

# 废水养殖高油微藻的研究进展

王琴, 符笏茵, 应月, 黎奇欣, 黄嘉玲

(仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225)

**摘要:** 本文对适合繁殖于废水中的常见高油微藻的品种、生存条件、处理废水能力、油脂含量及其产油率进行详细介绍, 并阐述了在利用废水养殖微藻过程中的重要影响因素如温度、pH、氮、磷等, 对高油微藻的繁殖生长和其含油量的影响, 从而进一步展示出废水用于养殖高油微藻的可行性, 最后简述了现利用不同废水的特性和用于养殖微藻的研究状况和实例, 提出了在该现状下我们亟待解决的相关技术问题, 为今后用废水养殖高油微藻的研究提供参考。

**关键词:** 废水; 高油微藻; 生物柴油

文章篇号: 1673-9078(2013)6-1442-1446

## Research Progress of Cultivation of Oleaginous Micro-algae in Waste Water

WANG Qin, FU Jia-yin, YING Yue, LI Qi-xin, HUANG Jia-ling

(College of Light Industry and Food, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

**Abstract:** The paper introduces the common species of oleaginous micro-algae in waste water and the important factors in cultivating oleaginous micro-algae in waste water, such as temperature, pH, percentage of nitrogen and phosphorus. The research development and technical problems of oleaginous micro-algae cultivation in waste water were also discussed.

**Key words:** waste water; oleaginous micro-algae; bio-diesel

随着工业进步和社会发展, 日趋严重的水污染成了世界性环境治理难题。国内外常用的污水处理法, 如活性污泥法、生物膜法等, 虽然对有机物、悬浮固体的去除率都很高, 但对污水中存在的营养物质, 如氮、磷等只能去除 20~40%, 出水的氮和磷含量仍然偏高, 足以引起水体营养化, 且普遍存在投资大、运行成本高、排出水对环境可能产生二次污染等问题<sup>[1]</sup>。因此, 寻求一种高效、低耗、可在再生利用的污水生物处理技术已成为当前的研究热点。

另外, 面临即将到来的能源危机, 人类意识到要节约能源的同时, 开发新型能源也显得十分重要。而新兴的生物柴油以其绿色环保及可再生等诸多优点, 日益成为重要的新型能源燃料, 据统计原料成本只是生物柴油制备成本的 75%<sup>[2]</sup>。目前, 国内外工业生产生物柴油的原料主要来自植物油和动物油, 它们都存在着成本高、产量低、受环境影响大、经济性差等缺点, 难以在产油方面持续发展。因此, 生物质柴油能否实用化的关键是要寻求到充足而廉价的原料供应及提高转化率, 从而降低成本。

经研究得出, 微藻即能很好地处理污水也适合于产油。微藻作为一种自然环境的净化者, 很早就被提出并应用于废水中的无机氮磷以及金属元素等污染物质的去除。同时藻丝在生长过程中利用了废水中的氮、磷等营养成分, 减少了配制培养液时化肥的用量, 降低了生产成本。而且微藻具有生长速率快、收获时期短、光合利用效率高特点, 而且每年固定的 CO<sub>2</sub> 大约占全球净光合产量的 40%, 其产油量比陆生植物单产高出 30 倍, 是目前所知的唯一可能代替化石能源的原料<sup>[3]</sup>。因此, 利用废水来培养产油微藻, 既可以利用微藻对这些大量的富氮磷废水实现高效无害化处理, 还可为能源微藻生产油脂提供丰富廉价的营养与水资源, 一举两得。

### 1 废水中的高油微藻

#### 1.1 栅藻

栅藻 (*Scenedesmus* sp.) 是一种高环境污染耐受性的微藻品种, 常生长于许多富营养的污水环境中, 由于其高效的氮、磷利用率以及生长快速、异养能力强, 和它的高生物量产率、固碳能力以及高效降低 CO<sub>2</sub> 作用, 因此经常被用于微藻的废水培养<sup>[4-5]</sup>。有学者研究出, 栅藻 LX1 在营养含量较低的水产养殖废水中,

收稿日期: 2013-01-21

基金项目: 海珠区科技计划项目 (2010-C-06)

作者简介: 王琴 (1973-), 女, 博士, 副教授, 硕士, 研究方向: 食品加工

也能较好地生长<sup>[6]</sup>。另外,刘磊等对二形栅藻进行污水耐受性实验,实验结果表明二形栅藻对实际污水有很强的适应性。而且栅藻能高效率地去除废水中的不同形态的氮,这一特点可以看出栅藻对氮有较高的利用率。经过测定,培养至稳定期时的栅藻,对氨氮、亚硝态氮和硝态氮的去除率分别为 95.5%、96.3% 和 85.8%,总无机氮去除率为 88.0%<sup>[7]</sup>。栅藻含油量为 31.77%,不含有单不饱和脂肪,多不饱和脂肪酸含量较高。在培养方式上,栅藻在异养条件下的生命力较强且产油量较高,与含油量相加起来,油脂产率可高达 129.13 mg/(L·d),是自养条件下的 8 倍,适合进一步优化作为生物柴油原料<sup>[8]</sup>。

### 1.2 小球藻

小球藻 (*Chlorella*) 是绿藻小球藻科中的一个重要属,能适应于不同的生长环境<sup>[9]</sup>。研究结果显示,硝态氮更加适合普通小球藻的生长,但高浓度的硝酸盐条件下,藻体细胞中的油脂有明显的下降,而略显酸性培养液更有利于小球藻的生长,较高浓度金属镁离子达 70 mg/L,则能够明显刺激小球藻生物量的增长,铁离子只能在有限区间内促进小球藻的生长,在氮浓度影响方面,较低氮浓度利于油脂的合成,在一定程度上,另外补充钙离子浓度能够增加藻体细胞中油脂的含量<sup>[10]</sup>。

研究显示<sup>[11]</sup>,在小球藻细胞组成中,蛋白质占为 7.3~88%,碳水化合物占 5.7~38%,脂类占 4.5~86%。小球藻细胞中脂类含量的增加主要是由于脂肪酸积累的结果,在氮饥饿条件下,蛋白核小球藻在生长时可形成高达 86%的脂类,而在正常的小球藻细胞中,脂类含量为 25%,在正常和氮饥饿条件下生长的小球藻,在脂肪酸组成上没有明显的差异。

在原液处理方面,小球藻对原废水中大部分有机物利用降解程度不高,而对还原糖、氨氮和硝基氮的去除率较高。另外,Mhoparta<sup>[12]</sup>等研究出小球藻具有解除水银毒害作用的能力。而 Linag<sup>[13]</sup>等发现小球藻能够在含有重金属及过量铵的废水中生长,在处理废水的同时实现了废水中资源的利用。

### 1.3 布朗葡萄藻

布朗葡萄藻 (*Botryococcus braunii*) 细胞中含有丰富的烃类物质,其产烃量为生物量干重的 0.3~76.0%,通常为 25~40%,甚至在天然样品中最高可以达到 86%,大大高于其他微生物的含烃量(几乎都低于 1%)<sup>[14]</sup>。布朗葡萄藻又称为“油藻”,因为它所积累的烃类的组成和结构与石油很相似,都有较高的热值,而且能形成一些石油沉积中大部分的有机质<sup>[15]</sup>。布朗葡萄藻细胞除了能合成烃类物质外,也还能合成脂肪

酸、三酰甘油以及固醇等脂类,极有优势成为工业藻种,是一种潜在应用价值极高的能源微藻<sup>[16]</sup>。

布朗葡萄藻属于光能自养型,在光合作用过程中,以太阳光为能源,合成生长所需要的有机物,藻细胞在这种生长过程中能够吸收大量的氮、磷等营养物质,从而可以降低水体中的营养负荷,达到净化水质的效果。Sawayama 等<sup>[17]</sup>用经过二次处理的生活污水 (Second Treated Sewage, STS) 培养布朗葡萄藻,发现生活污水中的氮和磷含量大大减少,有毒重金属元素砷、铬、镉等的浓度也大为降低,此外,污水中的亚硝酸盐也可以被布朗葡萄藻所吸收利用,降低亚硝酸盐含量。这表明,将布朗葡萄藻的培养与污水治理的结合应该受到充分的重视。

### 1.4 盐藻

盐藻 (*Dunaliella*) 可在从接近淡水 ( $\text{NaCl} < 0.1 \text{ m}$ ) 一直到饱和盐水 ( $\text{NaCl} > 5 \text{ m}$ ) 的介质中生存、繁殖,大多生活在富含  $\text{NaCl}$  的水中,如海洋、盐湖、盐池、盐碱地等处,能够抵御碱性环境,其最适生长的  $\text{NaCl}$  浓度为 22%。在正常海水中,盐藻累积的蛋白质含量为干重的 50~60%,累积的甘油为干重的 40~50%,而在饱和盐水中,甘油的累积量可达干重的 80% 以上。盐藻光合作用的主要产物是甘油,它主要是维持细胞内外渗透压的平衡。盐藻细胞的甘油含量和盐度有密切关系。一般而言,盐度越高,甘油含量也越高,表明培养盐藻时,只要维持一定的氮磷浓度,甘油的合成就能正常运行<sup>[18]</sup>。

盐藻处理废水过程中,水体的 pH 和 DO 均为先增加后减小最终趋于稳定, COD 没有太大的变化,氨态氮的去除率均达到 100%,硝酸盐、亚硝酸盐、磷酸盐的去除率均能达到 100%,其余各样品随废水浓度增加,其去除趋势一致,均为随之增加的<sup>[19]</sup>。

### 1.5 螺旋藻

螺旋藻 (*Spirulina*) 嗜碱 (pH9~11) 和在温度较高的水中 (25~36 °C) 下生长,是严格的光能自养型藻类。靠阳光和吸收水中的  $\text{CO}_2$  进行光合作用,光合能力极强,一般高等植物的光能利用率通常是 5~6%,而螺旋藻的光能利用率高达 18%,光合效率达 43%,是一般农作物的 3 倍以上。螺旋藻含油量为 10.02%,油脂主要由棕榈酸、亚油酸和  $\gamma$ -亚麻酸组成,其中 C-亚麻酸为脂肪酸组成的 26.78%,是目前所发现植物中含 C-亚麻酸最多的油源<sup>[20]</sup>。大量资料表明<sup>[21]</sup>,利用藻类的吸收,富集和降解作用,可有效去除污水中的重金属和营养盐,还能降解多种有机毒物如农药、烷烃、酚类等。

## 2 影响高油微藻产油量的因素

## 2.1 温度

温度是影响藻类所有代谢活动的一个主要因素<sup>[22]</sup>,也是影响微藻脂肪含量和脂肪酸种类的重要因素之一。有研究证明,在极端高温或低温条件下,微藻合成的脂肪量有所减少,还指出极端温度下合成受限的原因可能是相关的酶发生不可逆损伤所致的<sup>[23-24]</sup>。而在一定范围内升高培养温度会使某些藻合成脂肪的含量增加,但高温条件下培养的微藻,其不饱和脂肪酸的含量下降<sup>[25]</sup>。

Oliveira 研究发现,在温度降低的情况下,一些微藻细胞内多不饱和脂肪酸的含量会增加,这可能与多不饱和脂肪酸决定细胞膜的流动性有关<sup>[26]</sup>。

## 2.2 光照强度

光照的强度不仅能直接影响微藻细胞的光合作用,还能影响微藻细胞的油脂含量,和调节脂肪酸的组成<sup>[27]</sup>。高光强在减少极性总脂含量的同时增加中性脂质含量光照强度,会改变脂肪酸的饱和程度,如海水藻中的一种 *Ulva pertusa*, 当在强光的条件下,其细胞内饱和脂肪酸的组成有明显的增加<sup>[28]</sup>。而低光强可以促进极性脂质合成,特别是与叶绿体连接的极性膜脂,大部分种类在低光照强度时具有高水平的 EPA,而 DHA 则通常随光照强度降低而减少。这种变化也许跟细胞内参与光合作用的细胞器的变化有关。

## 2.3 pH 值

微藻生长环境的 pH 会影响微藻光合作用中二氧化碳的可利用度,在正常生长条件下,微藻可接受的水体的 pH 范围在 6.5~9.0 之间,过高或过低的 pH 都会影响微藻对有机碳源的利用率。对于不同的藻类,其生长需要的最佳 pH 值不同,当偏离最佳 pH 值条件下,微藻生长和体内有关代谢活动将会受到抑制,进而直接影响了微藻的生长和油脂的积累<sup>[29-30]</sup>。一般来讲,微藻细胞最佳的生长 pH 一般在 8.0 左右。而在产业化培养过程中,需要往培养液补充大量的 CO<sub>2</sub>,故培养过程中,培养基的 pH 能维持在相对平衡的水平 (pH 8.0)。而影响微藻生长乃至油脂积累的关键因素之一是 CO<sub>2</sub> 通气量,因为在通气的培养基中,随着通气量或者 CO<sub>2</sub> 的增加,藻细胞中脂肪酸油脂的总量将会降低,而脂肪酸的含量反而会升高。但是,如果通气速率过高,又将导致细胞内脂肪含量的下降,这可能是脂肪代谢在此条件下加快导致的结果<sup>[31-32]</sup>。

## 2.4 氮

氮的含量能影响微藻的终生物量含量,随着氮的减少,微藻的终生物量降低,而微藻细胞内的积累油脂反而升高<sup>[33-34]</sup>。有学者研究得出,氮浓度的改变能给微藻的脂肪酸组成带来影响,当在氮元素缺乏的条

件下,微藻细胞内的油脂含量反而会有所提高<sup>[35]</sup>。其原因可能是在氮源充足时,微藻细胞代谢正常、生长旺盛,细胞内的初级代谢产物如脂类、蛋白质和核酸等均能正常合成,因此所得脂肪酸含量较低。而当氮源缺乏时,含氮化合物如蛋白质和核酸等的合成则受到了限制,而含氮元素较少的例如贮存脂类和绝大多数膜质等不受限制,从而仍能继续合成,同时由于细胞还有固定 CO<sub>2</sub> 的功能,所以细胞内多余的碳源能继续流入次级代谢途径,进一步合成长链脂肪酸,因此细胞干重中油脂的百分含量增加<sup>[36]</sup>。

## 2.5 磷

磷是构成 DNA、RNA、ATP 和细胞膜的必需元素,也是微藻细胞生长的关键因素。在研究磷元素缺乏条件下微藻细胞内油脂含量的过程中发现,磷的缺乏能使鲁兹帕夫藻、角毛藻和三角褐指藻等细胞内的油脂含量增加,但是对于绿色鞭毛藻藻种,如融合微藻和拟球藻等,其油脂含量反而会降低<sup>[37]</sup>。由于微藻细胞内的多不饱和脂肪酸主要是以极性脂肪酸的形式存在,因它们细胞中的脂肪酸含量受磷浓度影响显著。但是藻的种类不同,对磷的需求也不同,甚至差异较大,也有些个别藻种会随着磷的浓度降低,而细胞内 PUFAs 的含量增加。另外,不同 N/p 也会对微藻细胞的生长和脂肪酸合成有影响,魏东等报道当培养基中的氮与磷的比大于 20 时,拟微绿球藻脂肪酸中 EPA 和 PUFAs 占总脂肪酸的比例约为 30~35%。

## 2.6 盐度

在各种盐度的条件下,藻细胞都会产生一些代谢物来保护自身与环境的渗透平衡而不受盐分伤害。例如一些海水藻类和盐水藻类,当外界的盐浓度改变时,其藻细胞会产生一些代谢物,保持细胞壁的厚度和细胞膜的通透性,以保持与环境的渗透平衡避免受到盐分伤害<sup>[38]</sup>。当培养液中盐度从 0.4 M 增加到 4 M 时,杜氏盐藻细胞中饱和脂肪酸与单不饱和脂肪酸的含量增加,但多不饱和脂肪酸的含量反而减少<sup>[39]</sup>。

## 3 养殖高油微藻的废水

### 3.1 生活废水

吕素娟<sup>[40]</sup>等研究了怎样利用城市生活废水培养产油微藻,实验得出利用城市生活废水作为培养基,需补充一些营养组分如无机氮、无机磷、柠檬酸铁铵以及微量元素,其加入量也对藻细胞的生长、生物量和油脂积累等有重要影响。对优化后的废水进行检测,得其培养基中的微藻细胞浓度可达 8.0 g/L 左右,远高于标准 BG11 培养基 5.0 g/L 水平。另外在生活废水中,微藻细胞对无机氮与磷仍能有较高吸收能力,在废水

中加入 185.25 mg/L 以下无机氮, 16.1 mg/L 以下无机磷的条件下培养 3~4 d 后对样品进行检测, 得培养液水体中未发现有氮磷的残留。由此证明可利用城市生活废水培养含油微藻, 能获得微藻油脂的同时还可以实现水体的氮磷无害化处理。

Kenichiro 等<sup>[41]</sup>用经过二次处理的生活污水作为培养基培养葡萄藻, 发现培养基中的氮和磷大大减少, 有毒重金属元素(砷、铬、镉)浓度也大为减少。在 3LSTS 的葡萄藻批式培养中, 发现藻的生长量与在改良的 Chu13 培养基中相当, 其产烃量为 40~53% (Chu13 中为 58%)。

### 3.2 工业废水

许多工业排放的废水中都含有大量的有机质, 如食品行业的糖蜜、乳清、废糖液, 造纸行业和造纸黑废液中均含有, 这些富含有机质的废水能给微藻提供良好培养基。例如啤酒产生的废水污泥中含有 20~30% 粗蛋白及磷、铁、钾等营养元素和微量元素, 能作为藻类的理想培养基。

Woertz<sup>[42]</sup>等对微藻处理乳品和市政废水同时积累油脂生产生物柴油进行了研究。在奶制品废水中, 废水浓度的不同, 影响着微藻的含油量, 一般在 14~29% 范围, 其中最大生长量达到能 17 mg/(d·L)。另一方面, 废水中微藻对铵盐和磷酸盐的去除率均能达到了 96% 以上。而以市政废水作为培养基时, 微藻最高产油量可达到 24 mg/(d·L), 对铵盐和磷酸盐的去除率均达到 99% 以上。这有利地证明了微藻不仅能很好地在工业废水生长且很好地处理多余的有机物质, 而且还能同时积累油脂。

### 3.3 农业废水

农业废水在此主要指饲养场排放废水, 主要是动物粪尿。动物粪尿通常用于农业施肥, 另一条途径是通过厌氧发酵以转化有机物并产生沼气作为燃料, 而厌氧发酵后产生的有机物和无机盐能作为藻类生长需要的良好营养物。

Michael 等<sup>[43]</sup>研究了以牛粪液作为培养基培养小球藻来生产生物柴油。他以聚苯乙烯泡沫塑料作为载体附着微藻, 得到了 25.65 g/m<sup>2</sup> 的最大生长量以及 2.31 g/m<sup>2</sup> 的脂肪酸产量。并且收获后附着在泡沫上的微藻作为种子再次进行培养, 能得到更高的藻生长量以及油产量达到了 2.59 g/m<sup>2</sup>, 并且总氮和总磷的去除量分别达到了 61~79% 和 62~93%。这个方法解决了微藻难以收获的难题, 为微藻柴油的生产提供了新方法。

## 4 展望

在化石能源和水资源紧缺的阶段, 人们迫切需要寻找可再生能源替代化石能源, 而微藻的优势也日益凸显, 同时利用废水来培养微藻也显得具有其实际意义, 然而, 利用微藻产油同时净化废水还有很多问题需要解决: ①筛选油脂含量高且生长繁殖快速的藻种, 该藻类要求既能积累高含量油脂, 又必须能够在废水中大量生长, 同时还得能够高效的净化废水。而未经人工导向的野生菌株很难达到这样的水平, 因此需要利用基因工程技术, 研发驯养出符合要求的“工程微藻”; ②设计高效节能的光合反应器, 所需的光合反应器要求既能充分利用光能, 又能保证稳定的最大生物量产率, 并且易于放大; ③微藻生物产物的利用, 对废水气同时结合起来使用, 并能大规模地培养微藻, 且能最大限度地利用产物, 和最大限度地减少生产成本, 则需要建立一套高效的生产工艺和进行大量的研究。

### 参考文献

- [1] 张波. 关于废水中氮和磷的去除研究[J]. 环境科学与管理, 2006, 31(3): 96-98
- [2] 郑洪立, 张齐, 马小琛. 产生物柴油微藻培养研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2009, 15(3): 110-116
- [3] Palligarnai T, Vasudevan, Michael B. Biodiesel production-current state of the art and challenges [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2008, 35: 421-430
- [4] Zhang E D, Wang B, Wang Q H, et al. Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment [J]. Bioresour Technol, 2008, 99(9): 3787-3793
- [5] Martínez M E, Sánchez S, Jiménez J M, et al. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus* [J]. Bioresour Technol, 2000, 73(3): 263-272
- [6] Mandal S, Mallick N. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 84(2): 281-291
- [7] 马红芳, 李鑫, 胡洪营, 等. 栅藻 LX1 在水产养殖废水中的生长、脱氮除磷和油脂积累特性[J]. 环境科学, 2012, 33(6): 1891-1896
- [8] 杨静, 将剑春, 张宁. 不同培养方式下微藻产油能力的研究[J]. 生物质化学工程, 2011, 45(2): 15-19
- [9] Hasegawa T, Noda K, Kumamoto S, et al. *Chlorella vulgaris* culture supernatant (CVS) reduces psychological stress-induced apoptosis in thymocytes of mice [J]. Int J

- Immunopharmacology, 2000, 22 (11): 877-885
- [10] 夏云峰.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].浙江:浙江大学,2011
- [11] Gill L, Valivety R. Polyunsaturated fatty acids, part 1: Occurrence, biological activities and applications [M]. Tibtech, 1997
- [12] MohaPatra D K, Mohanty L, Mohanty R C, et al. Biototoxicity of Mercury to *Chlorella Vulgaris* as Influenced by Amino Acids [J]. Acta Biol-Hung, 1997. 48(4): 497-504
- [13] Liang Y, Wong M H. Reclamation of Wastewater for Polyculture of Freshwater Fish [J]. Arch. Envir. Contam. Toxicol, 2000. 39(4): 506-514
- [14] 唐赢中,黄利群,严国安.藻类产烃研究进展[J].生物工程进展,1997,12(2):23-26
- [15] 马梅,王朋云.布朗葡萄藻培养方面的研究概况[J].现代农业科技,2008,15:35-38
- [16] Sawayama S, Minowa T, Dotc Y. Growth of the hydrocarbon rich microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1992, 38(2): 135-138
- [17] 吴夏芫,李环,韦萍.能源微藻-葡萄藻生物学特性的研究进展[J].安徽农业科学,2008,36(17):7378-7379
- [18] 姜建国,姚汝华.氮磷比对盐藻生长及甘油和色素积累的影响[J].热带海洋,1999,18(1):68-72
- [19] 叶志娟.牟氏角毛藻和盐藻对不同种类海水养殖废水生长和生理反应的研究[D].南京:南京农业大学,2006
- [20] 程霜,崔庆新,刘敏.螺旋藻油的超临界提取及GCPMS分析[J].食品工业技,2001,22(5):8-10
- [21] 王维,刘彬,邓南圣.藻类在污水净化中的应用及机理简介[J].重庆环境科学,2002,24(6):41-43
- [22] Goldman J C, Carpenter E J. A kinetic approach to the effect of temperature on algal growth [J]. Limnol. Oceanogr, 1974, 19:756-766.
- [23] Aaronson S L. Effect of incubation temperature on the macromolecular and lipid content of the phytoflagellate *Ochromonas danica*. [J].Phycol., 1973,9:111-113
- [24] Opute F I. Studies on fat accumulation in *Nitzschia palea* [J]. Ann.Bot., 1974,38:889-892
- [25] Mortenson S H, Borsheim K Y, Rainuzzo J K. Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity [J]. Exp.Mar.Biol. Ecol., 1988, 122:173-185
- [26] Richmond A. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology [M]. Blackwell Publishing, 2004
- [27] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, 101(2): 87-96
- [28] Valerie Sarisky-Reed D F, Rajita Majumdar, Joanne Morello, et al. National Algal Biofuels Technology Roadmap [R]. 2010
- [29] Borowitzka M A. Algal Biotechnology Products and Processes-Matching Science and Economics [J]. Journal of Applied Phycology, 1992, 4(3): 267-279
- [30] Valerie Sarisky-Reed D F, Rajita Majumdar, Joanne Morello, Ron Pate, and Joyce Yang. National Algal Biofuels Technology Roadmap [R]. 2010
- [31] Chiu S, Kao C, Tsai M, et al. Lipid accumulation and CO<sub>2</sub> utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO<sub>2</sub> aeration [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(2): 833-838
- [32] Ota M, Kato Y, Watanabe H, et al. Fatty acid production from a highly CO<sub>2</sub> tolerant alga, *Chlorococcum littorale*, in the presence of inorganic carbon and nitrate [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21):5237-5242
- [33] Converti A, Casazza A A, Ortiz E Y, et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production [J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2009, 48(6): 1146-1151
- [34] Li Y, Han D, Sommerfeld M, et al. Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalga *Pseudochlorococcum* sp. (Chlorophyceae) under nitrogen-limited conditions [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(1): 123-129
- [35] Adelina de la Jara, Hector Mendoza, Antera Martel, et al. Flow cytometric determination of lipid content in a marine dinoflagellate [J]. Journal of Applied Phycology, 2003, 15: 433-438
- [36] Guschina I, Harwood J. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae [J]. Progress in Lipid Research, 2006, 45(2): 160-186
- [37] Kjell Inge Reitan, Jose R. Rainuzzo, Olsen Y. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae [J]. Journal of Phycology, 1994, 30(6): 972-979
- [38] Richmond A, Grobbelaar J U. Factors Affecting the Output Rate of *Spirulina-Platensis* with Reference to Mass Cultivation [J]. Biomass, 1986, 10(4): 253-264