



移动扫码阅读

郑思米,魏群,马湘蒙,等. 小球藻-菌剂联合处理氨氮废水的实验研究[J]. 能源环境保护, 2022, 36(4): 44-53.

ZHENG Simi, WEI Qun, MA Xiangmeng, et al. Experimental study on the combined treatment of ammonia nitrogen wastewater by *Chlorella* and bacteria agent[J]. Energy Environmental Protection, 2022, 36(4): 44-53.

小球藻-菌剂联合处理氨氮废水的实验研究

郑思米, 魏 群*, 马湘蒙, 陈如歌, 袁思涵, 黄宇菲, 李淑媛

(广西大学 资源环境与材料学院, 广西 南宁 530004)

摘要:针对小球藻-菌剂体系,分析了光强、菌藻比和初始氨氮浓度对去除氨氮效果的影响,通过响应面分析优化了参数,探讨了氨氮去除途径和藻菌共生机理。结果表明:在光照强度为4 000 lux、菌藻比为3:1、初始氨氮浓度为 $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下,氨氮去除率达到最高值(94.92%);氨氮去除效果影响因素的主次关系为光照强度>初始氨氮浓度>菌藻比;在光强为4 700 lux、菌藻比为3:1、初始氨氮浓度为 $56\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的最佳参数条件下,氨氮去除率实测值与预测值分别为87.96%和87.31%;当氨氮浓度较低时,微藻和细菌在该体系中对氨氮去除的贡献率分别为75.86%和17.50%;细菌保持了体系pH的平衡,EPS作为藻菌互利共生的关键介质维持着体系的良性循环;与微藻互利共生的关键菌属可以在体系中保持相对稳定。

关键词:小球藻-菌剂;影响因素;响应面;机理

中图分类号:X703

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2022)04-0044-10

Experimental study on the combined treatment of ammonia nitrogen wastewater by *Chlorella* and bacteria agent

ZHENG Simi, WEI Qun*, MA Xiangmeng, CHEN Ruge, YUAN Sihan,
HUANG Yufei, LI Shuyuan

(School of Resources, Environment and Materials, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The effects of light intensity, bacteria to algae ratio, and initial ammonia nitrogen concentration on the removal of ammonia nitrogen were investigated in the *Chlorella*-bacteria agent system. The parameters were optimized by response surface analysis. The pathway of $\text{NH}_3\text{-N}$ removal and the mechanism of algae-bacteria symbiosis mechanism were discussed. The results showed that when the light intensity was 4 000 lux, the bacteria-to-algae ratio was 3:1 and the initial ammonia concentration was $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the ammonia removal (%) reached the highest (94.92%). The factors ranked from high influence to low influence on the removal of ammonia nitrogen was light intensity > initial ammonia nitrogen concentration > bacteria to algae ratio. Under the optimal parameters of light intensity of 4 700 lux, bacteria algae ratio of 3:1 and initial ammonia nitrogen concentration of $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the measured and predicted ammonia nitrogen removal (%) were 87.96% and 87.31%, respectively. When the ammonia nitrogen concentration was $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the microalgae and the bacteria contributed 75.86% and 17.50% of ammonia nitrogen removal, respectively. The bacteria maintained the pH balance of the system and the EPS, as a key medium for the mutual beneficial symbiosis of algae and bacteria, maintained the virtuous cycle of the system. The key bacteria genera which was mutually beneficial symbiosis with microalgae could maintain relative stable in the system.

Key Words: *Chlorella*-bacterial agent; Influence factor; Response surface; Mechanism

收稿日期:2022-04-21;责任编辑:金丽丽

基金项目:广西重点研发计划项目(桂科 AB1850006)

第一作者简介:郑思米(1997—),男,湖南邵阳人,硕士研究生,研究方向为水污染控制。E-mail:ricesi0412@163.com

通讯作者简介:魏群(1971—),男,湖南邵阳人,博士,教授,研究方向为水污染控制技术和藻类生物技术。E-mail:hustweiqun@163.com

0 引 言

随着工业化进程的加快,人类生活中产生的废水逐渐增多,导致环境水质变差^[1],其中氨氮是致使水质变差的重要因素之一。氨氮含量过高具有很多危害,比如水体中溶解氧降低,影响水生生物生存、对生态环境和人类健康都有不同程度的影响^[2-3]。目前对氨氮废水的处理技术主要有物理化学法和生物法两大类,而这些传统氨氮废水的处理技术存在一定的缺陷,如物理化学方法具有二次污染的缺点,传统生物法中具有曝气量大、污泥产量高等缺点^[4]。因此,寻求一种节能环保的氨氮废水处理技术显得尤为重要。

藻菌共生体系可以通过微藻与细菌之间的协同作用来处理废水,其操作简单且无二次污染,还有利于微藻生物质收获,具有重要的环境效益和经济效益。目前,藻菌体系处理氨氮废水的研究主要是通过单因素实验进行分析。该方法具有较大的局限性,且对藻菌共生生长的内在机制及去除氨氮的机理分析也相对甚少。本文以蛋白核小球藻和菌剂构建的藻菌体系为对象,探究了光照强度、菌藻接种比以及初始氨氮浓度等因素对该体系处理氨氮废水的影响,利用响应面实验优化了影响因素参数,通过计算氨氮的去除途径分析了微藻和细菌对氨氮去除的贡献程度,测定体系 pH 和 EPS 中的氮素变化,对藻菌体系的共生机制

进行了探究,最后采用高通量测序分析了藻菌体系中的微生物群落变化,证明了该体系的优越性,为该体系处理氨氮废水的实际工程应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验藻种:蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),购自中国科学院武汉水生生物所。在 25 ℃ 下使用 BG11 培养基对蛋白核小球藻进行培养^[5]。将配制好的培养基用 1 mol · L⁻¹ 盐酸调节 pH 至 7.1±0.2 后,在 121 ℃ 下高压灭菌 30 min,冷却至室温后用紫外线消毒 30 min。在无菌条件下,将藻液接种到装有 BG11 培养基的 1 L 锥形瓶中,用白色荧光灯进行连续光照培养^[6],光照强度为 4 000 lux,温度为(25±2)℃。每天摇晃锥形瓶 3 次。

实验菌种:微生物菌剂(含硝化细菌、微量元素,呈粉末状),购自南京赛尔特生物技术有限公司。细菌接种于灭菌的培养基中(葡萄糖 10 g · L⁻¹、去离子水 1 L),于 250 mL 锥形瓶内振荡培养,温度为(30±2)℃。

实验废水:采用模拟氨氮废水,模拟废水配方见表 1。接种方式:藻液和菌液经 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,弃上清液后获得藻泥和菌泥,用去离子水冲洗 3 次残余培养基后,接种至模拟氨氮废水中^[7]。

表 1 模拟废水配方
Table 1 Simulated wastewater formula

编号	组分	浓度/(mg · L ⁻¹)	编号	组分	浓度/(mg · L ⁻¹)
1	葡萄糖	250	5	MgSO ₄ · 7H ₂ O	75
2	(NH ₄) ₂ SO ₄	视情况而定*	6	FeSO ₄ · 2H ₂ O	31
3	KH ₂ PO ₄	50	7	NaHCO ₃	50
4	NaCl	120	8	CaCl ₂ · 2H ₂ O	36

注:*(NH₄)₂SO₄在不同处理中用量不同,其中 50 mg · L⁻¹处理用量为 0.18 g · L⁻¹,100 mg · L⁻¹处理用量为 0.36 g · L⁻¹,150 mg · L⁻¹处理用量为 0.54 g · L⁻¹,300 mg · L⁻¹处理用量为 1.1 g · L⁻¹,600 mg · L⁻¹处理用量为 2.2 g · L⁻¹

1.2 实验方法

所有实验组中,单一小球藻组初始接种浓度为 0.2 g · L⁻¹、藻菌体系的总接种浓度为 0.2 g · L⁻¹。在初始氨氮浓度为 100 mg · L⁻¹、菌藻比为 3 : 1 的条件下,考察不同光照强度对氨氮废水的处理效率,设置光强为 2 000、4 000、6 000 lux;在初始氨氮浓度为 100 mg · L⁻¹、光强为 4 000 lux 的条件下,考察不同菌藻比对氨氮废水的处理效果,设置菌藻比(质量比)为 3 : 1、2 : 1、1 : 1、1 : 2、1 : 3,

并设置单一的蛋白核小球藻组为对照组;在 3 : 1 菌藻比、光强为 4 000 lux 的条件下,研究小球藻菌体系处理不同初始氨氮浓度的氨氮去除效率,设置初始氨氮浓度为 50、100、150、300、600 mg · L⁻¹。藻菌接种至 1 L(体积为 700 mL)的锥形瓶中,在无曝气条件下处理模拟氨氮废水,温度控制在(25±2)℃,每日取样测定氨氮、pH、叶绿素 a。

响应面实验:以藻菌体系处理模拟氨氮废水

的各项单因素最适范围值为基础,进行响应面烧杯实验(见表2)。利用 Design Expert 8.0.6 响应面

软件设计响应面 Box-Behnken 实验方案进行 17 组烧杯实验,以氨氮去除率为响应值。

表2 响应面实验各影响因素最适范围值输入表

Table 2 Input table of optimum range values of each influencing factor for the response surface experiment

代码	因素	单位	类型	连续性	范围最小值	范围最大值
A	光照强度	lux	数值	连续	2 000	6 000
B	菌藻比	/	数值	连续	1	3
C	初始氨氮浓度	mg · L ⁻¹	数值	连续	50	150

1.3 分析方法

氨氮:纳氏试剂分光光度法;硝态氮:紫外分光光度法;亚硝态氮:分子吸收分光光度法;叶绿素 a:分光光度法^[8];pH:多参数水质测定仪;光照强度:照度计;微生物群落:高通量测序(上海美吉生物有限公司);T-EPS 和 L-EPS 提取方法如下^[9]:取 10 mL 样品至 15 mL 离心管,以 4 000 r · min⁻¹离心 10 min,离心去上清液后,沉淀物中加入 0.05%NaCl 溶液至 10 mL,并以 8 000 r · min⁻¹离心 10 min,收集上清液得到松散型 EPS(L-EPS)。剩余沉淀物中加入 0.05%NaCl 溶液至 10 mL,然后在 60 ℃水浴中放置 30 min,再以 15 000 r · min⁻¹离心 20 min,收集上清液获取紧密型 EPS(T-EPS)。

游离氨挥发所占比例用式(1)计算^[10]:

$$\frac{\text{游离氨}}{\text{氨氮}}(\%) = \left(1 + \frac{10^{-\text{pH}}}{10^{-(0.090\,18 + 2\,729.92/(T+273))}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中:T为实验过程中体系的温度,℃。

硝化作用所占比例用式(2)计算^[11]:

$$\text{硝化比例}(\%) = \left(\frac{C_{(\text{NO}_3-\text{N})} + C_{(\text{NO}_2-\text{N})}}{C_{0(\text{NH}_3-\text{N})}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: $C_{0(\text{NH}_3-\text{N})}$ 为初始氨氮浓度,mg · L⁻¹; $C_{(\text{NO}_3-\text{N})}$ 和 $C_{(\text{NO}_2-\text{N})}$ 反应结束后体系的硝态氮和亚硝态氮浓度,mg · L⁻¹。

2 结果与讨论

2.1 光照强度、菌藻接种比及初始氨氮浓度对藻菌体系去除氨氮的影响

图1(a)为实验组在不同光照强度下氨氮浓度变化曲线。由图1(a)可知,实验组中氨氮浓度在前三天都迅速下降,随后缓慢下降至稳定状态,其中 2 000 lux 组最终稳定在 46 mg · L⁻¹, 4 000 lux 和 6 000 lux 组最终稳定在 10.22 mg · L⁻¹和 23 mg · L⁻¹,低光强条件下(2 000 lux)的藻菌体

系对氨氮的处理效果明显不如高光强条件(4 000 lux 和 6 000 lux)。光强为 4 000 lux 组对氨氮的去除效果最好,六天内将氨氮下降至 10.22 mg · L⁻¹,氨氮的去除率达到 89.57%; 6 000 lux 组对氨氮的去除率为 76.67%;2 000 lux 组对氨氮的去除效果最差,六天内的去除率仅为 57.41%。当光强增加时,藻菌体系对氨氮的去除率也会增加,但增加到 6 000 lux 时,体系对氨氮的去除率会下降,这说明当光强继续提高时,超过了小球藻生长所需的饱和光强^[12]。因此,本研究中选择光强为 4 000 lux 为藻菌体系去除氨氮的最佳光照条件。

图1(b)为不同菌藻比条件下氨氮变化曲线。由图1(b)可知,菌藻比 3 : 1 组对氨氮的去除效果最好,六天后将氨氮降至 13.16 mg · L⁻¹,对氨氮的去除率达到了 89.61%;单一的小球藻实验组对氨氮的去除效果最差,六天后氨氮降至 85.31 mg · L⁻¹,去除率仅为 31.84%。从氨氮变化的曲线下降趋势可以看出,实验组在第一天对氨氮的去除速率最快,藻菌实验组处理量均大于单一小球藻组。这说明藻菌共生体系与单一的微藻相比,去除氨氮的优势明显,因此选择菌藻比 3 : 1 为该体系处理氨氮废水的最佳菌藻接种比。

不同初始氨氮浓度组的氨氮去除率如图2(a)所示。初始氨氮浓度 50 mg · L⁻¹的实验组在整个实验过程中对氨氮的去除率最高,为94.92%, 50、100、150 mg · L⁻¹实验组对氨氮的去除率均大于 70%,而大于 150 mg · L⁻¹的两组藻菌体系对氨氮去除率分别为 48.44%和 18.76%。图2(b)为不同初始氨氮浓度组氨氮削减量图,初始氨氮为 300 mg · L⁻¹组的氨氮削减量最大,为 143.07 mg · L⁻¹,而初始氨氮 600 mg · L⁻¹组的氨氮削减量为 112.74 mg · L⁻¹。这说明在初始氨氮浓度为 300 mg · L⁻¹的条件下,微藻仍然能够正常生长且吸收氨氮,当氨氮的浓度继续增加时,由于氨氮过高对微藻产生毒害,导致微藻吸收氨氮量减少^[13]。

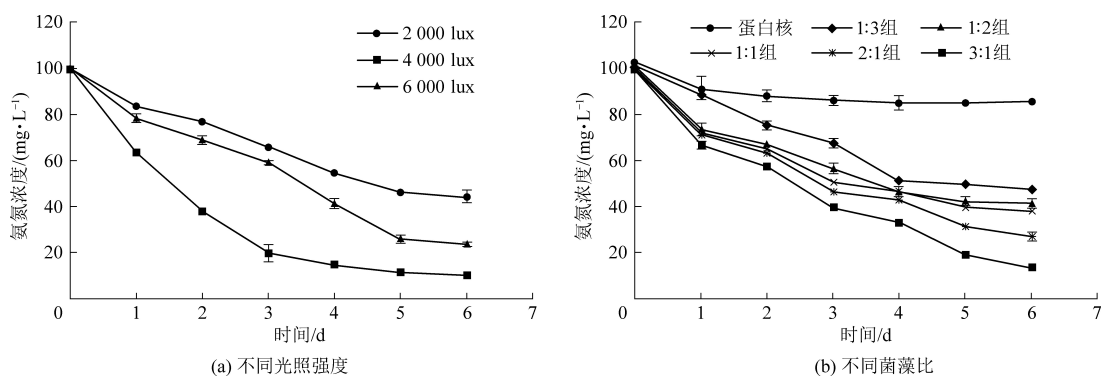


图1 不同光照强度和不同菌藻比条件下的氨氮变化曲线

Fig.1 Variation curves of ammonia nitrogen concentration under different light intensities and bacteria-to-algae ratios

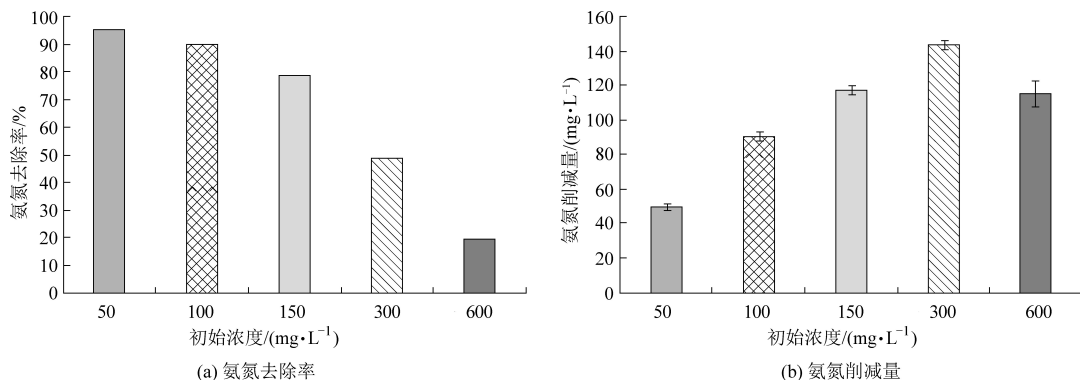


图2 不同初始浓度对氨氮去除率和削减量的影响

Fig.2 Removals (%) and reduction amounts of ammonia nitrogen with different initial concentrations

2.2 响应面分析

Design Expert 8.0.6 软件将氨氮的响应面结果进行模型建立,确定氨氮去除率与光照强度、菌藻比、初始氨氮浓度之间的相关性。通过分析模型的显著性和代表性确定各因素在氨氮去除中的相关性大小。最终利用 Design Expert 8.0.6 软件综合分析得到藻菌体系去除氨氮的最佳因素组合。回归方程分析结果见表3,氨氮去除率的拟合模型回归 $P=0.003\ 9$ 为显著,失拟项 $P=0.250\ 8$ 为不显著,同时该模型 $R^2=0.922\ 4$, $R_{Adj}^2=0.822\ 7$,说明该模型拟合程度较好。从模型回归系数分析,光照强度的一次项与二次项对氨氮去除率影响为显著影响。通过 F 值对比确定藻菌体系去除氨氮的因素影响主次关系为:光照强度 > 初始氨氮浓度 > 菌藻比。

从响应面的曲线图进行分析,图3为基于中心组合设计(BBC)的氨氮去除率响应面和等高线图,可反映两因素交互作用的强弱^[14-15]。从图3(a)和图3(c)响应曲面图可知,随着光强的增加,氨氮的去除率也会随之增加,但是当光强增大到一定程度后,氨氮去除率则会有下降的趋势。从图3(b)和图3(d)的等高线图可以看出,当光强

较小时,其等高线表现为平缓,说明菌藻比和初始氨氮浓度对氨氮去除率的影响不显著,在光强为4000 lux附近时较显著,因此在响应面曲线图中表现为陡峭。从图3(e)的响应曲面可以看出,随着初始氨氮浓度和菌藻比的增加,氨氮去除率变化不明显;从图3(f)等高线图可知,菌藻比和初始氨氮浓度两因素之间的交互作用不明显。最终由响应曲面的陡峭程度可以看出,光强对氨氮去除率的影响最显著,其次是初始氨氮浓度,这与方差分析的结果一致。

为了检验模型预测的准确性,以确定的最优参数进行3次重复实验,根据实际情况进行相应调整,具体选择的参数如下:光强4700 lux、菌藻比3:1、初始氨氮浓度56 mg·L⁻¹。结果取3次平行实验平均值,得到氨氮去除率为87.96%,与模型预测值的87.31%非常接近,证明响应面法参数优化结果具有有效性。

2.3 氨氮去除机理分析

2.3.1 氨氮去除途径

通过计算氨氮去除途径分析藻菌体系中小球藻和细菌对氨氮去除的贡献程度。在藻菌体系中,氨氮的主要去除途径包括氨挥发、硝化作用及

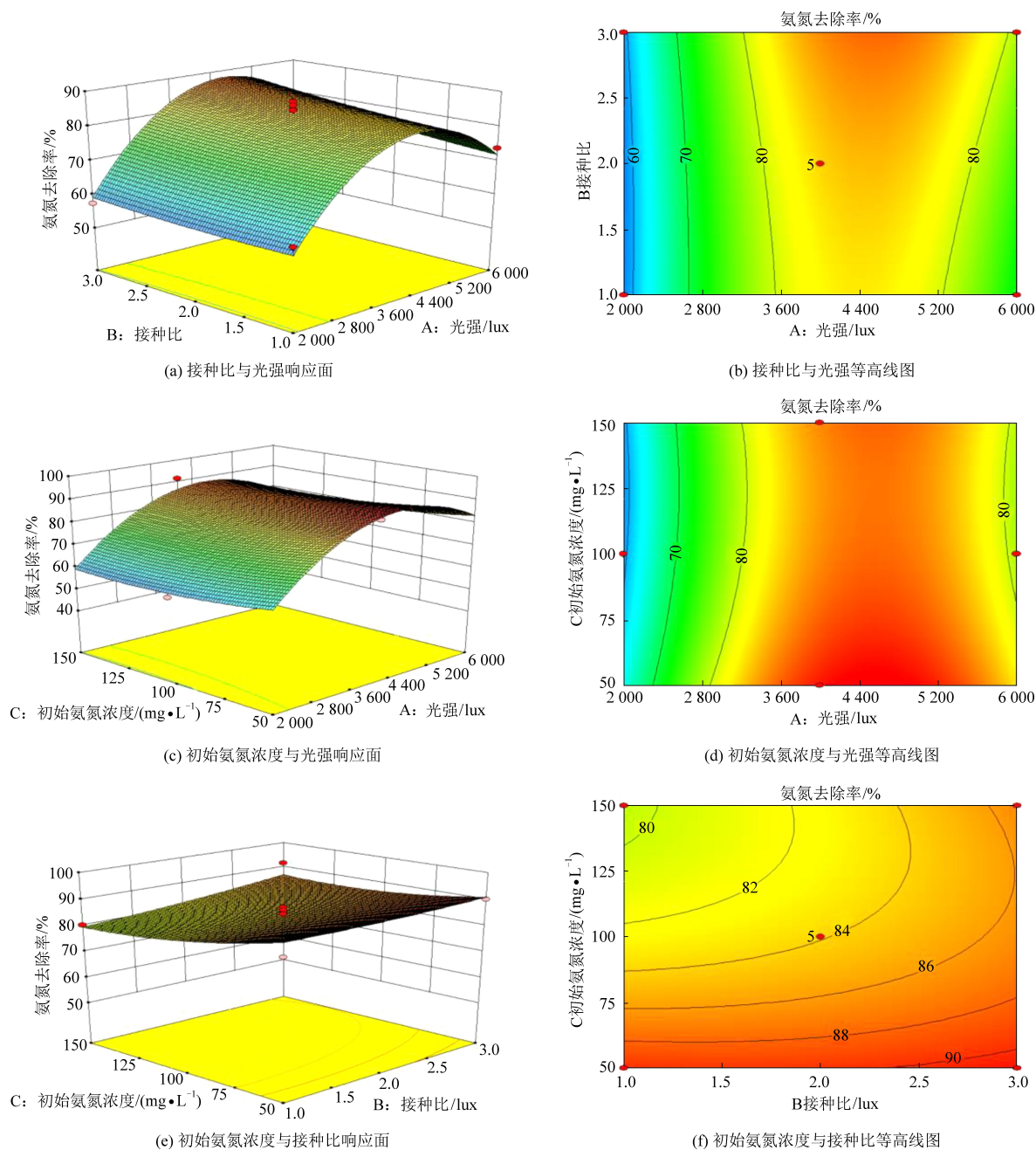


图 3 不同的两种因素之间对氨氮去除率影响的响应面图和等高线图

Fig.3 Response surface diagram and contour diagram of the influence of two different factors on ammonia nitrogen removal (%)

表 3 氨氮去除率响应面二次方程模型的方差分析

Table 3 Variance analysis of response surface quadratic equation model for ammonia nitrogen removal (%)

方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	显著性
Model	2 015.16	9	223.91	9.25	0.003 9	*
A-光强	562.80	1	562.80	23.24	0.001 9	*
B-菌藻比	34.03	1	34.03	1.41	0.274 5	/
C-初始氨氮浓度	103.68	1	103.68	4.28	0.077 3	/
AB	8.70	1	8.70	0.36	0.567 7	/
AC	0.04	1	0.04	1.652E-003	0.969 7	/

续表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
BC	10.24	1	10.24	0.42	0.536 2	/
A ²	1 287.63	1	1 287.63	53.18	0.000 2	*
B ²	1.85	1	1.85	0.076	0.790 3	/
C ²	22.03	1	22.03	0.91	0.371 9	/
Residual	169.48	7	24.21	/	/	/
Lack of Fit	102.50	3	34.17	2.04	0.250 8	/
Pure Error	66.98	4	16.75	/	/	/
Cor Total	2 184.64	16	/	/	/	/

$R^2 = 0.922\ 4, R^2_{Adj} = 0.822\ 7$

注: P<0.000 1,表示极显著; P<0.05,表示显著; P>0.05,表示不显著

微藻吸收^[16]。计算数据基于初始氨氮浓度为 50 mg · L⁻¹ 实验组。通过计算,在实验过程中由于 pH 维持在 8.5 左右,氨挥发所占的比例很小,仅为 6.64%;而在体系中,最终剩余的氨氮含量为 2.9 mg · L⁻¹,硝态氮的剩余含量为 0.88 mg · L⁻¹,无亚硝态氮的产生。因此通过硝化作用去除氨氮所占比例为 17.50%;体系中还有少量氨氮储存在 EPS 中,可忽略不计;微藻吸收氨氮占比为 75.86%。这说明在氨氮去除的过程中,小球藻的贡献程度大于细菌。

图 4 为藻菌体系和单一小球藻的 pH 变化。通过图 4 的 pH 变化曲线浅析了藻菌体系去除氨氮过程的机理和优越性。单一小球藻中的 pH 从第二天开始便迅速降到 4 以下,随后整个体系始终处于酸性环境中,小球藻也迅速失活。造成这种现象的原因是小球藻去除氨氮的方式是通过同化吸收作用,首先将氨同化为谷氨酰胺并释放 H⁺,然后在谷氨酰胺合成酶的作用下,利用三磷酸腺苷(ATP)作为电子供体与谷氨酸合成氨基酸谷氨酰胺^[17]。在这个过程中,小球藻向水体中释放出了大量 H⁺,导致废水 pH 下降^[18-19]。在藻菌体系中,pH 可以保持在 8 左右,也是适合小球藻生长的 pH 范围,因此体系得以持续去除废水中的氨氮,其原因在于体系中溶于水的 CO₂ 会与碳酸氢盐保持动态平衡,见式(3),而来自细菌产生的 CO₂ 平衡见式(4)。由于小球藻的活性高于细菌,故小球藻光合作用吸收的 CO₂ 就会大于细菌硝化作用释放出来的 CO₂,导致式(3)的反应速度大于式(4)。因此,小球藻所需的 CO₂ 就需要依靠碳酸氢盐的水解补充,这样就导致体系 OH⁻ 浓度增加,中和了微藻在同化吸收氨氮过程中产生的氢离子,使得 pH 保持较为稳定。

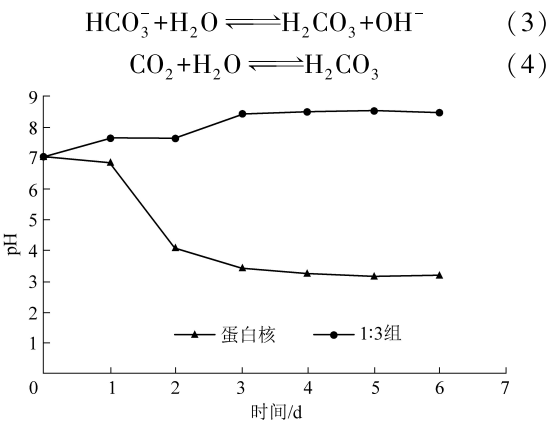


图 4 藻菌体系和单一小球藻的 pH 变化
Fig.4 pH changes of the Chlorella-bacteria system and single Chlorella

2.3.2 藻菌体系共生机制

藻菌体系之所以能够持续保持稳定、高效去除污染物,其中主要的原因之一在于 EPS 在体系中发挥了重要的作用。EPS 是藻菌互利共生的关键介质。研究表明,EPS 在藻菌体系中是重要的营养物质储存和转化场所^[20]。

通过测定松散型 EPS(L-EPS)和紧密型 EPS(T-EPS)中的氨氮、硝态氮浓度变化,分析了藻菌共生体系中物质交换的机理。由图 5 可以看出,在 T-EPS 中,氨氮始终处于下降趋势,且没有硝态氮的生成,说明 T-EPS 是氮元素的转移场所而不是转化场所。因此,在 T-EPS 中,吸附的氨氮和游离在废水中的氨氮一样,都被微藻直接吸收。由图 5 可知,氨氮在 L-EPS 中的含量逐渐升高,一天后到最高点,然后开始下降,第三天后基本稳定,而硝态氮在 L-EPS 中逐渐增加后趋于稳定,说明废水中的氨氮一部分被微藻直接吸收利用,一部分被细菌硝化过程转化为硝态氮且储存在了 EPS 中,还有一部分直接存至 EPS 中。另外,在废

水中存在 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , 这两种离子是微藻用于自身细胞壁的合成和叶绿素的形成的关键元素, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 会主动转运至微藻细胞, 且微藻周围带负电荷的 EPS 与带正电荷的离子(主要是 Ca^{2+} 和 Mg^{2+}) 也会充分接触, 这使得 EPS 上会吸附大量 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , 让微藻细胞产生更多的叶绿素, 从而增强了微藻细胞的光合作用活性^[21]。因此, 微

藻会产生更多的氧气提供给细菌, 而细菌产生二氧化碳让微藻生长得到充分的碳源, 同时, 微藻和细菌的活性增强又进一步促进了 EPS 的分泌, 形成了良性循环, 藻菌与 EPS 间的关系如图 6 所示。总之, 藻菌体系通过 EPS 这个关键纽带维持着较高的稳定性, 从而保证该体系可以高效地去除氨氮。

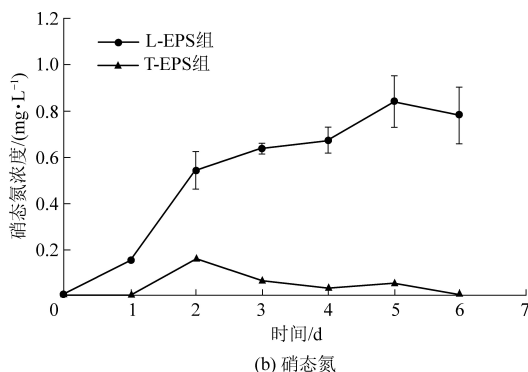
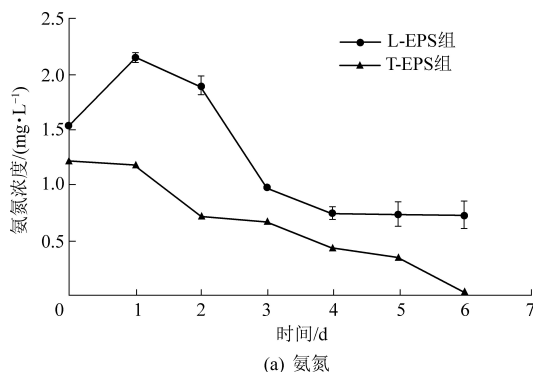


图5 L-EPS 和 T-EPS 中氨氮和硝态氮的变化

Fig.5 Changes of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in L-EPS and T-EPS

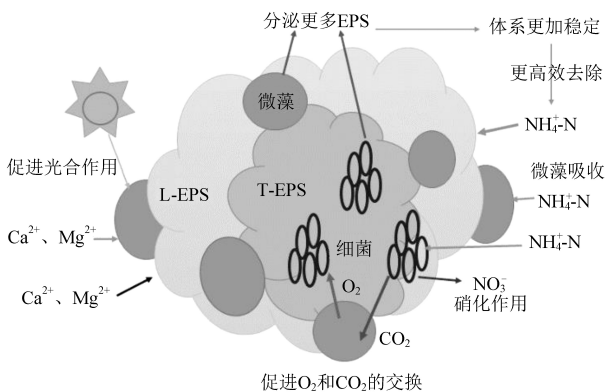


图6 藻菌与 EPS 间的关系

Fig.6 Relationship between Chlorella, bacteria and EPS

2.4 藻菌体系微生物多样性分析

生物群落多样性可用 Shannon 和 Simpson 指数来评价。Shannon 指数值越大, 说明群落多样性越高, 而 Simpson 值指数越大, 表明群落的 Alpha 多样性越差^[22-23]。测序结果表明三组的覆盖度均为 0.999, 说明本次测序结果能很好地代表样本中微生物的真实情况, 见表 4。由 Shannon 和 Simpson 指数可知, 随着时间的增加, 藻菌体系的微生物 Alpha 多样性增加, 大于初始阶段, 到第七天时, 其多样性指数保持相对稳定, 证明该体系的群落结构较为稳定。

图 7(a) 为属 (Genus) 水平上藻菌体系在第一天、第三天、第七天时处理模拟氨氮废水后的微生物群落丰度分布。第一天, 产卟啉杆菌属 (*Porphyrobacter*) 的相对丰度为 26.57%, 是体系中的优势

菌属, 其次为根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*) 的 19.06%、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*) 的 12.14%, 这几种菌属均为变形菌门 (*Proteobacteria*); 第三天, 体系中的优势菌属发生了变化, *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* 成为了优势菌属, 相对丰度变为 36.03%, *Porphyrobacter* 的相对丰度降至 15.13%; 第七天, 优势菌属依然是 *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, 其次是 *Porphyrobacter*, 两者的相对丰度几乎保持稳定, 分别为 40.24% 和 17.39%。结合体系溶解氧 (见图 7(b)) 和生物群落变化分析, 第一天到第三天, 体系内的溶解氧从最高点迅速下降, 此时 *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* 的活性最高, 因为该菌属生长主要依赖的氮源为氨氮^[24], 所以在此阶段该菌属对氨氮的硝化作用增强, 在这个过程中消耗了体系中大量的氧气供自身生长。因此, 该菌属的相对丰度增加。 *Porphyrobacter* 的相对丰度的减少可能是由于该菌属是光合不产氧细菌^[25], 会与微藻竞争光照, 而微藻的生长导致了该菌属相对丰度的下降。随着时间的推移, *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* 和 *Porphyrobacter* 两种菌属的相对丰度保持稳定, 这可能是由于 EPS 在体系中能持续提供营养物质, 使得细菌与小球藻能很好地共生生长。有研究表明, *Allorhizobium-Neo-*

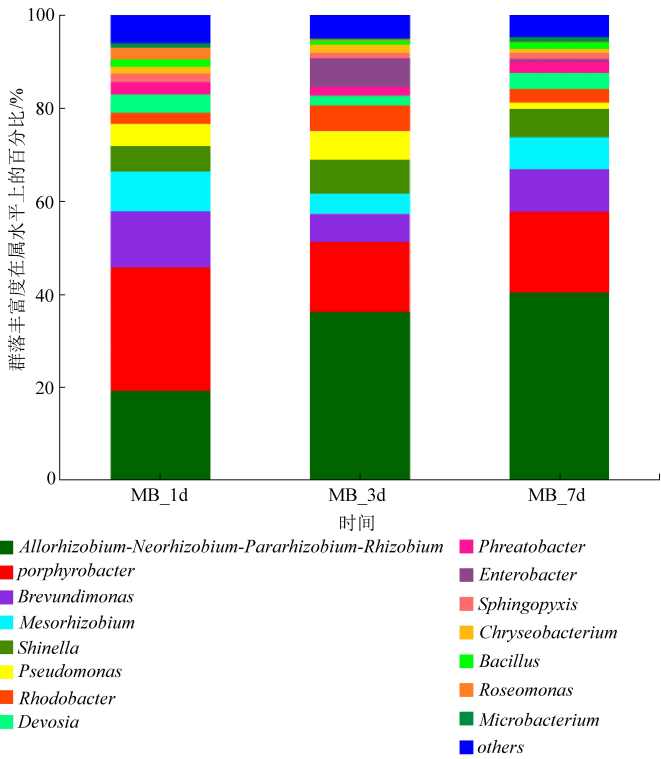
rhizobium-Pararhizobium-Rhizobium 具有促进微藻生长的作用^[26],而 *Porphyrobacter* 能促进微藻的絮

凝^[27],这也证明了该体系有利于微藻的生物质收获,同时能改善水环境水质。

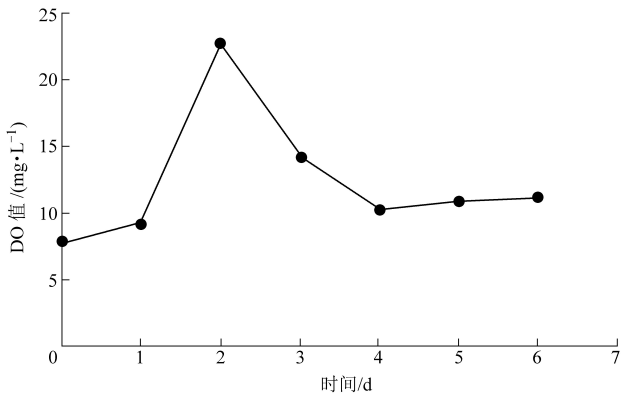
表 4 藻菌体系中不同时期的微生物多样性分析

Table 4 Analysis of microbial diversity in the Chlorella-bacteria system at different periods

时间	多样性指数			丰富度指数		覆盖度
	sobs	shannon	simpson	ace	chao	
第一天	126	2.21	0.26	157.07	162.25	0.999
第三天	100	2.72	0.12	111.53	110.11	0.999
第七天	95	2.52	0.13	118.63	102	0.999



(a) 群落结构柱状图



(b) 藻菌体系 DO 变化

图 7 藻菌体系在不同时期的属水平群落结构和 DO 变化曲线
Fig.7 Genus level community structure and curve of DO chang of the Chlorella-bacteria system in different periods

3 结 论

(1)单因素实验结果表明:光照强度为 4 000 lux 时,藻菌体系对氨氮去除效果最好;菌藻比为 3:1 是该体系处理氨氮废水的最佳菌藻接种比;当初始氨氮浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氨氮去除率最高,为 94.92%。

(2)藻菌体系去除氨氮的因素影响主次关系为:光照强度 > 初始氨氮浓度 > 菌藻比。通过响应面进行参数优化后得出,在光强 4 700 lux、菌藻比 3:1、初始氨氮浓度 $56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的最佳组合下得到氨氮去除率的结果 (87.96%) 与预测值 (87.31%) 接近。

(3)当系统内氨氮浓度较低时,小球藻对氨氮的去除起主要作用,而氨氮能够得到有效去除可能是由于细菌的存在维持了体系内的 pH,从而使小球藻保持一定的活性;EPS 作为藻菌间进行物质交换,互利共生的关键介质,维持着体系的良性循环。

(4)在藻菌体系中,根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*) 和产吡啶杆菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*) 的相对丰度保持稳定,前者具有促进微藻生长的作用,而后者能促进微藻的絮凝,证明了该体系不仅能促进微藻生长,还有利于微藻的生物质收获,同时改善水环境水质。

参考文献

- [1] 陈燕平, 陈小波, 徐程, 等. 水体富营养化植物控制工程技术方法 [J]. 人民珠江, 2018, 39 (6): 41-46.
- [2] 孙亚军, 徐智敏, 李鑫, 等. 我国煤矿区矿井水污染问题及防控技术体系构建 [J]. 煤田地质与勘探, 2021, 49 (5): 1-16.
- [3] 袁霄. 新型生物强化材料对焦化废水生化效率的研究 [J]. 广东化工, 2021, 48 (13): 130-131.
- [4] 李慧. 微曝曝气耦合回流供氧微氧污泥床生物脱氮性能研究 [D]. 太原: 太原理工大学, 2021: 3-4.
- [5] Gao F, Yang Z H, Li C, et al. A novel algal biofilm membrane photobioreactor for attached microalgae growth and nutrients removal from secondary effluent [J]. Bioresource Technology, 2015, 179: 8-12.
- [6] Liu C, Hu Z, Zuo J, et al. Removal of Zn (II) from simulated wastewater using an algal biofilm [J]. Water Science & Technology, 2014, 70 (8): 1383-1390.
- [7] 易涛, 山鹰, 黄渤, 等. 藻菌共培养对小球藻生长及苯酚降解的影响 [J]. 环境工程学报, 2020, 14 (6): 1679-1687.
- [8] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations

- for determining chlorophylls a, b, c_1 and c_2 in higher plants, algae and natural phytoplankton [J]. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1975, 167 (2): 191-194.
- [9] Xu H, Yu G, Jiang H. Investigation on extracellular polymeric substances from mucilaginous cyanobacterial blooms in eutrophic freshwater lakes [J]. Chemosphere, 2013, 93 (1): 75-81.
- [10] Hansen K H, Angelidaki I, Ahring B K. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia [J]. Water Research, 1998, 32 (1): 5-12.
- [11] 黄翔峰, 闻岳, 何少林, 等. 高效藻类塘对农村生活污水的处理及氮的迁移转化 [J]. 环境科学, 2008, 29 (8): 2219-2226.
- [12] 席婷婷. 城市污水培养藻类系统中影响藻类供氧效能的因素研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013: 4-5.
- [13] Fallahi A, Hajinajaf N, Tavakoli O, et al. Cultivation of mixed microalgae using municipal wastewater: Biomass productivity, nutrient removal, and biochemical content [J]. Iranian Journal of Biotechnology, 2020, 18 (4): 88-97.
- [14] 陈凌, 贺伟强, 曹巧巧. 响应面法优化马齿苋多糖酶法提取工艺 [J]. 食品研究与开发, 2020, 41 (6): 79-84.
- [15] 张黎明, 李瑞超, 郝利民, 等. 响应面优化玛伽叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 现代食品科技, 2014, 30 (4): 222-250.
- [16] Markou G, Vandamme D, Muylaert K. Ammonia inhibition on *Arthrospira platensis* in relation to the initial biomass density and pH [J]. Bioresource Technology, 2014, 166 (14): 259-265.
- [17] Cai T, Park S Y, Li Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects [J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2013, 19: 360-369.
- [18] Goldman JC, Dennett MR, Rileyc B. Effect of nitrogen-mediated changes in alkalinity on pH control and CO_2 supply in intensive microalgal cultures [J]. Biotechnology & Bioengineering, 1982, 24 (3): 619-631.
- [19] Ji Bin, Zhang Meng, Gu Jun, Ma Yingqun, Liu Yu. A self-sustaining synergetic microalgal-bacterial granular sludge process towards energy-efficient and environmentally sustainable municipal wastewater treatment [J]. Water Research, 2020, 179: 115884.
- [20] Tang C C, Zhang X, He Z W, et al. Role of extracellular polymeric substances on nutrients storage and transfer in algal-bacteria symbiosis sludge system treating wastewater [J]. Bioresource Technology, 2021, 331 (3): 125010.
- [21] Fm A, Wh B, Dl A, et al. Application of aerobic granules-continuous flow reactor for saline wastewater treatment: Granular stability, lipid production and symbiotic relationship between bacteria and algae - ScienceDirect [J]. Bioresource Technology, 2019, 295: 122291.
- [22] 杜衍, 耿燕楠, 刘丽, 等. 北柴胡种子内生菌群落结构与多样性 [J]. 生物资源, 2022, 44 (1): 36-44.

[23] 张娟, 史文娇, 韩雪林, 等. 苹果酸和嗜酸乳杆菌对圆叶决明青贮品质及微生物多样性的影响 [J]. 动物营养学报, 2021, 33 (12): 6941-6952.

[24] 罗小溪, 高建忠, 陈再忠, 等. 新型脱氮菌 *Rhizobium radiobacter* 的分离鉴定及其硝化特征分析 [J]. 生物技术通报, 2015, 31 (5): 167-172.

[25] Liu Q, Wu Y H, Cheng H. et al. Complete genome sequence of bacteriochlorophyll-synthesizing bacterium *Porphyrobacter neustonensis* DSM 9434 [J]. Standards in Genomic Sciences, 2017, 12 (1): 1-7.

[26] Kim, Byung-Hyuk, Hee-Sik, et al. Role of *Rhizobium*, a plant growth promoting bacterium, in enhancing algal biomass through mutualistic interaction [J]. Biomass & Bioenergy, 2014, 69: 95-105.

[27] 张波, 文然, 孙文昕, 等. 产卟啉杆菌 *Porphyrobacter* 对棕鞭藻絮凝收获的影响 [J/OL]. 中国油脂: 1-16 [2022-03-20]. DOI: 10. 19902/j. cnki. zgyz. 1003-7969. 210773.