

酿醋废水水解酸化流出物培养小球藻实验研究*

霍书豪¹ 樊迪² 徐玲¹ 王志武¹ 王忠铭^{3,4} 黄达明¹

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013; 2. 镇江市水业总公司, 镇江 212001;
3. 中国科学院可再生能源重点实验室, 广州 510640; 4. 中国科学院广州能源研究所, 广州 510640)

摘要: 酿醋废水经水解酸化预处理后, 在柱式光生物反应器中利用不同体积分数的水解酸化液流出物进行了小球藻培养实验。研究表明酿醋废水经水解酸化处理后 COD、氨氮、总磷、挥发性脂肪酸均有不同程度的减少, 其中 COD、总磷含量分别减少了 61.8%、63.6%, 挥发性脂肪酸成分变化幅度较大。当酿醋废水水解酸化流出物体积分数高于 40%, 小球藻生长明显受到抑制, 10%~30% 体积分数的水解酸化流出物培养的小球藻生长较好, 藻细胞浓度可达 6.6×10^7 个/mL, 并且流出物添加磷酸盐后, 小球藻在低体积分数废水流出生长没有延滞现象。培养 7 d 后, 小球藻对酿醋废水水解酸化流出物的净化效果显著, 氨氮、总磷几乎全部去除, 添磷条件下废水流出生 COD 降低达 96.6%。小球藻在体积分数为 30% 的水解酸化流出物生长含油量最高为 24%, C16-C18 的脂肪酸含量在 83.0%~95.5% 之间, 该小球藻具备一定的生物柴油开发潜力。

关键词: 酿醋废水 水解酸化 小球藻 添磷

中图分类号: Q938; S216 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2015)09-0198-08

Cultivation of *Chlorella* sp. Using Hydrolyzate of Vinegar Fermentation Wastewater

Huo Shuhao¹ Fan Di² Xu Ling¹ Wang Zhiwu¹ Wang Zhongming^{3,4} Huang Daming¹

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. Zhenjiang Water Industry Corporation, Zhenjiang 212001, China

3. Key Laboratory of Renewable Energy, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

4. Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: After the hydrolysis acidification of vinegar fermentation wastewater, the cultivation of *Chlorella* sp. and nutrients removal in different concentration hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater were investigated in the vertical tubular photobioreactor. Results showed that after the hydrolysis acidification of vinegar fermentation wastewater, the removal rates of COD, ammonia, volatile fatty acids (VFAs) and total phosphorus (TP) were all decreased to some extent. The removal rates of COD and TP were 61.8% and 63.6%, respectively. The components of VFAs were changed significantly. When the volume fraction of hydrolyzate was more than 40%, the growth rate of *Chlorella* sp. was inhibited. When the volume fraction of hydrolyzate was between 10% and 30%, the growth rate of *Chlorella* sp. was good. The concentration of *Chlorella* sp. cell could achieve 6.6×10^7 cells/mL. The growth curves of *Chlorella* sp. were no lag phase, after the addition of phosphate in the hydrolyzate of vinegar fermentation wastewater. After 7 d cultivation, the ammonia and total phosphorus were almost completely removed. The 96.6% COD removal was achieved after addition of some phosphate. The oil

收稿日期: 2015-07-11 修回日期: 2015-07-26

* 江苏省自然科学基金资助项目(BK20140540)、中国博士后科学基金资助项目(2014M551519、2015T80502)、中国科学院可再生能源重点实验室开放基金资助项目(y507k11001)和江苏大学高层次人才基金资助项目(14JDC024、15JDC061)

作者简介: 霍书豪, 讲师, 博士, 主要从事生物质能源转化与环境技术研究, E-mail: huoshuhao@yeah.net

通讯作者: 黄达明, 教授, 博士, 主要从事生化反应器设计及农产品生物转化与综合利用研究, E-mail: damingh@163.com

content (24%) was observed using 30% volume fraction hydrolyzate of vinegar fermentation wastewater. The contents of fatty acids C16 – C18 were between 83.0% and 95.5%, which had good potential for the development for biodiesel utilization.

Key words: Vinegar fermentation wastewater Hydrolysis acidification *Chlorella* sp. Addition of phosphate

引言

食品酿造工业是我国排放有机污染物浓度最大的行业之一,废水排放潜藏着严重的环境污染问题。该类废水具有化学需氧量 (Chemical oxygen demand, COD)、悬浮固体 (Suspended solid, SS) 浓度高等特点^[1]。该类废水采用水解酸化 (Hydrolysis acidification) 预处理后,废水生物降解性能可以得到改善,悬浮物得到有效去除,同时可以降低部分氮、磷含量及 COD^[2]。水解酸化法基于两相厌氧理论,利用兼氧微生物的代谢分解作用,被广泛用于处理成分复杂、难生物降解或含较高悬浮固体的废水中^[2-4]。同时由于没有产甲烷阶段的限速影响,废水水解酸化过程短,一般仅需 4 ~ 18 h^[2-5]。但该废水经水解酸化处理后仍不能达标排放,保留着大部分碳源等其他富营养物质,需要组合其他工艺进一步处理^[5]。常见水解酸化-厌氧产甲烷 (即两相厌氧消化) 工艺,可以有效降低 COD,但对氮、磷去除效果不佳;水解酸化-好氧组合工艺虽然可以实现 COD、氮磷达标排放,但还会产生大量污泥并且能耗高,需要较多的资金投入。

本研究尝试利用酿醋废水经水解酸化预处理的流出物来培养小球藻。即酿醋废水在水解酸化反应器中去除悬浮物及降低部分 COD 及氮、磷含量,增加生物降解性能基础上,保留大部分碳源等营养物质以满足富油微藻生长。此工艺拟实现有效降低废水 COD 及氮、磷含量,并获得富油微藻生物质。目前,废水水解酸化流出物培养微藻研究报道较少,流出物中某些挥发性脂肪酸分子对小球藻的生长具有一定的抑制作用。Liu 等^[6]利用与水解酸化液成分相近的丁酸梭菌发酵上清液培养普通小球藻 *Chlorella vulgaris* ESP6,发现该小球藻可以在四倍稀释的发酵上清液中生长,其中,乙酸可以被小球藻高效利用,而乳酸、丁酸的质量浓度分别超过 0.5、0.1 g/L 时,小球藻生长将受到显著抑制。此外, Wen 等^[7]利用剩余污泥厌氧水解酸化流出物进行蛋白核小球藻 *Chlorella protothecoides* 培养,证实小球藻可以利用 1.2 g/L 乙酸、0.23 g/L 丁酸作为碳源生长,而 0.45 g/L 丙酸消耗甚微,且与普通培养基相比该小球藻在水解酸化流出物中可以累积较多

的油脂^[7]。前期研究发现酿醋废水经水解酸化预处理的流出物中磷元素含量较低,本文着重研究酿醋废水水解酸化流出物在添加了少量磷酸盐情形下小球藻生长及流出物中 COD 及氮、磷等酿醋废水的净化效果,以期对相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 酿醋废水与其水解酸化流出液

本研究中所用到的酿醋废水来自江苏省镇江市恒顺醋业股份有限公司。废水原样经前期全连续搅拌反应器 (Continuous stirred tank reactors, CSTR) 35℃、起始 pH 值 6.5、氧化还原电位 -110 mV、转速 40 r/min 条件下水解酸化预处理 8 h 后放置阴凉处备用。酿醋废水原样与其水解酸化流出物成分如表 1 所示。

表 1 酿醋废水原样与水解酸化流出物水质组成

Tab.1 Quality of original wastewater and its hydrolyzate from vinegar fermentation process

| 指标 | 酿醋废水原样 | 水解酸化流出物 |
|-----------------------------------------------|-----------------|----------------|
| pH 值 | 5.6 ± 0.1 | 6.3 ± 0.2 |
| 浊度/NTU | 74.40 | 未检测 |
| CODCr 质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 3 557.0 ± 231.1 | 1 357.3 ± 51.1 |
| TP 质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 2.47 ± 0.34 | 0.90 ± 0.07 |
| NH ₃ -N 质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 176.25 ± 5.02 | 156.50 ± 6.75 |
| 乙醇质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 502 | 未检出 |
| 乙酸质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 2 177 | 239 |
| 丙酸质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 141 | 57 |
| 正丁酸质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 未检出 | 88 |
| 正戊酸质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 未检出 | 187 |
| 异戊酸质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 未检出 | 123 |
| 异丁酸质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 未检出 | 90 |

通过表 1 可以看出酿醋废水经水解酸化处理后 CODCr、氨氮、总磷均有不同程度的减少,分别降低 61.8%、11.2%、63.6%。其中,COD、总磷减少幅度较为显著。反应器运行过程中有产气现象。一般来讲水解酸化是厌氧消化的限速阶段,废水经水解酸化后可以改善悬浮物的溶解性,将其转变成各种挥发性有机酸,主要包括:乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、异丁酸、戊酸。这些有机酸可以作为微生物生长的碳源^[8]。酿醋废水水解酸化后挥发性有机酸成分变化幅度较大。

1.2 小球藻藻种和实验培养

1.2.1 小球藻藻种

实验所用小球藻藻种 *Chlorella* sp. 由江苏大学食品与生物工程学院生物工程系实验室保藏。藻种采用 BG11 培养基^[9] 在光照摇床内进行无菌培养, 实验药品均为分析纯。培养温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 转速 150 r/min , 光照强度为 $50 \pm 10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。选取对数期的藻种接种, 接种量 10%。

1.2.2 小球藻培养实验

小球藻培养实验在柱式光生物反应器中进行。其为高 50 cm、直径约 4 cm 的硬质玻璃管, 底端为密闭的圆锥形, 通过直插入底端的玻璃管空气泵通气以进行培养液混合。通气率为 0.5 L/min , 使用气体流量计 (LZT-08 型, 浙江余姚伟创流量仪表有限公司) 调节。酿醋废水的水解酸化流出物使用前经高压灭菌锅 121°C 、20 min 灭菌后与无菌蒸馏水进行不同体积分数的稀释, 以此作为小球藻的培养基。实验中并非保证完全无菌培养。实验中设置了 8 种不同的酿醋废水体积分数, 分别为 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80% 来考察小球藻的生长情况。

添磷实验中另外添加 0.175 mol/L 的 K_2HPO_4 母液, 即向 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80% 体积分数酿醋废水流出物中按比例分别添加 15、30、45、60、75、90、105、120 μL 的 0.175 mol/L K_2HPO_4 母液。每隔 24 h 取样, 并着重对酿醋废水水解酸化流出物体积分数在 10%、20%、30%、40% 时, 小球藻生长状况及培养基 COD、氮磷利用情况进行分析, 培养结束后收获藻细胞, 并冷冻干燥后进行成分分析。

1.3 分析方法

1.3.1 藻细胞计数与 pH 值测定

藻细胞计数利用血球计数板 (上海求精生化仪器有限公司)。pH 值测量使用便携式 pH 计 (pH-3C 型, 上海三信仪表厂)。

1.3.2 油脂含量与脂肪酸分析

微藻的油脂含量分析参考 Bigogno 方法^[10]。冻干的样品使用含 10% DMSO 的甲醇溶液抽提, 5 min 内升温至 40°C , 搅拌并保持 1 h。混合物离心后, 收集上清液, 残渣使用己烷/乙醚再次抽提 (1:1, 体积比)。乙醚、正己烷与水, 加入上清液各组份体积比 1:1:1:1。混合物 35°C , 100 r/min 振荡 5 min, 收集上清液。水相再经两次使用乙醚/正己烷 (1:1, 体积比) 抽提。收集有机相并蒸干, 油脂分析中加抗氧化剂 0.01% 丁基羟基甲苯 (BHT)。

脂肪酸组成分析采用皂化反应, 酯交换是在三氟化硼甲醇作用下以 100°C 反应 15 min, 产生脂肪酸甲酯^[11]。脂肪酸甲酯 (Fatty acid methyl esters, FAMES) 使用 4 mL 正己烷抽提, FID 检测器的气相色谱分析 (Shimadzu, GC-2010, Japan)。进样与检测温度分别为 300°C 和 280°C 。色谱炉温为程序升温, 以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 从 130°C 升温到 180°C , 之后以 $2^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 210°C , 210°C 维持 3 min^[12]。

1.3.3 COD、氮、磷水质分析

藻液经离心 ($16\ 000 \text{ g}$, 10 min, 4°C), 上清液抽滤 $0.45 \mu\text{m}$ 过膜后, 使用北京连华水质分析仪 (5B-3B 型) 检测小球藻培养过程中 COD、氮磷质量浓度及浊度的变化情况。

1.3.4 挥发性脂肪酸测定

酿醋废水水解酸化流出物中挥发性脂肪酸 (Volatile fatty acid, VFA) 由气相色谱仪 (GC-5890 型, HP) 检测, 配有毛细管柱 (安捷伦 1909/N-133HP-INNOWAX 型, $30 \text{ m} \times 0.250 \text{ mm}$) 和氢火焰离子化检测器 (Flame ionization detector, FID)。FID 的进样口和检测器温度分别为 240°C 和 260°C 。柱温程序升温: 初温 100°C 保持 1 min, 以 $15^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 220°C 保持 5 min。氮气作为载气, 氮气、氢气和空气的流速分别为 290、170、290 mL/min ^[13]。

2 结果与分析

2.1 不同体积分数酿醋废水水解酸化流出物小球藻的生长情况

从图 1 可以看出, 小球藻培养 7 d 后, 酿醋废水水解酸化流出物体积分数较低时 (10% ~ 30% 时) 小球藻的生长状况较好, 流出物体积分数达到 20% 时, 小球藻细胞数量最高可以达到 6.4×10^7 个/mL。添加磷酸盐后, 小球藻对酿醋废水水解酸化流出物的适应性能增加, 其中流出物体积分数达到 20% 时, 小球藻细胞浓度最高可以达到 6.6×10^7 个/mL。在水解酸化流出物体积分数大于 30% 时, 添加磷酸盐实验组小球藻细胞数量显著优于未添加磷酸盐实验组。水解酸化流出物体积分数大于 50% 时培养液中的挥发性有机脂肪酸等物质含量过高, 抑制了小球藻的正常生长。水解酸化流出物体积分数高于 80% 时, 小球藻的生长几乎被抑制, 细胞开始死亡。有报道称, 水解酸化流出物中一些糖、蛋白质、某些元素等可溶性微生物产物可以保护藻细胞避免有机酸的伤害, 并有利于提高藻细胞对有机酸的利用^[14]。本文中可能可溶性微生物产物浓度过低, 故小球藻细胞对有机酸较为敏感。

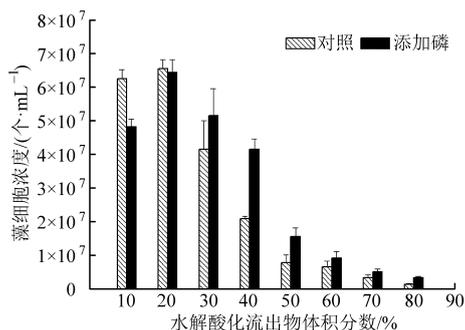
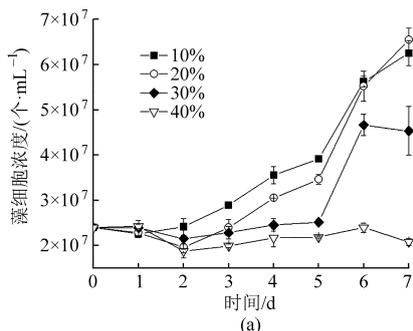


图1 小球藻在不同体积分数酿醋废水水解酸化流出物中生长情况

Fig.1 Growth concentration of *Chlorella* sp. in different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater

2.2 低体积分数酿醋废水水解酸化流出物中小球藻生长情况

从图2a中可以看出在实验前1~2 d几乎所有实验组的小球藻细胞数量均有小幅度的下降,小球藻在该酿醋废水水解酸化流出物中需要有一个适应过程。培养1 d后,酿醋废水流出物在大于30%体积分数的废水溶液中藻细胞数仍然没有增加,其中体积分数40%的废水培养小球藻的细胞浓度最低,



表明在较高体积分数的废水流出物中小球藻生长受到限制;与之相比,培养2 d后酿醋废水流出物在小于30%体积分数的废水溶液中的细胞数则呈现出持续的增长趋势,其中酿醋废水流出物在20%体积分数时,其细胞增长得较为迅速,7 d后细胞数量达到初始浓度的2.5倍左右。

图2b是添磷后的酿醋废水水解酸化流出物作为培养液培养小球藻的生长曲线。可以看出,添磷后低体积分数(10%~20%)的水解酸化流出物进行小球藻生长几乎没有延滞期,而体积分数大于30%时,实验进行的前2 d,小球藻的数量有减少的趋势。然而与前面未添加磷的培养液相比可以发现,低体积分数废水流出物没有延滞期,而体积分数大于30%的废水依然存在一个延滞期,低体积分数的酿醋废水对小球藻的生长更为有利。没有添磷的小球藻约经过5 d后才进入快速增长对数期,而添磷约3 d后,各实验组小球藻生长均进入对数期。在实验进行到第6天后,小球藻细胞浓度开始呈现下降的趋势,小球藻进入了衰亡期阶段。

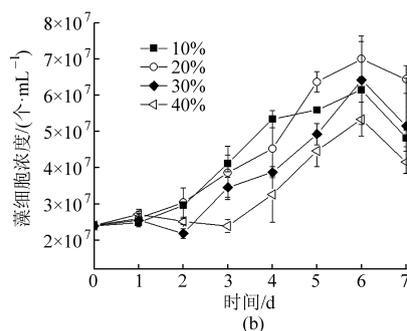


图2 小球藻在不同体积分数酿醋废水水解酸化流出物中生长曲线

Fig.2 Growth curves of *Chlorella* sp. in different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater

(a) 未添加磷酸盐 (b) 添加磷酸盐

2.3 不同体积分数酿醋废水水解酸化流出物中小球藻生长过程中pH值变化

从图3中可以看出,整体上pH值是先升后降的一个变化趋势。图3a中小球藻生长周期中的pH值一直在8.3~8.8之间浮动。在培养的第2天培养液的pH值上升到了8.6左右,可能是由于小球藻光合作用吸收CO₂及HCO₃⁻,导致溶液pH值升高,而在实验进行到第4天以后,随着小球藻对流出液中氨氮的吸收,导致了培养液的pH值下降^[15]。图3b相比于之前实验结果来看,添磷后培养液的pH值显得更加具有波动性,而且整体pH值一直在8.3~8.7之间波动。这是由于小球藻光合作用导致培养液总体pH值先升高,之后氨氮消耗而导致pH值又下降^[15]。

2.4 小球藻对酿醋废水水解酸化流出物的净化作用

2.4.1 氨氮、总磷的净化作用

图4给出了不同体积分数水解酸化流出物小球藻培养液中氨氮的变化情况。可以看出随着培养的进行氨氮质量浓度迅速降低。图4a中不添加磷的情况下,第3天的10%~20%体积分数酿醋废水水解酸化流出物中的氨氮已经去除完全;第4天体积分数30%的酿醋废水水解酸化流出物的氨氮值也消耗殆尽;到了第7天除体积分数40%组外的氨氮都已消耗完。添加磷酸盐后的第1天,培养液中的氨氮值就开始迅速降低,各个实验组氨氮值已经趋近于0。图4b中可以看出,添磷有利于小球藻对氨氮的快速吸收利用。

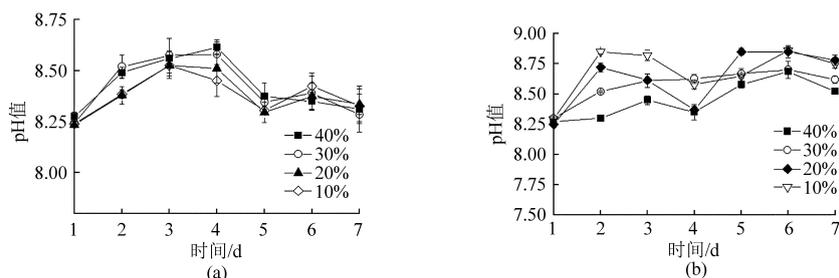


图3 不同体积分数水解酸化流出物培养小球藻培养液 pH 值变化曲线

Fig. 3 Changes of pH value in different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater by *Chlorella* sp.

(a) 未添加磷酸盐 (b) 添加磷酸盐

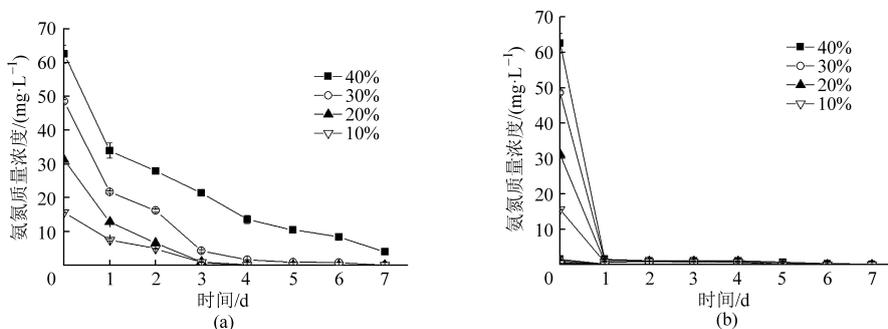


图4 不同体积分数水解酸化流出物培养小球藻培养液中氨氮变化曲线

Fig. 4 Changes of ammonia content in different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater by *Chlorella* sp.

(a) 未添加磷酸盐 (b) 添加磷酸盐

从图 5a 可以看出,未添加磷的实验组,总磷质量浓度迅速下降,4 d 后各实验组水解酸化流出物中总磷几乎已经去除完全。图 5b 中即使向培养液中添加了磷酸盐,但培养液中的总磷初始值依然不是

很高。在培养 1 d 后,磷质量浓度迅速下降,几乎已经全部去除。从图 5b 可以看出,添磷也有利于小球藻对磷的快速吸收利用。

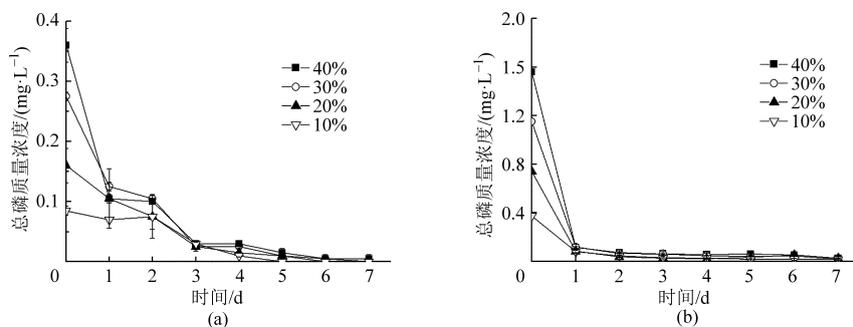


图5 不同体积分数水解酸化流出物培养小球藻培养液总磷变化曲线

Fig. 5 Changes of total phosphorus content in different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater by *Chlorella* sp.

(a) 未添加磷酸盐 (b) 添加磷酸盐

2.4.2 COD

图 6a 可以明显看出,在小球藻培养过程中各体积分数水解酸化流出物 COD 值几乎呈现同样的下降趋势,下降幅度明显。培养液的初始 COD 值很高,20%~40% 体积分数的废水 6 d 时培养液中的 COD 值均已经减少到了初始值的一半左右,培养到第 7 天时整个体系中的 COD 已经减少到一个相对较低的程度,培养液中的有机物含量相比于之前已

经大大降低。培养 7 d 后小球藻使酿醋废水中 COD 降低约为 60.0%~76.5%。

图 6b 可以看出添加磷酸盐后的培养液的 COD 变化趋势比较明显。培养过程中,一开始 COD 值几乎呈现直线下降的情况。到第 7 天培养液中的 COD 值则都处于比较低的状态。各体积分数废水流出物中小球藻对 COD 的降低率可达到 85.2%~96.6%。相比未添加磷酸盐的实验组,添加磷酸盐

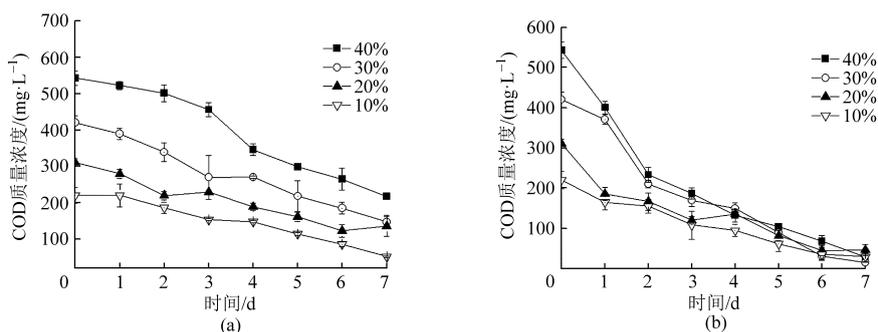


图6 不同体积分数水解酸化流出物培养小球藻培养液氨氮变化曲线

Fig. 6 Changes of COD content in different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater by *Chlorella* sp.

(a) 未添加磷酸盐 (b) 添加磷酸盐

后对培养液 COD 有显著降低作用。

2.4.3 挥发性有机酸的净化作用

使用气相色谱对培养液进行分析表明：酿醋废水培养液中所含有的酸大部分为乙酸，同时还含有

丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸、正戊酸等有机酸。以此培养条件下生长状况较好的 30% 体积分数的培养组为例考察小球藻对挥发性有机酸的利用情况 (图 7)。

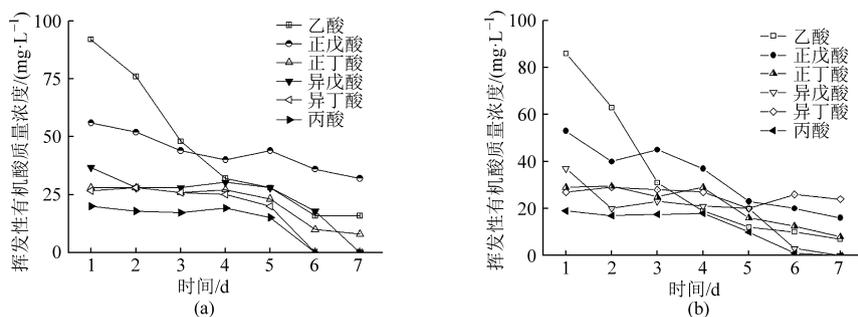


图7 水解酸化流出物培养小球藻培养液挥发性有机酸变化曲线

Fig. 7 Changes of VFAs content in 30% volume fraction hydrolyzate of vinegar fermentation wastewater by *Chlorella* sp.

(a) 未添加磷酸盐 (b) 添加磷酸盐

图 7 可以看出乙酸的起始质量浓度高于其他各酸的质量浓度，然而乙酸质量浓度随时间的变化也最大，可见小球藻在生长过程对乙酸的利用较为显著；正戊酸、正丁酸的质量浓度在培养的 7 d 中没有发生太大的变化，因此曲线较为平缓。当乙酸的质量浓度降低到 50 mg/L 左右时，丙酸、异丁酸的质量浓度也开始下降，而在此之前这 2 种酸的质量浓度一直保持与初始质量浓度相当的状态。

Wen 等报道称蛋白核小球藻 *C. Protothecoides* 在人工废水水解酸化流出物中有机酸利用顺序依次为戊酸、乙醇和丁酸，分别在培养 20 h、28 h 与 36 h 消耗殆尽^[14]。而在剩余污泥厌氧水解酸化流出物中小球藻 *C. Protothecoides* 50 ~ 100 h 乙酸快速被吸收利用，而异丁酸、丙酸、丁酸和戊酸则分别在 70、100、150、150 h 消耗殆尽^[6]。Liu 等报道称小球藻 *C. Vulgaris* ESP6 可以高效利用乙酸，但其生长受 0.5 g/L 乳酸、0.1 g/L 丁酸与 2.72 g/L HCO_3^- 以上的质量浓度的抑制。*C. Vulgaris* ESP6 在食微比 1.11 时，TAP 培养基中可以完全利用丁酸^[7]。本实验图 7b 是添磷后小球藻对挥发性有机酸的利用情

况，可以看出添磷培养进行 4 d 后，正丁酸、正戊酸、己戊酸也开始下降，这个现象可能是由于培养液中的各酸质量浓度比较低而导致其中一种酸的量满足不了小球藻的生长所需，进而开始对其他酸的利用。

2.5 酿醋废水水解酸化流出物培养小球藻的含油量与组成

图 8 为不同体积分数水解酸化流出物培养的小球藻最终所得的总油脂含量。从图中可以看出 30% 体积分数的酿醋废水水解酸化流出物培养出的小球藻含油量最高，为 24% 左右。这与前文所得出的小球藻在 30% 体积分数左右酿醋废水水解酸化流出物中的生长情况较好相吻合。在添加磷母液的实验中，40%、30% 体积分数培养液中的小球藻油脂含量略有升降，而变化较大的 20% 与 10% 体积分数培养液中的小球藻的油脂含量则有了明显上升，分别从原来的 17% 上升到了 21% 以及从 12% 上升到了 16%。说明添加磷酸盐后对低体积分数，特别是 30% 以下体积分数的培养液影响比较大，而其他体积分数的水解酸化流出物培养液则没有太大的改变。

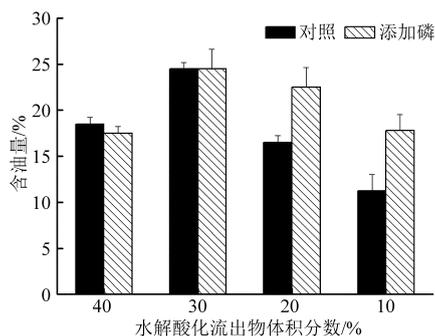


图8 不同体积分数水解酸化流出物培养小球藻含油量变化

Fig.8 Total oil content of *Chlorella* sp. cells using different volume fraction hydrolyzates of vinegar fermentation wastewater

Wen 等报道称,培养 168 h 后,小球藻 *C. Protothecoides* 在 CSTR 人工合成废水水解酸化流出物中油脂含量可达 $(27 \pm 1.11)\%$,油含量高于在同等 COD 含量葡萄糖中的培养。戊酸、乙醇与丁酸是小球藻成长的适宜碳源^[14]。小球藻 *C. Protothecoides* 在污泥 CSTR 水解酸化流出物中经 156 h 培养,油脂含量可以达到 $(21.5 \pm 1.44)\%$,生物量可以达到 0.5 g/L,此时,乙酸与异戊酸是小球藻生物量累积的最适碳源^[6]。与本实验相比有所

不同,可以看出不同水解酸化流出物成分会影响小球藻油脂的累积。

表 2 对小球藻油脂的脂肪酸成分进行了分析。可以看出 C16:0 (棕榈酸甲酯, Methyl palmitate), C16:1 (棕榈油酸甲酯, Methyl palmitoleate), C16:2 (十六碳二烯酸甲酯, Methyl hexadecadienoate), C18:1 (油酸甲酯, Methyl oleate), C18:2 (亚油酸甲酯, Methyl linoleate) 为主要成分。Rashid 等研究得出 C18:1 含量较高的油脂有利于微藻生物柴油品质的提升^[16]。C16 到 C18 的脂肪酸甲酯组分占总脂肪酸甲酯的 83.0% 到 95.5%,这个区间的脂肪酸适合生物柴油转化^[17]。从表 2 还可以看出 10% 体积分数水解酸化流出物小球藻培养组之外,添磷后饱和脂肪酸组分含量都有所下降,单不饱和脂肪酸有所上升,C16:0 组分有所减小,C16:1 组分有所增加。C20:0、C20:1 组分该株小球藻含量较低。单不饱和脂肪酸组分添磷后,组成有所增加,其中水解酸化流出物在较低体积分数 10% ~ 20% 条件下,添磷后反而有所降低。多不饱和脂肪酸组分高体积分数 40% 时,添磷后所占比重减小,其他组均有所增加。

表 2 小球藻脂肪酸成分含量变化

Tab.2 Fatty acid composition of *Chlorella* sp. cells

| 脂肪酸类别 | 体积分数 40% | | 体积分数 30% | | 体积分数 20% | | 体积分数 10% | | |
|--------------|----------|-------|----------|-------|----------|-------|----------|-------|-------|
| | 未添磷 | 添磷 | 未添磷 | 添磷 | 未添磷 | 添磷 | 未添磷 | 添磷 | |
| 饱和脂肪酸 | C16:0 | 23.07 | 13.71 | 35.37 | 16.15 | 37.31 | 21.37 | 18.81 | 16.86 |
| | C18:0 | 0.61 | 4.68 | 0.87 | 5.47 | 7.78 | 8.41 | 5.36 | 7.63 |
| | C20:0 | — | — | — | 0.42 | 0.33 | 1.05 | 0.15 | — |
| | 合计 | 23.68 | 18.39 | 36.24 | 22.04 | 45.42 | 30.83 | 24.32 | 24.49 |
| 单不饱和脂肪酸 | C16:1 | 17.81 | 25.62 | 29.37 | 33.07 | 5.17 | 16.18 | 14.67 | 23.41 |
| | C18:1 | 16.49 | 30.93 | 9.57 | 9.62 | 10.59 | 6.31 | 13.01 | 5.19 |
| | C20:1 | — | — | 0.17 | — | — | — | 0.05 | 0.67 |
| | 合计 | 34.30 | 56.55 | 39.11 | 42.69 | 15.76 | 22.49 | 27.73 | 29.27 |
| 多不饱和脂肪酸 | C16:2 | 15.72 | 11.65 | 8.61 | 15.61 | 1.13 | 20.03 | 11.62 | 21.03 |
| | C18:2 | 19.66 | 7.46 | 8.93 | 14.19 | 33.17 | 20.91 | 20.17 | 18.72 |
| | 合计 | 35.38 | 19.11 | 17.54 | 29.80 | 34.30 | 40.94 | 31.79 | 39.75 |
| C16 - C18 含量 | 93.36 | 94.05 | 92.72 | 94.11 | 95.48 | 93.21 | 83.64 | 92.84 | |

3 结论

(1) 酿醋废水经水解酸化处理后 COD、氨氮、总磷均有不同程度的减少,其中 COD、磷酸盐磷含量减少较为显著,分别减少了 61.8%、63.6%。酿醋废水水解酸化后挥发性小分子脂肪酸成分变化幅度较大。

(2) 酿醋废水水解酸化流出物添磷后,小球藻在低体积分数水解酸化流出物废水生长没有延滞期。酿醋废水水解酸化流出物体积分数高于 40% 时,小球藻生长受到显著抑制,10% ~ 30% 低体积分

数酿醋废水水解酸化流出物培养的小球藻生长状况较好,小球藻细胞浓度最高可以达到 6.6×10^7 个/mL。

(3) 小球藻对酿醋废水水解酸化流出物的净化效果显著,氨氮、总磷几乎全部去除,未添磷实验组 COD 降低率最高可以达到 60.0% ~ 76.5%,添磷可以显著提高小球藻对酿醋废水水解酸化流出物净化速度,COD 降低率达到 85.2% ~ 96.6%;同时该株小球藻生长可以有效降低酿醋废水水解酸化流出物中各挥发性有机酸的含量。

(4) 体积分数为 30% 的酿醋废水水解酸化流

出物培养出的小球藻含油量最高,为24%左右。添加磷有利于提高低体积分数流出物中培养微藻的油脂含量,而废水水解酸化物体积分数高低对微藻油

脂含量没有太大的影响。该株小球藻 C16 - C18 的脂肪酸甲酯含量在 83.0% ~ 95.5% 之间,具备生物柴油转化利用潜力。

参 考 文 献

- 1 王志,许樱,陈雄,等. α -酮戊二酸盐对酿醋废水厌氧发酵产沼气的影响[J]. 现代农业科技,2009(15): 280 - 281.
Wang Z, Xu Y, Chen X, et al. Effect of α -ketoglutarate on anaerobic batch methane fermentation of vinegar brewing wastewater[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2009(15): 280 - 281. (in Chinese)
- 2 任南琪,丁杰,陈兆波. 高浓度有机工业废水处理技术[M]. 北京:化学工业出版社,2012.
- 3 Ma W L, Qi R, Zhang Y, et al. Performance of successive hydrolysis denitrification and nitrification system for simultaneous removal of COD and nitrogen from terramycin production wastewater[J]. Biochemical Engineering Journal, 2009, 45(1): 30 - 34.
- 4 Bravo A D, Filippi G R, Chamy R. Anaerobic treatment of low-strength wastewater with a high fraction of particulate matter in an unconventional two-phase ASBRs system[J]. Biochemical Engineering Journal, 2009, 43(3): 297 - 302.
- 5 Kim W, Shin S G, Cho K, et al. Performance of methanogenic reactors in temperature phased two-stage anaerobic digestion of swine wastewater[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2012, 114(6): 635 - 639.
- 6 Liu C H, Chang C Y, Liao Q, et al. Photoheterotrophic growth of *Chlorella vulgaris* ESP6 on organic acids from dark hydrogen fermentation effluents[J]. Bioresource Technology, 2013, 145(10): 331 - 336.
- 7 Wen Q, Chen Z, Li P, et al. Lipid production for biofuels from hydrolyzate of waste activated sludge by heterotrophic *Chlorella protothecoides*[J]. Bioresource Technology, 2013, 143(9): 695 - 698.
- 8 Lin L, Wan C, Liu X, et al. Effect of initial pH on mesophilic hydrolysis and acidification of swine manure[J]. Bioresource Technology, 2013, 136(5): 302 - 308.
- 9 Rippka R, Deruelles J, Waterbury J, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria[J]. Journal of General Microbiology, 1979, 111: 1 - 61.
- 10 Bigogno C, Khozin-Goldberg I, Boussiba S, et al. Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid[J]. Phytochemistry, 2002, 60(5): 497 - 503.
- 11 Lepage G, Roy C C. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification[J]. Journal of Lipid Research, 1984, 25(12): 1391 - 1396.
- 12 Hsieh C, Wu W. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(17): 3921 - 3926.
- 13 邵淑萍. 醋糟厌氧发酵产生氢气和甲烷的研究[D]. 镇江:江苏大学,2015.
Shao S P. Study on hydrogen and methane produced by anaerobic fermentation of vinegar residue[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2015. (in Chinese)
- 14 Wen Q, Chen Z, Li P, et al. Lipid production for biofuels from effluent-based culture by heterotrophic *Chlorella protothecoides*[J]. Bioenergy Research, 2013, 6: 877 - 882.
- 15 霍书豪,陈玉碧,刘宇鹏,等. 添加沼液的BG11营养液微藻培养实验[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 CSAE, 2012, 28(8): 241 - 246. (in Chinese)
- 16 Rashid U, Anwar F, Moser B R, et al. Moringa oleifera oil: a possible source of biodiesel[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(17): 8175 - 8179.
- 17 Huang G H, Chen F, Wei D, et al. Biodiesel production by microalgal biotechnology[J]. Applied Energy, 2010, 87(1): 38 - 46.