

# 无机碳源对栅藻 LX1 生长及油脂积累特性的影响

李鑫<sup>1</sup>, 胡洪营<sup>1,2\*</sup>, 张玉平<sup>1</sup>

(1. 清华大学环境学院, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084; 2. 清华大学深圳研究生院, 深圳 518055)

摘要: 以二级出水为培养基, 比较了对照组和补充碳源( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{CO}_2$ ) 组栅藻 LX1 的生长和油脂积累特性. 培养 14 d, 4 组试验中栅藻 LX1 的生长及油脂积累特性均无显著差别, 藻细胞生物量、油脂及三酰甘油酯产量分别为 0.70~0.77、0.27~0.34 和 0.029~0.033  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 单位藻细胞油脂含量约为 35%~45%. 藻细胞光合作用导致水体 pH 升高至 9.2 左右, 有利于  $\text{CO}_2$  向水中传质. 对照组中, 传质进入二级出水的  $\text{CO}_2$  总量为 1.0  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 占藻细胞固定  $\text{CO}_2$  总量的 97%. 计算结果表明, 通过传质进入二级出水中的  $\text{CO}_2$  能够满足栅藻 LX1 生长及油脂合成对碳的需求. 因此, 利用二级出水培养栅藻 LX1, 无需额外添加碳源.

关键词: 栅藻; 二级出水; 生长特性; 油脂积累; 无机碳源

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)08-2260-07

## Effect of Inorganic Carbon Supplement on the Growth and Lipid Accumulation Properties of *Scenedesmus* sp. LX1

LI Xin<sup>1</sup>, HU Hong-ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Yu-ping<sup>1</sup>

(1. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China)

**Abstract:** With secondary effluent as growth medium, the growth and lipid accumulation properties of *Scenedesmus* sp. LX1 in the control and carbon supplement ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$  and  $\text{CO}_2$ ) groups were compared. After 14 days of cultivation, there was no significant difference in growth and lipid accumulation of *Scenedesmus* sp. LX1 among the 4 groups. The algal biomass, lipid and triacylglycerols production were 0.70-0.77  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 0.27-0.34  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and 0.029-0.033  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively, and the lipid content per algal biomass was 35%-45%. The microalgal photosynthesis would increase the water's pH to about 9.2, which could induce  $\text{CO}_2$  transferring into secondary effluent. In control group, the amount of  $\text{CO}_2$  transferring from atmosphere into secondary effluent was 1.0  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , occupying 97% of total fixed  $\text{CO}_2$  by microalga. Calculation shows that, the  $\text{CO}_2$  transferring from atmosphere into secondary effluent is enough to support microalgal growth and lipid accumulation. Therefore, to cultivate *Scenedesmus* sp. LX1 in secondary effluent, there is no need of carbon supplement.

**Key words:** *Scenedesmus*; secondary effluent; growth characteristic; lipid accumulation; inorganic carbon source

近年来, 微藻在生物柴油制备<sup>[1-5]</sup>和污水深度脱氮除磷<sup>[6-10]</sup>方面受到了越来越多的关注, 并逐步得到研究, 为缓解 21 世纪人类面临的化石能源危机<sup>[11,12]</sup>和水质危机<sup>[13,14]</sup>提供了可能的解决途径. 基于微藻的污水处理和高价值生物能源生产耦合系统<sup>[15]</sup>以污水二级出水为资源, 可实现污水处理系统从“处理工艺”向“生产工艺”的转化, 在深度处理污水的同时, 以污水中的氮磷为营养盐培养微藻, 获得高价值的生物能源和生物资源, 在未来能源、资源愈加紧张的严峻形式下具有更加广阔的发展前景<sup>[16]</sup>.

碳、氮、磷是满足藻细胞生长的三大必需营养元素, 同时充足的碳元素也是保证藻细胞大量积累油脂的必要条件<sup>[17]</sup>. 研究二级出水中的无机碳含量能否满足藻细胞生长和油脂积累对碳的需要, 对于确定耦合系统的可行性具有重要意义, 但目前尚鲜见这方面的系统研究. 补充碳源是微藻生物柴油领域

常见的生长及产油促进方法. 一些研究者通过添加有机碳源异养培养可获得较高藻生物量 (10~15  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和高油脂含量 (50%~60%)<sup>[18-20]</sup>, 但是添加有机碳源会额外增加培养成本, 同时与成熟技术 (如厌氧发酵) 相比, 能量转化效率较低<sup>[21]</sup>. 本研究分析了在生活污水二级出水培养体系中, 补充无机碳源 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{CO}_2$ ) 对藻类生长和油脂积累特性的影响, 并首次系统进行了藻类生长过程中的碳平衡分析.

收稿日期: 2010-05-25; 修订日期: 2010-11-29

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目 (5082580); “十一五”国家科技支撑计划项目 (2007BAC22B02)

作者简介: 李鑫 (1983~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: lx02@mails.tsinghua.edu.cn

\* 通讯联系人, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

## 1 材料与方

### 1.1 材料

#### 1.1.1 水样

生活污水二级出水(简称“二级出水”)取自北京某城市生活污水处理厂的二沉池出水,水质如表 1 所示。

表 1 北京某城市生活污水处理厂二沉池出水水质  
Table 1 Characteristics of secondary effluent in a domestic wastewater treatment plant in Beijing

水质指标	指标值	水质指标	指标值
TN/mg·L <sup>-1</sup>	15.0 ± 0.2	pH	7.6
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/mg·L <sup>-1</sup>	未检出	浊度/NTU	1.08
TP/mg·L <sup>-1</sup>	1.5 ± 0.1	溶解性有机碳/mg·L <sup>-1</sup>	13.6
COD/mg·L <sup>-1</sup>	15.6 ± 3.2	溶解性无机碳/mg·L <sup>-1</sup>	37.0
悬浮物/mg·L <sup>-1</sup>	6.2 ± 0.8		

#### 1.1.2 藻种

栅藻 LX1 (*Scenedesmus* sp. LX1), 由课题组在前期研究中分离获得<sup>[21]</sup>。藻种保存于稀释 50% 的 BG11 培养基中。

### 1.2 试验与分析方法

#### 1.2.1 藻细胞培养

向 500 mL 锥形瓶中加入 200 mL 二级出水, 高温高压灭菌(121℃, 30 min), 取 5 mL 藻种液接种至上述二级出水中, 放入光照培养箱中培养。培养条件: 光照度 1 800 lx, 光暗比 14 h: 10 h, 温度 25℃。

试验共分为 4 组: 对照组, 不添加任何碳源; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 组, 添加 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 添加量相当于 100 mg·L<sup>-1</sup> 无机碳; NaHCO<sub>3</sub> 组, 添加 NaHCO<sub>3</sub>, 添加量同上; CO<sub>2</sub> 组, CO<sub>2</sub> 和空气混合气体曝气, CO<sub>2</sub> 在混合气体中的体积分数为 5%, 曝气量约为 1 L·min<sup>-1</sup>。

#### 1.2.2 藻细胞计数

每天测定藻细胞培养液在 650 nm 下的吸光度值  $D_{650}$ 。根据前期研究结果, 藻细胞密度  $N$  (个·mL<sup>-1</sup>) 和藻细胞干重 DW (g·L<sup>-1</sup>) 与  $D_{650}$  的关系分别为<sup>[10]</sup>:

$$N = 9.52 \times 10^6 D_{650} + 70\,957 \quad (1)$$

$$(R = 0.997)$$

$$DW = 0.493 D_{650} + 0.017 \quad (2)$$

$$(R = 0.989)$$

#### 1.2.3 水质指标测定

水质指标的测定均参照文献[22]。总氮(TN)测定采用过硫酸钾氧化紫外分光光度法; 氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)测定采用水杨酸-次氯酸盐光度法; 总磷

(TP)测定采用钼锑抗分光光度法; 化学需氧量(COD)测定采用重铬酸钾法; 悬浮物(SS)测定采用 105℃ 烘干法; pH 值测定采用标准电极法; 浊度测定采用奥立龙 AQ4500 型便携式浊度计; 溶解性有机碳(DOC)测定采用 TOC-V<sub>CPH</sub> (SHIMADZU) 型总有机碳分析仪, 水样通过 0.45 μm 滤膜过滤, 取滤出液测定总有机碳含量; 溶解性无机碳(DIC)测定采用离子色谱法, 水样通过 0.45 μm 滤膜过滤, 测定滤出液中碳酸根与碳酸氢根浓度之和, 再转换为总无机碳浓度, 离子色谱型号 ICS-2000, 色谱柱型号 RFICTM Ion Pac® RAS II-HC, 4 × 250 mm Analytical, 预柱型号 RFICTM Ion Pac® RAG II-HC, 4 × 250 mm Guard。

#### 1.2.4 藻细胞元素分析

采用元素分析仪(CE-440)分析栅藻 LX1 藻细胞中的 C、H、O、N 元素含量; 采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES) (PThermo XII) 分析栅藻 LX1 藻细胞中的 P 元素含量。

#### 1.2.5 藻细胞油脂含量分析

取 40 mL 藻液, 离心浓缩至 0.8 mL, 向其中加入 2 mL 甲醇和 1 mL 氯仿, 充分混合 2 min。再加入 1 mL 氯仿, 混合 30 s; 加入 1 mL 水, 混合 30 s。离心(4 000 r·min<sup>-1</sup> × 10 min), 吸取全部氯仿层(底层), 60℃ 氮吹。将吹干后的离心管置于室温下干燥至恒重, 称取离心管前后质量变化, 即油脂重量。

三酰甘油酯(triacylglycerols, TAG)是合成生物柴油的主要原料<sup>[23, 24]</sup>。油脂含量测定结束之后, 将干燥油脂溶解在 0.4 mL 异丙醇中, 再通过酶比色试剂盒法测定油脂中的 TAG 含量<sup>[5]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 无机碳源补给对栅藻 LX1 生长特性的影响

栅藻 LX1 在不同无机碳源补给条件下的生长曲线如图 1 所示。4 组试验中, 藻细胞的初始接种密度均约为 3.0 × 10<sup>5</sup> 个·mL<sup>-1</sup>。培养过程中, 适应期和对数增长期内不同试验组的藻细胞生长状况差别较明显; 进入过渡期后, 除 CO<sub>2</sub> 组之外, 其他各组的藻细胞生长情况基本一致。培养第 14 d(稳定期), 各组的最大藻密度无显著差异(Independent Samples *t*-test,  $n = 3$ ,  $p < 0.01$ ), 约为 1.3 × 10<sup>7</sup> ~ 1.5 × 10<sup>7</sup> 个·mL<sup>-1</sup>。

栅藻 LX1 在对数增长期的比生长速率可通过式(3)进行计算。

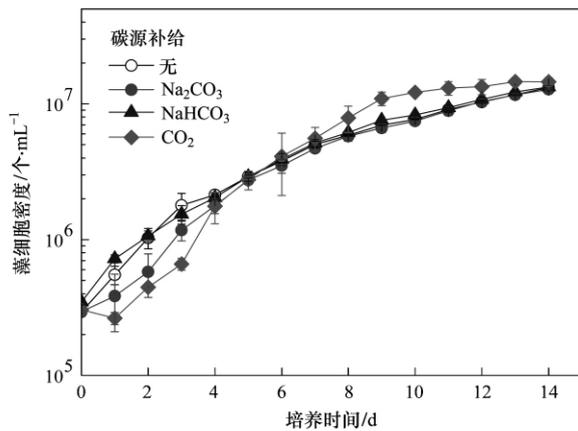


图1 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of inorganic carbon supplement

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad (3)$$

式中  $\mu$  为对数增长期的比生长速率 ( $d^{-1}$ ) ,  $t_1$  和  $t_2$  分别为对数增长期的开始和结束时间 (d) ,  $N_1$  和  $N_2$  分别为  $t_1$  和  $t_2$  时刻对应的藻细胞密度 (个· $mL^{-1}$ ) .

由式 (3) 可得 , 对照组、 $Na_2CO_3$  组、 $NaHCO_3$  组和  $CO_2$  组中栅藻 LX1 的  $\mu$  分别为 0.62、0.73、0.73 和 0.73  $d^{-1}$  . 添加无机碳源后 , 栅藻 LX1 的  $\mu$  略有升高 , 但差异并不显著 (Independent Samples  $t$ -test ,

表2 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 生长的 Logistic 模型参数

Table 2 Logistic parameters of *Scenedesmus* sp. LX1's growth under different kinds of inorganic carbon supplement

试验组	对照	$Na_2CO_3$	$NaHCO_3$	$CO_2$
$K \times 10^6 / \text{个} \cdot \text{mL}^{-1}$	$13.2 \pm 0.3$	$12.8 \pm 0.1$	$13.3 \pm 0.3$	$14.6 \pm 1.0$
$R_{\max} \times 10^6 / \text{个} \cdot (\text{mL} \cdot \text{d})^{-1}$	$1.31 \pm 0.04$	$1.46 \pm 0.07$	$1.37 \pm 0.04$	$2.24 \pm 0.16$
$r / d^{-1}$	$0.40 \pm 0.01$	$0.46 \pm 0.03$	$0.41 \pm 0.00$	$0.62 \pm 0.09$

综上 , 添加无机碳源没有增大栅藻 LX1 在稳定期的最大生物量 , 但会不同程度地提高藻细胞生长速率 , 尤其是  $CO_2$  曝气 , 对  $R_{\max}$  和  $r$  有明显的促进作用 . 其原因可能是 : 曝气对藻液具有良好的搅拌作用 , 可增进藻细胞与二级出水之间的营养物质交换 ; 使藻细胞分布均匀 , 更有利于充分接受光照 ; 同时 , 曝气还可脱除藻液中积累的  $O_2$  (藻细胞光合作用所释放) , 消除  $O_2$  积累对藻细胞生长的抑制作用 .

## 2.2 无机碳源补给对栅藻 LX1 油脂积累特性的影响

培养 14 d 进入稳定期后 , 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 的单位藻细胞油脂含量 ( $g/g$  , 干重) 和单位油脂 TAG 含量 ( $g/g$  , 干重) 如图 2 所示 , 藻细胞生物量、油脂及 TAG 产量如表 3 所示 . 添加无机碳源试验组栅藻 LX1 的油脂 (TAG) 含量和油脂

$n = 3$  ,  $p > 0.24$  ) .

Logistic 模型是描述有限环境下种群生物量增长速率具密度制约特点的经典种群增长模型<sup>[3]</sup> :

$$N = \frac{K}{1 + e^{-rt}} \quad (4)$$

$$\frac{dN}{dt} = rN \left( \frac{K - N}{K} \right) \quad (5)$$

式中  $N$  :  $t$  时刻的种群密度 (个· $mL^{-1}$ ) ;  $t$  : 培养时间 (d) ;  $K$  : 种群最大密度 (个· $mL^{-1}$ ) ;  $a$  : 常数 , 表示曲线对原点的相对位置 ;  $r$  : 种群的内禀增长速率 ( $d^{-1}$ ) , 指单个个体潜在的最大增长速率 ;  $dN/dt$  : 种群生物量增长速率 [个·( $mL \cdot d$ ) $^{-1}$ ] .

式 (4) 表示种群生物量随时间变化的生长曲线 , 具“S”型特征 . 式 (5) 表示生物量增长速率随密度变化的规律 , 当密度为最大密度一半时 , 生物量的增长速率最大 , 为  $R_{\max} = rK/4$  个·( $mL \cdot d$ ) $^{-1}$  .

将栅藻 LX1 在不同无机碳源补给条件下的生长曲线通过 Logistic 模型拟合 , 可获得相关的 Logistic 模型参数 :  $K$ 、 $R_{\max}$  和  $r$  , 如表 2 所示 . 与对照组相比 ,  $Na_2CO_3$  组和  $CO_2$  组中栅藻 LX1 的  $R_{\max}$  分别提高了 11.5% 和 70.1% ,  $r$  分别提高了 15% 和 55% . 且  $CO_2$  组中  $R_{\max}$  和  $r$  的提高均具有显著性 (Independent Samples  $t$ -test ,  $n = 3$  ,  $p < 0.01$ ) .

(TAG) 产量与对照组相比均无显著差异 (Independent Samples  $t$ -test ,  $n = 3$  ,  $p > 0.20$ ) . 可见 , 在本研究范围内 , 添加无机碳源对栅藻 LX1 的油脂积累特性无影响 .

表3 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 的藻细胞生物量、油脂及 TAG 产量 (培养 14 d) /  $g \cdot L^{-1}$

Table 3 Algal biomass , lipid and TAG production of *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of inorganic carbon supplement

试验组	(14-day cultivation) / $g \cdot L^{-1}$			
	对照组	$Na_2CO_3$ 组	$NaHCO_3$ 组	$CO_2$ 组
藻生物量	$0.70 \pm 0.01$	$0.70 \pm 0.01$	$0.76 \pm 0.01$	$0.77 \pm 0.06$
油脂产量	$0.28 \pm 0.00$	$0.28 \pm 0.03$	$0.34 \pm 0.06$	$0.27 \pm 0.00$
TAG 产量	$0.030 \pm 0.003$	$0.030 \pm 0.002$	$0.029 \pm 0.004$	$0.033 \pm 0.000$

## 2.3 栅藻 LX1 培养过程中的碳平衡分析

栅藻 LX1 培养过程中藻液的 pH 变化如图 3 所

示. 第 3 d 后, 对照组、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组和  $\text{NaHCO}_3$  组的 pH 基本稳定在 9.2 左右,  $\text{CO}_2$  组的 pH 基本稳定在 7.5 左右.

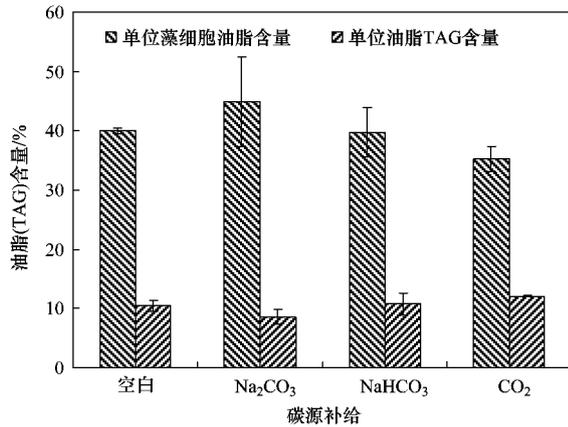


图 2 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 的单位藻细胞油脂含量及单位油脂 TAG 含量 (培养 14 d)

Fig. 2 Lipid content per algal biomass and TAG content per lipid of *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of inorganic carbon supplement (14-day cultivation)

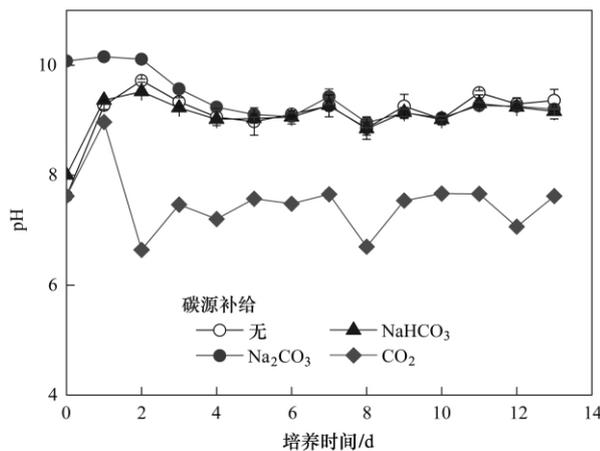


图 3 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 培养过程中藻液的 pH 变化

Fig. 3 Changes of algal culture's pH during *Scenedesmus* sp. LX1's cultivation under different kinds of inorganic carbon supplement

栅藻 LX1 培养过程中二级出水的无机碳 (包括  $\text{HCO}_3^-$  和  $\text{CO}_3^{2-}$  中所含的碳, 不包括游离的  $\text{CO}_2$ , 下同) 浓度变化如图 4 所示. 对照组、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组和  $\text{NaHCO}_3$  组中二级出水的无机碳浓度变化趋势大体一致, 均为先下降后上升, 之后逐渐保持平稳.  $\text{CO}_2$  组中二级出水的无机碳浓度在培养过程中整体呈上升趋势. 藻细胞生长进入稳定期后, 不同碳源补给条

件下二级出水中的无机碳浓度有较大差异, 总体而言其相互关系为:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组 >  $\text{NaHCO}_3$  组 >  $\text{CO}_2$  组 > 对照组.

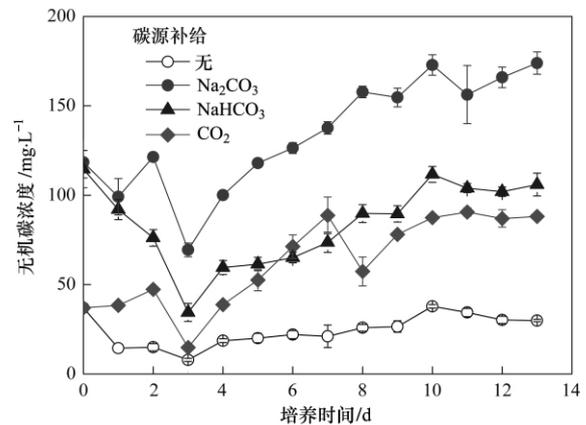


图 4 不同无机碳源补给条件下栅藻 LX1 培养过程中二级出水的无机碳浓度变化

Fig. 4 Changes of secondary effluent's inorganic carbon concentration during *Scenedesmus* sp. LX1's cultivation under different kinds of inorganic carbon supplement

在培养过程 (第 3 d 之后) 中, 由于对照组、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组和  $\text{NaHCO}_3$  组的藻液呈碱性, 因此有利于空气中的  $\text{CO}_2$  通过传质作用进入二级出水, 为藻细胞生长提供无机碳. 同时, 由于  $\text{CO}_2$  的传质速率大于藻细胞对  $\text{CO}_2$  的同化速率, 因此部分未被同化的  $\text{CO}_2$  会转化为  $\text{HCO}_3^-$  或  $\text{CO}_3^{2-}$  的形式, 使二级出水中的无机碳浓度得以积累. 培养第 10 d 后, 对照组、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组和  $\text{NaHCO}_3$  组二级出水中的无机碳浓度基本保持不变, 说明此时藻细胞密度高, 对无机碳的需求量大,  $\text{CO}_2$  的传质速率等于同化速率.

$\text{CO}_2$  传质进入二级出水的总量与藻细胞生物量及二级出水中无机碳浓度的关系如式 (6) 所示.

$$\text{CO}_2 \text{ 传质量} = \text{藻细胞中的碳元素增量} +$$

$$\text{二级出水中的无机碳浓度增量} \quad (6)$$

式中, “增量”指某时刻相对于初始时刻的增量值.

通过对栅藻 LX1 的藻细胞元素分析, 可知其藻细胞分子式为  $\text{C}_{297}\text{H}_{515}\text{O}_{170}\text{N}_{26}\text{P}$ . 假设培养过程中藻细胞的分子组成不发生变化, 结合式 (2)、式 (6) 及图 4, 可估算  $\text{CO}_2$  传质进入二级出水的累积量 (图 5). 可见, 随着培养过程的进行, 传质进入二级出水中的  $\text{CO}_2$  逐渐增多. 培养至第 14 d, 对照组、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组、 $\text{NaHCO}_3$  组和  $\text{CO}_2$  组中,  $\text{CO}_2$  的累积传质量分别为 1.0、1.2、1.1 和 1.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 占藻细胞固定  $\text{CO}_2$  总量的 97%、119%、98% 和 114%.

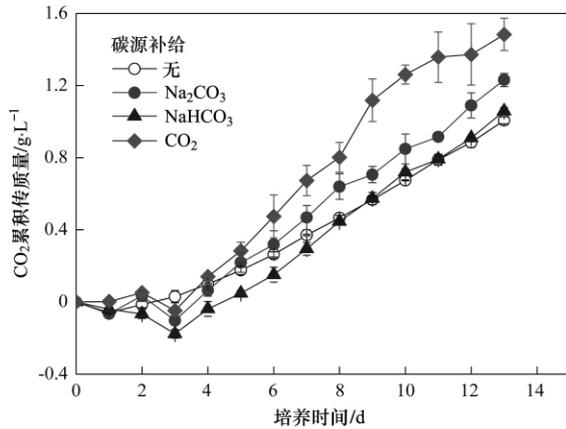


图 5 不同碳源补给条件下栅藻 LX1 培养过程中 CO<sub>2</sub> 传质进入二级出水中的量

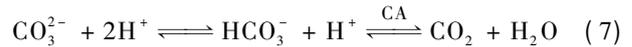
Fig. 5 Transportation amount of CO<sub>2</sub> into secondary effluent during *Scenedesmus* sp. LX1's cultivation under different kinds of inorganic carbon supplement

### 3 讨论

碳元素是藻细胞生长所需的重要营养元素之一,也为藻细胞合成油脂提供碳骨架.因此,碳元素在藻细胞生长及油脂合成等生命活动中发挥着重要作用.然而,本研究结果表明,在二级出水中培养栅藻 LX1,外加无机碳源对藻细胞的最大生物量、油脂

及 TAG 产量均无显著影响.该结果与空气中 CO<sub>2</sub> 向二级出水中的传质、藻细胞对二级出水中无机碳的利用以及二级出水中 CO<sub>2</sub> 向 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 的转换相关.

培养前 3 d,对照组、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 组和 NaHCO<sub>3</sub> 组中的无机碳(包括 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) 浓度呈下降趋势(图 4),因此可以推测,前 3 d 培养过程中栅藻 LX1 所利用碳源的一部分来自培养液中的 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>),但是藻细胞通常不直接吸收 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>,而是首先通过胞外 CA 酶将 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 转化为 CO<sub>2</sub>,再转运至藻细胞被利用[见图 6 (a)].反应方程式如式(7):



同时,由式(7)可见,藻细胞利用 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) 作为碳源会导致二级出水 pH 升高,这与本研究观察到的培养前 3 d pH 呈总体上升趋势的现象相一致(CO<sub>2</sub> 组除外,见图 3).

培养 3 d 后,对照组、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 组和 NaHCO<sub>3</sub> 组中二级出水 pH 已上升到较高的碱性水平(9.2 左右),有利于空气中的 CO<sub>2</sub> 向二级出水中传质.如前文所述,由于此时藻细胞对 CO<sub>2</sub> 的同化速率小于 CO<sub>2</sub> 向二级出水中的传质速率,因此藻细胞在该阶段只利用由空气传质进入二级出水中的 CO<sub>2</sub>,而不再通过 CA 酶的转化作用利用 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> [见图 6 (b)].

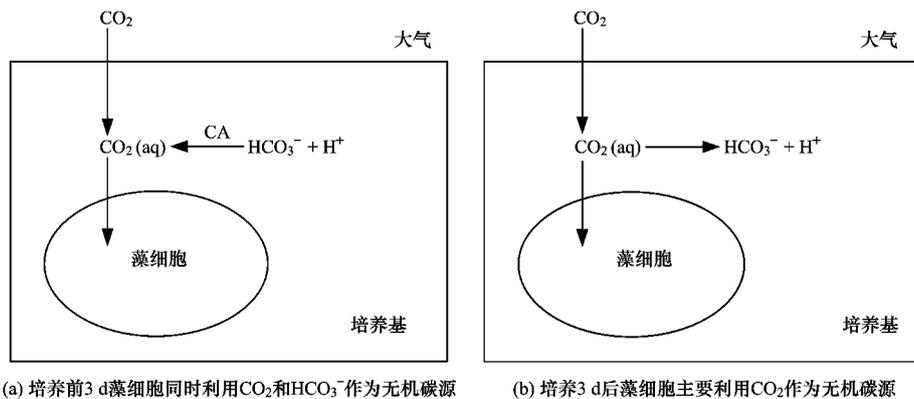


图 6 不同培养阶段栅藻 LX1 对无机碳源的利用形式

Fig. 6 Different utilization mode of inorganic carbon by *Scenedesmus* sp. LX1 in different cultivation periods

由于在培养过程中,对照组、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 组和 NaHCO<sub>3</sub> 组的二级出水 pH 呈碱性,因此空气中 CO<sub>2</sub> 向二级出水中的传质量可通过计算求得其理论值.

在该系统中,空气中 CO<sub>2</sub> 向二级出水表面进行分子扩散的同时,在二级出水表面与 OH<sup>-</sup> 可发生瞬时化学反应.即在整個过程中,既有分子扩散,又有化学反应,这 2 种过程的相对速率决定了整个过程

的性质和速率.由于 CO<sub>2</sub> 在二级出水表面发生化学反应的速率大大快于分子扩散速率,因此 CO<sub>2</sub> 向二级出水中的传质速率只受气体分子扩散传质控制.扩散传质控制的界面上有化学反应的稳态传质通量表达式为<sup>[25]</sup>:

$$N_{\text{CO}_2} = - \frac{D_{\text{CO}_2, \text{air}} c_{\text{air}}}{L} \ln \frac{c_{\text{air}} + c_{\text{CO}_2}}{c_{\text{air}}} \quad (8)$$

式中,  $N_{\text{CO}_2}$  为  $\text{CO}_2$  的传质通量 [ $\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$ ],  $D_{\text{CO}_2, \text{air}}$  为  $\text{CO}_2$  在空气中进行扩散的分子扩散系数 ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )  $c_{\text{air}}$  为空气的物质的浓度 ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $c_{\text{CO}_2}$  为大气中  $\text{CO}_2$  的物质的浓度 ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $L$  为大气气相主体至藻液液面的距离 (m)。

已知  $D_{\text{CO}_2, \text{air}}$  为  $0.153 \times 10^{-4} \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $c_{\text{air}}$  为  $40.5 \text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ , 假设大气中的  $\text{CO}_2$  体积分数为  $300 \times 10^{-6}$ , 则  $c_{\text{CO}_2}$  为  $1.23 \times 10^{-2} \text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ,  $L$  为  $0.01 \text{m}$ 。将以上参数代入式 (8), 可计算得到  $\text{CO}_2$  的稳态传质通量  $N_{\text{CO}_2}$  为  $1.86 \times 10^{-5} \text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$ 。

在  $500 \text{mL}$  锥形瓶内装液  $200 \text{mL}$  的条件下, 藻液的液面面积约为  $7.9 \times 10^{-3} \text{m}^2$ , 则每天扩散进入二级出水的  $\text{CO}_2$  量约为:

$$\begin{aligned} & 1.86 \times 10^{-5} \text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1} \times 7.9 \times 10^{-3} \text{m}^2 \times \\ & (3600 \times 24) \text{s} \cdot \text{d}^{-1} = 1.26 \times 10^{-2} \text{mol} \cdot \text{d}^{-1} \\ & = 0.55 \text{g} \cdot \text{d}^{-1} \end{aligned}$$

假设空气中的  $\text{CO}_2$  以该恒定速率向二级出水中传质, 则培养  $14 \text{d}$  的传质总量为  $7.8 \text{g} \text{CO}_2$ 。这是通过稳态传质进入到二级出水中  $\text{CO}_2$  量的最大理论值。通过培养前后栅藻 LX1 的干重变化及试验测得的藻细胞元素组成, 可计算得到培养  $14 \text{d}$  栅藻 LX1 固定的  $\text{CO}_2$  量为  $0.24 \text{g} \text{CO}_2$ 。可见, 由空气中传质进入二级出水的  $\text{CO}_2$  理论量远远大于藻细胞生长所需固定的  $\text{CO}_2$  量。

以上计算结果表明, 在耦合系统中, 二级出水本身含有的碳酸盐/碳酸氢盐以及藻细胞光合作用导致的高 pH 值 (9.2 左右), 使得空气中通过扩散传质进入二级出水中的  $\text{CO}_2$  足以满足栅藻 LX1 生长及油脂合成对无机碳的需求, 无需额外添加无机碳, 从而可节约微藻培养成本。

#### 4 结论

(1) 不同碳源补给条件下, 栅藻 LX1 的生长及油脂积累特性无显著差别, 藻细胞生物量、油脂及 TAG 产量分别为  $0.70 \sim 0.77$ 、 $0.27 \sim 0.34$  和  $0.029 \sim 0.033 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(2) 培养  $14 \text{d}$ , 对照组、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  组、 $\text{NaHCO}_3$  组和  $\text{CO}_2$  组进入二级出水的  $\text{CO}_2$  累积传质量分别为  $1.0$ 、 $1.2$ 、 $1.1$  和  $1.5 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 占栅藻 LX1 固定  $\text{CO}_2$  总量的  $97\%$ 、 $119\%$ 、 $98\%$  和  $114\%$ 。

(3) 在耦合系统中利用二级出水培养栅藻 LX1 通过传质进入二级出水中的  $\text{CO}_2$  足以满足藻细胞生长及油脂合成对无机碳的需求, 无需额外添加碳源。

#### 参考文献:

- [1] Chisti Y. Biodiesel from microalgae [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, **25** (3): 294-306.
- [2] Harun R, Singh M, Forde G M, et al. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products [J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2010, **14** (3): 1037-1047.
- [3] 李鑫, 胡洪营, 杨佳. LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 生长及产油特性的影响 [J]. *环境科学*, 2010, **31** (2): 513-519.
- [4] Mulbry W, Kondrad S, Buyer J. Treatment of dairy and swine manure effluents using freshwater algae: fatty acid content and composition of algal biomass at different manure loading rates [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2008, **20** (6): 1079-1085.
- [5] Li X, Hu H Y, Yang J, et al. Enhancement effect of ethyl-2-methyl acetoacetate on triacylglycerols production by a freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1 [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101** (24): 9819-9821.
- [6] Aslan S, Kapdan I K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae [J]. *Ecological Engineering*, 2006, **28** (1): 64-70.
- [7] Garcia J, Green B, Oswald W. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2006, **97** (14): 1709-1715.
- [8] Li X, Hu H Y, Gan K, et al. Growth and nutrients removal properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources [J]. *Ecological Engineering*, 2010, **36** (4): 379-381.
- [9] Munoz R, Guieysse B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review [J]. *Water Research*, 2006, **40** (15): 2799-2815.
- [10] Li X, Hu H Y, Gan K, et al. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101** (14): 5494-5500.
- [11] Palligarnai T, Vasudevan, Michael B. Biodiesel production-current state of the art and challenges [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2008, **35** (5): 421-430.
- [12] Bruce E R. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, **100** (2): 203-212.
- [13] 申欢, 胡洪营, 潘永宝, 等. 用于净化景观水体水质的人工湿地设计 [J]. *中国给水排水*, 2007, **23** (2): 39-42.
- [14] 李鑫, 胡洪营, 杨佳, 等. 再生水景观利用的氮磷水质标准确定方法 [J]. *生态环境学报*, 2009, **18** (6): 2404-2408.
- [15] 胡洪营, 李鑫. 利用污水资源生产微藻生物柴油的关键技术及潜力分析 [J]. *生态环境学报*, 2010, **19** (3): 739-744.
- [16] 胡洪营, 李鑫, 杨佳. 基于微藻细胞培养的水质深度净化与高价值生物质生产耦合技术 [J]. *生态环境学报*, 2009, **18** (3): 1122-1127.
- [17] Courchesne N M D, Parisien A, Wang B, et al. Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches [J]. *Journal of Biotechnology*,

- 2009 , **141** ( 1-2 ) : 31-41.
- [18] Miao X L , Wu Q Y. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil [J]. *Bioresource Technology* , 2006 , **197** ( 6 ) : 841-846.
- [19] Xu H , Miao X L , Wu Q Y. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters [J]. *Journal of Biotechnology* , 2006 , **126** ( 4 ) : 499-507.
- [20] Liang Y , Sarkany N , Cui Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic , heterotrophic and mixotrophic growth conditions [J]. *Biotechnology Letters* , 2009 , **31** ( 7 ) : 1043-1049.
- [21] Li X , Hu H Y , Yang J. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly-isolated freshwater microalga , *Scenedesmus* sp. LX1 , growing in secondary effluent [ J ]. *New Biotechnology* , 2010 , **27**( 1 ) : 59-63.
- [22] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. ( 第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [23] Takagi M , Watanabe K , Yamaberi K , *et al.* Limited feeding of potassium nitrate for intracellular lipid and triglyceride accumulation of *Nannochloris* sp. UTEX LB1999 [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology* , 2000 , **54** ( 1 ) : 112-117.
- [24] Rodolfi L , Zittelli G C , Bassi N , *et al.* Microalgae for oil: strain selection , induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor [J]. *Biotechnology and Bioengineering* , 2009 , **102** ( 1 ) : 100-112.
- [25] 胡洪营 , 张旭 , 黄霞 , 等. 环境工程原理 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2005. 193-194.