

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2017.0298

骆丽宁 王丽娟 杨敏 等.2018.胞外物质影响铁盐混凝除铜绿微囊藻的效能与机制[J].环境科学学报, 38(2) : 437-442

Luo L N , Wang L J , Yang M , et al. 2018. Effect and mechanism of extracellular substances on removal of *Microcystis aeruginosa* by ferric salt coagulation [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 38(2) : 437-442

胞外物质影响铁盐混凝除铜绿微囊藻的效能与机制

骆丽宁^{1,2}, 王丽娟¹, 杨敏^{2,3}, 李梦琦^{1,2}, 刘锐平^{2,*}

1. 河北工业大学土木与交通学院, 天津 300401

2. 中国科学院生态环境研究中心, 中国科学院饮用水科学与技术重点实验室, 北京 100085

3. 中国科学院大学, 北京 100049

收稿日期: 2017-06-27

修回日期: 2017-08-02

录用日期: 2017-08-02

摘要: 藻及其代谢产物严重威胁着饮用水质的安全. 混凝是饮用水处理工艺中去除藻细胞最为重要的单元, 而藻细胞的胞外有机物(EOM) 是影响藻细胞脱稳和去除的重要因素. 本文以铜绿微囊藻为研究对象, 对比混凝对原始藻细胞和经离心去除 EOM 的藻细胞(裸藻) 的去除效果. 结果发现在 pH 为 6.0、7.0 和 8.0 的条件下, 铁盐混凝对裸藻细胞(去除 EOM 的藻细胞) 的去除率比原始藻细胞分别提高了 5.01%、29.24% 和 27.45%, 证实 EOM 对铁盐混凝除藻具有抑制作用. 此外, 絮体粒径动态分析表明, 在 pH 分别为 6.0、7.0 和 8.0 下, 裸藻细胞对应的最大絮体粒径均比原始藻细胞要高. Zeta 电位分析表明, 裸藻比原始藻的 Zeta 电位更高, 因此, 更容易通过压缩双电层脱稳. 三维荧光分析结果表明, EOM 易与金属发生络合反应, 生成螯合物, 从而抑制混凝除藻.

关键词: 铜绿微囊藻; 胞外有机物; 混凝; 机理

文章编号: 0253-2468(2018) 02-437-06

中图分类号: X832, X703

文献标识码: A

Effect and mechanism of extracellular substances on removal of *Microcystis aeruginosa* by ferric salt coagulation

LUO Lining^{1,2}, WANG Lijuan¹, YANG Min^{2,3}, LI Mengqi^{1,2}, LIU Ruiping^{2,*}

1. School of Civil and Transportation, Hebei University of Technology, Tianjin 300401

2. Key Laboratory of Drinking Water Science and Technology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Received 27 June 2017;

received in revised form 2 August 2017;

accepted 2 August 2017

Abstract: Algae and its metabolites seriously threaten the safety of drinking water quality. Coagulation is a very important unit to remove algae cells in the drinking water treatment process, and the extracellular organic matter (EOM) of algal cells is an essential factor to affect the destabilization and removal of algal cells. In this paper, *Microcystis aeruginosa* was used as the research object. It was found that in comparison to that of the original algae cells, the removal rate of naked algal cells (algal cells without EOM) by the coagulation of iron salt increased by 5.01%, 29.24% and 27.45% at pH value of 6.0, 7.0 and 8.0, respectively, confirming that EOM had an adverse effect on the algae cells removal. In addition, the dynamic analysis of floc grain size shows that the corresponding maximum floc size of the naked algal cells at pH level of 6.0, 7.0 and 8.0 is higher than that of the original algae cells. Zeta potential analysis displays that the Zeta potential of the naked algae was higher compared with that of the original algae, so the naked algae is easier to destabilize by compressing the double electric layer. The results of the three-dimensional fluorescence analysis demonstrate that the EOM is prone to combine with the metal to form chelate, thus inhibiting the coagulation of iron salts on algae.

Keywords: *Microcystis aeruginosa*; extracellular organic matter; coagulation; mechanism

1 引言(Introduction)

我国许多城市以湖泊、水库等为饮用水源,水

体富营养化导致藻细胞大量繁殖, 并给饮用水安全保障带来严峻挑战(Takaara *et al.*, 2010; Qi *et al.*, 2016). 铜绿微囊藻是富营养化水体中常见的藻属,

基金项目: 国家重点研发计划(No.2016YFC0400802)

Supported by the National Key Research and Development Program (No.2016YFC0400802)

作者简介: 骆丽宁(1992—), 女, E-mail: luoliningmail@163.com; * 责任作者, E-mail: liuruiping@rcees.ac.cn

Biography: LUO Lining(1992—), female, E-mail: luoliningmail@163.com; * **Corresponding author** E-mail: liuruiping@rcees.ac.cn

且因其可能产生藻毒素,严重威胁着人们的身体健康,在过去 20 多年中得到了广泛关注(Bernhardt *et al.*, 1989).常见的除藻工艺有混凝-沉淀、混凝-气浮、膜过滤等(马敏等 2014; 张普等 2010).氯、高锰酸钾、臭氧等预氧化可有效改善混凝除藻效果(Qi *et al.*, 2016).但也有研究显示,过度预氧化可能导致藻细胞破裂和胞内有机物(Intracellular Organic Matter, IOM)溶出,进而增大饮用水安全风险(Qi *et al.*, 2016).针对这一问题,马敏等提出适度预氧化强化除藻的工艺,并证实可在控制 IOM 释放的前提下能大幅提高混凝除藻效果(Ma *et al.*, 2012);进一步研究发现,适度预氧化还可以使得胞外有机物(Extracellular Organic Matter, EOM)从藻细胞表面脱附(Qi *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2012),这可能是除藻效果提高的重要原因,但前人对此研究较少.EOM 一般是指藻类自身分泌的有机物质,主要由蛋白质和核酸等物质组成(Bernhardt *et al.*, 1989; 石颖等, 2001; Chen *et al.*, 2005),其对于保持藻细胞完整性和相对稳定性具有重要意义(Qi *et al.*, 2016).深刻认识 EOM 对混凝除藻效能的影响效应,对于优化并强化混凝除藻工艺、控制藻及其代谢物产生的水质风险具有重要意义.

因此,本文以铜绿微囊藻为研究对象,对比混凝对原始藻细胞和经离心去除 EOM 的藻细胞(裸藻)的去除效果,进一步采用激光粒度分析仪、扫描电镜(SEM)、三维荧光(EEM)等手段研究 EOM 影响混凝除藻的效能和机制,以期对富营养化水源处理过程中控制藻及其代谢物的实际应用提供参考.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 藻细胞培养与 EOM 分离

铜绿微囊藻培养:铜绿微囊藻藻种购自中国科学院武汉水生生物研究所,采用标准 BG-11 培养基在昼夜比为 14 h(29 °C):10 h(26 °C)条件下培养,取稳定期藻细胞进行实验.所获得的铜绿微囊藻细胞为球体或近球体,单细胞个体,直径为 3~5 μm.

藻细胞 EOM 分离:取一定体积藻细胞悬浊液离心 5 min(4500 r·min⁻¹),倾出上清液,加入静置隔夜自来水(余氯浓度为 0 mg·L⁻¹)获得裸藻悬浊液;按一定比例稀释使得裸藻在 680 nm 的吸光度(OD₆₈₀)为 0.10.离心过程中藻细胞破裂非常少,可忽略不计(Zhu *et al.*, 2015).

EOM 提取:将一定量的藻细胞悬浊液置于离心

管,以 10000 r·min⁻¹离心 15 min(4 °C),取上清液冷藏保存(Qu *et al.*, 2012).

2.2 实验方法

混凝实验:用静置隔夜自来水将藻、裸藻储备液分别稀释至 1×10⁹ 个·mL⁻¹(OD₆₈₀ = 0.10),各取 400 mL 并用 HCl 和 NaOH 分别调节 pH 值至 6、7 和 8.在六联搅拌器(MY3000-6,梅宇)中进行混凝实验,步骤如下:① 250 r·min⁻¹快搅 2 min;② 80 r·min⁻¹慢搅 15 min;③ 静置 30 min.混凝剂采用 FeCl₃,投量为 10 mg·L⁻¹(以 Fe 计).在液面以下 2 cm 处取上清液测定藻的吸光度、浊度等指标,底部絮体经冷冻干燥后进行扫描电镜(SEM, JSM4701F, JEOL, Japan)分析.如未特别说明,所用试剂均为分析纯.

絮体粒径动态变化检测:上述实验过程中,利用蠕动泵(BT00-300M,兰格)将液面 2 cm 以下的水样连续输送至 Mastersizer 2000 激光粒度分析仪(Malvern, UK)样品室进行颗粒粒径分析,之后返回到烧杯中.选用体积平均粒径(d_{50})作为粒径参数.

Zeta 电位测定:分别取 500 mL 藻和裸藻悬浊液,将 pH 调至 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0,采用 Zeta 电位分析仪(Malvern Zetasizer 2000HSA, UK)测定 Zeta 电位.

2.3 分析方法

pH 测定采用 720 型 pH 计(Thermo Orion, USA);铁浓度采用 OPTIMA-2000 型电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, PerkinElmer, USA)测定;藻液浓度采用 U-3100 型紫外-可见分光光度计(Hitachi, Japan)测定;EOM 采用 F4500 型三维荧光光谱仪(Hitachi, Japan)测定.激发波长与发射波长范围分别为 200~450 nm、250~550 nm;絮体形貌采用 JSM4701F 型场发射扫描电镜(JEOL, Japan)进行表征.

3 结果与讨论(Results and discussion)

3.1 铁盐混凝除藻性能

表 1 给出了初始 pH 值分别为 6.0、7.0、8.0 条件下铁盐混凝去除藻与裸藻细胞性能对比,可以看出,氯化铁在较低 pH 值下对藻与裸藻细胞的去除率较高.具体而言,在 pH 为 6 时浊度去除效果最好,去除率分别为 79.1%、77.3%.裸藻在不同 pH 条件下的去除率分别为 88.2%、79.2%、74.0%,原始藻细胞的去除率分别为 83.2%、50.0%、46.5%.此外,表 1 表

明,在相同条件下铁盐混凝对裸藻的去除率明显高于原始藻细胞,且在 pH=7.0 和 8.0 时差距更为显著.由残余铁量可以看出,氯化铁投量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时没有使出水铁浓度增高.进一步对比两种体系下的絮体分形维数可以看出,在 3 个 pH 条件下裸藻混凝絮体的分形维数分别为 1.82、1.53 和 1.54,而对

应的原始藻类细胞混凝絮体的分形维数值则分别为 2.04、1.96 和 1.65.分形维数值越低,则絮体粒径越大(张丽娟,2009).上述结果表明,裸藻混凝生成的絮体粒径较大,絮体更为松散,网捕、卷扫等作用更强,从而混凝除藻效果更好.

表 1 不同 pH 值条件下铁盐混凝去除藻与裸藻性能

Table 1 Removal of algae cells with and without EOM by iron coagulation at different pH of 6.0, 7.0, and 8.0

pH	藻样	油度去除率	藻类去除率	Zeta 电位/mV		残留铁/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	分形维数
				初始	快搅后		
6.0	原始藻	79.1%	83.2%	-16.50	-9.10	0.22	2.04
	裸藻	77.3%	88.2%	-14.50	-10.60	0.16	1.82
7.0	原始藻	55.1%	50.0%	-20.35	-17.30	0.32	1.96
	裸藻	74.0%	79.2%	-13.88	-10.40	0.14	1.53
8.0	原始藻	52.6%	46.5%	-22.50	-17.56	0.11	1.65
	裸藻	55.4%	74.0%	-16.58	-12.30	0.10	1.54

3.2 铁盐混凝除藻过程主要指标变化

3.2.1 絮体粒径(d_{50}) 进一步考察了不同初始 pH 值条件下铁盐混凝除藻过程中絮体粒径动态变化规律.结果如图 1 所示.可以看出,在 3 个 pH 条件下,裸藻混凝体系絮体粒径增长速率均高于原始藻细胞体系.pH=6.0 时,随着反应时间延长,裸藻体系的 d_{50} 从

$0 \mu\text{m}$ 快速增长到 $250.0 \mu\text{m}$,而反应最后原始藻细胞体系则增长到 $150.0 \mu\text{m}$,相差为 $100.0 \mu\text{m}$.pH=7.0 时,反应 15 min 后裸藻 d_{50} 值增长到 $600.0 \mu\text{m}$,而原始藻细胞絮体的 d_{50} 仅为 $180.0 \mu\text{m}$.图 1 还表明, pH 值对混凝过程絮体粒径增长有重要影响,且对比而言,裸藻混凝絮体 d_{50} 受 pH 值影响更为显著.

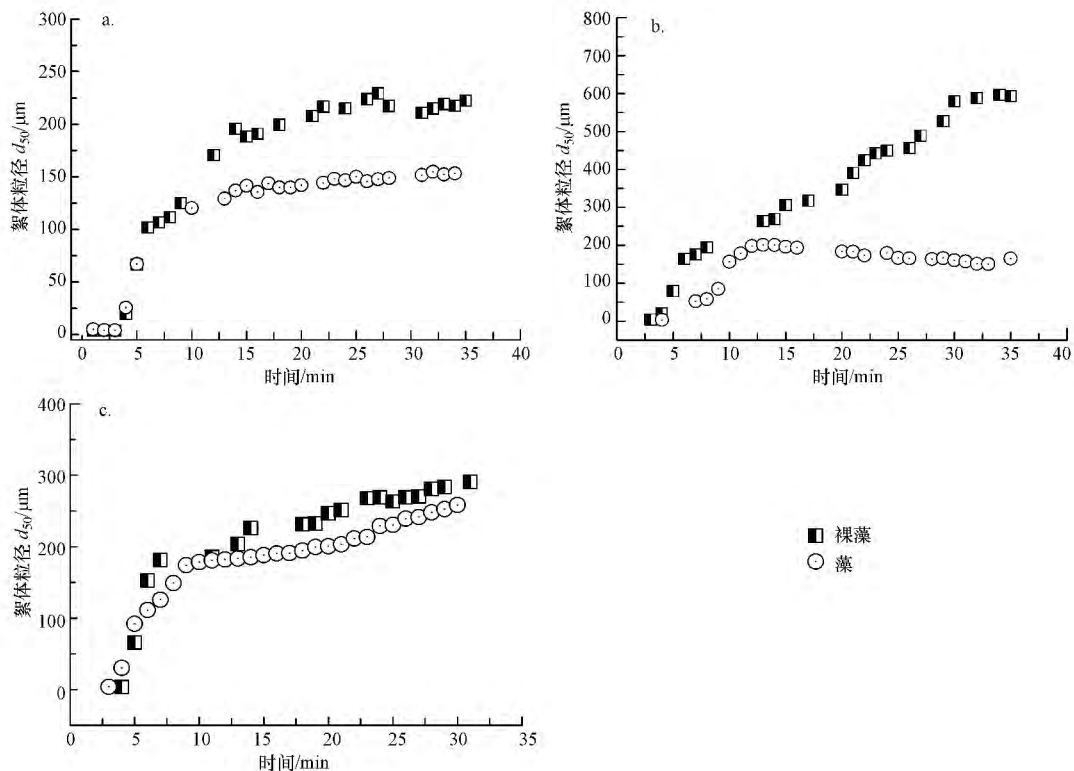


图 1 不同 pH 条件下铁盐混凝去除藻与裸藻过程絮体粒径(d_{50}) 变化规律(a. pH=6; b. pH=7; c. pH=8)

Fig.1 Dynamic floc growth and d_{50} variation during the coagulation of algae cells with and without EOM

pH 值对藻细胞生长有重要影响,酸性太强或者碱性太强均会对藻细胞生长产生不利影响.但对于本研究的 pH 范围(6~8),铜绿微囊藻的生长和细胞表面性质并无显著区别(陈建中等,2010).pH 值可能主要通过影响铁盐水解过程而对絮体粒径增长产生影响,不同 pH 值条件下铁盐水解产物有很大不同,不同形态的带正电水解产物($\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ 、 $\text{Fe}(\text{OH})_2^{2+}$ 、 $\text{Fe}_2(\text{OH})_2^{4+}$ 、 $\text{Fe}_4(\text{OH})_6^{6+}$ 等)进而影响到絮凝的效果.

3.2.2 Zeta 电位 图 2 给出了不同 pH 值条件下藻与裸藻细胞表面 Zeta 电位变化规律.在广谱 pH 值范围内(pH=4~8),藻与裸藻细胞均为电负性,且 pH 值越高电负性越强.对比而言,相同 pH 值条件下,具有 EOM 的藻细胞 Zeta 电位绝对值比裸藻高,电负性更强.这与 EOM 中大多数官能团及有机物带有负电有密不可分的关系.这说明裸藻胶体表面扩散层较薄,更不稳定,在混凝过程中双电层更容易被压缩而脱稳去除.事实上,根据 DLVO 理论,铁离子具有很强的压缩藻细胞表面 Stern 层作用,可降低表面电位并使其趋向零电荷点,脱稳胶体可进一步通过吸附、网捕、卷扫等作用生成粒径更大的絮体,再通过沉降作用去除.表 1 表明, pH 为 6.0、7.0、8.0 时的藻类混凝前 Zeta 电位分别为 -16.50、-20.35、-17.56 mV,电负性均高于同等条件下裸藻的电位(分别为 -14.50、-13.88、-16.58 mV).也证明了具有 EOM 的原始藻细胞 Zeta 电位绝对值比裸藻高,电负性更强,在混凝过程中不易被去除.不同 pH 条件下藻与裸藻溶液的浊度去除率都比较大,反应前和快搅结束后的 Zeta 电位说明铁盐的混凝对藻与裸藻稳定性都有一定的影响.

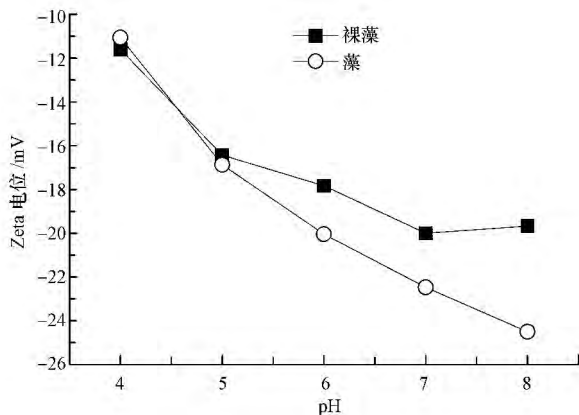


图 2 藻与裸藻细胞在不同 pH 条件的 Zeta 电位

Fig.2 The zeta potential of *M. aeruginosa* cells with and without EOM in wide pH range from 4 to 8

3.2.3 絮体形貌 SEM 分析 为进一步探讨混凝除藻机理,采用 SEM 手段考察了不同 pH 条件下形成的藻与裸藻絮体形貌,结果如图 3 所示.可以看出,原始藻细胞混凝生成的絮体密实,这可能是由于 EOM 在混凝过程中阻碍颗粒碰撞、粘附、聚集所致.裸藻混凝絮体粒径较为松散,这暗示网捕、卷扫等机制在裸藻去除中发挥更重要的作用.SEM 结果与表 1 和图 1 中絮体动态粒径变化、分形维数的结果是一致的.

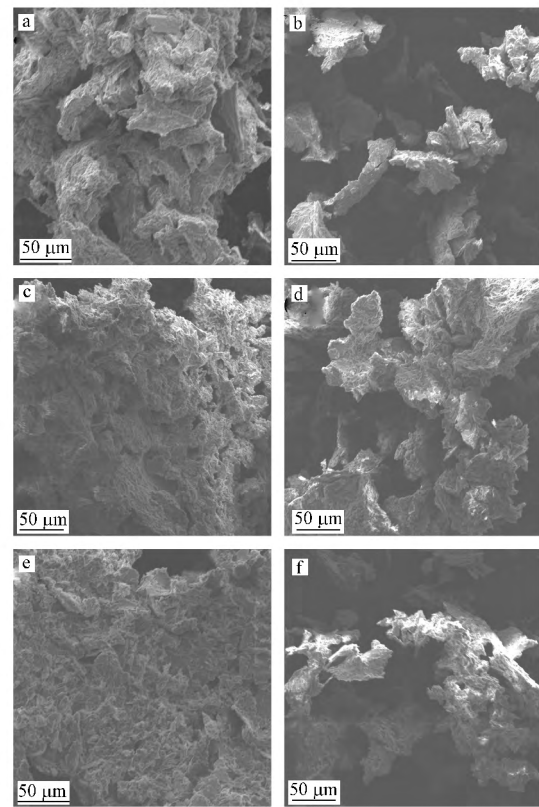


图 3 不同 pH 条件下铁盐混凝去除藻与裸藻过程中生成絮体的 SEM 图(a. pH=6 藻, b. pH=6 裸藻, c. pH=7 藻, d. pH=7 裸藻, e. pH=8 藻, f. pH=8 裸藻)

Fig.3 SEM images of algae and algae cells with and without EOM after iron coagulation at different pH

3.2.4 铁盐混凝前后 EOM 的 EEM 分析 EEM 可获得激发波长(λ_{Em})和发射波长(λ_{Ex})的同步变化,进而提供结构、构型、官能团、非均质性、分子内及分子间的动力学特性等信息.EEM 广泛应用于腐殖质、蛋白质等有机物的分析与表征.图 4 给出了铁盐混凝前后 EOM 的 EEM 谱图,可以看出, EOM 中的有机物主要是蛋白质(包括氨基酸类和芳香族类).从图 4 还可以看出,铁盐混凝之后 EOM 的三维荧光吸收峰显著降低,证实了铁盐与 EOM 之间存在相互

作用,说明 EOM 中的低分子量和分子量大于 300 kDa 的有机物在混凝过程中很容易被去除.另外, EOM 中一些高分子有机物与混凝剂作用产生复杂

的化合物,消耗了混凝剂,从而抑制了混凝除藻 (Tang *et al.* 2017).

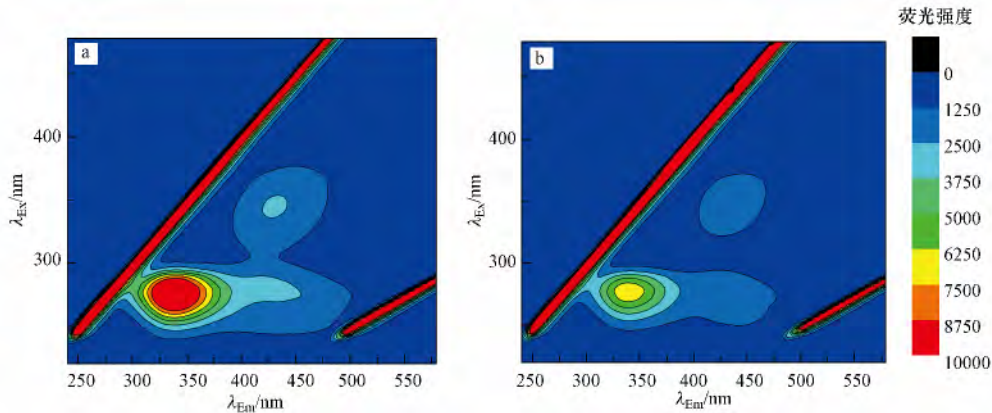


图 4 铁盐混凝前后 EOM 的 EEM 图 ($\lambda_{Ex} = 200 \sim 450 \text{ nm}$; $\lambda_{Em} = 250 \sim 550$; a. 混凝前 b. 混凝后)

Fig.4 EEM spectra for the original EOM and EOM after iron coagulation

3.3 EOM 抑制铁盐混凝除藻的机理分析

EOM 中只有一部分小分子有机物容易在混凝中被去除 (Takaara *et al.* 2010; Tang *et al.* , 2017) , 其他一些有机物如 EOM 中一些大分子有机物在混凝过程中与铁盐发生了相互作用,可能是金属离子与 EOM 中有机物(蛋白质等)发生了螯合作用生成了螯合物,阻碍混凝的进行 (Ma *et al.* , 2012; Qi *et al.* , 2014); 或者是产生于铜绿微囊藻中的亲水性物质 (主要是脂多糖和核酸等有机物) 在混凝中强烈的抑制作用已被 Takaara 等 (2010) 证实.主要是亲水性物质直接与混凝剂相接触,抑制混凝剂的进一步水解,降低了混凝效率,从而影响了混凝效果.在离心过程中 EOM 从藻细胞表面脱落下来 (Tang *et al.* , 2017) 降低了 EOM 的抑制作用,因此,在混凝除藻试验中,裸藻表现出了更好的去除效果 (图 5).

4 结论 (Conclusions)

铁盐混凝对裸藻的去除效果,相比于原始藻细胞更为显著,在 pH 为 6.0、7.0 和 8.0 条件下,裸藻去除率分别为 88.2%、79.2%、74.0%,均高于原始藻细胞 83.2%、50.0%、46.5% 的去除率,证实 EOM 对铁盐混凝除藻具有抑制作用.絮体粒径 (d_{50}) 动态分析表明,3 种条件下原始藻细胞最大颗粒粒径分别为 150.0、200.0 和 215.0 μm ,而裸藻体系对应的最大颗粒粒径分别为 250.0、600.0 和 275.0 μm ; Zeta 电位分析证实,去除 EOM 后的裸藻 Zeta 电位更高,更容易通过压缩双电层脱稳;三维荧光 (EEM) 分析结果证实, EOM 与金属发生螯合反应,抑制混凝. EOM 是影响藻细胞脱稳和混凝去除的重要因素,适度 EOM 脱落可以提高混凝除藻的效果.本研究结论只针对于铜绿微囊藻,其他藻类的去除机理及相关内容需要进一步探讨.

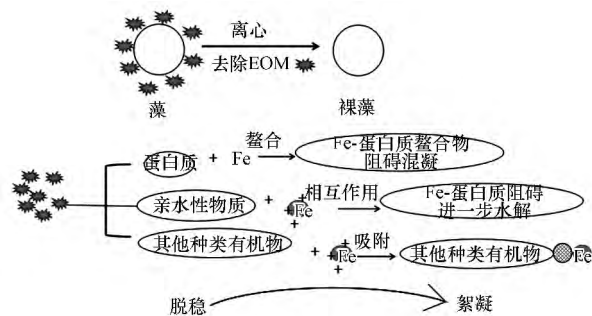


图 5 EOM 抑制铁盐混凝除藻机理图

Fig.5 Schematic diagram of the mechanism involved in the inhibiting effect of EOM on algae removal by iron coagulation

参考文献 (References):

Bernhardt H, Schell H, Hoyer O *et al.* 1991. Influence of algogenic organic substances on flocculation and filtration [C]. WISA.1: 41-57

Chen J J, Yeh H H. 2005. The mechanisms of potassium permanganate on algae removal [J]. Water Research, 39(18): 4420-4428

Garzon-Sanabria A J, Ramirez-Caballero S S, Moss F E P, *et al.* 2013. Effect of algogenic organic matter (AOM) and sodium chloride on Nannochloropsis salina flocculation efficiency [J]. Bioresource Technology, 143: 231-237

Ma M, Liu R P, Liu H J, *et al.* 2012. Effects and mechanisms of pre-chlorination on *Microcystis aeruginosa* removal by alum coagulation:

- significance of the released intracellular organic matter [J]. Separation and Purification Technology 86: 19-25
- Ma M ,Liu R P ,Liu H J ,*et al.*2012.Effect of moderate pre-oxidation on the removal of *Microcystis aeruginosa* by $\text{KMnO}_4\text{-Fe(II)}$ process: significance of the in-situ formed Fe(III) [J]. Water Research 46(1): 73-81
- 马敏,刘锐平,刘会娟,等.2014.预氯化对铝盐混凝铜绿微囊藻过程中溶解性有机物和残余铝的影响[J].环境科学学报,34(1): 73-78
- 宁平,朱易,徐小军.2001.三氯化铁在滇池蓝藻爆发期除藻中的应用研究[J].农业环境保护,5(5): 348-350
- Pivokonsky M , Kloucek O , Pivokonska L. 2006. Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algogenic organic matter[J]. Water Research 40(16): 3045-3052
- Qi J ,Lan H C ,Liu R P ,*et al.*2016.Prechlorination of algae-laden water: The effects of transportation time on cell integrity ,algal organic matter release and chlorinated disinfection byproduct formation [J]. Water Research ,102: 221-228
- Qi J ,Lan H C ,Liu H J ,*et al.*2016.Simultaneous surface-adsorbed organic matter desorption and cell integrity maintenance by moderate prechlorination to enhance *Microcystis aeruginosa* removal in $\text{KMnO}_4\text{-Fe(II)}$ process [J]. Water Research ,105: 551-558
- Qi J ,Lan H C ,Miao S Y ,*et al.*2015. $\text{KMnO}_4\text{-Fe(II)}$ pretreatment to enhance *Microcystis aeruginosa* ,removal by aluminum coagulation: Does it work after long distance transportation? [J]. Water Research 88: 127-134
- Qu F ,Liang H ,Wang Z ,*et al.*2012.Ultrafiltration membrane fouling by extracellular organic matters (EOM) of *Microcystis aeruginosa* in stationary phase: influences of interfacial characteristics of foulants and fouling mechanisms [J]. Water Research 46(5): 1490-1500
- 石颖,马军,蔡伟民,等.2001.湖泊、水库水的强化混凝除藻的试验研究[J].环境科学学报,21(2): 251-253
- Takaara T ,Sano D ,Masago Y ,*et al.*2010.Surface-retained organic matter of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride in drinking water treatment [J]. Water Research 44(13): 3781-3786
- 张丽娟.水中铜绿微囊藻的强化混凝处理技术研究[D].长沙: 湖南大学.2009
- 张普,乔俊莲,王国强,等.2010.聚二甲基二烯丙基氯化铵对铜绿微囊藻的去除效果研究[J].水处理技术,36(11): 15-18+21
- Zhu M ,Gao N ,Chu W ,*et al.*2015.Impact of pre-ozonation on disinfection by-product formation and speciation from chlor(am)ination of algal organic matter of *Microcystis aeruginosa* [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety 120: 256-262