

The Research of Coupling Energy Microalgae Mass Culture with Biogas Slurry Decontamination

Liu Qian 1,2, Liu Yu-huan1,2*, Ruan Rong-sheng1,2, Liu Jian-qiang1,2, Yang Liu 1,2, Wang Yun-pu 1,2, Wu Xiao-dan1,2, Zhang Jin-sheng2, Peng Hong1,2, Wan Yiqin1,2

1. The Engineering Research Center for Biomass Conversion, MOE,
Nanchang University, Nanchang, China, 330047

2. The State Key Laboratory of Food Science and Technology,
Nanchang University, Nanchang, China, 330047

1. madderliu@yahoo.com.cn, 2.* Corresponding author: liuyuhuan@ncu.edu.cn

Abstract: Energy microalgae oil is considered as the final solution for the human demands on the liquid fuels of transportation in the near future. But the cost of microalgae mass culture is too high for industrialization so far, one of the key issue that obstacle the industrialization of mass culture of energy microalgae is not only the high cost of manual preparation of the medium, but also the manual medium waste resulted environmental pollution. The quantity of biogas slurry increased continuously in China. It is an urgency to make full use of biogas slurry and reducing the environmental risk. In recent years, the studies showed that the nutrient content and the proportion in biogas slurry were suitable for microalgae mass culture in general, but there remain many problems. Strengthening research work on the key technology of coupling microalgae mass culture with biogas slurry decontamination may reduce the cost of microalgae bio-energy production and restrain the eutrophication of the rivers, lakes and ocean simultaneously with great significance.

Keywords: Biogas slurry; decontamination; microalgae; mass culture; bio-energy

能源微藻规模化养殖与沼液深度净化的藕联研究

刘茜 1,2, 刘玉环 1,2*, 阮榕生 1,2, 刘建强 1,2, 杨柳 1,2, 王允圆 1,2, 巫小丹 1,2, 张锦胜 1,2, 彭红 1,2, 万益琴 1,2

1. 南昌大学生物质转化教育部工程研究中心, 南昌, 中国, 330047

2. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 南昌, 中国, 330047

1. madderliu@yahoo.com.cn, 2. 通讯作者: liuyuhuan@ncu.edu.cn

【摘要】能源微藻产油被认为是解决人类未来对交通运输液态燃料需求的最后途径。但是微藻养殖成本过高, 其中人工配制培养基不仅成本高, 还有造成环境污染的问题, 成为阻碍能源微藻产业化的关键问题之一。我国的沼液产量日益增多, 如何对其开展资源化利用和深度净化, 减少其对环境潜在的污染威胁迫在眉睫。近年来的研究表明沼液养分含量、比例比较适合养殖能源微藻, 但是也存在很多问题。加强沼液深度净化和能源微藻规模化养殖藕联的关键技术研究, 既可降低生物能源生产成本, 又可以遏制河流、湖泊和海洋的富营养化趋势, 意义重大。

【关键词】沼液; 净化; 微藻; 规模养殖; 生物能源

1 引言

Supported by The Foundation of Key Technology Research Program of Biodiesel Industry in Jiangxi Province of China (2007BN12100); NSFC Projects: 30960304; Jiangxi Province NSF Projects: 2008GZH0047; Special Project for Returned Scholar in Jiangxi Enterprise Pioneer Garden 2008718

藻类具有光合作用效率高、环境适应能力强、生长周期短、生物产量高的特点, 被认为是解决人类未来对交通运输液态燃料需求的最后途径。国内外许多科学家一直在积极探索并培育“工程微藻”(高含油量微藻), 希望能实现规模化高油能源微藻养殖^[1~2]。目前藻类养殖成本过高是制约藻类生物柴油技术发展

的瓶颈,其中找到合适的微藻培养基,降低生产成本,成为该技术的关键之一^[3]。

据统计,截至2006年底我国已建成的户用沼气总数已超过2200多万个^[4]。到2010年沼气的产量要求达到190亿 m^3 ,到2020年达到400亿 m^3 ^[5]。因此我国的沼渣、沼液排放量日益增多。只经过厌氧处理的沼液,其中仍含有大量的氮、磷等营养成分,仍是水体富营养化的潜在污染源。将能源微藻规模化养殖与沼液深度净化耦合处理具有多重意义:不但可以解决藻类培养成本过高的问题,还可以进一步净化沼液,解决环境污染问题。这是目前一个很有研究价值的领域。

2 沼液

2.1 沼液成分

沼液是沼气生产的副产品,含有氮、磷、钾、钠、钙、铜、铁、镁、锰和锌等微量元素,还有蛋白质和17种氨基酸,及一些维生素和生长激素等成分^[6],这些成分对藻类的生长和发育都具有非常重要的作用。

2.1.1 不同原料来源沼液的养分含量

不同地区的生物资源不尽相同,沼气发酵的原料也就不一样,所得沼液养分组成和含量存在一定差异,并且某些营养元素的差异较大^[7]。我国常见的沼气发酵原料有:牛粪、猪粪、人粪尿、玉米秸、稻草、水生植物等。

就全N含量而言,在上述前四种原料的沼气池中,以牛粪沼液全N含量最高,人粪沼液之,猪粪沼液随后,而以玉米秸沼液的全N含量最低。沼液中的全氮主要有有机氮和速效氮构成,表征着沼液的有机酸、腐殖酸的含量情况,与原料成分具有很大的相关性。以秸秆为原料的沼液中有有机成分相对较少,大概是牛粪原料沼液的39.0%。沼液速效氮情况与全N的含量情况近似,也是以秸秆为原料的沼液N含量最低,因此在使用沼液培养藻类时应注意氮素的调节。

4种原料的沼液中全P含量的高低顺序为:猪粪沼液>牛粪沼液>人粪沼液>玉米秸沼液。以猪粪为原料的沼液全P含量最高,并分别比其它原料沼液高出156.1%、176.0%和201.7%,这大概是猪饲料中磷素相对含量较高造成的。沼液中的速效磷含量都较低,维持在21~92 mg/kg 。

沼液中全K含量的高低顺序为:牛粪沼液>玉米秸沼液>人粪沼液>猪粪沼液。以牛粪为原料的沼液

中全K含量最高,其次是以秸秆为原料的沼液,以猪粪为原料的沼液全K含量最低。牛粪沼液和玉米秸沼液的速效K含量较高,分别占全K含量的74.6%和73.1%。因此在施用以猪粪和人粪原料的沼液时,应该注意K元素的添加。

另外还存在的沼液种类有:蓝藻沼液,其中pH值为7.06,含全N、全P、全K、有机质分别为4.75、6.99、0.86、40.2 g/kg ,藻毒素含量为59.70 $\mu\text{g/kg}$ ^[8-11];水葫芦沼液,其中含氮0.24%,含磷酸0.07%,含氧化钾0.11%,同时富含Fe(0.7~0.9 g/kg)、Mn(0.5~0.8 g/kg)、Cu(0.1~0.3 g/kg)、Mg(0.04~0.05 g/kg)等多种微量元素。但是,由于水葫芦对重金属吸附作用较强,且一般长于受污染水域,因此造成其重金属含量较高^[12-14];红萍沼液,氮2.9%~4.5%,磷0.73%~1.1%,钾3.27~4.8%,但同时,由于红萍对重金属有富集作用,其中的重金属含量较高^[15]。

以上各种沼液与常用于绿藻、蓝藻培养的BG11培养基相比较,可以发现:C、N等的浓度均可以达到所需要求,有些甚至浓度过高,需要进行稀释或其他生物技术处理。但是其他微量元素的含量相对较少,有些甚至缺乏,需要进行补充。

总而言之,沼液浓度过高的要进行稀释,过低的要进行浓缩,不足的元素要注意补充。

2.2.2 沼液分层

黎良新等^[16]将沼液静置足够长的时间后,让其自然分层。分层后的沼液分为三层。其中,上层的沼液由固液两相组成,以悬浮固体为主,含速效氮、磷、钾及谷氨酸、赖氨酸、蛋氨酸和多种微量元素。中层沼液由混合均匀的固液两相组成,以液相为主,含有丰富的有机质,速效氮、磷、钾及多种活性物质和铁、锰、铜、锌等多种微量元素。尤其是该层含病菌和寄生虫卵极少。下层沼液以固相为主、液相为辅,其中含有大量腐殖酸、有机质及少量速效氮、磷、钾等营养元素。

2.2 沼液预处理

由于沼气发酵残留物还含有部分粘稠状的沼渣,渣液往往混在一起。同时,沼液中还含有大量的其他微生物。沼液的浑浊度过高,不利光照,从而影响藻类的生长,其他微生物会与藻类形成竞争,从而抑制藻类的生长。因此,要对沼液进行预处理。

杜金^[17]选用 FeCl_3 , FeSO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 聚合硫

酸铁,天然斜发沸石粉,天然钠基膨润土,以及阳离子型,阴离子型,非离子型聚丙烯酰胺作为混凝剂,对大中型猪场废水厌氧发酵液进行预处理,浊度的去除率和污泥比阻的降幅分别大于 93%和 81%。

张瑞红^[18]采用物化-序批式生物膜工艺,研究了厌氧消化液中的有机物和氮的去除效果,发现聚合氯化铝混凝要优于粉状活性炭吸附,其对 COD 的去除率可高达 80.24%。

倪俊^[19]以聚合氯化铝或 FeCl_3 对厌氧发酵后的沼液进行混凝处理,可使 COD 去除 80%以上。

Singhal^[20]对高浓度废水采用稀释的办法,根据具体的测量数值,将沼液稀释至适合藻类生长的范围。

3 微藻

3.1 适合做能源原料的微藻藻种筛选

美国能源部从 1978 年立项开展了利用藻类制备生物柴油的研发工作,从海洋和湖泊中共分离了 3000 多株藻类,从中筛选出了 300 多株生长快、含油高的具有应用前景的微藻,其中多数是绿藻和硅藻^[21~22]。

3.2 适合沼液环境的微藻藻种驯化

将挑选出的微藻投放到沼液中培养,使其适应沼液的环境,还要经过漫长的驯化过程^[23]。一般情况下,水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度大于 50mg/L 时,会对藻类生长产生抑制作用。沼液虽经曝气预处理,但 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量仍远超过 50mg/L,有时甚至达到 300mg/L 以上,因此,试验前必须对藻种进行耐氮驯化。

驯化时,以氨水作为藻类培养基的氮源,接入藻种后,逐级提高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度,从 30mg/L,50mg/L,80 mg/L,100mg/L 直至 300mg/L,经反复试验,逐级筛选驯化后,使试验藻种能在高浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 环境中生长。

3.3 适合沼液能源微藻生产的生物反应器

3.3.1 开放式光生物反应器

所谓开放式光生物反应器就是指开放池培养系统。它具有投资少、成本低、技术要求简单等优点^[24~26]。主要有四种类型:浅水池、循环池、跑道池式、池塘。

开放式光生物反应器在沼液能源微藻培养中取得了一定的效果。但是,开放式光生物反应器仍存在下列不足:(1)易受外界环境影响,难以保持较适宜的温

度与光照;(2)会受到灰尘、昆虫及杂菌的污染,不易保持高质量的单藻培养;(3)光能及 CO_2 利用率不高,无法实现高密度培养。

这些因素都将导致细胞培养密度偏低,使得采收成本较高。

3.3.2 封闭式光生物反应器

封闭式光合生物反应器,基本上可以解决开放式光生物反应器的问题,并通过控制培养液浓度实现了连续培养。封闭式光生物反应器具有以下优点:(1)培养条件易于控制;(2)培养密度高,易收获;(3)无污染,能实现单种、纯种培养;(4)适合于所有微藻的光自养培养,尤其适合于微藻代谢产物的生产;(5)有较高的光照面积与培养体积之比,光能和 CO_2 利用率较高等突出优点。目前,一般封闭式光生物反应器有:管道式、平板式、柱状气升式、搅拌式发酵罐、浮式薄膜袋等^{[27]~[33]}。

相比而言,开放式光生物反应器比封闭式光生物反应器更合适沼液微藻规模化养殖,因为沼液中有有机态营养物质多,还原性强,开放式培养有利于发挥藻菌共生优势,在培养的前期可以利用异养的微生物将有机态营养物质耗尽,在收获一定的生物量的同时,创造有利于自养的高油藻类快速繁殖和富集油脂的环境^[34~35]。

4 研究进展

藻类作为一种分布广、适应性强的自养生物,很早就被人们用以吸收沼液、污水中的 N、P 等元素,净化环境。FoxR D^[36]报导了利用人畜废物生产螺旋藻的生产模式,可收获 20 g·m⁻²·d⁻¹ 干粉的藻体生物量。

张桂馥等^[37]利用光合细菌处理沼液,连续运行 10 d,系统的 pH 值为 8.8~9.0,自然光照,温度为 20℃~25℃。处理后沼液 COD 去除率为 51.6%,光合细菌总数为 1.6×10^8 个·L⁻¹,含菌体污泥 14.11 g·L⁻¹ 或污泥干重 0.67 g·L⁻¹。

张国治等^[38]采用悬浮藻和固定藻处理鸡粪、猪粪厌氧发酵液。悬浮藻对鸡粪厌氧发酵液 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TP 的去除率为 62.4%和 62.7%,固定藻分别为 84.0%和 73.8%。悬浮藻经过 15d 室内静态处理,可去除猪粪厌氧发酵液中 93.9%的 $\text{NH}_3\text{-N}$, 78.4%的 TP 和 51.4%的色度,对 COD 的表面去除作用不明显;固定藻处理为室外三个阶段的动态模式,第二阶段去 8.3%的 COD 和 79.1% $\text{NH}_3\text{-N}$;第三阶段则去除 COD41.9%,

NH₃-N 68.5%, TP 85.4%, 色度 84.4%。从实验结果可以看出, 固定藻的处理效果明显好于悬浮藻。

黄辉^[39]利用混养体系对养猪场废水厌氧消化液进行处理, 发现 COD, NH⁺₄-N 和 TP 总去除率分别为 75.7%, 47.6% 和 83.0%, 最终出水浓度分别为 336.5 mg·L⁻¹, 195.2 mg·L⁻¹ 和 7.2 mg·L⁻¹。

姚爱莉等^[40]利用好氧接触氧化、颤藻附着生物床和水生植物联合工艺处理鸡粪发酵液, COD, 铵氮的去除率分别可达 90.6%~94.8%, 96.8%~100%, 有效地脱去废水色素。

References (参考文献)

- [1] Ma F, Hanna M A. Biodiesel production: a review[J]. *Biore-source Technology*, 1999, 70(1): P1-15.
- [2] Ginzburg B Z. Liquid fuel (oil) from halophilic algae: a renewable source of non-polluting energy[J]. *Renew Energy*, 1993, 3: P249-252.
- [3] Chisti Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Advan*, 2007, 25, P294-306.
- [4] Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, et al. A look back at the U. S. Department of Energy's Aquatic Species Program: biodiesel from algae. Close-out report. NREL/TP-580-24190, 1998.
- [5] Metting FB. Biodiversity and application of microalgae. *J Ind Microbiol*, 1996, 17: P477-489.
- [6] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng* 2006, 101: P87-96.
- [7] Shanta Satyanarayan, Paresh Murkute, Ramakant. Biogas production enhancement by Brassica compestries amendment in cattle dung digesters[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2008, 32(3), P210-215.
- [8] Crush J R, Briggs L R, Sprosen J M, et al. Effect of irrigation with lake water containing microcystins on microcystin content and growth of ryegrass, clover, rape, and lettuce[J]. *Environ. Toxicol*, 2008, 23(2): 246-252.
- [9] Leao J C, Geracitano L A, Monserrat J M, et al. Microcystin induced oxidative stress in *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) [J]. *Marine Environ. Research*, 2008, 66: 92-94.
- [10] Mc Elhiney J, Law ton A L, Leifert C, Investigations into the inhibitory effects of microcystins on plant growth, and the toxicity of plant tissues following exposure[J]. *Toxicon*, 2001, 39: P1411-1420.
- [11] Gehringer M M, Kewada V, Coates N, et al. The use of *Lepidium sativum* in a plant bioassay system for the detection of microcystin-LR[J]. *Toxicon*, 2003, 41: P871-876.
- [12] Mahesh W. Jayaweera, Jagath C. Kasturiarachchi, Ranil K.A. Kularatne, Suren L.J. Wijeyekoon, Contribution of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) grown under different nutrient conditions to Fe-removal mechanisms in constructed wetlands, *Journal of Environmental Management*, Volume 87, Issue 3, May 2008, P450-460.
- [13] B.S. Ripley, E. Muller, M. Behenna, G.M. Whittington-Jones, M.P. Hill, Biomass and photosynthetic productivity of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) as affected by nutrient supply and mirid (*Ecritotarus catarinensis*) biocontrol, *Biological Control*, Volume 39, Issue 3, December 2006, P392-400.
- [14] Julie A. Coetzee, Marcus J. Byrneand, Martin P. Hill, Impact of nutrients and herbivory by *Ecritotarus catarinensis* on the biological control of water hyacinth, *Eichhornia crassipes*, *Aquatic Botany*, Volume 86, Issue 2, February 2007, P179-186.
- [15] Pilon-Smits E AH, de Souza MP, Hong Get al. Selenium volatilization and accumulation by twenty aquatic plant species[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1999, 28: P1011-1018.
- [16] Li Liangxin, Zhou Congju, Comprehensive utilization of biogas slurry layer [J], *ecological agriculture, ECO-AGRICULTURE*, P45-46.
黎良新, 周丛钜, 沼液分层综合利用技术[J], *生态农业, ECO-AGRICULTURE*, P45-46(Ch).
- [17] Du Jin, Anaerobic fermentation of coagulation pretreatment of medium-sized farm.[D], Huazhong Agricultural University, a master's degree thesis, 2006.
杜金, 混凝法预处理大中型猪场废水厌氧发酵液的研究[D], 华中农业大学硕士学位论文, 2006.
- [18] Zhang Ruihong, Based on physical and chemical - sequencing batch biofilm digestion process for kitchen waste anaerobic [D]. Kunming: Kunming University of Science degree thesis, 2007.
张瑞红, 基于物化-序批式生物膜工艺处理厨余垃圾厌氧消化液的研究[D], 昆明, 昆明理工大学硕士学位论文, 2007.
- [19] Ni Jun. The anaerobic fermentation processing of biogas slurry from urban life.[D]. Kunming: Kunming University of Science degree thesis, 2005.
倪俊, 城市生活有机垃圾厌氧发酵后的沼液处理[D], 昆明, 昆明理工大学硕士学位论文, 2005.
- [20] Singhal, J. P. N. Rai, Biogas production from water hyacinth and channel grass used for phytoremediation of industrial effluents Original Research Article[J]. *Biore-source Technology*, Volume 86, Issue 3, February 2003, P 221-225
- [21] Metting FB. Biodiversity and application of microalgae. *J Ind Microbiol*, 1996, 17: P477-489.
- [22] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng* 2006, 101: 87-96.
- [23] Minowa T, Yokoyama S, Kishimoto M, et al. Oil production from algal cells of *Unadilla tertiolecta* by direct thermo chemical liquefaction[J]. *Fuel*, 1995, 74(12): P1735-1738.
- [24] Becker EW. Microalgae: biotechnology and microbiology[M]. Lonton: Cambridge University Press, 1994. 66-75.
- [25] Kenneth L Terry. System design for the autotrophic production of microalgae[J]. *Enzyme Microb technol*, 1985, (7): P474-487.
- [26] Lee Y K. Compilation of international seminar of spiraling industry development[C]. Kunming China, 1996. P1-16.
- [27] Lee Y K, Ding S Y, Low C S, et al. Design and performance of ano-type tubular photo bioreactor for mass cultivation of microalgae [J]. *JA ppl Phycol*, 1995, (7): P47-51.
- [28] Miyamoto K, Wable O, Benemann J R. Vertical tubular reactor for microalgae cultivation[J]. *Biotechnol Lett*, 1988, (10): P702-708.
- [29] F G Acien Fernandez, et al. Airlift-driven external-loop tubular Photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of Design and performance[J]. *Chemical Engineering Science*, 2001, 56: P2721-2732.
- [30] G Acien Fernandez, et al. Out door production of *Phaeodactylum Tricornutum* biomass in a helical reactor[J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, 103: P137-152.
- [31] Ramosde Ortega Roux JC. Production of chlorella biomass in different Types of flat bioreactors in temperate[J]. *Biomass*, 1986, (10): P14-156.
- [32] Huang YM, Rorer GL. Cultivation of micro plantlets derived from the marine red alga *Agardhiella* sublets in a stirred tank photo bioreactor[J]. *Biotechnol Prog*, 2003: 1992: P418-427
- [33] Su W W, Li Xu N S. State and parameter estimation of microalgae photo bioreactor cultures based on local irradiance measurement [J]. *J Biotechnol*, 2003, 105(1-2): P165-178.
- [34] G. L. Rorer, J. Modrell, C. Zhi, H. -D. Yoo, D. N. Nagle, W. H. Gerwick. Bioreactor seaweed cell culture for production of bioactive oxylipins[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1995. 7(2).
- [35] C.U. Ugwu, J.C. Ogbonna, H. Tanaka, Design of static mixers for inclined tubular photo bioreactors[J]. *Journal of Applied Psychology*, 2003. 15(2-3).
- [36] Fox R D. Fighting Malnutrition with *Spirulina* Appropriate Technology for the Third World. World view[G]. Washington

- DC, 1984.
- [37] Zhang Guifu, Qiu Jun, Gu Hongjuan, Preliminary study results of using photosynthetic bacteria (PSB) deal with soil slurry [J], China Biogas, 1994,12 (3), P16-19(Ch).
张桂馥, 邱德均, 顾红娟, 利用光合细菌(PSB)处理粪水沼液效果的初步研究[J], 中国沼气, 1994, 12(3), P16-19.
- [38] Zhang Guozhi, Yao Aili, The purification of pig manure anaerobic wastewater with algae[J], Agricultural Science, 2000,13 (1), P105-112(Ch).
张国治, 姚爱莉, 藻类对猪粪厌氧废液的净化作用[J], 西南农业学报, 2000, 13(1), P105-112.
- [39] Huang Hui, Digestion treatment effect of duckweed polyculture system on the pig farm anaerobic [J], Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008,36 (31), P13831 -13832(Ch).
黄辉, 浮萍混养体系对养猪场废水厌氧消化液的处理效果 [J], 安徽农业科学, 2008, 36(31), P13831 -13832.
- [40] Yao Aili, Guyun Xuan, Fang Guoyuan, Biological treatment of manure anaerobic digestion of chicken wastewater [J], China Biogas, 1997, 15 (3), P16-21(Ch).
姚爱莉, 顾蕴璇, 方国渊, 鸡粪厌氧消化废液的生物处理研究[J], 中国沼气, 1997, 15(3), P16-21