



混合废水耦合微藻对小球藻生长及净水能力的研究

李 冰, 石 岩, 吴 迪, 李 妍

(天津市农业科学院农业资源与环境研究所, 天津 300022)

[摘要] 利用混合废水耦合微藻培养系统,研究了4种小球藻的生长变化和废水净化能力及影响机制,并对其产生的色素、油脂等高附加值产物进行了测定。结果表明:4种小球藻对单一豆制品原水、奶牛场乳制品原水中的营养物质去除效果不明显;但在混合液耦合微藻系统中,其净化效果显著提高。当豆制品废水、奶牛场乳制品废水体积比为1:1时,小球藻净化废水中TN、TP的能力最强,并有较高的COD净化能力,TN去除率达到80.3%,TP去除率达到92.41%~95.48%,COD最大去除量为6 555.5 mg/L;其中小球藻UTEX1602的水质净化能力最强,其产生的高附加值产物最多:叶绿素a达70.83 mg/L、碳水化合物达271.57 mg/L、多糖达117 mg/L、蛋白质超出其他比例混合废水的6~7.5倍、油脂富集能力也优于其他藻种。该研究可为高附加值产品生产及工业废水净化提供参考。

[关键词] 混合废水;耦合微藻培养;小球藻;水质净化;生物量;高附加值产品

[中图分类号] X703 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2022)03-0114-09

Analysis of *Chlorella* sp. growing and water purification capacity in the mixed wastewater coupled with microalgae

LI Bing, SHI Yan, WU Di, LI Yan

(The Institute of Agriculture Resources and Environmental Sciences, Tianjin Academy
of Agricultural Sciences, Tianjin 300022, China)

Abstract: The purification capability of four types of *Chlorella* to the wastewater as well as their influence mechanisms were investigated by utilizing a mixed wastewater coupling microalgae culture system. The high value-added products such as pigments and lipids produced in the process were examined. The results revealed that the selected four types of *Chlorella* had no obvious effect on nutrient removal in raw water of single soybean products or dairy products. However, in the mixed liquid coupling microalgae cultivate system, the purification effect was improved remarkably. When mixed volume ratio of single soybean products wastewater to dairy products wastewater was 1:1, the *Chlorella* sp. had the strongest ability to remove TN and TP, and simultaneously exhibited good performance in removing COD as well. By this ratio, TN removal efficiency could reach 80.3%, TP removal efficiency was between 92.41%~95.48% and 6 555.5 mg/L of COD was removed. UTEX1602 had the best water purification capability and the high value products produced by it were more outstanding: the production of chlorophyll a reached 70.83 mg/L, the carbohydrate reaching 271.57 mg/L and polysaccharides up to 117 mg/L, the protein 6~7.5 times higher than other ratios and it exhibited the best lipids accumulation ability. This research can obtain additional products with higher utilization value and provide a scientific reference for the industrial wastewater purification.

Key words: mixed wastewater; coupling microalgae culture system; *Chlorella* sp.; water purification; biomass; high value-added products

微藻被公认为是一种可持续的有前途的生物原料,可用于生产多种附加值产品,包括营养保健品、药品、化妆品、生物燃料、动物和水产养殖饲料以及天然染料等^[1]。但是,微藻生物物质的高生产成本是

[基金项目] 天津市农业科学院青年科研人员创新研究与实验项目(201919);国家重点研发计划项目子课题(2017YFD0801404-1)

微藻生物技术广泛应用的障碍。而废水中含有大量的营养元素,如碳源、氮源、磷酸盐以及各种微量的矿物质等,是一种免费、低成本并且可持续的替代培养液,可用于培养各种藻类^[2]。

近年来,多种废水包括市政污水、生活污水、养猪场废水、工业废水以及厌氧消化废水等已被应用于各种藻类的培养^[3]。但由于工业废水中含有重金属或有毒有机化合物,用其培养获得的藻类生物质的附加产品价值较低,积累的藻类生物量只能用于生产生物燃料和其他低附加值的微藻产品,极大地限制了藻类的应用范围^[4-5]。与上述废水相比,食品加工废水更加适合微藻培养,因为其中抑制微藻生长的有毒化合物和有害物质含量较少^[6],用其培养微藻得到的生物质的品质相对较好,可以进一步用于高附加价值产品的生产。奶牛场乳制品废水的处理是我国面临的环境问题之一。据统计,每加工1 L牛奶约产生0.2~10 L的废水^[7]。尽管可以用物理、化学技术对其进行处理,但成本较高。而利用生物法去除废水中的营养物质效果较好,成本也会大大降低^[8-9]。近年来,藻类培养系统已被用于处理豆制品废水,但因豆制品废水中含有过量的有机质,无法直接被微藻利用,通常需要对废水进行稀释处理^[10],这无疑会浪费水资源。

目前,关于混合废水培养微藻的相关研究较少。因此,本研究基于不同废水中有机物浓度、营养盐浓度、pH等特性差异,选择豆制品废水与奶牛场乳制品废水2种典型废水进行不同比例混合,用其培养小球藻,这样既能平衡单一废水不利于微藻生长的缺陷,又能进行废水净化处理,提高营养物质的去除效果和微藻培养过程中的生物量生产,从而扩大微藻的应用范围,实现水资源的节约。本研究以混合废水耦合微藻培养系统为基础,探究了微藻在单一废水培养模式下和混合废水培养模式下净化废水的能力及影响机制,研究了其产生的色素、油脂等高附加值产品的产量,以期探索经济可行的微藻净化路径,并从中得到具有更高应用价值的微藻生物质提供参考。

1 材料和方法

1.1 微藻和废水样品

实验用4种小球藻: *Chlorellasorokiniana* UTEX 1602,德州大学奥斯汀分校的藻种中心;普通小球藻

(*Chlorella* sp. LAMB 166 和 LAMB 38),中国海洋大学(中国青岛)应用微藻生物实验室; *Chlorella vulgaris* FACHB1227,中国水生生物研究所。将储存的小球藻株系细胞在液体BG-11培养液中激活,并在25℃、6 000 Lux白色荧光灯照明下培养15 d。

实验用废水:豆制品废水(废水原水)取自天津某豆制品加工厂,乳制品废水(废水原水)取自天津某乳制品加工厂。豆制品废水与乳制品废水的水质情况及本研究中混合废水的水质情况如表1所示。将豆制品废水与乳制品废水以体积比1:1、1:5和1:9进行混合,高压灭菌后,用1 mol/L HCl或1 mol/L NaOH调节pH至7,构成不同比例的混合废水。

表1 2种废水原水及混合废水水质
Table 1 The quality of two kinds of raw water and mixed wastewater

水质指标	豆制品废水	乳制品废水	1:1混合废水	1:5混合废水	1:9混合废水
pH	4.18	10.89	7	7	7
TN/(mg·L ⁻¹)	752.4	37.7	374.61	187.57	101.58
TP/(mg·L ⁻¹)	85.5	3.11	40.71	16.74	8.71
COD/(mg·L ⁻¹)	19 850	773.5	10 344	3 895	2 471.5
NH ₄ ⁺ -N/(mg·L ⁻¹)	220.34	未测出	126.1	93.92	55.64

1.2 方法

分别取体积为200 mL单一的废水(100%豆制品废水和100%乳制品废水)或不同混合比例(1:1、1:5和1:9)的混合废水置于250 mL锥形瓶中进行培养,当各培养液初始光吸收值(OD₆₈₀,680 nm波长处的光密度)为0.2,即接种加入的4种小球藻UTEX1602、L166、L38和FACHB1227的生物质干重分别为0.04、0.06、0.02、0.05 g/L时,将其置于温度(30±1)℃、光照强度6 500 Lux、光照时间为24 h的环境下培养,并每天对锥形瓶手动摇匀3次。各处理均重复3次。

单一废水小球藻培养共计5 d,期间每天取样测定微藻生长情况及水质变化;混合废水小球藻培养共计10 d,期间每隔2 d(第0、2、4、6、8、10天)取样1次,测定微藻生长情况及水质变化,并在培养结束时测定色素、油脂、碳水化合物、多糖和蛋白质含量。

1.3 微藻生长测定

取一定量的藻液测定OD₆₈₀之前,对藻液离心(5 000 r/min,10 min)3次,以排除废水培养液中色度的影响。4种微藻的生物质标准曲线如下:

$$\text{UTEX1602: } C_A = (228.89\text{OD}_{680} - 7.419) / 1\,000, R^2 = 0.993$$

$$\text{L166: } C_A = (274.80\text{OD}_{680} + 1.190) / 1\,000, R^2 = 0.996$$

$$\text{L38: } C_A = (168.83\text{OD}_{680} - 17.268) / 1\,000, R^2 = 0.999$$

$$\text{FACHB1227: } C_A = (175.40\text{OD}_{680} + 14.715) / 1\,000, R^2 = 0.996$$

1.4 废水水质及高附加值产物测定

废水 pH 采用 pH 计测定,总氮(TN)采用过硫酸盐氧化法测定,总磷(TP)采用消解-钼锑抗法测定, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 采用纳氏试剂法测定, COD 采用重铬酸钾法测定。

色素中叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量根据文献[11]报道的方法测定。微藻中的多糖和碳水化合物采用改良的苯酚-硫酸法^[12]测定;脂质浓度采用尼罗红染色法^[13]测定。培养周期结束后的微藻经充分烘干和研磨后,用元素分析仪进行分析,将测定得到的氮含量乘以 6.25,估算出藻粉中蛋白质的含量^[14]。

1.5 数据分析

使用单向方差分析(ANOVA)进行统计分析。结果表示为基于平行实验的平均值 \pm 平均值的标准误差,并认为是在 95% 置信区间内。

2 结果与讨论

2.1 豆制品原水及奶牛奶乳制品原水对小球藻生长和水质净化的影响

由于 2 种废水中小球藻产生的生物质很低,因此以 OD_{680} 来表征小球藻在其中的生长情况,结果如图 1 和图 2 所示。

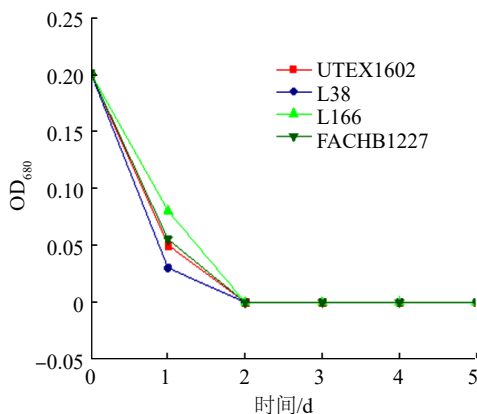


图 1 豆制品原水中小球藻的生长情况

Fig. 1 The growth of *Chlorella* in raw water of soybean products

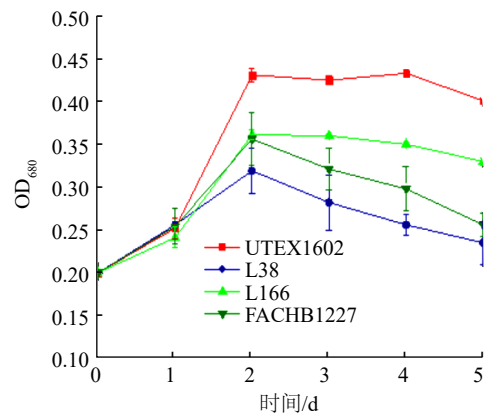


图 2 奶牛奶乳制品原水中小球藻生长情况

Fig. 2 The growth of *Chlorella* in raw water of dairy farm

由图 1 可知,随着培养时间的延长,小球藻在豆制品废水中的生长速度呈迅速下降趋势,培养 2 d 后,4 个株系的小球藻已全部死亡,表明小球藻在豆制品废水中无法生长,豆制品废水不是小球藻的优良培养基。

由图 2 可以看出,在奶牛奶乳制品废水中,小球藻的生长速度在 0~2 d 内呈上升趋势,其中 UTEX1602 的生长情况较佳,在第 2 天 OD_{680} 值达到 0.46。在培养的 2~5 d,UTEX1602 和 L166 2 个株系生长速度趋于平缓,而 L38 和 FACHB1227 株系生长速度持续下降,这可能是因为乳制品废水中有机负荷及营养元素浓度较低,提供给小球藻生长的营养源不足所致。

实验结果表明,4 种小球藻在豆制品废水中经过 5 d 的培养后,其水中的 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP 和 COD 浓度无明显变化。这是由于小球藻在豆制品废水中生长受限,无法利用溶液中的营养盐和有机碳所致,表明 4 种小球藻对豆制品废水的水质没有明显的净化作用。

以奶牛奶乳制品废水培养小球藻,在 0~2 d 内,废水中的 TN、TP 和 COD 均呈现下降的趋势,2 d 后下降速度减缓。4 种小球藻对乳制品废水中的 TN、TP 和 COD 的最佳去除率分别为 37.15%、61.09% 和 16.16%,小球藻对乳制品废水净化效果较差。

2.2 不同比例混合废水对小球藻生长和水质净化的影响

2.2.1 不同比例混合废水对小球藻生物量的影响

不同比例混合废水对小球藻生物量的影响如图 3 所示。

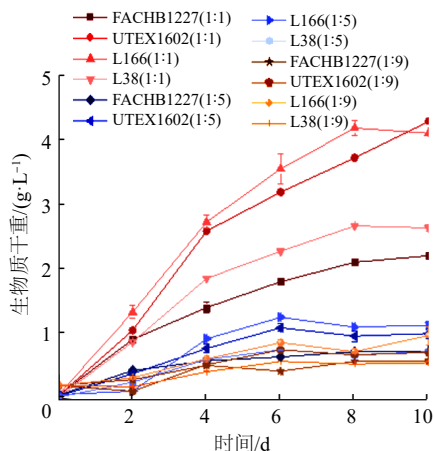


图3 不同混合比例下小球藻生长情况

Fig. 3 The growth of *Chlorella* in different mixing ratio wastewater

由图3可知,豆制品废水与乳制品废水混合比为1:5和1:9时,在培养的0~2 d内,小球藻有明显的生长停滞现象。乳制品废水比例增加,使混合废水系统呈碱性(pH分别为9.60和10.25),从而一定程度地影响了小球藻的生长。当豆制品废水与乳制品废水混合比为1:1(即增加豆制品废水比例)时,培养到第10天,小球藻 UTEX1602、L166、L38 和 FACHB1227 的生物质干重均达到最高,分别为4.27、4.09、2.63、2.2 g/L,表明2种废水1:1的混合培养最适宜小球藻的生长。

本实验中,增加混合废水体系中豆制品废水的比例(1:1),可促进4种小球藻的生长。这与豆制品废水中富含多种有机或无机成分,如单糖、低聚糖、维生素、有机酸、磷酸盐、硫酸盐、金属离子等营养物质^[15]有关。这些物质为藻类的生长提供了充足的营养,特别是作为小球藻碳源的单糖和寡糖,可以被其有效利用^[16]。在这种情况下,在含有豆制品废水的培养液中,小球藻的营养方式实际上为兼养模式,即具有自养和异养的代谢方式。兼养培养模式下微藻的生长速率约为自养生长和异养生长2种生长速率的总和,是藻类生物量增长最快的培养模式^[17]。本实验混合废水培养体系中,增加豆制品废水的比例,可以增加混合系统的有机碳源,相对延长了小球藻进行兼养培养的时间,从而促进了4种小球藻的生长。

2.2.2 不同比例混合废水中氮的去除效果

氮是小球藻生命代谢必需的元素,小球藻可以利用氨氮、硝氮或含氮化合物来促进自身细胞中蛋白质

和氨基酸的形成。4株小球藻对不同比例混合废水中TN和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效果如图4和图5所示。

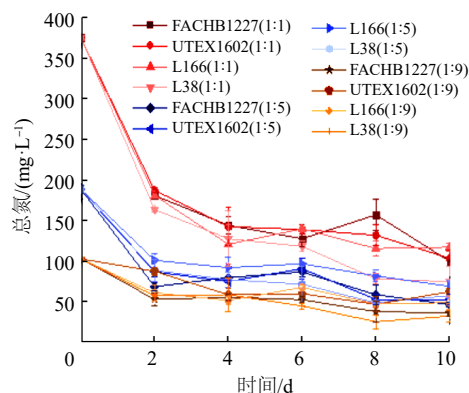


图4 混合废水中4种小球藻对总氮的去除效果

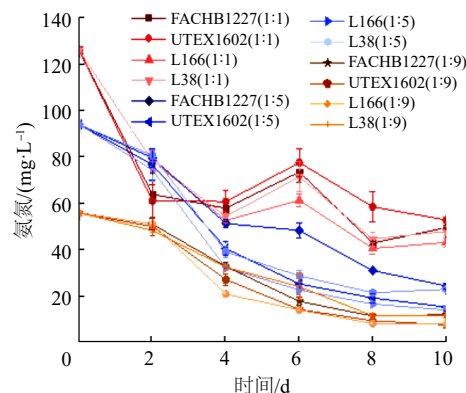
Fig. 4 Purification effect of four species of *Chlorella* on TN in mixing wastewater

图5 混合废水中4种小球藻对氨氮的去除效果

Fig. 5 Purification effect of four species of *Chlorella* on $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in mixing wastewater

由图4可知,4种小球藻均可使混合废水中的TN浓度降低。其中,在混合比1:1的废水中,在培养10 d内,小球藻的生长情况优良,无滞后情况,TN浓度持续下降,4种小球藻对TN的去除率为69.03%~80.3%;小球藻 UTEX1602、L166、L38 和 FACHB1227 对溶液中的TN分别去除231.56、218.46、261.07、235.85 mg/L。混合比为1:5时,4种小球藻对TN的去除率在63.95%~76%;混合比为1:9时,4种小球藻对TN的去除率在53.3%~69.73%。比较图3和图4可以看到,TN浓度的下降速率与小球藻增长的速率呈正比。

在不同的混合系统中,由于豆制品废水的含量不同,导致不同的混合比下有着不同的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 初始

浓度。由图5可以看出,当混合比为1:1时,4种小球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率为58.27%~65.97%;混合比为1:5时,4种小球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率为74.38%~85.5%;混合比为1:9时,4种小球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率最高,达到79.17%~86.99%,可能与溶液中的pH有关。废水中的氮源形式多样, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是最容易被藻细胞利用的氮源, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除主要通过微藻的直接吸收同化或溶液pH上升导致的氨挥发^[18]所致。

2.2.3 不同比例混合废水中磷的去除效果

磷元素是微藻维持正常生命活动和新陈代谢必不可少的一种元素,在核酸、蛋白质合成以及能量传递过程中具有重要作用^[19]。4种小球藻对不同比例混合废水中TP的去除效果如图6所示。

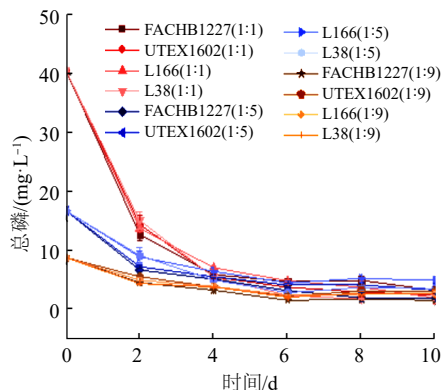


图6 混合废水中4种小球藻对总磷的去除效果

Fig. 6 Purification effect of four species of *Chlorella* on TP in mixing wastewater

由图6可知,随着培养时间的延长,不同比例混合废水中TP浓度均呈下降趋势。当混合比为1:1时,小球藻对TP的去除效果最佳,去除率为92.41%~95.48%,其中UTEX1602的净化效果最佳。当混合比为1:5和1:9时,TP去除率分别为74.38%~85.5%、65.67%~83.58%。不同混合比例的废水中,混合比为1:1的TP去除率最高,这可能与1:5和1:9的废水系统中,豆制品废水被稀释,水体中TP的浓度(分别为16.74、8.71 mg/L)相对较低有关。总之,4种小球藻对3种不同比例混合废水中TP的去除效果均较好。

2.2.4 不同比例混合废水中COD的去除效果

4种小球藻对不同比例混合废水中COD的去除效果如图7所示。

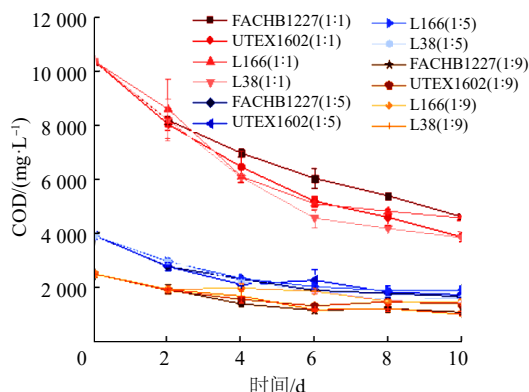


图7 混合废水中4种小球藻对COD的去除效果

Fig. 7 Purification effect of four species of *Chlorella* on COD in mixing wastewater

由图7可以看到,随着培养时间的延长,混合液中的COD持续下降。其中,混合比为1:1时,初始COD为10 344 mg/L,培养结束(培养10 d)时,剩余COD为3 821.5~4 595 mg/L,去除率达到55.58%~63.06%;4种小球藻中UTEX1602和L38对COD的去除效果最好,分别净化了6 555.5、6 522.5 mg/L的COD。混合比为1:5时,初始COD为3 895 mg/L,培养结束(培养10 d)时,剩余COD为1 555.8~1 637 mg/L。混合比为1:9时,初始COD为2 471.5 mg/L,培养结束(培养10 d)时,剩余COD为985.6~1 444.2 mg/L。

在3种废水混合比例下,各种小球藻的COD去除率均在60%左右,但由于初始浓度不同,小球藻在混合比为1:1条件下的COD去除量为6 555.5 mg/L,净化效果最好。4种小球藻中,UTEX1602去除COD的能力最强。1:1混合液中小球藻去除COD效果好,与该混合比例中豆制品废水含量增加,小球藻可利用的有机碳多,小球藻生长好有关。小球藻生长越好、生物量越大、代谢越旺盛,COD降解的就越多。

2.3 不同混合比例废水中小球藻高附加值产物含量变化

2.3.1 色素产量

小球藻中最丰富的色素是叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素,它们具有多种治疗特性,比如抗氧化活性、调节血液中的胆固醇、增强免疫系统^[20]。

图8为培养结束后不同废水混合比例下4种小球藻所产生的叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素的含量。

由图8可以看出,当混合比为1:1时,叶绿素a产量最高,其在UTEX1602、L166、L38和FACHB1227培

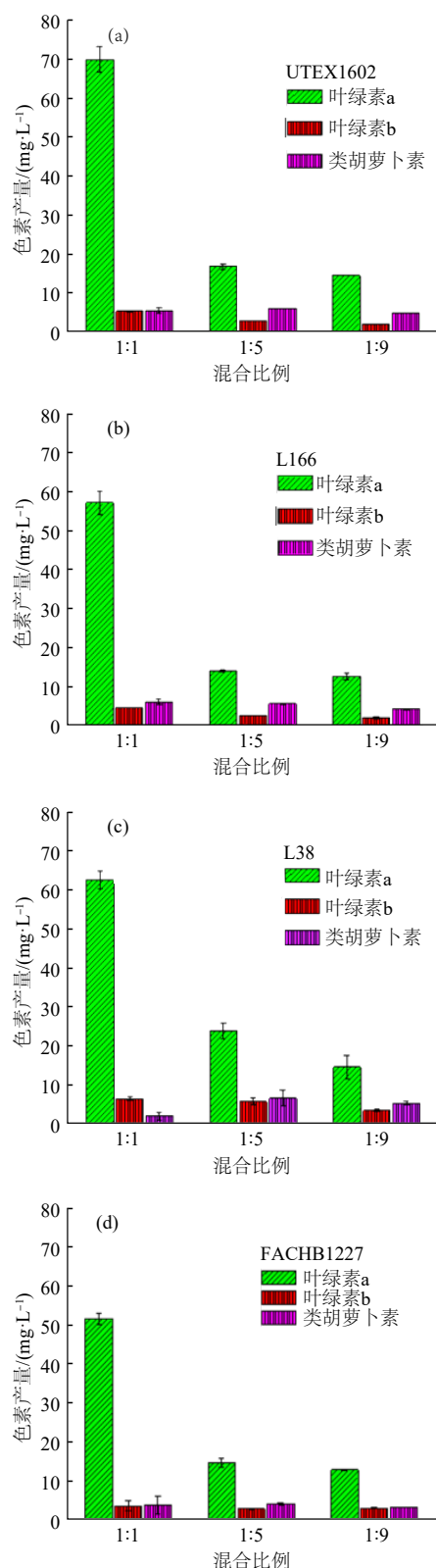


图8 混合废水中4种小球藻的色素产量

Fig. 8 Pigment production of four species of *Chlorella* in mixing wastewater

养液中的产量分别为70.83、57.01、62.28、51.51 mg/L, 远大于1:5混合培养液(14.00~23.73 mg/L)和1:9混合培养液(12.57~14.49 mg/L)中的产量。Shikai WANG等^[21]也因此将水环境中叶绿素a浓度作为反映小球藻生长情况的指标。叶绿素b也是光合作用的天然色素之一,在水体中吸收并传递光能。叶绿素a、b的比值可以用来衡量藻类的生长状况,比值高的藻类生长好^[22],这与本实验高混合比(1:1)中,4种小球藻生长情况最佳相一致。

在3种混合比废水中,4种小球藻培养液的类胡萝卜素含量均较低。M. B. KURADE等^[23]认为,类胡萝卜素浓度是水环境污染物的敏感生物标志物。类胡萝卜素含量高,水体中的敏感生物种类或数量就多,污染物就多。本实验中,小球藻使有机物等污染物迅速降解,这可能是导致水体类胡萝卜素浓度较低的原因所在。此外,养分(氮和磷)和环境(盐度和胁迫)因素的变化是导致水体类胡萝卜素浓度较低的另一个原因^[24]。

2.3.2 油脂和碳水化合物产量

由于化石资源的枯竭,持续地开采石油储备以生产传统化石燃料并非长久之计,因此寻找新的能源以减少社会对现有化石燃料的依赖显得尤为重要^[25]。微藻生物质作为一种有前景的可再生生物燃料原料,以其衍生为生物柴油的能力受到广泛关注^[26]。图9为培养结束后,4种小球藻在不同比例混合废水中的油脂产量。

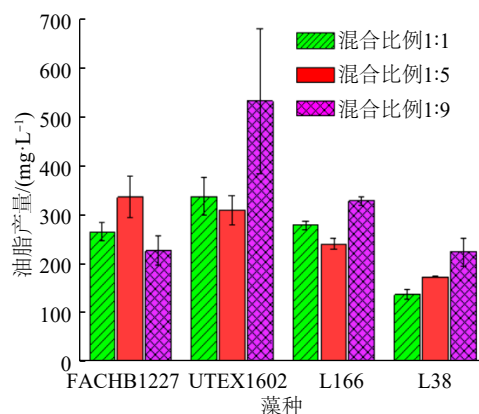


图9 混合废水中4种小球藻的油脂产量

Fig. 9 Lipid production of four species of *Chlorella* in mixing wastewater

由图9可知,4种小球藻中,UTEX1602富集脂质

的能力更强,UTEX1602在3种混合比例1:1、1:5、1:9下的油脂产量分别为337.45、309.94、534.15 mg/L。在1:1混合废水中,小球藻UTEX1602、L166和L38的油脂产量均低于1:9混合废水中相应小球藻的油脂产量。小球藻在废水中的油脂产量与废水中的氮和磷含量有关。研究表明,氮或磷缺乏等环境胁迫会导致藻细胞中脂质累积^[27-28]。即培养液中的低氮、低磷会限制藻细胞中氨基酸和蛋白质的合成,致使光合作用中的碳从蛋白质合成路径转向脂质等合成途径^[29]。因此,这就说明了为什么低氮、低磷的1:9的混合液中生长的小球藻会产生更多的油脂。

此外,虽然藻细胞中生物质的累积也能提高油脂产量,如1:1混合废水中小球藻生物质累积量最高,但由于其氮源浓度高,致使藻细胞合成更多的氨基酸和蛋白质,而用于合成脂肪的碳源减少,继而藻细胞中油脂含量较低(低于1:9的混合液)。

碳水化合物是微藻生物质中含量丰富的生化成分,也可以用于能源生产,例如产生乙醇或沼气等^[30]。图10为培养结束后,4种小球藻在不同比例混合废水中的碳水化合物产量。

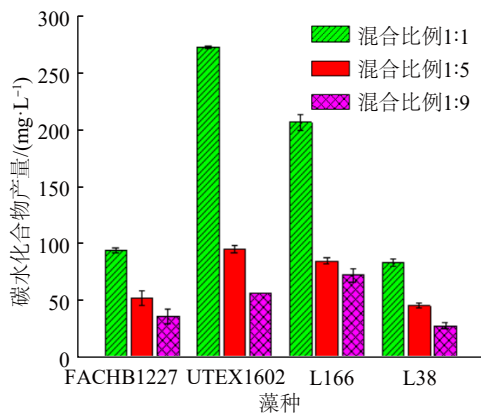


图10 混合废水中4种小球藻的碳水化合物产量

Fig. 10 Carbohydrate production of four species of *Chlorella* in mixing wastewater

由图10可知,4种小球藻UTEX1602、L166、FACHB1227和L38在1:1混合废水中的碳水化合物产量分别为271.57、205.32、93.06、82.06 mg/L,在1:5混合废水中的碳水化合物产量分别为94.30、83.51、50.74、44.35 mg/L,在1:9混合废水中的碳水化合物产量分别为55.59、71.1、35.03、26.73 mg/L。1:1混合废水中的小球藻碳水化合物产量明显高于1:5和

1:9混合废水中的小球藻碳水化合物产量,其中产量最高的藻株是小球藻UTEX1602,可能与其较高的生物质产量有关。

2.3.3 蛋白质产量

氮源是直接影响微藻生长的重要因素之一。氮被藻细胞用以合成氨基酸和蛋白质,促进微藻的生长^[29]。图11为培养结束后,4种小球藻在不同比例混合废水中的蛋白质产量。

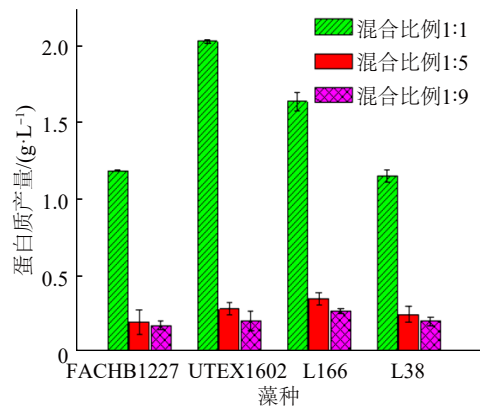


图11 混合废水中4种小球藻的蛋白质产量

Fig. 11 Protein production of four species of *Chlorella* in mixing wastewater

在混合废水培养系统中,随着豆制品废水比例的加大,溶液中的TN浓度也增大。由图11可知,4种小球藻的蛋白质产量与TN含量(见图4)呈正比,混合液中总氮浓度高的,蛋白质产量也高。1:1混合废水中小球藻的蛋白质产量远远高于1:5和1:9混合废水中小球藻的蛋白质产量。1:1混合废水中小球藻FACHB1227、UTEX1602、L166和L38的蛋白质产量分别为1.18、2.03、1.64、1.15 g/L,其中UTEX1602蛋白质产量最高(2.03 g/L)是1:5混合废水中最高蛋白质产量(0.34 g/L)的6倍,是1:9混合废水中最高蛋白质产量(0.27 g/L)的7.5倍。

蛋白质的合成对于微藻生长至关重要,而营养不足会抑制蛋白质的合成和微藻生长。本研究中,混合废水培养液的混合比为1:5和1:9时的初始氮含量不足以满足小球藻合成大量的蛋白质,导致培养结束时小球藻细胞中蛋白质含量的减少,以及最终蛋白质产量较少。1:1混合废水中生长的小球藻的生物质中具有丰富的蛋白质含量,蛋白质产量远远高于混合比例1:5和1:9。因此,可以考虑作为动

物饲料等。

2.3.4 多糖产量

多糖是一种较为重要的生物活性物质,用于藻类的生长和繁殖,具有特殊的生理作用。多糖在生物制药、功能食品和环保等方面均有广泛的应用^[31]。微藻被认为是多糖的潜在来源之一。图12为培养结束后,4种小球藻在不同比例混合废水中的多糖产量。

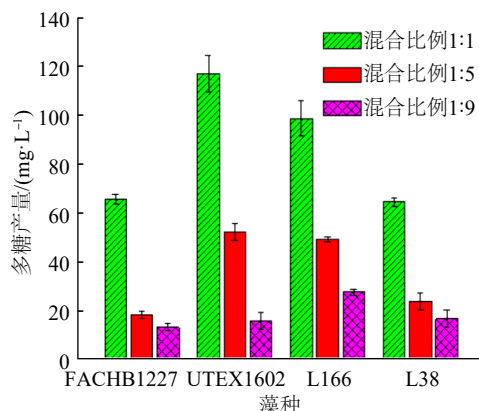


图12 混合废水中4种小球藻的多糖产量

Fig. 12 Polysaccharides production of four species of *Chlorella* in mixing wastewater

由图12可知,4种小球藻UTEX1602、L166、FACHB1227和L38在1:1混合废水中的多糖产量分别为117、98.57、65.34、64.17 mg/L;在1:5混合废水中的多糖产量分别为51.80、48.93、17.81、23.47 mg/L;在1:9混合废水中的多糖产量分别为15.27、27.16、12.76、16.23 mg/L。1:1混合废水中小球藻的多糖产量明显高于1:5和1:9混合废水中小球藻的多糖产量,这可能与1:1混合废水中小球藻累积的生物质量最高有关。

3 结论

(1)单一的豆制品废水和乳制品废水无法作为小球藻生长的优良培养液,且水质净化效果不明显。

(2)在混合废水耦合微藻培养系统中,增加豆制品废水的比例能促进小球藻生长。与豆制品废水和乳制品废水混合比为1:5和1:9相比,1:1混合废水中的小球藻累积的生物物质干重最高,而4种小球藻中,UTEX1602的生物物质干重又最高;1:1混合废水中的小球藻去除TN、TP的效果均最好,COD净化能力最强,而4种小球藻中,UTEX1602对TN、TP、COD

净化的能力最强。

(3)与其他混合比废水相比,1:1混合废水中的小球藻产生的叶绿素a含量最高,其中UTEX1602产生的叶绿素a达70.83 mg/L。叶绿素是获取光和保护微藻细胞免受辐射的必要色素。

(4)4种小球藻中,UTEX1602富集脂质的能力最强,其在1:1、1:5、1:9 3种混合废水中的油脂产量分别为337.45、309.94、534.15 mg/L。1:1混合废水中的小球藻碳水化合物产量明显高于1:5和1:9混合废水中的小球藻碳水化合物产量,其中产量最高的藻株是UTEX1602(271.57 mg/L)。藻细胞中生物质的累积能提高油脂产量;而碳水化合物是微藻生物物质中含量丰富的生化成分。可以将油脂和碳水化合物作为藻类生物物质中重要的能源生产附加产品,加以开发利用。

(5)1:1混合废水中的UTEX1602的蛋白质产量最高,是其他混合比废水的6~7.5倍,具有丰富的蛋白质含量,可以开发用于动物饲料生产。

(6)与其他混合比废水相比,1:1混合废水中小球藻的多糖产量最高,其可用于藻类的生长和繁殖。

参考文献

- [1] GULDHE A, KUMARI S, RAMANNA L, et al. Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation [J]. *Journal of Environmental Management*, 2017, 203(1): 299-315.
- [2] DING Jinfeng, ZHAO Fengmin, CAO Youfu, et al. Cultivation of microalgae in dairy farm wastewater without sterilization [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2015, 17(3): 222-227.
- [3] MIN Min, WANG Liang, LI Yecong, et al. Cultivating *Chlorella* sp. in a pilot-scale photobioreactor using centrate wastewater for microalgal biomass production and wastewater nutrient removal [J]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2011, 165(1): 123-137.
- [4] MATAMOROS V, GUTIÉRREZ R, FERRER I, et al. Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: A pilot-scale study [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 288: 34-42.
- [5] PODEVIN M, FOTIDIS I A, FRANCISCI D D, et al. Detailing the start-up and microalgal growth performance of a full-scale photobioreactor operated with bioindustrial wastewater [J]. *Algal Research*, 2017, 25: 101-108.
- [6] TAN Xiaobo, CHU Huaqiang, ZHANG Yalei, et al. *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch processing wastewater in an airlift circulation photobioreactor [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 170(5): 538-548.
- [7] VOURCH M, BALANNEC B, CHAUFER B, et al. Treatment of

- dairy industry wastewater by reverse osmosis for water reuse[J]. Desalination, 2008, 219(1): 190-202.
- [8] BASKARAN K, PALMOWSKI M, WATSON B M, et al. Wastewater reuse and treatment options for the dairy industry[J]. Water Science and Technology: Water Supply, 2003, 3(3): 85-91.
- [9] ASLAN S, KAPDAN I K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae[J]. Ecological Engineering, 2006, 28(1): 64-70.
- [10] MCGRIFF E C, MCKINNEY R E. The removal of nutrients and organics by activated algae[J]. Water Research, 1972, 6(10): 1155-1164.
- [11] XIONG Jiuqiang, KURADE M B, KIM J R, et al. Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga *Chlamydomonas Mexicana* [J]. Journal of Hazardous Material, 2017, 323: 212-219.
- [12] RAO P, PATTABIRAMAN T N. Reevaluation of the phenol-sulfuric acid reaction for the estimation of hexoses and pentoses[J]. Analytical Biochemistry, 1989, 181(1): 18-22.
- [13] ZHAO Liu. Isolation and optimization involved an oleaginous microalgae[D]. Tianjin: Tianjin University, 2014.
- [14] PARK W K, MOON M, KWAK M S, et al. Use of orange peel extract for mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris*: Increased production of biomass and FAMES[J]. Bioresource Technology, 2014, 171: 343-349.
- [15] TIAN Yu, KUMABE K, MATSUMOTO K, et al. Hydrolysis behavior of tofu waste in hot compressed water[J]. Biomass & Bioenergy, 2012, 39: 112-119.
- [16] ZHANG Weiguo, ZHANG Peiliang, SUN Hao, et al. Effects of various organic carbon sources on the growth and biochemical composition of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Bioresource Technology, 2014, 173: 52-58.
- [17] KANG Ruijuan, WANG Jing, SHI Dingji, et al. Interactions between organic and inorganic carbon sources during mixotrophic cultivation of *Synechococcus* sp. [J]. Biotechnology Letters, 2004, 26(18): 1429-1432.
- [18] 程海翔. 一株栅藻的分离培养及其应用于养猪废水处理的潜力研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- CHENG Haixiang. Isolation and culture of a *Scenedesmus* strain and its potential application in pig wastewater treatment [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [19] 李晓伟. 斜生栅藻类膜脱氮除磷影响因素及其机理研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016.
- LI Xiaowei. Study on influencing factors and mechanism of nitrogen and phosphorus removal by algal membrane of *Scenedesmus obliquus* [D]. Nanning: Guangxi University, 2016.
- [20] SAFI C, ZEBIB B, MERAH O, et al. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014, 35: 265-278.
- [21] WANG Shikai, WANG Xu, MIAO Jing, et al. Tofu whey wastewater is a promising basal medium for microalgae culture[J]. Bioresource Technology, 2018, 253: 79-84.
- [22] 钱鹏, 蒋霞敏, 张茵. 原绿球藻营养成分与叶绿素a、b含量研究[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2008(1): 43-48.
- QIAN Peng, JIANG Xiamin, ZHANG Yin. Study on nutrient composition and chlorophyll a and b content of *Prochlorococcus* [J]. Journal of Ningbo University: Science and Technology Edition, 2008(1): 43-48.
- [23] KURADE M B, KIM J R, GOVINDWAR S P, et al. Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: Microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism [J]. Algal Research, 2016, 20: 126-134.
- [24] PALIWAL C, PANCHI I, GHOSH T, et al. Selective carotenoid accumulation by varying nutrient media and salinity in *Synechocystis* sp. CCNM 2501 [J]. Bioresource Technology, 2015, 197: 363-368.
- [25] MCGLADE C, EKINS P. The geographical distribution of fossil fuels unused when limiting global warming to 2 °C [J]. Nature, 2015, 517(7533): 187-190.
- [26] NAYAK M, KAREMORE A, SEN R. Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ bio-fixation and lipid biosynthesis for biodiesel application [J]. Algal Research, 2016, 16: 216-223.
- [27] ZHU Liandong, HILTUNEN E, SHU Qing, et al. Biodiesel production from algae cultivated in winter with artificial wastewater through pH regulation by acetic acid [J]. Applied Energy, 2014, 128: 103-110.
- [28] FENG Yujie, LI Chao, ZHANG Dawei. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(1): 101-105.
- [29] GONCALVES E C, WILKIE A C, KIRST M, et al. Metabolic regulation of triacylglycerol accumulation in the green algae: Identification of potential targets for engineering to improve oil yield [J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(8): 1649-1660.
- [30] 潘庆民, 韩兴国, 白永飞, 等. 植物非结构性贮藏碳水化合物生理生态学研究进展[J]. 植物学报, 2002, 19(1): 30-38.
- PAN Qingmin, HAN Xingguo, BAI Yongfei, et al. Advances in physiological ecology of non-structural storage carbohydrates in plants [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2002, 19(1): 30-38.
- [31] 张欣华, 杨海波, 于媛, 等. 不同培养条件对海洋微藻多糖含量的影响[J]. 生物学杂志, 2000, 17(6): 17-18.
- ZHANG Xinhua, YANG Haibo, YU Yuan, et al. Effects of different culture conditions on polysaccharide content of marine microalgae [J]. Journal of Biology, 2000, 17(6): 17-18.
- [作者简介] 李冰(1988—), 硕士, 助理研究员。电话: 18222459610, E-mail: liandongzhishui001@163.com。通讯作者: 石岩, 博士, 研究员。电话: 13920090062, E-mail: 13920090062@163.com。
- [收稿日期] 2021-12-06(修改稿)