

# 基于废蔗渣为原料的小球藻产微生物油脂的研究

郑锶雨 张诗怡 邵 波

(浙江树人大学 生物与环境工程学院 环境工程专业, 浙江 杭州 310000)

**摘 要:** 基于废蔗渣为原料, 通过将蔗渣中的各类含碳有机物水解为可供小球藻吸收利用的糖类, 对比两种水解方式获取更高糖浓度的蔗渣水解液, 用此类方法得到的蔗渣水解液异养培养小球藻。通过测定分析小球藻的生长量、产油量、产油效率三项指标获取能有效培养小球藻产油的水解液含量。在此基础上, 通过改变小球藻不同的生长条件, 得到最适宜其产油的条件。结果表明: 高温灭菌能增加水解液含糖量; 水解液体积为到 3mL 即总糖浓度为 0.7200g/L 时小球藻各项指标达到最大化; pH 的范围对小球藻的产油影响最大, 小球藻最佳产油条件为尿素含量 100mmol/L, 光照时长 18h, pH 为 7。本实验方法便捷, 成本低廉, 具有较好的工业化应用前景, 为固废回收利用及微藻产油经济化提供了参考。

**关键词:** 蔗渣 小球藻 微藻产油 微生物油脂 糖化碳源

DOI:10.14127/j.cnki.jiangxihuagong.2020.04.025

## 引言

当前世界对于能源的消耗日益增长, 尤其是对石油的利用, 开发过度不利于长久发展<sup>[1]</sup>, 同时, 中国的环境破坏也日趋严重, 废水废气废渣正从生活的方方面面影响着中国健康的环境<sup>[2]</sup>。因此, 对于清洁可利用能源的开发就显得日渐紧迫。在已知可用的清洁能源中, 最具潜力的是生物柴油<sup>[3]</sup>, 它是绿色环保发展的重要选项<sup>[4]</sup>。目前已知生物柴油的生产方法主要依靠动植物, 但这类方法原料成本较高<sup>[5]</sup>, 因此我们需要寻找一些廉价、快捷又便于产业化的方式进行生物柴油的开发研究, 其中, 采用产油微生物生产油脂具有高效、便捷和低成本等优点, 可以有效缓解此类问题。

以产油微生物为主要生产者开发微生物油脂可以在一定程度上降低生产成本<sup>[6]</sup>, 它们能够利用外界条件将有机碳源通过配合氮源和无机盐辅助因子在体内合成转化后得到的甘油酯, 这类甘油酯便是微生物油脂(microbial oils)。和常见的产油农作物相比, 产油微生物的生长周期更快且所需能源较少, 可以在更复杂的条件下生存, 能适应各种不同的生存环境且所得产物也更为清洁<sup>[7]</sup>。在能产生油脂的种类的微生物中研究对象常以酵母菌和霉菌居多<sup>[8]</sup>。同时, 微生物产油通常需要一定的产油环境, 产油环境是开采生物柴油的另一个重要因素, 影响着最终产油成果, 表现为产油微生物生长的需要使用大量的培养基。考虑到生物产油的工业化推广性及经济效益性, 对于培养基的选择

往往更需要我们寻找广泛存在且廉价的物品作为产油微生物的培养基底物, 期望在节省成本的同时不损产油率, 将实验效果最大化。

鉴于微生物油脂的研究背景、现有的微生物油脂开发技术以及限制条件<sup>[9,10]</sup>, 本论文研究将采用生活中常见且难以转化的蔗渣作为廉价碳源, 以小球藻为产油微生物的研究案例, 培养微藻吸收转化蔗渣水解液中的糖类及纤维素, 既能制备廉价碳源培养基, 又能培养小球藻生产微生物油脂<sup>[11]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

甘蔗(网购 海南海口); 氢氧化钠(分析纯, 西陇科学有限公司); 浓盐酸(分析纯, 杭州化学试剂有限公司); 柠檬酸(分析纯, 如皋市金陵试剂厂); 柠檬酸三钠(分析纯, 中国医药集团上海化学试剂公司); A50000μ/g 酸性纤维素酶(河南万邦实业有限公司); 含量 95.0 – 98.0% 硫酸(上海凌峰化学试剂有限公司); 正己烷(分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 苯酚(分析纯, 华东医药股份有限公司); 无水乙醇(分析纯, 安徽安特食品股份有限公司); 尿素(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); HH-1 恒温水浴锅(金坛市江南仪器厂); THZ82 恒温水浴振荡器(国华企业); 高温灭菌锅; PRX-350D 智能人工气候箱(宁波海曙赛福实验仪器厂); Universal 320 高速离心机(Hettich 德国); 分析天平。

**作者简介:** 郑锶雨(1998-), 女, 浙江宁波, 浙江树人大学生物与环境工程学院, 学生, 本科, 研究方向为环境污染物及环境微生物。联系方式: E-mail: 837414131@qq.com。

张诗怡(1999-), 女, 浙江湖州, 浙江树人大学生物与环境工程学院, 学生, 本科, 研究方向为环境污染物及环境微生物。联系方式: E-mail: 386490134@qq.com。

邵 波, 硕士, 副高, 研究方向为环境污染物及环境微生物。联系方式: E-mail: 250859027@qq.com。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 蔗渣预处理及水解液的制备方法

蔗渣的预处理及水解液的制备方法根据文献的方法<sup>[12,13]</sup>略有改进,具体如下:

将废弃蔗渣平铺在托盘中,置于 40℃ 烘箱中低温过夜。用高速粉碎机将甘蔗渣粉碎成蔗渣粉。按蔗渣用量 5% (w/v) 的剂量加入 1mol/L NaOH 溶液,放置在室温处理 18 小时。处理完毕后用抽滤机获取蔗渣,将其放置在 70℃ 烘箱中烘干至恒重。加入 0.1mol/L HCL 溶液后置于 99℃ 恒温水浴锅加热 25 分钟。冷却至室温后再进行抽滤,再将所得蔗渣置于 70℃ 烘箱进行烘干。在烘干蔗渣中按比例加入 pH = 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液,混匀,置于 99℃ 恒温水浴锅加热 40 分钟。冷却至室温后,按 0.66g/mL 的剂量加入酸性纤维素酶,置于 50℃ 恒温水浴振荡器以 150r/min 的转速振荡酶解 48h。酶解后将溶液倒入 50mL 离心管中以 8000r/min 离心 20 分钟,将液体倒入锥形瓶中。最后放置高温灭菌进行灭菌处理。

所得水解液中的糖份为原料残存的蔗糖及水解纤维素后得到的糖类,两种糖类在相同实验条件下均可被小球藻所利用,且不会对后续的实验造成严重影响。

### 1.2.2 小球藻阶段培养方法

本实验主要分为两个阶段进行:

阶段一 对不同水解液浓度的小球藻进行异样培养<sup>[14]</sup>,实验采用控制变量法,其中蔗渣水解液浓度为变量。

阶段二 在阶段一的基础上,对不同培养因素影响下的水解液小球藻培养,实验采用正交法<sup>[15]</sup>,通过采用①碳氮比为变量(尿素含量取 0mmol/L、50mmol/L、100mmol/L);②pH 值为变量(pH 范围为 5-7、pH 范围为 7、pH 范围为 7-9)<sup>[16]</sup>;③光照时长(6h、12h、18h)为条件进行实验。具体分组见表 3。

## 1.3 分析方法

### 1.3.1 葡萄糖标线测水解液糖含量

参考文献,实验方案操作如下<sup>[17]</sup>:

标准曲线的绘制:取 10 支 25mL 的比色管,分别加入含 50mg/L 的葡萄糖标准液:0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6,1.8mL,在上述比色管中分别加入 6% 的苯酚溶液 1mL,浓硫酸溶液 5mL,纯水定容,绘制糖含量标准曲线。

水解液中糖分含量的测定:取 1mL 1.2.1 中的蔗渣水解液,纯水稀释 100 倍后,取稀释后的水解液 1mL,加入 1mL 水,1mL 6% 的苯酚溶液,5mL 浓硫酸溶液,纯水定容,静置 10min,摇匀,放置 30min,用分光光度计在 490nm 处进行比色,测得水解液中总糖的含量(g/L)。

### 1.3.2 小球藻生长及产油状况分析

对于小球藻生长及产油状况的分析主要通过测定

小球藻的生长量以及产油量情况进行分析。

生长量的测定主要通过离心,破碎细胞壁;速冻,除去多余的水分,得到细胞干重。

油脂含量的测定主要通过加入有机试剂,放入高速离心机离心,使油脂充分溶于其中,再分馏得到溶有油脂的有机相。恒温水浴蒸干有机相后,得到油脂重量。通过计算前后质量变化得到小球藻产油率<sup>[18]</sup>。

## 2 结果分析

### 2.1 糖含量线性范围

将 50mg/L 葡萄糖对照品混合液在 490nm 光照处进行检测,测得糖的峰面积与对应浓度工作曲线进行线性回归,得到线性方程为:  $y = 0.1886x + 0.0106$ ,相关系数  $r \geq 0.9990$ ,线性关系良好。

### 2.2 不同水解液预处理方法对比测定糖含量

样品分别取:①用 1.2.1 方法制备水解液样品 A,②前步骤与 1.2.1 相同但未经高温灭菌处理的水解液 B<sup>[19]</sup>,实验测得稀释 100 倍后的水解液 A 吸光值为:1.1566;水解液 B 吸光值为:0.9805,经线性拟合后得水解液 A 中糖含量为 30.71g/L;水解液 B 中糖含量为 25.00g/L。

可见高温灭菌处理能增大水解液中的糖含量,已知小球藻合成微生物油脂是通过对有机碳源的合成与利用,有利于小球藻自身油脂的累积,因此经高温灭菌处理后的水解液将更有利于小球藻油脂的合成<sup>[20]</sup>。

### 2.3 不同浓度水解液对小球藻产油的影响

本实验以小球藻对有机碳源的利用合成成为生物油脂为目标,通过分析对比不同浓度水解液培养下小球藻的生长量、油脂产量获取其产油率,结合三项指数<sup>[21]</sup>,获取最适合小球藻合成油脂的水解液浓度。

其中实验主要分为两个阶段三个实验:

第一阶段第一个实验:水解液梯度培养下小球藻生物量及产油情况分析(水解液浓度分别为:0.00g/L、0.60g/L、1.18g/L、1.74g/L、2.28g/L)获取最适宜小球藻生长的水解液浓度范围。

第一阶段第二个实验:由第一个实验中获得的最适宜水解液浓度范围为基础,进行小球藻在缩小范围后的水解液梯度培养。

第二阶段第一个实验:在第一阶段第二个实验中获得的最适宜水解液浓度范围为基础,通过其他条件(光照时长、pH 值、氮元素含量)的改变,进行小球藻在等浓度水解液的不同生长条件下的培养。综合分析后最终得出最适宜小球藻生长及产油的条件。

### 2.3.1 较大范围水解液梯度培养下小球藻生物量及产油情况分析

实验通过控制变量法,在条件不变(培养基:75mL,藻液 50mL,光照时长:12h, pH 值:7,尿素含量:50mmol/L)情况下,按水解液体积梯度培养小球藻。小

球藻平均生长量、平均油脂及产油率见表 1。

表 1 不同浓度水解液培养下小球藻的生长及产油情况

| 组号 | 水解液体积 (mL) | 总糖浓度 (g/L) | 平均生长量 (g/L) | 平均油脂含量 (g/L) | 平均产油率  |
|----|------------|------------|-------------|--------------|--------|
| 1  | 0.00       | 0.00       | 1.5759      | 0.0777       | 4.93%  |
| 2  | 2.50       | 0.60       | 2.8749      | 0.5978       | 20.79% |
| 3  | 5.00       | 1.18       | 2.4711      | 0.4858       | 19.66% |
| 4  | 7.50       | 1.74       | 2.1603      | 0.2867       | 13.27% |
| 5  | 10.00      | 2.28       | 1.3130      | 0.0763       | 5.81%  |

水解液浓度与小球藻平均生长量、油脂含量、产油率的关系曲线见图 1。

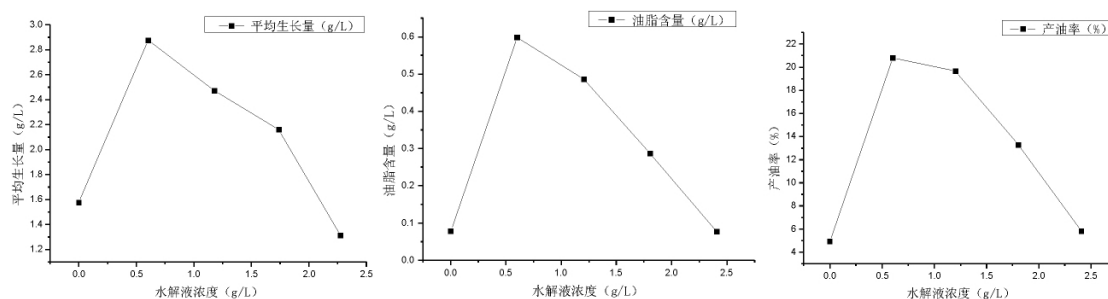


图 1 不同糖浓度(0-2.28g/L)培养下小球藻的生长情况、油脂含量及产油率折线图

由上述图表可知,在水解液浓度为 0.60-1.18g/L 时,小球藻产油率最高。当水解液浓度小于 1.18g/L 时,油脂产率随水解液浓度上升而增大;当浓度大于 1.18g/L 时,糖含量过高导致抑制小球藻的生长以及内部油脂积累。

### 2.3.2 缩小范围水解液梯度培养下小球藻生物

量及产油情况分析

在水解液体积为 2.50-5.00mL 即总糖含量为 0.60-1.18g/L 时,小球藻各项指标最优化,因此本实验将缩小浓度范围,针对该范围内的水解液情况,在条件不变情况下,通过控制变量法,按梯度培养小球藻。小球藻平均生长量、平均油脂及产油率见表 2。

表 2 缩小范围后不同浓度水解液培养下小球藻的生长及产油情况

| 组号 | 水解液体积 (mL) | 总糖浓度 (g/L) | 平均生长量 (g/L) | 平均油脂含量 (g/L) | 平均产油率  |
|----|------------|------------|-------------|--------------|--------|
| 1  | 0.00       | 0.00       | 1.8058      | 0.0701       | 3.88%  |
| 2  | 2.50       | 0.60       | 2.7962      | 0.5900       | 21.10% |
| 3  | 3.00       | 0.72       | 3.1298      | 1.2908       | 41.24% |
| 4  | 3.50       | 0.84       | 3.6604      | 1.3008       | 35.54% |
| 5  | 4.00       | 0.95       | 3.8131      | 0.5913       | 15.51% |
| 6  | 3.50       | 1.07       | 3.677       | 0.4749       | 12.92% |
| 7  | 5.00       | 1.18       | 2.6544      | 0.2748       | 10.35% |

缩小浓度范围的水解液浓度与小球藻平均生长量、油脂含量、产油率的关系曲线见图 2:

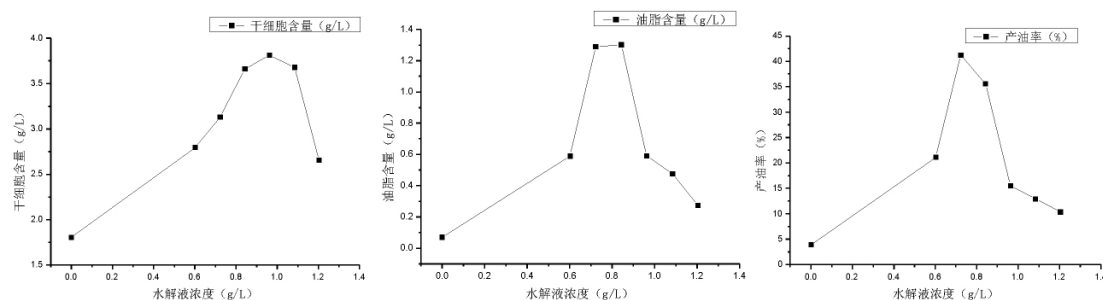


图 2 不同糖浓度(0-1.18g/L)培养下小球藻的生长情况、油脂含量及产油率折线图

由上述图表可知,水解液浓度在 0.72g/L 时,小球藻产油率达到最大。当水解液浓度小于 0.72g/L 时,

小球藻生长量、油脂含量及产油率成上升趋势;当浓度大于 0.72g/L 时,小球藻的生长及油脂累积呈现下降趋势,说明加入水解液过多将抑制小球藻的生长,其产生原因可能是水解液中过多的糖分形成的不透明混合液会影响小球藻对光源的吸收。

#### 2.4 不同生长条件对小球藻产油的影响

由上一节实验可知,在水解液体积为 3.00mL 即总糖浓度为 0.72g/L 时,小球藻的各项指标达到最大化,基于此,本实验将在此浓度基础上通过正交对比各种影响因素获取最适小球藻生长的条件。分组及其测定结果见表 3,分析见表 4:

表 3 正交分析表

| 尿素含量(g/L) | 光照(h) | PH 范围 | 平均产率   |
|-----------|-------|-------|--------|
| 0.0       | 6.0   | 5-7   | 15.80% |
| 0.0       | 12.0  | 7     | 35.24% |
| 0.0       | 18.0  | 7-9   | 42.38% |
| 50.0      | 6.0   | 7     | 36.61% |
| 50.0      | 12.0  | 7-9   | 49.61% |
| 50.0      | 18.0  | 5-7   | 21.94% |
| 100.0     | 6.0   | 7-9   | 39.76% |
| 100.0     | 12.0  | 5-7   | 21.77% |
| 100.0     | 18.0  | 7     | 51.62% |

表 4 各因素显著性差异分析表

| 相关系数<br>影响因素 | 尿素含量<br>(g/L) | 光照时长<br>(h) | pH 范围   |
|--------------|---------------|-------------|---------|
| K1           | 93.42%        | 92.17%      | 59.51%  |
| K2           | 108.16%       | 106.62%     | 123.47% |
| K3           | 113.15%       | 115.94%     | 131.75% |
| k1           | 31.14%        | 30.72%      | 19.84%  |
| k2           | 36.05%        | 35.54%      | 41.16%  |
| k3           | 37.72%        | 38.65%      | 43.92%  |
| R            | 6.58%         | 7.92%       | 24.08%  |

由表 3、4 可知,在三种对小球藻产油有影响的相关因素中,以 pH 对小球藻油脂产率的影响最大,其次为光照时长,最后为尿素含量。可见,在 pH 为 7 时,小球藻产油率普遍较高,在此基础上,光照时长越长,油脂产率越高,同时,尿素含量越高,产率越高。

三种因素中,当 pH 在过低或过高情况下会出现抑制小球藻的生长情况。另外,光照时长与小球藻的光合作用有密切的关系,由表可知光照时间越长,小球藻生长量越大,越有利于其合成油脂。最后,尿素中含有的氮元素作为小球藻生长的必要条件之一,其含量也与小球藻的生长及产油有关,由表中数据可知氮元素含量越高,小球藻产油量越大,反之,则越小。

因此,在其他条件不变情况下,当尿素含量为 100.0mmol/L,光照时长为 18h,pH 为 7 时,小球藻产油率最高,为 51.62%。

### 3 结论

通过对两种处理方法得到的水解液糖含量对比得水解液 A 中糖含量为 30.71g/L,可见高温灭菌后的水解液含糖量更高,更有利于小球藻的利用和生长;通过两个阶段的水解液梯度培养下小球藻生物量及产油情况分析得到,水解液为 3.00mL 即总糖浓度为 0.72g/L 时产油率最高;基于此,在水解液为 3.00mL 时,通过正交实验测定各生长条件对小球藻产油的影响,得到在 pH 对小球藻影响最大,当在 pH 为 7.0,光照时长为 18.0h,氮含量 100.0mmol/L 时小球藻产油率达到最大,为 51.62%。

### 4 展望

当前全世界对化石燃料的使用不但会耗尽其有限资源,而且会对环境造成严重的破坏。生物柴油作为一种清洁能源,可以减小对环境的破坏,并且可以重复利用一些被浪费的能源,譬如废弃的蔗渣。而微生物油脂的诞生给又给生物柴油的发展指明了新的方向,也为清洁能源的开发提供了新的可选资源<sup>[22,23]</sup>。微生物产油比其他产油作物而言,其产油更为方便快捷、廉价且更容易适应环境<sup>[24]</sup>。就其应用方向而言,它更能作为日渐流行的绿色发展趋势,也将更加有利于环保事业与绿色资源的发展。

微生物油脂的生产者常常以酵母或霉菌为主<sup>[25]</sup>。除此之外,虽然目前研究较多还有藻类,但产油微生物即产油微藻是一种常常因其分布较多而被人忽视其优良的产油性能的生物<sup>[26]</sup>。在当前已有的研究中,对产油酵母的研究主要是粘红酵母,而对产油微藻的研究则以小球藻为主。

相比较国外而言,我国虽起步较晚,却有十分丰富的原料资源<sup>[27]</sup>,而且中国对于油脂的需求日渐增大。而在已知的廉价碳源主要包括有:甘油、有机废水、木质纤维素水解液等<sup>[28]</sup>。而蔗渣是一种常见且廉价的固体废渣原料产量巨大<sup>[29]</sup>,不仅对环境有一定的污染性,同时由于蔗渣质地粗硬,含有的蛋白质较少等特点而难以处理,在生产过程中很难作为动植物的饲料被回收利用,更多是处于废弃的状态,而浪费了其含有的大量纤维素和糖分<sup>[30,31]</sup>。本研究通过对生活中常见废弃蔗渣的研究,重新利用其中富含的碳水化合物<sup>[32]</sup>,基于废蔗渣为原料培养小球藻产油方法便捷,成本低廉,具有较好的工业化应用前景,为固废回收利用及微藻产油经济化提供了参考。

\* 基金项目:浙江省大学生科技创新活动计划(2017R421005)。

### 参考文献

- [1] 刘洪霞,冯益明.世界生物质能源发展现状及未来发展趋势[J].世界农业,2015(05):117-120.
- [2] 白明松.关于中国环境固体废物污染现状与治理[J].科技创新导报,2019,16(07):156-157.

- [3] 任世英, 邵奎, 卢樯, 等. 产油脂细菌 *Bacillus* sp. B1 的分离与特性研究 [J]. 食品与发酵科技, 2017, 53 (2): 4-8.
- [4] Bin Xu, Li - Li Guo, Qing - Jiang Sun, Lian - Jie, etc. Deciphering electrochemically promising electron - shuttling characteristics of hydrolysable tannin - abundant *Galla chinensis* for bioenergy generation in microbial fuel cells [J]. Biochemical Engineering Journal, 2019(151): 107318-107318
- [5] 易绍金, 郑义平. 产油微生物的研究及其应用 [J]. 中外能源, 2006, 11(2): 90-94.
- [6] 柳杰, 刘文慧, 王晚晴, 等. 产油微生物及其发酵原料的研究进展 [J]. 环境工程, 2017, 35(3): 132-136.
- [7] 廖春丽, 高阿龙, 郑瑞, 等. 产油微生物的筛选及其产油率测定 [J]. 贵州农业科学, 2016, 44(06): 83-85+89.
- [8] 李涛, 纪晓俊, 吴娜, 等. 金属离子对产油微生物油脂积累影响的研究进展 [J]. 化工进展, 2016, 35(4): 1173-1179.
- [9] 林粤顺, 景旭东, 周红军, 等. 微生物油脂研究进展 [J]. 仲恺农业工程学院学报, 2015, 28(03): 66-70.
- [10] 赵成, 陈雪芳, 熊莲, 等. 脂溶性荧光染料测定微生物油脂的研究进展 [J]. 新能源进展, 2019, 7(01): 85-92.
- [11] 青岛能源所等揭示工业微藻产油过程中碳源分配机制 [J]. 硅酸盐通报, 2014, 33(12): 3287-3287.
- [12] 陈俊辉. 蔗渣和木薯渣的水解糖化与发酵生产富油小球藻的研究 [D]. 广东广州: 华南理工大学, 2011.
- [13] 张聪聪. 蔗渣纤维素水解糖化的方法: 中国, CN201610519070.7 [P]. 2016-08-31.
- [14] Chisti Y. Biodiesel from microalgae [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(3): 294-306
- [15] 方龙香, 宋超, 范立民, 等. 基于正交实验设计的磺胺甲恶唑在渔业水体中的消解动态规律 [J]. 中国农学通报, 2019, 35(27): 146-152.
- [16] 张奇, 曹英昆, 邢泽宇, 等. pH、盐度对小球藻生长量和溶氧量的影响 [J]. 湖北农业科学, 2018, 57(11): 83-86.
- [17] 罗毅, 潘细贵, 刘刚, 等. 苯酚-硫酸法测定多糖含量显色方式的优选 [J]. 中国中医药信息杂志, 2005(01): 45-46.
- [18] Quan F. Bin T. Research on colistin fermentation broth treatment with microfiltration membraneseperation technology [J]. Journal of Biology, 2010, 27(1): 43-45.
- [19] 姚双全, 覃程荣, 聂双喜, 等. 一种提高蔗渣水解液中葡萄糖浓度的方法: 中国, CN201610524859.1 [P]. 2016-11-09.
- [20] 袁正求. 马铃薯淀粉水解液碳源两步法促培小球藻油脂富集及机制研究 [D]. 湘潭大学, 2013.
- [21] Li Y T, Han D X, Hu G R, et al. Inhibition of starch synthesis results in overproduction of lipids in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2010, 107(2): 258-268
- [22] 李贵丽, 韩志萍, 魏晓奕, 等. 能源微藻油脂积累及油脂含量检测技术研究进展 [J]. 广东农业科学, 2018, 45(10): 134-142.
- [23] Engineering - Biochemical Engineering; Investigators from United Arab Emirates University Have Reported New Data on Biochemical Engineering( Using switchable solvents for enhanced, simultaneous microalgae oil extraction - reaction for biodiesel production) [J]. Biotech Week, 2019.
- [24] Abo Bodjui Olivier, Odey Emmanuel Alepu, Bakayoko Moussa, Kalakodio Loissi. Microalgae to biofuels production: a review on cultivation, application and renewable energy. [J]. Reviews on environmental health, 2019, 34(1): 91-99
- [25] 王冬梅, 郭书贤, 梁跃辉, 等. 酵母菌发酵啤酒生产废水产微生物油脂和菌体蛋白的研究 [J]. 中国油脂, 2017, 42(4): 108-112, 117.
- [26] 黄秋婷, 史功赋, 杨振. 产油微藻的筛选及其产油能力的评价 [J]. 吉林化工学院学报, 2017, 34(11): 95-98.
- [27] 刘秀花, 梁梁, 李艳旭, 等. 热酸水解玉米穗轴及其脱毒处理方法研究 [J]. 商丘师范学院学报, 2017, 33(9): 43-46. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3600.2017.09.013.
- [28] 刘猛. 利用纤维素乙醇废水培养粘红酵母生产微生物油脂 [D]. 北京: 北京化工大学, 2017.
- [29] 陶平, 刘学文, 余希文, 等. 酶处理蔗渣的国内研究进展 [J]. 甘蔗糖业, 2019(04): 57-62.
- [30] 刘洋, 洪亚楠, 姚艳丽, 等. 中国甘蔗渣综合利用现状分析 [J]. 热带农业科学, 2017, 37(2): 91-95.
- [31] 魏阳, 彭勃, 汪元南, 等. 利用复合菌系处理甘蔗渣及城市污泥堆肥效果 [J]. 科学技术与工程, 2019, 19(07): 316-320.
- [32] 杜健. 利用水稻秸秆水解液培养微藻生长及油脂合成研究 [D]. 黑龙江哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.

## Study on microbial oil produced by chlorella based on waste bagasse

Zheng Si – yu   Zhang Shi – yi   Shao Bo

( *Environmental engineering, College of biological and environmental engineering,  
Zhejiang Shuren university, Zhejiang Hangzhou 310000* )

**Abstract:** Based on waste bagasse as raw material, various types of carbon – containing organic matter in bagasse were hydrolyzed into sugars that can be absorbed and used by chlorella, and two kinds of hydrolysis methods were used to obtain a bagasse hydrolysate with a higher sugar concentration. Heterotrophic culture of chlorella with bagasse hydrolysate. The content of the hydrolysate which can effectively cultivate the oil production of chlorella was obtained by measuring and analyzing the three indexes of growth, oil production and oil production efficiency of chlorella. On this basis, by changing different growth conditions of chlorella, the optimal conditions for its oil production were obtained. The results show that: high temperature sterilization can increase the sugar content of the hydrolysate; when the volume of the hydrolysate is 3 mL, that is, the total sugar concentration is 0.7200 g/L, the indicators of chlorella are maximized; The effect is greatest. The optimal oil production conditions for chlorella are 100 mmol/L urea, 18h light duration, and pH 7. This experimental method is convenient, low cost, and has good industrial application prospects, which provides a reference for the solid waste recycling and economical production of microalgae oil.

**Key Words:** bagasse, chlorella, microalgae oil production, microbial lipids, carbon sources of saccharification