

高 振,尹丰伟,郑洪立,等. 不同干燥条件对小球藻细胞成分的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):236-239.

# 不同干燥条件对小球藻细胞成分的影响

高 振<sup>1</sup>, 尹丰伟<sup>1</sup>, 郑洪立<sup>1</sup>, 郑艳萍<sup>1</sup>, 黄 和<sup>1,2</sup>

(1. 南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏南京 210009; 2. 材料化学工程国家重点实验室, 江苏南京 210009)

**摘要:**探究烘干、冷冻干、晒干和喷雾干燥等 4 种干燥条件对小球藻细胞成分的影响。结果表明:不同干燥条件对小球藻粗蛋白含量的影响不显著,喷雾干燥和冷冻干燥条件下的粗油脂、色素和碳水化合物含量较高,晒干和烘干条件对粗油脂和色素的影响较大,但烘干条件下灰分和矿质元素含量最高。因此,不同干燥条件对小球藻细胞成分的影响较大。综合考虑小球藻细胞成分的应用途径,喷雾干燥是一种可行的小球藻细胞干燥条件,具有工业化应用潜力。

**关键词:**小球藻;烘干;冷冻干;晒干;喷雾干燥;细胞成分

**中图分类号:** Q947.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0236-04

随着环境、资源、能源等问题突出,对可再生生物质资源的利用成为社会可持续发展的关键。微藻具有分布广泛、生长速度快、营养价值高等优点,在食品、能源和养殖方面都有广泛的应用前景。采收(如离心)后的微藻中约含 80% 的水分,水分的存在不利于胞内物质的提取<sup>[1]</sup>、生物柴油的生产<sup>[2]</sup>和生物质的储存,因此,在微藻的生产过程中,干燥是其中一个重要步骤,但干燥又是一个非常耗能的过程,约占总生产成本的 30%<sup>[2]</sup>。一种方便高效的干燥方法对降低小球藻的生产成本、延长小球藻的储存时间和后续的加工具有重要意义。目前,常用的干燥方法有烘干<sup>[3]</sup>、冷冻干<sup>[1]</sup>、晒干<sup>[4]</sup>、喷雾干燥<sup>[5]</sup>等,本试验拟考察上述不同干燥条件对小球藻细胞主要成分的影响,为小球藻干燥工艺的选择提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 小球藻细胞的生产

小球藻(*Chlorella vulgaris*)来源于中国典型培养物保藏中心,小球藻的培养参考文献[6]。

### 1.2 小球藻细胞的采收

小球藻生长至稳定期后,将藻液在 4 ℃、6 000 r/min 条件下离心 10 min,收集,并用蒸馏水洗涤 3 次,收集后的藻泥平均分成 4 份作为干燥的初始原料。

### 1.3 小球藻细胞的干燥

(1)烘干。将藻泥平摊于玻璃皿中,置于烘箱(GZX-9140 MBE,上海博迅)中,于 80 ℃下烘干 12 h。干燥结束后取出,置于干燥器(CaCl<sub>2</sub> 为干燥剂)中至室温。(2)冷冻干燥。将藻泥平摊于玻璃皿中,置于-4 ℃下冰箱中冷冻 2 h,样品结冰后,置于真空冷冻干燥机(FD-1A-50,北京博医康)中,-55 ℃冷冻干燥 24 h。干燥结束后取出,置于干燥器(CaCl<sub>2</sub> 为干燥剂)中至室温。(3)晒干。将藻泥平摊于玻璃皿中,在室外阳光直射的条件下晾晒 4 d。干燥结束后取出,

置于干燥器(CaCl<sub>2</sub> 为干燥剂)中至室温。(4)喷雾干燥。将藻泥加蒸馏水配成浓度约为 80 g/L 的藻液,喷雾干燥使用 YC-015 试验型喷雾干燥机。进风温度 200 ℃,出风温度 80 ℃,进料速度 80 mL/h,干燥结束后收集藻粉,置于干燥器(CaCl<sub>2</sub> 为干燥剂)中至室温。这 4 种干燥方法均是将样品在各自的处理条件下干燥至恒重,再将样品置于自封袋中,室温条件下避光保存。

### 1.4 小球藻细胞成分分析

油脂的提取与脂肪酸分析参考文献[6]。蛋白质含量的测定采用 GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》,以 6.25 作为总氮换算为总蛋白质的系数。氨基酸分析:称取 0.02 g 藻于 20 mL 水解管中,加 10 mL 6 mol/L HCl,于 120 ℃下水解 24 h,氨基酸的分析条件参考文献[7]。碳水化合物含量的测定采用硫酸-蒽酮法<sup>[8]</sup>。色素的提取与分析参考文献[9]。灰分含量的测定参照 GB 5009.4—2010《食品中灰分的测定》。矿质元素含量的测定:小球藻灰化后以体积比 1:49 的硝酸溶解,后进行 ICP 分析<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同干燥条件下的油脂含量

小球藻的细胞壁比较坚韧,在油脂萃取前首先需要经过破壁处理<sup>[6]</sup>。本试验以液氮破壁处理提油,所得的结果如图 1 所示,不同干燥条件下小球藻细胞中的油脂含量从大到小依次为喷雾干燥(24.55%)>冷冻干燥(21.13%)>烘干(15.90%)≈晒干(15.19%),说明不同的干燥条件会造成小球藻细胞油脂不同程度的损失。喷雾干燥的处理温度高、时间短,细胞中的热敏感性物质有损失,但对油脂的影响较小,因此喷雾干燥下油脂的比重相对较高。冷冻干燥能很好地保留细胞中的生物活性成分<sup>[11]</sup>,因此油脂在细胞成分中的比重比烘干条件下的低。烘干和晒干提供了较长时间的高温条件,使得以油滴形式存在的油脂挥发<sup>[12]</sup>,因此该干燥条件下获得的油脂含量最低,与烘干条件相比降低了 38% 左右。

### 2.2 不同干燥条件下的脂肪酸组成

饱和脂肪酸(SFA)与单不饱和脂肪酸(MUFA)是生物柴油的优良原料<sup>[13]</sup>。本试验测得不同干燥条件下的小球藻脂肪酸含量见表 1,各种干燥条件下的饱和与单不饱和脂肪酸

收稿日期:2012-12-10

基金项目:国家“973”计划(编号:2011CB200906)。

作者简介:高 振(1979—),男,湖北孝感人,博士,副研究员,主要从事生物化工领域的相关研究工作。Tel:(025)58139212;E-mail:gaozhen@njut.edu.cn。

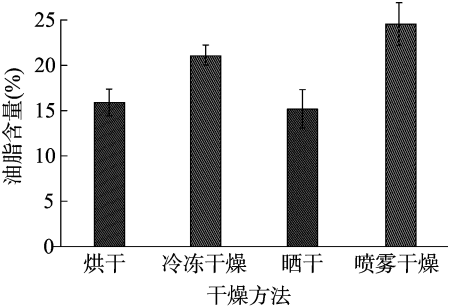


图1 不同干燥条件下小球藻细胞油脂含量

含量之和[  $\Sigma(SFA + MUFA)$  ]均超过总脂肪酸含量的 67%，因此该小球藻是一株良好的生物柴油原料藻种。由表 1 可知，该小球藻 C16：0（软脂酸）和 18C 的不饱和脂肪酸含量相对较高。不同干燥条件下的脂肪酸组成含量差异显著，冷冻干燥条件下得到的不饱和脂肪酸含量最高，与 Chan 等的结果<sup>[14]</sup>相似；其次为喷雾干燥条件；烘干和晒干对不饱和脂肪酸的影响较大，这是因为不饱和脂肪酸较敏感，在高温、光照、有氧等条件下易发生氧化、降解等，烘干和晒干分别提供了高温、高光照的有氧条件，并且处理时间较长，这些对不饱和脂肪酸的破坏最大，冷冻干燥则恰好相反。

表 1 不同干燥条件下小球藻细胞脂肪酸组成及含量

脂肪酸	占总脂肪酸的比例 (%)			
	烘干	冷冻干燥	晒干	喷雾干燥
C14：0	1.23 ± 0.00a	1.06 ± 0.06a	1.08 ± 0.12a	1.05 ± 0.12a
C16：0	43.40 ± 0.43a	43.48 ± 0.42a	51.67 ± 0.35b	43.12 ± 0.22a
C16：1	1.04 ± 0.03a	1.13 ± 0.06ab	1.22 ± 0.09ab	1.25 ± 0.11b
C16：2	0.76 ± 0.01ab	0.82 ± 0.01b	0.67 ± 0.01a	0.77 ± 0.11ab
C16：3	4.18 ± 0.03b	4.61 ± 0.06d	2.99 ± 0.05a	4.45 ± 0.01c
C18：0	3.63 ± 0.04b	3.32 ± 0.07a	3.77 ± 0.13b	3.35 ± 0.09a
C18：1	16.55 ± 0.40a	17.39 ± 0.10b	17.61 ± 0.47b	17.43 ± 0.02b
C18：2	10.51 ± 0.58b	12.06 ± 0.12c	9.16 ± 0.56a	12.16 ± 0.16c
C18：3	11.82 ± 0.42a	14.91 ± 0.17b	8.64 ± 0.99a	13.91 ± 0.91b
C20：0	1.72 ± 0.00ab	1.59 ± 0.10a	1.90 ± 0.16b	1.62 ± 0.06a
$\Sigma SFA$	49.71 ± 0.40a	49.45 ± 0.35a	58.41 ± 0.42b	49.15 ± 0.19a
$\Sigma UFA$	40.67 ± 1.42b	46.31 ± 0.36c	37.29 ± 1.67a	45.51 ± 0.81c
$\Sigma(SFA + MUFA)$	67.30 ± 0.81a	67.97 ± 0.29a	77.24 ± 0.67b	67.82 ± 0.07a

注：同行数据后标有不同字母者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。表 2、表 3 同。 $\Sigma(SFA + MUFA)$  代表饱和与单不饱和脂肪酸含量之和。

2.3 不同干燥条件下的蛋白质和氨基酸含量

本试验测得的小球藻的蛋白质含量约占细胞干重的 24%（图 2）。烘干条件下蛋白含量最高达 25%，另外 3 种干燥条件下蛋白质含量都有所降低，但差异不明显，均在 23% 左右。Chan 等研究发现，不同干燥条件（烘干、冷冻干和晒干）下马尾藻蛋白质含量差别不大<sup>[14]</sup>，与本试验的结论相似。

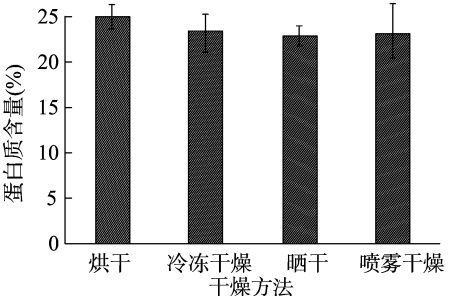


图2 不同干燥条件下小球藻细胞蛋白含量

由表 2 可知，经 HCl 水解后，色氨酸被全部破坏，剩余的 17 种氨基酸中，以脯氨酸和丙氨酸的含量最高，两者之和可占到总氨基酸的一半左右，含量最少的为丝氨酸和苯丙氨酸，含量不到 1%。有研究表明，不同干燥条件对各氨基酸的比例无显著影响<sup>[14]</sup>，本试验也得出类似的结果，但某些氨基酸表现出较大差异。4 种干燥条件可分成 A（烘干和晒干）和 B（冻干和喷雾干）2 组，各组的 2 种条件表现出一定的相似性，而 A、B 间存在一定差异，如 B 条件下的脯氨酸含量较高，A 条件下的谷氨酸含量较高等。造成这一现象的原因可能是

本试验的烘干和晒干条件下处理温度高、时间长，容易引起某些氨基酸分解破坏<sup>[15]</sup>，如脯氨酸，而方华春等的研究结果也表明温度对氨基酸含量有一定的影响<sup>[16]</sup>。

2.4 不同干燥条件下的碳水化合物含量

图 3 显示，该小球藻的碳水化合物含量较高，约占干重的 50%，4 种干燥条件中以冷冻干燥获得碳水化合物量最高，可达干重的 57.95%；烘干与喷雾干燥条件下均为 52% 左右；晒干条件下的最少，为 43.13%。Zepka 等发现，碳水化合物的含量受干燥条件的影响较大，烘干的处理温度较低、时间长，而喷雾干燥的温度较高、处理时间短<sup>[3]</sup>，与本试验结果相近。晒干则由于长时间的高温曝晒，造成细胞碳水化合物的损失量最大。

2.5 不同干燥条件下的色素含量

本试验以分光光度法测得的色素含量结果如图 4 所示。不同干燥条件下，色素总量和 3 种色素含量都有较大差异。冷冻干燥条件下得到的色素总量最高，为 8.44 mg/g，各色素含量从大到小依次为叶绿素 a（3.99 mg/g）> 叶绿素 b（2.37 mg/g）> 类胡萝卜素（2.07 mg/g），因为冷冻干燥有利于细胞活性成分的保留<sup>[1]</sup>，因此最能反映出细胞色素的组成。喷雾干燥条件下的色素含量为 5.71 mg/g，高于烘干和晒干条件下的测得值，并且各色素含量所占总色素的比例与冻干条件下的一致，这是因为虽然喷雾干燥过程中的温度较高，但处理时间短，色素的破坏程度较小；烘干和晒干都对细胞色素有较大的影响，而烘干条件下得到的色素含量最少（2.80 mg/g）。Cosgrove 等发现，与冷冻干燥相比，烘干条件

表 2 不同干燥条件下小球藻细胞的氨基酸组成及含量

氨基酸	含量(%)			
	烘干	冷冻干燥	晒干	喷雾干燥
天冬氨酸	3.52 ± 0.26a	3.08 ± 0.27a	3.53 ± 0.28a	3.40 ± 0.45a
谷氨酸	5.34 ± 0.30b	3.67 ± 0.44a	5.86 ± 0.13b	3.42 ± 0.41a
丝氨酸	0.75 ± 0.07a	0.57 ± 0.11a	0.59 ± 0.16a	0.64 ± 0.13a
甘氨酸	1.46 ± 0.13a	1.33 ± 0.11a	1.71 ± 0.10a	1.43 ± 0.30a
组氨酸	7.53 ± 0.37b	6.68 ± 0.56b	7.33 ± 0.34b	5.45 ± 0.73a
精氨酸	3.72 ± 0.32a	3.27 ± 0.44a	3.38 ± 0.27a	3.05 ± 0.49a
丙氨酸	19.14 ± 0.27b	16.81 ± 0.34a	19.72 ± 0.46b	16.73 ± 0.84a
脯氨酸	24.77 ± 0.38a	37.25 ± 0.61b	25.41 ± 1.22a	37.63 ± 0.74b
酪氨酸	8.27 ± 0.39c	4.75 ± 0.34a	6.07 ± 0.34b	4.13 ± 0.64a
半胱氨酸	1.28 ± 0.23a	1.16 ± 0.04a	1.25 ± 0.17a	1.24 ± 0.14a
苏氨酸	3.50 ± 0.35a	3.66 ± 0.48a	3.19 ± 0.27a	2.75 ± 0.37a
缬氨酸	4.58 ± 0.43b	3.69 ± 0.34ab	4.11 ± 0.39b	2.87 ± 0.40a
蛋氨酸	3.53 ± 0.32a	2.62 ± 0.38a	3.50 ± 0.63a	2.75 ± 0.40a
异亮氨酸	5.93 ± 0.70bc	5.33 ± 0.43ab	6.80 ± 0.22c	4.58 ± 0.55a
亮氨酸	1.69 ± 0.31a	1.85 ± 0.40a	1.88 ± 0.38a	2.77 ± 0.28b
苯丙氨酸	0.49 ± 0.14a	0.37 ± 0.06a	0.62 ± 0.28a	0.33 ± 0.14a
赖氨酸	4.48 ± 1.07a	3.89 ± 0.65a	5.06 ± 0.68a	6.81 ± 0.33b

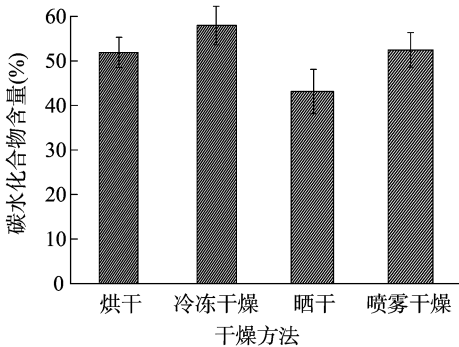


图3 不同干燥条件下小球藻细胞碳水化合物含量

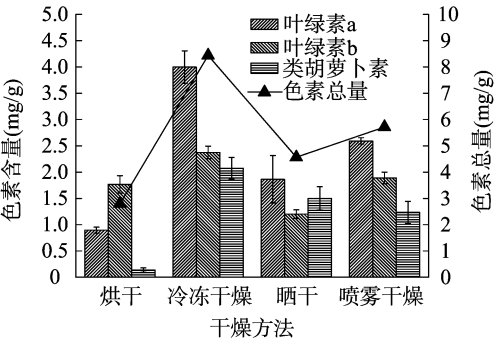


图4 不同干燥条件下小球藻细胞色素含量

下色素总量和叶绿素 a 含量较低,叶绿素 b 含量相差不大<sup>[17]</sup>,与本试验的结果一致;烘干条件下的类胡萝卜素含量降低明显,原因可能为类胡萝卜素含有大量的双键,不稳定,在长时间高温有氧条件下易氧化。另外,晒干条件下也会造成色素损失较大,一方面可能是因为在较高温度的有氧条件下造成色素的损失,另一方面可能是因为在自然光容易引起色素的降解<sup>[18]</sup>。

2.6 不同干燥条件下的灰分及矿质元素含量

不同干燥条件得到的灰分含量如图 5 所示,小球藻的灰分含量约为 1.8%,各干燥条件下的灰分含量相差不大,以烘

干条件下得到的最多,为 1.85%;冻干条件下的最少,为 1.45%。Chan 等的试验结果表明烘干条件下获得的灰分含量最高<sup>[14]</sup>,与本试验的结果一致。虽然不同的干燥条件对灰分的净含量无影响,但是不同的干燥条件容易造成其他生物活性成分(如油脂、色素、碳水化合物等)变化,因而灰分所占细胞比重会受到不同干燥条件的影响。

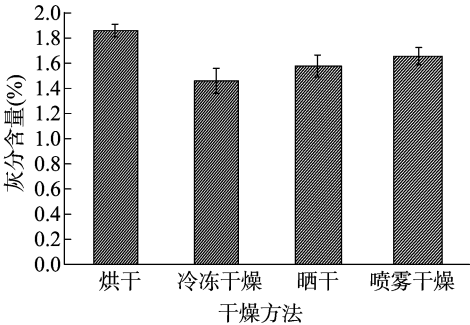


图5 不同干燥条件下小球藻细胞灰分含量

由表 3 可知,小球藻 8 种矿质元素的总量约 8.5 mg/g,其中 Ca、P、Na、K 的含量较高,Cu、Mn 的含量较少。不同的干燥条件下,以烘干得到的矿质元素的含量最多(8.69 mg/g),Chan 等也得到了相同的结果<sup>[14,19]</sup>,原因可参照不同干燥条件对灰分含量的影响,因为矿质元素是灰分的主要组成成分。不同干燥条件下某种矿质元素所占总元素的比重相似,因此不同干燥条件不会对某种矿质元素产生显著影响。

2.7 对不同干燥条件的评价

综合以上试验结果,以油脂的获取为主要目标,并参照美国能源部关于微藻生物炼制的概述<sup>[20]</sup>,给各项指标分配权重列于表 4,以含量从高到低分别计 4、3、2、1 分(差距不明显的计相同分)。如表 4 所示,在这种评价体系下,喷雾干燥得到的分数最高为 3.5 分;其次为冷冻干燥下的 3.4 分;晒干和烘干条件下的最少,分别为 2.4、2.6 分。经这种评价分析后得出,喷雾干燥条件对小球藻细胞成分影响较小,获得的油脂和

表 3 不同干燥条件下小球藻细胞的矿质元素含量

矿质元素	含量 (mg/g)			
	烘干	冷冻干燥	晒干	喷雾干燥
Na	2.38 ± 0.03ab	2.28 ± 0.02a	2.44 ± 0.06b	2.46 ± 0.08b
K	1.27 ± 0.01b	1.17 ± 0.06ab	1.15 ± 0.05a	1.23 ± 0.04ab
Ca	2.68 ± 0.10c	1.90 ± 0.02a	1.78 ± 0.10a	2.30 ± 0.17b
P	1.93 ± 0.06a	1.81 ± 0.05a	2.45 ± 0.18b	1.72 ± 0.05a
Fe	0.24 ± 0.02ab	0.19 ± 0.01a	0.28 ± 0.03b	0.27 ± 0.03b
Zn	0.18 ± 0.01b	0.16 ± 0.01a	0.29 ± 0.01c	0.19 ± 0.02b
Cu	0.07 ± 0.01a	0.06 ± 0.01a	0.09 ± 0.01b	0.06 ± 0.01a
Mn	0.04 ± 0.01ab	0.04 ± 0.01a	0.06 ± 0.01b	0.05 ± 0.01ab
合计	8.78 ± 0.16d	7.60 ± 0.01a	8.53 ± 0.14c	8.28 ± 0.06b

表 4 不同干燥条件的评价

干燥方法	得分(分)					
	粗油脂	粗蛋白	碳水化合物	色素	灰分	合计
烘干	2	4	3	1	4	2.6
冷冻干燥	3	4	4	4	1	3.4
晒干	2	4	2	2	2	2.4
喷雾干燥	4	4	3	3	3	3.5

注:粗油脂、粗蛋白、碳水化合物、色素、灰分的权重为 0.3、0.2、0.2、0.2、0.1。各干燥方法总得分 = Σ (不同处理得分 × 该项分配的权重值)。

有生物活性物质的含量相对较高,在微藻生物柴油及其他高值产品的应用上具有工业化潜力。

3 结论

小球藻细胞中粗油脂、粗蛋白、碳水化合物、色素和灰分的含量分别大约占细胞干重的 24%、25%、50%、0.90%、1.6%。在不同干燥条件下,油脂含量从大到小依次为喷雾干燥 > 冷冻干燥 > 烘干 > 晒干;4 种干燥条件下蛋白质含量差异不明显;碳水化合物含量从大到小依次为冷冻干燥 > 喷雾干燥 ≈ 烘干 > 晒干;色素含量从大到小依次为冷冻干燥 > 喷雾干燥 > 晒干 > 烘干;灰分含量从大到小依次为烘干 > 喷雾干燥 > 晒干 > 冷冻干燥。冷冻干燥能很好地保留细胞成分,但处理量小,成本高,对设备要求高;烘干的处理时间较短,但能耗较大,营养成分的破坏较大;晒干的成本最低,但对天气具有依赖性,处理时间长营养成分损失较多;喷雾干燥的处理时间短,且营养成分的破坏较小。综合各操作条件的优劣及权重评价得出,喷雾干燥是一种可操作的小球藻细胞干燥条件,具有工业化应用潜力。

参考文献:

[1] Grima E M, Belarbi E H, Acien Fernández F G, et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics [J]. *Biotechnology advances*, 2003, 20(7/8): 491 – 515.

[2] Ehimen E A, Sun Z F, Carrington C G. Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids[J]. *Fuel*, 2010, 89(3): 677 – 684.

[3] Zepka L Q, Jacob – Lopes E, Goldbeck R, et al. Production and biochemical profile of the microalgae *Aphanthece microscopica* Nägeli submitted to different drying conditions[J]. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2008, 47(8): 1305 – 1310.

[4] Prakash J, Pushparaj B, Carlozzi P, et al. Microalgal biomass drying by a simple solar device[J]. *International journal of solar energy*, 1997, 18(4): 303 – 311.

[5] Leach G, Oliveira G, Morais R. Spray – drying of *Dunaliella salina* to produce a β – carotene rich powder[J]. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 1998, 20(2): 82 – 85.

[6] Zheng H, Yin J, Gao Z, et al. Disruption of *Chlorella vulgaris* cells for the release of biodiesel – producing lipids: a comparison of grinding, ultrasonication, bead milling, enzymatic lysis, and microwaves [J]. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2011, 164(7): 1215 – 1224.

[7] 史纯珍, 张红漫, 黄 和, 等. 米根霉胞内氨基酸的高效液相色谱测定及其代谢途径分析[J]. *分析化学*, 2012, 40(4): 574 – 578.

[8] Morris D L. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood’s anthrone reagent [J]. *Science*, 1948, 107(2775): 254 – 255.

[9] Wellburn A R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1994, 144(3): 307 – 313.

[10] Li X D, Coles B J, Ramsey M H, et al. Sequential extraction of soils for multielement analysis by ICP – AES [J]. *Chemical Geology*, 1995, 124(1/2): 109 – 123.

[11] Morist A, Montesinos J, Cusido J, et al. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food [J]. *Process Biochemistry*, 2001, 37(5): 535 – 547.

[12] Esquivel B C, Lobina D V, Sandoval F C. The biochemical composition of two diatoms after different preservation techniques[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1993, 105(2): 369 – 373.

[13] Stansell G R, Gray V M, Sym S D. Microalgal fatty acid composition: implications for biodiesel quality[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2012, 24(4): 791 – 801.

[14] Chan J C C, Cheung P C K, Ang P O Jr. Comparative studies on the effect of three drying methods on the nutritional composition of seaweed *Sargassum hemiphyllum* (Turn.) C. Ag. [J] *Journal of agricultural and food chemistry*, 1997, 45(8): 3056 – 3059.

[15] 赵群金, 徐桂端, 颜承农, 等. 生物热分析研究: 1. 四种天然氨基酸热分解机理[J]. *氨基酸和生物资源*, 1997, 19(4): 5 – 9.

[16] 方华春, 庞 式. 不同干燥温度对烘青绿茶氨基酸含量的影响初探[J]. *广东茶业*, 1996(2): 17 – 18.

[17] Cosgrove F P, Guth E P. Carbohydrate and chlorophyll content of leaves of *Digitalis purpurea* L. and *Digitalis lutea* L. after freeze – drying and oven – drying[J]. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 1954, 43(5): 268 – 269.

[18] Maunders M J, Brown S B. The effect of light on chlorophyll loss in senescing leaves of sycamore (*Acer pseudoplatanus* L.) [J]. *Planta*, 1983, 158(4): 309 – 311.

[19] Arslan D, Özcan M M. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves[J]. *Energy Conversion and Management*, 2008, 49(5): 1258 – 1264.

[20] National algal biofuels technology roadmap [M]. Washington: US Department of Energy, 2010.