

# 两种微藻对规模化养猪场沼液的净化效果

吴晓梅<sup>1,2</sup>, 叶美锋<sup>1</sup>, 吴飞龙<sup>1</sup>, 徐庆贤<sup>1</sup>, 林代炎<sup>1\*</sup>

(1. 福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福州 350003; 2. 福建农林大学 材料与工程学院, 福州 350003)

**摘要:** 选取蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻两种微藻为研究对象, 研究其在不同浓度沼液中的生长特性、对沼液中污染物净化效果以及优势藻种品质安全情况, 以获得可有效净化养猪场沼液污染物并能积累生物量的微藻。结果表明: 蛋白核小球藻比钝顶螺旋藻更耐污, 两种微藻在低浓度沼液(10%和20%)中生长较好, 培养10天后蛋白核小球藻 OD<sub>680</sub> 最高 D0 处理为 2.12, 螺旋藻 OD<sub>560</sub> 最高 L0 处理 1.73。利用 20% 浓度沼液培养蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻, 经 10 d 培养结束后, 蛋白核小球藻最大生物量产量能达到 1.31 g·L<sup>-1</sup>, 而钝顶螺旋藻的最大生物量产量为 1.09 g·L<sup>-1</sup>。蛋白核小球藻对沼液总氮、氨氮、硝态氮、亚硝态氮、总磷和 COD 的去除率分别可达 76.82%、75.04%、86.05%、57.87%、93.50% 和 77.92%, 高于钝顶螺旋藻。经沼液培养的蛋白核小球藻, 其粗蛋白质含量较高, 可达干重的 61.87%, 且 Hg、Cd、Pb、As 和 Cr 含量符合《饲料卫生标准》(GB13078—2017)。因此, 蛋白核小球藻对规模化养猪场沼液具有较好的净化效果, 所获藻粉还可作为鱼饲料植物蛋白源, 具有推广应用价值。

**关键词:** 猪场沼液; 蛋白核小球藻; 钝顶螺旋藻; 净化效果

中图分类号: S216.4; X713 文献标志码: A 文章编号: 1000-1166(2022)05-0030-08

DOI: 10.20022/j.cnki.1000-1166.2022050030

**Study on Purification Efficiency of Two Kinds Microalgae for Biogas Slurry from Large-scale Pig Farms / WU Xiaomei<sup>1,2</sup>, YE Meifeng<sup>1</sup>, WU Feilong<sup>1</sup>, XU Qingxian<sup>1</sup>, LIN Daiyan<sup>1\*</sup> / (1. Agricultural-Engineering Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China; 2. College of Material Engineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350003, China)**

**Abstract:** Microalgae capable of effectively removing pollutants from biogas slurry and accumulating biomass were screened for potential applications on antipollution or effluence treatment at Large-scale pig farms under lab condition. Two kinds of microalgae, *Chlorella pyrenoidosa* and *Spirulina platensis*, were selected as the research objects to discuss their growth characteristics in different concentrations of biogas slurry, the purification effect of pollutants in biogas slurry and the quality and safety of dominant algae. Results showed that both strains appeared to grow well in low concentration biogas slurry (10% and 20%), while *Chlorella pyrenoidosa* was more resistant to pollution than *Spirulina platensis*. After 10 d of culture, the highest OD<sub>680</sub> of *Chlorella pyrenoidosa* was 2.12 in D0 treatment, and the highest OD<sub>560</sub> of *Spirulina platensis* was 1.73 in L0 treatment. During 10 d of cultivation in 20% biogas slurry, 1.31 g·L<sup>-1</sup> and 1.09 g·L<sup>-1</sup> of the maximum biomass yield were obtained from *Chlorella sp* and *Spirulina platensis* respectively. The removal rates of total nitrogen, ammonia nitrogen, nitrate nitrogen, nitrite nitrogen, total phosphorus and COD in biogas slurry by *Chlorella pyrenoidosa* can reach 76.82%, 75.04%, 86.05%, 57.87%, 93.50% and 77.92%, respectively. In general, the purification ability of *Chlorella pyrenoidosa* to biogas slurry was greater than that of *Spirulina platensis*. The crude protein of *Chlorella pyrenoidosa* cultured by biogas slurry was up to 61.87% of dry weight, and the heavy metals contents about Hg, Cd, Pb, As and Cr meet the hygienic standard for feed (GB13078—2017). Therefore, *Chlorella pyrenoidosa* is an excellent strain for purifying biogas slurry from large-scale pig farms. The obtained algae powder can also be used as a plant protein source for fish feed, which has the value of popularization and application.

**Key words:** biogas slurry; *Chlorella pyrenoidosa*; *Spirulina platensis*; purification efficiency

收稿日期: 2022-02-25 修回日期: 2022-04-20

项目来源: 福建省科技厅省属公益类科研项目(2021R1032003; 2021R1032004); 福建省自然科学基金资助项目(2021J01497)。

作者简介: 吴晓梅(1988-), 女, 汉, 福建三明人, 硕士研究生, 研究方向为农业废弃物资源化利用研究, E-mail: xiaomeizi163@126.com

通信作者: 林代炎, E-mail: lindaiyan@126.com

据 2019 年中国统计年鉴数据分析,我国生猪存栏 4.06 亿头,集约化、规模化养猪场居多,约占总量 90.00%,这意味着集中产生大量养猪废水<sup>[1-2]</sup>。规模化养殖场大多建立沼气工程,利用厌氧发酵技术处理养殖污水,每年产生约 1.12 t 沼液<sup>[3]</sup>。近年对经厌氧发酵产生的沼液无害化、资源化处理也逐渐成为研究焦点。利用传统生化、物化处理等技术对沼液具有一定效果,但仍存在成本高、运行不稳定、磷处理不达标等弊端,难以实现污水的资源化利用,而且不符合当前政策,难以推广应用<sup>[4-5]</sup>。沼液中含较高浓度的氮磷等营养盐,此外还有重金属、COD 等污染物,若对沼液未进行处理直排到水中,将会严重污染环境甚至影响人类健康<sup>[6]</sup>。如何有效实现沼液无害化与资源化利用越来越成为规模化生猪养殖场可持续发展的制约因素。

微藻生长过程需要大量氮磷等营养物质,在去除废水氮磷方面具有较大潜力<sup>[7]</sup>。同时部分微藻在特定培养条件下能选择性地蓄积蛋白质、油脂等,具有广阔的开发利用前景<sup>[8-9]</sup>。但是微藻培养过程需要向培养液中添加大量的氮磷等营养元素,营养物质成本占微藻总培养成本的 10%~20%,较高培养成本制约了其高值化利用技术的推广,由此众多学者将目光投向含氮磷较高的工农业废水、生活污水等<sup>[10]</sup>。沼液恰好富含丰富的氮磷营养元素,利用沼液培养微藻,降低微藻培养营养与水资源成本,将有助于降低微藻培养成本<sup>[11-12]</sup>,又能实现沼液净化处理,促进畜禽养殖废弃物的资源化利用<sup>[13]</sup>。国内外众多学者研究表明,利用微藻处理沼液的关键是筛选能快速适应特定环境并具有生物量优势的藻株<sup>[4,14]</sup>。应用微藻处理城市生活污水、养殖废水、农村污水等废水已有较多学者研究<sup>[15-20]</sup>,但微藻净化处理生猪养殖废水厌氧发酵产物——沼液的研究报道不多,尚没有成熟的处理技术能高效地去除沼液中氮磷营养盐。田晨雪<sup>[21]</sup>等利用蛋白核小球藻净化猪场沼液,对沼液中总氮、总磷、铵态氮含量的去除率分别可达 61.89%、99.72%、96.79%。陈正杰<sup>[22]</sup>等利用螺旋藻净化沼液,发现螺旋藻在沼液(初始 COD 1211.00 mg·L<sup>-1</sup>)稀释 10 倍,生长最好,对总氮、总磷和 COD 去除率均超过 80.00%。Zhao<sup>[23]</sup>等利用小球藻(FACHB-31)净化沼液,发现其对 COD、TN、TP 的最高去除效率分别可达 92.17 ± 5.28%、89.83 ± 4.36%、90.31 ± 4.69%。Yang<sup>[24]</sup>等在利用蛋白核小球藻净化猪场沼液,对沼

液中的总氮、总磷去除率可达 91.60% 与 90.70%。上述学者研究表明,在对污染水体氮磷净化处理及富集藻类资源化利用方面,蛋白核小球藻和螺旋藻相比其他微藻更具优势,但对这两种微藻没有进行对比研究,且在沼液培养微藻资源化利用安全性方面也缺少研究讨论。因此,本研究以具有环境适应性强、生长快的蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻为研究对象,考察其在不同沼液浓度中的生长状况,对比两者耐污能力及对沼液净化效果;分析所获微藻营养品质与重金属含量,获取更适应规模化养殖场沼液无害化资源化处理的優勢藻种,并为微藻再利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 藻种

实验所选用藻种为钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)和蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),两种藻种都是购买于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。钝顶螺旋藻编号: FACHB-439;蛋白核小球藻编号: FACHB-9。

#### 1.1.2 沼液

沼液取自福清市某规模化生猪养殖场固液分离后猪场废水为发酵原料的沼气工程,发酵工艺为连续搅拌完全混合式厌氧消化反应器。将沼液在 8000 rpm 的条件下离心 10 min,去除其中的悬浮物及颗粒物杂质,取上清液经 0.45 μm 的微孔过滤膜过滤后待用,分析过滤后的沼液污水水质指标,结果见表 1。

表 1 预处理后沼液水质指标浓度 (mg·L<sup>-1</sup>)

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TP	TN	COD
3.63	0.53	605.00	30.75	660.00	915.00

#### 1.1.3 培养基

蛋白核小球藻培养基: BG11<sup>[25]</sup>培养基;钝顶螺旋藻培养基: *Spirulina medium* 培养基<sup>[26]</sup>。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 藻种的预培养

在光照培养箱中培养,培养温度设为 25℃、光照强度 3000 lx、光暗比为 12 h:12 h。培养基分别为经过灭菌的 BG11 培养基(蛋白核小球藻)和 *Spirulina medium* 培养基(钝顶螺旋藻)。

#### 1.2.2 微藻的驯化

将扩培至对数期的藻细胞,按照 20% (藻液:培养基 = 1:5) 的接种量(约  $4 \times 10^5$  个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 接种到 250 mL 浓度 20% (稀释 5 倍) 的沼液培养基中,1 周后,按照该方法依次将藻种接种到稀释 4 倍、2 倍和 0 倍沼液培养基中驯化,经原沼液驯化后的微藻为后续实验所用。

### 1.2.3 不同沼液浓度对微藻生长特性影响

沼液经自然沉降静置,高温灭菌后,用无菌水进行 0 倍、5 倍和 10 倍稀释处理(蛋白核小球藻处理组: D1-D3、钝顶螺旋藻处理组: L1-L3),并以 BG-11 和 *Spirulina medium* 培养基接种微藻为对照(D0 和 L0),每个试验组设 3 个平行,初始微藻接种光密度  $\text{OD}_{680}$  和  $\text{OD}_{560}$  为 0.1,调节 pH 值 7.5~8.0,光照强度 3000 lx,温度 25℃,光照培养箱培养 10 d,每天定时摇动瓶子。

### 1.2.4 微藻对沼液净化效果的比较

吸取处于对数生长期的蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻藻种液分别接种于 20% 浓度沼液培养液。初始微藻接种光密度  $\text{OD}_{680}$  和  $\text{OD}_{560}$  为 0.2,每个试验组设 3 个平行,以不接种任何藻种处理为对照组 CK,其他培养条件同 1.2.1。每个处理培养液为 500 mL,在光照培养箱中培养,每天手动摇晃 3 次,每次 1~2 min,培养周期为 10 d。每 3 天取样 10 mL 微藻培养液于 8000 rpm 下离心 10 min 后收集上清,测定水样中 COD、氨氮、总氮、总磷、硝酸盐、亚硝酸盐和微藻生物量。

### 1.2.5 藻细胞收集

藻细胞培养结束后,将培养的藻细胞转移到离心管中,以 10000 rpm 离心 10 min,去其上清液,反复操作直至藻细胞完全收集于离心管中。用蒸馏水反复多次洗涤藻细胞,弃其上清液,得到含杂质较少的浓缩藻细胞。

## 1.3 分析项目和方法

### 1.3.1 微藻生长测定

已有研究表明培养液中微藻的细胞密度与其在特征波长处光密度值呈线性相关<sup>[27]</sup>,因此用紫外可见分光光度计测定活体藻液在特征波长处(蛋白核小球藻: 680 nm; 螺旋藻: 560 nm) 光密度值代表细胞密度。

### 1.3.2 微藻生物量的测定

取 10 mL 体积藻液离心浓缩后通过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜(事先称量瓶和滤膜 105℃ 烘干称重)过滤,于 105℃ 烘干至恒重称量,测定藻细胞干重  $W$ ,  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,

计算公式如下。

$$W = \frac{m_2 - m_1}{V}$$

式中:  $m_2$  为烘干后称量瓶、膜和藻总质量, g;  $m_1$  为烘干后称量瓶和膜总质量, g;  $V$  为藻液的体积, L。

### 1.3.3 水质指标的测定方法

氨氮( $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ): 采用纳氏试剂分光光度法测定(HJ535—2009); 硝酸盐氮( $\text{NO}_3^--\text{N}$ ): 采用紫外分光光度法测定(HJ/T346—2007); 亚硝酸盐氮( $\text{NO}_2^--\text{N}$ ): 采用分光光度法测定(GB7493—87); 总磷(TP): 采用钼酸铵分光光度法测定(GB11893—89); 化学需氧量(COD): 采用重铬酸盐法测定(GB11914—89)。

### 1.3.4 藻粉重金属检测

根据饲料卫生标准(GB13078—2017)中所要求砷、铅、镉、汞和铬五项重金属限量,因此本研究也测这五种重金属元素含量。测砷按《GB 13079—2006 饲料中总砷的测定》规定的方法测定; 铅按《GB13080—2018 饲料中铅的测定》规定的方法测定; 镉按《GB 13082—1991 饲料中镉的测定方法》规定的方法测定; 汞按《GB 13081—2006 饲料中汞的测定》规定的方法测定; 铬按《GB13088—2006 饲料中铬的测定》。

### 1.3.5 数据分析方法

每个处理设置 3 个重复,采用 Excel 2019、Origin 8.0 软件进行数据方差分析和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度沼液中微藻的生长情况

图 1 和图 2 为蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻分别在 BG11、*Spirulina medium* 和不同浓度沼液中的生长曲线。在经过 2 d 的延滞期后两株藻在 BG11、*Spirulina medium* 培养基和低浓度的沼液中(20% 和 10%) 进入对数生长期,蛋白核小球藻在 9 d 后进入稳定期,而螺旋藻在第 10 天进入稳定期。两个藻株在各自相应培养基中的生长速率均高于在沼液中的生长速率,周期结束后蛋白核小球藻光密度值  $\text{OD}_{680}$  最大是 D0 处理 2.12,其次 D2 处理 1.89; 而钝顶螺旋藻光密度值  $\text{OD}_{560}$  最大是 L0 处理 1.73,其次 L2 处理 1.60,蛋白核小球藻的生长速率高于钝顶螺旋藻。在高浓度的沼液中(100%),两种藻类生长缓慢,培养后期螺旋藻受到抑制,引起  $\text{OD}_{560}$  下降。蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻在浓度 20% 与 10% 沼液

中生长趋势类似,生物量相近,从能源节约角度考虑,选用20%的沼液浓度进行后续试验,收获期为第10天。

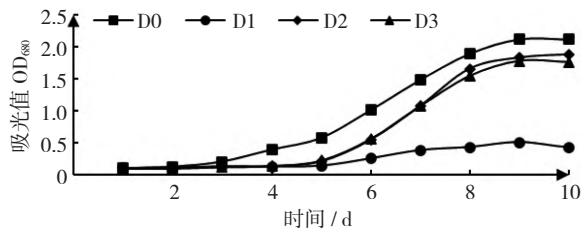


图1 蛋白核小球藻在 BG11 培养基和不同浓度沼液中的生长情况

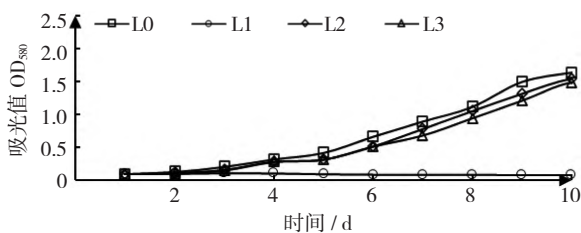


图2 钝顶螺旋藻在 Spirulina medium 培养基和不同浓度沼液中生长情况

## 2.2 两种藻类在沼液中的生物量积累

图3为微藻在20%浓度沼液中生长情况,经过驯化的两种藻类(钝顶螺旋藻与蛋白核小球藻)在20%浓度沼液中均能良好生长,呈现典型的藻细胞批量生长曲线。藻类细胞刚接种至沼液中,前2 d生长缓慢,从第5天开始藻细胞生长速度加快,进入对数生长期,在第10天左右藻细胞生长进入稳定期。钝顶螺旋藻与蛋白核小球藻生长变化趋势类似,但是最终生物量有所区别,总体而言蛋白核小球藻的生长量要优于钝顶螺旋藻,蛋白核小球藻最大生物量产量能达到 $1.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而钝顶螺旋藻的最大生物量产量为 $1.09 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

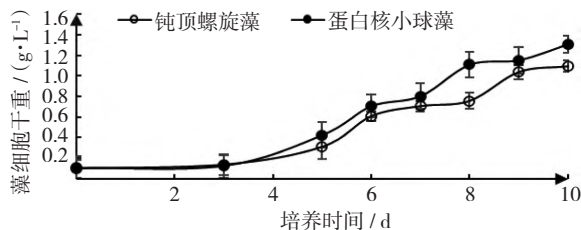


图3 两种微藻在沼液中培养生物量积累

## 2.3 两种藻类对沼液中各形态氮的去除效果

图4为两种藻类对沼液中总氮、氨氮、硝态氮和亚硝态氮的去除效果,从图中可知道两种藻类对总氮都具有一定的去除效果,其中蛋白核小球藻组大

于钝顶螺旋藻组。在培养前期,沼液中总氮含量下降较快,培养第6天,蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻组的总氮去除率分别可达47.73%和36.21%。随着培养时间增加,藻细胞进入稳定生长期和衰退期,对总氮的利用速率降低,沼液总氮的去除速率也在减缓。培养一个周期10 d结束后,蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻对应的沼液培养基中,总氮含量分别为 $153.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $209.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,去除率分别为76.82%和68.33%。沼液中的氨氮含量逐渐降低,在培养结束时蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻沼液培养基中的氨氮去除率分别可达75.04%、65.00%。而蛋白核小球藻、钝顶螺旋藻沼液培养基中硝态氮从初始浓度 $3.63 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别降至 $0.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $1.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,去除率依次为86.05%、70.22%,硝态氮的去除率皆高于氨氮的去除率。对于两种藻类沼液培养基中亚硝态氮含量,出现了先增加后减少的趋势。试验结束时亚硝态氮含量蛋白小球藻组为 $0.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、钝顶螺旋藻组为 $0.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,去除率分别为57.87%、30.34%。由此说明蛋白核小球藻比钝顶螺旋藻对沼液中的含氮化合物具有较强的吸收能力。

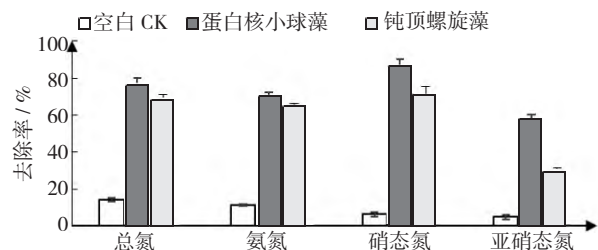


图4 两种微藻对沼液  $\text{TN}$ 、 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 、 $\text{NO}_3^--\text{N}$  和  $\text{NO}_2^--\text{N}$  的去除率

## 2.4 两种藻类对沼液中总磷的吸收效果

从图5可知,两种藻类对应的沼液培养基中的总磷去除率随着培养时间的延长而增加,在试验进行到第10天时,总磷含量去除率都已达到71.58%~73.14%,两种藻类对总磷的利用能力差异并不明显,试验结束时蛋白核小球藻组的沼液培养基中总

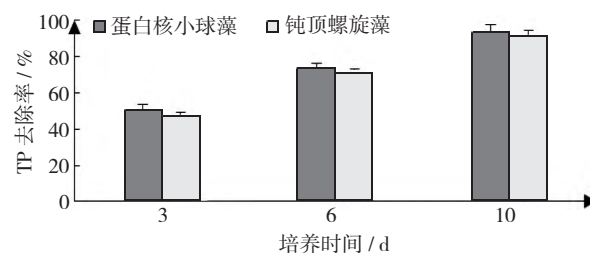


图5 两种微藻对沼液 TP 的去除率

磷含量为  $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ,去除率为  $93.05\%$  ,而钝顶螺旋藻组为  $2.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ,去除率为  $91.06\%$  。

### 2.5 两种藻类对沼液 COD 的去除效果

图 6 为两种藻类对应沼液 COD 的去除率 ,从图中可知两种藻类对沼液 COD 都具有一定的去除效果 ,且蛋白核小球藻培养液中的 COD 浓度一直低于钝顶螺旋藻。第 10 天培养结束时 ,COD 由初始的  $915.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ,分别降为蛋白核小球藻组  $202.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  、钝顶螺旋藻组  $215.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ,去除率分别为  $77.92\%$  、 $76.50\%$  。

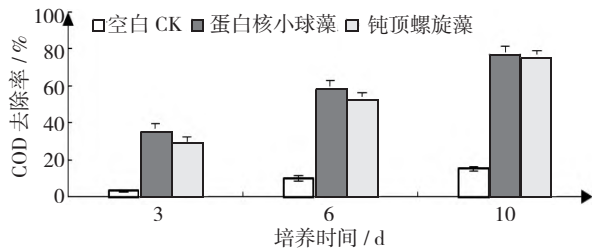


图 6 两种微藻对沼液 COD 的去除率

### 2.6 蛋白核小球藻营养成分及含量

试验结束后收集的藻细胞经真空冷冻干燥即干 ,于  $-70^{\circ}\text{C}$  下冷冻  $24 \text{ h}$  得到蛋白核小球藻粉。对该粉进行成分分析 ,具体如表 2 所示。

表 2 蛋白核小球藻营养成分及含量 (%)

水份	粗蛋白	粗灰分	叶绿素 a	叶绿素 b	类胡萝卜素	油脂
4.67	61.87	5.46	0.051	0.29	0.34	5.34

利用沼液培养所得蛋白核小球藻 ,主要是希望作为鱼的饲料 ,所以将其与常用饲料进行蛋白比较 ,具体如表 3 所示。从表可知 ,蛋白核小球藻粉中的粗蛋白质含量最高 ,达干重的  $61.87\%$  ,高于大豆粕、玉米、米糠和麦麸等植物饲料 ,与鱼粉粗蛋白质含量接近 ,因此可作为鱼饲料优质植物蛋白源。

表 3 蛋白核小球藻和几种饲料蛋白质含量<sup>[28]</sup> 比较

(  $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ dw}$  )

蛋白核小球藻	大豆粕	玉米	米糠	小麦麸	鱼粉
61.87	44.20	8.70	12.80	14.30	67.50

### 2.7 蛋白核小球藻粉重金属元素含量

表 4 为蛋白核小球藻粉中的重金属元素检测结果 ,Hg、Cd、Pb、As 和 Cr 的含量分别为  $0.002 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  、 $0.120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  、 $1.010 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  、 $0.870 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  、 $4.240 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  。藻粉中 Pb、As 和 Cr 重金

属含量符合《饲料卫生标准》( GB13078—2017) 。

表 4 蛋白核小球藻中重金属含量与饲料

卫生标准比较 (  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  )

重金属元素	汞	铬	铅	砷	镉
含量	0.002	4.240	1.010	0.870	0.120
标准限值	$\leq 0.1$	$\leq 5$	$\leq 5$	$\leq 2$	$\leq 0.5$

## 3 讨论

### 3.1 沼液中两种微藻的生长特性

微藻属于一种原生生物 ,主要通过光合作用从外界吸收碳、氮、磷等无机盐来制造有机物 ,其生长趋势符合 Logistic 生长曲线 ,具有微生物的特点。沼液和培养基中都富含丰富的碳、氮、磷等营养物质和微量元素 ,微藻在培养基和沼液中都可进行繁殖代谢。受沼液色度及浓度影响 ,微藻在沼液中光合作用强度低于培养基 ,微藻在培养基中生长特性优于沼液。当微藻刚接入沼液中时 ,前两天生长迟缓 ,主要可能是因为微藻在不断完善体内酶系统、细胞成分 ,合成生长所必需的酶 ,以适应生长环境 ,所以藻类这个时期的生长繁殖速度比较慢。

利用不同浓度沼液培养两种藻类 ,微藻在未稀释沼液中的生长优势不明显 ,尤其钝顶螺旋藻可以在低浓度沼液中生长而在未稀释沼液中生长缓慢甚至停滞 ,说明高浓度沼液对钝顶螺旋藻的生长具有明显抑制效应。一方面可能是沼液中有有机物、氨氮等污染物浓度高( 未稀释沼液氨氮  $660.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ) ,不易被钝顶螺旋藻吸收 ,藻液由绿色渐变为黄色 ,导致螺旋藻死亡; 另一方面可能是在沼液原液中 ,色度大 ,透光性减弱 ,在微藻自养培养方式下 ,易使其远离光饱和点 ,影响其光合作用进而抑制微藻自养生长的进行。这也符合谢尔福德耐性定律 ,生物在生长过程中对各种因子均存在耐性范围 ,如果培养液中某一种必需元素超过一定量 ,会对藻类产生毒害作用 ,影响藻类的生长繁殖 ,严重者会导致藻类大量死亡<sup>[29]</sup> 。与国青青<sup>[30-31]</sup> 等人研究螺旋藻在氨氮超过  $100.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  生长会受到明显抑制 ,随着氨氮浓度的增加抑制越明显结论相近。由此表明 ,蛋白核小球藻相比钝顶螺旋藻更适应沼液培养环境 ,在其他藻种无法存活的条件 ,蛋白核小球藻可利用沼液中可被利用的营养物质进行生长 ,耐性更强 ,这一结果与很多学者<sup>[27,32]</sup> 的研究结果相符。



### 3.2 两种藻类对沼液不同形态氮的去除效果

氮是藻类细胞的重要组成成分,对藻的结构蛋白、酶、核酸及叶绿素等合成至关重要<sup>[33]</sup>。由于微藻中的蛋白质、多糖、核酸等大分子物质都是由碳、氮、磷等元素组成,因此藻细胞的生长繁殖离不开氮、磷等元素的吸收。沼液中的氮素主要以无机氮(氨氮、硝态氮、亚硝态氮)和有机氮(氨基酸、蛋白质等)为藻细胞的生长提供基本的养料。微藻通过同化作用吸收无机氮,将沼液中氮素转化为蛋白质、酶等物质<sup>[34]</sup>。沼液中各种形态氮都可作为藻类的氮源,只是被利用的顺序有所区别。沼液未经处理其氮素主要存在形式是氨氮,试验初期其含量远远高于硝态氮和亚硝态氮。而且微藻利用氨氮过程不涉及氧化还原反应,需要能量较少,而硝态氮和亚硝态氮需要通过硝酸盐、亚硝酸盐还原酶转化成氨氮后被微藻纳入碳骨架,最终在藻细胞内被合成氨基酸或者蛋白质<sup>[35]</sup>,因此微藻在不同氮素存在形式中优先利用氨氮,氨氮下降明显,这一结论也与罗龙泉<sup>[14,36]</sup>等人所研究结果一致。水质中亚硝态氮含量的先升高后下降,可能是因为培养初期微藻在含有硝态氮的溶液中利用还原酶将硝态氮还原成亚硝态氮而释放到培养基中引起的。当硝态氮含量较低时,藻体细胞开始利用亚硝态氮,导致亚硝态氮含量的下降。硝态氮的去除率高于氨氮的去除率,一是受藻类同化作用,二是受氨氮多途径分解、转化影响。蛋白核小球藻在沼液中的生长特性及生物量都高于钝顶螺旋藻,其对沼液中氮素的需求量也更高,利用无机氮合成自养所需物质,因而对水体中总氮、氨氮、硝态氮和亚硝态氮吸收更快,去除率高于钝顶螺旋藻。

### 3.3 两种藻类对沼液中总磷的吸收效果

有研究认为,磷是一切藻类都必需的营养元素,常被认为是第一位限制性营养元素<sup>[37]</sup>,可以影响藻类磷脂、蛋白质和核酸的合成,并且对能量循环具有重要作用<sup>[38-39]</sup>。两种微藻对沼液中总磷具有较强去除率,在90.00%以上,与Jiang<sup>[40]</sup>等人得到类似结论。微藻主要通过磷酸化作用使磷酸氢盐和磷酸二氢盐中磷参与ADP至ATP的转化中<sup>[41]</sup>。磷酸盐是唯一能被微藻直接吸收利用的磷形态,因此在培养初期,微藻先吸收沼液中磷酸盐,因而总磷去除率初期较低。随着时间进行,微藻微生物积累,无机磷通过光合、氧化还原、沉降等作用被微藻吸收、吸附而得到去除。

蛋白核小球藻对总磷吸收效果稍强于钝顶螺旋藻,可能是由于其细胞尺寸小于钝顶螺旋藻。藻类对磷的吸收受细胞尺寸、细胞内的营养状态及环境中磷的浓度、形态、来源的影响,不同藻类对磷的吸收存在较大差异。这正与相关学者研究观点小尺寸的藻细胞的磷吸收速率优于大尺寸的藻细胞,且藻类的生物量与磷积累量成正比<sup>[42-43]</sup>相符。

### 3.4 两种藻类对沼液COD的去除效果

藻类对沼液中COD的去除效果一般<sup>[21]</sup>,沼液中的还原性物质主要是厌氧发酵过程残留的有机物,这些有机物可供蛋白核小球藻和钝顶螺旋藻以自养、兼养和异养等方式进行繁殖代谢<sup>[44]</sup>。即便如此,微藻对COD的脱除效率依然较低,可能一是厌氧沼气发酵停留时间较长,易生化有机物已被厌氧微生物消化较彻底,余下COD大部分是难降解的有机物;二是因为沼液中的COD主要组成是纤维素、有机酸等难降解的较大分子量有机物,微藻对它们的同化降解效率较低、速度较慢<sup>[45-46]</sup>。还有可能是沼液中存在有机碳和无机碳,由于沼液碳氮比原值较低、碳源存在竞争关系,而且无机碳源二氧化碳和碳酸氢盐可被微藻直接利用,因此蛋白核小球藻与钝顶螺旋藻可能优先吸收无机碳,从而影响了有机碳的吸收。

### 3.5 蛋白核小球藻品质与安全分析

微藻对沼液中氮磷的利用以同化作用为主,氮磷等元素被转移到微藻细胞中并未真正从水体中去除。因此在沼液净化处理过程需及时将微藻收集并加工利用。将微藻灭菌消毒后作为水产动物的生物饲料,是一条绿色环保可循环的产业链。但前提是微藻具有稳定的安全品质,因此有必要分析微藻营养成分及安全品质。利用沼液培养所得蛋白核小球藻,其粗蛋白质含量高于大豆粕、米糠、玉米和小麦麸等植物饲料,与鱼粉粗蛋白质含量接近,而且符合《饲料卫生标准》(GB13078—2017)中对重金属的限量值,因此可作为鱼饲料安全植物蛋白源。

## 4 结论

(1) 蛋白核小球藻相比钝顶螺旋藻更耐污:两种藻在各自相应培养基中的生长速率均高于在沼液中的生长速率,培养10天后蛋白核小球藻OD<sub>680</sub>最高D0处理为2.12,其次D2处理1.89;螺旋藻OD<sub>560</sub>最高L0处理1.73,其次L2处理1.60。

(2) 利用20%浓度沼液培养蛋白核小球藻和钝

顶螺旋藻,经一个周期 10 d 结束后,蛋白核小球藻最大生物质产量能达到  $1.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而钝顶螺旋藻的最大生物质产量为  $1.09 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;蛋白核小球藻对沼液总氮、氨氮、硝态氮、亚硝态氮、总磷和 COD 的去除率分别可达 76.82%、75.04%、86.05%、57.87%、93.50% 和 77.92%,高于钝顶螺旋藻。

(3) 经沼液培养的蛋白核小球藻,其粗蛋白质含量较高,且 Hg、Cd、Pb、As 和 Cr 含量符合《饲料卫生标准》(GB13078—2017),可作为鱼饲料的一种优质植物蛋白源。

(4) 综合沼液培养基水质各项指标去除率及藻体生物量,蛋白核小球藻比钝顶螺旋藻更适合用于沼液资源化处理。

(5) 为了得到最优沼液培养蛋白核小球藻试验条件,下一步仍需考察合适的 N/P 比及环境条件对沼液培养蛋白核小球藻的影响。

#### 参考文献:

- [1] 秦贵信. 现代规模养猪生产粪污处理问题[J]. 饲料与畜牧, 2018(03): 34–36.
- [2] 中华人民共和国统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社 2019.
- [3] 马艳茹,丁京涛,赵立欣,等. 沼液中氮的回收利用技术研究进展[J]. 环境污染与防治, 2018, 40(3): 339–344.
- [4] 马浩天,李润植,张宏江,等. 基于微藻培养处理畜禽养殖废水的研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(11): 83–90.
- [5] Renuka N, Sood A, Ratha S K, et al. Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production [J]. J Appl Phycol, 2013, 25(5): 1529–1537.
- [6] Han H, Du P, Liu Q, et al. Advanced treatment process for anaerobic digestion effluent of livestock breeding wastewater with resource recovery by microalgae *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(10): 2315–2321.
- [7] 王愿珠,程鹏飞,刘德富,等. 生物膜贴壁培养小球藻净化猪粪沼液废水的效果[J]. 环境科学, 2017, 38(8): 3354–3361.
- [8] Duong V T, Ahmed F, Thomas-hall S R, et al. High protein and high lipid producing microalgae from northern Australia as potential feed stock for animal feed and biodiesel[J]. Frontiers in Bioengineering Biotechnology, 2015, 53(3): 53–54.
- [9] Soydemir R G, Keri ssen u D, Sen u, et al. Biodiesel production potential of mixed microalgal culture grown in domestic wastewater [J]. Bioprocess Biosystems Engineering, 2016, 39(1): 45–51.
- [10] Singh M, Reynolds D L, Das K C. Microalgal system for treatment of effluent from poultry litter anaerobic digestion [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(23): 10841–10848.
- [11] Logan C, Ronald S. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels and bioproducts [J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(6): 686–702.
- [12] Racharaks R, Ge Xumeng, Li Yebo. Cultivation of marine microalgae using shale gas flowback water and anaerobic digestion effluent as the cultivation medium [J]. Bioresource Technology, 2015, 4(191): 146–156.
- [13] Cao. R. K, Chen H, Zhao Y Z. Resource utilization of biogas slurry: Current status and future prospects [J]. China Biogas, 2015, 33(2): 42–50.
- [14] 罗龙皂,林小爱,杨佳,等. 微藻净化畜禽养殖废水影响因素研究进展[J]. 浙江农业学报, 2020, 32(3): 552–558.
- [15] Wang Y, Ho S H, Cheng C L, et al. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment [J]. Bioresource Technology, 2016, 222(10): 485–486.
- [16] 钱锐,刘辉,徐慧婷,等. 利用藻菌共生体系强化养猪废水厌氧消化液培养微藻[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(7): 1557–1564.
- [17] Hyunuk C, Youngmo K, Yunnam C, et al. Effects of pH control and concentration on microbial oil production from *Chlorella vulgaris* cultivated in the effluent of a low-cost organic waste fermentation system producing volatile fatty acids [J]. Bioresource Technology, 2015, 184(5): 245–250.
- [18] 刘林林,黄旭雄,危立坤,等. 15 株微藻对猪场养殖污水中氮磷的净化及其细胞营养分析[J]. 环境科学学报, 2014, 34(8): 1986–1994.
- [19] Seyedeh F M, Sebastian H, Nicholas W, et al. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review [J]. Science of the Total Environment, 2021, 1(752): 142–168.
- [20] 孙宏,张恒,吴逸飞,等. 处理猪场沼液的微藻筛选及其净化效果评价[J]. 中国畜牧杂志, 2019, 2(55): 112–117.
- [21] 田晨霞,刘明,黄开耀,等. 一株蛋白核小球藻对猪场沼液的净化研究[J]. 湖北农业科学, 2018, 57(18): 39–43.

- [22] 陈正杰, 夏旗, 陈玉成, 等. 螺旋藻对沼液的处理与利用[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(11): 194–196.
- [23] Zhao Y, Guo G, Sun C, et al. Co-pelletization of microalgae and fungi for efficient nutrient purification and biogas upgrading[J]. Bioresource Technology, 2019, 289(10): 1–8.
- [24] Yang L, Tan X, Li D, et al. Nutrients removal and lipids production by *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch wastewater and alcohol wastewater[J]. Bioresour Technol, 2015, 181(4): 54–61.
- [25] Stainie R R Y, Kunisawa R, Mandel M, et al. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales) [J]. Bacteriological Reviews, 1971, 35(2): 171–205.
- [26] Li M, Zhang T T, Hu X J, et al. Effect of Different LED Lighting Conditions on the Growth of *Spirulina* [J]. Journal of lighting engineering, 2018, 29(4): 35–38.
- [27] 许云, 梁文思, 刘志媛. 2株微藻对养殖废水中氮磷去除率的影响[J]. 热带生物学报, 2014, 5(3): 228–232.
- [28] 熊本海, 罗清尧, 郑姗姗. 等. 中国饲料成分及营养价值表[J]. 中国饲料, 2020, 22(31): 73–78.
- [29] 苏怡, 高保燕, 黄罗冬, 等. 不同氮源及氮浓度对真眼点藻纲微藻生长及油脂积累的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3): 677–691.
- [30] 国青青, 刘锐, 罗金飞, 等. 沼液养殖钝顶螺旋藻的中试研究[J]. 环境科学, 2014, 35(9): 3480–3486.
- [31] Siraporn C, Yuwadee P. Cultivation of *Spirulina platensis* using anaerobically swine wastewater treatment effluent [J]. Int J Agric Biol, 2010, 12(4): 586–590.
- [32] Morales amaral M Del M, Gomez serrano C, Aci N F G, et al. Outdoor production of *Scenedesmus* sp in thinlayer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source [J]. Algal Research, 2015, 12(11): 99–108.
- [33] Kube M, Jefferson B, Fan L H, et al. The impact of wastewater characteristics, algal species selection and immobilisation on simultaneous nitrogen and phosphorus removal [J]. Algal Research, 2018, 31(4): 478–488.
- [34] 杨伟. 规模化养殖微藻净化沼液研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2015: 3–8.
- [35] Cai T, Park S Y, Li Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects [J]. Renewable Sustainable Energy Reviews, 2013, 19(1): 360–369.
- [36] Maestrini S Y, Robert J M, Leftley J W, et al. Ammonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae [J]. Journal of Experimental Marine Biology Ecology, 1986, 102(1): 75–98.
- [37] 朱中强, 何雪, 薛梦婷, 等. 小球藻生长及协同净化畜禽养殖废水研究[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2019, 08(50): 1795–1800.
- [38] Kesaano M, Sims R C. Algal biofilm based technology for wastewater treatment [J]. Algal Research, 2014, 5: 231–240.
- [39] Procházková G, Brányiková I, Zachleder V, et al. Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae [J]. Journal of Applied Phycology, 2014, 26(3): 1359–1377.
- [40] Jiang Z, Zhong B L, Ying H L, et al. Cultivation of the microalga, *Chlorella pyrenoidosa*, in biogas wastewater [J]. African Journal of Biotechnology, 2013, 10(61): 13115–13120.
- [41] 甄茜, 蔡婕, 郭行, 等. 微藻在废水脱氮除磷中的应用[J]. 水处理技术, 2017, 43(8): 7–12.
- [42] 张胜花, 常军军, 孙珮石. 水体藻类磷代谢及藻体磷矿化研究进展[J]. 生态环境学报, 2013, 22(7): 1250–1254.
- [43] Shen H, Song L. Comparative studies on physiological responses to phosphorus in two phenotypes of bloom-forming *Microcystis* [J]. Hydrobiologia, 2007, 592, 475–486.
- [44] Lalucat J, Imperial J, Pares R. Utilization of light for the assimilation of organic matter in *Chlorella* sp. VJ79 [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1984, 26(7): 677–681.
- [45] 叶庆, 程军, 赖鑫, 等. 小球藻高效净化猪场废水厌氧发酵沼液研究[J]. 环境科学学报, 2019, 39(6): 1748–1753.
- [46] Tan X, Chu H, Zhang Y, et al. *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch processing wastewater in an airlift circulation photobioreactor [J]. Bioresour Technol, 2014, 170(10): 538–548.