

吸附式微藻固定化培养技术研究进展

Advances in attached microalgae culture technology

沈 英, 张 华, 赵 云, 徐新苗

(福州大学 机械工程及自动化学院, 福建 福州 350108)

中图分类号: R943.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)11-0109-07

地球上 40% 的光合作用都来源于微藻, 一种单细胞却富含蛋白质、油脂和碳水化合物的微生物^[1]。微藻具有生长速度快, 产量高, 不依赖于耕地和淡水资源等优势, 商业化品种的油含量高达 30%~70%^[2-3]。据统计, 每公顷土地微藻的产油量约为 23 500L, 是玉米产油量的 348 倍, 大豆产油量的 68 倍^[4]。此外, 微藻还可用于大规模生产高价值的产品, 如食品添加剂、化妆品、农产品以及药剂等^[5], 可以说微藻是未来能源与资源的最大供应者之一。然而, 由于细胞直径小(10~30 μm)、生物质浓度低(0.5~1 g/L), 微藻的大规模培养面临着培养成本过高、采收困难等瓶颈^[6-7]。研究表明, 新型吸附式微藻培养生物反应器的生物质产量可以达到 50~80 g/(m²·d)^[8], 而常用的跑道式微藻培养系统的产量仅为 10~25g/(m²·d)^[9], 平板式生物反应器的产量约为 30 g/(m²·d)^[10], 管式反应器的生物质产量约为 35~41 g/(m²·d)^[11]。

吸附式微藻固定化培养是利用藻细胞与载体间存在相互约束使得藻细胞固定于载体表面生长的一种培养方式, 其主要优点是: (1)相对于悬浮培养, 一方面可大大减少采收环节的设备投入、能耗以及劳动力, 另一方面便于与污水处理相结合, 易于保持目标藻种的优势地位, 并降低对水体二次污染的可能性^[12-13]; (2)相对于包埋式固定化培养, 吸附式微藻固定化培养的传质阻力小, 生物质产量大^[14]; (3)相对于传统的悬浮培养方式, 吸附式微藻固定化培养在生物质产量方面具有更大的提升空间^[8-11]; (4)吸附式微藻固定化培养技术的生产工艺简单, 易于扩大规模。2009 年 Cao 等^[15]提出了海上微藻农场的设想, 以风能发电供电, 海水为培养基, 通过在海面上安置特制的不锈钢吸附载体, 使得海藻能够吸附在载体表面生长。利用海洋作为天然牧场进行微藻培养从而实现生物质生产和大气中二氧化碳固定的设

想早在 20 世纪 80 年代的时候就得到了论证^[16-18], 然而至今未能很好的解决。一个主要瓶颈是当悬浮培养的藻细胞繁殖速度过快时, 容易引发海藻污染, 从而破坏海洋生态环境^[19]。吸附式微藻的固定化培养可以将绝大部分的藻细胞固定在载体表面, 从而减少了海藻污染的可能性, 促进了海洋牧场的发展。

吸附式固定化培养技术最早应用于生物酶的研究^[20-22], 近年来才逐渐应用在微藻生物质能的领域^[23-24]。中国对该技术的研究处于一个起步阶段, 目前还鲜有关于吸附式微藻固定化培养机理分析或大规模生产的报道。作者将通过吸附式微藻固定化培养的影响因素与机理分析(包括固定化藻种和吸附材料的筛选以及培养条件的优化等)、微藻固定化培养与污水处理的耦合机制的探究及对现有固定化培养系统及反应器的设计与特点的比较等方面展开综述, 为吸附式微藻固定化培养的研究与发展提供科学依据。

1 吸附式微藻固定化培养影响因素及机理研究

1.1 固定化微藻菌株

微藻广泛分布于淡水、海水和陆地中, 预计全球微藻种类超过 50 000 种, 已鉴定的微藻约有 30 000 多种^[25]。不同的微藻菌株具有不同的尺寸、形状、培养条件以及表面特征, 因此吸附式固定化培养的效果也不同^[8, 14]。常用的固定化培养微藻菌株如表 1 所示^[8, 12, 26-29]。

收稿日期: 2013-01-22; 修回日期: 2013-05-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(51108085); 国家“863”项目

(2012AA021704); 福建省青年科技基金项目(2011J05125); 福州大学人才引进项目(022325)

作者简介: 沈英(1982-)女, 浙江金华人, 讲师, 博士, 主要从事微藻生物质能研究, 电话: 0591-22866261, E-mail: yshen@fzu.edu.cn

表 1 吸附式固定化培养常用藻种及其培养条件与产量分析

类别	藻种	吸附材料	培养液	培养系统	最高生物质产量 (g/(m ² ·d))	参考文献
Freshwater algae	<i>Chlorella</i> sp.	Polystyrene foam, cardboard, polyethylene fabric, loofah sponge	Wastewater	Rocking shaker	2.57 (attached on polystyrene foam)	[26]
	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Polyurethane, polystyrene, polyethylene, cross-linked polyethylene	Modified Basal medium	Glass column +attached material	-(maximum on polystyrene)	[27]
	<i>Botryococcus braunii</i>	8mm thick concrete layer	Modified Chu13	Algae photobioreactor	0.71	[28]
	<i>Cladophora</i> <i>Spirogyra</i> <i>Enteromorpha</i> <i>Stigeoclonium</i> <i>Eunotia</i> , <i>Melosira</i>	Plastic screen	Wastewater	Algal turf scrubber raceways	33-39	[29]
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Cellulose acetate/nitrate membrane	BG11	Novel attached culture system	50-80	[8]
Marine algae	<i>Nannochloropsis oculata</i>	Polyurethane, polystyrene, polyethylene, cross-linked polyethylene	Artificial seawater	Glass column +attached material	-(maximum on polystyrene)	[27]
	<i>Phaeodacylum tri-cornutum</i> , <i>Oscillatoria</i> sp	Corrugated polyethylene sheeting	Wastewater: sterile seawater 1 : 1	corrugated raceway	-(with 100% N and P removal)	[12]

Yuan 等^[26]对大小 8~15 μm 的淡水藻二形栅藻 (*Scenedesmus dimorphus*)和大小 2~6 μm 盐水藻眼点拟微球藻(*Nannochloropsis oculata*)的固定化培养进行了试验, 对比了聚氨酯(Polyurethane)、聚苯乙烯(Polystyrene)、聚乙烯(Polyethylene)、十字线平面聚乙烯(Cross-linked polyethylene)4 种材料的吸附效果, 实验结果表明两种藻在 4 种材料上吸附效果具有相同的趋势: 聚苯乙烯>十字线平面聚乙烯>聚氨酯>聚乙烯, 且 *N. oculata* 的吸附效果优于 *S. dimorphus*。溶胶的经典理论 Derjaguin & Landau and Verwer & Overbeek (DLVO)理论可以用来描述极性介质中(如水)胶体或分散系颗粒之间的相互作用, 因此常用于解释微藻固定化培养过程中出现的一些现象^[30]。DLVO 理论认为胶体或分散系能否稳定存在, 取决于胶粒或分散系颗粒间相互作用总位能(范力和静电力之和), 当总位能为负值时表现为吸附, 为正值时表现为排斥。而总位能的大小受到细胞直径, 藻细胞与载体之间的距离、离子浓度、载体表面粗糙度等因素的影响^[31]。细胞直径越小, 总位能越小; 离子力越大, 总位能越小。当离子力大于 10mv 时, 总位能表现为负值, 吸附效果最高^[26]。由于盐水中的离子浓度远远高于淡水, 因而具有较高的离子力, 并且 *N. oculata* 的细胞直径小于 *S. dimorphus*, 因此盐水

藻 *N. oculata* 的吸附效果优于淡水藻 *S. dimorphus*^[26]。

1.2 环境影响因素

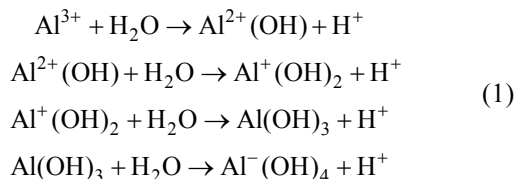
吸附式微藻固定化培养与悬浮培养在细胞之间的遮蔽性、营养素及CO₂等气体的传递等方面存在较大的区别, 因此优化吸附式微藻固定化培养的环境影响因素, 可以促进固定化藻体的生长, 提高产量。研究表明, 吸附式微藻固定化培养的生物物质产量和吸附效果受到光照强度、培养液中氮的浓度、无机碳(如CO₂通入量)、pH、离子浓度、培养周期、细胞浓度、活性以及其他微生物等因素的影响^[14, 32-33]。

Liu等^[8]研究了光照强度对斜生栅藻*S.obliquus*的固定化培养的影响, 当光强处于0~150 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的范围内, 生物物质产量随光强的提高由0.7 g/(m²·d)显著提高至10 g/(m²·d)。而当光强继续提高时, 生物物质产量的增长速度有所下降。因此, 推断光强150 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 最适于*S.obliquus*的固定化培养。光强过高将出现光饱和现象, 从而抑制生物物质的生长。然而, 严美姣等^[34]在研究中得出*S.obliquus*在悬浮培养的条件下, 光强在60~70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时, 生物物质生长速度最快。可见同一藻种在悬浮和固定化培养两种条件下对光照强度的适应条件有所不同, 就*S.obliquus*而言, 固定

化培养时,可采用更高的光强以提高光合作用率。

培养液中的氮浓度常常影响微藻生物质以及生物油的产量^[35],此外,Urrutia等^[14]研究表明通过氮抑制的前处理,不仅可以提高固定化斜生栅藻 *S.obliquus*对培养液中氮的吸收率,而且可以提高藻细胞在聚合物泡沫载体表面的吸附率(固定化微藻的生物量, g/总的生物量,包括固定化部分与悬浮部分, g)。研究表明在吸附载体表面形成初始生物膜往往需要耗费较长的时间,而通过无氮培养的前处理,5天内 *S.obliquus*对泡沫材料的吸附率即可达到70%~75%。

pH是另一个影响微藻吸附式固定化培养的重要因素。由于培养液中富含各种金属离子,而金属离子在水中往往呈现水解状态,以铝离子为例(式1所示),在不同pH条件下,铝离子的形态有所不同,所带的电荷量也不同^[36]。据悉,藻细胞表面由于带有一定量的负电荷使得相互之间存在一定的斥力从而保持藻细胞的悬浮状态^[5]。因此,改变pH可以改变培养液中的离子形态,从而中和藻细胞表面的部分电荷达到絮凝或吸附的效果。另一方面pH的高低也会影响微藻的生长。当pH提高至弱碱性条件时,许多藻种都能表现出较好的生长和吸附效果^[32,37],而当pH>10时,大部分藻的生长将受到抑制^[32]。然而在一些特殊情况下,弱酸性条件更适于藻细胞对某种特殊物质的吸收。例如,Akhtar等^[38]通过在丝瓜海绵上固定化培养小球藻 *Chlorella sorokiniana*来实现对有毒金属铅的去除,实验结果表明,在pH为5时 *C.sorokiniana*对铅的吸收率最高。



Sekar等^[32]通过实验得出了培养周期和细胞密度等因素对双头菱形藻 *Nitzschia amphibia*的吸附效果有重要影响的结论。实验表明吸附量与细胞密度成正比的关系,细胞密度越高则吸附量越大,并且对各生长阶段来说,对数期的吸附效果优于稳定期。这与细胞分泌物Exopolysaccharide (EPS)的作用有关,EPS形成的生物凝胶,可以改变细胞表面的物理化学性质,使微生物细胞之间产生一定的吸引力。EPS的形成主要与微藻的藻种与藻细胞的培养周期有关^[32,39-40]。无机碳的含量对吸附式固定化培养中生物膜的形成也有较大的影响^[41]。Chetsumon等^[42]研究CO₂浓度对伪枝

藻 *Scytonema sp*固定化生长的影响,发现提高CO₂浓度(10%~15%),能促进 *Scytonema sp*在泡沫材料上的生长量。

1.3 吸附材料的影响

吸附材料的材质、亲疏水性、生物毒性、表面粗糙度、表面形状和结构等因素对藻细胞的吸附效果也有不同程度的影响^[15,40,43]。微藻在波浪形聚乙烯材料表面的吸附效果见图1。

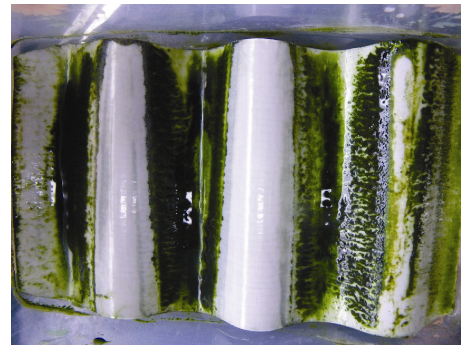


图1 微藻在波浪形聚乙烯材料表面的吸附效果

Sekar等^[32]对比3种微藻(普通小球藻 *Chlorella vulgaris*, 双头菱形藻 *Nitzschia amphibia*, 微小色球藻 *Chroococcus minutus*)在疏水材料(有机玻璃、钛、不锈钢),亲水材料(玻璃)和有一定生物毒性的材料(铜、铝及其合金)上的吸附培养效果。实验结果表明,3种藻在疏水材料上的吸附效果均优于亲水材料,其中钛和不锈钢两种材料上的吸附率最高。对两种材料分别进行表面打磨后,发现提高材料表面的粗糙度可以提高藻细胞的吸附量。Cao等^[15]对比了二形栅藻 *S.dimorphus*在不同表面结构的不锈钢载体表面的吸附效果,其中包括表面光滑的不锈钢载体和经过激光处理的表面分别具有均匀的250μm和1mm微孔的不锈钢载体。试验结果表明,经过表面处理的不锈钢载体上藻细胞的吸附量远远高于光滑表面的吸附量,且250μm孔径的吸附效果较1mm孔径吸附效果更好。聚合物材料如聚氨酯、聚苯乙烯、聚乙烯等也是常用的疏水材料。Johnson和Wen对比了小球藻 *Chlorella sp*在聚苯乙烯泡沫(polystyrene foam),硬纸板(carboard),聚乙烯纤维材料(polyethylene fabric),丝瓜海绵(Loofah sponge),聚氨酯泡沫(polyurethane foam)和尼龙海绵(nylon sponge)6种材料上的吸附效果。结果表明小球藻在聚乙烯泡沫材料上的吸附效果最好,生物质产量达到25.65 g/m²

(2.57 g/(m²·d)); 其次是硬纸板, 生物质产量达到 14.74 g/m² (1.47 g/(m²·d)); 再次是丝瓜海绵, 生物质产量达到 12.8 g/m² (1.28 g/(m²·d)); 最后是聚乙烯纤维材料, 生物质产量达到 5.8 g/m² (0.58 g/(m²·d))。另外聚氨酯泡沫和尼龙海绵两种材料由于材料本身原因使得吸附的藻细胞很难被分离因而无法统计^[26]。因此, 对于吸附材料的选择除了要考虑材料的吸附效果外, 还需要对固定细胞的收获难易程度、生物质回收率以及材料的成本、使用的耐久性等因素进行考虑。

2 吸附式微藻固定化培养与污水处理的耦合机制

中国是一个农业大国, 每年农副产品加工行业排放的废水达到数十亿 t, 其中氮氮的年产量超过 10⁵t。利用污水作为微藻培养基不仅可以解决环保问题, 还可以降低微藻培养的成本。Irving 等^[44]对比了普通小球藻 *Chlorella vulgaris* 在原生污水、无菌污水与普通培养液三种条件下在玻璃棉板(Glass wool)上的吸附生长情况: 其中 *C.vulgaris* 在经过 0.2μm 滤纸过滤后的无菌污水(总氮含量 16.3mg/L, 总磷含量 0.96mg/L, 化学需氧量 8mg/L)中的吸附率最高, 达到 79.8%; 其次是未经处理原生污水, *C.vulgaris* 与污水中原生微生物的总吸附率达到 53.1%; 吸附率最低的是 Basal 培养液, 固定的 *C.vulgaris* 生物质仅占总生物质的 23.7%。这项研究表明, 由于污水中富含各种营养及微量元素, 因此往往比普通培养液更适宜于微藻的吸附与固定化培养, 然而污水中原生的微生物可能由于营养素的竞争关系会影响目标藻种的生长及吸附率。

相对于悬浮培养, 吸附式微藻固定化培养更早应用于大规模的污水处理。自 1980 年起, 美国佛罗里达州的奥兰多市就已经开始实施利用微藻生物膜培养系统 Algal Turf scrubber (ATS)进行城市的污水处理的工程(图 2^[3]), 2005 年时该系统已经可处理 11.4×10⁵L/d 的城市污水^[45]。据统计, 该系统可以将 360 mg/(m²·d)的氮以及 90mg/(m²·d)的磷吸收并转化为 12 g/(m²·d)的生物质。以此推算, 利用 ATS 系统每年可以消耗 1300 kg/ha 的氮以及 330 kg/ha 的磷, 并生产出 40~50 t/ha 的生物质^[45-46]。可见 ATS 系统不仅可以有效去除污水中氮、磷等营养素, 而且在微藻生物质产量方面也有较大的优势。Adey 等^[29]在对 ATS 系统的长期研究中发现, 在美国佛罗里达州的 3

月到 5 月期间, ATS 系统的生物质产量可以达到 33~39 g/(m²·d)。

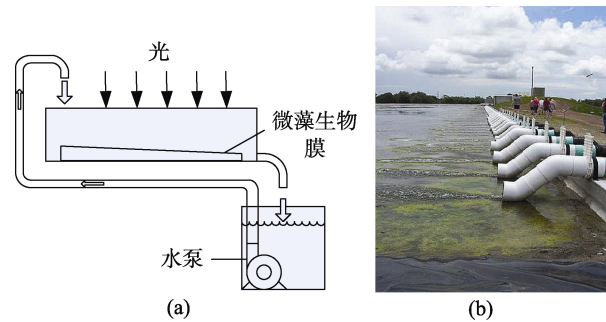


图 2 微藻生物膜培养系统

应用微藻悬浮培养处理污水时常常会遇到一个难题: 长期培养过程中难以确保目标藻种的单一性。因为污水中本身含有一些野生藻种以及其他的微生物, 而在循环培养过程中, 一方面目标藻种不断得到采收, 另一方面含有野生藻种以及其他微生物的污水又不断地补充到培养系统中, 从而导致目标藻种在数量上处于非优势地位, 易于受到其他藻种或微生物的污染。而吸附式固定化培养由于藻细胞培养的密集度较高可以较好避免目标藻种的污染问题。Craggs 等^[12]利用三角褐指藻 *Phaeodactylum tricornutum*和颤藻 *Oscillatoria sp*两种藻分别进行固定化培养的污水处理试验, 在具有波浪形吸附载体的跑道式培养系统中进行了长达4个月的循环实验。实验结果表明, *P.tricornutum*和 *Oscillatoria sp*在4个月的循环培养过程中分别保持了单一藻种培养的优势, 并且对污水中的氮和正磷酸盐的去除率达到 100%。当固定化培养的藻细胞被采收后, 载体表面仍保留一层藻细胞的生物膜, 使得藻细胞能够在此基础上更好的生长。Johnson 等^[26]在对小球藻 *Chlorella sp*的固定化实验中发现带有生物膜的载体相比无生物膜的载体生物质产量最高可以提高约 30%。除了氮和磷等营养素外, 吸附式微藻固定化培养还可以去除污水中的一些有毒物质, 比如重金属铅、锌、以及能够引发核污染的铀等^[38, 47-48]。

3 吸附式微藻固定化培养光生物反应器

随着微藻固定化培养技术的不断发展, 光生物反应器的研究也越来越受到重视^[28, 49-50]。吸附式微藻固定化培养光生物反应器的设计首要考虑两个问题, 一是要提高单位面积微藻生物质产量, 二是要降

低反应器制作与使用的成本。目前常见的固定化培养生物反应器大致可分为两类,一类是在传统的微藻培养系统中加入吸附载体的设计。如Yuan等^[27]在管式反应器中加入不同材料的载体进行吸附式微藻固定化培养试验,Craggs等^[12]在跑道式培养系统中加入波浪形的载体用于微藻的固定化培养试验,John^[26]利用摇摆脱色摇床来实现对不同载体的吸附效果试验。这类固定化培养生物反应器的优点是设计相对简单,容易实现对藻种以及吸附材料的筛选,缺点是无法综合吸附式固定化培养的优势,产量上很难达到突破。另一类是创新性的固定化培养生物反应器,比如生物膜式的固定化培养反应器。

Liu等^[8]报道一款排列式的生物膜反应器,由于瞬时的自然光光强可以达到约2000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$,远高于微藻所能适应的光强,因此该反应器通过垂直排列式的载体提高单位光照面积所照射的微藻培养面积,从而稀释微藻能够接收到的太阳光光强,将光合作用率提高至5.2%~8.3%,高于普通植物光合作用率的数十倍。该反应器的载体由两个部分组成,中间部分是起支撑作用的玻璃,在玻璃的两侧是起吸附与营养供给作用的滤膜,藻细胞吸附在滤膜表面生长,并通过滤膜获取培养液中的营养以及通入的 CO_2 (浓度2%,通气量0.1vvm)。由于培养液仅通过湿润滤膜来实现营养供给,而不是充满整个反应器,因此,该设计可以大大减少培养过程中对培养液的需求,并减少培养液的流动对藻细胞的冲刷,提高吸附的稳定性。经过验证,该系统适合于多种微藻菌株的培养,如斜生栅藻(*S.obliquus*),布朗葡萄藻(*Botryococcus braunii*),微拟球藻(*Nannochloropsis* OZ-1),筒柱藻(*Cylindrotheca fusiformis*),其中*S.obliquus*的生物质产量最高,达到50~80 $\text{g}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ^[8]。由此可见生物膜式的生物反应器在产量上相比传统的光生物反应器具有巨大的优势,然而,这类反应器的主要缺点是设计相对复杂,成本较高。

4 展望

吸附式微藻固定化培养的研究和应用始于20世纪80年代,并在近年来受到广泛的重视^[23-24]。与传统的悬浮培养相比,吸附式微藻固定化培养不仅可以有效提高培养密度以及单位面积的生物质产量,而且可以简化生物质采收工艺,从而扩大生产的规模。然而,目前吸附式微藻固定化培养技术还处于研究和发展的阶段,还存在一些问题需要更深入的研

究和探索。

影响吸附式微藻固定化培养的生物因素、非生物因素以及操作因素的研究。由于吸附式微藻固定化培养与悬浮培养具有较大的区别,因此在藻种的选择或基因改性方面不仅需要考虑到微藻的生长速度、产量、产油量等因素,还需要考虑藻种的尺寸、形状及生长特性对吸附效果的影响。培养条件的优化(包括光强的选择、通气量的大小、 CO_2 的浓度、pH、培养液中氮与磷的浓度、培养液的物理性质、微藻生长的周期、采收频率等)不仅可以提高微藻吸附的稳定性,而且可以提高生物质产量,因此是今后研究的重点内容之一。吸附材料的选择一方面要考虑材料的材质、纹理、粗糙度以及其他表面的特性对吸附效果的影响,另一方面也要考虑收获的难易程度,固定化藻细胞的生物质回收率,吸附载体的成本和使用的耐久性等因素。

与污水处理相耦合的创新型光生物反应器的设计与发展。与污水处理相结合是微藻产业化发展的趋势,因此生物反应器的设计不仅需要提高微藻固定化生物质的产量、降低生产成本,而且还需要结合污水处理的工艺流程。创新型的吸附式微藻固定化培养光生物反应器的设计有可能同时解决污水处理、二氧化碳等工业废气净化处理以及提高生物质、生物油产量、降低培养与采收成本等多个方面的问题。

参考文献:

- [1] Falkowsky P G. Primary productivity in the sea. In: Falkowski PG (Ed.). Environmental Science Research [M], New York/London: Plenum Press, 1980: vol 19.
- [2] Yamaguchi K, Nakano H, Murakami M, et al. Lipid composition of a green alga *Botryococcus braunii* [J]. Agric Biol & Chem, 1987, 51(2): 493-498.
- [3] Shen Y, Yuan W, Pei Z, et al. Microalgae Mass Production Methods [J]. Transactions of the ASABE, 2009, 52 (2): 1275-1287.
- [4] Chisti Y. Biodiesel from microalgae [J]. Biotechnol Adv, 2007, 25(3): 294-306.
- [5] Molina Grima E, Belarbi E H, Acien Fernández F G, et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics [J]. Biotechnol Adv, 2003, 20(7-8): 491-515.
- [6] Becker E W. Microalgae biotechnology and microbiology [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.

- [7] Tredici M R. Mass production of microalgae: photobioreactors [M]. In: Microalgal Culture. Blackwell Science Ltd, Oxford, 2004: 178-214.
- [8] Liu T Z, Wang J F, Hu Q, et al. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production [J]. Bioresour Technol, 2012, In Press, Accepted Manuscript.
- [9] Moheimani N R, Borowitzka M A. The long-term culture of the coccolithophore *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) in outdoor raceway ponds [J]. J Appl Phycol, 2006, 18(6): 703-712.
- [10] Rodolfi L, Zittelli G C, Bassi N, et al. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor [J]. Biotechnol & Bioeng, 2009, 102(1): 100-112.
- [11] Schenk P M, Thomas-Hall S R, Stephens E, et al. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production [J]. Bioenerg Res, 2008, 1(1): 20-43.
- [12] Craggs R J, McAulay P J, Smith V J. Wastewater nutrient removal by marine microalgae grown on a corrugated raceway [J]. Water Res, 1997, 31(7): 1701-1707.
- [13] Kim J, Lingaraju B P, Rheume R, et al. Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella Vulgaris* [J]. Tsinghua Science and Technology, 2010, 15(4): 91-396.
- [14] Urrutia I, Serra JL, Llama MJ. Nitrate removal from water by *Scenedesmus obliquus* immobilized in polymeric foams [J]. Enzyme & Microb Technol, 1995, 17(3): 200-205.
- [15] Cao J, Yuan W Q, Pei Z J, et al. A preliminary study of the effect of surface texture on algae cell attachment for a mechanical-biological energy manufacturing system [J]. J Manuf Sci & E, 2009, 131(6)-064505.
- [16] Broecker W S. Ocean chemistry during glacial time [J]. Geochimica Et Cosmochimica Acta-Geochim Cosmochim Acta, 1982, 46(10): 1689-1705.
- [17] Knox F. Changes in atmospheric CO₂: Influence of the marine biota at high latitude [J]. Journal of Geophysical research, 1984, 89(D3): 4629-4637.
- [18] Sarmiento JL and Toggweiler JR. A new model for the role of the oceans in determining atmospheric pCO₂ [J]. Nature, 1984, 308: 631-634.
- [19] Broecker W S. Carbon cycle: Carbon dioxide circulation through ocean and atmosphere [J]. Nature, 1984, 308, 602.
- [20] Chibata I, Tosa T. Transformation of organic compounds by immobilized microbial cells [J]. Advance in Applied Microbiol, 1977, 2:1-27.
- [21] Klibanov A M. Immobilized enzymes and cells as practical catalysts [J]. Science, 1983, 219:722-727.
- [22] Alexandria J. Review and evaluation of immobilized algae systems for the production of fuels from microalgae [M]. A final report to U.S. DOE under subcontract, 1985, No: XK-4-04124-01.
- [23] Kaya V M, Picard G. A comparative study of four systems for tertiary wastewater treatment by *Scenedesmus bicellularis*: new technology for immobilization [J]. J Applied Phycol, 1995, 7(1): 85-95.
- [24] Hoffmann J P. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae [J], J Phycol, 1998,34(5): 757-763.
- [25] Richmond A. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology [J]. Journal of Applied Phycology, 2004, 16: 159-160.
- [26] Johnson M B, Wen Z Y. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production [J]. Appl Microbiol & Biotechnol, 2010, 85(3): 525-534.
- [27] Yuan W Q, Cui Y, Pei Z J. Algal cell-surface interaction: an overview and preliminary test [J]. ASME International Manufacturing Science and Engineering Conference, 2009, Vol.1, MSEC2009-84222.
- [28] Ozkan A, Kinney K, Katz L. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor [J]. Bioresour Technol, 2012, 114: 542-548.
- [29] Adey W, Luckett C, Jensen K. Phosphorus removal from natural waters using controlled algal production [J]. Restor Eco, 1993, 1(1): 29-39.
- [30] Bos R, van der Mei H C, Busscher H J. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions—its mechanisms and methods for study [J]. FEMS

- Microbiology Reviews, 1999, 23(2): 179-230.
- [31] Cui Y, Yuan W, Shen Y, et al. Immobilized algae culture for biofuel manufacturing[C]//Nevada, USA. ASABE annual International meeting, 2009.
- [32] Sekar R, Venugopalan V P, Satpathy K K, et al. Laboratory studies on adhesion of microalgae to hard substrates [J]. Biomedical and Life Sciences, 2004, 173(2): 109-116.
- [33] Djemai-Zoghliche Y, Belhaneche-Bensemra N, Isambert A. Electrochemical behavior of the 316L steel type in a marine culture of microalgae (*Porphyridium purpureum*) under the 12/12 h photoperiod and effect of different working electrode exposure conditions on the biofilm-metal interface [J]. J Ind Microbiol & Biotechnol, 2011, 38(12): 1969-1978.
- [34] 严美姣, 王银东, 胡贤江. 光照对小球藻、斜生栅藻生长速率及叶绿素含量的影响 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(23): 27-29.
- [35] Shen Y, Yuan W Q, Pei Z J, et al. Heterotrophic culture of *Chlorella protothecoides* in various nitrogen sources for lipid production [J]. Applied Biotechnol & Bioeng, 2009, 160(6): 1674-1684.
- [36] Stumm W, O'Melia C R. Stechiometry of coagulation [J]. Jour AWWA, 1968, 60(5): 514.
- [37] Zhang H, Jin D. Studies on Adhesion of *Nitzschia closterium* and *Chlorella vulgaris* to 316L Stainless Steel [J]. Adv Mater Res, 2012, 485: 385-388.
- [38] Akhtar N, Iqbal J, Iqbal M. Enhancement of lead(II) biosorption by microalgal biomass immobilized onto loofa (*Luffa cylindrica*) sponge [J]. Eng Life Sci, 2004, 4(2): 171-178.
- [39] Becker K. Exopolysaccharide production and attachment strength of bacteria and diatoms on substrates with different surface tensions [J]. Microb ecol, 1996, 32(1): 23-33.
- [40] 彭永臻, 吴蕾, 马勇, 等. 好氧颗粒污泥的形成机制、特性及应用研究进展 [J]. 环境科学, 2010, 31(2): 273-281.
- [41] Liehr S K, Suidan M T, Wayland E J. A modeling study of carbon and light limitation in algal biofilms [J]. Biotechnol & Bioeng, 1990, 35(3): 233-243.
- [42] Chetsumon A, Miyamoto K, Hirata K, et al. Factors affecting antibiotic production in bioreactors with immobilized algal cells [J]. Appl Biochem & Biotechnol, 1993, 39-40(1): 573-586.
- [43] Ozkan A, Berberoglu H. Adhesion of *Chlorella Vulgaris* on hydrophilic and hydrophobic surfaces [C]// Denver, Colorado, USA. Proceedings of the ASME international mechanical engineering congress & exposition, 2011 IMECE2011- 64133, November 11-17, 2011.
- [44] Irving T E, Allen D G. Species and material considerations in the formation and development of microalgal biofilms [J]. Appl Microbiol & Biotechnol, 2011, 92(2): 283-294.
- [45] Hydromentia Inc. Pilot single stage algal turf scrubber final report[EB/OL]. South Florida Water Management District Contract No.C-13933. 2005. S-154, <http://www.hydromentia.com/Products-Services/Algal-Turf-Scrubber/Product-Documentation/Assets/2005HMIS1540-Single-Stage-ATS-Final-Report.pdf> 81 pp.
- [46] Mulbry W, Kangas P, Kondrad S. Toward scrubbing the bay: Nutrient removal using small algal turf scrubbers on Chesapeake Bay tributaries [J]. Ecol Eng, 2010, 36(4): 536-541.
- [47] Nakajima A, Horikoshi T, Sakaguchi T. Recovery of uranium by immobilized microorganisms [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1982, 16(2-3) : 88-91.
- [48] de-Bashan L E, Bashan Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects [J]. Bioresour Technol, 2010, 101(6): 1611-1627.
- [49] Mulbry W, Kondrad S, Pizarro C, et al. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers [J]. Bioresour Technol, 2008, 99(17): 8137-8142.
- [50] Christenson L, Sims R. Rotating algal biofilm reactor and spool harvester for wastewater treatment with biofuels by-products [J]. Biotechnol & Bioeng, 2012, 109 (7): 1674-1684.

(本文编辑: 梁德海)