

固定化光合细菌对水体富营养化的去除效果

常会庆,王世华,寇太记

(河南科技大学农学院,河南 洛阳 471003)

摘要:为了探索对富营养化水体的微生物修复方法,采用固定化光合细菌进行人工模拟的富营养化水体处理试验。试验结果表明,接种固定化光合细菌比对照可明显地降低水体中的养分。19d 的处理时间,TN、NH₄-N、NO₃-N、TP 和 COD 的去除率分别达到了 65.94%、79.84%、78.80%、62.95%、78.06%,并且接种光合细菌对水体中的藻类也起到一定的抑制作用。接种光合细菌增加了水体的 DO 和 pH 值,同时也提高了硝化率以及光合细菌数,而水体中这些因素的变化都与水体中养分的去除效果密切相关。因此富营养化水体修复中接种固定化光合细菌可以起到去除养分的目的。

关键词:富营养化;固定化光合细菌;养分去除

中图分类号:X171 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-693X(2010)03-0064-04

Effects of immobilized photosynthetic bacteria on eutrophic water

CHANG Hui-qing, WANG Shi-huang, KOU Tai-ji

(College of Agriculture, Henan University Science and Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: In order to find a feasible biotechnology to remediate eutrophic water, an experiment of treating the artificial eutrophic water with immobilized photosynthetic bacteria was carried out. The results showed that the inoculation of immobilized photosynthetic bacteria could reduce the nutrients in water effectively. The removal rates of TN, NH₄-N, NO₃-N, TP, and COD were 65.94%, 79.84%, 78.80%, 62.95%, and 78.06%, respectively, after 19 days of treatment. Furthermore, immobilized photosynthetic bacteria inhibited algae growth in the water. The inoculation of immobilized photosynthetic bacteria also increased DO, pH value, the rate of nitrification, and the number of photosynthetic bacteria, and the change of all these factors had an impact on nutrient removal efficiency in water. Therefore, the inoculation of immobilized photosynthetic bacteria could achieve the goal of nutrient removal in the eutrophic water remediation.

Key words: eutrophication; immobilized photosynthetic bacteria; nutrient removal

近年来,地表水体富营养化的进程已经成为人们关注的问题之一^[1],中国地表水体富营养化问题尤为突出,已威胁到饮用水的供应和安全,即便在水源丰富的地区也由于水质的下降导致淡水缺乏。美国 2048 个水体中,大约有 61% 的水体 TN、TP 含量没有达到 EPA 标准^[2]。我国污水处理厂的 N、P 排放标准(GB18918—2002)分别为 15 mL/L 和 1.5 mL/L,也已经超出地表三类水质要求的 30 倍。如果这些污水没有进行深度处理就直接排出,势必导致受纳水

体富营养化现象的发生,甚至会引起许多位于较偏僻山区作为饮用水源地的水库发生富营养化现象^[3-4]。因此,发展新的、投资较低的技术来去除污染水体中过量的养分是必要的,以便重新建立起一个健康并具有自净能力的水生态系统。

光合细菌主要以游离细胞的形式被应用。但是游离细胞在流水条件下易被水流冲走,在静水条件下易被其他生物所食用,并且缺乏吸附和生长繁殖的载体时其难以稳定地长期发挥功能。近年来,固

基金项目:国家科技部中澳合作项目(国科外函[2002]168)

作者简介:常会庆(1974—),男,山西太谷人,博士,研究方向为富营养化水体的生态修复机理。E-mail: hqchang@126.com

定化细胞技术的兴起为微生物的应用增添了新的活力,固定化光合细菌的应用研究已有许多报道^[5-6],尤其在水产养殖业取得的成果引人注目,能起到净化池塘水质的效果^[7-8]。应用固定化光合细菌及其净化污水的研究,表明固定化细胞能够克服游离细胞的不足,具有良好的发展前景^[9-10]。目前针对富营养化水体过量养分去除效果及机理的研究鲜见报道。因此,笔者采用固定化光合细菌来处理人工模拟的富营养化水体,意在为富营养化水体微生物修复提供理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

产氧光合细菌由中国科学院微生物研究所提供,标号为120(1.2352),采用血球板计数法。主要试验仪器包括WFZUV-2100紫外可见分光光度计、FA1004 A电子分析天平、250D光照培养箱、BCD-185型冰箱等。

1.2 试验方法

1.2.1 试验用品配制

a. 光合细菌培养基,配制成分如下:硫酸二氢钾 1.0 g,氯化镁 0.5 g,氯化铵 1.0 g,氯化钙 0.1 g,氯化钠 1.0 g,醋酸钠 1.0 g,琥珀酸钠 1 g,酵母膏 0.5 g,碳酸氢钠 3.0 g,蛋白胨 0.5 g,蒸馏水 1 L。

b. 微量元素液(1 mL/L),配制成分如下:FeCl₂·4H₂O 1.8 g,CoCl₂·6H₂O 0.25 g,NiCl₆H₂O 0.01 g,CuCl₂·H₂O 0.01 g,MnCl₂·4H₂O 0.7 g,ZnCl₂ 0.1 g,硼酸 0.5 g,Na₂SeO₃·5H₂O 0.01 g,NaMoO₄·2H₂O 0.03 g,水 1 L。

c. 维生素溶液(1 mL/L),配制成分如下:维生素 Biotin 0.1 g,烟酸 0.35 g,烟酸硫胺素 0.3 g,对氨基苯甲酸 0.2 g,泛酸钙 0.1 g,维生素 B₁₂ 0.05 g,盐酸吡哆胺 0.1 g,水 1 L。将配制好的溶液调节 pH 值为 6.80,灭菌后在 30℃ 条件下培养 3 d,离心收获细胞(4℃ 4000 r/min 离心 20 min),然后用蒸馏水洗 2 遍后立即固定。

1.2.2 细胞固定

海藻酸钙固定化:用 50 mL 体积分数为 4% 的海藻酸钠灭菌 5 min(73.5 kPa)后冷却到 45℃,然后用培养好的光合细菌(OD₆₀₀ = 0.5)细胞悬浮液 50 mL 和海藻酸钠混合,立即倒入孔径约 1 mm 的自制造粒器中,使形成的固定化颗粒滴入 5% 的 CaCl₂ 溶液中,再放置 24 h,最后滤出颗粒,用生理盐水洗净,备用。

1.3 试验实施

试验包括 2 个处理,分别为:① CK-对照;② P-固定化光合细菌。每个处理设 3 次重复,使用培

养容器为 60 L 的圆塑料桶(直径为 0.6 m,有效深度为 0.6 m,表面积为 0.28 m²)。采用人工模拟的富营养化水体,在试验处理前加入葡萄糖、NH₄NO₃ 和 NaH₂PO₄,使得水体中 TN、TP、NH₄-N、COD 和叶绿素 a 的质量浓度分别为 40.2 mg/L、7.99 mg/L、19.85 mg/L、41.26 mg/L 和 75.46 μM/L,pH 值为 7.02。

约 50 g 的固定化光合细菌载体放入孔径 0.5 mm 的尼龙袋中,悬挂于水面下约 0.3 m 处,光合细菌的处理放置 3 个固定化的光合细菌载体。试验期间气温在 22.4~35.3℃ 之间变化,水温在 23.20~32.6℃ 范围内,试验处理 19 d 后结束。

1.4 取样和分析

水样分别在 0 d、2 d、6 d、12 d、19 d 进行采集,每次采样时间固定在上午 8:00,用 100 mL 的量筒在水面下 0.35 m 处的 3 个地方进行采样。试验参数测定根据标准的水和废水监测分析方法^[11]。

硝化和反硝化率的测定:硝化率的测定是把测定的 NO_x⁻ 浓度作为氧化 NH₄⁺ 结果来进行计算^[12]。由于硝化和反硝化作用可以在异质的环境中同时进行,因此硝酸盐的质量浓度是这 2 个过程同时进行所得到的结果。所以硝化率可以看做是在 24 h 内 NO_x⁻ 增加的质量浓度。

反硝化率的测定依据对 NO₃-N 消耗的方法进行计算^[13]。反硝化率以 24 h 培养时间内 NO_x⁻ 在有硝化作用抑制剂条件下的变化来决定。硝化作用的抑制剂可以阻止 NH₃-N 向 NO₃-N 转化,因此 NO₃-N 的减少可以被认为是反硝化作用过程的结果。

2 试验结果与讨论

2.1 富营养化水体中总氮、铵态氮和硝酸盐的变化

对于总氮而言,随着试验的进行,对照和光合细菌反应系统中 TN 质量浓度都会降低。试验结束时光合细菌的处理和对照处理中 TN 的质量浓度分别为(13.06 ± 0.85)mg/L 和 18.81 mg/L。NH₄-N 的质量浓度在试验中呈下降趋势,试验结束时 2 个处理 NH₄-N 的质量浓度分别为(10.96 ± 1.04)mg/L 和(4.01 ± 0.76)mg/L,固定化光合细菌对 NH₄-N 的降低率比对照多 35.02%。NH₄-N 的去除主要是由于硝化作用的进行,以及一定程度 NH₃-N 的挥发。对照和光合细菌系统中除了藻类和光合细菌对 NH₄-N 的吸收外,NH₃-N 挥发可能是导致 NH₄-N 降低的另外一个因素。硝酸盐的变化与 TN 的变化有相似的趋势,在 19 d 后 2 个处理的硝酸盐质量浓度分别降低到(0.31 ± 0.22)mg/L 和(4.23 ± 0.059)mg/L。NO₃-N 在对照中的降低效果明显,主要是由于对照

有相对较小的 DO 浓度,并且反硝化作用较强,因此使得 $\text{NO}_3\text{-N}$ 在相对厌氧的条件下降低得较快,试验结束时其质量浓度降低了 98.45%。硝化和反硝化作用发生在所有的处理中(表 1),而且受到许多环境因素的影响,例如底泥成分、水体中的溶解氧含量、光照、悬浮物、pH 值和盐度等^[14-15]。笔者的研究表明, $\text{NH}_3\text{-N}$ 可以被硝化细菌进行氧化,而且硝化和亚硝化细菌可以附着在光合细菌固定化载体的表面,这些条件有利于水体中 TN 的降低。图 1 为 CK-对照以及 P-固定化光合细菌对富营养化水体中 TN、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的影响。

表 1 CK-对照以及 P-固定化光合细菌在 0d,10d,19d 时硝化率和反硝化率的变化 $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{h})$

时间/d	硝化率		反硝化率	
	CK-对照	P-固定化光合细菌	CK-对照	P-固定化光合细菌
0	0.832 ± 0.15	0.104 ± 0.004	0.615 ± 0.04	0.515 ± 0.087
10	0.209 ± 0.01	0.365 ± 0.027	0.577 ± 0.01	0.248 ± 0.038
19	1.150 ± 0.53	1.546 ± 0.134	0.990 ± 0.06	0.189 ± 0.025

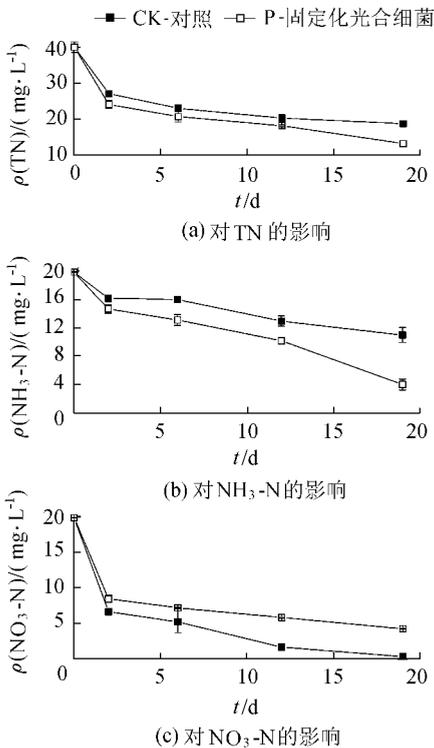


图 1 CK-对照以及 P-固定化光合细菌对富营养化水体中 TN、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的影响

2.2 富营养化水体中 TP 的变化

图 2 表明 2 个培养系统中 TP 的变化过程。在第 2 天时 2 个处理中由于 pH 值上升导致 TP 有显著降低的趋势,随后 TP 的下降趋于平缓。在试验结束时 CK-对照和 P-固定化光合细菌处理中 TP 的值分别为 $(3.94 \pm 0.17) \text{mg}/\text{L}$ 和 $(2.96 \pm 0.15) \text{mg}/\text{L}$ 。微生物的吸收利用或许是减少 TP 的一个因素,接种

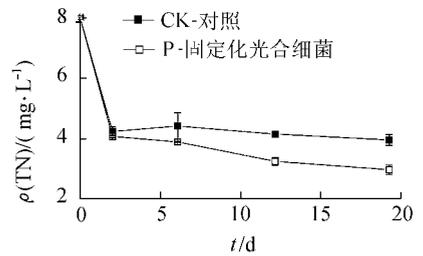


图 2 CK-对照以及 P-固定化光合细菌对富营养化水体中 TP 的影响

的光合细菌正好起到这个作用。在水体中每天 pH 值的变化也对 P 的有效性起着重要作用^[16],P 在高 pH 值条件下可以与 Ca^{2+} 发生沉淀反应。然而,这些导致养分降低的机制仍然需要做进一步的研究^[17-18]。

2.3 富营养化水体中 COD 和叶绿素 a 的变化

接种光合细菌可以明显降低水体中的 COD 含量(图 3)。试验结束时 COD 的去除率为 78.06%,而对照处理 COD 去除率仅有 59.39%。COD 的降低原因之一主要是依靠系统中微生物和藻类的生长对其中碳源的利用,采用固定化接种的方法可以明显提高水体中光合细菌的数量(表 2),光合细菌在降低水体有机物含量方面有着显著的作用,这样可以避免由于水体中的 C/N 过高,异氧微生物繁殖过快抑制硝化菌生长,影响到微生物的脱氮作用^[19]。水体中叶绿素 a 的含量与水体中藻类的含量成正相关,接种光合细菌在一定程度上降低了水体中的叶绿素 a。这主要是由于光合细菌吸收了水体中的养分从而抑制了藻类的生长。

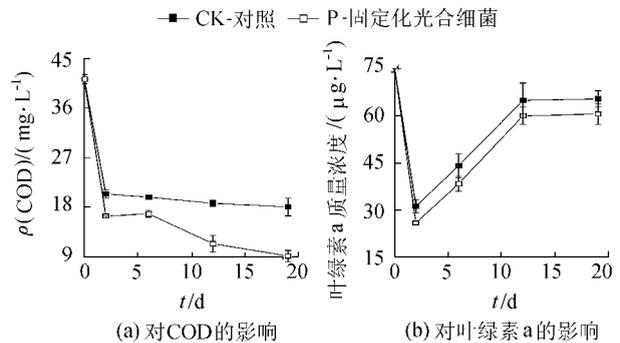


图 3 CK-对照以及 P-固定化光合细菌对富营养化水体中 COD 和叶绿素 a 的影响

表 2 光合细菌在 CK-对照以及 P-固定化光合细菌间的数量变化

取样时间/d	$\lg c/(\text{个}\cdot\text{mL}^{-1})$	
	CK-对照	P-固定化光合细菌
0	1.14 ± 0.06	4.70 ± 0.01
10	1.78 ± 0.03	4.84 ± 0.01
19	0.55 ± 0.13	4.00 ± 0.01

注:c 表示细菌数。

2.4 富营养化水体中 pH 值和 DO 的变化

富营养化水体开始的 pH 值为 7.02, pH 值在对照和光合细菌处理中都有不同程度的增加。光合细菌处理与对照相比, pH 值约增加了 2 (图 4)。较高的 pH 值有利于降低系统中磷的可溶性和生物有效性。DO 的初始浓度为 2.64 mg/L, 接种光合细菌有利于 DO 增加, 表明光合细菌在白天可以增加光合作用的产氧量。在第 6 天时, 由于藻类光合作用的贡献使得 DO 在光合细菌的处理中达到最高。2 个系统中不同的 DO 水平主要是由于光合细菌和藻类共同作用造成的差异。

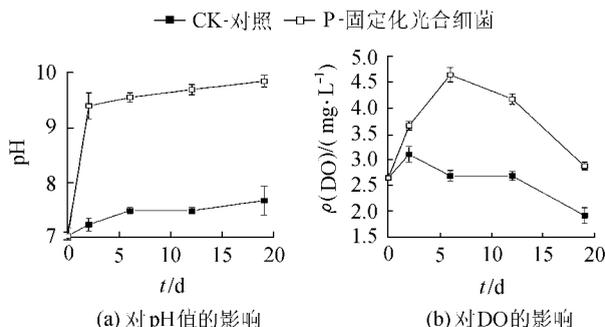


图 4 CK-对照以及 P-固定化光合细菌对富营养化水体中 pH 值和 DO 的影响

3 结 论

接种固定化光合细菌不但有利于改善富营养化水体的质量, 而且对水体中的多种养分都有较明显的去除效果。研究结果表明: 在 19 d 的处理时间中固定化光合细菌对 TN、NH₄-N、硝酸盐、TP 和 COD 的去除率分别达到 65.94%、79.84%、78.80%、62.95%、78.06%。因此探索该系统在实际工程中的应用, 评价由于季节不同引起光照和温度的变化对研究结果的影响是必要的。对接种光合细菌于原位生态修复工程中的养分去除最佳条件的探索仍然需要做进一步研究。

参考文献:

[1] CARPENTAR S R, CARACO N F, CORRELL D F, et al. Nonpoint pollution of surface waters with nitrogen and phosphorus[J]. *Ecological Applications*, 1998, 8(3): 559-568.

[2] SMITH V H, SCHWARTZ G E, ALEXANDER R B. Regional interpretation of water quality monitoring data[J]. *Water Resource Research*, 1997, 33(12): 2781-2798.

[3] 苏玉萍, 林颖昕, 林佳, 等. 福建省典型饮用水源地水库富营养化状况调查与分析[J]. *亚热带资源与环境学报*, 2008, 3(1): 56-59.

[4] 陈文. 玉林水源地水库富营养化污染现状与对策[J]. *广西水利水电*, 2008(2): 16-18, 22.

[5] 丁成. 固定化光合细菌对含酚废水的生物降解试验[J]. *水资源保护*, 2008, 24(6): 93-95.

[6] 方明成, 吴删, 李桂枝. 光合细菌处理制药废水可行性研究[J]. *水利水电科技进展*, 1998, 18(5): 36-38.

[7] 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.

[8] 郑耀通, 胡开辉. 固定化光合细菌净化养鱼水质试验[J]. *中国水产科学*, 2008, 4(4): 55-58.

[9] 朱铁群, 雷庆铎, 李卫忠, 等. 固定化光合细菌研究与应用[J]. *水利渔业*, 2006, 26(6): 4-7.

[10] NAGADOMI H, KITAMURA T, WATANABE M, et al. Simultaneous removal of chemical oxygen demand (COD), phosphate, nitrate and H₂S in the synthetic sewage wastewater using porous ceramic immobilized photosynthetic bacteria[J]. *Biotechnology Letters*, 2000, 22: 1369-1374.

[11] 魏复盛. 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: 200-284.

[12] BELSER W, MAYS E L. Use of nitrifier activity measurements to estimate the efficiency of viable nitrifier counts in soil and sediment[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1982, 43: 945-948.

[13] ANDERSEN J M. Rates of denitrification of undisturbed sediment from six lakes as a function of nitrate concentration, oxygen and temperature[J]. *Arch Hydrobiol*, 1977, 80: 147-159.

[14] KEMP M C. Assessment and enhancement of nitrogen transformation and removal in a subsurface flow constructed wetlands system treating municipal wastewater[D]. Tennessee: Tennessee Technological University, 1995.

[15] BEROUNSKY V, NIXON S. Temperature and the annual cycle of nitrification in waters of Narragansett Bay[J]. *Limnol Oceanogr*, 1990, 35: 1610-1617.

[16] REDDY K R. Fate of nitrogen and phosphorus in a waste water retention reservoir containing aquatic macrophytes[J]. *J Environ Qual*, 1983, 12: 137-141.

[17] GUMBRICHT T. Nutrient removal processes in freshwater submersed macrophyte system[J]. *Ecol Eng*, 1993, 2: 1-30.

[18] GUMBRICHT T. Nutrient removal capacity in submersed macrophyte pond systems in a temperate climate[J]. *Ecol Eng*, 1993, 2: 49-61.

[19] 刘军, 潘登, 王斌, 等. SBR 工艺中 DO 和 C/N 比对同步硝化反硝化的影响[J]. *北京工商大学学报: 自然科学版*, 2003, 21(2): 7-10.

(收稿日期 2008-12-05 编辑: 高建群)

