

文章编号: 1674-7054(2014)03-0228-05

2株微藻对养殖废水中氮磷去除率的影响

许云¹, 梁文思², 刘志媛²

(1. 海南大学 农学院, 海南 海口 570228; 2. 海南大学 海洋学院, 海南 海口 570228)

摘要: 采用2株分离自海南海域的微藻——双眉藻(*Amphora* sp. BQW)和等鞭金藻(*Isochrysis* sp. HN)分别处理幼虾养殖废水。结果表明,双眉藻和等鞭金藻均能在幼虾养殖废水中生长,相对生长速率分别是0.168和0.05。培养8 d后,等鞭金藻和双眉藻对幼虾养殖废水总磷的去除率分别达到30.9%和70.9%,总氮的去除率分别为1.0%和28.7%,硝酸盐氮的去除率分别达到了72.0%和85.7%,亚硝酸盐氮无显著差异,而氨氮含量则显著升高。

关键词: *Isochrysis* sp.; *Amphora* sp.; 养殖废水; 氮; 磷

中图分类号: Q 939.96

文献标志码: A

微藻是一类以氮磷为主要营养源、可光能自养的单细胞生物,广泛分布在海洋、淡水湖泊等水域,因此,可利用其进行污水处理和水环境修复^[1]。此外,微藻细胞中还含有多种高价值的营养成分和化工原料,在医药工业、食品工业、动物饲料及可再生能源等领域有广泛应用。水产养殖废水主要污染物是氮磷,因此,利用水产养殖废水培养微藻,一方面可以获得有经济价值的藻类,另一方面可以净化污水,保护生态环境,促进养殖业的可持续发展。研究表明,养殖废水是微藻的良好培养介质,而微藻对养殖废水中氮磷的去除效果也十分显著^[2-3]。文献[4]结果表明,分离自热带海域的2株微藻小球藻 HNC11(*Chlorella* sp. HNC11)和双眉藻 HNY(*Amphora* sp. HNY)在成虾养殖废水中均能正常生长,其中双眉藻的相对生长速率是其在宁波三号培养基条件下的3.73倍;小球藻 HNC11和双眉藻对对虾养殖废水总磷的去除率分别达到95.1%和90.8%,对氨氮的去除率分别为87.1%和37.4%。但养殖废水中的氮磷形态及浓度因养殖动物的种类及生长阶段不同而不同,尚需要更多的实验验证微藻去除养殖污水中氮磷的可行性。因此,笔者研究了2株微藻——双眉藻(*Amphora* sp. BQW)和等鞭金藻(*Isochrysis* sp. HN)除去幼虾养殖废水中氮磷的情况,旨在为微藻处理养殖污水的技术研发提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 材料与微藻培养 双眉藻(*Amphora* sp. BQW)分离自海南大学丘海湖,等鞭金藻(*Isochrysis* sp. HN)来自海南大学海洋学院藻种库 f/2 培养基培养^[5]。于2014年6月养殖2~3 cm规格虾苗1个月后,取幼虾池中排放的废水静置1 d后经0.4 μm过滤,再经高压灭菌后分装于9个2 000 mL具塞广口瓶中,其中6瓶分别接种离心收集的双眉藻和等鞭金藻藻种,于荧光灯下静止培养,每天摇瓶3次,光照强度为80 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照周期为14 h·d⁻¹,温度(27±1)℃。对虾养殖海水取自海口市白沙门海区,养殖容器为50 L塑料箱,室内养殖,实验期间不排水。

1.2 分析方法

1.2.1 生长分析 培养液中微藻的细胞密度与其在500 nm处的光密度值呈线性相关,因而用可见分光

收稿日期: 2014-07-20

基金项目: 海南省国际科技合作专项(KJHZ2014-07)

作者简介: 许云(1979-)女,山东人,讲师,研究方向:应用微生物学。

通信作者: 刘志媛(1974-)女,山东人,副教授,研究方向:海藻生物学。

光度计(B722s 上海棱光技术有限公司)测定活体藻液在 500 nm 处的光密度值代表细胞密度。据公式(1)计算微藻接种到对虾养殖废水后 1~8 d 的相对生长速率。

$$K = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

其中: K 为相对生长速率; t_1 、 t_2 为对应的培养时间; N_1 和 N_2 分别为 t_1 、 t_2 时期的藻液的 OD_{500} 值。

氮磷去除率据公式(2)计算。

$$P = (C_1 - C_0) / C_0 \quad (2)$$

其中: P 为微藻对氮磷 N 天的去除率; C_0 为接种微藻前养殖废水的氮磷质量浓度; C_1 为养殖废水接种微藻 N 天后的氮磷质量浓度。

1.2.2 元素分析 水质的采集、保存和分析方法,按 GB17378.3-1998、GB17378.4-1998《海洋监测规范》^[6]中有关方法进行。总磷和总氮测定采用联合消化法,硝酸盐氮分析采用锌-镉还原法,亚硝酸盐氮分析采用萘乙二胺分光光度法,氨氮分析采用次溴酸盐氧化法,活性磷分析采用磷钼蓝分光光度法^[7]。

1.2.3 统计分析 用 DPS 数据处理系统对 3 次平行试验结果进行单因素方差分析^[8],Duncan 新复极差法检验各处理间差异。

2 结果与分析

2.1 双眉藻和等鞭金藻在幼虾养殖废水中的相对生长速率 将双眉藻和等鞭金藻经离心收集,培养于幼虾养殖废水中,生长情况见图 1。由图 1 可知,双眉藻接种后出现 2 d 的细胞生长停滞期,8 d 的平均相对生长速率为 0.168。等鞭金藻在接种后也出现最初 2 d 的细胞密度下降现象,3 d 后藻细胞适应环境后,细胞密度开始增加,8 d 的平均相对生长速率为 0.050。

2.2 双眉藻和等鞭金藻对幼虾养殖废水中磷的去除率 幼虾养殖废水经过微藻处理后,总磷质量浓度显著减少($P < 0.05$,图 2-a);其中,双眉藻对废水中总磷和活性磷的吸收率均显著高于($P < 0.05$)等鞭金藻。培养双眉藻和等鞭金藻 4 天后,养殖废水中总磷的含量分别减少了 69.9% 和 20.1%,8 天后分别减少 70.9% 和 30.9%。废水中活性磷的含量经等鞭金藻处理后无显著变化,经双眉藻处理 8 d 后减少了 28.7% (图 2-b);未加微藻的养殖废水(空白)中活性磷含量增加,在第 4 天和第 8 天分别增加了 55.9% 和 79.8%。

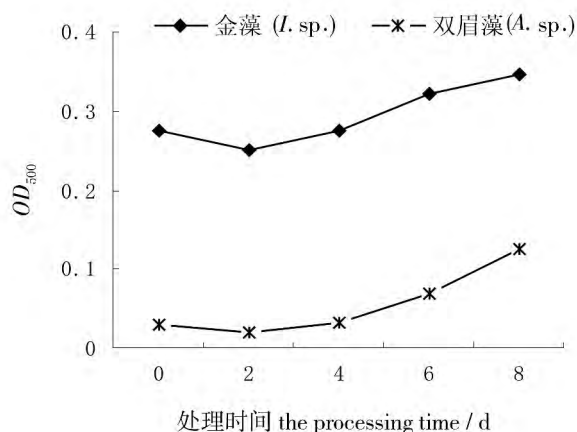


图 1 双眉藻和等鞭金藻在幼虾养殖废水中的生长情况

Fig. 1 Growth of *Amphora* sp. BQW and *Isochrysis* sp.

HN in shrimp breeding wastewater

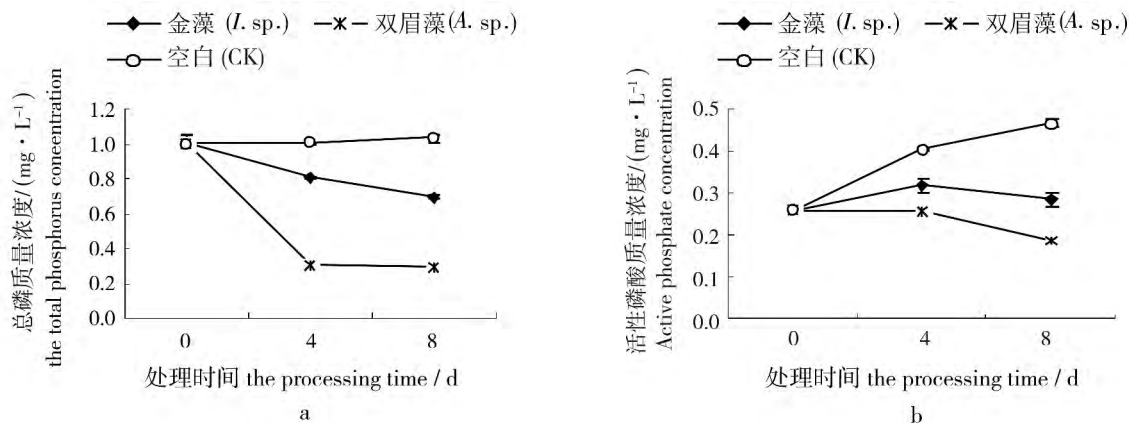


图 2 养殖废水经金藻和双眉藻处理后磷质量浓度变化

Fig. 2 Phosphorus concentration in shrimp breeding wastewater treated by *Isochrysis* sp. and *Amphora* sp.

2.3 双眉藻和金藻对幼虾养殖废水中氮的吸收 双眉藻与等鞭金藻处理幼虾养殖废水 4 d 后,硝酸盐氮的去除率分别达到 64.8% 和 71.9%; 处理 8 d 后,分别达到 72.0% 和 85.7% (图 3-a)。在本实验接种密度条件下,双眉藻对硝酸盐氮的去除效果显著优于等鞭金藻。幼虾养殖废水中氨氮的含量在接入微藻后,显著升高(图 3-b) 4 d 后,氨氮含量达到了处理前氨氮含量的 2 倍,亚硝酸盐氮处理前后的含量无显著差异(图 3-c)。

幼虾养殖废水中总氮含量经 2 株微藻处理 8 d 后显著降低,总氮质量浓度分别降低了 $4.525 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $13.057 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 3-d)。双眉藻处理 8 d 后,对废水总氮的去除率为 28.7%; 等鞭金藻对废水总氮去除率仅为 1.0%。

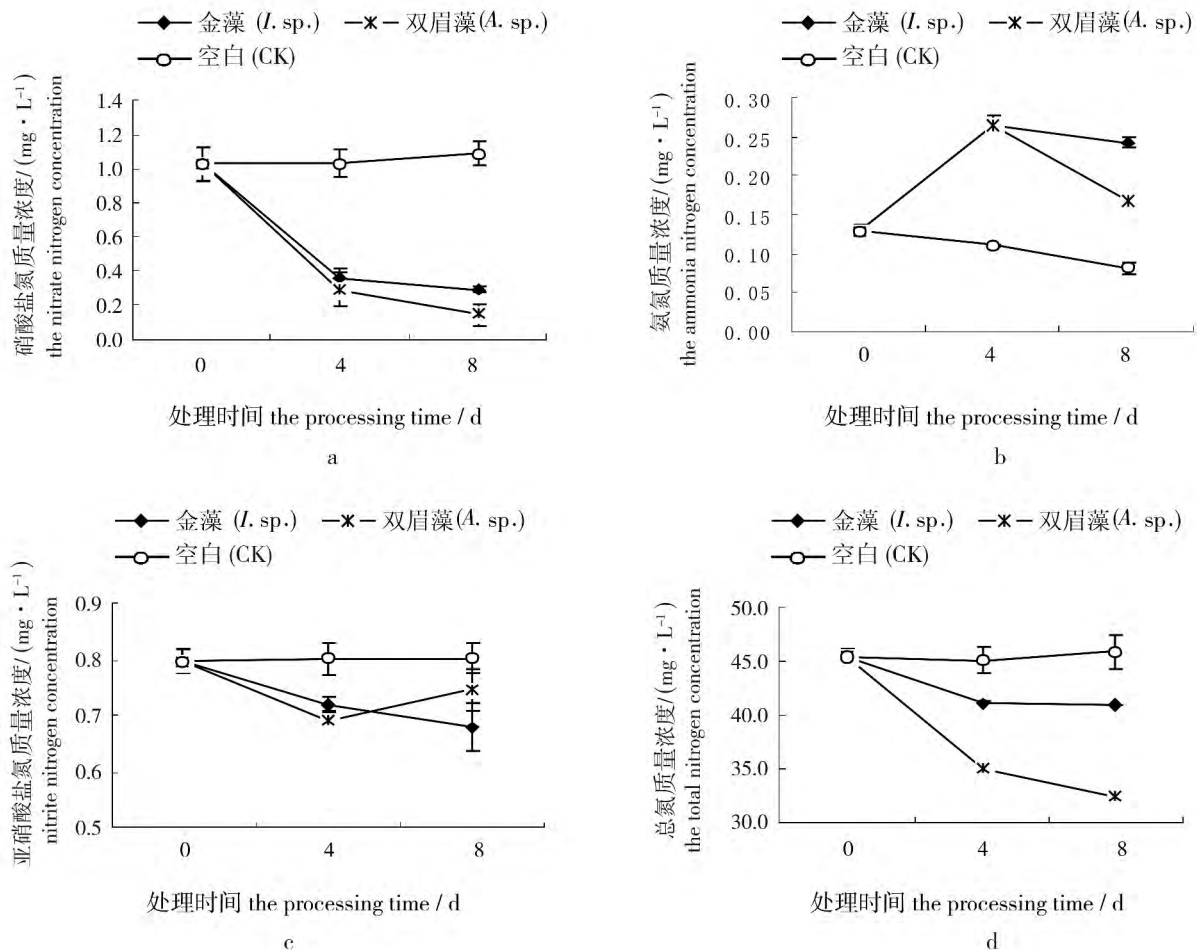


图3 养殖废水经金藻和双眉藻处理后氮质量浓度的变化

Fig. 3 Nitrogen concentration in shrimp breeding wastewater treated by *Isochrysis sp.* and *Amphora sp.*

3 讨论

利用微藻处理水产养殖废水是一项污水资源化利用的生物技术,近年来,国内外开展了大量有关藻类培养和废水处理的研究,发展了藻类处理技术,包括藻类塘、活性藻、固定化藻类、光生物反应器等^[9-12]。养殖废水成份由于受养殖动物大小、密度、投饵的方式和种类以及气温等多种因素影响,导致每批养殖废水的成份不稳定,海水的氮磷含量、种类和比例都有所不同。本实验采用高压灭菌后的养殖废水作为实验材料,以排除实验过程中其它生物对废水和藻的影响,测定 2 种藻对灭菌后的幼虾养殖废水中氮磷含量和氮磷含量海水对微藻生长的相互影响,以此评估试验微藻应用于养殖废水中氮磷含量的去除效果。由于幼虾养殖废水中其他生物也会对氮磷含量有影响,因此,笔者认为灭菌前幼虾养殖废水对

本实验测试2株微藻去除废水中氮磷能力没有代表性。结果表明,与成虾养殖废水^[4]相比,经高压灭菌后的幼虾养殖废水的特点是无机氮和磷浓度较低,而有机氮磷质量浓度较高。分离自热带海域的2株微藻均可以利用幼虾养殖废水培养,同时可以去除幼虾养殖废水中的氮磷。

由于双眉藻是一种底栖硅藻,等鞭金藻是浮游微藻,两者大小不同,生长的适宜密度也不同,因而本实验采取不同起始密度,确保在实验期限内有足够的生长空间,不会因密度太高而影响生长。经过8 d培养,双眉藻和等鞭金藻使废水中的总磷质量浓度分别减少了 $0.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;而活性磷经双眉藻处理后仅减少了 $0.074 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,经等鞭金藻处理后无显著变化。这可能是因为幼虾养殖废水中的总磷含量较高,降解转化成活性磷的速度较快,从而造成了活性磷去除率低的表面现象。未加微藻的空白废水中的活性磷的浓度升高也说明了这一点。此外,活性磷酸盐是各种藻类普遍利用的有效形式,但是当缺乏无机磷时,藻类也可以利用有机磷来维持藻类的生长^[13]。本实验所用幼虾养殖废水的活性磷酸盐初始质量浓度为 $0.26 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,仅为处理前微藻生长的f/2培养基中的活性磷质量浓度的20%($1.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),因而,推测养虾废水中的可溶性磷酸盐含量不能满足微藻生长需求,有机磷等其他形态的磷可能是2种微藻主要利用的形态。

植物包括藻类吸收利用的有效氮主要是无机化合态的氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮,其中氨氮和硝酸盐氮是水生植物氮营养元素的主要形态,氨氮又被水生植物优先利用^[14]。此外,氨基酸和尿素等有机氮化合物也可以被植物包括浮游藻类吸收^[15-16]。本实验结果表明2种微藻对幼虾养殖废水中有机氮的吸收量显著高于对无机氮的吸收量(见图3):经双眉藻与等鞭金藻处理8 d后,幼虾废水中总氮质量浓度分别降低了 $4.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $13.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (见图3-d);无机氮(硝酸盐氮、氨氮及亚硝酸盐氮等)分别降低了 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。幼虾养殖废水中的无机氮质量浓度较低($1.953 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),仅为微藻f/2培养基中所添加无机氮($12.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的15.8%,而有机氮质量浓度较高($45.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。由此推测,在无机氮源不足的情况下,微藻主要吸收有机氮。有机氮减少量显著高于无机氮的另一个原因可能是,加入微藻后,有机氮比无机氮的自身降解速度快,导致检测的微藻对无机氮的吸收率较低的现象。另外,幼虾养殖废水中接入微藻后,氨氮含量显著升高。这可能是由于在微藻的作用下,有机氮降解速度大于微藻吸收氨氮的速度,从而造成了氨氮去除率为负值的表面现象。在笔者前期实验中,小球藻和双眉藻对对虾养殖废水氨态氮的去除率分别为87.1%和37.4%^[4]。这可能与实验采用的养殖废水中的氮素形态及含量不同有关。前期实验所用的成虾养殖废水的有机氮质量浓度为 $26.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,显著低于本实验所用废水的有机氮质量浓度($45.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),而无机氮的含量为 $14.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,其中氨氮质量浓度为 $7.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,是本实验所用废水氨氮浓度的50多倍。前期实验所用的养殖废水中的无机氮的比例较高,更适合微藻的生长,因而对废水中的氮磷去除效果更显著。

等鞭金藻对总氮的去除率仅有1%,远低于双眉微藻总氮的去除率(28.7%),究其原因,一方面可能是金藻对有机氮的利用能力较低,另一方面,较双眉微藻,等鞭金藻可能不适应高有机氮低无机氮的环境,生长较慢,所以吸收的氮占总氮的比率较低,导致低于双眉微藻测定的水平。

虽然2种微藻均可利用养殖废水生长,同时净化废水,但是将藻细胞从正常培养基接种到无机氮和磷浓度较低、而总氮磷浓度较高的幼虾养殖废水中后,2株藻均出现了2 d的生长停滞期,尤其是金藻,有少量藻细胞死亡。因而,应根据养殖废水的特点,选择适宜的藻种和接种方式,以提高生物净化与微藻生产物质耦合技术的效率。

参考文献:

- [1] 沈根祥,朱荫湄,雷萍. 藻类净化含氮磷有机污水及其利用研究进展[J]. 农业环境保护,2001,20(5): 382-384.
- [2] 胡章喜,徐宁,段舜山. 不同氮源对4种海洋微藻生长的影响[J]. 生态环境学报,2010,19(10): 2452-2457.
- [3] 栗越妍,孟睿,何连生,等. 净化水产养殖废水的藻种筛选[J]. 环境科学与技术,2010,33(6): 67-70.
- [4] 张桐雨,唐选盼,李洪武,等. 小球藻和双眉藻对虾塘养殖废水氮磷去除率的研究[J]. 广东农业科学,2013,18(4): 169-185.
- [5] GUILLARD R R, RYTHER J H. Studies of marine planktonic diatoms I. *Cyclotella* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) [J]. Gran. Can. J. Microbiol., 1962, 8(2): 229-239.

- [6] 国家质量技术监督局. GB 17378.1-1998, GB17378.4-1998 海洋监测规范[S], 1998.
- [7] 邢殿楼, 霍堂斌, 吴会民, 等. 总磷、总氮联合消化的测定方法[J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(3): 119-225.
- [8] 唐启义, 冯明光. DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [9] 张建民, 刘新宁. 可利用微藻的种类及其应用前景[J]. 资源开发与市场, 2005, 21(1): 65-66.
- [10] 张建民, 韩晓弟, 贾宏福. 海洋微藻对海水中有有机物的净化作用研究[J]. 临沂师范学院学报, 2006, 28(3): 79-82.
- [11] 张静霞. 利用微藻处理污水的研究进展及发展趋势[J]. 现代农业科技, 2008, 4: 206-207.
- [12] ALVA M S D, LUNA-PABELLO V M, CADENA E, et al. Green microalga *Scenedesmus acutus* grown on municipal wastewater to couple nutrient removal with lipid accumulation for biodiesel production[J]. Biores. Tech., 2013, 146: 744-748.
- [13] 黄邦钦, 黄世玉, 翁妍, 等. 溶解态磷在海洋微藻碱性磷酸酶活力变化中的调控作用[J]. 海洋学报, 1999, 21(1): 55-60.
- [14] 赖子尼, 石存斌, 吴淑勤. 池塘氮、磷浓度及藻相水色的研究[J]. 中山大学学报论丛, 1998(6): 65-69.
- [15] 潘瑞炽. 植物生理学第[M]. 7版. 北京: 高等教育出版社, 2012.
- [16] 胡章喜, 徐宁, 段舜山. 不同氮源对4种海洋微藻生长的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(10): 2452-2457.

Efficiency of Nitrogen and Phosphorus Removal from Aquaculture Wastewater by Two Marine Microalgae

XU Yun¹, LIANG Wensi², LIU Zhiyuan²

(1. College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. College of Oceanology, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Two microalgae, *Isochrysis* sp. HN and *Amphora* sp. BQW, were isolated from coastal seawater in Hainan and cultured with juvenile shrimp aquaculture wastewater. Results showed that both strains grew well in shrimp breeding wastewater. The relative growth rate of *Amphora* sp. BQW cultured in shrimp breeding wastewater was 3.53 times higher than that of *Isochrysis* sp. HN. After 8 days of culture, *Isochrysis* sp. HN and *Amphora* sp. BQW removed the total phosphorus in the waste water by 30.9% and 70.9%, the total nitrogen by 1.0% and 28.7% and the nitrate nitrogen by 72.0% and 85.7%, respectively. However, nitrite nitrogen concentration in the wastewater was not significantly removed after the waste water was treated with the microalgae, and the ammonia nitrogen concentration in the waste water increased obviously after the treatment.

Key words: *Isochrysis* sp.; *Amphora* sp.; shrimp breeding wastewater; nitrate nitrogen