

可沉微藻对室外光照强度的适应性试验研究

郝晓地, 王欣, 罗玉琪, 曹达启

(北京建筑大学北京未来城市设计高精尖创新中心 中-荷未来污水处理技术研发中心, 北京 100044)

摘要: 在实验室条件下,通过“冲淘”压力可筛选出沉淀率高达97%的可沉微藻。可沉微藻像活性污泥一样在净化功能完成后可通过自然沉降实现藻-水分离,可为污水深度处理提供一种低耗、高效的解决方案。然而,实验室低光照[$400\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]条件下获得的可沉微藻在真实自然光强度下是否依然可以不断生长繁殖并保持对氮、磷较高的去除率,这是一个工程应用必须面对的现实问题。为此,在实验室条件下增加光照强度至接近自然光水平[$800\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$],观察可沉微藻的生长情况。结果显示,高光照强度对可沉微藻具有抑制作用,使可沉微藻的生长繁殖严重受阻,并降低其光合作用活性(叶绿素a含量)。及时向反应器补充无机碳源 CO_2 后,可沉微藻经过一定适应期后可恢复生长,并达到比低光照强度时还高的生物量及较高的氮、磷去除效果(90%以上)。另外,试验还考察了投加营养物硅酸盐、光/暗交替及进水模式对可沉微藻生长与净化性能的影响,结果显示硅酸盐的双向性作用及光补充基质的优势。

关键词: 可沉微藻; 室外光照强度; 光抑制; 生物量; 叶绿素a; 营养物去除

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2020)05-0020-06

Adaptation of Settleable Microalgae to Outdoor Natural Light Intensity

HAO Xiao-di, WANG Xin, LUO Yu-qi, CAO Da-qi

(Sino-Dutch R & D Centre for Future Wastewater Treatment Technologies, Beijing Advanced Innovation Center of Future Urban Design, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 100044, China)

Abstract: Microalgae with settleable rate more than 97% can be selected in the laboratory by applying “washout” pressure. The settleable microalgae can purify wastewater like activated sludge and then realize separation of algae and water through natural sedimentation, which provides a high-efficiency and low-consumption solution for advanced wastewater treatment. However, whether the settleable microalgae cultivated at low light intensity [$400\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] in the laboratory can continue to grow and proliferate at natural light intensity and maintain high removal rates of nitrogen and phosphorus is a practical problem that must be considered in the application. Therefore, the light intensity was increased to close to the natural light level [$800\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] and the growth of microalgae were observed in the laboratory. High light intensity inhibited the growth of microalgae and reduced their photosynthetic activity. After adding CO_2 in time, the settleable microalgae restored their activity for a certain adapting period and reached to an even higher biomass and nutrient removal rates (more than 90%) compared

with that at low light intensity. Besides, the effects of adding silicate, light/dark alternation and influent modes on the growth and purification properties of microalgae were also investigated. The results indicated the double effects of adding silicate and the advantage of light supplement.

Key words: settleable microalgae; outdoor natural light intensity; photoinhibition; biomass; chl-a; nutrient removal

可沉微藻可实现光自养净化水质,为污水深度处理提供了一种低耗、高效的解决方案。光是可沉微藻自养生长的重要非生物影响因素,是其新陈代谢全部行为的能量来源^[1]。光照强度在很大程度上会影响可沉微藻的生长速率及细胞代谢。当供给可沉微藻的光能变化时,可沉微藻生长代谢的许多方面都会受到影响^[2]。在一定范围内,可沉微藻的生长速率随光照强度的增加而增加,但光照强度超过一定值后反而不利于其生长代谢,此值即为饱和光照强度。大部分可沉微藻的饱和光照强度范围在 $200 \sim 400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ^[3]。有研究者在 $183 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光照强度下,获得了栅藻的最大生物量和对氨氮、磷、COD的最高去除率,但超过此光照强度,生物量旋即开始下降^[4]。笔者在前期试验中设计的光照强度 $[40 \text{ 与 } 400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})]$ 远低于室外光照强度[平均值为 $900 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]^[5]。通常,室外自然光到达地面的光照强度 $>1\,800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,晴天时甚至超过 $2\,000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ^[6]。因此,需要结合实际情况,考察接近室外平均光照强度条件下可沉微藻对二级出水的净化性能。

1 材料与方法

1.1 试验装置

试验采用功率为20 W的射灯双侧照射反应器,创造约 $800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光照强度环境。

试验反应器采用6个2 L的烧杯,以天作为一个完整周期并按4个时段运行:进水时段(5 min)、反应时段、沉降时段(5 min)和排水时段(10 min)。一个周期结束时,保留30%的(600 mL)混合液,其余混合液全部排出。通过设置沉淀时间(5 min)这一选择压力,保留沉降性能良好的优势微藻。

对6个反应器设置不同的光照时间、 CO_2 及硅营养物质(硅酸盐)注入方式等,考察不同条件下可沉微藻的生长情况。具体如下:1号反应器全天24 h光照,不通入 CO_2 ,在周期起始添加20 mg/L硅酸盐;2号反应器全天24 h光照,不添加 CO_2 和硅酸盐;3号反应器全天24 h光照,间歇通入 CO_2 (通入

3 min、停止12 min,下同)、通入量为20 mL/min,在周期起始添加20 mg/L的硅酸盐;4号反应器全天24 h光照,间歇通入 CO_2 、通入量为20 mL/min,不添加硅酸盐;5号反应器模拟实际昼夜交替状态,光暗时间比为10 h:14 h,间歇通入 CO_2 、通入量为6 mL/min,在光阶段起始添加20 mg/L的硅酸盐;6号反应器模拟实际昼夜交替状态,光暗时间比为10 h:14 h,间歇通入 CO_2 、通入量为6 mL/min,在暗阶段起始添加20 mg/L的硅酸盐。

1.2 试验用水

试验用水为北京某污水厂的二级生物处理工艺出水,具体水质如下:COD为 $(71.23 \pm 4.5) \text{ mg/L}$,TN为 $(22.37 \pm 0.8) \text{ mg/L}$, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为 $(0.60 \pm 0.2) \text{ mg/L}$, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为 $(20.08 \pm 1.8) \text{ mg/L}$,TP为 $(1.29 \pm 0.3) \text{ mg/L}$, $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 为 $(1.26 \pm 0.1) \text{ mg/L}$, Mg^{2+} 为 $(26.89 \pm 2.3) \text{ mg/L}$, Ca^{2+} 为 $(81.26 \pm 3.0) \text{ mg/L}$,无机碳为 $(36.28 \pm 6.3) \text{ mg/L}$,硅酸盐为 $(8.02 \pm 1.0) \text{ mg/L}$,pH值为 7.21 ± 0.3 。

1.3 分析方法

可沉微藻的生长情况采用总悬浮固体(TSS)和叶绿素a表征。以Whatman膜($0.45 \mu\text{m}$)过滤,采用标准方法测定TSS^[7];利用丙酮提取叶绿素a,采用分光光度法测定^[8]。细胞产率计算方法如下:

$$Y = \frac{\text{TSS}_{t_2} - \text{TSS}_{t_1}}{t_2 - t_1} \times 1\,000 \quad (1)$$

式中:Y为细胞产率, $\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})$;TSS_{t₁}、TSS_{t₂}分别为第t₁和t₂天的生物量,g/L。

微藻沉降率 η 的计算公式如下:

$$\eta = (1 - \text{TSS}_e / \text{TSS}_r) \times 100\% \quad (2)$$

式中:TSS_e为沉淀后排出的TSS量,g/L;TSS_r为周期反应结束时混合液的TSS量,g/L。

排出反应器的混合液经 $0.45 \mu\text{m}$ 膜过滤,检测滤液的水质指标。pH值采用pH计测定, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 采用纳氏试剂分光光度法测定, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 采用紫外分光光度法测定,TN采用过硫酸钾氧化-分光光度

法测定, PO_4^{3-} 采用钼锑抗分光光度法测定, TP 采用过硫酸钾氧化 - 钼锑抗分光光度法测定, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 采用电感耦合等离子体发射光谱仪测定。

2 结果与讨论

2.1 生物量的变化

试验期间可沉微藻生物量的变化见图1。

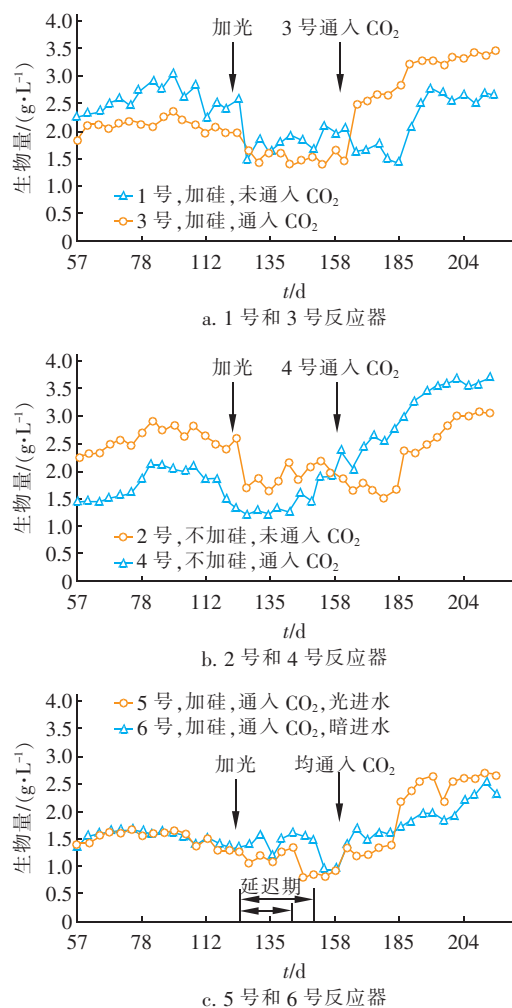


图1 可沉微藻生物量的变化

Fig.1 Dynamics of biomass of settleable microalgae

与前期光照强度为 $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的试验(微藻生长良好,未发生光抑制)相比,光照强度提高至 $800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 后出现了明显的光抑制现象,见图1(a)、(b);1~4号反应器中的低生物量现象从120 d增加光照强度后便开始出现,直至160 d向3号和4号反应器通入 CO_2 后方开始再现生物量增加趋势;至220 d,3号和4号反应器的生物量分别达到3.43、3.7 g/L。高光照强度试验结果显示,高光照强度确实会导致可沉微藻出现严重的光抑制

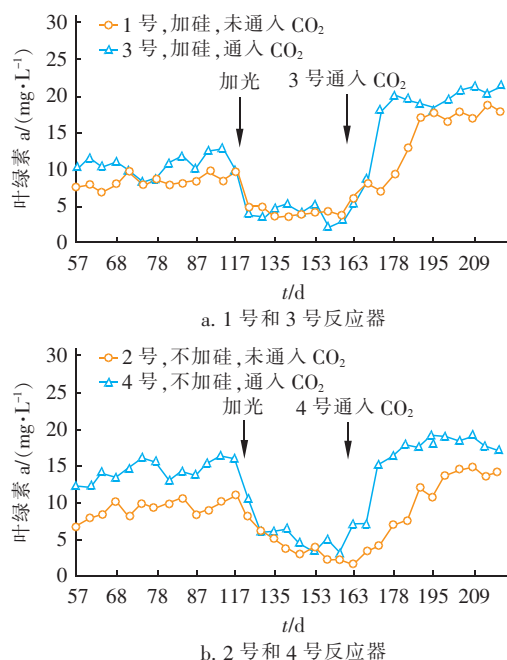
现象,但增加系统中的 CO_2 含量后可以在很大程度上消除光抑制现象。这说明,高光照强度可以刺激藻类生长,但 CO_2 等无机碳源以及营养成分必须跟上光照强度的刺激作用。其实,在藻类日常生长过程中,空气与水界面间的 CO_2 快速转移亦可以使藻类获得最大增长量。但是,为保证反应器中存在足够的 CO_2 ,部分试验以通入 CO_2 的方式来保证足够的无机碳源。图1显示,无论高、低(暗)光照强度,凡是通入 CO_2 的反应器均可获得较高生物量。

在模拟昼夜交替光/暗条件的5、6号反应器(加硅酸盐)中,光抑制生物量现象出现一段时间(30 d)的延缓,然后才出现明显的生物量下降现象[见图1(c)]。在160 d,通入 CO_2 后光抑制随即解除。对于5、6号反应器来说,光/暗交替导致的过剩光能较少,光抑制程度也就不高。显然,适度的光/暗交替循环有助于藻类生长,使光/暗反应能量与营养供需匹配,保障藻体生长代谢有序进行^[9]。

总之,施加高光照强度会使可沉微藻的生物量出现下降现象,剩余光能会严重抑制可沉微藻的生长。通入 CO_2 和适度的光/暗交替有助于减缓甚至解除高光照强度对藻类生长的不利影响。

2.2 叶绿素a含量的变化

可沉微藻的叶绿素a含量变化见图2。可以看出,光线加强后,各反应器的叶绿素a含量明显降低,说明通过降低光合程度来避免过剩光能进入是可沉微藻在高光照强度下的一种环境适应策略。



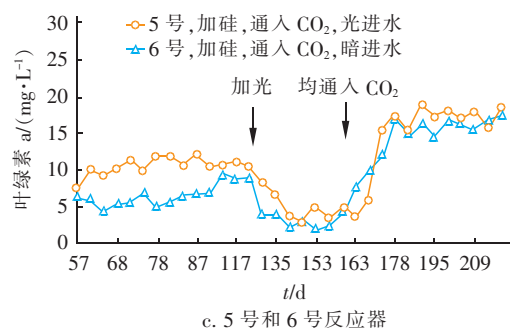


图2 可沉微藻叶绿素a含量的变化

Fig. 2 Dynamics of chl-a content of settleable microalgae

如上所述,无机碳源显然是影响可沉微藻生长及新陈代谢的重要因素之一^[10]。当在一些反应器中通入CO₂后,叶绿素a含量均有不同程度的恢复上升。有研究表明,加入CO₂可增加叶绿素a的特性光吸收^[11],表明藻细胞在高光照强度与一定的CO₂含量条件下可发生重大的生理、生化改变。

2.3 藻-水分离特性

光照水平变动导致可沉微藻的生长代谢等发生一系列变化,这也使得藻-水分离效果发生相应的波动,见图3。尽管如此,可沉微藻仍保持了较高的藻-水分离效率(5 min 沉淀比SV₅ > 80%)。细观全部反应器,只有不加硅酸盐的2、4号反应器中可沉微藻的沉淀性能受高光照强度影响最小,光照加强后仅出现少许波动,揭示出硅限制营养条件下有助于保持藻-水分离,其机理有待进一步探讨。

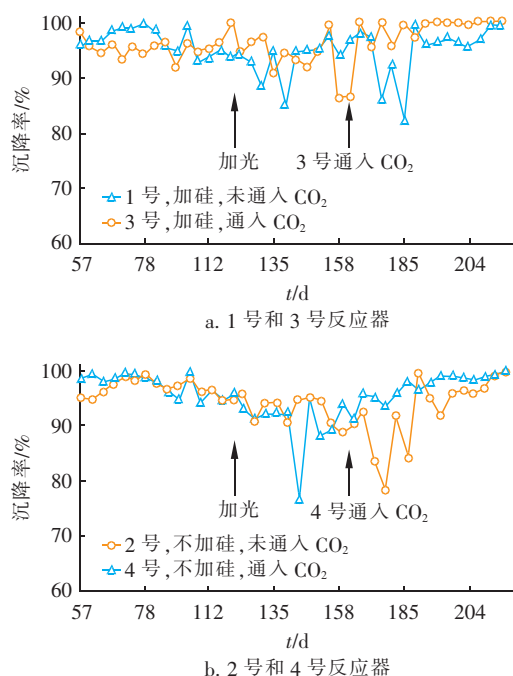


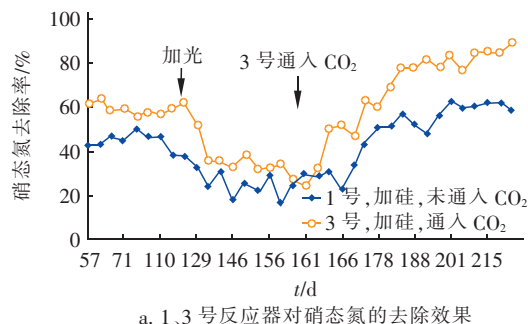
图3 可沉微藻的沉降效果

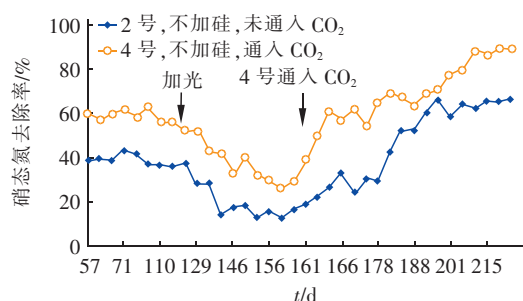
Fig. 3 Settling performance of settleable microalgae

不仅是光照强度,光照时间亦会影响可沉微藻的生长代谢,乃至藻-水分离效果^[6]。图3已清晰显示了光照强度对藻-水分离特性的普遍影响,但5、6号反应器显示了较1~4号反应器较短的波动期(5、6号反应器的波动期约为30 d,1~4号反应器约为70 d)。微藻沉降率上出现的适应性不同可能便与光照时间有关,因为5、6号反应器非连续24 h光照,只在日间光照10 h。这就是说,5、6号反应器接收的光能远小于1~4号反应器,过剩光能引起的微藻细胞(光合作用机制等)损害相对较小,导致细胞调节适应较快。可见,在完全自然光[光照强度最高可达1 800 μmol/(m²·s)以上]情况下,可沉微藻长时间接受如此水平的阳光照射会严重损伤其细胞,导致光合作用机制被破坏,使其生长缓慢、活性降低甚至死亡^[12]。因此,工程应用时需要考虑反应器遮光、避阳问题。

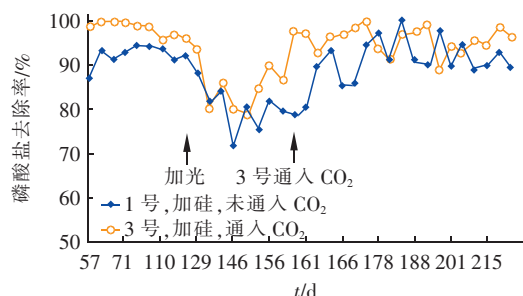
2.4 对二级出水的净化效果

1~4号连续光照反应器中可沉微藻对氮、磷的去除效果见图4。可以看出,可沉微藻对氮、磷的去除率与其生物量和叶绿素a含量的变化趋势基本一致,均随光照强度的增加而降低、又随CO₂的通入而逐渐恢复。可见,可沉微藻对氮、磷的去除以吸收为主;藻浓度越高,对氮、磷的去除效率越高,特别是加强光照并补充CO₂之后。

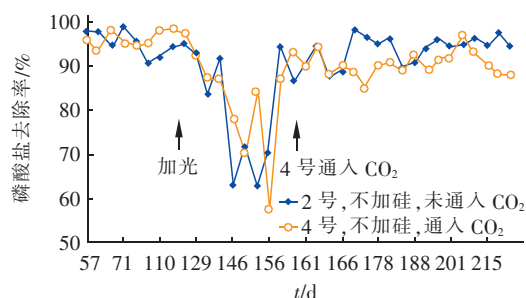




b. 2、4号反应器对硝态氮的去除效果



c. 1、3号反应器对磷酸盐的去除效果

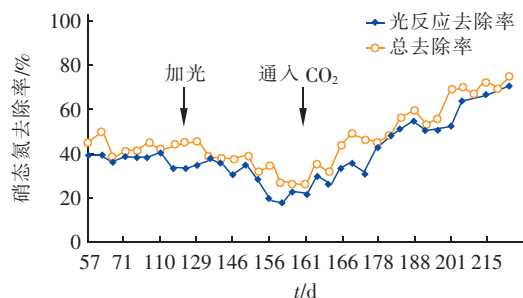


d. 2、4号反应器对磷酸盐的去除效果

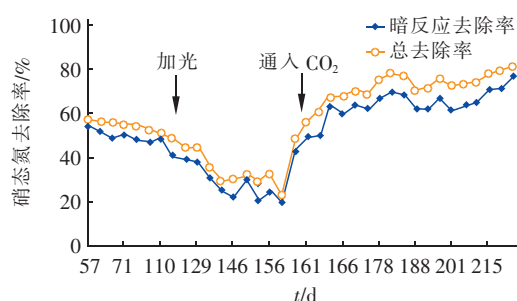
图4 连续光照反应器对氮、磷的去除效果

Fig.4 Removal efficiency of nitrate and phosphate in continuous light reactors

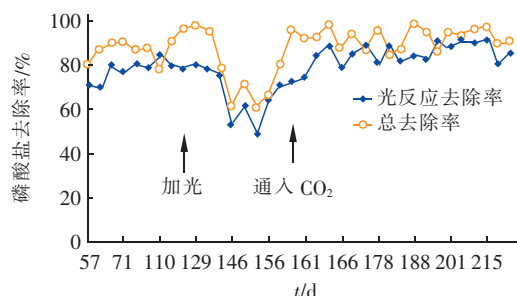
模拟昼夜交替光/暗条件的5、6号反应器对氮、磷的去除效果如图5所示。可以看出,5、6号反应器对氮和磷的去除率比3、4号反应器要低,缘于黑暗条件下加入基质并不能使可沉微藻及时吸收营养物,只有等到有光照时营养物方可被吸收。图5显示氮、磷的去除确实主要是在有关条件下完成的。



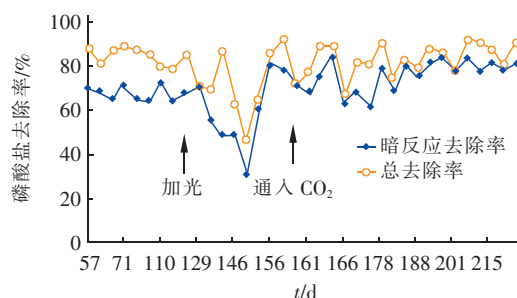
a. 硝态氮去除率(光照起始进水)



b. 硝态氮去除率(黑暗起始进水)



c. 磷酸盐去除率(光照起始进水)



d. 磷酸盐去除率(黑暗起始进水)

图5 光/暗交替反应器对氮、磷去除效果

Fig.5 Removal efficiency of nitrate and phosphate in light/dark alternation reactors

总之,高光照强度必须辅以足够的 CO_2 方能保证可沉微藻的正常代谢生长,并获得较高的氮、磷去除率($>90\%$)。因此,工程应用时可沉微藻也是固定大气中 CO_2 的一种有效措施。

3 结论

① 试验显示,室外光照强度水平 $[800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})]$ 对可沉微藻会产生抑制作用,严重抑制可沉微藻的生长、繁殖并降低其光合作用活性,导致可沉微藻的生物量和叶绿素 a 含量急速下降。这主要是因为高光照强度下可沉微藻所需的无机碳源 CO_2 含量不匹配所致。当向反应系统中通入足够的 CO_2 时,可沉微藻在经过一定适应期后可以恢复生长,并获得较高的生物量和叶绿素 a 含量,同时对氮、磷的吸收去除率亦可达到较高的水平($>90\%$)。

② 向反应系统中补充营养物硅酸盐存在正反两方面作用:一方面,硅可刺激可沉微藻的生长;另一方面,加硅组对高光照强度具有不耐受性。

③ 光/暗交替并补充基质的试验显示,有光补充基质比无光补充基质可获得更高的生物量和氮、磷去除率,这是因为无光进水并不能让可沉微藻及时吸收营养,必须等到有光时营养物方能被吸收。

参考文献:

- [1] Bouterfas R, Belkoura M, Dauta A, et al. Light and temperature effects on the growth rate of three freshwater [2pt] algae isolated from a eutrophic lake [J]. Hydrobiologia, 2002, 489(1/3): 207–217.
- [2] 李涛. 产油微藻的筛选与评价、高产油策略及其差异性研究[D]. 广州:暨南大学, 2013.
Li Tao. Screening and Assessment, Strategies for High-yield Oil of Oleaginous Microalgae and Their Differentiations in Physiology and Biochemistry [D]. Guangzhou: Jinan University, 2013 (in Chinese).
- [3] Markou G, Angelidaki I, Georgakakis D. Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 96(3): 631–645.
- [4] da Fontoura J T, Rolim G S, Farenzena M, et al. Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus* sp. [J]. Process Safety and Environmental Protection, 2017, 111: 355–362.
- [5] 吴宇涵. CO₂, 进水, 光促可沉藻产油脂实验研究[D]. 北京:北京建筑大学, 2018.
Wu Yuhan. Experimental Study on the Production of Oil by CO₂, Feeding Mode and Light Promoting Settleable Algae [D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2018 (in Chinese).
- [6] Wang J, Han D, Sommerfeld M R, et al. Effect of initial biomass density on growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* in an outdoor photobioreactor [J]. J Appl Phycol, 2013, 25: 253–260.
- [7] Pruvost J, van Vooren G, Le Gouic B, et al. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application [J]. Bioresour Technol, 2011, 102(1): 150–158.
- [8] Qian K X, Borowitzka M A. Light and nitrogen deficiency effects on the growth and composition of *Phaeodactylum tricornutum* [J]. Appl Biochem Biotechnol, 1993, 38(1/2): 93–103.
- [9] 沈英嘉, 陈德辉. 不同光照周期对铜绿微囊藻和绿色微囊藻生长的影响[J]. 湖泊科学, 2004, 16(3): 285–288.
Shen Yingjia, Chen Dehui. Effect of different light cycle on growth of *Microcystis aeruginosa* and *Microcystis viridis* [J]. Journal of Lake Sciences, 2004, 16(3): 285–288 (in Chinese).
- [10] Wu Y, Gao K, Riebesell U. CO₂-induced seawater acidification affects physiological performance of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* [J]. Biogeosciences, 2010, 7(9): 2915–2923.
- [11] Sobrino C, Ward M L, Neale P J. Acclimation to elevated carbon dioxide and ultraviolet radiation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*: effects on growth, photosynthesis, and spectral sensitivity of photoinhibition [J]. Limnology and Oceanography, 2008, 53(2): 494–505.
- [12] Wahidin S, Idris A, Shaleh S R. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. [J]. Bioresour Technol, 2013, 129(2): 7–11.



作者简介:郝晓地(1960–),男,山西柳林人,教授,从事市政与环境工程专业教学与科研工作,主要研究方向为污水生物脱氮除磷技术、污水处理数学模拟技术、可持续环境生物技术。现为国际水协期刊《Water Research》区域主编(Editor)。

E-mail: haoxiaodi@bucea.edu.cn

收稿日期: 2019–12–10