

文章栏目:环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.201807010 中图分类号 X703.5 文献标识码 A

余宗苡, 魏东, 刘鹭, 等. 小球藻生长及其净化猪场废水条件的优化 [J]. 环境工程学报, 2019, 13(1): 213-221.

YU Zongyi, WEI Dong, LIU Lu, et al. Optimization for *Chlorella pyrenoidosa* growth and purification of piggery sewage[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(1): 213-221.

## 小球藻生长及其净化猪场废水条件的优化

余宗苡<sup>1</sup>, 魏东<sup>1,\*</sup>, 刘鹭<sup>1</sup>, 李焕垸<sup>2</sup>, 王琴<sup>2</sup>

1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广州 510640

2. 仲恺农业工程学院环境科学与工程学院, 广州 510225

第一作者: 余宗苡(1992—), 女, 硕士研究生。研究方向: 环境修复。E-mail: 799173217@qq.com

\*通信作者: 魏东(1966—), 男, 博士, 教授。研究方向: 生物技术工业化和环境修复。E-mail: fewd304@scut.edu.cn

**摘要** 为提高小球藻净化猪场废水的效果, 在户外条件下系统比较了预处理方式、管道光反应器的种类和光径对蛋白核小球藻生长及其对猪场废水净化效果的影响。结果表明, 猪场原废水 COD、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、TN、TP 含量分别为 710、491、54、590 和 108 mg·L<sup>-1</sup> 时, 蛋白核小球藻对经过 3 级过滤预处理后的猪场废水净化效果最好, 其中脱色率及 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 去除率分别高达 88.56% 和 83.48%, 显著高于对原废水的处理效果 ( $P < 0.05$ )。在夏季户外条件下, 用平铺管道反应器对蛋白核小球藻进行放大培养, 发现小球藻能耐夏季户外高温, 生长良好, 最终藻粉产量达到 0.13 g·L<sup>-1</sup>。采用直径为 5 cm 的立式光生物反应器培养蛋白核小球藻, 通过循环采收, 藻粉产量可达到 0.93 g·L<sup>-1</sup>, 其蛋白质含量最高达到 58.9%。汞、砷、镉、铅含量分别小于 0.1、1.0、0.5 和 4.0 mg·kg<sup>-1</sup>, 符合《饲料用小球藻粉》(DB32/T 564-2010) 标准。采收小球藻后的出水中, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、色度的去除率均高达 90% 以上, 基本达到国家排放要求。该研究结果可为制定猪场废水的净化及蛋白核小球藻的工业化生产方案提供参考。

**关键词** 猪场废水净化; 蛋白核小球藻; 生物反应器

近年来, 我国畜禽养殖业不断发展, 猪场废水的排放量也逐年增加, 环境污染防治压力持续加大。2015 年, 我国生猪出栏量达到 7.08 亿头<sup>[1]</sup>, 猪场废水排放量高达 1~1.5 Mt·d<sup>-1</sup><sup>[2]</sup>。猪场废水的大量产生对环境构成了巨大威胁。典型的养殖废水特征为: pH 7.5~8.0, 化学需氧量(COD)400~1 500 mg·L<sup>-1</sup>, 总氮(TN)1 000~2 500 mg·L<sup>-1</sup>, 氨氮 200~400 mg·L<sup>-1</sup>, 总磷(TP)50~300 mg·L<sup>-1</sup><sup>[3]</sup>。若直接排入水体, 极易导致水体富营养化进而引发水华和赤潮等现象。目前, 国内外处理此类废水最常见的方法是沼气厌氧发酵法, 在发酵过程中, 微生物将复杂的含碳有机聚合物包括纤维素、半纤维素、果胶、淀粉、脂类、蛋白质等水解发酵, 生成水溶性糖、醇、酸等分子质量较小的化合物。但是发酵周期过长、脱氮性能低<sup>[4]</sup>、占地面积大、产生的沼气燃烧不稳定、发酵池底菌泥不可回收, 且发酵后的沼液中氮、磷含量较高, 难以达到国家排放标准<sup>[5]</sup>。因此, 畜禽养殖污水无公害化、资源化处理是当今社会的刚需, 成为亟需攻克的难题。

微藻是一类具有高光合效率的初级生产者, 在生长过程中能够吸收废水中大量的氮、磷等营养以维持自身的生长与增殖需要, 是最具潜力的生物质能源<sup>[6]</sup>。将藻类培养与污水处理相结合可减少污染物对环境的影响<sup>[7]</sup>。迄今已经筛选出了许多高效净化水质的藻种, 可以将废水中丰富的氮、磷、钾、

收稿日期: 2018-07-02; 录用日期: 2018-10-24

基金项目: 广州市科技计划项目(201704030084); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2013AA065802)

钙、铁等无机微量元素进行资源化综合利用, 转化为藻类生物质。这些藻种以绿藻居多<sup>[8]</sup>, 其中应用最广的包括小球藻、栅藻、鞘藻等。蛋白核小球藻生长方式多样、生长速率快、耐受能力强, 在混养条件下可实现快速高密度扩种<sup>[9]</sup>, 是处理此类废水的优选藻种。光照、温度、培养基成分是影响微藻生长的关键环境因素, 本实验在户外条件下优化培养, 以期提高蛋白核小球藻对猪场废水净化的效果, 为以后工业化利用蛋白核小球藻处理猪场废水、高产藻类生物质提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验装置

实验装置见图1。立式光生物反应器中管道对应的材质为PVC聚乙烯树脂, 平铺薄膜反应器中管道对应的材质为塑料薄膜, 反应器温度检测及控制系统、pH检测及控制系统, 可在线控制温度及pH。

### 1.2 猪场废水及接种小球藻

培养蛋白核小球藻藻株(*Chlorella pyrenoidosa*)SJTU-2 采用 Basal 培养基<sup>[10]</sup>。实验所用试剂均为分析纯, 猪场废水来自广东省源丰农业有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 接种培养物的制备

取1个100 mL的烧杯, 加入50 mL蒸馏水。按照配制100 mL的量称取上述培养基中的营养盐, 全部溶解于100 mL烧杯的50 mL蒸馏水中, 并加入 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖。用 $4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液将pH调到6.1左右, 并定容到100 mL。加入2.4 g的琼脂, 盖上封口膜并放入灭菌锅中在 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下灭菌15 min, 完成灭菌后将锥形瓶取出, 在超净工作台上倒入无菌的平板中, 冷却后观察1 d, 无细菌长出方可使用。从Basal培养基固体平板上挑取一环单藻落, 接种到250 mL含 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖的Basal培养基的锥形瓶中, 装液量为100 mL。置于温度 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、光照 $35\text{ }\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ 、转速 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的恒温摇床中, 培养6 d。采用Basal培养基, 在超净工作台中, 将预先培养的一级小球藻种子液按接种量10%(体积比)接入2 L大三角瓶中, 装液量为900 mL, 置于户外大摇床自然条件下培养。

#### 1.3.2 过滤方式对蛋白核小球藻净化原猪场废水沼液的影响

将原猪场养殖废水发酵沼液及经过砂滤、活性炭过滤、纳滤3级处理后的发酵沼液, 分别加入到2个相同体积的光生物反应器中, 经过臭氧消毒30 min后散气2 h, 再接种蛋白核小球藻, 初始细胞密度为 $1\times 10^9$ 个 $\cdot\text{L}^{-1}$ 。每12 h取样测定水质参数。

#### 1.3.3 管道反应器材质对猪场废水沼液净化效果的影响

将猪场养殖废水发酵沼液及经过砂滤、活性炭过滤2级处理后的发酵沼液, 分别加入到1 500 L立式光生物反应器和1 000 L平铺式光生物反应器中, 经过臭氧消毒30 min后散气2 h, 再接种蛋白核小球, 初始细胞密度为 $1\times 10^9$ 个 $\cdot\text{L}^{-1}$ 。每12 h取样测定藻类干重及水质参数。实验时间为夏季, 平均气温 $35\sim 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

#### 1.3.4 反应器的不同光径对原猪场废水净化效果及藻粉产量的影响

将猪场养殖废水发酵沼液经过砂滤、活性炭过滤2级处理后, 分别加入到光径5 cm体积600 L和光径10 cm体积1 500 L的立式光生物反应器中, 经过臭氧消毒30 min后散气2 h, 再接种蛋白核小球, 初

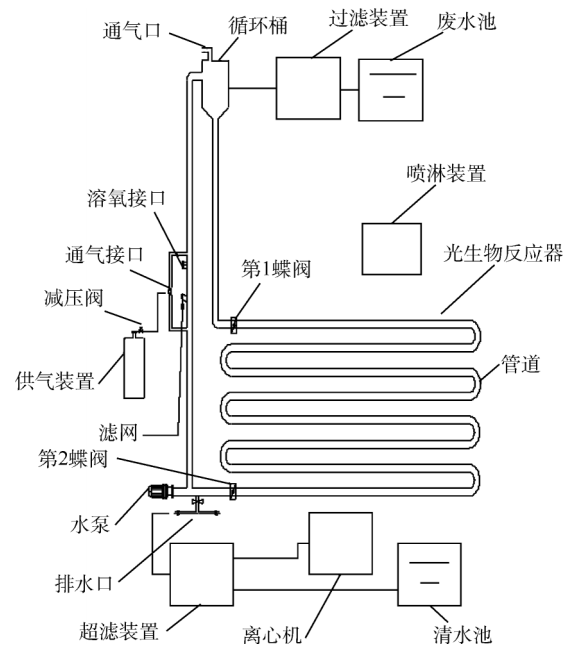


图1 实验装置

Fig.1 Schematic diagram of experimental device

始细胞密度为  $1 \times 10^9$  个  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。每 12 h 取样测定藻类干重及水质参数。

#### 1.4 分析与数据分析

废水中 TN、TP 含量使用美国 HACH 公司的专用试剂盒进行测定；COD 采用重铬酸钾法；NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 含量使用意大利 HANNA HI83200 多参数水质分析仪进行测定；生物量干重采用差量法测得；使用紫外可见分光光度计，测定样品在 680 nm 下的吸光度测得 OD 值；采用美国贝克曼公司流式细胞仪检测细胞数；蛋白质的测定采用凯氏定氮法；重金属含量按照 GB 7475-1987 中的原子吸收分光光谱法<sup>[11]</sup>测定；分别测量废水在 475 nm 处吸光值  $A_{0D1}$  及 475 nm 处吸光值  $A_{0D2}$ ，按照以下公式计算：

$$\eta = (A_{0D1} - A_{0D2}) / A_{0D1} \times 100\%$$

式中： $\eta$  为脱色率，%； $A_{0D1}$  为废水培养前在 475 nm 处吸光值； $A_{0D2}$  为废水培养后在 475 nm 处吸光值；每个样品均重复测定 3 次，取平均值。

数据分析采用 Origin 8.0 对数据进行处理，采用 SPSS 软件进行统计及显著性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 过滤方式对蛋白核小球藻净化猪场废水发酵沼液的影响

经过不同过滤方式处理的猪场废水发酵沼液的水质参数见表 1；培养蛋白核小球藻后猪场废水发酵沼液 COD、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、TN、TP 和脱色率见表 2。

研究表明，市政废水包含的粒子直径主要在 10~63  $\mu$ m 之间，而工业和农业污水中主要包含可溶性有机物，直径约在 1.2~10  $\mu$ m 范围内。水体中大颗粒粒子的存在将影响透光率，不利于生物营养物的去除。在猪场废弃物中，有机物含量高达 83%，废水中主要含有蛋白质和碳水化合物，几乎不含脂质<sup>[12]</sup>。由于大量的固形物会堵塞泵，不利于藻类的培养，故采用 3 级过滤的方法去除废水中大颗粒物质。

由表 1 可以看出，3 级过滤对猪场废水发酵沼液 COD、TN、TP 等都有降低的作用。由于活性炭比表面积大，对离子有一定的吸附作用<sup>[13]</sup>，经过 3 级过滤的养殖废水色度去除率达到 63.2%，在此基础上，培养蛋白核小球藻后可将色度去除率进一步提高到 83.48%，显著 ( $P < 0.05$ ) 提高了废水色度的净化效果<sup>[14]</sup>。对比表 2 中原废水超滤和 3 级过滤超滤水质参数发现，过滤方式对最终 COD 去除率影响不显著 ( $P > 0.05$ )。经过 3 级过滤处理的废水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的去除率比原废水提高了 24.21%，废水经 3 级过滤后提高了脱色率。

表 1 猪场废水发酵沼液培养前后水质

Table 1 Water quality of fermented swine wastewater before and after cultivation mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>

| 水样类型      | COD         | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | TN          | TP          |
|-----------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------|-------------|
| 原废水       | 710.02±2.56 | 491.00±5.71                     | 54.63±1.13                    | 590.02±8.94 | 108.97±1.63 |
| 3级过滤      | 504.32±1.87 | 388.54±7.32                     | 45.23±1.06                    | 484.56±7.34 | 71.62±0.65  |
| 原废水培养后超滤  | 380.67±2.17 | 200.57±2.66                     | 32.57±0.97                    | 367.63±7.36 | 34.26±0.42  |
| 3级过滤培养后超滤 | 330.93±1.36 | 81.16±1.71                      | 34.72±0.89                    | 325.55±8.46 | 38.23±0.24  |

表 2 不同过滤方式对蛋白核小球藻净化猪场废水发酵沼液的影响

Table 2 Effects of different filtration methods on purification of fermented swine wastewater by *Chlorella pyrenoidosa* %

| 水样类型      | COD 去除率     | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N 去除率 | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 去除率 | TN 去除率      | TP 去除率      | 脱色率         |
|-----------|-------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| 3级过滤      | 29.02±0.013 | 20.98±0.017                         | 16.67±0.023                       | 17.97±0.016 | 33.71±0.014 | 63.20±0.042 |
| 原废水培养后超滤  | 46.48±0.037 | 59.27±0.049                         | 40.74±0.059                       | 37.79±0.027 | 68.33±0.032 | 75.79±0.038 |
| 3级过滤培养后超滤 | 49.35±0.025 | 83.48±0.067                         | 44.91±0.064                       | 33.89±0.032 | 64.62±0.042 | 88.56±0.029 |

## 2.2 管道反应器材质对蛋白核小球藻产率及净化猪场废水沼液效果的影响

由图2可知,蛋白核小球藻在2种不同材料的管道反应器中生长良好,对夏季户外高温均有很强的适应性<sup>[5]</sup>。在接种初期,藻类的生长存在一个短暂的延滞<sup>[6]</sup>,培养24 h后,细胞迅速增殖,在薄膜平铺管道反应器中培养84 h后达到最高产量 $0.13 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,从图2可以看出,在蛋白核小球藻生长的同时,废水中的 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 逐渐降低,在84 h时,由于 $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度的限制,细胞无法维持最高生物量,干重开始下降。在立式管道反应器中培养108 h后,小球藻生物量达到 $0.34 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,此时,水体中 $\text{NH}_4^+$ 耗尽,因此,在继续培养的过程中,由于营养物质匮乏,藻细胞开始裂解,干重和细胞密度开始呈现下降趋势。

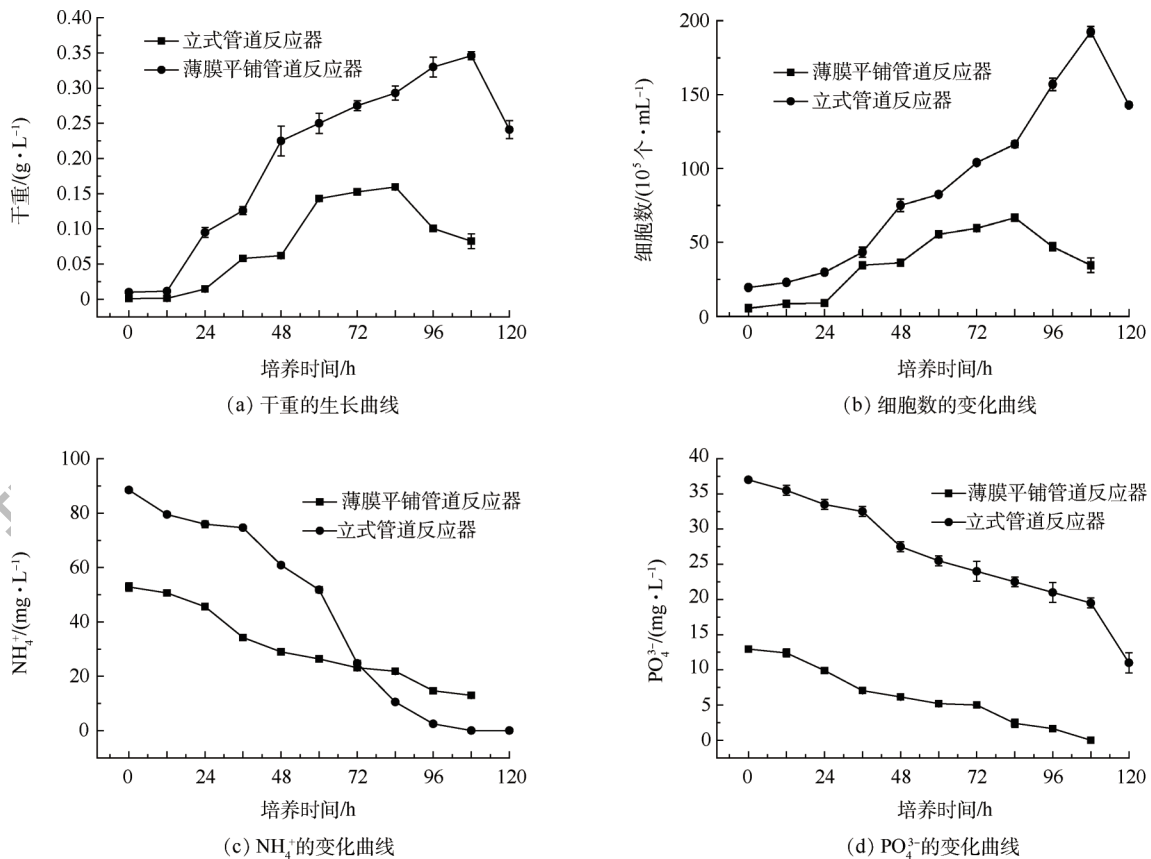


图2 不同材质管道光生物反应器中蛋白核小球藻生长及废水水质变化

Fig.2 *C. pyrenoidosa* growth curve and change of water quality in different pipeline photobioreactors

对比表3中2种反应器接种时的初始水质参数,可知立式管道反应器中小球藻产量高可能与猪场废水发酵沼液中的营养物含量及其透光率有关。污水原液更适合藻类生长, BHATNAGAR等<sup>[17]</sup>的研究表明,在COD为 $1900 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,采用猪场废水培养蛋白核小球藻,最高生物量能达到 $2.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由表3看出,立式管道反应器2级过滤后的水质中COD、TN、TP、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 分别比平铺管道反应器高出104、30、20.3、24和 $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对应蛋白核小球藻产量高出 $0.21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由表4可以看出,在平铺管道反应器中, $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 的去除率高达81%和100%,TN、TP、COD、色度去除率分别为73%、71%、43%和54%,表明在此条件下,蛋白核小球藻对猪场废水有良好的净化效果。此次实验采用廉价的薄膜平铺管道反应器代替立式管道反应器,证实了蛋白核小球藻在夏季户外高温处理废水的可能



性,为实现大型工业化生产奠定了基础。

表3 不同材质反应器接种蛋白核小球藻培养前后水质参数

Table 3 Water quality of swine wastewater before and after *C. pyrenoidosa* cultivation in different pipeline photobioreactors

| 水样类型     | COD/(mg·L <sup>-1</sup> ) | TN/(mg·L <sup>-1</sup> ) | TP/(mg·L <sup>-1</sup> ) | NH <sub>3</sub> -N/(mg·L <sup>-1</sup> ) | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /(mg·L <sup>-1</sup> ) | pH        |
|----------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--|--|-----------|
| 立式管道     | 186.74±3.27               | 120.59±3.61              | 43.61±1.44               | 80.03±2.4                                | 26.89±2.73   | 8.50±0.21 |
| 平铺管道     | 71.35±0.86                | 97.30±3.72               | 18.37±0.17               | 55.85±0.89                               | 13.42±0.24   | 8.20±0.14 |
| 立式管道2级过滤 | 171.73±2.87               | 110.86±2.68              | 38.38±1.96               | 76.71±0.83                               | 24.56±2.14   | 8.60±0.12 |
| 平铺管道2级过滤 | 67.27±1.21                | 80.00±3.54               | 17.60±0.25               | 51.47±0.83                               | 12.79±0.32   | 8.70±0.21 |
| 立式超滤     | 77.91±1.91                | 57.76±1.85               | 22.24±3.26               | 0.00±0.01                                | 19.38±1.63   | 7.35±0.36 |
| 平铺超滤     | 40.65±0.54                | 53.94±1.47               | 5.01±0.024               | 10.54±0.75                               | 0.00±0.01  | 7.41±0.11 |

表4 不同材质反应器对蛋白核小球藻净化猪场废水的影响

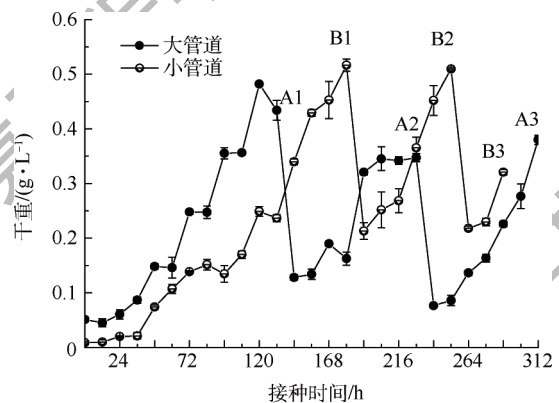
Table 4 Effect of different pipeline photobioreactors on swine wastewater purification with *C. pyrenoidosa* %

| 水样类型      | COD去除率     | NH <sub>3</sub> -N去除率 | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 去除率 | TN去除率      | TP去除率      | 脱色率         |
|-----------|------------|-----------------------|-----------------------------------|------------|------------|-------------|
| 立式管道2级过滤  | 8.06±0.45  | 4.06±0.37             | 7.65±0.06                         | 8.22±0.03  | 12.66±0.04 | 21.53±0.017 |
| 平铺管道2级过滤  | 5.63±0.03  | 5.86±0.08             | 7.61±0.06                         | 19.83±0.06 | 2.72±0.01  | 17.25±0.67  |
| 立式管道培养后超滤 | 58.67±0.61 | 100.00±0.01           | 26.97±0.57                        | 37.52±1.24 | 49.43±2.5  | 64.53±1.84  |
| 平铺管道培养后超滤 | 43.69±2.6  | 81.43±3.73            | 100.00±0.01                       | 73.42±0.67 | 71.93±0.36 | 54.15±0.69  |

### 2.3 管径大小对蛋白核小球藻产量及猪场废水净化效果的影响

蛋白核小球藻在光径4.5 cm(小管道)体积600 L及光径10 cm(大管道)体积1 500 L的光生物反应器中生物量干重生长速率见图3。由图3可以看出,蛋白核小球藻接种到光径10 cm的反应器后,前12 h处于生长延滞期;接种到光径4.5 cm的反应器后,前36 h处于适应期。这可能是因为小球藻在低密度扩种阶段处于异养状态,接种到猪场废水中后进行自养生长需要一个适应期<sup>[18]</sup>。光径10 cm的反应器接种108 h后达到最大值,达到干重最大值0.49 g·L<sup>-1</sup>,之后12 h干重下降。这可能是由于藻类密度过高,相互遮挡,影响透光率,使部分藻细胞裂解。光径5 cm的反应器干重最大值略高于光径10 cm的反应器,光径越小,藻细胞受到的光辐射越多,在光合作用条件下生物量产率越大。

分别采用光径4.5 cm体积600 L及光径10 cm体积1 500 L的光生物反应器净化相同条件的原猪场废水,培养前后的水质如表5所示,其对应去除率如表6所示。由表6可以看出,光径为4.5 cm的小管道对废水参数的去除率更高,COD、NH<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、TN和TP去除率分别高出25.1%、1.77%、24.37%、27.04%和11.02%。光径越小,管道透光性越好,更利于蛋白核小球藻进行光合



A1: 大管道第1次采收; A2: 大管道第2次采收; A3: 大管道第3次采收; B1: 小管道第1次采收; B2: 小管道第2次采收; B3: 小管道第3次采收。

图3 不同光径管道反应器中蛋白核小球藻的生长曲线  
Fig.3 Growth curve of *Chlorella pyrenoidosa* in different light diameter pipeline reactor

表5 不同光径反应器接种蛋白核小球藻及培养前后水质参数

Table 5 Water quality of swine wastewater before and after *C. pyrenoidosa* cultivation in different light diameter pipeline reactor

| 水样类型     | COD/(mg·L <sup>-1</sup> ) | TN/(mg·L <sup>-1</sup> ) | TP/(mg·L <sup>-1</sup> ) | NH <sub>3</sub> -N/(mg·L <sup>-1</sup> ) | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /(mg·L <sup>-1</sup> ) | pH        |
|----------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--|--|-----------|
| 原废水      | 327.67±6.81               | 303.43±5.77              | 91.67±1.52               | 342.33±4.51                              | 85.33±6.51   | 8.35±0.24 |
| 2级过滤     | 249.67±6.56               | 268.12±2.09              | 71.23±1.07               | 241.78±2.65                              | 59.33±2.08   | 8.37±0.21 |
| 大管道培养后超滤 | 178.33±5.68               | 143.34±7.37              | 23.3±0.63                | 28.39±0.57                               | 17.43±1.08   | 7.41±0.21 |
| 小管道培养后超滤 | 142.03±2.3                | 104.02±2                 | 14.22±1.61               | 22.34±0.28                               | 0.00±0.01  | 7.45±0.04 |

表6 不同光径反应器对蛋白核小球藻净化猪场废水的影响

Table 6 Effect of different light diameter pipeline reactor on piggery sewage purification by *Chlorella pyrenoidosa* %

| 水样类型     | COD去除率     | NH <sub>3</sub> -N去除率 | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 去除率 | TN去除率      | TP去除率       | 色度去除率      |
|----------|------------|-----------------------|-----------------------------------|------------|-------------|------------|
| 2级过滤     | 23.79±0.02 | 29.61±0.06            | 30.1±0.07                         | 10.67±0.07 | 22.29±0.01  | 37.31±0.01 |
| 大管道培养后超滤 | 45.54±0.03 | 91.72±0.01            | 80.4±0.02                         | 52.11±0.03 | 74.58±0.036 | 89.08±0.06 |
| 小管道培养后超滤 | 56.97±0.01 | 93.34±0.17            | 100±0.01                          | 66.2±0.07  | 82.8±0.02   | 90.1±0.03  |

作用,因此,对废水的净化效果更好。在户外条件下,利用蛋白核小球藻处理城市污水,最高产量达到0.04 g·L<sup>-1</sup>[19]。采用新型的CO<sub>2</sub>喷淋吸收塔结合微藻光自养培养,可使生物质的最大产量达到0.927 g·L<sup>-1</sup>。CHEN等[20]利用蛋白核小球藻处理生活污水,生物量达到0.03 g·L<sup>-1</sup>。

有研究表明,小球藻在自养条件下,蛋白质的积累要明显高于异养和混养[21]。在自养条件下,采用BG11培养基培养小球藻,最高生物量达到0.4 g·L<sup>-1</sup>,蛋白质含量为51%[22]。如图4所示,在本实验中,3次采收的粗蛋白含量均在46%以上,在小管道中第1次采收时,蛋白含量最高,之后采收依次下降;在大管道中,第2次采收达到最高(58%)。由于管道光径大小不同,蛋白核小球藻的生长速度和采收时间有差异,因此,蛋白质含量有微小变化。

藻类细胞壁是由纤维素、藻胶质、藻酸铵岩藻多糖等多层微纤维组成的多孔结构,比表面积相对较大,因而对重金属具有一定的吸附效果。细胞壁上的多糖、蛋白质、磷脂等多聚复合体为藻类提供了大量可以与金属离子结合的官能团(如氨基、巯基、羧基、羰基等),同时这些官能团排列在藻类细胞壁上,可与金属离子形成配位键而络合吸附金属离子。此外,细胞壁带有一定的电荷和黏性,这也增强了其对重金属的吸附能力[23]。采用原子吸收分光光谱法测定,分析得到藻粉中重金属含量结果如表7所示。从表7中可以看出,蛋白核小球藻在生长过程中会吸附一定量的汞、砷、铅等重金属,其中对铅的吸附能力最强,最高可达到1.77 mg·kg<sup>-1</sup>。各项重金属含量均符合《饲料用小球藻粉》(DB32/T 564-2010)[24]标准,可代替鱼粉添加到饲料中,实现资

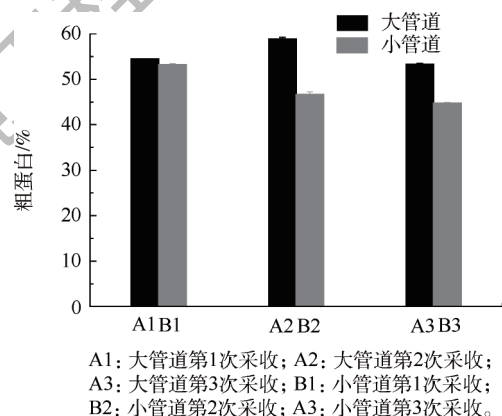


图4 不同光径管道反应器中蛋白核小球藻粗蛋白含量

Fig.4 Crude protein content of *Chlorella pyrenoidosa* in pipeline reactors with different light diameter

源循环利用。

表7 不同光径反应器采收藻粉重金属含量

Table 7 Heavy metal content in *Chlorella pyrenoidosa* collected from pipeline reactors with different light diameter

| 重金属 | 标准值   | A1        | A2        | A3        | B1        | B2        | B3        |
|-----|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 汞   | ≤ 0.1 | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 | 0.01±0.01 | 0.02±0.01 | 0.03±0.01 |
| 砷   | ≤ 1.0 | 1.00±0.01 | 0.78±0.01 | 0.86±0.01 | 0.88±0.01 | 0.83±0.01 | 0.96±0.01 |
| 镉   | ≤ 0.5 | 0.00±0.01 | 0.00±0.01 | 0.00±0.01 | 0.00±0.01 | 0.00±0.01 | 0.00±0.01 |
| 铅   | ≤ 4.0 | 1.24±0.21 | 1.38±0.04 | 1.77±0.21 | 1.04±0.01 | 1.18±0.16 | 0.72±0.03 |

注: A1、A2、A3分别表示大管道第1次、第2次、第3次采收; B1、B2、B3分别表示小管道第1次、第2次、第3次采收。

### 3 结论

1) 蛋白核小球藻能够在猪场废水中藻菌共生条件下生长, 预处理步骤越多, 对猪场废水的净化效果越佳。

2) 在夏季户外使用薄膜塑料管道培养蛋白核小球藻, 结果显示, 蛋白核小球藻耐高温性能极好, 产量达到 $0.13 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3) 采用光径为5 cm的光生物反应器培养蛋白核小球藻, 通过循环采收, 最高产量可达到 $0.93 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 蛋白含量最高达到58.9%, 比采用薄膜塑料管道提高了7.15倍, 大大提高生产效率。采收藻粉重金属含量符合《饲料用小球藻粉》标准, 对实现养殖废水的资源化利用具有重大意义。

### 参考文献

- [1] 刘文涛, 顾立伟. 关于中国与美国养猪业的比较研究[J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(6): 3-7.
- [2] 施洁莹, 翟竞余, 王泉源, 等. 规模化养猪废水处理工程设计与运行研究[J]. 环境科学与管理, 2017, 42(3): 74-78.
- [3] SUZUKI K, WAKI M, YASUDA T, et al. Distribution of phosphorus, copper and zinc in activated sludge treatment process of swine wastewater[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(23): 9399-9404.
- [4] VIANCELL I, ALINEKUN Z, AIRTONESTEVE S, et al. Bacterial biodiversity from an anaerobic up flow bioreactor with ANAMMOX activity inoculated with swine sludge[J]. Brazilian Archives of Biology & Technology, 2011, 54(5): 1035-1041.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 国家环境保护总局. 畜牧养殖业污染物排放标准: GB 18596-2001[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [6] PARK J, JIN H F, LIM B R, et al. Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22): 8649-8657.
- [7] WANG L, LI Y, CHEN P, et al. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(8): 2623-2628.
- [8] RUIZMARIN A, MENDOZAESPINOSA L G, STEPHENSON T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): 58-64.
- [9] 魏东, 张会贞, 陈娇敏. 优化营养方式强化蛋白核小球藻生物量及蛋白质和叶绿素生产[J]. 现代食品科技, 2017(4): 160-167.

- [10] OGBONNA J C, MASUIC H, TANAKA H. Sequential heterotrophic/autotrophic cultivation: An efficient method of producing *Chlorella* biomass for health food and animal feed[J]. Journal of Applied Phycology, 1997, 9(4): 359-366.
- [11] 国家环境保护总局. 水质铜、锌、铅、镉的测定 原子吸收分光光度法: GB 7475-1987 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 1987.
- [12] SOPHONSIRI C, MORGENROTH E. Chemical composition associated with different particle size fractions in municipal, industrial, and agricultural wastewaters[J]. Chemosphere, 2004, 55(5): 691-703.
- [13] DJILANI C, ZAGHDOUDI R, DJAZI F, et al. Adsorption of dyes on activated carbon prepared from apricot stones and commercial activated carbon[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2015, 53(1): 112-121.
- [14] 张会贞, 陈娇敏, 魏东. 活性炭脱色糖蜜酵母废水混合营养培养蛋白核小球藻净化水质[J]. 现代食品科技, 2017(8): 221-227.
- [15] ZHOU W, LI Y, MIN M, et al. Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(13): 6909-6919.
- [16] KIM M K, PARK J W, PARK C S, et al. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(11): 2220-2228.
- [17] BHATNAGAR A, BHATNAGAR M, CHINNASAMY S, et al. *Chlorella minutissima*: A promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters[J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2010, 161: 523-536.
- [18] SEEPRADEE J, POKETHITIYOOK P, MEETAM M, et al. The effect of light stress and other culture conditions on photoinhibition and growth of *Dunaliella tertiolecta*[J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2015, 178(2): 1-12.
- [19] DAHMANI S, ZERROKI D, RAMANNA L, et al. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in outdoor open raceway pond using domestic wastewater as medium in arid desert region[J]. Bioresource Technology, 2016, 219(1): 749-752.
- [20] CHEN Y H, WALKER T H. Biomass and lipid production of heterotrophic microalgae *Chlorella protothecoides* by using biodiesel-derived crude glycerol[J]. Biotechnology Letters, 2011, 33(10): 1973-1983.
- [21] MICHELEGREQUE D M, JORGEALBERTOVIEIRA C. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors[J]. Biotechnology Letters, 2007, 29(9): 1349-1352.
- [22] 孔维宝, 汪洋, 杨红, 等. 不同营养方式对普通小球藻生长代谢及生化组分的影响[J]. 微生物学报, 2015, 55(3): 299-310.
- [23] CHENG P, WANG Y, LIU T, et al. Biofilm attached cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* is a developed system for swine wastewater treatment and lipid production[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8(1): 15-24.
- [24] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 国家环境保护总局. 饲用小球藻粉标准: GB 32/T 564-2010[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.

(本文编辑: 金曙光, 郑晓梅, 张利田)



## Optimization for *Chlorella pyrenoidosa* growth and purification of piggery sewage

YU Zongyi<sup>1</sup>, WEI Dong<sup>1\*</sup>, LIU Lu<sup>1</sup>, LI Huankai<sup>2</sup>, WANG Qin<sup>2</sup>

1. School of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China

2. School of Environmental Science and Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China

\* Corresponding author, E-mail: fewd304@scut.edu.cn

**Abstract** The effects of pretreatment methods of piggery sewage, types and light path of piping photoreactors on the growth of *Chlorella pyrenoidosa* and purification of piggery sewage were systematically studied under outdoor conditions. The results showed that when the COD,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , TN and TP of raw swine wastewater were 710, 491, 54, 590 and 108  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively, *Chlorella pyrenoidosa* performed the best purification of the tertiary filtration pretreated wastewater, and the removal rates of colority and  $\text{NH}_4^+$  reached 88.56% and 83.48%, respectively, which were significantly higher than those for the raw wastewater treatment ( $P < 0.05$ ). Under outdoor conditions in summer, the scale up culture of *Chlorella pyrenoidosa* with plastic pipes indicated that these algae could withstand high temperature and grow well with a yield (dry weight) of 0.13  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . When *Chlorella pyrenoidosa* was cultured in a vertical photobioreactor with a diameter of 5 cm, the yield (dry weight) was 0.93  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  and the highest protein content was 58.9% through recycling collection. The contents of mercury, arsenic, cadmium and lead in algal biomass were lower than 0.1, 1.0, 0.5 and 4.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , respectively, which was in accordance with the standard Chlorella Powder for Feed (DB32/T 564-2010). The removal rates of  $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , and colority in effluent after harvesting *Chlorella* were all over 90%, which basically met the national emission standards. The results of this study can provide references for technology development of piggery sewage purification and industrial production of *Chlorella pyrenoidosa*.

**Keywords** piggery sewage purification; *Chlorella pyrenoidosa*; bioreactor