

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.7

第40卷 第7期

目次

《大气污染防治行动计划》实施的环境健康效果评估	武卫玲, 薛文博, 王燕丽, 雷宇, 冯涛, 蔡泽林 (2961)
基于达标约束的南京市环境空气质量情景模拟	谢放尖, 史之浩, 李婧祎, 郑新梅, 胡建林, 刘春蕾, 杨峰 (2967)
郑州市 PM _{2.5} 中水溶性离子特征及来源分析	杨留明, 王申博, 郝祺, 韩士杰, 李晨, 赵庆炎, 燕启社, 张瑞芹 (2977)
能见度与 PM _{2.5} 浓度关系及其分布特征	王继康, 张恒德, 桂海林, 饶晓琴, 张碧辉 (2985)
基于扩散模式反演的橡胶轮胎制造行业 VOCs 排放特征	白红祥, 魏巍, 王雅婷, 任云婷, 臧佳欣, 程水源 (2994)
太原市环境空气中挥发性芳香烃碳同位素组成及来源	李颖慧, 闫雨龙, 李志生, 郝爱胜, 李如梅, 杨帆, 彭林 (3001)
办公楼聚集区空气中 PBDEs 谱分布与污染特征	王琳, 邓雅佳, 廖晓勇, 曹红英, 焦杏春 (3008)
南北水调东线中游枢纽湖泊有色可溶性有机物来源组成特征	张柳青, 彭凯, 周蕾, 石玉, 李元鹏, 周永强, 龚志军, 张运林, 杨艳 (3018)
黄土丘陵沟壑区小流域不同水体氢氧同位素特征	张荷惠子, 于坤霞, 李占斌, 李鹏, 赵宾华, 柯浩成, 蒋凯鑫 (3030)
基于碳氮同位素的澜沧江水库 TOC 来源差异性分析	王从锋, 胡子龙, 杨正健, 丹勇, 赵萍, 郝文超, 聂小芬, 聂睿, 徐刘得, 刘德富 (3039)
李家河水库污染物来源及水体分层对水质的影响	徐进, 黄廷林, 李凯, 杨尚业, 温成成, 林子深, 李衍庆, 刘雪晴 (3049)
水库淹没带土壤有机氯农药分布特征及风险评价	王霞, 张青琢, 赵高峰, 王晓燕 (3058)
银川市湿地表层水中多环芳烃的分布、来源及生态风险评价	田大年, 党丽慧, 丁润梅, 蔡倩, 张鹏举, 汪岭, 杨慧芳 (3068)
人类活动影响下的垂直气候带岩溶泉地球化学特征对比: 以重庆金佛山水房泉、碧潭泉为例	谢国文, 杨平恒, 盛婷, 邓书金, 洪爱花 (3078)
漓江冲洪积扇地下水化学特征及控制因素分析	唐金平, 张强, 胡漾, 张宇, 聂保伟 (3089)
三峡库区蓄水期和非蓄水期附石藻类群落变化及其影响因子分析	付君珂, 刘黎, 贺新宇, 张红波, 董聪聪, 杨燕君, 施军琼, 吴忠兴 (3099)
降雨对香溪河库湾主要藻种原位生长的影响	翁传松, 刘德富, 张佳磊, 龚川, 沈旭舟 (3108)
绿狐尾藻分解及其氮磷释放特征	童雄, 罗沛, 刘锋, 黄敏, 陈哲, 肖润林, 吴金水 (3118)
微藻固定化条件优化及其污水氨氮去除潜力分析	刘祥, 王婧瑶, 吴娟娟, 彭飞, 王凯军 (3126)
钛酸盐纳米管对水中氨氮的吸附特性	张政, 冯长生, 张晓瑞, 郑建奎, 蒋彩云, 李攀杰, 王玉萍 (3135)
基于缺陷重构的类芬顿光催化剂在降解染料废水中的应用	唐清文, 安晓强, 兰华春, 刘会娟, 李海翔 (3146)
N 原子杂化石墨烯高效活化过一硫酸盐降解 RBk5 染料废水	于永波, 黄湾, 董正玉, 吴丽颖, 张倩, 洪俊明 (3154)
Cu ²⁺ 对以 NO ₃ ⁻ 为电子受体反硝化过程的影响	买文可, 彭永臻, 吉建涛 (3162)
CANON 中试反应器启动及性能优化	孙庆花, 吴迪, 周家中, 郑志佳 (3169)
好氧段碳源浓度对同步去除和富集磷酸盐生物膜的影响	徐林建, 潘杨, 章豪, 冯鑫, 魏攀龙, 尤星怡 (3179)
有机物特性对 AAO 系统污泥沉降性能的影响	刘小博, 袁林江, 陈希, 薛欢婷 (3186)
不同污泥浓度下缺氧 FNA 对硝化菌活性的影响	吕心涛, 周桐, 田夏迪, 谷鹏超, 杨岸明, 王佳伟, 张树军 (3195)
ANAMMOX 菌铁自养反硝化工艺的稳定性	张文静, 黄勇, 毕贞, 胡羽婷, 董石语 (3201)
在线 NaClO 反洗对倒置 A ² O-MBR 系统微生物群落的影响	王旭东, 高森, 王莹莹, 杨永哲, 刚家斌, 符国力, 王磊 (3208)
基于有机物释放和经济性的污泥预处理方法评价	袁悦, 谭学军, 郑舍予 (3216)
北京市清水与再生水协同利用优化模型	张田媛, 谭倩, 王淑萍 (3223)
N-亚硝胺在不同处理工艺污水处理厂中的分布及其去除	柳王荣, 赵建亮, 杨愿愿, 姚理, 刘有胜, 应光国 (3233)
北京市生活污水中曲马多和芬太尼的赋存	周子雷, 杜鹏, 白雅, 韩胜, 黄红梅, 徐泽琼, 李喜青 (3242)
贵阳市污水处理厂中典型抗生素的污染水平及生态风险	杨钊, 李江, 张圣虎, 向福亮, 唐涛涛, 杨娅红 (3249)
紫色土丘陵区畜禽养殖场土壤中抗生素抗性基因分布特征	程建华, 唐翔宇, 刘琛 (3257)
四环素对污泥蚯蚓粪中微生物种群和抗性基因的影响	陈景阳, 夏慧, 黄魁, 吴颖 (3263)
热水解污泥厌氧消化过程中肠球菌抗生素抗性基因与毒力基因的转归	李慧莉, 裴媛玫, 李姗, 何芙蓉, 杨月婷, 魏源送, 佟娟 (3270)
鸡粪与中药渣共堆肥对抗生素抗性基因的影响	武晋萍, 陈建文, 刘勇, 张红, 李君剑 (3276)
宁武亚高山湖泊细菌群落的时空格局及驱动机制	王雪, 刘晋仙, 柴宝峰, 罗正明, 赵鹏宇, 暴家兵 (3285)
石家庄市春季景观水体 nirS 型反硝化细菌群落特征分析	张艺冉, 李再兴, 孙悦, 霍然, 孟文茹, 王凌霄, 申邵恒, 杨子程, 周石磊 (3295)
磷差异性调控水稻根际 nirK/nirS 型反硝化菌组成与丰度	湛钰, 高丹丹, 盛荣, 魏文学, 秦红灵, 张文钊, 侯海军, 汤亚芳 (3304)
会仙岩溶湿地、稻田与旱地土壤细菌群落结构特征比较	贾远航, 靳振江, 袁武, 程跃扬, 邱江梅, 梁锦桃, 潘复静, 刘德深 (3313)
湘中典型稻田系统 Cd 平衡分析	蒋凯, 邓潇, 周航, 龙坚, 李欣阳, 董霞, 王树兵, 刘文辉, 侯红波, 彭佩钦, 廖柏寒 (3324)
改良剂对根际土壤-水稻系统中镉运移的影响	李义纯, 王艳红, 唐明灯, 巫彬芳, 李林峰, 艾绍英, 凌志祥 (3331)
重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应	韩辉, 王晓宇, 蔡红, 姚伦广, 蔡倩迪, 王逸雪, 陈兆进 (3339)
不同品种辣椒镉亚细胞分布和化学形态特征差异	彭秋, 李桃, 徐卫红, 焦璐琛, 邓继宝 (3347)
添加磷对水稻-油菜轮作土壤 N ₂ O 排放影响	孙正, 苏荣琳, 徐鹏, 吴宏涛, 胡金丽, 赵劲松, 胡荣桂 (3355)
渭北旱原土地利用方式对土壤团聚体稳定性及其有机碳的影响	刘杰, 马艳婷, 王宪玲, Sompouviset Thongsouk, 李利敏, 秦亚旭, 赵志远, 郑伟, 翟丙年 (3361)
不同土地利用类型的土壤中多环芳烃的纵向迁移特征	鲁垠涛, 向鑫鑫, 张士超, 刘明丽, 王静, 李爽, 姚宏, 孙绍斌 (3369)
西湖景区土壤中邻苯二甲酸酯污染水平、来源分析和空间分布特征	廖健, 邓超, 陈怡, 周文钊, 林春绵, 张辉 (3378)
生物炭对壤土土壤容重和团聚体的影响	李倩倩, 许晨阳, 耿增超, 张久成, 陈树兰, 王慧玲, 张妍, 负方悦, 杨林, 董胜虎 (3388)
《环境科学》征订启事 (3194)	《环境科学》征稿简则 (3222)
信息 (3256, 3284, 3323)	

微藻固定化条件优化及其污水氨氮去除潜力分析

刘祥, 王婧瑶, 吴娟娟, 彭飞, 王凯军*

(清华大学环境学院, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 微藻污水处理被视为新概念引领下极具潜力的一项绿色技术, 然而, 微藻分离与采收一直是限制其大规模应用的瓶颈. 本研究立足于固定化技术, 以斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 为研究对象, 采用响应曲面法 (RSM) 耦合 Box-Behnken 设计, 以固定剂浓度、交联剂浓度和交联时间为自变量, 以藻球的机械强度、传质速率和生长速率为响应值, 对固定化的过程参数进行优化, 制备性能最优的固定化藻球; 并探索和分析藻球对氨氮 (NH_4^+-N) 去除的最佳条件及其潜力. 结果表明, 固定剂浓度、交联剂浓度和交联时间分别为 5%、2% 和 16 h 为制备固定化藻球的最优条件, 且包埋密度为 $1 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$, 有机物 (COD) 浓度为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 藻球混合培养去除 NH_4^+-N 的能力最强; 此外, 固定藻对高浓度 NH_4^+-N 的去除潜力显著优于自由藻, 当初始浓度约为 50 和 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 固定藻混合培养 5 d 后 NH_4^+-N 去除率分别为 $(96.6 \pm 0.1)\%$ 和 $(65.2 \pm 4.5)\%$, 而初始浓度约为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 自由藻优势明显, 3 d 后 NH_4^+-N 去除率高达 $(97.8 \pm 0.6)\%$; 但异养条件下固定藻对 NH_4^+-N 的去除率整体偏低且随浓度增加而降低, 当初始浓度约为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 去除率仅为 $(49.0 \pm 3.1)\%$. 本研究为污水可持续处理提供了新思路, 为资源回收提供了新途径, 更为该技术推广应用奠定了较好的理论基础.

关键词: 斜生栅藻; 固定化; 响应曲面法; 氨氮; 混合培养

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)07-3126-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201811219

Optimization of the Parameters for Microalgae Immobilization and Analysis of Its Recovery Potential for Ammonia Nitrogen in Wastewater

LIU Xiang, WANG Jing-yao, WU Juan-juan, PENG Fei, WANG Kai-jun*

(State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Application of microalgae in wastewater treatment is regarded as a potential green technology. However, its engineering application has been largely hindered because of the difficulty of biomass separation and harvesting. This study aimed to identify the key parameters influencing the process of microalgae immobilization. To do this, the study focused on immobilization technology and *Scenedesmus obliquus*, and employed the response surface methodology (RSM) and the Box-Behnken design (BBD). In an evaluation of the performance of microalgae beads, the fixing agent concentration, the cross-linking agent concentration, and the cross-linking time were selected as the independent variables, and the mechanical strength, the mass transfer rate, and the growth rate of immobilized microalgae beads were the response values. The optimal conditions and the uptake potential of the microalgae beads with respect to ammonia nitrogen (NH_4^+-N) were further explored and analyzed. The results showed that the optimal parameters for the preparation of immobilized microalgae beads were 5%, 2%, and 16 h, and the maximum removal capacity was obtained using mixotrophic cultivation with an embedding density of $1 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ and an organic matter concentration of $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. In addition, the removal capacity of immobilized microalgae with respect to high concentrations of NH_4^+-N was significantly higher than for free-living microalgae. When the initial concentrations of NH_4^+-N were approximately 50 and $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NH_4^+-N was removed by the immobilized microalgae (after a 5-day mixotrophic cultivation) at a rate of $(96.6 \pm 0.1)\%$ and $(65.2 \pm 4.5)\%$, respectively. With an initial NH_4^+-N concentration of $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the dominance of free-living microalgae was clear, with a removal rate of $(97.8 \pm 0.6)\%$ after a 3-day cultivation. However, under heterotrophic cultivation, the removal rate of NH_4^+-N by immobilized microalgae was generally low and gradually decreased with increasing concentrations. When the initial concentration was approximately $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the removal rate was only $(49.0 \pm 3.1)\%$. This study provides new prospects for sustainable urban wastewater treatment, a new approach for resource recycling, and a strong theoretical foundation for the popularization and application of microalgae in wastewater treatment.

Key words: *Scenedesmus obliquus*; immobilization; response surface methodology; ammonia nitrogen; mixotrophic cultivation

随着全球经济的快速发展, 诸多环境问题日渐突出. 其中, 水污染问题不仅制约社会经济的发展, 而且严重威胁人类健康. 当前, 以活性污泥为基础的工艺虽能有效去除 COD、N 和 P 等污染物, 但其以曝气强化供氧方式促进微生物氧化 COD, 并通过能量和物质密集投入的方式实现脱氮除磷^[1], 这种“以能耗能”和忽略物质循环的处理

方式与未来污水处理可持续发展理念相矛盾. 因此, 开发低能耗、高效率 and 低成本的污水处理新技术成为新时期的迫切需求.

收稿日期: 2018-11-27; 修订日期: 2019-01-14

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2015ZX07509-001); 苏州-清华创新引领行动专项 (20172140162)

作者简介: 刘祥 (1989 ~), 男, 博士, 主要研究方向为污水资源化处理, E-mail: gclx_2007@126.com

* 通信作者, E-mail: wkj@tsinghua.edu.cn

如今,在可持续发展的大背景下,国际上对污水概念的认识已经发生本质性的革新,一致认为污水不再是废物而是一种资源和能源的载体^[1,2]。因此,新概念引领下的未来污水处理模式必将发生方向性变革,应实现从污水中去除污染物的灰色处理模式向从污水中回收资源的绿色再生模式转变。20世纪50年代,Oswald等^[3]提出了微藻污水处理的概念,开启了污水资源化和能源化处理的新模式。微藻作为自然界中一种分布广、种类多且数量大的古老低等植物,可在光合作用的同时吸收营养元素合成生物质。其中,油脂可提炼生物柴油,碳水化合物可厌氧产能,蛋白质可制作动物饲料,还可从藻粉中提取一些具有高附加值的产品(如:EPA和DHA)^[4~6]。污水处理耦合微藻培养是实现污水处理从“处理工艺”向“生产工艺”转换的关键“桥梁”,可为缓解当前全球资源短缺和能源匮乏的严峻形势提供新途径。

与传统污水处理工艺相比,微藻具有营养盐去除效率高、运行能耗低、同步固碳等诸多优点^[7]。王秀锦等^[8]利用污水异养培养蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa*-15,发现该藻对COD去除率达到80.9%,TN去除率达到69%,且具有较好的产油效率。然而,从最初的藻类塘到后来的跑道池再到如今的光生物反应器,微藻分离与采收困难的问题一直限制着该技术的推广应用^[9]。随着细胞固定化技术的发展,微藻固定化技术随之诞生,为微藻污水处理技术开辟了新方向。微藻固定化不仅能有效防止藻细胞流失,维持系统稳定性,还可增强细胞耐受性,解决藻水分离困难的问题^[10,11]。目前,固定化载体材料多为聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠(SA),它们具有机械强度大、传质性能好和耐生物分解等特性,其中,SA因具有较好的渗透性、无毒性及高透明性,已成为应用最广泛的固定化材料^[12]。Liu等^[13]采用SA固定 *Chlorella sorokiniana* GXNN 01去除污水中的N和P,发现在自养和异养培养条件下,固定藻对营养盐的去除能力显著高于自由藻,尤其对P的去除能力更为突出。然而,何种固定化参数条件才能制备性能优良的藻球,及功能发挥的环境条件与潜力,则是该技术工程应用前的关键科学问题。

本研究立足于固定化技术,以微藻固定化参数条件优化为出发点,以制备性能优良的固定化藻球为目标,分析藻球污水 NH_4^+ -N高效去除的关键影响因素,探索其在不同培养模式下污水 NH_4^+ -N的去除潜力,以期为污水绿色可持续处理技术研发及其推广应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 藻种与培养

本实验藻种为斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*, FACHB-12),购自于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。斜生栅藻属于绿藻门,适应污水培养且对氨氮具有较高的去除能力,是生产生物柴油的优势藻种^[14]。实验前应先将藻种在无菌条件下接种到含BG11培养基的锥形瓶中,置于光照培养箱(宁波赛福,ZDX-350)中进行扩大培养,反复接种,使之处于对数增长期。培养条件:温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度 $86.4 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$,光暗比12 h:12 h,每天应变换锥形瓶的位置以保证光照均匀,并定时轻轻摇动锥形瓶3次。实验中使用的所有玻璃器皿及培养基都应经过 121°C 、20 min高压灭菌(Auto Clave SN 310C,日本)。

1.2 实验污水

本实验污水采用人工配水,1 L污水的具体配方如下:NaAc 385 mg(300 mg COD); NH_4Cl 115 mg(30 mg NH_4^+ -N); KH_2PO_4 13 mg; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.55 mg; CaCl_2 6 mg; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 66 mg;A5 1 mL [$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $1.86 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0.39 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, H_3BO_3 $2.86 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$]。配置好的污水用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NaOH或 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的HCl调节初始pH至7.0左右,随后置于高压灭菌锅中灭菌后冷却使用。

1.3 微藻固定化方法

本实验微藻固定化方法为包埋固定法,固定化操作全程应在无菌环境下完成。首先,将处于对数生长期的藻液于高速冷冻离心机(himac CR22N,日本)上 4°C 、 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心10 min,弃去上清液,用 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaHCO_3 溶液冲洗藻体并离心两次,以去除藻细胞表面吸附的营养盐,然后用无菌水冲洗、离心两次,再将其转移至无N培养基中培养3 d以耗尽藻细胞内的营养盐,最后离心获取藻细胞,用无菌水冲洗3次后并用无菌水悬浮,通过测定光密度(D)明确藻密度后用于固定化处理。

取一定体积的藻细胞浓缩液与预先灭菌的SA溶液(固定剂,5%即5 g SA溶解于100 mL水中)1:1(体积比)混合并搅拌均匀形成混合液,将其注入60 mL的注射器中,在距离预冷的 CaCl_2 溶液(交联剂,2%即2 g CaCl_2 溶解于100 mL水中)液面20 cm处,滴入混合液即形成直径4 mm的藻球,于 4°C 冰箱中静置固定一定时间后,用无菌水反复冲洗多次后冰箱保存备用。制备好的固定化藻球如图1所示。



图1 固定化藻球示意

Fig. 1 Schematic diagram of the immobilized microalgae beads

1.4 实验设计

首先,制备不同包埋密度的固定化藻球,分别置于盛有 140 mL 污水(COD:300 mg·L⁻¹、NH₄⁺-N:50 mg·L⁻¹)的 250 mL 锥形瓶中,每个锥形瓶中投放 400 粒藻球,确保每个锥形瓶中最终藻生物量分别为 1×10⁴、1×10⁵、1×10⁶ 和 1×10⁷ cells·mL⁻¹,混合培养 5 d,并每天取样测定污水中 NH₄⁺-N 浓度,每组实验重复 3 次,确定最佳包埋藻密度。其次,将最佳包埋藻密度下制备的藻球应用于污水 COD 浓度分别为 100、200 和 300 mg·L⁻¹,NH₄⁺-N 浓度为 50 mg·L⁻¹ 的污水中,同等条件下培养 5 d,确定微藻 NH₄⁺-N 去除的适宜 COD 浓度。最后,根据上述条件,分别将自由藻和固定藻分别置于 NH₄⁺-N 浓度分别为 30、50 和 70 mg·L⁻¹ 的污水中进行混合培养,且确保不同系统内起始藻密度一致,分析固定藻对 NH₄⁺-N 去除潜力,并与自由藻进行对比,明确固定藻 NH₄⁺-N 去除的优势浓度;同时,测定各锥形瓶中微藻生长情况与 pH 变化,每组实验平行 3 次;此外,同等条件下将所有处理组用锡箔纸包裹黑暗处理,进行异养培养,并与混合培养模式对比,分析不同生长模式下 NH₄⁺-N 去除潜力差异。

1.5 实验测定方法

1.5.1 藻细胞计数

取混合均匀的藻液 1 mL,稀释 10 倍后,用滴管取适量藻液沿血球计数板(25×16)平台两侧的凹槽下边缘注入一小滴,让藻液充满整个计数区,勿产生气泡,吸去流出的多余悬液。静置片刻,使细胞沉降到计数板上,在显微镜(OLYMPUS CX41RF,日本)下计数 3 次,若 3 次计数误差在 10% 以内,则以 3 次平均值计为藻细胞密度(cells·mL⁻¹),否则重复计数直至符合误差要求。

1.5.2 微藻标准计数曲线绘制

取一定体积的微藻浓缩液于玻璃比色皿中,利用紫外可见分光光度计(哈希,DR 6000)进行全波

长扫描,确定最佳吸收峰,并将最佳吸收峰对应的波长(nm)作为实验测定波长。然后,将已知藻密度的微藻浓缩液按照 10 倍梯度逐级稀释 7 个样品(每个样品的藻密度可计算获取),在选定的波长下测定 *D* 值,以 *D* 值为横坐标,藻密度为纵坐标绘制标准计数曲线。

1.5.3 污水参数测定及藻球性能测试

污水 COD 使用 COD 测定仪(哈希 DR1010)进行测定,污水 NH₄⁺-N 采用纳氏试剂分光光度法(HJ535-2009)进行测定;藻球的机械强度测定是将凝胶载体放置于天平上,用盖玻片按压小球,同时观察其形状变化和天平读数,当其不能恢复原来形状时,记为藻球的最大承受力,分别测定 3 次,用平均机械强度作为藻球的机械强度(g)^[15];藻球的传质能力测定是取一定数量藻球置于烧杯中,向其中加入一定体积及浓度的亚甲基蓝溶液,在不同时间段取溶液于 406 nm 下,蒸馏水调零,10 mm 比色皿测定吸光度,根据测得的吸光度大小计算浓度,间接计算藻球的传质速率(mg·h⁻¹)^[12];藻球的生长速率测定是取不同培养时间下的藻球,将其放入加有 10 mL、1.5% 的柠檬酸钠溶液的离心管中,解固 2 h 后摇动,测定 *D* 值,根据标准计数曲线计算其藻密度,进而计算其生长速率(d⁻¹)。

1.6 响应曲面分析

响应面法(RSM)是利用合理的实验设计方法并通过实验得到一定数据,采用多元二次回归方程来拟合变量与响应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数,是解决多变量问题的一种统计方法^[16]。本实验采用 Design-Expert (V. 8.0.6) 软件,以 Box-Behnken Design (BBD) 方法设计了 3 因素 3 水平实验,在因素水平相同的情况下,Box-Behnken 方法常用于因素的非线性影响进行设计,具体见表 1。考察了固定剂浓度、交联剂浓度和交联时间对藻球的机械强度、传质速率和生长速率的影响。应用 RSM 法获得二次回归模型,并得到响应值的拟合方程。

表1 响应曲面分析因素及水平

Table 1 Response surface analysis of factors and levels				
因素	编码	各水平取值		
		-1	0	+1
固定剂浓度/%	A	3	5	7
交联剂浓度/%	B	1	2	3
交联时间/h	C	8	16	24

2 结果与分析

2.1 响应曲面优化及结果分析

按照 BBD 设计了 17 组藻球性能测试实验,通

过 RSM 建立回归模型, 并对回归方程进行方差分析及显著性检验. 结果显示, 机械强度、传质速率和生长速率回归模型的 F 值分别为 14.47、13.97 和 21.24, P -value (Prob > F) 分别为 0.001 0、0.001 1 和 0.000 3, 均小于 0.01, 表明 BBD 优化法可靠, 变量对响应值的影响极为显著, 模型具有统计学意义. 其次, 3 个模型的拟合系数(R^2)分别为 0.949 0、0.947 3 和 0.964 7, 进一步说明模型预测值与实测值拟合度高; 校正决定系数(Adj R^2)分别为 0.883 4、0.879 4 和 0.919 2, 均可解释数据变异性的 85% 以上; 精密度(Adeq Precisor)均大于 4.0, 回归模型可准确用于结果分析.

为了综合考虑固定剂浓度、交联剂浓度和交联时间 3 个因素及其交互作用对固定化藻球机械强度、传质速率和生长速率的影响, 采用 Design-Expert(V. 8.0.6)软件辅助分析, 3D 响应曲面图和等高线如图 2~4 所示. 在等高线图中, 曲线离中心越近, 对应的响应值越大; 等高线形状若呈圆形, 表明两个自变量间的交互效应较弱, 等高线形状若呈椭圆形, 表明两个自变量间存在显著的交互作用. 图 2 展示了固定剂浓度和交联剂浓度对藻球性能的交互作用, 其中图 2(b)显示随着固定剂浓度的增加, 藻球的机械强度显著增大, 但传质速率和生长速率均显著变小; 随着交联剂浓度的增加, 藻球机械强度显著增大, 传质速率反之, 但对生长速率的影响不明显. 方差分析表明, 单因子固定剂浓度对机械强度、传质速率和生长速率的影响都达到

了极显著水平($P < 0.01$), 其与交联剂浓度的交互作用存在但并不显著, 显著性水平分别为 0.628 7、0.648 0 和 0.278 7, 均大于 0.05.

图 3 展示了固定剂浓度和交联时间对藻球性能的交互作用, 其中图 3(b)显示随着固定剂浓度的增加, 藻球的传质速率和生长速率均显著变小; 随着交联时间的增加, 藻球的传质速率和生长速率仍随之变小, 但对机械强度的影响不明显. 方差分析表明, 单因子交联时间对机械强度、传质速率和生长速率的影响均未达到显著水平($P > 0.05$), 其与固定剂浓度的交互作用存在, 尤其对生长速率的交互作用达到显著水平, 显著性水平为 0.024 6, 但对机械强度和传质速率交互作用并不显著, 显著性水平分别为 0.082 9 和 0.127 5, 均大于 0.05.

图 4 展示了交联剂浓度和交联时间对藻球性能的交互作用, 其中图 4(b)显示随着交联剂浓度的增加, 藻球的机械强度显著增大, 但对传质速率和生长速率的影响均呈现先大后小的变化趋势; 随着交联时间的增加, 藻球的生长速率逐渐减小, 但对机械强度和生长速率的影响不明显. 方差分析表明, 单因子交联剂浓度对机械强度、传质速率和生长速率的影响均达到极显著水平($P < 0.01$), 其与交联时间的交互作用存在但并不显著, 显著性水平分别为 0.405 7、0.463 7 和 0.236 8, 均大于 0.05.

从图 2~4 可以看出, 微藻固定化颗粒制备的性能影响中, 对机械强度影响的显著程度为: 固定剂浓度 > 交联剂浓度 > 交联时间; 对传质速率影响

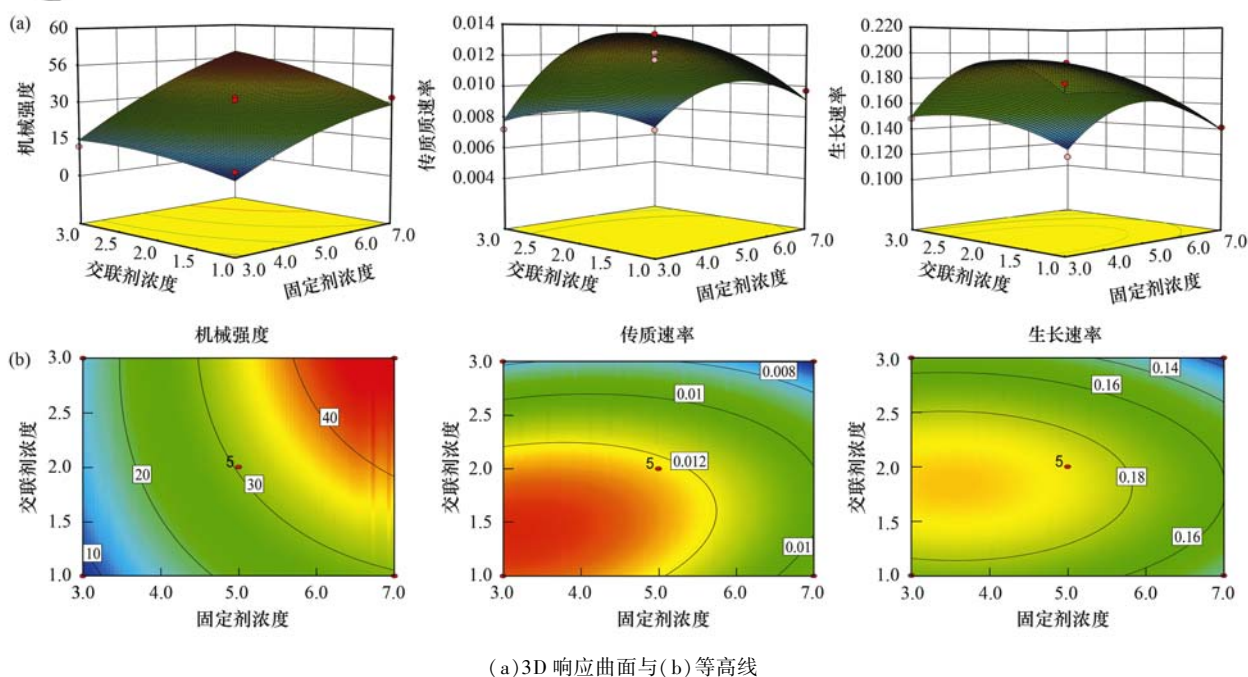


图 2 固定剂浓度和交联剂浓度对固定化微藻颗粒机械强度、传质速率和生长速率交互影响的 3D 响应曲面与等高线

Fig. 2 Interaction effects of the fixing agent concentration and the cross-linking agent concentration on the mechanical strength, the mass transfer rate, and the growth rate of immobilized microalgae beads identified using 3D response surface plots and contour maps

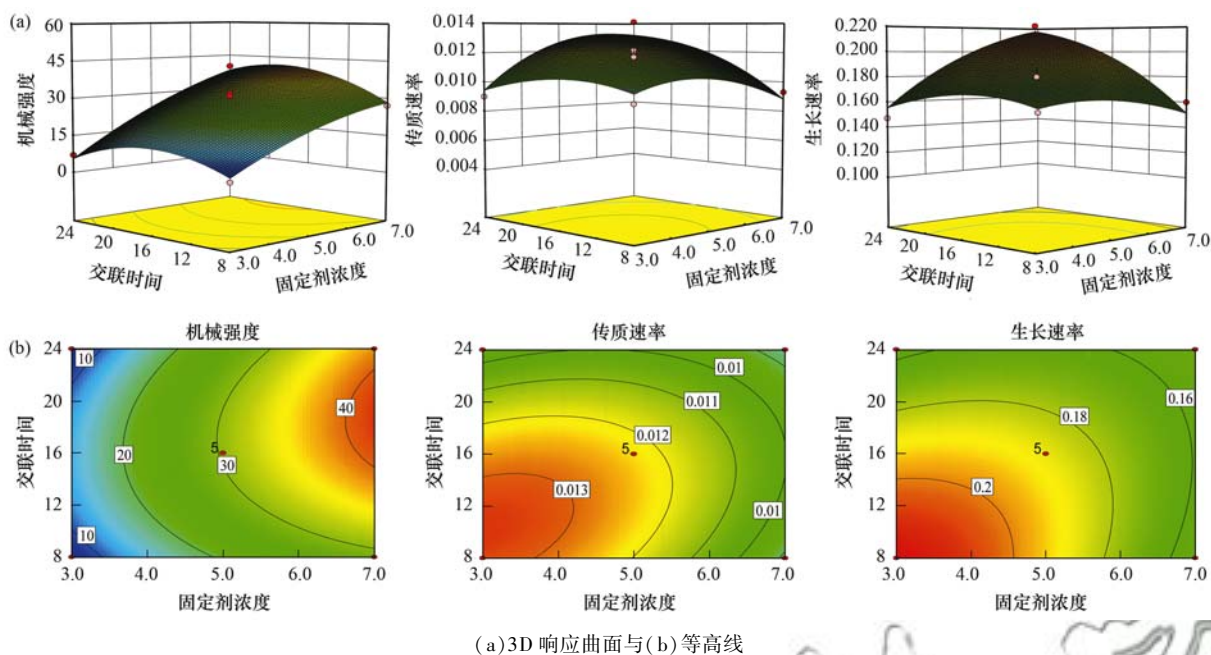


图 3 固定剂浓度和交联时间对固定化微藻颗粒机械强度、传质速率和生长速率交互影响的 3D 响应曲面与等高线

Fig. 3 Interaction effects of the fixing agent concentration and the cross-linking time on the mechanical strength, the mass transfer rate, and the growth rate of immobilized microalgae beads identified using 3D response surface plots and contour maps

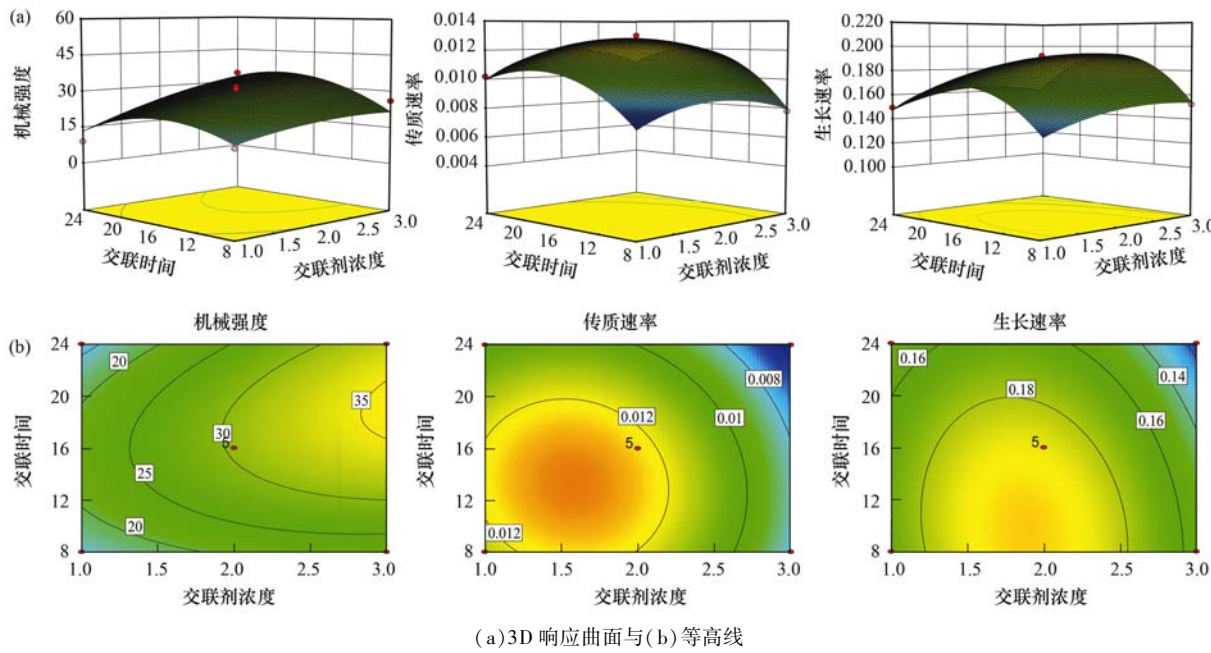


图 4 交联剂浓度和交联时间对固定化微藻颗粒机械强度、传质速率和生长速率交互影响的 3D 响应曲面与等高线

Fig. 4 Interaction effects of the cross-linking agent concentration and the cross-linking time on the mechanical strength, the mass transfer rate, and the growth rate of immobilized microalgae beads identified using 3D response surface plots and contour maps

的显著程度为:交联剂浓度 > 固定剂浓度 > 交联时间;对生长速率影响的显著程度为:固定剂浓度 > 交联剂浓度 > 交联时间. 此时, BBD 模型分析得出的最优条件为固定剂浓度 5.08%、交联剂浓度 1.88% 和交联时间 14.48 h, 预测值机械强度为 29.50, 传质速率为 0.013, 生长速率为 0.190. 为了回归分析预测的参数在实际操作中易于操作, 对优化参数进行取整处理, 最终固定化最优参数条件

为固定剂浓度 5%、交联剂浓度 2% 和交联时间 16 h.

2.2 最佳包埋生物量与有机物适应能力

从图 5(a)中可以看出, 当污水初始 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 固定化藻球对 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的去除能力与包埋生物密度呈正相关关系, 但当系统藻密度为 $1 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 初期表现较高的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 去除率, 培养 2 d 后的去除率为 78.79%, 随后去除率

呈现微弱的降低;而当系统藻密度为 1×10^6 cells·mL⁻¹时,培养 5 d 后,呈现最优的 NH₄⁺-N 去除效率,高达 96.57%;对于系统藻密度为 1×10^4 和 1×10^5 cells·mL⁻¹,NH₄⁺-N 去除率无明显差异,最终去除率为 40% 左右;由此可以看出,固定藻的最佳系统藻密度为 1×10^6 cells·mL⁻¹。

从图 5(b)中可以看出,污水初始 COD 浓度对固定化微藻氨氮去除率存在显著影响。当 COD 为 100 mg·L⁻¹时,NH₄⁺-N 平均去除率在培养第 3 d 为 33.92%,随后降低至 23.30%;当 COD 为 200 mg·L⁻¹时,NH₄⁺-N 去除率逐步提高,培养至第 5 d,NH₄⁺-N 平均去除率为 48.20%;当 COD 为 300 mg·L⁻¹时,藻球呈现处最理想的 NH₄⁺-N 去除能力,在培养第 5 d 后,NH₄⁺-N 平均去除率高达 96.57%。由此看来,COD 浓度也是微藻污水异养 NH₄⁺-N 的关键因子。

2.3 混合/异养模式下微藻氨氮去除潜力

经过 5 d 的污水微藻培养处理,自由生长与

固定化模式在不同生长条件下对氨氮的去除能力如图 6 所示。整体看来,微藻混合培养条件下的 NH₄⁺-N 去除潜力要显著优于异养条件,其次,固定化微藻对 NH₄⁺-N 的去除能力整体也强于自由藻。混合培养条件下[图 6(a)],在 NH₄⁺-N 初始浓度为 30 mg·L⁻¹的条件下,自由藻在培养第 2 d 后对 NH₄⁺-N 的去除率则显著高于固定化微藻,去除率为 $(63.7 \pm 2.6)\%$,到第 3 d 后,自由藻对 NH₄⁺-N 的去除率高达 $(97.8 \pm 0.6)\%$,且随后维持稳定的去除率;在初始浓度分别为 50 和 70 mg·L⁻¹的条件,固定化微藻对 NH₄⁺-N 的去除能力均显著高于自由藻,5 d 后的去除率分别为 $(96.6 \pm 0.1)\%$ 和 $(65.2 \pm 4.5)\%$ 。异养培养条件下[图 6(b)],无论是自由藻还是固定藻对 NH₄⁺-N 的去除率均随其浓度增加而降低,其中固定藻在 3 种浓度梯度下的 NH₄⁺-N 的去除率分别为 $(49.0 \pm 3.1)\%$ 、 $(34.9 \pm 1.6)\%$ 和 $(29.4 \pm 1.3)\%$ 。

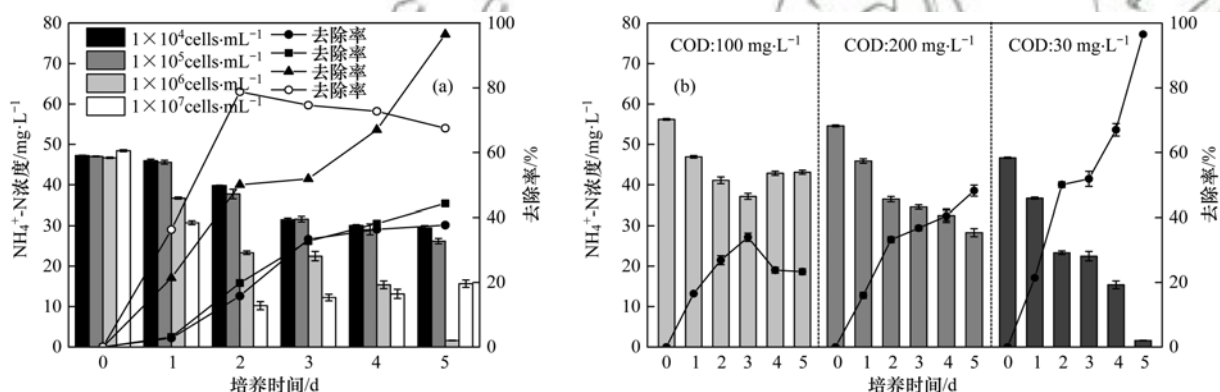


图 5 不同包埋密度和不同 COD 浓度条件下固定化微藻混合培养对 NH₄⁺-N 去除潜力的差异

Fig. 5 Difference in the ammonia nitrogen removal potential of the immobilized microalgae in mixotrophic cultivation with different embedded biomass conditions and different organic matter concentrations

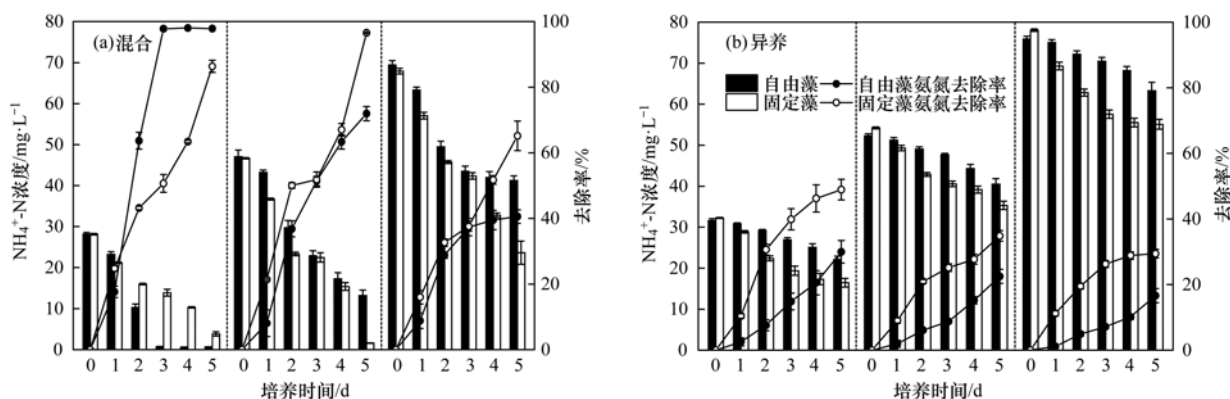


图 6 混合和异养培养模式下自由藻和固定藻对不同浓度 NH₄⁺-N 去除潜力的对比分析

Fig. 6 Comparison analysis of the removal potential of free-living and immobilized microalgae at different concentrations of ammonia nitrogen in mixotrophic and heterotrophic cultivation

自由藻与固定藻污水处理系统在不同培养模式下藻密度和 pH 的变化如图 7 所示。整体看来,微

藻混合培养更适合微藻生物量的富集,其次,微藻固定化处理后藻生物量富集效应低于自由藻。混合

培养条件下[图 7(a)],自由藻和固定藻生物密度随污水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度变大而呈现降低的趋势,当 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 初始浓度为 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,5d 培养后,自由藻和固定藻生物密度分别为 $(126.0 \pm 8.4)\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $(90.8 \pm 4.8)\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$,而当 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 初始浓度为 $70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,自由藻生长则呈现抑制

效应;培养期间 pH 的变化趋势可以看出, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 初始浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,光合作用最为活跃. 异养培养条件下[图 7(b)],藻密度随 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度变化趋势并不明显,尤其固定藻生物密度随培养时间延长变化平缓,在 $70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,最后还呈现生长抑制现象.

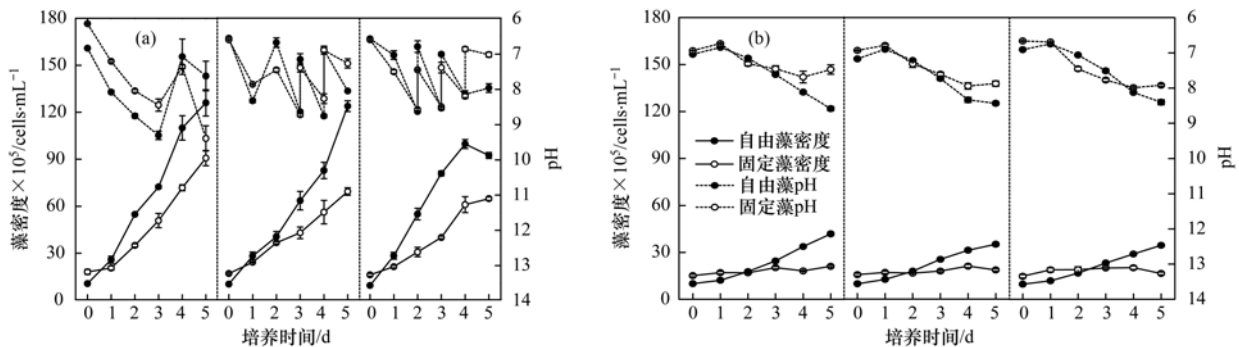


图 7 混合和异养培养模式下自由藻和固定藻处理系统内藻密度和 pH 变化

Fig. 7 Changes in the cell density and pH of free-living and immobilized microalgae under mixotrophic and heterotrophic cultivation

3 讨论

微藻培养耦合污水处理,实现了污水净化和物质回收双重效应,改变了污水处理的传统理念,是污水可持续与资源化处理的典范. 微藻固定化处理是解决藻水分离困难的最佳手段,然而,固定化藻球的性能发挥与其制备条件和赋存环境密切相关. 本研究主要从固定剂浓度、交联剂浓度和交联时间这 3 个因子出发,既要保证制备的藻球具有一定机械强度和传质性能,同时也不能影响微藻包埋体中的生长速率. 实验结果表明,3 个因子存在交互作用,共同决定着藻球的性能. 其中,固定剂浓度是影响藻球机械强度和生长速率最关键的因子,固定剂浓度越大,机械强度越大,而生长速率越低. 主要原因是随着 SA 浓度的增大,它与 CaCl_2 溶液形成的凝胶网格就越紧密,机械强度就会随之增大,但也会缩小物质传输通道,阻碍包埋藻细胞对营养物质的吸收和代谢物的排放,随着时间的延续,营养物质不断耗尽和代谢产物不断增加,导致藻细胞生长速率逐渐降低. 韩丽君等^[17]研究分析了 SA 与不同浓度 Ca^{2+} 的结合情况,结果发现 SA 与 Ca^{2+} 的结合速度与 SA 浓度无明显相关性,但 SA 浓度与海藻酸钙凝胶的强度存在正相关关系. 该结论与本研究一致,但本研究也发现 SA 浓度过高,造粒时容易形成拖尾现象,成球效果差,且固化耗时长,这可能是由于随着 SA 浓度增大,藻球机械强度增大,可塑性变差引起. 然而,对于藻球传质性能影响最大的因子则是交联剂浓度,据报道,当 CaCl_2 溶液浓度较低时, Ca^{2+} 与 Na^+ 的交换速度缓

慢致使凝胶凝固能力弱且皮层薄,传质能力相对较高;但随着 CaCl_2 溶液的增加,交联程度则会随之增大,凝胶表面会迅速形成致密的交联结构,因而藻球的传质能力也会随之降低^[18]. 虽然,交联时间不是影响最显著的因子,但其长短仍会对藻球性能产生影响. 交联时间越长,固定化凝胶的强度越高,内部结构越紧密,不仅不利于传质,也会使包埋细胞活性降低. 蒋宇红等^[19]研究了不同交联时间下 SA 包埋微生物细胞后的性能,指出 18 h 为最适宜时间,该研究与本实验结果相近.

海藻胶是具有多孔性结构的螯合物,为包埋细胞提供了良好的生存环境,保证了细胞的安全^[20]. 而初始包埋藻密度是固定化系统的一个关键因子,本研究中发现当固定藻处理系统中藻密度达到 $1 \times 10^7\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,藻球仅在培养初期表现一定的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效果,随后则出现下降趋势,表明藻球的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 回收性能与包埋藻密度并不呈线性关系. 引起这种变化的主要原因是在有限的空间中随着藻细胞密度的增加,藻球中空隙被最大限度填充,传质阻力增加, O_2 扩散速率降低,微环境中 CO_2/O_2 比率失衡,降低了藻细胞的活力^[21];其次,随着藻类趋光生长的特性,越来越多的藻细胞集中于藻球表面,细胞堆叠形成相互遮掩,导致透光性降低,光合作用减弱,进而影响藻球对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效率^[22];再者,藻细胞极大地占据藻球有限的空间,会使 N 素进入藻球的路线变长,这将会降低藻球性能,同时也会随着细胞增殖削弱聚合键力使其丧失结合藻细胞的能力,从而导致细胞泄漏. 因此,选择合适的包埋藻密度是藻球性能发挥的关键因素.

微藻混合培养是一个较为复杂的生化过程, 涉及光能的吸收转化以及有机物的同化利用等。而微藻能否利用胞外光有机碳取决于其是否具备完善的有机物代谢机制。本研究结果显示, 斜生栅藻是具备利用有机物的机制, 且在一定范围内随着有机物浓度的增加, 微藻生长速度提高, 与米-门氏方程的描述相符。也有研究报道^[23], C/N 是决定微藻油脂富集的关键因子, 认为 C/N 较低, N 源含量过高时不利于油脂的积累, 间接表明有机碳源浓度是限制藻生物量的影响因子。因此, 选择合适的 COD 浓度也是实现微藻 NH_4^+ -N 去除的关键。

微藻对无机 N 的消耗主要是光合作用电子传递引起, 固定化藻球对 NH_4^+ -N 的去除主要依靠藻球的吸附和藻细胞的同化作用^[24]。本实验结果显示, 固定化藻球的颜色由投入初期的浅绿色变为深绿色, 表明微藻吸收 N 元素完成细胞增殖, 并合成细胞内蛋白质、核酸和叶绿素等活性物质。本实验结果表明, 固定藻对 NH_4^+ -N 的去除潜力整体要高于自由藻, 但在低浓度下, 自由藻的优势则更为明显。主要原因是固定藻的传质效率要低于自由藻, 但随着 NH_4^+ -N 浓度的增加, 自由藻生长受到抑制, 而固定藻由于受到凝胶的保护作用, 其耐受浓度增大; 其次, 由于固定化技术可以使藻细胞浓缩于胶球内, 从而大大提高了单位体积内藻细胞的密度, 这可能也是固定藻性能优于自由藻的重要原因。谷氨酰胺合成酶途径是微藻同化 NH_4^+ -N 的重要途径^[25], 而过量吸收 NH_4^+ -N 会抑制叶绿体光合作用从而对微藻生长产生不利影响。当自由藻在 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4^+ -N 下培养就呈现生长抑制现象, 而固定藻由于受到固定化载体的保护, 其生长速率略低于自由藻, 混合培养下并未出现生长抑制现象, 且生长周期大大延长。而对比异养条件下微藻生长情况可以发现, 光照是影响其生长和 NH_4^+ -N 回收的重要因素, 已有研究表明光照不仅能影响光合固碳速率, 也能影响藻细胞的呼吸强度和能荷水平, 藻细胞生长缓慢, 对营养盐需求降低^[26]。而体系中 pH 变化不仅是光合作用强弱的反映, 也是影响微藻 NH_4^+ -N 回收的关键环境因子, pH 过高或过低都将会抑制微藻的生长。其影响机制主要是通过影响微藻细胞内外的酸碱环境、离子平衡和膜结构渗透性, 进而影响传质和代谢过程^[27]。此外, pH 过高也会使 NH_4^+ -N 挥发, 导致微藻不能高效吸收而导致生物量增长缓慢, 影响生物质富集。然而, 藻球使用寿命以及工程化应用依旧是下一步工作的重点。

4 结论

(1) 藻球性能与固定剂浓度、交联剂浓度和交

联时间密切相关。通过 RSM 法耦合 BBD 设计, 固定剂浓度对藻球性能的影响最大, 且当固定剂浓度、交联剂浓度和交联时间分别为 5%、2% 和 16 h 时, 藻球性能最优, 兼备良好的机械强度、传质速率和生长速率。

(2) 藻球中包埋藻密度及其环境 COD 浓度也是其发挥高效 NH_4^+ -N 去除能力的关键因子。高包埋密度虽能在短时间内呈现较大的 NH_4^+ -N 去除能力, 但寿命较短且易造成藻球破裂; 而 COD 浓度与微藻混合培养条件下 NH_4^+ -N 去除能力正相关。本研究指出包埋密度为 $1 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$, COD 为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 藻球 NH_4^+ -N 去除能力最强, 5 d 后 NH_4^+ -N 几乎可完全去除。

(3) 固定藻对高浓度 NH_4^+ -N 的去除潜力显著优于自由藻, 且混合培养条件下的去除潜力要强于异养培养。当污水 NH_4^+ -N 初始浓度约为 50 和 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 固定化微藻混合培养 5 d 后 NH_4^+ -N 去除率分别为 $(96.6 \pm 0.1)\%$ 和 $(65.2 \pm 4.5)\%$, 而异养条件下仅为 $(34.9 \pm 1.6)\%$ 和 $(29.4 \pm 1.3)\%$; 当污水 NH_4^+ -N 初始浓度约为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 自由藻混合培养第 3 d 后对 NH_4^+ -N 的去除率高达 $(97.8 \pm 0.6)\%$, 并维持稳定潜力。

参考文献:

- [1] 冯玉杰, 张照韩, 于艳玲, 等. 基于资源和能源回收的城市污水可持续处理技术研究进展[J]. 化学工业与工程, 2015, 32(5): 20-28.
Feng Y J, Zhang Z H, Yu Y L, et al. Review of sustainable wastewater treatment technologies based on resource recovery and energy utilization [J]. Chemical Industry and Engineering, 2015, 32(5): 20-28.
- [2] Gong H, Jin Z Y, Wang Q B, et al. Effects of adsorbent cake layer on membrane fouling during hybrid coagulation/adsorption microfiltration for sewage organic recovery [J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 317: 751-757.
- [3] Oswald W J, Gotaas H B, Golueke C G, et al. Algae in waste treatment [J]. Sewage and Industrial Wastes, 1957, 29(4): 437-457.
- [4] Ye J F, Liang J Y, Wang L, et al. The mechanism of enhanced wastewater nitrogen removal by photo-sequencing batch reactors based on comprehensive analysis of system dynamics within a cycle [J]. Bioresource Technology, 2018, 260: 256-263.
- [5] Chen Y M, Xu C G, Vaidyanathan S. Microalgae: a robust "green bio-bridge" between energy and environment [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2018, 38(3): 351-368.
- [6] Cabanelas I T D, Arbib Z, Chinalia F A, et al. From waste to energy: microalgae production in wastewater and glycerol [J]. Applied Energy, 2013, 109: 283-290.
- [7] 韩松芳, 金文标, 涂仁杰, 等. 基于城市污水资源化的微藻筛选与污水预处理 [J]. 环境科学, 2017, 38(8): 3347-3353.
Han S F, Jin W B, Tu R J, et al. Selection of microalgae for biofuel using municipal wastewater as a resource [J]. Environmental Science, 2017, 38(8): 3347-3353.

- [8] 王秀锦, 李兆胜, 邢冠岚, 等. 蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa*-15 的异养培养条件优化及污水养殖[J]. 环境科学, 2012, **33**(8): 2735-2740.
Wang X J, Li Z S, Xing G L, *et al.* Optimization of *Chlorella pyrenoidosa*-15 photoheterotrophic culture and its use in wastewater treatment [J]. Environmental Science, 2012, **33**(8): 2735-2740.
- [9] Lam M K, Lee K T. Immobilization as a feasible method to simplify the separation of microalgae from water for biodiesel production[J]. Chemical Engineering Journal, 2012, **191**: 263-268.
- [10] Cheirsilp B, Thawechai T, Prasertsan P. Immobilized oleaginous microalgae for production of lipid and phytoremediation of secondary effluent from palm oil mill in fluidized bed photobioreactor[J]. Bioresource Technology, 2017, **241**: 787-794.
- [11] 张玉琳, 王应军, 李伟雨, 等. 固定化斜生栅藻净化畜禽废水中氨氮和磷的影响因素[J]. 环境工程学报, 2015, **9**(5): 2253-2258.
Zhang Y L, Wang Y J, Li W Y, *et al.* Controlling factors on ammonia-nitrogen and phosphorus removal from livestock wastewater by immobilized *Scenedesmus obliquus* [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, **9**(5): 2253-2258.
- [12] 毛书端, 张小平, 牛曼. 2 种藻菌固定化改进方法的比较及优化研究[J]. 中国环境科学, 2012, **32**(5): 869-874.
Mao S D, Zhang X P, Niu M. Optimization and comparison of two improved methods of algae-bacteria immobilized [J]. China Environmental Science, 2012, **32**(5): 869-874.
- [13] Liu K, Li J, Qiao H J, *et al.* Immobilization of *Chlorella sorokiniana* GXNN 01 in alginate for removal of N and P from synthetic wastewater[J]. Bioresource Technology, 2012, **114**: 26-32.
- [14] Zhang T Y, Wu Y H, Zhu S F, *et al.* Isolation and heterotrophic cultivation of mixotrophic microalgae strains for domestic wastewater treatment and lipid production under dark condition [J]. Bioresource Technology, 2013, **149**: 586-589.
- [15] Chen G H, Li J, Tabassum S, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) sludge immobilized by waterborne polyurethane and its nitrogen removal performance-a lab scale study[J]. RSC Advances, 2015, **5**(32): 25372-25381.
- [16] 宋伟龙, 戴友芝, 唐彬, 等. Box-Behnken 响应曲面法优化高聚复配絮凝剂制备条件[J]. 环境工程学报, 2014, **8**(7): 2753-2759.
Song W L, Dai Y Z, Tang B, *et al.* Optimization on preparation technique of polymer composite flocculants using Box-Behnken response surface methodology [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, **8**(7): 2753-2759.
- [17] 韩丽君, 范晓, 郑乃余. 用于固定化载体的褐藻酸钙凝胶条件的研究[J]. 海洋科学, 1992, (3): 56-59.
Han L J, Fan X, Zheng N Y. Study on the Ca-alginate gelling condition as stablization garrier [J]. Marine Sciences, 1992, (3): 56-59.
- [18] Soo C L, Chen C A, Bojo O, *et al.* Feasibility of marine microalgae immobilization in alginate bead for marine water treatment: bead stability, cell growth, and ammonia removal [J]. International Journal of Polymer Science, 2017, **2017**: 6951212.
- [19] 蒋宇红, 黄霞, 俞毓馨. 几种固定化细胞载体的比较[J]. 环境科学, 1993, **14**(2): 11-15.
- [20] Syiem M B, Bhattacharjee A. Structural and functional stability of regenerated cyanobacteria following immobilization[J]. Journal of Applied Phycology, 2015, **27**(2): 743-753.
- [21] Mujtaba G, Rizwan M, Kim G, *et al.* Removal of nutrients and COD through co-culturing activated sludge and immobilized *Chlorella vulgaris* [J]. Chemical Engineering Journal, 2018, **343**: 155-162.
- [22] 梁晶晶, 蒋霞敏, 江茂旺, 等. 固定化微绿球藻去除 NH_4^+ -N、 PO_4^{3-} -P 效果的研究[J]. 水生生物学报, 2016, **40**(5): 1033-1040.
Liang J J, Jiang X M, Jiang M W, *et al.* Study on removal rate of NH_4^+ -N and PO_4^{3-} -P by immobilized *Nannochloropsis oculata* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, **40**(5): 1033-1040.
- [23] Singhasuwan S, Choorit W, Sirisansaneeyakul S, *et al.* Carbon-to-nitrogen ratio affects the biomass composition and the fatty acid profile of heterotrophically grown *Chlorella* sp. TISTR 8990 for biodiesel production[J]. Journal of Biotechnology, 2015, **216**: 169-177.
- [24] Gao F, Li C, Yang Z H, *et al.* Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal [J]. Ecological Engineering, 2016, **92**: 55-61.
- [25] Chen H, Zheng Y L, Zhan J, *et al.* Comparative metabolic profiling of the lipid-producing green microalga *Chlorella* reveals that nitrogen and carbon metabolic pathways contribute to lipid metabolism[J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, **10**: 153.
- [26] Thawechai T, Cheirsilp B, Louhasakul Y, *et al.* Mitigation of carbon dioxide by oleaginous microalgae for lipids and pigments production: Effect of light illumination and carbon dioxide feeding strategies[J]. Bioresource Technology, 2016, **219**: 139-149.
- [27] Sutherland D L, Howard-Williams C, Turnbull M H, *et al.* The effects of CO_2 addition along a pH gradient on wastewater microalgal photo-physiology, biomass production and nutrient removal[J]. Water Research, 2015, **70**: 9-26.

CONTENTS

Health Benefit Evaluation for Air Pollution Prevention and Control Action Plan in China	WU Wei-ling, XUE Wen-bo, WANG Yan-li, <i>et al.</i> (2961)
Scenario Simulation Study Constrained by the Ambient Air Quality Standards in Nanjing	XIE Fang-jian, SHI Zhi-hao, LI Jing-yi, <i>et al.</i> (2967)
Characteristics and Source Analysis of Water-Soluble Ions in PM _{2.5} in Zhengzhou	YANG Liu-ming, WANG Shen-bo, HAO Qi, <i>et al.</i> (2977)
Relationship Between Atmospheric Visibility and PM _{2.5} Concentrations and Distributions	WANG Ji-kang, ZHANG Heng-de, GUI Hai-lin, <i>et al.</i> (2985)
Characteristics of VOCs Emitted from the Rubber Tire Manufacturing Industry Based on the Inverse-Dispersion Calculation Method	BAI Hong-xiang, WEI Wei, WANG Ya-ting, <i>et al.</i> (2994)
Stable Carbon Isotope Compositions and Source Apportionments of Volatile Aromatic Compounds in the Urban Atmosphere of Taiyuan, China	LI Ying-hui, YAN Yu-long, LI Zhi-sheng, <i>et al.</i> (3001)
Spectral Distribution and Pollution Characteristics of Polybrominated Diphenyl Ethers in the Air of an Office Building Clustered Area	WANG Lin, DENG Ya-jia, LIAO Xiao-yong, <i>et al.</i> (3008)
Characterizing Chromophoric Dissolved Organic Matter in Key Lakes in the Middle Reaches of the East Route of the South-North Water Diversion Project	ZHANG Liu-qing, PENG Kai, ZHOU Lei, <i>et al.</i> (3018)
Characteristics of Hydrogen and Oxygen Isotopes in Different Water Bodies in Hilly and Gully Regions of the Loess Plateau	ZHANG He-hui-zi, YU Kun-xia, LI Zhan-bin, <i>et al.</i> (3030)
Analysis of Total Organic Carbon Source Differences Between New and Old Cascade Reservoirs using Carbon and Nitrogen Isotopes	WANG Cong-feng, HU Zi-long, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (3039)
Pollution Sources and the Stratification Effects on Water Quality in Lijiahe Reservoir	XU Jin, HUANG Ting-lin, LI Kai, <i>et al.</i> (3049)
Distribution and Potential Risk of Organochlorine Pesticides in the Soil of a Submerged Area Around Miyun Reservoir	WANG Xia, ZHANG Qing-zhuo, ZHAO Gao-feng, <i>et al.</i> (3058)
Distribution, Sources, and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Surface Waters of the Yinchuan Wetlands	TIAN Da-nian, DANG Li-hui, DING Run-mei, <i>et al.</i> (3068)
Comparison of the Geochemical Characteristics of Karst Springs of a Vertically Zoned Climate Region under Human Activity: A Case of Shuifang Spring and Bitan Spring in the Jinfo Mountain Area, Chongqing	XIE Guo-wen, YANG Ping-heng, SHENG Ting, <i>et al.</i> (3078)
Groundwater Chemical Characteristics and Analysis of Their Controlling Factors in an Alluvial Fan of Jianjiang River	TANG Jin-ping, ZHANG Qiang, HU Yang, <i>et al.</i> (3089)
Dynamics of Epilithic Algae Communities and Their Relationship with Environmental Factors During Storage and Non-storage Periods in the Three Gorges Reservoir	FU Jun-ke, LIU Li, HE Xin-yu, <i>et al.</i> (3099)
Influence of Rainfall on the <i>in situ</i> Growth of Dominant Algae Species in Xiangxi River	WENG Chuan-song, LIU De-fu, ZHANG Jia-lei, <i>et al.</i> (3108)
Decomposition of <i>Myriophyllum aquaticum</i> and the Associated Release of Nitrogen and Phosphorus	TONG Xiong, LUO Pei, LIU Feng, <i>et al.</i> (3118)
Optimization of the Parameters for Microalgae Immobilization and Analysis of Its Recovery Potential for Ammonia Nitrogen in Wastewater	LIU Xiang, WANG Jing-yao, WU Juan-juan, <i>et al.</i> (3126)
Ammonium Adsorption Characteristics in Aqueous Solution by Titanate Nanotubes	ZHANG Zheng, FENG Chang-sheng, ZHANG Xiao-nui, <i>et al.</i> (3135)
Application of Fenton-like Photocatalysts Based on Defect Reconstruction in Degradation of Dye Wastewater	TANG Qing-wen, AN Xiao-qiang, LAN Hua-chun, <i>et al.</i> (3146)
Degradation of RBK5 with Peroxymonosulfate Efficiently Activated by N-Doped Graphene	YU Yong-bo, HUANG Wan, DONG Zheng-yu, <i>et al.</i> (3154)
Effect of Cu ²⁺ on Denitrification Using NO ₂ ⁻ as an Electron Acceptor	MAI Wen-ke, PENG Yong-zhen, JI Jian-tao (3162)
Start-up and Performance Optimization of a CANON Pilot Reactor	SUN Qing-hua, WU Di, ZHOU Jia-zhong, <i>et al.</i> (3169)
Effects of Aerobic Carbon Sources on Biofilm with Simultaneous Phosphate Removal and Enrichment	XU Lin-jian, PAN Yang, ZHANG Hao, <i>et al.</i> (3179)
Effect of Organic Characteristics on Sludge Settability in an AAO System	LIU Xiao-bo, YUAN Lin-jiang, CHEN Xi, <i>et al.</i> (3186)
Effect of Free Nitrous Acid on the Activity of Nitrifying Bacteria in Different Sludge Concentrations Under Anoxic Conditions	LÜ Xin-tao, ZHOU Tong, TIAN Xia-di, <i>et al.</i> (3195)
Stability of ZVI-dependent Autotrophic Denitrification by ANAMMOX Bacteria	ZHANG Wen-jing, HUANG Yong, BI Zhen, <i>et al.</i> (3201)
Effect of On-line NaClO Backwashing on Microbial Communities in an Inverted A ² O-MBR System	WANG Xu-dong, GAO Miao, WANG Ying-ying, <i>et al.</i> (3208)
Evaluation of Organic Matter Release and Economy for Various Pretreatments of Sewage Sludge	YUAN Yue, TAN Xue-jun, ZHENG She-yu (3216)
Model-based Optimization for the Coordinated Supply of Clear and Reclaimed Water in the Central Districts of Beijing, China	ZHANG Tian-yuan, TAN Qian, WANG Shu-ping (3223)
Occurrence and Removal of N-nitrosamines in the Wastewater Treatment Plants Using Different Treatment Processes	LIU Wang-rong, ZHAO Jiang-liang, YANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (3233)
Occurrence of Tramadol and Fentanyl Use in Domestic Wastewater in Beijing	ZHOU Zi-lei, DU Peng, BAI Ya, <i>et al.</i> (3242)
Pollution Level and Ecological Risk of Typical Antibiotics in Guiyang Wastewater Treatment Plants	YANG Zhao, LI Jiang, ZHANG Sheng-hu, <i>et al.</i> (3249)
Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Various Livestock Feedlot Soils of the Hilly Purple Soil Region	CHENG Jian-hua, TANG Xiang-yu, LIU Chen (3257)
Effects of Tetracycline on Microbial Communities and Antibiotic Resistance Genes of Vermicompost from Dewatered Sludge	CHEN Jing-yang, XIA Hui, HUANG Kui, <i>et al.</i> (3263)
Fate of Antibiotic Resistance Genes and Virulence Genes in Enterococci During Anaerobic Digestion Process of Thermal Hydrolyzed Sludge	LI Hui-li, PEI Yuan-mei, LI Shan, <i>et al.</i> (3270)
Effect of Co-composting of Chicken Manure with Chinese Medicinal Herbal Residues on Antibiotic Resistance Genes	WU Jin-ping, CHEN Jian-wen, LIU Yong, <i>et al.</i> (3276)
Spatio-temporal Patterns of Microbial Communities and Their Driving Mechanisms in Subalpine Lakes, Ningwu, Shanxi	WANG Xue, LIU Jin-xian, CHAI Bao-feng, <i>et al.</i> (3285)
Community Structure Characteristics of <i>nirS</i> Denitrifying Bacteria of Spring Typical Parkland Waterbodies in Shijiazhuang City	ZHANG Yi-ran, LI Zai-xing, SUN Yue, <i>et al.</i> (3295)
Differential Responses of Rhizospheric <i>nirK</i> - and <i>nirS</i> -type Denitrifier Communities to Different Phosphorus Levels in Paddy Soil	ZHAN Yu, GAO Dan-dan, SHENG Rong, <i>et al.</i> (3304)
Comparison of Soil Bacterial Community Structure Between Paddy Fields and Dry Land in the Huixian Karst Wetland, China	JIA Yuan-hang, JIN Zhen-jiang, YUAN Wu, <i>et al.</i> (3313)
Cd Balance Analysis of a Typical Rice Paddy System in Central Hunan	JIANG Kai, DENG Xiao, ZHOU Hang, <i>et al.</i> (3324)
Effects of an Amendment on Cadmium Transportation in the Rhizosphere Soil-Rice System	LI Yi-chun, WANG Yan-hong, TANG Ming-deng, <i>et al.</i> (3331)
Isolation of Heavy Metal Immobilizing and Plant Growth-Promoting Bacteria and Its Effects on Reducing Heavy Metal Accumulation in Wheat	HAN Hui, WANG Xiao-yu, CAI Hong, <i>et al.</i> (3339)
Differences in the Cadmium-Enrichment Capacity and Subcellular Distribution and Chemical Form of Cadmium in Different Varieties of Pepper	PENG Qiu, LI Tao, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (3347)
Effect of Phosphorus Addition on N ₂ O Emissions from Rice-Rapeseed Rotation Soils	SUN Zheng, SU Rong-lin, XU Peng, <i>et al.</i> (3355)
Impact of Land Use Type on the Stability and Organic Carbon Content of Soil Aggregates in the Weibei Dryland	LIU Jie, MA Yan-ting, WANG Xian-ling, <i>et al.</i> (3361)
Vertical Distribution Characteristics of PAHs in Soils with Different Land Use Types During Rapid Urbanization	LU Yin-tao, XIANG Xin-xin, ZHANG Shi-chao, <i>et al.</i> (3369)
Pollution Levels, Sources, and Spatial Distribution of Phthalate Esters in Soils of the West Lake Scenic Area	LIAO Jian, DENG Chao, CHEN Yi, <i>et al.</i> (3378)
Impact of Biochar on Soil Bulk Density and Aggregates of Lou Soil	LI Qian-qian, XU Chen-yang, GENG Zeng-chao, <i>et al.</i> (3388)