

小球藻对奶牛场沼液处理能力及生物质生产的探究

冯思然^{1,2,3,4}, 丰平仲^{1,2,3}, 朱顺妮^{1,2,3*}, 王忠铭^{1,2,3}, 袁振宏^{1,2,3}

(¹中国科学院广州能源研究所 广东 广州 510640; ²中国科学院可再生能源重点实验室 广东 广州 510640; ³广东省新能源与可再生能源研究开发与应用重点实验室 广东 广州 510640; ⁴中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为资源化处理奶牛场沼液、探究小球藻 *Chlorella vulgaris* NIES-227 对奶牛场沼液的处理能力以及生物质利用潜力, 在柱式光生物反应器中利用小球藻处理沼液占比分别为 25%、50%、75% 和 100% 4 种不同浓度的未灭菌污水。研究结果显示, 各浓度污水中总氮、总磷及 COD 的去除率分别为 36.0%-92.5%、42.8%-100% 及 6.9%-32.2%。在沼液占比为 25% 的污水中氮磷的去除率最高, 氨氮、总氮和总磷的去除效率可达 99.9%, 91.0% 和 100%。微藻在低浓度沼液 (25%-50%) 中生长状态良好, 在沼液占比为 50% 的污水中可获得最高生物质产率 393.6 mg L⁻¹ d⁻¹。但是在高浓度沼液 (75%-100%) 中微藻生长受到一定抑制, 导致氮磷的去除效果变差。培养期间细菌的数量增长显著, 促进了 COD 的去除。各浓度沼液生物质中总脂、总糖及蛋白质含量分别为 13.2%-32.2%、12.3%-27.6% 及 16.2%-30.9%。实验数据表明, 低浓度沼液能产生更多高能量组分的生物质, 适合用作生物燃料的开发; 高浓度沼液能产生含较多蛋白质的生物质, 更适合作为动物饲料。

关键词: 小球藻; 奶牛场沼液; 营养去除; 生物质生产; 资源利用

中图分类号: Q938

文献标志码: A

文章编号:

Nutrient removal and biomass production from dairy farm liquid digestate treatment using microalga *Chlorella vulgaris*

FENG Siran^{1,2,3,4}, FENG Pingzhong^{1,2,3}, ZHU Shunni^{1,2,3*}, WANG Zhongming^{1,2,3}, YUAN Zhenhong^{1,2,3}

(¹ Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China; ² CAS Key Laboratory of Renewable Energy, Guangzhou 510640, China; ³ Guangdong Provincial Key Laboratory of New and Renewable Energy Research and Development, Guangzhou 510640, China; ⁴ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In this study, the treatment performance of dairy farm liquid digestate by freshwater microalga *Chlorella vulgaris* NIES-227 was investigated and the potential of biomass utilization

was evaluated. In column photobioreactors, *Chlorella vulgaris* was used to treat wastewaters containing unsterilized liquid digestate at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. The results showed that the removal of total nitrogen (TN), total phosphorus (TP) and COD were 36.0%-92.5%, 42.8%-100% and 6.9%-32.2%, respectively. The microalgae exhibited the maximum removal efficiencies of nitrogen and phosphorus in 25% liquid digestate, and the maximum removals of ammonia nitrogen (NH₃-N), TN and TP were 99.9%, 91.0% and 100%, respectively. The microalgae grew well in low concentrations of liquid digestate (25% - 50%), and the highest biomass productivity was obtained in 50% liquid digestate with the value of 393.6 mg L⁻¹ d⁻¹. However, microalgal growth was inhibited in higher concentrations of liquid digestate (75% - 100%), which led to the decreases of the removal of nitrogen and phosphorus. The number of bacteria increased significantly during the cultivation among all the treatment groups, which was beneficial to the COD removal. The contents of total lipid, total sugar and protein in biomass harvested from different concentrations of liquid digestate were 13.2%-32.2%, 12.3%-27.6% and 16.2%-30.9%, respectively. The experimental data show that low-concentration biogas slurry can produce more high-energy components of biomass, which is suitable for biofuel development; high-concentration biogas slurry can produce biomass with more protein, which is more suitable for animal feed.

Key words: *Chlorella*; dairy farm liquid digestate; nutrition removal; biomass production; resource utilization

2018-07-04 收到初稿, 2018-08-06 收到修改稿

联系人: 朱顺妮。第一作者: 冯思然(1993-), 男, 硕士研究生。

基金项目: 国家重点研发项目资助(2016YFB0601004); 广东省自然科学基金研究团队项目(2016A030312007); 广州市科技计划项目珠江科技新星专项(201610010155)

Receive date: 2018-08-06

Corresponding author: Associate researcher, ZHU Shunni, zhushn@ms.giec.ac.cn

Foundation item: National Key Research and Development Program-China (2016YFB0601004); The Natural Science Foundation for Research Team of Guangdong Province (2016A030312007); Pearl River S&T Nova Program of Guangzhou (201610010155)

引 言

随着生活水平的提高,人们对乳制品的需求量增大,奶牛养殖业集约化、一体化增强,但随之产生的排泄物也不断增多。养殖废水中含有大量有机质和无机质,直接排放会对环境造成严重污染。综合利用和处理达

标排放是国内外畜禽养殖废水主要的处理方法^[1]。目前,我国常用的畜禽养殖废水处理方法是厌氧发酵。虽然这种方法可以去除养殖废水中大量有机物,但是排放的沼液中COD及氮磷的含量仍然较高(表1),远达不到畜禽养殖污染物排放标准(GB18596-2001)。传统的生物处理法虽然可

以显著降低沼液的 COD，但是难以有效去除沼液中的氮磷等营养物质，易产生大量低值的活性污泥^[2]。微藻有着生长速度快、光合效率高、生物质产量高、对污染物耐受力强^[3]等优点，对污水中的氮磷等污染物有较好的去除效果^[4]。早在 1957 年 Oswald 等人^[5]就提出使用微藻进行污水处理。相较于传统的生物处理，微藻可以快速吸收污水中的氮磷等营养物质并将其转化为可用于生产生物燃料、肥料、饲料、化工品等产品的微藻生物质^[6]。因此，利用微藻进行污水处理与资源回收受到越来越广泛的关注。目前，

已有一些研究者利用微藻处理猪场沼液并达到了较好的处理效果^[7, 8]，但是利用微藻处理牛场沼液的研究较少。不同发酵原料厌氧发酵后的沼液成分差异较大^[9]，微藻对其处理能力也存在不同。另外，许多研究者将沼液经消毒或灭菌后再利用微藻进行处理^[10, 11]，不利于实际应用和放大。因此，本研究在不经灭菌的条件下探究小球藻对奶牛场沼液的处理效率，并评价微藻生物质生产和利用潜力，为小球藻有效资源化处理奶牛场沼液提供理论依据。

表 1 猪场沼液和奶牛场沼液中 COD 及氮磷含量

Table 1 The contents of COD, nitrogen and phosphorous in swine and dairy liquid digestate

Liquid digestate type	COD/ (mg/L)	TN/ (mg/L)	NH ₃ -N / (mg/L)	Phosphate / (mg/L)	Reference
Pig farm Liquid digestate	1046	254	220	85.9	[8]
Dairy farm liquid digestate	1480	621.1	575.4	252.7	[9]

1 材料与amp;方法

1.1 小球藻的获得及扩培

实验中的小球藻 *Chlorella vulgaris* NIES-227 购于日本国立环境研究所保藏中心。初期微藻培养所用培养基为 BG-11 培养基，121℃ 灭菌 15 分钟后使用。无菌条件下将小球藻藻种接种至 250mL 锥形瓶中，在摇床中进行扩种培养。将培养至对数期的小球藻接种至体积为 1.37L 的柱式光生物反应器(高为 70 厘米，直径为 5.4 厘米)中培养。培养温度为 25℃，通入 CO₂ 与空气的混合

气体，通气量为 0.3 L/min，CO₂ 含量为 1-2%，光照强度为 200μmol m⁻² s⁻¹，24 小时连续光照。

1.2 沼液的来源及预处理

实验所用的奶牛场沼液取自广东省开平市某奶牛养殖场，沼液经离心后用孔径为 1.2μm 的玻璃纤维滤膜过滤以除去沼液中大部分颗粒物。此外，沼液经 4℃ 冷藏后会导致磷的损失，致使 N/P 变化较大(表 2)。因此，为尽量保持原始沼液的性质，在实验开始前加入适量 K₂HPO₄ 将 N/P 调至与原水相当(约 7:1)。

表 2 奶牛场沼液不同处理下的水质特征

Table 2 The water characteristics of dairy farm liquid digestate under different treatments

pH	COD/ (mg/L)	NH ₃ -N/ (mg/L)	TN/ (mg/L)	TP/ (mg/L)	TSS/ (g/L)

Raw liquid	7.15	1724	567	605	82	2.6
digestate						
After stored at	7.94	1498	545	650	11.3	---
4°C						
Experimental	7.62	1446	529.5	535	77.6	0.13
liquid digestate						

Note: “---” means not determined

1.3 实验设计

用去离子水将经过预处理的沼液稀释成沼液占比分别为 25%、50%、75%、100% 的 4 个处理组，每组两个平行。取 800mL 各浓度的沼液于光生物反应器中进行为期 7 天的处理实验，微藻初始接种量为 2.58×10^7 个/mL。实验条件同 1.1。

1.4 水质分析

将样品经 10000rpm 离心 4min 后，取上清用孔径为 $0.22\mu\text{m}$ 的水性滤头过滤。将过滤所得液体经适当稀释后用于氨氮、总氮、总磷及 COD 的测定。氨氮、总氮、总磷和 COD 均使用哈希试剂进行测定。

1.5 生物质分析

1.5.1 生物质浓度的测定 将孔径为 $1.2\mu\text{m}$ 的 whatman 玻璃纤维滤膜于 105°C 烘干至恒重，在干燥器中冷却至室温，称重，记录初始质量 M_1 。取适量培养液抽滤后 105°C 烘干至恒重，干燥器中冷却至室温，称重，记录其质量 M_2 。然后使用差重法进行计算。

1.5.2 细胞数的测定 微藻细胞数使用血球计数法测定，细菌菌落数使用滴板法测定。

1.5.3 生物质组分的测定 总脂含量测定参照 Bigogno 等人^[12]的方法，总糖含量测定使用苯酚-硫酸法^[13]，蛋白质含量使用 Bradford

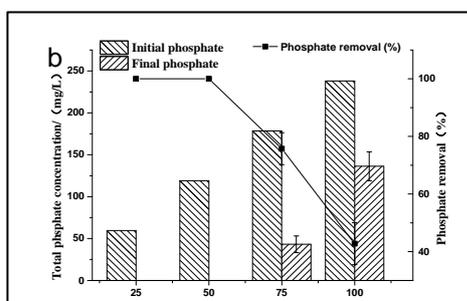
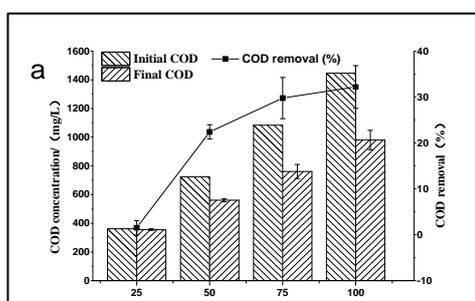
法蛋白浓度测定试剂盒（生工）测定。生物质元素分析用元素分析仪 Vario EL cube 测定。

2 结果和讨论

2.1 污染物的去除

不同浓度沼液中 COD、氮、磷的去除效果如图 1 所示。

2.1.1 COD 的去除 由图 1a 知，在沼液占比为 25%、50%、75%和 100%的污水中 COD 的浓度分别从 361.5、723、1084.5 和 1446mg/L 降至 356、561、761.5 和 980.5mg/L，对 COD 的去除率分别为 6.9%、22.4%、29.8% 和 32.2%。COD 的去除率随沼液浓度升高而增大，但在其它相关研究中显示，COD 的去除率与沼液浓度并非呈正相关。王忠江等人^[14]使用浓度为 20%、30%和 40%的稻秆发酵沼液分别培养蛋白核小球藻和普通小球藻，发现两种藻对沼液中 COD 去除的能力相近，随沼液浓度的升高，对 COD 的去除率分别为 96%、94%和 94%。王愿珠等人^[15]使用小球藻处理不同沼液占比的污水发现，随沼液浓度的升高，小球藻对 COD 的去除率呈现先增大后减小的趋势。本研究中 COD 的去除率随沼液浓度的升高而增大，可能的原因



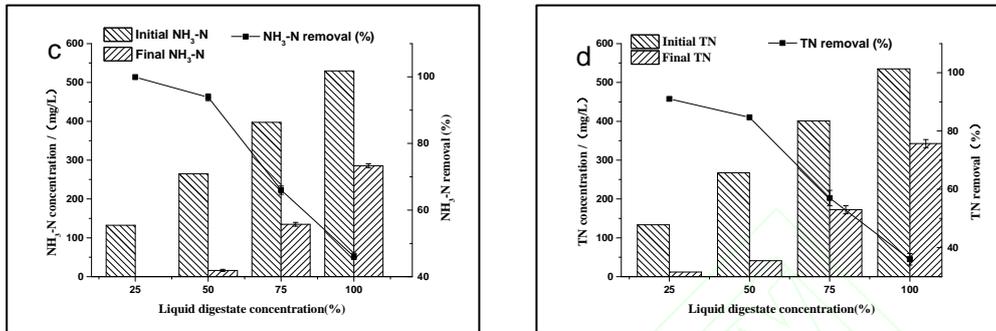


图 1 不同浓度沼液中 COD (a)、磷酸根 (b)、氨氮 (c)、总氮 (d) 的去除

Fig.1 The removal of COD(a), phosphate(b), NH₃-N (c) and TN (d) in liquid digestate with different concentrations

有：(1) 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^[16]，但对浓度越高的沼液带来的冲击越小；(2) 实验所用的沼液未经灭菌处理，浓度越高的沼液中初始细菌含量越多，且在培养过程中各组沼液中细菌数量均有明显的增长（图 4），说明沼液中细菌的存在对污水中的 COD 也有一定的降解作用^[17]。

2.1.2 磷酸根的去除 由图 1b 知，小球藻对较低浓度沼液中磷的去除效果较好，可以完全去除沼液占比为 25%和 50%的污水中的磷，但对高浓度沼液中磷的去除效果较差，对沼液占比为 75%和 100%的污水中磷的去除率分别为 75.8%（由 178.5mg/L 降至 43.25mg/L）和 42.8%（由 238mg/L 降至 136.25mg/L）。微藻对污水中磷的去除主要有生物吸收和沉淀两种途径：一方面，微藻利用污水中的磷用于自身生长；另一方面，当污水的 pH 或溶解氧浓度升高时，污水中可溶性磷酸盐会以沉淀的形式析出^[18]。但是

实验过程中各浓度污水的 pH 最高为 7.65，均呈不同形式的下降趋势，污水中磷难以通过沉淀去除，因此沼液中磷的去除主要靠微藻的同化吸收。从图 1b 知，当沼液浓度大于 50%时，小球藻对沼液中磷的去除率随沼液浓度的升高而降低，这是由于沼液浓度较高抑制了小球藻的生长导致小球藻对磷的吸收下降。由图 3 知，在浓度为 75%和 100%的沼液中，小球藻在第 5 天后迅速生长，直至第 7 天培养结束仍有着较快的生长速率，因此预计，适当延长处理时间，磷的去除率会进一步提高。

2.1.3 氨氮和总氮的去除 由图 1c 知，小球藻对氨氮的去除率随沼液浓度的升高而降低。随沼液浓度的升高，小球藻对氨氮的去除率分别为 99.9%（由 132.8mg/L 降至 0.1mg/L）、93.9%（由 264.8mg/L 降至 16.2mg/L）、66.0%（由 397.1mg/L 降至 135mg/L）和 46.1%（由 529.5mg/L 降至 285.5mg/L）。微藻对氨氮的去除主要通过直

接吸收利用和吹脱^[19]。但是培养过程中的温度为 25℃，所有组的 pH 均低于 7.65，理论上氨氮的吹脱量很少^[20]，因此沼液中去除的氨氮主要被小球藻吸收。由于高浓度沼液对小球藻生长的抑制使小球藻对氨氮的去除率随沼液浓度的升高而降低。

由于沼液中氮主要以氨氮形式存在，因此小球藻对总氮的去除规律与氨氮的去除规律相似（图 1d）。随沼液浓度的升高，小球藻对总氮的去除率分别为 91.0%（由 133.8mg/L 降至 12mg/L）、84.7%（由 267.5mg/L 降至 41.0mg/L）、57.0%（由 401.3mg/L 降至 172.5mg/L）和 36.0%（由 535.0mg/L 降至 342.5mg/L）。这主要也是由高浓度沼液对小球藻生长的抑制引起的。另外，氮的去除率随沼液浓度升高而降低与去除率的计算方法也有一定关系。由于实验中微藻初始接种量相同，在沼液占比为 25%的污水中氮的去除量与氮的初始含量相近，因此氮的去除率最高。在沼液占比为 50%、75%、100%的污水中氮的去除量相近（氨氮的去除量为 244-262.1mg/L，总氮去除量为 192.5-228.8mg/L），但是初始总氮含量却并不相同。总氮初始含量越高，氮的去除率越低，致使氮的去除率随沼液浓度升高而降低。随沼液浓度的升高，4 种处理组的氨氮和总氮的去除量分别为 132.7 和 121.8 mg/L、248.6 和 226.5 mg/L、262.1 和 228.8 mg/L、244.0 和 192.5 mg/L，实验结果显示，所有处理组中氨氮的去除量均大于总氮的去除量，而实验最后一天测定各组沼液中硝酸盐和亚硝酸盐含量分别低于 2.4mg/L 和 0.1mg/L。表明小球藻在生长过程中还会产生其它形式的氮源，如有机氮^[21]，并释放到外界环境中。

2.2 生物质的积累

小球藻在 4 种不同浓度奶牛场沼液中培养 7 天的生物质浓度变化如图 2 所示。从图 2 可知，在沼液占比为 25%和 50%的培养体系中，生物质浓度变化趋势相似，均经过一天延滞期后迅速增长。但是在第 5 天后，沼液占比为 25%的污水中生物质增长放缓，而 50%浓度沼液中生物质仍然快速增长，主要是由低浓度沼液营养物限制造成的。虽然沼液占比为 75%和 100%的污水中生物质保持持续增长，但增长速率明显慢于低浓度沼液占比的污水。生物质的增长速率大致随沼液浓度的升高而降低，说明高浓度沼液对微藻生长有一定的抑制。在为期 7 天的培养中，小球藻在沼液占比分别为 25%、50%、75%和 100%的污水中培养的平均生物质产率分别为 350.8、393.6、314.3 和 173.0 mg L⁻¹ d⁻¹，生物质产量远高于 Min 等人^[22]用小球藻在中试规模下处理浓缩废水的生物质产量（34.6 mg L⁻¹ d⁻¹）。

生物质浓度的变化反映的是溶液中总悬浮物的变化情况，由于本实验沼液中含有一定量的未除尽的颗粒物和细菌，因此并不能准确反映出微藻的生长情况。为了明确小球藻在不同浓度沼液中的生长情况，进一步对小球藻的细胞数量进行了测定（图 3）。从图 3 可知，随着沼液浓度的升高，小球藻生长的延滞期分别为 1、3、5 和 5 天，表明高浓度沼液对小球藻的生长有严重的抑制作用，从而也降低了氮磷的去除效率。

在处理初期，小球藻在高浓度沼液中几乎没有生长，而生物质浓度缓慢提升，这可能是由于体系中细菌生长所致（图 4）。从图 4 可知，在培养的前 3 天，4 个浓度的污水

中细菌均有一定程度的增长，而后细菌的生长趋于稳定或进一步提升。

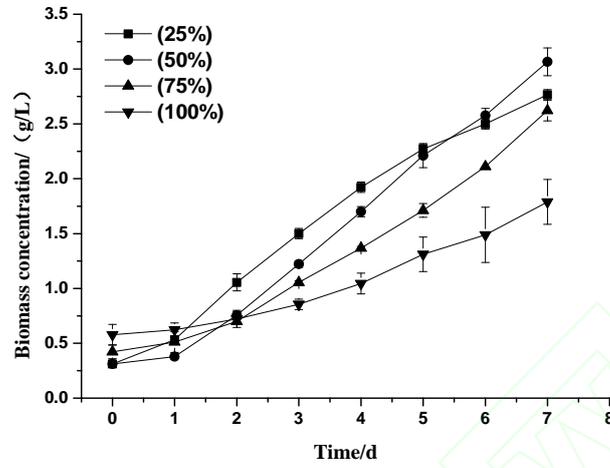


图2 各浓度沼液中生物质浓度变化

Fig.2 The growth of biomass in different liquid digestate concentrations

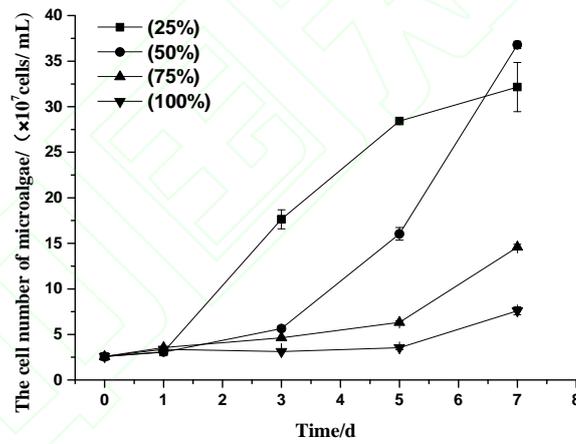


图3 各浓度沼液中小球藻细胞数目变化

Fig.3 The microalgal cell number among all the cultures

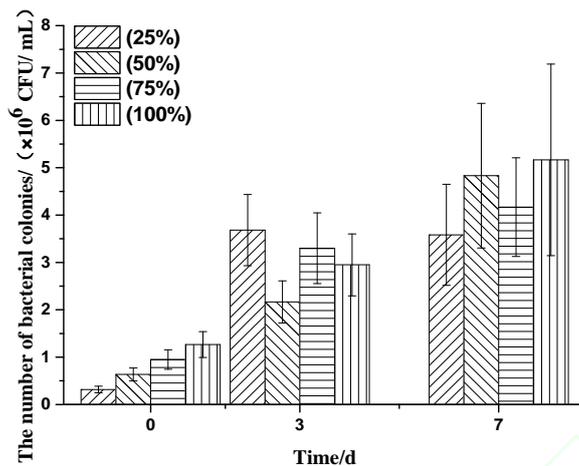


图4 各浓度沼液中细菌菌落在第0、3、7天数目变化

Fig.4 The changes in bacterial colonies on day 0,3 and 7 among all the cultures

2.3 生物质生化组成

实验结束后,对回收生物质的理化特性进行了分析。从图5可知,生物质中总脂、总糖和蛋白质含量与沼液浓度均有一定关系。总脂和总糖含量大致随污水中沼液占比的升高而降低,蛋白质含量随污水中沼液占比的升高而增大。在沼液占比为25%的污水中生物质总脂含量最高,为干重的32.2%,而在沼液占比为50%的污水中总脂含量最低,只有13.2%。由图3知,在沼液占比为25%的污水中微藻的生长速率从第3天开始放缓,至培养结束后微藻的生长基本到达稳定期。而在沼液占比为50%的污水中,直至培养结束微藻增长速率仍有增大的趋势。这是因为相较于其它处理组,在沼液占比为25%的污水由于稀释倍数较大使得在培养后期污水中营养物质不足,由此造成的营养缺乏的条件促进了小球藻油脂的积累^[23]。而沼液占比为50%的污水中营养组成较适合小球藻生长,导致小球藻油脂积累较少。本研究中总糖含量随沼液浓度的升高而降低,在沼液占比为25%的污水中含量最高,为干重的

27.6%,高于Huo等人^[24]用于处理冬季奶牛场废水的微藻*C. zofingiensis*中的含糖量(18%)。随着沼液浓度的升高,总糖含量由27.6%降低到12.4%。蛋白质含量的变化与总糖相反,生物质中蛋白质含量与沼液浓度成正比,随沼液浓度的升高,蛋白含量从16.2%上升到30.9%。蛋白质含量变化趋势与Chen等人^[17]使用稀释后的厌氧消化动物粪便培养小球藻的实验结果一致。25%浓度的沼液中油脂含量最高,蛋白含量最少,这是因为沼液中的氮磷在培养后期已经基本耗尽,造成的缺氮^[25]、缺磷^[26]条件有助于微藻油脂的积累,但会减少蛋白的合成^[27]。另外,Rodolfi等人^[28]和Feng等人^[29]的研究证明,培养时微藻中油脂含量(主要是三酰甘油)会随光照强度增加而增加。在光照强度一定的前提下,25%浓度的沼液中小球藻可接收更多的光照,这也会促进细胞油脂的积累。

从元素分析结果可知(表3),在沼液占比为25%的污水中微藻碳元素含量最高,为55.7%,而其它3组碳元素含量相差不大,为49.5-50.9%。这个结果与各组中总脂含量

相对应，说明在沼液占比为 25%的污水中，微藻生物质具有较高的热值，更适合制备燃料。各浓度沼液中氮元素含量随沼液浓度升高而增多，而氮元素含量变化间接反映了蛋白质含量变化，说明高浓度沼液生物质更适合做生物饲料。综合来看，低浓度沼液能产

生更多的油脂和糖类，适合用于生物燃料的开发，而高浓度沼液能产生含较多蛋白质的生物质，更适合用作动物饲料。因此可以根据所获得的生物质中不同的生化组成进行具体的资源化利用开发。

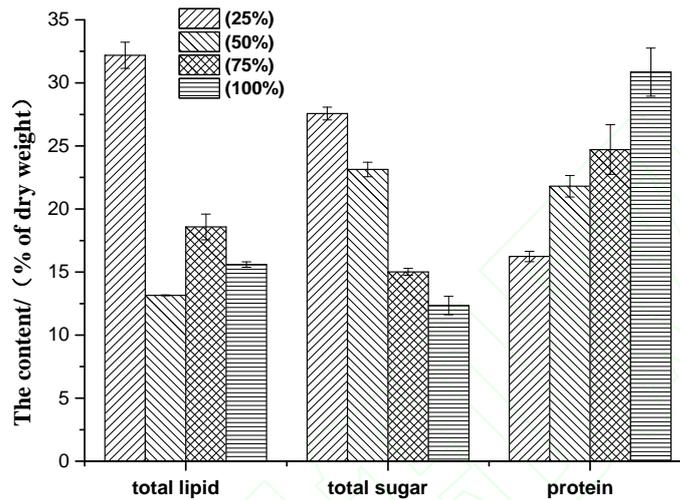


图 5 各浓度沼液生物质中总脂、总糖、蛋白质含量

Fig.5 The contents of total lipid, total sugar and protein among all the cultures

表 3 各组沼液生物质中 N、C、H 元素含量

Table 3 The contents of N, C and H elements in biomass from different concentrations of liquid digestate

Elements contents	N (%)	C (%)	H (%)
Liquid digestate concentrations			
25%	5.1	55.7	7.8
50%	8.8	49.5	7.2
75%	9.2	50.5	7.0
100%	9.7	50.9	7.1

3 结 论

本研究使用小球藻对 4 种不同浓度的未灭菌的奶牛场沼液进行为期 7 天的处理，通过研究小球藻对各浓度沼液中 COD 等污染

物的去除能力及小球藻生物质生产等方面的内容，为小球藻资源化处理奶牛场沼液提供理论基础。主要结论如下：

(1) 小球藻对 COD、总磷酸根、氨氮和总氮的去除率分别为 6.9-32.2%、42.8-100%、

46.1-99.9%和 36.0-91.0%。COD 的去除率随沼液浓度的升高而升高,而氮磷的去除率随沼液浓度的升高而降低。

(2) 低浓度沼液适宜小球藻的生长,因此小球藻可以有效去除低浓度沼液中氮磷等营养物质,但高浓度沼液会对小球藻生长

产生严重抑制。各浓度沼液中细菌均有一定增长,促进了 COD 的去除。

(3) 在各浓度沼液生产的生物质中,蛋白质、总糖和总脂的含量分别为 16.2-30.9%、12.4-27.6%和 13.2-32.2%。低浓度沼液能产生更多的油脂和糖类,适合用作生物燃料的开发,而高浓度沼液能产生含较多蛋白质的生物质,更适合用作动物饲料。

References

- [1] 万风, 王海燕, 周岳溪, 等. 养猪废水处理技术研究进展[J]. 农业灾害研究, 2012, 2(01): 25-29.
WAN F, WANG H Y, ZHOU Y X, et al. Research progress on the processing technology of piggery wastewater[J]. Journal of Agricultural Catastrophology, 2012, 2(01): 25-29.
- [2] FENG C, SUGIURA N, SHIMADA S, et al. Development of a high performance electrochemical wastewater treatment system[J]. Journal of Hazardous Materials, 2003, 103(1-2): 65-78.
- [3] WANG Y, HO S H, CHENG C L, et al. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment[J]. Bioresource Technology, 2016, 222:485-497.
- [4] JI M K, ABOU-SHANBAR A I, SEONGHEON K, et al. Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production[J]. Ecological Engineering, 2013, 58(13): 142-148.
- [5] OSWALD W J, GOTAAS H B, GOLUEKE C G, et al. Algae in Waste Treatment[J]. Sewage & Industrial Wastes, 1957, 29(4): 437-57.
- [6] SPOLAORE P, JOANNIS-CASSAN C, DURAN E, et al. Commercial applications of microalgae[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, 101(2): 87-96.
- [7] WEN Y, HE Y, JI X, et al. Isolation of an indigenous *Chlorella vulgaris* from swine wastewater and characterization of its nutrient removal ability in undiluted sewage[J]. Bioresource Technology, 2017, 243-247.
- [8] 李岩, 周文广, 张晓东, 等. 微藻培养技术处理猪粪厌氧发酵废水效果[J]. 农业工程学报, 2011, 27(13): 101-104.
Li Y, ZHOU W G, ZHANG X D, et al. Effect of microalgae culture on treatment of wastewater from anaerobic digested swine manure[J]. Translations of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(13): 101-104.
- [9] 靳红梅, 常志州, 叶小梅, 等. 江苏省大型沼气工程沼液理化特性分析[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 291-296.
JIN H M, CHANG Z Z, YE X M, et al. Physical and chemical characteristics of anaerobically digested slurry from large-scale biogas project in Jiangsu Province[J]. Translations of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(1): 291-296.
- [10] 舒庆. 奶牛场废水培养产油微藻研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
SHU Q. Microalgae Cultivation Utilizing Dairy Wastewater[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2014.
- [11] 孙中亮, 冯雪珂, 李丹, 等. 小球藻净化沼液的预处理方法[J]. 生物学杂志, 2017, 34(3): 99-104.
SUN Z L, FENG X K, LI D, et al. Different pretreatment methods for biogas slurry purification by *Chlorella vulgaris*[J]. Journal of Biology, 2017, 34(3): 99-104.
- [12] BIGOGON 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.
- [13] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric Method for Determination Of Sugars

- And Related Substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28(3): 350-356.
- [14] 王忠江,隋超,王泽宇,等. 小球藻对不同沼液添加量培养液的适应性及净化效果[J]. *农业工程学报*, 2017, 33(03): 221-226.
- WANG Z J, SUI C, WANG Z Y, et al. Adaptation of *Chlorella* to culture liquid with different biogas slurry adding proportion and its purified effect[J]. *Translations of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2017, 33(03): 221-226.
- [15] 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(08): 3354-3361.
- WANG Y Z, CHENG P F, LIU D F, et al. Purification Effect of Piggery Wastewater with *Chlorella pyrenoidosa* by Immobilized Biofilm-Attached Culture[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(08): 3354-3361.
- [16] HE P J, MAO B, Lü F, et al. The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 146(10): 562-568.
- [17] CHEN R, LI R, DEITZ L, et al. Freshwater algal cultivation with animal waste for nutrient removal and biomass production[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2012, 39(39): 128-138.
- [18] CAI T, PARK S Y, LI Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2013, 19(1): 360-369.
- [19] TAM N F, WONG Y S. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus sp*[J]. *Environmental Pollution*, 1989, 58(1): 19-34.
- [20] Emerson K, Russo R C, Lund R E, et al. Aqueous Ammonia Equilibrium Calculations: Effect of pH and Temperature[J]. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1975, 32(12):2379-2383.
- [21] LEWIN R A. Extracellular polysaccharides of green algae[J]. *Revue Canadienne De Microbiologie*, 1956, 2(7): 665-672.
- [22] 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]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2011, 165(1): 123-137.
- [23]高影影. 富油海洋微藻的筛选及营养条件对其生长和油脂积累的影响[D].南京农业大学,2013.
- GAO Y Y. Screening of oil-rich marine microalgae and the effect of nutritional conditions on the growth and lipid accumulation of it[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.
- [24] HUO S, WANG Z, ZHU S, et al. Cultivation of *Chlorella zofingiensis* in bench-scale outdoor ponds by regulation of pH using dairy wastewater in winter, South China[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 121(7): 76-82.
- [25] 朱顺妮, 王亚杰, 黄伟,等. 缺氮培养对小球藻碳水化合物和油脂积累的影响[J]. *太阳能学报*, 2016, 37(8): 2118-2122.
- ZHU S N, WANG Y J, HUANG W, et al. Effect of nitrogen starvation culture on carbohydrate and lipid accumulation in *Chlorella sp.* [J]. *Acta Energetica Solaris Sinica*, 2016, 37(8): 2118-2122.
- [26] KHOZIN-GOLDBERG I, COHEN Z. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus*[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(7): 696-701.
- [27] FENG Y, LI C, ZHANG D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium[J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(1): 101-105.
- [28] RODOLFI L, CHINI Z G, BASSI N, et al. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2009, 102(1): 100-112.
- [29] FENG P, DENG Z, HU Z, et al. Lipid accumulation and growth of *Chlorella zofingiensis* in flat plate photobioreactors outdoors[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(22): 10577-10584.