

具有气液分离膜的光生物反应器内微藻吸附 生长及 CO₂固定特性研究



重庆大学硕士学位论文
(学术学位)

学生姓名：朱云龙

指导教师：廖 强 教 授

专 业：动力工程及工程热物理

学科门类：工 学

重庆大学动力工程学院

二〇一四年五月

Characteristics of Microalgae Adhesion and Growth and CO₂ Fixation in a Photobioreactor with the Gas-liquid Separation Membrane



A Thesis Submitted to Chongqing University
in Partial Fulfillment of the Requirement for the
Master's Degree of Engineering

By
Zhu Yunlong

Supervised by Prof. Liao Qiang
Specialty: Power Engineering and Engineering
Thermophysics

College of Power Engineering of
Chongqing University, Chongqing, China

May, 2014

摘 要

微藻作为一种最具有潜力的新型的可再生生物质能源，具有光合效率高、零净碳值、易培养、生长周期短、油脂含量高、环境适应性强等优点。利用微藻实现生物固碳及其能源化利用是目前国内外研究的热点之一。传统的悬浮态微藻培养运行成本高，维护困难，微藻生物量产率低，采收及脱水等后续处理能耗高，限制了微藻生物能源技术的大规模应用。微藻的吸附式固定化培养技术可有效提高光生物反应器内单位体积生物量，并且具有操作稳定性高、生物量密度大、采收方便、节能等优点，相比于悬浮态微藻培养技术具有更大优势。因此，研究藻细胞在固体基质表面的吸附特性，探寻藻细胞吸附的最佳条件，研制新型微藻吸附式培养的光生物反应器，分析反应器内微藻生物膜的生长特性及 CO_2 固定特性具有十分重要的研究意义。

本文采用普通小球藻为实验藻种，利用平板式光生物反应器，研究了藻细胞在固体基质表面的吸附特性，获得了吸附载体表面粗糙度、藻细胞接种量、培养液 pH 值及流动条件等因素对藻细胞在载体表面的吸附速率、吸附生物量的影响规律。此外，为了将微藻吸附式培养与 CO_2 固定相结合，设计了一种具有气液分离膜的微藻吸附式培养的光生物反应器，研究了微藻生物膜在该反应器中的生长特性及反应器对 CO_2 的固定特性，并讨论了光照强度、 CO_2 浓度和流量、培养液氮源浓度、培养液流量等不同运行参数对该反应器内微藻生物膜生长及 CO_2 固定能力的影响规律，获得了该反应器运行的最佳条件。

主要研究成果如下：

① 设计可视化平板式光生物反应器，制备不同粗糙度的固体基质表面，研究得到载体表面粗糙度、藻细胞接种量、培养液 pH 值和液体流量对普通小球藻细胞在载体表面吸附特性的影响。实验结果表明：藻细胞在各载体表面的吸附密度均随时间进行呈现先快速增大再逐渐趋于平缓的变化趋势；随载体表面粗糙度和藻液中藻细胞接种量增大，载体表面对小球藻细胞的吸附率均增大，吸附密度也增大；当藻液 pH 值为 6 左右时，小球藻在载体表面吸附密度达到最大；液体流量为 0.65mL/min 时，载体表面对小球藻细胞的吸附能力最强。

② 设计了具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器，制备了以 PTFE-玻璃纤维为材料的具有一定表面粗糙度的疏水气液分离膜。结果表明，所制备的 PTFE-玻璃纤维膜具有较好的强度、生物相容性以及气体扩散能力，在所设计的光生物反应器中能较好实现气液分离和微藻的吸附式培养。

③ 设计并构建了具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器实验系统，

实验研究了在光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、气相 CO_2 浓度为 2% (v/v)、气相流量为 10mL/min、培养基氮源浓度为 1.5g/L、培养基流量为 2mL/min 条件下光生物反应器内微藻吸附式生长及 CO_2 固定特性。结果表明：在 7 天培养过程中，吸附于膜材料表面的小球藻最大生物量产量为 $97.48\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ，是采用空气培养条件下生物量产量的 6.26 倍；反应器运行 3 天后获得最大生物量为 $13.54\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ ；反应器运行 6 天后获得最大 CO_2 去除率为 58.54%。

④ 在研究运行参数对反应器内微藻吸附式生长特性和 CO_2 固定特性时，发现光照强度、气相 CO_2 流量、液相培养液流量、初始氮源 (NO_3^-) 浓度的变化，会对反应器内小球藻生物量积累量、积累速率、 CO_2 去除率变化产生较大影响，而不会对培养液 pH 值、培养液氮源 (NO_3^-) 浓度的变化产生较大影响；而气相 CO_2 浓度变化除了会对反应器内小球藻生物量积累量、积累速率、 CO_2 去除率产生较大影响外，还会对培养液 pH 值变化产生较大影响，但不会对培养液氮源 (NO_3^-) 浓度变化规律产生较大影响。

⑤ 对该具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器，使吸附于膜材料表面的小球藻生物量积累最多，生物量积累最快，并且反应器对 CO_2 的去除率最大的最佳运行条件为：光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，气相 CO_2 浓度为 2% (v/v)，气体流量为 10mL/min，液相氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L，液相流量为 2mL/min。

关键词：微藻，吸附式培养，光生物反应器，气液分离， CO_2 固定

ABSTRACT

Microalgae has been regarded as the most potential renewable energy owing to its advantages of high photosynthetic efficiency, carbon neutrality, ease to cultivate, short growth cycle, high lipid content, strong adaptability and so on. Because of these merits, the use of microalgae to realize the carbon bio-fixation and its energy-oriented utilization have become one of the hot research topics so far. In conventional, microalgae are cultivated with suspension mode and such operation mode causes high cost, low biomass yield and large energy consumption of downstream processes, limiting the widespread application of the microalgae. The microalgae adhered immobilization cultivation method can improve the biomass per unit volume of photobioreactor and compared with conventional suspension cultivation mode, the immobilized operation mode offers many benefits, such as high operation stability, large biomass density, and low energy consumption of subsequent processing. Thus, it is critically important to investigate the principle of the microalgae adhesion on matrix surface, to explore the optimum adhesion conditions, to design new photobioreactor and to analyze the biofilm growth and CO₂ uptake characteristics.

To these objectives, in this thesis, *Chlorella vulgaris* was adopted for all experiments. A planar photobioreactor was developed to study the adhesion characteristics of microalgae on matrix surface and the effects of the initial inoculation, roughness of the substrate, pH and flow condition of culture medium on adhesion rate and adhesion amount of microalgae cells on matrix surface were achieved. In addition, to couple adhesion cultivation with CO₂ bio-fixation, a biofilm photobioreactor with a gas-liquid separation membrane was developed. With the newly-developed photobioreactor, the growth of the microalgae biofilm and CO₂ removal rate were investigated. The impacts of light intensity, CO₂ concentration, gas flow rate, nitrogen concentration and flow rate of culture medium on microalgae biofilm growth and CO₂ fixation of the photobioreactor were also examined to optimize the operational conditions.

The main conclusions achieved in this work are as follows.

① Adhesion characteristic of *Chlorella vulgaris* cells on a solid substrate surface was experimentally investigated based on a planar photobioreactor, in which different roughness on the surface of glass slide was polished. The effects of surface roughness of

substrate, inoculation amount of algal cells, pH value and flow rate of culture medium on the adhesion characteristics of *Chlorella vulgaris* cells were respectively discussed. The results denoted that the adhesion densities of algal cells on any substrate surface increased with time and then tended to be stable gradually. Under the experimental conditions, with the increase of substrate surface roughness and inoculation amount of algal cells in culture medium, both the adhesion rate and adhesion density of *Chlorella vulgaris* cells were enhanced. Furthermore, it was found that the adhesion performance of *Chlorella vulgaris* cells on the substrate surface achieve to the peak at the pH value of medium of 6 or the liquid flow rate of 0.65mL/min. The inoculation amount was the most important factor followed by the pH value of medium and the liquid flow rate.

② A photobioreactor with gas-liquid separation membrane and a kind of membrane which is rough and hydrophobic were designed for microalgae adhesion cultivation. The membrane was mainly made by PTFE and glassfibre. The results denoted that the PTFE-glassfibre membrane presents a characteristics of favourable strength, biocompatibility and gas permeability, which could realize the separation of gas and liquid, and microalgae could adhere and growth on it.

③ A gas-liquid separation membrane photobioreactor experimental system was designed and constructed. Microalgae growth and CO₂ removal characteristics in the photobioreactor with gas-liquid separation membrane under the light intensity of 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 2% (v/v) CO₂, gas flow rate of 10mL/min, the nitrogen concentration in the culture medium of 1.5g/L and culture medium flow rate of 2mL/min, were investigated respectively. According to the results, the final biomass after cultivation of 7 days reached 97.48g $\cdot\text{m}^{-2}$, which is 6.26-folds than the air condition one; the max *Chlorella vulgaris* biomass productivity came to 13.54 g $\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ after cultivation of 3 days, max CO₂ removal ratio was 58.54% after cultivation of 6 days.

④ In examining the effects of operating parameters on the microalgae adhesion growth characteristics and CO₂ removal characteristics in the photobioreactor with a gas-liquid separation membrane, it is observed that the variations of light intensity, flow rate of CO₂, flow rate of liquid culture medium and initial nitrogen (NO₃⁻) concentrations have a significant influence on the changes of biomass accumulation, accumulation rate and removal rate of CO₂, but the influence on pH and nitrogen (NO₃⁻) concentration of culture medium is less significant. For another, the variations of concentration of CO₂ have a larger influence on not only biomass accumulation,

accumulation rate, removal rate of CO₂ but pH of culture medium, while nitrogen (NO₃⁻) concentration of culture medium is not affected greatly.

⑤ For the microalgae adhered photobioreactor with gas-liquid separation membrane, the optimum operational condition which makes the rate of biomass adhesion, the accumulation of biomass growth and the rate of CO₂ removal reach the highest point was 100μmol·m⁻²·s⁻¹ of illumination intensity, 10mL/min gas flow rate with 2% (v/v) CO₂ and 2mL/min liquid flow rate in which the concentration of NO₃⁻ is 1.5g/L.

Key words: microalgae, adhesion and growth, photobioreactor, gas-liquid separation, CO₂ fixation

目 录

中文摘要	I
英文摘要	III
1 绪 论	1
1.1 前言	1
1.2 微藻光合作用及 CO ₂ 固定原理	2
1.3 微藻培养技术概述	3
1.3.1 微藻的悬浮态培养	3
1.3.2 悬浮态微藻培养的采收	7
1.3.3 微藻的固定化培养	8
1.3.4 固定化微藻培养的采收	11
1.4 影响微藻吸附的主要因素	12
1.5 影响微藻生长的主要因素	13
1.5.1 光照条件	13
1.5.2 温度和 pH 值	14
1.5.3 CO ₂ 的传递	15
1.5.4 无机盐	16
1.6 本课题的主要工作	17
1.6.1 已有研究的不足	17
1.6.2 本课题的主要研究内容	17
1.6.3 本课题的研究意义	18
2 固体基质表面小球藻细胞吸附特性	19
2.1 引言	19
2.2 材料与培养方法	20
2.2.1 藻种与培养基	20
2.2.2 反应器及实验系统	21
2.2.3 实验操作步骤	22
2.2.4 分析方法	23
2.2.5 仪器设备	24
2.3 结果与分析	24
2.3.1 固体基质粗糙度对小球藻细胞吸附的影响	24
2.3.2 接种量对小球藻细胞吸附的影响	26

2.3.3 培养液 pH 值对小球藻细胞吸附的影响	27
2.3.4 液体流量对小球藻细胞吸附的影响	28
2.4 本章小结	29
3 具有气液分离膜的微藻光生物反应器设计及其性能实验	31
3.1 引言	31
3.2 具有气液分离膜的微藻光生物反应器及其实验系统	32
3.2.1 反应器构造	32
3.2.2 气液分离膜的制备和表征	33
3.2.3 实验系统	36
3.3 具有气液分离膜的微藻光生物反应器性能实验	38
3.3.1 藻种及培养液配制	38
3.3.2 仪器和设备	39
3.3.3 表征方法	39
3.3.4 实验系统及运行条件	43
3.4 实验结果与分析	44
3.4.1 单位面积生物量产量与产率	44
3.4.2 CO ₂ 去除率	45
3.4.3 培养液 pH 值	46
3.4.4 培养液 NO ₃ ⁻ 浓度	47
3.5 本章小结	48
4 运行参数对反应器内微藻吸附生长及 CO ₂ 固定特性的影响	49
4.1 引言	49
4.2 光照强度对微藻吸附式生长及 CO ₂ 固定特性的影响	49
4.2.1 光照强度对单位面积产量的影响	49
4.2.2 光照强度对 CO ₂ 去除率的影响	50
4.2.3 光照强度对培养液 pH 值的影响	51
4.2.4 光照强度对培养液 NO ₃ ⁻ 浓度的影响	52
4.3 进口 CO ₂ 浓度对微藻吸附式生长及 CO ₂ 固定特性的影响	53
4.3.1 进口 CO ₂ 浓度对单位面积产量的影响	53
4.3.2 进口 CO ₂ 浓度对 CO ₂ 去除率的影响	54
4.3.3 进口 CO ₂ 浓度对培养液 pH 值的影响	55
4.3.4 进口 CO ₂ 浓度对培养液 NO ₃ ⁻ 浓度的影响	56
4.4 气体流量对微藻吸附式生长及 CO ₂ 固定特性的影响	56
4.4.1 气体流量对单位面积产量的影响	57

4.4.2 气体流量对 CO_2 去除率的影响	57
4.4.3 气体流量对培养液 pH 值的影响	58
4.4.4 气体流量对培养液 NO_3^- 浓度的影响	59
4.5 液体流量对微藻吸附式生长及 CO_2 固定特性的影响	60
4.5.1 液体流量对单位面积产量的影响	60
4.5.2 液体流量对 CO_2 去除率的影响	61
4.5.3 液体流量对培养液 pH 值的影响	62
4.5.4 液体流量对培养液 NO_3^- 浓度的影响	62
4.6 初始氮源浓度对微藻吸附式生长及 CO_2 固定特性的影响	63
4.6.1 初始氮源浓度对单位面积产量的影响	63
4.6.2 初始氮源浓度对 CO_2 去除率的影响	64
4.6.3 初始氮源浓度对培养液 pH 值的影响	65
4.6.4 初始氮源浓度对培养液 NO_3^- 浓度的影响	66
4.7 本章小结	67
5 结 论	69
6 后续研究工作展望	71
致 谢	73
参考文献	75
附 录	83
A. 作者在攻读硕士学位期间发表的论文目录	83
B. 作者在攻读硕士学位期间获得的荣誉	83
C. 攻读硕士学位期间参与的科研项目	83

1 绪 论

1.1 前言

随着全球工业化进程的快速推进和能源消费的不断增长,煤、石油等传统化石能源正面临枯竭的边缘,能源危机不断加剧。由于化石能源的过度开发和利用导致环境问题日益严峻,引起温室效应和酸雨现象^[1]。据统计,1997 年有 74 亿吨人为因素制造的 CO₂ 被排放至大气中,到了 2100 年,达到 260 亿吨,形势极为严峻。2009 年,我国在丹麦哥本哈根气候变化大会上承诺,到 2020 年中国单位 GDP 的 CO₂ 排放量比 2005 年要下降 40%~45%^[2]。因此,从根本上改变能源使用结构,突破当前能源、环境、资源三者之间的矛盾正成为我国乃至世界关注的焦点和科学研究的热点。此外,世界能源分布存在不均匀性,会引起国际能源安全问题,对世界局势的稳定和人类生存的和谐环境造成了诸多负面影响。因此,从维护人类生存环境和生态平衡的角度考虑,必须转变能源生产和消费方式,不断推动可再生能源的发展。

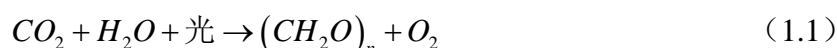
目前,世界各国正不断致力于发展能够替代化石能源的新型能源,例如太阳能、风能、氢能、核能、生物质能源等。其中,生物质能源占有非常重要的地位。生物质是通过光合作用将 CO₂ 固定在各种有机体中成为生物质能源的载体,不仅能储存太阳能,还可以固定 CO₂,是一种可再生、天然可用、富含能量、污染物质少,可替代化石燃料的碳中性能源。据相关研究估计,地球上植物每年通过光合作用固定的碳达 $2 \times 10^{11} \text{t}$,其能量达到 $3 \times 10^{18} \text{kJ}$,可以被人类开发的能源大约为全世界每年能耗的 10 倍。到现今为止,生物质能源的发展经历了三代。第一代生物质能源是从农作物中进行提取,例如甘蔗、甜菜、玉米、油菜籽等,但这会导致世界粮食危机和水资源的浪费;第二代生物质能源来源于非粮食作物的木质纤维素的转化,但种植这类植物却造成与粮争地的局面。而第三代生物质能源的微藻能源,即从微藻中提取所需要的生物燃料,就可以克服以上生物质能源所带来的种种缺陷^[3]。

微藻是指一类微观的单细胞群体,是最低等的、自养的水生生物。微藻作为一种最具有潜力的新型可再生生物质能源,具有光合效率高、零净碳值、易培养、生长周期短、油脂含量高、环境适应性强等优点。微藻能通过光合作用将太阳能转化为化学能,合成碳水化合物、蛋白质、脂类等,同时吸收空气中的 CO₂,放出 O₂,并且在适宜的条件下,实现快速生长,一般在 1~2 周的时间内就能够采收;微藻细胞中含有独特的初级或次级代谢产物,可用于生产保健食品、饲料、天然肥料等;作为能源物质,可利用微藻生产生物柴油,也可以进行生物制氢、制取

甲烷等可燃性气体^[4,5]。但要从微藻中获得能源物质,就必须对其进行合理高效的培养,在不断提高生物产量、实现 CO₂减排作用的同时,提高微藻细胞内部油脂等能源物质的含量,大幅度降低微藻的培养成本。目前,在世界范围内,微藻生物技术已迅速形成了一条巨大的完整产业链,其规模化、高效化培养更是重要的环节。

1.2 微藻光合作用及 CO₂固定原理

微藻的光合作用是决定微藻生长和 CO₂固定效果的决定性因素。微藻的光合作用是指藻细胞在光能的驱动下将 CO₂和 H₂O 转化为含化学能的碳水化合物,并释放出 O₂的过程。其反应式如式 1.1 所示。



光合作用原理示意图如图 1.1 所示,其可分为光反应和暗反应两个阶段。在光反应过程中,藻细胞吸收光能形成同化力,即 NADPH 和 ATP。在暗反应阶段,藻细胞利用光反应中生成的同化力在叶绿体基质中固定 CO₂,形成碳水化合物,其主要形式为糖。在暗反应中,存在卡尔文循环。卡尔文循环分为以下三个阶段:

① 碳的固定(羧化):

卡尔文循环将每个 CO₂分子附着在一个称为二磷酸核酮糖(ribulose biphosphate; 简称 RuBP)的五碳糖磷酸酯上。催化这起始步骤的酵素是二磷酸核酮糖羧化酶(RuBP carboxylase, 又称 RuBisCO, 是叶绿体中含量最多的蛋白质,同时也因另一个反应而称为 1,5-二磷酸核酮糖加氧酶)。这个反应的产物,是一种含 6 个碳且不稳定的中间产物,其立即就会分裂为 2mol 的 3-磷酸甘油酸(3-phosphoglycerate)。

② 3-磷酸甘油醛的合成(还原):

1mol 的 3-磷酸甘油酸会接收 1 个额外的磷酸根,接着有一种酵素会将此磷酸根转换为 ATP。接着由 NADPH 所捐出的电子对,会使 1,3-二磷酸甘油酸(1,3-bisphosphoglycerate)变成 3-磷酸甘油醛。由 NADPH 而来的电子减少了 3-磷酸甘油酸中的羧基(carboxyl group),使 G3P 生成一个羰基(carbonyl group),如此可驻留更多的位能。其中,G3P 是一种由葡萄糖经过糖酵解所产生的三碳糖。每 3mol 的 CO₂可产生 6mol 的 G3P,但是只有 1mol 的这种三碳糖能够真正被获得。循环一开始是以具有 15 个碳的碳水化合物去形成 3mol 的五碳糖 RuBP。现在具有 18 个碳的碳水化合物形成了 6mol 的 G3P, 1mol 脱离了循环而被植物细胞所使用,其他的 5mol 则必须被回收以形成 3mol 的 RuBP。

③ 二磷酸核酮糖(RuBP)的再生:

在一连串反应中, 5mol 的 G3P 碳骨架,在卡尔文循环的最后一个步骤被重新

分配为 3mol 的 RuBP。为了完成这个步骤，此循环多耗费了 3mol 的 ATP，接着 RuBP 又准备好再度接收 CO_2 ，使整个循环又可以继续。为了合成 3mol G3P，卡尔文循环总共需消耗 9mol 的 ATP 和 6mol 的 NADPH，然后借由光反应可再补充这些 ATP 和 NADPH。G3P 是卡尔文循环中的副产品，并且又是整个新陈代谢步骤的起动物质，可以用来合成其他的有机化合物，包括葡萄糖和其他碳水化合物。

综上所述，光合作用过程是一个复杂的一个生化转化过程，认识光合作用的原理和过程对研究微藻对 CO_2 的固定具有重要意义。

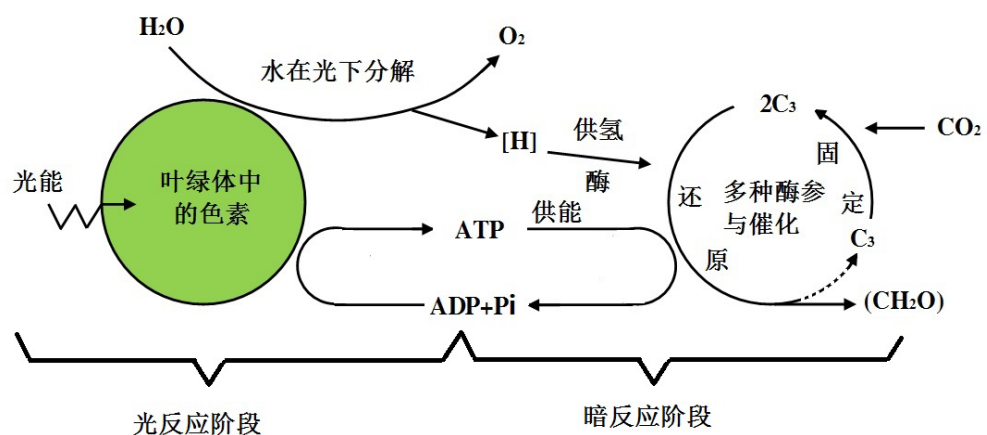


图 1.1 光合作用的原理

Fig. 1.1 Schematic of photosynthesis

1.3 微藻培养技术概述

微藻的培养过程中其营养方式可分为自养、异养和混养，因微藻在自养过程中能够借助其细胞内部叶绿素，并在光的作用下将水和 CO_2 转化为自身有机物，合成能源物质，是一种环保且低能耗的培养方式，所以对于微藻以自养方式进行培养的技术被广泛研究^[6]。而在以自养为营养方式的微藻培养中，按照藻细胞在培养过程中所处的状态可分为微藻的悬浮态培养模式和固定化培养模式。

1.3.1 微藻的悬浮态培养

微藻的悬浮态培养是指藻细胞在培养液中大量分散，呈悬浮态，主要包括开放式的培养池培养和封闭式的光生物反应器（photobioreactor, PBR）培养。而封闭式光生物反应器按照其结构进行划分，分别为平板式光生物反应器、柱式光生物反应器和管式光生物反应器。

① 开放式培养池

开放式培养池系统如图 1.2 所示形式。



图 1.2 微藻的开放式培养池系统

Fig. 1.2 Open ponds cultivation system of microalgae

开放式微藻培养最早始于二战时期的德国，随后位于华盛顿的卡耐基研究所率先尝试大规模培养微藻以固定 CO_2 ，并且在 20 世纪 70 年代，对于微藻的工业化培养技术在东欧、以色列和日本兴起^[7]。开放式微藻培养可分为天然水体（湖泊、池塘）以及人工池（跑道池、人造浅池），其的优点在于建造和运行成本较低，操作方便。其中最典型的要属可循环的跑道池式培养，因其构造类似于运动场上的跑道而得名，运行时藻细胞悬浮液深度一般为 15~20cm，而池高约为 40~50cm，藻液依靠叶轮推动在跑道池中流动，利用外部太阳光和液面上方空气中的 CO_2 进行光合自养生长，有的也通过池内曝气等形式对藻液提供碳源，并且为了防止藻体沉淀、提高光能利用率，还需对池中藻液进行搅拌^[4]。由此，对于微藻的开放式培养池式培养，仍存在很多问题，例如由于开放池的光照面积/体积比较小，并且液体表面与液体下部混合较差，导致只有表层的藻细胞能够接受到充足的光照，而池底藻细胞则难以接受到充分光照；由于开放式培养池运行时水深较浅，对于池内曝气方式进行补碳时气液接触时间过短，导致补碳效率低、培养液中溶解的 CO_2 供给不足等问题，因此导致微藻光合作用受限，微藻培养效率较低。此外，开放式培养池在培养微藻的过程中易发生污染，并且加上培养池本身占地面积较大、水分蒸发严重等缺点，这些都对开放式培养池微藻培养过程造成不利影响^[8]。

② 封闭式的光生物反应器

为了克服开放式培养池中存在的一些缺点，人们开发出了封闭式光生物反应器系统用以进行微藻培养。封闭式光生物反应器一般采用透光材料（玻璃、有机玻璃、塑料薄膜等）进行制造，由于光径小、培养体系光照面积/体积比较大，因此光照较为充分。在这种培养方式下，补碳气体与液体接触时间长，使培养液中溶解的 CO_2 浓度较高，几乎不会造成 CO_2 气体的泄露，因而藻细胞在其中的生长

速度和培养密度都较开放式培养池的高。此外，封闭式培养极大降低了环境污染的影响和培养液水分的蒸发，并且在培养过程中可以较好地对培养体系的温度、水力条件等参数进行调控。到目前为止，封闭式光生物反应器中微藻细胞大多处于悬浮态，这类反应器包括平板式、柱式、管道式等。

平板式微藻光生物反应器如图 1.3 所示。最早在 1953 年，由 Milner 等^[9]首先使用平板式光生物反应器培养微藻。随着这项工作的进行，Samson 等^[10]开发出了利用荧光灯作为光源的平板式微藻光生物反应器。一年后，Ramos 等^[11]利用户外的太阳光作为光源，进行平板式微藻光生物反应器研究。此后，研究者们均将平板式光生物反应器垂直放置，并在反应器底部设置鼓泡装置，为微藻生长提供 CO_2 ，这样既有效利用土地面积，又使微藻在较为充足光照和适宜的 CO_2 浓度下生长。发展到今天，平板式微藻光生物反应器的设计结构基本无太大变化。平板式微藻光生物反应器通常都是采用透明材料制成，最大的优点是光照面积大，有利于光的传递和吸收。相比其他微藻悬浮态培养的光生物反应器，其内部溶解氧积累的浓度相对较低。因此，目前的研究者们多采用这种形式的反应器进行微藻生长特性、 CO_2 固定特性等研究^[12-14]。但平板式微藻光生物反应器也存在缺点，例如不易放大规模、不易控制温度、反应器表面会滋生藻类等。



图 1.3 平板式微藻光生物反应器

Fig. 1.3 Flat-plate photobioreactor for microalgae cultivation

柱式微藻光生物反应器结构形式如图 1.4 所示，该类反应器有时可设计为倾斜柱式或叫做柱管式光生物反应器。该反应器结构形式比较单一，大多采用鼓泡式供气或者设计成气升式驱动，一般由圆柱形套筒组成，通过气体流动带动藻液在内外筒间循环，以促进微藻的光能利用率和传质效率。柱式微藻光生物反应器是目前为止在微藻悬浮态培养的光生物反应器中最适合扩大化培养的一类反应器，

并且微藻在其中生长的最高浓度及其比生长速率都比一般的细管式光生物反应器要高^[15]。同样地，研究者们对于该类反应器的设计几乎相同，一般为改变曝气方式、改变反应器高度或粗细来研究不同微藻在该反应器中的生长特性和油脂积累特性等^[16-18]。柱式反应器不足之处在于光照表面积小、建构技术性要求高、放大规模时光效率会降低等。

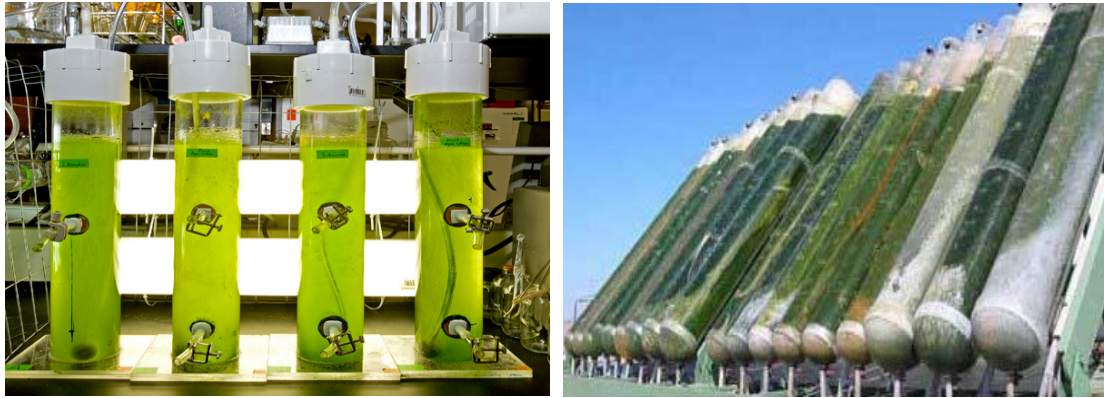


图 1.4 柱式微藻光生物反应器

Fig. 1.4 Column photobioreactor for microalgae cultivation



图 1.5 管式微藻光生物反应器

Fig 1.5. Tubular photobioreactor for microalgae cultivation

管式微藻光生物反应器如图 1.5 所示，该类反应器一般为水平放置，有直管式和蛇形管式^[19]，有的设计成螺旋管式^[20,21]等。大多数户外的微藻管式光生物反应器是由玻璃或者透明塑料制成，运行时通过泵或者气升式系统进行驱动。由于管式微藻光生物反应器具有较大的光照面积，因此是最适合进行微藻户外培养的反应器之一。但是另一方面，该类反应器内部传质会受到限制，因此在对其进行扩大化时由于其内部的气体等物质传质限制会造成微藻培养的产量下降^[19]。此外，

随着管式反应器直径的扩大，其内部容易出现光抑制现象，并且管长度应保持尽可能短，否则微藻将不能受到足够光照。因此，管式反应器在培养微藻时存在较多的问题，包括温度控制在内，这些都是限制管式反应器发展的重要因素。

综上所述，封闭式光生物反应器对于微藻的悬浮态培养仍存在诸多缺点，例如反应器的制造和运行成本较高、气体传质效率较低、放大技术不成熟、维护困难等，而这类问题也就是阻碍了封闭式光生物反应器高效化、规模化发展的重要原因^[22]。

表 1.1 培养微藻的开放式培养池与封闭式光生物反应器的比较

参数	开放式培养池（包括跑道池）	封闭式光生物反应器
污染风险	极高	低
空间和占地要求	高	低
建造和运行成本	较低	较高
设计的标准化	未报道	有相关报道并可以实现
水分蒸发（散失）	极高	几乎没有
CO ₂ 利用率	低	高
光能利用率	较低	较高
培养周期	较长，约 6~8 周	相对较短，约 2~4 周
培养后期的生物量浓度	低，约 0.1~0.5g/L	较高，约 2~8g/L
培养效率	低	高
生物质品质	不易受感染	易受感染
不同藻类的可培养性	仅限于少数藻类	几乎所有藻类都可培养
产量值可重复性	低，基于外部条件不同而不同	在确定误差范围内是较高的
培养过程的可调控性	较低	较高
天气的依赖性	大，不适应恶劣天气	不明显

1.3.2 悬浮态微藻培养的采收

对于微藻在光生物反应器中悬浮态的培养方式，不可避免的都存在培养成本的问题，其中微藻的采收过程所投入的成本占总的制成微藻成品过程所投入成本的 20%~30%^[23]。因此，微藻的采收方法的选取在降低微藻生产成本上具有重要作用。对于悬浮态微藻的机械采收方法主要有离心分离、过滤、重力沉降、气体浮选等^[3]。

离心分离是指将藻液置于离心机中，通过离心作用实现藻细胞和培养液的分

离，从而收获藻泥的技术。该方法是目前应用最为广泛的微藻生物量采收方法，并且大部分微藻均可利用该方法采收。过滤是指通过滤膜将固相的藻细胞和液相的培养基实现分离的技术，而细胞的大小则是直接影响过滤的主要因素。由于过滤过程中体积较小的细胞、培养液中微细颗粒、细胞代谢产生的大分子物质等易引起过滤膜污染，所以工业规模的微藻采收不宜采用此方法。重力沉降方法需依靠藻细胞本身密度，密度越大，越容易沉降，故该方法常需添加絮凝剂以提高沉降效率，从而使得固液分离便于采收。气体浮选一般需先在藻液中加入絮凝剂使藻细胞发生絮凝，随后从气浮装置底部放出大量微细气泡，气泡上浮过程中将碰到的絮凝体吸附住并带到液体表面进行采收^[24]。几种方法的比较如表 1.2 所示。

此外，对微藻的采收方法还有生物和化学等方法，包括生物絮凝、化学絮凝等，还有电絮凝。这类方法均使用了成本较高的化学试剂或外加了高品位能源，增加了微藻培养过程中的成本^[25]。

表 1.2 几种机械采收微藻的方法比较^[26-29]

Table 1.2 Comparison of some mechanical harvesting methods for microalgae

采收方法	采收后藻浓度	收获率	实验规模	主要优点	主要缺点
离心分离	12~22%	>90%	实验室规模	可靠，较高藻浓度	高耗能，高成本
过滤	5~27%	70~90%	实验室规模	可靠，较高藻浓度	膜污染，高成本
重力沉降	0.5~3%	10~90%	中试实验	低成本	效率低，不可靠
气体浮选	3~6%	50~90%	中试实验	可用于大型实验	需添加絮凝剂

综上，对比几种常见的微藻采收方法我们可以发现，对于悬浮态微藻的采收成本普遍较高，而且效率始终无法提升，这对微藻产业及其能源化利用的发展造成了极大的阻碍。因此，一些研究者提出了微藻的固定化培养模式。

1.3.3 微藻的固定化培养

微生物固定化培养技术，是指利用物理或者化学手段将具有一定活性的游离细胞限制或定位于一定空间内，并使其保持活性的一项生物强化技术，常见用于污水处理领域，以脱除污水中氮盐、磷盐和重金属离子的污染物^[30,31]。细胞固定化技术的主要优点有：实现微生物细胞与液相的分离，提高反应器内生物量持有量，同时提高反应器内单位体积的生物产量，实现高密度培养；可使工程连续化，装置小型化，对生物量采收方便易行，无需造成大量采收能耗^[32,33]。

迄今为止，微生物固定化的方法包括吸附法、包埋法和偶联法^[34]。吸附法是利用载体与细胞表面之间的静电力或其他相互作用力促使细胞吸附于载体表面，该方法简单易行，但保留的容量有限。包埋法是指利用琼脂、海藻酸盐、角叉菜

胶等这类天然聚合物或者丙烯酰胺、聚乙烯醇等这类人工聚合物将微生物细胞包裹在内,实现微生物细胞与外界液相的分离,此时微生物细胞中营养物质来源于液相中营养物质通过包埋物孔隙结构的渗透作用,因此传质阻力较大,光传递也受到抑制,并且该方法较为复杂,培养成本相对较高,但是对细胞活性不会造成太大影响,对细胞的保留容量较大。目前,包埋法多采用海藻酸盐作为包埋材料^[35]。偶联法是指利用异氰酸等这类化学物质与微生物细胞形成共价键实现固定化,该方法简单快捷,但反应激烈,对细胞活性有影响。

为了克服上述固定化方法的诸多缺点,研究者们利用微藻具有在固体基质表面的吸附能力,提出了可有效提高生物反应器单位体积生物量的微藻吸附式固定化培养技术,即藻细胞吸附于固体基质表面,在营养物质作用下分裂增殖形成微藻生物膜,并不断进行生长的一项技术。该培养模式具有操作稳定性高、生物量密度大、采收方便、节能等优点,并且能与废水处理相耦合,相比于悬浮态微藻培养技术具有更大优势^[25]。目前已有的相关研究主要集中于宏观的微藻吸附式培养模式及光生物反应器的设计等方面,同样大多以实现废水处理为目的^[36,37]。已有研究证明,微藻可以在不以水作为其支撑的条件下生长,即可以在固体表面附着生长,例如微藻可以在实验室中使用琼脂固态培养基制成的培养皿平板上生长,但该方法用于藻种的筛选或保存。根据这种思路,国内外一些专家学者进行了微藻在固体基质表面吸附生长特性的研究。

Liehr 等^[38]建立了微藻生物膜的物理模型和数学模型,研究了微藻生物膜中的无机碳和光强分布等特性,结果表明微藻生物膜的生长是一个同无机碳及光强分布相耦合的复杂过程。Cao 等^[39]研究了二形栅藻(*Scenedesmus dimorphus*)细胞附着在不锈钢表面生长特性,结果表明相对于光滑不锈钢表面,微藻细胞能更好地在具有微小酒窝形状的不锈钢表面进行附着生长。同时提出了一种由风能或其它可再生能源驱动下的漂浮在水面上的传送带的微藻培养系统,并设想用该系统解决微藻生物柴油生产领域低产量和采收干燥过程高能耗的问题。但该文献仅测试了藻细胞是否能在粗糙的不锈钢表面附着和生长,并没有研究光照、碳源、无机盐等参数对微藻生长的影响。Johnson 等^[40]对 *Chlorella sp.* 静态沉降于聚苯乙烯泡沫材料表面并在光照条件下利用有机废水进行生长的状况进行了研究,发现微藻可在载体表面形成生物膜,且将生物膜直接刮下即可收获藻产品。Ozkan 等^[41]设计了一种新型微藻生物膜光生物反应器(如图 1.6 所示),利用静态沉降的方式将布朗葡萄藻(*Botryococcus braunii*)吸附于混凝土板上,并将培养液以液滴的形式对吸附于固体表面的微藻供给营养物质(如图 1.7 所示),其研究表明,相比较于开放池式培养,该培养方式每培养 1kg 藻生物量可减少 45%的水消耗和 99.7%的藻生物质脱水能耗。Christenson 等^[42]设计了一种旋转式微藻生物膜光生

物反应器，比较不同材料作为微藻附着基质对微藻吸附生长的影响，并使用该方法进行了中试实验，结果表明棉绳是最好的吸附生长基质，该培养方法实现了废水处理与微藻培养的耦合。Liu 等^[43]利用垂直放置的滤膜作为微藻细胞吸附的载体，并研究了光照强度对微藻吸附培养的影响，结果表明该培养方式在保证较高生物量产率前提下，减少了水的使用，并且采收方便、污染可控、便于扩大化培养，是一种具有一定经济效益的能源微藻培养方法。此外，该团队利用类似方法进行了不同微藻的培养，获得了较好的效果，同时也研究了不同环境因子对微藻吸附式生长的影响^[44-46]。

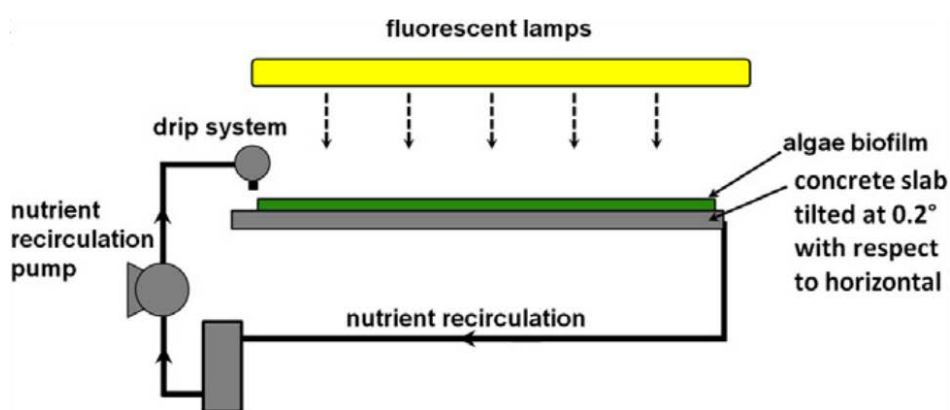


图 1.6 微藻生物膜光生物反应器系统示意图^[41]

Fig. 1.6 Schematic of the algae biofilm photobioreactor system

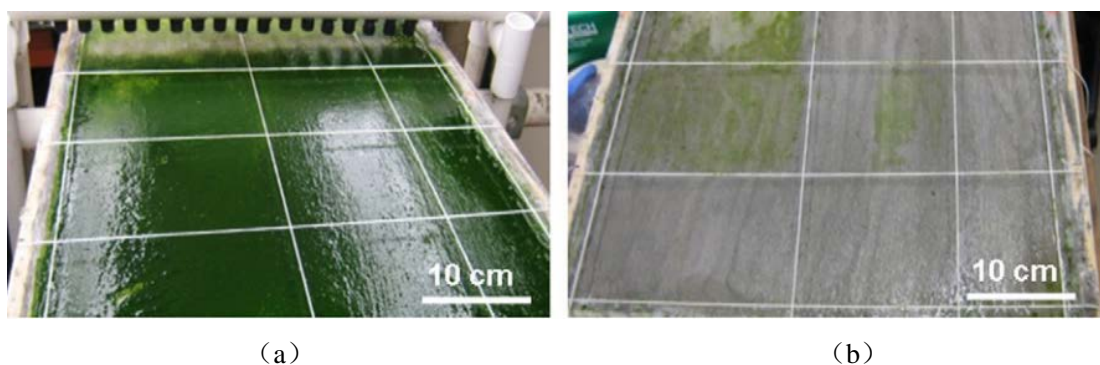


图 1.7 微藻生物膜光生物反应器实物图 (a. 培养中; b. 采收后)^[41]

Fig 1.7 Entity photos of the algae biofilm photobioreactor system (a. in operation; b. after harvest)

由此可见，相比微藻的悬浮态培养，微藻的吸附式固定化培养是现今研究的热点，也是最具有发展潜力的一种新型微藻培养模式。关于微藻悬浮态培养系统与微藻吸附式固定化培养的系统比较如表 1.3 所示。

然而，目前的研究仍然存在一些欠缺。在微藻吸附式培养前期藻细胞在固体基质表面吸附过程中，其吸附特性主要会受到藻细胞接种量、吸附载体表面粗糙

度、培养液 pH 值及流动条件等参数直接影响；在生长过程阶段，光照强度、CO₂ 浓度、CO₂ 流量、培养液氮源浓度、培养液流量等这类参数将影响到微藻生物膜的形成和生长特性。所以，为了使微藻在吸附式培养条件下能够达到较高的生物量，提高产率，并且促进藻细胞内部能源物质的积累，需从两个方面入手：一是强化藻细胞在固体基质表面的吸附，提高藻细胞在载体表面的吸附量和吸附速率；二是在强化藻细胞在固体基质表面的成膜和生长。由此可见，藻细胞的吸附和藻细胞的生长应是一个连续并且相互耦合的关系。因此，从工程热物理学角度出发，从上述两个方面对微藻的吸附式培养进行强化，对推动能源微藻高效培养及其产业化利用具有重要意义。

表 1.3 不同微藻培养系统的比较 [25,47]

Table 1.3 Comparison of various culture systems for microalgae

培养系统	优点	缺点
平板式微藻光生物反应器系统	较大的光照面积, 较好的光路, 适合户外培养; 较高的生物量产量; 易于清洗; 低溶氧积累;	难于扩大化; 温度调控困难; 微藻容易贴壁; 可能对一些微藻造成较大水压。
柱式微藻光生物反应器系统	较高传质效率; 较好混合性; 较低能耗; 易于扩大化; 便于灭菌; 低光抑制和光氧化作用。	较小的光照面积; 建构技术要求高; 放大规模光照面积会减小。
管式微藻光生物反应器系统	较大光照面积, 适合户外培养; 生物量产量较高; 运行成本相对较低。	沿管道轴向存在 pH、溶解氧、CO ₂ 浓度梯度; 易受污染; 微藻贴壁现象严重; 占地面积大。
微藻吸附 (生物膜) 培养系统	气体传质效率高; 易于扩大化; 低能耗运行, 且运行稳定; 采收方便; 微藻含水量低; 易与废水处理耦合.....	生物膜内光传递受限, 传质效率较低; 吸附载体材料研究匮乏。

1.3.4 固定化微藻培养的采收

在固定化培养微藻采收阶段，若是采用包埋法对微藻进行培养，则必须对包埋颗粒进行再溶解，通常加入柠檬酸钠等物质，使添加物与包埋胶球发生反应，从而溶解包埋材料，使藻细胞暴露出来进行采收，这无疑又增加了成本的投入。若微藻细胞是吸附于固体表面，则可通过人工或机械的方式，采用刮板将微藻刮下进行采收。这种培养方法大大减少了采收过程中的机械能耗、化学药品的添加以及微藻产品脱水干燥的难度，为后续微藻能源化、产业化发展提供了一条新的

方向。

1.4 影响微藻吸附的主要因素

在微藻的吸附式培养技术发展进程中，大多为研究宏观的微藻细胞在特定材料表面的吸附式生长特性，而在微藻吸附式生长开始之前，存在微藻细胞运动至载体表面并发生吸附这样的过程。因此，研究微藻细胞在固体基质表面的吸附过程并强化其吸附速率和吸附量具有重要意义。

目前为止，国内外对微藻细胞在固体基质表面吸附特性的研究相对较少，多以细菌为研究对象来探讨其在固体基质表面的吸附特性。这类因细菌吸附而形成的生物膜有的会对人类生产和生活造成负面影响，例如食物污染^[48]、加剧金属腐蚀^[49]等。但细菌吸附在另一方面也会有积极作用，例如污水处理^[50]和废气处理^[51]等。细菌在固体基质表面的吸附是保证其能在固体表面增殖和形成生物膜的关键的一步^[52]。悬浮的细胞在培养液中通过对流、扩散、重力和布朗运动等方式运动到载体表面附近，在细胞与固体表面间产生的静电力、范德瓦尔斯力及黏附力等作用下完成吸附过程^[53]。

为了认识细胞在固体基质表面的吸附规律，研究者们进行了大量研究。因细菌细胞的大小通常为 $0.5\sim 2\mu\text{m}$ ，人们将其近似看做胶体颗粒，因此细菌在固体表面的吸附规律可以用 DLVO 理论进行描述^[54,55]。该理论认为细胞体在固体基质表面附近的运动行为由细菌与固体基质间的范德瓦尔斯力和电场力作用决定。由此，Ozkan 等^[56]研究了在反应器内流动条件下普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 在固体表面的吸附特性，并用热力学模型、DLVO 理论以及 XDLVO 理论对其吸附规律进行模拟，结果表明该条件下普通小球藻的吸附规律相对于 DLVO 理论而言，更符合 XDLVO 理论。因为微生物细胞表面携带可电离的官能基团，例如羟基 (-OH)、羧基 (-COOH)、氨基 (-NH₂)^[57]。当培养液 pH 值变化时，这类官能基团能进行去质子化或质子化反应，从而改变细胞表面的带电特性。Ozkan 等^[58]研究表明当培养液 pH 为某一特定值时，可导致藻细胞表面接近于电中性，这样更利于藻细胞在固体表面的吸附。Medilanski 等^[59]研究了表面粗糙度对细菌吸附的影响，结果表明较大的载体表面粗糙度能够促进微生物吸附。同样，针对微藻细胞，Sekar 等^[60]研究了 *Nitzschia amphibia* 等几种不同微藻细胞在分别在不锈钢等几种不同材料表面的吸附特性，同时研究了溶液 pH、载体表面粗糙度、细胞接种量等参数对藻细胞吸附规律的影响，结果表明所选藻细胞在表面粗糙度较大的载体表面更易附着，并且当培养液 pH 值为 7 左右时，载体表面吸附量随着藻细胞接种量的增大而增大。Bayoudh 等^[61]用假单胞菌和葡萄球菌研究了载体表面的疏水特性对细菌的初期吸附影响，发现细菌吸附初期的吸附量与细菌的亲水性和载体表面的亲水性有关，且越亲水的细菌越容易在越亲水的表面吸附。然而，Ozkan 等^[62]在研究

Chlorella vulgaris 和 *Botryococcus sudeticus* 这两种表面亲疏水性不同的藻细胞在不同亲疏水性载体表面吸附规律时,发现疏水的藻细胞更易在疏水的载体表面吸附,其吸附能力优于亲水藻细胞在疏水载体表面的吸附以及亲水藻细胞在亲水载体表面的吸附。

由此可见,藻细胞在固体表面上的吸附规律同细菌在固体表面的吸附规律具有相似之处,同时也具有不同之处。然而,以上均为将实验装置置于摇床上或是静态条件下研究藻细胞在固体表面的吸附规律,大多是为研究生物污染规律提供实验依据,而对于藻细胞在光生物反应器中流动条件下在固体基质表面的吸附规律及强化其吸附方法研究较少。因此,为了推动微藻资源化利用和微藻吸附式培养技术的发展,研究微藻在光生物反应器内的吸附规律具有重要价值。

1.5 影响微藻生长的主要因素

微藻的自养生长过程中,不仅需要光源,还需要水分、碳源和无机盐。其中碳源主要包括 CO_2 、 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} ,无机盐则包括含有 N 和 P 的物质。此外,其他的例如铁、硫、钾、镁以及一些微量元素也是微藻生长所必须。

1.5.1 光照条件

光照时影响微藻生长最重要的环境因子之一,其对微藻的生长、繁殖、叶绿素积累、细胞形态和组成等都具有重要影响^[63-65]。在微藻培养中,光照条件主要表现为光照强度和光照波长。

光照强度对微藻固定 CO_2 有着重要影响,适宜的光照强度会促进微藻对 CO_2 的固定效率^[66]。当实际光照强度低于最佳光强时,光照就成为了微藻生长的主要限制性因素;当实际光照强度高于最佳光强时,将会产生光抑制现象,对微藻的生长造成负面影响^[67]。因此,在微藻的长期进化中,光照对它们的影响使得它们对光照的反应具有特异性,不同种类的微藻都有最适于其生长的最佳光照环境。Ruangsomboon^[68]研究了不同光照强度对布朗葡萄藻 (*Botryococcus braunii*) 生长和油脂合成的影响,结果表明在光照强度为 $87.5\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,该藻的生物量积累较光强为 $200\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和 $538\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 条件下的要高。Shihhsin 等^[69]研究了不同光强对斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 生长的影响,结果表明其比生长速率最大发生在光强为 $180\sim 540\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 范围内。其中 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 与 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 是相同的光照强度单位,表示光合有效辐射,即每秒钟每平方米接受到的有效光量子数量。

因此,对于不同的藻种,最适合其生长和进行能源物质积累的光照条件是不一样的,而且对于不同的培养模式,微藻所需要的最佳光强也是不同的。目前,大多数均以微藻的悬浮态培养模式进行光强对微藻生长影响的研究。对于微藻的悬浮态培养,绝大部分光都是照射到反应器或者培养容器的培养液表面之上,随

着微藻的生长，培养液中藻细胞浓度会越来越大，由于藻细胞之间存在相互遮挡作用，使入射光在穿透培养液的过程中不断衰减，导致距离反应器表面越远的藻细胞所能接受到的光强越弱。因此，在与反应器表面垂直的光照方向上，入射光存在不均匀的梯度分布现象。

对于微藻吸附式固定化培养，少见光强对其生长特性的影响方面的研究。Ji 等^[70]进行了以生物膜法培养含油微藻 *Pseudochlorococcum sp.* 的研究，结果发现光强为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 是该种微藻在该实验条件下的光饱和点，即当光强继续增长时，其吸附于固体基质表面的生物量保持最大值不变，同时生物膜生长速率也保持不变。因此，针对微藻的吸附式培养模式，寻找合适的藻种，研究光照强度对微藻吸附式生长特性的影响，对认识微藻吸附式生长规律以及光生物反应器设计都有重要参考价值。

此外，光照波长也会对微藻的生长特性产生一定影响。Muller-Feuga 等^[71]采用荧光灯为照射光源进行微藻培养，随后人们对最适宜微藻的吸收光谱范围进行分析，研究不同微藻细胞含有的不同色素对不同光波长的反应特性，结果表明小球藻在波长为 400~500 nm 的红光以及 600~700nm 的蓝光下生长速率明显提高。Das 等^[72]研究了不同波长的光对 *Nannochloropsis sp.* 生长和油脂积累的影响，其中光的不同波长表现为光的颜色不同，结果表明在蓝色 LED 光照条件下，其生物量增长更快，但在绿色 LED 光照条件下其油脂积累最多。而 Yan 等^[73]研究了不同波长的光对普通小球藻 *Chlorella vulgaris* 生长的影响，结果表明在红色 LED 光照条件下，能够积累更多生物量，并且红光是最适合普通小球藻繁殖的光照条件。因此，针对不同的藻种，所需要的最佳波长也是不同的。但对于微藻的低成本培养，大多利用太阳光或接近于太阳光特性的日光灯作为光源，而采用单色光培养微藻相对较少，且工艺较为复杂，因此本文将选择更接近于实际光照条件的日光灯作为培养微藻光源。

1.5.2 温度和 pH 值

温度是微藻生长过程中必须控制好的一个因素，其能够影响细胞中酶的活性，主要表现为对光合作用过程中各种生化反应速率的影响。微藻在生长过程中，存在一个最佳的温度范围。在这个温度范围内，随着温度的升高，藻细胞内的各种生化反应速率会加快；当温度超过这个范围后，随着温度的继续升高，藻细胞内各种生化反应之间的平衡会遭到破坏，甚至对细胞造成损伤。因此，在进行微藻培养时，应时刻对其周围温度进行合理的控制。一般来说，研究微藻生长特性所控制的温度为 25~30℃ 左右^[74,75]。

培养液 pH 值会影响微藻有关生长代谢等许多生理过程的一个重要因子，它会影响 CO_2 由气相进入液相的扩散速率，从而影响微藻在光合作用过程中对 CO_2 的

吸收速率,此外,pH值也会影响藻细胞的沉降行为、呼吸作用、对离子的吸收利用以及代谢产物的再利用和毒性^[76-78]。随着藻种的不同,其生长过程的最适pH值存在差异,而且在培养过程中,随着微藻对碳源、氮源和磷源的利用,培养液的pH值会在中性至碱性范围变化^[79]。对于本课题所用的普通小球藻,培养期间其培养液中的pH值一般在6~10左右变化。

1.5.3 CO₂的传递

碳是微藻中含量最为丰富的元素,约占藻体重量的50%左右^[80]。在光自养条件下微藻利用混合气体中的CO₂作为碳源来合成有机物,但在多数情况下,碳源都是以CO₂、HCO₃⁻、CO₃²⁻的形式溶解在培养液液相中,并且其浓度大小会随着培养液pH值变化而变化^[81]。虽然HCO₃⁻能够被微藻所利用,但CO₂相比其他无机碳源其更容易被微藻吸收。Anjos等^[82]将普通小球藻在鼓泡柱式反应器中培养,并研究不同浓度、不同流量CO₂对小球藻生长特性的影响,结果表明当温度为30℃,CO₂浓度为6.5%,流量为0.5vvm时,该培养方式下小球藻对CO₂的固定速率最大,为2.22g·L⁻¹·day⁻¹。同样地,Ji等^[70]也发现不同浓度的CO₂气体对微藻生物膜的生长也有一定影响。由此可见,不同的培养条件、不同的培养模式下,微藻对CO₂的固定速率是不同的,而且Sydney等^[83]通过比较相同培养条件下*Dunaliella tertiolecta*、*Chlorella vulgaris*、*Spirulina platensis*、*Botryococcus braunii*这几种微藻对CO₂的固定特性,发现不同藻种对CO₂的固定速率也是不同的。因此,只有针对某一特定培养条件和特定藻种研究其对CO₂的固定特性,进而与其他条件下的微藻固定CO₂特性进行比较,选择最佳方案,才能用以指导CO₂气体性质的调控和光生物反应器的设计。

此外,从传质角度上来说,CO₂从混合气体传递到藻细胞内的传递模型是一个多相模型,对于气相CO₂在藻液中的吸收固定过程主要为扩散传递。当将CO₂注入到藻液中时,由于其被微藻细胞消耗或者被排出到大气中,就会由此在藻液中建立起CO₂的浓度梯度。根据双膜理论,CO₂从气相区传递到微藻细胞内需要经历两个阶段^[84]。第一阶段是CO₂从气相区传递到液相区,即首先从主气相区传递到附近接近气液界面的薄气膜区,并以扩散方式穿过薄气膜,然后通过气-液相界面,再以扩散方式穿过靠近气液界面的薄液膜区,从薄液膜传递到主液相区。第二阶段是CO₂从液相区传递到细胞内:首先从主液相区传递到附近接近细胞壁表面的薄液膜区,通过扩散通过细胞壁外的薄液膜,最后传递进入细胞,为藻细胞提供碳源。整个传递过程的阻力是每一个传递过程中阻力的叠加,其中最大的阻力存在于薄液膜区。因此,对于混合效果较好的光生物反应器,液相区的碳源浓度梯度可以忽略,但气泡内的传递阻力仍会大于细胞边界层上的阻力^[85]。由此可见,对于微藻的悬浮态培养,均存在CO₂的传质问题,并且为了强化其传质,必

须投入更多的能耗，从而提高了微藻培养的成本。

因此，为了解决悬浮态微藻培养下高耗能、高培养成本的难题，而且同时能实现 CO_2 的高效固定。本课题将 CO_2 的固定同微藻的吸附式培养相结合，这样较好地解决了能源与环境的矛盾性，也为微藻吸附式培养的光生物反应器的发展具有一定推动作用。

1.5.4 无机盐

这里所指主要是含有氮（N）和磷（P）的无机盐。

除了碳源，氮源是微藻生长过程中最重要的元素，因为微藻生物质中大约有 10% 是有氮元素组成的^[86]。微藻自养培养过程中可用的无机氮源有硝酸盐(NO_3^-)、亚硝酸盐(NO_2^-)、氨(NH_4^+)等，其中硝酸盐是最常用的氮源。 NO_3^- 在硝酸盐还原酶的催化作用下，以 NADH 或 NADPH 作为电子供体还原为 NO_2^- ，随后 NO_2^- 在亚硝酸盐还原酶的作用下，经历需要 6 个电子的还原过程，还原成 NH_4^+ 而用于合成氨基酸。氮源是光合作用中所必须的元素，氮源的多少会直接影响着藻细胞的分裂增殖，从而影响到其生物量的积累。氮源在藻细胞新陈代谢过程中参与氨基酸、嘌呤、嘧啶、氨基糖、胺化合物以及叶绿素的合成。当氮源不足时，藻细胞内叶绿素含量会减少，同时对光照强度和 CO_2 浓度的需求值降低，光合作用和呼吸作用同时减弱；当氮源浓度过高时，会对微藻的生长产生抑制作用，这可能是与培养液中氮磷比例失调，不利于藻细胞分裂有关^[87]。但是，为了提高藻细胞内油脂含量，缺氮培养是促进藻细胞中油脂积累的关键。Li 等^[88]和 Cho 等^[89]研究表明缺氮培养降低了微藻生物量的积累，但却促进了油脂的合成，特别是甘油三酯的合成。

磷源在自然环境下，在微藻的生长过程中是缺乏的元素，一般来说，微藻细胞中磷含量仅占微藻生物质重量的 1%^[90]。磷在微藻细胞中参与合成 ATP、GTP、核酸、磷脂、辅酶等，它主要存在于单细胞藻的原生质和细胞核中，作为底物或者调节物直接参与光合作用的各个环节，包括光能吸收、同化力形成、卡尔文循环、同化产物运输等^[91]。藻细胞可以吸收过量的磷酸盐储存在细胞内，当培养液磷源充足时，藻细胞利用培养液中磷源维持细胞正常分裂和生长，并不消耗细胞内储存的磷源；当培养液中磷源缺乏时，细胞利用储存的磷源维持细胞正常生长分裂。因此，相对于氮源，微藻对磷源的需求量较少，原因是需要磷元素参与合成的磷酸、ATP 等含磷化合物在藻细胞中含量较低。因此，在进行微藻培养的一般情况下，磷源都是充足的，对微藻的生长不会起到决定性作用。

1.6 本课题的主要工作

1.6.1 已有研究的不足

迄今为止，对于微藻在固体基质表面的吸附式培养研究还处于起步阶段，多集中于宏观反应器的设计及其性能的研究，并且多用于废水处理方面；对于微生物细胞在固体基质表面的吸附特性的实验大多是将其置于摇床上或是静态条件下研究微生物细胞在固体表面的吸附规律，且大多以细菌为研究对象，多是为研究生物污染规律提供实验依据。因此，已有研究的不足主要包括以下几个方面：

① 基于微藻的吸附式培养，其前期藻细胞在固体基质表面的吸附特性会对后期微藻细胞的生长造成重要影响。吸附特性主要表现在吸附速率和吸附的生物量上。若在藻细胞的前期吸附阶段就表现出较高的吸附速率和较多的吸附生物量，则能在较大程度上保证其后期有较大的生物量产量和产率。目前研究者们对藻细胞吸附特性进行了少量研究，但未在与实际能源微藻培养相结合的条件下研究其吸附特性。

② 目前关于微藻吸附式培养光生物反应器及其系统的设计还有待发展，吸附材料的选取仍存在成本问题。研究者们对于该类反应器培养微藻多集中于研究其对微藻生长特性或者能源物质积累特性的影响，抑或是在对废水中污染物的去除能力上进行研究，少见将该培养模式下微藻的生长特性同 CO_2 固定特性相结合的研究。

③ 研究者们针对所设计的微藻吸附式培养光生物反应器，研究影响光生物反应器内微藻生长和油脂积累的环境因子主要包括光照强度、 CO_2 浓度、氮源浓度等。然而针对不同形式的反应器，微藻在其中吸附式生长的特性存在不同，并且气相 CO_2 流量、培养液流量这类热物理参数也会对微藻的生长和能源物质积累造成重要影响，同时也存在微藻对 CO_2 去除率大小的问题，目前对这类参数的控制和研究是比较欠缺的。

1.6.2 本课题的主要研究内容

针对已有研究的不足，本课题的主要研究内容包括以下几个方面：

① 固体基质表面小球藻细胞的吸附特性

为了了解微藻吸附式培养前期藻细胞在固体基质表面的吸附规律，获得各参数对藻细胞吸附特性的影响程度，在接近于实际培养的条件下，针对平板式光生物反应器，以补充有碳源的 SE (Brostol's solution) 培养基作为普通小球藻的水环境，通过不同型号砂纸对载玻片进行均匀打磨以获得不同载体表面粗糙度的固体基质，控制其他参数不变，研究不同表面粗糙度对藻细胞吸附特性的影响，然后选出最佳吸附性能所对应表面粗糙度的载玻片，研究了藻细胞接种量、培养液 pH 值和液体流量对小球藻细胞在所选载体表面吸附特性的影响。

② 具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器的设计及性能研究

为了将微藻吸附式培养与 CO_2 固定相结合, 参考膜生物反应器的构造, 采用具有较好的强度、生物相容性以及气体扩散能力 PTFE-玻璃纤维材料作为气液分离膜, 设计了具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器及其实验系统, 并对气液分离膜的表面形貌、表面自由能、孔隙率进行了表征, 研究了在液相流量为 2mL/min , NO_3^- 浓度为 1.5g/L , 气相 CO_2 浓度为 2% (v/v), 气相流量为 10mL/min 条件下该反应器内微藻吸附式生长特性和 CO_2 固定特性。

③ 不同运行参数对所设计光生物反应器内微藻生长及 CO_2 固定特性的影响

为了获得本课题所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养的光生物反应器运行的最佳条件, 本实验在控制其它参数不变的前提下, 通过改变光照强度, 气相侧 CO_2 浓度、气相流量, 以及液相侧培养液流量、培养液 NO_3^- 浓度这类参数, 以研究不同参数对反应器内吸附式生长的微藻生物量产量、生物量产率, 培养液 pH 值、 NO_3^- 浓度以及 CO_2 去除率的影响, 获得其运行最佳条件。

1.6.3 本课题的研究意义

微藻的吸附式培养技术是综合涉及工程热物理学科、生物化学等领域的前沿交叉性研究课题。通过研究藻细胞在固体基质表面的吸附特性, 认识藻细胞的吸附规律, 对于微藻吸附式培养的光生物反应器内吸附材料特性的设计的具有重要参考意义。而本课题中所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器, 不仅实现了微藻吸附式培养, 而且成功将微藻培养同 CO_2 固定相耦合, 为今后对微藻吸附式培养光生物反应器结构设计和参数调控提供了研究思路。由此可见, 本课题的开展对推动微藻高效培养光生物反应器开发和研究微藻对 CO_2 的固定特性具有重要意义和参考价值。

2 固体基质表面小球藻细胞吸附特性

2.1 引言

微藻作为一种最具有潜力的新型可再生生物质能源，具有光合效率高、零净碳值、易培养、生长周期短、油脂含量高、环境适应性强等优点^[4,5]。目前，微藻的培养方式大多采用悬浮态培养，这种培养方式所获得的微藻生物量产率较低，采收时脱水能耗高，限制了微藻生物能源技术的大规模应用^[92]。由此，可有效提高生物反应器单位体积生物量的微藻吸附式固定化培养技术被广泛关注。已有研究证明，微藻的吸附式固定化培养模式具有操作稳定性高，生物量密度大、采收方便节能等优点，且能与废水处理相耦合，相比悬浮态微藻培养具有更大优势^[25,40,41,43]。

将微藻细胞固定于载体表面的方式目前分为人工固定和静止沉降。这里的人工固定是指人为将悬浮态培养的藻种过滤出，然后用涂刷或贴附的方式将滤出的藻种固定在固体基质表面^[43,93]。该方法操作流程简单，但应用于实际扩大化培养却不够方便。而静止沉降为使藻细胞悬浮液处于静止状态，利用重力的作用促使藻细胞向固体表面运动，完成吸附过程，然后排走吸附后藻细胞上方的液体并供给新的培养液进行微藻培养^[41]。以静止沉降方式进行藻细胞在固体表面的前期吸附，相对于人工固定更贴合实际扩大化培养，但以该方式吸附于固体表面的藻细胞数量有限，用于吸附的藻细胞仅为固定培养液中的数量，相比藻细胞悬浮液在低流速下的动态吸附所吸附的量要少；根据生物的环境适应性，动态吸附方式下的藻细胞更能适应后期培养中培养液的剪切作用；动态吸附法实现了藻细胞吸附同后期生长结合在一起，成为一个连续的过程，将减少人力的投入。因此，本实验采用在动态吸附条件下研究藻细胞在固体基质表面的吸附特性，更能为实际微藻吸附式培养的规模扩大化提供较为准确的理论依据。

藻细胞在动态吸附过程中，通过对流、扩散、重力和布朗运动等方式运动到载体表面附近，然后通过细胞在固体基质表面的吸附和分裂、增殖，才能最终形成成熟的生物膜，这点与细菌吸附类似^[94]。本章将针对平板式光生物反应器，以补充有碳源的 SE (Brostol's solution) 培养基作为普通小球藻的水环境，通过不同型号砂纸对载玻片进行均匀打磨以获得不同载体表面粗糙度的固体基质，控制其他参数不变，研究不同表面粗糙度对藻细胞吸附特性的影响，然后选出最佳吸附性能所对应表面粗糙度的载玻片，研究了藻细胞接种量、培养液 pH 值和液体流量对小球藻细胞在所选载体表面吸附特性的影响。

2.2 材料与培养方法

2.2.1 藻种与培养基

普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*, FACHB-31)，购自中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库。以添加有 Na_2CO_3 作为碳源的 SE (Brostol's solution) 培养基作为基础培养基，进行藻种扩大培养。

对购买的藻种进行活化、扩大培养所用的 SE 基础培养基配方如表 2.1 所示。利用 250mL 锥形瓶盛装 150mL 基础培养基，于 121°C 、0.1MPa 条件下高温湿热灭菌 20min。待冷却后，将锥形瓶置于超净台中用紫外灯消毒 15min，然后进行藻细胞接种操作，整个过程尽可能保证在无菌环境下进行。接种完成后，将锥形瓶放入光照培养箱，控制温度为 25°C ，光照强度为 3000Lux 左右，此时，小球藻将在此环境下进行自养生长。当藻细胞处于对数生长期时，应及时进行转接操作，随时观察测定藻细胞生物量，约 7 天左右转接一次。

表 2.1 SE 培养基的配方

Table 2.1 Formulations of SE medium

成分	含量
NaNO_3	0.25 g/L
K_2HPO_4	0.075 g/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.075 g/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.025 g/L
KH_2PO_4	0.175 g/L
NaCl	0.025 g/L
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05 g/L
Na_2CO_3	0.2 g/L
EDTA-Fe	1.0 mL/L
A_5 solution	1.0 mL/L
土壤提取液	40 mL/L

其中，EDTA-Fe 配置方法为：取 4.1 mL 浓盐酸用蒸馏水稀释至 50mL，制成 1N HCl；称取 0.9306g 溶解至 50mL 蒸馏水中制成 1N EDTA- Na_2 ；称取 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.901g 溶于 10mL 按以上步骤配置的 1N HCl 中，然后与 10mL 已经配制完成的 0.1N EDTA- Na_2 混合，加入蒸馏水稀释至 1000ml 即配置完成。

A_5 solution 溶液的配置方法为：分别取 H_3BO_3 286mg、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 181mg、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22.2mg、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 39mg、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 7.9mg、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

4.9mg，加入蒸馏水定容至 100mL。

土壤提取液的配置方法为：取未施过肥的花园土 200g 置于烧杯或三角瓶中，加入蒸馏水 1000ml，瓶口用透气塞封口，在水浴中沸水加热 3 小时，冷却，沉淀 24 小时，此过程连续进行 3 次，然后过滤，取上清液，于高压灭菌锅中灭菌后于 4°C 冰箱中保存备用。

2.2.2 反应器及实验系统

平板式光生物反应器组装前和组装后的结构示意图分别如图 2.1 和图 2.2 所示。为便于在线观测，反应器（143(L)×52(W)×9(H) mm³）均采用 PMMA 有机玻璃制作。小球藻细胞吸附的基底载体为载玻片，实验中将其嵌入反应器内凹槽（76(L)×26(W) mm²）中，并使载玻片上表面与反应器流道表面平行。反应器上方设置盖板，盖板两端分别开有 Φ6 mm 的通孔作为液相进出口，反应器内液体流道容积为 3.016 mL，尺寸为 116(L)×26(W)×1(H) mm³。反应器上、下盖板四周设置 Φ4 mm 的通孔，实验运行时用螺栓将上下盖板闭合固定，为防止实验期间反应器内液体发生溢出，在反应器内流道四周用硅胶垫片进行密封。

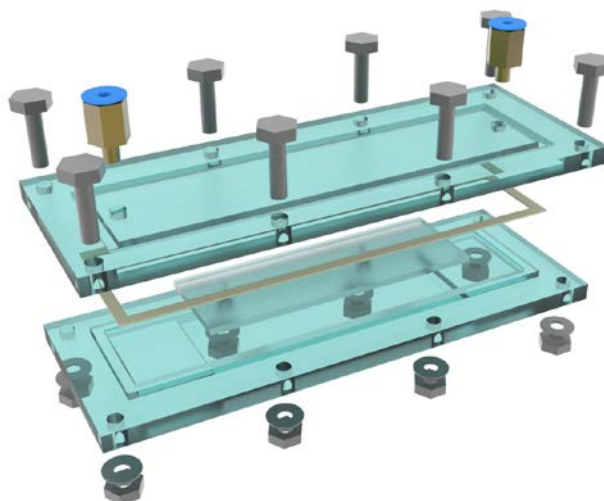


图 2.1 平板式光生物反应器结构示意图（组装前）

Fig. 2.1 Sketch of flat plate photo-bioreactor (before assembly)

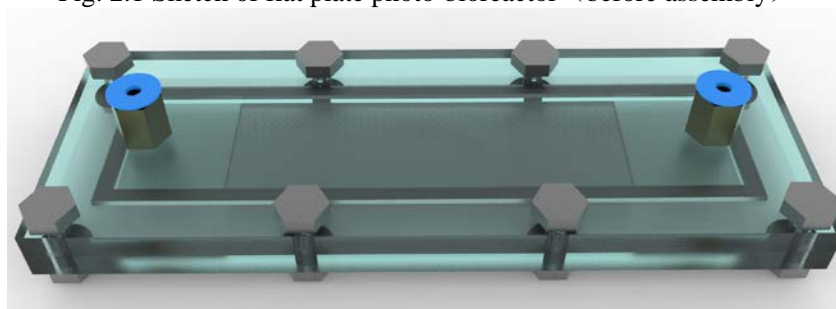


图 2.2 平板式光生物反应器结构示意图（组装后）

Fig. 2.2 Sketch of flat plate photo-bioreactor (after assembly)

反应器装配完毕后，将反应器接入如图 2.3 所示实验装置系统中，应注意保证整个实验系统中液体流路尽可能短，以减小误差。储液瓶中一定浓度的藻液先经蠕动泵驱动流入缓冲器，再经流量控制阀后注入平板式反应器内，从反应器流出的液体再回到储液瓶中完成循环。缓冲器设置液体溢流回路，以保证缓冲器中液面高度恒定，维持恒定的液体压力，尽可能消除蠕动泵带来的液体流量上的波动。实验前，整个实验系统用蒸馏水作为介质，通过调节流量控制阀进行流量标定，并在实验中随时进行检验校准。实验运行时，用倒置荧光显微镜进行在线观测，显微镜光源光照强度约为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，环境温度与恒温水浴温度均控制在 26°C 。

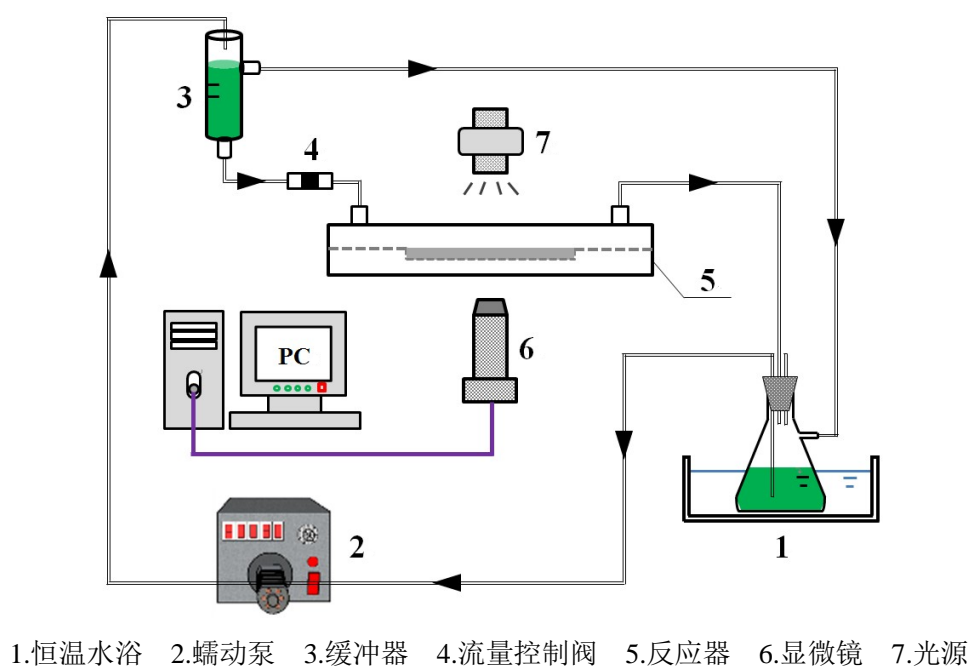


图 2.3 实验装置系统图

Fig. 2.3 Schematic diagram of the testing system

2.2.3 实验操作步骤

① 吸附载体的制备

将 5 块载玻片浸入浓 NaOH 溶液中水浴加热一段时间，随后取出分别用不同型号的砂纸对载玻片表面进行均匀打磨，得到具有不同表面粗糙度的载玻片。然后，分别在各载玻片表面中心附近均匀固定选取 5 个点进行标记，作为实验测试和显微镜观察点，同时利用表面轮廓仪（Dektak 150，美国 Veeco 公司）测试各载玻片所标记点处的表面粗糙度，并求出所测区域的平均表面粗糙度。实验所测得的粗糙度数值如表 2.2 所示。

表 2.2 不同载玻片的平均表面粗糙度

Table 2.2 The average surface roughness of glass slides polished by different sandpapers					
样品号	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]
载玻片粗糙度 $R_a/\mu\text{m}$	1.200±0.004	0.744±0.019	0.460±0.016	0.340±0.031	0.165±0.006

② 藻细胞悬浮液的计数

实验采用血球计数板进行细胞计数，血球计数板是由一块比普通载玻片厚的特制玻璃制成的。玻片中间有四条下凹的槽，构成三个平台。其中，中间的平台较宽，并被另一短横槽分成两半，每半部分表面刻有方格网，方格网分为 9 个大方格，只有中间一个大方格为微生物细胞计数室。一个大方格长和宽均为 1mm，深度为 0.1mm，因此其体积为 0.1mm^3 。本实验所采用的血球计数板其大方格内分为了 25 个中格，每一中格又分为 16 个小格，即 25 格×16 格的计数板。计数时，除了选择其 4 格对角方位外，还需选择中央的一个中格进行计数，总共 80 个小方格。当遇到位于大格线上的细胞，一般只计数大方格上方和右方线上的细胞，或者只计数下方和左方线上的细胞。为了使计数足够精确，每个样品需计数 3 次，然后取平均值，按照公式计算出每 1mL 藻液中所含藻细胞的个数。血球计数板计算公式：藻细胞浓度 (cells/mL) = 80 小格内藻细胞个数 / $80 \times 400 \times 10^4 \times$ 稀释倍数。

本实验从培养至对数期的微藻悬浮液中用微型移液枪吸取少量藻液，取一滴滴至血球计数板计数区域，按照上述方法进行细胞计数，并且根据实际情况进行实验用藻液中藻细胞浓度的配置。

③ 实验运行

每组实验运行之前，反应器和所有连接装置均用福尔马林消毒，并用经高压灭菌后的蒸馏水清洗干净。完成消毒后，将一定藻细胞浓度的小球藻悬浮液通入实验装置中，并调节蠕动泵和流量控制阀使反应器进口处藻液液体流量达到设定值。此后的实验中，若无特殊说明，用于实验的藻细胞悬浮液中小球藻细胞浓度为 $5 \times 10^6 \text{cells/mL}$ ，液体流量为 2.60mL/min，培养基 pH 值用 0.1mol/L 的 HCl 溶液和 0.1mol/L 的 NaOH 溶液调节为 7。

通过显微镜对载玻片上各标记点处吸附的藻细胞进行在线拍照记录。首先获得藻细胞吸附速率和细胞吸附密度最大的载体，随后将其作为后续实验的载体材料，并且保证后续其它实验也严格按照上述操作步骤进行操作。

2.2.4 分析方法

实验中显微镜所观察到的图像信息通过计算机软件 Image-Pro Insight 进行采集，其中显微镜放大倍数设置为 20 倍，利用图像数据处理软件 Image-Pro Plus 进行细胞计数，计算出同一时刻 5 个标记点吸附藻细胞数量的平均值作为该时刻载

玻片表面单位面积的藻细胞吸附数量 (cells/mm^2)。吸附速率定义为单位时间内藻细胞在载体表面附着数量,表示藻细胞在载体表面附着的快慢程度。

2.2.5 仪器设备

在本实验中有关微藻培养、分析和检测的仪器设备如表 2.3 所示。

表 2.3 仪器设备列表

Table 2.3 List of instrument and equipment

仪器名称	型号及生产厂家	测量参数或用途
冷冻离心机	GL-21M 型 (长沙湘仪离心机仪器有限公司)	藻细胞离心提取
全自动立式压力蒸汽灭菌器	YXQ-LS-755 II 型 (上海博达实验有限公司医疗设备厂)	高压灭菌
电子分析天平	BP114 型 (德国)	质量称量
蠕动泵	BT100-1L 型 (保定兰格恒流泵有限公司)	液体流量控制
倒置荧光显微镜	IX81 (OLYMPUS, 日本)	细胞观察、计数
CCD 摄像	Retiga-4000DC 型 (Q-IMAGING 公司, 美国)	拍照
pH 计	SevenEasy S20 型 (METTER TOLEDO, 上海)	液体 pH 测试
辐照计	FZ-A 型 (北京)	光照强度测量

2.3 结果与分析

2.3.1 固体基质粗糙度对小球藻细胞吸附的影响

载体表面粗糙度是微生物是否能够在其表面快速吸附并且实现后期生长及成膜的关键因素之一。实验主要测试了 5 种不同粗糙度的载体表面 (见表 2.2) 以及光滑载玻片表面对藻细胞吸附特性的影响。

载体表面粗糙度 (R_a) 对普通小球藻吸附的影响如图 2.5 所示。从图中可以发现,各载玻片表面藻细胞吸附密度均随时间进行而逐渐增大,然后逐渐趋于稳定。这是由于随着藻液流入反应器中,藻细胞通过对流、扩散、重力作用和布朗运动等方式连续不断传递并吸附到载体表面,并不断积累所导致^[94]。并且还可以发现在相同运行时间内,随着载体表面粗糙度增大,藻细胞的吸附速率加快,吸附密度也增大。在实验进行 2h 时,5 个样品载玻片表面和光滑载玻片表面的藻细胞吸附密度平均值依次分别约为 2720、2280、2130、2019、1898、

1269cells/mm², 可以得到 1[#]载玻片表面藻细胞吸附密度约为光滑载玻片表面的 2.14 倍。这是因为粗糙表面从形貌上具有孔洞、裂缝等（见图 2.4），不仅可以为微藻提供更大的附着面积，还可以对附着其中的微藻起到保护屏蔽的作用，减少外界水力剪切对微藻的冲刷，为微藻提供相对静止的流体动力环境^[39,95]。因此，本实验条件下，粗糙度 R_a 为 1.200 μ m 的载玻片表面吸附的藻细胞密度最大。后续实验所用载玻片均采用粗糙度 R_a 为 1.200 μ m 的 1[#]载玻片。

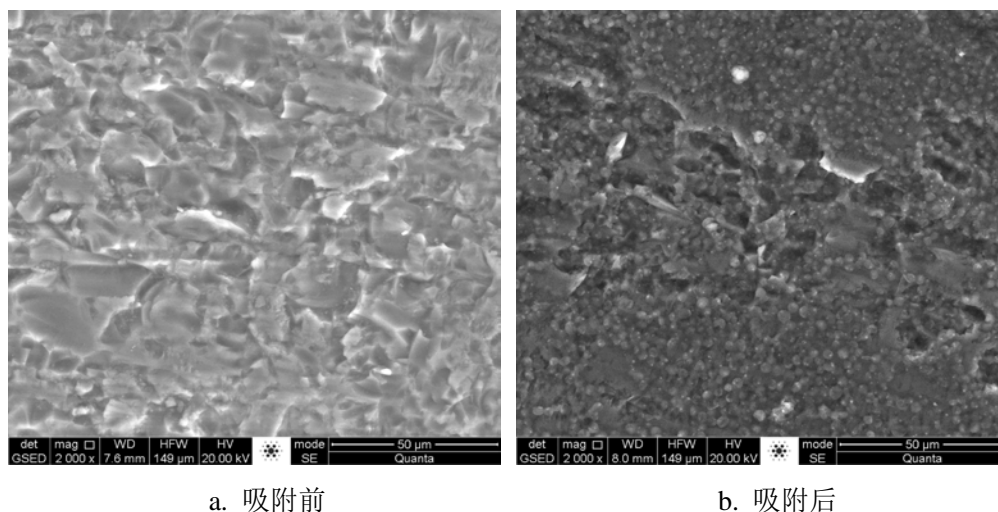


图 2.4 粗糙度 $R_a=1.200\mu\text{m}$ 的载玻片表面吸附小球藻细胞前后的 ESEM 图比较

Fig. 2.4 The comparisons of ESEM images of glass slide surface with surface roughness $R_a=1.200\mu\text{m}$ between pro- and post-adhesion of *Chlorella vulgaris*

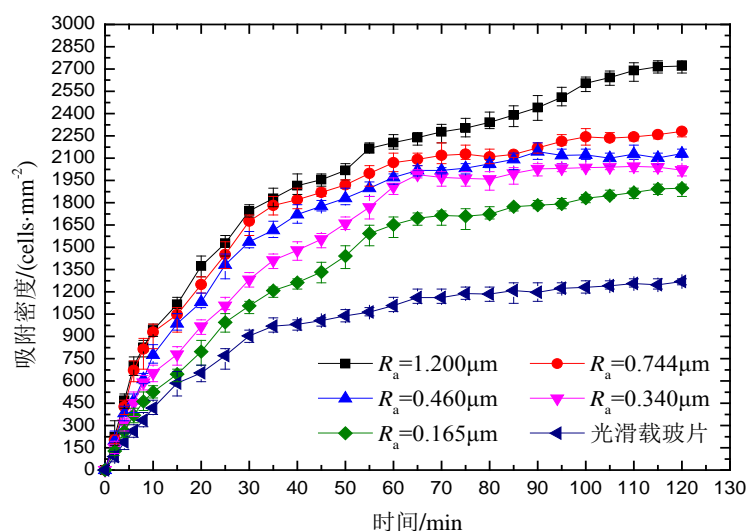


图 2.5 载体表面粗糙度对普通小球藻细胞吸附的影响

Fig. 2.5 Effect of surface roughness on adhesion of *Chlorella vulgaris*

2.3.2 接种量对小球藻细胞吸附的影响

将处于对数生长期的普通小球藻取出，放入新鲜配置的与藻种预培养所用培养基相同成分的 SE 培养基中，配置成不同细胞浓度的小球藻悬浮液。这里的接种量即是指实验过程中小球藻悬浮液中藻细胞浓度（单位：cells/mL）。

接种量对小球藻细胞吸附性能的影响如图 2.6 所示，其中实验所设置的接种量分别为 5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 (cells/mL)。从图中可以看出，在接种后 10 min 内，载体基质表面藻细胞吸附密度随时间的变化最快，而随着接种时间进行，载体表面藻细胞的吸附密度逐渐趋于相对平缓的趋势。这点表明了接种初期，普通小球藻细胞在载体表面的吸附速率在整个实验进程中表现为最快，而后期吸附密度的平缓增加则是由于藻细胞存在的生长周期所致。

值得指出的是藻细胞接种量对其初期吸附速率产生了极大影响。藻细胞接种量的增大，极大地提高了其在载体表面的初期吸附速率，从结果中可以发现接种量为 5×10^7 cells/mL 时的初期吸附速率相比其他两种条件分别提高了 4.83 倍和 1.44 倍。这是因为随着藻细胞接种量的增大，单位时间内流入反应器的藻细胞数量增多，在其它条件保持一致的前提下，藻细胞在载体表面的吸附效果得到加强，这点与 Sekar 等^[60]所得到的结果类似。但藻细胞后期吸附速率的增幅相对较小，并且由于存在着生物膜厚度的临界值，因此在接种 10min 后，载体表面吸附密度逐渐趋于平缓。

藻细胞接种量的增大最终导致总体吸附密度显著增加，接种后 60min，藻细胞接种量为 5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 (cells/mL) 时，载玻片表面所吸附的藻细胞数量平均值分别为 701，2205，3244 (cells/mm²)。

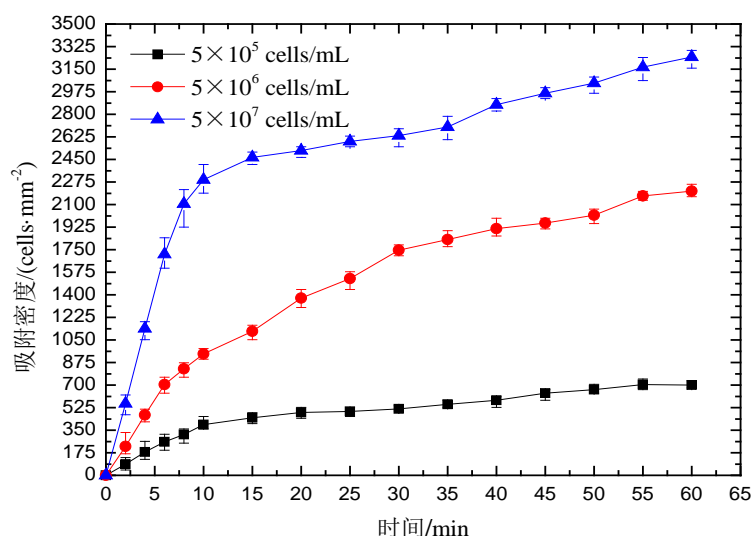


图 2.6 接种量对普通小球藻细胞吸附的影响

Fig. 2.6 Effect of inoculation amount on adhesion of *Chlorella vulgaris*

2.3.3 培养液 pH 值对小球藻细胞吸附的影响

培养液pH值大小对微藻的吸附和生长都有着重要影响，已有研究表明pH值在6~9范围内最适合微藻生长^[60]。本实验通过利用0.1mol/L NaOH溶液和0.1mol/L HCl溶液调节培养液的pH值，研究了不同培养液pH值（pH=3~10）对普通小球藻细胞在载体表面吸附特性的影响，实验结果如图2.7所示。

从图中可以看出，在实验进行的 2h 内，随着培养液 pH 值的升高，藻细胞在载体表面的吸附密度平均值呈现先增加后下降的趋势。当培养液 pH 值为 6 时，得到最大的藻细胞吸附密度，为 3039cells/mm²。这是因为藻细胞表面存在能够电离的官能团，例如羟基、羧基和氨基，而溶液不同的 pH 值会影响这类官能团电离特性，从而影响藻细胞表面的带电特性^[96,97]。当溶液 pH 值为 6 时，引起藻细胞表面羧基的电离被抑制，而氨基的电离被增强，使得藻细胞表面的负电荷性被削弱且更接近于零电荷点，因此藻细胞更容易吸附在载体表面。

当培养液 pH 值在 3~5 范围内变化时，随着 pH 值的上升，藻细胞在载体表面的吸附密度差别不大，但培养液 pH 值为 5 时藻细胞的吸附效果比 pH 值为 3 和 4 时的吸附效果好，这表明酸性条件下的藻液对普通小球藻细胞在载体表面的吸附密度影响较小。当培养液 pH 值在 7~10 范围内变化时，随着 pH 值上升，藻细胞在载体表面的吸附速率迅速下降，吸附密度减小。这是由于碱性的培养液易导致藻细胞表面带电特性发生改变，使藻细胞易发生絮凝成团^[98]，这不仅影响细胞在反应器载体表面的吸附，而且还容易导致已被吸附的细胞发生脱落。因此，培养液 pH 值为 6 左右是本实验中最利于普通小球藻在所选载体表面吸附和作为后期生长研究的最佳条件。

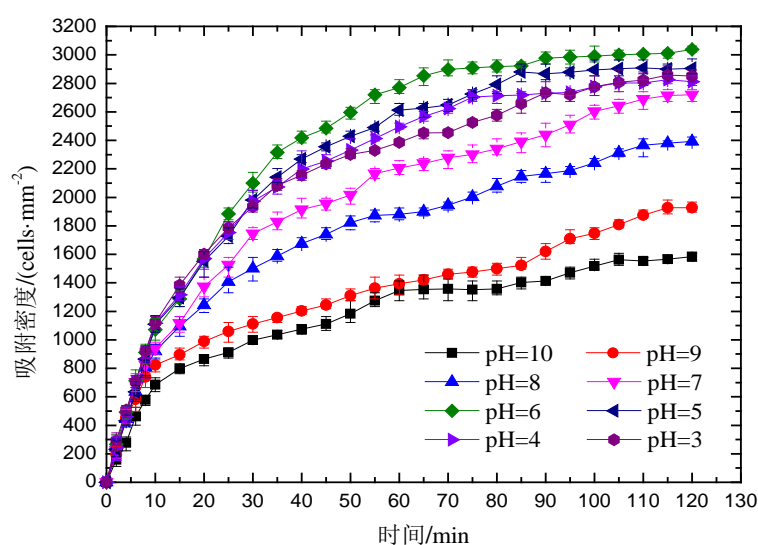


图 2.7 培养液 pH 值对普通小球藻细胞吸附的影响

Fig. 2.7 Effect of medium pH value on adhesion of *Chlorella vulgaris*

2.3.4 液体流量对小球藻细胞吸附的影响

反应器进口液体流量不仅影响悬浮藻细胞在随流体运动过程中所受到的各种作用力，还影响反应器内液体对载体表面吸附细胞剪切力的大小^[99]，因此液体流量对藻细胞在固体表面的吸附效果具有重要影响。本实验中液体流量参数分别设定为0、0.33、0.65、1.30、2.60、3.90 (mL/min)。实验结果如图2.8所示。

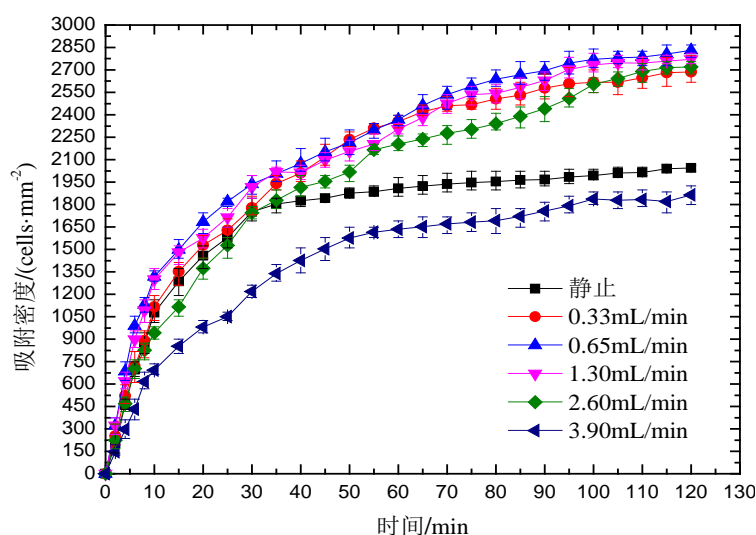


图2.8 液体流量对普通小球藻细胞吸附的影响

Fig. 2.8 Effect of flow rate on adhesion of *Chlorella vulgaris*

从图中可以发现，当液体流量为0mL/min（静止）时，吸附密度在接种初期快速增大，但在实验进行30min后，藻细胞吸附密度趋于稳定。这是由于静止溶液中藻细胞主要依靠重力和自身迁移能力完成向载体表面的吸附，接种一定时间后，溶液中含有的藻细胞已基本沉积并吸附于载体表面。随着液体流量的增加，接种初期的吸附速率逐渐有所提高，但提高幅度不大；藻细胞吸附密度随着时间的进行持续增加，这说明藻液流动增强了藻细胞的运动，加速了藻细胞向载体表面的迁移，而低流速所导致的剪切力影响尚不显著，并且藻液流动又增加了藻细胞总量，使得其吸附密度在后期继续得以增加。

当液体流量为0.65mL/min时，藻细胞在载体表面的吸附密度平均值达到最大为2831cells/mm²。当液体流量继续增大时，无论是初期吸附速率还是后期吸附密度均逐渐降低，特别是大液体流量下（3.90mL/min），其吸附密度下降至1864cells/mm²，甚至低于静止溶液时的吸附速率和吸附密度总量。这是因为在较高液体流量下，流体流动所导致的横向迁移大于藻细胞向载体表面的迁移，降低了藻细胞在载体表面的吸附机率，同时流动对载体表面藻细胞的剪切力也接近或大于了藻细胞的吸附力^[100]，容易造成已吸附藻细胞的脱离，这都导致了藻细胞吸

附密度的降低。

以上结果表明，较低液体流量下的藻细胞吸附要优于静态流体下的吸附，但相比培养基 pH 值的影响而言，液体流量对藻细胞吸附性能的影响较小。

2.4 本章小结

本章针对微藻吸附式固定化培养技术中微藻在固体基质表面吸附特性问题进行了实验研究，得到了普通小球藻细胞在固体基质表面的吸附规律，并从吸附速率和吸附生物量两个方面来反应这种规律，进而得到适合普通小球藻细胞吸附的最佳条件。主要研究结论如下：

① 在所设计的平板式生物反应器实验系统中，藻细胞在各载体表面的吸附密度随时间进行呈先增大后逐渐趋于平缓的趋势。

② 载体表面粗糙度 R_a 在 0~1.200 μm 范围内变化时，随着载体表面粗糙度 R_a 的增大，普通小球藻细胞吸附效果逐渐增强。

③ 随着藻液中藻细胞接种量的增大，普通小球藻在载体表面附着越快，吸附密度也越大。

④ 当培养液 pH 值为 6 左右或液体流量为 0.65mL/min 时，小球藻在载体表面吸附密度达到最大量。

⑤ 各参数对藻细胞吸附密度影响的重要程度依次为藻细胞接种量、培养基 pH 值、液体流量。

3 具有气液分离膜的微藻光生物反应器设计及其性能实验

3.1 引言

目前针对微藻吸附式培养的光生物反应器的研究还处于起步阶段, 如何选择一种合理的光生物反应器结构形式和低成本的吸附材料是研究微藻吸附式高效培养的关键。研究表明, 藻细胞能够在大多数固体基质表面进行吸附, 其发生吸附过程的发生大多因重力作用^[41,101]或者用人力进行固定^[43,44], 少有直接进行类似于细菌生物膜挂膜方式进行挂膜后再切换培养基为微生物吸附式生长提供营养物, 而以该方式进行藻细胞前期吸附接种和后期切换培养基进行培养更适合于实际应用和扩大化。而在微藻培养的过程中, 最适合于微藻生长的碳源是 CO_2 。利用 CO_2 作为碳源, 既能实现大气中或者工业废气中温室气体 CO_2 的回收, 保护环境, 又能较好的提高微藻生物量产量, 为提取高价值油脂等作为生物燃料的能源物质提供物质保障。

已有研究中, 存在利用气相空间中的 CO_2 作为微藻吸附式培养的碳源进行培养的, 但未能从量上分析该培养方式下微藻对 CO_2 固定效率等问题^[43,70]。为了强化悬浮微藻培养时对 CO_2 的吸收固定, 研究者们采用了中空纤维膜组件进行曝气。中空纤维膜是一般是一种圆筒形的具有气液分离和自支撑作用的膜, 用作制造膜的材料有很多种, 其应用十分广泛。对于应用其在微藻培养方面的研究, Kumar 等^[102]研究了具有中空纤维膜组件的微藻光生物反应器对 CO_2 的固定特性和对污水处理的能力, 结果表明当 CO_2 浓度为 2% 时, 具有最高的 CO_2 去除率, 达 85%, 同时对 NO_3^- 的固定效率也较高; Kalontarov 等^[103]利用微细中空纤维膜在微型反应器中对微藻进行主动式和被动式 CO_2 曝气培养, 结果表明该膜较好的强化了 CO_2 传质, 促进了微藻细胞的生长。因此, 具有气液分离作用的中空纤维膜实现了强化 CO_2 传质, 并促进了微藻悬浮液中藻细胞的生长。若将气液分离的原理应用于微藻吸附式培养, 同时能够固定 CO_2 , 这样既能提高微藻吸附式培养的产量, 又能实现 CO_2 的高效固定。

因此, 为了将微藻吸附式培养与 CO_2 固定效率的研究相结合, 本文设计了一种具有气液分离膜的微藻吸附式培养的光生物反应器及系统, 即膜生物反应器 (Membrane Bioreactor, MBR) 系统, 该反应器是将膜分离技术和微生物生化降解作用相结合的一种的处理方式, 它能有效避免传统生物反应器存在的液相传质阻力、堵塞等缺点。在膜生物反应器中, 气相和液相由能够实现气液分离或者具有选择透过性的膜材料进行分离, 生物膜附着在液相区的分离膜表面, 待进行处理的气体中可被微生物利用的成分在浓度差的驱动下从气相侧透过分离膜传输到生

物膜内，从而实现微生物对该气体成分的吸收。而微生物生长产生的代谢产物则从生物膜内传输到液相主流区。因此，膜生物反应器在对气体进行处理降解的过程中存在气-液组成的两相流动、传质和生化反应等。

综上所述，根据膜生物反应器设计和运行原理，本文利用廉价的玻璃纤维膜作为膜材料的基底，将一定浓度的 PTFE（聚四氟乙烯）乳液和 SiO_2 颗粒悬浮液混合，均匀涂敷在玻璃纤维膜表面，制成具有一定粗糙度的疏水表面。疏水的材料表面容易实现气液分离的效果，并且已有研究证明，藻细胞更容易在疏水（较低表面自由能）的材料表面和较为粗糙的材料表面进行吸附和生长^[39,56]。因此，本文所利用的气液分离材料既能实现 CO_2 气体和培养液的分离，而且还能使藻细胞较好的吸附于载体表面，利用气相侧扩散的 CO_2 气体进行生长，同时完成 CO_2 去除的目的。

3.2 具有气液分离膜的微藻光生物反应器及其实验系统

3.2.1 反应器构造

反应器组装前结构示意图如图 3.1 所示。

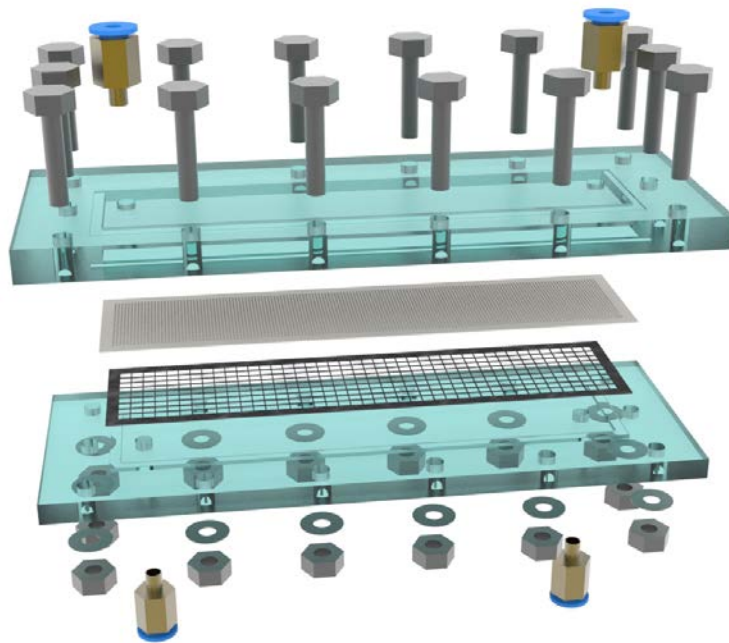
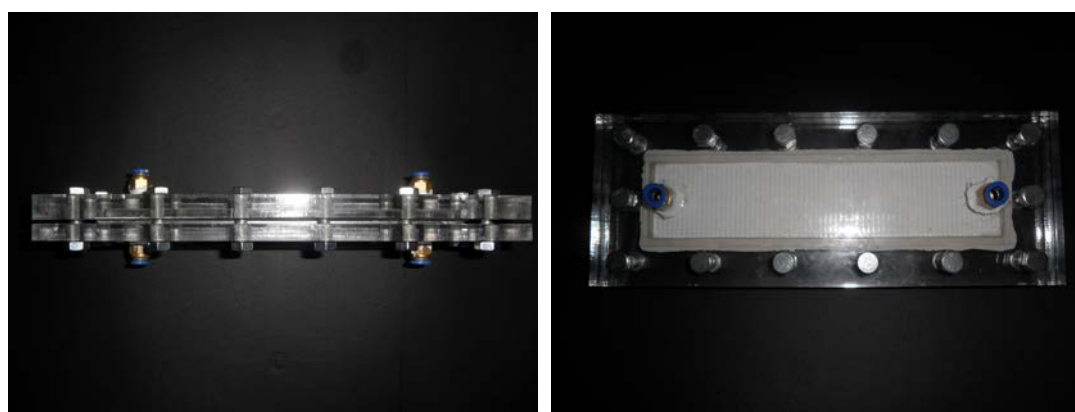


图 3.1 光生物反应器结构示意图（组装前）

Fig. 3.1 Sketch of photo-bioreactor (before assembly)

当本实验中所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器运行时，需要对其进行光照，从而实现微藻的自养培养，因此使用 PMMA 有机玻璃制

作反应器。从图 3.1 中可以看出, 该反应器由气相侧下盖板和液相侧上盖板构成, 气相侧盖板内开有 23cm (长) \times 5cm (宽) \times 0.2cm (高) 的凹槽作为气腔, 盖板两端开有孔径为 8mm 的螺纹孔作为气相进出口; 液相侧盖板内开有 23cm (长) \times 5cm (宽) \times 0.5cm (高) 的凹槽作为液腔, 与气相侧下盖板相同位置处开有两个孔径为 8mm 的螺纹孔作为液相进出口。实验运行时, 反应器水平放置, 液相侧在上方, 气相侧在下方, 为了使膜材料在长时间运行下不被其上方的液相压力损坏, 在膜材料与气相侧之间加入一层大孔径铁丝网, 起到支撑起膜材料的作用。反应器按照图 3.1 所示进行组装, 上下盖板通过反应器四周的螺栓进行固定压合, 并用方形的硅胶垫圈和以涂敷硅胶的方式进行密封。反应器组装完成后的实物图如图 3.2 所示。



a. 主视图

b. 俯视图

图 3.2 光生物反应器实物图

Fig. 3.2 Pictures of photobioreactor

3.2.2 气液分离膜的制备和表征

① 气液分离膜的制备方法

第一步, 用浓度为 60% 的 PTFE 乳液与去离子水以 1:5 比例混合后, 均匀涂刷在玻璃纤维膜上, 放入烘箱内以 70℃ 烘干并称重, 反复操作至烘干后玻璃纤维膜重量增加约 50% 为止, 随后再次放入烘箱内以 270℃ 烘烤 30 分钟后, 将温度提升至 330℃ 烘烤 30 分钟后取出。

第二步, 将存在粒径为 20~200 μm 之间的 SiO_2 颗粒与 PTFE 乳液以质量比 1:2 的比例混合均匀后, 加入适量蒸馏水, 对第一步处理后的玻璃纤维膜进行涂刷, 使 SiO_2 颗粒充分附着在玻璃纤维膜表面。每次进行涂刷后用烘箱进行烘干后称重, 使 SiO_2 颗粒质量达到约 5mg/cm²。

第三步, 再一次用浓度为 60% 的 PTFE 乳液与去离子水以 1:5 比例混合均匀涂

刷在第二步处理后的玻璃纤维膜上，放入烘箱内以 70℃ 烘干并称重，反复操作至烘干后玻璃纤维膜重量增加约 50% 为止，随后放入烘箱内以 270℃ 烘烤 30 分钟后，再将温度提升至 330℃ 烘烤 30 分钟后取出。完成膜材料的制作工作。

结果表明，经过处理后的 PTFE-玻璃纤维膜材料具有较好的气体渗透性和表面疏水性，可用于后续实验

② 膜材料的表征

对于膜材料表面特性，进行了表面自由能的测量计算和 SEM 表面形貌观察。其中，关于载体表面自由能的测算方法如下：

本实验是通过间接计算获取固体表面自由能及其分量，即采用平躺接触角法测量固体表面的接触角，然后根据所测得的静态接触角计算得到不同载体表面的自由能及其分量。

表面自由能够体现分子间力，液体或固体表面分子受到分子间不平衡的力的影响，相对内部分子而言具有附加的能量。Thomas Young 等^[104]建立了理想状态下纯净液体在一个光滑、均一的固体表面形成接触角的理论，即在其饱和蒸汽(v)中，一滴液体(l)滴在理想固体(s)表面上平衡时，液滴成球冠状，固体表面和液滴切线的夹角即为接触角(θ)，如图 3.3 所示。

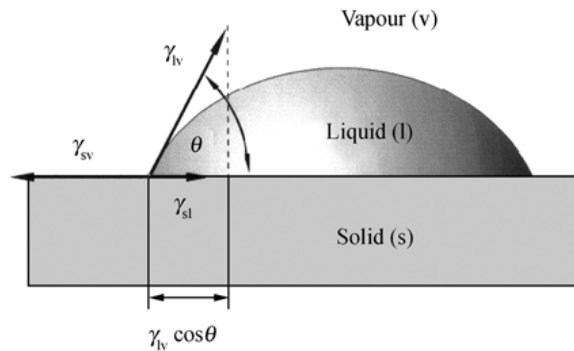


图 3.3 座滴的接触角 θ 示意图

Fig. 3.3 Schematic of contact angle of drops

因此，综合已有关于固体表面自由能的研究^[104-107]可以得到最终适用于低自由能表面的计算方程式为：

$$\gamma_L(1 + \cos\theta) = 2(\gamma_S^{LW}\gamma_L^{LW})^{1/2} + 2(\gamma_S^+\gamma_L^-)^{1/2} + 2(\gamma_S^-\gamma_L^+)^{1/2} \quad (3.1)$$

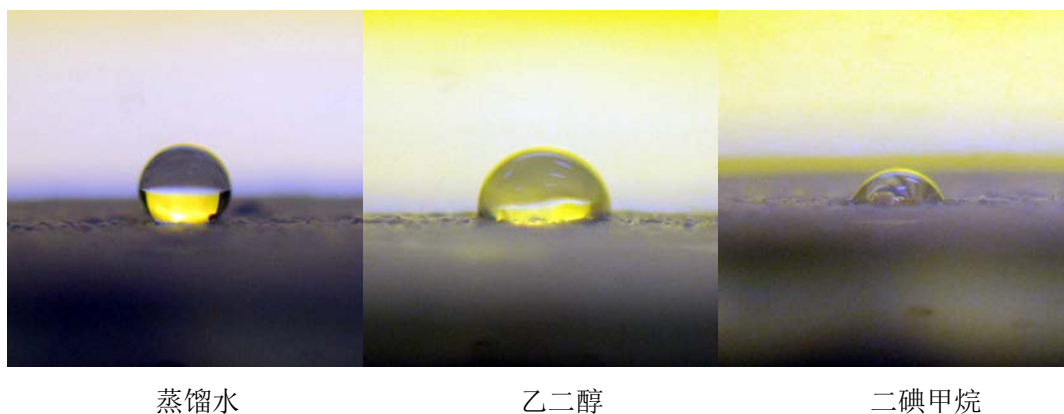
由式 (3.1) 可知，固体表面自由能可通过上式，在已知三种液体的表面张力及分量 γ_L 、 γ_L^{LW} 、 γ_L^+ 、 γ_L^- ，以及液体在固体表面形成的接触角 θ ，即可联立方程组，即可过的固体表面自由能分量 γ_S^{LW} 、 γ_S^+ 、 γ_S^- ，进而得到表面自由能。本文选用的三种液体为呈中性的水、极性液体乙二醇、非极性液体二碘甲烷，其液体表

面能参数如下表 3.1 所示。

表 3.1 20 °C 时测试液表面张力及其分量 (单位 mJ/m^2)^[108]

表面张力参数	γ_L	γ_L^{LW}	γ_L^+	γ_L^-
蒸馏水	72.8	21.8	25.5	25.5
乙二醇	48	29	1.92	47
二碘甲烷	50.8	50.8	0	0

由表面自由能计算表达式 (3.1) 可知, 只需知道三种检测液体, 即二次蒸馏水、乙二醇、二碘甲烷在不同载体表面上的接触角, 通过计算便可以获得载体表面的自由能及其自由能分量。在测量不同测试液在载体表面的接触角时, 采用平躺测量法。测量过程如下: 在环境温度约为 20°C 下用微型注射器抽取检测液体, 在注射器针头距载体表面垂直距离约 3mm 处固定, 小心地滴加检测液体到载体表面, 形成座滴, 用单反数码相机拍下座滴落在载体表面上的角度, 然后处理所拍照片, 取 10 次测量接触角的平均值作为座滴的接触角, 液体在该表面的接触角则取 5 个座滴的接触角平均值。实验中采用单反数码相机拍摄了水、乙二醇、二碘甲烷在所测表面上形成的座滴, 典型拍摄图片如图 3.4 所示。



3.4 测试液在膜材料表面的接触角照片

Fig. 3.4 Pictures of contact angle of test liquids on membrane materials

根据测试液在载体表面的图像, 利用边界轮廓提取法, 获得三种测试液在不同载体表面的接触角。因此, 可得接触角平均值为:

蒸馏水: $\theta = 113.62^\circ$; 乙二醇: $\theta = 87.54^\circ$; 二碘甲烷: $\theta = 73.12^\circ$

利用上述中的实验数据, 然后利用载体表面自由能计算表达式 (3.1), 计算

得到膜材料表面自由能及其分量。即：

$$\gamma_s^{LW} = 21.15、\gamma_s^+ = 0.000986、\gamma_s^- = 0.001364、\gamma_s = 0.00116、\gamma_s^{AB} = -21.14884$$

因此，从数据中可以看出，疏水表面极性分量为 0.00116，趋近于 0，根据极性固体容易被极性液体润湿，非极性固体容易被非极性液体润湿这一准则，非极性的固体疏水材料不容易被极性的水润湿，实验结果也刚好证明了水在疏水材料上接触角 113.62° 。由此，从理论上和实验上证明了涂敷有 SiO_2 颗粒的 PTFE-玻璃纤维膜材料表面为低自由能的疏水表面。

通过对处理过后的膜材料表面进行 SEM 拍照，如图 3.5 (b) 所示。其中图 3.5 (a) 为膜材料经涂敷 PTFE 前表面纤维状结构。从图中可以发现，所用玻璃纤维膜材料在处理前为多孔纤维状结构，证明了其良好的透气性；处理后的玻璃纤维膜表面存在一层疏水层，并且疏水层表面具有很多孔隙和裂痕， CO_2 气体可以通过这些孔隙和裂痕传输到附着在膜材料表面的微藻生物膜，为微藻吸附式生长提供碳源；此外，从 3.5 (b) 中还可发现膜表面存在许多圆形颗粒，这是由于外加的 SiO_2 颗粒与 PTFE 乳液交联在一起所形成的，增加了膜表面的粗糙度，有利于微藻细胞的前期吸附。

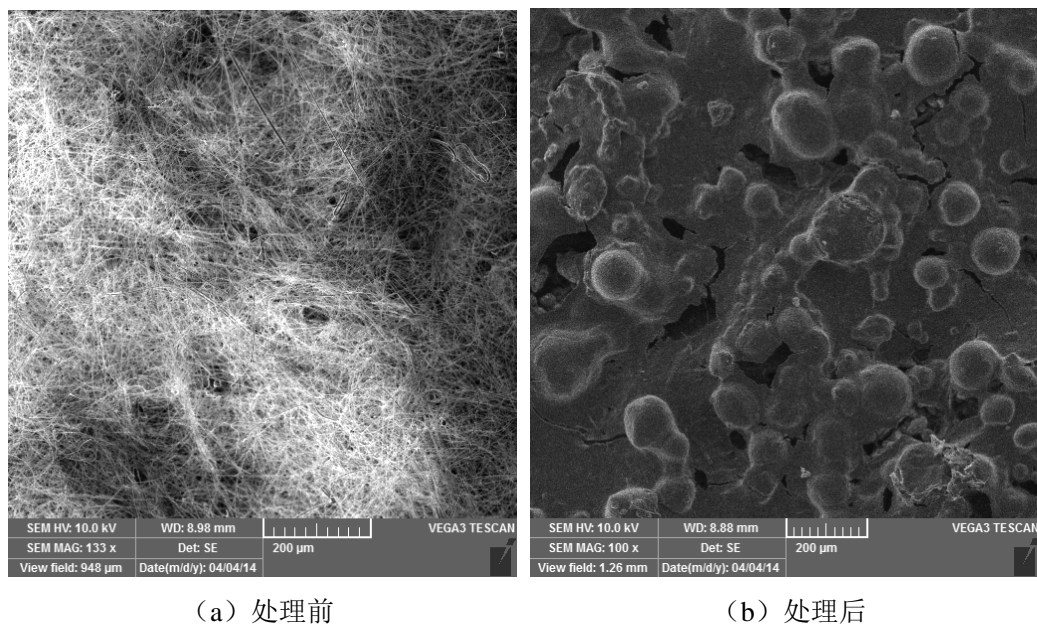
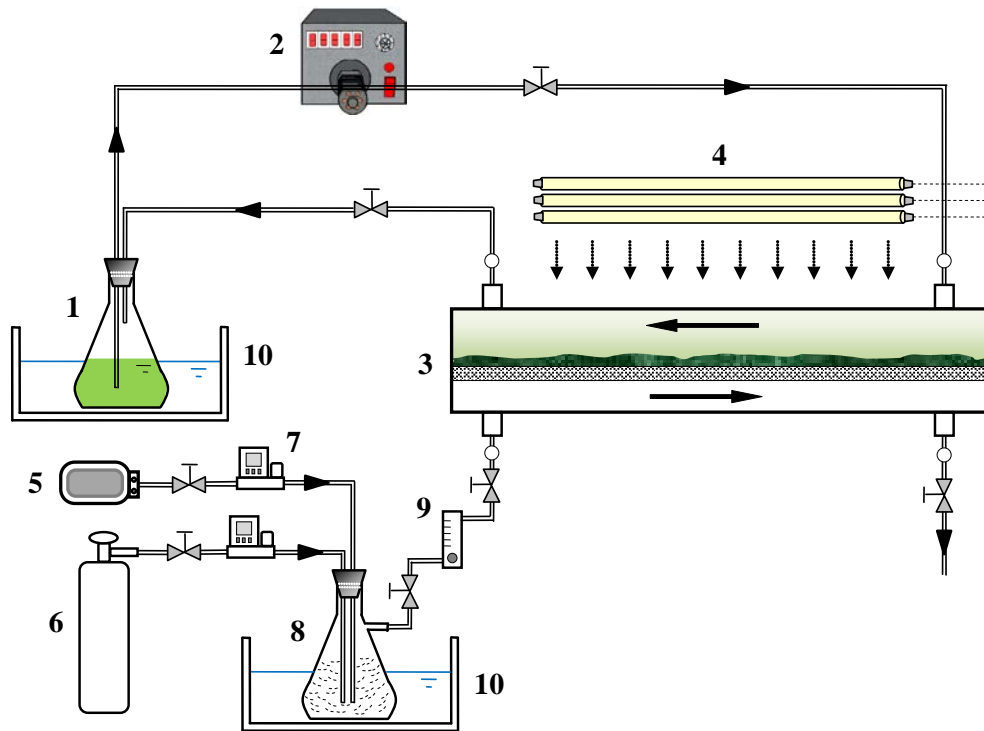


图 3.5 膜材料表面电镜扫描照片

Fig. 3.5 Scanning electron microscope (SEM) images of membrane material surface

3.2.3 实验系统

将反应器组装完成后，即可进行实验系统的搭建。如图 3.6 所示为具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器实验系统图。



1.储液瓶 2.蠕动泵 3.光生物反应器 4.日光灯 5.空气泵 6.CO₂气瓶
7.气体流量控制器 8.气体混合瓶 9.气体转子流量计 10.恒温水浴

图 3.6 实验装置系统示意图

Fig. 3.6 Schematic diagram of the testing system

实验前，蠕动泵需进行流量标定。反应器和实验系统管路用福尔马林消毒后并用经高压灭菌后的蒸馏水进行冲洗。实验运行时，将反应器水平放置，液相侧在上方，而气相侧在下方，以保证液相侧中的藻细胞能够通过重力等作用运动并吸附在所制备的 PTFE-玻璃纤维气液分离膜材料表面。

实验启动阶段的挂膜过程中，储液瓶中装有 250mL 细胞浓度约为 5×10^7 cells/mL、pH 值约为 7.13 的藻液，藻液在蠕动泵驱动力的作用下以 2mL/min 的流量流入反应器中，在光照条件下实现在膜材料表面的吸附过程，然后剩余的藻液回到储液瓶完成液相回路的循环。与此同时，通过气体流量控制器调节空气泵和 CO₂气瓶气体流量的大小，在气体混合瓶中完成混合，配置成一定 CO₂浓度的混合气体，混合气体通过气体转子流量计进行流量调节后，进入反应器气相侧空间，通过向气液分离膜的另一侧发生扩散作用完成对吸附于膜表面的藻细胞提供碳源的过程，经过去除后具有一定 CO₂浓度的混合气体则通过反应器气相侧的气体出口流出。气相混合气体流向与液相培养液流向相反，以强化传质。

经过 24h 的挂膜完成后，将储液瓶中的藻液换为 1000mL，pH 值约为 7.13 且具有一定 NO₃⁻浓度的 BG11 培养基，以一定的液体流量注入反应器中，为吸附于

膜材料表面的藻细胞提供无机营养物质。

整个实验进程中，严格控制好反应器液相侧液体流量和气相侧气体流量大小；日光灯所提供的光照强度调节通过辐照计进行测量；恒温水浴和环境温度控制在 26℃ 左右。

3.3 具有气液分离膜的微藻光生物反应器性能实验

在构建好具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器实验系统之后，开始进行性能实验。操作步骤严格按照 3.2.3 中所述操作进行。本实验将通过设定固定的光生物反应器运行参数，研究在光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、气相进口 CO_2 浓度为 2% (v/v)、气相流量为 10mL/min、液相培养液氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L、培养液流量为 2mL/min 条件下光生物反应器内微藻在 PTFE-玻璃纤维气液分离膜表面的吸附式生长特性及 CO_2 去除特性。

3.3.1 藻种及培养液配制

本实验所采用的藻种为普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*, FACHB-31)，购自中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库。

在之前的实验中，发现采用 SE 培养基对小球藻进行培养时容易出现藻液变黄的现象，对藻细胞生长不利。后更换为 BG11 培养基后，发现小球藻细胞生长良好。因此本实验及后续实验均采用 BG11 培养基作为藻细胞生长的营养物来源。其配方如表 3.2 所示。

表 3.2 BG11 培养基的配方

成分	含量
NaNO_3	1.5 g/L
K_2HPO_4	0.04 g/L
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.075 g/L
$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.036 g/L
Citric acid	0.006 g/L
Ferric ammonium citrate	0.006 g/L
EDTA Na_2	0.001 g/L
Na_2CO_3	0.02 g/L
A_5 solution	1.0 mL/L

其中 A_5 solution 溶液配制方法与 2.2.1 中所述相同。

3.3.2 仪器和设备

除了 2.2.3 中表 2.3 所列的实验仪器设备外，本实验还需用到的实验仪器和设备如下：紫外可见分光光度计（TU1901，北京普析通用仪器有限责任公司）用于 OD 值测量；气体流量控制器（OMEGA，美国）用于混合气体时各流路气体流量控制；气相色谱仪（plus GC 2010 型，岛津，日本）用于 CO₂ 浓度测量。

3.3.3 表征方法

① 蠕动泵的标定

实验前，连接好实验系统，将经高压灭菌后的蒸馏水通入系统中进行蠕动泵流量标定，从而获得转速与液体流量的关系。实验利用体积称重法通过测量一定时间内液体体积和质量确定出蠕动泵转速和流量的关系式。测量的计算结果如表 3.3 所示。

表 3.3 蠕动泵标定

Table 3.3 Calibration of peristaltic pump	
转速 (r/min)	对应流量 (mL/min)
5	0.64
10	1.32
20	2.58
30	3.91
40	5.17

图 3.7 表示根据测量值拟合出的标准曲线，结果表明，蠕动泵转速与液体流量呈线性关系，其具体拟合公式如式 3.13 所示。

$$y = 0.12937x + 0.00732 \quad (R^2=0.99986) \quad (3.2)$$

式(3.2)中，x 表示蠕动泵转速(r/min)，y 表示实验条件下液体流量(mL/min)。在后续实验中，液体流量的调节按照该式进行测算。

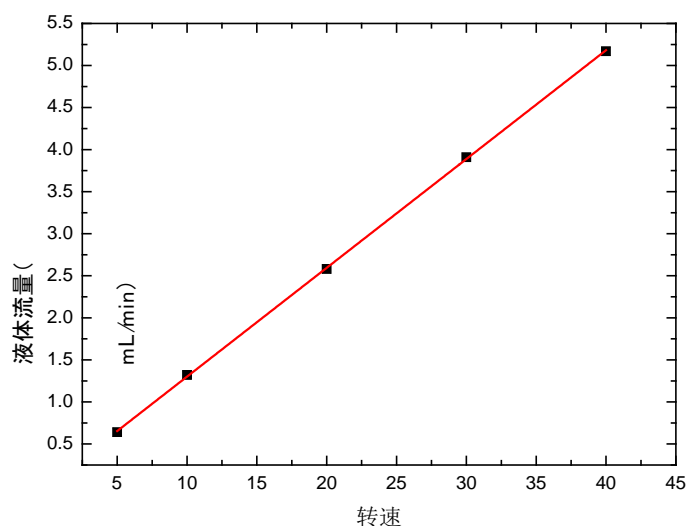
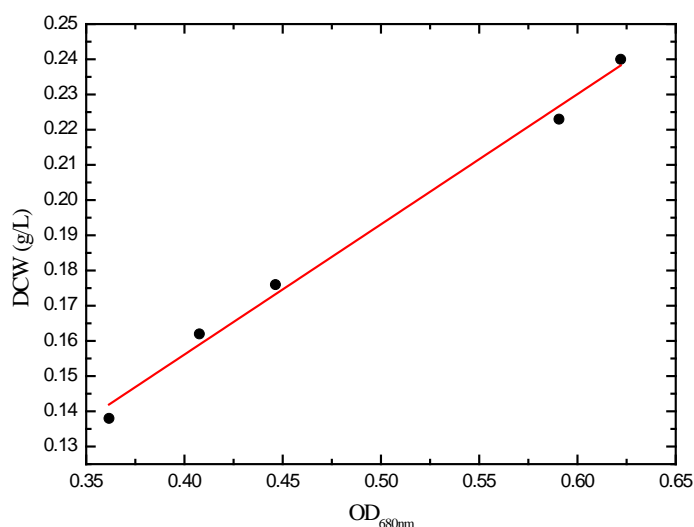


图 3.7 液体流量与蠕动泵转速的关系曲线

Fig. 3.7 The correlation of the liquid flux versus the rotate speed of peristaltic pump

② 生物量的测定方法

实验完成后需要对吸附于 PTFE-玻璃纤维膜表面的藻细胞进行生物量测量,从而计算出单位面积的生物量产量和产率。由于在实验过程中发现,吸附于 PTFE-玻璃纤维膜表面的藻细胞在排出液相侧液体时容易发生脱落,为保证实验结果精确性,利用经高温高压灭菌冷却后的蒸馏水将吸附于膜材料表面的藻细胞冲下,重新悬浮于液相中,利用紫外可见光分光光度计测量悬浮藻液 OD_{680nm} 值,并通过标准曲线换算得到单位体积悬浮液中细胞干重 (DCW, g/L),从而计算得到单位面积膜材料表面藻细胞吸附产量和产率。关于 OD 值-藻细胞干重标准曲线如图 3.8 所示。

图 3.8 藻细胞干重与 OD_{680nm} 的关系曲线Fig. 3.8 The correlation of DCW versus OD_{680nm}

因此,可以得到其拟合曲线表达式为:

$$y = 0.36986x + 0.00819 \quad (R^2=0.99107) \quad (3.3)$$

式(3.3)中, x 表示利用分光光度计测得的悬浮藻液 OD_{680nm} 值, y 表示计算得到的悬浮液中藻细胞干重 (g/L)。因为所选用的普通小球藻经全光谱扫描后,发现其在 $680nm$ 的波长处具有较大的吸收峰,因此选择该波长作为测量藻细胞悬浮液 OD 值。

上步计算完成后,根据所测悬浮藻液的总体积,计算出总生物量,然后利用反应器内发生藻细胞吸附的膜表面积,将计算结果换算为膜材料表面单位面积生物量产量 ($g \cdot m^{-2}$) 和产率 ($g \cdot m^{-2} \cdot day^{-1}$)。其中第 n 天产率的计算方法为^[43]:

$$\text{单位面积生物量产率} = \frac{\text{培养}n\text{天后单位面积生物量产量} - \text{初始单位面积吸附生物量}}{n}$$

③ CO_2 浓度的测定方法

利用采气袋收集光生物反应器进口处或出口处的 CO_2 混合气体,随后利用气象色谱仪进行检测,读取峰面积,并利用实验前所测得的 CO_2 百分含量标准曲线计算出出口处的 CO_2 百分含量,从而计算获得具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器对 CO_2 去除率。其计算公式如式(3.4)所示。

$$CO_2 \text{ 去除率} = \frac{\text{进口}CO_2 \text{ 浓度}(\%) - \text{出口}CO_2 \text{ 浓度}(\%)}{\text{进口}CO_2 \text{ 浓度}(\%)} \quad (3.4)$$

实验前,需进行 CO_2 浓度标准曲线的绘制,利用气相色谱仪对配好的具有一定浓度的 CO_2 混合气体进行测量,读取峰面积,利用所测得峰面积与已知的混合气体中 CO_2 浓度绘制 CO_2 浓度 ($\%, v/v$) 与峰面积关系的标准曲线。如图 3.9 所示。

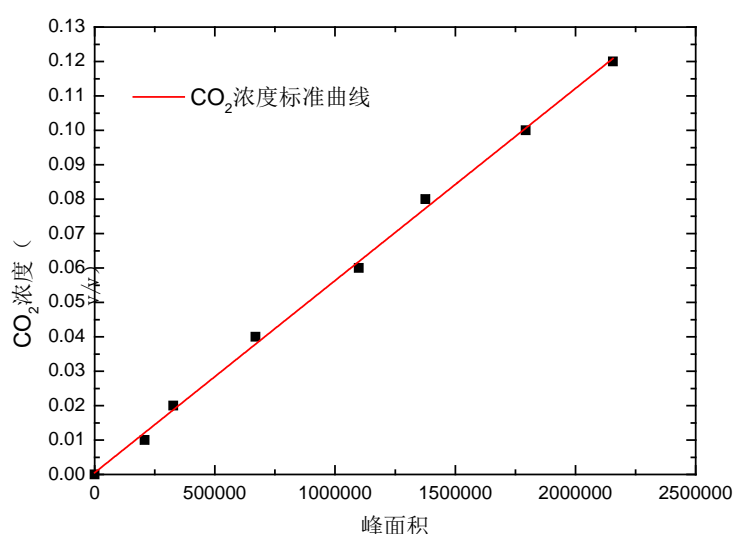


图 3.9 CO_2 浓度 (v/v) 与峰面积的关系曲线

Fig. 3.9 The correlation of CO_2 concentration (v/v) versus peak area

其具体拟合公式如式 3.5 所示。

$$y = 5.5824 \times 10^{-8} \times x + 5.23039 \times 10^{-4} \quad (R^2=0.99805) \quad (3.5)$$

其中 y 为混合气体中 CO_2 浓度，计算结果需百分比化； x 表示将待测气体输入气象色谱仪所测得的峰面积。

④ 氮源浓度的测定方法

实验中所测的氮源浓度为 NO_3^- 的浓度，采用操作简单、精密度和准确度均较高的紫外分光光度法进行测量。Collos 等^[109]在采用紫外分光光度法测定藻液在 220nm 处的吸光度，其原理是利用 NO_3^- 离子在 220nm 波长处的吸收而定量测定 NO_3^- 浓度，但溶解在其中的有机物在 220nm 处也会有吸收，而 NO_3^- 离子在 275nm 处没有被吸收，因此，采用 275nm 处作另一次测量以校正 NO_3^- 浓度值。

标准曲线的绘制：称取 0.1500 g NaNO_3 ，转移至 1L 容量瓶中，用去离子水定容至 1L，配制成 0.15 g/L 的 NaNO_3 标准溶液；于 7 个 25 mL 的容量瓶中分别加入 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 的 NaNO_3 标准溶液，去离子水定容至标线，相应 NaNO_3 浓度分别为 0, 6, 12, 24, 36, 48 和 60 mg/L；测定不同 NaNO_3 溶液的 A_{220} 与 A_{275} ，然后根据公式 ($A_{\text{校}} = A_{220\text{nm}} - 2A_{275\text{nm}}$) 得到 $A_{\text{校}}$ 。将得到的 $A_{\text{校}}$ 与 NaNO_3 浓度一一对应，便获得 NO_3^- 浓度与吸光度之间的标准关系。

藻液中 NO_3^- 浓度的测定：收集 3 mL 藻液置于离心机中按 6000 rpm 的转速离心 10 min；取 1 mL 上清液稀释至 25 mL，测得稀释液 NaNO_3 的浓度再乘以 25 便得到原藻液中的 NaNO_3 浓度。

在低浓度水平下，其线性关系如图 3.10 所示。每次藻液经过稀释后离心取上清液进行残氮的测定，对应线性回归方程如式 3.6 所示。

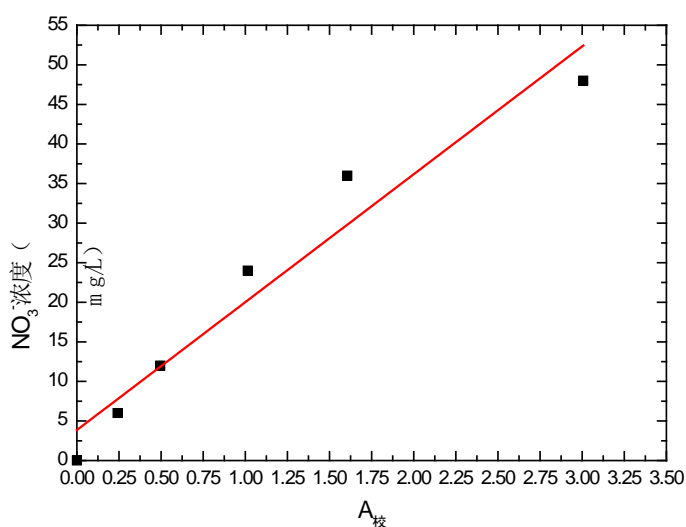


图 3.10 NO_3^- 浓度与 $A_{\text{校}}$ 关系曲线

Fig. 3.10 The correlation of NO_3^- concentration versus $A_{\text{校}}$

$$y = 16.1631x + 3.85525 \quad (R^2=0.93411) \quad (3.6)$$

其中 y 为 NO_3^- 浓度 (mg/L)， x 表示经计算得到的 $A_{\text{校}}$ 值。

3.3.4 实验系统及运行条件

本实验为测试所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器性能的实验，实验系统与图 3.6 所示相同，研究环境温度及水浴温度为 26°C ，光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、气相进口 CO_2 浓度为 2% (v/v)、气相流量为 $10\text{mL}/\text{min}$ 、液相培养液氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L 、培养液流量为 $2\text{mL}/\text{min}$ 条件下光生物反应器内微藻在 PTFE-玻璃纤维气液分离膜表面的吸附式生长特性及 CO_2 固定特性。实验过程中液相中微藻吸附式生长状态如图 3.11 所示，实验系统实物图如图 3.12 所示。

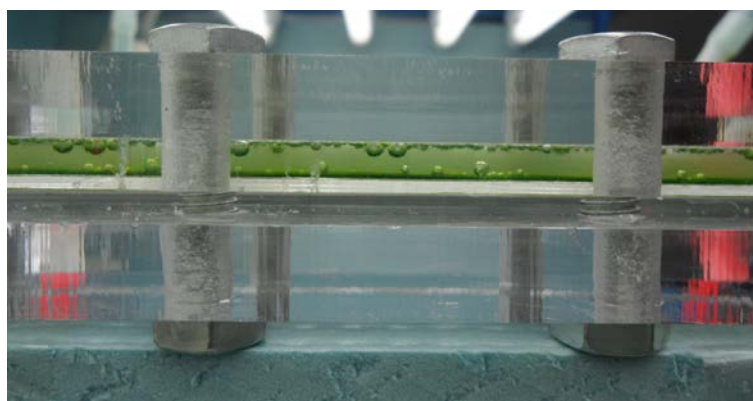


图 3.11 光生物反应器内液相中小球藻吸附式生长状态

Fig. 3.11 *Chlorella vulgaris* adhered growth in the liquid phase of photobioreactor

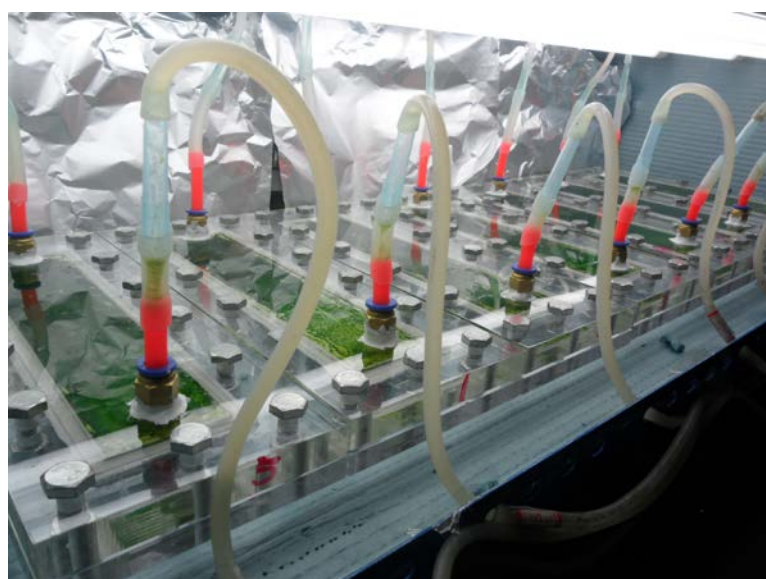


图 3.12 实验系统实物图

Fig 3.12 Picture of testing system

3.4 实验结果与分析

3.4.1 单位面积生物量产量与产率

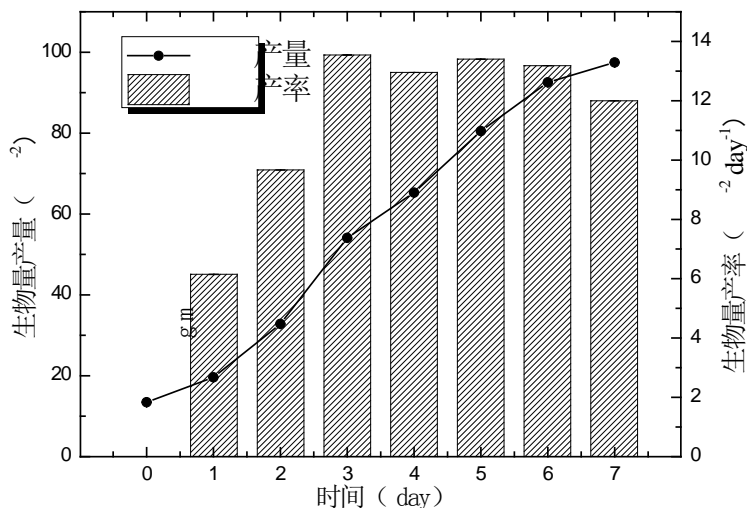


图 3.13 单位面积生物量产量与产率随时间变化

Fig 3.13 Variation of the areal biomass concentration and biomass productivity with time

光生物反应器内微藻生长特性是反映光生物反应器性能好坏的一个重要参数，本实验所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器中普通小球藻生长特性主要从吸附于膜材料表面的单位面积生物量产量和产率进行表示，如图 3.13 所示。从图中可以发现，膜材料表面单位面积生物量产量（干重）从培养初期的 $13.47\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ 随时间逐渐上升至 $97.48\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ，并在 7 天后其增长趋势逐渐趋于平缓，这是由于吸附于膜表面的小球藻细胞在液相培养液充足营养物质和气相足够 CO_2 作用下不断分裂增殖，其生长阶段经历对数增长期后逐渐靠近稳定期所致。从图中还可以看出，单位面积的生物量产率在培养 3 天后达到最大，为 $13.54\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ ，随后保持稳定，且在培养 7 天后出现下降趋势，这是因为培养 7 天后随着微藻生物膜的增厚和培养液中无机营养物质的减少，导致气相 CO_2 传质阻力增大，引起靠近液相侧的生物膜表面的藻细胞生物量的增长速率相比前几天出现了降低。因此，该结果表明，在本实验条件下，培养约 7 天后藻细胞生物量产率出现降低，从经济性角度分析此时可对藻细胞进行采收以提高单次培养微藻的效率。

此外，为了证明气相侧 CO_2 通过扩散至液相侧并被吸附于膜材料表面的藻细胞利用，设置了对照组实验，即研究当气相侧气体分别为为 2% (v/v) CO_2 和纯空气时微藻的生物量产量变化，如图 3.14 所示。实验分别选取了培养 3 天后和 7 天后的单位面积产量进行了对比。结果表明，吸附于膜材料表面的小球藻在两种

条件下均随时间生长，但气相侧为空气时小球藻生长缓慢，培养 3 天后，气相侧为 2% (v/v) CO_2 条件下和纯空气条件下生物量产量分别为 $65.29\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ 和 $13.55\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ，而培养 7 天后对应两个条件下生物量产量分别为 $97.48\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ 和 $15.56\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ，可以发现在气相侧存在 CO_2 条件下极大促进了吸附于膜材料表面小球藻的生长，其生物量产量在 7 天后是空气培养条件下生物量产量的约 6.26 倍，因此证明该培养方式下气相侧的 CO_2 透过膜材料扩散至液相侧并被吸附于膜材料表面的小球藻利用。

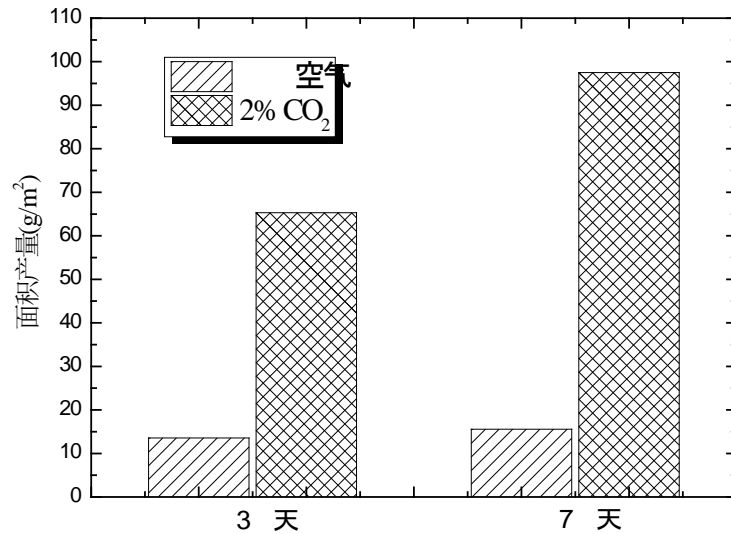


图 3.14 气相侧为 2% (v/v) CO_2 和空气条件下小球藻生物量产量对比

Fig 3.14 Comparison of *Chlorella vulgaris* areal biomass concentration between 2% (v/v) CO_2 and air conditions

3.4.2 CO_2 去除率

在微藻进行光自养生长的过程中，会不断利用碳源来合成自身的有机物，而在多数情况下，碳源都是以 CO_2 、 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 的形式溶解在培养液液相中，但 CO_2 相比其他无机碳源其更容易被微藻吸收。因此研究微藻对 CO_2 固定程度，对实现微藻高效培养、缓解大气中 CO_2 排放具有重要意义。

本实验中所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器中气相侧气体能够通过气液分离膜进行传质，气相中的 CO_2 可通过扩散作用传递至液相区域被吸附于膜材料表面的藻细胞利用。通过测量气相侧混合气体进口和出口处的 CO_2 浓度，从而计算出反应器对的 CO_2 去除率，其中反应器中 CO_2 去除率随时间的变化如图 3.15 所示。从图中可以看出，随时间进行，反应器中 CO_2 去除率逐渐升高，但在前两天 CO_2 的去除率增长趋势缓慢；反应器运行 2 天后， CO_2 的去除率增长迅速，这是因为反应器内吸附于膜材料表面的小球藻在充足的无机营养物和足够的 CO_2 条件下进行快速生长，经历了延迟期和对数生长期，对 CO_2 的吸收

逐渐增强, 导致膜材料两侧的 CO_2 浓度差增大, 强化了气相侧 CO_2 朝液相侧的扩散, 从而使反应器出口处 CO_2 浓度下降, 反应器对 CO_2 去除率不断升高。从图中还可发现, 当反应器运行 6 天后, 其对 CO_2 去除率达到最大值为 58.54%, 而后其去除率发生下降。这是因为吸附于膜材料表面的微藻生物膜在反应器运行 6 天后生长到一定厚度, 增大了气相侧 CO_2 往液相侧扩散的阻力, 并且在靠近于气相侧的吸附于膜材料表面的藻细胞由于其上方藻细胞的遮挡作用, 使其无法接受到充足的光照, 因此该处的藻细胞生长代谢活动降低, 导致对 CO_2 的吸收能力下降, 从而引起反应器运行 7 天后时间里其对 CO_2 的去除率呈下降趋势。

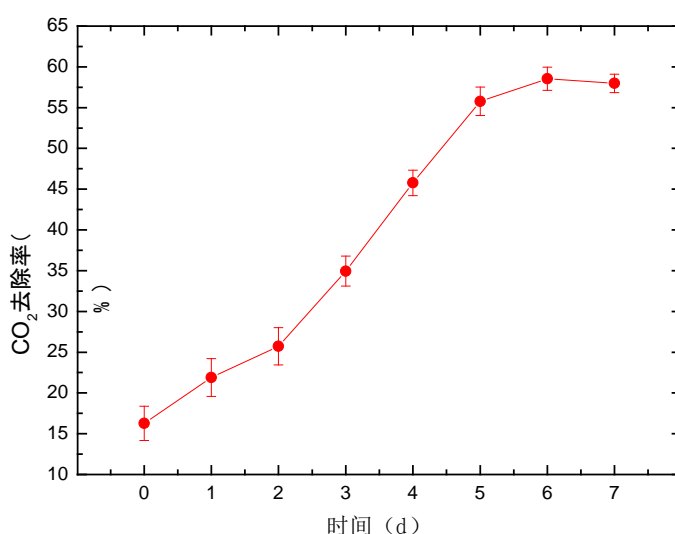
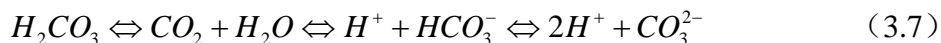


图 3.15 CO_2 去除率随时间变化

Fig 3.15 Variation of CO_2 degradation rate with time

3.4.3 培养液 pH 值

对于小球藻的生长而言, 其适宜生长的 pH 值范围为 6~9^[38]。藻细胞所利用的是溶解于水中的无机碳, 而溶于水中的无机碳有四种形式, 即 CO_2 、 H_2CO_3 、 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} , 这几种无机碳在水中存在一种溶解平衡, 即:



因此, 可以看出各无机碳所占的比例与 pH 相关。另一方面, 对于藻细胞而言, 其生长利用的无机碳源是 CO_2 和 HCO_3^- , 而不能利用 CO_3^{2-} 。由图 3.16 可知, 随着培养过程的进行, 培养液的 pH 呈上升的趋势, 这主要是由于随着吸附于膜材料表面小球藻的生长, 藻细胞对碳源的需求量增大, 而本实验过程中提供的碳源量是一定的, 因此导致 CO_2 和 HCO_3^- 不断被消耗, 使上述平衡向左移动, 引起氢离子浓度减小, pH 值增大。而小球藻适宜生长的 pH 范围为 6~9, 实验过程进行 3 天后, 培养液 pH 值大于 9, 表明此时碳源成为限制藻细胞生长的因素。

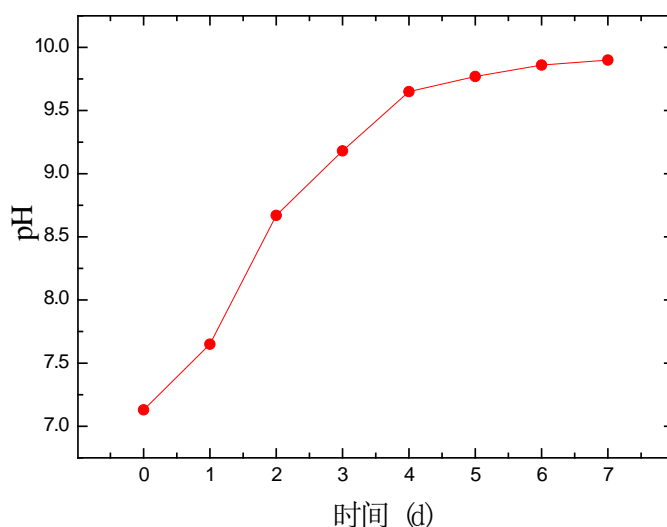


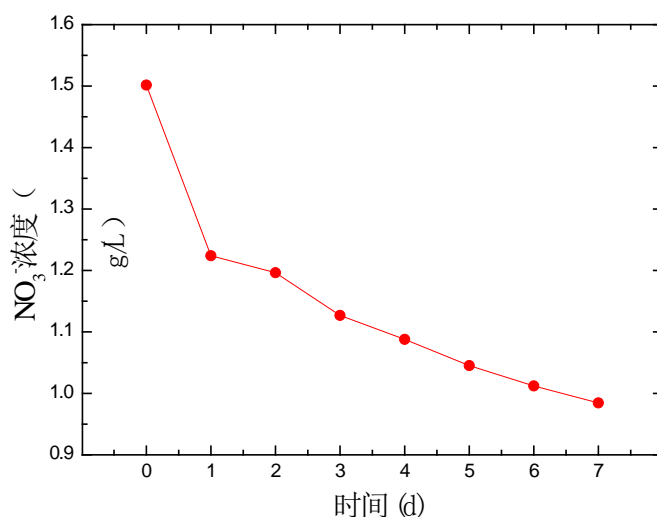
图 3.16 培养液 pH 值随时间变化

Fig 3.16 Variation of pH value of culture medium with time

3.4.4 培养液 NO_3^- 浓度

氮源是光合作用中所必须的元素，氮源的多少会直接影响着藻细胞的分裂增殖，从而影响到其生物量的积累。氮源在藻细胞新陈代谢过程中参与氨基酸、嘌呤、嘧啶、氨基糖、胺化合物以及叶绿素的合成。当氮源不足时，藻细胞内叶绿素含量会减少，同时对光照强度和 CO_2 浓度的需求值降低，光合作用和呼吸作用同时减弱。本实验培养液中氮源主要为 NO_3^- ，因此在小球藻生长的过程中其生物量的积累主要依靠都培养液中 NO_3^- 的吸收和转化。

图 3.17 表示培养液中 NO_3^- 浓度随时间的变化曲线。从图中可以发现，在反应器运行阶段，培养液中 NO_3^- 浓度随时间不断下降。这是因为随着吸附于膜材料表面小球藻的光自养生长，会不断利用培养液中的 NO_3^- 来合成自身氨基酸、叶绿素等有机物质。而在反应器运行 1 天后，发现培养液中 NO_3^- 浓度从初始的 1.50g/L 降到了 1.22g/L ，下降了约 18.7%，这是因为吸附于膜材料表面的小球藻在生长初期新陈代谢比较旺盛，对作为氮源的 NO_3^- 利用速率较快，合成叶绿素和蛋白质，为藻细胞在之后的分裂增殖提供足够的物质基础。在反应器运行 2 天后，培养液中 NO_3^- 浓度变化呈平缓下降趋势，这是因为吸附于膜材料表面的小球藻在培养 2 天后，其细胞积累了足够的可供其后期迅速分裂增殖的有机物，并且在其新陈代谢稳定进行的条件下，对的 NO_3^- 利用也趋于稳定。因此，在藻细胞生长初期，合理的氮源浓度对其前期自身细胞有机物积累具有重要作用，也对其后期生长提供有力的物质基础。

图 3.17 培养液 NO₃⁻浓度随时间变化Fig 3.17 Variation of NO₃⁻ concentration of culture medium with time

3.5 本章小结

本章根据膜生物反应器设计和运行原理，利用廉价的玻璃纤维膜作为膜材料的基底，制备了具有疏水并且具有一定粗糙度表面的 PTFE-玻璃纤维膜，成功组装并运行了具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器。在此基础上，控制光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，气相侧 CO₂浓度为 2% (v/v)、流量为 10mL/min，液相侧培养液 NO₃⁻浓度为 1.5g/L、流量为 2mL/min 不变的情况下，研究了普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*, FACHB-31) 在反应器内的吸附式生长特性以及反应器对 CO₂气体的固定特性。主要获得以下结论：

① 所制备的 PTFE-玻璃纤维膜具有较好的强度、透气性、气液分离特性和生物相容性；适量的 SiO₂能增大膜材料表面的粗糙度，增强材料机械性能；水在膜材料其表面的静态接触角约为 113.62° ，表面极性分量趋近于 0，为低自由能表面，SEM 观测膜表面为粗糙的孔隙结构，有利于藻细胞的吸附和生长。

② 所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器适合进行微藻的吸附式培养和 CO₂的固定；在光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，气相侧 CO₂浓度为 2% (v/v)、流量为 10mL/min，液相侧培养液 NO₃⁻浓度为 1.5g/L、流量为 2mL/min 工况下，小球藻细胞在 7 天培养过程中，其在膜材料表面最大生物量产量为 $97.48\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ，是采用空气培养条件下生物量产量的 6.26 倍，而最大生物量产率为 $13.54\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ ，发生在反应器运行 3 天后。

③ 具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器对 CO₂具有较高的去除率，在运行 6 天后去除率达到最大值为 58.54%，运行 7 天后 CO₂去除率出现略微下降趋势。

4 运行参数对反应器内微藻吸附生长及 CO₂固定特性的影响

4.1 引言

在微藻吸附式培养的进程中,CO₂和培养液中某些必须无机营养物的作用对微藻生长具有重要影响,因此在了解所设计的微藻吸附式培养光生物反应器在某个固定条件下性能的基础上,还需寻找适合该反应器运行的最佳条件。

本实验中具有气液分离膜的微藻吸附式培养的光生物反应器中,藻细胞分裂增殖形成生物膜并不断生长的整个过程会受到光照强度、气相侧 CO₂浓度、气体流量、液相侧培养液流量和 NO₃⁻浓度等运行参数的影响。本章将针对在不同运行参数条件下,研究吸附于膜材料表面普通小球藻的生长特性以及反应器对 CO₂的固定特性,从而得到适合具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器内微藻生长和提高 CO₂去除率的最佳运行条件。本实验的研究成果将对微藻吸附式培养技术的发展具有重要推动作用。

4.2 光照强度对微藻吸附式生长及 CO₂固定特性的影响

光照强度对微藻固定 CO₂有着重要影响,适宜的光照强度会促进微藻对 CO₂的固定效率。但是,当实际光照强度低于最佳光强时,光照就成为了微藻生长的主要限制性因素;当实际光照强度高于最佳光强时,将会产生光抑制现象,对微藻的生长造成负面影响。本实验在保持气相侧 CO₂浓度为 2% (v/v)、流量为 10mL/min,液相侧 NO₃⁻浓度为 1.5g/L、流量为 2mL/min 条件下,研究普通小球藻在不同光照强度条件下,在具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器内的生长特性和 CO₂固定特性,从而选出最适合其生长和 CO₂固定的最佳条件。

4.2.1 光照强度对单位面积产量的影响

不同光照强度对小球藻在具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器内单位面积产量的重要影响如图 4.1 所示,图中分别给出了在光照强度为 50、100、150 ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 条件下,吸附于膜材料表面的小球藻在培养 3 天后和 7 天后的单位面积产量。从图中可以发现,在不同光照强度下,吸附于膜材料表面的小球藻从培养 3 天后到 7 天后,生物量都有一定的积累,这表明针对普通小球藻,3 种光照强度条件均在光补偿和光抑制之间,小球藻进行光自养,不断进行光合作用,完成自身分裂增殖。从图中还可以发现,培养 3 天后到 7 天后,当光照强度为 $50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,反应器内吸附于膜材料表面的生物量积累较少,积累速率较慢,即从 $57.20\text{g}/\text{m}^2$ 增至 $60.28\text{g}/\text{m}^2$,这表明 $50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 靠近光补偿点,光照成为了小球藻生长的限制性因素;而当光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,其吸附于膜材料表

面的生物量积累较多，并且积累速率较快，即从 65.2 g/m^2 增至 97.48 g/m^2 ，这表明此时的光照强度条件更接近于小球藻生长的最佳条件；当光照强度上升至 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，吸附于膜材料表面的生物量积累量发生下降，积累速率相对于光强为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 情况下的要慢，即从 63.70 g/m^2 增至 91.22 g/m^2 ，其原因可能是因为光强超过了光饱和点，发生了光抑制现象，阻碍了藻细胞的正常生长，引起吸附于膜材料表面的小球藻在培养后期生长相对缓慢造成单位面积产量下降。因此，可以发现，在普通小球藻生长初期，光照强度对面积产量无明显的影响，而在普通小球藻对数生长期，光照强度对面积产量有明显的影响。

因此，本实验中利于吸附于膜材料表面小球藻生长的最佳光照强度在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右，为了获得较高的生物量积累，应优化光照条件使微藻在生长过程中，保持在最佳光照强度。

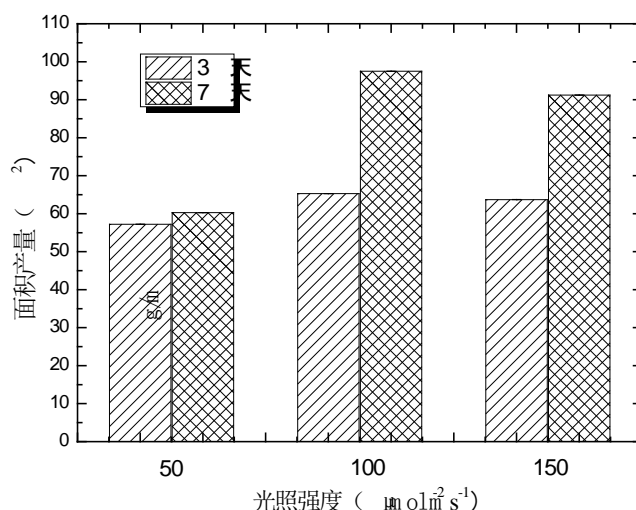


图 4.1 光照强度对小球藻单位面积产量的影响

Fig. 4.1 Effect of light intensities on *Chlorella vulgaris* areal biomass concentration

4.2.2 光照强度对 CO_2 去除率的影响

不同光照强度对反应器 CO_2 去除率的影响如图 4.2 所示。在三种不同的光照强度下， CO_2 的去除率均随培养时间而增大，这是由于吸附于膜材料表面的小球藻利用气相侧扩散到液相侧的碳源而不断生长所致。培养前 2 天生长初期 CO_2 去除率增大较为缓慢，而从培养 2 天后到 6 天后的时间里，其增长幅度有较大的提升，这是由于小球藻在不同生长阶段对碳源的需求不同所致，在对数生长期阶段对碳源需求量较大。当反应器运行 6 天后，小球藻生长接近稳定期，在光照强度为 50、100、150 ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 条件下， CO_2 的去除率趋于稳定且达到最大值分别为 48.89%、58.54%、57.12%。从图中还可以发现，随着光照强度的增加，反应器对

CO₂ 的去除率呈现增加后略微下降的趋势，其中 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强条件为利于反应器对 CO₂ 固定的最佳条件。这是由于 CO₂ 是光合作用暗反应的反应物，当光照强度低于最佳光强时，光反应强度较弱，导致暗反应较弱，CO₂ 的去除率较低，生物量积累较少；而随着光强逐渐增强，靠近光饱和点使小球藻充分利用最佳光强实现快速生长，对 CO₂ 需求量增大，使 CO₂ 去除率增大；但当光强超过光饱和点后，产生光抑制现象，对小球藻生长造成不良影响，致使其对 CO₂ 利用受限，因此该条件下去除率相对最佳光强条件下要略低。

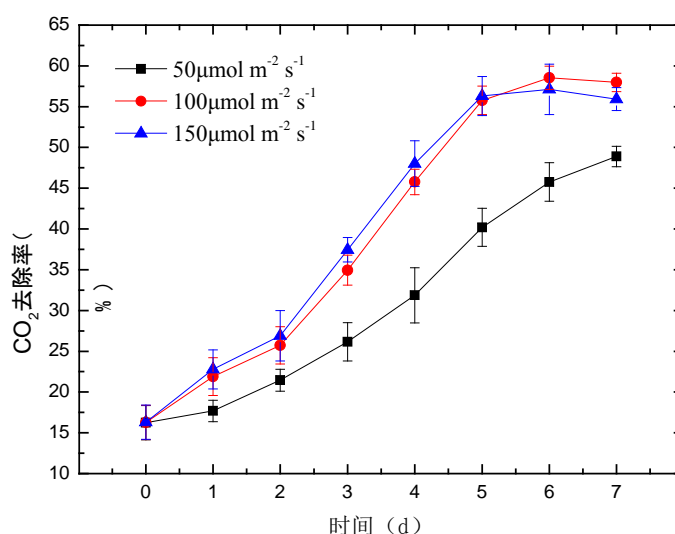


图 4.2 光照强度对 CO₂ 去除率的影响

Fig. 4.2 Effect of light intensities on CO₂ degradation rates

4.2.3 光照强度对培养液 pH 值的影响

不同光照强度对培养液 pH 值的影响如图 4.3 所示。从图中可以看到，随培养时间进行，不同光照强度下，培养液中酸碱度均逐渐从中性变为碱性，其 pH 值从 7.13 左右逐渐上升，并在培养 3 天后其上升趋势逐渐趋于平缓，这是因为培养过程中，随着藻细胞的增加导致其对碳源的需求增大，造成培养液中无机碳溶解平衡发生改变，使得氢离子浓度降低，培养液 pH 值增大。而在培养时间到达 4 天后时，培养液 pH 值趋于平缓，主要是由于碳源成为藻细胞生长的限制因子，藻细胞生长减缓，故培养基 pH 增加也趋于平缓。而且，小球藻在生长过程中，也会产生各种各级代谢产物，从而会影响培养液中的 pH 值变化。此外，在光强为 $150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 条件下，其培养液 pH 值要高于在光强为 $50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 条件下培养液的 pH 值，这表明此时除了碳源限制外，光能也是限制藻细胞生长的限制因子，提高光强则可能使藻细胞新陈代谢加快，进而对碳源的需求量更大，表现为该条件下的培养液 pH 值较弱光条件下略大，然而从图中看

到在培养 6 天后，该条件下培养液 pH 值存在下降趋势，这是因为光强为 $150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 造成了光抑制现象，影响了小球藻后期生长所致。

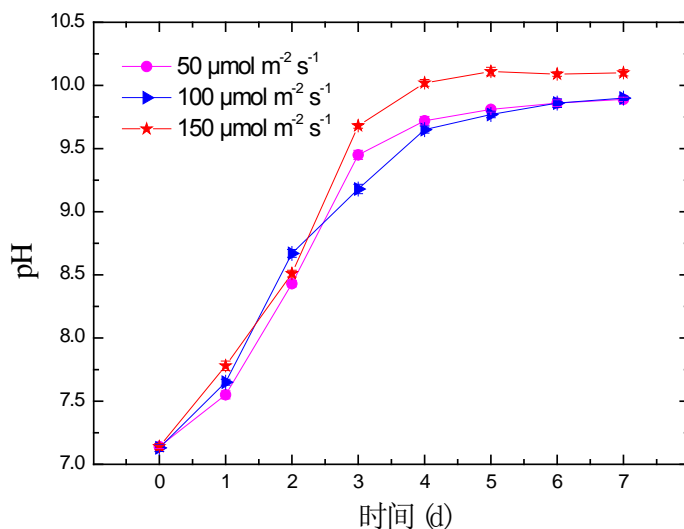


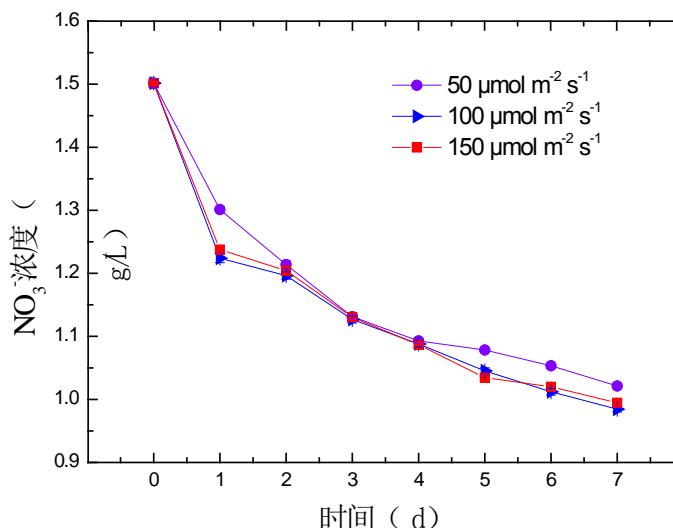
图 4.3 光照强度对培养液 pH 值的影响

Fig. 4.3 Effect of light intensities on pH value of culture medium

4.2.4 光照强度对培养液 NO_3^- 浓度的影响

光照强度对培养液中 NO_3^- 浓度变化的影响如图 4.4 所示。从图中可以发现，随培养时间进行，培养液中 NO_3^- 浓度随时间呈下降趋势，并且在培养时间第 1 天内，培养液中 NO_3^- 浓度下降幅度最大，这是因为随着吸附于膜材料表面的小球藻不断生长，会在碳源、光照的作用下利用培养液中的氮源 (NO_3^-) 合成氨基酸、蛋白质、碱基、叶绿素等有机物，使得培养液中 NO_3^- 浓度降低，而在小球藻生长初期，由于其需要积累可供后续细胞分裂增殖的营养物，知识其自身代谢活动加快，因而在培养约 1 天后其培养液中 NO_3^- 浓度下降最快，而后逐渐趋于平缓。从图中还可发现，在培养约 7 天后，相比其他光强条件，当光强为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，培养液中 NO_3^- 浓度最低且下降最快，但相比其他条件， NO_3^- 浓度变化差别不大，这是因为在 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照条件下，其生物量积累最多，因而对 NO_3^- 利用率加大的所致，并且由于光强为 $150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 条件下发生光抑制，可能引起藻细胞对培养液中 NO_3^- 的摄取量降低，造成此条件下培养液中 NO_3^- 浓度比 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照条件要略高且下降幅度趋于平缓；而当光强为 $50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，由于光限制作用，降低了小球藻新陈代谢作用，导致对 NO_3^- 的利用率降低。

在整个培养进程中，可以发现光照强度变化对培养液中 NO_3^- 浓度变化影响并不明显，但对生物量的积累和 CO_2 去除率却能产生较大影响。

图 4.4 光照强度对培养液 NO₃⁻浓度的影响Fig. 4.4 Effect of light intensities on NO₃⁻ concentration of culture medium

4.3 进口 CO₂浓度对微藻吸附式生长及 CO₂固定特性的影响

气相侧进口 CO₂浓度会对具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器内各项参数造成重要影响。进口 CO₂浓度变化会影响气相侧 CO₂浓度分布变化，从而影响气液分离膜液相侧与气相侧之间的浓度梯度，导致吸附于膜材料表面的小球藻对 CO₂ 的利用程度发生改变，并且如果 CO₂浓度过高，也会对小球藻生长特性造成一定影响。因此，研究气相侧进口 CO₂浓度对反应器内各项参数的影响并通过实验选取适合反应器运行的最佳条件具有重要意义。本实验将保持光照强度为 100 μmol·m⁻²·s⁻¹，气相侧 CO₂流量为 10 mL/min，液相侧 NO₃⁻浓度为 1.5 g/L、流量为 2 mL/min 条件下进行研究。

4.3.1 进口 CO₂浓度对单位面积产量的影响

气相侧进口 CO₂浓度对反应器内吸附于膜材料表面的小球藻生长特性的影响如图 4.5 所示，通过比较培养 3 天后和 7 天后小球藻的单位面积产量来反映其生长特性。从图中可以发现，在气相侧不同 CO₂浓度条件下，从比较培养 3 天后和 7 天后的面积产量来看，吸附于膜材料表面的小球藻不断生长，但增长的幅度各不相同，发现当进口 CO₂浓度为 2% (v/v) 时，小球藻面积产量增长幅度最大，即培养 7 天后的面积产量约为培养 3 天后的 1.49 倍，这是因为在所供 CO₂浓度范围内，小球藻由于利用气相侧 CO₂作为碳源不断生长，然而当气相进口 CO₂浓度为 2% (v/v) 时，在本实验条件下对吸附于膜材料表面的小球藻生长最有利，从而使小球藻增长速率加快，生物量积累增多幅度相对较大。此外，从不同气相进口 CO₂浓度对小球藻最终生物产量影响来看，当气相侧 CO₂浓度为 2% (v/v) 时其生物积累量最大，CO₂浓度为 10% (v/v) 时积累量最小，培养 7 天后其生物量积累量

前者约为后者的 1.71 倍。这是因为在该培养条件下，小球藻对 CO_2 浓度存在一定耐受性，当 CO_2 浓度较低时由于碳源供应不足，导致生物量积累下降；而 CO_2 浓度过高时，可能引起小球藻生长受到抑制，导致生物量积累下降。

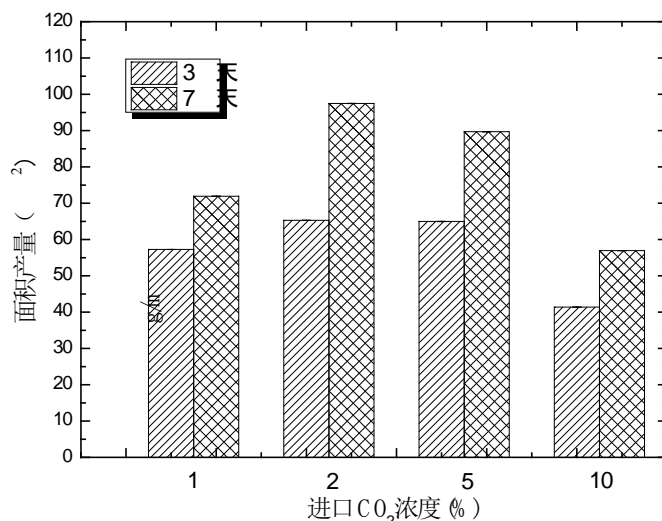
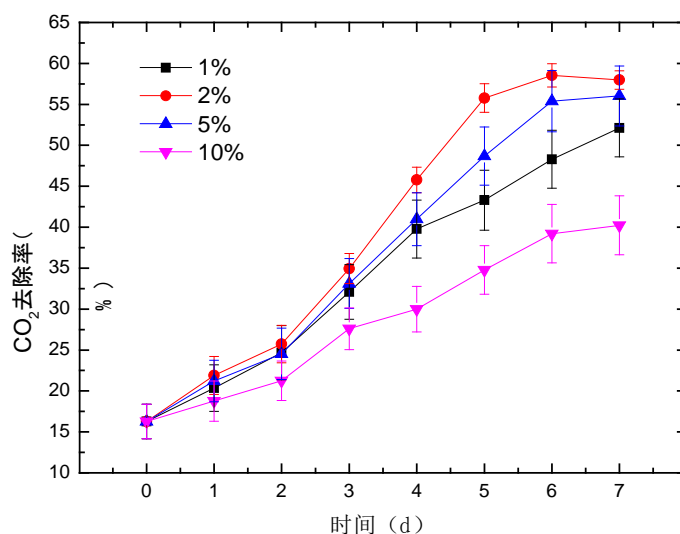


图 4.5 进口 CO_2 浓度对小球藻生物量产量的影响

Fig. 4.5 Effect of inlet CO_2 concentration on *Chlorella vulgaris* areal biomass concentration

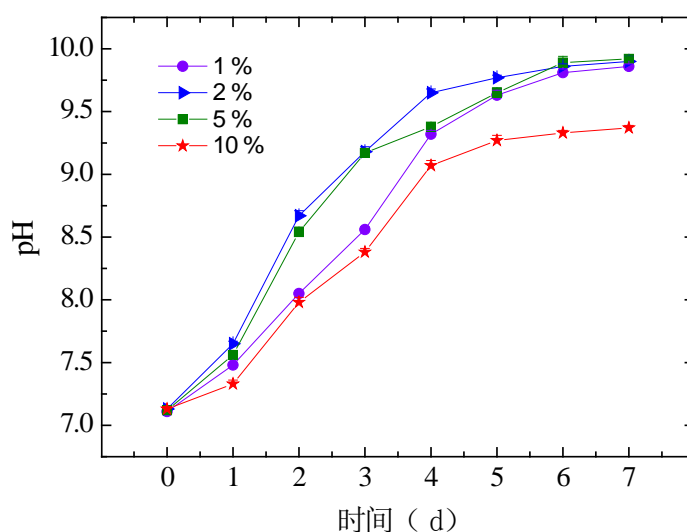
4.3.2 进口 CO_2 浓度对 CO_2 去除率的影响

气相侧进口 CO_2 浓度对反应器 CO_2 去除率的影响如图 4.6 所示。从图中可以发现，随着时间进行，反应器对 CO_2 去除率逐渐增大，且在培养 6 天后趋于平缓。这是因为随时间进行吸附于膜材料表面的小球藻在不断生长过程中，经历了延迟期和对数生长期，对 CO_2 需求量逐渐增大，而当小球藻生长进入稳定期时，对 CO_2 需求量保持在一定范围内所致。从图中还可发现，随着气相侧进口 CO_2 浓度的增大，反应器对的 CO_2 去除率呈先增大后降低的趋势。从反应器运行 7 天后的参数来看，当进口 CO_2 浓度为 1%、2%、5%、10% (v/v) 时，其 CO_2 去除率分别为 52.13%、58.54%、56.03%、40.23%。这是因为过低的 CO_2 浓度导致小球藻生长碳源供应不足，生物量积累降低，从而引起 CO_2 去除率较低；而当 CO_2 浓度为 10% (v/v) 时， CO_2 浓度过高对小球藻的生长造成不良影响，另一方面， CO_2 浓度增大，也增加了反应器的负荷，而反应器对 CO_2 的去除能力有限。在这两个因素的共同作用下，使 CO_2 去除率相比其他条件出现大幅下降， CO_2 浓度 2% (v/v) 条件下的去除率约为此时的 1.49 倍。

图 4.6 进口 CO₂ 浓度对 CO₂ 去除率的影响Fig. 4.6 Effect of inlet CO₂ concentration on CO₂ degradation rates

4.3.3 进口 CO₂ 浓度对培养液 pH 值的影响

进口 CO₂ 浓度对培养液 pH 值的影响如图 4.7 所示。

图 4.7 进口 CO₂ 浓度对培养液 pH 值的影响Fig. 4.7 Effect of inlet CO₂ concentration on pH value of culture medium

从图 4.7 中可以发现，随时间进行，培养液中 pH 值在反应器运行 1~5 天的时间内呈不断上升趋势，并在运行 6 天后趋于平缓。这同样是因为与吸附于膜材料表面的小球藻生长代谢活动有关。从图中还可以发现，当进气流量一定时，随着 CO₂ 浓度的增加，培养液 pH 值呈现先上升后下降的趋势，当 CO₂ 浓度为 1%，2%，5% (v/v) 时，其最终的培养液 pH 值基本一致，且该值均高于藻细胞适宜生

长的 pH 值范围,表明此时实验所提供的碳源是限制藻细胞生长的限制因子。而当碳源浓度为 10% (v/v) 时,由于气相侧与液相侧 CO_2 浓度梯度较大,此时气相侧 CO_2 扩散较快,多余的 CO_2 可能没有被吸附于膜材料表面的小球藻利用,因此导致此时培养液藻液 pH 值要低于上述几个浓度条件下的 pH 值。

4.3.4 进口 CO_2 浓度对培养液 NO_3^- 浓度的影响

进口 CO_2 浓度对培养液中 NO_3^- 浓度变化的影响如图 4.8 所示。从图中可以看出,随着时间的进行,培养液中 NO_3^- 浓度逐渐降低,同样在培养 1 天后的时间内,各条件下培养液中 NO_3^- 浓度降低均较快,这与 4.2.4 中所示趋势相似。因此,在气相侧进口 CO_2 浓度不同的情况下,培养液中 NO_3^- 浓度的下降趋势与反应器内吸附于膜材料表面的小球藻生长趋势相关,即小球藻生长代谢活动越旺盛,其对培养液中的 NO_3^- 利用越多,其 NO_3^- 浓度下降更明显。

此外,从图 4.8 中还可以看出,当反应器运行约 2 天后,不同 CO_2 浓度条件下小球藻对培养液中 NO_3^- 的利用速率基本保持一致,但由于培养 1 天后在气相侧进口 CO_2 浓度为 2% (v/v) 条件下小球藻对培养液中利用 NO_3^- 最多,因此该条件下对培养液 NO_3^- 浓度仍保持较低水平。在整个培养进程中,可以发现气相侧 CO_2 浓度变化对培养液中 NO_3^- 浓度变化影响并不明显,但对生物量的积累和 CO_2 去除率却能产生较大影响。

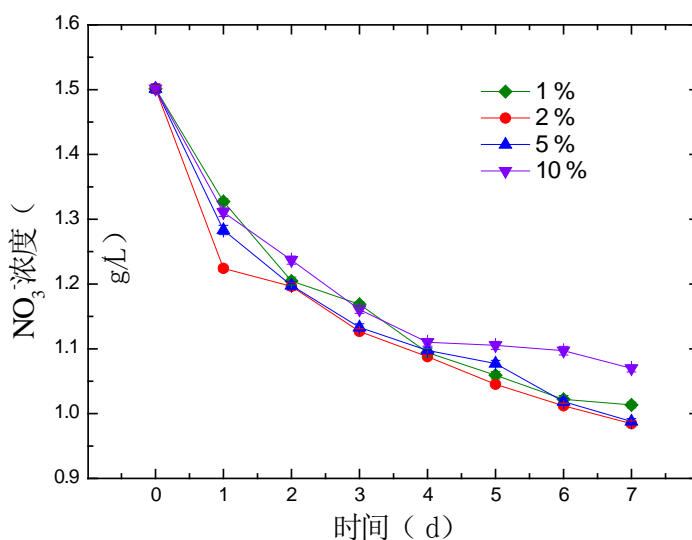


图 4.8 进口 CO_2 浓度对培养液 NO_3^- 浓度的影响

Fig. 4.8 Effect of inlet CO_2 concentration on NO_3^- concentration of culture medium

4.4 气体流量对微藻吸附式生长及 CO_2 固定特性的影响

气相侧气体流量的大小直接影响到反应器内气体停留时间以及气相中 CO_2 通过膜材料的扩散作用,这对吸附于膜材料表面的藻细胞生长以及反应器对 CO_2 的

去除率都有重要影响，因此研究不同气体流量对反应器内微藻生长特性和 CO₂ 固定特性是十分必要的。本实验将保持光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，气相侧 CO₂ 浓度为 2% (v/v)，液相侧 NO₃⁻ 浓度为 1.5g/L、流量为 2mL/min 条件下进行研究。

4.4.1 气体流量对单位面积产量的影响

气相侧气体流量对吸附于膜材料表面小球藻单位面积产量的影响如图 4.9 所示。通过比较培养 3 天后和 7 天后小球藻的单位面积产量来反映其生长特性。从图中可以发现，在气相侧不同气体流量的条件下，从比较培养 3 天后和 7 天后的面积产量来看，吸附于膜材料表面的小球藻不断生长，但增长的幅度各不相同，其中当气体流量为 10mL/min 时，其生物量增幅较其他流量条件下的都大。这是因为当体流量为 10mL/min 时，气体停留时间相对于其他流量下要长，使得气相侧的 CO₂ 能够有足够时间通过扩散作用传递至膜的另一侧，从而被吸附于膜材料表面的小球藻利用，在充足的 CO₂ 条件下实现快速生长。此外还可以从图中发现，相比气体流量为 20、30 (mL/min) 时，在气体流量为 10mL/min 条件下小球藻生物量积累量是最多的，这是因为较高的气体流量强化了气相通过膜材料向液相侧的传质作用，同时增加了反应器的负荷，而反应器内吸附于膜材料表面的小球藻对 CO₂ 的去除能力有限，因此导致此时负荷过高，引起小球藻生长能力下降，生物量积累量下降。

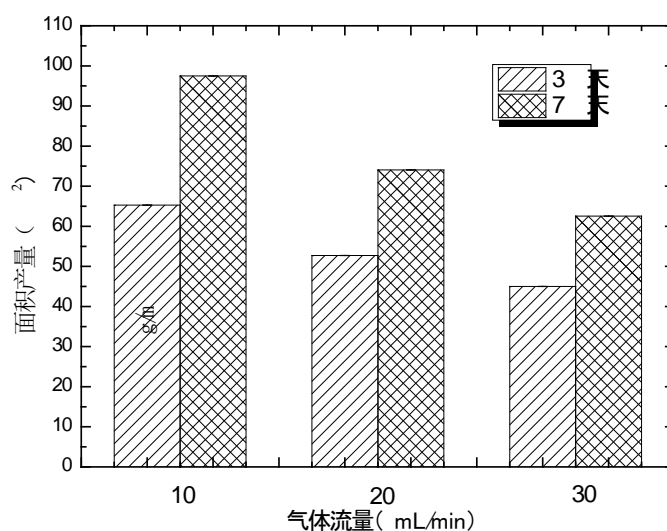


图 4.9 气体流量对小球藻单位面积产量的影响

Fig. 4.9 Effect of gas flow rate on *Chlorella vulgaris* areal biomass concentration

4.4.2 气体流量对 CO₂ 去除率的影响

气体流量对 CO₂ 去除率的影响如图 4.10 所示。从图中可以发现，反应器运行 2 天内的时间中，其对 CO₂ 的去除率增长比较缓慢，随后在反应器运行 3~5 天的时

间里, 其对 CO_2 的去除率增长加快, 并在运行约 6 天后趋于稳定。这是因为反应器对 CO_2 的去除率体现在吸附于膜材料表面的小球藻生长速率和生物量积累上。小球藻生长加快, 对 CO_2 利用增多, 同时由于在生长初期主要为其自身有机物的积累, 对 CO_2 的利用速率相对缓慢, 而后在对数生长期, 对 CO_2 的利用速率加快, 才导致后面反应器对 CO_2 的去除率快速增大。当反应器运行 7 天后, 气相流量为 10mL/min 条件下反应器对 CO_2 的去除率为 58.54%, 而气相流量为 30mL/min 条件下反应器对 CO_2 的去除率为 37.61%, 前者为后者的 1.59 倍。因此, 针对本实验所选取的气体流量范围, 当气体流量为 10mL/min 时, 才能保证反应器对 CO_2 去除率达到最大。

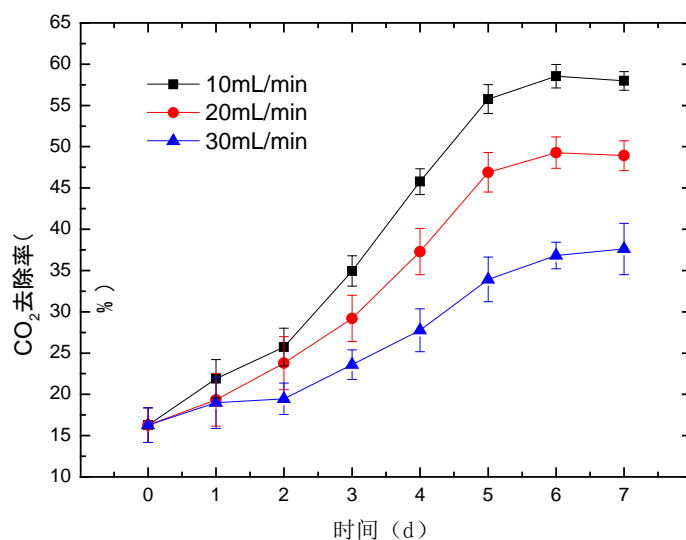


图 4.10 气体流量对 CO_2 去除率的影响

Fig. 4.10 Effect of gas flow rate on CO_2 degradation rate

4.4.3 气体流量对培养液 pH 值的影响

气体流量对培养液 pH 值的影响如图 4.11 所示。从图中可以发现, 在整个培养进程中, 不同气体流量下培养液 pH 值变化基本保持一致, 其中当气体流量为 10mL/min 时, 反应器运行 7 天后, 培养液 pH 略微大于其他条件下的培养液 pH 值, 约为 9.9 左右, 并且 1~6 天的反应器运行时间内, 其 pH 变化也比其他条件较快。这是因为随着吸附于膜材料表面小球藻生长导致培养液酸碱度逐渐变为碱性的缘故, 这与前文所谈到的原因类似, 并且在实验条件下, 气体流量为 10mL/min 时, 其吸附于膜材料表面的小球藻生长较其他条件下的要略快, 导致该条件下 pH 升高速率相对较快。因此, 结果表明, 气相侧气体流量的大小对吸附于膜材料表面的小球藻生长能够产生较大影响, 然而对于培养液 pH 值变化的影响却不大, 这可能是因为该条件下小球藻自身存在对周围环境进行调节的能力, 在保证自身不

断分裂增殖的前提下，对周围培养液 pH 值变化造成影响。

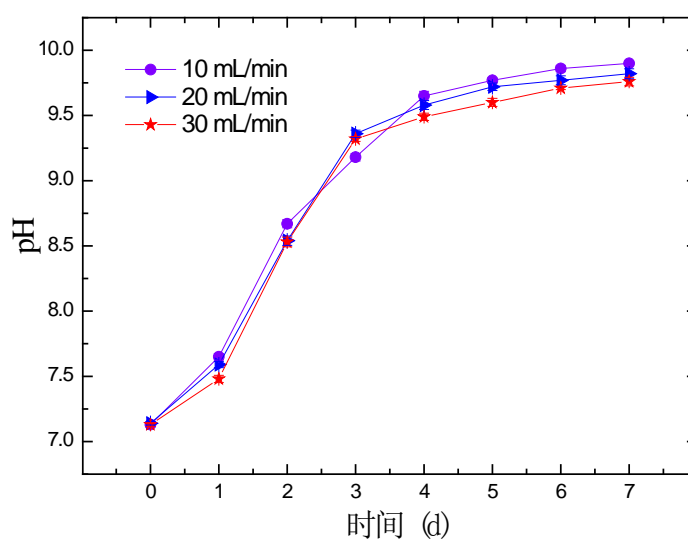


图 4.11 气体流量对培养液 pH 值的影响

Fig. 4.11 Effect of gas flow rate on pH value of culture medium

4.4.4 气体流量对培养液 NO₃⁻浓度的影响

气体流量对培养液中 NO₃⁻浓度变化的影响如图 4.12 所示。

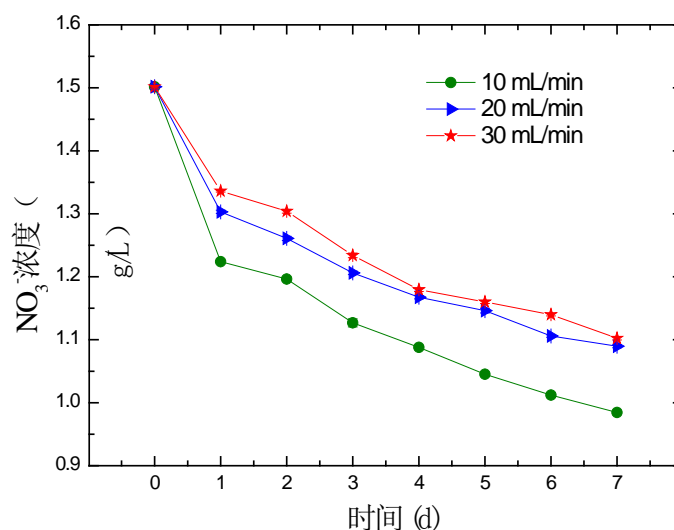


图 4.12 气体流量培养液 NO₃⁻浓度的影响

Fig. 4.12 Effect of gas flow rate on NO₃⁻ concentration of culture medium

从图 4.12 中可以看出，随时间的进行，培养液中 NO₃⁻浓度逐渐降低，同样在培养 1 天后的时间内，各条件下培养液中 NO₃⁻浓度降低均较快，这与前文中所示趋势相似。因此，在气相侧进口 CO₂ 浓度不变的情况下，减小气体流量至 10mL/min，

在促进吸附于膜材料表面小球藻生长的同时，加快了小球藻对 NO_3^- 的吸收，促进了培养液中 NO_3^- 浓度的下降。

此外，从图 4.12 中还可以看出，当反应器运行约 2 天后，不同气体流量条件下小球藻对培养液中 NO_3^- 的利用速率也基本保持一致，但由于培养 1 天后在气相侧气体流量为 10mL/min 条件下小球藻对培养液中利用 NO_3^- 最多，因此该条件下对培养液 NO_3^- 浓度仍保持较低水平。当培养 7 天后，气体流量为 10mL/min 条件下培养液中 NO_3^- 浓度为 0.98g/L，相比在气体流量为 30mL/min 条件下的 NO_3^- 浓度，下降了约 10.69%。研究表明气体流量的变化不仅会对生物量积累、 CO_2 去除率造成明显影响，而且还会对培养液中 NO_3^- 浓度的变化产生较大影响。

4.5 液体流量对微藻吸附式生长及 CO_2 固定特性的影响

液相侧循环液液体流量的大小会影响到培养液对吸附于膜材料表面小球藻的营养供给效率，而且过大的液体流量也会对小球藻细胞造成剪切力作用，从而影响藻细胞在膜材料表面的吸附以及生物量的积累。因此，研究不同液体流量对小球藻吸附生长的影响具有重要意义。本实验将保持光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，气相侧 CO_2 浓度为 2% (v/v)，气体流量为 10mL/min，液相侧 NO_3^- 浓度为 1.5g/L 条件下进行研究，寻找液体流量对小球藻吸附式生长的影响规律。

4.5.1 液体流量对单位面积产量的影响

液相侧液体流量对吸附于膜材料表面小球藻单位面积产量的影响如图 4.13 所示。

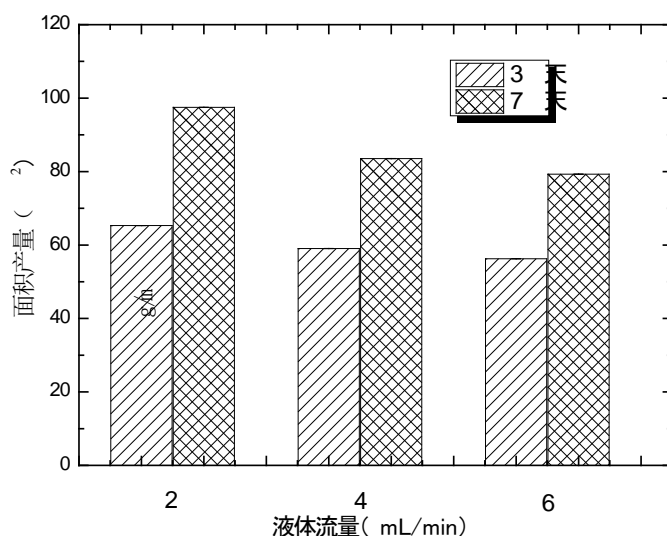


图 4.13 液体流量对小球藻单位面积产量的影响

Fig. 4.13 Effect of culture medium flow rate on *Chlorella vulgaris* areal biomass concentration

从图 4.13 中可以看出, 通过比较培养 3 天后和 7 天后小球藻的单位面积产量来反映其生长特性。从图中可以发现, 在液相侧不同液体流量条件下, 从比较培养 3 天后和 7 天后的面积产量来看, 吸附于膜材料表面的小球藻不断生长, 但增长的幅度各不相同, 其中当液体流量为 2mL/min 时, 其生物量增幅相比其他流量条件下的略大。这是因为当液体流量为 2mL/min 时, 液相对吸附于膜材料表面藻细胞的剪切力作用较小, 因而能够使更多的藻细胞吸附于膜材料表面。此外还可以从图中发现, 相比液体流量为 4、6 (mL/min) 时, 当液体流量为 2mL/min 条件下小球藻生物量积累量也是最多的, 这同样是因为液相剪切力较小, 并且小球藻在该液体流量下能够充分利用液相中足够的无机营养物质进行生长。

4.5.2 液体流量对 CO₂ 去除率的影响

液体流量对 CO₂ 去除率的影响如图 4.14 所示。从图中可以发现, 反应器运行 2 天内的时间中, 其对 CO₂ 的去除率增长比较缓慢, 随后在反应器运行 3~5 天的时间里, 其对 CO₂ 的去除率增长加快, 并在运行约 6 天后趋于稳定。与前文类似, 这主要是因为反应器对 CO₂ 的去除率体现在吸附于膜材料表面的小球藻生长速率和生物量积累上。由于小球藻在足够的培养液无机营养物的作用下生长加快, 对 CO₂ 利用增多, 同时由于在生长初期主要为其自身有机物的积累, 对 CO₂ 的利用速率相对缓慢, 而后在对数生长期, 对 CO₂ 的利用速率加快, 才导致后面反应器对 CO₂ 的去除率快速增大。当反应器运行 7 天后, 液体流量为 2mL/min 条件下反应器对 CO₂ 的去除率为 58.54%, 而液体流量为 6mL/min 条件下反应器对 CO₂ 的去除率为 41.23%, 因此前者为后者的 1.45 倍。因此, 较大的液体流量对吸附于膜材料表面的藻细胞冲刷较为严重时, 会对生物量积累和 CO₂ 去除率造成较大影响, 由此可见, 应在小球藻能充分利用培养液中无机营养物的前提下适当降低培养液流量, 以保证藻细胞能够更多附着于膜材料表面。

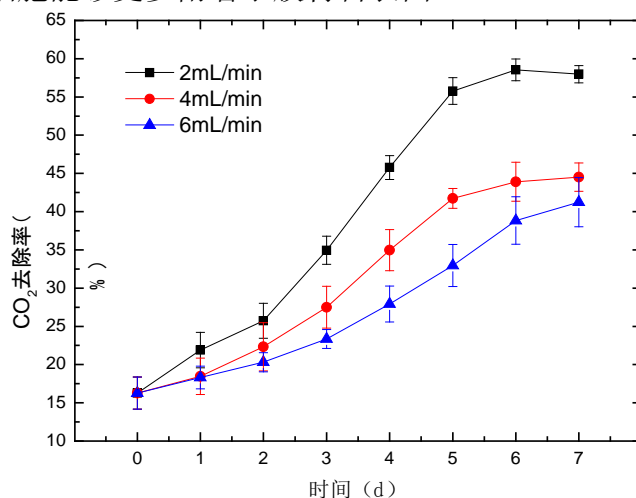


图 4.14 液体流量对 CO₂ 去除率的影响

Fig. 4.14 Effect of culture medium flow rate on CO₂ degradation rate

4.5.3 液体流量对培养液 pH 值的影响

液体流量对培养液 pH 值的影响如图 4.15 所示。从图中可以发现，在整个培养进程中，不同液体流量下培养液 pH 值变化基本保持一致，其中当液体流量为 2mL/min 时，培养液 pH 稍大于其他条件下的培养液 pH 值，约为 9.9 左右。这是因为随着吸附于膜材料表面小球藻生长导致培养液酸碱度逐渐变为碱性的缘故，这与前文所谈到的原因类似。因此，结果表明，液相侧液体流量的大小对吸附于膜材料表面的小球藻吸附和生长能够产生较大影响，然而对于培养液 pH 值变化的影响却不大，这可能同样是因为该条件下小球藻自身存在对周围环境进行调节的能力，在保证自身不断分裂增殖的前提下，对周围培养液 pH 值变化造成影响。

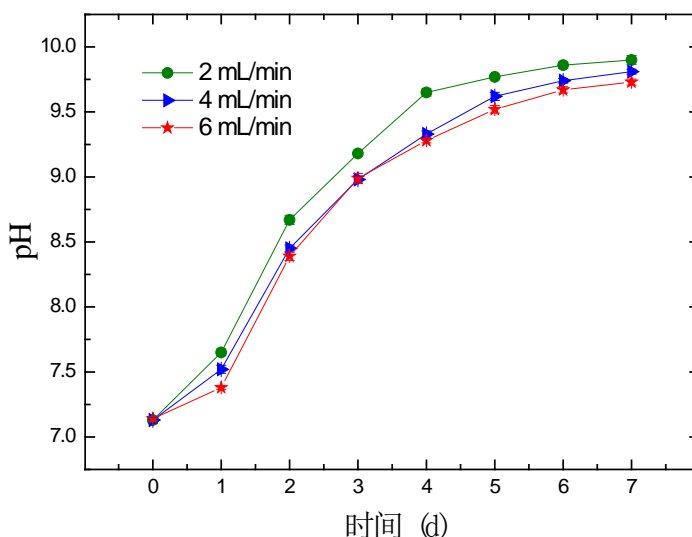


图 4.15 液体流量对培养液 pH 值的影响

Fig. 4.15 Effect of culture medium flow rate on pH value of culture medium

4.5.4 液体流量对培养液 NO_3^- 浓度的影响

液体流量对培养液中 NO_3^- 浓度变化的影响如图 4.16 所示。从图中可以看出，随时间的进行，培养液中 NO_3^- 浓度逐渐降低，同样在培养 1 天后的时间内，各条件下培养液中 NO_3^- 浓度降低均较快，这与前文中所示趋势相似。因此，在其他条件不变的情况下，减小液体流量至 10mL/min，在促进吸附于膜材料表面小球藻的附着和生长的同时，加快了单位时间内小球藻对 NO_3^- 的吸收，促进了培养液中 NO_3^- 浓度的下降。

此外，从图 4.16 中还可以看出，当反应器运行约 2 天后，不同气体流量条件下小球藻对培养液中 NO_3^- 的利用速率也基本保持一致，但由于培养 1 天后在液相侧液体流量为 2mL/min 条件下小球藻对培养液中利用 NO_3^- 效率最高，因此该条件下对培养液 NO_3^- 浓度仍保持较低水平。当培养 7 天后，液体流量为 2mL/min 条件

下培养液中 NO₃⁻ 浓度为 0.98g/L, 相比在液体流量为 6mL/min 条件下的 NO₃⁻ 浓度, 下降了约 12.05%。因此, 研究表明液体流量的变化不仅会对生物量积累、CO₂ 去除率造成明显影响, 而且还会对培养液中 NO₃⁻ 浓度的变化产生较大影响, 最适合本实验条件下反应器运行的液体流量为 2mL/min。

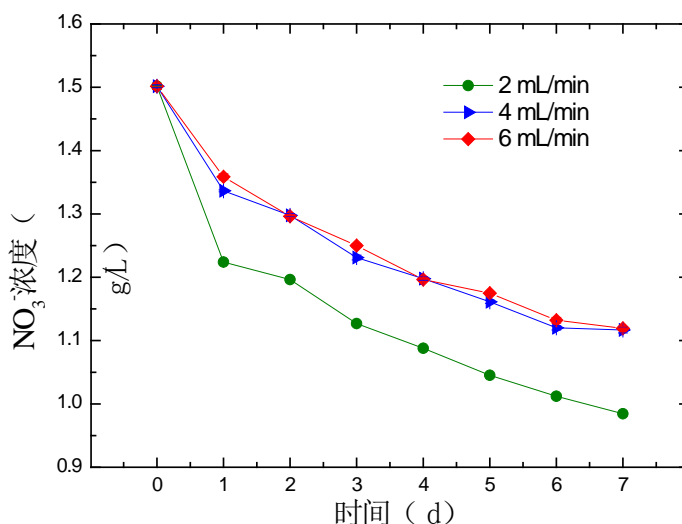


图 4.16 液体流量对培养液 NO₃⁻ 浓度的影响

Fig. 4.16 Effect of culture medium flow rate NO₃⁻ concentration of culture medium

4.6 初始氮源浓度对微藻吸附式生长及 CO₂ 固定特性的影响

初始氮源 (NO₃⁻) 浓度的大小会影响到培养液对吸附于膜材料表面小球藻的营养供给效率, 并且过高和过低的氮源浓度均会对微藻生长产生影响。如果氮源浓度过低, 则微藻能够利用的氮源就少, 氮源浓度过高则会导致微藻生长受到抑制。因此, 研究不同初始氮源 (NO₃⁻) 浓度对小球藻吸附生长的影响对选取适合小球藻生长的最佳条件具有重要意义。本实验将保持光照强度为 100μmol·m⁻²·s⁻¹, 气相侧 CO₂ 浓度为 2% (v/v), 气体流量为 10mL/min, 液体流量为 2mL/min 条件下进行研究, 寻找初始氮源 (NO₃⁻) 浓度对小球藻吸附式生长的影响规律。

4.6.1 初始氮源浓度对单位面积产量的影响

培养液中初始氮源 (NO₃⁻) 浓度对吸附于膜材料表面小球藻单位面积产量的影响如图 4.17 所示。同样地, 通过比较培养 3 天后和 7 天后小球藻的单位面积产量来反映其生长特性。从图中可以发现, 在培养液中初始氮源 (NO₃⁻) 浓度不同条件下, 从比较培养 3 天后和 7 天后的面积产量来看, 吸附于膜材料表面的小球藻不断生长, 但增长的幅度各不相同, 其中当培养液中初始氮源 (NO₃⁻) 浓度为 1.5g/L 时, 其生物量增幅相比其他流量条件下的略大。这是因为当初始氮源 (NO₃⁻) 浓度为 1.5g/L 时, 吸附于膜材料表面的小球藻能够获得足够的氮源进行自身有机

物的合成，而且在该浓度对小球藻的生长没有产生抑制作用，因此该条件下吸附于膜材料表面的小球藻生长较为迅速，生物量积累也相对较多。此外还可以从图中发现，相比氮源 (NO_3^-) 浓度为 0.9、0.3 (g/L) 时，当氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L 条件下小球藻生物量积累量也是最多的，这也是因为小球藻能够充分利用液相中足够的无机营养物进行生长的原因。

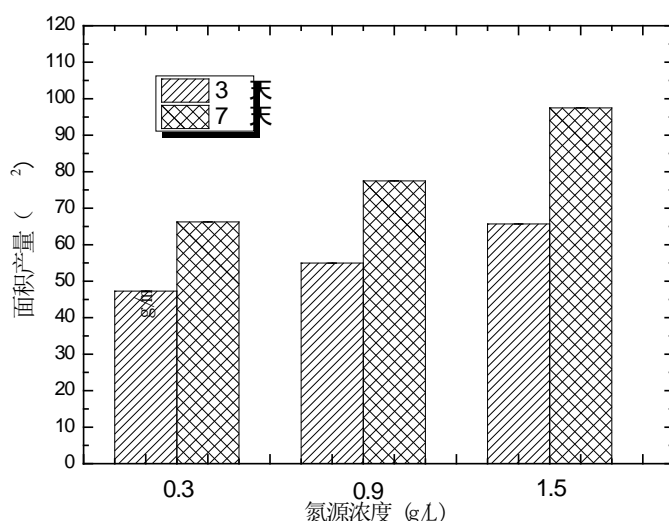


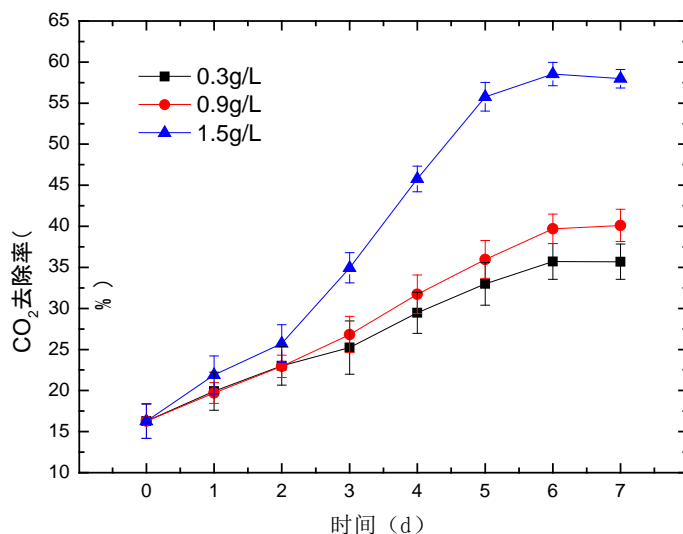
图 4.17 培养液初始 NO_3^- 浓度对小球藻单位面积产量的影响

Fig. 4.17 Effect of initial NO_3^- concentration of medium on *Chlorella vulgaris* areal biomass concentration

4.6.2 初始氮源浓度对 CO_2 去除率的影响

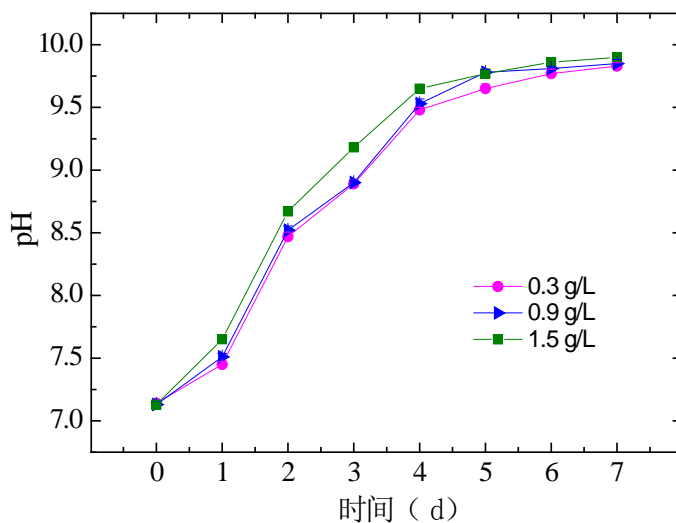
培养液中初始氮源 (NO_3^-) 浓度对 CO_2 的去除率的影响如图 4.18 所示。从图中可以发现，反应器运行 2 天内的时间中，其对 CO_2 的去除率增长比较缓慢，随后在反应器运行 3~5 天的时间里，其对 CO_2 的去除率增长加快，并在运行约 6 天后趋于稳定。与前文类似，这主要是因为反应器对 CO_2 的去除率体现在吸附于膜材料表面的小球藻生长速率和生物量积累上。由于小球藻在足够的培养液无机营养物的作用下生长加快，对 CO_2 利用增多，同时由于在生长初期主要为其自身有机物的积累，对 CO_2 的利用速率相对缓慢，而后在对数生长期，对 CO_2 的利用速率加快，才导致后面反应器对 CO_2 的去除率快速增大。

当反应器运行 7 天后，初始氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L 条件下反应器对 CO_2 的去除率为 58.54%，而初始氮源 (NO_3^-) 浓度为 0.3g/L 条件下反应器对 CO_2 的去除率为 35.69%，因此前者为后者的 1.68 倍。因此，当培养液初始氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L 时，在本实验条件下为适合吸附于膜材料表面藻细胞生长的最佳条件。

图 4.18 培养液初始 NO₃⁻ 浓度对 CO₂ 去除率的影响Fig. 4.18 Effect of initial NO₃⁻ concentration of medium on CO₂ degradation rate

4.6.3 初始氮源浓度对培养液 pH 值的影响

初始氮源 (NO₃⁻) 浓度对培养液 pH 值的影响如图 4.19 所示。

图 4.19 培养液初始 NO₃⁻ 浓度对培养液 pH 值的影响Fig. 4.19 Effect of initial NO₃⁻ concentration of medium on pH value of culture medium

从图 4.19 中可以发现, 在整个培养进程中, 不同液体流量下培养液 pH 值变化基本保持一致, 其中当初始氮源 (NO₃⁻) 浓度为 1.5g/L 时, 培养液 pH 稍大于其他条件下的培养液 pH 值, 但在培养 7 天后基本相等。这是因为随着吸附于膜材料表面小球藻生长导致培养液酸碱度逐渐变为碱性的缘故, 这与前文所谈到的原因类似。因此, 结果表明, 初始氮源 (NO₃⁻) 浓度的大小对吸附于膜材料表面的

小球藻吸附和生长能够产生较大影响，然而对于培养液 pH 值变化的影响却不大，这可能同样是因为该条件下小球藻自身存在对周围环境进行调节的能力，在保证自身不断分裂增殖的前提下，对周围培养液 pH 值变化造成影响。

4.6.4 初始氮源浓度对培养液 NO_3^- 浓度的影响

初始氮源 (NO_3^-) 浓度对培养液中 NO_3^- 浓度变化的影响如图 4.20 所示

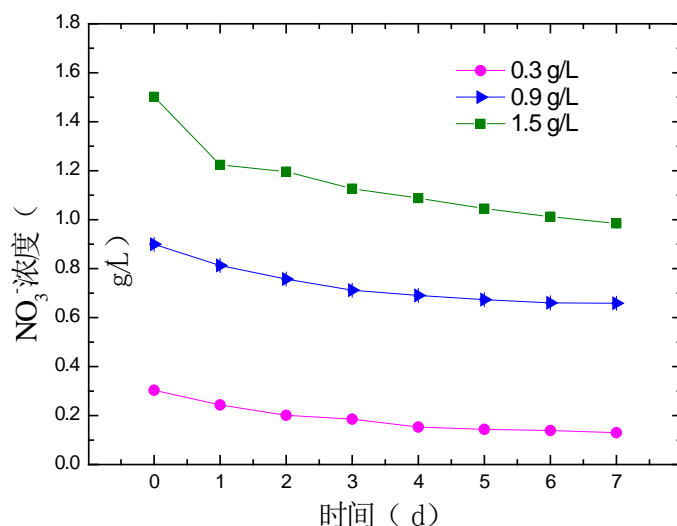


图 4.20 培养液初始 NO_3^- 浓度对培养液 NO_3^- 浓度变化的影响

Fig. 4.20 Effect of initial NO_3^- concentration of medium on NO_3^- concentration of culture medium

初始氮源 (NO_3^-) 浓度对培养液中 NO_3^- 浓度变化的影响如图 4.20 所示。从图中可以看出，随时间的进行，培养液中 NO_3^- 浓度逐渐降低，在培养 1 天后的时间内，各条件下培养液中 NO_3^- 浓度降低均较快，但在初始氮源 (NO_3^-) 浓度为 0.9g/L 和 0.3g/L 条件下，其下降的幅度很小，这可能是因为该氮源浓度条件下吸附于膜材料表面的小球藻对氮源的利用速率下降，从而也导致其生长速率下降。因此，在其他条件不变的情况下，为了使生物积累量和 CO_2 去除率均较高，应将培养液中初始氮源 (NO_3^-) 浓度设定为 1.5g/L 左右。从图中还可以发现，针对初始氮源 (NO_3^-) 浓度分别为 1.5、0.9、0.3 (g/L) 条件下，小球藻对培养液中氮源 (NO_3^-) 的吸收率分别为 34.44%、26.78%、57.06%，结果表明当初始氮源 (NO_3^-) 浓度为 0.3g/L 时，小球藻对氮源的吸收率最大，因此在本实验条件下，为了促进小球藻在生长后期进行油脂积累，应尽可能降低培养液中氮源含量，但此时吸附于膜材料表面的小球藻生物量积累就会减缓。

由此可见，为了在培养阶段具有较高的生物量积累和较高的 CO_2 去除率，应将培养液中氮源 (NO_3^-) 浓度设置为 1.5g/L 左右。

4.7 本章小结

本章利用通过自行设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器，在固定其他参数不变的前提下，针对某一参数的变化进行了在不同运行参数（光照强度、气相 CO₂ 浓度、气体流量、液相 NO₃⁻ 浓度、液体流量）条件下该反应器内微藻吸附式生长特性和反应器对 CO₂ 的固定特性，从而获得适合该反应器内微藻生长和提高 CO₂ 去除率的最佳运行条件。研究得到的主要结论如下：

① 普通小球藻在具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器内的生物量积累量、生物量积累速率以及反应器对 CO₂ 的去除率三者具有紧密联系，其中生物量积累越多，积累速率越快，反应器对 CO₂ 的去除率也就越快。

② 光照强度从 50 μmol·m⁻²·s⁻¹ 增大至 100 μmol·m⁻²·s⁻¹ 时，吸附于膜材料表面的小球藻光合作用增强，生物量积累量增多，积累速率加快，反应器对 CO₂ 去除率升高；光照强度从 100 μmol·m⁻²·s⁻¹ 增至 150 μmol·m⁻²·s⁻¹ 过程中，超过光饱和点，生物量积累量、积累速率、反应器对 CO₂ 去除率呈下降趋势。

③ 光照强度、气相 CO₂ 流量、液相培养液流量、初始氮源（NO₃⁻）浓度变化，会对反应器内小球藻生物量积累量、积累速率、CO₂ 去除率变化具有较大影响，而不会对培养液 pH 值、培养液氮源（NO₃⁻）浓度变化产生较大影响。

④ 气相 CO₂ 浓度变化除了会对反应器内小球藻生物量积累量、积累速率、CO₂ 去除率具有较大影响外，还会对培养液 pH 值变化产生较大影响，但不会对培养液氮源（NO₃⁻）浓度变化规律产生较大影响。

⑤ 培养液初始氮源浓度为 0.3g/L 时，吸附于膜材料表面的小球藻对氮源（NO₃⁻）的吸收速率相比初始氮源浓度为 0.9g/L 和 1.5g/L 条件下的要快。但此时氮源浓度较低，藻细胞增殖较慢。

⑥ 反应器在运行 1 天的时间内，吸附于膜材料表面的小球藻对氮源（NO₃⁻）的吸收速率表现为最快，随后的培养时间则趋于平稳下降。

⑦ 在培养普通小球藻，以 BG11 培养基作为培养液时，在本实验条件下，适合所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器运行的最佳条件如下：光照强度为 100 μmol·m⁻²·s⁻¹，气相 CO₂ 浓度为 2% (v/v)，气体流量为 10 mL/min，液相氮源（NO₃⁻）浓度为 1.5g/L，液相流量为 2 mL/min。

5 结 论

本文采用普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*, FACHB-31) 作为实验藻种, 利用平板式光生物反应器, 以补充有碳源的 SE (Bristol's solution) 培养基作为普通小球藻的水环境, 研究了固体基质表面粗糙度、藻细胞接种量、培养液 pH 值和液体流量对小球藻细胞在固体基质表面的吸附特性。在此基础上, 根据膜生物反应器设计原理, 将微藻在固体基质表面的吸附式培养同 CO_2 固定相结合, 设计了具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器及其系统, 并研究了包括光照强度、气相 CO_2 浓度、气体流量、培养液氮源 (NO_3^-) 浓度、液体流量在内的运行参数对所设计反应器内微藻吸附式生长特性和 CO_2 固定特性的影响, 以获得实现该反应器高效微藻培养和 CO_2 固定的最佳运行条件。

全文得到如下结论:

① 在所设计的平板式生物反应器实验系统中, 藻细胞在各载体表面的吸附密度随时间进行呈先增大后逐渐趋于平缓的趋势。

② 用于进行微藻吸附的载体表面粗糙度 R_a 在 $0\sim 1.200\mu\text{m}$ 范围内变化时, 随着载体表面粗糙度 R_a 的增大, 普通小球藻细胞吸附效果逐渐增强; 随着藻液中藻细胞接种量的增大, 普通小球藻在载体表面附着越快, 吸附密度也越大; 当培养液 pH 值为 6 左右或液体流量为 $0.65\text{mL}/\text{min}$ 时, 小球藻在载体表面吸附密度达到最大量。因此, 本实验中各参数对藻细胞吸附密度影响的重要程度依次为藻细胞接种量、培养基 pH 值、液体流量。

③ 所制备的 PTFE-玻璃纤维膜具有较好的强度、透气性、气液分离特性和生物相容性; 适量的 SiO_2 能增大膜材料表面的粗糙度, 增强材料机械性能; 水在膜材料其表面的静态接触角约为 113.62° , 表面极性分量趋近于 0, 为低自由能表面, SEM 观测膜表面为粗糙的孔隙结构, 有利于藻细胞的吸附和生长。

④ 所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器适合进行微藻的吸附式培养和 CO_2 的固定; 在光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 气相侧 CO_2 浓度为 2% (v/v)、流量为 $10\text{mL}/\text{min}$, 液相侧培养液 NO_3^- 浓度为 $1.5\text{g}/\text{L}$ 、流量为 $2\text{mL}/\text{min}$ 工况下, 小球藻细胞在 7 天培养过程中, 其在膜材料表面最大生物量产量为 $97.48\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$, 是采用空气培养条件下生物量产量的 6.26 倍。

⑤ 具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器对 CO_2 具有较高的去除率, 在运行 6 天后去除率达到最大值为 58.54%, 运行 7 天后 CO_2 去除率出现略微下降趋势。而普通小球藻在反应器内的生物量积累量、生物量积累速率以及反应器对 CO_2 的去除率三者具有紧密联系, 其中生物量积累越多, 积累速率越快, 反

反应器对 CO_2 的去除率也就越快。

⑥ 光照强度、气相 CO_2 流量、液相培养液流量、初始氮源 (NO_3^-) 浓度变化, 会对反应器内小球藻生物量积累量、积累速率、 CO_2 去除率变化具有较大影响, 而不会对培养液 pH 值、培养液氮源 (NO_3^-) 浓度变化产生较大影响; 气相 CO_2 浓度变化除了会对反应器内小球藻生物量积累量、积累速率、 CO_2 去除率具有较大影响外, 还会对培养液 pH 值变化产生较大影响, 但不会对培养液氮源 (NO_3^-) 浓度变化规律产生较大影响。

⑦ 反应器在运行 1 天的时间内, 吸附于膜材料表面的小球藻对氮源 (NO_3^-) 的吸收速率在整个实验进程中表现为最快, 并在随后的培养时间趋于平稳下降。培养液初始氮源浓度为 0.3g/L 时, 吸附于膜材料表面的小球藻对氮源 (NO_3^-) 的吸收速率相比初始氮源浓度为 0.9g/L 和 1.5g/L 条件下的要快。但此时氮源浓度较低, 藻细胞增殖较慢。

⑧ 在培养普通小球藻, 以 BG11 培养基作为培养液时, 在本实验条件下, 适合所设计的具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器运行的最佳条件如下: 光照强度为 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 气相 CO_2 浓度为 2%(v/v), 气体流量为 10mL/min, 液相氮源 (NO_3^-) 浓度为 1.5g/L, 液相流量为 2mL/min。

6 后续研究工作展望

本文从普通小球藻细胞在固体基质表面的吸附规律出发，研究了影响小球藻细胞在固体基质表面的吸附规律。为了将微藻高效培养和 CO_2 固定相耦合，根据膜生物反应器的设计原理，自行设计了一种具有气液分离膜的微藻吸附式培养光生物反应器及其系统，并通过改变包括光照强度、气相 CO_2 浓度、气体流量、培养液氮源 (NO_3^-) 浓度、液体流量在内的运行参数，研究了不同运行参数下反应器内微藻吸附式生长特性和反应器对 CO_2 固定特性，获得了适合该反应器运行的最佳条件。但由于微藻种类繁多，不同种类的微藻在不同条件下生长特性存在不同，而本文所设计的光生物反应器相比其他类型的反应器，仍存在微藻产量偏低， CO_2 去除率偏低的问题，并且该培养方法在工业化应用方面还有待发展。因此后续可以在以下几个方面展开工作：

- ① 筛选具有高效固碳能力和适合进行吸附式固定化培养的藻种，研究强化其吸附和生长的途径。
- ② 通过可视化研究，从理论上建立藻细胞的固体基质表面的吸附规律模型，探寻强化藻细胞吸附的方法。
- ③ 设计新型高效、低成本的微藻吸附式培养装置及系统，可采用半干式培养，有利于减少水的投入，可有效降低采收过程的能量损耗。
- ④ 改进气液分离膜的膜材料和膜结构，探寻强化气相传质、实现微藻吸附式高效培养的方法。
- ⑤ 探究微藻吸附式培养中生物膜内能质传递机理，采取措施解决生物膜内严重的光衰减问题和营养物质传输问题，从而提高微藻生物量积累量和积累速率。

致 谢

时光飞逝，研究生的三年学习科研生涯让我感慨万分，学到了很多知识，也懂得了许多做人做事的道理。值此论文完成之际，衷心感谢所有给予过我帮助、关心过我的亲人、老师和同学们。三年的磨练造就了今日的我，让我从一个懵懂的青年转变成为了一个做事踏实认真、思想紧跟时代、能够更好适应社会发展的大人。无论身在何处，我都不会忘记这三年所经历的一切，感谢这三年所发生的一切事和一直陪伴在我身边支持我、鼓励我的人。

本课题的选题和研究工作是在导师廖强教授的悉心指导和帮助下完成的。在三年的研究生生涯中，廖老师渊博的学识和对科研严谨认真的精神都深深感染着我，让我端正了科研的态度，掌握了科学的研究方法，学会了如何克服困难，如何寻找科研中更深层次的道理。每次组会上廖老师的谆谆教诲，不仅增强了我对自己课题研究的信心，而且教会了我如何去思考问题和解决问题，提高了我的思维能力。廖老师不仅仅是我科研上的导师，还是我人生道路上的指路人，他让我明白了要以一颗责任心去对待工作，要以一颗平常心去对待生活。在面临求职就业的那段日子里，廖老师几乎每次与我见面都会关心我找工作的事情，让我的内心充满了无限的感激和感动。虽然三年的研究生生活极为短暂，但廖老师的言传身教和他身上散发出的庞大的正能量让我终生难忘，他将是今后我工作生活中永远的榜样。在此，谨向我最敬爱的导师廖强教授致以最诚挚的谢意！

由衷感谢我的师母朱恂教授！在本课题研究工作进行的过程中，朱老师提出了许多宝贵的并且实质性的意见和建议，开拓了我的思路，激发了我的科研兴趣。在我小论文完成的过程中，朱老师非常耐心和细心地为我修改，并与我讨论文章中的出现的问题，不仅让我学到了很多论文写作和课题研究方面的知识，也让我内心充满了感激和感动。朱老师在工作中力求精益求精，对学生严格要求，在生活中是一位极具亲和力的好老师，对研究所每一个学生都关怀备至，犹如母亲关爱自己的孩子一般。当我有一些心事需要倾诉或者需要帮助的时候，每次找到朱老师，她总会放下手中繁重的工作，非常耐心地聆听我的困难，并且以她丰富的人生经验教导我，为我排忧解难。我很幸运也很幸福能够进入这个研究团队，成为廖老师和朱老师的学生，在此，向我的师母朱恂教授表示深深感谢！祝愿廖老师和朱老师身体健康，工作顺利，家庭幸福！

感谢陈蓉副教授和王永忠副教授！陈老师和王老师曾经作为我们课题组的指导老师，以他们丰富的经验对我的课题提出了很多宝贵意见，给予了我很多支持和鼓励，让我的课题得以顺利完成。两位老师是我们的良师益友，在工作中，他

们经常督促学生，帮助学生解决科研上的困难，在生活中，他们是我们的好朋友，经常同我们开玩笑，给我们的学习生活增添了许多乐趣。在此，感谢陈蓉副教授和王永忠副教授一直以来对我的关心和帮助，祝愿您们身体健康，家庭幸福！此外，也要感谢研究所的王宏副教授、叶丁丁副教授、丁玉栋副教授、李俊教授对我的关心、支持和帮助！感谢研究所已毕业的郭成龙师兄、钟年丙师兄、王艳梅师姐、蒲玉康师兄、苗峻赫师兄、沈磊师兄、谢建师兄对我的照顾和帮助！感谢 101 办公室的赵莎师姐、赵旭师姐，以及胥腾飞、张楠、李林、孙亚辉、常海星、张峥舜、曹刚、熊伟、郑亚萍、石涛、刘玉倩等同学对我的帮助，作为绿色能源组的一员，认识你们是我毕生的荣幸！同时，也要感谢 2011 级与我一起奋斗的同学们，特别是刘忠海、邹文天、邱勇军、李凯、张挥、杨扬、郑季历同学，感谢研究生三年有你们的陪伴，祝愿你们在今后的学习工作中一帆风顺、事业有成！感谢 IETP 所有的同学，感谢曾经同我一起做实验的本科生们，祝愿你们一切顺利！

感谢含辛茹苦养育我成人的父母及亲人们，在他们的默默支持和无私奉献下，我才能顺利完成学业，找到满意的工作，实现了自己的梦想。没有他们就没有今天的我，我将在今后的工作学习中，不断努力，精益求精，以此报答他们对我的养育之恩。在此，祝愿我的父母和亲人们健康长寿、永远幸福快乐！此时此刻，回想起 2012 年的那一天，我的奶奶离开了人世。感谢我的奶奶把我抚养成成人，让我学会做人，懂得感恩。我永远都不会忘记我的奶奶，您的慈祥面庞和谆谆教诲将永远留在我的心底。希望您天堂中能听到我的声音，感受到我的思念。

感谢培养教育我的母校——重庆大学，在这所充满浓厚学术氛围和舒适学习环境的学校中，四年的本科生和三年的研究生生活让我终生难忘。祝愿母校蒸蒸日上、蓬勃发展！

感谢在百忙中抽出时间评阅我论文的老师以及参加我硕士答辩的各位专家和老师们，您们辛苦了！

本课题研究得到了国家自然科学基金（No. 51136007）、重庆市自然科学基金重点项目（No. cstc2013jjB9004）、教育部科学技术研究项目（No. 113053A）的资助，在此一并表示谢意！

朱云龙

二〇一四年五月 于重庆大学

参考文献

- [1] Ahmad A. L., Yasin N. H. M., Derek C. J. C., et al. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2011, 15(1): 584-593.
- [2] 黄英明, 王伟良, 李元广, et al. 微藻能源技术开发和产业化发展思路与策略 [J]. 生物工程学报, 2010, 26(7): 907-913.
- [3] Brennan L., Owende P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2010, 14(2): 557-577.
- [4] Chisti Y. Biodiesel from microalgae [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(3): 294-306.
- [5] Rittmann B. E. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2008, 100(2): 203-212.
- [6] Janssen M., Tramper J., Mur L. R., et al. Enclosed outdoor photobioreactors: Light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003, 81(2): 193-210.
- [7] Chaumont D. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture [J]. Journal of Applied Phycology, 1993, 5(6): 593-604.
- [8] Pulz O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 57(3): 287-293.
- [9] Burlew J. S. Algal culture [J]. From Laboratory to Pilot Plant, Carnegie Inst Washington Publ, 1953, 600(1).
- [10] Samson R., Leduy A. Multistage continuous cultivation of blue *Spirulina* - green alga spir in the flat tank photobioreactors with recycle [J]. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 1985, 63(1): 105-112.
- [11] Ramos De Ortega A., Roux J. Production of *Chlorella* biomass in different types of flat bioreactors in temperate zones [J]. Biomass, 1986, 10(2): 141-156.
- [12] Richmond A., Cheng-Wu Z. Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors [J]. Journal of biotechnology, 2001, 85(3): 259-269.
- [13] Sierra E., Acien F., Fernandez J., et al. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae [J]. Chemical Engineering Journal, 2008, 138(1): 136-147.
- [14] Rodolfi L., Chini Zittelli G., Bassi N., et al. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low *light* - cost photobioreactor [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2009, 104(1): 1-12.

- and Bioengineering, 2009, 102(1): 100-112.
- [15] Sánchez Mirón A., Cerón García M.-C., García Camacho F., et al. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture [J]. Enzyme and microbial technology, 2002, 31(7): 1015-1023.
- [16] Qiang H., Richmond A. Optimizing the population density in *Isochrysis galbana* grown outdoors in a glass column photobioreactor [J]. Journal of Applied Phycology, 1994, 6(4): 391-396.
- [17] Jacob-Lopes E., Cacia Ferreira Lacerda L. M., Franco T. T. Biomass production and carbon dioxide fixation by *Aphanothece microscopica* Nägeli in a bubble column photobioreactor [J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 40(1): 27-34.
- [18] Rasoul-Amini S., Montazeri-Najafabady N., Mobasher M. A., et al. *Chlorella sp.*: A new strain with highly saturated fatty acids for biodiesel production in bubble-column photobioreactor [J]. Applied Energy, 2011, 88(10): 3354-3356.
- [19] Molina E., Fernández J., Acién F., et al. Tubular photobioreactor design for algal cultures [J]. Journal of Biotechnology, 2001, 92(2): 113-131.
- [20] Tredici M. R., Zittelli G. C. Efficiency of sunlight utilization: tubular versus flat photobioreactors [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1998, 57(2): 187-197.
- [21] Acién Fernández F., Hall D. O., Canizares Guerrero E., et al. Outdoor production of *Phaeodactylum tricornutum* biomass in a helical reactor [J]. Journal of biotechnology, 2003, 103(2): 137-152.
- [22] Demirbas A. Use of algae as biofuel sources [J]. Energy Conversion and Management, 2010, 51(12): 2738-2749.
- [23] Molina Grima E., Belarbi E. H., Acién Fernández F. G., et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics [J]. Biotechnology Advances, 2003, 20(7-8): 491-515.
- [24] 林喆, 匡亚莉, 郭进, et al. 微藻采收技术的进展与展望 [J]. 过程工程学报, 2009, 9(6): 1242-1248.
- [25] Christenson L., Sims R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts [J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(6): 686-702.
- [26] Shelef G., Sukenik A., Green M.: Technion Research and Development Foundation Ltd., Haifa (Israel), 1984.
- [27] Shen Y., Yuan W., Pei Z., et al. Microalgae mass production methods [J]. Transactions of the ASABE, 2009, 52(4): 1275-1287.
- [28] Uduman N., Qi Y., Danquah M. K., et al. Dewatering of microalgal cultures: a major

- bottleneck to algae-based fuels [J]. *Journal of renewable and sustainable Energy*, 2010, 2(1): 012701.
- [29] Greenwell H., Laurens L., Shields R., et al. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges [J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2010, 7(46): 703-726.
- [30] Mallick N. Immobilization of microalgae [M]. *Immobilization of Enzymes and Cells*. Springer. 2006: 373-391.
- [31] Travieso L., Benitez F., Weiland P., et al. Experiments on immobilization of microalgae for nutrient removal in wastewater treatments [J]. *Bioresource Technology*, 1996, 55(3): 181-186.
- [32] Fukuda H., Kondo A., Tamalampudi S. Bioenergy: Sustainable fuels from biomass by yeast and fungal whole-cell biocatalysts [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2009, 44(1): 2-12.
- [33] Zhu I. X., Getting T., Bruce D. Review of biologically active filters in drinking water applications [J]. *Journal: American Water Works Association*, 2010, 102(12):
- [34] 马志珍. 微藻固定化培养技术及其应用前景 [J]. *国外水产*, 1993, 3): 1-4.
- [35] Lebeau T., Robert J., Subba Rao D. Biotechnology of immobilized micro algae: a culture technique for the future? [J]. *Algal cultures, analogues of blooms and applications Volume 2*, 2006, 801-837.
- [36] Schumacher G., Sekoulov I. Polishing of secondary effluent by an algal biofilm process [J]. *Water Science & Technology*, 2002, 46(8): 83-90.
- [37] Boelee N., Temmink H., Janssen M., et al. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms [J]. *Water research*, 2011, 45(18): 5925-5933.
- [38] Liehr S. K., Suidan M. T., Eheart J. W. A modeling study of carbon and light limitation in algal biofilms [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, 35(3): 233-243.
- [39] Cao J., Yuan W., Pei Z., et al. A preliminary study of the effect of surface texture on algae cell attachment for a mechanical-biological energy manufacturing system [J]. *Journal of Manufacturing Science and Engineering*, 2009, 131(6): 064505.
- [40] Johnson M. B., Wen Z. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production [J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 2010, 85(3): 525-534.
- [41] Ozkan A., Kinney K., Katz L., et al. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor [J]. *Bioresource technology*, 2012, 114:542-548.
- [42] Christenson L. B., Sims R. C. Rotating algal biofilm reactor and spool harvester for wastewater treatment with biofuels by -products [J]. *E* 1674-84.

- [43] Liu T., Wang J., Hu Q., et al. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production [J]. *Bioresource technology*, 2013, 127: 216-222.
- [44] Cheng P., Ji B., Gao L., et al. The growth, lipid and hydrocarbon production of *Botryococcus braunii* with attached cultivation [J]. *Bioresource technology*, 2013, 138: 95-100.
- [45] Ji C., Wang J., Zhang W., et al. An applicable nitrogen supply strategy for attached cultivation of *Aucutodesmus obliquus* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2013, 1-8.
- [46] Zhang W., Wang J., Wang J., et al. Attached cultivation of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin production [J]. *Bioresource technology*, 2014, 158: 329-335.
- [47] Ugwu C., Aoyagi H., Uchiyama H. Photobioreactors for mass cultivation of algae [J]. *Bioresource technology*, 2008, 99(10): 4021-4028.
- [48] Notermans S., Dormans J., Mead G. Contribution of surface attachment to the establishment of micro-organisms in food processing plants: ~~Organisms~~
- [49] Tanji Y., Morono Y., Soejima A., et al. Structural analysis of a biofilm which enhances carbon steel corrosion in nutritionally poor aquatic environments [J]. *Journal of bioscience and bioengineering*, 1999, 88(5): 551-556.
- [50] Marjaka I. W., Miyanaga K., Hori K., et al. Augmentation of self-purification capacity of sewer pipe by immobilizing microbes on the pipe surface [J]. *Biochemical engineering journal*, 2003, 15(1): 69-75.
- [51] Hori K., Yamashita S., Ishii S. I., et al. Isolation, characterization and application to off-gas treatment of toluene-degrading bacteria [J]. *Journal of chemical engineering of Japan*, 2001, 34(9): 1120-1126.
- [52] Hori K., Matsumoto S. Bacterial adhesion: from mechanism to control [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2010, 48(3): 424-434.
- [53] Wang J., Wan W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2009, 34(2): 799-811.
- [54] Hermansson M. The DLVO theory in microbial adhesion [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1999, 14(1): 105-119.
- [55] Marshall K., Stout R., Mitchell R. Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces [J]. *Journal of General Microbiology*, 1971, 68(3): 337-348.
- [56] Ozkan A., Berberoglu H. Adhesion of *Chlorella vulgaris* on hydrophilic and hydrophobic surfaces; proceedings of the ASME 2011 International Mechanical Engineering Congress and Exposition, F, 2011 [C]. American Society of Mechanical Engineers.
- [57] Stumm W., Morgan J. J. Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters [M]. John Wiley & Sons, 2012.

- [58] Ozkan A., Berberoglu H. Cell to substratum and cell to cell interactions of microalgae [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 112: 302-309.
- [59] Medilanski E., Kaufmann K., Wick L. Y., et al. Influence of the surface topography of stainless steel on bacterial adhesion [J]. Biofouling, 2002, 18(3): 193-203.
- [60] Sekar R., Venugopalan V., Satpathy K., et al. Laboratory studies on adhesion of microalgae to hard substrates [J]. Hydrobiologia, 2004, 512(1-3): 109-116.
- [61] Bayoudh S., Othmane A., Bettaieb F., et al. Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata [J]. Materials Science and Engineering: C, 2006, 26(2): 300-305.
- [62] Ozkan A., Berberoglu H. Adhesion of algal cells to surfaces [J]. Biofouling, 2013, 29(4): 469-82.
- [63] Sorokin C., Krauss R. W. The Effects of Light Intensity on the Growth Rates of Green Algae [J]. Plant physiology, 1958, 33(2): 109.
- [64] Solovchenko A., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S., et al. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa* [J]. Journal of applied phycology, 2008, 20(3): 245-251.
- [65] Yeesang C., Cheirsilp B. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 3034-3040.
- [66] Kumar K., Dasgupta C. N., Nayak B., et al. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(8): 4945-4953.
- [67] Rubio F. C., Camacho F. G., Sevilla J., et al. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003, 81(4): 459-473.
- [68] Ruangsomboon S. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2 [J]. Bioresource technology, 2012, 109: 261-265.
- [69] Shihhsin H., Chunyen C., Joshu C. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N [J]. Bioresource Technology, 2012, 113: 244-252.
- [70] Ji B., Zhang W., Zhang N., et al. Biofilm cultivation of the oleaginous microalgae *Pseudochlorococcum* sp [J]. Bioprocess and biosystems engineering, 2013, 1-7.
- [71] Muller-Feuga A., Le Guédes R., Hervé A., et al. Comparison of artificial light photobioreactors and other production systems using *Porphyridium cruentum* [J]. Journal of applied phycology,

- 1998, 10(1): 83-90.
- [72] Das P., Lei W., Aziz S. S., et al. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light [J]. *Bioresource technology*, 2011, 102(4): 3883-3887.
- [73] Yan C., Zhang L., Luo X., et al. Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent C/N ratios [J]. *Ecological Engineering*, 2013, 51: 24-32.
- [74] Renaud S. M., Thinh L.-V., Lambrinidis G., et al. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures [J]. *Aquaculture*, 2002, 211(1): 195-214.
- [75] Schnurr P. J., Espie G. S., Allen D. G. Algae biofilm growth and the potential to stimulate lipid accumulation through nutrient starvation [J]. *Bioresource technology*, 2013, 136: 337-344.
- [76] Vogel M., Günther A., Rossberg A., et al. Biosorption of U (VI) by the green algae *Chlorella vulgaris* in dependence of pH value and cell activity [J]. *Science of the total environment*, 2010, 409(2): 384-395.
- [77] De Maagd P., Hendriks A. J., Seinen W., et al. pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin-LR [J]. *Water Research*, 1999, 33(3): 677-680.
- [78] Chiswell R. K., Shaw G. R., Eaglesham G., et al. Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition [J]. *Environmental Toxicology*, 1999, 14(1): 155-161.
- [79] 陈锋, 姜悦. 微藻生物技术 [M]. 中国轻工业出版社, 1999.
- [80] Bajpai R., Prokop A., Zappi M. *Algal Biorefineries: Volume 1: Cultivation of Cells and Products* [M]. Imprint: Springer, 2014.
- [81] Becker E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology* [M]. Cambridge University Press, 1994.
- [82] 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.
- [83] Sydney E. B., Sturm W., De Carvalho J. C., et al. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae [J]. *Bioresource technology*, 2010, 101(15): 5892-5896.
- [84] Carvalho A. P., Meireles L. A., Malcata F. X. Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances [J]. *Biotechnology progress*, 2006, 22(6): 1490-1506.
- [85] Märkl H. CO₂ transport and photosynthetic productivity of a continuous culture of algae [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1977, 19(12): 1851-1862.
- [86] Cornet J.-F., Dussap C., Gros J.-B. Kinetics and energetics of photosynthetic micro-organisms in photobioreactors [M]. *Bioprocess and Algae Reactor Technology, Apoptosis*. Springer. 1998:

- 153-224.
- [87] Turpin D. H. Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism [J]. *Journal of Phycology*, 1991, 27(1): 14-20.
- [88] Li Y., Horsman M., Wang B., et al. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans* [J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 2008, 81(4): 629-636.
- [89] Cho S. J., Luong T. T., Oh Y. K. Effects of carbon and nitrogen sources on fatty acid contents and composition in the green microalga, *Chlorella* sp. 227 [J]. *Journal of microbiology and biotechnology*, 2011, 21(10): 1073-1080.
- [90] Borchardt J. A., Azad H. S. Biological extraction of nutrients [J]. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 1968, 1739-1754.
- [91] 潘晓华, 石庆华, 郭进耀, et al. 无机磷对植物叶片光合作用的影响及其机理的研究进展 [J]. *植物营养与肥料学报*, 1997, 3(3): 201.
- [92] Stephens E., Ross I. L., King Z., et al. An economic and technical evaluation of microalgal biofuels [J]. *Nature biotechnology*, 2010, 28(2): 126-128.
- [93] Naumann T., Çebi Z., Podola B., et al. Growing microalgae as aquaculture feeds on twin-layers: a novel solid-state photobioreactor [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2013, 25(5): 1413-1420.
- [94] Walker J., Marsh P. Microbial biofilm formation in DUWS and their control using disinfectants [J]. *Journal of dentistry*, 2007, 35(9): 721-730.
- [95] Carlen A., Nikdel K., Wennerberg A., et al. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin [J]. *Biomaterials*, 2001, 22(5): 481-487.
- [96] Bitton G., Marshall K. C. Adsorption of microorganisms to surfaces [M]. John Wiley and Sons, Inc., 1980.
- [97] Shen Y., Xu X., Zhao Y., et al. Influence of algae species, substrata and culture conditions on attached microalgal culture [J]. *Bioprocess and biosystems engineering*, 2013, 1-10.
- [98] Vandamme D., Foubert I., Muylaert K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production [J]. *Trends in biotechnology*, 2013, 31(4): 233-239.
- [99] Roosjen A., Boks N. P., Van Der Mei H. C., et al. Influence of shear on microbial adhesion to PEO-brushes and glass by convective-diffusion and sedimentation in a parallel plate flow chamber [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2005, 46(1): 1-6.
- [100] 田鑫, 廖强, 党楠, et al. 营养及水力条件影响光合细菌生物膜生长特性实验 [J]. *中国生物工程杂志*, 2009, 29(4): 67-72.
- [101] Irving T. E., Allen D. G. Species and material considerations in the formation and development of microalgal biofilms [J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 2011, 92(2): 283-294.

- [102] Kumar A., Yuan X., Sahu A. K., et al. A hollow fiber membrane photo γ bioreactor for CO sequestration from combustion gas coupled with wastewater treatment: a process engineering approach [J]. *Journal of chemical technology and biotechnology*, 2010, 85(3): 387-394.
- [103] Kalontarov M., Doud D. F., Jung E. E., et al. Hollow fibre membrane arrays for CO₂ delivery in microalgae photobioreactors [J]. *RSC Advances*, 2014, 4(3): 1460-1468.
- [104] Young T. An essay on the cohesion of fluids [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1805, 65-87.
- [105] Good R. J., Elbing E. Generalization of theory for estimation of interfacial energies [J]. *Industrial & Engineering Chemistry*, 1970, 62(3): 54-78.
- [106] Neumann A. W., Gillman C. F., Van Oss C. J. Phagocytosis and surface free energies [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 1974, 49(3): 393-400.
- [107] Oss C. V., Good R., Busscher R. Estimation of the polar surface tension parameters of glycerol and formamide, for use in contact angle measurements on polar solids [J]. *JOURNAL OF DISPERSION SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 1990, 11(1): 75-81.
- [108] Liu Y., Zhao Q. Influence of surface energy of modified surfaces on bacterial adhesion [J]. *Biophysical chemistry*, 2005, 117(1): 39-45.
- [109] Collos Y., Mornet F., Sciandra A., et al. An optical method for the rapid measurement of micromolar concentrations of nitrate in marine phytoplankton cultures [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 11(2): 179-184.

附 录

A. 作者在攻读硕士学位期间发表的论文目录

- [1] 朱云龙, 廖强^{*}, 陈蓉, 朱恂, 王永忠. 固体基质表面小球藻细胞的吸附特性. 环境科学学报. (审稿中)
- [2] 朱云龙, 廖强^{*}, 陈蓉, 朱恂, 王永忠. 固体基质表面小球藻细胞的吸附特性 [EB/OL]. 北京: 中国科技论文在线 [2014-05-14]. (已收录, 已发表)
- [3] 朱云龙, 廖强^{*}, 朱恂, 陈蓉. 具有气液分离膜的光生物内微藻吸附生长及 CO₂固定特性. 拟投稿于中国工程热物理学会第十六届年会传热传质学学术会议论文集. (撰写中)

B. 作者在攻读硕士学位期间获得的荣誉

- [1] 2011-2013 年获重庆大学 A 等奖学金 3 次
- [2] 2013 年参加重庆市第五届“科慧杯”研究生创新实践大赛, 荣获三等奖
- [3] 2013 年获重庆大学工程热物理研究所公益贡献奖
- [4] 2012 年参加重庆大学第二届研究生创新实践大赛, 荣获一等奖
- [5] 2012 年参加生物质能源科技创意国际竞赛, 荣获佳作奖

C. 攻读硕士学位期间参与的科研项目

- [1] 《多相光生化转化过程中的界面行为及能质传递强化》, 国家自然科学基金重点项目 (No. 51136007)。
- [2] 《微藻光生物反应器内多相流界面行为及光生化转化过程强化》, 重庆市自然科学基金重点项目 (No. cstc2013jjB9004)。
- [3] 《燃煤电厂海藻固碳光生物反应器及能源综合利用集成系统研究》, 教育部科学技术研究项目 (No. 113053A)。