

污水氮磷浓度对云南本地浮萍生长及氮磷去除的影响*

鲍姝^{1,2,3} 方扬^{1,3} 靳艳玲^{1,3} 赵永贵^{1,2,3} 赵海^{1,3**}

¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041

²中国科学院大学 北京 100049

³中国科学院环境与应用微生物重点实验室 成都 610041

摘要 为揭示污水氮磷浓度对不同浮萍生长及水处理的影响规律,研究了户外条件下云南本地的4个浮萍品种,本地绿萍 (*Lemna japonica*)、本地少根 (*Landoltia punctata*)、本地多根 (*Spirodela polyrrhiza*) 和本地芜萍 (*Woffia globosa*) 在不同氮磷浓度污水中的生长情况. 结果表明:随着污水氮磷浓度升高,浮萍处理系统对氮磷的去除总量升高,利用率降低;不同浮萍品种在不同氮磷浓度污水中的最大生长速率、氮磷含量和氮磷固定能力存在明显的种属差异. 其中本地多根有最高的生长速率 ($7.38 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) 和氮固定能力 ($336.47 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), 本地绿萍有最高的磷含量 (2.35%) 和磷固定能力 ($123.07 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), 本地芜萍有最高的蛋白含量 (37.32%). 针对本地绿萍的进一步研究表明:本地绿萍在不同氮磷浓度污水中的生长与体内的氮磷含量和pH有关,高氮磷含量的本地绿萍可以利用体内储存的氮磷在寡营养水体中短时间内进行快速生长;废水的氨氮浓度小于 20 mg L^{-1} , pH 8 (± 0.5) 时本地绿萍生长较快;当废水氨氮浓度大于 20 mg L^{-1} 时, pH 6.5 (± 0.5) 时可防止 NH_4^+ 大量转化为 NH_3 , 减少对本地绿萍的毒害作用. 本研究揭示了污水氮磷浓度对不同浮萍品种的生长、氮磷含量和氮磷去除的影响不同,实际应用中可根据不同的目的选用不同的浮萍品种. 图4 表4 参26

关键词 浮萍; 氮磷浓度; 生长; 氮磷含量; 氮磷去除率; pH; 污水处理

CLC X703 : Q949.71+7.3

Influence of ammonium and phosphate concentration of sewage on the growth, nitrogen and phosphorus removal of duckweed in Yunan*

BAO Shu^{1,2,3}, FANG Yang^{1,3}, JIN Yanling^{1,3}, ZHAO Yonggui^{1,2,3} & ZHAO Hai^{1,3**}

¹ Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

² Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

³ Key Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract The growth of four Yunnan duckweed species (*Lemna japonica*, *Landoltia punctata*, *Spirodela polyrrhiza*, *Woffia globosa*) was investigated in sewage of different nitrogen and phosphorus concentrations to understand nitrogen and phosphorus removal of sewage. Results showed that with the increase of nitrogen and phosphorus concentration, the removal amount of nitrogen and phosphorus increased (N: 0.31-7.13 g; P: 0.01-0.82 g) while the utilization rate decreased (N: 99.92%-7.20%; P: 66.54%-3.74%). Significant differences were observed among the four duckweed species in maximum growth rate, nitrogen, phosphorus content and fixation ability. *Spirodela polyrrhiza* showed the highest growth rate ($7.38 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) and nitrogen fixation rate ($336.47 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); *Lemna japonica* showed the highest phosphorus content (2.35%) and phosphorus fixation rate ($123.07 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); *Woffia globosa* showed the highest nitrogen content (37.32%). Further study on *L. japonica* revealed that its growth was relevant with its nitrogen and phosphorus content and the pH of sewage. *L. japonica* with high nitrogen and phosphorus content showed rapid growth in oligotrophic sewage for the first few days. With ammonia nitrogen concentration below 20 mg L^{-1} , pH 8 (± 0.5) was optimum for duckweed growth. But pH 6.5 (± 0.5) would prevent the transformation from NH_4^+ to NH_3 , and reduce the toxicity of NH_3 to duckweed in sewage with ammonia nitrogen concentration

收稿日期 Received: 2013-04-15 接受日期 Accepted: 2013-04-27

*国家科技支撑计划项目 (2011BAD22B03)、中国科学院创新工程重要方向项目 (KSCX2-EW-J-22, KSCX2-EW-G-1-1) 和中国科学院“西部之光”人才培养项目 (Y2C5021100) 资助 Supported by the National Sci-tech Pillar R & D Program of China (2011BAD22B03), the Innovative Programs of The Chinese Academy of Sciences (CAS) (KSCX2-EW-J-22 and KSCX2-EW-G-1-1) and the “Western Light” Talent Cultivation Program of CAS (Y2C5021100)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: zhaohai@cib.ac.cn)

higher than 20 mg L⁻¹. The result of this study revealed the effect of sewage concentration on the growth rate, nitrogen, phosphorus content and the fixation ability of different duckweed species, indicating that appropriate duckweed species can be selected for specific objectives in future practical application.

Keywords duckweed; nitrogen and phosphorus concentration; growth; nitrogen and phosphorus content; nitrogen and phosphorus removal; pH; sewage treatment

富含氮、磷元素的污水排放过多会污染水体,造成水体富营养化^[1],而氮磷元素对于植物来说又是生长发育过程中必需的大量元素^[2],因此利用水生植物处理污水,实现对氮磷元素的资源化回收利用已成为环境领域研究的热点^[3].在众多水生植物种类中,浮萍科植物是被研究应用较多的类群之一^[4-6].目前,浮萍科植物(Lemnaceae)共有5个属37个种^[7],包括多根紫萍属(*Spirodela*)、少根紫萍属(*Landoltia*)、浮萍属(*Lemna*)、芜萍属(*Wolffia*)和扁平无根萍属(*Wolffiella*),世界各地均有分布.与其他水生植物相比,浮萍科植物体内的氮磷含量较高,能大量吸收污水中的氮磷^[8];易于收获和打捞;收获的生物质蛋白和淀粉含量高,可作为高蛋白饲料^[9]和生物质能源的原料^[10]等.

研究表明,浮萍生长对氮磷的直接吸收是其净化作用的主要机制之一^[11],而浮萍的生长和氮磷吸收与水体的氮磷浓度有关^[12].因此研究最适合浮萍生长的氮磷浓度,以及在不同氮磷浓度下浮萍对污水氮磷的去除显得尤为重要.然而目前相关方面的研究较少.Xu等人通过户外小体系(体积0.2 L)研究了不同稀释倍数的猪场废水对多根紫萍(*Spirodela polyrrhiza*)生长的影响及污水去除的影响^[13],结果表明稀释倍数6%(氮氮52.1 mg L⁻¹,总磷15.9 mg L⁻¹)时浮萍生长最快,稀释倍数越低,氮磷去除率越高;宋关玲等人的实验室研究(体积0.3 L)结果表明,青萍(*Lemna minor*)在配水磷浓度0.5 mg L⁻¹时有最高的叶状体数相对增长率和蛋白含量^[14].这些研究基本仅限于实验室或者户外小体系,户外大体系的研究几乎未见报道,而户外大体系更接近于实际应用,具有重要的现实意义.

我们基于户外大体系培养,针对4种云南本地浮萍,研究了最适合不同浮萍品种生长的氮磷浓度,不同氮磷浓度下不同浮萍品种的氮磷含量和对氮磷的去除效率,浮萍体内氮磷含量和pH值对浮萍生长的影响,以期今后大范围的实际应用提供重要的基础数据和理论指导.

1 材料与方法

1.1 品种和培养条件

4个云南本地浮萍品种,本地绿萍(*Lemna japonica*)、本地少根(*Landoltia punctata*)、本地多根(*Spirodela polyrrhiza*)和本地芜萍(*Wolffia globosa*),均采集自云南滇池附近的污水池(102°47'09.44"E, 24°51'40.46"N,海拔1 888 m),收集后的浮萍放于生活污水(pH 7-8, COD 50-100 mg L⁻¹,氨氮 20 mg L⁻¹左右,总磷 2 mg L⁻¹左右)中进行室外驯化培养.

实验在云南省呈贡县乌龙村污水厂旁空旷的平地(102°47'09.44"E, 24°51'40.46"N,海拔1 887 m)上进行,试验培养容器为长宽高分别为82 cm、61 cm、67 cm的塑料方桶(培养面积0.5 m²,水深0.5 m,水量250 L),每组实验各设置两个平行.实验所用废水来自混有部分滇池水的生活污水

(氨氮17.7 mg L⁻¹,硝态氮0.27 mg L⁻¹,亚硝态氮0.11 mg L⁻¹,总氮21.83 mg L⁻¹,总磷3.04 mg L⁻¹,COD 50 mg L⁻¹,浊度12 NTU, pH 7.5)通过稀释或补加(NH₄)₂SO₄和KH₂PO₄得到不同氮磷浓度的实验配水,并用H₂SO₄和NaOH调节培养液的pH.

1.2 实验方法

1.2.1 污水氮磷浓度对不同浮萍品种生长及氮磷去除率的影响

4个本地浮萍品种,每个品种设计一组实验,每组实验各设置7个氮磷浓度梯度的实验配水,各梯度氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度(单位:mg L⁻¹)分别约为:1号(0.5/0.1),2号(5/1),3号(10/2),4号(15/3),5号(20/4),6号(30/6),7号(60/12).4个本地浮萍品种的鲜样接种量(约100%覆盖水面)分别为:本地少根190 g m⁻²,本地绿萍275 g m⁻²,本地多根320 g m⁻²,本地芜萍278 g m⁻².在白天平均光照22-50.54 klx,平均气温20-35 °C和pH 7-8的条件下培养8 d后测定水体氨氮、硝态氮、亚硝态氮和可溶性磷酸盐浓度,一次性捞取全部浮萍并用清水洗净,洗衣机甩干(甩两次,每次1 min)后60 °C过夜烘干(电热鼓风干燥箱,型号为101A-1,上海实验仪器厂有限公司),打粉(大德药机,型号为DFT-40,温岭市林大机械有限公司).测定浮萍干粉中的氮磷含量.

1.2.2 连续培养条件下污水氮磷浓度对本地绿萍生长的影响

设置与上述(1)相同的浓度梯度,每个方桶按鲜样接种量412.5 g m⁻²(约150%覆盖水面)接种本地绿萍.在白天平均光照12-42 klx,平均气温13-20 °C和pH 7-8的条件下培养16 d.期间每4天测定一次水样,并添加适当(NH₄)₂SO₄和KH₂PO₄,使水体氨氮浓度和可溶性磷酸盐浓度维持在实验最初水平;同时收取多余浮萍,使覆盖量维持在412 g m⁻²左右.捞取的浮萍处理方式同上.

1.2.3 不同pH下污水氮磷浓度对本地绿萍生长的影响

设计两组实验,每组设置11个氮磷浓度梯度的实验配水,各梯度氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度(mg L⁻¹)分别约为:1号(0.5/0.1),2号(5/1),3号(10/2),4号(15/3),5号(20/4),6号(30/6),7号(45/9),8号(60/12),9号(100/20),10号(200/40),11号(300/60).每个方桶按鲜样接种量412.5 g m⁻²(约150%覆盖水面)接种本地绿萍.在白天平均光照10-29 klx,平均气温6-15 °C的条件下培养16 d.期间每4天测定一次水样,一组调节pH,使其始终维持在6.5(±0.5),另一组做对照,维持pH在8(±0.5).所有桶都添加适当(NH₄)₂SO₄和KH₂PO₄,使水体氨氮浓度和可溶性磷酸盐浓度维持在实验最初水平;同时收取多余浮萍,使覆盖量维持在412 g m⁻²左右.捞取的浮萍处理方式同上.

1.3 分析方法

浮萍氮含量测定:H₂SO₄-H₂O₂消煮·凯氏定氮法.

浮萍体内磷含量的测定:H₂SO₄-H₂O₂消煮·钼锑抗比色法.

水样的测定:5 000 r/min离心(台式高速离心机H/

T16MM, 湖南赫西仪器装备有限公司) 10 min后取上清液分析, 氨氮、可溶性磷酸盐、硝态氮、亚硝态氮测定采用德国WTW多功能水质分析仪(The Spectroquant Analysis System PhotoLab 6100). 试剂为默克(Merck)公司配套试剂.

pH值测定: 采用德国WTW公司pH/Oxi 340i溶氧仪.

光照、温度测定: 杭州泽大仪器有限公司ZDR-2W14在线记录仪, 24 h在线监测, 每10分钟记录一次.

计算公式:

干基增长率($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$) = (收获时干物质质量(g) - 接种时干物质质量(g)) / (培养时间(d) × 培养面积(m^2))

氮(磷)固定能力($\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$) = (收获时氮(磷)含量(%) × 收获时干物质质量mg - 接种时氮(磷)含量(%) × 接种时干物质质量(mg)) / (培养时间(d) × 培养面积(m^2))

系统对氮磷的去除量(g) = 原污水氮(磷)总量(g) - 收获污水氮(磷)总量(g)

浮萍对氮(磷)的利用率(%) = 浮萍体内氮(磷)的固定量(g) / 原污水氮(磷)总量 × 100%

系统对氮(磷)的去除率(%) = 污水氮(磷)去除量 / 原污

水氮(磷)总量 × 100%

$\text{TN}(\text{mg L}^{-1}) = \text{氨氮}(\text{mg L}^{-1}) + \text{硝态氮}(\text{mg L}^{-1}) + \text{亚硝态氮}(\text{mg L}^{-1})$

所有结果均用平均值表示, 所有数据均计算标准偏差.

2 结果与讨论

2.1 污水氮磷浓度对不同浮萍品种生长及氮磷去除率的影响

2.1.1 本地少根 随着氮磷浓度升高, 干基增长率逐渐降低(图1A), 含水率先升高后降低(图1B), 浓度1(氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度为0.5/0.1 mg L^{-1} , 下同)干基增长率最高达6.84 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$, 浓度7(60/12 mg L^{-1})干基增长率仍维持在5.42 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$, 说明本地少根能耐受较高浓度的氨氮. 浓度5(20/4 mg L^{-1})蛋白含量和氮固定能力最大, 分别为28.76%(图1C)和299.12 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1). 浓度6(30/6 mg L^{-1})磷含量和磷固定能力最大, 分别为0.93%(图1D)和58.81 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1). 浓度1(1/0.2 mg L^{-1})浮萍对氮磷的利用率有最大值, 分别为59.83%和75.36%(表2).

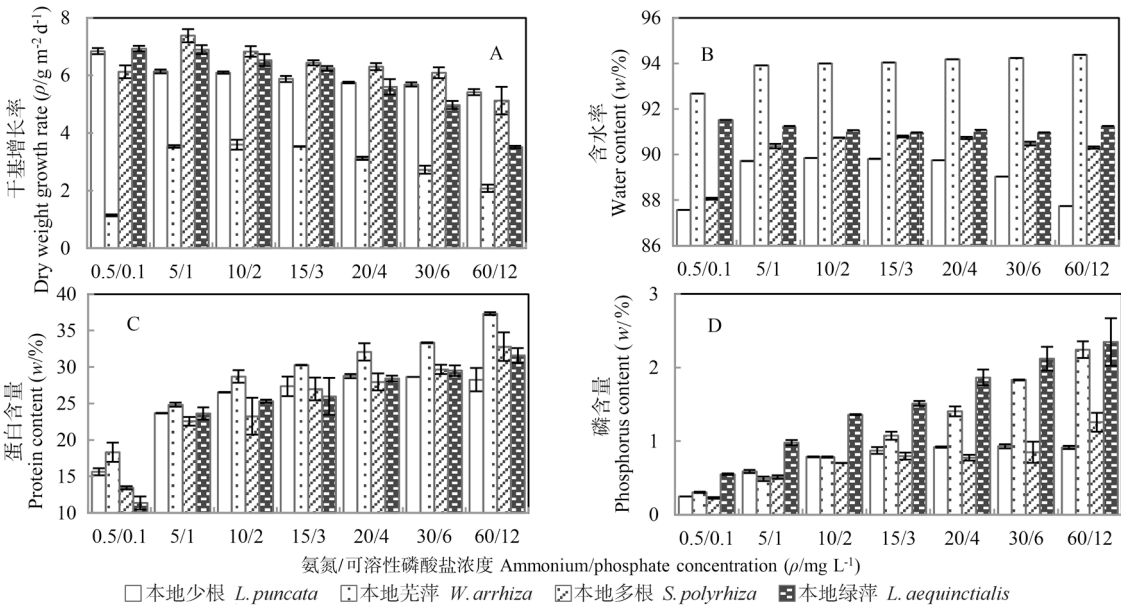


图1 不同浮萍品种在不同氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度下的干基增长率(A)、含水率(B)、蛋白含量(C)和磷含量(D).
Fig. 1 Influence of ammonium concentration/phosphate concentration in sewage on dry weight growth rate (A), moisture content (B), protein content (C) and phosphorus content (D) of different duckweed species.

表1 不同浮萍品种在不同氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度(AC/PC)下的氮固定能力(NFA)和磷固定能力(PFA)
Table 1 Influence of ammonium concentration (AC)/phosphate concentration (PC) in sewage on nitrogen fixation ability (NFA) and phosphorus fixation ability (PFA) of different duckweed species

氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度 AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)		0.5/0.1	5/1	10/2	15/3	20/4	30/6	60/12
氮固定能力 NFA ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	本地少根 <i>L. punctata</i>	150.85 (± 0.01)	245.65 (± 0.00)	283.82 (± 0.00)	285.86 (± 0.01)	299.12 (± 0.00)	294.57 (± 0.00)	277.43 (± 0.02)
	本地芜萍 <i>W. globosa</i>	46.45 (± 0.01)	180.60 (± 0.00)	221.29 (± 0.00)	233.91 (± 0.00)	230.28 (± 0.01)	220.7 (± 0.00)	216.04 (± 0.01)
	本地多根 <i>S. polyrrhiza</i>	69.73 (± 0.00)	265.90 (± 0.02)	258.63 (± 0.05)	307.18 (± 0.02)	317.39 (± 0.01)	336.47 (± 0.02)	336.31 (± 0.01)
	本地绿萍 <i>L. japonica</i>	39.77 (± 0.01)	212.35 (± 0.02)	223.20 (± 0.01)	221.00 (± 0.03)	227.16 (± 0.01)	211.57 (± 0.00)	163.62 (± 0.01)
磷固定能力 PFA ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	本地少根 <i>L. punctata</i>	5.28 (± 0.00)	33.10 (± 0.00)	50.22 (± 0.00)	55.68 (± 0.00)	58.63 (± 0.00)	58.81 (± 0.00)	55.11 (± 0.00)
	本地芜萍 <i>W. globosa</i>	0.55 (± 0.00)	18.64 (± 0.00)	37.24 (± 0.00)	54.61 (± 0.00)	68.99 (± 0.00)	86.12 (± 0.00)	93.61 (± 0.01)
	本地多根 <i>S. polyrrhiza</i>	6.98 (± 0.00)	42.57 (± 0.00)	61.09 (± 0.00)	68.26 (± 0.01)	64.93 (± 0.00)	70.53 (± 0.01)	100.99 (± 0.02)
	本地绿萍 <i>L. japonica</i>	13.19 (± 0.00)	54.29 (± 0.00)	85.84 (± 0.00)	95.69 (± 0.00)	115.2 2(± 0.00)	123.07 (± 0.01)	106.35 (± 0.02)

表2 不同氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度(AC/PC)下不同浮萍处理系统的氮去除量/磷去除量(NRA/PRA),氮去除率/磷去除率(NRR/PRR)及浮萍的氮利用率/磷利用率(NUR/PUR)

Table 2 Nitrogen removal amount /phosphorus removal amount (NRA/PRA), nitrogen removal rate /phosphorus removal rate (NRR/PRR) of the duckweed systems and nitrogen utilization rate/phosphorus utilization rate (NUR/PUR) of duckweed under different ammonium concentration /phosphate concentration

氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度 AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)		0.5/0.1	5/1	10/2	15/3	20/4	30/6	60/12
本地少根 <i>L. punctata</i>	NRA/PRA (mg)	0.61/0.03	1.08/0.16	1.59/0.23	1.58/0.27	2.39/0.35	3.04/0.41	4.74/0.49
	NUR/PUR ($P/\%$)	59.83/75.36	47.11/51.92	33.78/39.39	24.66/29.11	20.24/22.99	13.93/15.38	6.89/7.20
	NRR/PRR ($P/\%$)	60.81/99.80	51.83/62.50	47.23/46.00	33.99/35.83	40.47/33.88	35.99/26.67	29.44/16.04
本地芜萍 <i>W. globosa</i>	NRA/PRA (mg)	0.36/0.01	0.96/0.12	1.72/0.17	1.99/0.30	2.73/0.35	3.38/0.38	5.31/0.78
	NUR/PUR ($P/\%$)	18.36/7.90	34.63/29.24	26.34/29.21	20.18/28.56	15.58/27.06	10.43/22.51	5.36/12.23
	NRR/PRR ($P/\%$)	35.9/40.91	46.09/46.00	51.44/33.75	42.96/39.17	46.25/34.00	39.93/25.00	32.96/25.42
本地多根 <i>S. polyrhiza</i>	NRA/PRA (mg)	0.93/0.01	1.65/0.20	2.16/0.32	2.29/0.41	2.26/0.48	3.05/0.54	3.50/0.82
	NUR/PUR ($P/\%$)	26.89/96.96	50.97/66.83	30.74/46.92	26.50/35.69	21.49/25.45	15.90/18.47	8.37/13.16
	NRR/PRR ($P/\%$)	89.68/53.13	79.03/78.50	64.53/62.75	49.48/53.17	38.24/44.00	36.00/35.50	21.75/26.67
本地绿萍 <i>L. japonica</i>	NRA/PRA (mg)	0.13/0.01	1.12/0.16	1.53/0.23	1.99/0.31	2.40/0.37	3.99/0.48	7.31/0.68
	NUR/PUR ($P/\%$)	66.54/99.92	58.29/74.52	30.64/58.91	20.22/43.78	15.59/39.54	9.68/28.15	3.74/12.16
	NRR/PRR ($P/\%$)	99.50/49.77	64.40/81.01	47.30/60.00	43.17/50.50	45.05/37.50	52.73/32.00	46.10/23.96

表3 不同浮萍品种的最佳值指标(PV)及相应的污水氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度(AC/PC)

Table 3 Optimal values (PV) and corresponding ammonium concentration/phosphate concentration (AC/PC) of different duckweed species

浮萍品种 Duckweed species		本地少根 <i>L. punctata</i>	本地芜萍 <i>W. globosa</i>	本地多根 <i>S. polyrhiza</i>	本地绿萍 <i>L. japonica</i>
干基增长率 Dry weight growth rate	PV ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	6.84 ± 0.11	3.59 ± 0.18	7.38 ± 0.23	6.93 ± 0.10
	AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)	0.5/0.1	10/2	5/1	0.5/0.1
蛋白含量 Protein content	PV ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	28.76 ± 0.27	37.32 ± 0.18	32.79 ± 1.97	31.59 ± 1.01
	AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)	20/4	60/12	60/12	60/12
氮固定能力 Nitrogen fixation ability	PV ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	299.1 ± 0.00	233.91 ± 0.00	336.47 ± 0.02	227.16 ± 0.01
	AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)	20/4	15/3	30/6	20/4
磷含量 Phosphorus content	PV ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	0.93 ± 0.14	2.24 ± 0.11	1.26 ± 0.13	2.35 ± 0.32
	AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)	30/6	60/12	60/12	60/12
磷固定能力 Phosphorus fixation ability	PV ($\rho/\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	58.81 ± 0.00	93.61 ± 0.01	100.99 ± 0.02	123.07 ± 0.01
	AC/PC ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)	30/6	60/12	60/12	30/6

2.1.2 本地芜萍 随着氮磷浓度的上升,本地芜萍含水率(图1B)变化幅度较少,蛋白含量(图1C)、磷含量(图1D)逐渐升高;干基增长率先升高后降低(图1A)。浓度3(10/2 mg L^{-1})时干基增长率最大仅有3.59 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$,明显低于其他3个品种。浓度7(60/12 mg L^{-1})时有最大的蛋白含量和磷含量,分别为37.32%和2.24%,而本地芜萍对氮固定能力在浓度4(15/3 mg L^{-1})时达到最大值233.91 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1),对磷的固定能力在浓度7(60/12 mg L^{-1})有最大值93.61 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1)。浮萍对氮磷的利用率在浓度2(5/1 mg L^{-1})时有最大值,分别为34.63%和29.24%(表2)。

2.1.3 本地多根 随着氮磷浓度的上升,本地多根含水率(图1B)、干基增长率先升高后降低(图1A),蛋白含量(图1C)、磷含量(图1D)逐渐升高。干基增长率在浓度2(5/1 mg L^{-1})达到最大值7.38 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$,浓度6(30/6 mg L^{-1})时仍能维持在5.13 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$,说明本地多根也能耐受较高浓度的氨氮。浓度7(60/12 mg L^{-1})时有最大的蛋白和磷含量,分别为32.79%和1.26%。氮固定能力在浓度6(30/6 mg L^{-1})达到最大值336.47 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1)。磷固定能力在浓度7(60/12 mg L^{-1})达到最大值100.99 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1)。浓度2(5/1 mg L^{-1})时浮萍对氮的利用率最高,为50.97%(表2)。浓度1(0.5/0.1 mg L^{-1})浮萍对磷的利用率最高,为96.90%(表2)。

2.1.4 本地绿萍 随着氮磷浓度的上升,本地绿萍含水率变化较小(基本稳定在91.5%左右),干基增长率逐渐降低(图

1A),蛋白含量(图1C)、磷含量(图1D)逐渐升高。干基增长率在浓度1(0.5/0.1 mg L^{-1})时达到最大值6.93 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$,随后下降幅度较大,浓度7(30/6 mg L^{-1})时干基增长率仅有3.51 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (降低了49.35%),说明本地绿萍对高氮磷浓度较敏感。浓度7(60/12 mg L^{-1})时有最大的蛋白和磷含量,分别为31.59%和2.35%。氮固定能力在浓度5(20/4 mg L^{-1})达到最大值227.16 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1)。总磷固定能力在浓度6(30/6 mg L^{-1})达到最大值123.07 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (表1)。浓度1(0.5/0.1 mg L^{-1})时对氮利用率最高,为66.54%(表2)。浓度1(0.5/0.1 mg L^{-1})时对磷利用率最高,为99.92%(表2)。

随着氮磷浓度的升高,几乎所有浮萍品种处理系统对污水中氮磷的去除总量逐渐升高,对氮磷的去除率逐渐降低(表2),这与沈根祥的研究结果^[15]基本一致。浮萍对氮的利用效率最高仅接近66%(表2),可见浮萍吸收对系统中氮的去除有限,这可能和浮萍处理系统中氨氮去除途径多样有关。研究表明,浮萍处理系统对氨氮的去除途径主要有浮萍吸收、硝化反硝化作用、微生物的同化、物理化学作用(挥发、沉降)等^[16]。与氨氮不同,浮萍处理系统对磷去除途径仅包含浮萍吸收、微生物同化、沉降3种。因此,本研究中浮萍对磷的利用率(芜萍除外)在磷浓度0.1 mg L^{-1} 的条件下最高能达到99%,可见浮萍吸收是低浓度水体中磷的主要净化机制。

不同浮萍品种在不同氮磷浓度污水中的最大生长速度、最大氮磷含量和固定能力方面存在明显的种属差异(表3)。4

个品种的最大干基增长率均出现在相对低的氮磷浓度(浓度1-3)下,但不同品种最大干基增长率差异较大,本地绿萍和本地芜萍相对于其他两个品种对高浓度的氮磷较敏感,当氮氮浓度/可溶性磷酸盐浓度达到60/12 mg L⁻¹时,干基增长率仅分别达到3.51 g m⁻² d⁻¹和2.08 g m⁻² d⁻¹;除本地少根外,其他3个品种体内的氮磷含量均在水体最高氮磷浓度时(浓度7)达到最大,其中本地芜萍的蛋白含量最高能达到37.32%,本地绿萍的磷含量最高能达到2.35%。与干基增长率和氮磷含量不同,各个品种的氮磷固定能力最大值均出现在适中的氮磷浓度条件下,其中本地多根有最高的氮固定能力(336.47 mg m⁻² d⁻¹),本地绿萍有最高的磷固定能力(123.07 mg m⁻² d⁻¹)。因此,实际应用中,可根据不同的目的选用不同的浮萍品种,比如欲处理高浓度的废水可选用本地多根或本地少根,欲得到高蛋白含量或高磷含量的浮萍样品可分别选用本地芜萍和本地绿萍,欲高效回收污水中的氮氮或可溶性磷可分别选用本地多根和本地绿萍。本研究结果可为进一步大规模的实际应用提供重要的基础数据和理论指导。

2.2 连续培养条件下污水氮磷浓度对本地绿萍生长的影响

有研究表明,浮萍在适当的氮磷浓度下生长最快^[17-18],寡营养条件下水体氮磷营养元素的不足以及过高都会影响

浮萍的生长。然而,本研究前述结果表明,本地绿萍和本地少根在最低氮磷浓度(0.5/0.1 mg L⁻¹)时干基增长率达到最大值,结合此浓度条件培养过程中本地绿萍蛋白和磷含量分别由接种时的34.83%和1.47%,下降至收获时的12.35%和0.55%(图1C,图1D);本地少根蛋白和磷含量分别由接种时的20.49%和0.70%,下降至收获时的15.63%和0.25%(图1C,图1D)。推测可能是因为培养时间过短(8 d),浮萍体内的氮磷元素能满足其短时间内的快速生长。为了证实这种推测,通过连续培养,研究污水氮磷浓度和浮萍体内氮磷含量对本地绿萍生长的影响。

结果表明,随着氮磷浓度升高,干基增长率和含水率都先升高后降低(含水率高浓度时有所回升,可能和浮萍非正常生长有关)(图2A,图2B),浓度2(5/1 mg L⁻¹)时到达最大值,分别为6.93 g m⁻² d⁻¹和92.79%;蛋白含量和磷含量的变化规律与培养8 d的结果相近,都是随氮磷浓度的升高逐渐上升,在浓度7(60/12 mg L⁻¹)时达到最大值,分别为34.80%和2.11%(图2C,图2D);但是最大氮磷固定能力出现时的水体氮磷浓度梯度却低于8 d的实验结果,最大氮固定能力出现在浓度2(5/1 mg L⁻¹)(表4),最大磷固定能力出现在浓度5(20/4 mg L⁻¹),这可能和定期(每4天)补充氮磷元素,浮萍有充足的氮磷成分可以利用有关(培养8 d的实验期间未补充

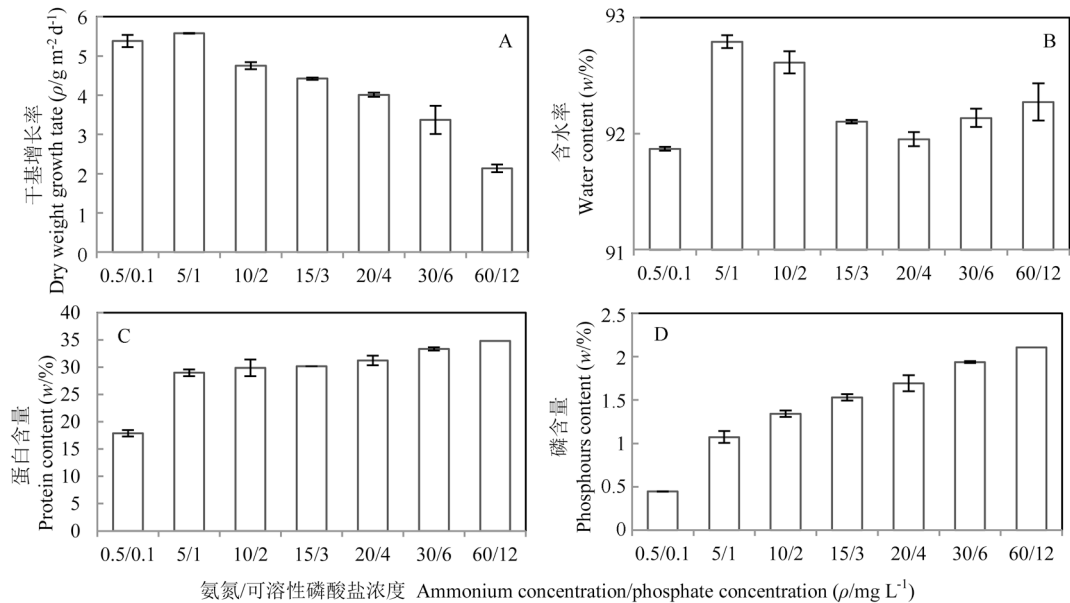


图2 本地绿萍在不同氮磷浓度/可溶性磷酸盐浓度培养下的干基增长率(A)、含水率(B)、蛋白含量(C)和磷含量(D)。 Fig. 2 Dry weight growth rate (A), the moisture content (B), protein content (C) and phosphours content (D) of *L. japonica* in sewage of different ammonium concentration/phosphate concentration.

表4 本地绿萍在不同氮磷浓度/可溶性磷酸盐浓度下的氮固定能力(NFA)和磷的固定能力(PFA) Table 4 Nitrogen fixation ability (NFA) and phosphorus fixation ability (PFA) of *L. japonica* in sewage of different ammonium concentration/phosphate concentration

氮氮浓度/可溶性磷酸盐浓度 AC/PC (ρ/mg L ⁻¹)	0.5/0.1	5/1	10/2	15/3	20/4	30/6	60/12
氮固定能力 NFA (ρ/mg m ⁻² d ⁻¹)	101.61 (± 0.02)	252.45 (± 0.01)	224.55 (± 0.02)	202.67 (± 0.00)	203.54 (± 0.00)	187.23 (± 0.01)	130.47 (± 0.01)
磷固定能力 PFA (ρ/mg m ⁻² d ⁻¹)	8.11 (± 0.00)	66.21 (± 0.01)	69.65 (± 0.00)	76.39 (± 0.03)	78.01 (± 0.04)	77.5 (± 0.01)	55.27 (± 0.00)

氮磷元素)。

此外,从浓度1 (0.5/0.1 mg L⁻¹) 浮萍随培养时间的动态变化曲线(图3)可以看出,刚接种的本地绿生长较快(前四天干基增长率6.15 g m⁻² d⁻¹);随着培养时间延长,浮萍体内的氮磷含量逐渐降低,生长速度也随之减慢。在第16天(d 16)氮磷含量分别由刚接种时的4.67%和1.39%降至1.77% (降低了62.10%) 和0.29% (降低了79.14%),而此时干基增长率仅有4.75 g m⁻² d⁻¹ (降低了22.64%)。

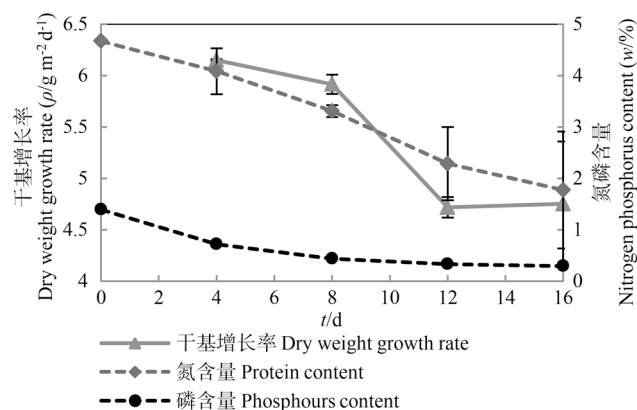


图3 本地绿萍在浓度1 (0.5/0.1) 时干基增长率和氮磷含量随着时间的变化。
Fig. 3 Dry weight growth rate and nitrogen phosphorus content of *L. japonica* in the ammonium concentration/phosphate concentration of 0.5/0.1.

这些结果充分证实,延长培养时间至16 d后本地绿萍在氨氮浓度/可溶性磷浓度为浓度2 (5/1 mg L⁻¹) 时有最大的干基增长率。浮萍的生长速率不仅与污水中的氮磷浓度有关,还与浮萍体内的氮磷含量有关,当污水中氮磷含量很低时,浮萍体内储存的氮磷元素能够提供其短时间内快速生长。这与Chaiprapat S等人室内小体系的研究结果^[19]基本一致。

2.3 不同pH下污水氮磷浓度对本地绿萍生长的影响

上述研究结果表明,本地绿萍和本地茼蒿相对于其他两个品种对高浓度的氮磷较敏感,尤其是本地绿萍,其干基增长率由低氨氮浓度/可溶性磷酸盐浓度 (0.5/0.1 mg L⁻¹) 时的6.93 g m⁻² d⁻¹降至高氨氮浓度/溶性磷酸盐浓度 (60/12 mg L⁻¹) 时的3.51 g m⁻² d⁻¹ (图1A)。此外,有研究结果表明:水体中高浓度的游离氨 (NH₃) 和NH₄⁺均会对浮萍的生长产生毒害,NH₃具有水溶性,能直接穿过细胞膜,使植物的新陈代谢发生紊乱,对植物造成毒害^[20]。高浓度的NH₄⁺能造成细胞膜去极化,使阴离子不能通过细胞膜^[21-22],影响植物正常生长。由此推测本地绿萍生长速率随氮磷浓度升高急速下降可能与高浓度的NH₃和NH₄⁺有关,而污水中的NH₃和NH₄⁺的相对浓度由水体中的pH决定。因此,研究了不同pH下不同氮磷浓度对本地绿萍生长的影响。

NH₃和NH₄⁺的相对浓度可以用以下的平衡方程^[23]表示:
 $Ka = [NH_3][H^+]/[NH_4^+]$ 。其中, Ka 为解离常数,与温度有关^[24]:
 $pKa = 0.00918 + 2729.92/(273.2 + T)$

在确定温度和pH值的条件下可以得到NH₃的百分数^[25]:
 $NH_3 = 100/[1 + 10(pKa - pH)] \times 100\%$ 。

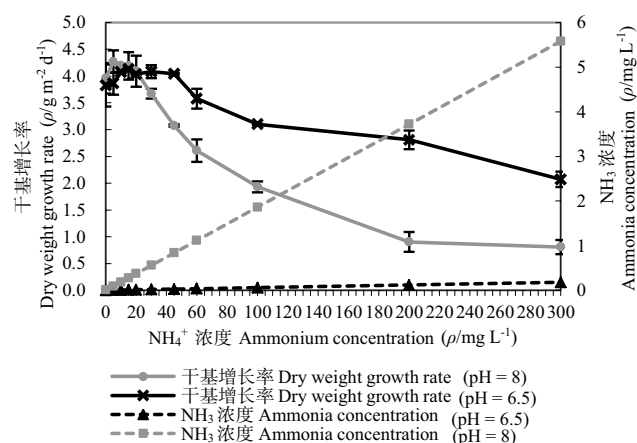


图4 不同pH下污水中NH₄⁺浓度和NH₃浓度对本地绿萍生长的影响。
Fig. 4 Effect of NH₄⁺ and NH₃ concentration under different pH on growth of *L. japonica*.

通过以上换算,本实验中随着氨氮浓度的升高,pH 8 (±0.5) ($T = 10\text{ }^{\circ}\text{C}$) 的实验组NH₃浓度升高的速率远高于pH 6.5 (±0.5) 的实验组(图4)。氨氮浓度小于等于20 mg L⁻¹时,pH 8的实验组干基增长率略高于pH 6.5的实验组,可能因为低pH对本地绿萍的生长产生了抑制。氨氮浓度大于20 mg L⁻¹时两个实验组的干物质含量均开始降低,但是pH 8的实验组降低速率明显高于pH 6.5的实验组,此时抑制浮萍生长的主要因素是高浓度的NH₃,pH 6.5的实验组在氨氮浓度大于45 mg L⁻¹后干基增长率开始明显降低,此时NH₃浓度随着氨氮浓度的升高只有略微的升高(始终低于0.2 mg L⁻¹),抑制浮萍生长的主要因素应该是高浓度的NH₄⁺。由此可以看出,在相同浓度下,NH₄⁺的毒害作用较NH₃低,高氨氮浓度时,调节污水pH至6.5可防止NH₄⁺大量转化为NH₃,减少对浮萍的毒害作用。

Korner等在室内小体系(表面积0.006 4 m²,水深0.06 m)的研究结果^[26]表明,当NH₃浓度小于1 mg L⁻¹时,浮萍受到的毒害是由NH₄⁺和NH₃共同作用产生的,NH₃浓度大于1 mg L⁻¹时,NH₄⁺对浮萍生长的影响可以忽略,当NH₃浓度为8 mg L⁻¹时浮萍不能生长。与Korner的研究结果相比,本研究中NH₃成为浮萍生长主要抑制因素的浓度是0.37-0.56 mg L⁻¹,明显较低。这可能跟两者的环境条件和体系大小不一样,本次研究在户外进行,影响浮萍生长的因素较多;此外本次研究体系较大(表面积0.5 m²,水深0.5 m),在NH₃浓度相同的情况下,NH₃绝对量较小体系大。

因此,本研究证明了本地绿萍生长速率随氮磷浓度升高急速下降确实与高浓度NH₄⁺和NH₃的毒害作用有关,在适当的pH范围内,降低水体的pH值可防止NH₄⁺大量转化为NH₃,减少对浮萍的毒害作用。在实际应用中,若废水的氨氮浓度小于20 mg L⁻¹时,pH 8时本地绿萍的生长较快;当废水氨氮浓度大于20 mg L⁻¹时,调节pH至6.5可以减小水体中NH₃对本地绿萍的毒害作用,有利于本地绿萍更好地生长。

3 结论

随着水体氮磷浓度升高,浮萍处理系统对污水中氮磷的去除总量升高,去除率降低;不同浮萍品种在不同氮磷浓度污水中的最大生长速度、最大氮磷含量和氮磷固定能力等

方面存在明显的种属差异. 实际应用中, 可根据污水的性质、处理目的以及浮萍生物品质要求等选用不同的浮萍品种.

本地绿萍在不同氮磷污水中的生长与体内的氮磷含量和pH有关, 高氮磷含量的本地绿萍可以利用体内储存的氮磷元素在寡营养水体中短时间内进行快速生长; 污水的氨氮浓度小于 20 mg L^{-1} , pH 8左右时本地绿萍的生长较快; 当废水氨氮浓度大于 20 mg L^{-1} 时, 调节pH至6.5左右可防止 NH_4^+ 大量转化为 NH_3 , 从而减少对本地绿萍的毒害作用.

参考文献 [References]

- 钱大富, 马静颖, 洪小平. 水体富营养化及其防治技术研究进展[J]. 青海大学学报, 2002, **20** (1): 28-30
- 陆景陵, 胡霭堂. 植物营养学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006
- 种云霄, 胡洪营, 钱易. 大型水生植物在水污染治理中的应用研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, **4** (2): 36-40 [Chong YX, Hu HY, Qian Y. Advances in utilization of macrophytes in water pollution control [J]. *Tech Equip Environ Pollut Control*, 2003, **4** (2): 36-40]
- Landesman L, Clifford F, Runbin D. Plant Nutrient Phytoremediation Using Duckweed [M]. Netherlands: Springer-Verlag, 2011. 341-354
- Dilek D, Hatice A. Effect of circulation on wastewater treatment by *Lemna gibba* and *Lemna minor* (floating aquatic macrophytes) [J]. *Intern J Phytoremed*, 2011, **13** (10): 970-984
- 种云霄, 胡洪营, 崔理华, 吴启堂, 钱易. 浮萍植物在污水处理中的应用研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, **7** (3): 14-18 [Chong YX, Hu HY, Cui LH, Wu QT, Qian Y. Application of duckweeds in wastewater treatment [J]. *Techn Equip Environ Pollut Control*, 2006, **7** (3): 14-18]
- Appenroth KJ, Borisjuk N, Lam E. Telling duckweed apart: genotyping technologies for the Lemnaceae [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2012, **19** (1): 1-10
- Reddy KR, DeBusk TA. State of the art of utilization of aquatic plants in water pollution control [J]. *Wat Sci Tech*, 1987, **19** (10): 61-79
- Leng RA, Stambolie JH, Bell R. Duckweed-a potential high-protein feed resource for domestic animals and fish [J]. *Livestock Res Rural Dev*, 1995, **7** (1): 1-11
- Cheng JJ, Anne MS. Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed [J]. *Clean-Soil, Air, Water*, 2009, **37** (1): 17-26
- Korner S, Vermaat JE. The relative importance of *Lemna gibba* L., bacteria and algae for the nitrogen and phosphorus removal in duckweed-covered domestic wastewater [J]. *Water Res*, 1998, **32** (12): 3651-3661
- Landolt E. The Family of *Lemnaceae*: a Monographic Study [M]. Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH Zürich, Stiftung Rübel, 1986, **71**: 566
- Xu JL, Shen GX. Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production [J]. *Bioresour Technol*, 2011, **102** (2): 848-853
- 宋关玲, 侯文华, 汪群慧, 刘秋月. 适用于青萍修复的水体富营养化状况研究[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2006, **38** (10): 1793-1796 [Song GL, Hou WH, Wang HQ, Liu QY. Suitable eutrophication level for restoration by *Lemna minor* [J]. *J Harbin Inst Technol*, 2006, **38** (10): 1793-1796]
- 沈根祥. 利用浮萍净化氮磷污水机理及其优化工艺条件研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005 [Shen GX. Research on mechanism and technological conditions of nitrogen-phosphorus wastewater treatment by duckweed [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005]
- Peng JF, Wang BZ, Song YH, Peng Yuan. Modeling N transformation and removal in a duckweed pond: model development and calibration [J]. *Ecol Modell*, 2007, **206** (1-2): 147-152
- Caicedo JR, Van NP, Arce O, Gijzen HJ. Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*) [J]. *Water Res*, 2000, **34** (15): 3829-3835
- Song GL, Meng W, Wang QH, Hou WH. The suitable phosphorus concentration level for restoration for duckweed [J]. *Intern J Environ Pollut*, 2009, **38** (1-2): 127
- Chaiprapat S, Cheng JJ, Classen JJ, Liehr SK. Role of internal nutrient storage in duckweed growth for swine wastewater treatment [J]. *Trans Am Soc Agric Eng*, 2005, **48** (6): 2247-2258
- Vines HM, Wedding RT. Some effects of ammonia on plant metabolism and a possible mechanism for ammonia toxicity [J]. *Plant Physiol*, 1960, **35** (6): 820-825
- Ingermarsson B, Oscarson P, Uggla M, Larsson CM. Nitrogen utilization in *Lemna*: III. Short-term effects of ammonium on nitrate uptake and nitrate reduction [J]. *Plant Physiol*, 1987, **85** (3): 865-867
- Ullrich WR, Larsson M, Lesch S, Novacky A. Ammonium uptake in *Lemna gibba* G1, related membrane potential changes, and inhibition of anion uptake [J]. *Physiol Plant*, 1984, **61** (3): 369-376
- Erickson RJ. An evaluation of mathematical models for the effect of pH and temperature on ammonia toxicity to aquatic organisms [J]. *Water Res*, 1985, **19** (8): 1047-1058
- Emerson K, Russo RC, Lund RE, Thurston RV. Aqueous ammonia equilibrium calculation: effect of pH and temperature [J]. *J Fish Res Board Can*, 1975, **32** (12): 2379-2383
- Clement B, Merlin G. The contribution of ammonia and alkalinity to landfill leachate toxicity to duckweed [J]. *Sci Total Environ*, 1995, **170** (1-2): 71-79
- Korner S, Das SK, Veenstra S, Vermaat JE. The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba* [J]. *Aquat Bot*, 2001, **71** (1): 71-78