

文章编号: 1674-5566(2017)03-0422-10

DOI:10.12024/jsou.20160701837

固定化藻菌净化水产养殖废水效果及固定化条件优选研究

刘 娥^{1,2}, 刘兴国², 王小冬², 陆诗敏², 曾宪磊²

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092)

摘 要: 为研发净化水产养殖废水的菌藻固定化体, 以蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa* Chick)、光合细菌 (Photosynthetic bacteria, PSB) 和海藻酸钠、CaCl₂ 等为试验材料, 采用正交法等方法, 研究了菌藻固定球的制备方法与条件, 比较分析了固定化菌藻球对养殖废水的净化去除效果。结果表明, 包埋蛋白小球藻和光合细菌的最适条件为 2% 海藻酸钠与 6% 氯化钙交联 24 h。养殖废水中, 藻菌固定球在 1~4 d 对 PO₄³⁻-P 去除率显著高于蛋白核小球藻和光合细菌 ($P < 0.05$), 在 5~8 d 对 NH₄⁺-N 去除率也显著高于后两者。固定化菌藻球在 24 °C 对磷和氮去除率最高分别可达 84% 和 95%。本研究表明, 合理的固定和使用菌藻结合体可显著提高对养殖废水的净化效率, 使用藻菌固定化球净化养殖废水比单独使用菌类或藻类效果更好。

关键词: 蛋白核小球藻; 光合细菌; 固定化; 水产养殖废水; 脱氮除磷

中图分类号: S 912

文献标志码: A

随着水产养殖规模化、集约化发展, 养殖密度不断提高, 水质恶化严重, 养殖病害增加, 带来了重大的经济损失^[1]。水产养殖水质恶化的主要原因之一是养殖过程中的残饵、粪便等分解产生有毒害作用的氨氮、磷酸盐和亚硝酸盐等^[2-4]。利用微生物分解和转化水中的污染物, 是一种绿色、高效的途径。

目前, 用于养殖水质净化与调控的微生物主要有硝化细菌、芽孢杆菌、光合细菌等自养和异养菌, 另外还有鱼腥藻属 (*Anabaena*)、小球藻属 (*Chlorella*)、栅藻属 (*Scenedesmus*) 等的微藻^[5-8]。大多数硝化细菌都是专性化能的自养菌, 大多数都不能在有机培养基上生长, 也不需要外源生长因素。亚硝酸盐细菌与硝酸细菌两个生理亚群对底物的要求非常专一, 亚硝酸细菌以氨作为能源, 硝酸细菌以亚硝酸盐作为能源。硝化细菌所有种类生长缓慢, 平均世代时间在 10 h 以上, 培养困难, 价格昂贵; 硝化细菌为专性好气菌, 以 O₂ 为最终电子受体; 无芽孢, 是 G-细菌; 对溶解氧、

温度、pH 等外界因素的变化反应灵敏, 易受外界环境的影响^[9]。光合细菌是兼性微生物, 具有灵活的生存方式以及强大生存能力。与传统的微生物相比更能承受高有机负荷和耐盐耐温度变化的能力以及更高的净化效果等优势。固定化光合细菌是将光合细菌固定在载体上, 使菌体在载体上大量富集提高菌体的密度, 同时能有效地避免菌体流失, 提高菌体利用率, 并且能在生物处理装置内维持较高的生物量, 减少处理设施的体积, 提高光合细菌的处理能力以及提高传质效率^[10]。

刘毅和袁月华^[11]利用海藻酸钠进行光合细菌固定化, 并用固定后的光合细菌处理净化养殖水。试验结果表明, 固定化后的光合细菌与悬浮态的游离光合细菌相比, 其生理活性和生长速度都大大提高, 经过一周对净化养殖废水的处理, 其固定化组对氨氮的平均去除率达到了 89.7%, COD 去除率达 75.3%, 明显优于悬浮态菌。光合细菌 (Photosynthetic bacteria, PSB) 是具有原始光

收稿日期: 2016-07-29 修回日期: 2017-03-13

基金项目: 国家自然科学基金(31372570); “十二五”国家科技支撑计划课题(2012BAD25B01); 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2014)第 6-3 号]

作者简介: 刘 娥(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水域生态修复。E-mail: liue2014@163.com

通信作者: 刘兴国, E-mail: liuxgl223@163.com

能合成体系的原核生物的总称,分布广泛。它们不仅能在厌氧光照条件下以低分子有机物作为光合作用的电子供体进行光能异养生长,而且能在黑暗有氧条件下以有机物为呼吸基质进行好氧营养生长^[12-13]。在水产养殖中,使用光合细菌可改善水质,稳定养殖环境。微藻作为一种低等水生植物,分子式近似为 $C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P$,微藻在生长过程中,以 CO_2 为碳源,吸收水体中 NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , $H_2PO_4^-$ 等无机离子和尿素等有机物质所含有的 N、P 等元素缩合到碳骨架上形成藻类细胞,完成细胞增殖并且在这个过程中释放出氧^[14-15]。处理养殖水的微藻通常有小球藻 (*Chlorella vulgaris*)、色球藻 (*Chroococcus minutus*)、小环藻 (*Cyclotella* sp.) 等^[16]。栅藻和小球藻个体较小,在水体中分布均匀,可以采用包埋固定方法使藻体的收获变得更容易。从培养基中的生长速率来看,小球藻的生长速率大于栅藻。对于污水的耐受能力高于栅藻,说明小球藻更适宜于在污水中生存。小球藻的细胞比栅藻小,同等载体空间可以接受更高浓度的小球藻,使小球藻对氮磷的去除能力大大提高,同时小球藻耐污能力比栅藻强,更适于进行污水处理^[17]。LAU 等^[15] 也认为,小球藻是易固定且脱氮除磷效果好的藻种,其细胞新陈代谢的活性在被固定后仍然得以保持。小球藻能够有效吸收养殖水体中的氮、磷等营养物质,从而改善养殖环境,减小养殖密度的制约作用^[18]。

利用菌藻的协同作用,采用菌藻结合净化污水是近年来研究的热点。许多研究表明菌藻结合比单独使用菌类或藻类更具优势。如王冰等^[19] 研究发现,固定化光合细菌-藻细胞在气升式生物反应器中能够实现对污水的深度净化。牛曼等^[20] 利用“藻-菌”系统对人工配制的高浓度有机废水进行处理,系统对氨氮和正磷酸盐的去除率可分别高达 73% 和 83%。潘辉等^[21] 利用活性污泥和蛋白核小球藻组成的系统处理模拟生活污水,发现系统对生活污水中氨氮和磷的去除率最高分别可达 100% 和 94%。而包埋固定光合细菌净化养殖水体的研究发现,固定化光合细菌对养殖水的净化能力大大优于悬浮态菌^[22]。水产养殖废水是一类以氮、磷为主的富营养水体,利用菌藻结合进行净化处理具有很好的应用前景,但目前相关研究还很少,尤其是藻菌固定化

技术应用于养殖水质净化和生态调控的研究更少。

为了解菌藻结合净化养殖废水效果,本文研究了净化养殖废水菌藻固定球的优化固定方法和条件,分析了菌藻固定球净化养殖废水的最佳温度,比较了菌、藻及其固定球体对养殖废水氮磷的去除效果。为进一步开展菌藻固定化技术研究和提高养殖废水净化效果提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

实验材料和仪器包括:蛋白核小球藻,光合细菌,海藻酸钠, $CaCl_2$, MGC-350BPY-2 光照培养箱, OLYMPUS BX51 生物显微镜, NF1200 台式离心机, 20 mL 注射器, 16# 针头, TU-1810DAPC 紫外可见分光光度计。

1.2 蛋白核小球藻和光合细菌培养

蛋白核小球藻购于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。在实验室将蛋白核小球藻无菌接种于 SE 培养基中,采用 MGC-350BPY-2 光照培养箱,在温度 $(25 \pm 1)^\circ C$ 、光强 3 000 Lx、光暗比 12h: 12h 条件下培养。每天早、晚八点各摇匀一次,调换位置一次。每天用 OLYMPUS BX51 生物显微镜计数藻的数量,连续 10 d 记录生长曲线,取稳定期藻细胞进行试验。

光合细菌接种于常用培养基中,在 $(29 \pm 1)^\circ C$ 、光强 3 000 Lx、光暗比 12h: 12h 条件下培养。可见光 660 nm 处测吸光度,记录生长曲线,取对数期光合细菌进行试验。

1.3 蛋白核小球藻与光合细菌固定

藻固定球:取蛋白核小球藻 $(1.20 \times 10^6$ 个/mL) 培养液,用 NF1200 台式离心机离心, 3 000 r/min 离心 6 min 后,去掉上清液。用去离子水稀释至 1 mL,移液枪吸取蛋白核小球藻 1 mL 加入到 20 mL 充分溶解的 2% 海藻酸钠溶液中,用玻璃棒充分搅拌 2 h,使其混合均匀。20 mL 注射器安装 16# 针头,匀速滴入到 100 mL 预冷的 6% $CaCl_2$ 溶液中,形成藻固定球。

菌固定球:取光合细菌 80 mL $(0.8 \times 10^8$ 个/mL),固定化方法同藻固定球。

藻菌固定球:取蛋白核小球藻、光合细菌同上方法制备藻菌固定球。

空白固定球:不加微生物,直接取 20 mL 充

分溶解的 2% 海藻酸钠溶液, 匀速滴入到 100 mL 预冷的 6% CaCl_2 溶液中, 形成空白固定球。

1.4 养殖废水配置

测定鳊鱼养殖池塘排放水营养盐指标。在无 N、P 的 Dauta 培养基的基础上, 另加 NH_4Cl , NaNO_2 和 K_2HPO_4 配制含 NH_4^+-N 10 mg/L, NO_2^--N 1.1 mg/L, $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 5 mg/L 的养殖废水。

1.5 试验方法

1.5.1 藻、菌及其固定化对养殖废水的作用

试验分为藻球 (Algae balls, AB)、菌球 (Bacterium balls, BB)、藻菌球 (Phycomycetes balls, PB) 和空白球 (Gap balls, GB) 4 组, 每组 3 个重复。将固定球在 6% CaCl_2 溶液中 4 °C 交联 24 h, 之后用去离子水冲洗固定球 3 次放入养殖废水中。1 000 mL 养殖废水中放入 200 个固定球, 固定球的平均半径为 2 mm, 重为 0.03 g, 采用 MGC-350BPY-2 光照培养箱培养。在温度 (25 ± 1) °C、光强 3 000 Lx、光暗比 12h: 12h 的条件下进行水处理。每天摇匀两次 (8 点, 20 点) 且调换位置一次。每天定时采取水样分析 DO 、 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 、 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 。

1.5.2 藻菌球在不同温度下对养殖废水的作用

藻菌球分 3 组, 每组 200 个球且 3 个重复, 置于 1 L 锥形瓶中。放入光照培养箱, 温度分别为 20、24、28 °C, 其他条件同 1.5.1 节, 分别研究 3 种温度情况下菌藻固定球对水体中 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 、 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的去除效果。

1.5.3 不同条件藻菌球对养殖废水的作用

设计海藻酸钠体积分数、 CaCl_2 浓度体积分数、交联时间按 3 因素 3 水平正交法, 做成不同的固定化小球, 确定最佳固定化条件。根据表 1 中条件分别制作不同小球, 海藻酸钠溶液均为 20 mL, CaCl_2 溶液均为 100 mL。交联时间是指海藻酸钠溶液滴到 CaCl_2 溶液中形成小球并在 4 °C 保存的时间。将 9 种不同固定化球分别置于 1 000 mL 锥形瓶中, 每个锥形瓶中有 1 000 mL 养殖废水。每天定时采取水样分析 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 、 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 。

1.6 理化指标测定和数据分析

DO 测定: 采用 DO200 溶氧测定仪。 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 测定: 采用钼-锑-抗分光光度法^[23]。 NH_4^+-N 测定: 采用纳氏试剂法^[23]。 NO_2^--N 测定: 采用 N-(1-萘基)乙二胺光度法^[23]。

所有数据用平均值 ± 标准差表示。用 SPSS 19.0 软件对试验数据进行统计分析。用 GraphPad Prism 6.0 软件绘图。

表 1 不同条件藻菌球的正交试验表

试验号 Test number	试验因素 Experimental factor		
	交联时间/h Crosslinking time	海藻酸钠体积分数/% Sodium alginate volume fraction	CaCl_2 体积分数/% Calcium chloride volume fraction
1	1	1	5
2	1	2	6
3	1	3	7
4	12	1	6
5	12	2	7
6	12	3	5
7	24	1	7
8	24	2	5
9	24	3	6

2 结果

2.1 对养殖废水中溶氧、氮和磷的作用

2.1.1 对养殖废水中 DO 的影响

由图 1 可知, 藻球组和藻菌球组 DO 浓度在 3 d 前处于缓慢上升状态, 而后迅速上升, 第 7 天达到最大值而后趋于稳定; 菌球组 DO 浓度在 5 d 前处于缓慢上升状态, 而后迅速上升; 空白球组 DO 浓度变化趋势不显著。可能是由于藻球组、菌球组和藻菌球组经过适应期后开始增殖, 由于光合作用逐渐释放大量的氧气, 使水体中的 DO 浓度升高; 而空白球组没有细菌和藻类的生理活动, DO 浓度变化趋势缓慢。说明藻-菌有助于提高水体中的 DO 浓度。

2.1.2 对养殖废水中 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 的去除效果

从图 2 中看出, 空白球组 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 浓度最低值为 4.386 mg/L, 藻球组为 2.130 mg/L, 菌球组为 3.745 mg/L, 藻菌球组为 1.822 mg/L。其去除率分别为 12%、57%、25%、76%。10 d 内藻菌球组对 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 的处理作用高于藻球和菌球单独处理组, 可能体现了藻、菌协同作用。就藻球组和藻菌球组而言, 1~2 天期间藻菌球组对 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 的去除率显著高于藻球组 ($P < 0.05$), 就菌球组和藻菌球组而言, 1~3、7~10 天期间两组间去除率存在显著差异 ($P < 0.05$)。无论是藻球组、菌球组还是藻菌球组, 10 天期间藻菌球组 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$

去除效果略高于藻球组和菌球组,但差异不显著 ($P > 0.05$)。总体上,藻菌球组对 $PO_4^{3-}-P$ 的去除表现出较好的效果。空白球组 $PO_4^{3-}-P$ 浓度变化趋势不显著。

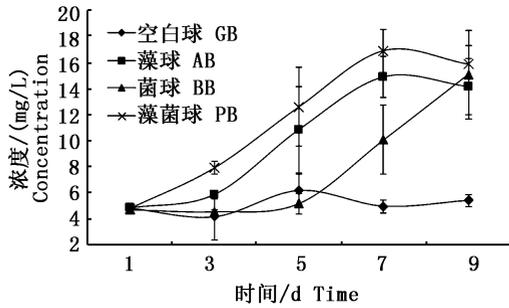


图 1 空白球、藻球、菌球和藻菌球对养殖废水 DO 的影响

Fig.1 Effects of GBs, ABs, BBs and PBs on DO

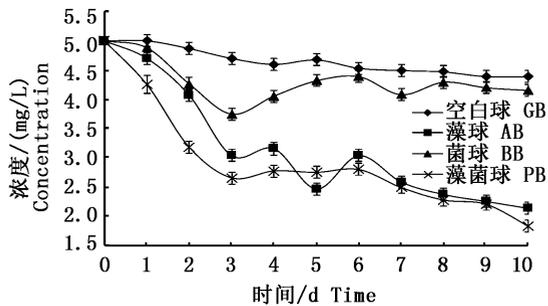


图 2 空白球、藻球、菌球和藻菌球对 $PO_4^{3-}-P$ 的去除效果

Fig.2 The removal efficiency of $PO_4^{3-}-P$ in GBs, ABs, BBs and PBs

2.1.3 对养殖废水中 NH_4^+-N 的去除效果

由图 3 可知,空白球组 NH_4^+-N 保持稳定 (8.3 ~ 10 mg/L)。前 7 天内,藻球组、菌球组和藻菌球组 NH_4^+-N 浓度呈下降趋势。在第 7 天,藻球组、菌球组和藻菌球组 NH_4^+-N 含量分别为 3.406 mg/L、8.162 mg/L、1.5 mg/L,均差异显著 ($P < 0.05$),随后藻菌球组趋于稳定。在第 8 天后藻球组也趋于稳定,在第 10 天,菌球组还处于下降趋势。由此可知,藻菌球组对 NH_4^+-N 的处理作用明显高于藻球组和菌球组,7 d 后去除率达 84.5%。藻球组仅次于藻菌球组。菌球组对 NH_4^+-N 的去除效果不明显,10 d 后达 52% 左右。藻菌球组去 NH_4^+-N 效率显著高于藻球和菌球单独处理组。

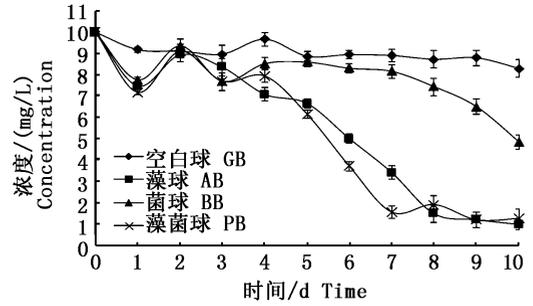


图 3 空白球、藻球、菌球和藻菌球对 NH_4^+-N 的去除效果

Fig.3 The removal efficiency of NH_4^+-N in GBs, ABs, BBs and PBs

2.1.4 对养殖废水中 $NO_2^- -N$ 的去除效果

由图 4 可知,空白球组 $NO_2^- -N$ 含量基本稳定 (1.1 ~ 1.082 mg/L)。前 3 天,藻球组、菌球组和藻菌球组 $NO_2^- -N$ 浓度逐渐减小,在第 3 天,藻球组、菌球组和藻菌球组 $NO_2^- -N$ 含量分别为 1.033 5 mg/L、1.018 5 mg/L、1.015 mg/L。在第 6 天,藻菌球组达最小值 0.996 mg/L,相比于藻球组、菌球组均差异显著 ($P < 0.05$)。10 d 内,藻菌球组对 $NO_2^- -N$ 的处理作用明显高于藻球和菌球单独处理组。藻球和菌球对 $NO_2^- -N$ 的处理差异不显著 ($P > 0.05$)。在对 $NO_2^- -N$ 的处理上,可能体现了藻、菌的协同作用。

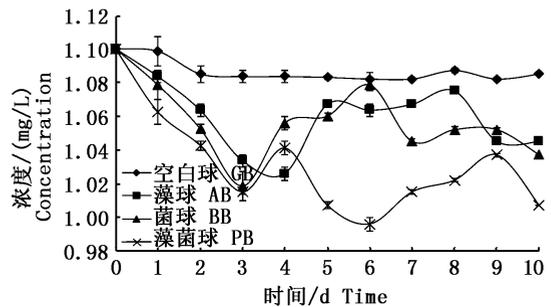


图 4 空白球、藻球、菌球和藻菌球对 $NO_2^- -N$ 的去除效果

Fig.4 The removal efficiency of $NO_2^- -N$ in GBs, ABs, BBs and PBs

2.2 温度对藻菌球净化养殖废水中氮、磷的影响

2.2.1 不同温度下对养殖废水中 PO_4^{3-} -P 的去除率

从图 5 看出,在同一时间内,在 24 °C 水体中藻菌球对养殖水体中 PO_4^{3-} -P 的去除率显著高于其他两个温度,在第 8 天的去除率达到 84%。而 20 °C、28 °C 藻菌球对 PO_4^{3-} -P 去除率差异不显著 ($P > 0.05$)。

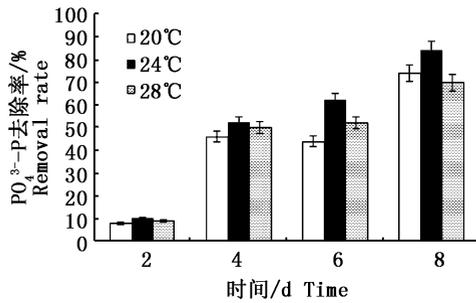


图 5 藻菌球在不同温度对 PO_4^{3-} -P 的去除率

Fig. 5 PBs removal rate of PO_4^{3-} -P at different temperature

2.2.2 对养殖废水中 NH_4^+ -N 的去除率

由图 6 可知,在第 8 天,藻菌球在 20、24、28 °C 养殖水体中对 NH_4^+ -N 的去除率分别为 72%、95%、70%,24 °C 时菌藻球对 NH_4^+ -N 的去除率显著高于 20 °C、28 °C 条件下 NH_4^+ -N 去除率 ($P < 0.05$)。藻菌球在 20 °C 和 28 °C 水温下对养殖水体中 NH_4^+ -N 的去除效果不显著。

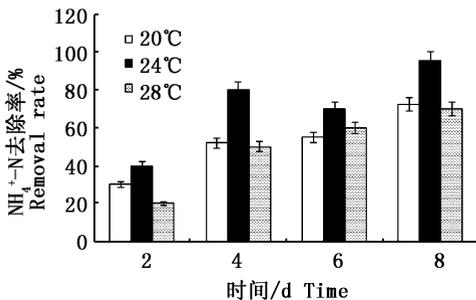


图 6 藻菌球在不同温度对 NH_4^+ -N 的去除率

Fig. 6 PBs removal rate of NH_4^+ -N at different temperature

2.2.3 对养殖废水中 NO_2^- -N 的去除率

如图 7 所示,试验期间不同温度条件下藻菌固定球对 NO_2^- -N 的去除作用均呈现逐渐增强趋势,尤其在 6~8 d, NO_2^- -N 的去除率显著增高。在第 8 天去除率分别为 18%、27%、20%。

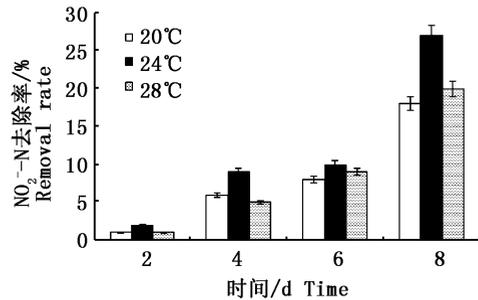


图 7 藻菌球在不同温度对 NO_2^- -N 的去除率

Fig. 7 PBs removal rate of NO_2^- -N at different temperature

2.3 不同固定方式净化养殖废水的效果分析

按正交试验表设计菌藻球的 9 种不同固定方式,比较分析不同固定方式对净化养殖废水的效果。在养殖废水中,连续 12 d 检测水体中 PO_4^{3-} -P、 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的浓度,去除率如图 8 所示,正交试验分析结果如表 2 所示。

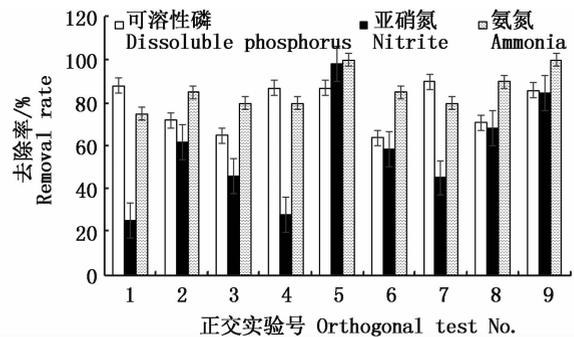


图 8 不同藻菌球对 PO_4^{3-} -P、 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的去除率

Fig. 8 Different PBs removal rates of PO_4^{3-} -P, NH_4^+ -N and NO_2^- -N

表 2 不同藻菌球去除 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的正交分析表
 Tab. 2 Orthogonal analysis of different PBs in $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ removal

试验号 Test number	试验因素 Experimental factor			去除率/% Removal rate		
	交联时间/h Crosslinking time	海藻酸钠体积分数/% Sodium alginate volume fraction	氯化钙体积分数/% Calcium chloride volume fraction	可溶性磷 Dissoluble phosphorus	亚硝氮 Nitrite N	氨氮 Ammonia N
1	1	1	5	88	25.3	75
2	1	2	6	72	62	85
3	1	3	7	65	46.1	80
4	12	1	6	87	28.3	80
5	12	2	7	87	98.4	100
6	12	3	5	64	58.8	85
7	24	1	7	90	45.3	80
8	24	2	5	71	68.2	90
9	24	3	6	86	84.7	100
<hr/>						
可溶性磷 Dissoluble phosphorus	k1	225	265	223		
	k2	238	230	245		
	k3	247	215	242		
	k1/%	75	88.3	74.3		
	k2/%	79.3	76.7	81.7		
	k3/%	82.3	71.7	80.7		
	极差 R	7.3	16.6	7.4		
<hr/>						
亚硝氮 Nitrite nitrogen	k1	133.4	98.9	152.3		
	k2	185.5	228.6	175		
	k3	198.2	189.6	189.8		
	k1/%	44.5	33	50.8		
	k2/%	61.8	76.2	58.3		
	k3/%	66.1	63.2	63.3		
	极差 R	21.6	43.2	12.5		
<hr/>						
氨氮 Ammonia nitrogen	k1	240	235	250		
	k2	265	275	265		
	k3	270	270	260		
	k1/%	80	78.3	83.3		
	k2/%	88.3	91.7	88.3		
	k3/%	90	90	86.7		
	极差 R	10	13.4	3		

从表 2 分析结果看出,不同固定方式菌藻球对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除率极差为 $R_{(\text{海藻酸钠体积分数})} > R_{(\text{氯化钙体积分数})} > R_{(\text{交联时间})}$ 。说明不同固定方式菌藻球对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除作用中,海藻酸钠体积分数对去除率的影响最大,其次是 CaCl_2 体积分数和交联时间。根据 k 值比较得交联时间为 24 h,海藻酸钠体积分数为 1%, CaCl_2 体积分数为 6%。

不同固定方式菌藻球对 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率极差为 $R_{(\text{海藻酸钠体积分数})} > R_{(\text{交联时间})} > R_{(\text{氯化钙体积分数})}$ 。说明不同固定化小球对 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除作用中,海藻酸钠体积分数对去除率的影响最大,其次是交联时间和 CaCl_2 体积分数。根据 k 值比较得交联时间为 24 h,海藻酸钠体积分数为 2%, CaCl_2 体积分数为 7%。

不同固定方式菌藻球对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率极差为 $R_{(\text{海藻酸钠体积分数})} > R_{(\text{交联时间})} > R_{(\text{氯化钙体积分数})}$ 。说明不同固定化小球对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除作用中,海藻酸钠体积分数对去除率的影响最大,其次是交联时间和 CaCl_2 体积分数。根据 k 值比较得交联时间为 24 h,海藻酸钠体积分数为 2%, CaCl_2 体积分数为 6%。

根据极差大小 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 指标下的因素主次顺序如表 3。根据各因素的影响主次,综合考虑,确定最佳的优化固定条件为 A3B2C2,即交联时间 24 h,海藻酸钠体积分数 2%, CaCl_2 体积分数 6%。

表3 不同藻菌球固定方式优化分析表

Tab.3 Optimization analysis of different PBs fixation

试验指标 Experimental index	主次顺序 Important order	优化水平组合 Optimization level combination
可溶性磷 Dissoluble phosphorus	BCA	A3B1C2
亚硝氮 Nitrite N	BAC	A3B2C3
氨氮 Ammonia N	BAC	A3B2C2

3 讨论

本文比较了空白球组、藻球组、菌球组和藻菌球组对养殖废水的处理效果,对于包埋固定技术对水产养殖废水的调控机制、包埋固定化载体选择、包埋藻种和菌种选择等均具有一定的现实意义。本研究结果显示,蛋白核小球藻-光合细菌固定球能够有效去除水体中的 PO_4^{3-} -P 和 NH_4^+ -N,是因为藻和菌的协同作用,这一结论与利用藻和菌的协同作用以达到水体脱氮除磷的目的相一致^[24-25]。高效藻类塘是生物丰富的藻菌共生系统,对氨氮和磷酸盐的去除率均较高^[14,26]。复合藻菌体系在水产养殖水质净化方面可以优势互补^[27]。利用细菌和藻类之间的共生作用构建菌-藻净化体系,寻找有效藻菌以达到调节水质的目的^[28-29]。本试验过程中,对养殖废水体 PO_4^{3-} -P 和 NH_4^+ -N 作用的 4 个处理中,藻菌球组均高于藻球组且明显高于菌球组,可能是藻细胞在新陈代谢中产生的物质,被细菌摄取后,一部分经细菌代谢后又以矿物或其他形式释放,同时又为藻类生长提供营养及必需的生长因子。在净化污水的过程中,藻菌共生系统中的细菌降解有机物,为自身代谢提供能量,为藻类和养殖生物提供无机物质;藻类吸收无机物质转化为自身细胞物质,通过光合作用释放氧气,增加水体中溶解氧浓度,维持细菌正常的生命代谢活动^[30]。藻类通过吸收氮磷等无机营养盐而合成有机物,并能够向周围释放氧气;细菌能够分解利用藻类所分泌的有机物及死亡的藻细胞,其分解产物被藻类吸收利用^[31-35]。藻菌体系是生态体系结构内容的组成部分,其组成结构与代谢功能的关系,可以作为评价藻菌体系生态功能的重要生态学参数^[36-37]。由于小球藻生长的适宜温度为 24~26℃,光合细菌生长的适宜温度为 28~30℃^[38-39],

试验中藻球明显高于菌球,可能是受到温度的影响,有研究表明延长光照有利于藻菌共生系统脱氮除磷^[40]。关于蛋白核小球藻生长和光合细菌的生理生化机制和生理生态关系有必要进一步研究。

在养殖废水净化中,菌藻球体的比重最好与水体一致,体积形状等需要适合操作控制,为此需要选择良好的包埋材料与方法,本研究通过正交试验,确定藻菌球最佳的优化固定条件为交联时间 24 h,海藻酸钠体积分数 2%, CaCl_2 体积分数 6%,固定化菌藻球的平均半径为 2 mm,重为 0.03 g,在养殖废水中的最适净化温度为 24℃。对于应用于水产养殖废水处理有重要的实际意义。

近年来,越来越多的研究者选择复合微生物进行包埋,通过多种微生物的互利共生,既增加了对污染物的降解能力,又增强了微生物对复杂多变的环境条件的适应能力。但由于水产养殖环境差异大,水体污染因素不同等原因,菌藻固定化技术应用于水产养殖废水处理尚需要深入研究,尤其在复合微生物的选择、配比、交联时间、载体材料及用量、最适光强、最适温度等方面需进一步研究。

参考文献:

- [1] CAO L, NAYLOR R, HENRIKSSON P, et al. China's aquaculture and the world's wild fisheries [J]. Science, 2015, 347(6218): 133-135.
- [2] WIKT E I, LINDÉN T, WRAMNERP I. Integrated dynamic aquaculture and wastewater treatment modelling for recirculating aquaculture systems [J]. Aquaculture, 2009, 287(3/4): 361-370.
- [3] CRAB R, AVNIMELECH Y, DEFOIRDT T, et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production [J]. Aquaculture, 2007, 270(1/4): 1-14.
- [4] MOOK W T, CHAKRABARTI M H, AROUA M K, et al. Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review [J]. Desalination, 2012, 285: 1-13.
- [5] YUSOFF M F, BANERJEE S, KHATOON H, et al. Biological approaches in management of nitrogenous compounds in aquaculture systems [J]. Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology, 2011, 5(S1): 21-31.
- [6] WANG Y B. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*

- [J]. *Aquaculture*, 2007, 269(1/4): 259-264.
- [7] ZHANG Q, MA H M, MAI K S, et al. Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(2): 204-211.
- [8] 陈谦, 张新雄, 赵海, 等. 用于水产养殖的微生物制剂的研究和应用进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2012, 18(3): 524-530.
- CHEN Q, ZHANG X X, ZHAO H, et al. Advance in research and application of microbial ecological agent in aquaculture [J]. *Chinese Journal Applied and Environment Biology*, 2012, 18(3): 524-530.
- [9] 郑士民, 颜望明, 钱新民. 自养微生物[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- ZHENG S M, YAN W M, QIAN X M. Autotrophic microorganism [M]. Beijing: Science Press, 1983.
- [10] 曹攀. 光合细菌脱氮除磷机理及应用研究[D]. 成都: 四川师范大学, 2010: 18-19
- CAO P. Study on themechanism and the application of removal of nitrogen and phosphorus of photosynthetic--bacteria [D]. Chengdu: Sichuan Normal University, 2010: 18-19
- [11] 刘毅, 袁月华. 固定化光合细菌净化养殖水质研究[J]. *水利渔业*, 2008, 28(2): 86-88.
- LIU Y, YUAN Y H. Immobilized photosynthetic bacteria to purify aquaculture water quality research [J]. *Water Conservancy Related Fisheries*, 2008, 28(2): 86-88.
- [12] CHOORIT W, THANAKOSET P, THONGPRADISTHA J, et al. Identification and cultivation of photosynthetic bacteria in wastewater from a concentrated latex processing factory [J]. *Biotechnology Letters*, 2002, 24(13): 1055-1058.
- [13] WANG J Q, GUAN Y T, TENG F. Accumulation of single cell protein by purple non-sulfur photosynthetic bacteria in starch wastewater treatment [J]. *Journal of Tsinghua University (Science and Technology)*, 2007, 47(3): 348-351.
- [14] 许春华, 周琪. 高效藻类塘的研究与应用[J]. *环境与保护*, 2001(8): 41-43.
- XU C H, ZHOU Q. Study on High Rate Algae Pond and Its Application [J]. *Environmental Protection*, 2001(8): 41-43.
- [15] LAU P S, TAM N F Y, WONG Y S. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater [J]. *Environmental Pollution*, 1995, 89(1): 59166.
- [16] 刘兴国. 池塘养殖污染与生态工程化调控技术研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011: 9-13.
- LIU X G. Study on the pond aquaculture pollution and ecological engineering regulation techniques [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011: 9-13.
- [17] 邢丽贞. 固定化藻类去除污水中氮磷及其机理的研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2005: 42-49.
- XING L Z. Investigations on methods and mechanism for removal of nitrogen&phosphorus in wastewater by immobilized algae [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture Technology, 2005: 42-49.
- [18] 刘兴国, 徐皓, 谷坚, 等. 小球藻在养殖水体内的生长特征及其影响作用[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2010, 49(1): 83-88.
- LIU X G, XU H, GU J, et al. Growth characteristic and influence on aquaculture of *Chlorella vulgaris* in culture water [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2010, 49(1): 83-88.
- [19] 王冰, 周集体, 杨宝灵, 等. 光合细菌-藻类共固定深度净化污水的研究[J]. *大连民族学院学报*, 2014, 16(3): 249-252.
- WANG B, ZHOU J T, YANG B L, et al. Deep treatment of wastewater by co-immobilized photosynthetic bacteria and algae [J]. *Journal of Dalian Nationalities University*, 2014, 16(3): 249-252.
- [20] 牛曼, 张小平, 王秀, 等. “菌藻-菌”系统处理高浓度有机废水的研究[J]. *环境工程学报*, 2010, 4(8): 1819-1822.
- NIU M, ZHANG X P, WANG X, et al. Study on bacterial-algal-bacterial system for high concentration organic wastewater treatment [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2010, 4(8): 1819-1822.
- [21] 潘辉, 熊振湖, 孙炜. 共固定化菌藻对市政污水中氮磷去除的研究[J]. *环境科学与技术*, 2006, 29(1): 14-15, 42.
- PAN H, XIONG Z H, SUN W. Co-immobilized algal-bacterial to remove nutrient substance of municipal wastewater [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 29(1): 14-15, 42.
- [22] 王兰, 廖丽华. 光合细菌固定化及对养殖水净化的研究[J]. *微生物学杂志*, 2005, 25(3): 50-53.
- WANG L, LIAO L H. Photosynthetic bacteria immobilization and its purification on aquaculture water [J]. *Journal of Microbiology*, 2005, 25(3): 50-53.
- [23] 国家环境保护局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 243-284.
- State Department of Environmental Conservation. *Water and Waste Water Detection Analysis Method* [M]. 4th ed. Beijing: China Environment Science Press, 2002: 243-284.
- [24] RAUL M. Alga-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review [J]. *Water Research*, 2006, 40(15): 2799-2815.
- [25] 李小霞, 解庆林. 菌藻共生系统处理污水的研究及应用前景[J]. *广西民族学院学报(自然科学版)*, 2006, 12(3): 112-114.
- LI X X, XIE Q L. The study and application of algal-bacterial symbiotic system for sewage purification [J]. *Journal of Guangxi University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2006, 12(3): 112-114.
- [26] 黄翔峰, 池金萍, 何少林, 等. 高效藻类塘处理农村生活

- 污水研究[J]. 中国给水排水, 2006, 22(5): 35-39.
- HUANG X F, CHI J P, HE S L, et al. Treatment of domestic wastewater with high-rate algal pond in rural areas [J]. *China Water & Wastewater*, 2006, 22(5): 35-39.
- [27] 孟睿, 何连生, 席北斗, 等. 利用菌-藻体系净化水产养殖废水[J]. 环境科学研究, 2009, 22(5): 511-515.
- MENG R, HE L S, XI B D, et al. Purifying deteriorated aquacultural water with a bacteria-alga system[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2009, 22(5): 511-515.
- [28] CORBINE M, ROSS E M. The removal of nutrients and organics by activated algae [J]. *Water Research*, 1972, 6(10): 1155-1164.
- [29] 刘冬梅, 姜霞, 金相灿, 等. 太湖藻对水-沉积物界面磷交换过程的影响[J]. 环境科学研究, 2006, 19(4): 8-13.
- LIU D M, JIANG X, JIN X C, et al. Effects of algae on the phosphorus exchange at water-sediment interface in Taihu Lake [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2006, 19(4): 8-13.
- [30] 王占生, 刘文君. 微污染水源饮用水处理[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 1999.
- WANG Z S, LIU W J. *Water Treatment for Treating Slightly Polluted Source Water* [M]. Beijing: China Building Industry Press, 1999.
- [31] PÉREZ T, SOMMARUGA R. Differential effect of algal and soil-derived dissolved organic matter on alpine lake bacterial community composition and activity [J]. *Limnology and Oceanography*, 2006, 51(6): 2527-2537.
- [32] 江兴龙, 关瑞章, 刘爱原. 论我国水产养殖业的发展方向[J]. 中国水产, 2008(1): 19-20.
- JIANG X L, GUAN R Z, LIU A Y. The development direction of theory of aquaculture in China [J]. *China Fisheries*, 2008(1): 19-20.
- [33] 韩士群, 严少华, 范成新. 水产养殖废水循环利用及多余藻类生物量资源化[J]. 自然资源学报, 2008, 23(4): 560-568.
- HAN S Q, YAN S H, FAN C X. Recycling of aquaculture wastewater and reusing the resources of redundant algae biomass [J]. *Journal of Natural Resources*, 2008, 23(4): 560-568.
- [34] 杨世平, 邱德全. 水产养殖水体水质污染及水质处理微生物制剂的研究和应用现状(续) [J]. 中国水产, 2004(8): 83-84.
- YANG S P, QIU D Q. Aquaculture water quality pollution and water quality treatment research and application status of microbial preparations (continue) [J]. *China Fisheries*, 2004(8): 83-84.
- [35] NURDOGAN Y, OSWALD J. Enhanced nutrient removal in high-rate ponds [J]. *Water Science and Technology*, 1995, 31(12): 33-43.
- [36] 邓家齐, 詹发萃, 夏宜琮, 等. 藻-菌生态系统代谢功能的生态学研究[J]. 应用生态学报, 1994, 5(2): 177-181.
- DENG J Q, ZHAN F C, XIA Y C, et al. Ecological study on metabolic function of algae-bacteria ecosystem [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1994, 5(2): 177-181.
- [37] 郑耀通, 胡开辉, 高数芳. 菌藻含量差异对其代谢功能的影响[J]. 江西农业大学学报(自然科学版), 2002, 24(6): 847-850.
- ZHENG Y T, HU K H, GAO S F. The Effects of different ratios of bacteria-alga on their metabolic function [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2002, 24(6): 847-850.
- [38] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 2版. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 239-283.
- JIN X C, TU Q Y. *Criterion of Investigation on Lake Eutrophication* [M]. 2nd Ed. Beijing: China Environment Science Press, 1990: 239-283.
- [39] 刘健康. 高级水生生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 151-198.
- LIU J K. *Senior Hydrobiology* [M]. Beijing: Science Press, 1999: 151-198.
- [40] 冯本秀. 固定化微生物去除废水中氨氮及固定化载体的研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2006.
- FENG B X. Study on removing ammonium nitrogen from wastewater by immobilized microorganism and the immobilized carrier [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2006.

Study on efficiency of purifying the aquacultural waste water with immobilized alga-bacteria system and immobilization conditions optimization

LIU E^{1,2}, LIU Xingguo², WANG Xiaodong², LU Shimin², ZENG Xianlei²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Fishery Machinery and Instrument Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200092, China)

Abstract: *Chlorella pyrenoidosa* Chick and Photosynthetic Bacteria were immobilized by sodium alginate and calcium chloride for aquaculture wastewater purification, and the purification capacity was investigated. The conditions of its immobilization were studied by orthogonal experiments. The results showed that algae-bacterium immobilized balls which were embedded by 2 % sodium alginate and cross-linked for 24 h by 6 % calcium chloride improved orthophosphate and ammonia-nitrogen removal efficiency, which respectively reached 84% and 95% at 24 °C. It was higher than immobilization algae and bacterium separately ($P < 0.05$) for orthophosphate during the periods of first – forth days and for ammonia nitrogen during the periods of fifth – eighth days. The studies indicate that the purification capacity of algae and bacterium can be improved significantly for aquaculture waste water by using algae-bacteria combination and to be fixed reasonably. Applying algae-bacterium immobilized balls has better effect than adopting algae and bacterium separately in purification efficiency of aquaculture wastewater.

Key words: *Chlorella pyrenoidosa* Chick; Photosynthetic Bacteria; immobilization; aquaculture wastewater; removal of nitrogen and phosphorus