

# Trích gạn sinh học Vi tảo bằng phương pháp kết bông sinh học và bằng quá trình lọc màng sinh học

T.D.P. Nguyen<sup>a</sup>, M. Frappart, P. Bourseau<sup>a,b</sup>, P. Jaouen<sup>a</sup>, J. Pruvost<sup>a</sup>,

<sup>a</sup>LUNAM Université, Université de Nantes, CNRS, GEPEA, UMR 6144, CRTT, 37 bd  
de l'Université, BP 406, 44602 Saint Nazaire Cedex,

<sup>b</sup>UEB Université de Bretagne Sud, LIMATB, Rue de Saint-Maudé, BP 92116, 56321  
Lorient Cedex

**Từ khóa:** autofloculation, microfiltration, ultrafiltration, filtration dynamique.

## 1- Giới thiệu

Thu hồi Vi tảo là một bước quan trọng trong việc khai thác quy mô lớn tổng thể của quá trình vi tảo (đặc biệt trong các lĩnh vực như mỹ phẩm, thực phẩm dinh dưỡng, thực phẩm và năng lượng) vì quá trình này có thể chiếm đến 20-30 % tổng chi phí [1]. Nhìn chung, các thành phần vi tảo được thu hồi sau khi mất nước và khô của sinh khối. Tuy nhiên đối với các ứng dụng về năng lượng, việc thu hồi sẽ được thực hiện từ sinh khối ướt bằng công nghệ tiết kiệm năng lượng để giảm thiểu nhu cầu năng lượng. Bằng cách này, các quá trình tự động kết bông hoặc màng đang được quan tâm (0-2 kWh/m<sup>3</sup>). Thay vào đó, các công nghệ tiêu biểu, nhưng đắt tiền và tốn nhiều năng lượng, chẳng hạn như ly tâm (1-10 kWh/m<sup>3</sup>) nên được loại trừ. [2]

Nghiên cứu này nhằm thay thế hoàn toàn hoặc một phần quá trình thâm canh ly tâm.

Hiện tượng tự động kết bông được gây ra bởi sự gia tăng pH do tiêu thụ CO<sub>2</sub> trong quá trình quang hóa vi tảo tạo ra, với sự hiện diện của muối, chẳng hạn như magiê và canxi, sự kết tủa của chúng trong môi trường nuôi cấy, gây ra sự kết tủa các tế bào vi tảo. Các tài liệu chỉ ra rằng trung hòa điện tích, đào tạo kết bông và các hiệu ứng ballasting có lẽ liên quan đến [3], nhưng thành phần của môi trường nuôi cấy việc đóng vai trò xác định các cơ chế này vẫn còn là một câu hỏi mở. Việc làm các bài test thực hiện trên mô hình ban đầu vòng tròn cho thấy kết bông xảy ra nhờ có sự hiện diện của các ion magiê, hoặc các ion canxi và phosphate. Hơn nữa, thực tế tự động kết bông bằng độ pH tự nhiên trôi dạt dưới ánh sáng và môi trường thực tế, cho thấy tầm quan trọng của nguồn nitơ (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> hoặc NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) cho một kết quả tốt trong những hoạt động hàng đầu với nồng độ cao nhất có thể thức khoảng 30g/L.

Đối với quá trình màng lọc sinh học, chi phí bơm thường là rất đáng quan tâm. Lọc tiếp tuyến thông thường, hoạt động theo điều kiện tối ưu cần được thực hiện để hạn chế tắc nghẽn của màng [4]. Trong trường hợp này, việc sử dụng lọc năng động, nơi mà tốc độ cắt độc lập với tỷ lệ thức ăn có thể là một thay thế thú vị để đạt được dòng chảy và/hoặc có nồng độ cao và/hoặc giảm chi phí năng lượng bơm [ 5-6 ]. Các bài test được tiến hành cả trong tiêu chuẩn lọc tiếp tuyến trong lọc năng động, điều kiện hoạt động tương tự. Test bằng lọc cổ điển tiếp tuyến, nhờ màng vi lọc (PES 0,05 micron) hoặc siêu lọc (PAN 40 kDa) hiển thị một thông lượng giảm liên tục và tuyến tính với nồng độ và khả năng đạt được nồng độ tối đa vi tảo khoảng 90 g/L. Dòng lọc động ổn định ở giá trị 2-3 cao hơn trong các bài test lọc tiếp tuyến.

## 2- Thiết bị và phương pháp

### 2.1. Tổng quan

Các bài thí nghiệm đã được tiến hành trên loài vi tảo *Chlorella vulgaris*, là loài tảo xanh đơn bào nước ngọt. Giống được sử dụng trong nghiên cứu này là: *Chlorella vulgaris* SAG 211-19. Kích thước của nó là từ 2 đến 10 micron. Nó được biết đến vì sự đa dạng các chất dinh dưỡng (vitamin, khoáng chất, chất dinh dưỡng phyto - ...), đặc biệt là chất diệp lục cao của nó và chất xơ mà làm cho nó sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực thực phẩm bổ sung và mỹ phẩm. Kể từ đó, do hàm lượng chất béo của nó và lên đến 50%, đặc biệt quan tâm hơn đến các ứng dụng nhiên liệu sinh học đã chứng minh. Hai môi trường nuôi cấy được sử dụng cho sự tăng trưởng tế bào: môi trường Sueoka (nguồn amoni nitơ) và môi trường BBM (nguồn nitơ nitrat).

### 2.2. Flocculation naturelle

Các bài thí nghiệm flocculation naturelle được thực hiện cho nồng độ tế bào ở 0,4g/L và với mỗi thể tích 100 ml. Nuôi cấy được xử lý trước một 500  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  bằng điều khiển ánh sáng kiểm soát mà không có sự cung cấp  $\text{CO}_2$  (không có kiểm soát độ pH) (hình 1.).

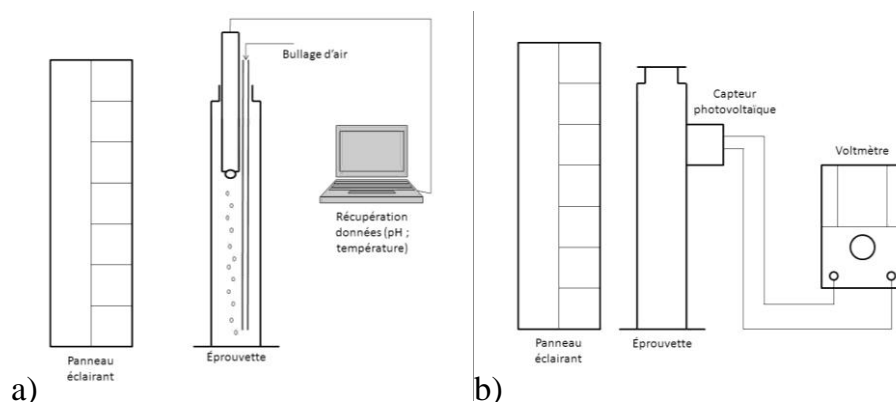


Figure 1: Schéma opératoire de la flocculation: montée naturelle du pH (A) suivi de la décantation (B)

Trong quá trình tăng độ pH, nồng độ ion theo dõi bằng sắc ký ion ( ICS900 ICS1000 và , Thermo Scientific Dionex ) và tiềm năng zeta ( Zetasizer Nano ZS , Malvern, Hoa Kỳ) được thực hiện và nếu kết bông, và sạn , được theo dõi bằng 1 cảm biến ánh sáng (hình 1B ). Vào cuối quá trình lắng, mật độ quang học được đo tại bước sóng hấp thụ 682 nm (Lambda 2S , Perkin Elmer) để đánh giá hiệu quả tách (phương trình 1), khối lượng cuối cùng của floc tổng hợp được quan sát để ước tính nồng độ của chúng (phương trình 2) và sau đó được lọc để các biểu tượng quan sát hiển vi điện tử quét ( EVO ® 40 series - Carl Zeiss AG )

$$E = \frac{DO_{682i} - DO_{682f}}{DO_{682i}} \quad (1)$$

$$C_{est} = \frac{V_i}{V_f} \cdot C_i \cdot E \quad (2)$$

Nơi  $C_{est}$  là nồng độ floc ước tính (g/L),  $V_i$  , thể tích ban đầu của mẫu (ml) và  $V_f$  , thể tích chiếm đóng bởi flocs sau lắng, và  $C_i$  , nồng độ ban đầu của các tế bào trong dung dịch (g/L). Xác định  $V_f$  là thông số quan trọng nhất, và là phép đo ước lượng.

### 2.3. Quá trình màng lọc

Hai hệ thống lọc đã được thử nghiệm trong nghiên cứu này (Hình 2) .

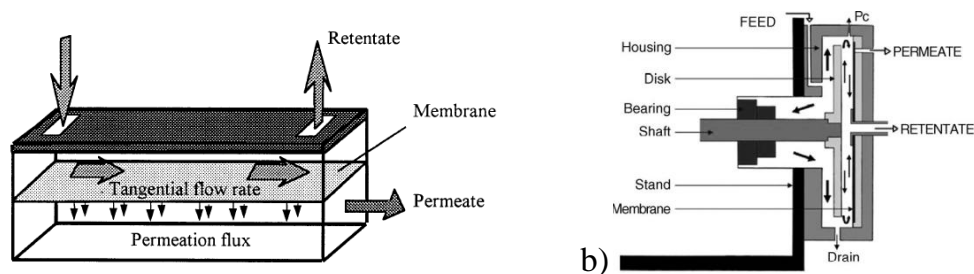


Figure 2: Schéma de principe des systèmes de filtration a) Rayflow ; b) Disque Rotatif

Đầu tiên là một hệ thống lọc qua dòng chảy thông thường (100 Rayflow , Orelis) với một hình chữ nhật phẳng màng của 100 cm<sup>2</sup>. Về hình học ( $l \times xe L$ : 7,5 cm x 14,5 cm x 0,5 mm) , có sự tương ứng giữa số Reynolds và tỷ lệ nội như vậy mà  $Re = 1000$   $V_{internal} = 1$  m/s. Trong hệ thống " tiêu chuẩn", tỷ lệ cắt ở màng

phụ thuộc vào tốc độ trong các mô-đun nội bộ (như vậy, tỷ lệ bơm ) theo (3) và áp lực màng được tính theo (4) :

$$\dot{\gamma} = \frac{8}{e} v_{\text{interne}} \quad (3)$$

$$PTM = \frac{P_{\text{entrée}} + P_{\text{sortie}}}{2} - p_{\text{perméat}} \quad (4)$$

Hệ thống thứ hai là một đĩa nội bộ lọc tiếp tuyến quay động được mô tả sau đó. [7] Nó có một màng tròn phẳng của 188 cm<sup>2</sup> ( R<sub>ext</sub> = 7.75 cm; R<sub>int</sub> = 0,5 cm) . Màng được bố trí trên vỏ hình trụ của hệ thống và mặt đĩa. Khoảng cách không khí giữa đĩa và màng tế bào là 8 mm . Đĩa, mà có thể là tron hoặc cung cấp vây , là lần lượt xử lý trên một trục quay nối với nhau bằng một chiếc thắt lưng để một động cơ điện . Dưới những điều kiện , việc cắt vào màng trở thành một chức năng của hình học ( mịn hoặc cung cấp vây ) và tốc độ quay của đĩa và độc lập với tốc độ trên bề mặt của màng tế bào bị ràng buộc nó , tốc độ dòng chảy thức ăn . Trong những điều kiện này, tốc độ cắt và áp lực màng được đưa lần lượt các biểu thức sau (5) và (6):

$$\dot{\gamma} = 0,0296^{8/5} (k\omega)^{9/5} v^{-4/5} \quad (5)$$

$$PTM = p_c - \frac{1}{4} \rho k^2 \omega^2 R^2 \quad (6)$$

### 3- Kết quả

#### 3.1. Flocculation naturelle

Các thí nghiệm đầu tiên đã có thể cho chúng ta thấy rằng thành phần ban đầu của môi trường nuôi cấy không thể đủ khả năng gia tăng độ pH của quang hợp. Trên thực tế, dựa trên nguồn nuôi cấy amoni ion (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) như một nguồn nitơ không thể được tăng lên bởi vì điều này sẽ dẫn đến việc tạo ra ion H<sup>+</sup> và các hợp chất NH<sub>3</sub>, có thể dao động từ sự ức chế quang hợp độc tính đối với tế bào [9]. Tuy nhiên, tăng độ pH quá thấp được quan sát (Hình 3) ở pH 9, có thể đạt được một khả năng thuận lợi để các kết tủa canxi phát phát [10]. Các thí nghiệm khác được thực hiện theo hướng này đã không đạt được kết bông, mặc dù cho thêm Ca<sup>2+</sup> (nồng độ ban đầu của môi trường Ca<sup>2+</sup> là 12 mg / L đã được tăng lên đến 35 mg / L, nồng độ nhỏ nhất cho phép kết bông tăng nhân tạo pH bằng cách thêm natri hydroxit). Kết luận, tự động kết bông có vẻ không khả thi trong môi trường nuôi cấy Suoeka.

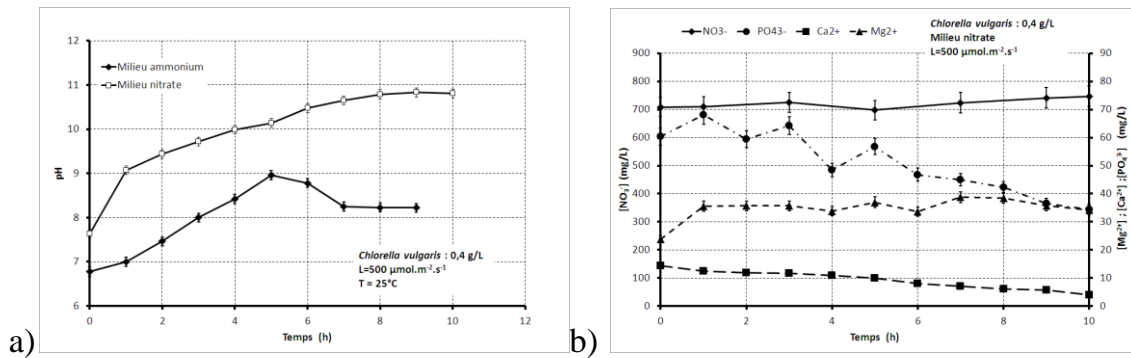


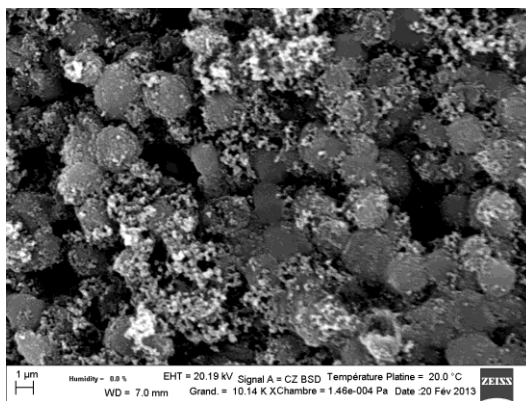
Figure 3: Augmentation naturelle du pH en fonction du temps et du type de milieu d'une suspension de *Chlorella vulgaris* à 0,4 g/L (a) et évolution des concentrations ioniques lors de la montée en pH dans le milieu nitrate (a)

Trong một môi trường mà các loại khác nhau của nguồn nitơ được cung cấp bởi các ion nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), sự gia tăng tự nhiên của độ pH, trong những trường hợp, tương thích với các kết tủa calcium phosphate, xác nhận trong đo lường nồng độ ion (Hình 3b) với sự tiêu thụ hết đồng thời nồng độ  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{PO}_4^{3-}$ , magiê hydroxit ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) là pH cuối cùng đạt đến một giá trị gần 11 trong khi lượng kết tủa của hợp chất này có thể bắt đầu từ pH 10 [11]. Tuy nhiên, mặc dù xu hướng giảm nhẹ nồng độ  $\text{Mg}^{2+}$  có vẻ như đang hình thành từ 8 h (pH về 10,8) (hình 3b) và có thể dẫn chúng ta tin lượng kết tủa đầu của magiê hydroxide, nó không có vẻ đáng kể, đủ cho sự không chắc chắn liên quan đến việc đo lường. Mặc dù có những quan sát cho thấy pH tăng nhẹ, nhưng không có flocs nào được hình thành.

Do vậy, các môi trường nuôi cấy vi tảo phải được điều chỉnh để đạt được kết bông. Vì thế, các thí nghiệm sơ bộ để xác định nồng độ thấp nhất của  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{Mg}^{2+}$  để đạt được một kết bông bằng cách thêm natri hydroxit (nhân tạo để tăng pH) đã được thực hiện. Các kết quả thí nghiệm đã chỉ ra rằng các môi trường nitrat, nồng độ ban đầu của  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{Mg}^{2+}$  trong môi trường (đối với một nồng độ nhất định  $\text{PO}_4^{3-}$ ), tương ứng 14 và 35 mg/L là không đủ để tạo các floc. Các thí nghiệm này cho thấy sự cần thiết phải tối thiểu là 34 và 45 mg/L tương ứng  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{Mg}^{2+}$ . Sau khi cho thêm Ca vào môi trường, đạt số lượng tối thiểu, sự gia tăng pH vẫn còn có thể, nhưng vẫn không có kết bông đã được quan sát. Để tạo floc khi tăng tự nhiên của độ pH, thật cần thiết để làm tăng nồng độ  $\text{Ca}^{2+}$  khoảng 120 mg /L để đạt được thành công keo tụ hiệu quả hơn loại bỏ 90%. Dưới những điều kiện đầy, sự mất mát của các ion  $\text{PO}_4^{3-}$  là gần như tức thời, và giảm mạnh nồng độ  $\text{Ca}^{2+}$ , cho thấy lượng kết tủa của các hợp chất phosphate canxi. Điều này được xác nhận bởi quan sát kính hiển vi điện tử quét cho thấy một cấu trúc tinh thể hình thành bên trong và

xung quanh các tế bào tổng hợp xu hướng đề nghị một hành động như cơ chế, thế zeta, điện tích bề mặt, thay đổi duy nhất để -25 đến -10 mV (Hình 4) .

Những thí nghiệm tương tự được thực hiện bằng cách cho thêm  $Mg^{2+}$



*Figure 4: Floccs de Chlorella vulgaris vus au microscope électronique à balayage, après ajout de  $Ca^{2+}$  dans un milieu nitrate*

### 3. Quá trình màng lọc sinh học

#### 3.1. Các thí nghiệm Rayflow

Đối với các thí nghiệm nồng độ ban đầu, phụ thuộc vào điều kiện môi trường nuôi cấy, dao động từ 0,12 và 0,3 g/L. Lúc đầu, điều kiện hoạt động tối ưu cho việc tập trung kiểm tra (tốc độ nội bộ PTM) đã được xác định. Cho cả hai loại màng, tốc độ bên trong được như vậy, đặt ở 2 m / s và lưu lượng quan trọng khoảng 100 L / h / m<sup>2</sup> và 80 L / h / m<sup>2</sup> tương ứng được thực hiện tại 0,1 bar cho PES màng và 0,3 bar cho màng PAN. Trong mọi trường hợp, tổng số duy trì các tế bào được. Nồng độ thử nghiệm vật liệu màng trên cả hai cho thấy sự sụt giảm tuyến tính của các dòng chảy với sự gia tăng nồng độ yếu tố (hình 5). Cho giá trị của nồng độ ban đầu của các tế bào microalgal, nồng độ tối đa đạt được, ước tính bằng phép ngoại suy để không tương ứng với dòng chảy bị hạn chế bởi hệ thống chuyển giao khối lượng, tương tự như trong cả hai trường hợp và tương ứng 84 và 90 g / L màng PES và PAN. Các kết quả này hứa hẹn, vì không có đẩy dòng thấm (ví dụ như rửa ngược) điều khiển, các nồng độ, tương đối lớn, nằm trong thứ tự của tầm quan trọng của nồng độ cần thiết cho chế biến trong ẩm ướt (60 đến 100 g/L).

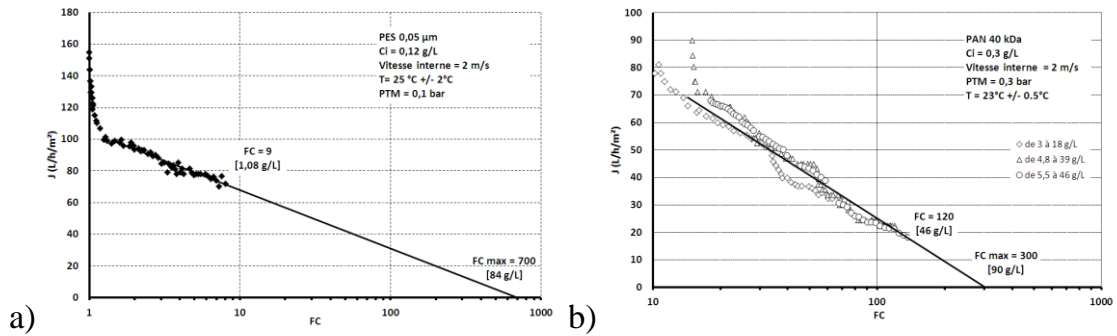


Figure 5: Évolution du flux de perméation en fonction du facteur de concentration durant la récolte de suspensions microalgales de *Chlorella vulgaris* sur le module Rayflow ; (a) membrane PES 0,05 µm; (b) membrane PAN 40 kDa)

### 3.2. Modun đĩa quay

Các thí nghiệm trên các mô-đun đĩa quay được tiến hành nghiên cứu để cải thiện các đặc tính kỹ thuật. Việc sử dụng lọc năng động, trong đó tỷ lệ cắt độ lập với tỷ lệ thức ăn cho phép dòng điều khiển bằng cách giảm/làm chậm hiện tượng tắc nghẽn nhờ vòng quay của đĩa cho phép truy cập vào các giá trị lớn hơn lọc tiếp tuyến, nơi tốc độ cắt có liên quan đến tỷ lệ thức ăn, do đó hạn chế để tránh thua lỗ cắt quá nhiều. Trong các thí nghiệm sơ bộ cho nghiên cứu này, người ta thấy rằng dòng chảy thu được bằng cách các chủng lọc năng động chắc chắn khác nhau từ *Chlorella vulgaris*, *Skeletonema costatum* hoặc *Cylindrotheca fusiformis* (cả hai đều là tảo cát, đơn bào và các chuỗi nhỏ tương ứng, kích thước từ 50 đến 100 micron) có thể lên đến cao gấp đôi, với các điều kiện hoạt động (nhiệt độ, PTM, tốc độ cắt) tương tự (hình 6). Điều này được giải thích trong trường hợp đầu tiên bằng cách giảm lượng nạp liệu, trong những trường hợp này, để giảm số lượng các đoạn trong cơ thể bơm, nguồn tế bào có thể dẫn đến sự bài tiết của exopolysaccharides, dòng nạp liệu có thể làm tắc nghẽn các lỗ màng lọc, và trong giai đoạn thứ hai bằng cách giảm hiện tượng tắc nghẽn nhờ các thủy động lực học của thí nghiệm loại này.

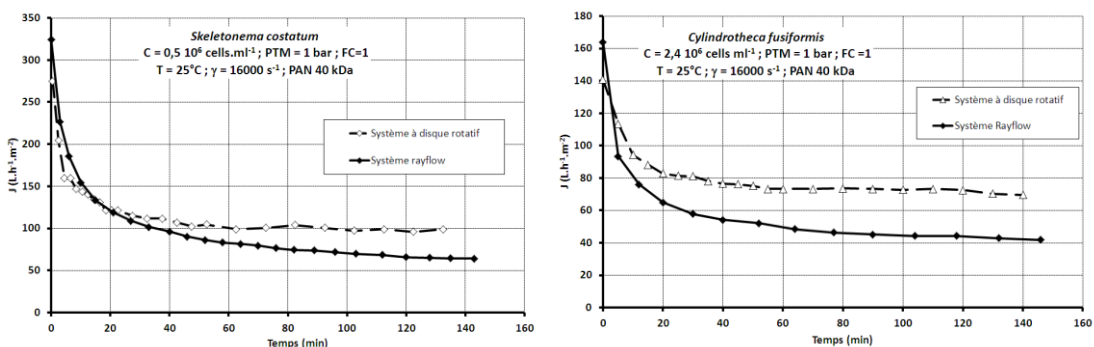


Figure 6: évolution du flux en fonction du temps sur deux types de souches microalgales sur le module à disque rotatif équipé d'une membrane PAN 40 kDa

Các thí nghiệm sơ bộ để so sánh với các mô-đun Rayflow dường như để xác nhận lưu lượng hơn nồng độ đạt được tối đa. Thật vậy, sự sụt sẽ trở thành tuyến tính với hệ số nồng độ FC (giới hạn bởi các chế độ chuyển giao khối lượng) khi nồng độ tế bào, dòng ngoại suy dường như chỉ ra rằng hệ thống có thể đạt tới FC đến 1000 khoảng 200 g/L tùy thuộc vào điều kiện hoạt động ban đầu (hình 7a). Tác động đến hiệu suất của lọc đặc biệt rõ ràng trong hình 7b, nơi mà sự phân xét của luân chuyển dòng chảy ổn định FC = 5 (~ 1g /L) 100 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> giảm mạnh đến 20 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> trước khi gần như quay trở lại giá trị ban đầu của nó trở lại trong vòng xoay. Ngoài ra, các phân tích trên màng lọc thấy rằng exopolysaccharides được giữ lại bởi các màng tế bào và mặc dù duy trì nhẹ của các ion, thậm chí có thể cho phép xem xét tái chế trực tiếp để tiết kiệm nước và chất dinh dưỡng.

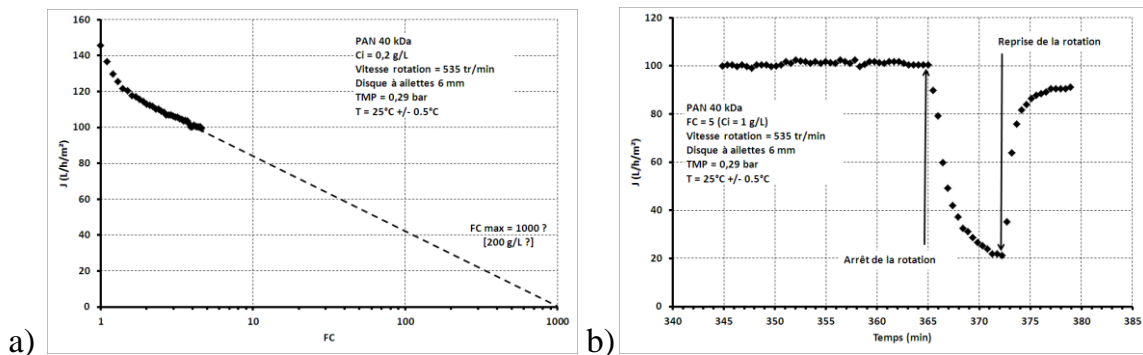


Figure 7: Évolution du flux de perméation en fonction du facteur de concentration durant la récolte de suspensions microalgales de *Chlorella vulgaris* sur le module à disque rotatif (a) et influence de la vitesse de rotation sur les flux de perméation dans la continuité de l'essai à flux stabilisé à FC = 5 (b)

#### 4- Kết luận

Nghiên cứu này tập trung vào việc đánh giá hai kỹ thuật cho phép tăng nồng độ vi tảo để thay thế hoặc hạn chế các chi phí năng lượng của ly tâm cho thu hoạch vi tảo. Flocculation naturelle có thể là một cách có thể như nồng độ cuối cùng của thứ tự của 30 g /L có thể đạt được. Tuy nhiên những giá trị này là nồng độ tương đối thấp và đòi hỏi một bước bổ sung thêm các quá trình khác. Với phương pháp màng lọc sinh học, kết quả thu được cho thấy khả năng tập trung các tế bào microalgal các giá trị gần 100 g /L. Các mức của các cấp tập trung quan tâm là đã mạnh mẽ bởi vì ở mức độ này, người ta có thể phân chia mức độ bổ sung trong trường hợp xử lý sau ướn. Ngoài ra, lọc dynamique cho phép lọc lưu lượng và nồng độ cao hơn trong khi hạn chế thức chi phí bơm, có thể trở thành một nhiều hơn công nghệ thay thế đáng tin cậy.

#### 5- Tài liệu tham khảo

1. Molina Grima et al., 2006, Biotechnology Advances.
2. Uduman et al., 2010, Journal of Renewable and Sustainable Energy.



3. Smith & Davis, 2012, Algal Research.
4. Rossignol et al., 1999, Aquacultural Engineering.
5. Frappart et al., 2011, Desalination.
6. Rios et al., 2011, Industrial Engineering Chemistry Research.
7. Bouzerar et al., 2000, Journal of Membrane Science.
8. Frappart et al., 2006, Journal of Membrane Science.
9. Abeliovitch et al., 1976, Applied And Environmental Microbiology.
10. Sukenik & Shelef, 1984, Biotechnology and Bioengineering.
11. Ayoub et al., 1985, Water research.