

## 固定化的栅藻深度脱氮和除磷能力

张恩栋<sup>1\*</sup> 王冰<sup>2</sup> 王起华<sup>1</sup> 周春影<sup>3</sup> 李贺<sup>2</sup>

<sup>1</sup>辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连116029; <sup>2</sup>大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连116600; <sup>3</sup>大连轻工业学院教务处, 辽宁大连116034

**摘要** 将栅藻包埋固定在筛网上, 经饥饿处理, 在平行板式生物反应器中对人工污水进行深度净化后, 测定藻细胞生长期和饥饿时间对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率影响以及净化前后藻细胞生理变化的结果表明, 生长静止初期藻细胞的氮和磷去除率高于对数期的, 细胞饥饿48 h的氮和磷去除率大于饥饿24和12 h, 第2个循环中处理4 h的氨氮和磷的去除率可分别达到90%和70%以上。

**关键词** 固定化栅藻; 筛网; 污水处理; 氨氮; 正磷酸磷

## Capacity of Ammonia-nitrogen and Orthophosphate Removal by Immobilized *Scenedesmus* sp.

ZHANG En-Dong<sup>1\*</sup>, WANG Bing<sup>2</sup>, WANG Qi-Hua<sup>1</sup>, ZHOU Chun-Ying<sup>3</sup>, LI He<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China; <sup>2</sup>School of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600, China; <sup>3</sup>Dean's Office, Dalian Institute of Light Industry, Liaoning, Dalian 116034, China

**Abstract** *Scenedesmus* sp. cells were immobilized on alginate screens for wastewater treatment. Under the conditions of starvation and wastewater treatment cycles, the effects of algal ages and starvation on the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  removal efficiencies were studied. The results showed that cells in quiescent stage had higher removal efficiency than that in logarithmic phase. After 48 h starvation, the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  removal efficiencies were higher than which after 24 and 12 h starvation. And in the second starvation and wastewater cycle,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal efficiency exceeded 90%, while  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  removal efficiency was more than 70%.

**Key words** immobilized *Scenedesmus* sp.; screen; wastewater treatment;  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$

自1985年Chevalier 和De la Noüe采用卡拉胶固定化栅藻进行污水处理以来, 固定化技术应用于藻类细胞处理污水的研究日益受到广泛关注, 寻求一种高效、低耗和可再生利用的污水生物处理技术是当前的研究热点(De la Noüe 等1992; Mallick 2002; 王起华等2005)。已有研究初步表明, 采用固定化藻类对二沉水进行深度(三级)净化, 不仅可有效地去除污水中的氮、磷营养盐, 有利于解决受纳水体的富营养化问题, 还可以去除重金属和许多有毒有机化合物, 并有可能实现废水的再生利用, 而且藻类生物量亦可用作潜在的动物饲料, 从而可能有望成为一项有良好应用前景的污水资源化生物技术(胡鸿钧1997; 黄峙等2001; 王起华等2005; Vichez等1997; Mallick 2002)。目前, 虽然人们已对影响固定化藻类去污效率的某些因素做了初步探讨(严国安等1995; 李婷婷等2002; Megharaj 等1992; Kaya 和Pichard

1995; Kaya等1995; Tam和Wang 2000; Abe等2002; De-Bashan等2004; Jiménez-Pérez等2004), 但要做到工业化应用还有一段距离, 仍需深入研究。

本文采用从市政排污口分离的栅藻(*Scenedesmus* sp.)用于高效污水三级处理程序中, 即将藻细胞固定成胶板, 以100%相对湿度空气饥饿 → 黑暗去污 → 饥饿 → 黑暗去污的循环处理模式(cells immobilized on alginate screens but conditioned in air at 100% relative humidity, CSA) (Kaya 等1995), 检验其污水处理能力, 并对影响氮和磷营养盐去除效率的一些因素作了探讨, 同时还比较了藻细胞生长期和饥饿时间对氨氮和正磷酸盐去除效率的影响。

收稿 2006-05-10 修定 2006-11-13

资助 国家自然科学基金(30170099)和大连市科委项目(1999-95)。

\*E-mail: zhangendongemail@163.com, Tel: 0411-82157102

## 材料与amp;方法

栅藻 (*Scenedesmus* sp.) 是我们实验室从大连黑石礁市政排污口分离纯化而来。培养基参照 Dauta 配方 (Kaya 和 Pichard 1995)。在温度为  $(20\pm 2)$  °C, 光照强度为  $(130\pm 6)$   $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (由 30 W 环形冷荧光灯管提供), 每天光照 13 h 条件下以过滤空气鼓泡培养, 绘制生长曲线。

固定化时, 于室温下将浓缩藻液与 6% (W/V) 褐藻酸钠溶液等体积混合。用自制模具将藻胶混合液涂于不锈钢筛网上,  $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  浸泡, 1 h 后胶变硬, 形成 3 mm 厚胶板。蒸馏水冲洗后进行氮、磷饥饿, 用于污水处理。采用 1.5% 柠檬酸钠溶液脱固定化。

污水处理前将筛网上的藻放在 100% 相对湿度空气中进行饥饿处理 48 h (饥饿时间试验除外)。光照强度为  $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 每天光照 13 h, 温度为  $(20\pm 2)$  °C。

污水处理采用平行板式污水处理反应器, 反应器用梯形硬塑制成, 规格为  $6.8\text{ cm}\times 5.7\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$ 。配有气泡产生系统 (共 3 组平行通气孔, 每组 6 个, 均匀分布在底部) 和 10 组平行筛网插槽 (槽间距 1.15 cm, 筛网孔  $1\text{ mm}\times 1\text{ mm}$ )。

人工污水按 Dauta 培养基组成配制, 其中  $\text{KNO}_3$  和  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  置换为  $15.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NH}_4^+-\text{N}$  和  $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 。N、P 含量与大连市开发区污水处理厂的二沉水中 N、P 含量相近。

污水处理时,  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  和  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  的营养吸收于黑暗的平行板式反应器中进行, 温度  $(20\pm 2)$  °C。

去污循环过程为: 饥饿  $\rightarrow$  污水处理 8 h (1 循环)  $\rightarrow$  再饥饿  $\rightarrow$  再污水处理 8 h (2 循环)。取样时间为 0.25、0.75、1.25、1.75、2.25、4 和 8 h。样品放于塑料取样管中, 当日测定则存放于 4 °C, 次日测定则置于  $-20$  °C 冰柜中。

做栅藻细胞生长期影响氮和磷去除率试验时, 分别取对数生长期和静止初期的栅藻细胞, 制成藻胶混合物, 做成细胞密度为  $3\times 10^8$  个  $\cdot\text{mL}^{-1}$ 、厚度为 3 mm 的胶板, 饥饿 48 h, 循环去污。

做饥饿处理影响氮和磷去除率试验时, 取静止初期的栅藻细胞, 藻胶混合物的细胞密度、胶板厚度同上, 分别经 12、24 和 48 h 饥饿处理后, 用于循环去污。

$\text{NH}_4^+-\text{N}$  及  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  测定、细胞计数参见李婷婷等 (2002) 方法。测定叶绿素 a 时, 含藻胶板脱固定化后, 离心弃去上清液, 加入一定量提取液 (氯仿: 甲醇 = 2:1, V/V), 于黑暗中过夜。次日,  $1369.6\times g$  离心 10 min 后, 取上清液定容, 在波长 665 nm 处比色, 测定叶绿素 a 含量。摩尔消光系数为  $6.74\times 10^4$ 。

## 结果与amp;讨论

### 1 栅藻细胞生长期对氮和磷去除率的影响

从图 1 可以看出, 用无藻细胞的胶板处理人工污水, 在 8 h 内  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  含量无显著变化, 说明褐藻酸钙胶板对  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的吸收极少。而用含藻胶板处理污水后 8 h 内,  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  浓度极显著下降。第 1 个循环的静止初期细胞在处理 4 h 即达到 80% 去除率, 对数生长期的为 65.5%; 处理 4 h 后, 第 2 个循环的静止初期细胞达到 96% 去除率, 对数生长期的为 72%。这些表明, 静止初期的细胞对  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的去除效率显著好于对数生长期的。

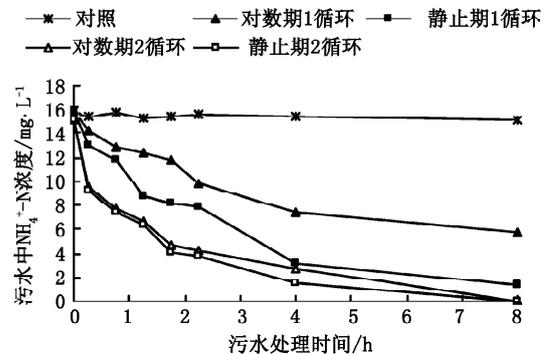


图 1 栅藻细胞生长期对  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  去除率的影响  
Fig. 1 Effects of algal ages on  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  removal efficiency

$\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  的去除结果与  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的相似, 即空白胶板对  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  也无明显吸收作用, 静止初期细胞的去除率比对数生长期的好 (图 2)。第 1 个循环中, 静止初期细胞处理 8 h 的去除率为 82%, 对数生长期的为 69%; 第 2 个循环中, 静止初期细胞处理 4 h 的去除率为 96%, 对数生长期的为 73%。

以上结果与前人报道的非饥饿固定化的静止期栅藻和小球藻的磷去除率大于对数生长期 (Megharaj 等 1992) 以及非饥饿情况下固定化小球藻

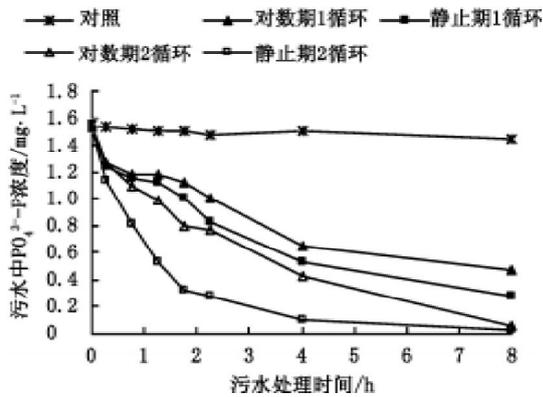


图2 栅藻细胞生长期对 $PO_4^{3-}$ -P去除率的影响  
Fig. 2 Effects of algal ages on  $PO_4^{3-}$ -P removal efficiency

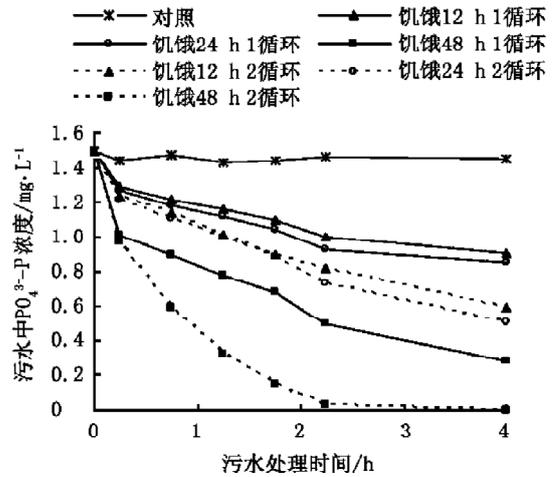


图4 饥饿处理对 $PO_4^{3-}$ -P去除率的影响  
Fig. 4 Effects of starvation on  $PO_4^{3-}$ -P removal efficiency

的磷去除结果是相似的(李婷婷等 2002)。其间机制尚待进一步研究。

### 2 饥饿处理对氮和磷去除率的影响

图 3、4 显示, 第 2 个饥饿循环中的氮和磷的去除率优于第 1 个饥饿循环,  $NH_4^+$ -N 和  $PO_4^{3-}$ -P 的去除率是饥饿 48 h > 24 h > 12 h。与前人的结果(Kaya等1995; Mallick 2002)相似, 说明饥饿时间对营养盐去除率有影响。

### 3 不同藻细胞生长期和饥饿处理的栅藻中叶绿素 a 的变化

一般来说, 细胞生存和生长的指标包括与蛋白质、脂类、氨基酸含量或酶活力水平相关的指数(Kaya和Pichard 1995), 叶绿素一类色素是自养浮游生物特定的标记, 且受细胞死亡率的影响大。微藻细胞的光合色素多寡依赖于氮的可获得

性。因此, 人们常以叶绿素 a 作为衡量微藻生物量的指标, 并用于评价细胞生存力的大小(Kaya和Pichard 1995; 严国安等1995)。为此, 我们测定了叶绿素 a 的含量变化。图 5 表明, 在经历 2 个

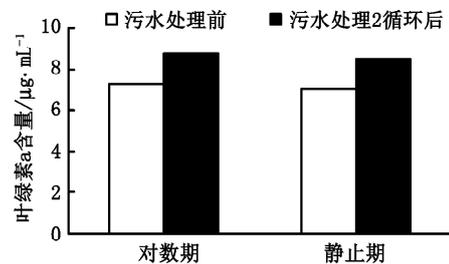


图5 不同藻细胞生长期的栅藻中叶绿素a含量变化  
Fig. 5 Change in chlorophyll a content of *Scenedesmus* sp. in different ages

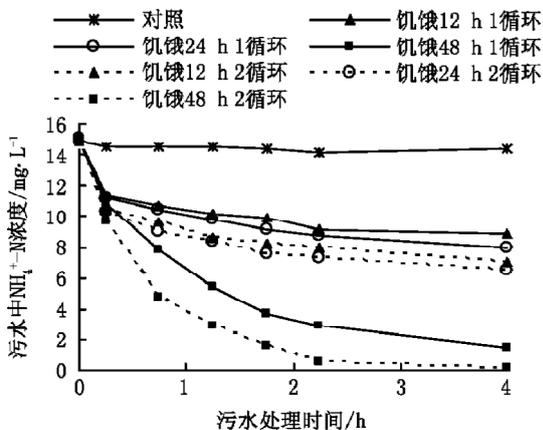


图3 饥饿处理对 $NH_4^+$ -N去除率的影响  
Fig. 3 Effects of starvation on  $NH_4^+$ -N removal efficiency

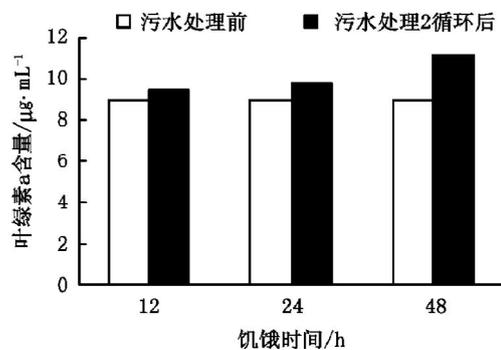


图6 饥饿处理对栅藻中叶绿素a含量的影响  
Fig. 6 Effect of starvation on chlorophyll a content of *Scenedesmus* sp.

48 h 饥饿循环处理污水后, 静止初期和对数生长期藻细胞的叶绿素 a 含量均有增加, 分别是 21.4% 和 19.7%。饥饿 48 h 的藻体中叶绿素 a 含量增加明显(图 6)。

### 参考文献

- 胡鸿钧(1997). 藻类的养殖和利用. 植物生理学通讯, 33 (6): 502~504
- 黄峙, 向军俭, 郑文杰, 郭宝江(2001). 钝顶螺旋藻富集转化硒及硒在藻体中的分布. 植物生理学通讯, 37 (1): 12~14
- 李婷婷, 王起华, 周春影, 李贺, 李莹, 程爱华(2002). 固定化小球藻对市政污水中N, P营养盐的深度处理. I. 藻细胞年龄对氮、磷去除率的影响. 辽宁师范大学学报, 25 (4): 412~414
- 王起华, 张岚翠, 王冰(2005). 固定化藻类细胞去除污水中氮、磷的研究进展. 工业水处理, 25 (6): 6~8
- 严国安, 李益健, 王志坚, 张忠新, 胡玉波(1995). 固定化栅藻对污水的净化及其生理特征的变化. 中国环境科学, 15 (1): 10~13
- Abe K, Imamaki A, Hirano M (2002). Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. J Appl Phycol, 14: 129~134
- De-Bashan LE, Hernandez JP, Morey T, Bashan Y (2004). Microalgae growth-promoting bacteria as 'helpers' for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater. Water Res, 38 (2): 466~474
- De la Noüe J, Laliberté G, Proulx D (1992). Algae and waste water. J Appl Phycol, 4: 247~254
- Jiménez-Pérez MV, Sánchez-Castillo P, Romerab O, Fernández-Moreno D, Pérez-Martínez C (2004). Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure. Enzyme Microb Technol, 34: 392~398
- Kaya VM, De la Noüe J, Picard G (1995). A comparative study of four systems for tertiary wastewater treatment by *Scenedesmus bicellularis*: new technology for immobilization. J App Phycol, 7: 85~95
- Kaya VM, Picard G (1995). The viability of *Scenedesmus bicellularis* cells immobilized on alginate screens following nutrient starvation in air at 100% relative humidity. Biotechnol Bioeng, 46: 459~464
- Mallick N (2002). Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review. BioMetals, 15: 377~390
- Megharaj M, Pearson HW, Venkateswarlu K (1992). Removal of nitrogen and phosphorus by immobilized cells of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus bijugatus* isolated from soil. Enzyme Microbiol Technol, 14: 656~658
- Tam NFY, Wang YS (2000). Effect of immobilized microalgal bead concentration on wastewater nutrient removal. Environ Pollut, 107: 145~151
- Vilchez C, Garbayo I, Lobato MV, Vega JM (1997). Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. Enzyme Microbiol Technol, 20 (8): 562~572