

气升式光生物反应器培养海洋微藻的中试研究

吴 垠¹, 孙建明², 杨志平²

(1. 大连水产学院农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 大连 116023;

2. 大连汇新海洋科技发展有限公司, 大连 116033)

摘 要: 采用自行设计的 600 L 气升式光生物反应器对两种海洋微藻湛江叉鞭金藻和盐藻进行了中试实验, 重点研究了设备中安装内置光源和补充 CO₂ 对于微藻生长和氮、磷含量的影响。结果表明: 不同光质的内部光源对微藻作用不同, 叉鞭金藻在蓝光和红光下生长最好, 盐藻生长最快为红光组和白光组, 而且补充内置光源使两种微藻氮含量升高, 但对藻体磷含量影响不大; 补充高浓度 CO₂ (700 μL · L⁻¹ 以上) 能明显提高两种微藻生物量, 并使藻体氮、磷含量有所增加。用该技术培养的微藻生长速度快, 产量稳定, 中试实验结果可为进一步推广应用奠定基础。

关键词: 海洋微藻; 光生物反应器; 内置光源; CO₂ 浓度; 培养

中图分类号: S963.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2004)05-0237-04

0 引言

微藻具有生长速度快, 周期短, 光能转化率高, 营养全面, 富含多种高价值生物活性物质等优点, 而成为医药、食品和保健品、水产养殖生物饵料与饲料添加剂的重要来源, 是海洋生物技术中重要的研究和开发对象。

目前, 微藻的大规模工业化生产多采用室内外开放式, 这种生产模式存在占地面积大, 生产不稳定, 容易污染, 光能及 CO₂ 利用率不高和培养效率低等问题, 严重制约了微藻生产及微藻生物技术产业的高速发展。近年来国内外许多学者针对这方面问题进行了一系列的研究, 尤其是利用光反应器高效培养微藻的研究取得了一定的成果^[1-4]。目前具有代表性的光生物反应器主要有以下几种: 管道式反应器; 板式反应器; 光纤反应器; 发光二极管反应器等, 这些光反应器以优化控制和较高的产出而展示了良好的发展前景, 是未来微藻大规模生产的趋势。但是它们在实践中仍存在一些问题, 如光能利用率低, 气体交换不畅等, 尤其是目前研制的光生物反应器的高能耗、高成本已成为制约光生物反应器发展的主要问题^[5]。

本文针对自行设计的一种适用于海洋微藻大规模生产的气升式光反应器系统, 在能够实现高密度、高产、低成本培养要求的同时, 主要在光源、气体供给方面进行了初步研究, 着重解决两个方面问题: 一是能够兼用内置光源补充外部光源的不足, 二是利用气升条件使藻液循环流动更趋合理, 同时补充藻类所需 CO₂。

1 材料与方法

1.1 试验用微藻

试验用海洋微藻为盐藻 (*Dunaliella* sp.) 和湛江叉鞭金藻 (*Dicrateri zhanjiangensis*), 藻种取自大连水

产学院微藻室。微藻接种到光反应器之前先在 5000 mL 三角烧瓶中用 Conway 培养液进行扩大培养。

1.2 试验设备与培养方法

试验于 2002 年 4 至 6 月和 2003 年 2 至 6 月在大连水产学院农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放试验室进行。采用多个 600 L 气升式光生物反应器 (结构见图 1) (自行设计, 专利号: CN 1475562A)^[6], 每个反应器主体由玻璃制成圆柱状, 采光面积 2 m², 连续式水处理器 (由 3 级热交换器串联组成) 提供恒温消毒海水, 水温为 20~24℃。藻液置于气升管内在空气的作用下循环流动, 从而对培养液中的藻液产生搅拌作用。光合反应器采用人工光源 (荧光灯), 光强 160 μmol · (m² · s)⁻¹, 每日光暗时间比为 14 h : 10 h。试验 1 为安装不同内置光源的效果检验, 内部光源由 3 种不同光质 (白光, 红光和蓝光) 的荧光灯组成, 其中白光波长 λ 为 400~800 nm, 红光最大波长 λ_{max} 为 660 nm, 蓝光最大波长 λ_{max} 为 440 nm, 各种色光的光强调整为 50 μmol · (m² · s)⁻¹, 另设无内置光源为对照组, 各组设 2 次重复。

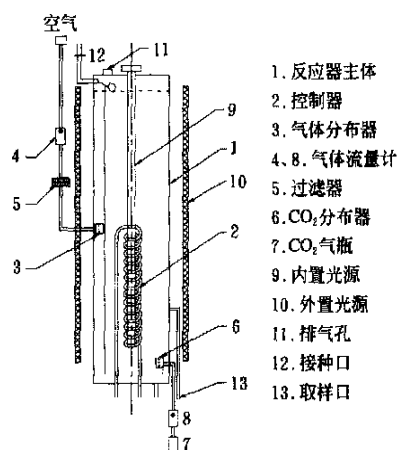


图 1 藻类气升式光生物反应器系统

Fig 1 Diagram of air lift photobioreactor system of microalga

收稿日期: 2003-01-07 修订日期: 2004-07-04

基金项目: 国家自然科学基金 (39970590); 辽宁省教育厅重点科研项目 (202130893)

作者简介: 吴 垠 (1962-), 女, 副教授, 主要从事水生生物学与生物技术方面的研究工作。大连 大连水产学院农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 116023。Email: wuyin@dlfu.edu.cn

试验 2 进行了在封闭式光生物反应器中补充 CO₂ 的效果检验, 试验分为 3 组, 1 组为低 CO₂ 组(通过滤空气, CO₂ 浓度为 350 μL · L⁻¹), 2、3 组为高浓度组(CO₂ 的浓度分别为 700、1000 μL · L⁻¹), 充气量为 300 mL · min⁻¹, 每组设 3 次重复。

1.3 测试指标

1.3.1 微藻生物量的测定

每天取一定量的藻液经醋酸纤维滤膜过滤分离微藻, 在 80 °C 的烘箱恒温烘干 24 h, 测定每升藻体干质量(DW), 同时用血细胞计数板计数法在显微镜下计算微藻数量的变化。

1.3.2 组织内氮、磷含量的测定

用过滤前后的藻液分别测定氮、磷总量, 差减得出藻体中的氮和磷。总氮采用过硫酸钾压热消化-紫外分光光度法^[7], 总磷的测定方法为过硫酸钾压热消化-酒石酸锑钾比色法^[8]。

1.4 数据分析

采用 SPSS10.0 软件进行差异显著性检验, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 光生物反应器中设置内部光源对海洋微藻的培养效果

2.1.1 不同光质对两种微藻生长的影响

湛江叉鞭金藻的初始生物量为 0.059 g · L⁻¹, 7 d 的培养结果可以看出(图 2a), 在培养的前 2 d 内置光源对其生长没有明显影响(组间差异不显著 $P > 0.05$), 随着培养时间的延长内置蓝光和红光使叉鞭金藻生长加快, 生物量明显高于白光($P < 0.05$)。盐藻在培养的前 3 d 天各组之间生物量未见明显差异($P > 0.05$), 3 d 以后红光组和白光组生长速率明显高于蓝光组($P < 0.05$) (图 2b)。在第 7 d 各组之间生长结果显示, 两种微藻内置光源组的生物量均明显高于对照组($P < 0.05$), 叉鞭金藻的生物量较对照组分别提高了 35.2% (蓝光)、26.6% (红光)和 13.2% (白光), 盐藻生物量较对照组提高了 30.4% (红光)、25.5% (白光)和 14.0% (蓝光)。

现有研究表明, 在利用光反应器培养微藻时一

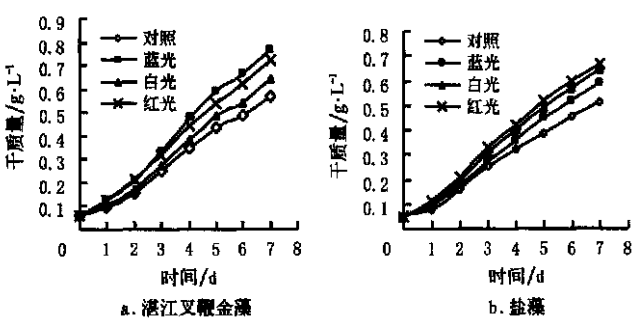


图 2 不同光质对湛江叉鞭金藻和盐藻生长的影响
Fig. 2 Effect of different light qualities on growth of *D. icrateri zhanjiangensis* and *D. unaliella* sp.

般均使用外部光源如太阳光、冷白荧光灯等, 细胞对光能的吸收和转化受反应器采光表面积、藻液层厚度、藻细胞浓度等多因素影响^[9]。当反应器采光表面积大(如 Chini-Zittelli 使用管式光生物反应器生产不饱和脂肪酸时), 藻类则接受光能多, 光合效率高, 生长速度快, 但这类设备造价昂贵, 难以推广使用^[10]。本试验采用的柱式反应器, 设备造型简单, 微藻容量大, 通过内置光源, 使光能尽可能有效地照射在反应器内部的藻体上。尤其是采用窄光谱的内置光源, 不仅具有微藻光合作用所需要的光谱能带, 而且不被吸收的光谱将大为减少, 使光能损失降低, 光利用率提高。

2.1.2 不同光质对两种微藻氮、磷组成的影响

氮是构成植物细胞质、细胞核和酶的主要成分, 此外机体中核酸、辅酶、磷脂和叶绿素等化合物中都含有氮, 因此氮是藻体生命活动中最重要的元素。磷在机体中存在于磷脂、核酸和核蛋白中, 是细胞质和细胞核的组成成分, 而且在营养物质代谢中起着重要作用^[11]。由本试验中叉鞭金藻和盐藻的氮、磷含量与光质的关系可见(表 1), 增加内置光源(包括不同光质)使两种微藻的氮含量升高, 但内置光源对藻体的磷含量影响不大, 这一结果与 Sanchez^[12]有关光质对微藻生化组成的影响结果比较一致。由于各种藻类的光合色素不同, 不同的光合色素在光合作用中吸收的光谱是具有选择性的, 所以不同光质影响藻类光合色素含量, 进而影响光合作用和藻细胞的物质合成。

表 1 光质对藻体氮、磷含量的影响(M ± SD)

Table 1 Effect of light qualities on the contents of nitrogen and phosphorus in the alga cell (M ± SD)

光 质	湛江叉鞭金藻		盐 藻	
	N/10 ⁻⁶ μg · cell ⁻¹	P/10 ⁻⁷ μg · cell ⁻¹	N/10 ⁻⁶ μg · cell ⁻¹	P/10 ⁻⁷ μg · cell ⁻¹
对照组	7.44 ± 0.12 ^b	6.61 ± 0.05 ^a	7.17 ± 0.06 ^c	5.26 ± 0.12 ^{ab}
白光	7.94 ± 0.08 ^a	6.75 ± 0.08 ^a	7.52 ± 0.13 ^b	5.44 ± 0.10 ^a
红光	8.11 ± 0.06 ^a	6.67 ± 0.05 ^a	7.32 ± 0.08 ^b	5.02 ± 0.15 ^b
蓝光	8.04 ± 0.05 ^a	6.65 ± 0.04 ^a	7.88 ± 0.11 ^a	5.10 ± 0.08 ^b

注: 同一列中相同字母标记的值表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 补充 CO₂ 对两种海洋微藻的生长及藻体氮、磷组成的影响

三组不同 CO₂ 浓度培养叉鞭金藻和盐藻的生长结果见图 3。湛江叉鞭金藻初始生物量密度为 0.060~

0.068 g · L⁻¹, 经 7 d 培养(图 3a), 表现为高浓度 CO₂ 组(700 μL · L⁻¹ 以上)可使试验微藻的生长速度加快, 与充空气组(试验 1 组)相比, 藻体生物量显著提高 ($P < 0.05$)。但是 CO₂ 浓度在 700 μL · L⁻¹ 和 1000 μL · L⁻¹ 的 2、3 组之间生物量差异不显著 ($P > 0.05$)。

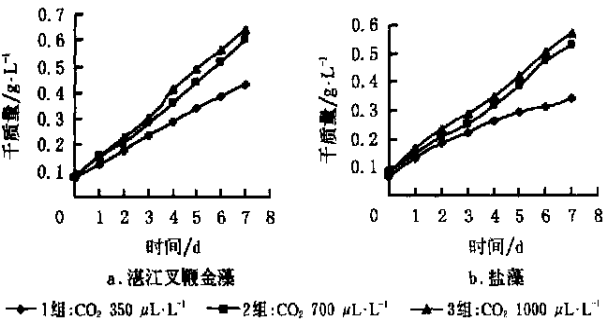


图 3 CO₂ 浓度对湛江叉鞭金藻和盐藻生长的影响
Fig. 3 Effect of CO₂ concentrations on growth of *Dicrateri zhanjiangensis* and *D unaliella sp.*

不同 CO₂ 浓度培养盐藻的生长结果显示(图 3b), 在盐藻(初始生物量密度为 0.065~0.072 g · L⁻¹)培养的前 2d, 各组微藻生长速度相似, 后随培养时间延

表 2 不同 CO₂ 浓度对藻体氮、磷含量的影响(M ± SD)

CO ₂ /μL · L ⁻¹	湛江叉鞭金藻		盐藻	
	N/10 ⁻⁶ μg · cell ⁻¹	P/10 ⁻⁷ μg · cell ⁻¹	N/10 ⁻⁶ μg · cell ⁻¹	P/10 ⁻⁷ μg · cell ⁻¹
350	6.82 ± 0.12 ^c	6.20 ± 0.08 ^b	7.05 ± 0.08 ^c	5.10 ± 0.07 ^b
700	7.41 ± 0.08 ^b	6.61 ± 0.08 ^a	7.20 ± 0.06 ^b	5.26 ± 0.04 ^a
1000	7.59 ± 0.07 ^a	6.59 ± 0.11 ^a	7.32 ± 0.04 ^a	5.30 ± 0.05 ^a

注: 同一列中相同字母标记的值表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

CO₂ 是植物光合作用的底物, 光合作用在产生 O₂ 的同时, 制造了体内的有机物质, 包括蛋白质、脂肪和有机酸等^[11]。所以 CO₂ 浓度升高可直接影响藻类的光合作用, 进而影响微藻的生化组成。Watanabe^[14]利用光合反应器培养小球藻 (*Chlorella sp.* HA-1) 时, 在光照充足情况下, 发现添加高浓度 CO₂ 可有效地提高光合作用效率和对 CO₂ 的利用率, 并使小球藻的生物量明显增长。本试验对于两种微藻的研究结果也表明, 在利用气升式光生物反应器培养微藻中适当补充 CO₂ 具有提高生物量产量和微藻氮、磷含量的效果。

3 结 论

中试采用 600 L 气升式光生物反应器系统全封闭、工厂化培养 2 种海洋微藻, 以自行设计的由不同光质组成的内部光源, 并且补充高浓度 CO₂ (700 μL · L⁻¹ 以上) 可提高微藻的光能利用率, 使微藻生长速度加快, 培养微藻的生物量密度增大, 生长周期缩短, 微藻营养价值提高。建议在培养叉鞭金藻时设内置光源为蓝光, 盐藻为红光, 并间隔补充 CO₂ 可使两种微藻达到高密度的培养需要。中试成果为这款设备和技术推广应用于规模化的海洋微藻培养奠定了基础。

长, 试验 1 组生长缓慢, 而高 CO₂ 浓度的 2、3 组生长迅速, 第 7 d 的结果表明, 试验 2、3 组微藻生物量密度显著高于试验 1 组 ($P < 0.05$), 提高幅度为 42.3%~47.4%。但是 2、3 组之间生物量未见显著差异 ($P > 0.05$)。表明在全封闭培养叉鞭金藻和盐藻时, 补充高浓度 CO₂ (700 μL · L⁻¹ 以上) 可明显提高试验微藻的生物量, 使微藻密度增大, 培养周期缩短。但同时在本试验中发现叉鞭金藻和盐藻在两组高浓度 CO₂ 培养液中未见生长方面的明显差异, 说明微藻对于 CO₂ 的需求有饱和现象, 超过其饱和浓度对于微藻生长没有促进作用。相反, Lee^[13]的研究表明培养基中 CO₂ 浓度太高, 还会降低蛋白核小球藻的生长速度。

表 2 显示补充 CO₂ 对两种微藻氮、磷含量的影响, 叉鞭金藻和盐藻在三组不同 CO₂ 浓度下表现出藻体氮、磷含量的差异, 其中藻体氮含量随着 CO₂ 浓度增加明显升高, 磷含量在补充高浓度 CO₂ 组出现增加的现象, 但在 CO₂ 补充量为 700 μL · L⁻¹ 和 1000 μL · L⁻¹ 的 2、3 组微藻之间磷含量差异不显著。

[参 考 文 献]

[1] Lee Y K, Ding S Y, Low C S, et al. Design and performance of an type tubular photobioreactor for mass cultivation of microalgae[J]. J Appl Phycol, 1995, 7: 47- 51.
[2] 刘晶晴, 李元广, 张嗣良. 用管式光生物反应器培养螺旋藻的研究[J]. 生物工程学报, 1999, 15(4): 525- 528.
[3] Lee C G, Palsso B. High density algal photobioreactor using light emitting diodes[J]. Biotech and Bioengin, 1994, 44: 1161- 1167.
[4] Li J, Xu N S, Su W W, et al. Online estimation of stirred-tank microalgal photobioreactor cultures based on dissolved oxygen measurement[J]. J Bio Engin, 2003, 14(1): 51- 66.
[5] Javanmardian M. High density photoautotrophic algal culture: design, construction and operation of a novel photobioreactor system [J]. Biotech and Bioengin, 1991, 38: 1182- 1189.
[6] 孙建明, 吴 垠, 吴 斌. 一种微藻养殖设备[P]. 中国专利: CN 1475562A, 2004-02-18.
[7] 国家海洋局. 海洋监测规范[M]. 北京: 海洋出版社, 1991, 273- 277.
[8] Parsons T R, Maita Y, lalli C M. A Manual of Chemical and Biological Methods for Sea Water Analysis[M]. Pergamon Press, 1984.

- [9] 徐明芳, 郭宝江. 高效培养螺旋藻封闭式光生物反应器系统的结构单元分析[J]. 食品与发酵工业, 1998, 24(1): 72-79.
- [10] Chini-Zittelli G, Lavista F, Bastianini A, et al. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors[J]. J Biotech, 1999, 70: 299-312.
- [11] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001, 29-30.
- [12] Sanchez M P, Voltolina D. Effect of blue-green light on growth rate and chemical composition of three diatoms[J]. J Appl Phycol, 1996, 8: 131-137.
- [13] Lee Y K, Tay H S. High CO₂ partial pressure depresses productivity and bioenergetic growth yield of *Chlorella pyrenoidosa* culture[J]. J Appl Phycol, 1991, 3: 95-101.
- [14] Watanabe Y, Sakai H. Development of a photobioreactor incorporating *Chlorella* sp. for removal of CO₂ in stack gas[J]. Energy Convers Mgmt, 1997, 38: 499-503.

Pilot scale research on the air-lift photobioreactor in the cultivation of marine microalgae

Wu Yin¹, Sun Jianming², Yang Zhiping²

(1. Key Laboratory of Mariculture and Biotechnology Agriculture Ministry, Dalian Fishery University, Dalian 116023, China; 2. Dalian Huixin Ocean Science & Technology Development Co. Ltd., Dalian 116033, China)

Abstract: The effects of light quality and CO₂ concentration on the growth and the contents of nitrogen and phosphorus of two microalgae (*Dicrateri zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp.) in the 600 L air-lift photobioreactor systems that designed by oneself were investigated. The results showed that the effects of interior illuminant of different light qualities on microalgae were different. *Dicrateri zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp. both reached their maximum biomass in red, blue light and red, white light separately, and their nitrogen contents increased in the interior light sources, but all the interior illuminant had no effect on their phosphorus contents. By supplying high density of CO₂ (above 700 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$) in photoreactor, the biomass of two microalgae could increase apparently, and their nitrogen and phosphorus contents were significantly increased in high CO₂ concentration (above 700 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$) compared with low CO₂ concentration (350 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$). The microalgae cultivated by using this technology grown quickly and the output of which was steady. The result of pilot scale research can provide groundwork for the popularization use of this technology.

Key words: marine microalgae; photobioreactor; interior illuminant; CO₂ concentration; cultivation