

钝顶螺旋藻脱氮除磷效果及条件优化

彭方, 唐斐, 梁志杰, 苏肖铃, 葛飞*

(湘潭大学环境科学与工程系, 湖南湘潭 411105)

摘要:以丝状蓝藻钝顶螺旋藻(*Spirulina latensis*)为受试生物,采用批量培养方法研究其对污水中氮磷的去除效果,并对初始藻密度、初始氮磷浓度、氮磷比、饥饿处理及无机碳源等条件进行了优化。结果表明,在实验条件下钝顶螺旋藻对氮磷的去除能力随着初始藻密度的增加而增强。当 NH_4^+-N 和TP的初始浓度分别低于 $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,钝顶螺旋藻对氮磷的去除率均可达90%以上;在氮磷比为5:1和10:1时,钝顶螺旋藻对 NH_4^+-N 去除效率相对较高,TP去除率受氮磷比影响较小。钝顶螺旋藻经饥饿处理2~3 d后,比未饥饿处理组对 NH_4^+-N 和TP的去除率分别提高了20%和10%;含无机碳源的钝顶螺旋藻,对 NH_4^+-N 和TP的去除率比无碳组分别提高80%和30%。

关键词:钝顶螺旋藻;脱氮除磷;污水处理

中图分类号:X703.1 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)09-1870-06 doi:10.11654/jaes.2013.09.024

Optimizing the Conditions in Removal of Nitrogen and Phosphorus by *Spirulina latensis*

PENG Fang, TANG Fei, LIANG Zhi-jie, SU Xiao-ling, GE Fei*

(Department of Environmental Science and Engineering, Xiangtan University, Xiangtan 411105, China)

Abstract: This paper investigated the optimization of conditions in removal of nitrogen and phosphorus by a filamentous blue alga *Spirulina latensis*, which included algae density, initial concentrations of NH_4^+-N and total phosphorus (TP), ratio of nitrogen to phosphorus (N/P ratio), starvation treatment and inorganic carbon. The results showed that under experimental conditions, the removal efficiency of NH_4^+-N and TP increased with the enhancement of initial algae density. 90% NH_4^+-N and TP could be removed as initial concentrations of NH_4^+-N and TP not more than $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. The removal efficiencies of NH_4^+-N was higher under N/P ratios of 5:1 and 10:1 than those under other N/P ratios, while TP removal was little affected. Further more, the removal efficiencies of NH_4^+-N and TP exhibited 20% and 10% higher with starvation treatment of 2 days to 3 days than that without-starvation treatment, and increased about 80% and 30% for the treatments with inorganic carbon source compared to that without inorganic carbon source, respectively.

Keywords: *Spirulina latensis*; removal of nitrogen and phosphorus; wastewater treatment

水体富营养化的主要原因是氮磷浓度超标^[1]。传统的活性污泥生物处理法对COD去除率能达90%以上,但脱氮率一般仅为20%~50%,除磷率为20%~30%,污水排放后氮磷的含量超过了富营养化的临界浓度,因此迫切需要研发高效的脱氮除磷处理技术^[2]。Oswald等^[3]研究发现,利用藻类可以有效去除污水中

的氮磷营养物质以及释放氧气供好氧微生物分解代谢所需,进而促进细菌的脱氮处理效果。此后,国内外对藻类净化污水的潜力进行了研究并取得进展^[4]。Adey等^[5]开发了ATS(Algal Turf Scrubbing)工艺,利用异质性着生藻类挂膜处理废水。张向阳等^[6]和雷国元等^[7]研究了藻类膜对城市污水净化能力,表明藻类生物膜对 NH_4^+-N (氨氮)、TN(总氮)和TP(总磷)均有较高的去除率。

目前已有研究报导了小球藻、栅藻、颤藻、硅藻等藻类脱氮除磷的效果^[8-9]。钝顶螺旋藻属蓝藻门,丝状藻,藻丝宽4~5 μm ,长400~600 μm ,易附着在基质上形成生物膜体系,有利于污水的分离,但鲜有利用钝

收稿日期:2013-01-28

基金项目:湖南省教育厅重点项目(11A119);国家自然科学基金项目(21277114)及教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-10-0148)

作者简介:彭方(1987—),男,湖北应城人,硕士研究生,主要研究方向为废水处理新技术。

*通信作者:葛飞 E-mail:gefei@xtu.edu.cn

顶螺旋藻(*Spirulina latensis*)脱氮除磷的报道。本文对钝顶螺旋藻脱氮除磷的效果进行评价并优化条件,以期钝顶螺旋藻在污水处理中的实际运用提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 藻种和培养基

藻种:钝顶螺旋藻(*Spirulina latensis*)购自中国科学院武汉水生生物研究所国家淡水藻种库(FACHB)。

藻细胞培养基:采用 Zarrok^[10]培养基,按实验要求调整氮磷含量(所有试剂均为分析纯)。

无氮磷培养基:无氮磷成分,其他组分同藻细胞培养基。

1.2 实验方法

1.2.1 藻的培养

取对数生长期的藻细胞(弃去藻液上层和底部块状藻体,取中层均匀藻样)置于生化培养箱(LRHS-150B型,上海博迅设备厂)中进行扩大培养,用照度计(TES 1330A型,台湾)测定光照强度,调节光照强度达到 2500 lx,光暗比为 12 h:12 h,设定温度为(25±1)℃,每天人工摇瓶 3 次。

1.2.2 脱氮除磷实验

据文献报道^[11]以及预实验确定实验周期为 7 d,每组实验设 3 个平行,结果取平均值。将扩大培养的藻液过滤,并用超纯水清洗 3 次,收集藻细胞。取若干数量的 250 mL 三角瓶,分别加入 100 mL 无氮磷的培养液,置于摇床中,加入一定量的藻,改变初始生物量浓度(藻干重 0.05~0.3 g·L⁻¹)、初始氮(NH₄⁺-N 浓度分别为 2.5、5、7.5、10、15、20、30、40 mg·L⁻¹)和磷(TP 浓度分别为 0.25、0.5、1、2、3、4 mg·L⁻¹)浓度、氮磷比(5:1~20:1)等条件,考查对钝顶螺旋藻去除氮磷的影响。

藻的饥饿处理实验:取过滤清洗后的藻细胞转接至盛有 100 mL 无氮磷培养液的三角瓶中,控制藻初始吸光值为 OD₅₆₀=0.1,置于摇床中,对饥饿 2~3 d 后的藻细胞加入 NH₄⁺-N 和 TP 进行后续实验,考查对氮磷的去除效果。

外加无机碳源实验:设 4 个实验组,分别为对照、外加 4.03 g·L⁻¹ Na₂CO₃、外加 13.61 g·L⁻¹ NaHCO₃ 和无碳组,其中对照组指 Zarrok 培养基的藻液(培养基中含有 4.03 g·L⁻¹ Na₂CO₃ 和 13.61 g·L⁻¹ NaHCO₃),而无碳组不添加这两种盐,分别考察钝顶螺旋藻对氮磷的去除效果。

1.2.3 分析方法

藻细胞密度采用分光光度计(722S,上海精密科学仪器有限公司)测定并换算成干重。氨氮浓度测定采用纳氏试剂分光光度计法(GB 7479—1987),总磷浓度测定采用钼酸铵分光光度计法(GB 11893—1989)。

2 结果与讨论

2.1 初始藻密度的影响

在藻类处理系统中,其脱氮除磷效果和藻细胞密度直接相关。初始藻密度过低,会使藻前期生长缓慢,生长周期延长,氮磷去除效果差。较高的初始密度利于藻适应新环境,使产物合成加快,氮磷去除效果好;但初始密度过高,会使微藻生长过快,缺乏营养物质,CO₂ 供应不足,存在藻细胞相互遮光现象,积累抑制物,降低光合作用效率^[12-13]。

不同初始藻细胞密度对钝顶螺旋藻脱氮除磷的效果如图 1 所示。图 1(a)的结果表明:在实验初始藻密度范围内(0.05~0.3 g·L⁻¹干重),随着初始生物量的增加,NH₄⁺-N 的去除率也随之增加。7 d 后藻初始细

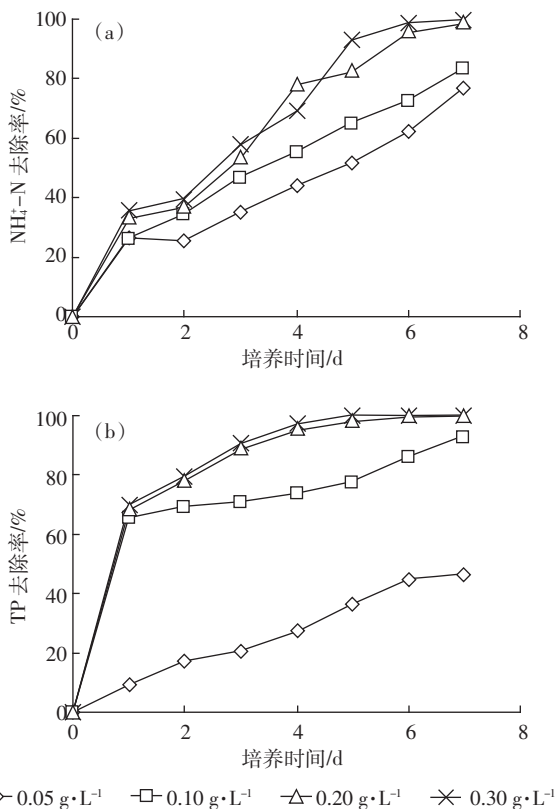


图 1 初始藻浓度对钝顶螺旋藻去除 NH₄⁺-N 和 TP 的影响

Figure 1 Effects of initial algae concentration on removal of NH₄⁺-N and TP by *Spirulina latensis*

胞干重为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($\text{OD}_{560}=0.3$) 的实验组对 NH_4^+-N 的去除效果达到 99%。

钝顶螺旋藻对 TP 的去除效果如图 1(b) 所示。除初始藻细胞干重为 $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($\text{OD}_{560}=0.05$) 处理对 TP 的去除率仅为 49%，其他藻密度的钝顶螺旋藻对 TP 的去除率 7 d 后均达到 90% 以上。

2.2 初始氮磷浓度的影响

藻类脱氮除磷的效果与污水中初始氮磷浓度有关。邓旭等^[14]利用莱茵衣藻处理人工废水,当初始氨氮浓度在 $55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下时,藻细胞几乎完全吸收水体中的氨氮,但随着氨氮浓度的进一步升高,氨氮的去除率急剧下降,初始氨氮浓度升高到 $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氨氮的去除率由 100% 降到 50%,说明藻细胞对氮的吸收已达到饱和。

考查了钝顶螺旋藻对不同初始氮磷浓度下 NH_4^+-N 和 TP 的吸附速率。从图 2(a) 的结果看出,随着初始氮磷浓度的增加,钝顶螺旋藻对 NH_4^+-N 和 TP 的吸收速率也增加,当 NH_4^+-N 浓度大于 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 后吸收速率呈下降趋势;藻细胞对 TP 的吸收与 NH_4^+-N 相似,当 TP 浓度大于 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其吸收速率趋于饱和。

不同初始氮磷浓度下钝顶螺旋藻对氮磷的去除效果如图 2(b) 和 (c),从图中结果可知,随着初始氮磷浓度的增大,藻对 NH_4^+-N 和 TP 的去除率逐渐下降,当初始 NH_4^+-N 浓度低于 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,经过 7 d 的处理,藻细胞能将 NH_4^+-N 全部去除,而 NH_4^+-N 浓度进一步升高,其去除率最终降至 50% 以下,这可能与高浓度的 NH_4^+-N 对藻细胞的毒害作用有关^[15]。TP 去除效果与 NH_4^+-N 类似,但初始 TP 浓度升高到 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时藻细胞对 TP 的去除率仍能达到 80% 以上。逯多^[16]比较了沙角衣藻、斜生栅藻、小型月牙藻和普通小球藻 4 种藻在不同磷浓度下的除磷能力,结果表明沙角衣藻的除磷能力最强,在磷初始浓度为 $5.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,去除率最高为 62.3%。相比可知,钝顶螺旋藻对磷有更好的吸收效果。

2.3 氮磷比的影响

藻类对氮磷去除效率与水体中氮磷浓度比(N/P)有关。Kunikanes 等^[15]发现每种藻类均有最佳生长的 N/P 比,适宜于藻类生长的氮磷比为 7:1~15:1,当 N/P 比小于 5:1 时就会引起氮限制,而大于 40:1 时则会引起磷限制。

实验采用 4 个不同氮磷比 (5:1、10:1、15:1 和 20:1),考查钝顶螺旋藻对氮磷的去除情况。图 3(a) 结果表明,当氮磷比为 5:1 和 10:1 时 (初始磷浓度为 2.5

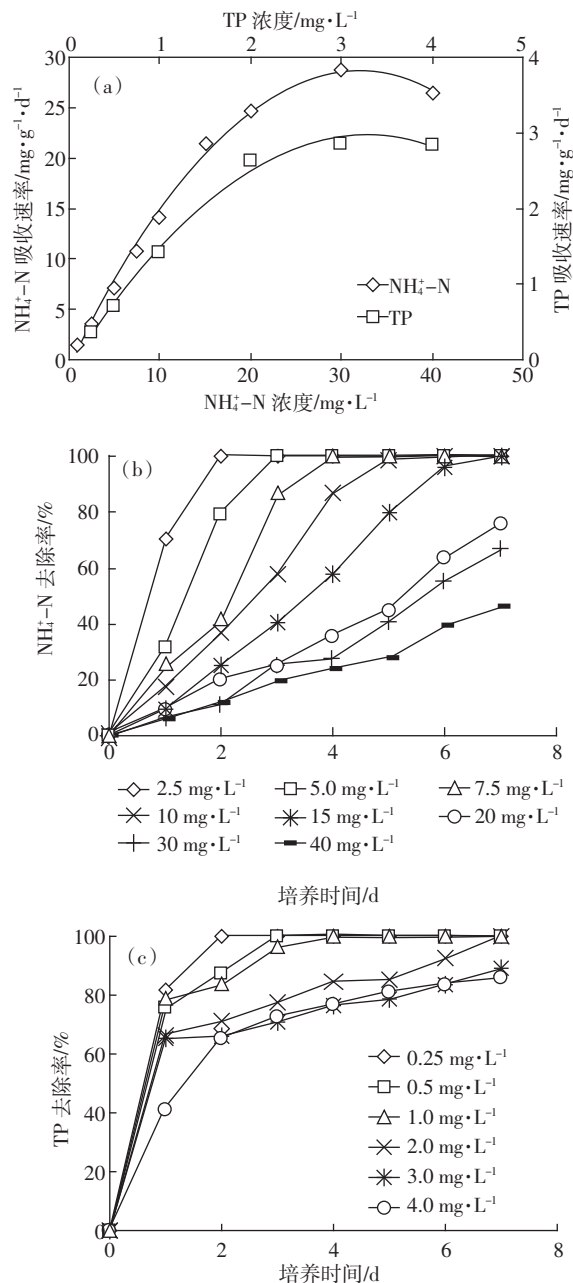


图2 不同初始氮磷浓度下钝顶螺旋藻对氮磷的吸收速率及去除效果

Figure 2 The absorption rate and removal efficiencies of NH_4^+-N and TP by *Spirulina latensis*

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 经过 7 d 培养,藻细胞基本能完全去除污水中的 NH_4^+-N ,去除率均达到 80% 以上。而当氮磷比上升到 15:1 以上时, NH_4^+-N 去除率不到 60%,显然氮磷比例过高时,藻细胞自身的分子结构制约了对外界氮的吸收^[14]。另外,高氮磷比磷限制和影响了钝顶螺旋藻脱氮的效果^[17],这些因素都制约着藻细胞对氮磷的去除。

不同氮磷比下(初始氮浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)钝顶螺

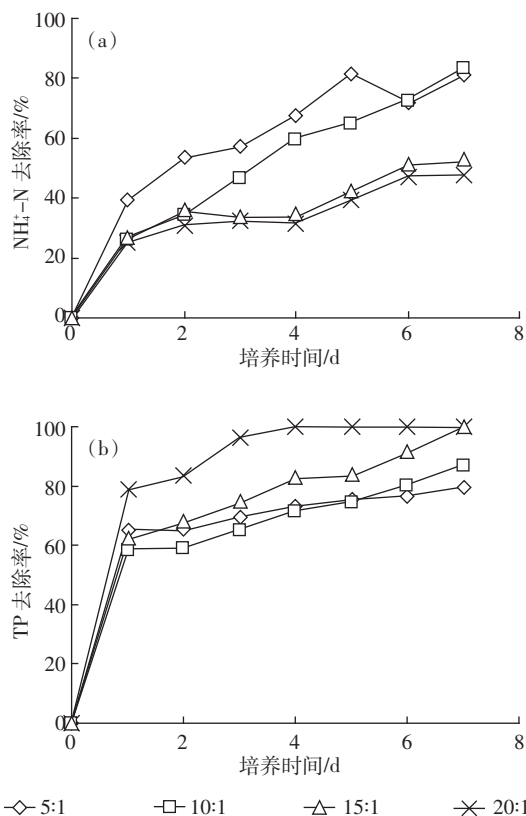


图3 氮磷比对钝顶螺旋藻去除 NH_4^+-N 和 TP 的影响
Figure 3 Effect of N/P ratios on removal of NH_4^+-N and TP by *Spirulina latensis*

旋藻对磷的去除效果如图 3(b)。藻细胞对磷的吸收在 1 d 后就基本完成,随着初始磷浓度的增大,最终残余的 TP 浓度趋高,但在 4 种不同氮磷比下,其对应的去除率均能达到 80% 以上,表明钝顶螺旋藻在不同氮磷比下都能保持较强的除磷能力。

2.4 饥饿处理的影响

细胞被适当的控制或饥饿后,藻类在短时期内被剥夺了一种或几种关键元素,将对该营养元素进行富集,因而显示出比全营养培养更高的氮磷吸收效率^[18],饥饿状态下藻类在生理上能够吸收的氮磷比用于同化细胞内的生物物质快得多。对钝顶螺旋藻的饥饿处理表明(图 4),饥饿 2 d 和饥饿 3 d 处理组的藻细胞在 1 d 后对氮磷的去除量有所增大,7 d 后对 NH_4^+-N 的去除率分别达到 96% 和 98%,对 TP 的去除率均达到 100%。汤会军等^[20]研究饥饿处理对栅藻 LX1 去除氮磷影响的结果表明,饥饿处理 3 d 的栅藻 LX1 恢复培养 5 d 后对 TN、TP 的去除率分别比对照组增加了 24.4% 和 60.2%。Urrutia 等^[21]在研究固定化微藻对硝酸盐的去除时,发现固定化栅藻和悬浮栅藻最大的氮

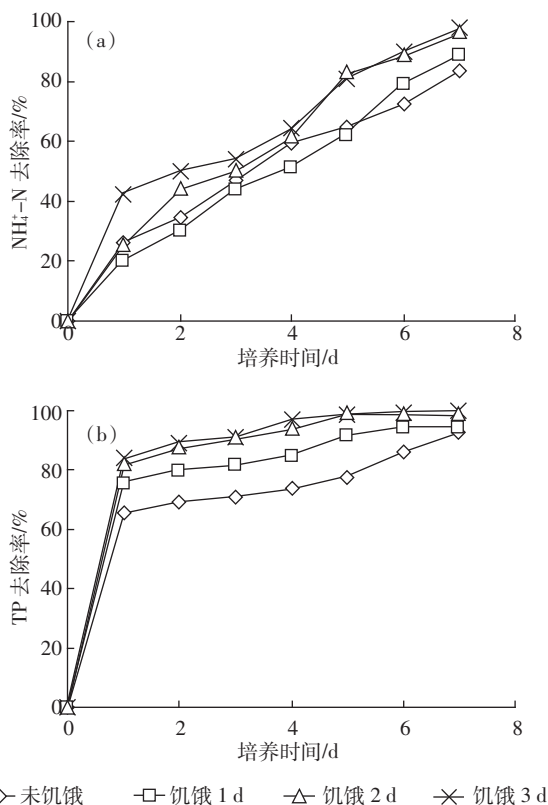


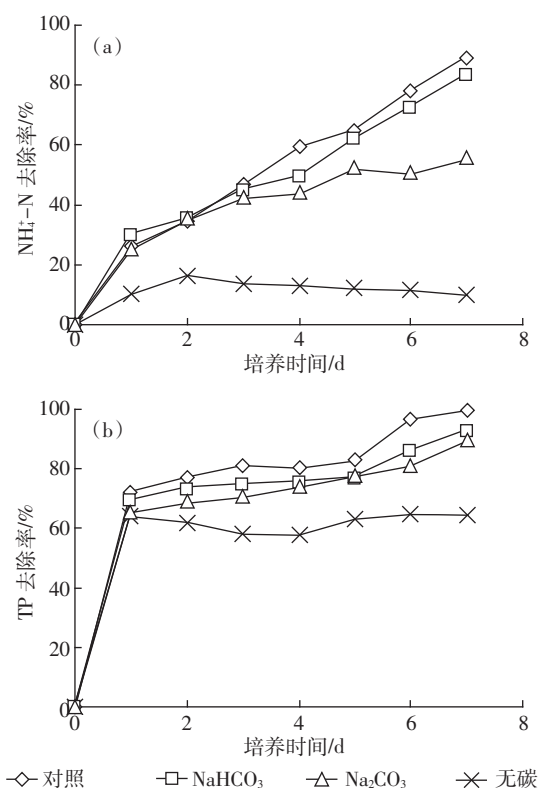
图4 饥饿处理对钝顶螺旋藻去除 NH_4^+-N 和 TP 的影响
Figure 4 Effects of starvation on removal of NH_4^+-N and TP by *Spirulina latensis*

吸收速率分别在 N 饥饿 72 h 和 168 h 后获得,与本研究的结果相似。

2.5 无机碳源的影响

藻类的生长过程中需要进行光合作用,充足的碳元素是保证藻细胞大量生长的必要条件。研究表明, HCO_3^- 能通过微囊藻细胞膜并为光合作用提供碳源。补充无机碳源(Na_2CO_3 、 NaHCO_3 和 CO_2)有利于 CO_2 向水中传质,能够促进藻的光合作用,从而提高了藻的生长。藻类不仅能直接利用 CO_2 进行光合作用,还能转运 HCO_3^- 使其进入细胞质,再脱水生成 CO_2 进行光合作用^[22-24]。

从图 5 结果可知,外加无机碳源有利于藻对氮磷的吸收,相对于无碳组,其他 3 组对氮磷的去除效果均有明显的提高。其中含有 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 的对照组对 NH_4^+-N 和 TP 的去除效果最好,去除率分别可达 90% 和 100%。与对照组相比,无外加碳源的实验组对 NH_4^+-N 和 TP 的去除率分别下降了 80% 和 30%;外加 Na_2CO_3 或 NaHCO_3 后,藻细胞对氮磷的去除率有所下降,但仍然明显高于无碳实验组。这可能是因



图(a): 初始 TP 2.5 mg·L⁻¹, 图(b): 初始 NH₄⁺-N 25 mg·L⁻¹

图5 无机碳源对钝顶螺旋藻去除 NH₄⁺-N 和 TP 的影响

Figure 5 Effects of inorganic carbon on removal of NH₄⁺-N and TP by *Spirulina latensis*

为无机碳源的加入导致溶液 pH 升高, 改变了 CO₂ 传质进入水体的平衡, 促使空气中的 CO₂ 进入水体供藻细胞生长利用, 随着时间的推移, 藻细胞对 CO₂ 的同化速率小于 CO₂ 向水体中的传质速率, 传质过程又趋于平衡。这也符合添加不同无机碳源的实验组最终对氮磷的去除效果相差不大的实验现象。

3 结论

(1) 钝顶螺旋藻对氮磷去除效果与初始藻密度、初始氮磷浓度及氮磷比等因素有关。初始藻密度 OD₅₆₀ 在 0.1~0.3 范围内, 氮磷初始浓度分别为 25 mg·L⁻¹ 和 2.5 mg·L⁻¹, 对氮磷的优化处理条件为: 氮磷比在 5:1 和 10:1。

(2) 饥饿处理与外加无机碳源可提高 NH₄⁺-N 和 TP 的去除效率。饥饿处理 2~3 d, 外加无机碳源 Na₂CO₃ 或 NaHCO₃ 后, NH₄⁺-N 和 TP 的去除效率可达 90% 和 100%。

(3) 钝顶螺旋藻具有较强的氮磷去除能力, 利用钝顶螺旋藻去除污水中的氮磷具有应用前景。

参考文献:

- [1] 张利平, 夏 军, 胡志芳. 中国水资源状况与水资源安全问题分析[J]. 长江流域资源与环境, 2009, 18(2): 116-120.
ZHANG Li-ping, XIA Jun, HU Zhi-fang. Situation and problem analysis of water resource security in China[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2009, 18(2): 116-120.
- [2] 祝宇慧, 赵国智, 李灵香玉, 等. 湿地植物对模拟污水的净化能力研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(1): 166-172.
ZHU Yu-hui, ZHAO Guo-zhi, LI Ling-xiang-yu, et al. Purification ability of wetland plants for simulated wastewater[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1): 166-172.
- [3] Oswald W J, Gotaas H B. Photosynthesis in sewage treatment[J]. *Trans Am Soc Civ Eng*, 1957, 122(1): 73-105.
- [4] Wang B, Lan C Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga, *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 5639-5644.
- [5] Adey W, Loveland K. Dynamic aquaria; Building living ecosystems[M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 1998.
- [6] 张向阳, 邢丽贞, 张彦浩, 等. 固定化小球藻去除污水中氮、磷的试验研究[J]. 中国给水排水, 2008, 24(1): 95-101.
ZHANG Xiang-yang, XING Li-zhen, ZHANG Yan-hao, et al. Experimental study on removing nitrogen and phosphorus from wastewater by immobilized *Chlorella*[J]. *China Water and Wastewater*, 2008, 24(1): 95-101.
- [7] 雷国元, 马 军. 利用水绵 (*Spirogyra*) 深度处理生活污水强化除磷及其机制的探讨[J]. 环境科学, 2009(4): 1066-1072.
LEI Guo-yuan, MA Jun. Phosphorus removal and mechanisms for advanced treatment of sewage by *Spirogyra*[J]. *Environmental Science*, 2009(4): 1066-1072.
- [8] 凌晓欢, 况琪军, 胡征宇, 等. 两种藻类对水体氮、磷去除效果[J]. 武汉大学学报: 理学版, 2006, 52(4): 487-491.
LING Xiao-huan, KUANG Qi-jun, HU Zheng-yu, et al. Removal efficiency of nitrogen and phosphorus in wastewater by two species of algae[J]. *Journal of Wuhan University: Natural Science Edition*, 2006, 52(4): 487-491.
- [9] 吕福荣, 杨海波, 李英敏, 等. 自养条件下小球藻净化氮、磷能力的研究[J]. 生物技术, 2003, 13(6): 46-47.
LV Fu-rong, YANG Hai-bo, LI Ying-min, et al. Study on the N, P purification ability of *Chlorella* under autotrophic condition[J]. *Biotechnology*, 2003, 13(6): 46-47.
- [10] Soletto D, Bingaghi L, Lodi A, et al. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2004(112): 143-150.
- [11] 陈志华. 活性污泥-钝顶螺旋藻体系处理污水的研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2010.
CHEN Zhi-hua. Treatment of domestic sewage used by the system composed of activated sludge and *Spirulina Algae*[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2010.

- [12] 王 娟, 陈必链, 王明兹, 等. 培养条件对紫球藻生长及代谢产物产生的影响[J]. 福建师范大学学报: 自然科学版, 2004, 20(3): 63-66.
WANG Juan, CHEN Bi-lian, WANG Ming-zi, et al. Effect of culture conditions on the growth and metabolites production of *Porphyridium cruentum*[J]. *Journal of Fujian Normal University: Natural Science*, 2004, 20(3): 63-66.
- [13] Lau P S, Tam N F Y, Wong Y S. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater[J]. *Environmental Pollution*, 1995, 89(1): 59-66.
- [14] 邓 旭, 魏 斌, 胡章立. 利用莱茵衣藻去除污水中氮磷的研究[J]. 环境科学, 2010, 31(6): 1489-1493.
DENG Xu, WEI Bin, HU Zhang-li. Study on the removal of nitrogen and phosphorus from wastewater by *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(6): 1489-1493.
- [15] Kunidanes S, Anekom M, Maehara R. Growth and nutrient uptake of green alga, *Scenedesmus dimorphus*, under a wide range of nitrogen/phosphorus ratio[J]. *Water Res*, 1984, 18: 1299-1311.
- [16] 逯 多. 利用藻类除去污水中的磷[D]. 成都: 四川大学, 2001.
LU Duo. Removal of phosphorus in waster water by algae[D]. Chengdu: Sichuan University, 2001.
- [17] Li X, Hu H Y, Gan K, et al. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp.[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 5494-5500.
- [18] 文湘华. 生物稳定塘系统中的碳、氮、磷转移规律的研究[D]. 北京: 清华大学, 1990: 9.
WEN Xiang-hua. Research on carbon, nitrogen, phosphorus translocation in biological stabilization pond system[D]. Beijing: Tsinghua University, 1990: 9.
- [19] Kaya V M, Picard G. The viability of *Scenedesmus bicellularis* cells immobilized on alginate screens following nutrient starvation in air at 100% relative humidity[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1995, 46: 459-464.
- [20] 汤会军, 李 鑫, 胡洪营, 等. 初始密度及饥饿对栅藻 LX1 氮磷去除的影响[J]. 水处理技术, 2010, 36(7): 33-39.
TANG Hui-jun, LI Xin, HU Hong-ying, et al. Effect of initial cell densities and starvation treatment on the nitrogen, phosphorus removal properties of *Scenedesmus* sp. LX1[J]. *Technology of Water Treatment*, 2010, 36(7): 33-39.
- [21] Urrutia I, Serra J L, Llama M J. Nitrate removal from water by *Scenedesmus obliquus* immobilized in polymeric forms[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 1995, 17: 200-205.
- [22] Shapiro J. Current beliefs regarding dominance by blue-greens: The case for the importance of CO₂ and pH[J]. *Verh Internat Verein Limnol*, 1990, 24: 38-54.
- [23] 李 鑫, 胡洪营, 杨 佳. LED 红光/蓝光对栅藻 LX1 生长及产油特性的影响[J]. 环境科学, 2010, 31(2): 513-519.
LI Xin, HU Hong-ying, YANG Jia. Effect of light LED's red / blue on the growth and lipid accumulation properties of *Scenedesmus* sp. LX1 [J]. *Environmental Science*, 2010, 31(2): 513-519.
- [24] Williams T G, Colman B. The effects of pH and dissolved inorganic carbon on external carbonic anhydrase activity in *Chlorella saccharophila*[J]. *Plant, Cell and Environment*, 1996, 19(4): 485-489.