

固定化菌藻系统及对污水中氮磷营养盐的净化效果

严清^{1,2}, 孙连鹏¹

1. 中山大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510275; 2. 重庆师范大学生命科学学院, 四川 重庆 400047

摘要: 利用海藻酸钠分别包埋固定小球藻、活性污泥及其两者混合物。研究固定态小球藻与悬浮态小球藻对污水中氮磷营养盐的处理效果, 实验结果表明固定态藻对氮磷的去除效果明显优于悬浮态藻, 其原因主要由于海藻酸钠凝胶对氮磷的吸附, 系统 pH 值提高引起氨的气提及磷酸盐的沉淀作用。研究固定化藻、固定化活性污泥及共固定化菌藻分别对污水中氮磷营养盐的处理效果, 在同等条件下, 固定化菌藻对氮磷的去除效果优于固定化活性污泥和固定化藻类。这项研究显示菌藻共生在污水处理中具有较大的潜力。

关键词: 固定化菌藻; 脱氮除磷; 污水净化

中图分类号: X703.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2009) 06-2086-05

由于工农业及生活废水的大量排放, 使世界各国一些水体的氮、磷含量增高, 因而产生富营养化, 并且日益严重。传统污水处理工艺对污水中同时存在的氮和磷等营养物质去除率比较低, 且运转费用高、化学品需求量大、易造成二次污染及污泥产物沉积过剩, 同时造成污水中潜在的营养价值丢失等缺陷, 没有从根本上消除氮、磷对生态环境的影响^[1], 如何经济而有效地处理污水中氮磷等营养盐是当今污染防治十分关注的问题。小球藻为普生性单细胞绿藻, 能利用光能自养, 也能在异养条件下利用有机碳源进行生长、繁殖; 其蛋白质含量特别高, 同时含有丰富的生物活性物质和微量元素及维生素^[2]。研究表明, 小球藻在生活污水中具有较强的氮、磷去除效果、耐污能力以及较大的生长速率, 若能利用废水养殖小球藻, 将是一种低费用、高效率的净化与利用废水的好方法。然而国内外研究发现, 传统悬浮藻系统存在生物量少, 藻类难以收获易造成水体二次污染、水力停留时间长、占地面积大等一系列缺陷^[1]。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藻细胞固定形成固定化藻类系统净化污水是近年来在污水脱氮除磷工艺研究中的一个重要研究方向, 它将菌藻做包埋处理后应用于污水的生物处理^[3-8], 具有生物浓度高、反应速率快、运行稳定可靠、藻细胞易于收获、较高 N、P 营养物质的去除效果等优势, 解决了传统悬浮藻系统所存在的缺陷, 而且提高了微生物抗冲击负荷能力。

本研究以广州市猎德污水处理厂沉砂池出水为原水, 将小球藻或小球藻与活性污泥用海藻酸钠凝胶包埋固定形成固定化小球, 用于污水处理, 研

究其对污水中氮磷营养盐的去除效果, 分析其脱氮除磷的机理。

1 材料与方法

1.1 主要材料

1.1.1 试剂

海藻酸钠, 化学纯, 温州助剂厂; 其余试剂为市售分析纯或优级纯。

1.1.2 实验藻种

藻种由中科院武汉水生所提供, 藻种为普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*)。

1.1.3 实际污水

取自广州市猎德污水处理厂沉砂池出水, 原水的水质指标为: $\text{NH}_4^+-\text{N}=15\sim 30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; COD为 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右; $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}=1\sim 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。使用前沉淀过滤。

1.1.4 仪器

紫外/可见分光光度计, UV 751GD 型; 高压灭菌锅, CL-32L 型; 磁力加热搅拌器, 79-1 型。

1.2 方法

1.2.1 藻类的培养

在无菌的条件下用移液枪接种一定量的藻种(使培养基的接种密度为 1×10^6)于含150 mL培养基的250 mL三角瓶中, 混匀, 在温度(25 ± 1) °C, 光强2 000~4 000 lux, 连续光照的条件下培养, 每天定时摇动两次。

1.2.2 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($3 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min)经无菌的蒸馏水洗涤、离心, 洗涤两次, 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

基金项目: 广东省环境污染控制与修复技术重点实验室开放研究基金项目(2006K001)

作者简介: 严清(1982年生), 女, 硕士, 研究方向为水污染控制工程。E-mail: yanqing09090930@sohu.com

收稿日期: 2009-10-13

无氮磷的培养基中，用血球板计数微生物的浓度。

藻类细胞悬浮溶液（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粘状混合液滴入到3%的无菌CaCl₂的溶液中，磁力搅拌器搅拌一定时间（1 h或2 h），再在CaCl₂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。

1.2.3 理化检验法^[9]

氨氮（NH₄⁺-N），纳氏试剂分光光度法；磷酸盐（PO₄³⁻-P），钼锑抗分光光度法。

2 结果与讨论

2.1 悬浮态与固态藻对污水中氮、磷营养盐的去除

图1与图2为固态藻、悬浮态藻、空白胶球对污水中N、P的去除试验结果，可以看出污水经过静态4 d的净化，污水中NH₄⁺-N、PO₄³⁻-P含量大大减少，固定化小球藻的净化效率要明显高于悬浮态小球藻的净化效率。两种状态的污水净化在第4 d基本上达到完全。在第2 d 固态藻和悬浮态藻对NH₄⁺-N的净化效率分别为68.05%、41.91%，对PO₄³⁻-P的净化效率分别为81.04%、45.13%。固态藻2 d对NH₄⁺-N和PO₄³⁻-P的净化效率比悬浮态藻分别高26.14%、35.91%。

从图1与图2可知实验过程中，空白胶球对NH₄⁺-N与PO₄³⁻-P的去除率从第一天开始就达到饱和，说明固定化胶球一投入污水中NH₄⁺-N与PO₄³⁻-P就被迅速吸附到胶球表面上跟海藻酸盐凝胶离子团上发生化学交联的作用。因此，我们可以推断固定化藻对污水中NH₄⁺-N与PO₄³⁻-P营养物质的去除是通过两个步骤实现的：首先在比较短的时间里被吸附到胶球的表面，随后这些营养物质慢慢扩散进入胶球内部，被包埋在胶球里面的小球藻吸收、利用。固态藻对NH₄⁺-N与PO₄³⁻-P营养物质的去除显著高于悬浮态藻，可能有两方面的原因：其一：包埋载体褐藻胶对NH₄⁺-N与PO₄³⁻-P

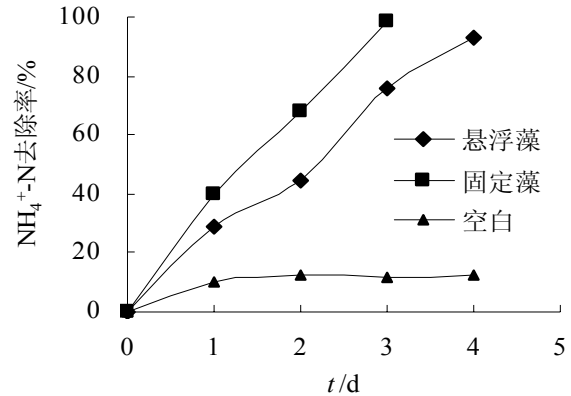


图1 NH₄⁺-N的去除率

Fig.1 The removal percentage of NH₄⁺-N

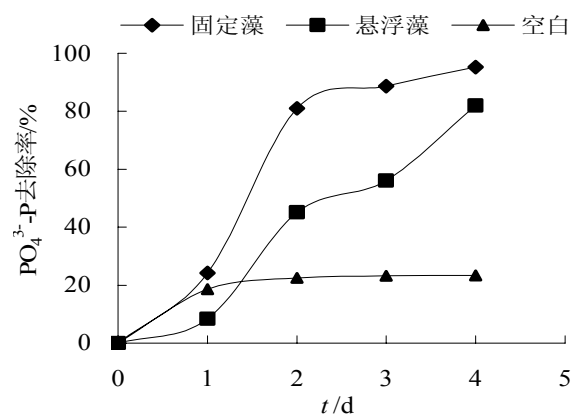


图2 PO₄³⁻-P的去除率

Fig.1 The removal percentage of PO₄³⁻-P

的吸附所致；另一方面就是藻的光合作用引起污水中pH值的升高（实验过程我们也进行过pH的测定发现pH由刚开始的7.0左右增加到9.0左右），也促进了磷酸盐与海藻酸钙中Ca²⁺的沉淀与氨的气提作用，有研究也证实了藻的光合作用提高了污水的pH值^[10-13]，Lau等人^[11]报道在污水中放有褐藻胶胶球的生物反应器，废水的Ca²⁺离子的浓度有明显的升高。

2.2 菌藻共固定化系统中最佳污泥量的确定

为了确定菌藻共固定化系统中活性污泥的最佳包埋量，按照要求（表1）制成几种菌藻共固定化小球。

表1 最佳污泥包埋量的确定

Table 1 The experiment about the best immobilized activated sludge content

实验号	包埋量比 (褐藻胶 V : 藻 V : 污泥 V)	各物质的量
1	2 : 0.5 : 0.5	取 20 mL 5% 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10 ⁷ 的藻液, 5 mL 活性污泥
2	2 : 0.5 : 0.5	取 20 mL 5% 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10 ⁷ 的藻液, 7.5 mL 活性污泥浓缩至 5 mL
3	2 : 0.5 : 0.5	20 mL 5% 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10 ⁷ 的藻液, 10 mL 经过沉降 40 min 的活性污泥浓缩至 5 mL
4	2 : 0.5 : 0.5	取 20 mL 5% 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10 ⁷ 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 5% 的海藻酸钠, 5 mL 藻密度为 4×10 ⁷ 的藻液, 20 mL 经过沉降 40 min 的活性污泥浓缩至 5 mL

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)。水样中氨氮的质量浓度为 $18.92 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,水样中正磷酸磷的质量浓度为 $1.41 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。48 h的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除效果见图3及图4。

从图3,4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 d起发现实验3,4,5有不同程度的细胞泄漏和胶球溶解的问题,因此我们选择2号实验中的污泥包埋量为最佳污泥包埋量。

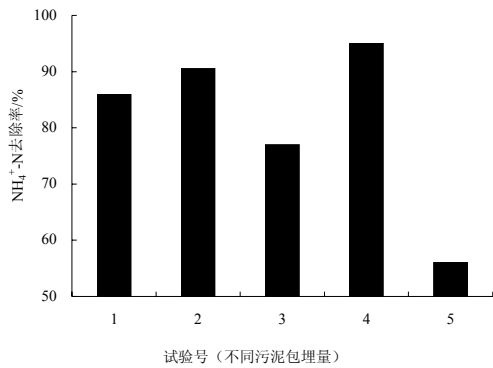


图3 最佳污泥包埋量的确定 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 48 h 去除效果)
Fig.3 The experiment about the best immobilized activated sludge content ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal in wastewater by coimmobilized with different amount of activated sludge in 48 h treatment)

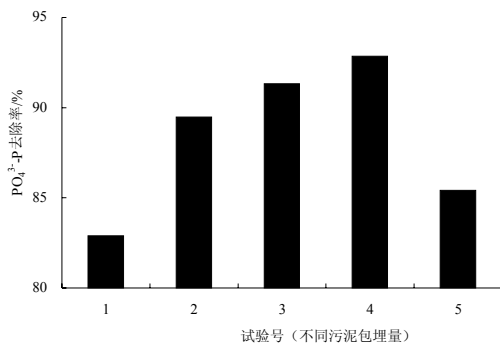


图4 最佳污泥包埋量的确定 ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 48 h 去除效果)
Fig.4 The experiment about the best immobilized activated sludge content ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ removal in wastewater by coimmobilized with different amount of activated sludge in 48 h treatment)

2.3 单藻、单菌、菌藻共固定化系统脱氮除磷效果的对比试验

分别用褐藻胶固定化菌藻(污泥选2.2中的最佳包埋量)、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5、6。

图5、图6分别为固定化小球藻、固定化细菌和固定化菌藻对N,P的去除实验结果。从图中可以看出,固定化小球藻对N和P的48 h的去除率分别是48.32%和72.96%,固定化活性污泥对N和P

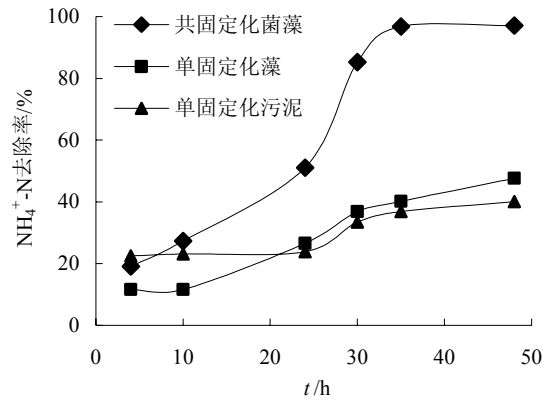


图5 单藻、单菌、菌藻共固定化系统对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效果
Fig.5 The uptake of ammonium and phosphorus removal by *C. vulgaris* or activated sludge immobilized alone and the coimmobilized *C. vulgaris* and activated sludge

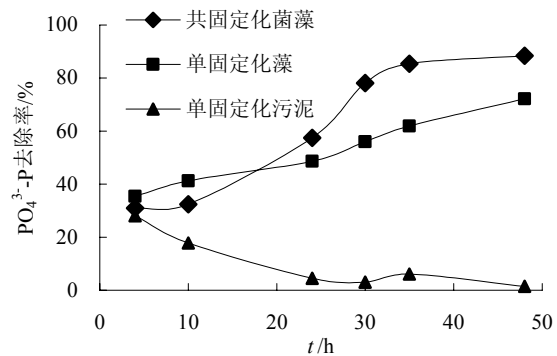


图6 单藻、单菌、菌藻共固定化系统对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除效果
Fig.6 The uptake of ammonium and phosphorus removal by *C. vulgaris* or activated sludge immobilized alone and the coimmobilized *C. vulgaris* and activated sludge

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%,为三种固定细胞中去除氮磷效果最好的。

从图7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($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$)-N的质量浓度都没

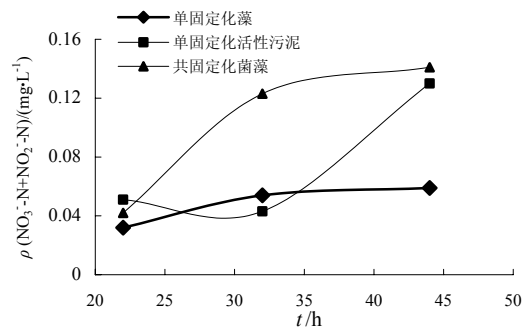


图7 各系统中 ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$)-N 的变化
Fig.7 The change of nitrate content in different systems

有超过 0.14 mg·L⁻¹。

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 2 d 对氮磷的吸收，按去除率的大小排列为：固定化菌藻>固定化小球藻>固定化细菌，在固定化菌藻中藻类和细菌同时吸收或转化了氮磷，使得氮磷浓度下降；对磷的去除能力，固定化菌藻优于固定化小球藻，以固定化细菌的除磷能力最差。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 CO₂ 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 CO₂ 则提供给藻类，大大提高了细菌和藻类的活性^[14-16,1]。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、包埋载体材料性质、pH 值等外部因素等也会影响到污水中氮磷的去除效果^[17-19]。

图 7 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，国外也有研究报道过^[20,7]；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。表 2 也可以证明 2d 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>固定化细菌。

表 2 经过 48 h 的实验后各系统中总氮(TN)
Table 2 The change of total nitrogen content in different systems after 48 h treatment mg·L⁻¹

系统	TN
共固定化菌藻	3.3
单固定化藻	14.04
单固定化污泥	12.82

3 结论与建议

(1) 悬浮态与固定态小球藻对污水中氮磷营养盐的去除实验结果显示：固定态小球藻对氮磷的去除效果明显高于悬浮态小球藻，主要因为海藻酸钙凝胶离子团的吸附及固定化系统中 pH 值升高引起氨的气提与 Ca²⁺ 和磷酸盐的沉淀作用所致。

(2) 通过单固定化小球藻、菌藻共固定化小球、单固定化活性污泥对污水中氮磷营养盐的去除效果的对比试验我们得出：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的优势，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。

参考文献：

- [1] 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.
XING Lizhen, ZHANG Xiangyang, ZHANG Bo, et al. A preliminary study on eliminating nitrogen and phosphorus from artificial wastewater by immobilized bacteria-algae[J]. Environmental Science and Technology, 2006, 29(1): 33-35.
- [2] 韦进钟. 小球藻的营养价值及其开发利用简述[J]. 畜牧兽医科技信息, 2004, 8: 12-13.
WEI Jinzhong. A summary of the nutrient value and the development utilization for *Chlorella vulgaris*[J]. Veterinary Grazing and Surgeon Sci-tech Information, 2004, 8: 12-13.
- [3] ANI I, WAHIDIN S. Effect of sodium alginate concentration, bead diameter, initial pH and temperature on lactic acid production from pineapple waste using immobilized *Lacto-bacillus delbrueckii*[J]. Process Biochemistry, 2006, 41: 1117-1123.
- [4] 许振文, 张甲耀, 陈兰洲, 等. 固定化外源降解菌强化生物降解作用研究[J]. 环境科学与技术, 2007, 30(3): 19-22.
XU Zhenwen, ZHANG Jiayao, CHEN Lanzhou, et al. Aug-mentation of biodegradability by immobilized exogenous bacteria[J]. Environmental Science and Technology, 2007, 30(3): 19-22.
- [5] 唐艳葵, 童张法, 张寒冰, 等. 固定化反硝化聚磷菌同步除磷脱氮实验研究[J]. 环境科学与技术, 2008, 31(12): 56-58.
TANG Yankui, TONG Zhangfa, ZHANG Hanbing, et al. Simultaneous denitrification and phosphate removal with immobilized denitrifying phosphorus accumulating organisms[J]. Environmental Science and Technology, 2008, 31(12): 56-58.
- [6] LUZ E, JUANPABLO 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]. Water Research, 2004, 38: 466-474.
- [7] 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.
- [8] 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]. Water Science and Technology, 2000, 42(10-11): 187-194.
- [9] 国家环保总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 第四版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
State Environmental Protection Administration. Analytical Method of Water and Waste water[M]. Fourth Edition. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 2002.
- [10] TAM N F Y, WONG Y S. Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal[J]. Environmental Pollution, 2000, 107(1): 145-151.
- [11] LAU P S, TAM N F Y, WONG, Y S. Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris*[J]. Environmental Technology, 1997, 18: 945-951.
- [12] JIMÉNEZPÉREZ M V, SÁNCHEZCASTILLO P. Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 34: 392-398

- [13] 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: 59-66.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] WONG Y, NORA F Y. *Wastewater treatment with algae*[J]. Springer-Verlag BerlinHeidelberg and Lands Bioscience Georgetown, TX, U.S.A, 1997: 204-205.
- [17] 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]. *Water Science and Technology*, 2000, 42(10-11): 187-194.
- [18] 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.
- WANG Xiu, ZHANG Xiaoping. Treatment of high concentration organic wastewater by fluidized photobioreactor with immobilized algal-bacterial beads[J]. *Water Purification Technology*, 2009, 28(1): 54-57.
- [19] 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.
- PAN Hui, XIONG Zhenhu, JIN Yongwei. Effect of illumination on removal efficiency of nitrogen and phosphorus in immobilized algal-bacterial reactor[J]. *Water Resources Protection*, 2006, 22(5): 63-67.
- [20] LUZ E, MANUEL M, JUANPABLO 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]. *Water Research*, 2002, 36: 2941-2948.

Removal of nitrogen and phosphorus by coimmobilized *Chlorella vulgaris* and bacteria system

YAN Qing^{1,2}, SUN Lianpeng¹

1. College of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China

Abstract: *Chlorella vulgaris*, activated sludge and the mixture containing *Chlorella vulgaris* and activated sludge were entrapped in calcium alginate respectively. The removal effect of N and P nutrients was evaluated by the immobilized and suspended *Chlorella vulgaris*. A significantly higher effect of removing nitrogen and phosphorus was found in immobilized *Chlorella vulgaris* than in the suspended *Chlorella*, which was induced by adsorption on alginate gels, ammonia volatilization and chemical precipitation. The removal effect of N, P nutrients was compared among the immobilized *Chlorella vulgaris*, immobilized activated sludge and the coimmobilized mixture containing *Chlorella vulgaris* and activated sludge, the conclusions are as followings: Under the same conditions, the coimmobilized *Chlorella vulgaris* and bacteria system significantly increased the removal of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ compared to immobilization of the microalgae or bacteria alone. This study shows the potential of coimmobilization of microorganisms in small beads to serve as a treatment for wastewater.

Key words: coimmobilized *Chlorella vulgaris* and bacteria system; removal of nitrogen and phosphorus; purification of wastewater