

IAA 对高盐废水培养微藻生长特性与氮磷去除的影响

马艳芳¹ 郭 亭² 何荣玉³ 郭春春¹ 董仁杰¹ 柳 珊^{1,4}

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 农业农村部种养结合重点实验室, 南京 210014;

3. 中国环境保护集团有限公司, 北京 100082; 4. 中国农业大学烟台研究院, 烟台 264670)

摘要: 废水中高浓度的盐会抑制微藻的生长, 通过添加外源植物激素吲哚乙酸 (IAA) 来促进微藻在盐胁迫下的生长, 同时考察不同微藻和盐离子种类对高盐废水培养微藻生长特性与氮磷去除的影响。结果表明, 流加模式下培养 28 d, 小球藻、链带藻、四尾栅藻的最高生物量分别为 0.55、0.66、0.75 g/L, 总氮和氨氮去除率分别为 70.7%、88.5%、79.7% 和 90.7%、92.6%、92.4%, 总磷去除率均达到 90% 以上。四尾栅藻在模拟高盐废水培养 24 d 后, 高质量浓度 IAA (20 mg/L) 对其生长效果最好, 生物量最高可达 0.403 g/L, 低质量浓度 IAA (≤ 2 mg/L) 对其无明显促进作用甚至抑制生长; 高质量浓度 IAA (20 mg/L) 的总氮和氨氮的去除效果最好, 去除率分别为 20% 和 44.1%; 总磷去除率为 97.2%, 其余 5 组总磷去除率均维持在 15% 左右。此外, 不同种盐条件下四尾栅藻生物量分别为 0.667 g/L (空白组)、0.750 g/L (Cl^- 组)、0.898 g/L (NH_4^+ 组) 和 1.037 g/L ($\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ 组), 各组氮磷去除效果无明显差别, 总氮和氨氮去除率分别在 30% 和 50% 左右, 总磷去除率 90% 以上。以上研究表明高浓度 IAA 在盐胁迫条件下对四尾栅藻生长有明显的促进作用, 且 NH_4^+ 和 Cl^- 混合盐离子组获得的四尾栅藻生物量最高。

关键词: 吲哚乙酸; 高盐废水; 微藻; 生物量; 氮磷去除

中图分类号: X71 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2023)S2-0341-09

Effect of IAA on Growth Characteristic and Nitrogen/Phosphorus Removal of Cultivation Microalgae with High-salt Wastewater

MA Yanfang¹ GUO Ting² HE Rongyu³ GUO Chunchun¹ DONG Renjie¹ LIU Shan^{1,4}

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Key Laboratory for Crop and Animal Integrated Farming, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China

3. China National Environmental Protection Group Co., Ltd., Beijing 100082, China

4. Yantai Institute of China Agricultural University, Yantai 264670, China)

Abstract: The high concentration of salt inhibits the growth of microalgae in wastewater. Indole-3-acetic acid (IAA) was added to promote the growth of microalgae under salt stress. At the same time, the effects of different algae species and salt ion on the growth, nitrogen and phosphorus removal of microalgae cultured in high-salt wastewater were investigated. The results showed that the maximum biomass of *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus* sp. and *Scenedesmus quadricauda* could reach 0.55 g/L, 0.66 g/L and 0.75 g/L under the flow-feeding mode. The maximum specific growth rates of *Desmodesmus* sp. and *Scenedesmus quadricauda* were 0.18 d⁻¹ and 0.17 d⁻¹ on the 4th day, while *Chlorella vulgaris* were 0.14 d⁻¹ on the 8th day. The removal rates of TN and NH_4^+-N were 70.7%, 88.5%, 79.7% and 90.7%, 92.6%, 92.4%, respectively. The removal rates of TP were more than 90%. The growth of *Scenedesmus quadricauda* in the high-concentration IAA (20 mg/L) was the best, and the biomass was up to 0.403 g/L. The growth of *Scenedesmus quadricauda* in the low-concentration IAA (≤ 2 mg/L) was not significantly promoted or even inhibited. The removal rates of TN and NH_4^+-N were 20% and 44.1% in 20 mg/L IAA, respectively. The TP removal rate was 97.2% in 20 mg/L IAA, and the other five groups were maintained at about 15%. In addition, the biomass under different salt conditions was

收稿日期: 2023-06-15 修回日期: 2023-08-21

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2020QE240)、农业农村部种养结合重点实验室开放项目 (202306) 和金华市科技计划项目 (2022-3-066)

作者简介: 马艳芳 (1998—), 女, 硕士生, 主要从事生物质工程及环境影响评价研究, E-mail: mayanfang@cau.edu.cn

通信作者: 柳珊 (1985—), 女, 副教授, 博士, 主要从事有机废水生物处理与养分回收研究, E-mail: liushan@cau.edu.cn

0.667 g/L (blank group), 0.750 g/L (Cl^- group), 0.898 g/L (NH_4^+ group) and 1.037 g/L ($\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ group), respectively. There was no significant difference in the removal efficiency of N and P among all groups. The removal rates of TN and NH_4^+-N was about 30% and 50%, and TP was more than 90%. The above studies indicated that high concentration of IAA could significantly promote the growth of *Scenedesmus quadricauda* under salt stress, and the biomass was the highest in mixed group ($\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$). Therefore, the research result can provide data support for the subsequent application of microalgae in the treatment of high-salt wastewater.

Key words: indole-3-acetic acid; high-salt wastewater; microalgae; biomass; nitrogen and phosphorus removal

0 引言

微藻培养是一种有效资源化和 CO_2 减排的生物处理技术,其优点在全球范围内引起了广泛的关注。微藻可通过光合作用固定 CO_2 ,去除废水中的重金属、抗生素等新兴污染物,吸收水中的氮、磷,将其转化为蛋白质、脂质用于生产生物燃料和高附加值产品^[1-2]。富含各种化合物和营养盐的废水可作为微藻生长的培养基,在生产藻生物质的同时处理水体污染物。高盐废水是难处理废水之一,含有各种污染物和无机盐,例如 NaCl 、 Na_2SO_4 、 MgSO_4 、 KNO_3 和 NaHCO_3 等。由于微藻能适应多种盐度,培养成本低,微藻处理高盐废水有较大潜力。但高盐废水成分复杂,盐浓度过高对微藻细胞的渗透压以及膜的通透性造成影响,导致细胞处于氧化胁迫状态,引起细胞生化成分的变化^[3]。因此,高盐废水中的盐胁迫势必会抑制微藻的生长。

微藻培养作为一种有效的生物处理废水的方法,其微藻生长受到多种因素的影响,如藻种、光照条件、光暗比、pH 值、营养盐及生物活性物质等。不同的藻种对盐度都有一定的耐受范围。例如, *Chaetoceros calcitrans* 能在盐度水平为 3% 中生长,小球藻能在 2.5% 水平中生长^[4]。 *Shewanella* sp. 耐受盐度可从 0 提高到 7%,生物量质量浓度也相应从 0.04 g/L 增加到 0.36 g/L^[5]。这些结果表明不同的藻种对高盐废水的耐受性具有较大的差异,并影响藻生物量累积。此外,植物激素包括生长素、脱落酸、细胞分裂素、赤霉素和乙烯等,它们以极低的浓度广泛参与藻类的生理和生化过程。国内外已有相关研究探索了植物激素对微藻细胞增长、油脂合成等代谢活动的刺激作用^[6-7]。

吲哚乙酸(IAA)是促进微藻生长最常见的生长素^[8]。生长素对微藻油脂含量和细胞生长具有刺激作用,但其促进/抑制作用都依赖于浓度,低浓度表现出促进效果,而高浓度则会导致抑制^[9-10]。文献[11]研究表明添加浓度较高(10^{-4} mol/L)的 IAA

比添加浓度较低(10^{-5} mol/L)的 IAA 更能促进 *Parachlorella kessleri* 的生长。生长素能够诱导藻类对生物和非生物胁迫的耐受性,IAA 在氮素降低 40% 情况下能够明显增加微藻的生长^[12]。IAA 对微藻细胞分裂、生物量生产和色素合成有积极的影响,且 IAA 显著地增加了藻细胞的大小和蛋白质含量^[13]。文献[14]研究发现施用 IAA 减轻了缺氮胁迫的不利影响,提高了 *Chlorella sorokiniana* DPK-5 的光合能力以及过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性。虽然植物激素对刺激藻细胞生长表现出一定的生理作用,但是目前对这些植物激素功能的研究还不完全。而通过植物激素调节来提高微藻处理高盐废水中的抗逆性和藻生物质合成是可行的。

因此,本文主要探讨 IAA 对微藻处理含盐废水的调控作用,首先以酒糟沼液作为培养基,进行 3 种藻在酒糟沼液中培养的生长特性对比实验;进而考察 IAA 浓度和不同种类盐(NH_4^+ 、 Cl^- 、 $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$)对微藻生长特性的影响,并阐明微藻在废水处理过程中氮磷去除变化规律,以期为其它来源废水的微藻培养以及非生物胁迫条件下微藻的生物固碳、氮磷营养利用等方面的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 藻种及培养基

普通小球藻 FACHB-31(*Chlorella vulgaris*)、链带藻 FACHB-2097(*Desmodesmus* sp.) 和四尾栅藻 FACHB-44(*Scenedesmus quadricauda*) 均购自中国科学院水生生物研究所。于人工培养箱中用无菌 BG11 培养基预培养,温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照周期为 14 h/10 h,光照强度为 4 500 lx(LED 灯),用 NaOH 或 HCl 调节培养基 pH 值至 7.0。每天定时摇匀,防止微藻附着于瓶壁与瓶底。

1.1.2 酒糟沼液和模拟高盐废水

本研究中所用酒糟沼液和模拟高盐废水主要理化指标如表 1 所示。酒糟沼液氮磷比(总氮与总磷

质量比) 为 11:1。沼液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 占比高,是主要氮盐。沼液浑浊度高、透光性差,为避免氨氮浓度过高使微藻无法正常生长,将酒糟沼液用去离子水稀释 100 倍作为微藻培养液备用。后续考察 IAA 浓度和盐离子影响的实验,为了避免废水中重金属及其盐类等物质的干扰,使实验具有良好的重现性,采用模拟的高盐废水作为微藻培养液,配方包括 0.37 g/L (NH_4)₂SO₄、0.255 g/L NaNO₃、0.04 g/L NaH₂PO₄、2.3 g/L NaCl、0.46 g/L C₆H₁₂O₆。

表 1 酒糟沼液和模拟高盐废水理化性质
Tab. 1 Characteristics of lees biogas slurry and simulated high-salt wastewater

指标	酒糟沼液	模拟高盐废水
氨氮质量浓度/(mg·L ⁻¹)	5 196.45 ± 133.65	40
化学需氧量/(mg·L ⁻¹)	23 118.52 ± 52.38	
总氮质量浓度/(mg·L ⁻¹)	5 859.67 ± 195.26	120
总磷质量浓度/(mg·L ⁻¹)	532.59 ± 15.51	10
总固体质量分数/%	5.07	
挥发性固体质量分数/%	3.61	
Cl ⁻ 质量分数/%		0.14
电导率/(mS·cm ⁻¹)	30	

1.2 实验装置

微藻培养实验装置如图 1 所示。为避免微藻细胞沉淀,该装置设有磁力搅拌装置,使藻液被持续、低速地搅拌;为保证光能可以充分地被微藻吸收,利用 LED 灯带左右对称分布,使锥形瓶侧边接收到平均光强;同时该装置还利用时间控制器控制运行周期。

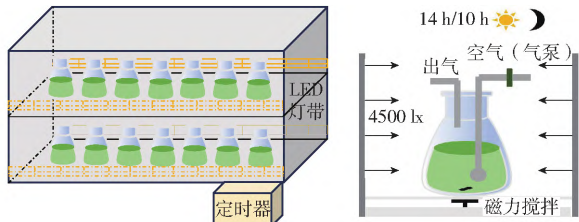


图 1 微藻批式培养实验装置

Fig. 1 Test device of microalgal batch culture

1.3 实验设计

1.3.1 3 种微藻对比实验

微藻培养在体积为 2 000 mL 的锥形瓶中进行,培养基为稀释 100 倍并灭菌的酒糟沼液,有效容积为 1 700 mL。实验分为 3 组,分别为小球藻、链带藻和四尾栅藻,每组 3 个平行。微藻初始接种量为 25%,采用流加培养模式连续培养 28 d,每 2 d 取样 60 mL 进行指标检测,相应补加 60 mL 稀释酒糟沼液。培养条件:温度为 (25 ± 2) °C, pH 值为 7.0,光照强度为 4 500 lx,每天定时摇匀。样品检测指标为

生物量、pH 值、电导率、总氮质量浓度、总磷质量浓度和氨氮质量浓度。

1.3.2 不同浓度吲哚乙酸(IAA) 调控实验

微藻培养在体积为 2 000 mL 的锥形瓶中进行,培养基为模拟高盐废水,有效容积为 1 700 mL。参考已有研究结果,设置 6 个实验组,IAA 质量浓度梯度设置为 0 mg/L (A₀)、0.002 mg/L (A₁)、0.02 mg/L (A₂)、0.2 mg/L (A₃)、2 mg/L (A₄)、20 mg/L (A₅),每组 3 个平行。微藻初始接种量为 25%。采用批次培养模式培养 24 d,每 2 d 取样 30 mL 进行指标检测。培养条件:温度为 (25 ± 2) °C, pH 值为 7.0,光照强度 4 500 lx,每天定时摇匀。样品检测指标为生物量以及总氮、总磷、氨氮质量浓度。

1.3.3 不同种类盐(NH₄⁺、Cl⁻、NH₄⁺ + Cl⁻) 实验

此研究以 1.3.2 节的实验为基础,在添加 20 mg/L IAA 的条件下,考察不同种类盐对沼液培养微藻的影响。设置 4 个实验组,氨盐(NH₄⁺)、氯盐(Cl⁻) 单独组,两种盐(NH₄⁺ + Cl⁻) 复合组以及空白组,每组 3 个平行。保证每组的总氮、总磷质量浓度相同以及 IAA 添加量为 20 mg/L。微藻初始接种量为 25%。采用批次培养模式培养 10 d,每 2 d 取样 30 mL 进行指标检测。培养条件:温度为 (25 ± 2) °C, pH 值为 7.0,光照强度 4 500 lx,每天定时摇匀。样品检测指标为生物量以及总氮、总磷、氨氮质量浓度。

1.4 分析方法

用 105 °C 鼓风干燥箱干燥 0.45 μm 的玻璃纤维素膜至质量恒定,在干燥器中冷却至室温并迅速用电子天平称量、记录质量,用滤膜抽滤样品,将附有藻体的滤膜放入 105 °C 电热鼓风干燥箱中加热 4 h 干燥至质量恒定,称量质量,计算滤膜前后质量差得到样品干质量。

以生物量为基础,微藻的比生长速率计算公式为

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \tag{1}$$

式中 μ ——比生长速率 d⁻¹

N_1 —— t_1 时的生物量 mg/L

N_2 —— t_2 时的生物量 mg/L

氮磷去除率测定方法参照第四版《水和废水监测分析方法》,总氮(TN) 质量浓度的测定采用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法;氨氮(NH₄⁺-N) 质量浓度的测定采用水杨酸-次氯酸盐光度法;总磷(TP) 质量浓度的测定采用钼酸铵分光光度法。取一定量微藻培养液经 0.45 μm 水系膜抽滤,将滤液稀释到

合适的浓度后,用紫外-可见分光光度计测量 TN、 NH_4^+-N 和 TP 的含量。

氮磷去除率计算公式为

$$r = \frac{S_0 - S_t}{S_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中 r ——氮、磷(TN 、 NH_4^+-N 或 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$) 的去除率, %

S_0 ——初始质量浓度, $\mu\text{g/L}$

S_t ——第 t 天的质量浓度, $\mu\text{g/L}$

1.5 数据处理与分析

各处理间的差异采用单因素方差分析

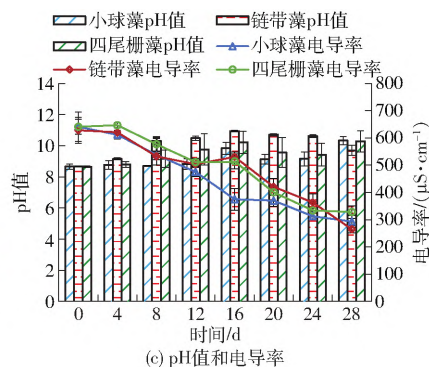
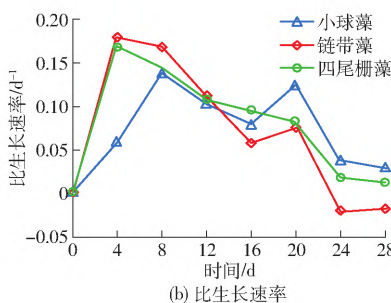
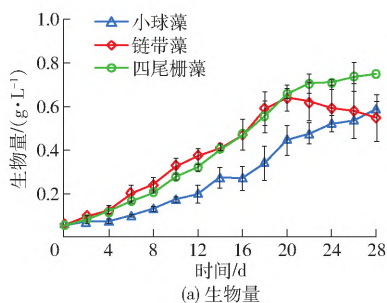


图2 3种藻在酒糟沼液中的生长情况

Fig.2 Growth of three kinds of algae in lees biogas slurry

图2a为流加培养模式下3种藻的生物量随时间的变化。3种藻前期生长缓慢,在第12天进入对数生长期。链带藻在20 d左右最先达到稳定,最大生物量为0.66 g/L。小球藻和四尾栅藻的最大生物量分别为0.55 g/L和0.75 g/L。此外,如图2b所示,链带藻和四尾栅藻在第4天都达到最大比生长速率,分别为 0.18 d^{-1} 和 0.17 d^{-1} ,小球藻在第8天达到最大比生长速率(0.14 d^{-1})。虽然链带藻初期生长速率最快,但部分藻细胞最先开始老化甚至死亡分解,进入细胞衰退期,造成生物量降低。文献[15]使用稀释2.5倍的厨余沼液培养小球藻16 d得到的最高生物量为0.393 g/L。文献[16]使用稀释40倍的猪场沼液培养链带藻得到的最高生物量为0.443 g/L。与已有的文献对比,本实验得到的微藻生物量可观,3种藻对酒糟沼液有良好的适应能力,其中四尾栅藻的生长情况相对较好。如图2c所示,随着培养时间增加,3种藻的pH值逐渐增加,原因可能是微藻在进行光合作用的过程中吸收 CO_2 释放 OH^- 和 O_2 ,从而导致系统中pH值不断提高^[17]。链带藻的pH值增长最快,达到10.33左右,较高的pH值限制了微藻的生长^[18],这可能是造成链带藻后期生物量下降的原因之一。电导率随着微藻培养时间的增加,在逐渐降低,这主要与微藻生长过程中同化吸收沼液中的氮磷而导致盐离子降低有关。

(ANOVA) 对其进行统计分析;采用 Tukey 事后检验 (Tukey's post hoc test) 检测不同处理组间的差异;结果用 IBM SPSS 20 统计软件进行分析;采用 Microsoft Office Excel 2019 对实验数据进行整理和图形绘制。

2 结果与分析

2.1 3种藻在酒糟沼液中的生长特性分析

2.1.1 生长情况

3种微藻(小球藻、链带藻和四尾栅藻)在酒糟沼液中的生长情况如图2所示。

2.1.2 氮磷的去除

氮在微藻的生长、发育、繁殖等阶段都发挥着重要的作用,是微藻生长必需的基本元素之一,也是组成微藻体内蛋白质、核酸、叶绿素等物质的基本元素^[19]。3种藻对酒糟沼液中氮磷去除变化如图3所示。

从图3中可以看出,沼液中总氮和氨氮的变化趋势基本一致,但总氮去除率略低于氨氮,且氨氮去除率最先达到稳定。这可能是因为虽然微藻可以利用氨氮、硝态氮等,但由于微藻利用氨氮所需要的能量少,更容易被微藻吸收利用^[20]。最终小球藻、链带藻、四尾栅藻对沼液中的总氮的去除率分别为70.7%、88.5%、79.7%。氨氮质量浓度随着时间增加下降波动变动较大,氨氮在12 d之后维持稳定,稳定后小球藻、链带藻、四尾栅藻对沼液中氨氮的去除率分别为90.7%、92.6%、92.4%,这一现象与藻类死亡后细胞分解向环境中释放含氮化合物有关^[21]。文献[16]使用稀释的猪场沼液培养微藻实验中,链带藻对沼液氨氮去除率达到89.6%~100%,总氮去除率达到77.7%~86.5%。本实验3种藻的去除率都与其相似,都有较强的氮磷去除能力,其中链带藻和四尾栅藻对沼液的氨氮去除能力较高。

磷是微藻细胞生长和代谢的重要组成部分,微

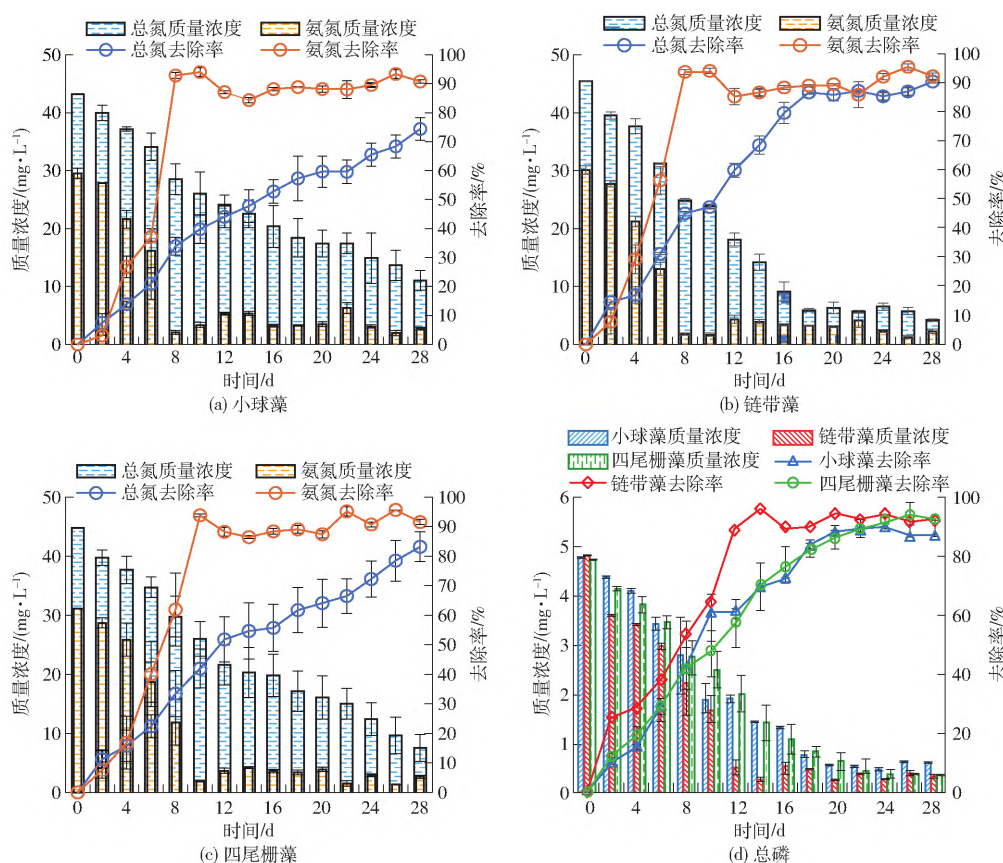


图3 3种藻对酒糟沼液中氮磷的去除情况

Fig. 3 Removal of nitrogen and phosphorus from lees biogas slurry by three kinds of algae

藻中磷脂、核酸等物质都含有大量的磷^[19]。沼液中的磷元素一般以磷酸一氢根以及磷酸二氢根等可溶性磷酸盐形式被微藻吸收转化为自身的三磷酸腺苷(ATP)和磷脂等有机物^[22]。图3d为酒糟沼液中磷的去除率变化曲线,沼液中的磷质量浓度随着微藻培养时间的增加而显著降低,微藻对沼液中总磷的去除效果显著。培养时间至20~22 d沼液中的磷浓度降至微藻可吸收的最低值。小球藻、链带藻、四尾栅藻对沼液中的总磷的去除率分别为87.8%、92.6%、90.9%。结果表明,链带藻和四尾栅藻对沼液都有很高的总磷去除能力。除了藻类的同化作用,微藻对磷的去除途径还有化学沉淀^[18,23]。链带藻去除磷的效率比其它藻稍高,可能因为pH值过高,导致磷酸盐沉淀析出,文献[24]研究表明当pH值低于9,未达到9~11的碱性环境,不考虑化学沉淀除磷。本实验后期pH值大于9,可能会出现磷的沉淀。综合考虑,四尾栅藻的生物量相对较高,去除氮磷效果好,可作为后续实验的藻株。

2.2 不同浓度 IAA 对高盐废水培养四尾栅藻生长特性的影响

2.2.1 生长情况

由图4a可以看出,在添加IAA培养过程中, A_5 (0.02 g/L)组四尾栅藻在前期生长速率明显高于其

它5组,在10~12 d率先达到稳定生长期,生物量最高达到0.403 g/L。其余各组基本在18 d达到稳定生长期,最高生物量由高至低分别为:0.395 g/L(A_0)、0.365 g/L(A_1)、0.315 g/L(A_2)、0.308 g/L(A_3)、0.262 g/L(A_4)。由于该部分为批次实验,后期营养不足,因此,生物量比流加培养模式低。

6个实验组的比生长速率都在第4天达到最大(图4b),其中 A_5 (0.02 g/L)组的比生长速率最大,为0.6 d⁻¹。先前研究表明生长素及其相关物质对小球藻有刺激作用^[25]。但 $A_1 \sim A_4$ 组和对照组的生长情况没有差异,出现这一现象的原因可能是IAA浓度过低,不足以促进细胞分裂^[9,26]。随着培养时间增加,藻液颜色也从绿色变成橙黄色(图4c),这可能与培养20 d左右后,微藻生长进入细胞衰退期,部分微藻细胞开始老化甚至死亡,分解的微藻再次释放一定的磷有关^[21]。与本研究相似,文献[7]研究发现在其测试的浓度范围内,IAA对四尾栅藻生长有促进作用,除最低浓度(1 nmol/L)和最高浓度(1 μ mol/L)外,大多数测试的生长素浓度都会刺激细胞分裂,对细胞生长影响最大的是100 nmol/L IAA,10 d后细胞密度增加了2.3倍。文献[27]研究则发现在5、10、20、40、60 mg/L IAA质量浓度中,除低质量浓度5、10 mg/L对微藻生长有抑制作用

外,其它测试的生长素浓度都会促进微藻生长,生物量积累最高的是 60 mg/L IAA。由此可见,高浓度的 IAA 对四尾栅藻的生长促进最明显。

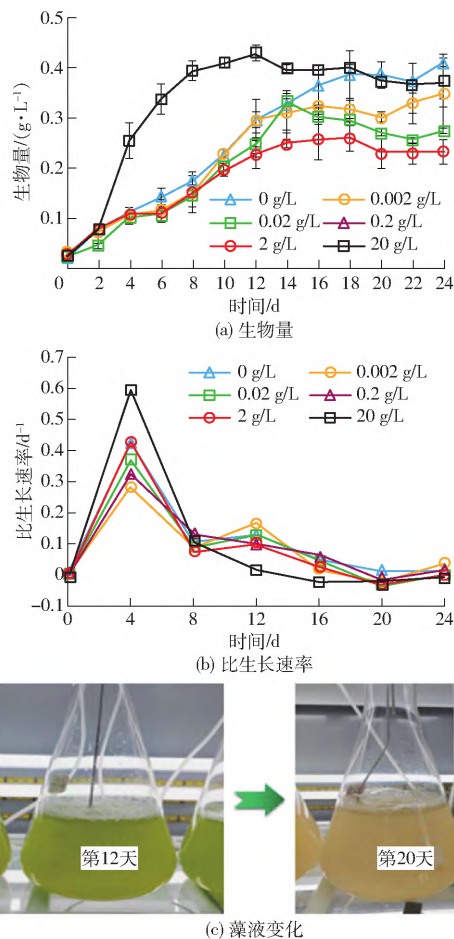


图4 不同浓度 IAA 对四尾栅藻生长的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of IAA on growth of *Scenedesmus quadricauda*

2.2.2 氮磷的去除

不同 IAA 浓度对四尾栅藻氮磷去除的影响如图 5 所示。模拟废水中的总氮和氨氮浓度大体随着微藻培养时间的增加而呈逐渐降低趋势。四尾栅藻对总氮的去除和氨氮的去除相似, A_5 (0.02 g/L) 组去除效果最好。6 个试验组总氮的去除率最高维持在 12%~20% 之间(图 5a)。 A_5 (0.02 g/L) 组对微藻去除氨氮起到了显著影响,其它组都没有明显差异。 A_5 组在 2~6 d 氨氮质量浓度迅速下降,在培养到第 6 天达到最大去除率(44.1%)。8 d 后氨氮质量浓度随着培养时间延长缓慢上升。 A_5 (0.02 g/L) 组在总磷质量浓度下降速度明显快于其它 5 组,在培养到第 6 天达到总磷质量浓度最低,去除率为 97.2% (图 5d)。其余组总磷变化趋势都是随培养时间缓慢上升,去除率在 20% 左右,18 d 后因微藻衰亡而出现下降。微藻培养后期,总氮、氨氮和总磷浓度均有不同程度的上升,这与微藻后期衰亡、细胞

裂解释放氮化物有很大关系^[21]。贾纬等^[28]研究发现,由于微藻主要是通过光合作用将污水中无机氮、磷营养盐转化成微藻生物体,所以藻体衰亡会释放氮、磷元素,造成污水中氮、磷浓度回升。由此可见,低质量浓度的 IAA (≤ 0.002 g/L) 对四尾栅藻同化氮磷无明显作用,高质量浓度的 IAA (0.02 g/L) 对氮磷同化具有明显的促进作用。

本部分实验中氨氮与总氮去除率并不太高,一方面是因为初始氨氮浓度低,微藻对氨氮的同化作用到达一定的浓度后维持稳定。另一方面是本实验模拟废水总氮主要包括氨氮和硝态氮,硝态氮占大部分。如图 5c 为 A_0 和 A_5 处理组的氮组分随时间变化占比,硝态氮随着微藻的培养会进行转化,但是微藻除氮一般是优先将还原态的氮作为氮源进行吸收, NO_3^- -N 是最高价态的氮,是不可氧化的形式,微藻吸收利用缓慢,这也是造成总氮去除率较低的主要原因^[20]。 NO_3^- -N 转化需在还原酶的作用下使用 2 个电子转化为 NO_2^- -N,再通过亚硝酸盐还原酶催化作用下,使用 6 个电子将 NO_2^- -N 转化为 NH_4^+ -N,产生的 NH_4^+ 通过谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶途径直接转化为氨基酸,被微藻吸收^[29]。对于藻类来说硝态氮是更稳定的氮来源,因此,该部分实验中虽然氮同化效率低,但对微藻生长影响较小。

2.3 不同种类盐对高盐废水培养微藻生长特性影响

2.3.1 生长情况

不同种类盐对四尾栅藻的生长影响如图 6 所示。在培养 10 d 过程中,空白组和 Cl^- 组中微藻的生长趋势相似,在生长初期无明显延迟期,在培养时间 6~8 d 进入平台期,生物量趋于平缓。两组所达到的最高生物量分别为 0.667 g/L 和 0.750 g/L (图 6a)。 NH_4^+ 单独组和 $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ 组微藻生长趋势相似,在 0~4 d 生长速率低且有延迟期(图 6b),生长至 8 d 进入平台期,所达到的最高生物量分别为 0.898 g/L 和 1.037 g/L。 $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ 组最后达到的生物量最高,造成该现象的主要原因是氨氮的存在。模拟废水中添加了 NH_4^+ 的处理组虽然前期比未添加 NH_4^+ 的处理组生长缓慢,然而适应期过后,生物量积累反而更高,这与前文提到的氨氮更易吸收有关^[20]。 Cl^- 组与空白组相比,微藻前期生长较慢,至平台期两组生物量积累并无明显差别,9~10 d 进入细胞衰退期生物量降低, Cl^- 组生物量不降反升,出现这种现象的原因可能是外源植物激素的添加提高了四尾栅藻对 Cl^- 的耐受性,进一步促进了其生长。文献[30]研究表明 IAA 与非生物胁迫(氮胁迫、盐胁迫等)相结合可进一步刺激微藻细胞的生产力。

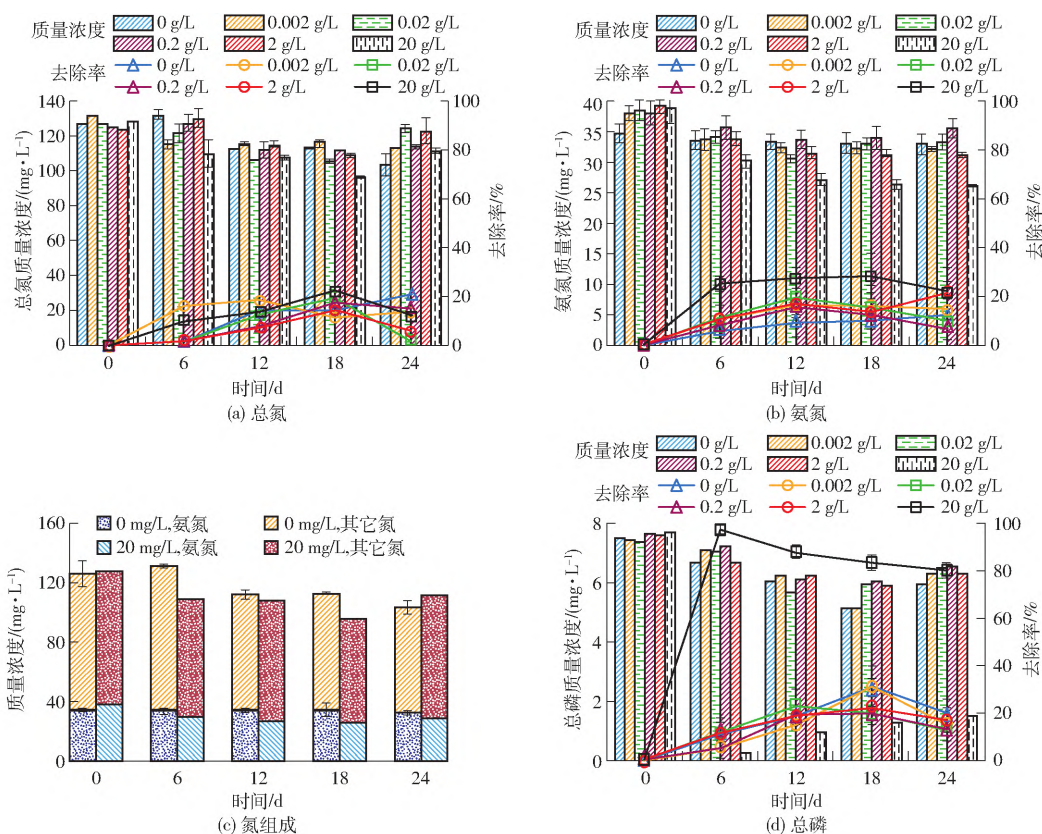


图5 不同浓度 IAA 对四尾栅藻去除氮磷的影响

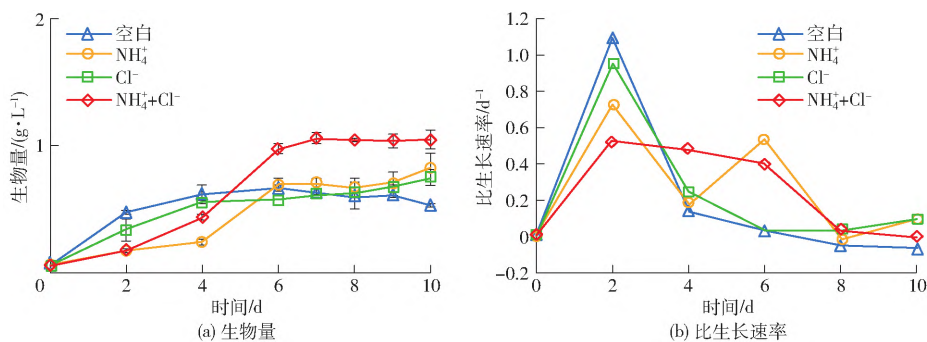
Fig. 5 Effect of different concentrations of IAA on nitrogen and phosphorus removal by *Scenedesmus quadricauda*

图6 不同种类盐对四尾栅藻生长的影响

Fig. 6 Effect of different kinds of salt on growth of *Scenedesmus quadricauda*

2.3.2 氮磷去除

不同种类盐条件下模拟废水中氮磷含量的变化情况如图7所示。

废水中总氮和氨氮变化趋势基本一致,空白

组和 Cl^- 组在 0~6 d 总氮去除速率相比另两组更快(图7a),最终各组对沼液中的总氮的去除率分别为 29.2% (空白组)、34.8% (Cl^-)、25.0% (NH_4^+) 和 30.3% ($\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$)。由于空白组和

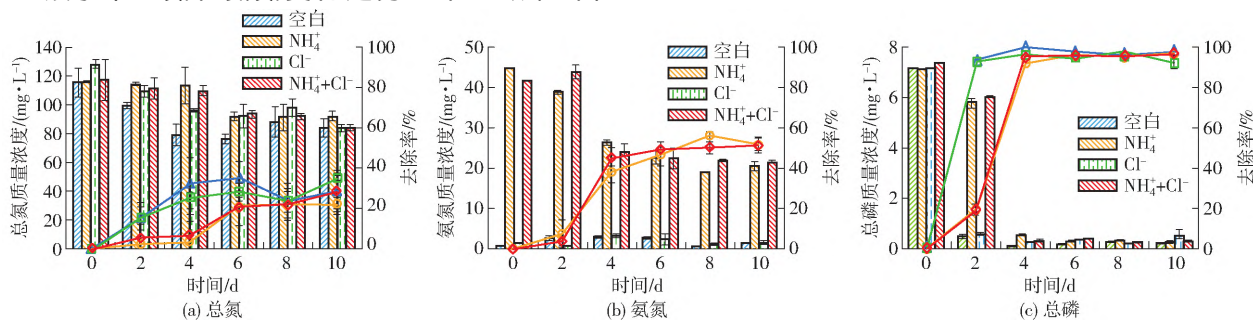


图7 不同种类盐对四尾栅藻去除氮磷的影响

Fig. 7 Effect of different types of salt on nitrogen and phosphorus removal by *Scenedesmus quadricauda*

Cl^- 组在配置模拟废水时,氮源全部由硝态氮组成不含氨盐,所以氨氮一直几乎为零(图 7b)。后期出现少量氨氮,主要原因可能是部分处于成熟期的微藻自身释放的蛋白质增加了氨氮含量^[31]。 NH_4^+ 组和 $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ 组的氨氮变化趋势相同(图 7b)。在第 2 天后氨氮质量浓度迅速降低,培养 8 d 后趋于平稳,对氨氮的去除率分别为 53.5% 和 48.1%。结合添加氨盐组总氮前期去除率低,说明四尾栅藻对氨盐的存在需要一定的适应期。文献[32]研究普通小球藻和螺旋藻处理低质量浓度生活污水,发现前 1~2 d 处于适应期, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 去除效果不明显,仅为 7%~20%;2 d 后, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 去除率显著增加,与本研究结果一致。

空白组和 Cl^- 组总磷浓度变化趋势相同,生长初期有明显下降,在培养时间 4 d 达到最低值后趋于平缓(图 7c)。两组的总磷去除率分别为 97.4% 和 92.3%。 NH_4^+ 和 $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ 组微藻总磷浓度变化趋势相同,初期总磷降低速率明显低于空白组和 Cl^- 组,这与氮的变化趋势类似。在培养时间 6~10 d 趋于平缓,两组去除率分别为 96.5% 和 96.3%。总之,虽然四尾栅藻对 NH_4^+ 的存在需要适应,但适应后对氮磷的去除速率加快,且 10 d 后各组去除率无

明显差别。

3 结论

(1) 对比 3 种微藻在酒糟沼液中的培养情况,小球藻、链带藻、四尾栅藻最大累积生物量分别为 0.55、0.66、0.75 g/L,小球藻在第 8 天达到最大比生长速率,而链带藻和四尾栅藻均在第 4 天达到最大。链带藻虽在 20 d 达到最大生物量累积,但是最先衰亡。3 种藻氨氮去除率为 90.7%~92.6%,总磷去除率为 87.8%~92.6%。

(2) 不同浓度 IAA 对微藻生长产生不同的效应,低质量浓度(≤ 2 mg/L)的 IAA 对四尾栅藻的生长具有一定的抑制作用,高质量浓度(20 mg/L)的 IAA 对四尾栅藻的生长促进作用最为显著,生物量最高达到 0.403 g/L,总磷去除率 97.2%,氨氮去除率 44.1%。

(3) 20 mg/L IAA 条件下,四尾栅藻在 NH_4^+ 和 Cl^- 混合盐组可获得较好的生长效果,生物量达 1.037 g/L,不同种盐类处理组中四尾栅藻的总氮去除率在 20%~30% 之间,总磷去除率达 90% 以上。 NH_4^+ 组和 $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^-$ 组的氨氮去除率在 50% 左右, Cl^- 的存在对四尾栅藻同化氮磷的效果影响较小。

参 考 文 献

- [1] SUTHERLAND D L, RALPH P J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants-opportunities and challenges [J]. Water Research, 2019, 164: 114921.
- [2] ZERAATKAR A K, AHMADZADEH H, TALEBI A F, et al. Potential use of algae for heavy metal bioremediation, a critical review [J]. Journal of Environmental Management, 2016, 181: 817-831.
- [3] PALIWAL C, MITRA M, BHAYANI K, et al. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae [J]. Bioresource Technology, 2017, 244: 1216-1226.
- [4] ADENAN N S, YUSOFF F M, SHARIFF M. Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae [J]. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2013, 8(2): 397-404.
- [5] MENG X, LIU G, ZHOU J, et al. Effects of redox mediators on azo dye decolorization by *Shewanella algae* under saline conditions [J]. Bioresource Technology, 2014, 151: 63-68.
- [6] YU Z, PEI H, JIANG L, et al. Phytohormone addition coupled with nitrogen depletion almost tripled the lipid productivities in two algae [J]. Bioresource Technology, 2018, 247: 904-914.
- [7] KOZLOVA T A, HARDY B P, KRISHNA P, et al. Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda* [J]. Algal Research, 2017, 27: 325-334.
- [8] LU Y, XU J. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? [J]. Trends in Plant Science, 2015, 20(5): 273-282.
- [9] JUSOH M, LOH S H, CHUAH T S, et al. Indole-3-acetic acid (IAA) induced changes in oil content, fatty acid profiles and expression of four fatty acid biosynthetic genes in *Chlorella vulgaris* at early stationary growth phase [J]. Phytochemistry, 2015, 111: 65-71.
- [10] DAO G H, WU G X, WANG X X, et al. Enhanced growth and fatty acid accumulation of microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by two types of auxin [J]. Bioresource Technology, 2018, 247: 561-567.
- [11] MAGIEREK E, KRZEMIŃSKA I, TYS J. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid and continuous illumination on the growth of *Parachlorella kessleri* [J]. International Agrophysics, 2017, 31(4): 483-489.
- [12] PARK W K, YOO G, MOON M, et al. Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2013, 171: 1128-1142.
- [13] NOBLE A, KISIALA A, GALER A, et al. *Euglena gracilis* (Euglenophyceae) produces abscisic acid and cytokinins and responds to their exogenous application singly and in combination with other growth regulators [J]. European Journal of Phycology, 2014, 49(2): 244-254.

- [14] BABU A G, WU X, KABRA A N, et al. Cultivation of an indigenous *Chlorella sorokiniana* with phytohormones for biomass and lipid production under N-limitation [J]. *Algal Research*, 2017, 23: 178 – 185.
- [15] 刘艳, 杨敏, 陈宏, 等. 微藻混合培养强化餐厨沼液处理效果及机制 [J]. *环境工程*, 2021, 39(3): 54 – 60. 67.
LIU Yan, YANG Min, CHEN Hong, et al. Enhancement and mechanism of mixed algae cultivation for treatment of kitchen waste digestate effluent [J]. *Environmental Engineering*, 39(3): 54 – 60. 67. (in Chinese)
- [16] 季方. 能源微藻选育及基于厌氧发酵液培养的生物质生产研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
JI Fang. Energy microalgae isolation and biomass production in anaerobic digestion wastewater [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [17] MASSÉ D I, SAADY N M C, GILBERT Y. Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: an overview [J]. *Animals*, 2014, 4(2): 146 – 163.
- [18] CHEW K W, CHIA S R, SHOW P L, et al. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: a review [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2018, 91: 332 – 344.
- [19] SHAHID A, MALIK S, ZHU H, et al. Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation: a review [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 704: 135303.
- [20] 潘禹, 王华生, 刘祖文, 等. 微藻废水生物处理技术研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2019, 30(7): 2490 – 2500.
PAN Yu, WANG Huasheng, LIU Zuwen, et al. Advances in biological wastewater treatment technology of microalgae [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(7): 2490 – 500. (in Chinese)
- [21] MIN M, WANG L, LI Y, et al. Cultivating *Chlorella sp.* in a pilot-scale photobioreactor using centrate wastewater for microalgae biomass production and wastewater nutrient removal [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2011, 165(1): 123 – 137.
- [22] ACIÉN FERNÁNDEZ F G, GÓMEZ-SERRANO C, FERNÁNDEZ-SEVILLA J M. Recovery of nutrients from wastewaters using microalgae [J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2018, 2: 59.
- [23] 余江, 陶红群, 王亚婷, 等. 磷受控对酿酒废水-微藻培育耦合体系的影响 [J]. *西南交通大学学报*, 2019, 54(3): 655 – 662.
YU Jiang, TAO Hongqun, WANG Yating, et al. Influence of phosphorus control on coupling system of winery wastewater and microalgae cultivation [J]. *Journal of Southwest Jiaotong University*, 2019, 54(3): 655 – 662. (in Chinese)
- [24] 黄静依, 张皓驰, 李先宁. 水产养殖废水处理的菌藻共生系统中藻种优选及氮、磷转化特性 [J]. *净水技术*, 2020, 39(9): 57 – 66, 84.
HUANG Jingyi, ZHANG Haochi, LI Xianning. Optimization of microalgae species and characteristics of nitrogen and phosphorus conversion in algae-bacteria symbiotic system for aquaculture wastewater treatment [J]. *Water Purification Technology*, 2020, 39(9): 57 – 66, 84. (in Chinese)
- [25] TATE J J, GUTIERREZ-WING M T, RUSCH K A, et al. The effects of plant growth substances and mixed cultures on growth and metabolite production of green algae *Chlorella sp.*: a review [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2013, 32(2): 417 – 28.
- [26] PERROT-RECHENMANN C. Cellular responses to auxin: division versus expansion [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2(5): 1446.
- [27] LIU J, QIU W, SONG Y. Stimulatory effect of auxins on the growth and lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus quadricauda* [J]. *Algal Research*, 2016, 18: 273 – 280.
- [28] 贾纬, 聂毅磊, 陈宏, 等. 水产养殖废水脱氮除磷微藻的筛选 [J]. *福建农业学报*, 2021, 36(2): 243 – 248.
JIA Wei, NIE Yilei, CHEN Hong, et al. Microalgae for effective nitrogen and phosphorus removal from aquaculture effluence [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36(2): 243 – 248. (in Chinese)
- [29] 王园园. 基于猪场废水净化的小球藻-地衣芽孢杆菌共培养体系构建及藻菌协同作用研究 [D]. 烟台: 烟台大学, 2020.
WANG Yuanyuan. Construction of *Chlorella vulgaris*-*Bacillus licheniformis* consortia for piggery wastewater purification and research on synergistic mechanism [D]. Yantai: Yantai University, 2020. (in Chinese)
- [30] HAN X, ZENG H, BARTOCCI P, et al. Phytohormones and effects on growth and metabolites of microalgae: a review [J]. *Fermentation*, 2018, 4(2): 25.
- [31] 姜红鹰, 周玉玲, 张桂敏, 等. 普通小球藻对养殖污水脱氮除磷的效果研究 [J]. *生物资源*, 2017, 39(3): 204 – 210.
JIANG Hongying, ZHOU Yuling, ZHANG Guimin, et al. Effect of *Chlorella vulgaris* on nitrogen and phosphorus removal from breeding wastewater [J]. *Biotic Resources*, 2017, 39(3): 204 – 210. (in Chinese)
- [32] 张萍, 方淳, 朱思涵, 等. 生活污水处理中微藻的优选及氮、磷转化研究 [J]. *生态环境学报*, 2021, 30(8): 1706 – 1715.
ZHANG Ping, FANG Chun, ZHU Sihan, et al. Optimization of microalgae species and nitrogen and phosphorus conversion for domestic sewage treatment [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(8): 1706 – 1715. (in Chinese)