



三峡生态环境监测

Ecology and Environmental Monitoring of Three Gorges

ISSN 2096-2347, CN 50-1214/X

《三峡生态环境监测》网络首发论文

题目: LED 补光对蛋白核小球藻生长和脱氮除磷的影响
作者: 甘钰华, 魏群, 马湘蒙, 杨尚茹, 毛瑞
收稿日期: 2021-05-13
网络首发日期: 2021-05-18
引用格式: 甘钰华, 魏群, 马湘蒙, 杨尚茹, 毛瑞. LED 补光对蛋白核小球藻生长和脱氮除磷的影响. 三峡生态环境监测.
<https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1214.X.20210518.1240.002.html>



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。

研究论文：

DOI:

LED 补光对蛋白核小球藻生长和脱氮除磷的影响¹

甘钰华，魏群*，马湘蒙，杨尚茹，毛瑞

(广西大学 资源环境与材料学院，广西 南宁 530004)

摘要：为探究发光二极管(light emitting diode, LED)补光对蛋白核小球藻生长和脱氮除磷的影响，设置了在白光基础上补充红光(WR)、蓝光(WB)、绿光(WG)三个实验组和白光(W)对照组，研究了不同补光下蛋白核小球藻的生长情况和脱氮除磷效果。结果表明：补充蓝光最适合蛋白核小球藻生长，蛋白核小球藻的比生长速率(μ)和生物量产率(P)最高，分别为0.12/d和0.096 mg/(L·d)；补充绿光有利于提高蛋白核小球藻的脂质产量，脂质产量27.67%；补充红光、蓝光、绿光均能提高蛋白核小球藻除磷效果，补充蓝光的总磷(total phosphorus, TP)去除率最高，达到90.80%。因此，实验结果表明在白光的基础上补充特定波长的光不仅可以促进蛋白核小球藻的快速生长，也能增强除磷的效果，为蛋白核小球藻应用于污水深度处理提供了理论依据。

关键词：LED；补光；蛋白核小球藻；生长；氮；磷

中图分类号：X703 **文献标志码：**A

Effect of Different Light Spectra on the Growth, Nitrogen and Phosphorus Removal of *Chlorella pyrenoidosa*

GAN Yuhua, WEI Qun*, MA Xiangmeng, YANG Shangru, MAO Rui,

(School of Resources, Environment and Materials, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The effect of light-emitting diode (LED) light spectra on the growth, nitrogen and phosphorus removal of *Chlorella pyrenoidosa* were studied with three designed experimental groups of white-red light (WR), white-blue light (WB), white-green light (WG) and a white light (W) as control group. Results showed that the blue light supplementation was most suitable for the growth of *Chlorella pyrenoidosa*, and the specific growth rate and biomass yield of *Chlorella pyrenoidosa* were the highest under blue light supplementation with 0.12 d⁻¹ and 0.096 mg·L⁻¹·d⁻¹, respectively. Supplementing green light was beneficial to increase the lipid production of *Chlorella pyrenoidosa* with lipid yield is 27.67%. Interestingly, supplementing red light, blue light, and green light all improved the phosphorus removal by *Chlorella pyrenoidosa*, and the blue light supplement had the highest TP removal rate, reaching 90.80%. Therefore, supplementing specific wavelengths of light demonstrated

收稿日期：2021-05-13

基金项目：广西重点研发计划（桂科 AB1850006）。

作者简介：甘钰华(1996—)，女，硕士研究生，主要从事水污染控制研究。E-mail: 1415339846@qq.com

*通信作者：魏群(1971—)，男，湖南隆回，博士，教授，主要从事水污染研究。E-mail: hustweiqun@163.com

different effect of growth, phosphorus removal by *Chlorella pyrenoidosa*, which provided fundamental information for the utilization of *Chlorella pyrenoidosa* in wastewater treatment process.

Key words: LED; fill light; *Chlorella pyrenoidosa*; grow; nitrogen; phosphorus

微藻常应用于废水处理及动物饲料、化工原料和生物燃料的生产,微藻的培养受到光照、温度、溶解氧、pH值、营养物质等参数的影响^[1],其中光照是影响微藻光合作用的重要因素之一^[2-3]。光强度和光波长是光照的两个重要参数,对微藻生长具有重要的调控作用^[4]。光强度过高会导致光氧化和光抑制,而光强度过低会由于光限制导致微藻生长速率下降^[5]。特定波长会影响微藻的生长和细胞生理指标^[6-7],由于不同的微藻细胞代谢途径、光合色素积累和光受体的差异,最佳光波长因微藻的种类而异^[8]。Wang等^[9]研究发现*Spirulina platensis*在红光照明下的生物量积累速率要高于蓝光和白光;Shu等^[10]研究表明*Chlorella sp.*在蓝光照明下的脂质含量比红光高;Blair等^[11]采用蓝光照明培养*Chlorella vulgaris*,与红光和白光相比,蓝光的生物量有所增加。综上所述,光波长在微藻的生长过程中起着重要的作用。

目前微藻的补光研究基本上都是集中于补充光强、延长光周期或组合光对微藻生长的影响^[12-16],而针对白光条件下补充某特定光波长对微藻生长影响和脱氮除磷效果的研究甚少。因此,在白光照明的基础上补充不同光波长,研究在补光条件下微藻生长情况以及氮磷去除效果,为微藻在污水深度处理中的应用提供理论基础。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

- 1) 藻种: 蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*), 购自中国科学院武汉水生生物所。
- 2) 补光光源: 耐特辉 LED (长 330 mm、宽 22 mm、高 34 mm), 功率为 4 W。补充光源的三种 LED 分别为蓝光 B (390-455 nm)、绿光 G (492-580 nm) 和红光 R (622-760 nm); 白光 W (400-700 nm) 作为对照。三个实验组为 WR、WB、WG, 对照组为 W, 实验通过调整红蓝绿 LED 灯的距离将光强度控制在 6000 lux。
- 3) 模拟生活污水: 模拟生活污水的配方^[17]见表 1。

表 1 模拟生活污水配方

Table 1 The formula of simulated domestic wastewater

序号	组分	浓度/(mg·L ⁻¹)	序号	组分	浓度/(mg·L ⁻¹)
1	葡萄糖	169	6	蛋白胨	169
2	CaCl ₂ ·2H ₂ O	31	7	MgSO ₄ ·7H ₂ O	94
3	NaHCO ₃	94	8	NaCl	63
4	(NH ₄) ₂ SO ₄	63	9	FeSO ₄ ·2H ₂ O	2.2
5	KH ₂ PO ₄	44			

1.2 实验设计

1.2.1 微藻扩培

记号笔、量筒、酒精灯、玻璃棒等物品与高压灭菌冷却后的 BG-11 培养基^[18]一同置于超净工作台中紫外灭菌 30 min，然后按藻液与培养基 1:10 比例接种，用牛皮纸密封锥形瓶口并摇匀。在 (25±1) °C、光强 6000 lux 连续光照下培养，每天定时摇瓶 3 次。

1.2.2 LED 补光对蛋白核小球藻生长和脱氮除磷的影响实验

藻液取样放入离心管，将样品放入离心机，以 4000 r/min 离心 10 min，去除上清液并用纯水洗涤，以上步骤重复 3 次（防止培养基中的氮磷元素以及微藻代谢物对新的实验产生干扰），获得的蛋白核小球藻备用；将蛋白核小球藻和配制好的模拟生活污水混合在 1 L 锥形瓶中，藻液体积为 800 mL，初始 OD680 为 0.20，初始 pH 值为 7.0±0.1。用气泵以 1vvm 的速度供应二氧化碳用于微藻生长。在(25±1)°C和 6000 lux 条件下进行 4 d 的实验，测定光密度（OD680）、光合色素和脂质含量、总氮(total nitrogen, TN)和总磷(total phosphorus, TP)等指标。每组实验设置三个平行样。

1.3 指标检测方法

1) OD680：分光光度法^[19]。

2) 光合色素：采用 Jeffery 和 Humphrey^[20]的改良方法进行测量。取 5 mL 藻液到离心管中，以 4000 r/min 离心 10 min 后倒掉上清液。往离心管中加入 5 mL90%丙酮对色素进行提取，超声破碎 10 min。剧烈涡旋 2 min 混匀，在 4°C 的黑暗环境中反应 2 h 后以 4000 r/min 离心 10 min，在 450、630、664、647、750 nm 处，以 90%丙酮作为空白参比，测量上清液的吸光度。

叶绿素 a(Chlorophyll a, Chl a)、叶绿素 b(Chlorophyll b, Chl b)的浓度根据式（1）和（2）计算：

$$\text{Chlorophyll a} = 11.85(A_{664} - A_{750}) - 1.54(A_{647} - A_{750}) - 0.08(A_{630} - A_{750}) \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll b} = 21.03(A_{647} - A_{750}) - 5.43(A_{664} - A_{750}) - 2.66(A_{630} - A_{750}) \quad (2)$$

按 Jensen^[21] 公式（3）计算类胡萝卜素（Car）的含量（mg/L）：

$$Car = 4450 \times 10000 / 2500 \quad (3)$$

3) 脂质含量: 采用氯仿甲醇共溶剂提取法^[22]。取20 mL藻液于离心管中, 以8000 r/min离心10 min后倒掉上清液。往离心管中加入15 mL氯仿/甲醇(2:1)溶液和150 μ L的1 mol/L HCl溶液, 将离心管横置于摇床上震荡3 h后加入5 mL的0.9% NaCl溶液, 涡旋2 min混匀后以8000 r/min离心10 min。用无菌注射器将离心分层的有机相抽取至已称重的锡纸盘内, 随后将锡纸盘置于通风橱的电热板中80 $^{\circ}$ C干燥至恒重^[23], 按照式(4)计算。

$$W_{lipid} = \frac{L_i}{DW_i} \times 100\% \quad (4)$$

式中: W_{lipid} 为微藻脂质含量, %; L_i 和 DW_i 分别为第 i 天的微藻脂质产量和细胞干重。

4) TN: 过硫酸钾氧化-紫外分光光度法。

5) TP: 钼酸铵分光光度法。

1.4 数据处理

1) 氮和磷去除率 R

$$R = \frac{C_0 - C_i}{C_i} \times 100\% \quad (5)$$

式中: R 为氮和磷去除率, %; C_i 和 C_0 分别为第 i 天和初始的氮磷浓度, mg/L。

2) 微藻的比生长率 μ

$$\mu = \frac{\ln X_i - \ln X_0}{T_i - T_0} \quad (6)$$

式中: μ 为比生长速率, d^{-1} ; X_i 和 X_0 分别为 T_i 和 T_0 天的微藻浓度, g/L。

3) 微藻生物量产率 P

$$P = \frac{X_i - X_0}{T_i - T_0} \quad (7)$$

式中: P 为生物量产率, g/(L·d); X_i 和 X_0 分别为 T_i 和 T_0 天的微藻浓度, g/L。

2 结果与讨论

2.1 数据处理

2.1.1 OD680、比生长速率 μ 和生物量产率 P

不同补光条件下蛋白核小球藻的生长情况如图1所示。从图1可知, 实验组和对照组的微藻在实验前2天内迅速生长繁殖, 而后生长趋于平缓。实验结束后WR、WB、WG实验组和W对照组的OD680分别为1.908、2.032、1.923、1.459。因此, 相比于对照组, 补充红光、蓝光和绿光均可刺激蛋白核小球藻生长, 但是微藻的生长情况因光波长的变化而不同, 与Tugce^[24]、Gordon^[25]的研究结论一致。

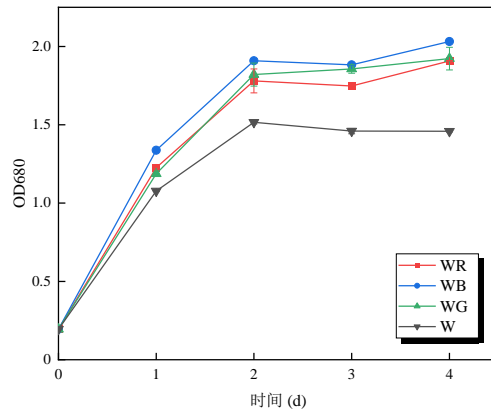


图1 不同补光下蛋白核小球藻的OD680随时间的变化

Fig.1 *Chlorella pyrenoidosa* OD680 changes with different supplementary light over time

不同补光下蛋白核小球藻的比生长速率和生物量产率变化情况,如图2所示。由图2可知, WB实验组的比生长速率和生物量产率均为最高,分别为0.12 /d、0.096 g/(L·d); WR实验组次之,比生长速率和生物量产率分别为0.10/ d、0.084 g/(L·d); WG实验组最低,比生长速率和生物量产率分别为0.06 /d、0.051 g/(L·d)。但是WR、WB、WG实验组的比生长速率和生物量产率均比W对照组高。因此,补充蓝光、红光和绿光均可以提高蛋白核小球藻的生长速率和生物量产率。

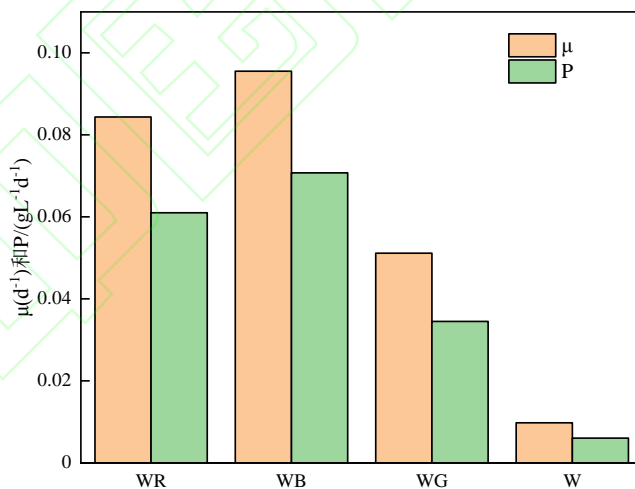


图2 不同补光下蛋白核小球藻的比生长速率和生物量产率

Fig.2 Specific growth rate (μ) and biomass productivity (P) of *Chlorella pyrenoidosa* under different supplementary light

2.1.2 光合色素

不同补光下蛋白核小球藻的光合色素含量情况如图3所示。由图3可知,实验组的微藻光合色素含量为: WG>WR>WB>W。实验结束时, WG实验组蛋白核小球藻的光合色素含量明

显高于其它实验组。实验4 d后的Chl a、Chl b和Car含量分别达到了10.61、3.52、4.52 mg/L；WR实验组的Chl a、Chl b和Car含量分别达到了8.21、2.57、3.58 mg·L⁻¹；WB实验组的Chl a、Chl b和Car含量分别达到了6.98、2.38、3.44 mg/L。相比之下，W对照组的光合色素含量最低，Chl a、Chl b和Car含量分别为5.23、1.56、2.57 mg/L。综上所述，蛋白核小球藻在绿光胁迫条件下，通过调整其光系统复合体中捕获光子的“触角”来响应环境的变化^[26]，合成更多主要吸收红蓝光波长的Chl a和Chl b，微藻浓度和光合色素含量之间却无线性关系^[27]，因此，尽管在WB的光照条件下蛋白核小球藻的生物量产率和比生长速率最高，但却不是诱导色素合成的最有效光照组合。

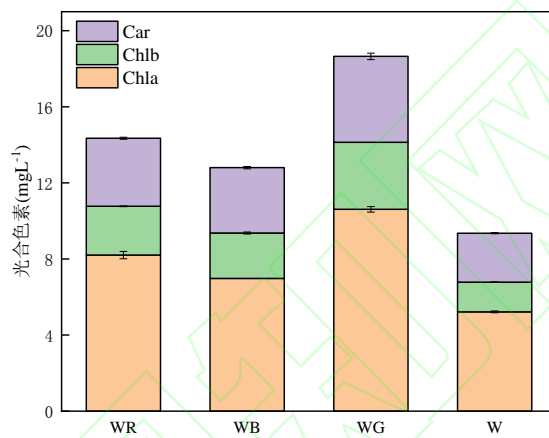


图 3 不同补光下蛋白核小球藻的光合色素含量

Fig.3 Photosynthetic pigments content of *Chlorella pyrenoidosa* in different supplementary light

2.1.3 脂质含量

不同补光下蛋白核小球藻的脂质含量随时间的变化如图4所示。由图4可知，WR实验组生长2 d后的蛋白核小球藻脂质含量由初始值20.16%降到15.24%，而后回升，第4 d蛋白核小球藻的脂质含量达到干重的24.01%。高脂质含量通常伴随着较低的生长速率与高脂质产量^[28]，WR实验组蛋白核小球藻在前2 d迅速生长繁殖，第3、4 d微藻生长速率有所减缓，因此WR实验组短期内（前2 d）蛋白小球藻脂质含量较低，而在第4 d蛋白核小球藻的脂质含量回升到了24.01%。与WR实验组相反的是，WB实验组的蛋白核小球藻生长2 d后的脂质含量由初始值20.16%增加到22.6%，而到第4 d又降低到17.70%，可能是由于长时间的应激不利于脂质含量的积累^[29]。

补充绿光可以刺激蛋白核小球藻脂质积累，实验结束时WG实验组的微藻脂质含量最高，达到27.67%，表明较高的脂质产量需要一定的压力胁迫，绿光可能触发了微藻中的与脂质相关的代谢反应使其得到较高的脂质产量，例如蛋白质和DNA等细胞内化合物的降解以及脂质和碳水化合物等能量丰富的化合物的积累^[30]。

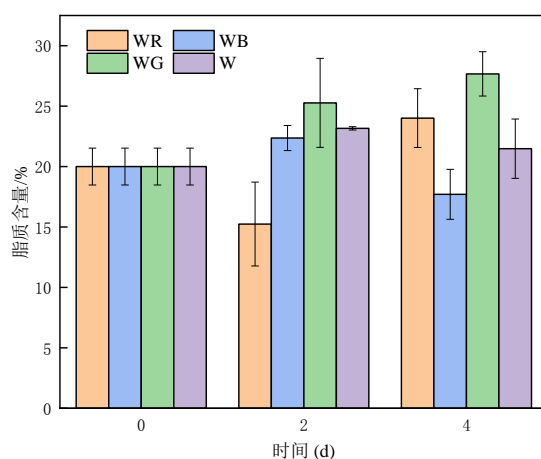


图 4 不同补光下蛋白核小球藻脂质含量随时间的变化

Fig.4 Changes of lipid content of *Chlorella pyrenoidosa* with different supplementary light over time

2.2 补光对蛋白核小球藻脱氮除磷的影响

2.2.1 TN

不同补光下蛋白核小球藻的TN浓度随时间变化情况如图5所示。由图5可知，在WR、WB、WG实验组和W对照组中，TN由初始平均浓度58.61 mg/L分别降至5.32、7.57、9.28和3.66 mg/L，去除率分别为90.92%、87.08%、84.17%和93.75%。实验发现WR实验组的微藻在前2 d的TN去除效果比其它实验组差，由于氮的消耗速率是影响微藻脂质产量的关键因素^[31]，这可能是WR实验组前2 d脂质含量较低的原因（图4）。

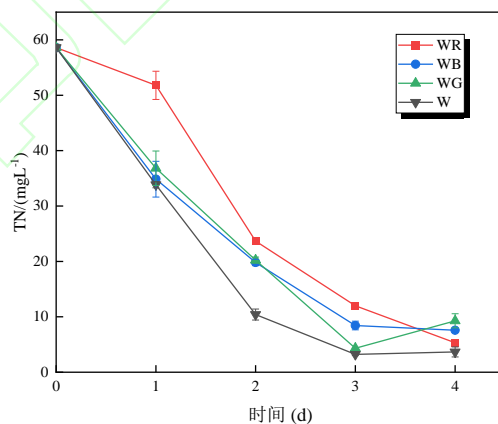


图 5 不同补光下 TN 浓度随时间的变化

Fig.5 Changes of TN concentration with different supplementary light over time

2.2.2 TP

不同补光下蛋白核小球藻的TP浓度随时间的变化情况如图6所示。由图6可知，WR、WB和WG实验组的TP浓度由初始值10 mg/L分别降至1.06、0.96和1.08 mg/L，而W对照组TP浓度

仅降到2.72 mg/L。WR、WB和WG实验组的TP去除率分别达到了89.43%、90.39%和89.15%，而W对照组的TP去除率为72.79%。表明补充红光、蓝光和绿光均能提高蛋白核小球藻的磷去除率。另外，WB实验组磷的去除率最高，这是由于蓝光促进了微藻光合作用中酶的活性和能量传递等活动^[32]，从而提升微藻的生长速度。结合图2可知，WB实验组的蛋白核小球藻的比生长速率和生物量产率最大，所以WB实验组磷的去除率高于WR和WG实验组。

从图6可知，前2 d的TP去除速率较大，这是因为高浓度磷促进蛋白核小球藻的短时间吸附和吸收，使其具有更高的磷吸收速率^[33]。此外，相比于碳源和氮源，微藻细胞对磷源的需求量不大，微藻细胞对于磷吸附去除在于过量吸附，微藻细胞处理富含磷污水后，细胞中的“磷库”储存充足并达到磷吸附饱和状态，因此蛋白核小球藻处理污水的第2-3 d内磷浓度变化不大。微藻消耗细胞中储存的“磷库”进行细胞增殖后继续吸附磷，从而降低污水中的磷浓度。

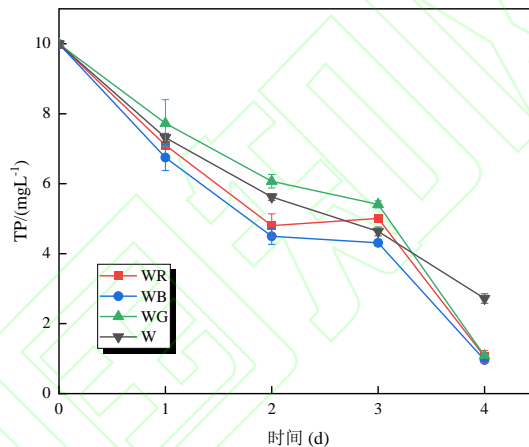


图 6 不同补光下 TP 浓度随时间的变化

Fig.6 Changes of TP concentration with different supplementary light over time

3 结论

- 1) 补充蓝光有利于蛋白核小球藻的生长，提高微藻生物量产率。WB实验组的比生长速率 μ 和生物量产率P为0.12/d和0.096 g/(L·d)。
- 2) 补充绿光有利于蛋白核小球藻脂质积累。WG实验组蛋白核小球藻处理污水4 d后的脂质含量从初始时的19.84%提高到27.67%。
- 3) 补光能提高蛋白核小球藻除磷效果。在WR、WB和WG光照条件下的磷去除率均比W对照组高；WB光照的TP去除率最好，达到90.8%。

参考文献

- [1] SINGH N K, DHAR D W. Microalgae as second generation biofuel. A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2011, 31(4): 605-629.
- [2] VADIVELLOO A, MOHEIMANI N R, COSGROVE J J, et al. Effect of different light spectra on the growth and productivity of acclimated *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae)[J]. Algal Research, 2015, 8: 121-127.
- [3] PULZ O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 57(3): 287-293.
- [4] MOHSENPOUR S F, RICHARDS B, WILLOUGHBY N. Spectral conversion of light for enhanced microalgae growth rates and photosynthetic pigment production[J]. Bioresource Technology, 2012, 125: 75-81.
- [5] ZHAO Y J, WANG J, ZHANG H, et al. Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process[J]. Bioresource Technology, 2013, 136: 461-468.
- [6] KIM D G, LEE C, PARK S M, et al. Manipulation of light wavelength at appropriate growth stage to enhance biomass productivity and fatty acid methyl ester yield using *Chlorella vulgaris*[J]. Bioresource Technology, 2014, 159: 240-248.
- [7] UENO Y, AIKAWA S, KONDO A, et al. Adaptation of light-harvesting functions of unicellular green algae to different light qualities[J]. Photosynthesis Research, 2019, 139(1/2/3): 145-154.
- [8] JUNEJA A, CEBALLOS R, MURTHY G. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review[J]. Energies, 2013, 6(9): 4607-4638.
- [9] WANG C Y, FU C C, LIU Y C. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, 37(1): 21-25.
- [10] SHU C H, TSAI C C, LIAO W H, et al. Effects of light quality on the accumulation of oil in a mixed culture of *Chlorella* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2012, 87(5): 601-607.
- [11] BLAIR M F, KOKABIAN B, GUDE V G. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2014, 2(1): 665-674.
- [12] WHITTON R, OMETTO F, VILLA R, et al. Influence of light regime on the performance of an immobilised microalgae reactor for wastewater nutrient removal[J]. Algal Research, 2019, 44: 101648.
- [13] 李元翔. 杜氏盐藻类胡萝卜素代谢对光强和光质变化的响应机制[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2019.

- LI Y X. The response mechanism of carotenoid biosynthesis pathway under different intensities and wavelengths of light in *dunaliella Salina*[D]. Qingdao: University of Chinese Academy of Sciences (Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences), 2019. (in Chinese)
- [14] 罗彦章. 气液比与光强对小球藻净化沼气及去除沼液污染物效果的影响[J]. 环境工程, 2018, 36(5): 121-127.
- LUO Y Z. Effect of influent gas-liquid ratio on integral biogas upgrading and pollutant removal from anaerobic effluents by microalga *chlorella* sp. under various light intensities[J]. Environmental Engineering, 2018, 36(5): 121-127.(in Chinese)
- [15] 蔡学花. 杜氏盐藻 *Dunaliella salina* 对不同浓度 CO₂ 与光质的代谢响应[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2018.
- CAI X H. The metabolic response in *Dunaliella Salina* to different concentration of CO₂ and light quality[D]. Qingdao: University of Chinese Academy of Sciences (Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences), 2018. (in Chinese)
- [16] HWANG J H, MAIER N. Effects of LED-controlled spatially-averaged light intensity and wavelength on *Neochloris oleoabundans* growth and lipid composition[J]. Algal Research, 2019, 41: 101573.
- [17] 肖琳. 环境微生物实验技术[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004.
- XIAO L. Environmental microorganism experiment technology [M]. Beijing: China Environment Science Press, 2004.(in Chinese)
- [18] ROCHET M, LEGENDRE L, DEMERS S. Photosynthetic and pigment responses of sea-ice microalgae to changes in light intensity and quality[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1986, 101(3): 211-226.
- [19] 沈萍萍, 王朝晖, 齐雨藻, 等. 光密度法测定微藻生物量[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2001, 22(3): 115-119.
- SHEN P P, WANG Z H, QI Y Z, et al. An optical density method for determination of microalgal biomass[J]. Journal of Jinan University (Natural Science & Medicine Edition), 2001, 22(3): 115-119.(in Chinese)
- [20] CHEIRSILP B, TORPEE S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation[J]. Bioresource Technology, 2012, 110: 510-516.
- [21] JENSEN A. Handbook of phycological methods[M]. London: Cambridge University Press, 1978.
- [22] FOLCH J, LEES M, STANLEY G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [23] 韩松芳. 城市污水中斜生栅藻产脂促进条件及作用机制研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.

- HAN S F. Conditions and mechanism of enhanced lipid production of *scenedesmus obliquus* cultivated in municipal wastewater[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2018. (in Chinese)
- [24] MUTAF T, OZ Y, KOSE A, et al. The effect of medium and light wavelength towards *Stichococcus bacillaris* fatty acid production and composition[J]. Bioresource Technology, 2019, 289: 121732.[LinkOut]
- [25] GORDON J M, POLLE J E W. Ultrahigh bioproductivity from algae[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(5): 969-975.
- [26] UENO Y, AIKAWA S, KONDO A, et al. Adaptation of light-harvesting functions of unicellular green algae to different light qualities[J]. Photosynthesis Research, 2019, 139(1/2/3): 145-154.
- [27] SÁNCHEZ MIRÓN A, CERÓN GARCÍA M C, GARCÍA CAMACHO F, et al. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: Studies in fed-batch culture[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31(7): 1015-1023.
- [28] HUERLIMANN R, DE NYS R, HEIMANN K. Growth, lipid content, productivity, and fatty acid composition of tropical microalgae for scale-up production[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2010, 107(2): 245-257.
- [29] MICHAEL C, DEL NINNO M, GROSS M, et al. Use of wavelength-selective optical light filters for enhanced microalgal growth in different algal cultivation systems[J]. Bioresource Technology, 2015, 179: 473-482.
- [30] JUNG J H, SIRISUK P, RA C H, et al. Effects of green LED light and three stresses on biomass and lipid accumulation with two-phase culture of microalgae[J]. Process Biochemistry, 2019, 77: 93-99.
- [31] WIDJAJA A, CHIEN C C, JU Y H. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2009, 40(1): 13-20.
- [32] KIM D G, LEE C, PARK S M, et al. Manipulation of light wavelength at appropriate growth stage to enhance biomass productivity and fatty acid methyl ester yield using *Chlorella vulgaris*[J]. Bioresource Technology, 2014, 159: 240-248.
- [33] 周军, 魏群, 李晓伟, 等. 藻类膜对磷的吸附/吸收行为研究[J]. 环境工程学报, 2016, 10(3): 1133-1137.
ZHOU J, WEI Q, LI X W, et al. Study on adsorption / absorption of phosphorous by algal biofilm[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(3): 1133-1137.(in Chinese)