



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202211040

中图分类号 X703

文献标识码 A

夏瑜, 常杰, 李沅珈, 等. 微藻处理城市污水反渗透浓水的条件优化[J]. 环境工程学报, 2023, 17(4): 1365-1376. [XIA Yu, CHANG Jie, LI Yuanjia, et al. Optimization of treatment conditions of reverse osmosis concentrate d wastewater from municipal sewage by microalgae[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(4): 1365-1376.]

微藻处理城市污水反渗透浓水的条件优化

夏瑜[✉], 常杰, 李沅珈, 王沛, 申欣宇, 胡怡然, 何绪文

中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083

摘要 城市污水回用是缓解水资源危机的有效措施。反渗透工艺是生产优质再生水的重要方法,但在实际应用过程中,25%~50%的城市污水会转化成反渗透浓水(ROC)。ROC的总氮(TN)、总磷(TP)和硬度离子(Ca²⁺、Mg²⁺)质量浓度等指标较高。利用微藻去除氮、磷和Ca²⁺、Mg²⁺是城市污水ROC处理的有效途径之一,且可实现资源回收,但目前对其应用条件的优化研究仍较少。利用微藻*Scenedesmus* sp. FACHB-1574处理城市污水ROC,在不同总溶解性固体(TDS)质量浓度(1.35 g·L⁻¹和2.70 g·L⁻¹)、光暗时间比(12 h/12 h、16 h/8 h、20 h/4 h、24 h/0 h)、光强(25 μmol·m⁻²·s⁻¹、50 μmol·m⁻²·s⁻¹、100 μmol·m⁻²·s⁻¹)和氮磷质量比(107:1、14:1、7:1)的条件下,研究了微藻对污水的处理效果及其生长状况。结果表明,*Scenedesmus* sp. FACHB-1574可适应城市污水ROC中TDS质量浓度为2.70 g·L⁻¹的条件;对TN的去除速率随光照时间和光强的增加而增大;氮磷质量比为14:1时微藻对TN的去除速率及微藻生物量等性能均得以强化。在最优处理条件下(光暗时间比20 h/4 h,光强100 μmol·m⁻²·s⁻¹,氮磷质量比14:1)处理10 d后,微藻对城市污水ROC中TN和TP去除率分别为92.83%和99.68%,藻密度、质量浓度(干重)、脂质含量分别为23.62×10⁶ cells·mL⁻¹、1.10 g·L⁻¹、34.55%。随着微藻的生长,在无CO₂的条件下,废水的pH值从7.5升高到10.7,并可去除52.7%的Ca²⁺和33.9%的Mg²⁺。本研究可为微藻在城市污水处理及资源化工艺中的应用提供参考。

关键词 反渗透浓水; 微藻; 总溶解性固体; 光暗时间比; 光强; 氮磷质量比; Ca²⁺; Mg²⁺

水资源危机推动了城市污水回收利用技术的研究与应用^[1]。2019年,新加坡40%的用水需求可由再生水解决^[2]。但我国2020年的城市污水的再生水利用率仅为23.7%,这表明我国城市污水的回收利用存在巨大潜力^[3]。反渗透(reverse osmosis, RO)技术具有污染物去除效率高、出水水质稳定、易操作等优点,在城市污水资源化中发挥着重要作用^[4]。然而,反渗透工艺产生的浓水(reverse osmosis concentrate, ROC)是目前限制RO技术广泛应用的主要难点^[5]。ROC约为进水的25%~50%,可生化性差。ROC中氮(总氮为23~62 mg·L⁻¹)、磷(总磷为0.4~20 mg·L⁻¹)浓度比进水更高^[6],而总溶解性固体(total dissolved solids, TDS)(质量浓度为1 129~5 560 mg·L⁻¹)、Ca²⁺(250~400 mg·L⁻¹)、Mg²⁺(70~250 mg·L⁻¹)等质量浓度也非常高,易导致水垢产生^[4,7-10]。

高级氧化工艺(advanced oxidation processes, AOPs)已被广泛用于处理城市污水ROC中难降解有机物和新型污染物^[11]。投加3~10 mg·L⁻¹的臭氧进行30 min的催化氧化后,ROC中有机物的可生化性可提高1.8~3.5倍^[12]。芬顿法和光催化均可去除ROC中约50%的有机物^[6]。电氧化法可去除ROC中约62%的有机物^[13]。ROC中4种新兴污染物(咖啡因、4-乙酰氨基安替比林、萘普生、吉非

收稿日期: 2022-11-08; 录用日期: 2023-02-08

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(52100067); 中国矿业大学(北京)“大学生创新性实验计划”项目(202103063)

第一作者: 夏瑜(1989—),女,博士,讲师, xiayu@cumtb.edu.cn; ✉通信作者

罗齐)在电氧化2 h后,去除率均达到了92%^[14]。然而,AOPs对城市污水ROC中氮(以 NO_3^- 为主)、磷(以 PO_4^{3-} 为主)及硬度离子(Ca^{2+} 、 Mg^{2+})的去除效率低。微藻为同时去除废水中的总氮(total nitrogen, TN)、总磷(total phosphorus, TP)提供了方向^[15]。微藻为光能自养型生物,无需有机物作为碳源,可在较广的氮(TN为5~900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、磷(TP为0.1~200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)浓度范围内生长,并有效去除城市污水ROC中的氮和磷。在微藻生长过程中,pH会升高,并通过生成钙镁沉淀物达到降低硬度的作用^[16]。增殖的微藻也可用于生产生物能源、食品、动物饲料和药品^[17]。

目前,已有研究者将微藻应用于城市污水ROC处理中。MOHSENI等^[10]选取*Chlorella vulgaris*和*Nannochloropsis salina*处理城市污水ROC,2种微藻在48 h内均能有效去除50%的TN和80%的TP。WANG等^[4]对比了*Chlorella* sp. ZTY4和*Scenedesmus* sp. LX1对城市污水ROC的处理效果,2种微藻对水中的TN、TP去除率均达到89%和92%以上。DO等^[9]利用*Chlorella sorokiniana* KNUA071处理城市污水ROC,其TN和TP去除率分别为91.9%和97%。然而,微藻对ROC的处理机理及其应用条件优化的研究尚不足。TDS是ROC的重要成分,一般由无机盐(如氯化物、钙、镁、钾、钠、碳酸氢盐、硫酸盐)和溶解在水中的有机物组成^[18],质量浓度为1.13~5.56 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[12],典型值为1.13~3.50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[4,5,19-22]。TDS主要是通过渗透势对微藻产生影响,过高的外部无机离子浓度会破坏藻细胞与其周围介质之间的渗透平衡,从而导致细胞失水、产生膨胀压力,使得细胞膜被破坏^[23]。所以,在高TDS(5.00~15.00 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的ROC中,淡水微藻的生长速率和污染物去除率会随着TDS的质量浓度升高而降低^[8]。此外,微藻的生长速度也受到其他环境因素的影响,如光强、光暗时间比、氮磷质量比、温度等。尤其是光自养微藻,光强和光暗时间比是决定其生长速度的主要因素^[24]。氮磷质量比对微藻生长也有很大影响^[25]。

选用一种单细胞绿色北方藻种(*Scenedesmus* sp. FACHB-1574)处理城市污水ROC,探究不同TDS、光暗时间比、光强和氮磷质量比等条件下,微藻对污染物的去除效果及自身生长状况,并探究由微藻生长引起的pH升高对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的去除影响,进而对微藻处理ROC过程中生物质积累及对污染物的去除条件进行优化,以期对微藻处理城市污水的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

所用ROC取自北京某城市污水再生水厂。该反渗透浓水为超滤出水被反渗透膜截留所得,其水质指标为:TDS为(2 700±38) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,COD为(114±1.7) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,pH为(7.5±0.08),TN为(47±0.81) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,TP为(0.44±0.02) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。典型阳离子质量浓度分别为: Na^+ (233.8±4.08) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, K^+ (41.1±1.23) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Ca^{2+} (320.1±2.02) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Mg^{2+} (118.8±2.44) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。典型阴离子质量浓度分别为: Cl^- (674.5±3.16) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, SO_4^{2-} (421.95±3.26) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NO_3^- (42.81±0.38) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

实验所用*Scenedesmus* sp. FACHB-1574购自中国科学院淡水藻种库。藻种在25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强、12 h/12 h的光暗时间比,温度25 $^{\circ}\text{C}$ 下,在BG-11培养基中进行扩培。

1.2 实验方法

利用离心机(赫西仪器,H/T16MM,中国)将扩培后的*Scenedesmus* sp. FACHB-1574在6 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下离心15 min,将浓缩藻液用高纯水洗涤2次后移入适量ROC中,通过血球计数法计算得知溶液中初始藻密度为 2×10^6 $\text{cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。每个锥形瓶中置入200 mL的ROC,每组设置3个锥形瓶。实验过程中会通入5%的 CO_2 作为碳源,流量为50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。实验温度保持在25 $^{\circ}\text{C}$ 。为避免微藻对测定结果干扰,将藻液通过0.45 μm 的滤膜(上海安谱,中国)过滤后进行化学成分分析。对*Scenedesmus* sp. FACHB-1574在不同TDS、光暗时间比、光强和氮磷质量比条件下对城市污水ROC的处理效果及其生长状况进行测定。

1.2.1 TDS 质量浓度、光暗时间比的设置及光强设置

实验使用中原水 TDS 质量浓度为 $2.70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，稀释后 ROC 的 TDS 质量浓度为 $1.35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，对比微藻对污染物的去除能力及自身的生长情况。稀释水的配制方法如下：使用去离子水将城市污水 ROC 稀释一倍，添加 NaNO_3 和 K_2HPO_4 补充氮源和磷源，使稀释水样与原水水样初始 TN、TP 一致。2 种质量浓度 TDS 的 ROC 中，*Scenedesmus* sp. FACHB-1574 对 TN、TP 的去除情况及其生长情况。实验中需要监测废水中的 TN、TP，并分析微藻的密度、干重和脂质含量。

光暗时间比设置为 12 h/12 h、16 h/8 h、20 h/4 h、24 h/0 h，对比在这 4 种光暗比条件下 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 对 ROC 中 TN、TP 的去除及生物质积累情况，监测废水中 TN、TP，并分析藻的密度、干重和脂质含量。

在得到最优光暗时间比条件后，对比 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下微藻对 TN、TP 的去除效果及其生长情况，监测废水中 TN、TP，并分析藻的密度、干重和脂质含量。

1.2.2 氮磷质量比设置

本研究所用城市污水 ROC 的氮磷质量比为 107:1。多数城市污水 ROC 中氮磷质量比低于 20:1^[4, 9, 19, 26]，部分城市污水 ROC 中氮磷质量比低于 7:1^[7, 10, 27]，故本研究用到的 ROC 磷含量偏低。一般认为，微藻的最佳氮磷质量比为 10~20^[28]。因此，在研究所得的最优光暗时间比和光强条件下，通过添加 K_2HPO_4 补充磷源，对比原水（氮磷质量比 107:1）、氮磷质量比 14:1（投加量 $16.39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ）和 7:1（投加量 $35.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ）3 种环境下微藻对 TN、TP 的去除效果及其生长状况。

1.3 微藻生长对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的去除效果

设置光强为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光暗时间比为 12 h/12 h，时长 22 d。在不通入 CO_2 的情况下，探究 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 所能达到的最高 pH 及对水中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的去除效果。

1.4 藻密度、干重和脂质含量及水质分析

藻密度通过血球计数法进行计数。藻的干重采用悬浮固体法测量。提前将藻液的 pH 调节至酸性，以溶解水中的悬浮物。用氯仿/甲醇溶液 (2:1) 提取总脂质，烘干后称重。采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法 (GB 11894-89) 测定 TN。采用钼酸铵分光光度法 (GB 11893-89) 测定 TP。采用离子色谱法 (青岛盛翰 CIC-D100，中国) 测定阳离子 (Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) 和阴离子 (Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^-) 的质量浓度。采用重量法测定 TDS 含量。通过 pH 仪 (赛多利斯 PB-10，中国) 测定溶液的 pH。每次分析设置 3 个平行样。

1.5 数据分析

在研究每种因素的影响时，采用配对 T 检验 (单尾) 来分析两组间的数据是否存在显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 不同 TDS 质量浓度下微藻对水中 TN、TP 去除效果及其生长情况

当光强为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光暗时间比为 16 h/8 h 时，不同质量浓度 TDS 下 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 对氮磷去除及其生长状况如图 1 所示，当处理 TDS 质量浓度为 $1.35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的稀释水样时，在实验第 6 天，TN 去除率达到最大值 93.81%，而处理 TDS 质量浓度为 $2.70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的原水时，反应至第 8 天 TN 去除率才达到最大值 90.98%。无论是稀释水样或原水，反应在 2 d 内 TP 均可得到有效去除，去除率分别为 96.36% 和 92.73%。而 ROC 中的藻密度在第 10 天达到最大值，其在稀释水和原水中分别为 $25.6\times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $26.7\times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。此时，2 种 TDS 质量浓度下，藻的生物量 (干重) 分别为 $1.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，脂质质量浓度分别为 $0.42 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.43 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 1 (d))，脂质含量分别为 41.58% 和 39.45%。

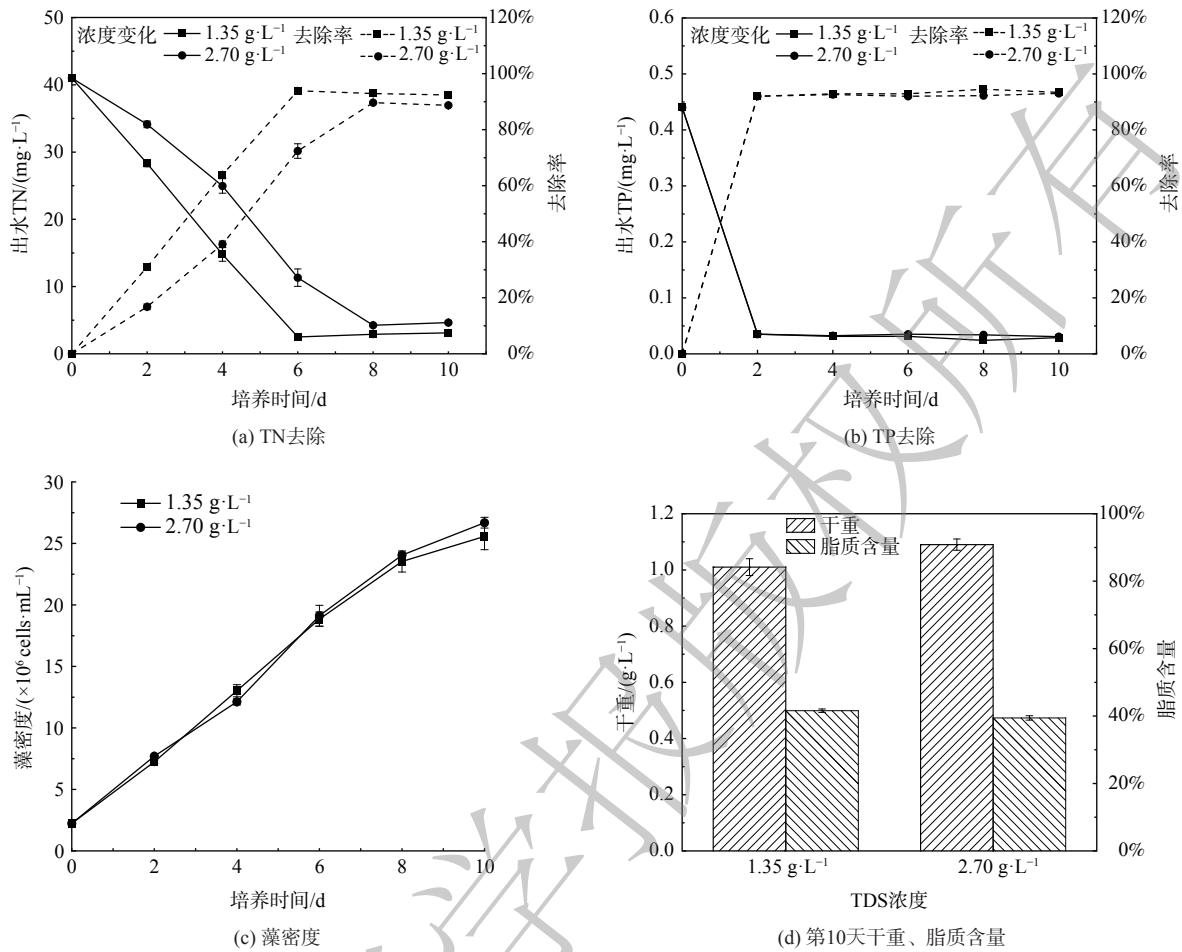


图1 TDS浓度对TN、TP去除及微藻生长影响

Fig. 1 Effects of TDS concentrations on TN and TP removal and microalgae growth

进一步对 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 在不同 TDS 质量浓度下 TN、TP 去除率和藻密度数据进行差异显著性分析, 结果如表 1 所示。在 TDS 为 2.70 g·L⁻¹ 时对 TN 的去除率低于在 1.35 g·L⁻¹ 时 TN 的去除率 ($p < 0.05$), 但由图 1 (a) 可知, 这两种 TDS 浓度下的 TN 去除率在第 8 天时分别可达 89.64% 和 92.91%, 较为接近。TDS 质量浓度差异并未对 TP 去除效果和藻密度产生显著影响 ($p > 0.05$)。因此, 原水中 TDS 质量浓度为 2.70 g·L⁻¹ 的条件不会明显抑制 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 的活性, 故后续实验均采用城市污水 ROC 原水来开展。

2.2 不同光暗时间比条件下微藻对水中 TN、TP 去除及生长情况

当光强为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时, 不同光暗时间比对微藻去除氮磷效果及微藻生长的影响如图 2 所示。在光暗时间比为 24 h/0 h 的连续光照条件下, TN 去除率最高, 为 90.35%。在光暗时间比 12 h/12 h、16 h/8 h、20 h/4 h 下, 最高 TN 去除率分别为 82.49%、90.08% 和 90.23%。在 4 种光暗比条件下, 反应 2 d 内 TP 的去除率均在 90% 以上, 这说明光暗比条件对 TP 去除效果的影响不大。反应进行至第 10 天时, 在 4 种光暗比条件 (12 h/12 h、16 h/8 h、20 h/4 h、24 h/0 h) 下, 藻密度分别为 20.33×10^6 cells·mL⁻¹、 21.96×10^6 cells·mL⁻¹、 23.27×10^6 cells·mL⁻¹ 和 23.73×10^6 cells·mL⁻¹, 藻的质量浓度 (干重) 分别为 0.81 mg·L⁻¹、0.98 mg·L⁻¹、1.18 mg·L⁻¹ 和 1.19 mg·L⁻¹, 藻的脂质质量浓度分别为 0.31 mg·L⁻¹、0.42 mg·L⁻¹、0.41 mg·L⁻¹ 和 0.31 mg·L⁻¹, 而藻的脂质含量分别为 38.27%、42.86%、34.10% 和 26.05%。

表 1 不同 TDS 质量浓度、光暗时间比、光强和氮磷质量比条件下 TN、TP 去除率和藻密度数据的分析
Table 1 Analysis of TN and TP removal efficiencies and algal density under different total dissolved solids (TDS), light/dark time ratios, light intensities and nitrogen/phosphorus mass ratios

影响因素	组别	TN去除率 p 值 ^a	TP去除率 p 值 ^a	藻密度 p 值 ^a
TDS质量浓度	1.35 g·L ⁻¹ 和2.70 g·L ⁻¹	*	$p>0.05$	$p>0.05$
光暗时间比	12 h/12 h和16 h/8 h	**	$p>0.05$	**
	12 h/12 h和20 h/4 h	**	$p>0.05$	**
	12 h/12 h和24 h/0 h	**	**	**
	16 h/8 h和20 h/4 h	**	$p>0.05$	**
	16 h/8 h和24 h/0 h	**	**	**
	20 h/4 h和24 h/0 h	**	$p>0.05$	$p>0.05$
光强	25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	**	$p>0.05$	**
	25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	**	$p>0.05$	**
	50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	*	$p>0.05$	**
氮磷质量比	107:1和14:1	*	$p>0.05$	*
	107:1和7:1	*	$p>0.05$	*
	14:1和7:1	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$

注：^a $p<0.05$ 用*表示，代表显著差异； $p<0.01$ 用**表示，代表极显著差异； $p>0.05$ ，代表不显著。

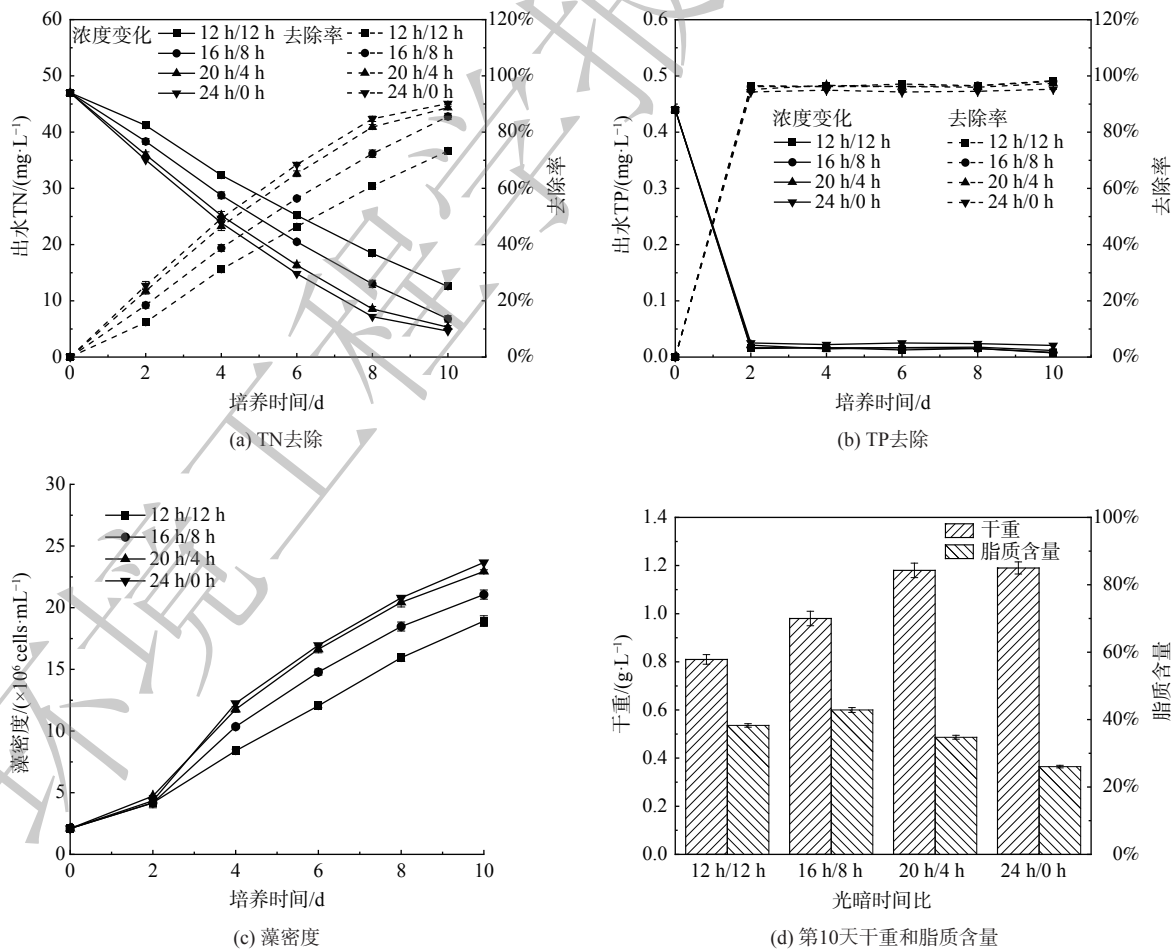


图 2 光暗时间比对 TN、TP 去除及微藻生长影响

Fig. 2 Effects of light/dark time ratio on TN and TP removal and microalgae growth

进一步将数据进行 T 检验运算, 结果见表 1。在 3 种光暗时间比 (12 h/12 h、16 h/8 h 和 20 h/4 h) 条件下, TN 去除率和藻密度均随光照时间的延长而增加。继续增加光照时间至 24 h/0 h, 并与 20 h/4 h 时的实验结果做对比。在反应进行至第 10 天时, TN 去除率为 90.17%, 略高于 20 h/4 h 时的 88.69% ($p < 0.05$)。2 组藻密度数据无显著性差异 ($p > 0.05$); 且 24 h/0 h 组的脂质含量明显低于其他组 (图 2 (d))。藻的发育阶段与光照有关, 在光照条件下细胞进行分裂, 在暗反应条件下则进行物质积累^[29], 然而光照时间过长会抑制微藻光合作用, 进而影响其生长^[30]。因此, 合理的光暗时间比有助于微藻光合作用的进行及其自身生物量的积累。结合微藻对污染物去除效率和生物量积累情况, 本研究确定最佳光暗时间比为 20 h/4 h。

2.3 不同光强下微藻对水中 TN、TP 去除及生长状况

在最佳光暗时间比 20 h/4 h 下, 光强对氮磷去除效果及微藻生长状况的影响如图 3 所示。在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下, 微藻对 TN 的去除率在第 8 天达到最大值 90.38%; 在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下, 去除率在第 10 天达到最大值 89.27%; 在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下, 去除率在第 10 天达到最大值 84.56%。在 3 种光强条件 ($25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 下, TP 在 2 d 内均得到有效去除, 去除率均在 90% 以上。反应进行至第 10 天时, 在 3 种光强下, 藻密度分别为 $20.70 \times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $22.51 \times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $23.31 \times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$, 微藻质量浓度 (干重) 为 $0.96 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.21 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 脂质质量浓度为 $0.38 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.46 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.43 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 脂质含量为 39.58%、40.71% 和

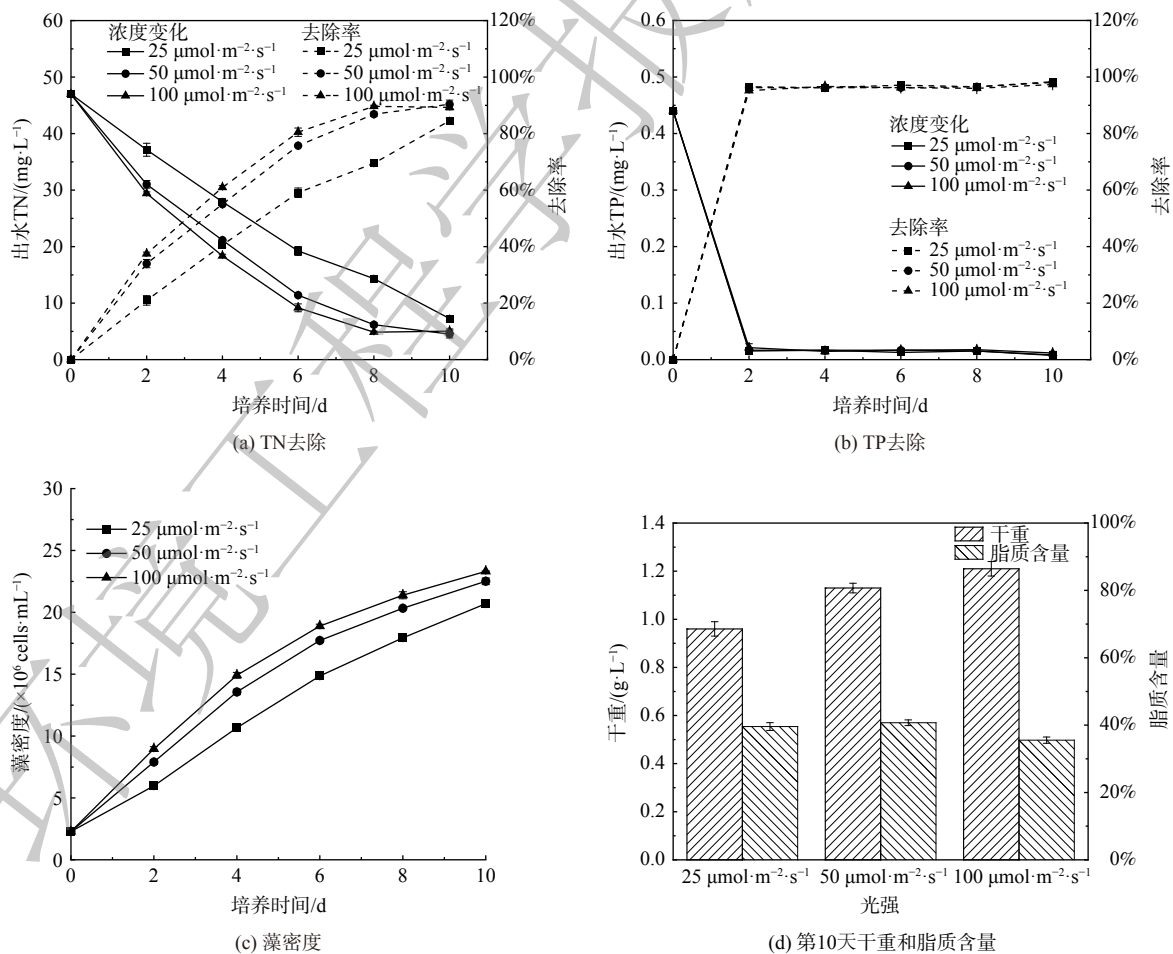


图 3 光强对 TN、TP 去除及微藻生长影响

Fig. 3 Effects of light intensity on TN and TP removal and microalgae growth

35.54% (图 3 (d))。一般而言, 光强的增加会促进微藻生长, 但当光强达到光抑制阈值时, 光强的进一步增加会对微藻产生光抑制效应^[31]。而且, 光强对微藻生物量和脂质含量的影响大小因微藻种类而异^[32], 不同藻种对光强的反应机制可能存在差异, 从而导致脂肪含量的升高或降低。在本研究中, 微藻脂质含量随光强的增加先升高而后略有减少, 生物量随着光强的增加而增加。可能是由于高光强条件下, 产生的能量被用于细胞分裂, 而不是以脂质的形式存储^[33-34]。然而, 也有研究者发现, *Scenedesmus* sp. GUBIOTJT116^[35]、*Desmodesmus* sp. 和 *Scenedesmus obliquus*^[36] 等部分藻类会在光强升高时积累更多脂质^[37], 这可能是由于光强增加时, 藻类将多余的光同化物转化为脂肪酸来对抗光氧化^[36]。

T 检验结果表明, 在 3 组光照强度条件下, 微藻对 TP 的去除效果无显著差异 (表 1)。而将 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下的数据与 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下的 2 组数据进行对比, 对 TN 去除率和微藻密度值均有极显著差异; 光照强度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时 TN 的去除率差异虽显著, 但相差程度相对较小, 两组的 TN 去除率在第 10 天时已十分接近 (图 3 (a)), 故后续实验未再设置光强为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的实验组。

2.4 不同氮磷质量比下微藻对水中 TN、TP 的去除效果及其生长情况

在最佳光强 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和光暗时间 20 h/4 h 下, 氮磷质量比对氮磷去除及微藻生长的影响如图 4 所示。在 3 种氮磷质量比 (107:1、14:1 和 7:1) 条件下, *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 对水中

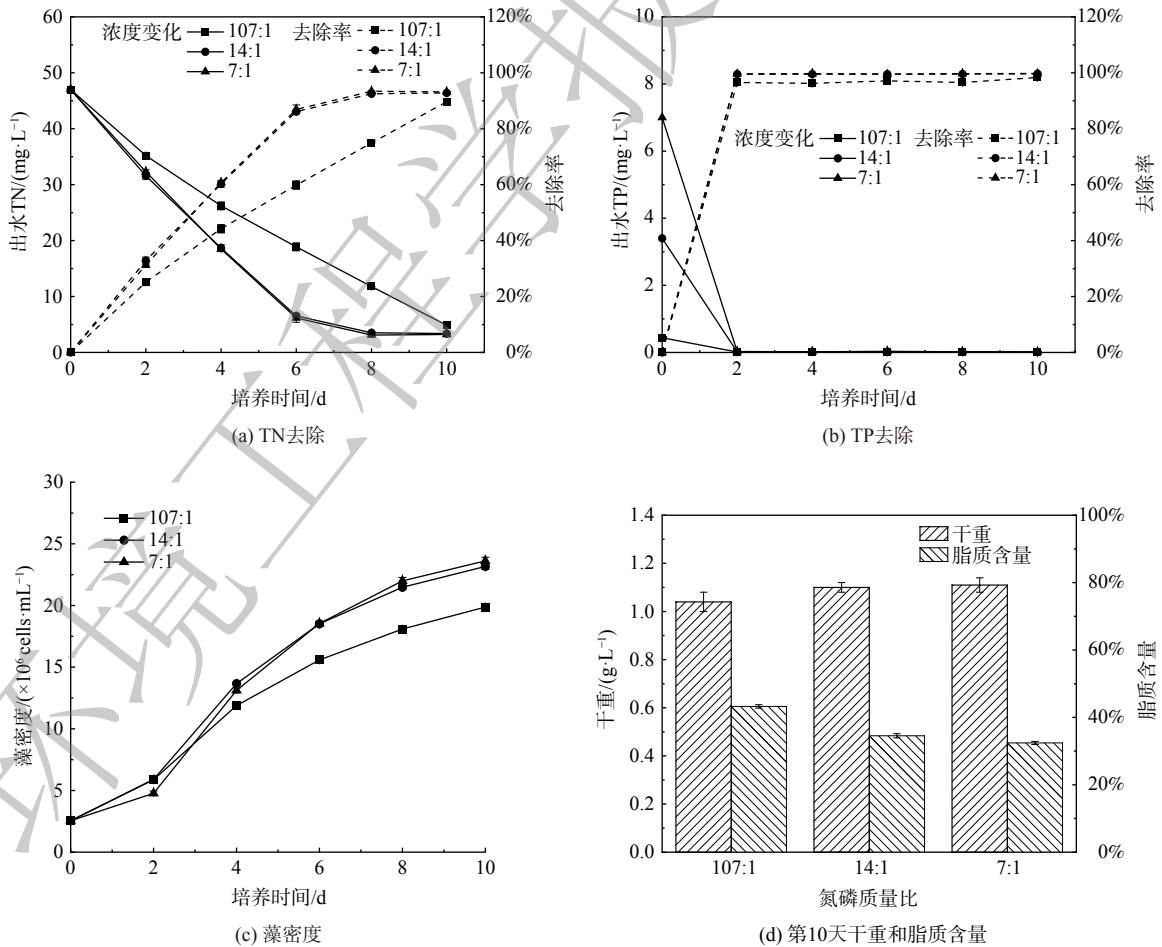


图 4 氮磷质量比对 TN、TP 去除及微藻生长影响

Fig. 4 Effects of N/P mass ratio on TN and TP removal and microalgae growth

TN 的去除率在第 10 天时分别为 89.65%、92.83% 和 93.40% (图 4 (a))，对 TP 的有效去除率在第 2 天即可达到最大值，分别为 98.41%、99.68% 和 99.77% (图 4 (b))。在第 10 天时，藻密度分别达到了 $19.87 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $23.16 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $23.62 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 4 (c))，此时微藻质量浓度 (干重) 分别为 $1.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.11 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，脂质质量浓度为 $0.45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.38 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.36 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，脂质含量分别为 43.27%、34.55% 和 32.43% (图 4 (d))。

由 T 检验结果 (表 1) 可知，将原水氮磷质量比从 107:1 至 14:1 时，微藻对 TN 的去除率和微藻密度也随之升高，且有着显著差异。然而，进一步提高磷含量至氮磷比 (7:1)，TN 去除效率及藻密度未出现进一步显著提高。在 3 种氮磷质量比条件下，微藻对 TP 均表现出良好的去除效果，且去除率无显著差异。微藻在无机磷过剩的条件下，可吸收多余的磷，并以不溶性聚磷酸酯的形式沉积下来，然后在无机磷缺乏的情况下用于细胞代谢^[38]。本研究水样氮磷质量比为 107:1，相比于其他城市污水 ROC (表 2)，其磷的质量浓度较低。一般认为，微藻的最佳氮磷质量比在 10~20^[28]。DO 等^[9]将水中氮磷质量比调整为 13 时，在 8 d 的时间内，TN 去除率为 91.9%。当氮磷质量比高于 16:1 时，会因缺磷对海洋浮游生物 (含藻类) 产生抑制作用^[39]。此外，低氮磷质量比也会抑制微藻的蛋白合成和增加其脂质含量^[40]。综合考虑污染物去除率和生物质积累情况，本研究中设置的最优氮磷质量比为 14:1。

相比于其余藻种对城市污水 ROC 的处理效果及生长情况 (表 2)，本研究所选微藻 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 在最优条件下对 TN、TP 的去除率均大于 90%，处于较好的活性水平。此时的微藻质量浓度 (干重) 较高 ($1.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)，且其脂质含量 34.55% 明显高于其他微藻。微藻可通过膜分离等方法从废水中被回收，进一步实现生物质的资源化利用。

2.5 未通入 CO₂ 时微藻处理 ROC 的效果

在光强 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光暗时间比 16 h/8 h、未通入 CO₂ 的条件下，*Scenedesmus* sp. FACHB-1574 对水中氮磷的去除情况、水中 pH 变化和藻密度数据如图 5 所示。相较于图 3 (a) 通入 CO₂ 的情况，

表 2 不同城市反渗透浓水水质特征及微藻处理效果

文献	光照强度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	光暗比/ (h/h)	处理 时间/d	进水TDS/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	进水TN/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	进水TP/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	藻种	TN去 除率	TP去 除率	微藻质量浓度 (干重)/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	微藻脂 质含量
[7]	180	18/6	10	4 700±300	37±1.6	9.8±0.4	<i>Chlorella vulgaris</i> (CS-41)	85%	>90%	3.4	/
[9]	114	16/8	8	/	58.49	4.5	<i>Desmodesmus</i> sp. KNUA024	53.5%	91.9%	0.64	(27.11±0.95)%
[9]	114	16/8	8	/	58.49	4.5	<i>Chlorella sorokiniana</i> KNUA071	96.9%	>97%	0.93	(13.31±1.54)%
[10]	180	16/8	10	5 500±300	43.2±2.2	13.1±0.4	<i>Chlorella vulgaris</i>	78.7%	74.1%	3.20	/
[10]	180	16/8	10	5 500±300	43.2±2.2	13.1±0.4	<i>Nannochloropsis salina</i>	85%	85%	2.99	/
[4]	55~60	14/10	16	3 630±180	23.4±0.3	7.73±0.05	<i>Chlorella</i> sp. ZTY4	89.7%	92.7%	0.36	22.3%
[4]	55~60	14/10	16	3 630±180	23.4±0.3	7.73±0.05	<i>Scenedesmus</i> sp. LX1	89.8%	92.4%	0.35	19.2%
[4]	55~60	14/10	16	3 410±100	40.6±0.6	1.06±0.01	<i>Chlorella</i> sp. ZTY4	42.4%	84.2%	0.27	30.6%
[4]	55~60	14/10	16	3 410±100	40.6±0.6	1.06±0.01	<i>Chlorella</i> sp. ZTY4	38%	81.6%	0.30	26.4%
本文	100	20/4	10	2 700±38	47±0.81	3.40±0.02	<i>Scenedesmus</i> sp. FACHB-1574	92.83%	99.68%	1.10	34.55%

未通入 CO_2 时微藻对水中 TN 的去除率明显下降, 在第 22 天对 TN 的去除率达到最大值 90.93% (图 5 (a))。ROC 的 pH 在第 2 天时出现快速升高, 在第 10 天后, pH 长期恒定为约 10.7, 并且在锥形瓶内部可明显观察到沉淀物。此时的离子测定结果显示, 微藻对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的去除率分别为 52.7% 和 33.9%。直接通过 NaOH 溶液调节 ROC 的 pH 至 10.7 后, 水中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 去除率分别为 60.9% 和 37.9%。这表明微藻对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的去除主要通过提高溶液的 pH 生成沉淀而实现^[41]。 CaCO_3 的可溶性低于 MgCO_3 , Ca^{2+} 首先以 CaCO_3 的形式被去除, 又由于直接产生 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 需要较高 pH, 因此 Mg^{2+} 首先生成 MgCO_3 的中间产物, 再形成 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 沉淀。当后期 pH 升高超过 9.2 时, 可通过 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 沉淀的方式直接去除 Mg^{2+} ^[4, 42]。WANG 等^[4] 利用 *Chlorella* sp. ZTY4 生长使 2 种城市污水 ROC 的 pH 上升至 10.0 并能保持稳定。藻对水中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的去除率分别为 52.57%、48.49% 和 85.27%、34.70%。这一结果与本研究结果一致。

微藻对 ROC 中 TP 去除率依然在 2 d 内达到 92.9% (图 5 (b))。在第 22 天时, 微藻的藻密度为 $8.78 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 5 (c)), 微藻质量浓度 (干重) 和脂质质量浓度分别为 $0.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.14 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 而脂质含量为 18.7% (图 5 (d))。

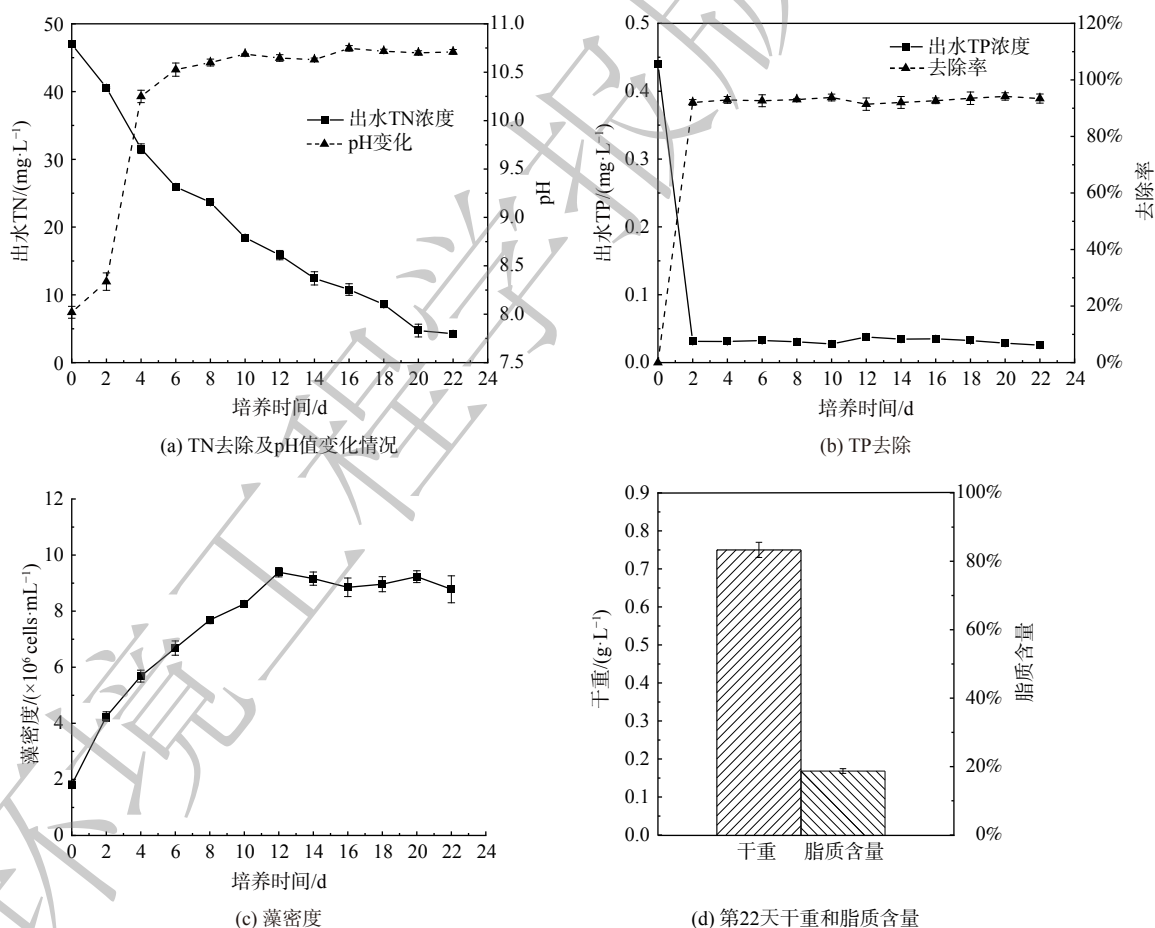


图 5 不通入 CO_2 情况下 TN、TP 去除情况, pH 变化情况及微藻生长情况

Fig. 5 TN and TP removal, variation of pH value and microalgae growth without CO_2 addition

3 结论

1) 在 TDS 质量浓度为 $2.70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的城市污水 ROC 中, *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 可保持良好

的污染物去除活性。光照时间和光强的升高对微藻生长及 TN 去除存在促进作用。氮磷质量比为 14:1 可有效促进微藻的生长, 确保其对 TN 的去除速率。微藻的生长作用使废水的 pH 升高并最终稳定为约 10.7, 从而有效去除水中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} , 去除率分别达到了 52.7% 和 33.9%。

2) 在光暗时间比 20 h/4 h、光强 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和氮磷质量比 14:1 的最优条件下, 微藻对 TN 和 TP 的去除率达到 92.83% 和 99.68%, 微藻质量浓度(干重)为 $1.10 \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 且脂质含量为 34.55%。与其他研究相比本研究采用的 *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 存在油脂回收潜力。

参考文献

- [1] UNESCO. The United Nations World Water Development Report 2015 - Water for a Sustainable World - Chapter 7: Food and Agriculture [R]. Paris: UNESCO, 2015.
- [2] KOG Y C. Water Reclamation and Reuse in Singapore[J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2020, 146(4): 03120001.
- [3] 中华人民共和国住房和城乡建设部. 2020年城市建设统计年鉴[Z]. <https://www.mohurd.gov.cn/gongkai/fdzdgknr/sjfb/index.html>. 2021.
- [4] WANG X X, WU Y H, ZHANG T Y, et al. Simultaneous nitrogen, phosphorous, and hardness removal from reverse osmosis concentrate by microalgae cultivation[J]. *Water Research*, 2016, 94: 215-224.
- [5] COMSTOCK S E H, BOYER T H, GRAF K C. Treatment of nanofiltration and reverse osmosis concentrates: Comparison of precipitative softening, coagulation, and anion exchange[J]. *Water Research*, 2011, 45(16): 4855-4865.
- [6] DIALYNAS E, MANTZAVINOS D, DIAMADOPOULOS E. Advanced treatment of the reverse osmosis concentrate produced during reclamation of municipal wastewater[J]. *Water Research*, 2008, 42(18): 4603-4608.
- [7] MOHSENI A, KUBE M, FAN L, et al. Treatment of wastewater reverse osmosis concentrate using alginate-immobilised microalgae: Integrated impact of solution conditions on algal bead performance[J]. *Chemosphere*, 2021, 276: 130028.
- [8] MOHSENI A, FAN L H, RODDICK F A. Impact of microalgae species and solution salinity on algal treatment of wastewater reverse osmosis concentrate[J]. *Chemosphere*, 2021, 285: 131487.
- [9] DO J M, JO S W, YEO H T, et al. Biological treatment of reverse osmosis concentrate by microalgae cultivation and utilization of the resulting algal biomass[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021: 102157.
- [10] MOHSENI A, KUBE M, FAN L H, et al. Potential of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis salina* for nutrient and organic matter removal from municipal wastewater reverse osmosis concentrate[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(21): 26905-26914.
- [11] AROLA K, VAN DER BRUGGEN B, MANTTARI M, et al. Treatment options for nanofiltration and reverse osmosis concentrates from municipal wastewater treatment: A review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 49(22): 2049-2116.
- [12] PEREZ-GONZALEZ A, URTIAGA A M, IBANEZ R, et al. State of the art and review on the treatment technologies of water reverse osmosis concentrates[J]. *Water Research*, 2012, 46(2): 267-283.
- [13] ZHOU M H, TAN Q Q, WANG Q, et al. Degradation of organics in reverse osmosis concentrate by electro-Fenton process[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 215: 287-293.
- [14] PEREZ G, FERNANDEZ-ALBA A R, URTIAGA A M, et al. Electro-oxidation of reverse osmosis concentrates generated in tertiary water treatment[J]. *Water Research*, 2010, 44(9): 2763-2772.
- [15] BEUCKELS A, SMOLDERS E, MUYLAERT K. Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2015, 77: 98-106.
- [16] KONG Q X, LI L, MARTINEZ B, et al. Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 160(1): 9-18.
- [17] GONCALVES A L, PIRES J C M, SIMOES M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment[J]. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*, 2017, 24: 403-415.
- [18] ZHANG C, ZHANG W N, HUANG Y X, et al. Analysing the correlations of long-term seasonal water quality parameters, suspended solids and total dissolved solids in a shallow reservoir with meteorological factors[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(7): 6746-6756.
- [19] BADRUZZAMAN M, OPPENHEIMER J, ADHAM S, et al. Innovative beneficial reuse of reverse osmosis concentrate using bipolar membrane electrodialysis and electrochlorination processes[J]. *Journal of Membrane Science*, 2009, 326(2): 392-399.
- [20] ZHOU T, LIM T-T, CHIN S-S, et al. Treatment of organics in reverse osmosis concentrate from a municipal wastewater reclamation plant: Feasibility test of advanced oxidation processes with/without pretreatment[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 166(3): 932-939.
- [21] LEE L Y, NG H Y, ONG S L, et al. Ozone-biological activated carbon as a pretreatment process for reverse osmosis brine treatment and recovery[J]. *Water Research*, 2009, 43(16): 3948-3955.

- [22] DENG H J S O T T E. Ozonation mechanism of carbamazepine and ketoprofen in RO concentrate from municipal wastewater treatment: Kinetic regimes, removal efficiency and matrix effect[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 717: 137150.
- [23] FRICKE W, PETERS W S. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level[J]. *Plant Physiology*, 2002, 129(1): 374-388.
- [24] PARMAR A, SINGH N K, PANDEY A, et al. Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(22): 10163-10172.
- [25] MAO Y L, XIONG R W, GAO X F, et al. Analysis of the Status and Improvement of Microalgal Phosphorus Removal from Municipal Wastewater[J]. *Processes*, 2021, 9(9): 1486.
- [26] HUANG N, XU Z B, WANG W L, et al. Elimination of amino trimethylene phosphonic acid (ATMP) antiscalant in reverse osmosis concentrate using ozone: Anti-precipitation property changes and phosphorus removal[J]. *Chemosphere*, 2022, 291(3): 133027.
- [27] BRADFORD-HARTKE Z, LANT P, LESLIE G. Phosphorus recovery from centralised municipal water recycling plants[J]. *Chemical Engineering Research & Design*, 2012, 90(1A): 78-85.
- [28] CHOI H J, LEE S M. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2015, 38(4): 761-766.
- [29] JACOB-LOPES E, SCOPARO C H G, LACERDA L M C F, et al. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors[J]. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 2009, 48(1): 306-310.
- [30] MAHARANI D K, ARDI A, SYHRIN A A, et al. The effect of photoperiod on lipid production of mixed culture arthrospira maxima setchell et gardner and microalgae consortium of glagah isolate[J]. 6th International Conference on Biological Science (Icbs 2019) - Biodiversity as a Cornerstone for Embracing Future Humanity, 2020, 2260: 080002.
- [31] CHIA S R, ONG H C, CHEW K W, et al. Sustainable approaches for algae utilisation in bioenergy production[J]. *Renewable Energy*, 2018, 129: 838-852.
- [32] WACKER A, PIEPHO M, HARWOOD J L, et al. Light-induced changes in fatty acid profiles of specific lipid classes in several freshwater phytoplankton species[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 264.
- [33] CHEIRSILP B, TORPEE S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 110: 510-516.
- [34] GEORGE B, PANCHI I, DESAI C, et al. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus*-A potential strain for bio-fuel production[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 171: 367-374.
- [35] DIFUSA A, TALUKDAR J, KALITA M C, et al. Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species[J]. *Biofuels-Uk*, 2015, 6(1-2): 37-44.
- [36] NZAYISENGA J C, FARGE X, GROLL S L, et al. Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2020, 13: 4.
- [37] PRIBYL P, CEPAK V, ZACHLEDER V. Production of lipids in 10 strains of *Chlorella* and *Parachlorella*, and enhanced lipid productivity in *Chlorella vulgaris*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 94(2): 549-561.
- [38] WHITTON R, OMETTO F, PIDOU M, et al. Microalgae for municipal wastewater nutrient remediation: mechanisms, reactors and outlook for tertiary treatment[J]. *Environmental Technology Reviews*, 2015, 4(1): 1-16.
- [39] GEIDER R J, LA ROCHE J. Redfield revisited: variability of C: N: P in marine microalgae and its biochemical basis[J]. *European Journal of Phycology*, 2002, 37(1): 1-17.
- [40] RASDI N W, QIN J G. Effect of N: P ratio on growth and chemical composition of *Nannochloropsis oculata* and *Tisochrysis lutea*[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2015, 27(6): 2221-2230.
- [41] LI Y C, CHEN Y F, CHEN P, et al. Characterization of a microalga *Chlorella* sp well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(8): 5138-5144.
- [42] ZHAO Y, YAN H, ZHOU J, et al. Bio-precipitation of calcium and magnesium ions through extracellular and intracellular process induced by *Bacillus Licheniformis* SRB2[J]. *Minerals*, 2019, 9(9): 526.

(责任编辑:靳炜,宋冀营)

Optimization of treatment conditions of reverse osmosis concentrate d wastewater from municipal sewage by microalgae

XIA Yu*, CHANG Jie, LI Yuanjia, WANG Pei, SHEN Xinyu, HU Yiran, HE Xuwen

School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology, Beijing 100083, China

*Corresponding author, E-mail: xiayu@cumtb.edu.cn

Abstract The reuse of municipal wastewater is an effective measure to solve the shortage of water resources. The reverse osmosis (RO) process has the characteristics of being efficient and easy to operate, which is an important method to produce high-quality reclaimed water. However, reverse osmosis concentrate (ROC) will be produced during the RO treatment process, which accounts for 25%~50% of the municipal wastewater treated. ROC contains high concentrations of total nitrogen (TN), total phosphorus (TP) and hard ions (Ca^{2+} , Mg^{2+}). Microalgae can provide an effective way to simultaneously remove nitrogen, phosphorus, Ca^{2+} and Mg^{2+} from water, and can achieve resource recovery at the same time. However, there are still few studies on the condition optimization of municipal wastewater ROC treatment. In this study, *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 was used to treat municipal wastewater ROC. The treatment efficiency and growth status of microalgae were studied under different total dissolved solid (TDS) concentrations ($2.70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $1.35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), light/dark time ratios (12 h/12 h, 16 h/8 h, 20 h/4 h, 24 h/0 h), light intensities ($25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) and nitrogen/phosphorus mass ratios (107:1, 14:1, 7:1). The results showed that *Scenedesmus* sp. FACHB-1574 could adapt to the condition of $2.70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ TDS in the investigated municipal wastewater ROC. The removal efficiency of TN increased with the increase of lighting intensity and time. Increasing the phosphorus content of ROC to achieve a nitrogen/phosphorus mass ratio of 14:1 could improve the TN removal efficiency and the biomass of microalgae. After microalgae treatment for 10 days under the optimal conditions (light/dark time ratio 20 h/4 h, light intensity $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, nitrogen/phosphorus mass ratio 14:1), the TN and TP removal efficiencies were 92.83% and 99.68%, respectively. The algal density, dry weight and lipid content were $23.62\times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$, $1.10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 34.55%, respectively. During the growth of microalgae without CO_2 addition, the pH value of wastewater increased from 7.5 to 10.7, and 52.7% of Ca^{2+} and 33.9% of Mg^{2+} were removed. This study can provide reference for the application of microalgae in municipal wastewater treatment and recovery.

Keywords reverse osmosis concentrate; microalgae; total dissolved solid; light/dark time ratio; light intensity; nitrogen/phosphorus mass ratio; Ca^{2+} ; Mg^{2+}