

玻璃管道光合生物反应器中小球藻大规模培养的研究

李师翁 李虎乾*

(庆阳师范高等专科学校生物系 西峰市 745000)

(深圳益兴光合有限公司 深圳 518008)

摘 要 设计并装置容积 1000L 玻璃管道光合生物反应器进行小球藻大规模中试培养研究。当停留时间为 3d, 收获培养物总体积的 1/3 时, 可建立稳定的连续培养系统, 使小球藻的平均密度保持干重 3g/L, 最大生长量为干重 0.605g/L·d, 平均生长量为干重 0.375g/L·d, 所设计的光合反应器是稳定的, 研究建立的培养技术具有推广应用前景。

关键词 小球藻, 光合生物反应器, 大规模培养

小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)具有全面均衡的营养价值, 蛋白质干重含量为 55~67%, 细胞内糖蛋白具有抗癌抑癌等重要医疗保健作用, 亚麻酸和亚油酸具有增强人体抗辐射能力作用^[1]。近二十年来, 在美国、日本、我国台湾, 小球藻市场很大, 主要被作为健康食品^[2]。国际市场上对小球藻的开发研究已引起广泛重视。目前, 工业化大规模培养主要采用开放式池式户外培养, 为占地 1000~1500m²、深 15cm 圆形浅水池, 螺旋桨搅拌, 这种培养方式具有许多不足之处^[3], 限制了开放式培养的发展。80 年代以来各种半密闭和密闭培养系统的研究被广泛重视起来。其中玻璃管道光合反应器的研究报道较多^[4~8]。我国五十年代末曾开展过此项研究^[9,10]。

1 材料与方法

1.1 玻璃管道光合生物反应器

1.1.1 基本原理

小球藻为光合自养单细胞绿藻, 可以在透明玻璃管道容器中培养。搅拌能够加速藻细胞生长繁殖。大规模培养中补加 CO₂ 是提高产量的有效途径。光合放氧导致水中溶解氧浓度增高会产生光合抑制现象, 因此在培养系统中要设置排气装置使光合放氧和藻细胞代谢产生的气体及时排出, 其方法是在培养系统中设置开放容器, 以完成气体交换。

1.1.2 设计与装置

采用内径 5cm 长 200cm 的若干玻璃管道由法栏盘和弯管连接而组成光合反应器, 与排气装置连接构成循环系统。系统安装离心式循环水泵, 促使培养液在光合反应器与排气装置间循环流动, 完成搅拌与气体交换过程。系统连接 CO₂ 发生器、自来水净化器、营养液输送和收集装置。其结构和工艺如图 1。

本实验设计的上述反应器系统总容积 1000L, 受光面积 30m², 培养物循环速度为 40

本文于 1996 年 1 月 29 日收到。

$\sim 60\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 约 10~15min 进行一次气体交换。

1.2 小球藻大规模培养

藻种为蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*) (中国科学院水生生物研究所藻种中心)。LSW₄ 无机营养液(作者另文报道), 试验地点设在甘肃西峰市(北纬 34°55' 海拔 1420m), 自然光照, 最大光强 70000lx, 试验温度 20~45℃, 小球藻生长量测定用计数法和干重法。干重法为取 1000ml 培养物, 离心、清洗, 80℃ 恒温干燥, 称得恒重, 文中测定数据均为干重。日生长量按 $P = P_b - P_a$ 进行计算, P_b 为当日的干重、 P_a 为前一日干重, 生长率按 $(P_b - P_a)/P_a$ 计算。

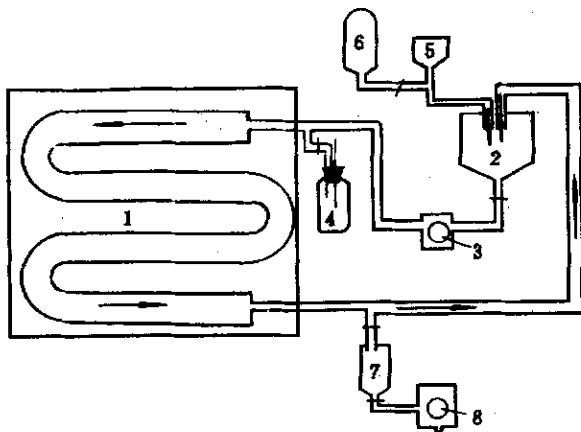


图 1 光合反应器组成及工艺图

Fig. 1 Schematic diagram of photobioreactor and technological process

1. Tubular photobioreactor, 2. Gas separator
3. Centrifugal pump, 4. CO₂ generation apparatus
5. Medium feeder, 6. Water purifying apparatus
7. Harvesting apparatus, 8. Centrifuge

2 结 果

2.1 起始培养小球藻的生长量及生长曲线

实验结果见图 2, 由图 2 可以看出, 在光合反应器中小球藻细胞的生长增殖速率基本上呈 S 型曲线, 半对数坐标图分析表明, 从第 1 天起即进入对数生长期, 并维持高速增长, 第 6~10d 按对数生长, 但速度减缓, 至 11~16d 生长速度明显减缓, 此后出现相对静止期。第 1~5d 的生长率最大, 密度达 0.8828g/L 之后, 生长率逐渐下降。日生长量显示第 9 天生长量达最大值 0.5527g/L, 此后逐渐减少, 16d 培养最后密度达 4.898g/L, 当藻细胞密度达 2.3~3.4g/L 时, 生长量下降, 此时收获一定量的培养物, 加入相同量体积的新鲜培养液, 降低藻细胞密度, 则可维持持续的高速率增长, 获得最大的日生长量。

2.2 连续培养系统的建立与生长量

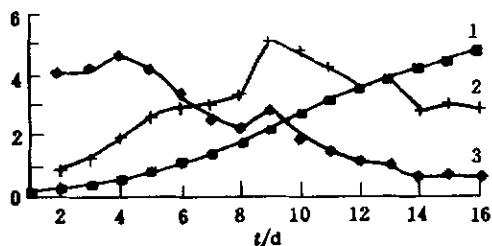


图 2 大规模培养中小球藻的生长曲线和日生长量曲线

Fig. 2 The growth curve and daily productivity curve of *C. pyrenoidosa* in large-scale culture

1. Growth curve, Y axis is cell density/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
2. Daily productivity curve, Y axis is daily productivity/ $\text{mg} \cdot 10^2 \text{L}^{-1}$
3. Growth rate curve

当在对数生长期每天、每 2 天、每 3 天(停留时间分别为 1d、2d、3d 时),收获约总体积的 1/3 培养物,加入相同体积的培养液,结果绘成图 3。每天连续收获,6d(收获 6 次)后密度由 2.709 降至 1.33,表明收获量大于生长量,不能建立连续培养系统。

每两天收获一次,连续收获 5 次(9d)后,密度由 2.795 降至 1.844,收获量仍大于生长量,不能建立连续培养系统。

3d 收获一次,培养系统内藻细胞密度在收获后 3d 恢复到收获前的水平,连续收获 4 次(11d)密度由 2.68 至 3.48L,平均密度 3.021g/L,且收获后第 3 天的生长量总大于前两天,平均日生长量为 0.375g/L,生长量大于收获量,即可建立连续培养系统。

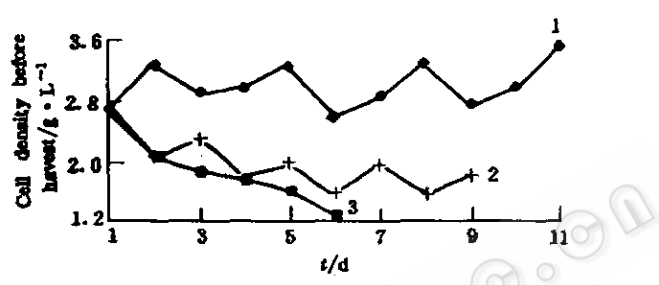


图 3 连续培养中生长量的变化

Fig. 3 The productivity changes in continous culture

1. Residence time is 3 day
2. Residence time is 2 day
3. Residence time is 1 day

2.3 光合反应器连续培养系统藻细胞密度的昼夜变化

在连续培养中藻细胞密度在下午 6~8 时最大,夜晚密度常减少(表 1),表明干物质积累主要在白天,夜晚由于呼吸消耗干物质减少。因此在大规模工业化生产中夜晚补加光照,是实现高产的有效途径,且在下午 6~8 时收获可得到比其它时间多 11% 的产量(表 1)。

表 1 连续培养系统中生长量的昼夜变化及收获时间与产量间的关系

Table 1 Biomass productivity change in day and night in continous culture system and the relation between biomass productivity and harvesting time

Date	Cell density/g·L ⁻¹		Daily productivity/g·L ⁻¹		Cell output/g	
	8:00	20:00	day	night	8:00	20:00
20/4	2.550	2.882	0.332	- 0.074	- - -	- - -
21	※2.978	3.123	0.145	0.096	893.4	936.8
22	2.253	2.553	0.300	0.060	- - -	- - -
23	2.533	2.681	0.148	- 0.02	- - -	- - -
24	2.891	3.260※	0.369	0.210	867.4	978.1
25	2.537	2.888	0.351	0.254	- - -	- - -
26	- - -	3.008	- - -	- - -	- - -	- - -

(续表)

Date	Cell density/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$		Daily productivity/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$		Cell output/g	
	8:00	20:00	day	night	8:00	20:00
27	3.007	3.085*	0.078	-0.001	902.1	925.5
28	---	2.643	---	0.021	---	---
29	2.664	2.874	0.21	-0.134	---	---
30	2.74	3.305*	0.565	-0.036	822	991.5
31	2.278	2.745	0.467	-0.14	---	---
1	2.604	2.963	0.36	0.1	---	---
2	3.063	3.478*	0.415	---	918.9	1043
Average			0.312	0.04	880.7	975.1

注*当日收获 300L

3 讨 论

玻璃管道光合反应器在微藻大规模培养方面的应用是近十年来发展的趋势。其主要优势在于:各种生长因子可以人为控制、不易受其他生物污染、产品质量好、可进行自动化管理、生产成本尤其分离成本大大降低。国际上研究的主要目的是生产精细化工产品。生物活性医药制品及人类健康食品等^[11]。但是由于这种反应器一次性投资大,在工业化生产上许多技术问题尚未彻底解决,目前仍处在研究开发阶段^[8],我们的研究结果表明,所设计安装的光合生物反应器运行状况和性能是稳定的,具有推广应用的可行性。但对于反应器中 CO_2 、 O_2 浓度及 pH 变化对藻细胞密度及产量的影响尚需进一步进行研究。根据 Oh-Hama 研究^[2],认为小球藻的光饱和极限为 30000lx,光合作用有效光强为 4000-30000lx,超过此值即发生光合抑制现象。由于自然温度和光照变化太大,日生长量不稳定,如何控制温度和光照也是大规模培养的关键问题。本项目尚在研究之中。

关于管道光合反应器中小球藻大规模培养的产量,在本研究中,反应器中小球藻细胞的最大密度达到 $4.898 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,连续培养中小球藻细胞的平均密度 $3 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,比开放池式培养的密度 $0.3 \sim 0.5 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高了 6~10 倍。由于密度提高,培养物总体积减少,从而大大降低了离心分离的成本。日生长量最高达 $0.605 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,连续培养中平均日生长量 $0.375 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Richmond^[10]研究中培养鱼腥藻平均密度为 $2 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,平均日生长量为 $0.310 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,接受光面积计算本研究的最大产量为 $20.2 \text{g} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$,与 Lee Y K *et al*^[8,9]在 10L 反应器培养 *C. pyrenoidosa* 得到 $2 \text{lg} / \text{m}^2 \cdot \text{d}$ 的产量接近。

本研究装置的玻璃管道光合反应器及获得的技术已经推广应用于工业化生产,建立年产 15~20t 藻粉的生产厂两座。目前国际市场上小球藻干粉的价格约为 20000 \$/t,而藻片的价格约为 100~200 \$/kg,按本研究装置成本投资回收期约为 1 年左右,具有很好的经济效益。

参 考 文 献

- [1]王勤生,李业勤.微生物通报,1985,(6):275~277.
- [2]Oh-Hama T, Miyachi S. In: Borowitzka M A and Borowitzka L J eds. Micro-Algae Biotechnology. Cambridge University Press, 1992, pp. 18~19
- [3]Richmond A. In: Round Chapman eds. Progress in Phycological. Biopress Ltd. Bristol, England, 1991, pp. 1~62.
- [4]Pirt S J, Lee Y K, Walach M R *et al.* J Chem Tech Biotechnol. 1983, 33B:35~58.
- [5]Torzillo G, Pushparaj B, Bocci F *et al.* Biomass. 1986, 11:61~74.
- [6]Lee Y K, Low C S. Biotech and Bioengin. 1991, 38:955~1000.
- [7]Lee Y K, Low C S. Biotech and Bioengin. 1992, 40:1119~1122.
- [8]Richimond A, Boussiba S, Vonshak A *et al.* J of Applied Phycology, 1993, 5:327~332.
- [9]黎尚豪,朱 蕙,夏宜铮等.水生生物学集刊,1959,4:462~472.
- [10]华汝成著.《单细胞藻类研究与利用》.北京:农业出版社,1980.
- [11]Oswald W J. In: Borowitzka M A and Borowitzka L J eds. Micro-algae Biotechnology. Cambridge University Press. Cambridge, 1992. pp. 357~394.

The Studies on the Large-scale Culture of *Chlorella pyrenoidosa* in a Tubular Photobioreactor

Li Shiweng

(Department of Biology, Qinyang Teacher's College, Gansu Xifeng 745000)

Li Huqian

(Shen Zheng Yixing Photosynthesis Limited Company, Shenzheng 518008)

Abstract The results that a 1000L volume tubular photobioreactor was installed and in which a large-scale culture of *Chlorella pyrenoidosa* was studied are reported in this paper. As 1/3 total culture volume was harvested at every 3 days cell residence time, a steady of continous culture system is established. In which the average density of *Chlorella pyrenoidosa* cells is 3g/L and the maximum biomass productivity is 0.605g/L·d, average biomass output is 0.375g/L·d. It shows that the photobioreactor used with large-scale culture technique is applicable to industrial production.

Key words *Chlorella pyrenoidosa*, photobioreactor, large-scale culture