

doi: 10.6041/j.issn.1000-1298.2024.S2.034

# 不同微藻培养处理下餐厨垃圾沼液氨吹脱剩余液 净化效果研究

郭春春<sup>1</sup> 郭 亭<sup>2</sup> 王亮才<sup>3</sup> 徐剑翔<sup>3</sup> 董仁杰<sup>1</sup> 柳 珊<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 农业农村部种养结合重点实验室, 南京 210014;

3. 金华格莱铂新能源环保科技有限公司, 金华 321000)

**摘要:** 餐厨垃圾沼液富含丰富的营养物质, 沼液经过氨吹脱后的剩余液仍然含有大量的氮磷养分, 是微藻培养潜在的优质培养基。选取小球藻和四尾栅藻两种微藻为研究对象, 对餐厨垃圾沼液氨吹脱后的剩余液(本文中称为“氨吹脱沼液”)进行微藻培养处理, 研究其在不同浓度沼液(质量分数20%、40%、60%、80%和100%)中的生长特性、对沼液中污染物净化效果以及胞外聚合物的分泌情况。研究结果显示, 两种微藻在中低浓度沼液(质量分数40%~60%)中生长状态良好, 小球藻在质量分数40%的沼液中可获得最高生物量1.0 g/L, 四尾栅藻在沼液质量分数为60%时获得最大生物量0.9 g/L, 但是在高浓度沼液(质量分数80%~100%)中微藻生长受到一定抑制, 氮磷的去除效果降低。利用中低浓度沼液(质量分数20%~60%)培养小球藻和四尾栅藻时, 对总氮、硝态氮、总磷和化学需氧量的去除效果较好, 小球藻对应的去除率最高分别为41.14%、48.64%、77.70%和62.08%; 四尾栅藻对应的去除率最高分别为59.10%、58.39%、82.65%和63.43%, 高于小球藻。经过胞外聚合物分析, 发现随着培养时间的延长, 微藻的胞外聚合物含量先增加后减少; 小球藻在40%沼液中含量最高, 而四尾栅藻在80%沼液中含量最高, 且通过三维荧光光谱分析发现, 胞外聚合物主要有机物为溶解性微生物副产物和富里酸。因此, 综合考虑微藻生物量、氮磷养分去除效率和沼液稀释成本, 四尾栅藻在餐厨垃圾沼液处理中表现出较高的适应性。

**关键词:** 沼液; 氨吹脱; 小球藻; 四尾栅藻; 氮磷去除; 胞外聚合物

**中图分类号:** X71 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2024)S2-0330-10

## Purification Effects of Ammonia Stripping Residual Liquid from Anaerobic Digestion Food Effluent by Two Microalgae Cultivation

GUO Chunchun<sup>1</sup> GUO Ting<sup>2</sup> WANG Liangcai<sup>3</sup> XU Jianxiang<sup>3</sup> DONG Renjie<sup>1</sup> LIU Shan<sup>1</sup>

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Key Laboratory for Crop and Animal Integrated Farming, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China

3. Jinhua Gelaibo New Energy Environmental Technology Co., Ltd., Jinhua 321000, China)

**Abstract:** Anaerobic digestion food effluent (ADFE) is rich in nutrients, and the residual liquid after ammonia stripping still contains a large amount of nitrogen and phosphorus nutrients, making it a potential high-quality culture medium for microalgae cultivation. Two microalgae, *Chlorella sp.* and *Scenedesmus quadricauda* (*S. quadricauda*), were selected as the objects of study, and the residual liquid after ammonia stripping of ADFE (referred to as “ammonia stripping digestate”) was cultured, and the growth characteristics, purification effect of pollutants and secretion of extracellular polymers (EPS) were investigated in the digestate at different concentrations (20%, 40%, 60%, 80% and 100%). The results showed that both microalgae species grew well in medium to low concentrations of digestate (40%~60%). *Chlorella sp.* achieved the highest biomass of 1.0 g/L in 40% concentration of ammonia stripped digestate, while *S. quadricauda* obtained the maximum biomass of 0.9 g/L at a 60% concentration. However, in high concentrations of digestate (80%~100%), the growth of microalgae was somewhat inhibited, and the removal efficiency of nitrogen and phosphorus was decreased. When cultivating *Chlorella sp.* and *S. quadricauda* with medium to low concentrations of digestate (20%~

收稿日期: 2024-08-08 修回日期: 2024-09-15

基金项目: 金华市科技计划项目(2022-3-066)和农业农村部种养结合重点实验室开放项目(202306)

作者简介: 郭春春(2000—),女,硕士生,主要从事生物质工程及环境影响评价研究, E-mail: gcc0329@cau.edu.cn

通信作者: 柳珊(1985—),女,副教授,博士,主要从事生物有机废弃物资源化利用研究, E-mail: liu610shan@cau.edu.cn

60%), the removal effects on total nitrogen, nitrate nitrogen, total phosphorus, and chemical oxygen demand (COD) were the best. The highest removal rates for *Chlorella sp.* were 41.14%, 48.64%, 77.70%, and 62.08%, respectively; while for *S. quadricauda*, the highest removal rates were 59.10%, 58.39%, 82.65%, and 63.43%, which were higher than those of *Chlorella sp.* Analysis of EPS also revealed that the content of EPS in microalgae was firstly increased and then decreased with extended cultivation time. *Chlorella sp.* had the highest content in 40% digestate, whereas *S. quadricauda* had the highest content in 80% digestate. Furthermore, three-dimensional fluorescence spectroscopy analysis indicated that the main organic components of EPS were soluble microbial by-products and fulvic acids. Therefore, considering the microalgal biomass, nitrogen and phosphorus nutrient removal efficiencies, and the cost of digestate dilution, *S. quadricauda* showed high adaptability in ADFE treatment. The research result can provide insights into the sustainable management and resource utilization of digestate.

**Key words:** anaerobic digestate; ammonia stripping; *Chlorella sp.*; *S. quadricauda*; nitrogen and phosphorus removal; extracellular polymeric substances

## 0 引言

餐厨垃圾沼液 (Anaerobic digestion food effluent, ADFE) 的处理是整个餐厨垃圾管理过程中至关重要的环节。这种沼液含有高浓度的氮磷养分,具有较高的化学需氧量 (Chemical oxygen demand, COD) 和生化需氧量,若未经适当处理,ADFE 的排放将对天然水体造成严重污染,并可能引发水体的富营养化问题<sup>[1]</sup>。尽管已有多种物理或化学方法应用于 ADFE 的处理,但它们因高能耗和可能产生新污染物而受到限制<sup>[2]</sup>。当前,通过氨吹脱回收氮是一种沼液高效资源化的处理方式,但是沼液氨吹脱后剩余液含有一定浓度氮养分<sup>[3]</sup>,仍然需要进行后续的利用预处理。微藻培养作为一种环境友好的生物技术,主要是通过其光合作用和代谢过程,吸收和转化废水中的氮、磷等营养物质,减少水体富营养化,已被证明是一种经济有效的废水净化处理的替代方案<sup>[4]</sup>。文献<sup>[5]</sup>报道,臭氧和空气吹脱联合预处理后的沼液废水可以直接进行培养微藻,且废水的出水水质基本达到排放标准。采用氨吹脱和臭氧氧化对牛场沼液进行预处理后用于培养小球藻,氨氮、总氮、COD 的去除率可分别达到 100%、92.84%、45.92%<sup>[6]</sup>。

沼液中富含微藻生长所需的大量营养物质 (氮和磷),而且已有许多研究证实,可以通过培养微藻来处理厌氧消化废水并实现增值<sup>[2, 7-8]</sup>。然而,沼液中的高浊度、高氨氮和高 COD 对其在微藻培养中的应用构成了重大威胁。ADFE 的氨氮 (Ammonia nitrogen,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) 质量浓度可高达 3 000 mg/L 以上,明显高于微藻的耐受极限<sup>[9]</sup>,且高浊度可能阻碍光线穿透,从而抑制微藻的光合作用。尽管像小球藻这样的微藻利用  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  作为首选的氮源,但在高氨氮浓度和碱性 pH 值下仍对微藻有剧毒<sup>[10]</sup>。在许多研究中,沼液通常稀释 10~25 倍,甚至高达 50 倍,来降低对微藻的毒性,但这涉及不可持续的淡水成本,工艺成本的增加不利于该技术的应用<sup>[11-12]</sup>。

ADFE 在使用前需要经过适当处理,以达到适宜的有机质或营养浓度,避免对微藻生长造成抑制。此外,微藻对沼液中有毒成分 (如  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) 的耐受性是物种特异性的,不同微藻在各种沼液中生长的能力及其相应的氮磷去除效率差异较大<sup>[4, 9]</sup>,微藻种类对微藻净化废水的效果至关重要<sup>[13]</sup>。对于餐厨垃圾沼液的微藻净化处理策略,采用耐高氨氮藻种和适合沼液浓度,可以有效提高微藻培养资源效率和经济可行性。

为探究餐厨垃圾沼液作为微藻生长介质的潜力及不同微藻净化沼液的适应性,本文采用餐厨垃圾沼液氨吹脱后的剩余液为培养基,通过氨吹脱降低氨氮浓度来降低对微藻的抑制,同时降低沼液作为培养基的稀释比。研究不同稀释浓度氨吹脱沼液作为微藻生长培养基的条件下小球藻 (*Chlorella sp.*) 和四尾栅藻 (*S. quadricauda*) 的生长特性、色素累积和沼液养分去除效率;同时对其生长过程中分泌的胞外聚合物 (Extracellular polymeric substances, EPS) 进行分析;综合评估不同微藻培养条件下微藻生物量和氮磷去除效果,以为 ADFE 的资源化利用和微藻净化废水方面的应用提供数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种及其培养

采用的藻种为小球藻 FACHB-31 (*Chlorella sp.*) 和四尾栅藻 FACHB-44 (*S. quadricauda*),均购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。在试验开始前,将其在光照培养箱中进行初步扩大培养。培养温度为 25℃,光强为 4 000 lx,每日光暗时长分别为 14、10 h 并早晚振荡一次,培养基为经过高压灭菌的 BG11 培养基。

### 1.2 沼液及其氨吹脱处理

试验所用的餐厨垃圾沼液取自金华某餐厨垃圾沼气工程出料,取回后首先经过 10 000 r/min 离心 10 min

以去除沉淀,然后放置于4℃冷藏室中保存备用。为提高沼液资源化利用,首先采用氨吹脱预处理回收沼液中的氮,以降低剩余沼液中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度,同时大幅度降低后续氨吹脱沼液剩余液作为培养基的稀释倍数。本试验餐厨垃圾沼液氨吹脱过程中,不投入碱化学品,温度设定为55℃,空气流速为20 L/min,曝气吹脱时间为48 h, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率80%。以此氨吹脱沼液剩余液(本文中称为“氨吹脱沼液(Ammonia stripping digestate, ASD)”)用于后续的研究。原沼液及氨吹脱后沼液理化性质见表1。

表1 沼液理化性质

Tab. 1 Characterization of digestate

参数	数值	
	原沼液	氨吹脱沼液
pH值	8.28±0.01	9.06±0.05
电导率/( $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	26.77±0.29	23.07±1.41
总氮质量浓度/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	3 062.15±225.7	906.15±7.80
$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	2 581.81±34.74	430.04±29.07
总磷质量浓度/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	63.60±2.40	40.59±1.01
COD/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	7 928.73±1711.59	7 124.34±351.73

### 1.3 两种微藻在不同浓度氨吹脱沼液中的适应性试验

首先,利用蒸馏水将上述预处理的餐厨垃圾沼液分别稀释至质量分数20%、40%、60%、80%和100%,经过高温灭菌后,调节pH值为7.5~8.0,以不稀释沼液为对照,每个试验组3个平行。在1 L锥形瓶中,将200 mL活性小球藻和四尾栅藻分别接种到600 mL不同浓度的氨吹脱沼液中进行培养。初始微藻接种质量浓度为0.3 g/L,培养温度为25℃,光强为4 000 lx,每日光暗时长分别为14、10 h并早晚振荡一次,通气量为200 mL/min,磁力搅拌速度为100 r/min,培养周期为12 d,每隔2 d取样一次,监测生物量、色素、EPS的变化,8 000 r/min离心10 min后收集上清液检测水样中TN、硝态氮(Nitrate,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ )、TP质量浓度和COD的变化。

### 1.4 指标检测方法

#### 1.4.1 生物量与光合色素测定

生物量的测定采用光密度法,使用UV-2800型紫外分光光度计测定其在波长680 nm下的光密度(OD680)来表征细胞密度,试验开始前确定藻细胞在680 nm下的吸光度与藻细胞干重的标准曲线,试验中将测定的OD680(扣除了沼液本身的吸光度)代入标准曲线中以确定微藻生物量干重(DW)。

微藻比生长速率和生产力计算公式为

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

$$P_b = \frac{N_1 - N_2}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

式中  $\mu$ —微藻比生长速率,  $\text{d}^{-1}$

$P_b$ —微藻生产力,  $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$

$N_1$ — $t_1$ 时质量浓度, g/L

$N_2$ — $t_2$ 时质量浓度, g/L

光合色素用90%的甲醇溶液提取后采用分光光度法测定,取10 mL的混合样品,5 000 r/min离心10 min后去除上清液加入10 mL 90%的甲醇,置于冰箱中4℃下黑暗处理24 h,经离心后取上清液,分别测定在470、652、665 nm波长处吸光度,根据文献[14]计算叶绿素a(Chl a)、叶绿素b(Chl b)和类胡萝卜素(Car)质量浓度。

#### 1.4.2 水质指标检测

pH值采用Orion 5-Star pH计测定;电导率采用电导率仪测定; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的测定采用纳氏试剂分光光度法(HJ 535-2009);TN含量的测定采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(HJ 636-2012);总磷含量测定采用钼酸铵分光光度法(GB 11893-89); $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量测定采用紫外分光光度法(HJ/T 346-2007);COD采用重铬酸钾分光光度法测定。TN、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TP和COD去除效率计算公式为

$$R = \frac{C_i - C_0}{C_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中  $R$ —各营养物质去除效率, %

$C_0$ —营养物质初始质量浓度, mg/L

$C_i$ —第 $t$ 天营养物质质量浓度, mg/L

#### 1.4.3 EPS及三维荧光的分析方法

采用超声加热法提取微藻的EPS,包括松散结合型EPS(LB-EPS)和紧密结合型EPS(TB-EPS)<sup>[15]</sup>。采用考马斯亮蓝法<sup>[16]</sup>和苯酚-硫酸法<sup>[17]</sup>分别测定EPS中蛋白质(PN)和多糖(PS)含量。采用荧光光谱仪(HORIBA Aqualog公司,日本)对微藻中的EPS成分进行了分析。发射(Em)波长范围为250~550 nm,扫描间隔为5 nm;激发(Ex)波长范围为220~450 nm,扫描间隔为5 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 两种微藻在不同浓度氨吹脱沼液中的生长情况

#### 2.1.1 生物量

小球藻和四尾栅藻在不同浓度氨吹脱沼液中的生长情况如图1a、1b所示。结果表明,无论培养基和藻种如何,在前4 d生长较快,无明显的滞后期,表明微藻对ASD具有较好的适应能力。一方面,稀释ASD的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度(26.58~126.20 mg/L)适宜,并未抑制微藻生长;另一方面,ASD中存在相对较高浓度的有机碳,这与研究报道的有机碳的添加极大地刺激了微藻的生长一致<sup>[18]</sup>。

表2结果表明,小球藻在质量分数40%的ASD中培养的微藻获得了最佳生物量((1.00±0.23) g/L)和生物量生产力((57.80±5.35)  $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ),其他浓度的ASD中的微藻生长不如质量分数40%的ASD中的微藻,这是因为质量分数20%的ASD的营养物质不足以满足藻类生长,而更大浓度的ASD的深色阻碍了光的穿透<sup>[12]</sup>。四尾栅藻在质量分数60%的ASD中培养的微藻获得了最佳的生物量((0.90±0.06) g/L)和生物量生产力((49.67±

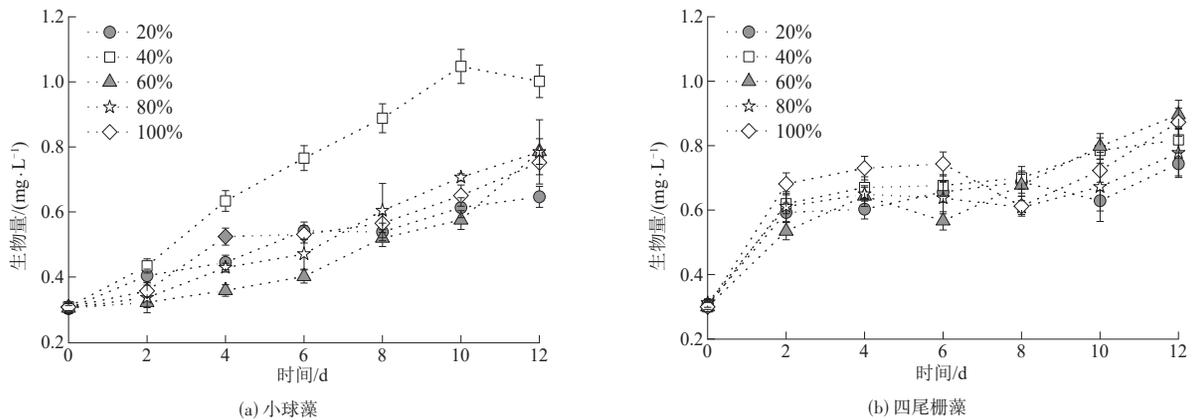


图 1 不同氨吹脱沼液浓度下微藻生物量变化曲线

Fig. 1 Changes in biomass of microalgae at different concentrations of ASD

表 2 小球藻和四尾栅藻的生物量、平均生产力和比生长速率

Tab. 2 Final biomass concentration (DW), average biomass productivity  $P_b$  and specific growth rates  $\mu$  of *Chlorella sp.* and *S. quadricauda*

藻种	参数	20%ASD	40%ASD	60%ASD	80%ASD	100%ASD
小球藻	DW/(g·L <sup>-1</sup> )	(0.65±0.10) <sup>e</sup>	(1.00±0.23) <sup>a</sup>	(0.79±0.09) <sup>b</sup>	(0.78±0.10) <sup>b</sup>	(0.75±0.02) <sup>b</sup>
	$P_b$ /(mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	(28.63±3.64) <sup>d</sup>	(57.82±5.35) <sup>a</sup>	(40.27±3.65) <sup>b</sup>	(39.99±0.69) <sup>b</sup>	(37.07±1.12) <sup>f</sup>
	$\mu$ /d <sup>-1</sup>	(0.064±0.018) <sup>d</sup>	(0.099±0.023) <sup>a</sup>	(0.080±0.001) <sup>b</sup>	(0.078±0.031) <sup>b</sup>	(0.075±0.028) <sup>f</sup>
四尾栅藻	DW/(g·L <sup>-1</sup> )	(0.74±0.10) <sup>d</sup>	(0.82±0.06) <sup>bc</sup>	(0.90±0.06) <sup>a</sup>	(0.78±0.08) <sup>cd</sup>	(0.78±0.02) <sup>bd</sup>
	$P_b$ /(mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	(36.40±2.68) <sup>e</sup>	(43.17±3.41) <sup>f</sup>	(49.67±3.25) <sup>a</sup>	(38.83±2.03) <sup>d</sup>	(40.25±0.68) <sup>b</sup>
	$\mu$ /d <sup>-1</sup>	(0.074±0.026) <sup>e</sup>	(0.084±0.002) <sup>f</sup>	(0.091±0.011) <sup>a</sup>	(0.076±0.001) <sup>d</sup>	(0.080±0.050) <sup>b</sup>

2.03) mg/(L·d), 在未稀释的氨吹脱沼液中, 四尾栅藻也可以正常生长, 且高于 80% 的稀释组中。对于在未稀释的沼液组中, 由于不需要额外水源的补充, 这不仅减少了培养过程中的经济成本, 还有助于推动沼液的可持续资源化利用。

比生长速率  $\mu$  通常被认为是评估废水中微藻生长状况的重要标准。 $\mu$  值越高表明微藻具有较强的环境适应性, 通常与较高的养分去除效率呈正相关<sup>[19]</sup>。表 2 显示了培养期间平均比生长速率  $\mu$ 。20%、40%、60%、80%、100% ASD 培养的小球藻比生长速率分别为 0.064、0.099、0.080、0.078、0.075 d<sup>-1</sup>, 差异显著 ( $p < 0.05$ ), 沼液浓度增加会刺激  $\mu$  增加, 直到 40% 的沼液质量分数。对于四尾栅藻, 60% ASD 作为培养基时获得最大的  $\mu$ , 为 0.091 d<sup>-1</sup>。结果表明, 与其他稀释浓度相比, 小球藻在 40% 浓度的 ASD 的条件下生长最佳, 而四尾栅藻可以在 60% 浓度的沼液中生长良好, 这可能是因为在高 N/P 比下生长良好<sup>[20]</sup>。两种微藻之间的比较还表明, 当在 100% ASD 下生长时, 四尾栅藻表现出比小球藻更高的动力学参数。具体而言, 四尾栅藻平均生产力和比生长速率分别为 (40.25±0.68) mg/(L·d) 和 (0.078±0.050) d<sup>-1</sup>, 相反, 小球藻值为 (37.07±1.12) mg/(L·d) 和 (0.075±0.028) d<sup>-1</sup>, 这表明尽管两种微藻在环境适应方面都有其固有的特征, 但四尾栅藻可能更具有更好的适应性。

小球藻属和四尾栅藻已被证明可有效从各种类型的废水中回收营养物质, 这些废水富含碳、氮、磷或硫等必需元素的化合物<sup>[12, 21]</sup>。这些营养物质在微藻生长、

生物质生产和高附加值代谢物合成中起着关键作用<sup>[22]</sup>。先前的研究已证明了微藻在废水修复方面的潜力, 例如, 使用稀释的厨余垃圾厌氧消化液 (ADE-KW) 培养微藻是可行的, 使用 1/15 稀释比例可以获得最佳生物量 (小球藻 SDEC-18: 0.42 g/L, 栅藻 SDEC-8: 0.55 g/L)<sup>[12]</sup>; 在厌氧消化的食物废水 (FWE) 中培养微藻, 用于处理废水并同时生产生物柴油, 其中, 1/20 稀释 FWE 的生物量产量最高 (1.49 g/L), 脂质含量在 1/10 稀释 FWE 中最高 (35.06%)<sup>[4]</sup>。上述发现为小球藻和四尾栅藻在不同浓度氨吹脱沼液中的培养提供了研究背景, 且与本研究中的观察结果相一致。

### 2.1.2 光合色素

光合色素在微藻的光合作用中发挥着重要的作用。微藻的光合色素包括叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b (Chl b) 和类胡萝卜素 (Car) 等, 这些色素不仅参与光能的捕获和转化, 还影响微藻对光的吸收特性<sup>[23]</sup>。微藻的色素含量可以反映藻细胞的光合活性。本研究中, 微藻的叶绿素 a 含量随着沼液浓度的增加呈现增长趋势, 沼液浓度的提高可以刺激色素的累积 (图 2)。先前的研究表明, 光合色素具有双重作用, 不仅有助于藻类生长的光吸收, 而且还刺激抗氧化反应以防止细胞损伤<sup>[24]</sup>。Chl a/Chl b 比表明了与 PS II 光化学反应速率相关的光捕获能力<sup>[25]</sup>。关于 Chl a/Chl b 比, 当光收集能力因 PS II 光化学反应速率下降而减弱时, 该比值可能会升高<sup>[26]</sup>。在两种微藻处理组中, 都发现在高浓度沼液 (80% 和 100% ASD) 中 Chl a/Chl b 比急剧增加, 相对于

20%处理组中增加101.48%~172.91%，表明随着沼液浓度的提高，藻细胞受到更高浊度的影响导致光合作用

受到抑制。

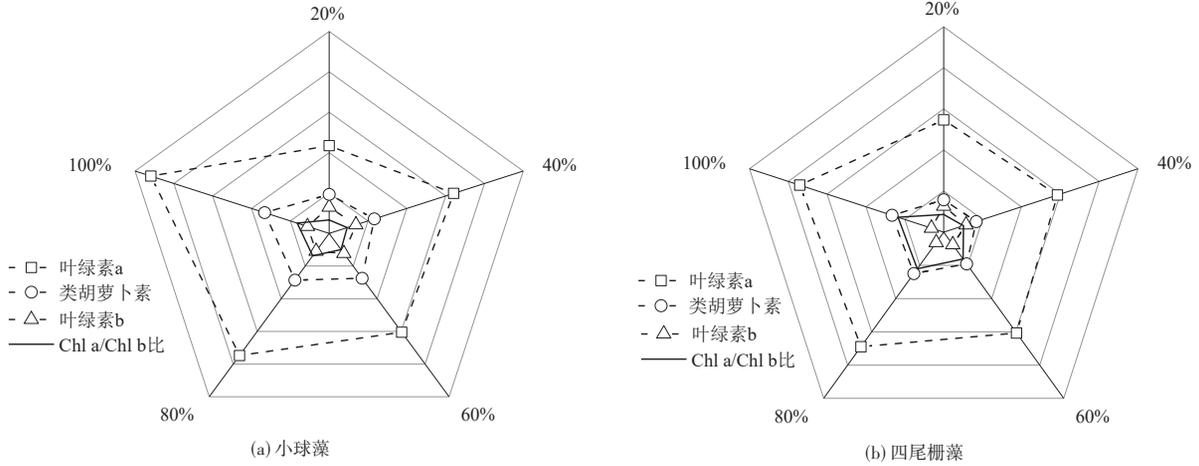


图2 不同氨吹脱沼液浓度下微藻的光合色素变化

Fig. 2 Changes in pigments of microalgae at different concentrations of ASD

类胡萝卜素的过度生物合成被认为是一种防御机制，可以抵御恶劣条件诱导的氧化应激<sup>[25]</sup>。由图2可知，小球藻的类胡萝卜素含量高于四尾栅藻，但两种微藻的色素含量变化趋势一致，都随着沼液浓度的增加类胡萝卜素也逐渐增加，相对于20%氨吹脱沼液组中，小球藻四尾栅藻的Car质量浓度分别增加72.10%和68.61%，在高浓度沼液中可以合成类胡萝卜素来抵抗恶劣环境。

随着沼液质量分数增加，TN去除率分别为33.01%、41.14%、15.96%、11.94%和12.01%，在40%质量分数沼液中获得最大去除率，这与微藻在40%质量分数沼液中获得最大生物量相对应，在高浓度沼液中去除效率急剧下降，这也是由于高浓度沼液对小球藻生长的抑制引起的。硝酸盐是氮的替代来源，一些微藻喜欢硝酸盐<sup>[27-28]</sup>。尽管本研究中使用的小球藻，但它也能够吸收硝酸盐(图3b)。在各处理中，NO<sub>3</sub>-N去除率为38.29%~48.64%。

## 2.2 营养物质去除效果

### 2.2.1 小球藻去除效果

图3显示了小球藻对TN、NO<sub>3</sub>-N、TP及COD去除效

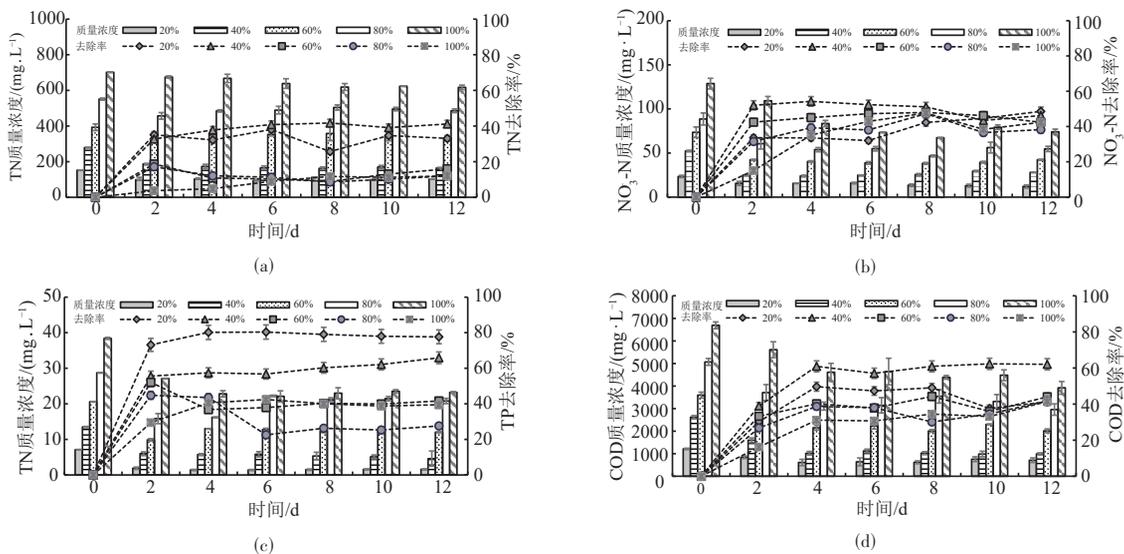


图3 小球藻在不同氨吹脱沼液质量分数中养分的去除情况

Fig. 3 Nutrient removal by *Chlorella sp.* in different concentrations of ASD

各处理组中，TP初始质量浓度分别为7.10、13.47、20.59、28.72、38.40 mg/L，培养至12 d，各处理组中TP质量浓度分别降至1.56、5.09、12.37、21.46、23.52 mg/L，去除效率分别为77.70%、65.90%、41.63%、27.56%和39.48%。对于TP去除效率，在20%和40%质量分数的氨吹脱沼

液中表现效果较好，在20%ASD组中获得最大的去除率，为77.70%。微藻去除磷的途径主要有两种：一是通过微藻生长同化吸收培养液中的磷元素；二是藻细胞的光合作用使溶液中的pH值上升，磷元素以难溶盐的形式沉淀下来<sup>[29]</sup>。

COD 去除效果反映微藻去除有机物的能力,在 20%、40%、60%、80%、100% 质量分数的沼液组中 COD 分别由 1 211.74、2 616.30、3 595.08、5 069.11、6 691.33 mg/L 降至 711.42、992.15、2 013.44、2 956.46、3 918.47 mg/L,去除效率分别为 41.29%、62.08%、43.99%、41.68%、41.44%。COD 去除效率随着沼液浓度的增加先增加后减少,在 40% 氨吹脱沼液处理组中获得最大的去除率。文献[30]利用小球藻处理不同浓度猪粪沼液时也发现了同样的结论。

在养分去除方面,小球藻在 20% 的氨吹脱沼液处理组中表现出最高的  $\text{NO}_3^-$ -N 和 TP 去除效率,而 TN 和 COD 去除效率在 40% 的沼液中最高,总之在低浓度(质量分数 20%~40%)氨吹脱沼液中营养物去除效果好。

### 2.2.2 四尾栅藻去除效果

四尾栅藻对 TN 去除效率随着沼液浓度的增加先增加后减少,在不同处理组中分别为 41.82%、59.10%、33.02%、24.32% 和 24.17%,在 40% ASD 处理组中获得最大的去除效率(见图 4a)。同时,观察到四尾栅藻也可以利用硝酸盐作为氮源,且去除效率为 47.66%~58.39%(图 4b)。相比小球藻,四尾栅藻对氮的去除效果较好,尤其在高浓度的沼液中效果更显著,表明四尾栅藻更适合处理餐厨垃圾沼液。

对于 TP,由图 4c 可知,四尾栅藻对较低浓度沼液中磷的去除效果较好,在 20% 和 40% ASD 组中可以去除

82.65% 和 63.53% 的磷,但对高浓度沼液中磷的去除效果较差,对沼液浓度为 60%、80% 和 100% 的废水中磷的去除率分别为 52.75% (由 19.35 mg/L 降至 9.14 mg/L)、40.29% (由 24.63 mg/L 降至 14.71 mg/L) 和 47.98% (由 31.57 mg/L 降至 16.42 mg/L)。在 60% 沼液组中在第 4 天到第 6 天,TP 去除率急剧下降可能是微藻释放物质和死细胞流出到培养基中引起的,这与该阶段生物量曲线下下降相吻合<sup>[31]</sup>。但随着培养微藻逐渐适应高浓度的沼液环境,在第 6~12 天,微藻迅速生长有着较快的生长速率,因此预计,适当延长培养时间,TP 的去除率会进一步提高。

由图 4d 可知,不同浓度氨吹脱沼液中 COD 去除率分别达 50.94%、53.81%、63.43%、47.71% 和 60.33%。即使在高浓度的沼液中仍表现出较高的去除效率。文献[32]研究发现,利用小球藻处理奶牛场沼液时,COD 的去除效率随着沼液浓度的增加而增加,由 6.9% 增加到 32.2%,这可能是由于微藻在生长过程中分泌的胞外有机物会增加水体 COD 的负荷,但对浓度越高的沼液带来的冲击越小<sup>[32]</sup>。所有处理组中,在最佳 COD 去除率之后,COD 去除率下降,COD 去除率下降的原因可能是四尾栅藻将消耗二氧化碳作为碳源,而不是溶液中不再可用的有机物质,这导致像乙醇酸这样的有机物质重新进入溶液<sup>[33]</sup>。总体而言,COD 去除效率较低是由于腐殖质物质的存在,这些腐殖质在稳定的沼液中难以生物降解<sup>[31]</sup>。

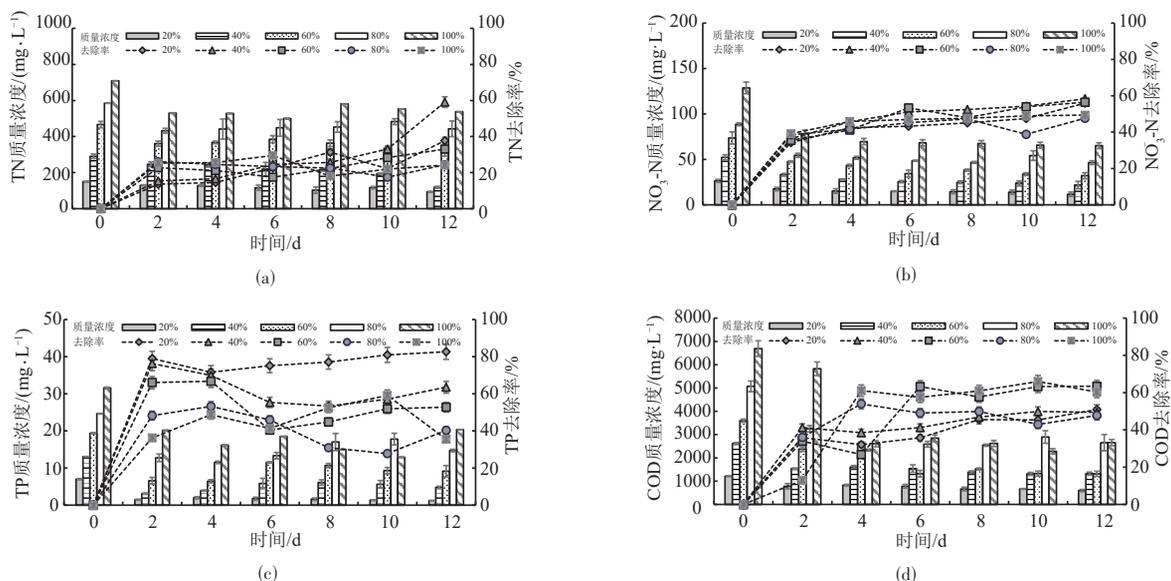


图 4 四尾栅藻在不同氨吹脱沼液浓度中养分的去除情况

Fig. 4 Nutrient removal by *Scenedesmus quadricauda* in different concentrations of ASD

综上所述, TN、 $\text{NO}_3^-$ -N、TP 和 COD 在 40%、40%、20% 和 60% ASD 组中表现最高的去除效率,但是在 40% 处理组中对于 TP 仍然可以达到 63.53% 的去除效率, COD 的去除率可达 53.81%, 为考虑稀释需要的成本, 结合微藻的生物量和营养物去除情况, 认为 40% 的沼液为四尾栅

藻生长的理想培养基。

### 2.3 EPS 分泌

#### 2.3.1 EPS 含量

微藻 EPS 是微藻系统中的关键大分子, 对微藻细胞的结构和功能特性产生深远影响。EPS 促进营养物质

的吸收和利用,能够适应环境条件,并促进与其他生物的相互作用。EPS主要成分是蛋白质、多糖以及磷脂、核酸等物质,其中,多糖和蛋白质是EPS的主要物质。EPS能被划分成松散型的LB-EPS和紧密型的TB-EPS<sup>[34]</sup>。当暴露于环境压力时,微藻会分泌更多的EPS, EPS中的蛋白质可以吸附有毒物质,多糖可以通过减缓扩散来充当物理屏障<sup>[35-36]</sup>。

不同沼液浓度下,小球藻的EPS含量如图5所示。随着培养时间的延长,小球藻的EPS含量先增加后趋于平稳,并且小球藻生物量浓度越高,EPS含量越高<sup>[37]</sup>;微

藻细胞的EPS分泌易受许多因素的影响,包括光强度、光周期、营养物质和温度等<sup>[38]</sup>。在本研究中,随着沼液浓度的升高,EPS含量也增加,在40%沼液中EPS的含量最大,在20%沼液中EPS含量最少。文献<sup>[39]</sup>也研究了氮源种类及浓度与EPS的关系,探究了当附着培养蓝藻(*Microcoleus vaginatus*)时,氮源质量浓度分别为10、25、50 mg/L时的EPS含量,发现当氮源质量浓度为10 mg/L时,EPS质量浓度最低,为2.5 mg/L,与本文研究结果相似,氮浓度越低,越不利于合成EPS。

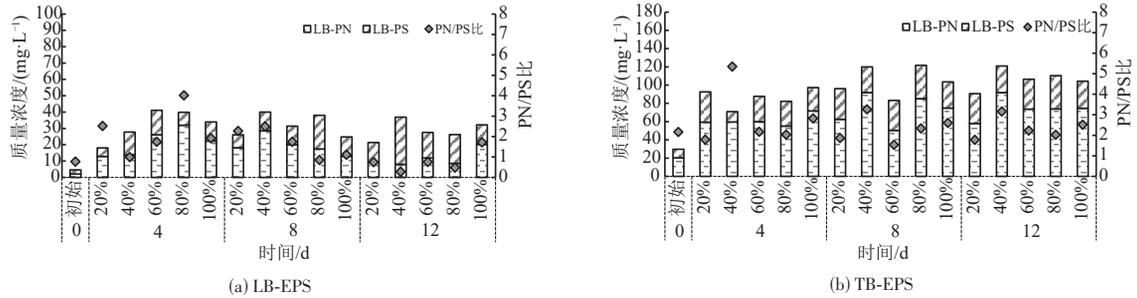


图5 小球藻在不同浓度氨吹脱沼液中EPS含量的变化

Fig. 5 Changes in EPS content of *Chlorella* sp. under different concentrations of ASD

从PN/PS比角度看,微藻EPS的PN/PS比整体有一个先降低后稳定的过程, LB-EPS在20%、40%、60%、80%和100%ASD处理组中的PN/PS比平均值分别为2.06、1.44、1.17、0.94和1.48,而TB-EPS的PN/PS比平均值分别为3.17、7.33、3.36、3.67和4.11,高于LB-EPS的比例。

四尾栅藻的EPS含量如图6所示。随着培养时间的延长,四尾栅藻的EPS的含量先增加后减少;在本研究中,随着沼液浓度的升高,EPS含量先减少并增加,在

80%沼液中EPS的含量最大,在60%沼液中EPS含量最少,这可能由于EPS不仅可以起到保护细胞的作用,还可以作为细胞外的能量和碳源<sup>[40]</sup>。

从PN/PS比角度看,微藻EPS的PN/PS比整体也有一个先降低后稳定的过程, LB-EPS在20%、40%、60%、80%和100%ASD处理组中的PN/PS比平均值分别为2.60、2.46、3.06、2.39和1.97,而TB-EPS的PN/PS比平均值分别为2.35、2.23、2.35、1.89和2.84。因此,EPS的组成中蛋白质占比大,这可以抵抗恶劣的环境保护细胞。

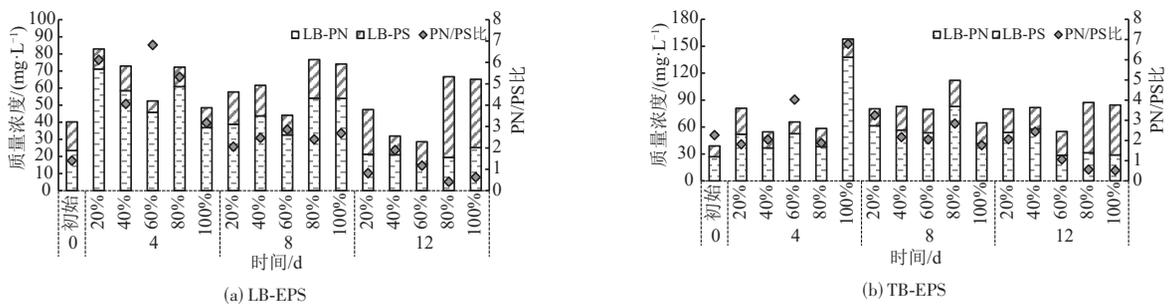


图6 四尾栅藻在不同浓度氨吹脱沼液中EPS含量的变化

Fig. 6 Changes in EPS content of *S. quadricauda* at different concentrations of ASD

### 2.3.2 EEM

通过三维荧光光谱仪测定了培养周期结束后不同浓度沼液中微藻EPS有机物组成和含量的变化(图7和图8)。光谱分为5个部分,包括芳香族蛋白(区域1和2, Ex波长小于250 nm, Em波长小于380 nm)、富里酸(区域3, Ex波长小于250 nm, Em波长大于380 nm)、溶解性微生物副产物(如色氨酸样物质)(区域4, Ex波长大于250 nm, Em波长小于380 nm)和腐殖酸有机物(区

域5, Ex波长大于250 nm, Em波长大于380 nm)<sup>[41]</sup>。

虽然峰的位置与EPS浓度无关,但是峰的强度很大程度上取决于EPS的浓度。通过测定小球藻EPS的三维荧光光谱,如图7所示,发现小球藻EPS在各个区域都出现了一定的峰,在各个处理组中区域3和区域4有强峰,表明小球藻EPS中主要是以溶解性微生物副产物和富里酸为主,随着沼液浓度的增加在区域5有峰值越来越明显,说明EPS中还存在部分腐殖酸有机物质。

四尾栅藻的荧光光谱图则与小球藻的类似,四尾栅藻 EPS 同样在区域 3、区域 4 有强峰,随着浓度的增加区域 5 的峰强度逐渐增强,相较于与小球藻,栅藻 EPS 组分

中有机物含量更多(图 8)。在未稀释的沼液中,两种微藻在区域 4 的峰值明显增强,表明在高浓度沼液中刺激了微生物的活性,产生了更多的微生物副产物。

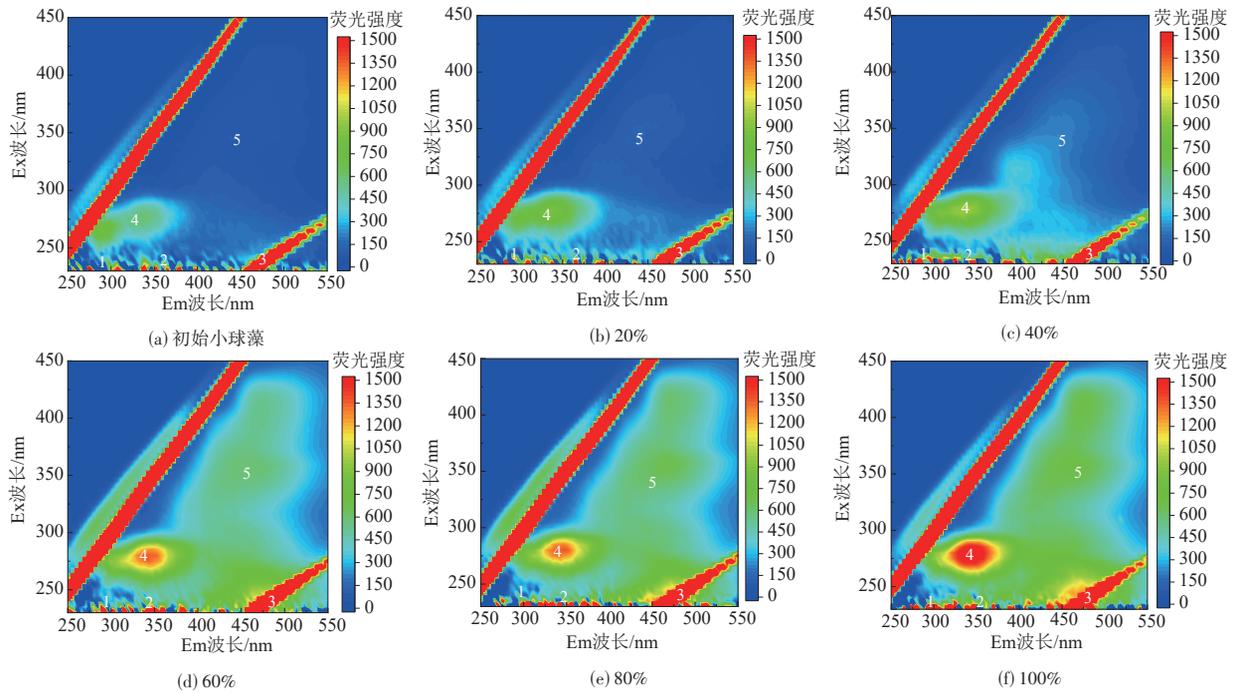


图 7 小球藻在不同浓度氨吹脱沼液中的 EEM

Fig. 7 EEM of *Chlorella* sp. at different concentrations of ASD

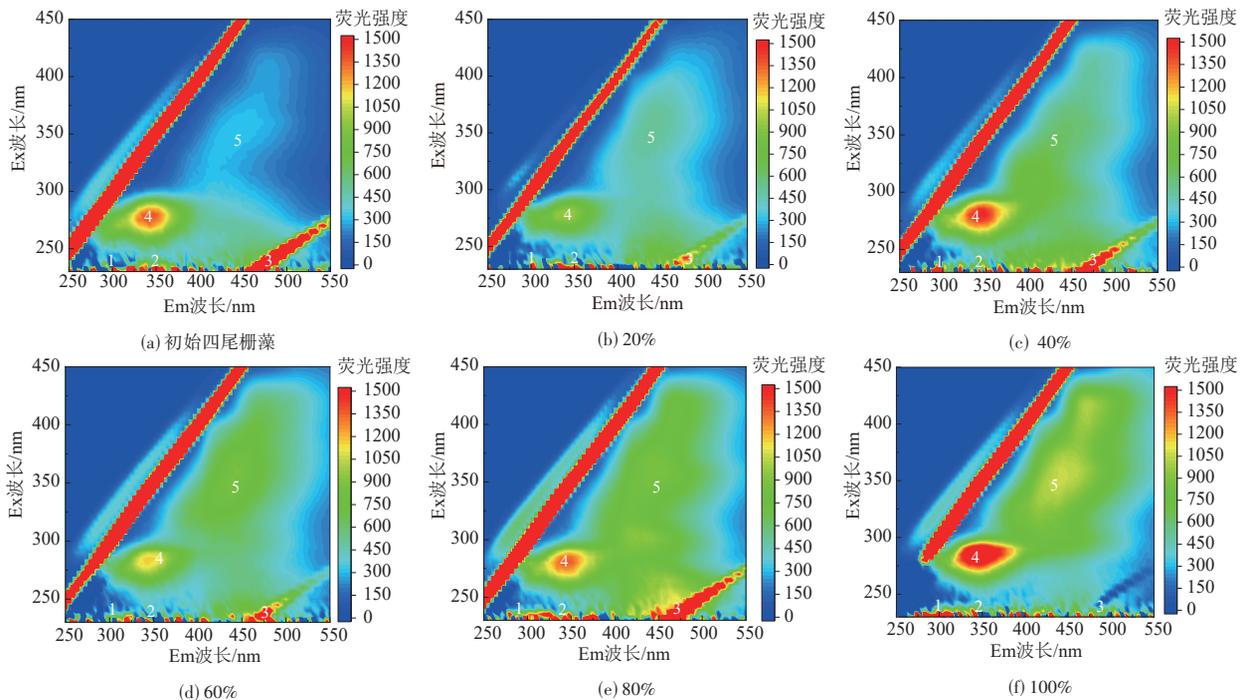


图 8 四尾栅藻在不同浓度氨吹脱沼液中的 EEM

Fig. 8 EEM of *S. quadricauda* at different concentrations of ASD

### 3 结论

(1)四尾栅藻相对于小球藻具有更强的适应性:小球藻和四尾栅藻分别在质量分数 40%、60% 的氨吹脱沼液中培养的微生物获得了最佳生物量,且在未稀释沼液中

四尾栅藻比小球藻有更好的适应性。

(2)在养分去除方面,四尾栅藻对沼液中 TN、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TP 和 COD 去除率在 40%、40%、20% 和 60% 的氨吹脱沼液中表现最佳,分别为 59.10%、58.39%、82.65% 和 63.43%,高于小球藻。

(3)随着微藻不断生长, EPS的含量先增加后趋于平稳,在高浓度的沼液处理组中更容易分泌高含量的EPS;通过EEM分析来看, EPS中主要有有机物质为溶解性微生物副产物和富里酸。

(4)综合考虑微藻生物量浓度、氮磷养分去除效率和沼液稀释成本,认为40%稀释浓度的氨吹脱沼液为理想培养基,且四尾栅藻比小球藻更适合用于沼液资源化处理。

#### 参 考 文 献

- [1] MKPUMA V O, MOHEIMANI N R, ENNACERI H. Biofilm and suspension-based cultivation of microalgae to treat anaerobic digestate food effluent (ADFE) [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 924: 171320.
- [2] CHUKA-OGWUDE D, OGBONNA J, MOHEIMANI N R. A review on microalgal culture to treat anaerobic digestate food waste effluent [J]. *Algal Research*, 2020, 47: 101841.
- [3] 刘晟. 氨吹脱耦合陶瓷膜分离装置处理餐厨垃圾沼液工艺性能研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2023.  
LIU Sheng. Technological performance of ammonia stripping coupled ceramic membrane separation device for treatment of kitchen waste biogas slurry [D]. Beijing: China Agricultural University, 2023. (in Chinese)
- [4] SHIN D Y, CHO H U, UTOMO J C, et al. Biodiesel production from *Scenedesmus bijuga* grown in anaerobically digested food wastewater effluent [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 184: 215 - 221.
- [5] 凌云, 赵陆敏, 蔡晨瑶, 等. 臭氧-吹脱预处理沼液废水以培养微藻的研究 [J]. *环境科学与技术*, 2018, 41(12): 239 - 245.  
LING Yun, ZHAO Lumin, CAI Chenyao, et al. Ozone-stripping pretreated biogas slurry to cultivate microalgae [J]. *Environmental Science and Technology*, 2018, 41(12): 239 - 245. (in Chinese)
- [6] 姜人源. 氨吹脱及臭氧氧化预处理对微藻处理猪场沼液的性能研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2021.  
JIANG Renyuan. Enhancement effect of ammonia stripping and ozonation pretreatment of liquid digestate from dairy farm by microalgae [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2021. (in Chinese)
- [7] AYRE J M, MOHEIMANI N R, BOROWITZKA M A. Growth of microalgae on undiluted anaerobic digestate of piggery effluent with high ammonium concentrations [J]. *Algal Research*, 2017, 24: 218 - 226.
- [8] NWOBA E G, MOHEIMANI N R, UBI B E, et al. Macroalgae culture to treat anaerobic digestion piggery effluent (ADPE) [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 227: 15 - 23.
- [9] CHUKA-OGWUDE D, OGBONNA J, BOROWITZKA M A, et al. Screening, acclimation and ammonia tolerance of microalgae grown in food waste digestate [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32: 3775 - 3785.
- [10] JIANG R, QIN L, FENG S, et al. The joint effect of ammonium and pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and ammonium removal in artificial liquid digestate [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 325: 124690.
- [11] CHONG C C, CHENG Y W, ISHAK S. Anaerobic digestate as a low-cost nutrient source for sustainable microalgae cultivation: a way forward through waste valorization approach [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 803: 150070.
- [12] ZHANG L, CHENG J, PEI H, et al. Cultivation of microalgae using anaerobically digested effluent from kitchen waste as a nutrient source for biodiesel production [J]. *Renewable Energy*, 2018, 115: 276 - 287.
- [13] CAI T, PARK S Y, LI Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013, 19: 360 - 369.
- [14] XIONG J Q, KURADE M B, JEON B H. Ecotoxicological effects of enrofloxacin and its removal by monoculture of microalgal species and their consortium [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 226: 486 - 493.
- [15] TANG C C, ZHANG X, HE Z W, et al. Role of extracellular polymeric substances on nutrients storage and transfer in algal-bacteria symbiosis sludge system treating wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 331: 125010.
- [16] TAN S, WEN F, LIU D, et al. Physiological responses and lipid accumulation of freshwater microalgae *Chlorella sorokiniana* under short-term zinc stress in water solution [J]. *Algal Research*, 2024, 80: 103528.
- [17] TAN X, ZHAO Z Y, GONG H, et al. Growth of *Scenedesmus obliquus* in anaerobically digested swine wastewater from different cleaning processes for pollutants removal and biomass production [J]. *Chemosphere*, 2024, 352: 141515.
- [18] CHANG Y, WU Z, BIAN L, et al. Cultivation of *Spirulina platensis* for biomass production and nutrient removal from synthetic human urine [J]. *Applied Energy*, 2013, 102: 427 - 431.
- [19] LIU X Y, HONG Y, ZHAO G P, et al. Microalgae-based swine wastewater treatment: strain screening, conditions optimization, physiological activity and biomass potential [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 807: 151008.
- [20] RHEE G Y. Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition, and nitrate uptake [J]. *Limnology and Oceanography*, 1978, 23(1): 10 - 25.
- [21] 马艳芳, 郭亭, 何荣玉, 等. IAA对高盐废水培养微藻生长特性与氮磷去除的影响 [J]. *农业机械学报*, 2023, 54(增刊2): 341 - 349.  
MA Yanfang, GUO Ting, HE Rongyu, et al. Effect of IAA on growth characteristic and nitrogen/phosphorus removal of cultivation microalgae with high-salt wastewater [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2023, 54(Supp.2): 341 - 349. (in Chinese)
- [22] SHAHID A, MALIK S, ZHU H, et al. Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric

- carbon mitigation; a review[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 704: 135303.
- [23] XU H, CHEN Y, YANG D, et al. Improved microalgae growth and lipid production in anaerobic digestate with ultraviolet radiation pretreatment[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 922: 171339.
- [24] ZHOU T, WANG J, ZHENG H, et al. Characterization of additional zinc ions on the growth, biochemical composition and photosynthetic performance from *Spirulina platensis*[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 269: 285 - 291.
- [25] YU Z, PEI H, LI Y, et al. Inclined algal biofilm photobioreactor (IABPBR) for cost-effective cultivation of lipid-rich microalgae and treatment of seawater-diluted anaerobically digested effluent from kitchen waste with the aid of phytohormones [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 315: 123761.
- [26] YU Z, PEI H, JIANG L, et al. Phytohormone addition coupled with nitrogen depletion almost tripled the lipid productivities in two algae [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 904 - 914.
- [27] MKPUMA V O, ISHIKA T, MOHEIMANI N R, et al. The potential of coupling wastewater treatment with hydrocarbon production using *Botryococcus braunii*[J]. *Algal Research*, 2023, 74: 103214.
- [28] HU Z, AN M, DUAN S S, et al. Effects of nitrogen sources on the growth, contents of total lipids and total hydrocarbons of *Botryococcus braunii*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(6): 3288 - 3294.
- [29] 陈彪, 朱勇, 王锴瑜, 等. 藻菌共生系统处理畜禽沼液的机制及影响因素研究进展[J]. *农业工程学报*, 2023, 39(13): 14 - 24.  
CHEN Biao, ZHU Yong, WANG Kaiyu, et al. Research progress on the mechanisms and influencing factors for the microalgae-bacteria symbiosis system for treating biogas slurry from livestock and poultry industry[J]. *Transactions of the CSAE*, 2023, 39(13): 14 - 24. (in Chinese)
- [30] 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.  
WANG Yuanzhu, CHENG Pengfei, LIU Defu, et al. Purification effect of piggery wastewater with *Chlorella pyrenoidosa* by immobilized biofilm attached culture[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(8): 3354 - 3361. (in Chinese)
- [31] LIEW L W, BASHIR M J, TOH P Y, et al. Microalgae cultivation in stabilized landfill leachate for simultaneous treatment and biomass production[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2023, 166(1): 105068.
- [32] 冯思然, 丰平仲, 朱顺妮, 等. 小球藻对奶牛场沼液处理能力及生物质生产的探究[J]. *化工学报*, 2019, 70(1): 227 - 233.  
FENG Siran, FENG Pingzhong, ZHU Shunni, et al. Nutrient removal and biomass production from dairy farm liquid digestate treatment using microalga *Chlorella vulgaris*[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2019, 70(1): 227 - 233. (in Chinese)
- [33] MERRETT M, LORD J. Glycolate formation and metabolism by algae[J]. *New Phytologist*, 1973, 72(4): 751 - 767.
- [34] CHEN Z, QIU S, YU Z, et al. Enhanced secretions of algal cell-adhesion molecules and metal ion-binding exoproteins promote self-flocculation of *Chlorella sp.* cultivated in municipal wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(17): 11916 - 11924.
- [35] SONG W, ZHAO C, ZHANG D, et al. Different resistance to UV-B radiation of extracellular polymeric substances of two cyanobacteria from contrasting habitats[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1208.
- [36] ZHENG X, WOO H L, KIMBERLY M Cet al. Selective reactivity of monochloramine with extracellular matrix components affects the disinfection of biofilm and detached clusters[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(7): 3832 - 3839.
- [37] 王娅楠. 附着小球藻生长特性及其净化市政二级出水的工艺研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2022.  
WANG Ya'nan. Growth characteristics and municipal secondary effluent purification process of attached *Chlorella sp.* [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2022. (in Chinese)
- [38] ZHAO F, XIAO J, DING W, et al. An effective method for harvesting of microalga: coculture-induced self-flocculation[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2019, 100: 117 - 126.
- [39] QIAN L, YE X, XIAO J, et al. Nitrogen concentration acting as an environmental signal regulates cyanobacterial EPS excretion[J]. *Chemosphere*, 2022, 291(2): 132878.
- [40] XIAO R, ZHENG Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications [J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(7): 1225 - 1244.
- [41] WANG H, LUO L, YAN B, et al. Mechanism of microplastics effects on the purification of heavy metals in piggery effluents by microalgae[J]. *Environmental Pollution*, 2024, 351(15): 124028.