

不同曝气比率对蛋白核小球藻生长的影响

万晓安¹, 刘德富^{1,2,3}, 杨正建^{1,3}, 方丽娟¹, 崔玉洁³, 朱小明¹, 胡雪¹

(1. 三峡大学水利与环境学院, 湖北 宜昌 443002; 2. 湖北工业大学资源与环境科学学院, 湖北 武汉 430068;
3. 武汉大学水利水电学院, 湖北 武汉 430072)

摘要: 通过室内控制实验, 研究了不同曝气比率对蛋白核小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 生长过程影响, 构建了曝气比率与 OD_{max} 、 μ_{max} 、 C_{max} 的适配曲线。实验设置 0%、2%、10%、20%、30%、50%、70% 共计 7 组曝气比率, 在 1 000 lx 光强和 20℃ 条件下, 采用 BG-11 培养基培养小球藻至稳定生长。结果显示, 适宜的曝气能促进小球藻生长, 其最适曝气比率为 20%, 过量曝气会抑制小球藻生长; 曝气比率 (x) 与 OD_{max} 、 C_{max} 、 μ_{max} 拟合方程分别为: $O_{max} = 170.63x^3 - 231.83x^2 + 84.341x + 1.8439$ ($0 < x < 50\%$; $R^2 = 0.9850$)、 $C_{max} = 15.844x^3 - 19.803x^2 + 6.8594x + 0.0521$ ($0 < x < 50\%$; $R^2 = 0.9285$)、 $\mu_{max} = 8.1202x^3 - 11.428x^2 + 4.4963x + 0.1173$ ($20\% < x < 30\%$; $R^2 = 0.8581$); $50\% < x < 70\%$ 的关系式有待进一步验证。探究不同曝气比率对小球藻生长的影响, 可为其优化培养与资源化利用提供理论依据。

关键词: 蛋白核小球藻; 曝气比率; 比增长率

中图分类号: Q689 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2014)04-0048-07

小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 为绿藻门、小球藻属、普生性、单细胞淡水藻类, 其生长速度快、光合作用效率高、固定 CO_2 的能力强, 能有效抑制温室效应 (Chiu, 2008; Du, 2010); 不仅富含蛋白质、生物活性物质以及微量元素等多种营养物质, 被广泛应用于食品、医药、化工等多个领域 (Shi, 2002; 单俊秀, 2012), 而且还能生产大量的三脂酰甘油和脂肪酸 (Hu, 2008; Liu, 2008), 是制备生物燃料的重要原料。Lin 等 (2007) 研究发现, 小球藻能很好地去除垃圾渗滤液中的氨氮、正磷酸盐和 COD, 在生物能源和环境保护领域具有广阔的应用开发前景 (胡开辉, 2006), 是一种极其重要的微藻资源。

小球藻最适培养条件的研究是提高其生物质产量和促进其资源化高效利用的关键, 也是当前微藻研究的一个重要领域。目前, 国内外关于小球藻培养条件的研究主要集中在环境因子 (Cho, 2007; Miura, 1993)、营养盐 (宋丽娜, 2010) 和培养模式 (Liang, 2009; 夏云峰, 2011) 等方面, 关于曝气对小球藻生长影响的研究报道较少, 仅有的研究也只限于搅拌式机械曝气 (Chen, 1991; Sukias, 2003) 及其

不同方式 (刘春光, 2006); 机械曝气对水体进行了扰动, 能够不断地更新藻体液面, 促使空气在界面向液相转移, 改进了 O_2 的传递和扩散 (孙从军, 2001), 但对于小球藻的最适培养条件来说还有所欠缺。本文结合了机械扰动与空气鼓入 2 种方式, 采用更为有效的方法进行曝气, 通过探究不同曝气比率对小球藻生长的影响, 旨在为其优化培养与资源化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种培养

小球藻藻种购于中国科学院水生生物研究所 (湖北武汉), 实验前扩大培养 1 周。取培养后高浓度的藻液于离心机中, 以 3 000 r/min 离心 5 min, 除去上清液。用浓度为 15 mg/L 的 Na_2CO_3 溶液清洗后再次离心, 重复 3 次, 用超纯水稀释后用于接种 (黄莹莹, 2008)。考虑到需要较长的培养周期才能更直观地了解不同梯度小球藻的生长情况, 故实验采用 BG-11 培养基 (Bhatnagar, 2010)。

1.2 实验装置

培养小球藻的容器为外径 4.0 cm、内径 3.7 cm, 长度 70 cm 的玻璃长管, 置于实验室内人工培养架上。通过实验室精密空调控制温度, 小球藻生长适温为 20 ~ 30℃ (杨桂娟, 2009), 因此温度设置为 20℃。采用多排密集日光灯管控制光照强度, 参照 Kohji (2003) 的方法, 光照强度均通过调节日光

收稿日期: 2014-04-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (批准号: 51179095); 国家自然科学基金青年基金 (51009080; 51009081; 51209123)。

通讯作者: 刘德富。E-mail: dflu@189.cn

作者简介: 万晓安, 1991 年生, 男, 硕士研究生, 研究方向为微藻资源化利用。E-mail: wanxiaolan1123@outlook.com

灯管控制为 1 000 lx。实验装置如图 1 所示。

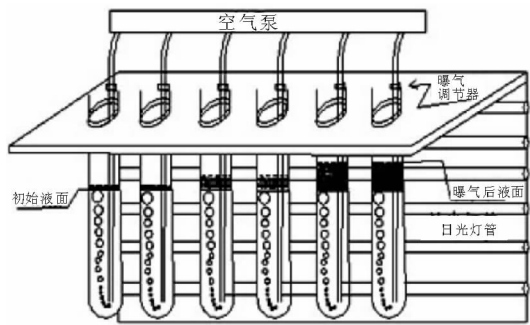


图 1 实验装置

Fig. 1 Experimental facility

1.3 实验设计

在玻璃长管中加入等量处理后的藻液,分别使用 BG-11 培养液稀释至 200 mL。设置曝气比率为 0%、2%、10%、20%、30%、50%、70% 共计 7 个梯度组(Xin, 2010),0% 为不曝气状态,2% 为藻液中小球藻不沉降的临界曝气比率。每个梯度组均设置 1 个相同培养条件的平行样。实验结束后,将所有藻液置于离心管,3 000 r/min 离心 30 min,倒去上清液,敞口置于 80℃ 烘箱,约烘 30 h 至恒重(黄美玲,2010)。

1.4 指标测定

实验时间为 2013 年 8 月 30 日至 9 月 8 日。8 月 30 日为实验第 1 天,9 月 8 日为实验第 10 天,隔天定时(9:00)取样。测定各组梯度的温度,采用防水中心数字温度计记录;光照强度采用 JC07-testo 540 光照度测量仪正对玻璃管底部测定。光密度法是测定藻类生物量的方法之一,其操作简单、需要样品量少、能够准确而又快速地测出微藻生物量;吕旭阳(1986)在波长 680 nm 时测得藻液吸光度值与小球藻细胞浓度有极显著的线性关系,能够很好地反应小球藻的生长情况;因此使用分光光度计测定波长 680 nm 光密度值(OD_{680})(Griffiths, 2011)。采用国际上广泛应用的 Arono 法测定叶绿素(Chl. a)浓度(苏正淑,1989);考虑紫外可见分光光度计的测量范围和实验误差等因素,取样 10 mL,稀释 10 倍后测定 OD_{680} 、Chl. a、溶解性总氮(DTN)、溶解性总磷(DTP)等指标,DTN 与 DTP 根据《水和废水监测分析方法》在实验结束时测定(国家环境保护总局,2002),以了解营养盐的消耗情况;另外,考虑 0% 梯度不曝气,小球藻由于自身重力作用沉降,在取样前对该梯度通少量空气将溶液混匀。由于取样和蒸发将导致各梯度水样损失,因此采样结束后用去离子

超纯水补充至 200 mL。称取 9 份 0.1 g 处理后的藻粉,分别溶于 15、20、25、30、40、50、100、250、500 mL 蒸馏水中,并测定其光密度值。比增长率(μ)计算公式为:

$$\mu = (\ln x_t - \ln x_0) / t$$

式中: μ 为比增长率; x_t 为第 t 天光密度值; x_0 为初始光密度值; t 为初始至第 t 天的时间。根据所测得的光密度值,计算每个梯度小球藻每天的比增长率。

采用真空高压鼓风机,通过调节进气阀门使玻璃管中保持固定体积的曝气量,而曝气体积所占藻液体积的百分比即为曝气比率(AR):

$$AR = \Delta V / V$$

式中: V 为藻液初始体积; ΔV 为曝气后藻液所增加体积。

2 结果与分析

2.1 生物量

2.1.1 光密度值 由图 2 可知,不同曝气比率条件下光密度值差异较大。各梯度的初始 OD_{680} 值均为 1.27。实验期间,除 0% 对照外,各梯度 OD_{680} 变化趋势相近,随着培养时间的增加, OD_{680} 均呈增长趋势;其中,在第 2-8 天,20% 曝气比率小球藻生长优势扩大, OD_{680} 明显高于其他梯度,依次为 20% > 30% > 10% > 50% > 70% > 2% > 0%。0% 梯度由于水体未搅动,藻类沉降附着在玻璃管壁上,水体中缺少 CO_2 等气体,同时光合作用产生的 O_2 不易排出,过高的溶氧不利于藻类生长(朱亮,2007),小球藻死亡速率大于生长速率,生物量降低,至实验结束时 OD_{680} 降低至 0.84;而 2% 梯度的设置是为了与不曝气形成对比(2% 表示刚好保证藻液中小球藻不沉降于管底,而其所曝入的空气量又微小到可以忽略不计),从图 2 可以看到,前者小球藻的生长情况

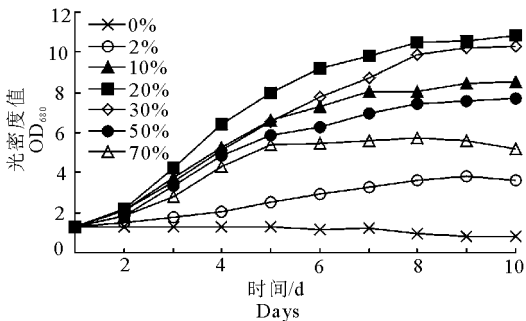


图 2 光密度(OD_{680})随实验时间的变化

Fig. 2 Daily variations of optical density (OD_{680}) for each test group

远好于后者,说明水体扰动对小球藻生长的影响远大于补入空气。

2.1.2 叶绿素 a 浓度及其与光密度的关系 从图 3 可以看到,各梯度叶绿素 a 浓度变化在 4.52 ~ 89.91 mg/L。实验初期的叶绿素 a 浓度均较低;从第 3 天起,叶绿素 a 浓度逐渐增大(0% 梯度除外),20% 梯度的叶绿素 a 浓度高于其他梯度,30% 梯度与其最为接近;至第 9 天,20% 梯度下叶绿素 a 浓度最高,达到 89.91 mg/L;第 10 天各梯度(除 10% 与 50%)叶绿素 a 浓度均略微下降,10% 与 50% 梯度下叶绿素 a 浓度增大趋势减弱,说明至第 9 天,小球藻的生长已趋于稳定;其中,2% 梯度下叶绿素 a 浓度增长幅度小于其他梯度,0% 梯度下小球藻停止生长,叶绿素 a 浓度几乎没有变化。结合图 2 可知,叶绿素 a 浓度与 OD₆₈₀ 变化趋势一致,通过回归分析可知二者的线性关系显著(图 4);叶绿素 a 浓度随着 OD₆₈₀ 的增加而明显升高。

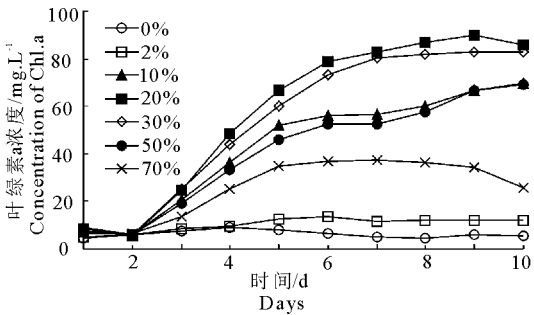


图 3 叶绿素 a 浓度随实验时间的变化
Fig. 3 Daily variations of chlorophyll concentration for each test group

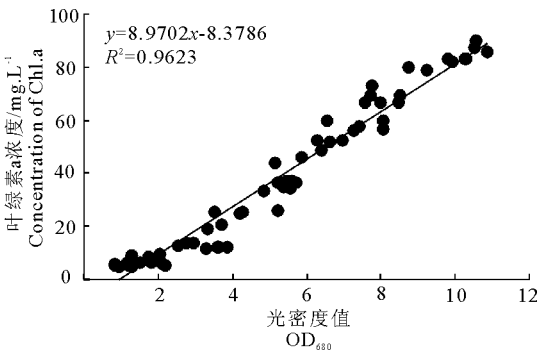


图 4 叶绿素 a 浓度和 OD₆₈₀ 值的相关分析
Fig. 4 Correlation analysis between chlorophyll concentration and OD₆₈₀

2.1.3 细胞干重与光密度值的关系 如图 5 所示,小球藻干重(x)与 OD₆₈₀ 值(y)也存在显著的线性关系: $y = 2.6337x + 0.2815$ ($R^2 = 0.9922$)

2.2 比增长率

从图 6 可以看出,无曝气(0%)条件下的小球

藻比增长率始终最低,几乎均为负值,表明小球藻在没有曝气的情况下,会生长缓慢甚至逐渐死亡;而其对照梯度 2% 则呈现出极低且稳定的比增长率,这是由于该梯度中所溶入空气只能产生轻微的扰动,而没有补充足够的空气促进 O₂ 在藻液中的传递与扩散。实验前 6 d 为小球藻对数生长期,在此阶段,20% 曝气比率的小球藻比增长率一直保持最高,而 10%、30%、50% 和 70% 曝气比率的小球藻比增长率变化趋势差别不大;从第 7 天开始,20% 曝气比率的小球藻较其他梯度率先进入稳定期,以至于第 7~9 天其比增长率不再处于最高水平,可见各梯度小球藻的比增长率呈逐日下降;这是因为随着其浓度增高,藻液浊度逐渐变大,光的透过率随之变低,导致小球藻光合作用减弱;除了 0%、2% 和 70% 梯度的小球藻出现了负增长,其他梯度最小比增长率均大于 0;由此判断在足够优化的培养条件下,小球藻的生长会一直保持在稳定期。

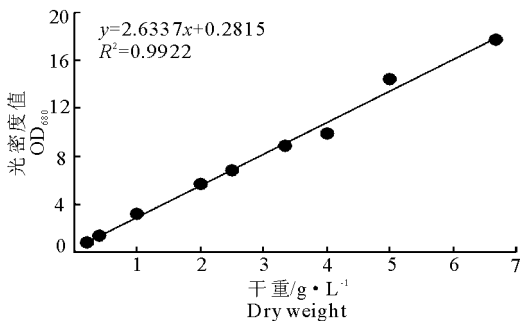


图 5 小球藻细胞干重和 OD₆₈₀ 值的相关关系
Fig. 5 Correlation between dry weight of *Chlorella vulgaris* cells and OD₆₈₀

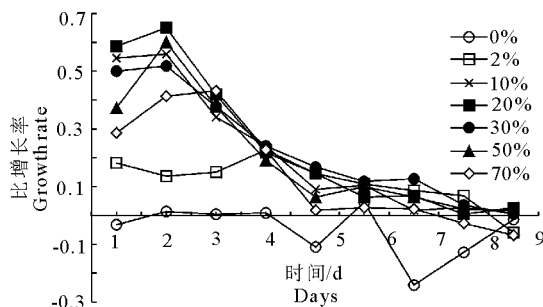


图 6 比增长率随实验时间的变化
Fig. 6 Daily variations of growth rate for each test group

2.3 营养盐

图 7 是第 10 天各梯度溶解性总磷(DTP)和溶解性总氮(DTN)的含量。实验所用 BG-11 培养基中,P 含量为 7.13 mg/L,N 含量为 247 mg/L;DTP 最低值为 0.41 mg/L,DTN 最低值为 138.58 mg/L,均没有消耗完全。结合本文 2.1.2 中叶绿素 a 含量

数据可知,至第 8 天各梯度小球藻的生长已趋于稳定,可以推断实验最后小球藻生长缓慢甚至死亡的限制因素不是营养盐的缺失,而是因为受不同曝气的影响其本身已达到生长稳定期。

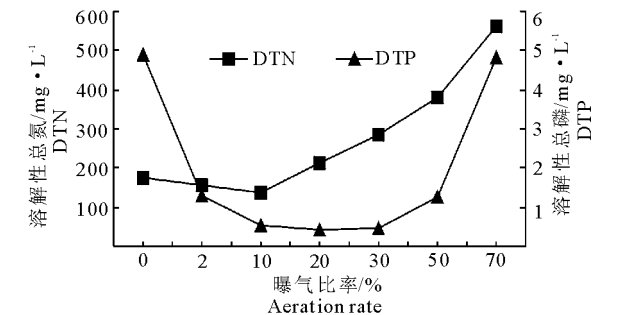


图 7 第 10 天各梯度溶解性总磷和溶解性总氮的含量
Fig. 7 Content of DTP and DTN on the 10th day for each test group

2.4 pH 值

藻液中的 pH 值会影响小球藻的光合作用及其对磷和无机碳的有效利用,同时还会影响其代谢产物的再利用性和毒性,pH 值是影响藻类生长代谢的重要因子之一(王翠,2010)。图 8 为不同曝气比率 pH 值的变化。各梯度 pH 在 8.51 ~ 11.55。10%、20%、30%、50%、70% 梯度下 pH 变化较为一致,而 0%、2% 梯度下 pH 高于各梯度。实验中曝气所通入的 CO₂ 不仅参与藻细胞的生理代谢活动,而且改变培养液的 pH,影响细胞内酶的活性(Tsuzuki, 1990)。0%、2% 梯度曝气较弱,CO₂ 含量较少,实验期间,培养液 pH 较高,超过了适合藻类生长的范围,因此 0%、2% 梯度下小球藻生长情况较差。

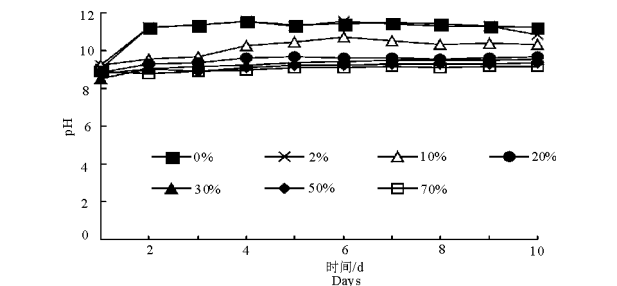


图 8 pH 值随实验时间的变化
Fig. 8 Daily variations of pH values for each test group

3 讨论

3.1 小球藻最适曝气比率的确定

适量的曝气不仅加速了水体复氧过程,使溶解氧水平得到提高,而且 CO₂ 的补充改变了水体中 O₂ 和 CO₂ 的含量组成(孙从军,2001);同时曝气也对水体进行了扰动,改善了藻液的混合状况,增加藻细

胞与周围介质交换营养和代谢产物的速率,使藻不断得到新的营养物质供应,从而增加生产力和光合作用效率(Grobbelaar, 1994);并能降低藻体间的相互遮荫现象(李志勇,1998)。在一定的范围内,增大曝气比率能加速藻细胞的生长,但过大的曝气比率会使得藻液过度掺混,液体之间产生较大的流体剪切力,对藻细胞造成损伤(Merchuk, 1991),同时使藻液过于分散,过度接收光照,超过其光饱和点,导致光合速率不再增加,甚至减弱和停止(欧阳嵘嵘,2010),不利于细胞生长。因此,不同曝气比率对小球藻生长机制的影响不同,必定存在最适宜的曝气比率。

根据 2.1.3 中细胞干重与 OD₆₈₀ 的线性关系式,可求出各梯度每天的细胞干重,从而得出日生产率。统计各梯度最大 OD₆₈₀、比增长率 μ 和日生产率(详见表 1);可见不同梯度下小球藻 OD_{max}、 μ_{max} 、 C_{max} 差异明显。

表 1 不同曝气比率下最大 OD₆₈₀、藻类比增长率(μ)以及日生产率(C)

Tab. 1 The maximum values of OD₆₈₀, growth rate and daily biomass concentration under different aeration rates

项目	曝气比率/%						
	0	2	10	20	30	50	70
OD _{max}	1.295	3.850	8.535	10.850	10.315	7.730	5.730
出现时间/d	5	9	10	10	10	10	8
OD 差	0.025	2.580	7.265	9.580	9.045	6.460	4.460
μ_{max}	0.046	0.228	0.560	0.649	0.520	0.600	0.432
出现时间/d	6	4	2	2	2	2	3
$C_{max}/g \cdot L^{-1}$	0.006	0.197	0.606	0.828	0.615	0.579	0.570
出现时间/d	2	4	2	3	3	3	3

各梯度(0% 除外)下的 OD₆₈₀ 随时间变化逐渐增大,10%、20%、30% 和 50% 梯度均在第 10 天达到最大值,0% 梯度的 OD_{max} 出现最早。各梯度 OD_{max} 大小顺序依次为 20% > 30% > 10% > 50% > 70% > 2% > 0%。在本实验曝气比率范围内,20% 梯度下的小球藻 OD₆₈₀ 最大,与初始值差异达到 9.580,生物量最大;30% 梯度次之,为 9.045。因此,若以 OD_{max} 为评价指标,20% 和 30% 的曝气比率最适合小球藻生长,尤以 20% 的曝气比率为佳。

实验期间,0% 梯度下的 μ_{max} 最小,结合图 6,其第 1、5、7、8 天均呈负增长,整体死亡速率大于生长速率。各梯度 μ_{max} 大小顺序依次为 20% > 50% > 10% > 30% > 70% > 2% > 0%;其中,20% 和 50% 梯度下的 μ_{max} 较大,20% 的 μ_{max} 高于其他梯度,为 0.649;因此,若以 μ_{max} 为最终评价指标,20% 的曝气

比率下小球藻生长速率最快。

0%和10%梯度下的日生产量在第2天达到最大,20%~70%共4个梯度日产量均在第3天达到最大,而2%梯度至第4天才出现 $C_{\max}$,且其值最小。各梯度的 $C_{\max}$ 大小顺序依次为20% > 30% > 10% > 50% > 70% > 2% > 0%。若以 $C_{\max}$ 为评价指标,20%的曝气比率下小球藻日产量最大。

综合考虑不同评价指标,20%的曝气比率较其他梯度更适合小球藻生长。

3.2 曝气比率与小球藻生长适配曲线优化分析

为了探究曝气比率与小球藻生长的适配曲线,将曝气比率与 $OD_{\max}$ 、 $\mu_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 进行拟合(图9)。曝气比率与 $OD_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 和 $\mu_{\max}$ 均为3次抛物线拟合曲线,方差较高,拟合所得的曲线关系式均能较好地反映不同光照强度与小球藻生长之间的数学关系。

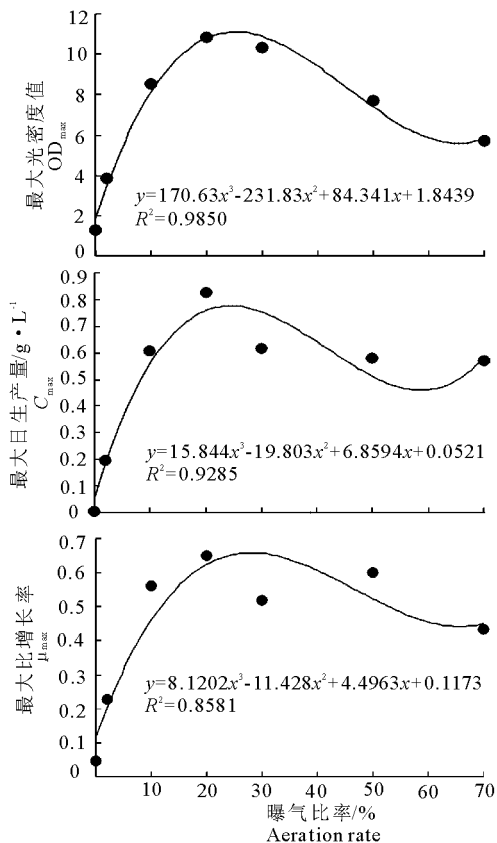


图9 曝气比率与 $OD_{\max}$ 、 $\mu_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 的回归曲线

Fig. 9 Regression curve between aeration rates and $OD_{\max}$, $\mu_{\max}$, $C_{\max}$

曝气比率在0%~50%时, $OD_{\max}$ 先增长、后降低,峰值出现在20%~30%区间;50% < x < 70%时的拟合曲线显示, $OD_{\max}$ 降低到一定值后再次上升,但实验数据显示 $OD_{\max}$ 无回升现象,而继续呈降低趋势,因此其关系式有待进一步验证。曝气比率(x)在0~50%的关系式为:

$$OD_{\max} = 170.63x^3 - 231.83x^2 + 84.341x +$$

$$1.8439 (0 < x < 50\%; R^2 = 0.9850)$$

曝气比率与 $C_{\max}$ 的拟合曲线同 $OD_{\max}$ 的拟合曲线变化规律相似,峰值出现在20%附近,曝气比率(x)与 $C_{\max}$ 的关系式为:

$$C_{\max} = 15.844x^3 - 19.803x^2 + 6.8594x + 0.0521$$

$$(0 < x < 50\%; R^2 = 0.9285)$$

曝气比率与 $\mu_{\max}$ 的拟合曲线也为3次方程。图9显示, $\mu_{\max}$ 呈先增长、后降低的趋势,峰值出现在20%~30%区间,与实验数据相符;曝气比率(x)与 $\mu_{\max}$ 的关系式为:

$$\mu_{\max} = 8.1202x^3 - 11.428x^2 + 4.4963x + 0.1173$$

$$(20\% < x < 30\%; R^2 = 0.8581)$$

4 结论

(1)不同曝气比率下,小球藻生长差异较大。适宜的曝气量能促进小球藻的生长,曝气比率为0%~70%时,小球藻 OD_{680} 、叶绿素a浓度随着曝气强度的增加呈先增大、后减小的变化规律,且其浓度峰值均出现在20%~30%。不曝气(0%)不适合小球藻生长, OD_{680} 、叶绿素a浓度在培养时间内逐渐降低;

(2)曝气比率不仅影响小球藻 OD_{680} 和叶绿素a浓度变化,而且改变培养液的pH。曝气比率较小时,培养液的pH较高;

(3)曝气比率适宜的小球藻比增长率最小值均 ≥ 0 ,说明在培养条件足够优化时,小球藻的生长会一直处于稳定期;

(4)不同评价指标的最适曝气比率各异,综合考虑认为小球藻最适曝气比率为20%;

(5)曝气比率与 $\mu_{\max}$ 符合3次抛物线拟合曲线,且能较好地反应曝气量与小球藻的数学关系;而其与 $OD_{\max}$ 和 $C_{\max}$ 也符合3次抛物线拟合曲线,但只在有限区间内反映曝气量与小球藻生长的关系,对于区间之外的数学关系仍需进一步验证。

参考文献

- 国家环境保护总局. 2002. 水和废水监测分析方法[M]. 北京:中国环境科学出版社.
- 胡开辉,汪世华. 2006. 小球藻的研究开发进展[J]. 武汉工业学院学报, 24(3): 27-30.
- 黄美玲,何庆,黄建荣,等. 2010. 小球藻生物量的快速测定技术研究[J]. 河北渔业, (4): 1-3.
- 黄莹莹,陈雪初,孔海南,等. 2008. 曝气对遮光条件下藻类

- 消亡的影响[J]. 环境污染与防治, 30(10): 44–47.
- 李志勇,郭祀远,李琳,等. 1998. 气升式内环流光生物反应器中的螺旋藻生长特性与模型[J]. 郑州粮食学院学报, (2): 24–28.
- 刘春光,金相灿,孙凌,等. 2006. 不同氮源和曝气方式对淡水藻类生长的影响[J]. 环境科学, 27(1): 101–104.
- 欧阳峥嵘,温小斌,耿亚红,等. 2010. 光照强度、温度、pH、盐度对小球藻(*Chlorella*)光合作用的影响[J]. 植物科学学报, 28(1): 49–55.
- 单俊秀,张平,刘丽丽. 2012. 小球藻的应用研究进展[J]. 科技风, (1): 233–234.
- 宋丽娜. 2010. 营养盐浓度对海洋小球藻(*Chlorella* sp.)叶绿素荧光及生长的影响[D]. 上海:华东师范大学.
- 苏正淑,张宪政. 1989. 几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J]. 植物生理学通讯, (5): 77–78.
- 孙从军,张明旭. 2001. 河道曝气技术在河流污染治理中的应用[J]. 环境保护, (4): 12–14.
- 王翠,李环,王钦琪,等. 2010. pH值对沼液培养的普通小球藻生长及油含量积累的影响[J]. 生物工程学报, 26(8): 1074–1079.
- 夏云峰. 2011. 不同营养条件和培养方式对普通小球藻生长及油脂合成含量影响的研究[D]. 杭州:浙江大学.
- 杨桂娟,栾忠奇,周笑辉. 2009. 温度对小球藻生长量和溶氧量影响研究[J]. 农机化研究, (9): 157–158.
- 朱亮. 2007. 不同磷浓度、氮源和曝气方式对淡水藻类生长的影响[D]. 重庆:重庆大学.
- Bhatnagar A, Bhatnagar M, Chinnasamy S, et al. 2010. *Chlorella minutissima*-a promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 161(1–8): 523–536.
- Chen F, M R Johns. 1991. Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*[J]. Journal of Applied Phycology, 3(3): 203–209.
- Chiu S, C Y Kao, C H Chen, et al. 2008. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor[J]. Bioresource Technology, 99(9): 3389–3399.
- Cho S H, JI S C, Hur S B, et al. 2007. Optimum temperature and salinity conditions for growth of green algae *Chlorella ellipsoidea* and *Nannochloris oculata*[J]. Fisheries Science, 73(5): 1050–1056.
- Du J, Wang Q, Zeng P, et al. 2010. The Cultivation of Mixed Microalgae and CO₂ Fixation in a Photo-Bioreactor[Z]. IEEE:1–4.
- Falkowski P G, Fujita Y, Ley A, et al. 1986. Evidence for cyclic electron flow around photosystem II in *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Plant Physiology, 81(1): 310–312.
- Griffiths M J, Garcin C. 2011. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density[J]. Journal of Microbiological Methods, 85(2): 119–123.
- Grobelaar J U. 1994. Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations[J]. Journal of Applied Phycology, 6(3): 331–335.
- Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, et al. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances[J]. The Plant Journal, 54(4): 621–639.
- Ishihara K. 2003. Stereoselective reduction of keto esters: thermophilic bacteria and microalgae as new biocatalysts[J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 23(2): 171–189.
- Liang Y. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions[J]. Biotechnology Letters, 31(7): 1043–1049.
- Lin L, Chan G Y S, Jiang B L, et al. 2007. Use of ammoniacal nitrogen tolerant microalgae in landfill leachate treatment[J]. Waste Management, 27(10): 1376–1382.
- Liu Z Y, Wang G C, Zhou B C. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*[J]. Biore-source Technology, 99(11): 4717–4722.
- Merchuk J C. 1991. Shear effects on suspended cells. Bioreactor Systems and Effects[M]. Germany: Springer, 65–95.
- Miura Y, Yamada W, Hirata K, et al. 1993. Stimulation of hydrogen production in algal cells grown under high CO₂ concentration and low temperature[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 39(1): 753–761.
- Shi X M, Chen F. 2002. High-Yield Production of Lutein by the Green Microalga *Chlorella Protothecoides* in Heterotrophic Fed-Batch Culture[J]. Biotechnology Progress, 18(4): 723–727.
- Sukias J. 2003. Combined photosynthesis and mechanical aeration for nitrification in dairy waste stabilisation ponds[J]. Water Science and Technology, 48(2): 137–144.
- Tsuzuki M, Ohnuma E, Sato N, et al. 1990. Effects of CO₂ concentration during growth on fatty acid composition in microalgae[J]. Plant Physiology, 93(3): 851–856.
- Xin L, Hong-ying H, Ke G, et al. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. [J]. Bioresource Technology, 101(14): 5494–5500.

Effects of Different Aeration Rates on the Growth of *Chlorella vulgaris*

WAN Xiao-an¹, LIU De-fu^{1,2,3}, YANG Zheng-jian^{1,3}, FANG Li-juan¹,
CUI Yu-jie³, ZHU Xiao-ming¹, HU Xue¹

(1. College of Hydraulic & Environmental Engineering, China Three Gorges
University, Yichang 443002, P. R. China;

2. College of Resources and Environment Sciences, Hubei University of
Technology, Wuhan 430072, P. R. China;

3. School of Water Resources & Hydropower Engineering, Wuhan University, Wuhan 430072, P. R. China)

Abstract: The study aimed to investigate the effects of varying aeration rates (0% , 2% , 10% , 20% , 30% , 50% , and 70%) on the growth of *Chlorella vulgaris*. The experiment was conducted under 1000 lx light intensity at 20℃ , and the *Chlorella vulgaris* was cultivated on the BG-11 culture medium to stable condition. Fitted curves between aeration ratio and the maximum optical density (OD_{max}) , the maximum growth rate (μ_{max}) and the maximum concentration of daily biomass (C_{max}) were created. The results showed that appropriate aeration promoted the growth of *Chlorella vulgaris*, with the best aeration rate of 20% , while the excessive aeration inhibited the growth; the mathematical relationships between aeration ratio and OD_{max} , μ_{max} and C_{max} simulated by cubic curve equation were shown as follows: $OD_{max} = 170.63x^3 - 231.83x^2 + 84.341x + 1.8439$ ($0 < x < 50\%$; $R^2 = 0.9850$) , $C_{max} = 15.844x^3 - 19.803x^2 + 6.8594x + 0.0521$ ($0 < x < 50\%$; $R^2 = 0.9285$) , $\mu_{max} = 8.1202x^3 - 11.428x^2 + 4.4963x + 0.1173$ ($20\% < x < 30\%$; $R^2 = 0.8581$) , the correlation coefficients were 0.985 , 0.9285 , and 0.8581. Our research provides the theoretical basis for optimal cultivation and resource utilization of *Chlorella vulgaris*.

Key words: *Chlorella vulgaris*; aeration rate; growth rate