

添加沼液的 BG11 营养液微藻培养试验

霍书豪¹, 陈玉碧^{1,2}, 刘宇鹏², 朱毅³, 彭高军², 董仁杰^{1*}

(1. 中国农业大学工学院能源工程与低碳技术研究室, 北京 100083; 2. 中国农业大学水利与土木工程学院, 北京 100083;
3. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 利用沼液培育能源微藻, 有利于废水处置的同时还能够有效降低微藻生产成本。该文研究了 S496、1067、1069、C31、Y7、Y3 及 W 7 株微藻在混有体积分数 10%沼液的培养液中的比生长速率、培养液 pH 值和营养物的变化规律。结果表明, 除 Y7 外, 其它 6 株微藻均能迅速适应沼液营养液, 迅速进入对数期生长。在未调节培养液 pH 值条件下, 沼液培养液的 pH 值在培养的前 2~4 d 均有所下降, 从 9.20~9.32 下降至 8.73~9.09, 之后才开始恢复并上升。在 pH 值下降时, 藻的比生长速率有不断增大的趋势。培养 12 d 后, 上述 7 株微藻在培养液中干质量累积量在 0.310~0.607 g/L 之间; 培养过程中, NH₄-N、Mg²⁺、SO₄²⁻、Mn、F⁻、Fe 的浓度都大幅下降, NH₄-N、Mn、Fe 几乎被完全消耗; Mg²⁺降幅为 11.47%~87.73%; SO₄²⁻为 37.30%~62.70%; F⁻为 18.18%~54.55%。该文为利用沼液培养能源微藻提供依据。

关键词: 藻, pH 值, 营养成分, 比生长速率, 沼液

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2012.08.038

中图分类号: Q938; S216

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2012)-08-0241-06

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 (Transactions of the CSAE), 2012, 28(8): 241-246. (in Chinese with English abstract)

0 引言

由于对能源安全和气候变化的关注, 生物燃料的开发和利用在世界各国得到了高度重视。有从小麦、玉米等高糖作物, 植物油或动物脂肪, 来生产的第 1 代生物燃料, 它在技术上来讲很成熟, 竞争优势显著, 但在中国并不鼓励, 因为它直接与粮食供应相冲突。第 2 代生物燃料中利用木质纤维素生产乙醇的成本与技术障碍制约了其发展速度; 利用地沟油、煎炸废油、高油作物来生产生物柴油的产量较低, 远不能满足市场的需求。而微藻是具有很大潜力的可再生生物质资源^[1-5]。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、油脂含量高、不占耕地、产品附加值高等优点^[6]。利用微藻累积的生物质, 可为微藻转化的能源形态提供原料。

已有研究表明, 微藻可以在污水中存活, 利用污水中的有机养分进行异养生长^[7-8], 且通过光合作用吸收二氧化碳进行自养生长^[9], 利用污水培养微藻有利于环境治

理, 同时可以有效降低培养过程中营养物质成本投入。近年来中国大中型沼气工程产生的大量沼液废水, 如何进行沼液处置的问题已经引起人们的关注。沼液中因含有较高浓度的有机物, N、P 等元素, 完全具备为微藻提供养分的潜力, 但是沼液成分复杂并含有大量微生物、细菌等, 国内外虽有研究涉及沼液浓度及灭菌与否对培养微藻的影响^[10-11], 也有研究涉及培养液碳源、氮源优化和其他环境因子的优化^[12-14], 本试验研究将在上述相关研究的基础上, 以 7 株被证明可以在污水中快速生长的微藻为研究对象, 考察其在添加沼液培养液中的比生长速率、pH 值和营养物的变化规律, 以期利用沼液培养能源微藻提供依据。

1 材料和方法

1.1 沼液制备和藻种选取

本研究中所用到的沼液取自北京市顺义区北郎中集中供气沼气工程中心, 沼液化学需氧量在 950~1620 mg/L, pH 值约 8.5, 10 000 r/min 离心后用孔径 0.45 μm 的混合纤维滤膜过滤, 于-18℃冷冻备用。藻种为 S496、1067、1069、C31、Y7、Y3 和 W, 来源如表 1 所示。

1.2 成分分析方法

微量元素用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, 美国戴安)测试^[15], 阴离子用离子色谱仪(ICS-90, 美国戴安)测试, 阳离子用离子色谱仪(ICS-1500, 美国戴安)测试。氨态氮用水杨酸分光光度法(GB 7481-1987)测试。

收稿日期: 2011-08-21 修订日期: 2012-03-19

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划“规模化沼气工程沼液、沼渣高值利用技术与工程示范”课题(2008BAD4B00); 北京市教育委员会科学研究与科研基地建设项目“规模化养殖场粪污双向清洁处理与利用研究”
作者简介: 霍书豪(1983-), 男, 河北邢台人, 博士生, 主要研究方向为微藻规模化培养与能源工程。北京 中国农业大学工学院, 100083。

Email: huoshuhao@yeah.net.

*通信作者: 董仁杰(1964-), 男, 山东陵县人, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为生物质能源、炉灶及农业废水处理。北京 中国农业大学工学院, 100083。Email: rjdong@cau.edu.cn.

表 1 藻株编号及说明

| 藻株编号 | 藻株 | 来源 | 采集地 |
|------|---|---------------------|--------------|
| S496 | 二形栅藻 (<i>Scenedesmus dimorphus</i>) | 购自中国淡水藻种库 | |
| 1067 | 小球藻 (<i>Chlorella</i> sp.) | 购自中国淡水藻种库 | |
| 1069 | 小球藻 (<i>Chlorella</i> sp.) | 中国农业大学农业生物技术国家重点实验室 | 江苏太湖 |
| C31 | 普通小球藻 (<i>C. vulgaris</i>) | 购自中国淡水藻种库 | 云南西双版纳 |
| Y7 | 雷氏衣藻 (<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>) | 中国农业大学农业生物技术国家重点实验室 | 江苏太湖 |
| Y3 | 蛋白核小球藻 (<i>C. pyrenoidosa</i>) | 中国农业大学农业生物技术国家重点实验室 | 江苏太湖 |
| W | 未鉴定 | 作者分离 | 北京东华山村沼气站粪污塘 |

1.3 藻种培养方法和试验培养方法

藻种采用 BG11 培养基进行培养, 配方见表 2, 试验药品均为分析纯。培养温度 (25 ± 1) °C, 光照强度 8 000 lx, 光暗比 (L:D) 为 14:10。选取对数期的藻种接种。

表 2 BG11 培养基配方
Table 2 Composition of BG11 Medium

| 成分 | 质量浓度/(g·L ⁻¹) |
|--|---------------------------|
| 柠檬酸 | 6.0×10^{-3} |
| NaNO ₃ | 1.5 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 3.6×10^{-2} |
| H ₃ BO ₃ | 2.9×10^{-3} |
| 柠檬酸铁胺 | 6.0×10^{-3} |
| K ₂ HPO ₄ | 4.0×10^{-2} |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 1.8×10^{-5} |
| EDTA Na ₂ | 1.0×10^{-3} |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 7.5×10^{-2} |
| Na ₂ CO ₃ | 0.02 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 2.2×10^{-4} |
| Na ₂ MnO ₄ ·2H ₂ O | 3.9×10^{-4} |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 8.0×10^{-5} |
| Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O | 5.0×10^{-5} |

试验采用 100 mL 三角瓶, 装 60 mL 培养液。培养液为沼液与 BG11 的混合液, 其中沼液所占体积约为 10%, 控制 680 nm 吸收波长下初始光密度 (optical density, OD) 为 0.1~0.2, 将 S496、1067、1069、C31、Y7、Y3 和 W 藻株分别接入培养液中, 每组设 3 个重复。温度 (25 ± 1) °C, 光照强度 8 000 lx, 光暗比 (L:D) 为 14:10。手动摇匀, 每天摇 6 次, 以防止藻沉淀或附着于瓶壁。连续培养 12 d, 每 2 d 测定培养液 OD₆₈₀、pH 值, 并且测定培养前后的培养液成分变化。

1.4 测定指标与计算方法

生物量测定方法采用比浊法和干质量法。比浊法: 用紫外可见分光光度计 (型号 Gold S54T, 上海棱光公司) 测定 680 nm 吸收波长下的光密度 (Optical Density, OD); 干质量法: 取培养 12 d 的培养液 25 mL, 离心, 去离子水清洗后, 用已在 75 °C 干燥箱中烘 5 h 的 1.2 μm 孔径玻璃纤维滤纸 (型号 GF/C, Whatman, 英国) 过滤, 然后

在 75 °C 干燥箱中烘 5 h 测得干质量 (DW)。生长曲线中, 选取不同培养时间的适宜培养液, 以 OD 为自变量, DW 为因变量进行线性拟合, 得到藻“干质量-光密度”标准曲线方程。

藻类生长一般经历适应期、指数生长期、衰减期、稳定期和死亡期 5 个阶段。指数期的比生长速率 R (d⁻¹) 的计算公式如 (1) 式所示。

$$R = \frac{\ln N_{t_2} - \ln N_{t_1}}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

式中, N_{t_1} , N_{t_2} 表示 t_1 和 t_2 时刻的藻干质量, g/L。

培养液 pH 值由 pH 仪 (型号 5-star, 德国 Orion 公司) 测定。

2 结果与分析

2.1 营养成分分析

如表 3 所示, 沼液中包含了 BG11 培养液的大部分元素, 包括 Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻、Cu、Fe、Co、Mn、NH₄-N、NO₃⁻。沼液原液的成分基本能满足藻生长的需要, 与 BG11 相比, 沼液中的氮主要以氨态氮形式存在, 而 BG11 中的是硝态氮; 沼液中的 P、Zn、Fe 和 Mn 含量较少或没有; 沼液中还含有 F⁻、NO₂⁻; 沼液中并未发现重金属 Pb、Cr 和 Cd。用 BG11 与沼液混合来培养微藻, 不仅可以达到稀释沼液的目的, 而且能保证培养液营养元素的种类均衡完备, 对沼液处置有利。通过表 3 还可以看出, 混合沼液的营养液成分发生改变, 如 Na⁺、Fe、Mn、PO₄³⁻、NO₃⁻ 减少。

表 3 培养液成分分析
Table 3 Characteristics of media

| 项目 | mg·L ⁻¹ | | |
|-------------------------------|--------------------|----------|---------------------|
| | 沼液 | BG11 培养基 | 体积分数 10%沼液+BG11 培养基 |
| Na ⁺ | 50.70 | 414.70 | 103.15 |
| NH ₄ -N | 1143.64 | 0.39 | 113.19 |
| K ⁺ | 125.00 | 14.00 | 18.05 |
| Mg ²⁺ | 13.75 | 7.00 | 4.97 |
| Ca ²⁺ | 11.80 | 9.90 | 6.54 |
| F ⁻ | 1.00 | n.a. | 0.22 |
| Cl ⁻ | 18.20 | 17.96 | 3.90 |
| NO ₂ ⁻ | 10.00 | n.a. | 0.36 |
| NO ₃ ⁻ | 0.60 | 1094.00 | 30.94 |
| PO ₄ ³⁻ | n.a. | 21.84 | 0.14 |
| SO ₄ ²⁻ | 1.20 | 27.10 | 1.26 |
| Cu | 0.015 | 0.02 | 0.019 |
| Zn | n.a. | 0.05 | 0.005 |
| Fe | 0.24 | 1.29 | 0.006 |
| Co | 0.013 | 0.01 | 0.011 |
| Cr | n.a. | n.a. | n.a. |
| Mn | 0.037 | 0.52 | 0.13 |
| Pb | n.a. | n.a. | n.a. |
| Cd | n.a. | n.a. | n.a. |

注: n.a. 为未检出。

2.2 生长曲线

根据表 4 藻干质量和光密度之间的线性关系 ($R^2 >$

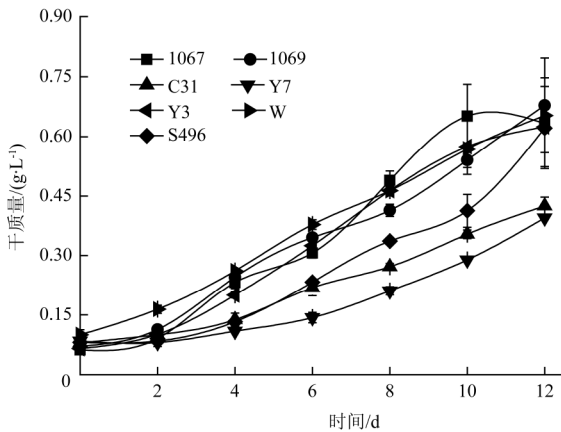
0.997)，可计算藻干质量。藻株经过 7 d 约含 10% 体积沼液废水的驯化后，大部分藻均能适应含沼液体积分数为 10% 的培养液。如图 1，除了 Y7，其它 6 株藻均能迅速适应本试验浓度，迅速进入对数期生长。在第 10 天，1067 先于其它进入稳定期，可能由于沼液添加浓度偏高，导致其他 6 株培养了 12 d 还未进入稳定期。从图 1 明显可以看出，Y7 对 BG11 培养基混加体积分数 10% 沼液培养液的浓度或起始 pH 值 9.32 并不适应，与其他各株相比生长速度一直处于落后。

表 4 不同藻株干质量-光密度线性方程

Table 4 Linear relationships between optical density (OD) and dry weight of different strains

| 编号 | 方程 | R ² |
|------|----------------|----------------|
| S496 | y=0.273x-0.009 | 0.998 |
| 1067 | y=0.239x-0.007 | 0.999 |
| 1069 | y=0.235x-0.005 | 0.998 |
| C31 | y=0.242x+0.000 | 0.997 |
| Y7 | y=0.335x-0.015 | 0.998 |
| Y3 | y=0.246x-0.010 | 0.998 |
| W | y=0.292x-0.014 | 0.999 |

注：x 表示光密度；y 表示干质量，g/L；S496, 1067, 1069, C31, Y7, Y3, W 为藻株。



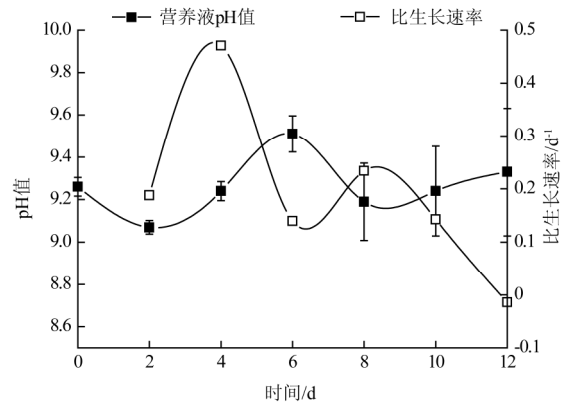
注：S496, 1067, 1069, C31, Y7, Y3, W 为藻株。
图 1 7 株藻株的生长曲线

Fig.1 Growth curve of seven strains microalgae

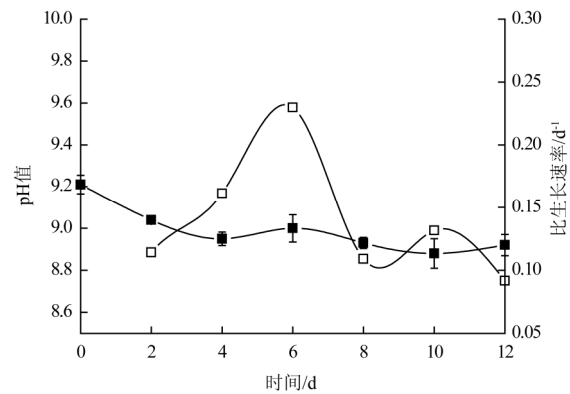
2.3 培养过程中 pH 值与比生长速率变化

由图 2 知，7 株藻所在培养液在培养的前 2 d，pH 值均有所下降，C31、Y7、W 的下降持续到第 4 天，从 9.20~9.32 下降至 8.73~9.09，之后才开始上升。（由式（1）计算得出比生长速率）在 pH 值下降的同时，藻的比生长速率增大；对于藻株 Y7、W pH 值降到最低时，藻比生长速率达到最大值，其他藻株延迟 2 d 后达到最大值。沼液中氮的形态主要是氨态氮，并且藻类在环境中具有多种形态氮时，较优先利用氨态氮^[16-17]，而藻细胞利用氨分子，使得培养液中 H⁺ 浓度增加，这是 pH 值在培养前期下降的原因，随着沼液中有机酸彻底降解、硫酸盐的还原或利用硝态氮引起 pH 值上升，有些藻株如 1067、1069、Y3 在 pH 值上升后再下降，分析原因是可能有酸性分泌物产生；藻株 C31 氨态氮消耗殆尽，但硝态氮利

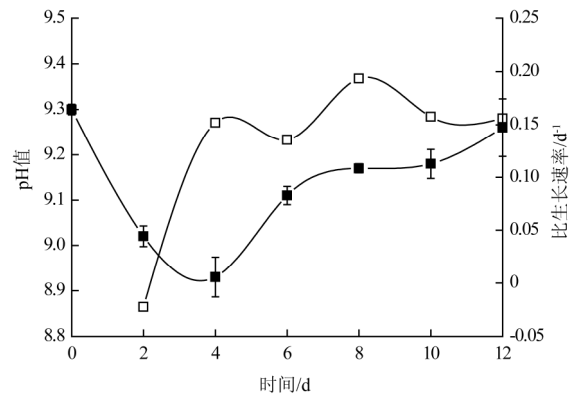
用有限（见表 5），pH 波动不大；藻株 W 在 pH 值上升后下降而后有缓慢上升，原因可能是酸性分泌物不稳定。



a. 1067 藻株



b. C31 藻株



c. Y7 藻株

注：7 株微藻以上 3 种为例其略。

图 2 3 株微藻的比生长速率及培养液 pH 值变化

Fig.2 Specific growth rate of three strains microalgae and variation of pH value of media

2.4 养分质量浓度变化

如表 5 所示，培养前后，培养液中的 Na⁺、K⁺ 浓度有升有降，这可能由于培养 12 d 水分蒸发和藻光合作用消耗水分，而藻类对这些元素吸收有限的缘故。有研究表明，当环境中存在氨态氮时，藻优先利用氨态氮^[16-17]。1067 藻株平均比生长速率最大，对培养液中的氨态氮消耗至微量，而后再以硝态氮为氮源进一步利用，因此导致 NO₃⁻ 浓度的降低。NH₄-N、Mg²⁺、SO₄²⁻、Mn、F⁻、Fe

表 5 培养 12 d 后养分质量浓度变化

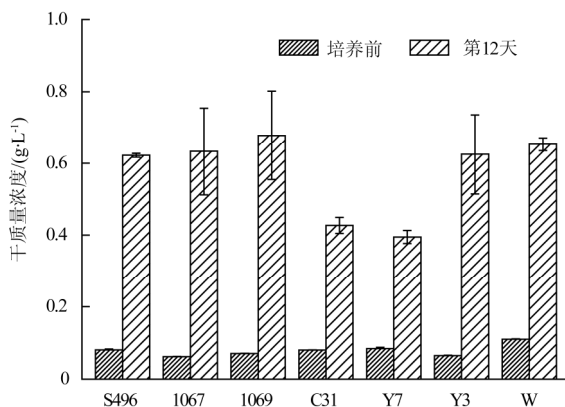
Table 5 Mass concentration variation of nutrients after 12 days cultivation

| 藻株 | 项目 | Na ⁺ | NH ₄ -N | K ⁺ | Mg ²⁺ | Ca ²⁺ | F ⁻ | Cl ⁻ | NO ₂ ⁻ | NO ₃ ⁻ | PO ₄ ³⁻ | SO ₄ ²⁻ | Cu | Zn | Fe | Co | Mn |
|------|-------------------------------|-----------------|--------------------|----------------|------------------|------------------|----------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| S469 | 培养前质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 103.15 | 113.19 | 18.05 | 4.97 | 6.54 | 0.22 | 3.90 | 0.36 | 30.94 | 0.14 | 1.26 | 0.01 | 0.005 | 0.006 | 0.011 | 0.132 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 109.65 | 3.47 | 21.49 | 1.00 | 6.03 | 0.14 | 4.40 | n.a. | 26.92 | n.a. | 0.79 | 0.01 | n.a. | n.a. | 0.01 | 0.001 |
| 1067 | 变化/% | 6.30 | -96.93 | 19.06 | -79.88 | -7.80 | -36.36 | 12.82 | - | -12.99 | - | -37.30 | 0 | - | - | -9.09 | -99.24 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 95.97 | 1.41 | 12.50 | 0.61 | 6.57 | 0.14 | 2.99 | 0.26 | 17.44 | n.a. | 0.66 | 0.009 | n.a. | 0.003 | 0.009 | 0.002 |
| 1069 | 变化/% | -6.96 | -98.75 | -30.75 | -87.73 | 0.46 | -36.36 | -23.33 | -27.78 | -43.63 | - | -47.62 | -10.00 | - | -50 | -18.18 | -98.48 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 102.82 | 4.44 | 19.28 | 1.05 | 5.65 | 0.13 | 2.68 | 0.21 | 20.8 | n.a. | 0.47 | 0.009 | n.a. | n.a. | 0.01 | 0.007 |
| C31 | 变化/% | -0.32 | -96.07 | 6.81 | -78.87 | -13.61 | -40.91 | -31.28 | -41.67 | -32.77 | - | -62.70 | -10.00 | - | - | -9.09 | -94.70 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 110.32 | 7.22 | 21.30 | 4.40 | 5.94 | 0.15 | 2.63 | 0.09 | 29.14 | n.a. | 0.69 | 0.008 | n.a. | n.a. | 0.011 | 0.001 |
| Y7 | 变化/% | 6.95 | -93.62 | 18.01 | -11.47 | -9.17 | -31.82 | -32.56 | -75.00 | -5.82 | - | -45.24 | -20.00 | - | - | 0 | -99.24 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 91.35 | 4.09 | 17.97 | 3.39 | 5.60 | 0.1 | 2.71 | n.a. | 18.38 | n.a. | 0.60 | 0.008 | n.a. | n.a. | 0.009 | 0.002 |
| Y3 | 变化/% | -11.44 | -96.39 | -0.44 | -31.79 | -14.37 | -54.55 | -30.51 | - | -40.59 | - | -52.38 | -20.00 | - | - | -18.18 | -98.48 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 74.09 | 1.30 | 13.90 | 1.05 | 5.26 | 0.18 | 2.62 | 0.24 | 16.68 | n.a. | 0.47 | 0.006 | n.a. | n.a. | 0.006 | 0.007 |
| W | 变化/% | -28.18 | -98.86 | -22.99 | -78.87 | -19.57 | -18.18 | -32.82 | -33.33 | -46.09 | - | -62.70 | -40.00 | - | - | -45.45 | -94.67 |
| | 培养后质量浓度/(mg·L ⁻¹) | 102.26 | 3.25 | 19.75 | 2.41 | 5.25 | 0.04 | 3.86 | 0.36 | 23.94 | n.a. | 0.57 | 0.009 | n.a. | n.a. | 0.010 | 0.009 |
| W | 变化/% | -0.86 | -97.13 | 9.42 | -51.51 | -19.72 | -81.82 | -1.03 | 0 | -22.62 | - | -54.76 | -10.00 | - | - | -9.09 | -93.18 |

的浓度均显著下降, NH₄-N、Mn、Fe 几乎被完全消耗; Mg²⁺降幅为 11.47%~87.73%; SO₄²⁻为 37.30%~62.70%; F⁻为 18.18%~54.55%。说明此类物质是藻类能大量吸收即生长所必需的。Cl⁻被藻株吸收 23.33%~32.82% (除 S469 与 W); Ca²⁺下降幅度为 7.80%~19.72% (除 1067)。本研究中 Fe 最终被完全消耗。在含 Fe 培养液中培养的藻细胞浓度比在不含 Fe 培养液中培养的高^[18], 微量的 Fe 对藻生长有利。

2.5 干质量累积量

培养 12 d 后, S496、1067、1069、C31、Y7、Y3、W 7 株藻的干质量累积质量浓度 (培养第 12 天与起始接种量的差值) 分别累积了 0.540、0.571、0.607、0.347、0.310、0.559、0.543 g/L, 其中 1069 的最大, 其次是 1067、Y3 和 W (如图 3)。本研究中得到的生物产量并不是目



注: S496, 1067, 1069, C31, Y7, Y3, W 为藻株。

图 3 7 株微藻的干质量累积

Fig.3 Dry mass accumulation of seven microalgae

前研究中最高的, 这可能是因为培养液中初始含磷量甚微 (PO₄³⁻最大质量浓度为 0.14 mg/L)。对于淡水浮游植物而言, 当环境中的 N:P 摩尔比大于 20:1 时, 具有磷限制性, 小于 10:1 时, 具有氮限制性^[19]。在本研究中出现磷限制, 导致微藻细胞分裂难以进行, 因而藻生长受到抑制。另外, 没有对培养液 pH 值进行调节, 影响了微藻生长; 没有补充外加碳源如无机碳 CO₂ 有机碳冰醋酸等, 可能造成 C/N 比偏低, 碳源受限影响了藻的生物量累积。

3 结论

本文利用体积分数 10% 的沼液与 BG11 培养基的混合液分别培养 *Chlorella* sp. 等 7 株微藻, 研究比较各株微藻的比生长速率、pH 值、营养成分变化规律及干质量累积量, 为开辟非粮作物生物质能源原料提供依据。主要得到以下结论:

1) 在本试验中, 沼液中的 P、Zn、Fe 和 Mn 含量较少或没有。因此, 用 BG11 培养基与沼液混合来培养微藻, 不仅可以达到稀释沼液的目的, 而且能保证营养元素的种类完备。S496、1067、1069、C31、Y7、Y3、W7 株藻, 除 Y7, 其它 6 株均能很好适应本试验中沼液的浓度, 迅速进入对数期生长, 1067 先于其它藻株进入稳定期。

2) 培养过程中, 未调节培养液 pH 值条件下, 所有的培养液在前 2~4 d pH 值均下降, 之后 pH 值开始上升。pH 值下降的同时, 藻的比生长速率增大的趋势; 对于藻株 Y7、W pH 值降到最低时, 藻比生长速率达到最大值, 其他藻株延迟 2 d 后达到最大值。

3) 培养后, NH₄-N、Mg²⁺、SO₄²⁻、Mn、F⁻、Fe 的浓度均大幅下降; 对导致水体富营养化的污染物 NH₃-N

及金属元素 Mn、Fe 均最终几乎被完全利用。

4) 培养 12 d 后, 7 株藻的干质量累积量在 0.310~0.607 g/L 之间。其中 1069 的最大 0.607 g/L, 其次是 1067、Y3 和 W, 分别为 0.571、0.559 和 0.543 g/L。

[参 考 文 献]

- [1] Chen P, Min M, Chen Y, et al. Review of biological and engineering aspects of algae to fuel approach[J]. *Int J Agric and Biol Eng*, 2009, 2(4): 1-30.
- [2] Chisti Y. Biodiesel from microalgae[J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(2): 294-306.
- [3] Wang L, Li Y, Chen P, et al. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp.[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(8): 2623-2628.
- [4] DOE U S. National Algal Biofuel Technology Roadmap[R]. U S Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Biomass Program, 2010.
- [5] 胡洪营, 李鑫. 利用污水资源生产微藻生物柴油的关键技术及潜力分析[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(3): 739-744. Hu Hongying, Li Xin. Analysis of key techniques and production potential of biodiesel production based on microalgae with wastewater as resources[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(3): 739-744. (in Chinese with English abstract)
- [6] Pienkos P T, Darzins Al. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels[J]. *Biofuels Bioprod Bioref*, 2009, 3(4): 431-440.
- [7] Hammouda O, Gaber A. Microalgae and wastewater treatment[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1995, 31(3): 205-210.
- [8] 孙红文, 黄国兰, 丛丽莉, 等. 藻类对偶氮染料的降解及定量结构-生物降解性研究[J]. *中国环境科学*, 1999, 19(4): 289-292. Sun Hongwen, Huang Guolan, Cong Lili, et al. Biodegradation of azo dyes by algae and QSBR study[J]. *China Environmental Science*, 1999, 19(4): 289-292. (in Chinese with English abstract)
- [9] 刘玉环, 阮榕生, 孔庆学, 等. 利用市政废水和火电厂烟道气大规模培养高油微藻[J]. *生物加工过程*, 2008, 6(3): 29-33. Liu Yuhuan, Roger Ruan, Kong Qingxue, et al. Mass culture of high oil content microalgae on wastewater and power plant flue gases[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2008, 6(3): 29-33. (in Chinese with English abstract)
- [10] Li Y, Chen Y, Chen P, 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(8): 5138-5144.
- [11] 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 Yan, Zhou Wenguang, Zhang Xiaodong, et al. Effect of microalgae culture on treatment of wastewater from anaerobic digested swine manure[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2011, 27(Supp.1): 101-104. (in Chinese with English abstract)
- [12] Lincoln E P, Wilkie A C, French B T. Cyanobacterial process for renovating dairy wastewater[J]. *Biomass and Bioenergy*, 1996, 10(1): 63-68.
- [13] 贺国强, 邓志平, 陶丽, 等. 高油脂产率微藻的筛选及发酵条件的优化[J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(6): 1046-1053. He Guoqiang, Deng Zhiping, Tao Li, et al. Screen and fermentation optimization of microalgae with high lipid productivity[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2010, 18(6): 1046-1053. (in Chinese with English abstract)
- [14] 刘晓娟, 段舜山, 李爱芬. 有机碳源和氮源对三角褐指藻生长的影响[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(2): 252-257. Liu Xiaojuan, Duan Shunshan, Li Aifen. Effects of organic carbon sources and nitrogen sources on the growth of *Phaeodactylum tricoratum*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(2): 252-257. (in Chinese with English abstract)
- [15] 岳金萍. 黄、东海及胶州湾秋季浮游植物部分主要成分和金属元素组成的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009. Yu Jinping. Study on Some Major Components and the Metallic Elements Compositions of Marine Phytoplankton Samples From the Yellow and East China Seas and from the Jiao Zhou Bay in Autumn[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009. (in Chinese with English abstract)
- [16] 李鑫, 胡洪营, 甘柯. 氮元素对贫营养型二形栅藻 LX1 生长及去除氮磷特性的影响研究[C]//2008 年中国水环境污染控制与生态修复技术学术研讨会论文集, 广东广州, 中国环境科学学会, 2008, 936-948. Li Xin, Hu Hongying, Gan Ke. Study on the influence of nitrogen on the growth and N, P removal properties of low-nutrient-demanding *Scenedesmus dimorphus* LX1. [C]// Symposium for Pollution Control and Ecological Restoration Techniques of Water Environments in China, Guangdong, Guangzhou, Chinese Society for Environmental Sciences, 2008: 936-948. (in Chinese with English abstract)
- [17] 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.
- [18] Liu Z Y, Wang G C, Zhou B C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(11): 4717-4722.
- [19] Facundo J M, Nishio N, Nagai S, et al. Enhancement of biomass and pigment production during growth of *Spirulina platensis* in mixotrophic culture[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1995, 62(2): 159-164.

Experiment on microalgae cultivation in BG11 nutrient solution adding biogas slurry

Huo Shuhao¹, Chen Yubi^{1,2}, Liu Yupeng², Zhu Yi³, Peng Gaojun², Dong Renjie^{1*}

(1. Energy Engineering and Low Carbon Technology Laboratory, College of Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China; 2. College of Water Resources and Civil Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China; 3. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: The way of using biogas slurry to cultivate energy microalgae is favorable to wastewater disposal and can lower the cost of the algae production effectively. 7 strains of microalgae S496, 1067, 1069, C31, Y7, Y3 and W were added to be mixed with nutrient solution (volume ratio of biogas slurry and BG11 was 1:9), and then changes of the growth rate, pH value and nutrients of nutrient solution were studied in this paper. The results showed that all other 6 strains could adapt to culture solutions immediately and came into logarithm growth phase except Y7. Under the conditions of unregulated medium pH value, pH value of these culture solutions all decreased from 9.20-9.32 to 8.73-9.09 in the first 2-4 days and then started to rise. When pH value declined, growth rate of microalgae increased constantly. When algae were cultivated after 12 days, the final concentrations of algae in culture medium were between 0.310-0.607 g/L. During culture process, the concentrations of $\text{NH}_4\text{-N}$, Mg, SO_4^{2-} , Mn, F^- and Fe all dropped significantly; $\text{NH}_4\text{-N}$, Mn, Fe were fully absorbed; Mg^{2+} dropped 11.47%-87.73%; SO_4^{2-} dropped 37.30%-62.70%; F^- dropped 18.18%-54.55%. This research provides scientific basis for cultivating microalgae in mixing biogas slurry.

Key words: algae, pH, nutrients, growth rate, biogas slurry