

利用啤酒废水小球藻异养培养

曲春波^{1,2}, 史贤明^{1,2}

(¹ 上海交通大学农业与生物学院, 中美食品安全联合研究中心, 上海 200240)

(² 华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070)

摘要:【目的】利用小球藻异养培养技术处理啤酒废水, 旨在为啤酒废水资源化利用和降低小球藻生产成本提供一条途径。【方法】在含有 10 g/L 葡萄糖的基本培养基进行异养小球藻高效藻株的筛选, 并用于啤酒废水的资源化处理。【结果】从 5 株小球藻中得到 2 株适合高密度异养培养的藻株(*Chlorella pyrenoidosa* 15-2070 和 *Chlorella vulgaris* 15-2075), 在啤酒废水的资源化处理过程中这 2 株小球藻得到非常接近的实验结果。利用由废水配制含 10 g/L 葡萄糖的基本培养液培养 *Chlorella pyrenoidosa* 15-2070 获得了 5.3 g/L 藻细胞; 并且在此过程中, 啤酒废水得到有效利用, 几种主要污染物最高去除率为: COD_{Cr}, 92.2%; BOD₅, 95.1%; NO₃⁻-N, 98.5%; NH₄⁺-N, 92.3%。【结论】啤酒废水中的重要环境污染物在培养小球藻的过程中可以得到有效地清除, 并从中可以获得具有商业价值的小球藻细胞。

关键词: 小球藻; 异养培养; 废水资源化处理

中图分类号: **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2009) 06-0780-06

小球藻(*Chlorella*)是高价值微藻, 具有在一般水域甚至在废水中快速生长的特性, 目前普遍采用的开放式自养生产方式成本较高, 为了提高生产效益, 许多学者把小球藻的生产纳入综合利用和环境治理之中^[1]。同时, 随着人口增长和资源短缺的矛盾不断加剧, 水资源已面临短缺危机, 水污染问题也已成为一个非常严重的全球问题。加强水资源的循环利用是减轻污染和实现节能减排的重要途径。啤酒废水 COD、BOD 高达 1000 mg/L 以上, BOD/COD 值一般都在 0.5 以上, 可生化性好, 目前常用的处理方法是活性污泥法及其改进形式和生物接触氧化法, 但传统活性污泥法曝气动力消耗大, 单位废水处理费用高, 同时易发生污泥膨胀和产生大量污泥, 使许多用户在经济和管理上难以承受^[2], 而且处理后水中的氮、磷含量仍然很高, 大量排放易造成水体富营

养化, 同时也是一种资源浪费。

过去近 60 年的研究表明, 微藻能有效地去除废水的氮、磷等营养物质, 藻类的强化培养已作为一种废水二级处理工艺, 用于去除废水中残留的无机化合物。不同藻类对氮、磷的净化效率是不同的, 通过多种藻类的比较研究, Ganter 等认为小球藻和栅藻是对这两种元素去除率最高的藻类。藻类能有效地富集和降解多种有机化合物, 如有机氯化物、有机氮化合物、金属有机化合物等; Hosehis 等对 11 个属的微生物去除废水 BOD 的比较实验表明, 单种藻类对 BOD 的去除比单种细菌或原生动物更有效, 其中普通小球藻对 BOD 的最大去除率可达到 83%^[3]。黄玉瑶等研究表明^[4], 废水中 BOD:N:P = 50:6:1 时, 废水中藻类产量与废水净化效果达到最佳状态。微藻在去除这些“营养物”的同时, 可将它们转化为藻

基金项目: 国家“863 计划”(2006AA02Z226)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-21-34206616; E-mail: xmshi@sjtu.edu.cn

作者简介: 曲春波(1976–), 男, 山东平度人, 博士研究生, 主要从事食品生物技术研究。E-mail: quchunbo@163.com

收稿日期: 2008-11-17; 修回日期: 2009-03-17

体的组成成分,处理废水后的藻体含丰富的蛋白质、矿物质、维生素、氨基酸等营养成分,其营养价值可与鱼肉、大豆相比,可作为高蛋白动物饲料。如果用于处理一些不含有毒物质的工业废水,生产的藻粉还可达到食用级标准,如刘学铭等研究表明,异养普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)能有效地去除味精废水中的氨氮等营养物,回收的藻体组成成分与人工基础培养基培养的藻粉类似,达到了食用级藻粉的标准^[5]。

近年来,国内外开展了大量有关藻类培养和废水处理、环境调控及其净化机理方面的研究,发展了几种新型的藻类处理废水系统,包括超浓度培养、固定化藻类、渗析培养、藻垫以及光生物反应器等^[3, 6]。但文献报道的培养藻细胞浓度一般都较低,大多数为0.15~0.20 g(干重)/L,即使是藻强化培养或高浓度藻培养,藻浓度仍低于3 g/L^[7]。因此,去除的营养物较少,藻体收获也较为困难。近十年来,藻类异养培养技术是微藻生物技术研究的热点,通过异养培养可进行微藻的高细胞密度培养,本实验室目前采用分批和流加培养分别获得48 g/L、105 g/L的生物量^[8],因此,可通过异养培养获得大量藻生物量来去除废水中的“营养物”,实现废水的资源化。

本文利用小球藻的异养特性,针对日益严峻的水体富营养化,探索利用啤酒废水来生产具有较高价值的小球藻,实现废水资源化处理和利用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 藻株及其复壮与培养: 试验用5株藻株的名称与来源见表1,实验室斜面保存。藻株长时间低温保藏后活力会下降,应先进行复壮。从斜面取2~3环藻细胞于液体培养基中,混匀成悬浮液,28℃摇床培养,6~7 d后,此培养液可作为初级种子培养液。将初级种子培养液接入液体培养基中培养,3~4 d后可得到种子培养液。

表1 藻株名称与来源

Table 1 *Chlorella* strains and their sources

Strain code	Name and Catalogue No.	Sources
1 #	<i>C. pyrenoidosa</i> 15-2070	Carolina
2 #	<i>C. pyrenoidosa</i> 15-2071	Carolina
3 #	<i>C. vulgaris</i> 15-2075	Carolina
4 #	<i>C. protothecoides</i> CS-41	CSIRO
5 #	<i>C. vulgaris</i> CS-42	CSIRO

Carolina: Carolina Biological Supply Co., Burlington, USA
CSIRO: CSIRO Marine Laboratory, Hobart, Australia

1.1.2 培养基与培养条件: 培养基为改良的基本(Basal)培养基,成份组成(/L): 10 g 葡萄糖·H₂O, 1.25 g KNO₃, 1.25 g KH₂PO₄, 1 g MgSO₄·7H₂O, 0.5 g EDTA, 114.2 mg H₃BO₃, 111.0 mg CaCl₂·2H₂O, 49.8 mg FeSO₄·7H₂O, 88.2 mg ZnSO₄·7H₂O, 14.2 mg MnCl₂·4H₂O, 7.1 mg MoO₃, 15.7 mg CuSO₄·5H₂O, 和 4.9 mg Co(NO₃)₂·6H₂O, 斜面培养基不含葡萄糖^[9]。液体培养条件为: 500 mL 三角瓶,培养液装量 250 mL,摇床转速 180 r/min,接种量 7%(v/v),pH 6.1,28℃黑暗条件下培养。每个实验处理均进行3次重复。

1.2 高效异养藻株筛选

5株小球藻于Basal液体培养基中异养培养,从接种开始,每隔24 h取样,分别测定细胞干重、OD₅₄₀、葡萄糖含量。

1.3 废水来源

百威(武汉)国际啤酒有限公司。

1.4 小球藻对啤酒综合废水的处理与利用

1.4.1 啤酒综合废水的处理方案: 啤酒综合废水是指啤酒厂的混合废水,其主要成分为麦芽糖和废酵母。主要水质指标(mg/L): COD_{Cr}: 1500, BOD₅: 700, NO₃⁻-N: 0.8, NH₄⁺-N: 0.01, PO₄³⁻-P: 13.0。啤酒综合废水加热煮沸保持5 min,过滤后,将废水与含有10 g/L葡萄糖的Basal液体培养基分别按照3:1、1:1、1:3、1:1比例混合,4组依次标记为b、c、d、e,且调整e组葡萄糖含量为10 g/L,4组的葡萄糖最终含量分别为2.5、5.0、7.5、10.0 g/L;此外,设计a和f组为对照,a: 100%废水,f: 以啤酒综合废水代替蒸馏水配制Basal液体培养基(葡萄糖含量为10 g/L)。6组分别接入1#藻株,接种量7%(v/v),异养培养,每24 h测定COD_{Cr}、BOD₅、还原糖、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、磷、细胞干重。

1.4.2 啤酒综合废水对小球藻异养培养的影响: 取1.4.1的a、e、f组观察啤酒综合废水对小球藻异养培养的影响,将这3组的葡萄糖最终含量均调节到10 g/L,分别标记为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ。灭菌冷却后分别接入1#藻株,接种量7%(v/v),异养培养,每24 h测定细胞干重。

1.5 小球藻对洗糟废水的处理与利用

洗糟废水是指糖化车间排出但还没有同其他工序废水相混合的废水,其主要成分为糖化麦糟、糖类、果胶、蛋白质纤维素等有机物及少量无机盐类。洗糟废水主要水质指标(mg/L): COD_{Cr}: 11591, BOD₅: 4976, 总氮: 40.0, 总磷: 18.0。废水加热煮沸保持5

min, 过滤后进行如下处理: A: 100% 洗糟废水, B: 依据黄玉瑶等的研究(BOD: N: P = 50:6:1)^[4], 以 A 为基础调总氮为 600.0 mg/L, 总磷为 100.0 mg/L, C: B 的基础上依据 Basal 培养基加微量元素, D: C 的基础上依据 Basal 培养基加 MgSO₄. 4 组调节 pH 到 6.1, 分别接入 1# 藻株, 接种量 7%(v/v), 异养培养, 每 24 h 测定 COD_{Cr}、BOD₅、总氮、总磷、细胞干重。

1.6 测定方法

1.6.1 小球藻生物量的细胞干重法测定:取 1 mL 小球藻培养液置于已预先烘干和称重的 1.5 mL 离心管中, 4500 × g 离心 1 min, 弃去上清液。加入 1 mL 蒸馏水, 在振荡器上重新悬浮, 再次离心, 弃去上清液。以上过程重复 3 次。将离心管敞口放入烘箱中, 80 °C 烘至恒重, 测定干重。每个样品做 3 个重复, 计算其平均值。

1.6.2 小球藻生物量的浊度法测定:浊度法用分光光度计在 540 nm 处, 1 cm 比色皿测定培养液的光密度值(OD₅₄₀)。如光密度值过高, 用蒸馏水进行稀释后测定, 测定时应使 OD₅₄₀ 值维持在 0.4~0.6 之间。

1.6.3 还原糖、葡萄糖用二硝基水杨酸法(DNS)测定,硝氮用酚二磺酸光度法, 氨氮用纳氏试剂光度法, 总氮用过硫酸钾氧化-酚二磺酸光度法, 磷用钼锑抗分光光度法, 化学需氧量用重铬酸钾法, 生化需氧量用五日生化需氧量-叠氮化钠修正法。

1.7 参数计算

最大比生长速率(μ) = (lnB2 - lnB1)/(T2 - T1), 其中, μ : 比生长速率(/d); B1、B2: 对数生长期的细胞干重(g/L); T1、T2: 对应的培养时间(d)。

糖对细胞转化率(Y_g) = Max - B/G, 其中, Max - B: 最大细胞干重(g/L); G: 消耗的葡萄糖浓度(g/L)。

2 结果

2.1 适合异养培养高效藻株的筛选

采用细胞干重法和分光光度法同时测定小球藻生长。由图 1 可知, 对同一藻株, 细胞干重和 OD 值两者所反应的细胞生长趋势基本一致, 但不同藻株间生长速度差异明显。藻株 1#、2#、3# 的细胞干重在第 3 天、OD 值在第 4 天时达到最高值, 4#、5# 的细胞干重在第 5 天、OD 值在第 7 天时达到最大值。对比分析各个藻株培养过程的最高生物量、最高生物量出现时间、最大比生长速率、糖对细胞转化率等生长指标(表 2), 1#、3# 均优于其他藻株, 生长性能优异, 说明其适应环境和快速生长的能力最强, 本

研究的目标就要在获得高生物量的基础上, 净化利用废水过程也要快速有效。因此, 在以后的试验中选择 1#、3# 作为试验藻株。同上述结果类似, 在后期研究中, 1#、3# 各项试验结果相差甚微, 因此, 下面仅报道 1# 藻株的研究结果。此外, 细胞干重比 OD 达到最大值的时间提前 1~2 d, 是由于小球藻培养过程中细胞代谢变化等因素引起的(图 2)。

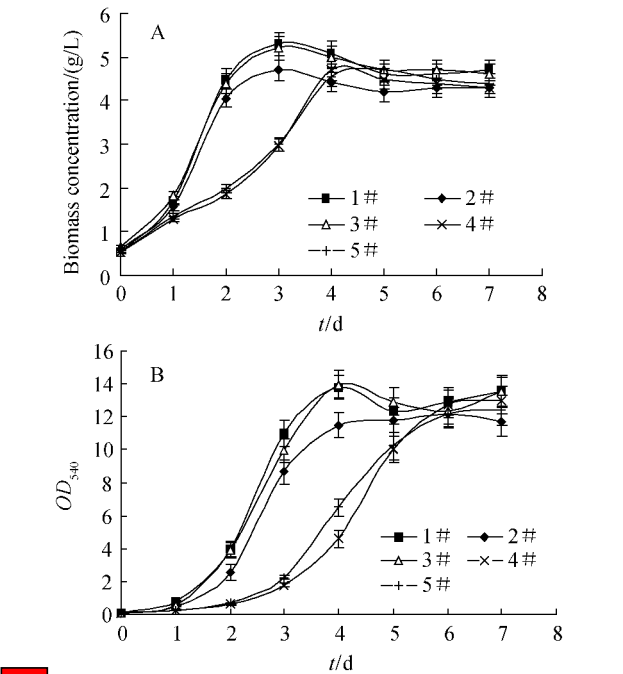


图 1 5 株小球藻的摇瓶异养培养
Fig.1 Heterotrophic cultivation of five *Chlorella* strains in shake flasks.

表 2 摇瓶培养 5 株藻株的生长参数					
Table 2 Growth parameters of five <i>Chlorella</i> strains in shake flasks					
Growth parameters	1 #	2 #	3 #	4 #	5 #
Maximal biomass/(g/L)	5.3	4.7	5.2	4.5	4.7
Maximal biomass at/d	3	3	3	5	5
Specific growth rate/d	0.98	0.90	0.96	0.55	0.58
Cell growth yield on glucose/(g/g)	0.54	0.50	0.52	0.48	0.49

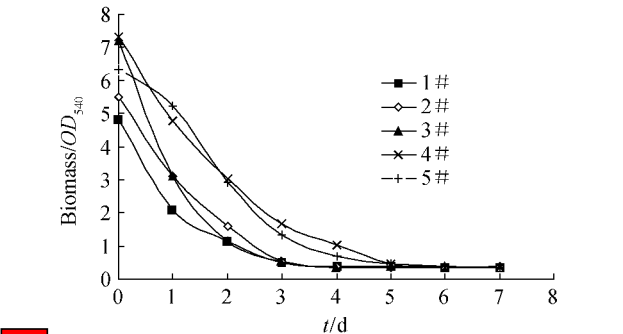


图 2 5 株小球藻摇瓶异养培养生物量与 OD₅₄₀ 的比值
Fig.2 The ratio between biomass and OD₅₄₀ of five *Chlorella* strains under heterotrophic cultivation condition.

从培养过程中细胞干重/*OD* 比值(图 2)可以看出,细胞干重/*OD* 与培养时间有较大关系,在培养前期细胞干重/*OD* 较大,反之则较小,这可能是在培养前期养料含量充足时,细胞摄取养料的速度快,细胞将摄取的养料转化为储藏物储存起来,使得每个细胞相对较大,而在培养后期养料浓度相对低时,细胞部分利用自身储存的物质进行分裂,细胞变得相对较小;通过显微镜观测到培养前期细胞个体形态明显大于培养后期的(详细结果未列出);并且培养后期细胞合成色素物质增加,使 *OD* 值变大,从而使细胞干重/*OD* 发生较大变化。在培养过程中小球藻细胞发生了这些变化,使得细胞干重比 *OD* 达到最大值的时间提前 1~2 d。这一现象也有类似报道^[10]。

2.2 小球藻对啤酒综合废水的处理与利用

小球藻对啤酒综合废水的去除效果在 4 d 后基本稳定,第 4 天的去除效果见表 3,综合原废水(a)中 COD_{Cr} 和 BOD₅ 去除率分别为 39.0% 和 15.0%,

表 3 小球藻异养生长对综合废水主要污染物的去除效率

Table 3 The removal efficiency of main pollutants in mixed wastewater with the growth of <i>Chlorella</i>							
Treatment No.	COD _{Cr} / %	BOD ₅ / %	Reducing sugar/ %	NH ₄ ⁺ -N/ %	NO ₃ ⁻ -N/ %	Total phosphorus/ %	Biomass/ (g/L)
a	39.0	15.0	88.3	76.6	96.6	10.2	0.3
b	83.0	81.7	96.9	75.6	91.1	15.4	1.3
c	85.6	84.5	98.7	70.6	88.7	16.5	2.7
d	87.5	92.4	98.4	72.9	86.7	15.6	4.0
e	89.9	94.1	98.9	91.2	98.5	28.5	5.3
f	92.2	95.1	98.8	92.3	98.5	15.1	5.3

在本文设计的几种处理方案中,磷净化效果都比较低(≤ 28.5%),是值得注意的一个问题,本实验室的深入研究发现,传统 Basal 培养基中磷含量过多^[11],导致各处理培养液中磷含量远远超出小球藻所能吸收的磷量上限,造成培养结束后培养液中磷大量残留。

为了更详细了解废水中的主要成分能否满足小球藻的生长要求,废水是否存在有毒有害物质以及它们对小球藻生长的影响如何,设计 3 组方案培养小球藻,由图 3 可知,Ⅰ组培养液与其它两组相比差别很大,Ⅰ组在第 4 天获得 1.4 g/L 的最大生物量,小球藻生长状况较差,表明在废水中除了葡萄糖以外,其它无机营养元素也可能缺乏,从而限制了其生长繁殖;Ⅱ组在第 4 天获得 5.2 g/L 的最大生物量,与在 Basal 培养基中的最大生物量(5.3 g/L)基本一致,说明用废水 50% 替代 Basal 培养基对小球藻最大生物量没有明显影响,但从生长曲线看,Ⅱ组相比 Basal 培养基达到最高生物量的速度较慢,Ⅱ组的最大比生长速率为 0.85 /d,小于 Basal 培养基中的最

去除率比较低,这说明小球藻对原废水中大部分有机物利用降解程度有限或可降解的有机物含量不高;原废水还原糖、氨氮和硝氮的去除率分别为 88.3%、76.6% 和 96.6%,去除率较高,证明异养小球藻对这 3 种废水污染物的净化能力较强。小球藻对啤酒废水与 Basal 培养基混合液(b、c、d、e、f)的 COD_{Cr}、BOD₅、还原糖、氨氮和硝氮的去除率分别为 83.0%、81.7%、96.9%、70.6% 和 86.7%,去除率都比较高,表明对废水进行合理预处理,小球藻对废水混合液的净化效果非常有效,营养物质利用率高;生物量随着混合液中葡萄糖含量的增加而增加,混合液 b、c、d、e、f 的葡萄糖含量分别为 2.5、5、7.5、10、10 g/L,对应的糖对细胞转化率分别为 0.52、0.54、0.53、0.53、0.53 g/g,这和 Basal 培养基基本一致,说明葡萄糖是小球藻增殖的主要有机物来源,也说明废水没有抑制小球藻生长和对葡萄糖的吸收利用。

大比生长速率(0.98 /d),生物量在培养 4 d(Basal 培养基 3 d)时达到最大值,这可能是由于废水 50% 替代 Basal 培养基,从而导致小球藻最佳异养生长环境条件(如某些无机盐)发生变化,影响小球藻生长代谢速度,但对小球藻异养培养生物量影响不大,能达到 Basal 培养基的最高生物量;Ⅲ组在第 3 天获得 5.3 g/L 的最大生物量,小球藻生长曲线、最大比生长速率等和 Basal 培养基培养中相比,都基本无差别,表明用啤酒废水 100% 替代纯水配制培养基完全可行,废水基本上不含对小球藻有毒有害的物质。

从废水处理效果和利用啤酒废水资源化培养小球藻考虑,利用啤酒废水 100% 替代蒸馏水,各水质指标去除效率高,小球藻生长良好,表明啤酒废水完全可以用于小球藻的异养培养。综合考虑,以啤酒废水代替蒸馏水配制 Basal 液体培养基组的处理效果最佳。

2.3 小球藻对洗槽啤酒废水的处理效果

小球藻对洗槽废水的去除效果在 4 d 后基本稳定,第 4 天的去除效果见表 4。在本文的几种试验

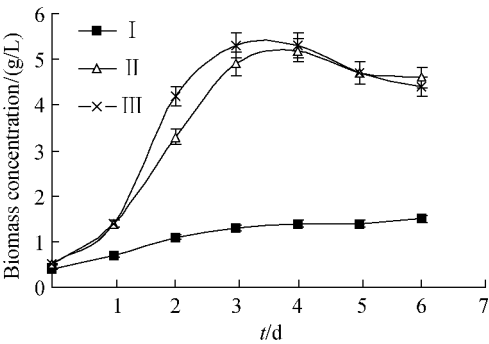


图3 异养培养小球藻资源化利用啤酒废水
Fig.3 The reuse of wastewater by heterotrophic *Chlorella*.

方案下,BOD₅去除率仅为18.6%~24.7%,说明虽然原废水有机物浓度高,但小球藻只能吸附降解其中的部分有机物,小球藻对废水原有有机物利用率不高;生物增加量≤0.6 g/L,也说明小球藻对有机物利用率不高,同时说明,如果在洗槽啤酒废水中不添加葡萄糖,那么难以满足小球藻高效生长的需要;磷和氮等营养物质浓度虽然调整到适宜比例,但在小球藻细胞浓度较低的情况下,其净化利用效率也不高,总磷的去除率为5.2%~9.8%;经过预处理的洗槽废水总氮去除率为3.6%~5.4%,原洗槽废水总氮去除率为28.5%~30.0%,预处理洗槽废水和原废水总氮去除率的差异可能是由于两者所含氮的不同形式造成的;经过预处理废水的COD_{Cr}去除率(45.0%~54.5%)高于原洗槽废水的COD_{Cr}去除率(15.4%~18.3%),可能是培养液中添加无机营养物,这增加了小球藻的吸附或者有机物的沉降效果。在利用异养小球藻资源化净化废水时,获得足够多的生物量是提高净化效果的前提,而啤酒洗槽废水中的大部分有机物不能被小球藻利用,因此不能获得高生物量,导致洗槽废水处理效果较差。

表4 小球藻异养生长对洗槽废水主要污染物的去除效率

Table 4 The removal efficiency of main pollutants in saccharifying process wastewater with the growth of <i>Chlorella</i>					
Treatment No.	COD _{Cr} / %	BOD ₅ / %	Total nitrogen/ %	Total phosphorus/ %	Biomass/ (g/L)
A	15.4	19.6	30.0	9.8	0.3
B	52.4	21.4	3.6	6.0	0.5
C	46.2	22.4	4.1	5.5	0.6
D	47.4	24.7	4.8	5.2	0.6

3 讨论

从5株小球藻中,根据它们的生长速度和最大生物量筛选到2株适宜高效异养培养的藻株,这2株小球藻被用于啤酒废水的资源化处理时,都表现

出优良特性。由于3#藻株的各项试验结果同1#藻株非常接近,因此,在本文仅列出了1#藻株的研究结果。

利用啤酒废水100%替代蒸馏水,小球藻生长没有受到影响,表明啤酒废水完全可以用于小球藻的异养培养,此举可以节约大量的水资源,同时实现废水资源化利用。通过异养培养小球藻,啤酒废水几种主要水质污染物都有不同程度的去除,这减轻了环境污染压力。

在本试验的各种情况下,磷净化效果都很差,这是因为传统的Basal培养基中的磷用量过多,各培养液中磷含量远远超出小球藻所能吸收的磷上限,造成培养液中大量的磷残留,导致去除率很低,我们实验室最新研究详细地阐明了此问题^[11]。

利用小球藻异养培养技术资源化处理啤酒废水,是一项经济效益(获得高价值的小球藻藻粉)和社会效益(减轻环境污染压力)俱佳的实际应用技术,这不仅为啤酒废水资源化利用,同时也为降低小球藻生产成本提供了一个有效途径。小球藻用于啤酒废水处理仍有许多实际问题需要解决,而确定适合于培养小球藻的废水预处理方法十分关键。异养小球藻资源化净化利用啤酒废水,获得藻生物量是异养培养的目标,也是净化废水的前提条件^[12]。在本项研究中,只添加了葡萄糖的啤酒综合废水中小球藻生长差,而既添加了葡萄糖又添加了Basal培养基其它成分的废水中小球藻生长较好,这说明废水原有的营养物质还不足于提供小球藻大规模生长所需。在商业化利用这项技术时,必须更详细准确地了解废水中各种物质的含量范围,对照小球藻对营养物质的要求,适当地设计预处理方案,本研究是在实验室条件下进行的,因此采用添加较高浓度葡萄糖和适量改良的Basal培养基于废水中以满足小球藻高效生长的要求,但在实际应用中,应根据废水特性,通过适量补充小球藻能利用的廉价有机碳源(如大米糖化醪、废糖蜜)和废水含量不足的其他营养物,从而达到高效处理废水和生产小球藻之目标。今后通过多种条件的优化,有望得到更好的预处理方法。

尽管刘学铭的研究证明了用味精废水培养的小球藻基本成分与Basal培养基培养的小球藻之间没有明显的差别,且其重金属含量符合食品卫生标准的要求^[5]。但利用啤酒废水生产出来的小球藻产品目前还没见到关于安全性评价的详细报道,啤酒废水生产的小球藻还需做更深入的安全性评价研究,

从而确定其商业化应用的范围。

参考文献

- [1] 胡月薇, 邱承光, 曲春波, 等. 小球藻处理废水研究进展. 环境科学与技术 (*Environmental Science & Technology*), 2003, (4): 48–49 + 63–67.
- [2] 周长波, 张振家. 啤酒废水处理技术的应用进展. 环境工程 (*Environmental Engineering*), 2003, (6): 19–24.
- [3] 严国安, 谭智群. 藻类净化污水的研究及其进展. 环境科学进展 (*Progress in Environmental Science*), 1995, 3 (3): 45–54.
- [4] 黄玉瑶, 高玉荣, 陈伊梅, 等. 磷对藻类生长及污水净化的影响. 生态学报 (*Acta Ecologica Sinica*), 1990, 10(4): 299–304.
- [5] 刘学铭. 小球藻异养生长特性及味精废水生产微藻蛋白研究. 广州: 华南理工大学, 1999.
- [6] Abe K, Imamaki A, Hirano M. Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. *Journal of Applied Phycology*, 2002, 14(2): 129–134.
- [7] Lavoie A, Noue JL. Hyperconcentrated cultures of *Scenedesmus obliquus*: a new approach for wastewater biological tertiary treatment. *Water Research*, 1985, 19 (11): 1437–1442.
- [8] Wu ZY, Shi XM. Optimization for high-density cultivation of heterotrophic *Chlorella* based on a hybrid neural network model. *Letters in Applied Microbiology*, 2007, 44(1): 13–18.
- [9] Shi XM, Chen F, Yuan JP, et al. Heterotrophic production of lutein by selected *Chlorella* strains. *Journal of Applied Phycology*, 1997, 9(5): 445–450.
- [10] 刘学铭, 余若黔, 梁世中. 分批异养培养小球藻光密度值与干重的关系. 微生物学通报 (*Microbiology*), 1999(5): 339–341.
- [11] Qu CB, Wu ZY, Shi XM. Phosphate assimilation by *Chlorella* and adjustment of phosphate concentration in basal medium for its cultivation. *Biotechnology Letters*, 2008, 30 (10): 1735–1740.
- [12] 况琪军, 胡征宇, 赵先富, 等. 藻类生物技术在水环境保护中的应用前景探讨. 安全与环境学报 (*Journal of Safety and Environment*), 2004(S1): 46–49.

Heterotrophic Cultivation of *Chlorella* for Beer brewery wastewater treatment

Chunbo Qu^{1,2}, Xianming Shi^{1,2*}

(¹School of Agriculture & Biology, Joint Sino-US Food Safety Research Center, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

(²College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: [Objective] To treat wastewater from beer breweries, we used the wastewater for the heterotrophic cultivation of *Chlorella*. [Methods] Using Basal medium containing 10 g/L glucose•H₂O, we screened 5 *Chlorella* strains, of which 2 strains with high specific growth rate and maximal biomass were used for wastewater treatment. [Results] The two strains, *Chlorella pyrenoidosa* 15–2070 and *Chlorella vulgaris* 15–2075, were suitable for heterotrophic mass cultivation, and had similar results. For *Chlorella pyrenoidosa* 15–2070, 5.3 g/L biomass was achieved with Basal medium containing 10 g/L glucose•H₂O and beer wastewater. In addition, the highest removal efficiencies for COD_{Cr} (92.2%), BOD₅ (95.1%), NO₃⁻-N (98.5%), NH₄⁺-N (92.3%) were achieved during the process. [Conclusion] Beer wastewater could be used as a major component of the medium for heterotrophic cultivation. Most of the harmful compounds in the wastewater could be removed during this process.

Keywords: *Chlorella*; heterotrophic cultivation; wastewater treatment

(本文责编: 张晓丽, 谷志静)