

猪粪中温和高温厌氧发酵沼液对微藻培养的影响

王丽丽¹ 司爱龙¹ 李 泽¹ WANG Zhiwu² 隋 超¹ 王忠江¹

(1. 东北农业大学工程学院, 哈尔滨 150030; 2. 弗吉尼亚理工学院暨州立大学土木环境工程系, 黑堡 VA 24061)

摘要: 选用 *Chlorella pyrenoidosa* FACHB-5 和 *Chlorella vulgaris* FACHB-8 为试验藻种, 利用人工气候培养箱, 在培养温度为 (26 ± 1) °C、光照强度为 4 000 lx、通入空气流量为 1.5 L/min、24 h 连续光照、沼液添加量为 20% 的条件下, 采用中温 35 °C 和高温 55 °C 猪粪厌氧发酵后沼液为原料, 研究两种沼液灭菌和不灭菌处理后与 BG11 培养基混合作为微藻培养液对后续微藻培养过程的影响。研究结果表明, 高温 55 °C 厌氧发酵后的沼液用于微藻培养的整体表现优于中温 35 °C 厌氧发酵后沼液, 微藻的生长速率更高。在本研究的条件下, 沼液灭菌组与未灭菌组相比, 在前期的适应期方面未表现出明显的优势, 但在中后期的微藻生长速率方面略优于未灭菌组。本研究所选定的两种藻种均能较好地适应添加沼液的培养环境, 并且 *Chlorella pyrenoidosa* FACHB-5 的整体表现优于 *Chlorella vulgaris* FACHB-8。

关键词: 猪粪沼液; 中温; 高温; 灭菌; 微藻; 厌氧发酵

中图分类号: Q938; S216.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)06-0325-07

Effect of Biogas Slurry of Pig Manure Anaerobic Digestion at Medium and High Temperatures on Microalgae Culture

WANG Lili¹ SI Ailong¹ LI Ze¹ WANG Zhiwu² SUI Chao¹ WANG Zhongjiang¹

(1. College of Engineering, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

2. Department of Civil and Environmental Engineering, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg VA 24061, USA)

Abstract: Nutrient-rich biogas slurry containing N and P is potential culture media for microalgae. Some researchers also conducted a series of relative studies. However, the effect of different biogas slurry on the subsequent microalgae culture is significantly different because the miscellaneous germs in biogas slurry can inhibit the microalgae growth. Furthermore, the variety and quantity of bacteria in biogas slurry digested at medium temperature (35 °C) and high temperature (55 °C) are also significantly different. However, fewer systematic comparison of biogas slurry digested at medium temperature (35 °C) and high temperature (55 °C) is found based on microalgae culture. Therefore, the *Chlorella pyrenoidosa* (FACHB-5) and the *Chlorella vulgaris* (FACHB-8) were employed as algae species in this experiment. The effect of broth being the culture medium (BG11) mixed with the autoclaved and non-autoclaved biogas slurry of pig manure after anaerobic digestion at 35 °C and 55 °C on following microalgae growth was studied by using artificial climate incubator. The specific culture temperature, light intensity, continuous light period, air flow and additive ratio of biogas slurry were (26 ± 1) °C, 4 000 lx, 24 h, 1.5 L/min and 20%, respectively. The results indicated that the effect of biogas slurry digested at 55 °C was better than that of biogas slurry digested at 35 °C, and the growth rate of microalgae obvious cultured in the biogas slurry of anaerobic fermentation at 55 °C was more superior. Moreover, there was no difference in early adaptation period of microalgae growth between autoclaved biogas slurry and non-autoclaved biogas slurry. However, the growth rate of microalgae cultured in autoclaved biogas slurry was slightly optimal in middle and late period. What's more, the algae species used in this experiment could adapt to the culture environment with biogas slurry addition well. The growth of *Chlorella pyrenoidosa* (FACHB-5) was superior to that of *Chlorella vulgaris* (FACHB-8). The microalgae also decreased the ammonium

收稿日期: 2018-03-14 修回日期: 2018-04-11

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2014AA022001)、国家自然科学基金项目(51406032)、教育部留学回国人员科研启动基金项目(20131792)和中央引导地方科技发展专项项目(ZY17C05)

作者简介: 王丽丽(1979—),女,副教授,主要从事农业生物环境与能源工程研究,E-mail: newuwl@neau.edu.cn

通信作者: 王忠江(1978—),男,教授,主要从事农业生物环境与能源工程研究,E-mail: newuwzj@126.com

nitrogen, total nitrogen, total phosphorus and chemical oxygen demand (COD) in biogas slurry significantly, which was favorable for the purification and comprehensive utilization of biogas slurry. The research provided a theoretical basis for the subsequent research and application of microalgae culture with biogas slurry.

Key words: pig manure biogas slurry; medium temperature; high temperature; autoclaved; microalgae; anaerobic digestion

0 引言

微藻生物质与其他陆生生物质资源相比,具有光合作用效率高、生长速度快、不占耕地、产品附加值高等优点^[1-2],近年来得到广泛关注。但微藻培养过程需要向培养液中添加大量的 N、P 等营养元素^[3-4],极大地增加了微藻培养的成本^[5],制约了微藻培养产业的发展。近年来大中型沼气工程在我国得到了迅速推广,这些沼气工程基本采用湿式厌氧发酵工艺,在产生新能源沼气的同时也产生了大量的沼液废水^[6-8],而这些沼液富含浓度较高的有机物和 N、P 等营养成分以及种类繁多的微生物等^[9-11],处置不当将会对环境造成威胁^[12-13],因此沼液利用途径及利用量的拓展引起研究者的关注。如将沼气厌氧发酵后富含 N、P 等营养成分的沼液作为微藻培养的营养液,在一定程度上可以解决沼液的处置问题^[14-17],还可以降低微藻培养过程中补充氮源和磷源的成本^[18-19]。

微藻在培养过程中容易受到杂菌污染^[20]。沼气发酵的原料种类众多,不同发酵原料沼气发酵后的沼液成分差别较大,如畜禽的食物及消化道内存在的大量病原微生物在畜禽粪便中大量残留,此外由于目前规模化养殖场中各种化学添加剂的滥用,也使相对较多的重金属残留在畜禽粪便中,以这些畜禽废弃物为原料进行沼气发酵产生的沼液中存在大量的病原微生物等杂菌及重金属^[6],容易对微藻产生污染,所以在前期研究中很多学者^[21-22]均将沼液灭菌后再进行微藻的培养试验,进而增大了微藻培养成本,影响微藻产业的后续应用和推广。

此外,目前大规模工业化生产的沼气工程普遍采用的是 35℃ 的中温厌氧发酵和 55℃ 的高温厌氧发酵工艺。与 35℃ 的中温厌氧发酵工艺相比,55℃ 的高温厌氧发酵工艺不但对沼气发酵过程影响显著,而且由于高温厌氧发酵的灭菌效果更为明显,对厌氧发酵后的沼液特性也有显著影响,经 55℃ 高温厌氧发酵后获得的沼液中各种病原菌的数量明显低于 35℃ 中温厌氧发酵^[23-24]。所以,中温厌氧发酵和高温厌氧发酵后沼液作为微藻培养的营养源,会对后续的微藻生长产生影响。而目前利用高温发酵

沼液进行微藻培养方面的研究鲜见报道,关于中温发酵沼液和高温发酵沼液用于微藻培养的系统性对比研究未见报道。

本文针对以上问题,以猪粪中温 35℃ 和高温 55℃ 厌氧发酵后的沼液为原料,在灭菌和不灭菌的条件下,系统研究不同沼液对微藻培养过程各主要指标的影响规律。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 沼液及预处理

试验采用的沼液取自东北农业大学生物质能源实验室,沼气发酵的原料为猪粪,发酵时间为 30 d, 35℃ 中温厌氧发酵后未固液分离沼液的初始化学需氧量(COD 值)为 4 861. 28 mg/L, pH 值为 7. 88, 总氮质量浓度为 2 652. 53 mg/L, 总磷质量浓度为 52. 61 mg/L, 氨氮质量浓度为 2 229. 19 mg/L, Cu²⁺ 质量浓度为 0. 79 mg/L, Fe²⁺ 质量浓度为 1. 42 mg/L, Zn²⁺ 质量浓度为 0. 40 mg/L, 浊度为 1 024 NTU; 55℃ 高温厌氧发酵后未固液分离沼液的初始化学需氧量(COD 值)为 5 029. 95 mg/L, pH 值为 7. 86, 总氮质量浓度为 2 833. 73 mg/L, 总磷质量浓度为 49. 25 mg/L, 氨氮质量浓度为 2 328. 76 mg/L, Cu²⁺ 质量浓度为 0. 77 mg/L, Fe²⁺ 质量浓度为 1. 38 mg/L, Zn²⁺ 质量浓度为 0. 39 mg/L, 浊度为 978 NTU。沼气发酵后的剩余物经孔径 0. 075 mm 尼龙标准筛去除大颗粒物,之后利用 3-30K 型高速离心机(德国 Sigma 公司)在 10 000 r/min 的条件下去除小颗粒物获得本试验所用沼液,之后储存于 4℃ 冰箱内备用,试验前经不同处理的离心后沼液的相关指标如表 1 所示。

表 1 沼液特性
Tab.1 Characteristics of biogas slurry

参数	数值			
	35℃	35℃	55℃	55℃
	未灭菌	灭菌	未灭菌	灭菌
pH 值	7. 88	9. 33	7. 86	9. 28
氨氮质量浓度/(mg·L ⁻¹)	2 028. 76	1 907. 47	2 193. 06	2 006. 52
总氮质量浓度/(mg·L ⁻¹)	2 433. 73	2 323. 58	2 640. 22	2 459. 60
总磷质量浓度/(mg·L ⁻¹)	46. 25	50. 55	47. 68	47. 56
COD 值/(mg·L ⁻¹)	4 529. 46	4 682. 19	4 679. 62	4 820. 14

1.1.2 藻种

试验所用的藻种为蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 与普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*), 均由中国科学院水生生物研究所提供, 藻种编号为 FACHB-5(5 号藻种) 和 FACHB-8(8 号藻种)。

1.2 试验方法及条件

藻种采用沼液和 BG11 培养基的混合液进行培养, BG11 培养基的配方见文献[25], 猪粪沼液的添加量均为 20%, 试验采用的药品均为分析纯。利用 OBY-Q600-SEI 型人工气候培养箱(常州欧邦电子有限公司)进行微藻培养, 培养温度为 (26 ± 1)℃, 光照强度为 4 000 lx, 24 h 连续光照, 同时利用 HG-180 型旋涡式气泵(台湾亚士霸电机集团有限公司)向微藻培养液通入空气, 通气量 1.5 L/min, 空气在进入培养液前经 0.2 μm 滤膜过滤。

试验容器为 1 000 mL 三角瓶, 内装 600 mL 培养液, 在未调节 pH 值条件下将对数期藻种各 100 mL 分别加入各组培养液中, 每组 2 个重复, 进行批式培养, 培养周期为 11 d, 每天取样测 680 nm 处 OD 值(光密度)、pH 值, 每隔 1 d 取样, 利用 3-30K 型高速离心机在 10 000 r/min 的条件下离心, 之后测定上清液中氨氮质量浓度、总氮质量浓度、总磷质量浓度和 COD 值。

1.3 分析方法

生物量测定采用光密度法^[26]。取小球藻藻液, 用紫外可见分光光度计测定其在 680 nm 吸收波长下的 OD 值, 以此衡量小球藻在培养过程中的相对生长量。原料沼液的浊度采用分光光度法测定 680 nm 下的吸光度^[27-28], 培养液的 COD 值测定采用重铬酸盐法, 参照 GB 11914—1989《水质化学需氧量的测定重铬酸盐法》; 总氮和氨氮采用凯氏定氮法测定^[29], 所用仪器为 Kjeltac 2300 型全自动凯氏定氮仪(丹麦 FOSS 公司), 总磷测定采用钼酸铵分光光度法, 参照 GB 11893—1989《水质总磷的测定 钼酸铵分光光度法》^[30]。采用 OriginPro 9.32 进行数据处理, 采用 SPSS 22.0 进行差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 微藻生长

不同沼液对微藻生长的影响如图 1 所示。从图中可以看出, 各试验组的整体变化规律基本一致, 即在试验开始后前 3 d 的 680 nm 处 OD 值缓慢上升, 从第 4 天开始各试验组的 OD 值开始快速上升, 在第 10 天达到各自的较高值, 之后逐渐趋于稳定。在本试验条件下, 各试验组的微藻生长趋势符合生物学中的 S 型生长曲线, 利用 OriginPro 软

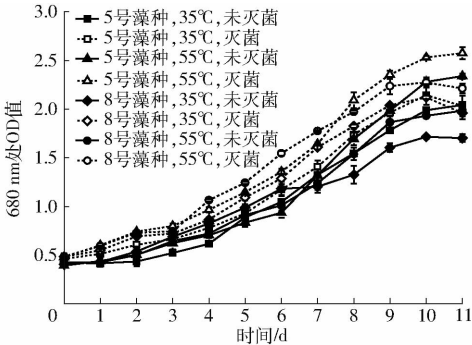


图 1 微藻生长曲线

Fig. 1 Growth curves of microalgae

件拟合微藻生长曲线, 经过不同 S 型函数的拟合结果, 最终选择拟合度较高的 DoseResp 函数, 各试验组拟合后的方程如表 2 所示, 方程对各条曲线的拟合度均不低于 0.984 6。从图中还可以看出, 5 号藻种和 8 号藻种在灭菌和未灭菌沼液中均能较好地生长, 各试验组经短暂适应期后微藻的生长速率均出现较大的增加, 各试验组的 OD 值均由试验开始时的 0.40~0.48 升高到 1.93~2.57。此外灭菌试验组和未灭菌试验组在前期对沼液的适应性方面未表现出明显的优势, 适应时间均为 3 d, 但灭菌各试验组 680 nm 处 OD 值均高于各自对应的未灭菌试验组, 经显著性分析后差异达到极显著水平 ($P < 0.01$), 这说明灭菌试验组的微藻生长速率高于未灭菌试验组, 但高温灭菌也将增加微藻的培养成本, 不利于后续微藻的规模化培养。从图中还可以看出, 在灭菌和未灭菌试验组中 55℃ 厌氧发酵后沼液各试验组的整体表现均优于各自对应的 35℃ 厌氧发酵后沼液试验组, 经显著性分析后差异达到极显

表 2 微藻生长曲线拟合方程

Tab. 2 Fitting equations of microalgae growth curves		
条件	方程	拟合度
5 号藻种, 35℃, 未灭菌	$y = 0.36 + 1.86 / [1 + 10^{0.25(6.89 - x)}]$	0.996 9
5 号藻种, 35℃, 灭菌	$y = 0.49 + 1.73 / [1 + 10^{0.29(6.61 - x)}]$	0.991 1
5 号藻种, 55℃, 未灭菌	$y = 0.43 + 2.2 / [1 + 10^{0.27(7.58 - x)}]$	0.993 1
5 号藻种, 55℃, 灭菌	$y = 0.51 + 2.37 / [1 + 10^{0.23(6.89 - x)}]$	0.992 2
8 号藻种, 35℃, 未灭菌	$y = 0.09 + 1.99 / [1 + 10^{0.14(5.77 - x)}]$	0.984 6
8 号藻种, 35℃, 灭菌	$y = 0.52 + 1.61 / [1 + 10^{0.3(5.91 - x)}]$	0.986 2
8 号藻种, 55℃, 未灭菌	$y = 0.39 + 1.84 / [1 + 10^{0.23(7.02 - x)}]$	0.989 2
8 号藻种, 55℃, 灭菌	$y = 0.45 + 1.91 / [1 + 10^{0.26(5.51 - x)}]$	0.991 7

著水平 ($P < 0.01$), 这与许智等^[23]的研究相对应, 许智等通过研究发现在 55℃ 厌氧发酵条件下经 96 h 对大肠杆菌的杀灭百分比达 99%, 而 35℃ 厌氧发酵条件对大肠杆菌基本没有杀灭作用, 而本研究采用的是在 55℃ 和 35℃ 条件下经 30 d 厌氧发酵后获得的沼液, 55℃ 厌氧发酵后沼液中大肠杆菌等杂菌的数量少于 35℃ 厌氧发酵后沼液, 对后续微藻培养过程的抑制作用更小, 此外灭菌后的 55℃ 高温厌氧发酵后沼液的氨氮和总氮质量浓度均略高于灭菌后的 35℃ 高温厌氧发酵后沼液, 所以才会出现 55℃ 高温厌氧发酵沼液微藻培养组的整体表现优于 35℃ 中温厌氧发酵沼液微藻培养组的现象。

2.2 微藻培养液 pH 值

不同沼液用于微藻培养时培养液的 pH 值变化如图 2 所示。

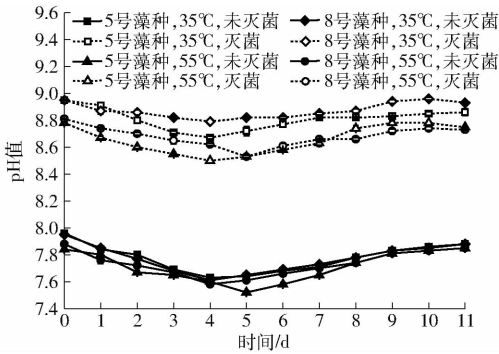


图 2 pH 值的变化
Fig. 2 Variation of pH value

从图中可以看出, 各试验组的 pH 值变化规律基本一致, 即试验开始后 pH 值先下降之后又逐渐上升, 最后逐渐趋于稳定。这与霍书豪等^[25]研究过程发现的 pH 值变化规律相一致, 这是由于藻类在培养液中存在多种形态氮时, 优先利用氨态氮^[31], 而藻细胞利用氨分子, 使得培养液中 H^+ 浓度增加, 使培养液的 pH 值在微藻培养的前期出现下降, 之后随着氨态氮质量浓度降低, 同时沼液中的有机酸被降解, 使培养液的 pH 值开始逐渐上升。从图中还可以看出, 在整个试验过程中灭菌组的 pH 值整体均高于未灭菌组, 这与高婷等^[32]的研究结果相一致, 各未灭菌试验组的 pH 值在整个试验过程中均维持在 7.6~8.0, 而各灭菌试验组的 pH 值在整个试验过程中均维持在 8.56~9.0, 经显著性分析后差异达到极显著水平 ($P < 0.01$), 灭菌和未灭菌各试验组的 pH 值均处于张虎等^[33]研究得出的小球藻适宜生长的 pH 值范围 (7.0~9.0)。此外, 从图中还可以看出, 各灭菌试验组之间的 pH 值差值大于未灭菌组, 在各灭菌试验组中 35℃ 厌氧发酵后沼液 pH 值在整个试验过程中均高于 55℃ 厌氧发酵后沼液试验

组, 经显著性分析后差异达到极显著水平 ($P < 0.01$), 这是由于 55℃ 厌氧发酵后沼液各试验组的微藻生长速率均优于各自对应的 35℃ 厌氧发酵后沼液试验组, 对氨氮和总氮的消耗量更大, 在一定程度上使 pH 值下降, 所以才会出现上述现象。

2.3 微藻培养液氨氮质量浓度

不同沼液用于微藻培养时培养液的氨氮质量浓度变化如图 3 所示。

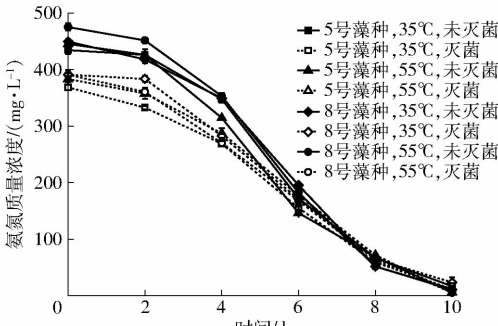


图 3 氨氮质量浓度的变化
Fig. 3 Variation of ammonia nitrogen concentration

从图中可以看出, 各试验组的氨氮质量浓度变化规律基本一致, 即试验的前期 (前 2 d) 各试验组的氨氮质量浓度缓慢下降, 试验的中期 (3~8 d) 氨氮质量浓度开始快速下降, 试验的后期逐渐趋于稳定。从图中还可以看出, 试验初期各试验组的氨氮质量浓度差别较大, 而且呈现出未灭菌组高于灭菌组的趋势, 而试验后期未灭菌和灭菌各试验组的氨氮质量浓度差别均较小, 这主要是由于高温灭菌过程造成了部分容易挥发的氨氮损失, 使试验初期未灭菌组的氨氮质量浓度高于灭菌组, 而随着试验的进行较容易被微藻利用的氨氮^[13]质量浓度迅速降低, 试验结束时所有试验组的氨氮质量浓度均降低到较低水平, 差别也较小, 试验结束时各试验组氨氮质量浓度由试验开始时的 370~475 mg/L 降到 5~23 mg/L, 各试验组的氨氮去除率均高于 92%, 这说明微藻对沼液中的氨氮具有较显著的去除效果。从图中还可以看出, 55℃ 厌氧发酵后沼液试验组的氨氮质量浓度下降速度略高于 35℃ 厌氧发酵后沼液试验组, 这与 55℃ 厌氧发酵后沼液试验组的微藻生长速率高于 35℃ 厌氧发酵后沼液试验组的结果相对应。

2.4 微藻培养液总氮质量浓度

不同沼液用于微藻培养时培养液的总氮质量浓度变化如图 4 所示。

从图中可以看出, 各试验组的总氮质量浓度变化规律基本一致, 即试验的前期 (前 2d) 各试验组的总氮质量浓度缓慢下降, 试验的中后期总氮质量浓度开始快速下降。从图中还可以看出, 试验初期各试验组的总氮质量浓度差别相对较大, 而且呈现出

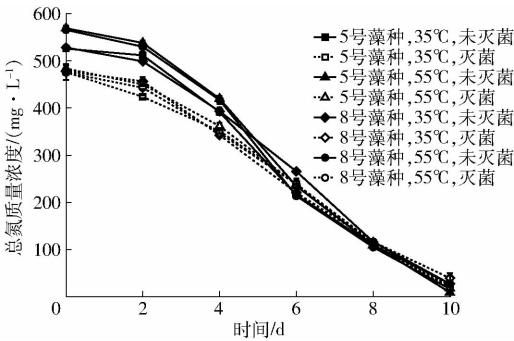


图 4 总氮质量浓度的变化

Fig. 4 Variation of total nitrogen concentration

未灭菌组高于灭菌组的趋势,经显著性分析后达到极显著水平($P < 0.01$)。而试验后期未灭菌和灭菌各试验组的总氮质量浓度差别均较小,总氮质量浓度的变化规律与氨氮质量浓度变化规律基本一致,这主要是由于在沼液中氨氮比例非常高^[8,34],所以氨氮质量浓度的变化规律直接影响了总氮质量浓度的变化规律。

2.5 微藻培养液总磷质量浓度

不同沼液用于微藻培养时培养液的总磷质量浓度变化如图 5 所示。

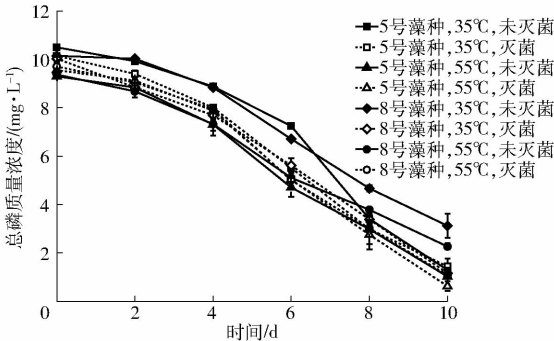


图 5 总磷质量浓度的变化

Fig. 5 Variation of total phosphorus concentration

从图中可以看出,各试验组的总磷质量浓度变化规律基本一致,即试验的前期(前 2 d)各试验组的总磷质量浓度缓慢下降,试验的中后期总磷质量浓度开始快速下降。总磷质量浓度的变化规律与总氮质量浓度的变化规律一致。从图中还可以看出,利用 35℃ 厌氧发酵后未灭菌沼液培养微藻时,总磷的质量浓度在试验的前 6 d 均高于其他各试验组,而第 6 天后 5 号藻种组总磷质量浓度开始快速下降,并逐渐缩小与其他各组差距,而 8 号藻种组的总磷质量浓度始终保持缓慢下降的趋势,试验结束时 35℃ 厌氧发酵后未灭菌沼液 8 号港口藻种试验组的总磷去除率为 69%,而其他各试验组除 55℃ 厌氧发酵后未灭菌沼液 8 号藻种试验组的总磷去除率略低(为 76%)以外,均维持在 86% ~ 94%,这与 PRAJAPATI 等^[35]在研究过程中得到总磷去除率相

近,总磷质量浓度的变化规律和去除率与微藻生长曲线图中 35℃ 厌氧发酵后未灭菌沼液 8 号藻种试验组较低的微藻生长速率相对应。经显著性分析后 35℃ 未灭菌 8 号藻种试验组和 5 号藻种试验组的差异不显著。35℃ 未灭菌 8 号藻种试验组与 35℃ 灭菌 5 号藻种试验组的差异达到显著($P < 0.05$)水平,35℃ 未灭菌 8 号藻种试验组与其他各试验组的差异均达到极显著($P < 0.01$)水平。

2.6 微藻培养液 COD 值

不同沼液用于微藻培养时培养液的 COD 值变化如图 6 所示。

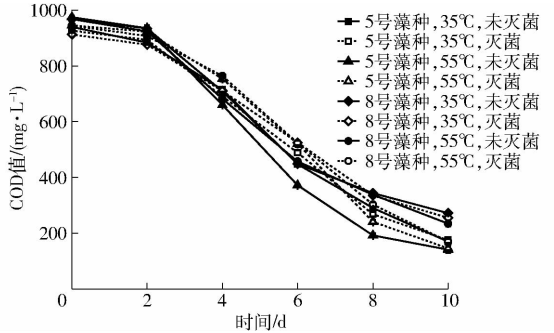


图 6 COD 值的变化

Fig. 6 Variation of COD

从图中可以看出,各试验组的 COD 值变化规律基本一致,即试验的前期(前 2 d)各试验组的 COD 值缓慢下降,试验的中期(3 ~ 8 d)COD 值开始快速下降,试验的后期逐渐趋于稳定。从图中还可以看出,试验初期各试验组的 COD 值差别较小,而试验中后期各试验组的 COD 值差别开始逐渐增大,而且呈现出 5 号藻种各试验组的 COD 去除率均高于 8 号藻种各对应试验组,而且 8 号藻种各试验组的 COD 去除率呈现出 55℃ 厌氧发酵后灭菌沼液试验组高于其他各组的现象,这与各试验组的微藻生长规律相对应,也说明 55℃ 高温厌氧发酵和灭菌处理均能显著降低沼液对后续微藻培养的不利影响。各试验组的 COD 值由试验开始时的 913 ~ 974 mg/L 降到试验结束时的 141 ~ 272 mg/L,各试验组的 COD 去除率均维持在 72% ~ 86% 范围内,这与 MIN 等^[36]在研究中得到的 COD 去除率相近。COD 值降低一方面是由于小球藻除了利用 CO₂ 作为碳源以外,还可以快速利用各种有机化合物作为碳源,这与 LI 等^[37]的研究结果相一致;另一方面是由于微藻培养过程中通入的空气中含有氧气,这些氧气提高了沼液中带入的好氧和兼氧微生物以及空气中的好氧微生物的活性,加速了培养液中有机物的降解,也导致了 COD 值的下降。所以上述两个过程的共同作用才使培养液中 COD 值出现了大幅下降。

3 结 论

(1) 高温 55℃ 厌氧发酵后沼液用于微藻培养的整体表现优于中温 35℃ 厌氧发酵后沼液, 微藻的生长速率更高。

(2) 在本研究条件下, 灭菌组与未灭菌组相比, 在前期的适应期方面未表现出明显的优势, 但在中后期的微藻生长速率方面略优于未灭菌组。

高温灭菌不仅会造成能耗的增加, 也会造成氮素的损失。

(3) 本研究所选定的 *Chlorella pyrenoidosa* FACHB-5 和 *Chlorella vulgaris* FACHB-8 两种藻种均能较好地适应添加沼液的培养环境, 但前者适应能力优于后者。利用沼液培养微藻, 微藻可以显著降低沼液中的氨氮质量浓度、总氮质量浓度、总磷质量浓度和 COD 值, 对沼液具有较好的净化效果。

参 考 文 献

1 GUSTAVO B L, AHMED E M A, PATRICK C H. Algal biofuels: challenges and opportunities[J]. *Bioresource Technology*, 2013,145: 134-141.

2 CHIU Shengyi, KAO Chienya, CHEN Tsaiyu, et al. Cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource[J]. *Bioresource Technology*, 2015,184:179-189.

3 LOGAN C, RONALD S. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts[J]. *Biotechnology Advances*,2011,29:686-702.

4 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*,2015,191:146-156.

5 MARKOU G, GEORGAKAKIS D. Cultivation of *Filamentous cyanobacteria* (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review[J]. *Appl. Energy*, 2011,88: 3389-3401.

6 NKOA R. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review[J]. *Agron. Sustain. Dev.*, 2014,34: 473-492.

7 HUANG H Y, CAO J L, WU H S, et al. Elevated methane emissions from a paddy field in southeast China occur after applying anaerobic digestion slurry[J]. *GCB Bioenergy*, 2014,6 (5): 465-472.

8 TAN Fen, WANG Zhi, ZHOUYANG Siyu, et al. Nitrogen and phosphorus removal coupled with carbohydrate production by five microalgae cultures cultivated in biogas slurry[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 221:385-393.

9 AHRING B K. Biomethanation I[J]. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 2003,81: 1-30.

10 ZHANG X, QIU W, CHEN H. Enhancing the hydrolysis and acidification of steam-exploded cornstalks by intermittent pH adjustment with an enriched microbial community[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 123: 30-35.

11 ZHOU Jun, ZHANG Rui, LIU Fenwu, et al. Biogas production and microbial community shift through neutral pH control during the anaerobic digestion of pig manure[J]. *Bioresource Technology*, 2016,217: 44-49.

12 FUCHS W, DROSG B. Assessment of the state of the art of technologies for the processing of digestate residue from anaerobic digesters[J]. *Water Sci. Technol.*, 2013,67: 1984-1993.

13 XIA Ao, JERRY D M. Microalgal cultivation in treating liquid digestate from biogas systems[J]. *Trends in Biotechnology*, 2016, 34(4):264-275.

14 CAI Ting, PARK S Y, RACHARAKS R, et al. Cultivation of *Nannochloropsis salina* using anaerobic digestion effluent as a nutrient source for biofuel production[J]. *Applied Energy*, 2013,108: 486-492.

15 CAI Ting, GE Xumeng, STEPHEN Y P, et al. Comparison of *Synechocystis sp.* PCC6803 and *Nannochloropsis salina* for lipid production using artificial seawater and nutrients from anaerobic digestion effluent[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 144:255-260.

16 MONLAU F, SAMBUSITI C, FICARA E, et al. New opportunities for agricultural digestate valorization: current situation and perspectives[J]. *Energy Environ. Sci.*, 2015,8: 2600-2621.

17 CHENG J, XU J, HUANG Y, et al. Growth optimisation of microalga mutant at high CO₂ concentration to purify undiluted anaerobic digestion effluent of swine manure[J]. *Bioresource Technology*, 2015,177: 240-246.

18 黄英明,王伟良,李元广,等. 微藻能源技术开发和产业化发展思路与策略[J]. *生物工程学报*,2010,26(7): 907-913.

 HUANG Yingming, WANG Weiliang, LI Yuanguang, et al. Strategies for research and development and commercial production of microalgae bioenergy[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*,2010,26(7): 907-913. (in Chinese)

19 李元广,谭天伟,黄英明. 微藻生物柴油产业化技术中的若干科学问题及其分析[J]. *中国基础科学:工业生物技术专刊*, 2009(5):64-70.

 LI Yuanguang,TAN Tianwei,HUANG Yingming. Some scientific issues to be resolved in the process for producing biodiesel from microalgae[J]. *China Basic Science*,2009(5):64-70. (in Chinese)

20 WANG Hui, ZHANG Wei, CHEN Lin, et al. The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae[J]. *Bioresource Technology*, 2013,128: 745-750.

21 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.
- 22 TAN X, CHU H, ZHANG Y, et al. *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch processing wastewater in an airlift circulation photobioreactor[J]. Bioresource Technology, 2014,170: 538–548.
- 23 许智,叶小梅,常志洲,等. 温度对厨余垃圾和人粪尿污水混合液的水解酸化影响[J]. 中国沼气,2011,29(3): 9–12.
XU Zhi, YE Xiaomei, CHANG Zhizhou, et al. Temperature influence on hydrolysis and acidogenesis of kitchen and toilet waste mixture[J]. China Biogas, 2011, 29(3): 9–12. (in Chinese)
- 24 李明,魏晓明,耿如林,等. 沼气发酵温度对沼液粪大肠菌群去除效果的研究[J]. 农机化研究,2015,37(5): 246–249.
LI Ming, WEI Xiaoming, GENG Rulin, et al. Effects of anaerobic fermentation temperature on extermination of fecal coliform in biogas effluent[J]. Journal of Agricultural Mechanization Research, 2015,37(5): 246–249. (in Chinese)
- 25 霍书豪,陈玉碧,刘宇鹏,等. 添加沼液的 BG11 营养液微藻培养试验[J]. 农业工程学报,2012,28(8):241–246.
HUO Shuhao, CHEN Yubi, LIU Yupeng, et al. Experiment on microalgae cultivation in BG11 nutrient solution adding biogas slurry[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(8): 241–246. (in Chinese)
- 26 高浩峰,李环,韦萍. 半连续及连续培养小球藻减排沼液及 CO₂[J]. 生物加工过程,2012,10(4):16–20.
GAO Haofeng, LI Huan, WEI Ping. Reduction of biogas slurry and CO₂ by *Chlorella vulgaris* in semi-continuous and continuous cultures[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2012,10(4):16–20. (in Chinese)
- 27 董永全,邓安民,郭桦冰,等. 蒙脱土/聚丙烯酰胺杂化絮凝剂制备及絮凝性能研究[J]. 环境科学学报, 2009,29(11): 2385–2392.
DONG Yongquan, DENG Anmin, GUO Huabing, et al. Preparation and flocculation performance of a polyacrylamide/montmorillonite hybrid flocculant[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, 29(11): 2385–2392. (in Chinese)
- 28 刘培,张建华,王柯,等. 沼液中悬浮物对乙醇发酵的影响及其絮凝处理的研究[J]. 环境科学学报,2014, 34(6): 1455–1463.
LIU Pei, ZHANG Jianhua, WANG Ke, et al. Effect of suspended solids in digestate on ethanol fermentation and flocculation treatment[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(6):1455–1463. (in Chinese)
- 29 王忠江,蔡康妮,王丽丽,等. 沼肥表施对土壤氮素动态分布及氨挥发的影响[J/OL]. 农业机械学报,2014,45(7):139–143. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20140722&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2014.07.022.
WANG Zhongjiang, CAI Kangni, WANG Lili, et al. Influence of surface application of biogas slurry on ammonia volatilization and dynamic distribution of soil nitrogen[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(7): 139–143. (in Chinese)
- 30 LÜ Sujuan, ZHANG Wei, PENG Xiaowei, et al. Cultivating an oleaginous microalgae with municipal wastewater[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2011, 2(3): 445–452.
- 31 AHMAD I, HELLEBUST J A. Regulation of chloroplast development by nitrogen source and growth conditions in a *Chlorella protothecoides* strain[J]. Plant Physiology, 1990, 94(3):944–949.
- 32 高婷,晏荣军,裘俊红,等. 微绿球藻去除沼液氮、磷研究[J]. 浙江化工,2012,43(11): 34–37.
GAO Ting, YAN Rongjun, QIU Junhong, et al. N and P removal from biogas slurry with *Nannochloris oculata*[J]. Zhejiang Chemical Industry, 2012, 43(11): 34–37. (in Chinese)
- 33 张虎,张桂艳,温小斌,等. pH 对小球藻 *Chlorella* sp. XQ-200419 光合作用、生长和产油的影响[J]. 水生生物学报,2014, 38(6): 1084–1091.
ZHANG Hu, ZHANG Guiyan, WEN Xiaobin, et al. Effects of pH on the photosynthesis, growth and lipid production of *Chlorella* sp. XQ-200419[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1084–1091. (in Chinese)
- 34 YANG A, ZHANG G, YANG G, et al. Denitrification of aging biogas slurry from livestock farm by photosynthetic bacteria[J]. Bioresource Technology, 2017, 232:408–411.
- 35 PRAJAPATI S K, KAUSHIK P, MALIK A, et al. Phycoremediation and biogas potential of native algal isolates from soil and wastewater[J]. Bioresource Technology, 2013,135:232–238.
- 36 MIN M, WANG L, LI Y, et al. Cultivating *Chlorella* sp. in a pilot-scale photobioreactor using centrate wastewater for microalgae biomass production and wastewater nutrient removal[J]. Appl. Biochem. Biotechnol., 2011,165:123–137.
- 37 LI Yecong, CHEN Yifeng, CHEN Paul, et al. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production[J]. Bioresource Technology, 2011,102:5138–5144.