

典型微藻高浓度扩大培养及高值类藻酸多聚物的组分分析研究

仪凡, 肖阳, 林苏丹, 张海峰, 施雪卿*

(青岛理工大学 环境与市政工程学院, 青岛 266525)

摘要: 分别以蛋白核小球藻与铜绿微囊藻为藻源, 研究了不同浓度的化学需氧量 (Chemical Oxygen Demand, COD) 对两种微藻扩大培养的影响以及从两种微藻中提取的类藻酸多聚物 (Alginate-Like Exopolymers, ALE) 含量、组分及特性的差异情况。结果表明, 适当浓度的 COD 会明显增加两种微藻的扩大培养浓度。蛋白核小球藻扩大培养过程中最大藻密度可以达到 8.61×10^7 cells/mL, 在已有文献报道中处于较高水平; 铜绿微囊藻扩大培养过程中最大藻密度为 1.39×10^8 cells/mL, 远高于现有工作所报道的数据。从蛋白核小球藻与铜绿微囊藻中首次成功提取分离出了类藻酸多聚物。蛋白核小球藻 ALE 的产量 (199.65 ± 10.20 mg/L) 远高于铜绿微囊藻 (72.45 ± 26.12 mg/L)。光谱学分析结果显示, 两种微藻中提取的 ALE 在组分和性质上与市售藻酸盐产品具有较高的相似性, 并且 ALE 是由蛋白质、多糖、藻酸盐等多种物质组成的混合物。综合上述结果, 说明从两种微藻中回收类藻酸多聚物具有很大潜力。

关键词: 微藻; 高浓度扩大培养; 类藻酸多聚物

中图分类号: X703

文献标志码: A

文章编号: 1673-4602(2026)02-0066-08

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4602.2026.02.009

Study on the high-concentration culturing of typical microalgae and component analysis of high value alginate-like exopolymers

YI Fan, XIAO Yang, LIN Sudan, ZHANG Haifeng, SHI Xueqing*

(School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao University of Technology, Qingdao 266525, China)

Abstract: This study uses *Chlorella pyrenoidosa* and *Microcystis aeruginosa* as the algal sources, investigating the effects of Chemical Oxygen Demand (COD) of different concentrations on the culturing of the two microalgae and the differences in the content, composition and properties of Alginate-Like Exopolymers (ALE) extracted from the two microalgae. The results showed that the appropriate concentration of COD could significantly increase the culturing concentration of the two microalgae. The maximum algal density of *Chlorella pyrenoidosa* was 8.61×10^7 cells/mL, which was at a higher level than that reported in the literature, and the maximum algal density of *Microcystis aeruginosa* was 1.39×10^8 cells/mL, which was far higher than that reported in the literature. For the first time ALE were successfully extracted and isolated from *Chlorella pyrenoidosa* and *Microcystis aeruginosa*. The ALE production of *Chlorella pyrenoidosa* (199.65 ± 10.20 mg/L) was higher than

收稿日期: 2024-05-06

基金项目: 高端外国专家引进计划 (G2023025010L)

作者简介: 仪凡 (1999—), 男, 山东济南人。硕士, 研究方向为污水处理与资源化。E-mail: 18763498866@139.com。

* 通信作者: 施雪卿 (1985—), 男, 山东青岛人。博士, 教授, 博士生导师, 主要从事污水高值生物炼化方面的研究。

E-mail: shixq85@163.com。

that of *Microcystis aeruginosa* (72.45 ± 26.12) mg/L). The results of spectroscopic analysis showed that the ALE extracted from the two microalgae had a high similarity to those commercially available alginate products in their composition and properties, and that the ALE was a mixture of proteins, polysaccharides, alginates and other substances. Taken together, these results indicate that the recovery of ALE from the two microalgae has great potential.

Key words: microalgae; high-concentration culturing; Alginate-Like Exopolymers(ALE)

在碳达峰、碳中和的战略背景下,随着全球对可持续发展和环境保护的日益重视,微藻资源化技术受到了人们的广泛关注^[1]。微藻是微小的藻类群体,只能在显微镜下识别。到目前为止,已经发现了 15.7×10^4 种微藻。微藻作为一种可再生资源,回收后的微藻还可以转化为具有经济价值的产品,如生物燃料、动物饲料、生物肥料、化妆品成分等^[2]。然而,由于微藻体积小、密度低,自然状态下往往以极低的浓度存在于水体中,从微藻中提取特定化合物或生产高纯度产品也存在技术成熟度及经济性较低等问题。已有研究表明在水体中添加不同碳源可以促进微藻扩大培养,但是扩大培养后的浓度较低^[3-7]。OLIVEIRA 等^[8]研究不同碳源对蛋白核小球藻生长的影响时发现投加葡萄糖可以使蛋白核小球藻生物量达到使用其他有机碳源时获得的生物量的 2 倍左右。PLÖHN 等^[9]研究发现绿球藻和网状小球藻能够在高浓度的木糖和甲醇下快速生长。类藻酸多聚物(Alginate-Like Exopolymers, ALE)是一种极好的商业藻酸盐替代物,相关研究表明,传统的好氧颗粒污泥可以回收资源化产品——类藻酸多聚物^[10],但是目前尚无研究关注从微藻中提取这种高附加值产品。因此,获取高浓度的藻液以及开发高效的资源回收技术,对于加强微藻资源化回收的应用研究、探索可持续的利用策略以及推动微藻产业的发展具有重要意义。

本实验以蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)与铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)作为藻源,探究不同浓度的化学需氧量(Chemical Oxygen Demand, COD)对微藻扩大培养的影响,通过考察两种不同藻源中 ALE 的含量、组分及特性的差异情况,为微藻源 ALE 富集回收提供新的思路。

1 材料与方 法

1.1 实验藻株及培养条件

本研究所用的藻株为蛋白核小球藻与铜绿微囊藻,藻种购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。蛋白核小球藻用改性 Basal 培养基进行扩大培养,铜绿微囊藻用改性 BG-11 培养基进行扩大培养^[11]。所添加的碳源为葡萄糖。培养基经高压蒸汽锅(GI54DSE,广州深华生物技术有限公司)在 121 °C 下灭菌 15 min 后,在超净工作台(AIRTECH, SW-CJ-1FD, 美国)按照藻液与无菌培养基 1 : 10 的比例混合,瓶口用无菌封口膜进行密封。接种完成后将锥形瓶放置于恒温光照培养箱(LRH-150, 上海)中,温度设置为 25 °C,光照强度为 2500 lx,光暗周期 12 h : 12 h。

1.2 类藻酸多聚物的提取方法

参考 FELZ 等^[12]提出的方法提取类藻酸多聚物(ALE),具体步骤如下:

1) 热碱处理:将培养至指数后期后的藻液离心重悬后放入烧杯中,加入去离子水并保持藻液 : 去离子水 = 3 g : 50 mL。然后加入 0.5% (质量体积比) 的无水 Na_2CO_3 在 400 r/min、80 °C 的水浴中搅拌 35 min,将混合液转移到容量为 50 mL 的离心管中使用离心机在 4000g、4 °C 下离心 20 min,收集上清液。

2) 透析:将离心后的上清液倒入截留分子量为 3500 Da 的透析袋内,并把该透析袋浸入烧杯中,保持搅拌速度在 200 r/min,使用超纯水进行透析处理 24 h,目的是移除小分子杂质。在液体注入透析袋后,保留约 1/3 的空间以便排气。为了提高透析效率,每 12 h 需更换一次透析用水。

3) 酸析碱溶:透析后的液体用 1 mol/L HCl 调节 pH 至 2.2 ± 0.05 ,形成藻酸盐沉淀。将酸化后的溶液在 4000g、4 °C 下离心 20 min,收集析出的藻酸盐沉淀后滴加 0.5 mol/L NaOH 至 pH 为 8.5。

4) 冷冻干燥:将调节完成后的样品倒入玻璃培养皿,在 -80 °C 冰箱中冷冻 24 h,随后在冷冻干燥机中冻干 24 h,获得干燥状态下的 ALE,并将其放入干燥器中保存。

1.3 分析方法

多糖(PS)含量采用苯酚-硫酸法进行测量;蛋白质(PN)含量按照 Lorry 法的程序进行检测;总有机碳(TOC)采用 TOC 分析仪测定;紫外-可见光谱采用紫外-可见光谱仪(DR 5000,美国)测定,扫描范围为 700~200 nm。首先收集去离子水的紫外-可见光谱数据作为背景参照,随后将冷冻干燥后的样品与 KBr 混合,直接用于光谱采集,每 100 mg 的 KBr 中加入 1 mg 样品,以便排除背景干扰;傅里叶变换红外光谱采用红外光谱仪(Nicolet IS50, Thermo Scientific,美国)进行测定,扫描范围为 4000~400 cm^{-1} ;三维荧光光谱采用荧光光谱分析仪(FluoroMax-4, HORIBA,日本)进行测定,扫描速率设定为 1200 nm/min ,扫描波长范围为激发波长 $E_x=200\sim 500\text{ nm}$ 、发射波长 $E_m=220\sim 550\text{ nm}$,在实验前进行扫描光谱的仪器校正。

2 结果与讨论

2.1 微藻的扩大培养

由图 1 可以看出,不同投加浓度 COD 对蛋白核小球藻与铜绿微囊藻生长的影响从培养第 2 天开始表现出明显差异。由图 1(a)可以看出,水体中 COD 浓度的提高对蛋白核小球藻的生长展现出明显的促进作用。在 COD 投加浓度分别为 1000 与 1500 mg/L 时,藻细胞在第 4 天进入稳定期,培养期间的最大藻密度分别为 $(4.43\pm 0.22)\times 10^7$ 与 $(7.66\pm 0.30)\times 10^7\text{ cells}/\text{mL}$ 。在 COD 投加浓度提高到 2000 mg/L 时对蛋白核小球藻生长的促进作用最为明显,培养期间的最大藻密度为 $(8.61\pm 0.61)\times 10^7\text{ cells}/\text{mL}$,藻细胞密度约相当于初始接种藻密度的 8 倍,在已有文献报道中处于较高水平(表 1)。随着 COD 浓度的提高,可以观察到 COD 对于蛋白核小球藻的促进作用减缓,在 COD 投加浓度为 4000 mg/L 时,培养期间最大藻密度为 $(3.46\pm 0.17)\times 10^7\text{ cells}/\text{mL}$ 。这与 QIAO 等^[13]的研究发现基本一致,即在混养条件下添加有机碳源可使小球藻的生物量大幅度增加。

对于铜绿微囊藻而言,从图 1(b)中可以观察到在不添加 COD 时藻细胞生长比较迟缓,在实验期间最大藻密度为 $(2.58\pm 0.10)\times 10^7\text{ cells}/\text{mL}$ 。这说明铜绿微囊藻可以在没有外加碳源的情况下生长。随着 COD 投加浓度的提高,其对于铜绿微囊藻生长的促进作用越来越显著,在 COD 提升为 4000 mg/L 时, COD 对铜绿微囊藻的促进作用最为明显,培养期间的最大藻密度可以达到 $(1.39\pm 0.08)\times 10^8\text{ cells}/\text{mL}$,约相当于初始接种藻密度的 14 倍,远高于已有研究成果(表 1)。

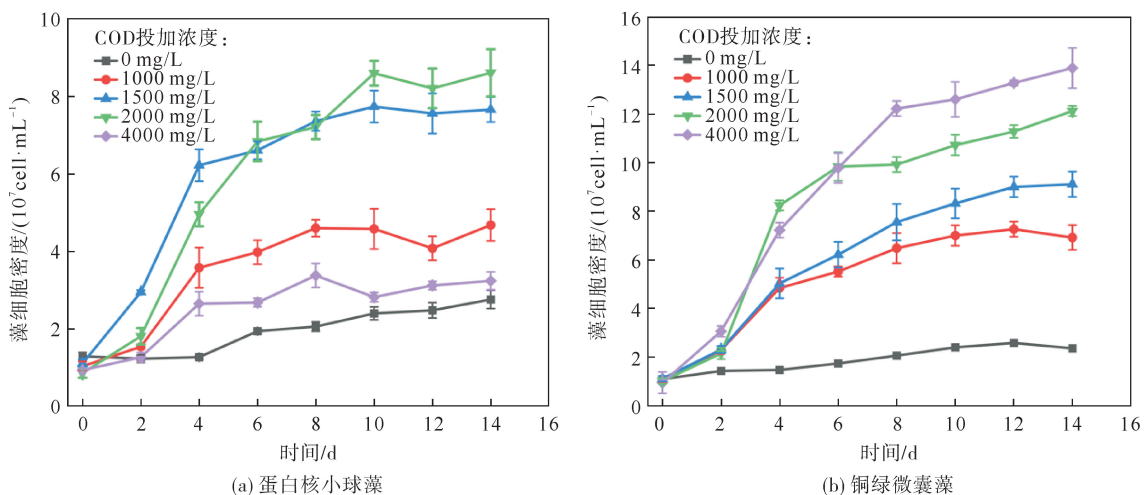


图 1 不同浓度 COD 对微藻扩大培养的影响

由此可见,不同投加浓度 COD 对于蛋白核小球藻与铜绿微囊藻藻细胞密度的影响趋势存在一定差异,推测其原因是 COD 对两种微藻色素与蛋白等物质的影响不同,进而导致不同浓度的 COD 对于两者生长趋势产生不同的影响。

培养期间水体中 COD 的变化如图 2 所示。从图 2 中观察到,在实验的前 4 d,蛋白核小球藻与铜绿微囊藻对于水体中的 COD 吸收速率较快,这是因为此阶段两种微藻正处于对数生长期,会从外界环境中摄取大量的有机物储存在细胞体内供给细胞生长。随着微藻的生长,微藻分泌的胞外有机物及藻细胞的死亡会使水体中的 COD 浓度呈现波动状态。对于蛋白核小球藻而言,在投加 COD 浓度为 2000 mg/L 以下时,蛋白核小球藻的指数生长阶段几乎能将水体中的 COD 完全吸收利用;然而,将 COD 投加浓度提高到 4000 mg/L 时,水体中的 COD 直到培养终点也未被蛋白核小球藻全部利用。铜绿微囊藻对 COD 的吸收利用能力则相对较弱,当 COD 投加浓度为 1000、1500 和 2000 mg/L 时,实验结束时水体中的 COD 浓度均基本稳定在 450 mg/L 左右,未被完全消耗;即使 COD 投加浓度达到 4000 mg/L,实验终点时水体中 COD 浓度仍维持在约 2000 mg/L,同样未被充分利用。

表 1 不同类型微藻的培养终点浓度

藻液浓度/(10 ⁸ cells · mL ⁻¹)	微藻	参考文献
0.87	蛋白核小球藻	[14]
1.19	蛋白核小球藻	[15]
0.25	蛋白核小球藻	[3]
0.29	蛋白核小球藻	[4]
0.50	蛋白核小球藻	[4]
0.86	蛋白核小球藻	本研究
0.10	铜绿微囊藻	[6]
0.14	铜绿微囊藻	[7]
0.22	铜绿微囊藻	[5]
0.15	铜绿微囊藻	[16]
0.50	铜绿微囊藻	[17]
1.39	铜绿微囊藻	本研究

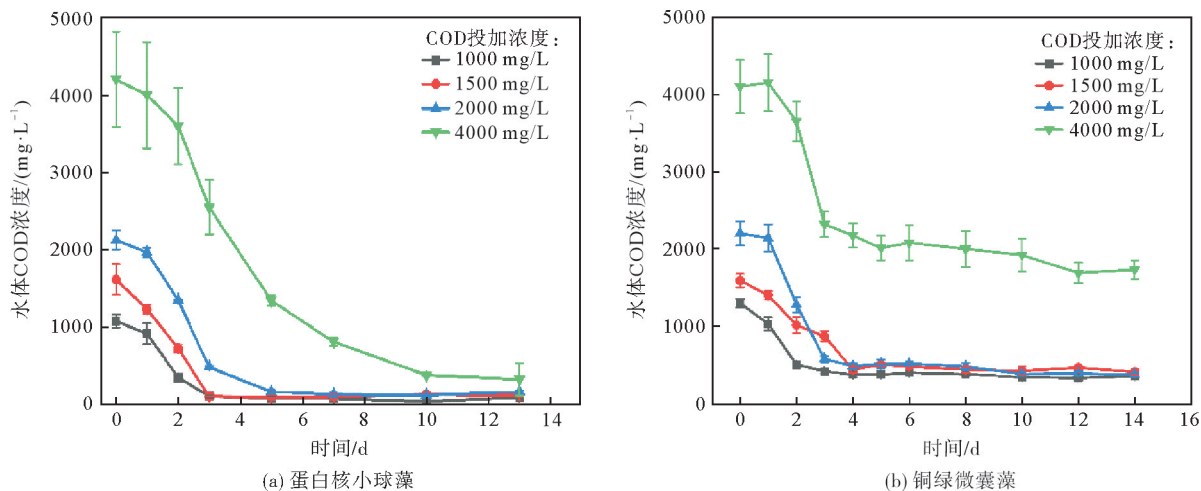


图 2 微藻扩大培养过程中水体中 COD 的变化

2.2 类藻酸多聚物的产量与组分

扩大培养后的蛋白核小球藻与铜绿微囊藻 ALE 的产量、产率与组分见表 2。从蛋白核小球藻中提取的 ALE 产率较高,为(35.34±4.32) mg/g。从铜绿微囊藻中提取的 ALE 产率为(24.89±1.23) mg/g。蛋白核小球藻 ALE 的产量为(199.65±10.20) mg/L;铜绿微囊藻 ALE 的产量为(72.45±26.12) mg/L。这表明蛋白核小球藻较高的 ALE 产量与产率有助于富集回收更多的高值产物 ALE。

表 2 不同来源 ALE 的产量、产率与组分

ALE 来源	产量/(mg · L ⁻¹)	产率/(mg · g ⁻¹)	蛋白/(mg · g ⁻¹)	多糖/(mg · g ⁻¹)	蛋白/多糖
蛋白核小球藻	199.65±10.20	35.34±4.32	213.20±13.12	53.41±2.11	3.99
铜绿微囊藻	72.45±26.12	24.89±1.23	140.21±7.21	32.93±3.62	4.26

研究表明,ALE 是一种多聚物,主要由藻酸盐、多糖和蛋白质等组成,这些成分及其比例共同影响着 ALE 的结构和性能^[18]。由表 2 可知,从蛋白核小球藻中提取的 ALE 相比于铜绿微囊藻的 ALE 具有更

高的蛋白与多糖含量。

采用胞外蛋白与胞外多糖之比(PN/PS)评价 ALE 物质相对成分含量,进而表征其性质^[19]。由表 2 可知,蛋白核小球藻 ALE 的 PN/PS 为 3.99,铜绿微囊藻 ALE 的 PN/PS 为 4.26。通常,普通活性污泥中 ALE 的 PN/PS 为 2~3,好氧颗粒污泥中 ALE 的 PN/PS 为 4~8,本研究中从藻液中提取的 ALE 的 PN/PS 均在普通活性污泥与好氧颗粒污泥的范围内。

2.3 紫外-可见光谱分析

通过紫外-可见光谱的全波段扫描分析,可以评估特定波长下物质的腐殖化程度,以及其中脂肪族和芳香族化合物的含量,从而综合反映物质的化学稳定性和结构特征。如图 3 所示,ALE 显示出与藻酸盐相似的紫外-可见光谱,两个光谱在紫外区都有大量的吸收。在 200~210 nm 范围内出现强吸收带,表明 ALE 有较多的羧基、羰基或酯等官能团。3 条曲线吸光度随着波长的增加开始减少,蛋白核小球藻 ALE 与铜绿微囊藻 ALE 在 240~290 nm 有明显的吸收,这一波段的吸收特性通常被认为与芳香族化合物中的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁有关^[20],表明从两种藻液中提取的 ALE 相较于市售藻酸盐含有更多的共轭分子杂质。

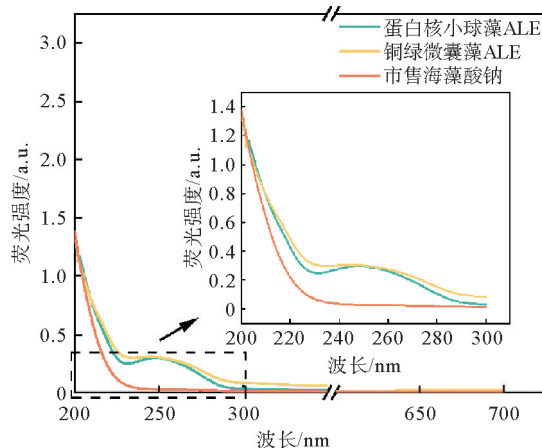


图3 ALE的紫外光谱图

1) 采用紫外-可见光谱中 3 个特定的吸光度比值 E_2/E_3 、 E_4/E_6 和 E_2/E_4 ^[21-22] 对 ALE 中有机物的种类和结构特性进行表征。 E_2/E_3 (在 250 与 365 nm 处的吸光度比值) 与分子量分布相关, E_2/E_4 (在 250 与 465 nm 处的吸光度比值) 用于反映腐殖化程度, E_4/E_6 (在 465 与 665 nm 处的吸光度比值) 则与芳香性等结构特征相关。铜绿微囊藻 ALE 的 E_2/E_3 、 E_4/E_6 、 E_2/E_4 分别为 5.33、6.23 和 1.49;蛋白核小球藻 ALE 的 3 个值较高,分别为 14.62、15.06 和 3.02。前者显著低于后者,说明铜绿微囊藻 ALE 的物质分子量较大,腐殖化程度与缩合度均较高,且包含了较多稳定化合物;而蛋白核小球藻中脂肪族化合物含量较高。

2) 采用 $SUVA_{254}$ (单位溶解性有机碳浓度下波长 254 nm 处的吸光度) 表征 ALE 的芳香不饱和程度,数值越大,芳香族化合物越高。蛋白核小球藻 ALE 和铜绿微囊藻 ALE 的数值分别为 0.77 和 1.31,表明后者具有更高的芳香族化合物。

3) 采用 $SUVA_{260}$ (单位溶解性有机碳浓度下波长 260 nm 处的吸光度) 表征 ALE 的疏水性程度, $SUVA_{260}$ 数值越大,疏水性组分比例越高。蛋白核小球藻 ALE 和铜绿微囊藻 ALE 的数值分别为 0.70 和 1.23,表明后者疏水性物质含量较高。

2.4 类藻酸多聚物的三维荧光光谱分析

通过三维荧光光谱(3D-EEM)技术能够对 ALE 中的溶解性有机物进行分析。由于每种物质都具有特有的激发波长 E_x 和发射波长 E_m ,因此可以通过观察激发、发射波长之比及荧光峰的强度来追踪反应过程中物质的变化。如图 4 所示,蛋白核小球藻 ALE 中 Peak A($E_x/E_m=275\sim 285$ nm/ $330\sim 370$ nm) 在波长 $E_x/E_m=250\sim 450$ nm/ $260\sim 380$ nm 范围内;Peak B($E_x/E_m=220\sim 230$ nm/ $325\sim 375$ nm) 在波长 $E_x/E_m=200\sim 250$ nm/ $320\sim 380$ nm 范围内。铜绿微囊藻 ALE 中 Peak A($E_x/E_m=275\sim 285$ nm/ $325\sim 375$ nm) 在波长 $E_x/E_m=250\sim 450$ nm/ $260\sim 380$ nm 范围内;Peak B($E_x/E_m=220\sim 230$ nm/ $325\sim 375$ nm) 在波长 $E_x/E_m=200\sim 250$ nm/ $320\sim 380$ nm 范围内,两者均在类蛋白荧光峰的范围。Peak A 与 Peak B 分别反映生物降解来源的色氨酸与酪氨酸特征峰,这两种组分分别关联 ALE 中的芳香氨基酸结构与微生物代谢产生的芳香蛋白结构。尽管来源于不同的藻种,但两种 ALE 在成分与物质结构上具有相似性。此外,蛋白核小球藻 ALE 的 Peak A 荧光强度显著,从而表明其类蛋白含量相较于铜绿微囊藻 ALE 更高。该现象印证了 LI 等^[23] 的发现,即色氨酸蛋白、酪氨酸蛋白等物质是 ALE 的主要成分。

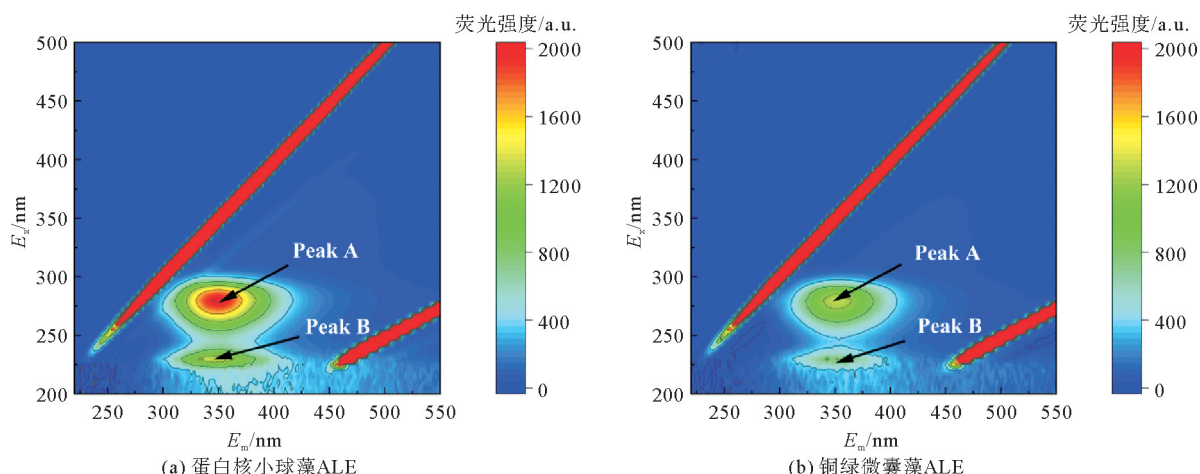


图 4 两种微藻 ALE 的三维荧光光谱图

2.5 傅里叶变换红外光谱分析

傅里叶变换红外光谱(FT-IR)是监测生物聚合物结构变化的有用工具^[24]。采用 FT-IR 检测分析稳定的蛋白核小球藻与铜绿微囊藻中提取得到的 ALE 官能团特性,并将其与商业藻酸盐进行对比分析,结果如图 5 所示。表 3 总结了不同特征官能团对应的吸收峰位置^[25]。2960 cm^{-1} 处的吸收峰对应于甲基中 C—H 的伸缩振动;2923 cm^{-1} 处的吸收峰属于有机物和多糖中 C—H 的伸缩振动;1657 cm^{-1} 处的吸收峰由 C—O 的伸缩振动引起;1535 cm^{-1} 与 1401 cm^{-1} 处的特征峰分别对应于 C—H 伸缩振动,N—H 弯曲振动与 CH_3 弯曲振动, CH_2 伸缩振动;1239 cm^{-1} 处的特征峰表示存在 C—N 伸缩振动和 C—OH 拉伸。1600~1700 cm^{-1} 为酰胺 I 带,1500~1600 cm^{-1} 为酰胺 II 带,1200~1300 cm^{-1} 为酰胺 III 带,均与蛋白质基团密切相关。其中 1535 cm^{-1} 和 1657 cm^{-1} 处的 2 个吸收峰为蛋白质相关官能团区域的特征吸收峰;1074 cm^{-1} 处的吸收峰表示 C—H 的弯曲振动;880 cm^{-1} 处的吸收峰对应于 C—H 伸缩振动;1200~1000 cm^{-1} 处的吸收峰对应于多糖中 C—O 基团的伸缩振动。FT-IR 结果进一步验证了 ALE 是由藻酸盐、多糖、蛋白等多种物质组成的有机混合物。该结论与 LI 等^[23]关于颗粒污泥源 ALE 的主要成分为色氨酸蛋白和酪氨酸蛋白等物质的研究发现一致;SHI 等^[10]的研究也表明 ALE 主要是由蛋白质、腐殖酸、多糖等物质构成的。

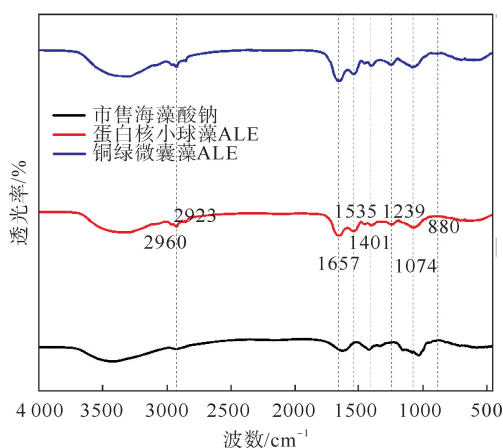


图 5 ALE 与藻酸盐的傅里叶变换红外光谱

表 3 红外光谱特征的不同波段分配

波长/ cm^{-1}	振动类型	相应组分
2960	C—H 伸缩振动	碳水化合物、脂质
2923	C—H 伸缩振动	碳水化合物、脂质
1657	C—O 伸缩振动	酰胺 I
1535	C—H 伸缩振动,N—H 弯曲振动	酰胺 II
1401	CH_3 弯曲振动, CH_2 伸缩振动	甲基、亚甲基
1239	C—N 伸缩振动,C—OH 拉伸	酰胺 III、多糖
1074	C—H 弯曲振动	多糖
880	C—H 伸缩振动	核酸

3 结论

系统探究了化学需氧量(COD)对蛋白核小球藻和铜绿微囊藻两种微藻扩大培养的影响,并首次成功

从中提取、表征了类藻酸多聚物(ALE),主要结论如下:

1) 在微藻扩大培养方面,适当浓度的 COD 会明显增加蛋白核小球藻和铜绿微囊藻的扩大培养浓度。当 COD 投加浓度达到 2000 mg/L 时,对蛋白核小球藻扩大培养的促进作用最为明显,培养期间其最大藻细胞密度可达到 8.61×10^7 cells/mL,在已有文献报道中处于较高水平。当 COD 投加浓度为 4000 mg/L 时,铜绿微囊藻最大藻细胞密度可达 1.39×10^8 cells/mL,远高于目前文献所报道的水平。

2) 从蛋白核小球藻与铜绿微囊藻中首次成功提取、分离出了 ALE 高附加值产品。蛋白核小球藻的 ALE 产量为 (199.65 ± 10.20) mg/L,高于铜绿微囊藻 ALE 的产量 (72.45 ± 26.12) mg/L,且蛋白核小球藻 ALE 中蛋白质(PN)的含量 (213.20 ± 13.12) mg/g 高于铜绿微囊藻 ALE (140.21 ± 7.21) mg/g。

3) 光谱学分析结果显示,从两种微藻中提取的 ALE 在组分和性质上与市售藻酸盐较为接近。三维荧光光谱(3D-EEM)分析进一步表明两种微藻中提取的 ALE 均富含类蛋白质(色氨酸、酪氨酸),而蛋白核小球藻 ALE 中的荧光强度尤为显著,说明其物质浓度更高;傅里叶变换红外光谱(FT-IR)的结果证实了 ALE 是由蛋白质、多糖、藻酸盐等多种物质组成的复杂有机混合物;紫外-可见光谱全波长扫描结果显示两种微藻中提取的 ALE 在官能团特性上与市售藻酸盐具有较高的相似性。

本研究不仅为微藻的高密度培养提供了参考,也证实了从微藻特别是蛋白核小球藻中回收高价值 ALE 的可行性与巨大潜力,为微藻资源的高值化利用开辟了新途径。

参考文献(References):

- [1] ROLLEMBERG S L D S, OLIVEIRA L Q D, BARROS A R M, et al. Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 278: 195-204.
- [2] KARTHIKEYAN S, PERIYASAMY M, PRATHIMA A. Biodiesel from microalgae: Environmental aspects[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2020, 33: 3664-3667.
- [3] XU H Q, WU Q R, WANF Y, et al. Biomass accumulation and physiological characteristics of *Chlorella pyrenoidosa* with different forms of organic phosphorus under the mixotrophic mode[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2023, 12(1): 130-140.
- [4] LI S F, FANESI A, MARTIN T, et al. Biomass production and physiology of *Chlorella vulgaris* during the early stages of immobilized state are affected by light intensity and inoculum cell density[J]. *Algal Research*, 2021, 59: 102453.
- [5] WANG S L, DING P, LU S Y, et al. Cell density-dependent regulation of microcystin synthetase genes (MCY) expression and microcystin-LR production in *Microcystis aeruginosa* that mimics quorum sensing[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 220: 112330.
- [6] MALLIA V, UHLIG S, RAFUSE C, et al. Novel microcystins from *Planktothrix prolifica* NIVA-CYA 544 identified by LC-MS/MS, functional group derivatization and ^{15}N -labeling[J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(11): 643.
- [7] GUERRINI F, CIMINIELLO P, DELL'AVERSANO C, et al. Influence of temperature, salinity and nutrient limitation on yessotoxin production and release by the dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in batch-cultures[J]. *Harmful Algae*, 2007, 6(5): 707-717.
- [8] OLIVEIRA C Y B, D'ALESSANDRO E B, ANTONIOSI F N R, et al. Synergistic effect of growth conditions and organic carbon sources for improving biomass production and biodiesel quality by the microalga *Choricystis minor* var. *minor*[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 759: 143476.
- [9] PLÖHN M, SCHERER K, STAGGE S, et al. Utilization of different carbon sources by nordic microalgae grown under mixotrophic conditions[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 830800.
- [10] SHI C, ZENG R G, HAO L T, et al. Extracting compositional blocks of alginate-like extracellular polymers (ALE) from conventional activated sludge (CAS)[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 867: 161371.
- [11] ZHAO F C, LI Z X, ZHOU X L, et al. The comparison between vibration and aeration on the membrane performance in algae harvesting[J]. *Journal of Membrane Science*, 2019, 592: 117390.
- [12] FELZ S, AL-ZUHAIRY S, AARSTAD O A, et al. Extraction of structural extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge[J]. *Journal of Visualized Experiments Jove*, 2016(115): 54534.
- [13] QIAO H J, WANG G C. Effect of carbon source on growth and lipid accumulation in *Chlorella sorokiniana* GXNN01[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2009, 27(4): 762-768.
- [14] ZHAO S S, QIAN J, WANG P F, et al. The effects of microplastics on growth and photosynthetic activity of *Chlorella pyrenoidosa*: The role of types and sizes[J]. *Water, Air & Soil Pollution*, 2023, 234(10): 628.
- [15] TIAN Y T, WANG X, CUI Y H, et al. A symbiotic yeast to enhance heterotrophic and mixotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* using sucrose as the carbon source[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2020, 43(12): 2043-2052.

- [16] NAM G, JEON M S, CHOI Y E, et al. Toxicity reduction of *Microcystis aeruginosa* using microbubble ozonation[J]. *Ozone: Science & Engineering*, 2023, 45(2): 182-190.
- [17] ZHOU Y P, ZHANG X F, LI X, et al. Evaluation of changes in *Microcystis aeruginosa* growth and microcystin production by urea via transcriptomic surveys[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 181-187.
- [18] SCHAMBECK C M, GIRBAL-NEUHAUSER E, BÖNI L, et al. Chemical and physical properties of alginate-like exopolymers of aerobic granules and flocs produced from different wastewaters[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 312: 123632.
- [19] MAHENDRAN B, LISHMAN L, LISS S N. Structural, physicochemical and microbial properties of flocs and biofilms in integrated fixed-film activated sludge (IFFAS) systems[J]. *Water Research*, 2012, 46(16): 5085-5101.
- [20] LIN Y, DE K M, VAN LOOSDRECHT M C, et al. Characterization of alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic granular sludge in pilot-plant[J]. *Water Research*, 2010, 44(11): 3355-3364.
- [21] POLAK J, SULKOWSKI W, BARTOSZEK M, et al. Spectroscopic study of the effect of biological treatment on the humification process of sewage sludge[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2007, 834: 229-235.
- [22] LIU R B, HAO X D, VAN LOOSDRECHT M C M, et al. Dynamics of humic substance composition during anaerobic digestion of excess activated sludge[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2019, 145: 104771.
- [23] LI J, HAO X D, GAN W, et al. Recovery of extracellular biopolymers from conventional activated sludge: Potential, characteristics and limitation[J]. *Water Research*, 2021, 205: 117706.
- [24] JIA F X, YANG Q, LIU X H, et al. Stratification of extracellular polymeric substances (EPS) for aggregated anammox microorganisms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(6): 3260-3268.
- [25] NIU Z, ZHANG Z T, LIU S T, et al. Discrepant membrane fouling of partial nitrification and anammox membrane bioreactor operated at the same nitrogen loading rate[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 214: 729-736.

(责任编辑 赵金环; 英文校审 程文华)

(上接第 43 页)

- [8] 魏洋, 余松柏, 石华, 等. 机制砂级配对水泥砂浆综合性能的影响[J]. *中国水泥*, 2023(S1): 96-100.
WEI Yang, YU Songbai, SHI Hua, et al. Effect of machine-made sand grade on comprehensive properties of cement mortar[J]. *China Cement*, 2023(S1): 96-100.
- [9] 蔡事成, 蔡祥磊, 李清, 等. 高品质骨料对混凝土和砂浆性能的影响研究[J]. *混凝土世界*, 2023(8): 55-59.
CAI Shicheng, CAI Xianglei, LI Qing, et al. The influence of high-quality aggregates on the performance of concrete and mortar[J]. *China Concrete*, 2023(8): 55-59.
- [10] 武斌, 黄亚林, 杜保立. 机制砂品质对 C60 混凝土性能的影响[J]. *广东建材*, 2022, 38(6): 13-14.
WU Bin, HUANG Yalin, DU Baoli. Effect of sand quality on properties of C60 concrete[J]. *Guangdong Building Materials*, 2022, 38(6): 13-14.
- [11] 彭文彬, 张荣华, 吴鑫. 高品质机制砂制备低胶材混凝土的试验研究[J]. *混凝土世界*, 2021(10): 56-60.
PENG Wenbin, ZHANG Ronghua, WU Xin. Experimental study on preparation of low glue concrete with high-quality machine-made sand[J]. *China Concrete*, 2021(10): 56-60.
- [12] GB/T 50082—2024, 混凝土长期性能和耐久性能试验方法标准[S].
GB/T 50082—2024, Standard for test methods of long-term performance and durability of concrete[S].
- [13] YAN T, JUNYU L, WEI X, et al. Effects of polypropylene fibers on the frost resistance of natural sand concrete and machine-made sand concrete[J]. *Polymers*, 2022, 14(19): 4054.
- [14] 诸雪青. 粉煤灰陶粒混凝土配合比优化设计及综合应用性能[D]. 青岛: 青岛理工大学, 2016.
ZHU Xueqing. Compressive application properties and mix ratio optimization of fly ash ceramic concrete[D]. Qingdao: Qingdao University of Technology, 2016.
- [15] JGJ 52—2006, 普通混凝土用砂、石质量及检验方法标准[S].
JGJ 52—2006, Standard for quality and test methods of sand and crushed stone (or gravel) for ordinary concrete[S].

(责任编辑 赵金环; 英文校审 程文华)