

菌藻混合固定化及其对污水的净化实验

严 清¹, 孙连鹏²

(1. 重庆师范大学生命科学学院, 重庆 400047; 2. 中山大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510275)

摘要 对菌藻共固定化系统进行研究, 初步确定菌藻共固定化中较佳的污泥包埋量。在同等条件下, 固定化菌藻对氮磷的去除效果优于固定化细菌和固定化藻类的去除效果。对氨氮和磷酸盐磷去除能力的 48 h 实验结果表明, 按去除率的大小排列为: 固定化菌藻 > 固定化小球藻 > 固定化细菌, 固定化菌藻对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 的去除率分别达到 97.09% 和 88.69%, 可见把细菌和藻类共同包埋于同一载体内, 在同时去除污水中的氮磷和有机物方面有着更大的优势。

关键词 共固定化; 固定化菌藻; 污水净化; 水处理

中图分类号: X703 文献标识码: B 文章编号: 1004-693X(2010)03-0057-04

Purification of wastewater by co-immobilized bacteria-algae system

YAN Qing¹, SUN Lian-peng²

(1. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract : Through the investigation of activated sludge in the co-immobilized bacteria-algae system, the optimal quantity of buried sludge in co-immobilized bacteria and algae was tentatively determined. Under the same conditions, more $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ and $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ were removed by the co-immobilization of bacteria and algae than by using immobilized bacteria or immobilized algae alone. The results of a 48-hour experiment of removing $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ and $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ showed that the ranking of the removal rate was co-immobilized bacteria-algae system > immobilized chlorella > immobilized bacteria, and the removal rates of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ and $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ by co-immobilized bacteria-algae reached 97.09% and 88.69%, respectively. It is proposed that co-immobilization of a microalgae with bacteria is a superior tool for removing nitrogen, phosphorous, and organic matter in wastewater.

Key words : co-immobilization; co-immobilized bacteria-algae system; purification of wastewater; wastewater treatment

如何运用生物学方法经济有效地去除水体中的氮磷, 是目前国内外水资源控制研究领域的一个热点^[1-2]。在水体自净过程中微藻起着很重要的作用, 这一点已达成共识^[3-5], 已作为一种二级处理或是深度处理污水的替代方法用于污水处理^[6-8], 在净化污水的过程中, 藻类和细菌形成复杂的共生系统促进了污水的净化^[9-10]。然而将藻类应用于污水处理领域中面临的一个问题是, 大量增加的藻类固体直接排入水体后使水体浊度升高, 造成水体二次污染的潜在威胁。

为进一步提高菌藻系统对污水中氮磷营养盐的净化效果, 解决传统的悬浮藻类系统(如稳定塘)在具体应用中藻水分离困难、稳定性差、菌藻结合不紧密以及易于流失、不易回收的问题, 国外一些研究者对包埋固定化菌藻技术处理污水进行了研究与报道, 但没有系统的理论研究, 大多数研究者只是研究单一或是几种菌种与藻种包埋共固定化对污水中氮磷营养盐的去除效果以及菌藻细胞的生长变化^[3-5, 11-14]。在国内固定化藻菌技术处理污水还刚刚起步, 报道还比较少。

笔者以广州市猎德污水处理厂沉沙池出水为原水,采用固定化微生物技术,利用载体(海藻酸钠凝胶)通过物理或化学方法将具有复杂菌种系统的活性污泥与小球藻细胞固定形成共固定化体系,对菌藻共固定化系统净化污水和系统中活性污泥最佳包埋量进行了研究。

1 材料与方法

1.1 主要材料

试剂:海藻酸钠,化学纯,温州助剂厂生产;其余试剂为市售分析纯或优级纯。

实验藻种:由中国科学院武汉水生生物研究所提供,藻种为普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)。

实际污水:取自广州市猎德污水处理厂沉沙池出水,原水的水质指标为: $\rho(\text{NH}_4^+-\text{N})=15\sim30\text{ mg/L}$; $\rho(\text{COD})$ 为 200 mg/L 左右; $\rho(\text{PO}_4^{3-}-\text{P})=1\sim3\text{ mg/L}$ 。使用前沉淀过滤。

活性污泥:取自广州市猎德污水处理厂曝气池的新鲜活性污泥,置于离心管中静置 40 min ,在 3000 rpm 下离心 10 min 后,弃去上清液,再用无菌蒸馏水冲洗沉淀物,离心两次,浓缩备用。

仪器:紫外/可见分光光度计,UV 751GD型,上海精密科学仪器有限公司生产;高压灭菌锅,CL-32L型,日本Tokyo ALP公司生产;磁力加热搅拌器,79-1型,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司生产。

1.2 研究方法

藻类培养:在无菌条件下用移液枪接种一定量的藻种,培养基接种密度为 1×10^6 个/mL,置于含 150 mL 培养基的 250 mL 三角瓶中,混匀,在温度 $25\pm1^\circ\text{C}$,光强 $2000\sim4000\text{ lx}$,连续光照条件下培养,每天定时摇动2次。

固定化方法:称取一定量的海藻酸钠加水加热,配制成5%的海藻酸钠溶液,灭菌然后冷却到室温。将上述培养后的藻液离心浓缩(3000 r/min , 10 min)经无菌蒸馏水洗涤、离心,洗涤2次,使吸附在藻细胞表面的氮磷脱落,再根据需要的藻种浓度悬浮在无氮磷的培养基中,用血球板计数微生物的浓度。

藻种细胞悬浮溶液(或活性污泥)与海藻酸钠溶液以1:2的体积比混合,藻类细胞浓缩液、新鲜活性污泥的浓缩液与褐藻酸钠溶液以1:1:2的体积比均匀混合,在磁力搅拌器上搅拌使菌体均匀,形成一定浓度的海藻酸钠与藻体的混合液。用 25 mL 的酸式滴定管将含藻细胞的黏状混合液滴入到3%的无菌 CaCl_2 溶液中,磁力搅拌器搅拌一定时间(1或 2 h),再在 CaCl_2 溶液中交联一定时间后用蒸馏水冲洗,并在蒸馏水中脱盐 1 h ,最终得到一定直径的小球

藻、活性污泥、菌藻固定化小球。

理化检验法^[15]:氨氮(NH_4^+-N),纳氏试剂分光光度法;磷酸盐($\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$),钼锑抗分光光度法。

2 结果与讨论

2.1 最佳污泥量的确定

按照实验要求(表1)制成菌藻共固定化小球。把菌藻固定化胶球投入实际污水中(每个实验进行3次重复)。水样中氨氮质量浓度为 18.92 mg/L ,水样中正磷酸磷的质量浓度 1.41 mg/L 。48 h的 NH_4^+-N 、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的去除效果见图1。

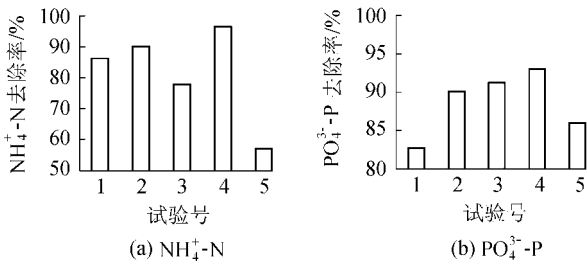


图1 48 h去除效果

从图1中可以看出,实验2、实验4对污水具有较好的脱氮除磷效果,又由于在实验过程中第4天起发现实验3、4、5号有不同程度的细胞泄漏和胶球溶解的问题,因此选择实验2号的污泥包埋量为最佳污泥包埋量。

表1 最佳污泥包埋量的确定

实验号	包埋量比(V:V) (褐藻胶:藻:污泥)	备 注
1	2:0.5:0.5	取 20 mL $V=5\%$ 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10^7 个/mL的藻液, 5 mL 活性污泥
2	2:0.5:0.5	取 20 mL $V=5\%$ 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10^7 个/mL的藻液, 7.5 mL 活性污泥浓缩至 5 mL
3	2:0.5:0.5	取 20 mL $V=5\%$ 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10^7 个/mL的藻液, 10 mL 沉降 40 min 后的活性污泥浓缩至 5 mL
4	2:0.5:0.5	取 20 mL $V=5\%$ 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10^7 个/mL的藻液, 15 mL 经过沉降 40 min 的活性污泥浓缩至 5 mL
5	2:0.5:0.5	取 20 mL $V=5\%$ 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10^7 个/mL的藻液, 20 mL 经过沉降 40 min 的活性污泥浓缩至 5 mL

2.2 单藻、单菌、菌藻共固定化系统脱氮除磷效果

将固定化藻、固定化污泥及混合固定化藻菌胶球置于装有实际污水的锥形瓶中,把锥形瓶放于振荡器(磁力搅拌器)上,使固定化胶球悬浮,定期从锥形瓶中取出一定数量的胶球,测定一定体积污水中的 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 质量浓度。始终保持胶球与污水的比例不变。

2.2.1 固定化菌藻对氮磷的去除

200mL 污水中 20 mL 固定化菌藻胶球在光照度 2500 Lx 25℃ 条件下静态实验的结果见图 2。实验结果显示,固定化菌藻对氨氮的去除率在 24 h 和 48 h 时分别达到了 51.80% 和 97.09%。对正磷酸盐的去除率在 24 h 和 48 h 时分别达到了 58.67% 和 88.69% ,说明菌藻共生系统有较高的脱氮除磷效率。

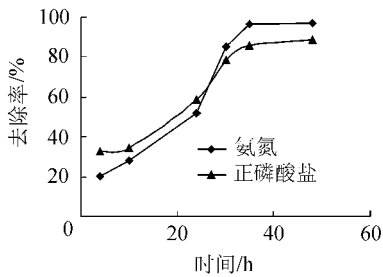
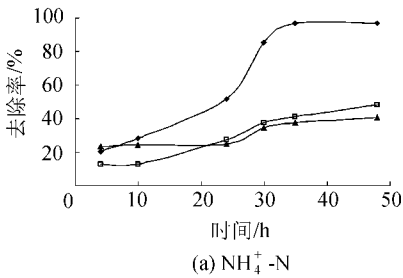


图 2 固定化菌藻对氮、磷的去除效果

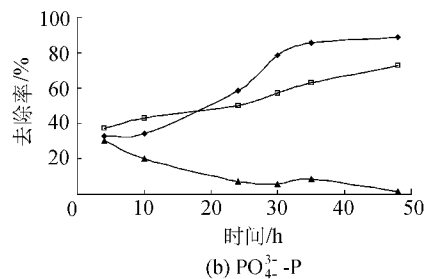
2.2.2 共固定化菌藻、单固定化藻类和单固定化活性污泥的对比实验

分别用褐藻胶固定化菌藻、单固定化小球藻和单固定化活性污泥同等胶球数量同步实验 ,实验结果见图 3。

◆ 共固定化菌藻 □ 单固定化藻 ▲ 单固定化污泥



(a) NH_4^+-N



(b) $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$

图 3 单藻、单菌、菌藻共固定化系统对氮磷的去除效果

图 3 (a)(b) 分别为单固定化小球藻、单固定化活性污泥和固定化菌藻对 N、P 的去除实验结果。从图中可以看出,单固定化藻对 N、P 的 48 h 去除率分别是 48.32% 和 72.96% ,单固定化活性污泥对 N 和 P 的去除率分别是 40.92% 和 1.49% ,而固定化菌藻对 N 和 P 的去除率分别是 97.09% 和 88.69% ,是 3 种固定细胞中去除氮磷效果最好的。

经过 48 h 实验后 ,各系统中总氮质量浓度分别是 :共固定化菌藻为 3.30 mg/L ,单固定化藻为 14.04

mg/L ,单固定化污泥为 12.82 mg/L。

从图 4 可以看出 ,在污水处理过程中 ,氨氮浓度的减少并没有导致硝态氮的增加 ,从实验开始到结束 ,在所有系统中($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- -\text{N}$)的质量浓度都没有超过 0.14 mg/L。

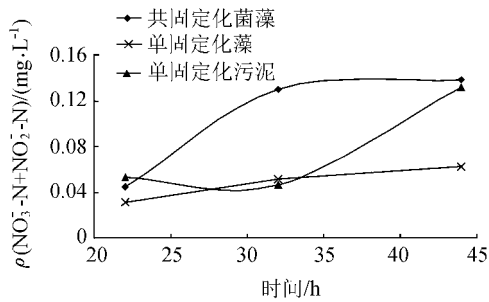


图 4 各系统中($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$)-N 的变化

从以上实验可以看出 ,在最佳污泥包埋量的条件下 ,固定化菌藻系统、固定化小球藻系统、固定化细菌系统 48 h 对氮磷的吸收 ,按去除率大小排列为 :固定化菌藻 > 单固定化小球藻 > 单固定化污泥。在固定化菌藻中 ,藻类和细菌同时吸收或转化了氮磷 ,使得氨氮浓度下降 ;对磷的去除能力 ,固定化菌藻与单固定化小球藻相差不大 ,以单固定化污泥的除磷能力最差。这说明藻类对正磷酸盐的去除优于一般曝气池活性污泥中的菌类 ,固定化藻类在除磷方面有很大的潜力。固定化菌藻胶球中的小球藻在生长过程中利用光能以及 CO_2 进行光合作用 ,产生的大量氧气为菌类所用 ,细菌新陈代谢产生 CO_2 则提供给藻类 ,大大提高了细菌和藻类的活性^[16-18]。菌藻同时吸收同化污水中的氮磷 ,从而起到很好的脱氮除磷的作用 ,同时光照强度、温度、废水浓度、pH 值等外部因素等也会影响到污水中氮磷的去除效果^[19-21]。

图 4 显示 ,在污水处理过程中 ,氨氮浓度的减少并没有引起硝态氮的增加 ,因此可以推断系统中氨氮浓度的降低并不是物质形态之间的转化 ,国外曾有研究报道^[22,11] ;在含有藻的固定化系统中 ,硝化作用受到限制 ,实验过程中产生的硝态氮也有可能是被藻吸收利用了。48 h 的实验表明 ,各系统对氮的吸收 ,按去除率的大小排列为 :固定化菌藻 > 固定化小球藻 > 固定化污泥。

从本研究结果可以看出 ,把细菌和藻类共同包埋于同一载体内在同时去除污水中的氮磷方面有着更大优势 ,菌藻共生是值得研究的一个方向 ,在污水处理中具有很大的潜力。但实验也同时发现 ,采用褐藻胶固定菌藻胶球比固定化纯藻细胞更易开裂 ,目前需要克服胶球在短期内容易开裂的问题 ,固定化方法有待于进一步深入研究。

另外,菌藻之间的数量配比不应忽视,应与生物群落组成一样,看成是一个生态系统结构内容的组成部分,它们之间的初始数量比的变化及其代谢功能的关系,应该作为评价菌藻生态功能状况的一个重要的参数,而目前对于菌藻共生体系的机理很少有研究,因此应重视这一方面的研究。

3 结 论

a. 菌藻固定化系统中污泥的最佳包埋量比(体积比)为褐藻胶:藻:污泥 = 2:0.5:0.5,其中海藻酸钠溶液体积分数为 5%,藻密度为 4×10^7 个/mL,活性污泥为新鲜活性污泥静置 40 min 后离心去掉原体积 1/3 水的浓缩液。

b. 通过菌藻共固定化中最佳污泥包埋量的初步确定,在同等条件下,进行了固定化菌藻、固定化藻类和固定化活性污泥的对比实验,固定化菌藻对氮磷的去除效果优于固定化污泥和固定化藻类。实验 48 h 对氨氮的去除能力,按去除率大小排列为:固定化污泥 > 固定化小球藻 > 固定化细菌;对磷的去除能力,按去除率大小排列为:固定化菌藻 > 固定化小球藻 > 固定化污泥。

参考文献:

[1] 卢升良.滇池的污染及其控制对策[J].重庆环境科学,1997,19(3):2-4.

[2] 毛彦景.藻类固定化技术在污水处理中的应用[J].四川环境,2008,27(5):99-102.

[3] CRAGGS R J, MCAULEY P J, SMITH V J. Wastewater nutrient removal by marine microalgae grown on a corrugated raceway [J]. Wat Res, 1997, 31(7):1701-1707.

[4] ZHOU J L, HUANG P L, LIN R G. Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae [J]. Environmental Pollution, 1998, 101:67-75.

[5] SAGLAM A. Biosorption for mercury by carboxymethylcellulose and immobilized phanerochaete chrysosporium [J]. Microchemical Journal, 2002, 71:73-81.

[6] CARAGGS R J, DAVIES-COLLEV R J, TANNER C C, et al. Advanced pond system: performance with high rate ponds of different depths and area [J]. Wat Sci Tech, 2003, 48(2):259-267.

[7] CARAGGS R J. Phosphorus removal from wastewater algal turf scrubber [J]. Wat Sci Tech, 1996, 33(7):191-198.

[8] STEEN P, BRENNER A, SHABTAI Y, et al. Improved fecal coliform decay in integrated duckweed and algal pond [J]. Wat Sci Tech, 2000, 42(10-11):363-370.

[9] 邢丽贞,张向阳,张波,等.藻菌固定化去除污水中氮磷营养物质的初步研究[J].环境科学与技术,2006,29(1):

33-35.

[10] 黄国兰,孙红文,宋志慧,等.固定化藻类的生理特征和对染料的脱色能力研究[J].环境科学学报,2000,20(4):445-449.

[11] LUZ E, JUAN-PABLO H, TAYLOR M, et al. Microalgae growth-promoting bacteria as "helpers" for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater [J]. Wat Res, 2004, 38:466-474.

[12] LUZ E, HANI A, YOAV B. Cultivation factors and population size control the uptake of nitrogen by the microalgae *Chlorella vulgaris* when interacting with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 54:197-203.

[13] 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 of Microbiology and Biotechnology, 1993, 9:196-201.

[14] VILCHEZ C, GARBAYO I, MARCKVICHEVA E, et al. Studies on the suitability of alginate-entrapped *Chlamydomonas reinhardtii* cells for sustaining nitrate consumption processes [J]. Bioresour Technol, 2001, 78:55-61.

[15] 国家环保总局《水和废水监测分析方法》编委会.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.

[16] HUANG G, SUN H, CONG L. Study on the physiology and degradation of dye with immobilized algae [J]. Artificial Cells, Blood Subs and Immobilization Biotechnology, 2000, 28(4):347-363.

[17] PIERRE C, JOEL N. Behavior of algae and bacteria co-immobilized in carrageenan, in a fluidized bed [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1988, 10:19-23.

[18] WONG Y, NORA F Y. Wastewater treatment with algae [M]. TX, USA: Springer-Verlag Berlin Heidelberg and Lands Bioscience Georgetown, 1998:204-205.

[19] MCLEAN B M, BASKARAN K, CONNOR M A. The use of algal-bacterial biofilms to enhance nitrification rates in lagoons: experience under laboratory and pilot-scale conditions [J]. Wat Sci Tech, 2000, 42(10-11):187-194.

[20] 王秀,张小平.固定化菌藻小球流化床光生物反应处理高浓度有机废水研究[J].净水技术,2009,28(1):54-57.

[21] 潘辉,熊振湖,金勇威.光照对固定化菌藻反应器脱氮除磷效率的影响[J].水资源保护,2006,22(5):63-67.

[22] LUZ E, MANUEL M, JUAN-PABLO H, et al. Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* [J]. Wat Res, 2002, 36:2941-2948.

(收稿日期:2009-06-04 编辑:高渭文)