

碳源对藻、菌及其共培养系统水处理效果的影响

肖伟¹, 毕永红², 张波³, 王栋³, 吴红艳¹

(1. 湖北工业大学, 湖北 武汉 430068;

2. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072;

3. 宁波天河水生态科技股份有限公司, 浙江 宁波 315000)

摘要: 水体富营养化越来越严重影响生态系统的结构和功能, 甚至威胁人类健康, 相比于传统的理化处理方法, 利用藻菌共培养系统处理污水是一种绿色环保的水处理方式, 合适的碳源可以提高藻菌共培养系统的污水处理效率。为探究不同碳源对藻、菌及其共培养系统污水处理效果的影响, 分别使用葡萄糖、乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源进行小球藻和地衣芽孢杆菌纯培养和藻菌共培养试验, 每组试验设置 3 个平行, 小球藻和地衣芽孢杆菌的初始接种量分别为 2.0×10^6 个/mL 和 1.0×10^7 CFU/mL。结果显示, 柠檬酸三钠是地衣芽孢杆菌纯培养时的适宜碳源, 葡萄糖是藻菌共培养系统最适宜碳源, 且地衣芽孢杆菌可促进小球藻生长。以葡萄糖为碳源, 藻菌共培养系统的总氮、总磷和总有机碳去除率最高可达 86.05%、93.71% 和 82.19%。研究表明, 为提高污水处理效率并获得最大的微生物量, 需要选择适合微生物生长并满足细菌代谢的碳源。

关键词: 碳源; 藻菌共生; 污水处理

中图分类号: Q142 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2021)04-0059-08

我国水资源严重短缺, 随着工农业的发展, 大量未经有效处理的污水进入水体, 导致水体富营养化越来越严重, 生态系统的结构和功能受到影响, 人类健康受到威胁 (Renuka et al, 2013)。因此, 有效控制污染并对污水进行深度处理是目前迫切需要解决的问题。已有研究表明, 利用生物方法进行污水处理, 相比于传统的理化方法 (如混凝沉降法、高级氧化技术和活性炭吸附等) 具有绿色环保、经济高效的优势 (He et al, 2013)。例如, 利用微藻进行污水处理, 不仅可以减少温室气体排放, 还可在去除多余水体营养盐的同时, 积累生物质 (Udaiyappan et al, 2017)。但是, 在单一微藻处理污水过程中, 由于微藻培养时间长且系统不稳定, 致使微藻处理污水产业化发展受到限制; 而将细菌与微藻共培养, 可有效弥补单一微藻处理系统的不足, 并提高系统的污水处理效率 (Mendes & Vermelho, 2013)。

藻菌共培养系统在污水深度处置和资源化利用方面具有较大的应用潜力, 且碳是微生物代谢过程

中的必需营养元素, 碳源对微生物的生长和代谢具有重要影响 (Fan et al, 2012)。在藻菌共培养系统中, 微藻通过光合作用为异养细菌提供氧气及有机物, 同时细菌也可为微藻提供 CO_2 和促生长因子 (王瑞民, 2015)。例如, 细菌 *Enterobacter asburiae* 和 *Raoultella ornithinolytica* 均可促进小球藻 *Chlorella vulgaris* 生长, 培养 7 d 后, 小球藻生物量比单独培养系统分别提高了 58% 和 42% (Goncalves et al, 2016)。在藻菌共培养系统中, 细菌多为异养细菌, 而部分微藻不仅可以自养生长, 也可进行混合营养生长, 不同碳源对藻、菌及其共培养系统的营养物质去除效率和最大生物量的影响存在差异 (Goncalves et al, 2017); 尤其在污水生物处理过程中, 碳源可影响微生物群落结构和脱氮除磷效率 (Fortela et al, 2016)。为了提高污水处理效率和微藻生物量, 在构建藻菌共培养系统时, 选择合适的碳源尤为重要。

为了探究不同碳源对藻、菌及其共培养系统污水处理效果的影响, 选用前期试验挑选出的地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 和小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa* FACHB-5) 为对象, 以葡萄糖、乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源, 分别进行藻、菌单独培养和共培养试验, 以期选出合适的碳源, 为藻菌共培养系统处理污水提供技术支撑。

收稿日期: 2019-08-06 修回日期: 2021-04-08

基金项目: “十三五”国家水专项 2017ZX07108-001。

作者简介: 肖伟, 1993 年生, 女, 硕士研究生, 研究方向为藻类生态学。E-mail: smile35@yeah.net

通信作者: 吴红艳。E-mail: jackylee512112@gmail.com

1 材料与方法

1.1 藻种与菌种

小球藻来自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库;地衣芽孢杆菌来自华中农业大学。

1.2 试验方法

1.2.1 微藻与细菌预培养 分离纯化后的小球藻接种于含有 750 mL、经 121℃ 灭菌 20 min 的 BG11 培养基 1 L 锥形瓶中(Wang et al, 2018), 在 25℃、光照强度为 4 000 lx、光暗比 12 h : 12 h 的培养箱中连续通气培养 5 d, 通气量(经 0.22 μm 滤膜的空气从锥形瓶底部曝气)为 400 mL/min。

地衣芽孢杆菌活化处理后接种于经 121℃ 灭菌 20 min 的 LB 培养基(Yu et al, 2016), 在 30℃、转速 100 r/min 的恒温摇床中用 250 mL 锥形瓶(装液量 100 mL)培养 12 h。

1.2.2 人工污水配置 以不含氮磷的 BG11 培养基为基底, 加入 151.76 mg/L NaNO₃ (25 mg/L NO₃⁻-N), 13.17 mg/L KH₂PO₄ (3 mg/L PO₄³⁻-P) 配置成模拟污水, 将初始 pH 调节至 7.0~7.5。将模拟污水经 121℃ 灭菌 20 min 后冷却后备用, 分别在无菌操作台加入经 0.22 μm 滤膜过滤后的葡萄糖(C₆H₁₂O₆)、乙酸钠(C₂H₃NaO₂)、柠檬酸三钠(C₆H₅Na₃O₇·2H₂O)溶液作为模拟污水中有机碳源, 分别调整总有机碳(TOC)至 125 mg/L。

1.2.3 接种处理与培养条件 将培养至对数期的地衣芽孢杆菌和小球藻分别以 3 000 r/min 离心 10 min, 去除上清液, 用蒸馏水重复洗涤并离心 2 次, 然后接种至培养瓶中, 使细菌初始接种量为 (1.0±0.5)×10⁷ CFU/mL, 小球藻初始接种量为 (2.0±0.3)×10⁶ 个/mL。分别进行不同碳源培养下细菌单独培养、小球藻单独培养以及藻菌共培养试验, 每组试验设置 3 个平行组。

细菌单独培养、小球藻单独培养以及藻菌共培养试验均以人工污水作为培养基, 均在光照培养箱中连续通气培养 7 d, 培养条件与小球藻预培养条件相同, 每隔 24 h 取样进行检测。

1.2.4 生物量测定 小球藻通过显微镜采用血球计数板计数法测定, 地衣芽孢杆菌通过平板菌落计数法测定。比生长速率(μ)计算公式如下:

$$\mu = \frac{\ln B_t - \ln B_0}{t} \quad (1)$$

式中: B_t 为培养 t 时间后的生物量浓度; B₀ 为初始生物量浓度; t 为培养时间(d)。

1.2.5 水质测定方法及去除率 TN 测定用采用碱性过硫酸钾-消解紫外分光光度法; TP 测定采用钼酸铵分光光度法; TOC 采用总有机碳分析仪直接测定。营养物质去除率(R)计算公式如下:

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

式中: S₀ 为初始浓度(mg/L); S_t 为培养 t 时间后的营养物质浓度(mg/L); t 为培养时间(d)。

1.3 数据处理

数据采用统计软件 SPSS 进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 采用 LSD 法进行统计检验(P<0.05), Origin8.5 对数据进作图。

2 结果与分析

2.1 碳源对地衣芽孢杆菌单独培养的影响

图 1-a 显示, 地衣芽孢杆菌可利用有机碳进行好氧生长, 但 3 种碳源下的生长特性有明显差异; 其中, 以柠檬酸三钠为碳源时, 地衣芽孢杆菌生长期维持了 3 d, 第 4 天细菌进入衰亡期。通过最大生物量分析, 以葡萄糖为碳源时, 细菌最大生物量显著低于以乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源时的最大生物量(P<0.05), 且以柠檬酸三钠为碳源时, 细菌生物量最高(N_{B,max}=1.13×10⁸ CFU/mL)。

3 组碳源培养条件下, 地衣芽孢杆菌均具有一定的脱氮效率。在图 1-b 中, 以柠檬酸三钠为碳源时, TN 去除率达到 43.4%, 分别比葡萄糖和乙酸钠为碳源时提高了 52.17% 和 28.78%。图 1-c 可见, 地衣芽孢杆菌除磷效率显著低于脱氮效率(P<0.05), TP 最大去除率为 33.70%。3 种碳源中, 地衣芽孢杆菌均能有效摄取有机碳, 至试验的第 3 天, 3 组系统中有机碳含量均达到稳定, 其中以乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源的培养系统 TOC 去除率较大, 分别为 53.12% 和 56.21%。培养结束时, 3 种碳源培养系统内的 C/N 分别为 4.06、3.54 和 3.86, 均无显著性差异(P>0.05)。

2.2 碳源对小球藻单独培养的影响

如图 2-a 所示, 在 3 组碳源中, 小球藻均能利用葡萄糖在有光照的条件下进行混合营养生长; 其中, 以葡萄糖为碳源时, 小球藻生物量达到最大值, 为 1.34×10⁷ 个/mL, 在乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源时, 最大生物量均显著低于葡萄糖组(P<0.05)。在培养初期(0~2 d), 以葡萄糖和乙酸钠为碳源的小球藻比增长速率分别为 0.58 和 0.53, 均显著高于以乙酸钠(μ=0.24)为碳源的培养系统(P<0.05)。

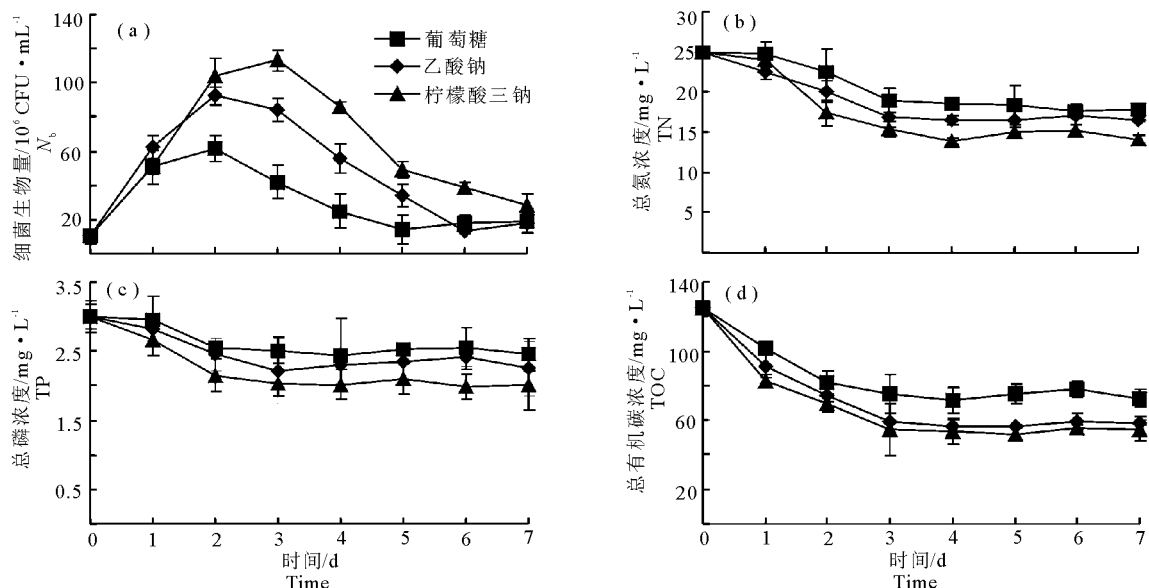


图1 不同碳源培养条件下细菌单独培养系统中生物量(a)、总氮(b)、总磷(c)和总有机碳(d)变化

Fig.1 Changes in biomass (a), TN (b), TP (c) and TOC (d) using *B. licheniformis* cultured with different carbon sources

图2-b中,小球藻单独培养,以葡萄糖为碳源时,TN 的去除率最大,达到 85.74%,显著高于以乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源时的去除率(76.05%和 59.44%)。3 组碳源培养系统中,TP 去除率分别为 89.52%、78.51%和 66.98%,TOC 去除率分别为 68.64%、62.29%和 41.92%。在以葡萄糖为碳源时,在处理第 3 天,出水 TN、TP 含量达到《污水处理厂污染物排放标准(GB 18918 - 2002)》中的一级

A 标准(TN<15 mg/L,TP<0.5 mg/L),可用于中水回用;而在整个试验周期内,以柠檬酸三钠为碳源时,小球藻 TP 去除率均不能达标(图 2-c)。

从图 2-b、c、d 可见,不同碳源培养时,在小球藻单独培养系统中的 TN、TP 与 TOC 去除率均显著高于地衣芽孢杆菌单独培养系统($P < 0.05$),表明在相同培养条件下,小球藻对营养物质的去除效率更高。

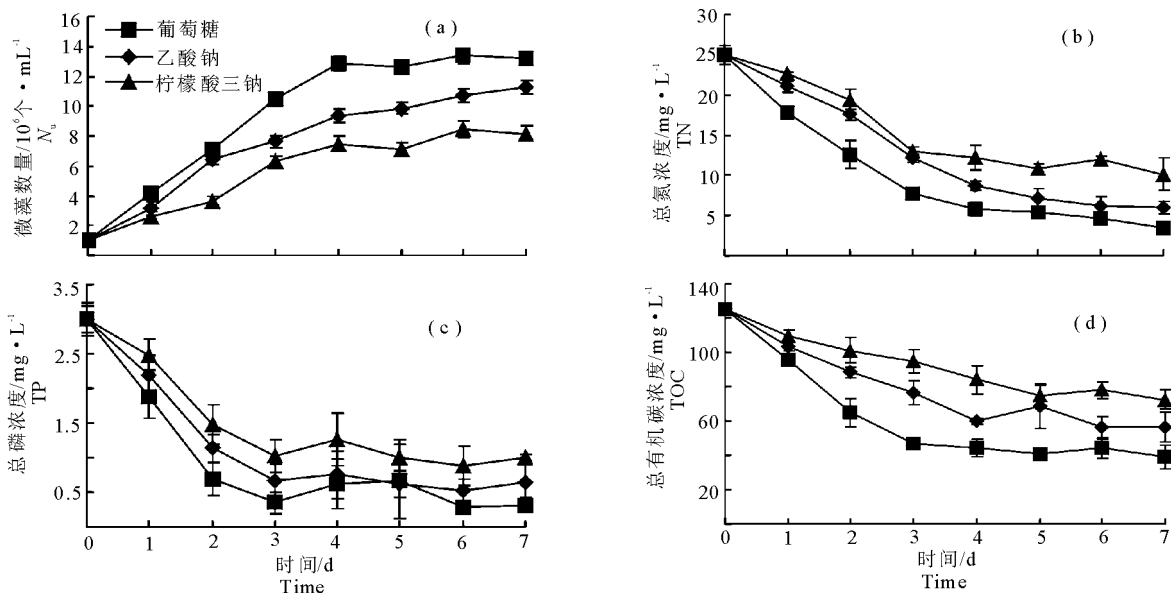
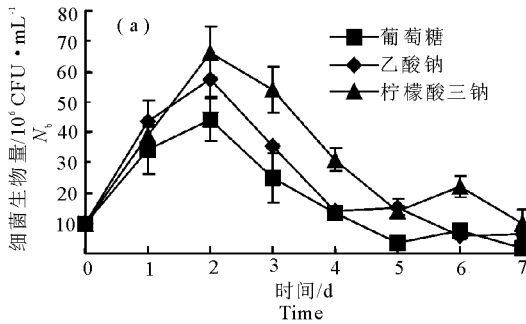


图2 不同碳源培养条件下微藻单独系统中生物量(a)、总氮(b)、总磷(c)和总有机碳(d)变化

Fig.2 Changes in biomass (a), TN (b), TP (c) and TOC (d) using *C. pyrenoidosa* FACHB-5 cultured with different carbon sources

2.3 碳源对小球藻-地衣芽孢杆菌共培养的影响

2.3.1 生物量 对单独培养(图1-a)和共培养系统(图3-a)细菌生物量分析发现,以葡萄糖、乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源时,共培养中的细菌最大生



物量均显著小于细菌单独培养($P < 0.05$),分别为 4.40×10^7 、 5.77×10^7 和 6.63×10^7 CFU/mL。在以柠檬酸三钠为碳源的共培养过程中,细菌群体进入衰亡期的时间比单独培养时提前了1 d。

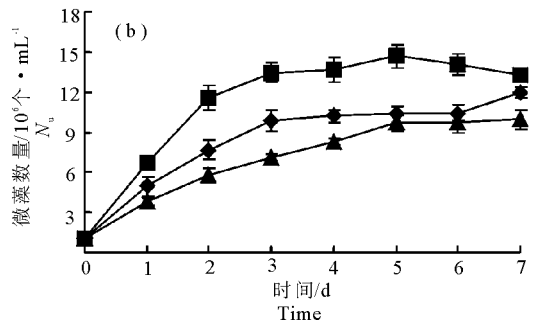


图3 不同碳源培条件下共培养系统中细菌(a)和微藻(b)生物量变化

Fig.3 Changes in the biomass of bacteria (a) and microalgae (b) in the *C. pyrenoidosa*-*B. licheniformis* symbiotic system cultured with different carbon sources

对单独培养(图2-b)和共培养系统(图3-b)微藻生物量分析发现,在共培养系统中,3种碳源培养条件下细菌的存在均促进了微藻的生长。藻菌共培养中,微藻最高数量分别为 14.70×10^6 个/mL、 11.97×10^6 个/mL 和 9.70×10^6 个/mL,微藻比生长速率分别为 0.27、0.24 和 0.21,与微藻单独培养系统相比,没有显著差异($P > 0.05$);而通过分析生长曲线,在培养初期(0~2 d),细菌处于对数生长期,共培养中小球藻比增长速率显著高于微藻单独培养系统($P < 0.05$),分别提高了 29.65%、14.83%和 48.93%。

2.3.2 污水处理效率 从表1可以看出,在共培养系统中,以葡萄糖、乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源时,TN、TP和TOC的去除率均显著高于细菌单独培养($P < 0.05$),且以葡萄糖为碳源时,藻菌共培养系统中营养物质的去除效率最高,TN、TP和TOC去除率分别为 86.05%、93.71%和 82.19%。TN和TP的去除率与微藻单独培养时虽然没有显著差异($P > 0.05$),但显著高于细菌单独培养系统($P < 0.05$);说明共培养系统中,TN和TP的最终去除率主要受到微藻限制。在共培养系统中,3种碳源培养条件下TOC去除率均显著高于微藻单独培养系统($P < 0.05$),说明向微藻培养物种加入细菌有助于提高系统TOC去除率;以葡萄糖为碳源时,TOC去除率不仅显著高于以葡萄糖为碳源的藻、菌单独培养($P < 0.05$),达到 82.19%,而且显著高于以乙酸钠和柠檬酸三钠为碳源的藻菌共培养系统(73.07%和 63.52%)($P < 0.05$),表明共培养系统中的葡萄糖为最优碳源。

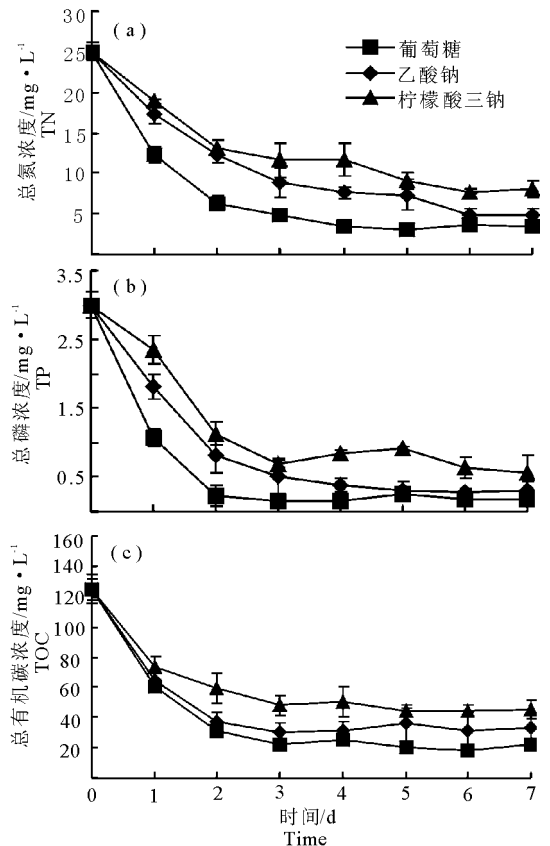


图4 不同碳源培条件下共培养系统总氮(a)、总磷(b)和总有机碳(c)变化

Fig.4 Changes in TN (a), TP(b) and TOC(c) in the *C. pyrenoidosa*-*B. licheniformis* symbiotic system cultured with different carbon sources

通过对藻、菌及其共培养系统营养物质的变化分析,发现在培养初期(第2天),藻菌共培养系统中营养物质的去除率均显著高于同时期的单独培养系统($P < 0.05$);且在以葡萄糖为碳源的共培养系统

中, TN、TP 和 TOC 的去除率最大, 分别达到 74.99%、92.66% 和 75.09%, 相比于第 2 天时微藻单独培养的去除率 49.44%、76.94% 和 48.05%, 细菌的存在显著提高了共培养系统培养初期脱氮除磷效率 ($P < 0.05$); 第 4 天至培养结束, 共培养系统中 TN 和 TP 的去除率趋于稳定, 且与微藻单独培养时没有显著差异 ($P > 0.05$)。表明在藻菌共培养

时, 细菌活性对共培养系统的脱氮除磷效率有重要影响。在藻菌共培养系统中, 以葡萄糖和乙酸钠为碳源的培养系统脱氮除磷效率最高, 均达到一级 A 排放标准; 其中, 以葡萄糖为碳源时, 第 2 天的出水达到排放标准, 相比于微藻单独系统提前了 1 d, 表明藻共生系统有助于提高污水处理效率, 并缩短污水达标排放时间。

表 1 不同碳源培养条件下营养物质去除率

%

Tab.1 Nutrient removal rates for each culture condition

营养物质	培养条件	葡萄糖	乙酸钠	柠檬酸三钠
TN	单一微藻	28.52±0.45 ^a	33.70±1.29 ^a	43.40±2.05 ^a
	单一细菌	85.74±1.98 ^b	76.05±3.43 ^b	59.44±8.42 ^b
	藻菌混合	86.05±1.01 ^{bc}	80.93±3.09 ^{bc}	68.02±4.16 ^{bc}
TP	单一微藻	18.24±7.81 ^a	25.05±12.86 ^a	33.44±6.56 ^a
	单一细菌	89.52±3.71 ^b	78.51±13.61 ^b	66.98±2.22 ^b
	藻菌混合	93.71±2.22 ^{bc}	89.52±3.71 ^{bc}	81.66±9.29 ^{bc}
TOC	单一微藻	41.92±4.28 ^a	53.12±1.18 ^a	56.21±5.70 ^a
	单一细菌	68.64±5.49 ^b	62.29±6.89 ^b	41.92±4.28 ^b
	藻菌混合	82.19±1.24 ^c	73.07±7.12 ^{ac}	63.52±4.90 ^{ac}

注: 同列不同小写字母表示有显著差异 ($P < 0.05$)。

Note: Different superscripts within the same column denote significant differences ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 柠檬酸三钠为细菌纯培养系统最适宜碳源

在相同培养条件下, 葡萄糖、乙酸钠、柠檬酸三钠均可作为小球藻、地衣芽孢杆菌以及藻菌共培养系统的碳源, 但柠檬酸三钠为地衣芽孢杆菌纯培养最适宜碳源。在细菌单独培养系统中, 以柠檬酸三钠为碳源时细菌的生物量最高, 主要是由于细菌脱氮速率不仅受碳源浓度影响, 而且也受电子供体本身性质所影响 (Fernandez-Nava et al, 2010)。在好氧条件下, 相较于糖类, 细菌优先使用有机酸进行生长代谢, 柠檬酸盐作为三羧酸循环的中间产物, 更容易被细菌利用, 从而有利于提高脱氮效率 (Elefsiniotis et al, 2004)。本研究中, 当细菌以乙酸钠为碳源时, 其生长速率高于以葡萄糖为碳源组的细菌, 这可能是由于结构简单、分子较小的碳源更有利于脱氮 (涂仁杰等, 2017)。本研究显示, 乙酸钠和柠檬酸三钠相较于葡萄糖更适合细菌生长, 与杨新萍等 (2010) 对一株好氧反硝化细菌脱氮性能的研究结果一致。尽管相对于另外两种碳源, 葡萄糖对细菌的促生长作用处于劣势, 但数据仍然显示其对细菌有一定的生长支撑能力, 说明细菌可以利用葡萄糖进行生长。

3.2 地衣芽孢杆菌可促进小球藻生长

在小球藻-地衣芽孢杆菌共培养系统中, 地衣芽

孢杆菌可促进微藻生长。有研究表明, 细菌可以为微藻提供促生长因子以及维生素, 刺激微藻的生理代谢, 增加细胞生物量并延迟细胞衰老 (Bruckner et al, 2011)。细菌代谢产生的 CO_2 为微藻光合作用提供了无机碳源, 促进了微藻的生长增殖 (Su et al, 2011)。Liang 等 (2015) 研究表明, 地衣芽孢杆菌与小球藻的共培养系统可以取得更高的氮、磷去除率, 并且地衣芽孢杆菌可以促进小球藻的生长。在藻菌共生系统中, 地衣芽孢杆菌会促进微藻 c-di-GMP 的表达 (Ji et al, 2018); c-di-gmp 作为一种细胞内重要的第二信使, 可调节细胞的多种生理功能并直接影响细胞信号传递 (Valentini & Filloux, 2016)。

在藻菌共培养系统中, 3 种碳源培养下细菌的最大生物量均低于细菌单独培养系统。Wang 等 (2016) 研究表明, 在含有机碳源和无机碳源的培养系统中, 小球藻可同时进行光合自养以及异养代谢, 并具有较高的营养物质吸收效率。因此, 在藻菌共培养系统中, 微藻吸收营养物质速率加快, 营养竞争更加激烈, 抑制了细菌的生长。当细菌进入衰退期后, 微藻的生长速率相对于其单独培养系统没有显著差异, 表明微藻与细菌间的相互关系随生长周期及培养时间而改变。造成这种现象的可能原因是藻、菌快速生长造成了后期营养盐限制, 并且随着培养时间延长, 藻菌微环境发生变化, 导致藻菌间相互关系发生改变 (Guo et al, 2014)。

3.3 葡萄糖为小球藻培养和藻菌共培最适碳源

在本研究中,葡萄糖为微藻纯培养时最适宜碳源。以葡萄糖为碳源时,小球藻纯培养系统的 TN 与 TP 的去除率可达 85.74% 和 89.52%, 这与 Shen 等(2015)以葡萄糖为碳源利用微藻处理城市污水的研究结果相似。有研究表明,以葡萄糖为碳源时,微藻在兼养条件下呼吸速率均高于光合自养与异养培养,对营养物质摄取速率更快(Yee, 2015)。相比于乙酸钠和柠檬酸三钠,葡萄糖更适合微藻生长,因为高浓度乙酸钠以及柠檬酸三钠会降低叶绿素合成水平与 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶的活性,从而导致其光合速率降低,微藻生长受到一定程度的抑制(董庆霖等, 2007)。

本试验结果显示,葡萄糖为藻菌共培养系统的最适宜碳源,细菌主要通过促进微藻生长从而提高系统脱氮除磷效率(Goncalves et al, 2017)。在构建藻菌共生系统时,首先要为微藻提供适宜的环境,而人工构建藻菌共生系统主要基于微生物之间的物质交换和信息交流(Brenner et al, 2008)。因此,在满足微藻生长的前提下,需要进一步提高促生菌的活性。碳源作为微生物必需代谢物质,不同生物对碳源的需求具有特异性。本试验中,葡萄糖不仅是小球藻生长最适宜碳源,也可以满足地衣芽孢杆菌生长,且藻菌共培养系统的污水处理效率最高。He 等(2013)比较了小球藻-细菌共培养系统和微藻单独培养系统之间的污水处理效果,发现在藻菌混合系统中,小球藻在脱氮除磷方面起主导作用,细菌主要去除废水中的有机物,藻菌共培养有利于提高污水处理效率。Liu 等(2018)以葡萄糖为碳源,将酵母菌和小球藻共培养,相比于微藻单独培养,比生长速率提高 27.11%, 与本试验结果相似。为了提高污水处理效率并获得最大的微藻生物量,需要选择适合微藻生长并满足细菌代谢的碳源。

参考文献

董庆霖, 赵学明, 邢向英, 2007. 乙酸钠诱导雨生红球藻合成虾青素的机理[J]. 微生物学通报, 34(2): 256-260.

涂仁杰, 金文标, 韩松芳, 等, 2017. 细菌对城市污水中小球藻生长和油脂积累的影响[J]. 环境科学, 38(10): 4279-4285.

王瑞民, 2015. 栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 藻菌共生体系的构建及调控[D]. 北京: 中国科学院大学.

杨新萍, 钟磊, 周立祥, 2010. 有机碳源及 DO 对好氧反硝化细菌 AD6 脱氮性能的影响[J]. 环境科学, 31(6): 1633-1639.

Brenner K, You L, Arnold F H, 2008. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology[J]. Trends in Biotechnology, 26(9): 483-489.

Bruckner C G, Rehm C, Grossart H P, et al, 2011. Growth and release of extracellular organic compounds by benthic diatoms depend on interactions with bacteria[J]. Environmental Microbiology, 13(4): 1052-1063.

Elefsiniotis P, Wareham D G, Smith M O, 2004. Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification[J]. Journal of Biotechnology, 114(3): 289-297.

Fan J, Yan C, Andre C, et al, 2012. Oil accumulation is controlled by carbon precursor supply for fatty acid synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Plant and Cell Physiology, 53(8): 1380-1390.

Fernandez-Nava Y, Maranon E, Soons J, et al, 2010. Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources[J]. Journal of Hazardous Materials, 173(1/3): 682-688.

Fortela D L, Hernandez R, French W T, et al, 2016. Extent of inhibition and utilization of volatile fatty acids as carbon sources for activated sludge microbial consortia dedicated for biodiesel production[J]. Renewable Energy, 96: 11-19.

Goncalves A L, Pires J C M, Simoes M, 2016. Wastewater polishing by consortia of *Chlorella vulgaris* and activated sludge native bacteria[J]. Journal of Cleaner Production, 133: 348-357.

Goncalves A L, Pires J C M, Simoes M, 2017. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment [J]. Algal Research, 24: 403-415.

Guo Z, Tong Y W, 2014. The interactions between *Chlorella vulgaris* and algal symbiotic bacteria under photoautotrophic and photoheterotrophic conditions [J]. Journal of Applied Phycology, 26(3): 1483-1492.

He P J, Mao B, Lv F, et al, 2013. The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters[J]. Bioresource Technology, 146: 562-568.

Ji X, Jiang M, Zhang J, et al, 2018. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater[J]. Bioresource Technology 247: 44-50.

Liang Z, Liu Y, Ge F, et al, 2015. A pH-dependent enhancement effect of co-cultured *Bacillus licheniformis* on nutrient removal by *Chlorella vulgaris*[J]. Ecological Engineering, 75: 258-263.

Liu L, Chen J, Lim P E, et al, 2018. Dual-species cultiva-

- tion of microalgae and yeast for enhanced biomass and microbial lipid production[J]. *Journal of Applied Phycology*, 30(6): 2997 - 3007.
- Mendes L B B, Vermelho A B, 2013. Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1): 1 - 14.
- Renuka N, Sood A, Ratha S K, et al, 2013. Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production[J]. *Journal of Applied Phycology*, 25(5): 1529 - 1537.
- Shen Q H, Jiang J W, Chen L P, et al, 2015. Effect of carbon source on biomass growth and nutrients removal of *Scenedesmus obliquus* for wastewater advanced treatment and lipid production[J]. *Bioresource Technology*, 190: 257 - 263.
- Su Y, Mennerich A, Urban B, 2011. Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture[J]. *Water Research*, 45(11): 3351 - 3358.
- Udaiyappan A F M, Hasan H A, Takriff M S, et al, 2017. A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 20: 8 - 21.
- Valentini M, Filloux A, 2016. Biofilms and cyclic di-GMP (c-di-GMP) signaling: lessons from *Pseudomonas aeruginosa* and other bacteria[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 291(24): 12547 - 12555.
- Wang S, Wu Y, Wang X, 2016. Heterotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* using sucrose as the sole carbon source by co-culture with *Rhodotorula glutinis* [J]. *Bioresource Technology*, 220: 615 - 620.
- Wang L, Wang H, Chen X, et al, 2018. Using *Chlorella vulgaris* treat toxic excess sludge extract, and identification of its response mechanism by proteomics approach[J]. *Bioresource Technology*, 253: 188 - 196.
- Yee W, 2015. Feasibility of various carbon sources and plant materials in enhancing the growth and biomass productivity of the freshwater microalgae *Monoraphidium griffithii* NS16[J]. *Bioresource Technology*, 196: 1 - 8.
- Yu W, Chen Z, Shen L, et al, 2016. Proteomic profiling of *Bacillus licheniformis* reveals a stress response mechanism in the synthesis of extracellular polymeric flocculants[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 113(4): 797 - 806.

(责任编辑 万月华)

Effect of Carbon Source on Nitrogen and Phosphorus Removal by a Bacterial-Algal Consortium

XIAO Wei¹, BI Yong-hong², ZHANG Bo³, WANG Dong³, WU Hong-yan¹

(1.Hubei University of Technology, Wuhan 430068,P.R.China;

2.Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072,P.R.China;

3.Ningbo Tianhe Aquatic Ecosystem Co., Ltd. Ningbo 315000,P.R.China)

Abstract: The use of symbiotic algal-bacterial consortia has great potential for advanced sewage treatment and resource regeneration, and the use of an appropriate supplemental carbon source improves treatment efficiency. In this study, *Chlorella pyrenoidosa* and *Bacillus licheniformis* FACHB-5 were selected for testing, based on previous research. The effects of different carbon sources on the treatment efficiency of *C. pyrenoidosa* and *B. licheniformis* acting alone, and symbiotically as a algal-bacterial consortium were investigated. The aim of the study was to identify the most suitable carbon source and provide technical support for using algal-bacterial consortia to sewage treatment. *C. pyrenoidosa* and *B. licheniformis* in the exponential growth phase were cultured alone or mix-cultured in artificially composed urban sewage, at initial concentrations of $(1.0 \pm 0.5) \times 10^7$ CFU/mL for the bacteria and $(2.0 \pm 0.3) \times 10^6$ cells/mL for the algae, and three carbon sources (glucose, sodium acetate and trisodium citrate) were used for the culture test. Each trial was run in triplicate with a control group, trials lasted 7 days and the culture was sampled each 24 h. Results show that *B. licheniformis* growth clearly depends on carbon source. Trisodium citrate gave the maximum biomass ($NB_{\max} = 1.13 \times 10^8$ CFU/mL) of *B. licheniformis* and is the most suitable carbon source. The removal rates of TN, TP and TOC with trisodium citrate were, respectively, 43.4%, 33.70% and 56.21%. Glucose was the most suitable carbon source for *C. pyrenoidosa*, yielding a maximum cell count ($NU_{\max} = 1.34 \times 10^7$ cells/mL and respective TN, TP and TOC removal rates of 85.74%, 89.52% and 68.64%, much higher than those of any *B. licheniformis* treatment. With the algal-bacterial consortium treatment, *B. licheniformis* promoted the growth of *C. pyrenoidosa*, and the TN, TP and TOC removal rates using the three carbon sources were all significantly higher than those in the *B. licheniformis* treatments. With glucose, the respective removal rates of TN, TP and TOC reached 86.05%, 93.71% and 82.19%. In conclusion, glucose, sodium acetate and trisodium citrate could all be used as a carbon source for cultures or mix-cultures of *C. pyrenoidosa* and *B. licheniformis*. The most suitable carbon source is trisodium citrate for culturing *B. licheniformis*, while glucose is most suitable for culturing *C. pyrenoidosa* or the *C. pyrenoidosa*-*B. licheniformis* consortium.

Key words: carbon source; algal-bacterial consortium; sewage treatment