

LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 生长及产油特性的影响

李鑫,胡洪营*,杨佳

(清华大学环境科学与工程系,环境模拟与污染控制国家重点联合实验室,北京 100084)

摘要:基于藻细胞叶绿素主要吸收可见光中的红光及蓝光用于光合作用,研究了 LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 生长及产油特性的影响.在 1 400 lx 的同等光照强度下,以红光、蓝光和红蓝光为光源时,栅藻 LX1 的比生长速率分别比白光高出 15.8%、13.2% 和 18.4%,藻细胞密度和种群生物量增长速率也明显大于白光;其中,以红蓝光为光源,栅藻 LX1 生长最快.培养至第 4.5 d 时,栅藻 LX1 的藻细胞密度和种群生物量增长速率最高可分别达到白光的 2.7 倍和 3 倍.表明 LED 红光/蓝光的光能效率更高,对栅藻 LX1 的生长具有明显促进作用.以白光、红光、蓝光、红蓝光为光源时,培养 17 d 栅藻 LX1 的油脂总产量分别为 0.27、0.34、0.31 和 0.28 g · L⁻¹,油脂含量分别为 43.3%、39.5%、36.3% 和 30.1%.可见,以 LED 红光/蓝光为光源,栅藻 LX1 生长得到促进的同时单位藻细胞油脂含量略有下降,但油脂总产量仍相对较高.

关键词:栅藻;LED 光源;红光;蓝光;生长特性;油脂

中图分类号:X173 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)02-0513-07

Effect of LED 's Red/Blue Light on the Growth Characteristic and Lipid Production of *Scenedesmus* sp. LX1

LI Xin, HU Hong-ying, YANG Jia

(State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract:Based on the theory that algal chlorophyll mainly absorbs red and blue light in the visual light, the effect of LED 's red/blue light on the growth characteristic and lipid production of *Scenedesmus* sp. LX1 was studied. Under the same light intensity about 1 400 lx, the specific growth rate of *Scenedesmus* sp. LX1 with LED (light emitting diode) 's red, blue and red-blue light are higher than that with normal white light by 15.8%, 13.2% and 18.4%, respectively. The algal density and population growth rate are also obviously higher than the ones with white light; among the three kinds of LED red/blue light, *Scenedesmus* sp. LX1 grows the fastest with red-blue light. On day 4.5 of cultivation, the algal density and population growth rate with LED 's red-blue light is as highest as 2.7 and 3 times as that with white light, indicating the higher utilization efficiency of LED 's red/blue light and the enhancing effect on *Scenedesmus* sp. LX1 's growth. With white light, LED 's red, blue and red-blue light, the total lipid productivity of *Scenedesmus* sp. LX1 after 17 d of cultivation is 0.27 g · L⁻¹, 0.34 g · L⁻¹, 0.31 g · L⁻¹ and 0.28 g · L⁻¹, respectively; and the lipid content (dry weight) is 43.3%, 39.5%, 36.3% and 30.1%, respectively. Thus, with LED 's red/blue light, the lipid content of *Scenedesmus* sp. LX1 is a little lower while the growth is enhanced; however, the total lipid productivity is still relatively higher than that with white light.

Key words: *Scenedesmus*; LED light; red light; blue light; growth characteristic; lipid

水资源危机和化石能源危机^[1,2]是 21 世纪人类面临的两大主要难题,同时化石能源的燃烧也加剧了温室气体 CO₂ 的排放^[3]. 微藻培养技术的出现,不仅可以为生产生物柴油提供大量的高质量原料^[4-7],也可以在生长过程中吸收固定 CO₂^[8],并作为污水处理厂的三级处理单元进一步降低二级出水中的氮磷水平,深度净化污水^[9-14]. 因此,近年来微藻培养技术受到了越来越多学者的关注^[15-18],基于微藻培养系统的水质深度净化与高价值物质生产耦合技术发展潜力巨大^[19].

根据 2003 年的统计数据,生物柴油和普通柴油的成本分别为 0.5 美元/L 和 0.35 美元/L^[20],可见生物柴油的高成本是制约其推广应用的主要因素.

生物柴油的原材料成本占生物柴油总成本的 70% 以上^[5],因此提高微藻培养过程中的光合作用效率^[17]和光能利用效率^[18],降低微藻培养成本^[4]对于微藻技术的推广应用具有重要意义.藻细胞叶绿素主要吸收自然光中的红光和蓝光用于光合作用^[21],所以利用发光二极管(light emitting diode, LED)提供红光和蓝光,可以提高光能利用效率^[22],促进藻细胞快速生长.作者在前期研究中分离得到

收稿日期:2009-03-31;修订日期:2009-05-20

基金项目:国家杰出青年科学基金项目(50825801);“十一五”国家科技支撑计划项目(2007BAC22B02);清华大学-Sony 公司合作研究项目(2008)

作者简介:李鑫(1983~),男,博士研究生,主要研究方向为环境生物技术,E-mail:l-x02@mails.tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人,E-mail:thyhu@tsinghua.edu.cn

了 1 株氮磷去除能力良好、油脂含量较高的栅藻 LX1,本研究分析了 LED 红光/蓝光对该藻生长及产油特性的影响,并通过 Logistic 模型对生长促进作用进行了量化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 自配水培养基

自配水培养基,采用稀释 50% 的 BG11 培养基,成分组成为: NaNO_3 $750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $37.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 柠檬酸 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 柠檬酸铁铵 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, EDTA(乙二胺四乙酸) $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Na_2CO_3 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{A}_5 + \text{Co}$ 溶液 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{A}_5 + \text{Co}$ 溶液的组成为: H_3BO_3 $2.86 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $1.81 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $222 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $79 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $390 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $49 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.1.2 试验光源

白光,采用普通 15 W 白炽灯。

红光/蓝光,采用日本 LED 植物研究照明灯,型号 ISL-150 × 150-RB。红光发射波长 660 nm,蓝光发射波长 470 nm。

1.1.3 藻种

栅藻 LX1^[13](*Scenedesmus* sp. LX1),由饮水机中分离获得。藻种保存于稀释 50% 的 BG11 培养基中。

1.2 试验与分析方法

1.2.1 藻细胞培养

向 250 mL 锥形瓶中加入 100 mL 自配水培养基,高温高压灭菌(121°C , 30 min),取 1 mL 藻种液接种至上述培养基中,放入自制光照培养箱中培养。培养条件:光照强度约 1 400 lx,光暗比 14:10,温度 25°C 。

试验共分为 4 组:W 组(对照组),提供普通白光;R 组,提供 LED 红光(660 nm);B 组,提供 LED 蓝光(470 nm);RB 组,同时提供 LED 红光及蓝光,其中红光和蓝光的光强各占总光强的 50%。

1.2.2 藻细胞计数

每天测定藻细胞培养液在 650 nm 下的吸光度值 D_{650} 。根据前期研究结果,藻细胞密度 N (个 $\cdot \text{mL}^{-1}$)与 D_{650} 的关系为:

$$N = 9.52 \times 10^6 D_{650} + 70\,957, R = 0.997(1)$$

1.2.3 叶绿素 a 吸收光谱测定

采用文献[23]中提供的标准方法提取藻细胞叶绿素 a:将一定体积的藻液通过 $0.45 \mu\text{m}$ 乙酸纤维素滤膜抽滤,将滤膜在 4°C 冰箱中放置 1 夜,第 2 d 将滤膜转移至组织研磨器中,加入少量碱式碳酸镁粉末及 3 mL 90% 的丙酮,充分研磨,提取叶绿素 a。将研磨后的混合液离心($10\,000 \text{ r/min} \times 10 \text{ min}$, 4°C),提取含有叶绿素 a 的上清液。

叶绿素 a 吸收光谱的测定:以 90% 的丙酮作为参比,测定提取上清液中叶绿素 a 在 400 ~ 700 nm 之间的吸收光谱。

1.2.4 藻细胞总油脂含量测定

取一定量藻液离心浓缩至 0.8 mL,向其中加入 2 mL 甲醇和 1 mL 氯仿,充分混合 10 min。再加入 1 mL 氯仿,混合 30 s;加入 1 mL 水,混合 30 s。离心($4\,000 \text{ r/min}$, 10 min),吸取全部氯仿层(底层), 60°C 氮吹。将吹干后的离心管置于室温下干燥至恒重,称取离心管前后质量变化,即油脂重量。

2 结果与分析

2.1 LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 生长特性的影响

2.1.1 藻细胞密度

在 1 400 lx 的同等光照强度下,栅藻 LX1 在白光(W 组)、红光(R 组)、蓝光(B 组)和红蓝光(RB 组)光源照射下的生长曲线如图 1 所示。4 组试验中,藻细胞的接种密度基本一致,均为 $1.6 \times 10^5 \sim 1.7 \times 10^5$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。培养第 1 d,LED 红光/蓝光试验组中栅藻 LX1 的藻细胞密度即高于白光对照组。在整个培养过程中,R 组、B 组和 RB 组中藻细胞密度较为接近,但始终显著高于 W 组。培养至第 17 d,W 组、R 组、B 组和 RB 组中栅藻 LX1 的藻细胞密度分别为 1.2×10^7 、 1.7×10^7 、 1.6×10^7 和 1.8×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。

LED 红光/蓝光试验组与白光对照组中栅藻 LX1 的藻细胞密度之比随培养时间的变化如图 2 所示。接种初始,该比值约为 1。从培养第 1 d 开始,LED 红光/蓝光试验组与白光对照组的藻细胞密度之比即呈现逐渐增大的趋势。培养至第 4.5 d,该比值达到最大,R 组/W 组、B 组/W 组和 RB 组/W 组的最大值分别为 2.4、2.6 和 2.7。即在同等光照强度下,以红光、蓝光或红蓝光为光源,栅藻 LX1 的藻细胞密度明显高于以白光为光源时的情况,尤其是以红蓝光为光源时,藻细胞密度最大。培养第 4.5 d 之后,LED 红光/蓝光试验组与白光对照组中栅藻

LX1 的藻细胞密度之比开始逐渐下降,在培养第 17 d 时,R 组/W 组、B 组/W 组和 RB 组/W 组分别下降到 1.4、1.3 和 1.5。

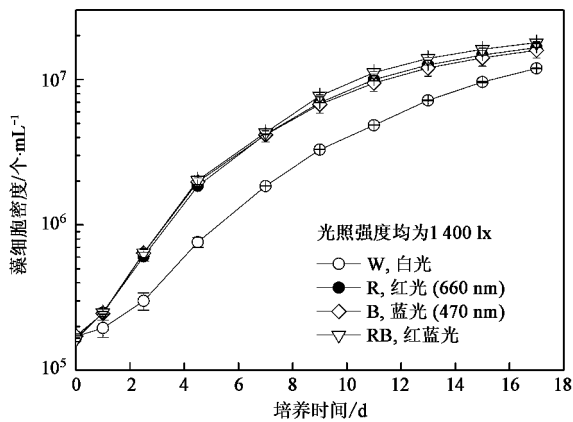


图 1 栅藻 LX1 在白光、LED 红光、蓝光及红蓝光照射下的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of *Scenedesmus* sp. LX1 under white, LED's red, blue and red-blue light

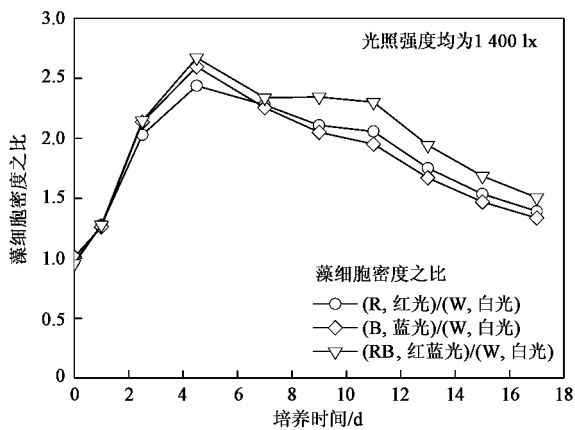


图 2 栅藻 LX1 在 LED 红光、蓝光、红蓝光与白光照射下的藻细胞密度之比随培养时间的变化

Fig. 2 Changes of the ratio of *Scenedesmus* sp. LX1's algal density under LED's red, blue, red-blue light that under white light during the cultivation process

2.1.2 生长速率

Logistic 模型是描述有限环境下种群生物量增长速率具密度制约特点的经典种群增长模型^[24]:

$$N = \frac{K}{1 + e^{-at}} \quad (2)$$

$$\frac{dN}{dt} = rN \left(\frac{K - N}{K} \right) \quad (3)$$

式中, N 为 t 时刻的种群密度(个·mL⁻¹); t 为培养时间(d); K 为种群最大密度(个·mL⁻¹); a 为常

数,表示曲线对原点的相对位置; r 为种群的比生长速率或内禀增长速率(d⁻¹),指单个个体潜在的最大增长速率; dN/dt 为种群生物量增长速率[个·(mL·d)⁻¹].

式(2)表示种群生物量随时间变化的生长曲线,具“S”型特征.式(3)表示生物量增长速率随密度变化的规律,当密度为最大密度一半时,生物量的增长速率最大,为 $R_{\max} = rK/4$ 个·(mL·d)⁻¹.

将栅藻 LX1 在不同光源照射下的生长曲线利用 Logistic 模型拟合,可分别获得栅藻 LX1 在白光、红光、蓝光和红蓝光照射下生长的 Logistic 模型参数:种群生物量增长速率(dN/dt)和比生长速率(r).

种群生物量增长速率(dN/dt)随培养时间的变化如图 3 所示.在整个培养过程中,以 LED 红光/蓝光为光源时,栅藻 LX1 的种群生物量增长速率明显大于以白光为光源的情况,且以红蓝光为光源时栅藻 LX1 的种群生物量增长速率最大,红光、蓝光次之.随着培养时间的进行,LED 红光、蓝光、红蓝光试验组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率逐渐增大,第 9 d 时达到最大值,分别为 1.8×10^6 、 1.7×10^6 和 2.0×10^6 个·(mL·d)⁻¹;第 9 d 之后均开始呈下降趋势.白光对照组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率在第 11 d 时达到最大值 [1.1×10^6 个·(mL·d)⁻¹],之后也开始呈现下降趋势.

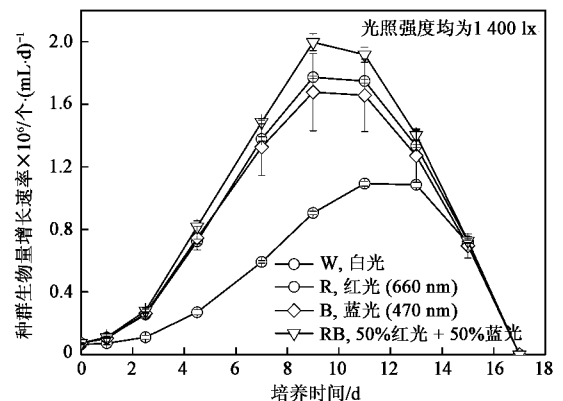


图 3 栅藻 LX1 在白光、LED 红光、蓝光及红蓝光照射下的种群生物量增长速率随培养时间的变化曲线

Fig. 3 Changes of *Scenedesmus* sp. LX1's population growth rate under white, LED's red, blue and red-blue light during cultivation process

LED 红光/蓝光试验组与白光对照组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率之比随培养时间的变化情况如图 4 所示.接种初始,该比值约为 1.1.随着

培养过程的进行,LED 红光/蓝光试验组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率开始明显大于白光对照组,且差距逐渐增加,培养至第 4.5 d,该比值达到最大,R 组/W 组、B 组/W 组和 RB 组/W 组的最大值分别为 2.7、2.8 和 3.0.其中,以红蓝光为光源时栅藻 LX1 的种群生物量增长速率最大.第 4.5 d 后,与前面的结果类似,LED 红光/蓝光试验组与白光对照组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率之比开始逐渐下降,培养至第 17 d,该比值下降至约为 1.

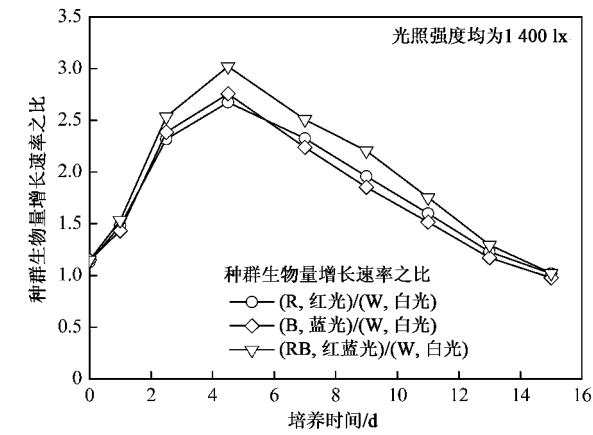


图 4 栅藻 LX1 在 LED 红光、蓝光、红蓝光与白光照射下种群生物量增长速率之比随培养时间变化曲线

Fig. 4 Changes of the ratio of *Scenedesmus* sp. LX1's population growth rate under LED's red, blue, red-blue light that under white light during cultivation process

在整个培养过程中,LED 红光/蓝光试验组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率始终大于白光对照组,表明在同等光照强度下,以 LED 红光/蓝光为光源时栅藻 LX1 对光能的利用效率高、生长速率快.

栅藻 LX1 在白光和 LED 红光/蓝光照射下的比生长速率如图 5 所示.在白光对照组中,栅藻 LX1 的比生长速率约为 0.38 d^{-1} ;在 R 组、B 组和 RB 组中,其比生长速率为 0.44 、 0.43 和 0.45 d^{-1} ,分别比对照组高出 15.8%、13.2% 和 18.4%. Logistic 模型中,比生长速率表示藻细胞在不受密度和营养元素制约时,个体潜在的最大增长速率,因此该结果表明以 LED 红光/蓝光为光源时栅藻 LX1 个体的光能利用效率高、最大生长速率快.

2.2 LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 产油特性的影响

不同光源条件下栅藻 LX1 的产油特性如图 6 所示.以白光、LED 红光、蓝光和红蓝光为光源时,培养 17 d 后栅藻 LX1 的藻细胞干重分别为 0.63、

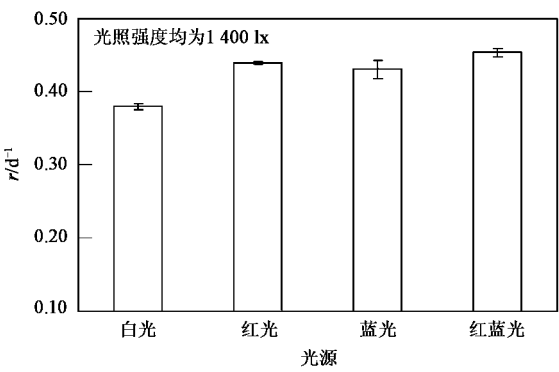


图 5 栅藻 LX1 在白光、LED 红光、蓝光及红蓝光照射下的比生长速率比较

Fig. 5 Comparison of *Scenedesmus* sp. LX1's specific growth rate under white, LED's red, blue and red-blue light

0.87 、 0.84 和 $0.94\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;油脂总产量分别为 0.27 、 0.34 、 0.31 和 $0.38\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;单位藻细胞油脂含量(质量分数)分别为 43.3%、39.5%、36.3% 和 30.1%.

以 LED 红光/蓝光为光源时,栅藻 LX1 的藻细胞干重显著高于白光对照组(分别高出 38.1%、33.3% 和 49.2%),因此虽然单位藻细胞油脂含量略低于白光,但油脂总产量仍较高.

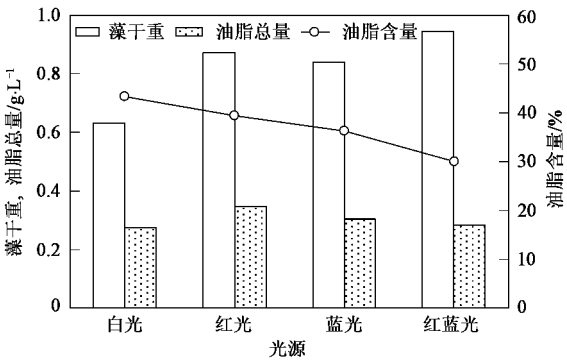


图 6 栅藻 LX1 在白光、LED 红光、蓝光及红蓝光照射下的产油特性比较

Fig. 6 Comparison of *Scenedesmus* sp. LX1's lipid production under white, LED's red, blue and red-blue light

3 讨论

3.1 LED 红光/蓝光的光能利用效率

栅藻 LX1 叶绿素 a 在 400 ~ 700 nm 之间的吸收光谱如图 7 所示.其在蓝光区 432 nm 与红光区 663 nm 处有 2 个明显的吸收峰.据文献[25]报道,一般情况下叶绿素 a 的 2 个吸收峰分别在 430 nm 和 662 nm,叶绿素 b 的 2 个吸收峰分别在 460 nm 和 645 nm.本研所得栅藻 LX1 叶绿素 a 的 2 个吸收峰与

文献报道值基本一致。

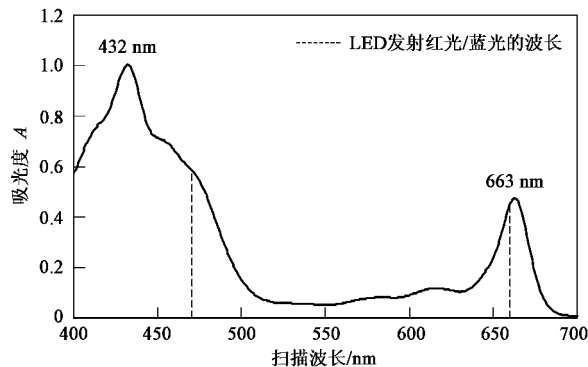


图7 栅藻 LX1 叶绿素 a 在 400 ~ 700 nm 之间的吸收光谱

Fig. 7 The absorbance spectrum of *Scenedesmus* sp. LX1's chlorophyll a in the wavelength range of 400-700 nm

作为淡水绿藻,栅藻的叶绿素 a、b 含量之比大约为 3:1^[25],因此本研究中 LED 光源发射的红光和蓝光(波长分别为 660 nm 和 470 nm,如图 6 虚线所示)可被栅藻 LX1 的叶绿素高效吸收,即 LED 红光/蓝光的光能利用效率较高。

3.2 LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 生长的促进作用

在光合作用过程中,藻细胞叶绿素 a、b 主要吸收红光区和蓝光区的光能^[21,25]。在白光照射下,大部分非红光、蓝光的光能因无法被高效吸收而损失掉。徐明芳^[22]研究指出,LED 红光和蓝光的光合成有效光量子数明显高于普通日光灯(白光)。因此,在同等光照强度下采用红光和蓝光,藻细胞叶绿素 a、b 对光能的利用效率更高。

藻细胞光合作用反应中心的天线系统单位时间内只能吸收 1 个光子^[21]。Matthijs 等^[21]认为,波长 676 nm(红光区)的光子能量是启动光合作用第 1 步反应所需的最小能量。虽然蓝光区的光子能量大于红光区,但天线系统吸收 1 个蓝光区光子后,多余能量并不能用于光合作用,而是以热或荧光的形式损失。因此,在光子数相同的条件下,红光能耗低,光合作用效果却与蓝光相同,选用红光作为光源更具吸引力。然而,适量蓝光有助于调节藻细胞生长及新陈代谢^[21]。综上,本研究定量分析了红光/蓝光对栅藻 LX1 生长的促进作用。

本研究中,LED 红光/蓝光试验组与白光对照组中培养基的氮磷浓度一致,即藻细胞生物量的最大潜力相同。培养初期,栅藻 LX1 生长不受氮磷浓度的限制,光源是制约其生长快慢的关键因素。如前所述,相同光照强度下红光和蓝光的光能利用效率

更高,因此在图 2 的前 4.5 d,以 LED 红光/蓝光为光源时栅藻 LX1 的藻细胞密度高于白光对照组,且藻密度之比随培养时间呈上升趋势,表明栅藻 LX1 的生长速率显著高于白光对照组,藻细胞生物量持续快速增长。

培养第 4.5 d 之后,栅藻 LX1 的生长进入过渡期乃至稳定期(图 1),即由于营养元素的消耗,此时氮磷已成为限制藻细胞生长的主要因素,尤其是 LED 红光/蓝光试验组,前期藻细胞生长更快导致氮磷消耗更大,培养 4.5 d 后栅藻 LX1 生长的氮磷限制也更加明显。因此培养第 4.5 d 后,虽然 LED 红光/蓝光试验组中栅藻 LX1 藻细胞密度仍大于白光对照组,但二者差距开始逐渐缩小(图 2)。

由于 LED 红光/蓝光试验组中栅藻 LX1 生长速率快、氮磷消耗快,因此藻细胞生长较早受到氮磷限制,培养第 9 d 栅藻 LX1 的种群生物量增长速率开始下降(图 3)。而白光对照组中栅藻 LX1 对营养元素的消耗相对较慢,藻细胞生长受到氮磷限制的时间也相对较晚,种群生物量增长速率开始下降的时间出现在第 11 d,晚于 LED 红光/蓝光试验组。同图 2 分析,培养第 4.5 d 后,虽然 LED 红光/蓝光试验组中栅藻 LX1 的种群生物量增长速率大于白光对照组,但二者差距逐渐缩小(图 4)。

综上,在同等光照强度下,以 LED 红光/蓝光为光源,栅藻 LX1 的藻细胞密度和种群生物量增长速率均明显高于以白光为光源时的情况,表明 LED 红光/蓝光的光能利用效率高,对栅藻 LX1 的生长具有明显促进作用。

3.3 LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 产油特性的影响

很多研究者指出,在环境压力(氮缺乏^[26]、磷缺乏^[27,28]、硅缺乏^[29]、重金属离子^[30]等)下,当藻细胞生长受到限制时,有利于油脂生成。

油脂生成总量由藻细胞生物量和单位藻细胞油脂含量综合决定,如式(4):

$$\text{油脂生成总量}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = \text{藻生物量}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) \times \text{单位藻细胞油脂含量}(\%, \text{干重}) \quad (4)$$

本研究范围内,同等光照强度下以 LED 红光/蓝光为光源时,栅藻 LX1 的生长得到明显促进,但单位藻细胞油脂含量与白光对照组相比略有下降,该结果与一般认识相符。然而,以 LED 红光/蓝光为光源时栅藻 LX1 的藻细胞生物量显著高于白光对照组,因此综合结果导致栅藻 LX1 的油脂生成总量仍相对较高。

4 结 论

(1) 以红光、蓝光和红蓝光为光源时,在本实验室的培养基条件下,栅藻 LX1 的比生长速率比以白光为光源时分别高出 15.8%、13.2% 和 18.4%。

(2) 以红光/蓝光为光源,栅藻 LX1 生长快、氮磷消耗快,因此种群生物量增长速率的最大值出现较早(第 9 d);而以白光为光源,栅藻 LX1 生长速率和氮磷消耗均较慢,因此种群生物量增长速率的最大值出现较晚(第 11 d)。

(3) 以红光/蓝光为光源,栅藻 LX1 的藻细胞密度和种群生物量增长速率明显大于以白光为光源时的情况,表明红光/蓝光的光能利用效率更高,对栅藻 LX1 的生长具有明显促进作用。

(4) 以红蓝光为光源,栅藻 LX1 生长最快;培养至第 4.5 d 时,栅藻 LX1 的藻细胞密度和种群生物量增长速率最高可分别达到以白光为光源时的 2.7 倍和 3 倍。

(5) 以红光/蓝光为光源,栅藻 LX1 的单位藻细胞油脂含量略低于白光对照组,但油脂生成总量仍相对较高。

参考文献:

[1] Groom M J , Gray E M , Townsend P A . Biofuels and biodiversity : principles for creating better policies for biofuel production [J] . Conservation Biology , 2008 , **22** (3) : 602-609 .

[2] Huntley M E , Redalje D G , *et al.* CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes : a new appraisal [J] . Mitigation and Adaption Strategies for Global Change , 2007 , **12** : 573-608 .

[3] Gouveia L , Oliveira A C . Microalgae as a raw material for biofuels production [J] . J Ind Microbiol Biotechnol , 2009 , **36** : 269-274 .

[4] Miao X L , Wu Q Y . Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil [J] . Bioresource Technology , 2006 , **97** : 841-846 .

[5] Behzadi S , Farid M M . Review : examining the use of different feedstock for the production of biodiesel [J] . Asia-Pac J Chem Eng , 2007 , **2** : 480-486 .

[6] Chisti Y . Biodiesel from microalgae [J] . Biotechnology Advances , 2007 , **25** : 294-306 .

[7] Vasudevan P T , Briggs M . Biodiesel production-current state of the art and challenges [J] . J Ind Microbiol Biotechnol , 2008 , **35** (5) : 421-430 .

[8] Anithan B , Rohit S , Yusuf C , *et al.* *Botryococcus braunii* : A renewable source of hydrocarbons and other chemicals [J] . Critical Reviews in Biotechnology , 2002 , **22** (3) : 245-279 .

[9] Hernandez J P , Bashan L E , Bashan Y . Starvation enhances phosphorus removal from wastewater by the microalga *Chlorella*

spp. co-immobilized with *Azospirillum brasilense* [J] . Enzyme and Microbial Technology , 2006 , **38** : 190-198 .

[10] de-Bashan L E , Moreno M , Hernandez J P , *et al.* Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* [J] . Water Research , 2002 , **36** : 2941-2948 .

[11] Shi J , Podola B , Melkonian M . Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers : an experimental study [J] . J Appl Phycol , 2007 , **19** : 417-423 .

[12] Khan M , Yoshida N . Effect of L-glutamic acid on the growth and ammonium removal from ammonium solution and natural wastewater by *Chlorella vulgaris* NTM06 [J] . Bioresource Technology , 2008 , **99** : 575-582 .

[13] 李鑫 , 胡洪营 , 甘柯 . 氮元素对贫营养型二形栅藻 LX1 生长及去除氮磷特性的影响研究 [A] . 见 : 中国环境科学学会水环境分会 . 2008 中国水环境污染控制与生态修复技术高级研讨会论文集 [C] . 广州 : 中国环境科学学会水环境分会 , 2008 . 936-948 .

[14] Aslan S , Kapdan I K . Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae [J] . Ecological Engineering , 2006 , **28** : 64-70 .

[15] Chisti Y . Biodiesel from microalgae beats bioethanol [J] . Trends in Biotechnology , 2008 , **26** (3) : 126-131 .

[16] Wang B , Li Y Q , Wu N , *et al.* CO₂ bio-mitigation using microalgae [J] . Appl Microbiol Biotechnol , 2008 , **79** : 707-718 .

[17] Hankamer B , Lehr F , Rupprecht J , *et al.* Photosynthetic biomass and H₂ production by green algae : from bioengineering to bioreactor scale-up [J] . Physiol Plant , 2007 , **131** : 10-21 .

[18] Savage D F , Way J , Silver P A . Defossilizing fuel : how synthetic biology can transform biofuel production [J] . ACS Chemical Biology , 2008 , **3** (1) : 13-16 .

[19] 胡洪营 , 李鑫 , 杨佳 . 基于微藻培养的污水再生处理与生物柴油生产耦合技术 [A] . 见 : 中国资源综合利用协会 . 2009 全国可再生能源-生物质能利用技术研讨会论文集 [C] . 上海 : 中国资源综合利用协会 , 2009 . 35-43 .

[20] Zhang Y , Dube M A , McLean D D , *et al.* Biodiesel production from waste cooking oil . 1 . Process design and technological assessment [J] . Bioresource Technology , 2003 , **89** : 1-16 .

[21] Matthijs H C P , Balke H , Hes U M V , *et al.* Application of light-emitting diodes in bioreactors : flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*) [J] . Biotechnology and Bioengineering , 1996 , **50** : 98-107 .

[22] 徐明芳 . 光生物反应器内设 LED 光源的特性研究 [J] . 食品与发酵工业 , 2000 , **27** (4) : 7-12 .

[23] 国家环境保护总局 . 水和废水监测分析方法 [M] . (第四版) . 北京 : 中国环境科学出版社 , 2002 . 670 .

[24] 钟云霄 . 浮萍氮磷转化能力的研究 [D] . 北京 : 清华大学 , 2004 .

[25] 韩博平 , 韩志国 , 付翔 . 藻类光合作用机理与模型 [M] . 北

- 京:科学出版社,2003. 6-9.
- [26] Illman A M , Scragg A H , Shales S W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium [J]. Enzyme and Microbial Technology , 2000 , **27** : 631-635.
- [27] Reitan K I , Rainuzzo J R , Olsen Y. Effect of nutrient limitation on fatty-acid and lipid-content of marine microalgae [J]. J Phycol , 1994 , **30** : 972-979.
- [28] Goldberg I K , Cohen Z. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus* [J]. Phytochemistry , 2006 , **67** : 696-701.
- [29] Lynn S G , Kilham S S , Kreeger D A , *et al.* Effect of nutrient availability on the biochemical and elemental stoichiometry in the freshwater diatom *Stephanodiscus minutulus* (Bacillariophyceae) [J]. J Phycol , 2000 , **36** : 510-522.
- [30] Liu Z Y , Wang G C , Zhou B C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris* [J]. Bioresource Technology , 2008 , **99** : 4717-4722.