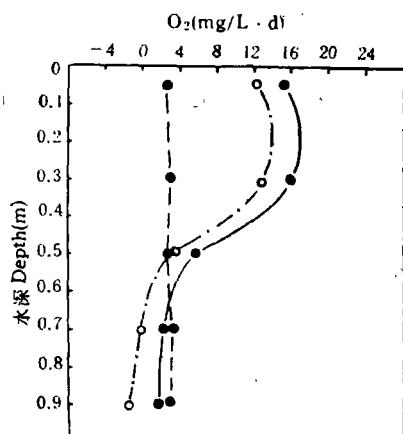


图2 III号塘水柱代谢的层化现象

Fig. 2 The metabolic stratification of water column in Pond III

·—毛生产 Gross production; ○—○净生产 Net production; ●---●呼吸与分解 Respiration and biodegradation

为了进一步了解1m²水面下不同深处水团的光合放氧和呼吸耗氧(包括污染物氧化)的动态变化,在III号塘原挂瓶试验处进行了5层挂瓶试验。考虑到秋季藻类光合放氧过

表4 不同水层代谢作用的动态变化

Tab. 4 Dynamic metabolic changes in various water layers. (Unit: O₂ mg/L·d)

挂瓶层次与水层深度 Depth (m)	毛产量 (光合放氧) Gross production	呼吸与有机物 分解耗氧① Respiration and biodegradation	总产氧量 Total production of oxygen	净生产量 Net production
1. 0.0—0.1	14.74	2.74	17.48	12.00
2. 0.1—0.3	15.94	2.94	18.88	13.00
2. 0.3—0.5	5.98	2.60	8.58	3.38
4. 0.5—0.7	3.06	2.86	5.92	0.20
5. 0.7—0.9	1.64	2.82	4.46	-1.18
每 m ² 水柱的② 代谢作用 (O ₂ g/m ² ·d)	6.79	2.53	9.32	4.26

① Respiration and biodegradation; ② Metabolism per m² water column.

1) 夏宜臻等, 1987。氧化塘中的藻类及其研究方法。环境生物学, 第七集, 23—39页。

程比较旺盛,试验于1989.10.24日进行。从表4和图2可看出,表层(0—10cm)由于阳光过强,不是各项过程最强的水层。水柱第二层(10—30cm),光合放氧与呼吸、分解耗氧的速率在全水层中居首位。30cm以下,均随深度的增加而下降。在0.7—0.9m处,光合放氧,即生产强度小于呼吸、分解强度,净生产出现负值,表明在水层底部可能出现厌氧条件。这种现象在表3中也多次在0.5—1.0m处出现,可见藻菌共生系统水柱中代谢过程的层化现象十分明显。这种现象和一般池塘与湖泊相似。

总之,上述黑白瓶试验的结果,进一步揭示了综合生物塘(藻菌系统)水柱中所发生的同化-异化过程和水柱代谢的概况。增进了对氧化塘内在过程和机制的认识。

3. 藻类生物量与 COD 的换算系数

在各种生物塘污水净化系统中,生长适量的藻类,形成比较理想的藻菌共生系统,是达到净化污染物的先决条件,但是在处理系统的出水中又常常由于藻类过多而增加 COD 浓度,造成出水超标的不良后果。为了便于估算藻类在出水 COD 中所占的份额,我们进行了藻类生物量的 COD 当量,即两者之间的换算系数的室内测试。测试结果列于表5中。

表5 藻类生物量(鲜重 mg/l)与 COD (ppm)

Tab. 5 The ratio of COD to algal biomass (wet weight)

离心法 Centrifuging method		测微法 Micrometer method	
COD 与藻类之比 COD (ppm)/per mg algae	平均数标准误 $S\bar{x}$	COD 与藻类之比 COD (ppm)/per mg algae	平均数标准误 $S\bar{x}$
0.2286		0.2100	
0.2295		0.1670	
0.2200	0.21±0.02	0.1600	0.166±0.024
0.1870		0.1490	
0.1910		0.1710	
0.1970		0.1410	

从表5的数据可以看出,用离心法测出的生物量(鲜重 mg/L)与 COD(ppm)之比是 1:0.21±0.02;用细胞体积测出的生物量与 COD 之比是 1:0.166±0.024。

参 考 文 献

- [1] 周永欣等。水生生物与环境保护。北京:科学出版社,1983:90—98。
- [2] 庄德辉。鸭儿湖氧化塘建立后水生生物群落的演变。中国环境科学,1987,7(3):21—29。
- [3] Anon. Using algae to purify wastewater. Indian Assoc. Water Pollut. Contr. Newslett., 1982, 19 (2):8.
- [4] Parker C D. Biological mechanisms in lagoons. Water Technology, 1979, 11(4—5): 72—85.
- [5] Neel J K, et al. Experimental lagooning of raw sewage at Fayette Missouri. J. of the Water Pollution Control Federation, 1961, 33(6):603—641.
- [6] Odum E P. Fundamentals of Ecology (3rd ed). USA: CBS College Publishing, 1971.
- [7] 夏宜珍等。栅藻高温品系的培育及其生长繁殖规律。水生生物学集刊,1975,5(3):380—386。
- [8] 陈军建等。城镇污水诱发青蛙蝌蚪红细胞微核及其在环境监测中的应用。水生生物学报, 1992, 16(4):

304—312.

- [9] Bartsch A F. Algae as a source of oxygen in waste treatment. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 1961, 33(3): 239—249.
- [10] Oswald W J. et al. Algae in waste treatment. *Sewage and Industrial Wastes*, 1957, 29(4): 437—455.
- [11] Oswald W J. et al. Photosynthesis in sewage treatment. *Jour. San. Eng. Dir., Amer. Soc. Civil Engrs*, 1955, 81: 686.

STUDY ON ALGAE IN A SYNTHETIC BIOLOGICAL POND

Xia Yicheng and Kuang Qijun

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

The paper represents part of the results of a study on algae in a synthetic biological pond system (SBPS). Toxicity test on the alga *Scenedesmus obliquus* indicated that the wastewater was not toxic to algal growth but rather stimulated growth. A few malformed cells were observed in the cultures exposed to high concentrations (COD over 200mg/L) for 24h, indicating that mutagenic activity may be present in the water. Algal growth potential in the wastewater was essentially the same as that of control.

The photosynthetic production was significantly correlated with the water temperature. The bioproduction rates of water column at low and high water temperatures were 1.8—4.1 and 7—10 O₂g/m²·d respectively. Stratification of metabolic process in the water column was notable.

The ratio of algal biomass (fresh weight mg/L) to COD (ppm) was estimated to be 1:0.21 (± 0.05).

Key words

Synthetic Biological Pond, Algae, Wastewater treatment, Metabolism of water column, Algal COD