

# 不同废水培养小球藻提取生物柴油的营养优化研究

樊婷婷<sup>1,2</sup>, 李娜<sup>3</sup>, 郭天鹏<sup>1,2</sup>, 龚希博<sup>1,2</sup>

(1. 苏州市清泽环境技术有限公司, 江苏 苏州 215131; 2. 国环清华<苏州>环境技术研究  
中心, 江苏 苏州 215131; 3. 北京国环清华环境工程设计研究院有限公司 华东分院, 江苏  
无锡 214213)

**摘要:** 利用不同废水培养产油小球藻生产生物柴油,不但能降低生物柴油生产成本,缓解能源短缺问题,同时可转移废水中的N、P而净化废水。采用市政污水、餐厨废水、沼液废水作为小球藻的培养环境,比较不同废水中营养因子对小球藻生长与油脂累积的影响。结果显示,三种废水均能较好地促进小球藻生长,当市政污水中 $Mg^{2+}$ 添加量为131.25 mg/L时,小球藻的最大干质量可达到3.46 g/L;当餐厨、沼液废水中 $Ca^{2+}$ 添加量为54 mg/L时,小球藻干质量分别能达到3.67、3.79 g/L,在最佳营养条件下培养结束后对废水中COD、TN、TP、 $NH_4^+-N$ 的最高去除率分别能达到79.89%、81.31%、83.26%、81.09%,且收集总脂含量比基础培养提高了25%~63%。

**关键词:** 小球藻; 生物柴油; 市政污水; 餐厨废水; 沼液废水; 总脂

**中图分类号:** X703 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2017)05-0076-04

## Nutrition Optimization Research on Cultivating *Chlorella vulgaris* as Biodiesel Feedstock by Different Types of Wastewater

FAN Ting-ting<sup>1,2</sup>, LI Na<sup>3</sup>, GUO Tian-peng<sup>1,2</sup>, GONG Xi-bo<sup>1,2</sup>

(1. Suzhou Qingze Environmental Technology Co. Ltd., Suzhou 215131, China; 2. Guohuan Tsinghua <Suzhou> Environmental Technology Research Center, Suzhou 215131, China; 3. Branch of East China, Beijing Guohuan Tsinghua Environmental Engineering Design and Research Institute, Wuxi 214213, China)

**Abstract:** Culturing oil-containing *Chlorella vulgaris* by different types of wastewater for biodiesel production not only can reduce the cost of biodiesel to alleviate the energy shortage, but also can remove nitrogen and phosphorus from the wastewater. The municipal wastewater, restaurant wastewater and biogas wastewater were used as the culture environment of *Chlorella vulgaris*, and the effects of nutritional factors in different types of wastewater on the growth of *Chlorella vulgaris* and lipid accumulation were investigated. The results showed that three types of wastewater all could better promote the growth of *Chlorella vulgaris*. When the concentration of  $Mg^{2+}$  in municipal wastewater was 131.25 mg/L, the maximum dry weight of *Chlorella vulgaris* was 3.46 g/L. When the concentration of  $Ca^{2+}$  in restaurant wastewater and biogas wastewater was 54 mg/L, the dry weight of *Chlorella vulgaris* was 3.67 g/L and 3.79 g/L, respectively. After the incubation period under optimum nutritional conditions, the removal rates of COD, TN, TP and  $NH_4^+-N$  were 79.89%, 81.31%, 83.26% and 81.09%, respectively. The content of to-

tal lipid increased by 25% to 63% compared with that of the basic culture.

**Key words:** *Chlorella vulgaris*; biodiesel; municipal wastewater; restaurant wastewater; biogas wastewater; total lipid

目前有大量的研究人员在研究微藻生产生物柴油技术,但由于培养技术不成熟导致生产成本低、效率低,这是限制微藻产油产业化培养的主要因素,因此降低培养成本、提高产量、开发规模化的微藻培养技术,是微藻制取生物柴油研究迫切需要解决的问题<sup>[1]</sup>。笔者利用小球藻抗污能力强、产油高的特性,对利用不同种类废水培养小球藻生产生物柴油的可行性进行研究,通过选择合适的营养盐对不同废水培养小球藻的营养因子进行优化,并对系统的培养条件进行初步调控优化,达到降低培养成本、提高油脂产量及营养因子利用率的目的,评价小球藻对不同废水的除污效果,考察小球藻生物量和油脂产率,实现废水资源化利用及微藻规模化培养。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 藻种及BG11基础培养基

小球藻(*Chlorella vulgaris*)购自中科院水生所淡水藻种库。BG11基础培养基:NaNO<sub>3</sub>为1 500 mg/L;MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O为75 mg/L;CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O为36 mg/L;柠檬酸为6 mg/L;Na<sub>2</sub>EDTA为1 mg/L;柠檬酸铁铵为6 mg/L;Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>为20 mg/L;K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O为40 mg/L。

微量元素(A5)中ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O为0.222 mg/L、CuSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O为0.079 mg/L、MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O为1.81 mg/L、Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O为39 mg/L、Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O为0.049 mg/L、H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>为2.86 mg/L,用去离子水定容至1 000 mL。

#### 1.1.2 废水来源及特性

市政污水取自某市污水处理厂进水泵房,其COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、硝酸盐分别为502、15.35、2.32、9.86、2.86 mg/L,pH值为6.63;餐厨废水取自某市循环经济产业园固液分离车间,其COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、硝酸盐分别为1 358、426、63.12、213、126 mg/L,pH值为7.31;沼液废水取自某市养殖场猪粪发酵产物,其COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、硝酸盐分别为11 203、627、101、364、102 mg/L,pH值为6.51。BG11培养基的TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、硝酸盐分别为223.43、6.85、0、223.43 mg/L,pH值为7.21。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 小球藻的培养

无菌条件下,挑选平板上生长良好的单一藻株接入BG11液体培养基中,在温度为(25±1)℃、光照强度为2 500 lx条件下持续培养,按20%的藻种接种量转接到200 mL的BG11培养基中,扩增至500 mL,为不同废水培养基提供足够的藻种。取另一锥形瓶装入不同废水,在相同条件下无藻种培养的作为空白对照。

### 1.2.2 不同废水对培养小球藻的影响

取若干支经过灭菌处理的1 L三角瓶,分别装入500 mL市政污水、餐厨废水和沼液废水,加入20%的浓缩藻液,在温度为(25±1)℃、光照强度为2 500 lx条件下持续培养。考察不同废水对小球藻生长的影响,每个试验设2个平行样,结果取均值。

### 1.2.3 不同营养因子对培养小球藻的影响

考察不同废水中添加不同营养盐对小球藻生物量的影响。废水中添加不同营养盐组合对小球藻生物量的影响试验以BG11培养基营养条件为基础,分别取消一种营养盐设置8组组合试验,各组试验均设置两个平行样。

### 1.2.4 不同浓度营养因子对培养小球藻的影响

选择上述对小球藻生长影响较大的营养盐,在不同废水中添加不同浓度营养因子,筛选出适宜小球藻生长的营养因子浓度,同时考察小球藻在不同废水中添加营养盐后的生长情况及小球藻对废水的净化效果,各组试验均设置2个平行样。

### 1.2.5 分析检测方法

藻细胞密度:在全光谱扫描中通过测定OD<sub>680</sub>来定性测定藻细胞生长浊度。

生物量:取7 mL小球藻培养液置于已预先烘干和称重的10 mL离心管中,于10 000 r/min下离心5 min后去除上清液,加入2 mL蒸馏水,在振荡器上重新悬浮,再次离心,去除上清液。以上过程重复三次。将离心管敞口放入烘箱中,在105℃下烘至质量恒定测定干质量。每个样品做2个平行样,结果取平均值。

COD:快速消解比色法;氨氮:纳氏试剂比色法;

总氮:碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法;总磷:过硫酸钾氧化-钼锑抗分光光度法。

油脂含量:取8~10 g干藻样在索氏提取器中用300 mL石油醚提取,试样以3~4滴/s的冷凝率提取3 h,提取油脂后的藻样在80℃下干燥4 h至质量恒定,油脂含量通过质量差确定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同废水对小球藻生长的影响

考察了小球藻在市政污水、餐厨废水、沼液废水和BG11培养基中的生长情况,如图1所示。可以看出,小球藻在BG11培养基中处于稳定生长态势,第11天开始迅速增长,在第17天 $OD_{680}$ 达到3.342,之后长势稳定;小球藻在餐厨废水中培养的前5 d增长迅速,由于藻细胞聚集过多而营养物质供不应求,随后长势稍退,培养第8天又迅猛生长,在第10天细胞密度达到最大后进入稳定期;小球藻在沼液废水中培养的前10 d生长迅速,且在第10天密度值达到最高,随后由于N、P的大量消耗而增殖速率开始下降。从试验可知,小球藻在废水中生长消耗了大量有机污染物,既实现了废水资源化利用又为自身提供了适宜的生长环境。

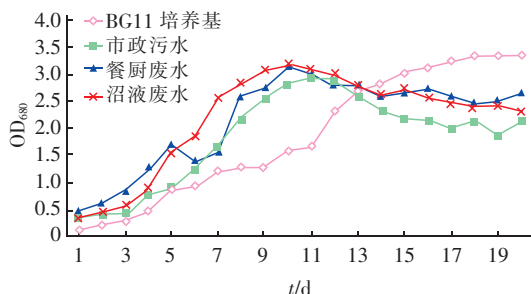


图1 小球藻在不同废水中的生长曲线

Fig.1 Growth curves of *Chlorella vulgaris* in different wastewater

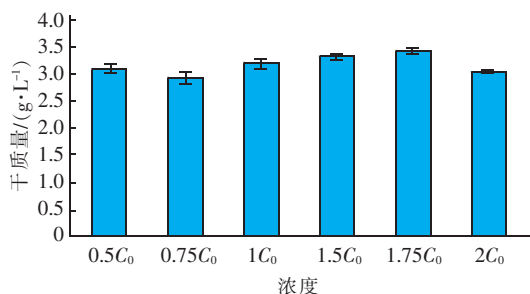
### 2.2 营养因子对小球藻生长的影响

试验分别在缺硝酸盐、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、柠檬酸铁铵、EDTA、无机磷及微量元素的条件下,验证各种废水培养小球藻所缺的营养盐种类,为不同类别废水单独培养小球藻添加营养因子提供数据。试验结果表明:对于市政污水,小球藻在缺 $Mg^{2+}$ 的环境下生长明显缓慢,其次在缺少 $Ca^{2+}$ 的环境下生长稍受影响,其他营养因子与全营养元素组相比差异不大,单从小球藻 $OD_{680}$ 生长变化情况分析,利用市政污水提高小球藻的生长速率, $Mg^{2+}$ 必须补充, $Ca^{2+}$ 适量补充<sup>[2]</sup>。

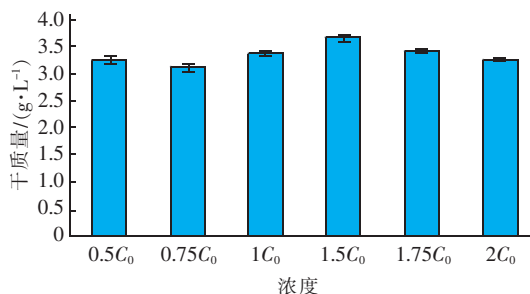
对于餐厨和沼液废水,在分别缺硝酸盐、 $Mg^{2+}$ 、柠檬酸铁铵、EDTA、无机磷及微量元素的条件下,小球藻的生长同全营养元素组的条件相比无明显差异,而从缺 $Ca^{2+}$ 组的生长情况来看,在无额外补充的条件下,相对其他试验组小球藻的生长受到明显限制,可能由于餐厨及沼液废水中的兼性或厌氧细菌在培养过程中微生物代谢产生有机酸,使系统酸化,而 $Ca^{2+}$ 需要中和系统的酸环境,导致提供小球藻生长的 $Ca^{2+}$ 缺失<sup>[3]</sup>,因此利用餐厨、沼液废水培养小球藻并使其稳定生长则必须补充 $Ca^{2+}$ 。

### 2.3 营养因子浓度对小球藻生长的影响

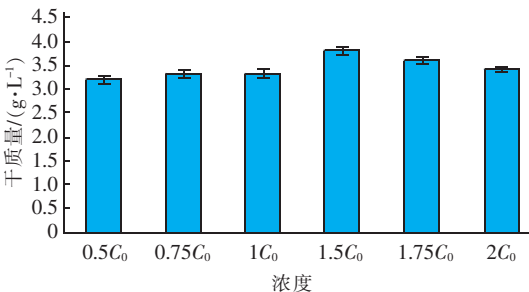
通过上述营养因子在不同废水中影响小球藻生长的对比试验,为确定合适的 $Mg^{2+}$ 及 $Ca^{2+}$ 添加浓度,以BG11培养基中的 $Mg^{2+}$ 和 $Ca^{2+}$ 浓度为基准( $C_0$ ),向三种废水中分别添加0.5、0.75、1、1.5、1.75、2倍 $Mg^{2+}$ 和 $Ca^{2+}$ 的合成废水,考察小球藻在不同 $Mg^{2+}$ 和 $Ca^{2+}$ 浓度下废水中的生长情况,以培养结束小球藻的干质量来确定最佳添加浓度,试验结果见图2。从图2(a)可以看出,利用市政污水培养小球藻,在 $Mg^{2+}$ 添加浓度为1.75倍即添加量为131.25 mg/L时,获得的藻干质量最大,为 $(3.46 \pm 0.25)$  g/L;从图2(b)、(c)可知,利用餐厨废水、沼液废水培养小球藻,在 $Ca^{2+}$ 添加浓度为1.5倍即添加量为54 mg/L时,获得的藻干质量最大,分别为 $(3.67 \pm 0.16)$ 、 $(3.79 \pm 0.12)$  g/L。



a. 市政污水中不同 $Mg^{2+}$ 浓度对小球藻生长的影响



b. 餐厨废水中不同 $Ca^{2+}$ 浓度对小球藻生长的影响



c. 沼液废水中不同 Ca<sup>2+</sup>浓度对小球藻生长的影响

图 2 营养因子浓度对小球藻生长的影响

Fig. 2 Effect of nutrients concentration on growth of *Chlorella vulgaris*

2.4 微藻对不同废水中污染物的去除效果

采用三种废水添加上述最佳浓度营养因子在相同条件下培养小球藻,合理利用废水中的 N、P 等有机物从而净化废水。小球藻培养前、后各废水水质净化效果见表 1。可知:市政污水培养小球藻后,对 COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N 的去除率分别为 76. 85%、76. 90%、75. 33%、81. 09%;餐厨废水培养小球藻后,对 COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N 的去除率分别为 79. 89%、76. 95%、83. 26%、74. 01%;沼液废水培养小球藻后,对 COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N 的去除率分别为 77. 37%、81. 31%、68. 69%、80. 05%。再次表明合理利用废水培养小球藻可明显降低其污染物浓度。

表 1 小球藻对不同废水的净化效果

Tab. 1 Purifying effect of different wastewater

		mg · L <sup>-1</sup>			
项 目		COD	TN	TP	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - N
市政污水	培养前	498.57	15.67	2.27	8.83
	培养后	115.41	3.62	0.56	1.67
餐厨废水	培养前	1 406.34	413.65	59.86	225.73
	培养后	282.76	95.36	10.02	58.67
沼液废水	培养前	9 986.76	617.23	104.36	335.67
	培养后	2 259.57	115.36	32.67	66.95

2.5 小球藻油脂含量分析

利用三种废水和 BG11 基础培养基分别对小球藻进行培养,培养结束后收集小球藻藻种提取油脂。结果表明,利用基础培养基培养小球藻获得的总脂含量为 21. 94%,利用市政污水、餐厨废水、沼液废水培养小球藻获得的总脂含量则分别为 27. 31%、35. 69%、32. 99%。经统计学分析( $p \leq 0.05$ )利用废水培养小球藻获得的总脂含量比利用基础培养基有显著性提高,提高了 24. 5% ~ 62. 7%,说明利用

废水有利于小球藻的生长及油脂的转化,微藻的油脂产率是由其生长速率与胞内油脂含量共同决定的,较快的生长速率与较高的油脂密度是微藻高油脂产率的保证。

3 结论

不同废水与小球藻耦合培养系统,以废水为资源,在处理废水的同时生产生物柴油,不仅可以克服小球藻制备生物柴油的局限性,同时实现了小球藻脱氮除磷的功能。研究结果显示:市政污水、餐厨废水、沼液废水都能较好地促进小球藻生长,同时小球藻对废水中有机污染物(COD、TN、TP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N)有较高的去除率;另外,发现市政污水在缺失 Mg<sup>2+</sup> 环境下培养小球藻,其生物量明显下降,餐厨废水、沼液废水在缺失 Ca<sup>2+</sup> 环境下培养小球藻,生长状况会受到较大影响,因此选择不同废水培养小球藻,需要添加适量营养因子保证小球藻稳定的生长性;从总脂积累看,利用三种废水培养小球藻总脂含量能达到 27. 31% ~ 35. 69%,比基础培养基培养所得总脂含量提高 24. 5% ~ 62. 7%。

参考文献:

[1] 刘小澄,刘永平. 中国微藻生物柴油产业的发展机遇和挑战[J]. 现代化工,2011,31(2):1-5.  
[2] 吕素娟,张维,彭小伟,等. 城市生活废水用于产油微藻培养[J]. 生物工程学报,2011,27(3):445-452.  
[3] 王翠,李环,韦萍. 沼液培养小球藻生产油脂的研究[J]. 环境工程学报,2010,4(8):1753-1758.



作者简介:樊婷婷(1986 - ), 女, 湖北十堰人, 硕士, 工程师, 从事环境工程与水体修复研究。

E-mail: fttcool@126.com

收稿日期:2016-07-12