

# Research Progress on Pretreatment for Strengthening Anaerobic Digestion of Microalgae

An Yinmin<sup>1</sup>, Lei Yunhui<sup>2,\*</sup>, Wu Jin<sup>2</sup>, Liu Yi<sup>2</sup>, Gu Hongyan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Electrical Engineering, Guizhou University, Guiyang, China

<sup>2</sup>Biogas Institute of Ministry of Agriculture, Chengdu, China

## Email address:

13658563093@163.com (An Yinmin), leiyunhui@126.com (Lei Yunhui)

\*Corresponding author

## To cite this article:

An Yinmin, Lei Yunhui, Wu Jin, Liu Yi, Gu Hongyan. Research Progress on Pretreatment for Strengthening Anaerobic Digestion of Microalgae. *Asia-Pacific Journal of Biology*. Vol. 2, No. 1, 2019, pp. 10-14.

Received: April 29, 2019; Accepted: May 23, 2019; Published: July 9, 2019

**Abstract:** Microalgae, as a large amount of renewable resources, is an important potential raw material for biofuel production. Anaerobic digestion is one of the most energy-saving technologies for microalgae to be converted into biofuels. However, the special properties of microalgae cell walls will limit the hydrolysis stage of the anaerobic digestion process, resulting in low conversion efficiency and less than the theoretical value of biogas production. In order to increase biogas production, microalgae must be pretreated to break down their hard cell walls and accelerate cell dissolution to increase biogas production. The methods of breaking the cell wall of microalgae are physical, chemical and biological. Physical and chemical technology can improve the production of biogas to a certain extent, but high energy consumption, easy to cause environmental pollution, making it impossible to achieve industrial application. Biotechnology can not only improve the production of biogas, but also is an environment-friendly pretreatment process with many advantages, such as low energy consumption, high efficiency, no corrosion, less derivative products, etc. However, pure enzyme reagent is expensive and economic benefits are not feasible. At present, low temperature pretreatment can make full use of process waste heat to reduce energy consumption, and will not cause secondary pollution, which is the most economically and technically feasible method.

**Keywords:** Microalgae, Anaerobic Digestion, Biogas, Pretreatment

## 强化微藻厌氧消化性能的预处理研究进展

安银敏<sup>1</sup>, 雷云辉<sup>2,\*</sup>, 吴进<sup>2</sup>, 刘刈<sup>2</sup>, 顾红艳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>贵州大学电气工程学院, 贵阳, 中国

<sup>2</sup>农业部沼气科学研究所, 成都, 中国

## 邮箱

13658563093@163.com (安银敏), leiyunhui@126.com (雷云辉)

**摘要:** 微藻作为一种数量巨大的可再生资源, 是生产生物燃料潜在的重要原料资源。厌氧消化是微藻转化为生物燃料最节能技术之一, 但是微藻细胞壁的特殊性质会限制厌氧消化过程的水解阶段, 导致转化效率较低, 沼气产量达不到理论值。为了提高沼气产量, 必须对微藻进行预处理, 打破其坚硬的细胞壁加速细胞溶解提高沼气产量。打破微藻细胞壁的方法有物理、化学、生物三大类技术。物理和化学技术可以一定程度上提高沼气产量, 但是能耗高、容易引起环境污染, 使其无法实现工业化应用。生物技术不仅可以提高沼气产量, 而且是一种环保型的预处理工艺, 具有能耗低、效率高、无腐蚀、衍生产物少等诸多优点, 但是, 纯酶试剂价格高昂, 经济效益不可行。目前来看, 低温预处理可充分利用工艺余热降低能耗, 也不会造成二次污染, 是最具经济技术可行性的方法。

**关键词:** 微藻, 厌氧消化, 沼气, 预处理

## 1. 引言

化石燃料的缺乏、气候变化和环境恶化推动了对清洁能源生产技术的研究、开发和实施。生物能源作为一种可再生清洁能源,符合可持续发展的科学发展和循环经济理念,已成为各国能源战略的重要内容。沼气作为一种取之不尽,用之不竭的可再生能源,即能满足能源需求,又可以利用各种生物质原料持续性生产,是当今能源研究的重点。各种生物质是沼气生产的重要原料,玉米、大豆等能源作物存在占用大量耕地,产气率低等缺点,无法满足沼气持续生产的需求。微藻因分布广泛,光合作用效率高、环境适应能力强、生长周期短且不占用耕地,被认为是替代化石能源的最佳生物质[1]。利用微藻生产第三代生物燃料具有土地利用率低、CO<sub>2</sub>减排和废水处理耦合等诸多优势。

微藻已被用于生产生物柴油、生物沼气、生物制氢、生物乙醇等不同类型的生物燃料。其中微藻生产生物柴油受到广泛关注,但是微藻油脂含量较低仅为10%~30%,脂质提取必须先将微藻干燥脱水,干燥过程消耗整个生产过程所需能量的50%-80%,提炼生物柴油的下游加工成本高昂,大规模生产受到限制。与之相比,厌氧消化不需要干燥、油脂提取和燃料转化等环节,且污水处理系统普遍具备厌氧发酵装置,可以充分利用现有基础设备,可有效将污水处理与厌氧发酵有效组合。另一方面,微藻发酵过程中藻毒素得到一定程度的降解,实现藻类的减量化、无害化和资源化[2]。

与猪粪和二沉污泥等典型生物质相比,微藻生物质具有更优异的产甲烷潜力。然而,微藻细胞含有大量无法在常规条件下降解的有机物,导致厌氧消化程度低,甲烷转化率一般不足50%,实际甲烷产率甚至低于活性污泥[3]。

鉴于此,本文将对提升微藻厌氧发酵溶解率和产气率的预处理方法进行总结,并对后续研究提出展望和建议。

## 2. 预处理

微藻细胞对细胞裂解过程具有抗性,从而降低微藻细胞的生物降解能力。微藻细胞壁的结构主要由纤维素、半纤维素、胶质和糖蛋白组成,其中纤维素和半纤维素对酶具有很高的抵抗力,限制厌氧消化的进行[4]。活的微藻细胞的细胞壁会遏制水解过程,发酵环境下长时间无法被突破,从而成为时间上的控制因素。

一定的预处理可以有效促进微藻细胞壁破裂,加快水解进程,从而有小缩短发酵时间,提高沼气产量[5]。预处理主要是破坏细胞壁、减小颗粒尺寸和增加比表面积、降低某些纤维材料的结晶度、溶解难降解材料、水解胞内聚合物、使有毒物质失活[6]。提高微藻的生物降解性、厌氧消化性能和产甲烷率常用的预处理技术有物理预处理、化学预处理、生物预处理,和各种预处理技术的联合预处理。

### 2.1. 物理预处理

物理预处理具体包括热预处理、水热预处理、超声波预处理、微波预处理和机械预处理。机械预处理如剪切,碾磨主要是减小颗粒尺寸,增大比表面积,以促进水解速度。超声波预处理可以破解微藻细胞壁并溶解有机物,超声波预处理比较适合固体浓度较高的微藻原料,但是不宜过高,过高的固体浓度将增加黏性,会抑制空化气泡形成,固体浓度以2.3~3.2%为宜[7]。根据处理温度的不同,热处理技术可分为高温预处理和低温预处理( $\leq 100^{\circ}\text{C}$ )。

#### 2.1.1. 热预处理

热预处理是利用热效应分解微藻生物质的物理崩解方式。在热预处理过程中,施加的热能破坏生物质结构的化学键使细胞膜解体,导致细胞壁破裂释放出胞内物质[8]。有机物液化的温度范围从50°C到270°C不等,最佳温度范围取决于原料特性,微藻热预处理的最佳温度范围为55°C到170°C[9]。根据处理温度的不同,热处理技术可分为高温预处理和低温预处理( $\leq 100^{\circ}\text{C}$ )。

低温预处理的主要机理是破坏结合较弱的氢键和部分溶解微藻细胞,温度低于70°C可水解胞外聚合物;温度高于80°C可有效破坏细胞壁释放胞内物质。高温预处理的关键因素是预处理温度,预处理时间是次要因素;相反,相比于预处理温度,预处理时间对低温预处理效果更为关键[3]。当然,预处理时间相同条件下,高温预处理比低温预处理效果更好,但是低温预处理可以利用工业余热满足能量需求,有利于实现系统的能量平衡。

Passos[10]分别用55°C、75°C、95°C低温预处理藻-菌絮体,甲烷产量分别14%、53%、62%的提升,55°C到75°C随着温度的提高甲烷产量有着明显提升,温度再次升高(75°C-95°C)甲烷产量提升效果不显著。低温预处理温度的选择不能以甲烷产量作为单一考量标准,需要能量需求和甲烷产量综合考虑。

#### 2.1.2. 微波预处理

微波是电磁短波,频率从300MHz到300GHz不等。微波预处理通过运动分子的摩擦力来激发热效应,微波预处理提供的大量能量无法破坏生物质的化学键,只能破坏氢键。输出功率和处理时间决定微波预处理效果的主要操作参数。

#### 2.1.3. 超声波预处理

超声波预处理包含超声波快速加压和减压过程。原料中存在液体和空隙,反复加压减压会导致空化效应,常称微气泡。微气泡是液体分子通过声波运动而形成的。在超声波强度的作用下,这些微泡被裂解到最小尺寸并坍塌,产生热效应、羟基自由基、高压和冲击波,最终裂解微藻细胞壁[11]。

不同物理预处理对微藻产甲烷能力的影响如表1, 研究发现, 低温预处理(90°C, 10h)产甲烷能力最好(181.3 mL CH<sub>4</sub>/gVS), 甲烷产率比未经预处理的产沼能力提高72%, 超声波预处理产甲烷能力113.7 mL CH<sub>4</sub>/gVS(提高8%)与未预处理相比无显著差异[12]。

物理预处理可以不同程度地提高产甲烷能力, 但是需要大量的能量投入, 通常沼气增量不足以平衡能量投入[13]。很多研究表明低温预处理可显著提高甲烷产率, 且能耗较低, 可充分利用工业余热, 十分有利于实现整体的能量平衡。

表1 各类物理预处理方法对微藻产甲烷产率提升的影响。

预处理方法	条件	藻类	甲烷产率	提升率	参考文献
机械法	碾磨	栅藻	113mL/gVS	76%	[14]
微波	900W,3min	绿藻+硅藻	127.7 mL/gVS	21%	[12]
超声波	700W,30min	绿藻+硅藻	113.7 mL/gVS	8%	[12]
水热	130°C, 15min	绿藻+硅藻	134.9mL/gVS	28%	[12]
低温预处理	90°C, 10h	绿藻+硅藻	181.3 mL/gVS	72%	[12]
	55°C, 10h	藻-菌絮体	127 mL/gVSS	14%	[10]
	75°C, 10h	藻-菌絮体	160 mL/gVSS	53%	[10]
	95°C, 10h	藻-菌絮体	170 mL/gVSS	62%	[10]
高温预处理	110°C, 15min	微孢藻	413 mL/gVSS	62%	[15]
	高压蒸汽170°C, 6.4bar	混合藻	307 mL/gVSS	55%	[16]

## 2.2. 化学预处理

化学预处理分为酸性、碱性和氧化性预处理[17]。酸处理与碱处理是工业上最常用的化学预处理方法, 氧化性预处理应用较少, 本文不做氧化性预处理介绍。酸碱预处理可有效溶解细胞壁和胞内组分, 降低聚合物的聚合度和结晶度。利用亚硝酸盐预处理微藻, 亚硝酸盐水解产生的游离亚硝酸可以促进细胞裂解强化微藻的可消化程度, 使细胞内的有机物快速释放, 提高SCOD浓度[18]。采用浓度200mg/L的亚硝酸盐预处理蓝藻9h, 沼气产率约142 mL/gVS, 未经预处理组沼气产率约66 mL/gVS, 与之相比沼气产率提高2.15倍[5]。XUE[19]等利用浓度2.31mg/L游离亚硝酸酸预处理扁藻, 甲烷产率提升了51%。亚硝酸盐预处理可有效提高最大产甲烷量, 但是预处理后会残留大量亚硝酸氮, 不仅会破坏厌氧消化的长期稳定性, 还会对产甲烷菌产生抑制。采用碱用量3%, 温度78.2°C, 预处理蓝藻5.64h累积产气量为425.4 mL/gVS, 而未经预处理的蓝藻累积产气量为90.13 mL/gVS, 相比之下, 采用预处理沼气产量提高了3.72倍[20]。

酸、碱预处理各有侧重, 酸处理对碳水化合物降解效果较好, 碱处理则对蛋白质降解效果更好。若采用酸预处理蛋白质含量较高的微藻, 或采用碱预处理纤维素或多糖含量高的微藻, 都会导致细胞溶解度很低。单独采用酸、碱对微藻进行预处理, 对甲烷产率的提升有限, 甚至可能降低甲烷产率[21]。小球藻经H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>预处理后, 甲烷产率反而降低了19%[21], 微拟球藻经NaOH预处理后甲烷产率降低10%~30%[22]。

化学预处理可有效提高微藻的产气率, 但也存在一系列缺点, 过程容易受到抑制使化学预处理过程无法持续进行, 会产生抑制水解或污染环境的有毒物质, 如糠醛、羟甲基糠醛、钠等, 这无疑限制了其工业应用的前景[23]。

## 2.3. 生物预处理

生物预处理是利用不同来源的酶选择性水解微藻细胞壁和胞内组分。根据酶的来源和产生方式不同, 可将生物处理分为3类: (1) 利用微藻细胞自身分泌的胞外水解

酶, 即细胞自溶; (2) 投加富集裂解细菌或真菌; (3) 投加各种纯化酶。常用于水解微藻的主要酶类有葡聚糖酶、糖苷酶、肽酶和脂肪酶。生物预处理能量消耗低、经济合理、无腐蚀问题和衍生物少, 不仅催化效率高, 而且对环境无害, 是一种环境友好的过程[24]。

微囊藻, 小环藻, 栅藻和隐藻属的混合藻类依靠细胞分泌的胞外酶预处理, 甲烷含量提高37%[15]。分别向微藻中投加浓度为1%, 2%, 4%, 和8%的地衣芽孢杆菌, 甲烷产量分别为 366.9±17.4、377.9±10.9、390.4±9.4、415.6±8.3mLCH<sub>4</sub>/gVS, 对照组甲烷产量338.78% mLCH<sub>4</sub>/gVS, 不同实验组均不同程度地提高了甲烷产量[25]。利用从成牛瘤胃液体中提取的水解细菌预处理墨西哥克雷塔罗州某湖泊的微藻, 对比不同微藻/瘤胃液体比(S/X)预处理效果, 微藻/瘤胃液体比率(S/X)为0.5时, 水解效率最高(29%), 甲烷产量达到193 mL CH<sub>4</sub>/gCOD[26]。Sevcan Aydin利用奶牛瘤胃微生物预处理微藻, 不论瘤胃微生物接种比例如何, 甲烷产量的增加相同的数量级, 瘤胃微生物接种比例为20%时沼气产量提升41%, 微藻降解率提升91% [27]。投加富集裂解细菌或真菌可以有效预处理微藻, 但是预处理效果受到一些因素的限制, 如细菌和真菌生长周期[28]

用浓度25~350 U mL<sup>-1</sup>的纯酶制剂和混合酶制剂50°C条件下处理小球藻24小时, 150 U mL<sup>-1</sup>的纤维素酶和半乳糖醛酸酶的混合酶, 酯酶和蛋白酶的混合酶处理效果最好, sCOD释放量最大[13], 其结果与其他研究结果吻合。Yin LJ用浓度150 U mL<sup>-1</sup>的纤维素酶50°C条件下预处理小球藻3小时, 不溶性固体总量减少约30%[29]。使用溶菌酶和硫化酶混合处理小球藻UTEX 395, 渗透率可以达到98.6%, 单独使用溶菌酶或硫酸盐酶预处理或不采取预处理措施时, 渗透率分别为7.6%、1.2%和1.1%[30]。

生物预处理的常用温度为50°C, pH介于4.5和8之间。为达到更好的实验效果, 实验条件的选取一般选择酶生产者提供参考数据。工业降解过程中, 可能存在环境波动从而改变环境条件, 破坏酶蛋白的功能结构。不同的酶最佳操作条件不同, 商业酶混合使用时, 需要对微藻组成和操作成本进行成本和效益分析。

### 3. 联合预处理

采取不同的工业操作组合是降低运营成本的常见做法[28]。最常见的联合预处理是热-酸预处理、热-碱预处理。热-碱联合预处理主要是通过协同作用破坏微藻细胞壁，溶解大分子，诱导纤维素膨化，增加比表面积和降低聚合度和结晶度[3]。小球藻采用热-酸预处理（加硫酸至PH=2后，120°C条件下热处理40min），甲烷产率提高65%，采用热-碱预处理（加NaOH至PH=10），甲烷产率提高74%[15]；仅采用酸、碱预处理，甲烷产率反而降低了19%、14%[31]。

### 4. 结语与展望

微藻具有优异的生物能源潜力，微藻细胞破壁困难是制约微藻厌氧消化的瓶颈，使得微藻的甲烷转化率较低。能量平衡是选择预处理方法的前提，机械、超声波、热水解、微波等物理预处理虽可有效提高甲烷产率，但是甲烷增量可能无法弥补预处理能耗，难以实现能量平衡，无法工业化应用。化学预处理需要投加大量的化学试剂，不仅会对厌氧发酵设备造成腐蚀，还会产生抑制水解或污染环境的有毒物质。生物预处理虽能耗较低，但是使用纯化酶预处理价格昂贵，从经济效益来看不可行。目前来看，低温预处理不仅能需求低，可充分利用工艺余热，也不会引起二次污染，是最具经济技术可行性的方法。后续研究可对低温预处理反应器设计和运行进行优化。有关微藻预处理与厌氧消化协同作用的研究还非常有限，应得到充分的后续研究，以最大程度地利用微藻生物质能。

### 致谢

四川省科技计划国际合作项目（2017HH0037）。

### 参考文献

[1] 方向晨,王领民,佟明友. 微藻生物质可再生资源开发与CO<sub>2</sub>的减排[C].//中国工程院化工·冶金与材料工程学部第六届学术会议论文集.中国石油化工股份有限公司抚顺石油化工研究院,2007:292-297。

[2] 胡萍,严群,宋任涛,阮文权. 蓝藻与污泥混合厌氧发酵产沼气的初步研究[J].环境工程学报,2009,3(03):559-563。

[3] 吴宇涵,张晓然,胡沅胜. 微藻厌氧消化产甲烷:潜能、瓶颈及解决方案[J].化工进展,2018,37(11):4237-4249。

[4] Hiroshi Takeda, Cell wall sugars of some *Scenedesmus* species [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42 (3): 673-675。

[5] 陈昕. 蓝藻生长条件优化及厌氧发酵产沼气预处理研究[D]. 大连理工大学,2017。

[6] Bohutskyi P, Bouwer E. Biogas production from algae and cyanobacteria through anaerobic digestion: a review, analysis,

and research needs [J]. *Adv. Biofuels Bioprod.* 2013, 873–975.

[7] 吴宇涵,张晓然,胡沅胜. 微藻厌氧消化产甲烷:潜能、瓶颈及解决方案[J].*化工进展*,2018,37(11):4237-4249。

[8] Kavitha S, Jayashree C, et al. Enhancing the functional and economical efficiency of a novel combined thermo chemical disperser disintegration of waste activated sludge for biogas production. *Bioresour [J]. Technol.* 2014, 173: 32–41.

[9] González-Fernández C, Sialve, B, et al. Comparison of ultrasound and thermal pretreatment of *Scenedesmus* biomass on methane production. *Bioresour [J]. Technol.* 2012, 110: 610–616.

[10] Fabiana Passos, Joan García, Ivet Ferrer. Impact of low temperature pretreatment on the anaerobic digestion of microalgal biomass [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 138.

[11] Kavitha S, Rajesh Banu J, et al. Improving the biogas production performance of municipal waste activated sludge via disperser induced microwave disintegration [J]. *Bioresour. Technol.* 2016, 217: 21–27.

[12] Passos F, Carretero J, Ferrer I. Comparing pretreatment methods for improving microalgae anaerobic digestion: thermal, hydrothermal, microwave and ultrasound [J]. *Chem Eng J*, 2015, 279: 667–672.

[13] Ometto F, Quiroga G, et al. Impacts of microalgae pre-treatments for improved anaerobic digestion: thermal treatment, thermal hydrolysis, ultrasound and enzymatic hydrolysis [J]. *Water Research*, 2014, 65: 350-361.

[14] A. E. Inglesby M. J. Griffiths S. T. L. Harrison. Anaerobic digestion of *Spirulina* sp. and *Scenedesmus* sp.: a comparison and investigation of the impact of mechanical pre-treatment [J], *Journal of Applied Phycology* 2015, 27(5): 1891-1900

[15] SANTOS-BALLARDO D U, ROSSI S, REYES-MORENO C, et al. Microalgae potential as a biogas source: current status, restraints and future trends [J]. *Reviews in Environmental Science&Bio/technology*, 2016, 15 (2): 243-264

[16] M. E. Montingelli, S. Tedesco, A. G. Olabi. Biogas production from algal biomass: A review [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, 43.

[17] H. Carrère H, Dumas C, et al., Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: A review [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 183 (1-3): 1-15

[18] Bo Wang, Shuying Wang, et al. Integrating waste activated sludge (WAS) acidification with denitrification by adding nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2014, 67 (5): 460-465.

[19] Xue Bai, Paul A. Lant, Paul D. Jensen, Sergi Astals, Steven Pratt. Enhanced methane production from algal digestion using free nitrous acid pre-treatment [J]. *Renewable Energy*, 2016, 88.

[20] 刘刚,屠春宝,毕相东,董少杰. 碱法热处理对蓝藻厌氧发酵生物转化及微囊藻毒素降解效果的影响[J].*农业资源与环境学报*,2016,33(06):547-553。

- [21] Lara Mendez, Ahmed Mahdy, Rudolphus A. Timmers, Mercedes Ballesteros, Cristina González-Fernández. Enhancing methane production of *Chlorella vulgaris* via thermochemical pretreatments [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 149.
- [22] Pavlo Bohutskyi, Michael J. Betenbaugh, Edward J. Bouwer. The effects of alternative pretreatment strategies on anaerobic digestion and methane production from different algal strains [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 155.
- [23] López Torres M, Espinosa Llorens M d C. Effect of alkaline pretreatment on anaerobic digestion of solid wastes [J]. *Waste Manag.* 2008, 28 (11): 2229–2234.
- [24] 朱开金,张郃,谭俊华,赵艳姝.污泥处理新技术方法[J].环境与可持续发展,2006(04):12-13。
- [25] Shui He, Xiaolei Fan, et al., Enhanced methane production from microalgal biomass by anaerobic bio-pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 204: 145-151.
- [26] Barragán-Trinidad M, Carrillo-Reyes J, Buitrón G. Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery [J]. *Bioresour Technol* 2017, 244: 100-107.
- [27] Sevcin Aydin, ElifYıldırım, et al. Rumen anaerobic fungi create new opportunities for enhanced methane production from microalgae biomass [J]. *Algal Res*, 2017, 23: 150-160.
- [28] Shah FA, Mahmood Q, et al. Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis [J]. *Renew Sustain Energy Rev*, 2015, 42: 627–642.
- [29] Yin LJ, Jiang ST, et al. Hydrolysis of *Chlorella* by *Cellulomonas* sp. YJ5 Cellulases and its biofunctional properties [J]. *J Food Sci*, 2010, 75 (9): 317-323.
- [30] Gerken HG, Donohoe B, Knoshaug EP. Enzymatic cell wall degradation of *Chlorella vulgaris* and other microalgae for biofuels production [J]. *Planta* 2013, 237: 239–253.
- [31] MENDEZ L, MAHDY A, TIMMERS R A, et al. Enhancing methane production of *Chlorella vulgaris* via thermochemical pretreatments [J]. *Bioresour Technol* 2013, 149: 136-141.