

超滤技术在单胞藻浓缩中的应用

宫庆礼¹, 崔建洲¹, 潘克厚¹, 郭春², 刘忠英²

(1. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266003 2. 中国科学院 上海原子核研究所, 上海 201800)

摘要: 利用超滤技术浓缩单胞藻, 易于冷冻干燥及保存, 提高劳动生产率, 增加产量满足工业化要求。本实验选用板框式超滤器方法进行单胞藻浓缩实验, 主要包括超滤膜规格的筛选, 浓缩实验, 滤膜的清洗等, 结果表明经超滤处理后单胞藻浓度可达每毫升 24×10^8 个, 冷藏存放 3 个月后, 对脂肪酸组分及含量进行分析, 并再接种培养和成活率检测, 结果良好。

关键词: 微藻; 浓缩; 超滤技术

中图分类号: S963.21*3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)01-0005-03

20 世纪 80 年代单胞藻已形成产业并以商品形式出现, 在基础与应用研究中起重要作用。它可作为植物生理研究的实验材料, 由于含蛋白质和不饱和脂肪酸以及多种维生素, 又可作为营养食品和保健食品^[1]; 作为水产动物的饲料; 提取色素等化工原料等等, 此外, 还可起到净化污水、改良水体的作用。

通常在饵料培养中, 直接以鲜藻液投喂养殖对象, 但由于藻液的浓度比较低, 体积大, 给保存和运输带来了极大的困难^[2]。目前, 面临的问题是大规模培养以后, 如何进行快速有效的收集及保存。浓缩单胞藻主要采取以下几种方法: (1) 自然沉降法; (2) 离心法; (3) 超滤法。

超滤是一项新型的膜分离技术, 它以膜两侧的压力差为推动力, 在被处理液流经表面具有微小孔径的不对称结构超滤膜时, 实现不同分子量物质的分离^[3]等物理分离过程。对此, 作者采用超滤技术进行浓缩实验, 旨在解决单胞藻大规模培养后的收集与保存问题。

1 材料和方法

1.1 实验设备

本实验采用 HPM 型板框式超滤器, 压力泵, 不锈钢容器 (20 L), 不锈钢管路, 冷却系统, 膜为上海原子核研究所新技术中心自制, 单张膜面积 0.04 m^2 。

1.2 实验藻种及分析项目

实验藻种小球藻 (*Chorella* sp.) 取自中国海洋大学微藻种质库。采用索氏抽提法、红血球计数^[4]法进行分析, 检测指标: 保存前后脂肪酸组分含量变化, 浓缩保存后藻细胞的成活率, 再培养生长曲线。

2 结果与分析

2.1 超滤膜筛选

选用改性聚醚砜 (SPES) 膜作为实验用膜, 截留分子量规格为 20 000, 30 000, 50 000, 70 000。将它们分两组置于 HPM 型板框超滤器上进行选膜实验, 分析压力及温度对膜通量的影响。

由实验数据可看出, 随着压力升高膜通量略有增加, 但增加不明显, 在 $0.1 \sim 0.28 \text{ MPa}$ 压力范围内变化对膜通量的影响不大 (图 1)。

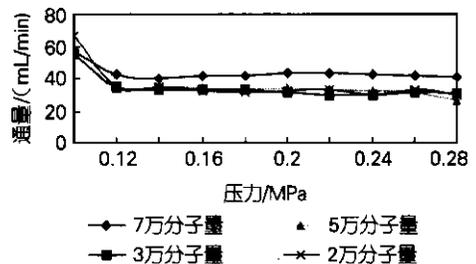


图 1 压力对膜通量的影响

Fig. 1 Effect of pressure on membrane flux

收稿日期: 2002-08-29; 修回日期: 2003-03-12

基金项目: 山东省科技厅高新技术产品研究项目

作者简介: 宫庆礼 (1965-), 男, 山东青岛人, 中国海洋大学水产学院教授, 博士, 主要从事藻类学的研究, E-mail: qingli@vip.sina.com

本研究表明,随着温度的升高,膜通量有较大的提高(图2)。7万分子量膜通量增加显著,但在实验过程中发现渗透液中有轻微绿色出现,经镜检发现有小球藻渗出。浓缩过程会伴有温度升高,较高的温度对增加膜通量有正向作用。但考虑到单胞藻的适宜生长温度不宜超过 30℃,作者利用设备配套的冷却系统冷却,使得设备运行时藻液的温度控制在 25℃ 以下。

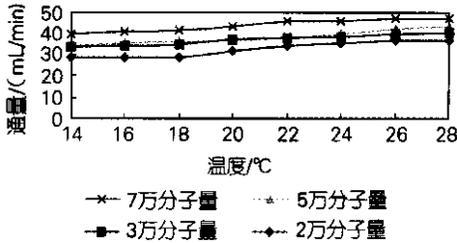


图2 温度对膜通量的影响

Fig.2 Effect of temperature on membrane flux

2.2 浓缩实验

由压力、温度对通量的影响实验结果可知,5万分子量膜的通量较大,衰减较慢,其余1种膜的渗透液中有微量的单胞藻,另2种膜的滤除速度明显较慢,膜通量较低。因此选用5万分子量膜作浓缩试验。实验运行压力为0.22~0.24 MPa,装置为6块板并联共10张膜,原液量143.8 kg,渗液量136 kg,浓缩液量3.05 kg,浓缩时间1190 min,浓缩倍数约为46倍,平均通量16300 mL/(m²·h),见图3。

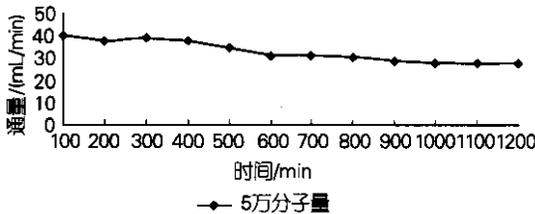


图3 浓缩试验结果

Fig.3 The results of condensation

分析数据得知,原液中单胞藻浓度为每毫升 0.45×10^8 个,浓缩液浓度为每毫升 24×10^8 个,浓缩保存3个月后藻细胞的成活率为91%。

2.2.1 保存前后脂肪酸含量

普通小球藻藻种 MACC/C7 取自青岛海洋大学微藻种质库(MACC)。总脂的测定和脂肪酸分析结果见表1。

总脂测定采用索氏抽提法:称取100 mg藻粉,用滤纸包裹,在索氏抽提器中用乙醚抽提2 h后洗净接

表1 小球藻的总脂含量和脂肪酸成分(占总脂肪酸含量的百分比)

Tab.1 The total lipids and fatty acid composition of *Chlorella* sp.(% of total fatty acids)

总脂含量(占干重的%)	浓缩前		浓缩后	
		17.02		16.87
饱和脂肪酸	14:0	0.9	0.9	0.88
	15:0	0.6	0.6	0.63
	16:0	25.8	25.8	24.6
	17:0	0.7	0.7	0.76
	18:0	1.65	1.65	1.75
	19:0	0.81	0.81	0.76
	合计(%)	30.6	30.6	29.38
单不饱和脂肪酸	14:1	1.01	1.01	0.95
	16:1(n-7)	3.56	3.56	3.65
	18:1(n-9)	15.2	15.2	14.95
	18:1(n-7)	12.9	12.9	11.6
	合计(%)	32.67	32.67	31.15
多不饱和脂肪酸	16:2(n-6)	1.65	1.65	1.61
	16:2(n-4)	0.94	0.94	0.89
	16:3(n-3)	3.45	3.45	3.21
	16:4(n-3)	6.2	6.2	6.0
	18:2(n-6)	13.5	13.5	13.8
	18:4(n-3)	0.32	0.32	0.35
	18:3(n-3)	1.96	1.96	2.01
	20:3(n-3)	2.51	2.51	2.64
	22:6(n-3)	0.27	0.27	0.31
	合计(%)	30.8	30.8	30.82

收瓶外壁,80℃烘12 h冷却后称重,由此求出藻粉中脂肪的含量。脂肪酸分析按 Volkman 等^[5]的方法将脂肪酸甲酯化,后用 HP-58902 II 型气相色谱仪进行分析,色谱柱为毛细管柱(QUADREX 型),007-CW-30-0.25 25F。

从上表数据表明,浓缩前后小球藻的总脂含量和各项脂肪酸成分未见显著变化。这一结果表明,采用超滤技术进行微藻的浓缩对微藻总脂及脂肪酸组分及含量的化学成分破坏不大。

2.2.2 再培养生长曲线

将浓缩保存3个月后的微藻复活并接种再培养,所得结果如图4所示,其中延缓期稍长,但其他指标与浓缩前相比变化不大。

2.3 膜清洗对单细胞藻流通量的影响

将膜分别浸泡在水、0.1 mol/L HCl、0.5 mol/L HCl 溶液中,测得水通量如图5所示。

先用海水或渗透液冲洗,尽可能将设备内残存的藻液冲洗出来,然后用自来水冲洗,循环10 min,浸泡30 min,后用0.1 mol/L HCl 循环10 min后停止,浸泡

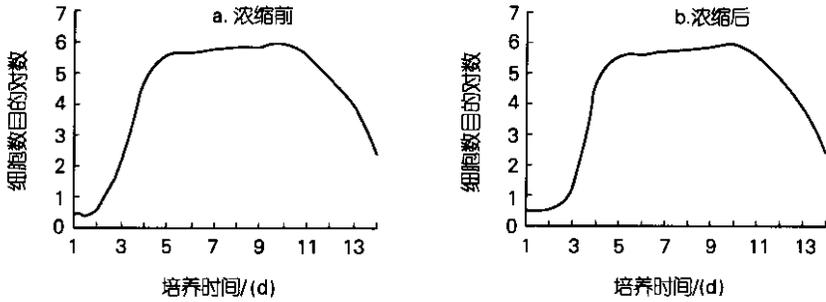


图 4 浓缩前后生长曲线比较

Fig. 4 Comparison of growth curve between and before condensation
a. 浓缩前 b. 浓缩后

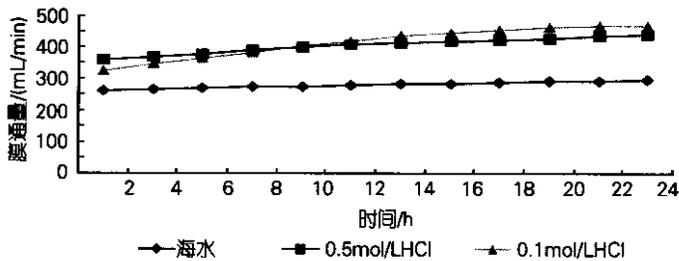


图 5 清洗试验结果

Fig. 5 The washing effects to the flux of chlorella

过夜,次日用自来水冲洗余酸即可。用盐酸清洗后比单纯用水处理的结果水通量明显增加。另外,用 0.1 mol/L HCl 清洗浸泡后的水通量要比用 0.5 mol/L HCl 处理的效果较为理想。

3 讨论

海洋微藻的总脂含量和脂肪酸组成,除了决定于藻种本身外,培养基组成条件也会影响它的生物合成和积累^[6]。本研究表明,采用超滤技术对浓缩前后小球藻的脂肪成分分析,其总脂含量和三大类脂肪酸成分均未产生较大变化。

浓缩保存 3 个月后进行再培养试验,其生长曲线与标准再生长曲线相似,但曲线中延缓期稍长,可能由于浓缩液中营养盐浓度相对较低的缘故。Fogg 等^[7]认为单细胞藻培养生产,要求接种后尽快地进入指数增长期,延缓期越短越好,因此,本实验在接种初期增加营养盐(羟基乙酸)可以使小球藻尽快进入快速生长期,对大规模培养起有效促进作用。

超滤膜过程中,主要存在膜的污染问题,这可能由于料液中的微粒、胶体或溶质分子吸附和沉积在膜

表面或膜孔内,使膜产生不可逆的流量衰减^[8]。因此膜清洗可以减缓膜污染的程度。本实验用 0.1 mol/L HCl 对膜进行清洗,效果良好。同时,采用超滤法浓缩单胞藻,膜的流通量较稳定,设备较简单,成本低廉,生产效率较高,可以达到浓缩 50 倍的要求。浓缩后的藻液浓度高,便于下一步冷冻干燥保存,希望在单胞藻大规模培养及收集中起到良好的作用。

参考文献:

- [1] 王大志,彭兴跃,李少菁,等.海水小球藻脂肪酸组成研究[J].海洋科学,1994,4: 70-86.
- [2] 陈明耀.生物饲料培养[M].北京:农业出版社,1995.54-63.
- [3] 陆九芳,李总成,包铁竹,等.分离过程化学[M].北京:清华大学出版社,1993.235-247.
- [4] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1998,90-92.
- [5] Volkman J K, Jeffrey S W, Nichols P D, et al. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in

(下转第 47 页)

(上接第 7 页)

mariculture[J]. *J Exp Mar Biol & Ecol*, 1989, 128: 219 - 240.

[6] 魏东, 张学成, 邹立红, 等. 细胞生长时期对两种海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. 青岛海洋大学学报

报, 2000, 30(3): 503 - 505.

[7] 福格 G E, 藻类的新陈代谢[M]. 纪明侯译. 北京: 科学出版社, 1962. 89 - 96.

[8] 续曙光, 柳贤, 刘忠洲. 超滤膜污染和清洗方法的研究[J]. 环境化学, 1998, 17(4): 404 - 406.

Ultra - filtration application in condensing chlorella cultured solution

GONG Qing - li¹, CUI Jian - zhou¹, PAN Ke - hou¹, GUO Chun², LIU Zhong - ying²

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Shanghai Institute of Nuclear Research Chinese Academy of Science, Shanghai 201800, China)

Received: Aug., 29, 2002

Key words: microalgae; condensation; ultra - filtration

Abstract: Ultra - filtration methods used in the current study indicated the method could yield 6 million cells per milliliter after condensing treatment on the Chlorella solution. Preserved for three months, the growth curves were similar to those before the condensation. There is no obvious difference in component and content of fatty acids in samples both before and after treatment. This experiment showed that the methods can be applied for large scale of the chlorella solution.

(本文编辑 张培新)