

固定化新月菱形藻的制备及其对 N、P 吸收的影响

丁玉惠, 黄 晨, 陈 铨, 尤泽文, 蒋霞敏*, 韩庆喜

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为优化固定化新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)在污水中去氮、磷的效果, 以褐藻酸钠为固定化载体, 采用单因子试验方法, 研究了不同包埋藻细胞密度(0 、 0.27×10^7 、 0.81×10^7 、 1.35×10^7 、 1.89×10^7 、 2.43×10^7 cells·mL⁻¹), 不同藻球直径(2.5、3.0、3.5、4.0 mm), 3% CaCl₂ 溶液不同加固时间(0、1、2、4、6、8 h)、不同藻球用量(0、7.5、15.0、22.5、30.0、37.5 g·L⁻¹)和不同加固时间下反复使用次数对氮、磷的去除效果。结果表明: 包埋藻细胞密度为 1.35×10^7 cells·mL⁻¹ 时单位藻细胞去除 NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 的效果较好。藻球规格对 NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 去除效率的影响不显著 ($P>0.05$)。CaCl₂ 加固时间 2~8 h 对藻球中藻细胞生长、NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 去除率没有显著影响 ($P>0.05$), 但均显著高于加固 1 h, 未经加固的藻球极易破损。藻球投放质量越大, NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 的去除速度越快, 投放量为 30 g·L⁻¹, 培养 9 d 后, NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 去除率可达 80% 以上。固定化藻球反复使用 3 次以上, 其 NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 的去除效率下降。由此得出: 固定化新月菱形藻球包埋藻细胞密度以 1.35×10^7 cells·mL⁻¹, 藻球直径 3.5 mm 为佳; 藻球制作时在 3% CaCl₂ 溶液中加入最佳时间为 2 h; 藻球用量为 30 g·L⁻¹; 对藻球定期(9 d)进行加固, 有利于增加藻球使用寿命, 并保持其较好的氮、磷去除率。

关键词: 新月菱形藻; 固定化; NH₄⁺-N; PO₄³⁻-P; 去除率

中图分类号: Q142

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2017) 03-0012-07

微藻是一类古老的低等植物, 广泛分布在海洋、淡水湖泊等水域, 具有脱氮除磷、降解吸收有机物及 Co、Mn、Hg 等重金属离子的作用^[1]。国内外学者对利用微藻处理生活、工农业污水已有较多研究^[2-6]。研究发现, 虽然游离的微藻净化污水效果显著, 但藻群容易衰败或爆发, 加上难以及时回收, 往往会引发二次污染^[7]。如果将游离的微藻细胞固定或包埋在载体上, 形成固定化藻球, 可及时回收, 避免引发二次污染; 同时可反复利用, 提高利用率; 还可作为动物饲料, 或通过分离, 加工成保健品^[8-9]。利用固定化藻去除污水中的氮、磷、重金属离子、烃类化合物等有害物质是目前研究的一个热点^[10-13]。Canizares 等^[14]利用固定化螺旋藻(*Spirulina maxima*)去除造酒废水中 NH₄⁺-N、PO₄³⁻-P 和 TP, 去除率均达 90% 以上。Travieso 等^[15]利用固

定化小球藻(*Chlorella vulgaris*)净化水道污染物, 经过 7 d 处理氨氮质量浓度从 35 mg·L⁻¹ 到趋近零, 而 PO₄³⁻-P 除去率达 71%。梁晶晶等^[16]利用固定化微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)去除废水, 7 d 后 NH₄⁺-N 和 PO₄³⁻-P 去除率分别达 87% 和 82%。

目前国内外研究较多的是淡水固定化微藻, 关于海水固定化微藻鲜有报道^[2,6-7]。新月菱形藻隶属硅藻门、羽纹硅藻纲、管壳缝目、菱形藻科、菱形藻属, 是一种生长快、易培养的藻株, 同时喜吸收氨氮和磷, 对治理污水具有较好的效果^[17]。目前常见的藻类固定化载体为琼脂、卡拉胶、聚乙烯酰胺、聚乙稀醇和海藻酸钠^[18-19]。虽然聚乙烯酰胺和聚乙稀醇具有抗冲击能力强与良好的传质性能, 但对生物有毒性作用; 卡拉胶生产成本较高, 琼脂则抗冲击能力与传质性能较差^[18]。因此, 我们选用

收稿日期: 2017-01-17。

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家级大学生创新训练计划(2016111646003); 浙江省公益项目(2015C3204); 宁波市科技项目(2015C10062)。

第一作者: 丁玉惠(1993-), 女, 福建建阳人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 藻类与饲料生物培养。E-mail: dingyuhuid@163.com

*通信作者: 蒋霞敏(1957-), 女, 浙江舟山人, 教授, 主要研究方向: 藻类与饲料生物培养。E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

微生物活性高、无生物毒性、易固定、成本较低,且具有一定抗冲击能力的褐藻酸钠作为固定化载体。由于固定化方法操作不同,所采用的固定化材料载体、制作工艺或藻与载体比例不同,都会影响固定化藻净化污水的效果。因此,本研究以新月菱形藻为藻种,采用海藻酸钠为固定化载体,进行固定化条件优化,以期对固定化藻处理污水提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验藻种: 新月菱形藻取自宁波大学海洋学院藻种室。培养用水均经脱脂棉过滤、煮沸消毒。所用玻璃容器经高温(120℃)干热消毒。培养液采用 1:1 000 的改良宁波大学 3#母液配方(表 1)。试验污水为人工污水,即在此培养液内加入 NH_4Cl , 氮氮质量浓度为 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 1 改良后的宁波大学 3#母液配方

药品	含量/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
KNO_3	100.00
KH_2PO_4	10.00
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.50
MnSO_4	0.25
$\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2$	10.00

固定化藻球的制作: 取指数生长的新月菱形藻液,离心浓缩($5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 15 min, 15℃)后,与预先经过灭菌冷却的 6%褐藻酸钠溶液混合(按体积 1:1)。用自制造粒机制成直径为 3.5 mm 的藻球,在离液面 20 cm 高度处均速滴入内盛 3% CaCl_2 溶液的固定盘中。为防止藻球相互粘连,固定盘置于数显恒温磁力搅拌器(85-2 型)上,磁珠转速为 $60 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。藻球浸泡 2 h 后,用滤网捞出,用消毒海水洗 2 次待用。

脱固定化: 在计算固定化藻球内藻细胞数时,先进行脱固定化处理。脱固定化的化解液为 3% 的 $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 溶液。经过脱固定化处理后,固定化藻球形成悬浮态,测定藻细胞密度。

1.2 方法

1.2.1 包埋不同藻细胞密度对藻细胞生长及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

分别制备 6 种不同藻细胞密度(0、0.27、0.81、

1.35 、 1.89 、 $2.43 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{ball}^{-1}$)的新月菱形藻球,每个密度梯度设置 3 个平行,培养容器为 250 mL 的三角烧瓶,每瓶加 3 g 藻球和 200 mL 人工污水(盐度为 26‰, pH 为 8.0,下同)。置于 GXZ 智能型光照培养箱(宁波江南仪器厂)培养,培养条件为温度 25℃,光照强度 3 500 lx,光暗周期 12 h:12 h,不充气,试验周期 9 d。在实验始末采用血球计数板计数藻细胞,隔天定时测各试验组水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 测定使用哈氏试剂(HACH®, Loveland, Colorado, America),测定方法参考哈氏试剂使用说明^[19]。

1.2.2 固定化藻球不同直径对藻细胞生长及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

分别制备不同直径(2.5、3.0、3.5、4.0 mm)的新月菱形藻球,培养容器为 250 mL 三角烧瓶,每瓶加 3 g 藻球和 200 mL 人工污水,每组设 3 个平行。培养条件与测定指标及方法同 1.2.1 节。

1.2.3 不同加固时间对藻类生长及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

分别设置 4 个在 3% CaCl_2 溶液中浸泡加固不同时间(0、2、8、14 h)的试验组。每个试验组设置 3 个平行,培养瓶为 250 mL 三角烧瓶,每瓶加入 3 g 不同加固时间的藻球和 200 mL 人工配置的污水,培养条件与测定指标同 1.2.1 节。

1.2.4 循环使用加固与否对藻类生长及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

设置加固和不加固 2 个试验组,每个试验组设置 3 个平行。循环 1: 培养瓶为 250 mL 三角烧瓶,每瓶加 13 g 藻球和 200 mL 人工污水,培养条件、测定指标和方法同 1.2.1 节。循环 2 与循环 3: 第一个循环结束后,加固组和不加固组藻球均捞出,用消毒海水冲洗藻球;然后加固组用 3% 的 CaCl_2 溶液浸泡 2 h,不加固组用消毒海水浸泡 2 h;浸泡后均移至 250 mL 三角烧瓶,每瓶加 3 g 藻球和 200 mL 新配置的人工污水。

1.2.5 固定化藻球不同用量对藻细胞生长及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

设置不同用量的固定化藻球试验组(0、7.5、15.0、22.5、30.0、37.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。每个试验设置 3 个平行。培养瓶为 250 mL 三角烧瓶,按组分别加入新月菱形藻固定化藻球 0、1.5、3.0、4.5、6.0、7.5 g,

每瓶加 200 mL 人工污水. 培养条件、测定指标和方法同 1.2.1 节.

1.3 数据处理与分析

生长速率计算公式为^[20]:

$$K=(\lg N_t - \lg N_0)/t,$$

式中: N_0 为培养的起始浓度; N_t 为培养时间 t 后的藻细胞浓度; t 为培养时间.

NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率公式为:

$$R=(C_0 - C_t)/C_0 \times 100\%,$$

式中: R 为去除率, %; C_0 和 C_t 分别为 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的初始浓度或各取样时段浓度.

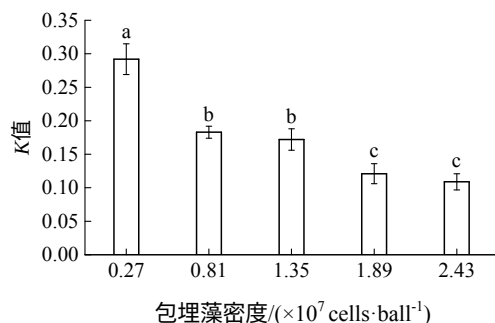
实验数据采用(平均值 $\pm$ 标准差)表示, 用统计软件 SPSS 19.0 对数据进行单因素方差分析和 Duncan's 多重比较, 以 $P<0.05$ 作为差异显著性判别依据.

2 结果

2.1 包埋不同藻细胞密度对藻类生长及 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除效率的影响

固定化藻球内包埋的藻细胞密度多寡对藻的生长速率影响显著($P<0.05$), 包埋的藻细胞密度与藻细胞生长速率成反比(图 1).

包埋藻的细胞密度多寡对 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的去除率影响显著($P<0.05$). NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的去除率随着藻球藻细胞包埋密度的增加而增加. 当藻细胞包埋密度为 $2.43 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{ball}^{-1}$ 时, 固定化藻球对 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的去除率达到最大, 分别为 60.28% 和 88.98%(图 2 和图 3). 从单位密度 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率效果看, 包埋藻细胞密度越大其单位密度 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的去除率就越小(表 2).



不同字母表示组间差异性显著($P<0.05$), 下同

图 1 包埋不同藻密度对固定化藻生长的影响

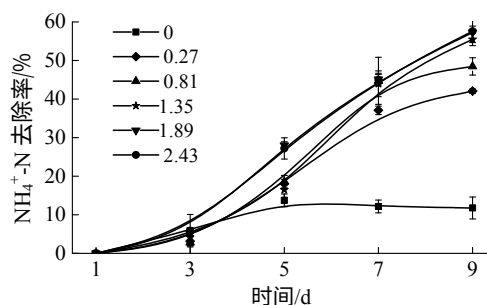


图 2 不同包埋藻细胞密度对 NH_4^+-N 去除率的影响

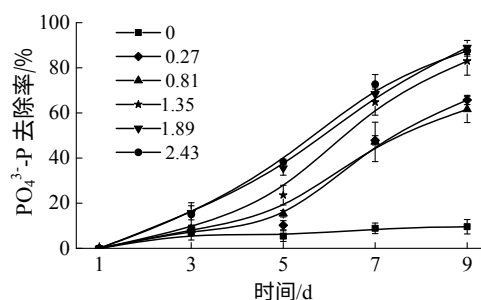


图 3 不同包埋藻细胞密度对 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率的影响

表 2 不同包埋藻细胞单位密度吸收 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 效果比较

初始密度/ ($\times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{ball}^{-1}$)	单位密度 NH_4^+-N 去除率/%	单位密度 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率/%
0.27	121.69 $\pm$ 7.98 ^a	143.44 $\pm$ 10.98 ^a
0.81	59.82 $\pm$ 4.56 ^b	76.02 $\pm$ 3.78 ^b
1.35	43.33 $\pm$ 3.87 ^c	61.46 $\pm$ 3.87 ^c
1.89	25.02 $\pm$ 1.23 ^d	41.79 $\pm$ 2.95 ^d
2.43	19.60 $\pm$ 1.50 ^d	27.78 $\pm$ 2.34 ^e

2.2 固定化藻球不同直径对藻类生长和 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除效率的影响

固定化藻球直径的大小对藻生长速率的影响显著($P<0.05$)(图 4), 在本试验范围内, 随着藻球直径的增加藻生长速率呈现先增后减的趋势. 当藻球直径为 3.5 mm 时, K 值最大, 且显著高于其他各组($P<0.05$).

固定化藻球直径大小对 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去

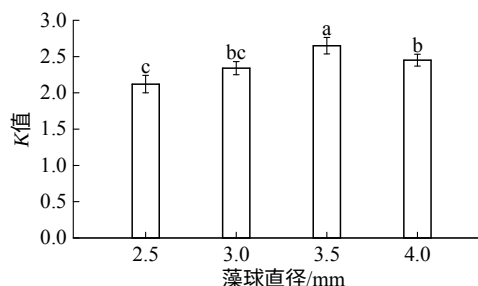


图 4 不同藻球直径对固定化藻生长的影响

除率影响显著($P<0.05$), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率随藻球直径增加, 呈先上升后下降的趋势。藻球直径为 3.5 mm 时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率达到最大值(57.49 ± 2.06)%, 且显著高于其他各组($P<0.05$)(图 5)。同样, 藻球直径为 3.5 mm 时, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除率也达到最大值(78.44 ± 3.28)%, 但与直径 3.0 mm 差异不显著($P>0.05$)(图 6)。

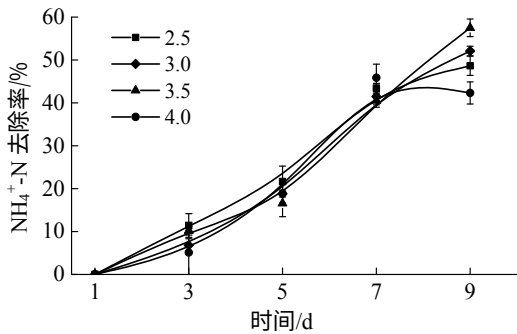


图 5 不同藻球直径对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率的影响

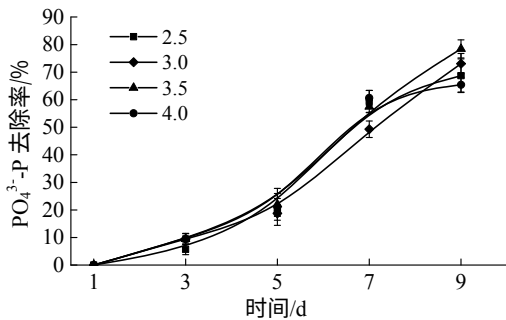


图 6 不同藻球直径对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率的影响

2.3 固定化藻球不同加固时间对藻类生长和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

固定化藻球加固时间多于 2 h 对藻细胞生长无显著影响($P>0.05$), 但显著高于加固 1 h(图 7)。

固定化藻球加固时间多于 2 h 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率影响不显著($P>0.05$), 均略高于加固 1 h(图 8 和图 9)。

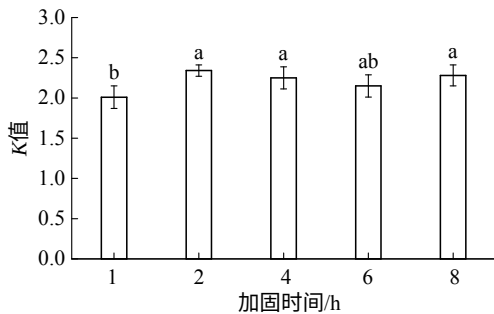


图 7 不同加固时间对固定化藻生长的影响

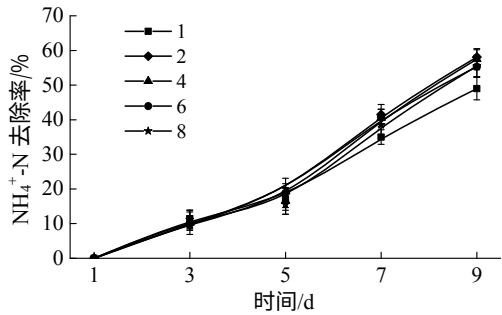


图 8 不同加固时间对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率的影响

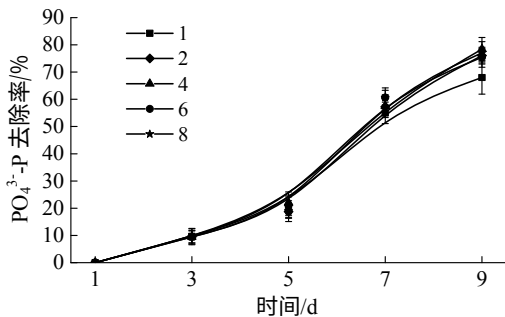


图 9 不同加固时间对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率的影响

2.4 藻球循环使用时, 加固与否对藻生长和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

固定化藻第一次使用后(循环 1), 藻球加固与否对藻细胞生长和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率差异不显著($P>0.05$)。但第 2、3 次循环使用后, 加固组藻球细胞生长, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率显著高于不加固组($P<0.05$), 且第 2 次循环使用后, 不加固组的藻球表面出现皴裂、弹性与硬度下降。加固组在第 3 次循环使用后, 其藻球细胞生长率、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率比第 1、2 次使用明显降低($P<0.05$)(表 3)。

表 3 循环利用不同加固条件对藻类生长及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

使用次数	CaCl_2 浸泡	K 值	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率/%	$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率/%
循环 1	加固	0.13 ± 0.002	62.56 ± 5.21	85.53 ± 6.23
	不加固	0.14 ± 0.003	63.34 ± 2.25	83.56 ± 1.14
循环 2	加固	0.06 ± 0.001	73.72 ± 1.73	92.53 ± 3.54
	不加固	-0.02 ± 0.001	48.23 ± 2.83	55.83 ± 2.58
循环 3	加固	-0.03 ± 0.0002	43.65 ± 1.94	62.73 ± 2.12
	不加固	—	—	—

2.5 固定化藻球不同用量对藻类生长和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除效率的影响

固定化藻球用量多寡对藻的生长速率影响显

著($P<0.05$). 在试验范围内, 随着固定化藻球用量的增加, 藻生长速率明显减少. 但是藻球用量 $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组与 $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组藻的生长速率(K 值)差异不显著(图 10).

固定化藻球用量的多寡对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率影响显著($P<0.05$). $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率随着藻球用量的增加而增加. 虽然 $37.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率略高于 $22.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组, 但差异不显著(图 11 和图 12).

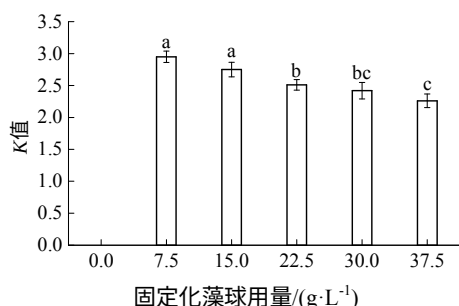


图 10 不同用量固定化球藻对藻生长的影响

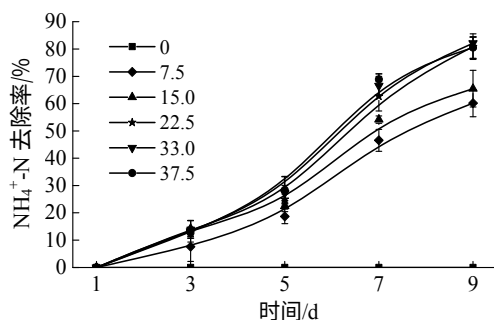


图 11 不同用量球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率的影响

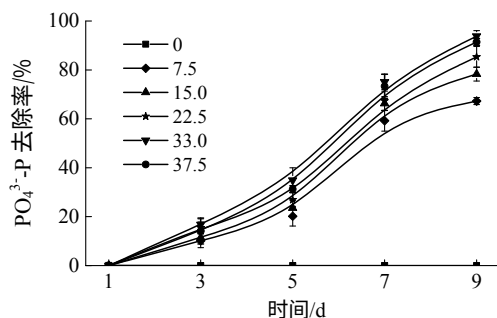


图 12 不同用量球藻对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率的影响

3 讨论

3.1 固定化藻球的加工工艺对藻细胞生长和氮磷去除效率的影响

影响固定化藻去除废水中氮、磷效果取决于许多因素, 如固定化藻的加工工艺、藻球投放量、污

水条件(温度、盐度、营养物含量等)和光照强度等因素^[21-23], 其中固定化藻的加工工艺是影响固定化藻生长和氮磷去除效率的重要因素. 固定化藻的加工工艺包括藻细胞的包埋密度、藻球的半径、包埋载体材料等^[24-25]. 毛欣欣等^[9]研究表明, 综合考虑单位藻细胞去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 效率, 固定原绿球藻最适包埋密度为 $700\times 10^4 \text{ cells}\cdot\text{ball}^{-1}$. 梁晶晶等^[16]研究发现, 微绿球藻藻细胞最适包埋密度为 $100\times 10^4 \text{ cells}\cdot\text{ball}^{-1}$. Mallick 等^[2]研究发现淡水固定化鱼腥藻 (*Anabaena doiolum*) 和固定化小球藻包埋密度与氮、磷和金属离子的单位密度去除率成反比. 本研究表明, 新月菱形藻包埋藻细胞密度与 K 值呈负相关, 而包埋的密度越大其 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率越高, 但从单位密度去除率看, 较低的包埋密度表现出较高的单位去除效率. 这可能是由于随着藻细胞包埋密度的增加, 藻球中的空隙减少, 传质阻力增加, 气液体在藻球中交换速率降低; 同时较高的包埋密度会造成成本上升. 综合考虑在特定时间内氨氮去除率和单位密度氨氮去除率, 固定化新月菱形藻包埋密度以 $1.35\times 10^7 \text{ cells}\cdot\text{ball}^{-1}$ 为宜.

固定化藻球的大小会影响藻球的传质性能, 体积越大越不利于营养物质和气体的传质, 会导致藻球内部藻细胞 CO_2 不足和代谢产物过多积累, 从而导致其内部藻类的死亡; 同时球藻越大, 透光性越差, 其内部不受光体积也越大, 从而会影响藻的生长和对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 等的去除效果^[24]. 但并不是藻球体积越小越好, 要同时考虑所形成的膜厚度对传质的影响, 还有藻球体积过小, 藻球容易分解, 抗机械能力弱^[24-25]. 袁冰等^[26]研究发现以海藻酸钠为包埋载体材料, 固定化小球藻藻球直径 1.0 mm 时藻细胞生长和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除效果最佳. 梁晶晶等^[16]研究发现, 固定化微绿球藻以藻球直径 4.0 mm 去 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 效果最好. 毛文娟^[24]研究发现, 固定化铜绿微囊藻采用 10% 的聚乙烯醇和 1% 的海藻酸钠为包埋载体材料, 以直径 2.5 mm 为好. 本研究表明, 固定化新月菱形藻藻球直径为 3.5 mm 时, 藻细胞生长速率和去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 效果最佳. 这与文献^[16, 24, 26]的研究结果有一定差异.

采用褐藻酸钠包埋新月菱形藻制成固定化藻球后, 在 CaCl_2 中浸泡(固定)时间长短关系到藻球

的物理强度、抗微生物能力、使用寿命。本研究表明, CaCl_2 中加固时间为 2、4、6、8 h 对藻球的藻细胞生长、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率没有显著影响 ($P>0.05$), 但均显著高于加固 1 h。所以以褐藻酸钠包埋新月菱形藻需要在 CaCl_2 中交联加固 2 h, 这样有利于增加藻球的物理强度, 提高其对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除效果。

3.2 固定化藻球反复使用效果

固定化藻的优点之一是可为人为控制、反复使用, 藻球使用寿命的长短和 CaCl_2 加固有一定关系。本研究表明, 藻球再次利用之前通过 3% CaCl_2 溶液的浸泡可以起到加固作用, 有利于延长藻球的使用寿命, 提高藻细胞生长率和氨氮的去除率。但反复利用次数是有限的, 当反复利用次数大于 3 次时, 藻球的藻细胞呈现负增长率, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除率明显下降, 这可能是因为藻球的内部空间有限, 随着藻细胞生长, 藻球内部空隙越来越小, 藻球的透光性变差, 传质阻力增加, 气液体交换速率降低, 从而导致部分藻细胞死亡和脱落, 影响去除氮磷的效果。毛欣欣等^[9]研究发现, 在原绿球藻固定化藻球反复循环利用时, CaCl_2 溶液加固与否对去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的效果影响显著, 藻球加固后去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的效果显著优于不加固。不加固组循环利用会导致藻球表面的 Ca^{2+} 浓度不断被新一循环的污水所稀释, 导致藻球的胶质结构变得疏松, 当表面的藻细胞与褐藻酸钠组成胶质结构疏松到一定程度时, 藻球表面胶质在水的作用下剥落, 胶球硬度变小, 导致藻体的泄漏, 藻球表面形成许多絮状物, 最终导致藻球的破碎。

污水中藻球用量的多寡会显著影响 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除效果。本研究表明, 在污水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的质量浓度为 $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的质量浓度为 $3.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 固定化新月菱形藻藻球用量 $7.5\sim 37.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 随着用量增加, 污水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除率增大, 但 $37.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组差异不显著。这与高鹏等^[27]、郑莲等^[28]和梁晶晶等^[16]研究结果一致, 藻球投放量加大, 有利于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 快速去除, 但随着固定化藻球用量达到一定值后, 其 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除速率并不会相应提高, 再加大用量只会造成藻球的浪费。所以在实际使用中, 把控好藻球的用量十分关键, 既要

特定时间内达到最优的氮磷去除效果, 同时也需节约成本。

4 结论

固定化新月菱形藻球以包埋藻细胞密度 $1.35\times 10^7\text{ cells}\cdot\text{ball}^{-1}$ 、藻球直径 3.5 mm 为佳; 在藻球制作时需 3% CaCl_2 溶液中浸泡加固 2 h, 当藻球用量为 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 使用 9 d 时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率可达 80% 以上, 固定化藻球可反复循环 3 次(每次使用周期为 9 d), 使用前最好用 3% CaCl_2 溶液浸泡 2 h。

参考文献:

- [1] 钱树本, 刘东艳, 孙军. 海藻学[M]. 北京: 中国海洋出版社, 2005:4-5.
- [2] MALLICK N, RAI L C. Influence of culture density, pH, organic acids and divalent cations on the removal of nutrients and metals by immobilized *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris*[J]. World Journal Microbiology & Biotechnology, 1993, 9(2):196-201.
- [3] DE-BASHAN L E, BASHAN Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects[J]. Bioresource Technology, 2010, 101:1611-1627.
- [4] 刘建新. 固定化菌藻对城市污水脱氮除磷效果研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2015.
- [5] 王起华, 张岚翠, 王冰. 固定化藻类细胞去除污水中氮、磷的研究进展[J]. 工业水处理, 2005, 25(6):6-9.
- [6] 李川, 薛建辉, 赵蓉, 等. 4 种固定化藻类对污水中氮的净化能力研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(12):2185-2188.
- [7] 严清, 孙连鹏. 固定化与游离态小球藻脱氮除磷对比研究[J]. 能源环境保护, 2008, 22(3):19-24.
- [8] 邢丽贞, 李飞, 张向阳, 等. 固定化微藻在解决环境问题方面的应用[J]. 水资源保护, 2006, 22(5):9-12.
- [9] 毛欣欣, 蒋霞敏, 钱鹏. 原绿球藻固定化培养去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的效果[J]. 生态学杂志, 2014, 33(11):3075-3080.
- [10] 杨芬. 固定化藻细胞对水中 Cu(II) 的吸附研究[J]. 曲靖师专学报, 2000, 19(6):46-48.
- [11] 徐位镜, 王秀, 秦运铁, 等. 固定化藻菌流态化去除氮磷及有机物的研究[J]. 工业用水与废水, 2009, 40(1):39-41.
- [12] 胡文稳. 固定化微生物对原油污染土壤的生物修复[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [13] 雷国元, 范唯, 李媛, 等. 固定化藻膜去除水中氮磷的模拟研究[J]. 生态环境, 2007, 16(4):1166-1170.
- [14] CANIZARES R O, DOMINGUEZ A R, RIVAS L, et al. Free and immobilized cultures of *Spirulina maxima* for

- swine waste treatment[J]. Biotechnology Letters, 1993, 15(3):321-332.
- [15] TRAVIESO L, BENITES F, DUPEIRON R. Sewage treatment using immobilized microalgae[J]. Bioresource Technology, 2002, 40(2):183-187.
- [16] 梁晶晶, 蒋霞敏, 江茂旺, 等. 固定化微绿球藻去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 效果的研究[J]. 水生生物学报, 2016, 40(5):294-300.
- [17] 周洪琪, RENAUD S M, PARRY D L, 等. 温度对新月菱形藻、铲状菱形藻和耙夫藻的生长、总脂肪含量以及脂肪酸组成的影响[J]. 水产学报, 1996, 3(20):235-240.
- [18] 贲月, 陈一明, 刘云国, 等. 聚乙烯醇—海藻酸钠固定铜绿微囊藻对磷的吸附[J]. 环境工程学报, 2013, 7(7): 2563-2568.
- [19] 胡小玲. HACH DR/2500 分光光度计测定水中的氨氮[J]. 环境研究与检测, 2005(3):21; 28.
- [20] 张玉琳, 王应军, 李伟雨, 等. 固定化斜生栅藻净化畜禽废水中氨氮和磷的影响因素[J]. 环境工程学报, 2015, 9(5):2253-2258.
- [21] JIMNTNEZ-PEREZ M V, SANCHEZ-CASTILLO P, ROMERA O, et al. Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 34(5): 392-398.
- [22] MORENO-GARRIDO I. Microalgae immobilization: Current techniques and uses[J]. Bioresource Technology, 2008, 99:3949-3964.
- [23] 杨海波, 张欣华, 刘卫东. 藻类固定化研究进展[J]. 大连大学学报, 2002, 23(6):17-21.
- [24] 毛文娟. 固定化铜绿微囊藻处理含磷废水及其性能的研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2011.
- [25] 王爱丽, 宋志慧. 固定化铜绿微囊藻对污水的净化及其生理特征变化[J]. 青岛科技大学学报, 2005, 26(5): 398-409.
- [26] 袁冰, 孙利芹, 侯士昌, 等. 固定化小球藻的制备及对 N、P 吸收的影响[J]. 海洋环境科学, 2011, 30(6):804-808.
- [27] 高鹏, 王应军. 固定化微囊藻对畜禽污水中氮、磷的净化研究[J]. 水处理技术, 2011, 37(11):114-124.
- [28] 郑莲, 黄翔鹤, 刘楚吾, 等. 微绿球藻固定化培养及其对对虾养殖水质调控[J]. 海洋科学, 2005, 29(6):4-8.

The effect of the immobilized *Nitzschia closterium*'s preparation on the removal of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$

DING Yu-hui, HUANG Chen, CHENG Qiang, YOU Ze-wen, JIANG Xia-min*, HAN Qing-xi
(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Microalgae *Nitzschia closterium*, immobilized with sodium alginate, was carried out to explore its removal efficiency of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ from artificial sewage water. Different algae ball densities (0 , 0.27×10^7 , 0.81×10^7 , 1.35×10^7 , 1.89×10^7 , 2.43×10^7 cells·mL⁻¹), different algae ball size (the diameter of ball being 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 mm), different reinforcement time of algal balls with 3% CaCl_2 (0, 1, 2, 4, 6, 8 h), different amount of algae balls (0, 7.5, 15.0, 22.5, 30.0, 37.5 g·L⁻¹) and repeated use times with different reinforcement time were applied in the single-factor experiment. The results showed that 1.35×10^7 cells·mL⁻¹ was the best cell density. The growth rate of *K* value achieved the highest and the removal rate of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ were the highest when the diameter was 3.5 mm. With CaCl_2 reinforcing 2 h, the algae balls work longer and assimilate much more $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$. The amount of immobilized algae balls and removal rate of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ were positively related. After nine days' cultivation, the removal effect reached up to 80% with the dosage being 30 g·L⁻¹. The removal efficiencies of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ were greatly decreased by the repeated use of immobilized algae balls for more than three times. The study thus optimized the conditions for preparation of immobilized *Nitzschia closterium*, including the algal cells' embedded density being 1.35×10^7 cells/ball, algae balls' size being 3.5 mm, and dosage of algae balls being 30 g·L⁻¹, together with CaCl_2 reinforcing for 2 h.

Key words: *Nitzschia closterium*; immobilization; $\text{NH}_4^+\text{-N}$; $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$; removal rate

(责任编辑 史小丽)