

气升式藻类光生物反应器的应用研究*

STUDIES ON THE APPLICATION OF AIRLIFT ALGAL PHOTO-BIOREACTOR

张 栩 戢涌骋 周百成

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

关键词 光生物反应器,气升式,小球藻

藻类是光合生物,在适当的光照条件下才能进行高效的光合作用和加快生长。同时,光合作用产生氧气,如造成溶解氧过饱和,又会降低光合产率。因此,在藻类光生物反应器的设计中,必需重视两个问题。其一是提高反应器的光照表面积与体积比,以提高光能利用效率;其二是气升式反应器要通过气流传动,提高藻类的光能利用效率和传质效率,同时防止培养液中溶解氧过饱和。近年来国内外研制的藻类光生物反应器多为管式^[1,2]和板式反应器^[3]。作者认为气升式反应器不仅占地面积小,而且有可能较好地兼顾上述藻类培养的基本要求。因此研制了100 L外照光内导流气升式藻类光生物反应器以及二氧化碳配气装置。气升式反应器已用于微生物发酵和动、植物细胞培养。作者根据海藻培养的特点和要求,对反应器的结构做了改进,并已放大到100 L,为了解这种反应器培养效果和实用性,以小球藻(*Chlorella* sp.) 9054为材料,进行了培养实验。本文报道主要的实验结果。

1 实验设备与方法

1.1 100 L气升式藻类光生物反应器^①

100 L气升式藻类光生物反应器为外照光内导流立式。其主体是圆筒状,材料为有机玻璃,高1.5 m,占地面积0.072 6 m²,有效容积100 L,由主筒、导流筒和通气管组成。由通气管通入一定流量的压缩空气,利用气泡的浮力带升导流筒内的培养液,在主筒底部形成负压,使主筒与导流筒之间的培养液下降,经回流口进入导流筒,随气泡上升至溢流孔溢出,进入下降区,下降至回流口,而形成培养液的环流。培养液在上升区与气体充分混合,通过气液传递,一方面保证

了通气过程中碳的补充,另一方面脱去培养液中过饱和积累的氧;在下降区培养液均匀下降接受光照,提高光照效率。该反应器采用人工光源,由12支40 W荧光灯提供光照,光照面积1.337 m²。用数显式pH计检测培养液的pH值变化。

1.2 二氧化碳配气装置^②

二氧化碳配气装置由气体配制部分、配气罐和气体过滤装置组成。二氧化碳配气装置与二氧化碳钢瓶、空气压缩机相通,通过控制二氧化碳和空气的压力和流量,按照所需比例通入配气罐。配气罐为容积68 L,最高工作压力1.0 MPa的耐压容器,主要起气体混合和缓冲作用。将配气罐中已配好的二氧化碳混合气体经过滤除菌后,根据实验要求按照一定流量和压力通入藻类培养液。

1.3 小球藻的反应器培养

藻种为小球藻(*Chlorella* sp.) 9054,培养液组成:NaNO₃ 60 mg/L,(NH₄)₂CO₃ 18 mg/L,KH₂PO₄ 2 mg/L,FeCl₃·H₂O 0.65 mg/L。利用100 L反应器进行分批培养,入射光光强约为165 μE/(m²·s),光照时间每天

* 国家“九五”科技攻关项目 96-C01-05-01 号;中国科学院海洋研究所研究报告第 3778 号;中国科学院实验海洋生物学开放实验室研究报告第 242 号。100 L 反应器由周百成、郭晓林、王金霞和白虹研制;小球藻(*Chlorella* sp.) 9054 由中国科学院海洋研究所梁德海提供,在此表示感谢。

① 国家实用新型专利,专利号 98222325.0

② 国家实用新型专利,专利号 98222363.3

收稿日期:1999-07-02;修回日期:1999-12-21

12 h, 培养温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 以 $0.4 \text{ m}^3/\text{h}$ 通入空气。在培养过程中, 按时用 722 型光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂), 测定藻液的 720 nm 吸光值, 用血球计数法和干重法测细胞数和生物量。

2 实验结果与讨论

2.1 反应器的培养液混合效果

在藻类反应器中, 培养液的混合效果是影响藻类生长的重要因素。以雷诺数 (R) 来表示 100 L 反应器导流筒内培养液的混合效果。

$$R = vDP/u \quad (1)$$

式中, v 是培养液的流速 (m/s), D 是反应器导流筒的内径 ($D=0.19 \text{ m}$), P 是培养液的密度, u 是培养液的黏度。在 25°C 、盐度 30 的海水中, $P=1019.60 \text{ kg/m}^3$, $u=0.958 \times 10^{-3} \text{ kg/(s} \cdot \text{m)}^{[2]}$ 。当雷诺数 $R > 4000$ 时, 流体一般处于湍流状态^[3]。分别向反应器通入不同流量 (m^3/h) 的空气, 测定导流筒内的培养液流速, 得出雷诺数 R (见表 1)。

表 1 空气流量对 100 L 反应器雷诺数 (R_e) 的影响

$V(\text{m}^3/\text{h})$	$U(\text{m/s})$	R_e
0.1	0.030	6 067
0.2	0.042	8 493
0.3	0.057	11 527
0.4	0.070	14 155
0.5	0.084	16 986
0.6	0.098	19 818

从表中可以看出在 100 L 反应器导流筒中, 在最小通气量下雷诺数 R 已超过 6 000, 流体处于湍流状态, 这说明在该反应器对藻类进行高密度培养过程中, 通气对培养液有很好的混合效果, 加速了气液传递, 不仅有利于促进培养液中的过饱和氧向空气中的散失, 而且提高了藻类对二氧化碳的利用率。以雷诺数 R 对通气量 V , 可以得到很好的线性关系, 这说明只要控制空气流量就可以得到理想的混合效果。

2.2 反应器中通入二氧化碳对小球藻生长的影响

在培养小球藻过程中, 若培养液中游离 CQ 浓度过低, 小球藻将利用 HCQ 作为碳源进行光合作用; 反之, 当游离 CQ 浓度较高时, 小球藻将优先利用游离 CQ 。在培养过程中, 当小球藻的生长速率变缓时, 利用二氧化碳配气装置以 $0.1 \text{ m}^3/\text{h}$ 的通气量, 向藻

液中通入二氧化碳对小球藻的生长影响见图 1。

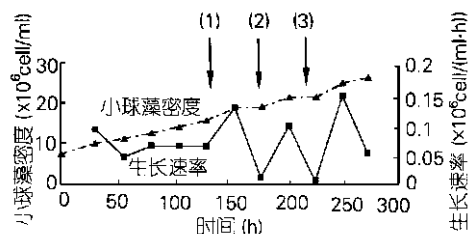


图 1 二氧化碳的通入对小球藻生长的影响

当小球藻密度从 $1.29 \times 10^7 \text{ cell/ml}$ 增加至 $1.61 \times 10^7 \text{ cell/ml}$ 时, 其生长速率一直保持在 $65000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$ 。此时, 通入 1% 二氧化碳混合气体 30 min, 藻类生长速率将从 $65000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$ 提高到 $129000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$, 增加了 0.98 倍, 小球藻密度变为 $1.93 \times 10^7 \text{ cell/ml}$ 。随后, 若不通入二氧化碳混合气体, 生长速率将下降为 $15000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$, 再通入 2% 二氧化碳混合气体 20 min, 藻类生长速率将增大至 $100000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$, 增加了 5.7 倍, 随后加大通入无机碳的量, 通入 5% 二氧化碳混合气体 20 min, 藻类生长速率增大为 $151000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$, 小球藻密度达到 $2.71 \times 10^7 \text{ cell/ml}$ 。这说明当藻液达到一定密度时, 由于碳源的不足将限制藻类的生长, 若通入一定比例的二氧化碳混合气体, 将有利于藻类的生长, 藻液密度越高, 这种促进作用越大。在随后的实验中, 作者发现当小球藻密度为 $6.09 \times 10^7 \text{ cell/ml}$ 时, 通入 2% 二氧化碳混合气体 15 min, 藻类生长速率将从 $10000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$ 提高到 $112000 \text{ cell/(ml} \cdot \text{h)}$, 增加了 10.2 倍。上述结果表明, 100 L 反应器在 $165 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光照条件下, 具有较高的光能传输和利用效率, 当进行高密度培养时, 光照未成为小球藻的限制因子。只要保证无机碳源的供应, 可以实现高密度培养。

2.3 100 L 反应器培养小球藻的 pH 值变化

空气中只含有 0.03% 的二氧化碳, 当无法满足小球藻生长对无机碳的需求时, 培养液中的碳因小球藻的光合作用而不断减少, pH 值不断升高, 小球藻生长越快, 培养液中无机碳下降也就越快, pH 值升高幅度越大。因此, 在 100 L 气升式反应器培养小球藻过程中, 通过测定培养液的 pH 值可以在一定程度上反映小球藻的生长情况。

在仅通空气的条件下,利用 100 L 反应器培养小球藻,接种密度为 2.09×10^7 cell/ml,培养 7 d 后,最终密度为 3.62×10^7 cell/ml,其生长曲线和培养液 pH 值变化如图 2 所示。每天当暗期结束时,由于呼吸作用释放的二氧化碳溶入培养液,培养液 pH 值降至最低;光照结束时,由于光合作用消耗二氧化碳,培养液 pH 值升至最高。每天最高 pH 值的变化与小球藻的生长曲线基本吻合。小球藻从接种到第 72 h,藻液密度增加较快,在此期间培养液 pH 值早晚变化幅度较大,且最高 pH 值增加至 9.37。随后,藻液密度增加变缓,而最高 pH 值下降至 9.10。第 120 h 之后,pH 变化幅度减小,在 pH 9.0 上下变动,此时培养液的无机碳已无法满足小球藻生长的需求,应通入一定比例二氧化碳混合气体。

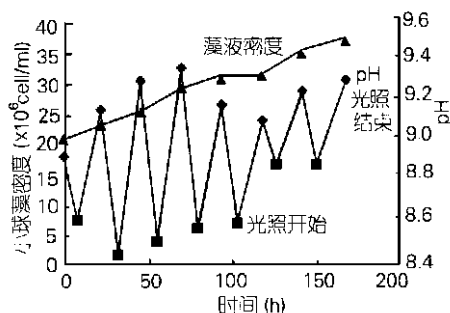


图 2 培养液 pH 值随小球藻生长的变化

2.4 反应器对小球藻的长时间培养

用藻类光生物反应器培养微藻,可以采用定期采收和补料的培养方式。但在大型海藻细胞工程育苗中,需要进行长达数十天的连续培养。因此,反应器需在无人照看的情况下连续稳定运转,才能达到实用化。为了检验 100 L 反应器的长期使用的稳定性,对小球藻进行长达 25 d 的培养,在此期间不补加新培养液,只根据培养液 pH 值的变化,用二氧化碳配气装置,向培养液中通入一定比例的二氧化碳混合气体。以 1.29×10^7 cell/ml 接种密度,入射光光照强度 $165 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,当培养液 pH 值大于 9.0 时,通入 1% CO_2 30 min,使 pH 值接近 8.0。经过 25 d 的培养,生长曲线如图 3 所示,小球藻以平均生长速率 $81\,100 \text{ cell}/(\text{ml} \cdot \text{h})$ 持续稳定增长,最终藻液密度为 3.62×10^7 cell/ml。以干重计算,平均日生长量为

$0.213\,4 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$,若根据 100 L 反应器的占地面积 $0.072\,6 \text{ m}^2$ 计算,则平均日生产量为 $293.94 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。

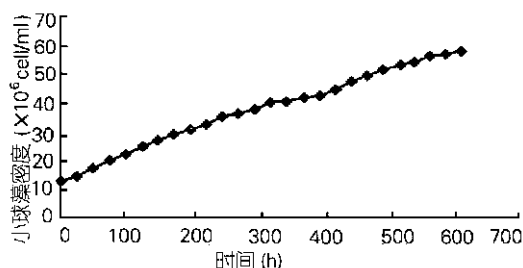


图 3 100 L 反应器中小球藻的生长曲线

3 结论

目前,国内外研制的多种类型藻类生物反应器多数处于实验阶段,少数已用于实验性生产,还没有用于大型海藻细胞工程育苗的生物反应器。作者的目的是研制造价低、易放大和实用性强的光生物反应器,用于大型海藻细胞工程育苗和微藻饵料的生产,也可用于高附加值藻类产品的原料藻的生产。从上述结果看,作者研制的 100 L 气升式内导流光生物反应器在以下几个方面可以适应这些要求。(1) 除适时补加无机碳源外,可以在无人照管的情况下长期连续稳定运转,不会出现机械故障,特别适用于需长期培养的大型海藻细胞工程育苗的要求。(2) 具有较好的传质性能和较高的光能传输和利用效率。以 $0.4 \text{ m}^3/\text{h}$ 的流量通入空气时,雷诺数达到 14 155,而 Lee 等^[5]研制的 α 型管状反应器,通气量为 $7.8 \text{ L}/\text{min}$ (即 $0.47 \text{ m}^3/\text{h}$) 时,雷诺数只达到 7 600。以较低的通气量,产生湍流,不仅提高了传质和光能传输的效率,同时可以减轻对藻类的可能损伤,达到高密度培养。(3) 占地面积小,易实现规模生产。立式反应器占地面积小,以单位占地面积计算,小球藻的平均产量为 $293.94 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。Lee 等^[5]的 300 L α 型管状反应器培养粉核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的产量为 $72 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。李师翁^[1]用 1 000 L 管状反应器培养粉核小球藻的产量只达到 $20.2 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。某些海藻细胞工程育苗需要降温,北方早春培养饵料微藻需要升温,在这种情况下,减少厂房面积,对于降低厂房造价和能耗有重要意义,占地面积小的立式气升式反应器将具有更大的优越性。(4) 在用光生物反应器进

行藻类的高密度培养时,无机碳源供应将成为主要的限制因子。因此,各种海藻利用无机碳源的机理和碳源供应工艺的研究将成为提高产率的关键。(5)实验结果表明,用 pH 计连续测定培养液的 pH 值变化,可以间接反映藻类在生物反应器中的生长情况。由于海带、裙带菜的配子体、幼孢子体和紫菜丝状体的生长速度的测定比较繁琐,如果研究表明同样可以通过 pH 值变化反映生长情况,将大大简化生产工艺和操作,提高反应器和种苗生产技术的实用化程度。

总之,上述结果表明作者研制的 100 L 气升式藻类光生物反应器的实用化程度较高,已可用于微藻的

培养和进行大型海藻细胞工程育苗试验。🌅

参考文献

- 1 李师翁,李虎乾。生物工程学报,1997,13(1):93~97
 - 2 H.H. 朱波夫。海洋学常用表。北京:科学出版社,1965。1~
 - 3 中国大百科全书(化工)。北京:中国大百科全书出版社。1987。383
 - 4 Hu Q.,Guterman H. & Richmond A. . *Biotech. Bioeng.*, 1996,51: 51~60
 - 5 Lee Y. K.,Din g S. Y.*et al. . J. Appl. Phycol.*, 1995,7: 47~51
- (本文编辑:张培新)