

doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2015.06.017

气升式光生物反应器中 *Chlorella* sp. 优化培养与能量计算

周集体¹, 桂 冰¹, 李 昂², 胡 霞¹, 乔 森¹

(1.大连理工大学 环境学院, 116023 辽宁 大连; 2.哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 150090 哈尔滨)

摘 要: 高油脂含量的微藻能够有效利用太阳能生产生物油脂, 从而实现无机碳转化为有机碳的过程. 如何降低微藻培养过程的能量消耗, 是实现含油微藻规模化生产生物柴油的关键. 通过对气升式光生物反应器中 *Chlorella* sp. 培养条件的优化, 以及不同培养条件的能量计算和比较, 发现当使用侧光光纤作为内置光源时可以提高光能利用率, 在适宜的通气速率 (0.6 L/min) 条件下, 可获得单位能耗的最大生物产量 4.40 g/(W·d), 较同等条件下外置光源时产量提高了 8~25 倍.

关键词: 微藻; *Chlorella* sp.; 光生物反应器; 能量计算

中图分类号: X511

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2015)06-0094-05

Optimization of *Chlorella* sp. cultivation in airlift photobioreactor and energy calculation

ZHOU Jiti¹, GUI Bing¹, LI Ang², HU Xia¹, QIAO Sen¹

(1.School of Environmental Science & Technology, Dalian University of Technology, 116023 Dalian, Liaoning, China;

2.School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: Oleaginous microalgae can produce biodiesel by solar energy, transforming the inorganic carbon into organic carbon. However, the reduction of the energy consumption in the process of oleaginous microalgae cultivation is the bottleneck to achieve large-scale production of biodiesel. By the optimization of the *Chlorella* sp. cultivation in an airlift photobioreactor, as well as the energy calculation and comparison of different culture conditions, the work proposed that, the adoption of optical fibers as the internal illumination source and a proper flow rate (0.6 L/min) in the cultivation of *Chlorella* sp. in the airlift photobioreactor could enhance the energy efficiency and obtain the maximal productivity per energy consumption 4.40 g/(W·d), 8~25 folds of those with the external illumination conditions.

Keywords: microalgae; *Chlorella* sp.; airlift photobioreactor; energy calculation

为了使微藻生物柴油作为一种廉价替代能源得到广泛利用和工业推广, 在优化培养条件提高单位产率的同时, 需要综合考虑能量利用效率, 从而使微藻生物柴油成为更经济的能源获得途径^[1]. 提高微藻能量利用效率的途径主要有两种, 即提高光能利用效率和减小单位产量的曝气耗能. 大规模微藻培养过程中, 只有小部分光辐射能够被藻类吸收, 绝大部分光能由于藻液的衰减作用无法进入反应器内部, 这也是导致光生物反应器中能量效率较低的主要原因^[2]. 通体发光光纤

通常为阶跃型聚合物光纤, 耐腐蚀, 柔韧性好, 作为光传导介质能够将光辐射引入反应器内部, 从而克服传统反应器壁厚造成的光衰减, 一定程度降低对占地面积的要求, 便于将光生物反应器大型化、规模化, 易于室内培养和培养条件的控制^[3]. 本文以小球藻 *Chlorella* sp. 为实验对象, 探讨不同光源和培养条件下气升式光生物反应器中小球藻 *Chlorella* sp. 培养过程的能量效率问题, 为大规模培养廉价油脂小球藻提供依据.

1 实 验

1.1 藻种

FACHB-484 小球藻 *Chlorella* sp. 由中科院淡水藻种库购得.

收稿日期: 2014-06-20.

基金项目: 国家自然科学基金(21377014).

作者简介: 周集体(1956—), 男, 教授, 博士生导师.

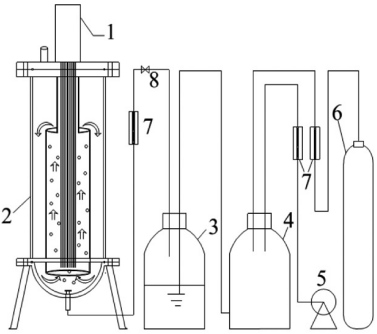
通信作者: 周集体, zjiti@dlut.edu.cn.

1.2 培养基

采用 BG11 培养基: NaNO_3 1.5 g/L, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.04 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.036 g/L, Na_2CO_3 0.02 g/L, EDTA- Na_2 0.001 g/L, 柠檬酸 0.006 g/L, 柠檬酸铁铵 0.006 g/L, 微量元素母液 A_5 1 mL, 定容至 1 L. A_5 成分为: H_3BO_3 2.86 g/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.86 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22 g/L, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.39 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08 g/L, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L. 用稀 NaOH 溶液或稀 HCl 调节 pH 至 7.1 ± 0.1 . 测定二氧化碳固定效率时, 培养基中不加入 Na_2CO_3 .

1.3 反应器设计与接种

反应器装置如图 1 所示. 气升式光生物反应器由有机玻璃(聚甲基丙烯酸甲酯, PMMA)制成, 工作体积为 2 L, 高 300 mm, 由内外两个圆筒构成, 外筒直径为 110 mm, 导流筒直径为 65 mm. 底部设有曝气头, 通过空气和工业二氧化碳气体配置不同体积分数二氧化碳作为气源. 培养温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 外置光源为日光灯, 内置光源由 16 W 白色 LED 光源发生器提供, 将外径为 2 mm 超亮型侧光光纤(JY-ssof, 南宁旭越光纤有限公司)捆成直径为 20 cm 的光纤束作为光传导介质, 从上端开口插入反应器内部, 实验均采用持续光照. 每次批式培养之前, 用体积分数为 10% NaClO 对反应器进行消毒, 再用去离子水冲洗数遍.



1—LED 光源;2—光生物反应器;3—溶气装置;4—混气装置;
5—空气泵;6—二氧化碳钢瓶;7—流量计;8—止回阀

图 1 反应装置

在装有 1 L BG11 培养基的锥形瓶中通入 5% 二氧化碳驯化小球藻, 保持温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、光强 3 000 lx, 将生长至对数期末期的藻液离心收集后利用新鲜培养基洗两遍, 浓缩后的藻液接种至气升式光生物反应器中, 初始接种质量浓度为 0.1 g/L. 以上操作均在无菌台上进行.

1.4 生物量测定

取一定量对数生长期末期藻液, 使用岛津 UV-2550 紫外分光光度计在 690 nm 处测定其吸

光度. 将藻液 8 000 r/min 离心 5 min, 用去离子水洗 3 遍去除无机盐. 将离心后的藻细胞放入 80°C 烘箱 24 h, 冷却至室温后, 测量 3 次恒质量及离心管前后质量差值得到藻细胞干质量浓度.

拟合藻细胞干质量浓度与 OD_{690} 吸光度曲线, 得如下关系: 干质量浓度 $(\text{g/L}) = 0.1906 D_{690} + 0.0048, R^2 = 0.996$.

通过每日监测藻液的 D_{690} , 代入标准曲线得到藻细胞质量浓度.

总生物产量 $P(\text{g}/(\text{L} \cdot \text{d}))$ 由下式计算:

$$P = \frac{\rho_f - \rho_i}{t}.$$

式中: ρ_i, ρ_f 分别为培养初始和结束时生物质量浓度 (g/L) , t 为培养周期 (d) .

比生长率

$$\mu = \frac{\ln(\rho_2/\rho_1)}{t_2 - t_1}.$$

式中: ρ_1, ρ_2 分别为时间 t_1, t_2 时生物质量浓度 (g/L) .

CO_2 固定量 $(\text{g}/(\text{L} \cdot \text{d}))$

$$F_{\text{CO}_2} = \frac{P}{V} \cdot w_c \cdot \frac{M_{\text{CO}_2}}{M_c}.$$

式中: V 为培养液体积 (L) ; w_c 为干燥藻细胞中碳元素的质量分数, 取微藻细胞的分子式为 $\text{CO}_{0.48}\text{H}_{1.83}\text{N}_{0.11}\text{P}_{0.01}$ ^[4]; M_{CO_2} 为 CO_2 相对分子质量; M_c 为 C 的相对分子质量.

CO_2 去除率 $(\%)$

$$R_{\text{CO}_2} = \frac{F_{\text{CO}_2} \cdot V \cdot t}{m_{\text{In CO}_2}}.$$

式中 $m_{\text{In CO}_2}$ 为输入二氧化碳总质量 (g) .

1.5 能量计算

光功率由 FGH-1 型光合有效辐射计(北京师范大学光电仪器厂)测得. 外置光源光功率取光生物反应器外表面各方向测量值均值; 光纤束光功率取光纤束表面多点测量, 取均值 $260 \mu\text{W}/\text{cm}^2$.

微藻培养过程中能量消耗主要包括光能与曝气耗能, 光能计算公式如下:

$$E_i = \frac{P_i S}{V}.$$

式中: E_i 为单位体积消耗光能 (W/m^3) ; P_i 为光功率 (W/m^2) ; S 为光照面积 (m^2) ; V 为培养基体积 (m^3) .

曝气耗能计算如下^[5]:

$$E_g = \frac{\rho_L g v_{sg}}{1 + \frac{A_d}{A_r}},$$

$$v_{sg} = \frac{V_G}{A}.$$

式中: E_g 为单位体积消耗的曝气能量 (W/m^3); ρ_L 为液体密度 (取 $1\,000\text{ kg}/\text{m}^3$); g 为重力加速度 ($9.8\text{ m}/\text{s}^2$); v_{sg} 为表面风速 (m/s); V_G 为气体流量 (m^3/s); A_d 为下降区横截面积 (m^2); A_r 为上升区横截面积 (m^2); A 为反应器总横截面积 (m^2).

单位产量总能耗由下式计算得到^[6]:

$$\frac{P}{E} = \frac{P}{E_i + E_g}.$$

1.6 实验方法

选取 5%, 10%, 15%, 20% 4 个二氧化碳体积分数, 分别考察外置光源与内置光源条件下 *Chlorella* sp. 的生长曲线以及藻液 pH 变化. 在 5% 二氧化碳体积分数时, 调节内置光源和外置光源强度, 考查该条件下 *Chlorella* sp. 的生长情况、总生物产量以及单位能耗生物产量. 在 5% 二氧化碳体积分数、内置光源条件下, 比较不同通气速率时的总生物产量以及单位能耗生物产量.

2 结果与分析

2.1 二氧化碳体积分数对 *Chlorella* sp. 生长的影响

自养培养时, 二氧化碳作为 *Chlorella* sp. 的唯一碳源, 能够很大程度促进微藻的生长. 培养基中无机碳会以多种形式存在, 在一定范围内 CO_2 体积分数升高时, 培养基中溶解性无机碳增加, 促进微藻细胞生长^[7].

由图 2(a) 可知, 采用光功率为 $15.8\text{ W}/\text{m}^2$ 日光灯作为外置光源, 通入不同体积分数 CO_2 时, 最大生物量质量浓度达 $3.12 \sim 3.68\text{ g}/\text{L}$, 为通入空气时的 3 倍以上, 最大比生长速率增大 3~4 倍. 由图 2(b) 可知, 当通入空气时, 培养基的 pH 从初始的中性增大到 10 左右, 而通入不同体积分数 CO_2 时, 藻液的 pH 能够保持在 6~7, 为 *Chlorella* sp. 的最适生长 pH 范围. 通入培养基中的二氧化碳溶于水极易发生分级电离, 各离子体积分数与溶液 pH 关系密切. 当 pH 高于 8.5 时, 培养基中的碳源主要以 CO_3^{2-} 形式存在^[8], *Chlorella* sp. 利用无机碳的形式主要为游离 CO_2 以及 HCO_3^- . 因此, 当通入空气时, 较高的 pH 导致藻细胞对碳源的吸收能力减弱, 藻细胞生长相对缓慢. 此外, 在较高 pH 时, 溶液中的 CO_3^{2-} 也有可能促使藻细胞产生絮凝结块, 结块后的藻细胞

团因细胞间作用力的增强运动受到限制, 使得光合作用减弱, 也会造成藻细胞生长减缓^[9].

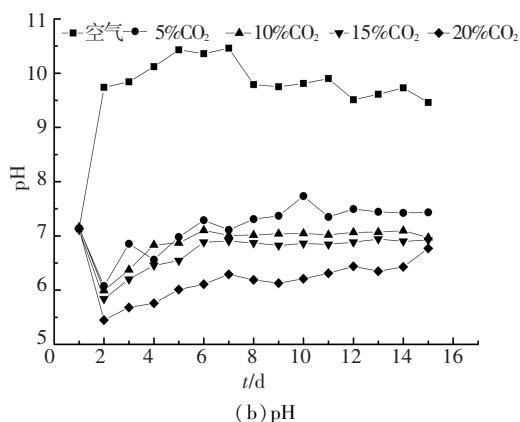
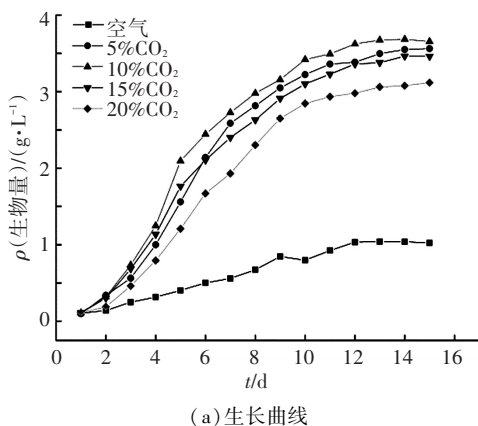


图 2 外置光源不同 CO_2 体积分数时 *Chlorella* sp. 生长曲线和 pH 变化

微藻对 CO_2 的耐受能力随藻种、培养条件、光照条件不同而变化, 一般藻种的 CO_2 耐受体积分数为 5% 以下, 本实验的藻种 *Chlorella* sp. 能够在 5%~20% CO_2 条件下均保持较高的生长速率. 但是随着光照条件的变化, 最适二氧化碳体积分数有所不同. 采用外置光源, 当 CO_2 体积分数升高到 15% 时, *Chlorella* sp. 的生长速率较 10% 时略有下降 (见表 1), 说明在这一培养条件下, CO_2 体积分数为 10% 左右时, 藻细胞对二氧化碳的吸收能力达到饱和, CO_2 体积分数再升高到 15% 时, 将对其生长产生抑制作用, 最大比生长率由 0.680 减小到 0.539 d^{-1} , 二氧化碳固定量也随之下降. 而采用内置光源时, 由于光照强度较弱, 藻细胞的光合作用中光反应成为整个过程的限制因素, 藻细胞对二氧化碳的吸收能力也减弱. 由图 3 可知, *Chlorella* sp. 在 5%~20% 二氧化碳体积分数范围内, 随着二氧化碳体积分数的增大, 比增长率减小, 生物产量也随着减小, 并在 5% 体积分数时获得最大生物量质量浓度 $0.467\text{ g}/\text{L}$. 所以, 在后续实验中选择 5% 二氧化碳体积分数为考察条件.

表 1 外置光源不同 CO₂ 体积分数时 *Chlorella* sp. 生长情况和 CO₂ 固定量

$\varphi(\text{CO}_2)/\%$	ρ (最大生物量)/ (g · L ⁻¹)	$\mu_{\text{max}}/\text{d}^{-1}$	生物产量/ (mg · (L · d) ⁻¹)	CO ₂ 固定量/ (mg · (L · d) ⁻¹)	CO ₂ 去除率/ %
0.03(空气)	1.04	0.14	61.27	115.41	45.34
5	3.54	0.57	246.35	464.02	1.09
10	3.68	0.68	255.22	480.72	0.57
15	3.46	0.54	223.44	420.86	0.33
20	3.12	0.44	200.44	377.54	0.22

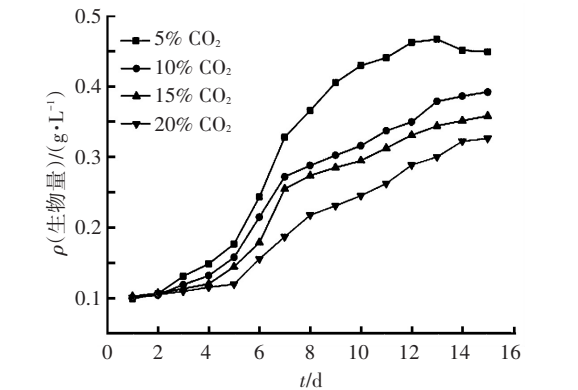


图 3 内置光源不同二氧化碳体积分数时 *Chlorella* sp. 生长曲线

2.2 光照强度及不同光源对 *Chlorella* sp. 生长的影响

在 CO₂ 体积分数为 5% 条件下,通气速率为 0.6 L/min 时,通过控制外置光源强度,考察光照强度对 *Chlorella* sp. 生长情况的影响.随着光照强度的增大, *Chlorella* sp. 的延滞期缩短,提前进入对数生长期.当光强增大到 23.6 W/m² 时, *Chlorella* sp. 直接进入对数生长期.由图 4 可以看出,光照强度在 2.6~15.8 W/m² 时, *Chlorella* sp. 的最终生物量随光照强度的增大而提高,在光功率为 15.8 W/m² 时达 3.63 g/L.当光照强度继续增大至 23.6 W/m² 时, *Chlorella* sp. 在开始阶段生长速率较大,但是在第 10 天提前进入稳定期,最终生物产量只有 3.23 g/L.这与 Yeh 等^[10] 的研究结果一致,当光照强度持续增加时,微藻生长由最初的光限制阶段进入光饱和阶段,当光照强度超过饱和值时,会对藻细胞造成损伤,对生物量的积累有抑制作用.不同藻种对光强度的适应能力不同,微藻对光照强度的耐受能力很大程度由微藻细胞中有机质以及外部条件决定^[11].

当采用内置光纤作为光源时,因为光强相对较弱,微藻生长较为缓慢,最大生物量质量浓度为 0.467 g/L.但是当单位体积的光照面积相同时,内部光源的光程较短,使得光能损失少,光能利用率高^[6].光纤光源的单位能耗生物产量相对于外置光源增大 8~25 倍(见图 5),在外置光源条件下大部分光辐射散射到空气中,微藻细胞只能吸收转化辐射光能中的很小一部分,导致光能利用率较低,并且随着外置光源光照强度的增大,光能利用率也逐

渐降低.相对于外置光源,光纤能够大幅提高光能利用率,从而降低单位产量消耗的光能.

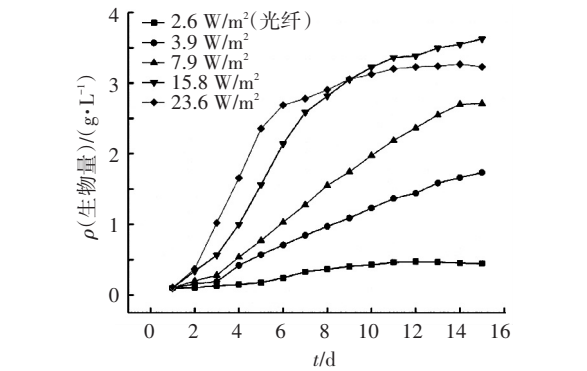


图 4 不同光照强度时 *Chlorella* sp. 的生长曲线

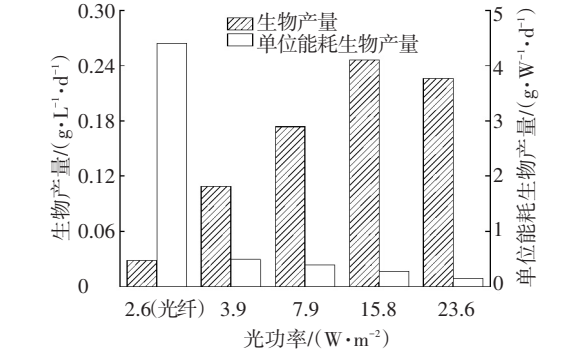


图 5 不同光照强度时 *Chlorella* sp. 生物产量和单位能耗生物产量

2.3 通气速率对 *Chlorella* sp. 生长的影响

当采用内置光纤作为光源时,通过研究不同通气速率时 *Chlorella* sp. 的生长情况,可以进一步优化培养过程的曝气耗能.由图 6 可知,随着通气速率由 0.4 L/min 增至 0.6 L/min 时,最大生物量质量浓度和最大比增长率分别增加到 0.467 g/L 和 0.076 d⁻¹,这可能是因为通气速率的提高促进了藻光生物反应器内部多相的混合效率以及传质效率,有利于藻细胞的生长.但当继续增大通气速率时,最大生物产量以及 μ_{max} 均显著减小,这是因为过大的剪切力会造成藻细胞的损伤^[12],同时由于停留时间缩短,气液分离不充分,大量的气泡会进入下降区,一定程度上阻碍光的传播^[13].当输入的光能一定时,随着通气速率的增加,系统曝气耗能增加.由表 2 可以看出,通气速率为 0.6 L/min 时,得到最大单位能耗生物产量 4.40 g/(W · d).

表 2 不同通气速率时 *Chlorella* sp. 生长情况和固定 CO₂ 能力

通气速率/ (L · min ⁻¹)	ρ (最大生物量)/ (g · L ⁻¹)	μ _{max} / d ⁻¹	生物产量/ (mg · (L · d) ⁻¹)	二氧化碳固定量/ (mg · (L · d) ⁻¹)	单位体积光照耗能/ (W · m ⁻³)	单位体积曝气 耗能/(W · m ⁻³)	单位能耗产量/ (g · (W · d) ⁻¹)
0.4	0.387	0.036	20.35	39.33	2.82	2.40	3.90
0.6	0.467	0.076	28.30	53.30	2.82	3.61	4.40
0.8	0.428	0.055	23.05	43.42	2.82	4.81	3.02
1.0	0.392	0.030	20.11	37.88	2.82	6.01	2.27

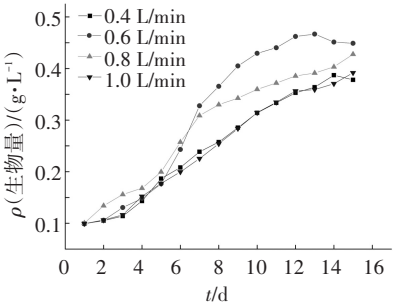


图 6 不同通气速率时 *Chlorella* sp. 的生长曲线

3 结 论

1) 通过比较不同二氧化碳体积分数下 *Chlorella* sp. 的生长情况,发现该小球藻能够耐受较高体积分数 CO₂.当采用不同光源时, *Chlorella* sp. 的最适二氧化碳体积分数也有变化,分别在 10% 和 5% 体积分数时获得了外置光源培养 (255.22 mg/(L · d)) 和内置光源培养 (28.30 mg/(L · d)) 的最大生物产量.

2) 采用外置日光灯作为光源时,当光功率在 2.6 ~ 23.6 W/m² 范围内,随着光照强度的增加, *Chlorella* sp. 生物产量先增大后减小.但外置光源的大部分光辐射无法被藻细胞利用,导致光能利用率较低,单位能耗生物产量随光照强度增大而逐渐减小.相同条件下,以内置光纤作为光源, *Chlorella* sp. 单位能耗的生物产量相较外置光源时提高 8 ~ 25 倍,说明内置光源能够大幅度提高光能的利用效率,从而降低单位生物产量的能耗.

3) 当选用内置光源提供光照时,可以通过调节通气速率进一步对曝气过程的能量消耗进行优化.随着通气速率的增加,培养过程的曝气能耗上升, *Chlorella* sp. 的生物产量先增加后减少,在 0.6 L/min 时得到最大生物产量 28.30 mg/(L · d),同时获得了单位能耗的最大生物产量 4.40 g/(W · d).

参考文献

[1] WIJFFELS R H, BARBOSA M J. An outlook on microalgal biofuels[J]. Science (Washington), 2010, 329 (5993): 796-799.

[2] FERNANDES B D, DRAGONE G M, TEIXEIRA J A, et al. Light regime characterization in an airlift photobioreactor for production of microalgae with high starch content [J]. Applied Biochemistry and

Biotechnology, 2010, 161 (1-8): 218-226.

[3] XUE Shengzhang, ZHANG Qinghua, WU Xia, et al. A novel photobioreactor structure using optical fibers as inner light source to fulfill flashing light effects of microalgae [J]. Bioresource Technology, 2013, 138: 141-147.

[4] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae[J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(3): 294-306.

[5] CHISTI Y. Pneumatically agitated bioreactors in industrial and environmental bioprocessing: hydrodynamics, hydraulics, and transport phenomena [J]. Applied Mechanics Reviews, 1998, 51(1): 33-112.

[6] PEGALLAPATI A K, ARUDCHELVAM Y, NIRMALAKHANDAN N. Energy-efficient photobioreactor configuration for algal biomass production[J]. Bioresource Technology, 2012, 126: 266-273.

[7] ANJOS M, FERNANDES B D, VICENTE A A, et al. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris* [J]. Bioresource Technology, 2013, 139: 149-154.

[8] DEVGOSWAMI C R, KALITA M, TALUKDAR J, et al. Studies on the growth behavior of *Chlorella*, *Haematococcus* and *Scenedesmus* sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas [J]. African Journal of Biotechnology, 2013, 10(61): 13128-13138.

[9] MAN KEE LAM K T L. Effect of carbon source towards the growth of *Chlorella vulgaris* for CO₂ bio-mitigation and biodiesel production [J]. International Journal of Greenhouse Gas Control, 2013, 14: 169-176.

[10] YEH K L, CHANG J S. Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31 [J]. Engineering in Life Sciences, 2010, 10(3): 201-208.

[11] SOROKIN C, KRAUSS R W. The effects of light intensity on the growth rates of green algae [J]. Plant Physiology, 1958, 33(2): 109.

[12] 苏贞峰, 薛升长, 康瑞娟, 等. 平板式光生物反应器培养液混合强度对螺旋藻生长的影响[J]. 中国生物工程杂志, 2009, 29(3): 51-56.

[13] FAN Lihai, ZHANG Yatao, CHENG Lihua, et al. Optimization of carbon dioxide fixation by *Chlorella vulgaris* cultivated in a membrane-photobioreactor [J]. Chemical Engineering & Technology, 2007, 30(8): 1094-1099.

(编辑 刘 彤)