

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学 号: 20620131151515

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

泡沫分离法采收栅藻 *Desmodesmus*
brasiliensis 的研究

Research in the recovery of *Desmodesmus brasiliensis* by
foam fractionation

张景云

指导教师姓名: 肖宗源 副教授

企业指导老师: 苏明略

专业名称: 化 学 工 程

论文提交日期: 2016 年 5 月

论文答辩日期: 2016 年 5 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（）课题（组）的研究成果，获得（）课题（组）经费或实验室的资助，在（）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
第一章 文献综述.....	1
1.1 微藻概述.....	1
1.1.1 微藻的组成及应用.....	1
1.1.2 培养方式及条件对微藻的影响.....	3
1.1.3 微藻光生化原理及过程.....	5
1.1.4 叶黄素的应用及在微藻中的作用.....	7
1.1.5 微藻叶黄素的生物合成途径.....	8
1.2 微藻的采收方法.....	10
1.2.1 絮凝沉淀法.....	10
1.2.2 离心分离法.....	12
1.2.3 过滤法.....	12
1.2.4 泡沫分离法.....	13
1.3 本研究的目的、意义与内容.....	16
1.3.1 研究的目的及意义.....	16
1.3.2 研究内容.....	16
第二章 实验部分.....	18
2.1 实验材料.....	18
2.1.1 实验试剂与实验仪器.....	18
2.1.2 藻种.....	21
2.2 实验方法.....	21
2.2.1 评价指标.....	21
2.2.2 实验装置及其工作流程.....	21
2.2.3 培养基.....	22
2.2.4 平板培养与保存.....	23

2.2.5 1L 光生物反应器分批培养	23
2.3 分析方法.....	25
2.3.1 临界胶束浓度的测定	25
2.3.2 疏水性实验的测定	25
2.3.3 光照强度的测定	25
2.3.4 藻体生物量的测定	26
2.3.5 藻体叶绿素含量的测定	26
2.3.6 藻体类胡萝卜素及叶黄素含量的测定	27
2.3.7 藻体蛋白质含量的测定	28
2.3.8 藻体碳水化合物含量的测定	29
第三章 泡沫分离法采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的表面活 性剂选择.....	31
3.1 引言.....	31
3.2 实验内容.....	31
3.3 结果与讨论.....	32
3.3.1 八种表面活性剂临界胶束浓度测定结果.....	32
3.3.2 八种表面活性剂泡沫分离采收栅藻的结果.....	33
3.3.3 疏水性实验测定结果.....	36
3.3.4 泡沫分离法采收栅藻的表面活性剂选择.....	37
3.4 本章小结.....	39
第四章 采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的工艺研究.....	40
4.1 引言.....	40
4.2 实验内容.....	40
4.3 结果与讨论.....	41
4.3.1 CAPB 在藻液中的浓度对采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的影响.....	41
4.3.2 气速对采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的影响	42
4.3.3 藻液体积对采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的影响	43
4.3.4 藻液浓度对采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的影响	45

4.3.5 分离时间对采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 的影响	46
4.4 响应面实验.....	47
4.4.1 试验方法.....	47
4.4.2 响应面法优化实验.....	48
4.4.3 验证性实验.....	55
4.5 本章小结.....	55
第五章 泡沫分离法采收栅藻 <i>Desmodesmus brasiliensis</i> 对栅藻	
叶黄素含量的影响.....	57
5.1 引言.....	57
5.2 藻体中叶绿素的含量.....	58
5.3 藻体中类胡萝卜素和叶黄素的含量	59
5.4 藻体中蛋白质的含量.....	61
5.5 藻体中碳水化合物的含量.....	62
5.6 本章小结.....	62
第六章 结论与展望.....	63
6.1 结论.....	63
6.2 展望与建议.....	64
参考文献.....	65
学术成果.....	77
致 谢.....	78

CONTENTS

Chinese abstract	I
Abstract.....	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Introduction to microalgae.....	1
1.1.1 The composition and application of microalgae	1
1.1.2 Effect of cultivation modes and conditions on microalgae.....	3
1.1.3 Photobiochemical principle and process	5
1.1.4 The application of lutein and function in microalgae	7
1.1.5 Lutein biosynthetic pathway of microalgae	8
1.2 Methods of collecting microalgae	10
1.2.1 Flocculation.....	10
1.2.2 Centrifugation	12
1.2.3 Filtration.....	12
1.2.4 Foam fractionation.....	13
1.3 Purpose, significance and content of this study.....	16
1.3.1 Purpose and significance of this study	16
1.3.2 Contents of the study.....	16
Chapter 2 Experimental section	18
2.1 Experimental materials	18
2.1.1 Chemicals and equipment.	18
2.1.2 Microalgae strains	21
2.2 Experimental methods.....	21
2.2.1 Evaluation index	21
2.2.2 Experimental apparatus and its operational process	21
2.2.3 Culture medium.....	22
2.2.4 Plate cultivation and strain preservation	23
2.2.5 1L Batch cultivation in 1 L photobioreactor	23

2.3 Analytical methods.....	25
2.3.1 Calculation of critical micelle concentration	25
2.3.2 Calculation of hydrophobic.....	25
2.3.3 Measurement of light intensity	25
2.3.4 Determination of microalgal cell concentration.....	26
2.3.5 Determination of chlorophyll content	26
2.3.6 Determination of carotenoid and lutein content.....	27
2.3.7 Determination of protein content	28
2.3.8 Determination of carbohydrate content.....	29
Chapter 3 Selection of surfactants in recovery <i>Desmodesmus</i>	
<i>brasiliensis</i> of foam fractionation technology.....	31
3.1 Introduction.....	31
3.2 The contents of experiment	31
3.3 Results and discussion	32
3.3.1 The results of CMC of surfactants	32
3.3.2 Results of surfactants collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i> in foam fractionation	33
3.3.3 Results of hydrophobic experimental	36
3.3.4 The choice of surfactants of harvesting <i>Desmodesmus brasiliensis</i> in foam fractionation	37
3.4 Summary.....	39
Chapter 4 The research of collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	40
4.1 Introduction.....	40
4.2 The contents of experiment	40
4.3 Results and discussion	41
4.3.1 Effect of CAPB dosage to collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	41
4.3.2 Gas flow effect to collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	42
4.3.3 Effect of the feed volume to collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	43
4.3.4 Effect of the feed concentration to collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	45

4.3.5 Effect of batch time to collecting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	46
4.4 Box–Behnken design	47
4.4.1 The test method	47
4.4.2 Optimal experiments of Box–Behnken design	48
4.4.3 The verification experiments.....	55
4.4 Summary	55
Chapter 5 The effect of lutein content of foam fractionation to hvesting <i>Desmodesmus brasiliensis</i>.....	57
5.1 Introduction	57
5.2 Chlorophyll content of <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	58
5.3 Carotenoid and lutein content of <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	59
5.4 Protein content of <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	61
5.5 Carbohydrate content of <i>Desmodesmus brasiliensis</i>	62
5.6 Summary	62
Chapter 6 Conclusions and recommendations.....	63
6.1 Conclusions	63
6.2 Prospects and suggestions	64
References	65
Publications	77
Acknowledgements	78

摘 要

由于微藻细胞形态微小、密度与水相当、且在培养液中的浓度很低,使得采收微藻所消耗的成本占整个微藻产业链成本的 20%-30%,微藻工业应用中重要的环节是找到一种能够大规模、低能耗、高效经济采收微藻的方法。泡沫分离技术,是以气泡作为分离介质,对具有表面活性的物质进行分离的一种简单、温和、高效的吸附分离技术。本文对泡沫分离技术在微藻收集领域中的应用进行了研究,重点考察了表面活性剂种类、藻液 pH 值、气速、载液体积、藻液浓度和分离时间等因素对分离效果的影响。

首先,比较了八种表面活性剂在各自泡沫分离栅藻液 *Desmodesmus brasiliensis* 的最佳 pH 值和最佳疏水性浓度下的泡沫分离效果。得到椰子油起泡剂(Cocamidopropyl betaine, CAPB)作为表面活性剂时在藻液 pH=3 时的收集率($R(\%)=93.63\pm 1.75$)可与传统表面活性 CTAB 泡沫分离藻液时的效果相媲美,且浓缩效果富集比($E=23.12\pm 0.028$)远远大于 CTAB。因此,最终选择其作为泡沫分离法采收栅藻液 *Desmodesmus brasiliensis* 的表面活性剂。

其次,考察了气速、载液体积、藻液浓度和分离时间等因素对泡沫分离效果的影响。得到泡沫分离法采收藻液 *Desmodesmus brasiliensis* 最佳条件为:藻液 pH 值等于 3、CAPB 在藻液中的浓度为 0.035 g/L、泡沫分离栅藻 *Desmodesmus brasiliensis* 装置载液量为 200 mL、气速为 1000 mL/min、藻液浓度为 1.35 g/L 和分离时间为 15 min。再利用响应面法优化泡沫分离法采收栅藻的收集率 $R(\%)$,得到泡沫分离栅藻 *Desmodesmus brasiliensis* 装置载液量为 207 mL、气速为 1068 mL/min、藻液浓度为 1.34 g/L 时为最优,并进行实验验证得到的收集率为 94.3%,这和利用响应面法得到的最优收集率 $R(\%)=94.4\%$ 一致。

最后,对泡沫分离法采收的栅藻 *Desmodesmus brasiliensis* 和传统离心分离法采收的栅藻 *Desmodesmus brasiliensis* 进行成分分析,对于叶绿素 c、叶黄素的含量而言,发现泡沫分离法所采收的栅藻 *Desmodesmus brasiliensis* 的含量要高于离心分离法采收的栅藻 *Desmodesmus brasiliensis*,而其他成分基本相同。由于本实验的藻富含丰富的叶黄素,因此可知,可以采用本实验的泡沫分离法来采收栅藻

Desmodesmus brasiliensis, 来获取藻体中的叶黄素。

关键词：叶黄素；栅藻；泡沫分离；富集比；收集率

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Abstract

Due to tiny in morphology, algal cell density similar to density of water and low concentration in microalgae culture, harvesting microalgae consumed the whole microalgae industry chain of 20% to 30%. The important step is to find a method of a large, low energy and efficiently economic to collection microalgae in the whole process of industrial application. With bubbles as separation medium, foam fractionation is conceived to be a simple, gentle and effective choice of microalgae harvesting technology. In this paper, the foam fractionation technology was studied in the field of microalgae collection. The effects of the type of surfactants, initial pH, gas flow rate, feed volume, feed concentration and feed batch time on foam fractionation performances will be investigated.

In first part, this paper analyzed eight kinds of surfactants on the effect of foam fractionation with *Desmodesmus brasiliensis* culture's best pH and best hydrophobicity concentration. The conclusion shows that Cocamidopropyl betaine (CAPB) as surfactant can reach recovery percentage of $R(\%)=93.63\pm 1.75$ with $\text{pH}=3$, which has an equal effect of traditional surfactant CTAB. Further more, its enrichment ratio $E=23.12\pm 0.028$ is much higher than CTAB. Ultimately Cocamidopropyl betaine (CAPB) was chosen to be the surfactant to collecting the *Desmodesmus brasiliensis* on foam fractionation.

In second part, this paper investigated the effect of gas flow rate, feed volume, feed concentration and feed batch time on foam fractionation respectively. It shows that collecting *Desmodesmus brasiliensis* with foam fractionation method can get best effect under this condition: $\text{pH}=3$, CAPB 0.035 g/L, feed volume 200 mL, gas flow rate 1000mL/min, feed concentration 1.35 g/L and batch time 15 min. And then *Desmodesmus brasiliensis*' recovery percentage $R(\%)$ is optimized by Box–Behnken design, the result shows optimal solution is as follow: feed volume 206 mL, gas flow rate 1068 mL/min, feed concentration 1.34 g/mL, and

experiments get the result of $R(\%)=94.3\%$, which is in accordance with Box–Behnken design's optimal result of $R(\%)=94.4\%$.

In last part, this paper analyzed ingredient of *desmodesmus brasiliensis* collected with traditional centrifugation and foam fractionation method. The content of chlorophyll C and lutein in *Desmodesmus brasiliensis* collected with foam fractionation method is higher than that with traditional centrifugation method, and the other ingredients are basically the same. Due to the large amount lutein in *Desmodesmus brasiliensis*, it can use foam fractionation technology to get lutein of *Desmodesmus brasiliensis*.

Key words: Lutein; Microalgae; Foam fractionation; Enrichment; Recovery percentage

第一章 文献综述

1.1 微藻概述

近年来,温室效应、全球变暖等环境问题严重影响着人们的生活质量,而自养型微藻在能量转化和碳元素循环中起到举足轻重的地位,也已经被证实是地球上最大的二氧化碳吸收源^[1],据统计每年世界通过光合作用生产的生物总量大致为 1.46×10^{11} 吨,藻类光合作用产生的生物量约占 40%。而微藻适应性非常强,即使在如雪地高山岩石、荒漠沙土也可以发现藻类的存在。由于世界人口的增加和发展中国家人们生活水平的提高,在未来二十年里,对食品和动物饲料的需求预计将要增加 50%^[2]。同时,目前存在的瓶颈是如何把以化石燃料为基础的经济转变为以生物质为主的经济,即在化工产品中,如何用生物质替代石油作为运输燃料和作为原料的来源^[3]。虽然长久以来人类将目光放在传统的农作物、餐饮废油和动物脂肪等领域,但农业物质生产不太可能能够满足人们日益增长的需求,餐饮废油数量有限且理化性质和成分变化太大,难以实现大规模生产,因此迫切需要新的生物质来源且不与农业竞争。今天微藻被认为是最有前途的新的生物质来源^[4-6]。对于目前的技术而言,以微藻为原料来生产食品、饲料、散装化学物质和生物燃料将要消耗大量的能量^[7-9]。微藻生物质要想成为商品,必须像大多数农作物一样,在增加产量的同时,降低生产成本。近年来大多数研究是通过优化光生物反应器^[10]、藻株的选择^[11]、代谢和基因工程途径^[12]来增加微藻生物质生产的产量,较少在下游加工研究和创新,尽管这是一种必不可少的可以减少生产过程的成本^[13,14]。目前,随着微藻的产量迅速从实验室规模到中试规模和商业规模的发展,促进了下游工艺的研究和发展。

1.1.1 微藻的组成及应用

微藻为原核或真核的光合微生物且是地球上最早出现的生物之一。一般只有在显微镜下才能观测到它们的细胞形态^[15],在陆地、海洋均可以大面积分布,含有丰富的蛋白质、矿物质、维生素、核酸及叶绿素等多种物质,是光合利用度很高的自养植物,从而使得其生长速率远远超过传统的陆生植物^[16, 17]。微藻通过光

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库