



微生物学通报

Microbiology China

ISSN 0253-2654, CN 11-1996/Q

《微生物学通报》网络首发论文

题目: 絮凝微生物采收微藻的作用机制研究进展
作者: 李祎, 许艳婷
DOI: 10.13344/j.microbiol.china.180359
收稿日期: 2018-05-07
网络首发日期: 2018-08-15
引用格式: 李祎, 许艳婷. 絮凝微生物采收微藻的作用机制研究进展. 微生物学通报.
<https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.180359>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

DOI: 10.13344/j.microbiol.china.180359

絮凝微生物采收微藻的作用机制研究进展

李祎^{1,2*} 许艳婷¹

(1. 河南师范大学生命科学学院 河南 新乡 453007)

(2. 厦门大学生命科学学院 福建 厦门 361005)

摘要：微藻广泛分布于自然界。其易培养，生长快且应用价值高，普遍用于生物燃料、医学原料、优质食品源及畜牧养殖业等。近年来，通过对光生物反应器改造设计、高产藻株筛选、代谢通路基因改造等方法实现微藻产量的提高，而在微藻处理的下游过程的研究与创新不足，特别是微藻采收已经成为其产业发展的瓶颈。本文综述了絮凝法在微藻采收中的作用，重点讨论了絮凝微生物在微藻采收中的作用，并对絮凝微生物对微藻的絮凝机制进行广泛探讨，为絮凝微生物采收微藻提供理论依据。

关键词：微藻生物质，絮凝法，絮凝微生物，絮凝作用机制

Research progress on the function and mechanism of flocculating microorganisms in harvesting microalgal biomass

LI Yi^{1,2*} XU Yan-Ting¹

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007, China)

(2. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: Microalgae are widely distributed in nature, which are easy to culture, grow fast and have high application value. They are widely used in biofuels, medical raw materials, high-quality food sources and animal husbandry. In recent years, the production of microalgae has been improved by the modification of photo-bioreactor,

Foundation items: National Nature Science Foundation of China (51008119, 41576109); National Research Project Training Fund of Henan Normal University (5101049170805)

***Corresponding author:** Tel: 86-373-3326559; E-mail: liyi@htu.edu.cn

Received: May 07, 2018; **Accepted:** August 01, 2018;

基金项目：国家自然科学基金(51008119, 41576109)；河南师范大学国家级科研项目培育基金(5101049170805)

***通信作者：** Tel: 86-373-3326559; E-mail: liyi@htu.edu.cn

收稿日期： 2018-05-07 ; **接受日期：** 2018-08-01 ;

the screening of high yield algae and the transformation of metabolic pathway genes, and the research and innovation in the downstream process of microalgae treatment are not enough, especially the harvest of microalgae biomass has become the bottleneck of its industrial development. This paper summarizes the function of flocculation on the harvest of microalgal biomass, focus on the flocculation activity of flocculating microorganisms to harvest algal biomass, and the flocculation mechanism of flocculating microorganisms on microalgae is also discussed, Hopefully, it will provide some useful information and guidelines for the harvest of microalgal biomass by flocculating microorganisms.

Keywords: Microalgae, Flocculation methods, Flocculating microorganisms, Flocculation mechanism

藻类是世界上光能利用最成功、利用率最高的有机体,其能较少的反射太阳光,并通过网格毛孔捕获太阳能^[1],通过光合作用将太阳能固定为可利用的化学能,并产生少量的氢气,这部分氢气可被收集作为生物产能的一部分,其他大部分被固定的能量经过卡尔文循环被以糖类和脂类的形式储存起来^[2]。无论是在海洋、淡水湖泊等水域,或在潮湿的土壤、树干等处,几乎在有光且潮湿的任何地方,藻类都能生存^[3-4]。微藻是光合效率最高的原始植物之一,与农作物相比,单位面积的产油率可高出数十倍^[5-6]。微藻相对于其他粮食作物,不需要进行土地平整,节省了人力;不需要施用杀虫剂、除草剂等避免了环境的污染;对于肥料的利用率高。经过筛选和培育的微藻可获得性状优良的高含油量藻种,然后在适合的境内吸收阳光、CO₂等^[7],生成微藻生物质即富集油脂^[8],经过分离采收、浓缩等加工过程^[9],最后转化为微藻生物柴油^[10-11]。在石油价格大幅上升,粮食短缺问题日渐突出的今天,微藻的应用与基础研究对于缓解能源危机有突出作用。近年来,通过对光生物反应器改造设计、高产藻株筛选、代谢通路基因改造等方法实现微藻产量的提高,而在微藻处理的下游过程的研究与创新不足,特别是微藻采收已经成为其产业发展的瓶颈。

1 微藻采收方法

采收微藻最大的挑战就是将微藻细胞与其生长的培养基进行分离。在培养微藻的时候,藻细胞往往维持相对较低的生长密度,从而避免了藻细胞之间的光遮挡,保证每个微藻细胞能够充分进行光合作用。在开放藻池中,藻生物量为 0.5 g/L,光生物反应器中的藻生物量为 5 g/L。因此,微藻一般需要较大体积的培养基来培养,与此同时,在收集藻生物质的时候便需要去除更大体积的水分及其培养基^[12]。微藻往往体积较小(2-20 μm),并且在液体环境中保持胶体稳定性,通过简单的沉降来收集微藻的生物质效率较低。而通过对藻培养产物进行过滤和离心的方法对大规模培养的微藻来说,成本较高且浪费能量^[13]。寻找可替代的技术用于去除微藻培养环境中大量的水分,从而降低能耗,增大微藻生产和培养的规模,是微藻产业化发展的出路^[14]。通过相关的研究发现,微藻细胞在絮凝作用下被大量富集,有利于降低成本和节约资源。首先,在絮凝作用下,微藻细胞呈 20-100

倍被浓缩富集；然后，借助于常规手段进行脱水处理。因此藻体被絮凝后，微藻生物质相对较大，而所要去除的水体相对絮凝前大大减少，对微藻的絮凝处理是微藻采收新的选择。

2 絮凝法在微藻采收中的应用

根据所选用的絮凝剂及所用方法的不同，可以将絮凝法分为化学絮凝、自沉降、物理絮凝和生物絮凝等(表 1)。微藻细胞表面由于羧基或硫酸根等基团而带负电荷，可以通过加入阳离子电解质对微藻细胞表面电荷进行中和，从而减小细胞间的斥力。随着阳离子的进一步增加，细胞表面电荷继续减小，当细胞间相互引力(范德华力等)大于静电斥力时，细胞相互靠拢而聚集^[15]。金属离子、明矾和氯化铁被广泛用于污水处理、矿业等工业絮凝，如果将其应用于微藻收集的话，在所获取的微藻生物质中会存在大量的金属离子，影响微藻后续的开发和利用^[16]；电凝法絮凝可以通过电极释放金属离子，虽然效果较好，同样会产生金属离子造成藻生物质的污染^[17]。聚丙烯酰胺聚合物是新合成的絮凝剂，但是丙烯酰胺有剧毒也不适用于微藻收集；壳聚糖是高效的絮凝剂，但是只在低 pH 下表现絮凝效果，而微藻培养环境 pH 相对较高；阳离子表面活性剂的絮凝效果对 pH 没有要求，但是考虑到其成本，在微藻收集的应用过程中也受到影响^[18]。Udhaya 等通过铁钒耐盐藻进行絮凝，当铁钒浓度从 20 增加到 160 mg/L 时，藻细胞的絮凝效果也随之增加^[19]。Mikulec 等研究了高分子量阳离子聚丙烯酰胺絮凝剂对五种微藻的絮凝效果，当 pH 升高的时候，在絮凝剂作用下藻细胞表面的电荷被中和，絮凝剂促进藻细胞之间桥联并促进絮凝。但是，当絮凝剂剂量过高的时候，造成正电荷过量影响了絮凝效果^[20]。微藻通过光合作用消耗了 CO₂，从而造成了微藻培养基 pH 升高，当 pH 超过 9.0 时，微藻细胞发生自沉降^[21]。高 pH 引发的絮凝与无机沉淀物的出现有关。因此，当 pH 升高造成藻细胞自沉降的同时，藻生物质中含有高浓度的矿物质需要再次去除。水体藻的钙/磷沉淀物与自沉降也有关，这些沉淀物带的正电荷可以通过中和藻细胞表面的负电荷，从而引起絮凝现象^[22]。但是，钙/磷沉淀物絮凝微藻细胞的效果不稳定，特别是容易造成藻细胞生物质中含有过多的磷酸盐需要去除。物理絮凝法可以使藻生物质避免化学品的污染，但是也有不少弊端。如利用超声波在实验室能够有效地进行絮凝，但是超声波絮凝无法展开大规模的应用^[23]。新近开发的磁性纳米颗粒能够直接吸附在微藻细胞表面，通过磁场作用，将吸附了纳米颗粒的微藻细胞与培养基分开^[24]。值得一提的是，纳米颗粒在吸附完微藻细胞后，可解吸附，并再次利用。然而，该磁性纳米材料成本太高，没办法推广和应用。相对于化学、物理及自沉降等絮凝方法，通过产生自然的生物聚合物或胞外多聚物引发的絮凝即生物絮凝法既可以达到安全、高效地絮凝微藻细胞的目的，又避免生物质被污染。

表 1 不同的絮凝方法及其在絮凝微藻过程中的优缺点

Table 1 Different flocculation methods and their advantages and disadvantages in the process of flocculating microalgae

絮凝方法	不同絮凝技术手段	优点	缺点	采收效率	关键絮凝条件	参考文献
Flocculation	Different	Advantages	Disadvantages	Harvest	件	References

methods	flocculation technology			efficiency	Critical flocculation conditions	
化学絮凝 Chemical flocculation	壳聚糖 Chitosan	安全 Safety	对酸碱敏感 Sensitive to pH	较低 Low	藻浓度 Algal concentration	[15]
	金属离子、明矾、氯化铁 Metal ions, alum, ferric chloride	技术成熟 Technology maturity	污染微藻生物质 Contaminate microalgal biomass	较高 High	pH 影响 pH effect	[16]
	电凝法絮凝 Electrocoagulation	通过电极释放金属离子 Release metal ions from the electrode	金属离子污染藻生物质 Pollution by metal ions	效果较好 Good effect	化学凝聚剂的种类 Chemical coagulants	[17]
	阳离子淀粉 Cationic starch	在不同 pH 下稳定 Stable under different pH	成本较高 High cost	效果一般 General effect	藻液 pH Algal pH	[18-19]
	聚丙烯酰胺聚合物 Polyacrylamide polymer	稳定 Stable	丙烯酰胺剧毒 Highly toxic	效果较低 Low effect	作用时间 Flocculation time	[20]
自沉降 Self settlement	无机沉降物 Inorganic sedimentation	不用添加外源物质 Without adding other substances	矿物质污染 Mineral pollution	效率较低 Low efficiency	藻液 pH Algal pH	[21]
	钙/磷沉降物 Calcium/phosphorus precipitate	中和藻细胞负电荷 Neutralizing negative charge	效果不稳定，且有污染 Unstable, and pollute algae biomass	效果较差 Poor effect	电荷作用 Charge effect	[22]
物理絮凝 Physical flocculation	超声波絮凝 Ultrasonic flocculation	避免生物质被污染 Avoid contamination	无法大规模应用 Cannot use in large scale	有效 Effective	藻浓度 Algal concentration	[23]
	磁性纳米颗粒 Magnetite nanoparticle	无污染；可回收 No pollution; recoverable	成本太高，技术限制 High cost and technology limited	高效 High efficiency	磁场作用 Magnetic field action	[24]
生物絮凝 Biological flocculation	微生物絮凝——细菌	胞外多聚物可安全、高效，避	作用机制不清楚，亟待探究	效果不同 Different	藻液 pH Algal pH	[25-29]

flocculation

Bacterial flocculation	免污染,且为微藻生长提供无机碳 Safe, efficient, avoid contamination, and provide inorganic carbon	The mechanism of action is not clear and needs to be explored	effects		
微生物絮凝——真菌 Fungal flocculation	菌丝形成密集的网状结构且油脂含量高 Hypha forms dense network structure with high oil content	生长缓慢,絮凝周期长 Slow growth and long flocculation period	高效 High efficiency	藻浓度 Algal concentration	[30-32]
微生物絮凝——放线菌 Actinomycetes flocculation	菌丝形成密集的网状结构,生长旺盛,代谢快 Dense network structure, grow vigorously and metabolize quickly	絮凝效率较低 Low flocculation efficiency	效果一般 General effect	藻浓度 Algal concentration	[33-34]
易于絮凝的藻 Algae with flocculation activity	安全、环保 Safety and environmental protection	造成藻种污染;效率低 Algal pollution; low efficiency	低效 Low efficiency	电荷作用 Charge effect	[35]
植物提取物 Plant extracts	生物聚合物安全、环保 Safety and environmental protection of biopolymer	稀少;高离子强度易卷曲 Rare; curl under high ionic strength	效果一般 General effect	离子强度 Ionic strength	[35]

3 微生物对微藻的絮凝研究现状

有报道证实,在“水华”爆发时往往伴随着藻细胞的絮凝,这正是细菌分泌胞外物质如壳聚糖及多糖等,通过电荷中和或物理包裹作用使藻细胞絮凝。通过微藻治理废水的工厂中也有生物絮凝现象的出现。但是,生物絮凝的作用机制仍不清楚。最近的研究发现,细菌是生物絮凝的主要来源之一。Grossart 等研究了细菌对假微型海链藻(*T. weissflogii*)和舟形藻(*Navicula* sp.)的絮凝情况,研究发现细菌促进了 *T. weissflogii* 的絮凝沉降,却对 *Navicula* sp.没有絮凝效果^[25]。Shen 等对自然水体中铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)水华发生过程中的异养细菌的作用进行了研究。结果表明,产吡啶杆菌属(*Porphyrobacter*)和黄杆菌科

(Flavobacteriaceae)的两株细菌以及一株不可培养细菌在 *M. aeruginosa* 的沉降中起重要作用^[26]。Li 等也研究了一株絮凝功能细菌 *Shinella* sp. xn-1 通过分泌胞外絮凝物质能够在短时间内(<5 min)使得小球藻沉降下来,絮凝率达到 80%以上,从而可以用于藻类生物质的获取^[27],同时该菌株也可以将有害水华藻——铜绿微囊藻进行絮凝沉降^[28],有利于水华的治理。另外,我们发现微球菌 hsn08 通过细胞壁上的氨基酸对小球藻生物质进行直接絮凝,从而形成絮凝团^[29]。然而到目前为止,利用微生物收集微藻大多集中在细菌对微藻的絮凝研究,而其他类型的微生物比如真菌、放线菌对微藻的絮凝作用研究的偏少。真菌相对于细菌在收集微藻方面有更大的优势,真菌的菌丝形成密集的网状结构加强其对能源藻细胞的收集,同时菌丝中含有丰富的油脂,捕获藻细胞后形成的菌丝-微藻复合体也可以提高能源微藻的油脂含量和成分。Muradov 等研究发现真菌对微藻 *Chlorella protothecoides* 和 *Tetraselmis suecica* 表现出絮凝能力,并研究了不同培养条件下真菌菌丝收集微藻的脂质含量和成分分析,结果证实真菌能够有效地收集微藻细胞,并且加强了总油脂含量和优化了油脂成分^[30]。本课题组长期利用各种絮凝微生物开展微藻生物质的获取,其中也发现了一些真菌对微藻表现出絮凝效果,其絮凝能力远高于絮凝功能细菌。我们实验证实一株丝状真菌——黑曲霉 hsn26 通过菌丝对微藻细胞进行“捕获”,絮凝率最高达到 92.7%,最终形成菌丝-微藻复合体^[31],从而实现微藻生物质的获取。Chen 等研究表明青霉孢子和菌丝均能对小球藻生物质进行絮凝,而菌丝对藻细胞的絮凝效果高于孢子且用时较短^[32]。放线菌是一类具有分枝丝状细胞和菌丝的原核生物,其繁殖迅速、生长旺盛,在生长过程中可以产生大量生物活性物质^[33],如抗生素、维生素、氨基酸、有机酸、多肽、酶等,而这些类型多样的生物活性物质更具有絮凝微藻的潜力,并且放线菌相对于细菌、真菌在收集微藻生物质方面有更大的优势。相对于细菌来说,放线菌的菌丝形成密集的网状结构加强了放线菌对藻细胞的絮凝能力;而放线菌相对于真菌来说,其生长速度更快、繁殖能力及产代谢物能力更强,比真菌的应用潜力大。Li 等从活性污泥中分离得到一株絮凝放线菌,经过形态学分析、显微镜观察及 16S rRNA 基因测序确定其属于链霉菌属(*Streptomyces* sp.),命名为 *Streptomyces* sp. hsn06。链霉菌 hsn06 在液体培养基中形成菌丝球,并对小球藻有絮凝能力^[34]。

利用絮凝功能微生物对微藻的沉降作用收集藻细胞是一种安全、高效、可行的藻类生物质获取方法。虽然微生物絮凝法目前还停留在实验室阶段,还不能够应用于实践,但微生物对微藻的絮凝沉降作用具有广阔的应用前景。然而,在开展应用研究之前,由于絮凝功能微生物的作用机制和过程不清楚,我们需要首先对絮凝功能微生物对微藻的絮凝机制展开研究,为微藻的收集奠定理论基础。

4 絮凝功能微生物对微藻的絮凝机制研究进展

目前,国内外研究者通过絮凝功能微生物对微藻的絮凝研究只停留在实验室研究的初步阶段,相关的絮凝机制研究不够深入,而国内关于絮凝功能微生物的研究才刚刚起步。Wan 等从活性污泥中分离到一株絮凝功能细菌 *Solibacillus silvestris*,研究了该菌株对海洋微藻 *Nannochloropsis oceanica* 的絮凝效果,结果表明在不添加外源金属离子的情况下该菌株对微藻的絮凝效果达 90%以上,其絮凝效果主要是由菌株分泌的蛋白多糖物质(75.1%碳水化合物和 24.9%蛋白质)引发的,并且该絮凝菌对微藻的生长没有影响,可以应用到微藻生物质的收集^[36]。Xiong 等对细菌 *Bacillus licheniformis* 分泌的胞外生物絮凝物质进行鉴定,发现主要 89%的碳水化合物和 11%的蛋白质组成,具有应用于工业絮凝的潜力^[37]。

Oh 等^[38], Kim 等^[39], Nie 等^[40]均利用细菌分泌的胞外物质对微藻细胞进行絮凝, 但是需要添加外源的金属离子来增强絮凝效果。Wang 等发现一株细菌 *Pseudomonadales* sp. HW001 与微藻 *N. oceanica* IMET1 以细胞数 30:1 的比例共培养 3 天后, 微藻细胞出现了沉降现象^[41]。通过扫描电镜观察细菌与藻细胞的相互作用发现, 该絮凝现象的出现必须要求细菌与微藻藻体接触, 但是更深一步的絮凝机制还没有开展。综上所述, 絮凝功能微生物对微藻细胞的絮凝作用主要从两个方面展开: (1) 直接絮凝, 要求细菌与微藻细胞接触, 粘附在藻细胞表面并通过所分泌的胞外物质的粘性将微藻细胞黏合在一起, 形成大体积的沉降物; (2) 间接絮凝, 即细菌通过分泌蛋白质、多糖等胞外絮凝物质使藻细胞絮凝沉降, 整个过程不要求细菌菌体与藻细胞接触。本课题组发现的絮凝功能微生物通过不同的絮凝作用方式对微藻生物物质进行采收, 其中黑曲霉 hsn26 和链霉菌 hsn06 通过菌丝与藻细胞直接接触^[31,34], 形成絮凝团, 对微藻细胞直接絮凝; 细菌菌株 hsn08 通过细胞壁上的氨基酸对小球藻生物物质进行直接絮凝。而菌株 *Shinella* sp. xn-1 通过分泌胞外絮凝物质对微藻细胞进行间接絮凝^[28]。一般来说, 絮凝功能菌分泌的絮凝物质分子量较大, 且不同菌株分泌的物质不同。

到目前为止, 关于絮凝功能菌的絮凝机制的研究大多数只是停留在对絮凝物质的鉴定层面, 而絮凝物质为何会引发絮凝现象的发生却没有深入探究。目前较为普遍接受的是电荷中和学说和“桥联学说”。电荷中和可以消除细胞之间的静电斥力或者在疏水力作用下细胞可以足够接近^[35]。Powell 和 Hill 研究了芽孢杆菌 RP1137 对微藻 *N. oceanica* IMET1 的絮凝机制, 结果表明通过结合在细菌和微藻细胞上的钙离子的电荷中和实现的^[42]。而“桥联学说”则认为絮凝剂大分子借助离子键、氢键和范德华力, 同时吸附多个胶体颗粒, 在颗粒间产生“架桥”现象, 从而形成一种网状三维结构而沉淀下来。该学说可以解释大多数微生物絮凝剂引起的絮凝现象, 以及一些因素对絮凝的影响并为一些实验所证实。Li 等研究链霉菌 hsn06 对小球藻的絮凝机制, 发现其菌丝通过钙离子桥联作用(Calcium bridging)对小球藻进行絮凝^[34], 钙离子分别与菌丝和藻细胞结合(图 1A-C), 从而将菌丝与藻细胞连接起来形成絮凝团, 实现小球藻生物物质的絮凝。同时, 我们前期研究发现链霉菌 hsn06 经过 SDS、蛋白酶 K 及溶菌酶处理后失去对小球藻的絮凝能力(图 1D), 表明蛋白参与菌株 hsn06 对小球藻的絮凝。黑曲霉 hsn26 对小球藻的絮凝也是通过桥联作用实现的, 钙离子在菌丝和藻细胞之间形成“桥梁”, 从而将菌丝和藻细胞连接起来, 形成絮凝体^[30]。

然而絮凝现象的出现是一个复杂过程, 絮凝剂的广谱活性也证明絮凝机制不是单一的。为了深入研究絮凝微生物的作用机制, 首先需要确定絮凝微生物所分泌絮凝物质的类型, 通过多种分离纯化及鉴定技术手段, 对絮凝物质进行分离纯化和鉴定。确定絮凝物质的类型, 就可以根据其表明电荷分布研究该物质与微藻表明负电荷的作用过程。其次, “桥联”理论需要有带正电荷的金属离子参与架桥, 实现微藻的絮凝。微藻表明负电荷可以在电荷作用下与金属离子结合, 而金属离子如何与微生物结合并不清楚。所以, “桥联”理论更深层次的研究是金属离子与微生物结合方式的确定。

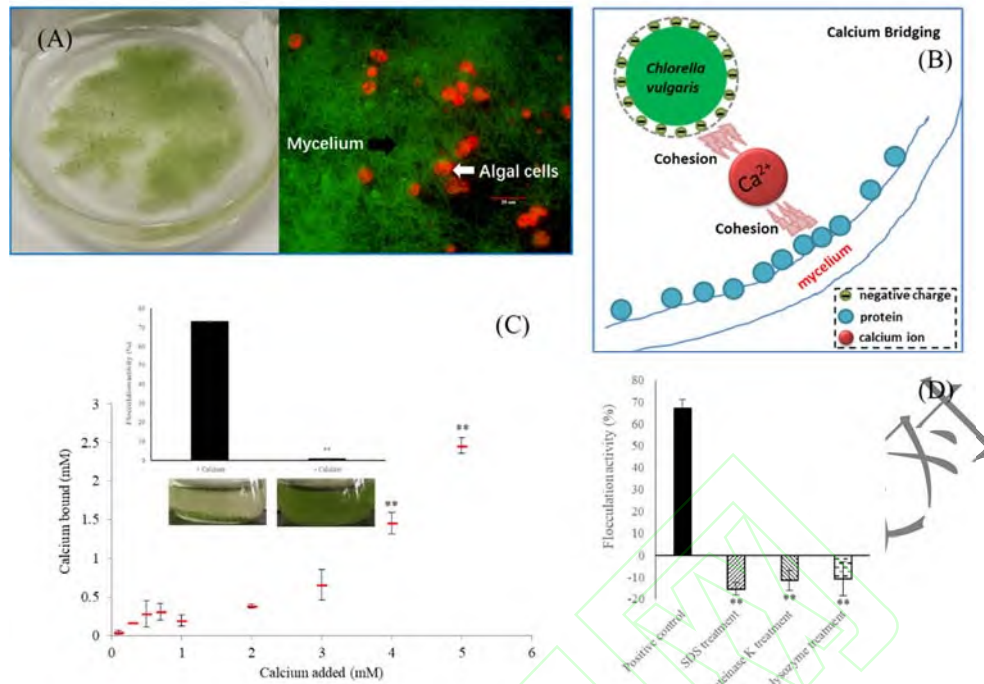


图 1 链霉菌 hsn06 菌丝球通过钙离子桥联絮凝小球藻

Figure 1 Flocculation of *Chlorella vulgaris* by *Streptomyces* sp. hsn06 mycelium through calcium ion bridging

注：A 为链霉菌菌丝对小球藻的絮凝效果及显微观察；B：钙离子桥联机理图；C：钙离子结合实验；D：蛋白参与絮凝。

Note: A: Flocculation effect and microscopical observation of *Streptomyces* mycelium on *Chlorella vulgaris*; B: Mechanism diagram of calcium bridging; C: Calcium ion binding experiment; D: Protein involved in flocculation.

5 展望

国内研究很少将絮凝功能微生物应用于微藻的获取，主要是关于微藻研究重视不够，起步较晚。随着国内对微藻能源问题的日益重视和相关项目的设立，近年来微藻与微生物之间的研究才逐渐开展起来。预计在今后的几十年内，微藻将取代化石燃料成为更为经济环保的能源原料。微藻与细菌间的互利共生的关系，尤其是絮凝功能菌在微藻采收中的应用与作用机制研究将是微藻生物能源应用于生产实践中急需解决的重要科技问题之一。

虽然当前研究者对于絮凝微生物在微藻采收中的作用和机制研究很多，也取得了一定的成效，可絮凝微藻在微藻采收过程中仍存在问题：(1) 大量絮凝菌株资源被挖掘，但是确切的絮凝物质及絮凝相关的功能基因仍不清楚。(2) 如何开发更广泛的絮凝微生物资源。(3) 絮凝微生物采收微藻后是否需要将其与微藻分开。(4) 如何深入探究絮凝微生物作用机制。

针对以上问题，我们认为可以从以下几个方面开展后续的研究：(1) 通过采用各种分离技术方法，分离高纯度的絮凝物质；通过多组学技术确定絮凝相关基因，并借助于基因编辑等技术验证絮凝基因。(2) 将絮凝基因进行外源表达，构建絮凝工程菌株，扩大絮凝微生物资源。(3) 筛选无害的絮凝微生物进行微藻采收，并且将絮凝微生物与杀藻微生物

结合应用于微藻的采收和油脂提取，从而将微藻的采收与脂质提取一步完成。(4) 絮凝机制是广泛且复杂的，为了更好地解释其机理，需要对特定絮凝剂和胶体颗粒的组成、结构、电荷、构像及各种反应条件对其絮凝效果作深入的探讨。

REFERENCES

- [1] Brand LE. Algae: an introduction to phycology[J]. Bulletin of Marine Science, 1996, 59(1): 242-243
- [2] Cardol P. Mitochondrial respiration in algae: from mitochondrial genome to regulation of photosynthesis[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 48(2): 247-254
- [3] Droop MR. 25 Years of algal growth kinetics a personal view[J]. Botanica Marina, 1983, 26(3): 99-112
- [4] Lakaniemi AM, Tuovinen OH, Puhakka JA. Anaerobic conversion of microalgal biomass to sustainable energy carriers-a review[J]. Bioresource Technology, 2013, 135: 222-231
- [5] Zaimes GG, Khanna V. Microalgal biomass production pathways: evaluation of life cycle environmental impacts[J]. Biotechnology for Biofuels, 2013, 6(1): 88
- [6] Zhou XP, Ge HM, Xia L, et al. Evaluation of oil-producing algae as potential biodiesel feedstock[J]. Bioresource Technology, 2013, 134: 24-29
- [7] Milledge JJ, Smith B, Dyer PW, et al. Macroalgae-derived biofuel: a review of methods of energy extraction from seaweed biomass[J]. Energies, 2014, 7(11): 7194-7222
- [8] Liu JH. Perspectives of green microalgal research for biofuels[J]. Algological Studies, 2014, 145-146(1): 15-25
- [9] Lei XQ, Chen Y, Shao ZZ, et al. Effective harvesting of the microalgae *Chlorella vulgaris* via flocculation-flotation with bioflocculant[J]. Bioresource Technology, 2015, 198: 922-925
- [10] Coons JE, Kalb DM, Dale T, et al. Getting to low-cost algal biofuels: a monograph on conventional and cutting-edge harvesting and extraction technologies[J]. Algal Research, 2014, 6: 250-270
- [11] Chen ZR, Zhang BZ, Zhang JY, et al. A lytic bacterium's potential application in biofuel production through directly lysing the diatom *Phaeodactylum tricorutum* cell[J]. Algal Research, 2015, 12: 197-205
- [12] Grima ME, Belarbi EH, Fernández FGA, et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics[J]. Biotechnology Advances, 2003, 20(7-8): 491-515
- [13] Uduman N, Qi Y, Danquah MK, et al. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels[J]. Journal of Renewable And Sustainable Energy, 2010, 2(1): 012701
- [14] Mata TM, Martins AA, Caetano NS. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review[J]. Renewable And Sustainable Energy Reviews, 2010, 14(1): 217-232
- [15] Knuckey RM, Brown MR, Robert R, et al. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds[J]. Aquacultural Engineering, 2006, 35(3): 300-313
- [16] Rwehumbiza VM, Harrison R, Thomsen L. Alum-induced flocculation of pre-concentrated *Nannochloropsis salina*: residual aluminium in the biomass, FAMES and its effects on microalgae growth upon media recycling[J]. Chemical Engineering Journal, 2012, 200-202: 168-175
- [17] Vandamme D, Pontes SCV, Goiris K, et al. Evaluation of electro-coagulation-flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2011, 108(10): 2320-2329
- [18] Zhou Y, Lai YS, Eustance E, et al. How myristyltrimethylammonium bromide enhances biomass harvesting and pigments extraction from *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. Water Research, 2017, 126: 189-196
- [19] Ramakrishnan U, Bruno B, Sandhya S. Evaluation of chemical flocculation-electro flocculation for harvesting of halotolerant microalgae[J]. International Journal of Environmental Sciences, 2014, 4(5): 899-905
- [20] Mikulec J, Polakovičová G, Cvengroš J. Flocculation using polyacrylamide polymers for fresh microalgae[J]. Chemical Engineering & Technology, 2015, 38(4): 595-601
- [21] Vandamme D, Foubert I, Fraeye I, et al. Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: role of magnesium and

-
- calcium and practical implications[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 105: 114-119
- [22] Christenson L, Sims R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts[J]. *Biotechnology Advances*, 2011, 29(6): 686-702
- [23] Bosma R, van Spronsen WA, Tramper J, et al. Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2003, 15(2-3): 143-153
- [24] Cerff M, Morweiser M, Dillschneider R, et al. Harvesting fresh water and marine algae by magnetic separation: screening of separation parameters and high gradient magnetic filtration[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 118: 289-295
- [25] Grossart HP, Kjørboe T, Tang KW, et al. Interactions between marine snow and heterotrophic bacteria: aggregate formation and microbial dynamics[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, 42(1): 19-26
- [26] Shen H, Niu Y, Xie P, et al. Morphological and physiological changes in *Microcystis aeruginosa* as a result of interactions with heterotrophic bacteria[J]. *Freshwater Biology*, 2011, 56(6): 1065-1080
- [27] Li Y, Xu YT, Liu L, et al. First evidence of bioflocculant from *Shinella albus* with flocculation activity on harvesting of *Chlorella vulgaris* biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 218: 807-815
- [28] Xu YT, Li Y, Zhao GW, et al. Flocculation effect of *Shinella* sp.xn-1 on *Microcystis aeruginosa*[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(8): 1808-1816 (in Chinese)
- 许艳婷, 李伟, 赵国威, 等. 絮凝菌株 *Shinella* sp.xn-1 对铜绿微囊藻的絮凝效果[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(8): 1808-1816
- [29] Li Y, Xu YT, Zheng TL, et al. Amino acids in cell wall of Gram-positive bacterium *Micrococcus* sp. hsn08 with flocculation activity on *Chlorella vulgaris* biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 249: 417-424
- [30] Muradov N, Taha M, Miranda AF, et al. Fungal-assisted algal flocculation: application in wastewater treatment and biofuel production[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, 8(1): 24
- [31] Li Y, Xu YT, Liu L, et al. Flocculation mechanism of *Aspergillus niger* on harvesting of *Chlorella vulgaris* biomass[J]. *Algal Research*, 2017, 25: 402-412
- [32] Chen J, Leng LJ, Ye CS, et al. A comparative study between fungal pellet- and spore-assisted microalgae harvesting methods for algae bioflocculation[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 259: 181-190
- [33] Li Y, Zheng W, Zheng TL. Advances in research of marine microbial diversity and molecular ecology[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(4): 655-668 (in Chinese)
- 李伟, 郑伟, 郑天凌. 海洋微生物多样性及其分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(4): 655-668
- [34] Li Y, Xu YT, Zheng TL, et al. Flocculation mechanism of the actinomycete *Streptomyces* sp. hsn06 on *Chlorella vulgaris*[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 239: 137-143
- [35] Powell RJ, Hill RT. Mechanism of algal aggregation by *Bacillus* sp. strain RP1137[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(13): 4042-4050
- [36] Wan C, Zhao XQ, Guo SL, et al. Bioflocculant production from *Solibacillus silvestris* W01 and its application in cost-effective harvest of marine microalga *Nannochloropsis oceanica* by flocculation[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 135: 207-212
- [37] Xiong YY, Wang YP, Yu Y, et al. Production and characterization of a novel bioflocculant from *Bacillus licheniformis*[J]. *Applied And Environmental Microbiology*, 2010, 76(9): 2778-2782
- [38] Oh HM, Lee SJ, Park MH, et al. Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp. AM49[J]. *Biotechnology Letters*, 2001, 23(15): 1229-1234
- [39] Kim DG, La HJ, Ahn CY, et al. Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 3163-3168
- [40] Nie M, Yin X, Jia J, et al. Production of a novel bioflocculant MNXY1 by *Klebsiella pneumoniae* strain NY1 and application in precipitation of cyanobacteria and municipal wastewater treatment[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 111(3): 547-558

-
- [41] Wang H, Laughinghouse IV HD, Anderson MA, et al. Novel bacterial isolate from Permian groundwater, capable of aggregating potential biofuel-producing microalga *Nannochloropsis oceanica* IMET1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(5): 1445-1453
- [42] Vandamme D, Foubert I, Muylaert K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production[J]. Trends in Biotechnology, 2013, 31(4): 233-239

微生物学通报 未排版校对