

菌-藻体系去除水产养殖废水中氮和磷的净化实验 Purification on N and P in Aquaculture Wastewater with a Bacteria-Algae System

周武旋¹ 赵江萍² 栗越妍³

ZHOU Wu-xuan¹ ZHAO Jiang-ping² LI Yue-yan³

(1. 广西柳州市环境保护监测站, 广西柳州 545001; 2. 柳州市环境保护局, 广西柳州 545006; 3. 中国环境科学研究院, 北京 100012)

(1. Guangxi Liuzhou City Environmental Protection Monitoring Stations, Liuzhou, Guangxi, 545001, China; 2. Guangxi Liuzhou Environmental Protection Agency, Liuzhou, Guangxi, 545006, China; 3. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing, 100012, China)

摘要: 以投加人工饲料喂养罗非鱼 7 天的玻璃鱼缸内的废水为样品, 接种地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、硝化细菌、月牙藻 (*Selenastrum reinsch*) 和四尾栅藻 (*Scenedesmus quadricanda*) 后于光照箱内培养, 于 0、12h、24h、48h、84h、120h、168h 测定废水样品的 pH 值、溶解氧、氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和可溶性磷酸盐的去除率, 以 24h 氨氮和 168h 可溶性磷酸盐的去除率为指标进行 $L_9(3^4)$ 正交实验, 研究菌-藻体系去除水产养殖废水中氮和磷的净化效果。结果表明, 地衣芽孢杆菌、硝化细菌、月牙藻和四尾栅藻组成的菌-藻体系可以通过其新陈代谢过程中形成的原始共生关系有效地去除养殖水体中的氮、磷污染物。菌-藻体系去除氨氮的最佳反应时间为 24h, 最大去除率 98%。在初始密度为 5×10^5 cells/ml 条件下, 最佳菌-藻体积配比为 1 : 2 : 2 : 3, 即最佳菌-藻初始密度分别为 2.5×10^5 cell/ml、 5.0×10^5 cell/ml、 5.0×10^5 cell/ml、 10.0×10^5 cell/ml。菌-藻体系去除可溶性磷酸盐的最佳反应时间为 168h, 去除率 100%。在初始密度为 5×10^5 cells/ml 条件下, 最佳菌藻体积配比为 1 : 1 : 3 : 2, 即最佳菌-藻初始密度分别为 2.5×10^5 cell/ml、 2.5×10^5 cell/ml、 10.0×10^5 cell/ml、 5.0×10^5 cell/ml。

关键词: 废水 磷 氮 水质净化 水产养殖 菌-藻体系

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2012)02-0155-05

Abstract: Using the waste water after feeding tilapia 7 days with artificial additive in the aquarium glass as samples, *Bacillus licheniformis* (*Bacillus licheniformis*), nitrifying bacteria, crescent algae (*Selenastrum reinsch*) and four tail gate algae (*Scenedesmus quadricanda*) were vaccinated and cultured in the light box. pH value, dissolved oxygen, ammonia nitrogen, nitrite nitrogen, nitrate nitrogen and soluble phosphate removal rate of the waste water samples were measured after 0, 12h, 24h, 48h, 84h, 120h and 168h, respectively cultivation. Then $L_9(3^4)$ orthogonal experiments were conducted to analyze the ammonia nitrogen at 24h and the removal rate of soluble phosphate at 168h, in order to estimate the purification effect of bacteria-algae system by removal of N and P in the waste water aquaculture. The results show that the bacteria-algae system composed from bacillus, denitrifying bacteria, a crescent algae and four tail gate of algae can effectively remove the nitrogen and phosphorus pollutants in the breeding water through their metabolism process forming the original symbiotic relationship. This bacteria-algae system reveals the best reaction time for removing ammonia nitrogen at 24 h and the biggest removal rate of 98%. In the initial density of 5.0×10^5 cells/ml, the best bacteria-algae volume ratio is 1 : 2 : 2 : 3, namely the best algae bacteria-initial density is 2.5×10^5 cell/ml, 5.0×10^5 cell/ml, 5.0×10^5 cell/ml, 10.0×10^5 cell/ml for the 4 compositions, respectively. The best reaction time for the bacteria-algae soluble system to remove phosphate is at 168 h with removal rate of 100%. In the initial density of 5.0×10^5 cells/ml, the best volume ratio of bacteria and algae is 1 : 1 : 3 : 2, namely the

best algae bacteria-initial density is 2.5×10^5 cell/ml, 2.5×10^5 cell/ml, 10.0×10^5 cell/ml, 5.0×10^5 cell/ml, respectively.

Key words: waste water, P, N, water purification, aquaculture, bacteria-algae system

收稿日期: 2012-01-07

修回日期: 2012-02-19

作者简介: 周武旋(1971-), 女, 工程师, 主要从事环境监测工作。

中国是水产养殖大国,产量多年居世界首位^[1]。2007年,中国水产品产量已达4747.5万吨,其中人工养殖产量3278.3万吨^[2]。高产、高密度的养殖方式给中国带来了巨大的经济效益,2007年渔业产值达4457.5亿元,占当年全国国内生产总值的1.8%^[2],但是养殖过程中投放饵料所含的氮、磷大约只有9.1%和17.4%可以被鱼同化^[3]。富含氮、磷污染物的水产养殖废水的排放导致受纳水体溶解氧含量降低,营养元素超标而引起水质恶化,从而使中国水产养殖业的发展因为环境压力而受到制约。

如何经济有效地处理水产养殖废水是当今环境污染防治十分关注的问题。通过生物筛选技术培育去污能力强的藻类和有益菌来净化水产养殖废水是一种有效的处理技术^[3]。绿球藻(*Chlorococcum* sp.)正常生长的氮浓度为0.015~0.150g/L,可以耐受高氮环境,是一种很好的耐氮微藻^[4]。以芽孢杆菌、光合细菌、硝化细菌等有益菌种为主体的微生物制剂已经商品化并被广泛应用于改善水质或去除污染物^[5]。利用菌、藻新陈代谢过程中的原始共生关系,培育菌-藻体系,可以有效地去除废水中的氮、磷污染物。作者在前人和已有工作的基础上筛选出可以有效协作的地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、硝化细菌、月牙藻(*Selenastrum reinsch*)和四尾栅藻(*Scenedesmus quadricanda*)组成本实验所用菌-藻体系,地衣芽孢杆菌是一种兼性厌氧菌,平均世代时间为20min,其在孢子裂殖过程中耗氧,并产生相应得酶,如碱性蛋白质酶、环糊精葡萄糖基转移酶等,可以快速分解水体中的有机化合物。硝化细菌是一类好氧的、通过氧化氨或亚硝酸获得能源,并以CO₂为碳源的化能自养型细菌,平均世代时间10h以上。月牙藻和四尾栅藻以水中的CO₂作为无机碳源进行光合作用消耗CO₂释放O₂,并吸收氮、磷而合成细胞物质以便繁殖藻体。本次实验采用正交实验的方法,确定在相同初始接种密度前提下,不同体积搭配的菌-藻体系对水产养殖废水中无机氮、磷的处理效果,以确定菌-藻体系最佳配比、最佳处理时间并比较其处理效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

参照高密度水产养殖的方法,将60尾罗非鱼放养在自然光照、人工通气条件下的玻璃鱼缸内,并且每日投加人工饲料(粗蛋白 \geq 25%,粗脂肪 \geq 2%,粗纤维 \leq 5%,灰分 \leq 9.0%)。饲养罗非鱼7d后,取玻璃鱼缸内的废水作为实验用水。

菌-藻体系中的地衣芽孢杆菌、硝化细菌购自沧州旺发生物技术研究所,实验前用无菌水制备成菌悬液;菌悬液初始密度为 1.0×10^8 cells/ml左右。月牙藻、四尾栅藻购自中国科学院武汉水生生物研究所,实验前将保存的藻种转移到250 ml三角烧瓶(内有100 ml M11液体培养基)进行扩大和驯化培养;培养过程中每5天转接1次,共转接2~3次,当达到同步生长时,即可作为实验藻种液;镜检藻初始密度为 1.0×10^6 cells/ml左右。

1.2 实验方法

实验采用L₉(3⁴)正交表进行设计,确定地衣芽孢杆菌、硝化细菌、月牙藻、四尾栅藻4个因素,设定低(2.5×10^5 cells/ml)、中(5.0×10^5 cells/ml)、高(10.0×10^5 cells/ml)3个水平,共9个实验组,分别以1~9表示,同时设定空白对照组,以0表示。

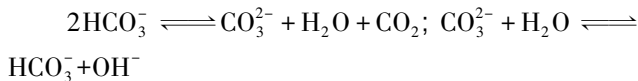
实验藻种液在4000 r/min条件下离心10 min,弃去上清液,用15 mg/L NaHCO₃溶液洗涤2次后,和菌悬液一起于早上9:00接种装有1000 ml实验用水的1000 ml锥形瓶中。将锥形瓶置于光照培养箱内,环境温度(24±1)℃,光源为日光灯,光照强度4000 lx,光暗比12:12h。每隔2~4h人工摇动1次。实验开始后,于0、12h、24h、48h、84h、120h、168h测定实验参数。首先测定水样品的pH值、溶解氧,再用0.45μm滤膜过滤水样品,测定过滤水样品的NH₄⁺-N值、NO₂⁻-N值、NO₃⁻-N值、溶磷值。采用PHS-3C数显pH值计(上海天达仪器有限公司出品)测定pH值。采用便携式DO测定仪(DO200型,The Tintometer GmbH, Germany出品)通过水杨酸-次氯酸盐光度法测定NH₄⁺-N值;通过N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定NO₂⁻-N值;通过紫外分光光度法测定NO₃⁻-N值;通过钼锑钨分光光度法测定溶磷值。每个实验组设3个重复,实验数据结果以平均值表示。

2 结果与分析

2.1 水体pH值及溶解氧含量

实验水样品的初始pH值为8.17。从图1可以看出,实验开始后,在0~48h内,水体pH值呈下降趋势,84h时pH值开始上升,第6、8、9组的pH值分别为7.63、7.79、7.41,仍低于初始pH值,但是其余各组的pH值均高于初始pH值。实验水样品的初始溶解氧为3.43 mg/L。从图2可以看出,在0~84h内,除第1组的DO值为3.71 mg/L外,其余各组均低于初始值,基本为缺氧或厌氧环境;120h时,DO值开始增加。养殖水体中CO₂、O₂等气体的含量取决

于气-液溶解作用和菌藻微生物新陈代谢等过程。而养殖水体的 pH 值变化最主要由水体中游离 CO₂ 和碳酸盐的平衡体系决定,反应式为:



地衣芽孢杆菌的代谢产物中含有大量的有机酸,以乳酸和丁二醇为其主要代谢产物。由于地衣芽孢杆菌时代时间短,在反应的初始阶段以地衣芽孢杆菌作用为主,由于代谢过程耗氧产酸而造成了水体 pH 值和溶解氧含量下降。随着反应时间的延长,藻类开始繁殖,其光合作用加强,消耗水体中的 CO₂,导致水体中游离 CO₂ 和碳酸盐的平衡向右移动,使得水体中 OH⁻ 积累,水体 pH 值上升,同时释放 O₂,增加了水体中溶解氧含量。所以该反应体系中,水体的 pH 值、溶解氧是菌、藻生理代谢过程协同作用的结果。一开始二者均呈下降趋势,48h 时,pH 值开始上升,而溶解氧则在 84h 开始增加。所以在整个反应过程中水体环境基本呈碱性,但是在 0~84h 内为厌氧环境,随后逐步向好氧环境变化。

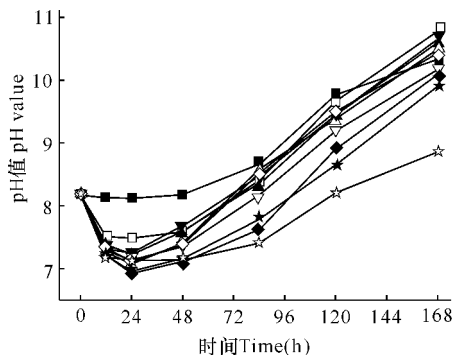


图 1 水体 pH 值变化趋势

Fig. 1 Changes of pH values in different samples

■:0 □:1 ▲:2 △:3 ▼:4 ▽:5 ◆:6 ◇:7, ★:8 ☆:9.

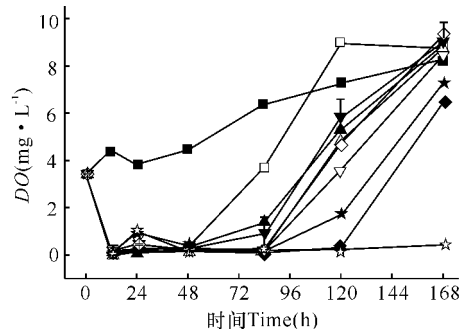


图 2 水体溶解氧含量变化趋势

Fig. 2 Changes of DO concentrations in different samples

■:0 □:1 ▲:2 △:3 ▼:4 ▽:5 ◆:6 ◇:7, ★:8 ☆:9.

2.2 水体氮和磷含量

水体中无机氮的存在形式主要有氨氮、亚硝酸盐

氮、硝酸盐氮。水样品中氨态氮初始值为 1.44 mg/L,实验开始后各组的氨氮值均呈上升趋势,在 12h 时达到最大值;增加幅度最大、最小的分别为第 4 组、第 2 组,其浓度值分别为 13.38 mg/L 和 6.79 mg/L;随着反应的进行,水样中的氨氮值开始下降,至 168h 时,第 2、5、9 组的氨氮浓度仍高于初始值,第 0、1、3、4、6、7、8 组对氨氮表现出一定的去除率(图 3)。水样品中亚硝酸盐氮初始浓度为 0.86 mg/L,实验开始后,除第 6、9 组外其余各组的亚硝酸盐氮浓度均有增加,在 24h,第 2、3、4、8 组均未检出亚硝酸盐氮含量,同时第 0、1、5、6、7、9 组的浓度分别为 1.26 mg/L、0.13 mg/L、0.13 mg/L、0.39 mg/L、0.19 mg/L、0.06 mg/L;在 48h,各组对亚硝态氮均表现出很好的去除效果(图 4)。水样品中硝酸盐氮的初始值为 16.61 mg/L,各实验组一开始就表现出对硝酸盐氮很好的去除效果,但是去除能力有所不同,表现在 12h 时各组的去除率的差别上,在 24h 时,除第 0、1、2 组外,其余各组的均未检出硝酸盐氮值,去除率达到 100%(图 5)。氨氮、亚硝酸盐氮的浓度一开始呈上升趋势,分别在 12h、48h 达到峰值,这主要是因为地衣芽孢杆菌在厌氧条件下分解有机物的结果。亚硝化细菌对氨氮的去除率与氨氮浓度关系不大,而与亚硝化细菌的数量和水的 pH 值有关,只有维持足够的碱度,才可以发挥其最佳降解氨氮的作用,最佳 pH 值约为 8,溶解氧在 1.5~2.0 mg/L 为宜。在 0~84h,水体处于厌氧环境,硝化细菌的作用受到一定的抑制,所以氨氮、亚硝酸盐氮浓度未出现有效的去除。本次实验用水中硝酸盐氮含量占无机态氮总量的 87.8%,是无机态氮存在的主要形式,在缺氧条件下,硝酸盐氮很容易经脱氮作用而损失^[6]。芽孢杆菌具有反硝化的脱氮作用。而且藻类生长需要氮源,通过酶的作用将其转化为氨,再由氨合成氨基酸、蛋白

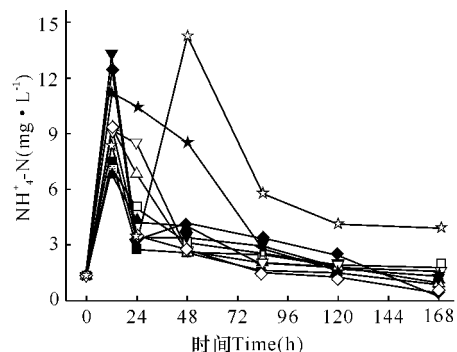


图 3 水体氨氮浓度变化趋势

Fig. 3 Concentrations of ammonia nitrogen in different groups

■:0 □:1 ▲:2 △:3 ▼:4 ▽:5 ◆:6 ◇:7, ★:8 ☆:9.

质及其他含氮化合物。藻类一般优先吸收铵态氮。李慧明等人的研究表明四尾栅藻对铵态氮的利用要高于硝态氮^[7]。所以在实验中去氮的途径之一为生物吸收。由于本实验为一封闭环境, 无菌-藻的排出, 微生物的死亡会引起营养元素浓度的波动。所以综合考虑无机氮的去除效果, 选择反应时间 24h 时氨氮去除率作为后续正交实验分析的指标值。

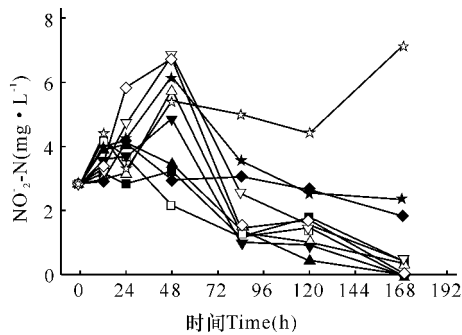


图4 水体亚硝酸盐氮浓度变化趋势

Fig. 4 Concentrations of nitrite in different groups

■:0 □:1 ▲:2 △:3 ▼:4 ▽:5 ◆:6 ◇:7, ★:8 ☆:9.

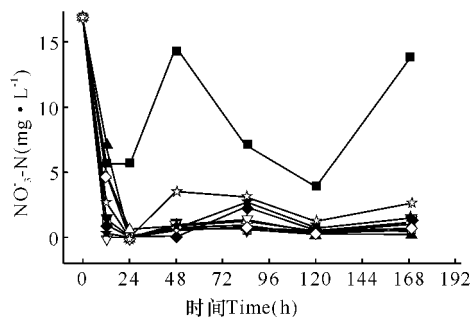


图5 水体硝酸盐氮浓度变化趋势

Fig. 5 Concentrations and removal rates of nitrate in different groups

■:0 □:1 ▲:2 △:3 ▼:4 ▽:5 ◆:6 ◇:7, ★:8 ☆:9.

水体中无机磷的存在形式主要可溶性酸盐。本次实验的水样品中可溶性磷酸盐初始值为 2.84 mg/L, 实验开始后, 各组的溶磷值均呈上升趋势, 在 84h 开始出现下降的趋势, 到 168h 时, 第 9 组的可溶性磷酸盐为 7.10 mg/L, 仍高于初始值, 其余各组对可溶性磷酸盐表现出一定的去除率(图 6)。可溶性磷酸盐浓度增加的时间在 0~84h, 主要是由于水体环境中一开始主要是菌在起作用, 地衣芽孢杆菌代谢产物中所含的有机酸, 以及硝化细菌代谢过程也产生酸, 由于微生物产酸溶解水样中非溶解性磷酸盐而造成水样中溶磷浓度的上升, 在这一过程中产生酸, 表现在水体 pH 值下降, 这一结论与上述 2.1 的结果相吻合。随着藻类的生长, 可溶性磷酸盐作为藻类生长的最佳磷形态, 被藻类直接吸收而去除, 而且随着反应

时间的延长, 藻类吸收磷并将其储蓄起来的量越多, 这与刘德启等人的研究发现^[8]一致。所以选择反应时间 168h 时可溶性磷酸盐去除率作为后续正交实验分析的指标值。

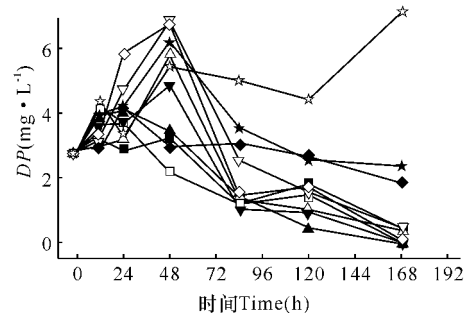


图6 水体溶磷浓度变化趋势

Fig. 6 Concentrations and removal rates of dissolved phosphorus in different groups

■:0 □:1 ▲:2 △:3 ▼:4 ▽:5 ◆:6 ◇:7, ★:8 ☆:9.

表1 氨氮去除率的正交表及实验结果

Table 1 Analyses and removal rates of ammonia nitrogen with the orthogonal test of $L_9(3^4)$

实验组号 Group No.	地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	硝化细菌 Nitrifying bacteria	月牙藻 <i>Selenastrum reinsch</i>	四尾栅藻 <i>Scenedesmus quadricauda</i>	去除率 Removal rate (%)
1	1	1	1	1	0.94
2	1	2	2	2	0.93
3	1	3	3	3	0.87
4	2	1	2	3	0.98
5	2	2	3	1	0.92
6	2	3	1	2	0.80
7	3	1	3	2	0.80
8	3	2	2	3	0.92
9	3	3	1	1	0.83
K_{11}	0.91	0.91	0.86	0.89	
K_{12}	0.90	0.92	0.94	0.85	
K_{13}	0.85	0.83	0.86	0.92	
R	0.06	0.09	0.08	0.07	

2.3 正交实验结果分析

根据上述实验结果, 分别以 24h 氨氮、168h 可溶性磷酸盐的去除率为指标进行正交实验。从表 1 中 R 值的大小可以看出, $R_{硝化细菌} > R_{月牙藻} > R_{四尾栅藻} > R_{地衣芽孢杆菌}$, 说明对氨氮去除率实验指标影响排序依次为: 硝化细菌 > 月牙藻 > 四尾栅藻 > 地衣芽孢杆菌。为获得氨氮的最高去除率, 最佳的菌-藻体积配比为 1:2:2:3, 即最佳菌-藻初始密度分别为: 2.5×10^5 cell/ml、 5.0×10^5 cell/ml、 5.0×10^5 cell/ml、 10.0×10^5 cell/ml。从表 2 中 R 值的大小可以看出, $R_{地衣芽孢杆菌} = R_{菌硝化细菌} > R_{月牙藻} > R_{四尾栅藻}$, 说明对可溶性磷酸盐去除率实验指标影响排序依次为:

地衣芽孢杆菌=菌硝化细菌>月牙藻>四尾栅藻。为获得可溶性磷酸盐的最高去除率,最佳菌-藻体积配比为1:1:3:2,即最佳菌-藻初始密度分别为:2.5×10⁵ cell/ml、2.5×10⁵ cell/ml、10.0×10⁵ cell/ml、5.0×10⁵ cell/ml。

表2 可溶性磷酸盐去除率正交表及实验结果

Table 2 Analyses and removal rates of dissolved phosphorus with the orthogonal test of L₉(3⁴)

实验组号 Group No.	地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	硝化细菌 Nitrifying bacteria	月牙藻 <i>Selenastrum reinsch</i>	四尾栅藻 <i>Scenedesmus quadricauda</i>	去除率 Removal rate (%)
1	1	1	1	1	1.00
2	1	2	2	2	1.00
3	1	3	3	3	0.87
4	2	1	2	3	1.00
5	2	2	3	1	0.84
6	2	3	1	2	0.35
7	3	1	3	2	0.97
8	3	2	2	3	0.17
9	3	3	1	1	0.00
K ₁₁	0.96	0.99	0.45	0.61	
K ₁₂	0.78	0.67	0.72	0.77	
K ₁₃	0.38	0.41	0.89	0.68	
R	0.58	0.58	0.44	0.16	

3 结论

地衣芽孢杆菌、硝化细菌、月牙藻和四尾栅藻组成的菌-藻体系可以通过其新陈代谢过程中形成的原始共生关系有效地去除养殖水体中的氮、磷污染物。菌-藻体系去除氨氮的最佳反应时间为24h,最大去除率98%,在初始密度为5×10⁵ cells/ml条件下,最佳菌-藻体积配比为1:2:2:3,即最佳菌-藻初始密

度分别为:2.5×10⁵ cell/ml、5.0×10⁵ cell/ml、5.0×10⁵ cell/ml、10.0×10⁵ cell/ml。菌-藻体系去除可溶性磷酸盐的最佳反应时间为168h,去除率100%,在初始密度为5×10⁵ cells/ml条件下,最佳菌藻体积配比为1:1:3:2,即最佳菌-藻初始密度分别为:2.5×10⁵ cell/ml、2.5×10⁵ cell/ml、10.0×10⁵ cell/ml、5.0×10⁵ cell/ml。

参考文献:

- [1] 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[J].中国水产,2004(7):81-82.
- [2] 中华人民共和国国家统计局.中国统计年鉴-2008[M].北京:中国统计出版社,2008.
- [3] 方圣琼,胡雪峰,巫和昕.水产养殖废水处理技术及应用[J].环境污染治理技术与设备,2004,5(9):51-55.
- [4] 邱昌恩,况琪军,刘国祥,等.不同氮浓度对绿球藻生长及生理特性的影响[J].中国环境科学,2005,25(4):408-411.
- [5] 万红,宋碧玉,杨毅,等.水产养殖废水的生物处理技术及其应用[J].水产科技情报,2006,33(3):99-104.
- [6] 马鸿娟.氮磷营养盐对养殖水体的影响[J].福建环境,2001,18(5):21-22.
- [7] 李慧明,朱伟,李建龙.不同氮源对四尾栅藻生长的影响[J].水资源保护,2008,24(增刊):60-63.
- [8] 刘德启,牛明改,丁梅香,等.利用菌-藻体系高效快速脱除生活污水中氮、磷的技术研究[J].苏州大学学报:工学版,2002,22(1):29-33.

(责任编辑:邓大玉)

科学家设计出世界上最细纳米导线

过去40多年来,工业界不断研发制造更小尺度的晶体管、导线等元件,以开发更先进的计算机。然而,元件达到原子尺度后问题显而易见:随着电路变得越来越小,电阻相对于电荷而言常常过大,使得电荷难以流动形成电流。也就是说,量子效应会在接近纳米尺度时限制电子设备的按比例缩减。为解决这一问题,澳大利亚和美国的科学家利用精心设计的原子精度扫描隧道显微镜,在硅表面以1纳米间隔只安放1个磷原子的方式制备了纳米导线,其宽度相当于4个硅原子,高度相当于1个硅原子。通过这种方式设计的纳米导线可以使电子自由流动,有效解决了电阻问题。这种迄今世界上最细的纳米导线,厚度仅为人类头发的万分之一,但是导电能力可与传统铜导线相媲美。有了这种纳米导线,计算机元件可以降低到原子尺度。有了这种纳米导线,科学家们可以将磷原子作为最小信息单位研制出磷基量子计算机。量子计算机是建立在量子力学规律基础上的计算机,它与传统计算机的一个主要区别是,传统计算机只使用1和0两种状态来记录数据和进行计算,而量子计算机可以同时使用多个不同的量子态,因此具有更大的信息存储和处理能力,被认为是未来计算机发展的方向。

(据科学网)