

溶气气浮法采收盐藻(*Dunaliella salina*)细胞

崔景芹¹, 郑毅², 丛威¹, 蔡昭铃¹

(1. 中国科学院过程工程所生化工程国家重点实验室, 北京 100080; 2. 北京化工大学化学工程学院, 北京 100029)

摘要: 初步探讨了不添加絮凝剂和表面活性剂时用溶气气浮法采收盐藻细胞的工艺条件, 结果表明, 藻液 pH 值、溶气压(P_S)、溶气水进水流量(Q_W)、溶气水/原料藻液体积比(水液比 α_{WF})对采收效果有重要影响. 本实验条件下, 调节藻液 pH 值为 11.5, 在 $P_S = 0.39$ MPa, $Q_W = 7$ ml/s, $\alpha_{WF} = 1.5$ 的气浮操作条件下, 细胞采收率和浓缩倍数分别达 86.4%~96.4% 和 2.38~5.57. 表明气浮法可以安全、高效地从培养液中采收盐藻细胞, 无需添加絮凝剂.

关键词: 盐藻; 溶气气浮; 采收

中图分类号: TQ028

文献标识码: A

文章编号: 1009-606X(2003)02-0151-05

1 前言

胡萝卜素是一种极具营养和药用价值的生物活性物质, 其中最重要的 β -胡萝卜素有多种功能, 盐藻(*Dunaliella salina*)在一定培养条件下能大量积累胡萝卜素, 含量最高可达干细胞质量的 13%^[1]. 目前美国、澳大利亚、以色列、中国等已实现了盐藻的大规模培养. 然而, 盐藻细胞培养液盐度高(NaCl 12%), 培养密度相对较低, 仅为 0.1~1.0 g/L, 并且藻体型很小(10~20 μm), 密度与藻液相当, 又因无细胞壁而极易受到损伤破裂^[2]. 目前常用的采收方法如离心、絮凝沉淀、超滤等在应用中都有其局限性. 离心法虽然应用广泛, 但能耗高, 离心过程中易引起细胞破碎, 造成产品损失; 絮凝法由于引入了可能造成污染的试剂而影响产品质量, 并且加大成本, 且沉淀耗时; 超滤法则投资大, 操作费用高. 气浮分离已广泛地应用于水处理领域^[3-5], 应用于生物物质分离时, 有操作条件温和、对细胞损伤小、耗能低等优点^[6-8]. 当前对盐藻、小球藻等微藻细胞的气浮采收已达到较高采收率(80%~94.3%)^[9-12], 然而由于添加了一定量的絮凝剂使藻细胞絮凝团或表面活性剂改良气泡, 不仅加重了后续工艺负担, 且易污染产品, 也不利于培养液的循环利用.

本文探讨了在不添加絮凝剂或活性剂条件下用溶气气浮法采收盐藻细胞的可行性, 重点考察了藻液性质(pH 值)、气浮操作条件(溶气压 P_S 、溶气水进水流量 Q_W 、溶气水/原料藻液体积比 α_{WF} 等)对采收效果的影响, 初步优化了采收条件.

2 材料与方法

盐藻(*Dunaliella salina*)藻种取自内蒙古兰太生物工程公司, 经纯化后自行培养.

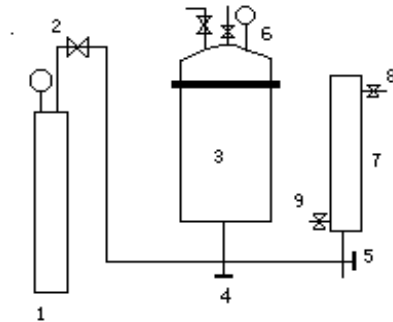
盐藻细胞培养: 采用 ASP₂ 培养基(未加维生素溶液), 高压湿热 121°C 灭菌 25 min, 冷却至室温后使用. 200 ml 纯化后的种液接入 1.8 L/2.5 L 气升式光生物反应器中, 于温度 30°C、光强 1.6 mW/cm²、通气量 20 ml/min(6% CO₂-空气混合)条件下培养 7 d^[13], 细胞密度达(5~6)×10⁵ 个/ml, 用于藻细胞采收实验.

收稿日期: 2002-12-18, 修回日期: 2003-01-15

作者简介: 崔景芹(1978-), 女, 山东省商河县人, 硕士研究生, 生化工程专业; 丛威, 通讯联系人, Tel: 82627060, E-mail: weicong@yahoo.com.

细胞浓度测定：藻细胞浓度由计数法确定，用取样枪将 50 μl 藻液均匀滴在血球计数板上，XSZ-D2 倒置式生物显微镜(重庆光学仪器厂)下数 25 个中格即 0.1 mm^3 内的藻细胞数，测 4 次取其平均值换算为细胞个数/ml。

气浮过程：图 1 所示为气浮流程及采收塔结构。溶气罐体高 0.64 m，外径 0.33 m，灌入 3/4 体积自来水。空气从高压气瓶经罐底引入溶气罐，在实验溶气压力(0.2~0.39 MPa)下平衡 30~45 min，空气基本达到溶解饱和^[14, 15]。采收塔为玻璃制成，内径 37.9 mm，总高度为 500 mm，其上标有体积刻度，塔底喷嘴管内径为 2 mm。开始实验时先关掉底部阀门 5，一次性倒入待采收盐藻培养液 50~100 ml，然后经阀 4, 5 与喷嘴骤然释放所需体积(根据溶气水/藻液体积比计算)饱和溶气水，



1. Air cylinder 2. Pressure valve
3. Saturator 4.5. Three-way valves
6. Pressure gauge 7. Bubble column
8,9. Outlets

图 1 气浮采收装置流程图

Fig.1 Flow diagram of dissolved air flotation

每隔 30 s 从底部取样口 9 与塔顶液面下 5 cm 处各取一样，计数法测细胞浓度，两者平均值作为该时刻残液藻细胞浓度。5 min 后结束采收，浓缩液由顶部收集，残液由底阀 5 放出。

以两个无因次参数表征采收效果：

$$\text{细胞采收率}(R) = C_f V_f / (C_0 V_0) \times 100\% = 1 - [C_r V_r / (C_0 V_0)] \times 100\%,$$

$$\text{浓缩倍数}(E) = C_f / C_0 = R V_0 / (V_0 - V_r),$$

其中 C_0 , C_f , C_r 分别为原料藻液、浓缩液、残液藻细胞浓度； V_0 , V_f , V_r 分别为原料藻液、浓缩液和残液体积。因浓缩液一般不超过藻液与通入溶气水总体积的 10%，且有时藻细胞发生粘壁，测量误差较大，本实验中 R 与 E 根据 C_f 和 V_f 计算。

3 结果与讨论

3.1 藻液 pH 值对藻细胞气浮采收效果的影响

以 0.1 mol/L NaOH 和 0.1 mol/L HCl 调节待采藻液 pH 值至 3.5, 5.5, 7.5, 9.5, 10.5 及 11.5，各 50 ml 倒入采收塔，通入溶气压力为 0.38 MPa 的饱和溶气水 50 ml，对藻细胞的气浮采收效果进行了比较，结果如图 2 所示。在藻液 pH 值为最适盐藻生长的 7.5 处时，浓缩倍数 E 虽然高达 17.3，但细胞采收率 R 仅为 38.2%； $\text{pH} < 7.5$ 时， E 与 R 都随 pH 值下降而下降，当藻液 $\text{pH} = 3.5$ 时， R 和 E 分别降到 10.1% 和 9.18；向碱性方向调节，在 $\text{pH} < 10$ 时， R 与 E 值变化不大。但在藻液 $\text{pH} = 10.5$ 时，发现盐藻细胞开始出现明显自絮凝现象， R 大大增加，达到 82.4%，而藻液 pH 值调至 11.5 时采收效果最佳，塔底部残液很快变为几近无色透明，其藻细胞浓度从初始的 1.35×10^5 个/ml 下降至 0.2×10^5 个/ml， R 高达 88.7%。但因絮片含水量高，pH 值 10.5 与 11.5 时的 E 值比其它 pH 条件下细胞以单个形式上浮、含水量远低于絮片时的 E 值要小，分别为 3.43 和 4.11。当 pH 值调至 12.0 时，藻液很快由橙红色变为浊绿色，镜检发现藻细胞多数受损伤破裂。

实验中观察到，在 pH 为 10.5 和 11.5 时，藻液中出现许多微小絮凝片，这些絮片有较大的憎水比表面，与溶气水释放的微气泡相互吸附并粘附，获得速度与浮力从而易于上浮^[14]，使 R 大为提高。藻细胞絮凝的原因可能是，如同多数藻类及微生物^[16-18]一样，盐藻细胞表面的负电荷在一定 pH 值时被中和，降低静电作用引起的颗粒排斥稳定性，发生胞间絮凝，同时细胞其它表面特性

如膜蛋白结构、膜流动性等也可能发生变化,促进了絮凝. 若将藻液 pH 值再调为初始的 7.5,絮片又自行消失. 藻液 pH 值调至 11.5 后,可大大提高藻细胞采收率,并且藻细胞胡萝卜素含量^[19]与原藻细胞相差不大,产品质量不受影响. 此后气浮实验均将藻液调至 pH 为 11.5.

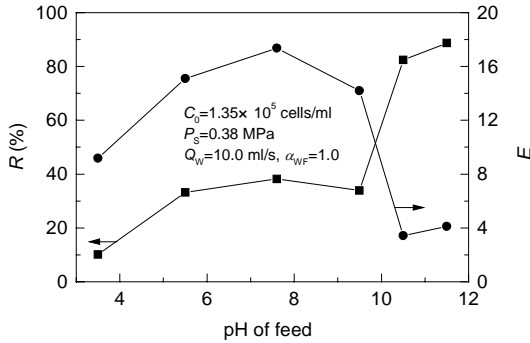


图 2 藻液 pH 值对采收效果的影响
Fig.2 Effect of pH of feed on R and E

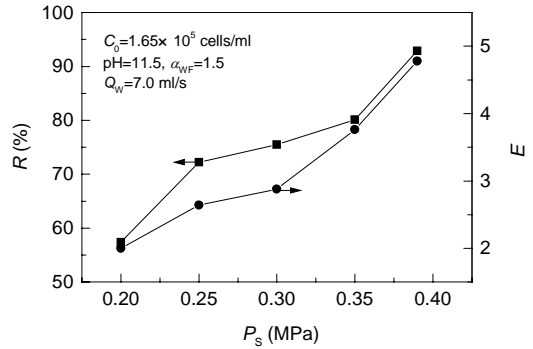


图 3 溶气压对采收效果的影响
Fig.3 Effect of air dissolving pressure on R and E

3.2 溶气压力(P_s)对采收效果的影响

使溶气水分别在不同溶气压力(0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.39 MPa)下达溶解饱和,将 50 ml 藻细胞浓度为 1.65×10^5 个/ml 的藻液倒入采收塔,以 7.0 ml/s 的流量一次性通入饱和溶气水 75 ml,考察细胞采收效果. 由图 3 可见,随溶气压升高, R, E 都近似呈线性增大. 这是因为温度一定时,溶气压力越大,气体溶解度越大,而释气成泡时,一定范围内,随溶气压力和溶气水流量的增加,理论释气量呈线性上升,并且气泡半径随溶气压增大而减小^[20],与细胞絮片接触面积增大,粘附性能好,絮片上浮速度与稳定性都较好,从而细胞采收率 R 与浓缩倍数 E 都增大.

3.3 溶气水进水流量对采收效果的影响

溶气压力为 0.38 MPa,将 50 ml 浓度为 2.05×10^6 个/ml 的藻液一次性倒入气浮塔,调节阀门开度通入溶气水 50 ml,进水流量分别为 2.0, 7.0, 10.0, 16.7, 25.0 ml/s,实验结果如图 4,表明进水流量过高与过低都得不到最佳采收效果. 流量为 2.0 ml/s 时,过于缓慢,流速梯度低,溶气水湍动程度差,从而生成微气泡数量少,气泡密度低^[14],最终采收率偏低,仅为 36.2%,然而浓缩倍数却最高,为 7.09,可能是因为絮片上升速度慢,絮片间水份排除较完全. 当水流量增大至 7.0 ml/s,采收率 R 达峰值的 86.4%,流量再增大, R 与 E 都呈下降趋势,直至流量 25 ml/s 时, R 仅为 27.7%,

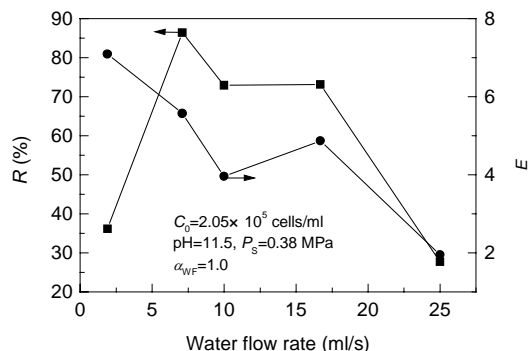


图 4 溶气水进水流量对采收效果的影响
Fig.4 Effect of water flow rates on R and E

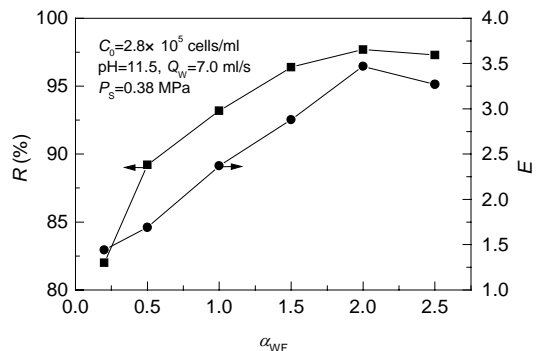


图 5 水液比对采收效果的影响
Fig.5 Effect of water/feed ratio on R and E

E 也较小, 为 1.95。其原因可能是, 水流量过大时气泡很快被高速进水挟往顶层, 停留时间短, 并且气泡因动能过大, 在与絮片相遇时受到较猛烈撞击, 其液膜发生变形或破裂, 与其它微气泡聚并, 更不易与絮片结合, 同时对体系扰动大, 会携带一些絮片返混, 最终顶部浓缩液体积与浓度均偏低。因此选择合适的进水流量也很重要, 本实验中进水流量为 7.0 ml/s 时采收效果最佳, R 和 E 分别为 86.4% 和 5.57。

3.4 溶气水/藻液体积比(α_{WF})对采收效果的影响

溶气压力为 0.38 MPa, 调节进水流量为 7.0 ml/s, 并使藻液与溶气水总体积固定为 100 ml, 改变溶气水与藻液的体积比值 α_{WF} , 使之分别为 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 考察其对采收效果的影响, 如图 5。结果表明 R 与 E 值都随 α_{WF} 增大而增大, R 由 $\alpha_{WF}=0.2$ 时的 82% 增加到 $\alpha_{WF}=1.5$ 时的 96.4%, E 则由 1.44 增加至 2.88。这是因为在相同溶气释气条件下, 溶气水越多, 释放气泡数量越多, 有利于气泡与絮片发生碰撞与粘附, 且单位絮片粘附气泡数更多(未达饱和), 与液体密度差更大, 其上浮速度加大; 而对整个体系而言, 使得一定时间内能迅速且完全上浮的絮片增多, 因而气浮效果更好。当 α_{WF} 继续增大, R 却增大不多, 如 α_{WF} 为 2.0 和 2.5 时, 对应 R 值分别为 97.7% 和 97.3%, 与 1.5 时相差不大, 表明 α_{WF} 值在 1.5 左右时絮片与气泡的粘附已接近饱和。

4 结论

上述实验结果表明:

(1) 藻液 pH 值对采收效果有显著影响。在较高的 pH 值(10.5~11.5)下, 盐藻细胞发生自絮凝, 藻细胞气浮采收效率成倍提高。

(2) 溶气压 P_s 、溶气水进水流量 Q_w 、溶气水/藻液体积比 α_{WF} 等气浮操作条件对采收效果影响较大。一定范围内, 细胞采收率 R 和浓缩倍数 E 都随溶气压增大近似呈线性增大。进水流量过高或过低均不利于藻细胞采收, 本实验条件下适宜的进水流量为 7.0 ml/s。在气泡与絮片碰撞粘附未达饱和时, R 与 E 都随 α_{WF} 增大而增大, 达饱和后, 则不再有明显增加。本实验条件下 α_{WF} 为 1.5 时较为适宜。

(3) 在上述气浮采收条件下, 不添加絮凝剂, 盐藻细胞采收率达 86.4%~96.4%, 浓缩倍数达 2.38~5.57, 达到或超过添加絮凝剂预处理的采收效果, 简化了气浮采收流程, 降低了生产成本, 减轻了后续处理负担, 但浓缩倍数的提高有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘广发, 楼士林, 游兰英, 等. 十种(株)杜氏藻的提取及含量比较 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1995, 34(1): 94-98.
- [2] 陈峰, 姜悦. 微藻生物技术 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. 159-162.
- [3] Schneider I A H, Maneera N V, Soares A, et al. Primary Treatment of a Soybean Protein Bearing Effluent by Dissolved Air Flotation and Sedimentation [J]. Water Research, 1995, 29: 69-75.
- [4] 潘志强. 土霉素、麦迪霉素废水的化学气浮处理 [J]. 工业水处理, 1991, 11(1): 24-27.
- [5] Vuuren L R J van, Stander G J, Henzen M R, et al. Dispersed Air Flocculation-Flotation for Stripping of Organic Pollutants from Effluents [J]. Water Research, 1968, 2: 177-183.
- [6] Edzwald J K. Principles and Applications of Dissolved Air Flotation [J]. Water Science and Technology, 1995, 3(3-4): 1-23.
- [7] William H F, Walter J S, Donald E P. Dissolved Air Flotation for Harvesting Unicellular Algae [J]. Water and Sewage Works, 1968, 115(8): 343-347.
- [8] Edzwald J K, Winger B J. Chemical and Physical Aspects of DAF for the Removal of Algae [J]. Journal of Water Supply Research and Technology-AQUA, 1990, 39: 24-35.
- [9] 周全. 制盐母液养殖盐藻及气浮采收技术的研究 [J]. 海湖盐与化工, 1995, 24(6): 11-16.

- [10] 郑必胜, 张国权, 蔡妙颜, 等. 利用气浮法采收小球藻的生物量 [J]. 海湖盐与化工, 1999, 28(6): 8–11.
- [11] 张爱群, 刘长岩. 利用气浮法采收盐藻的研究 [J]. 海湖盐与化工, 1997, 26(3): 7–9.
- [12] 曾文炉, 李浩然, 李宝华, 等. 螺旋藻泡载分离法采收的实验室研究 [J]. 过程工程学报, 2002, 2(1): 40–44.
- [13] 郝建欣, 丛威, 康瑞娟, 等. 盐藻在气升式光生物反应器中的光自养培养 [J]. 过程工程学报, 2002, 2(5): 443–447.
- [14] 陈翼孙, 胡斌. 气浮净水技术的研究和应用 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1985. 46–155.
- [15] 谭天恩, 麦本熙, 丁惠华. 化工原理, 第二版 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1990. 23–29.
- [16] Malley J P. The Use of Selective and Direct DAF for Removal of Particulate Contaminates in Drinking Water Treatment [J]. Water Science and Technology, 1995, 31(3–4): 49–57.
- [17] Ives K J. The Significance of Surface Electric Charge on Algae in Water Purification [J]. J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng., 1959, 1: 37–47.
- [18] Vlaski A, Breemen A N V, Alaerts G J. The Role of Particle Size and Density in Dissolved Air Flotation and Sedimentation [J]. Water Science and Technology, 1997, 36(4): 177–189.
- [19] 纪明侯. 海藻化学 [M]. 北京: 科学出版社, 1997. 481–482.
- [20] 王立新, 欧阳藩. 泡载分离器的研究—高压溶气水减压释气过程 [J]. 化学工程, 1993, 21(6): 53–57.

Recovery of *Dunallia salina* Cells by Dissolved Air Flotation

CUI Jing-qin¹, ZHENG Yi², CONG Wei¹, CAI Zhao-ling¹

(1. State Key Lab. Biochem. Eng., Institute of Process Engineering, CAS, Beijing 100080, China;
2. College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: When harvesting *Dunallia salina* cells from the culture medium by dissolved air flotation (DAF) without any surfactant or coagulant, the reversible self-flocculation of cells was observed when pH=10.5~11.5. The influence of operation conditions, including air dissolving pressure (P_S), water flow rate (Q_W), and water-feed volume ratio (α_{WF}), on flotation efficiency was studied. The optimal results (cell recovery 86.4%~96.4%, enrichment times 2.38~5.57) were gained under the conditions of $P_S = 0.39$ MPa, $Q_W = 7.0$ ml/s, $\alpha_{WF} = 1.5$.

Key words: *Dunallia salina*; dissolved air flotation; harvest