



氮浓度和光照强度对小新月菱形藻生长 和总脂含量的影响

马若欣, 王学魁, 曹春晖

(天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 以 NaNO_3 为氮源, 研究了氮浓度的五个水平及光照强度对小新月菱形藻的生长率及总脂含量的影响. 结果表明: 小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*)(MACC/B222)在氮浓度为 32 mmol/L 时平均生长率 μ 达到最大值 0.7100 d^{-1} , 脂肪含量在 16 mmol/L 时达到最大值 34.8%; 在光强 $260 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 处获得最大生长率 0.6505 d^{-1} , $140 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 处获得最大总脂含量 33.9%.

关键词: 氮浓度; 光照强度; 小新月菱形藻; 生长; 总脂含量

中图分类号: Q949.210

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2009)03-0031-04

Effects of Nitrate Concentrations and Light Intensity on the Growth and Total Lipid Contents of *Nitzschia closterium* f. *minutissima*

MA Ruo-xin, WANG Xue-kui, CAO Chun-hui

(Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The growth rates and total lipid contents of *Nitzschia closterium* f. *minutissima* under different nitrate concentrations and light intensity were examined. The results show that the variations of growth rate and total lipid content may be great due to nitrite concentration and light intensity. The highest growth rate was 0.7100 d^{-1} when the nitrate content was 32 mmol/L, the highest total lipid contents was 34.8% when the nitrate content was 16 mmol/L. The highest growth rate was 0.6505 d^{-1} and the highest total lipid contents was 33.9% due to light intensity.

Keywords: nitrate concentrations; light intensity; *Nitzschia closterium* f. *minutissima*; growth; total lipid contents

能源是人类生存与发展的基础, 不可再生化石能源日趋减少以及使用化石能源造成的环境污染加剧问题, 全球瞩目. 为了摆脱这种困境, 各国政府和科研工作者都把目光投向了可再生且污染小的生物质能源开发利用领域, 我国也把可再生能源列入科技发展的优先领域^[1]. 生物质能是绿色植物通过叶绿素将太阳能转化为化学能而贮存在生物质内部的能量. 煤、石油和天然气等化石能源也是由生物质能转变而来的^[2-3]. 为此, 有学者呼吁, 应大力发展生物质能源, 实现我国能源结构的历史性转型. 生物质能产业不仅可提供能量, 而且可生产出多种化工产品; 生

物能通过光合作用利用 CO_2 , 因而可减轻全球温室效应^[4].

在众多生物质中, 微藻细胞内的脂肪含量高于高等植物, 其裂解油的产率和质量大大高于一般的生物质资源, 热解化学难度也相对较低. 藻类还具有光合作用效率高、生长周期短、生物产量高的特点. 缪晓玲等^[5]认为藻类是制备生物质油的良好材料, 其细胞内有机物的种类及含量对产品的热值及质量有显著的影响. 细胞内脂类含量愈高, 其产烃潜力也愈强. 其中单细胞的小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) 个体小、繁殖快、脂肪含量高, 环境适应

收稿日期: 2008-11-06; 修回日期: 2009-04-01

基金项目: 天津市科技攻关项目 (033122211)

作者简介: 马若欣 (1966—), 男, 天津人, 实验师, maruoxin@tust.edu.cn.

能力强. 小新月菱形藻还含有高不饱和脂肪酸 EPA (20:5n-3), 可作为理想的保健食品, 也可以作为甲壳类、双壳类和仔鱼的饵料而在海水养殖业中占有重要地位^[6]. 海洋微藻的脂肪含量因藻种不同而异, 不同的培养条件也会对其产生影响. 某些藻类如葡萄球藻 (*Botryococcus*)、盐藻 (*Dunaliella*) 还可通过人为调控其培养条件使藻细胞中易于热解的组分含量大幅度提高^[7-9]. 本文对小新月菱形藻在不同的氮浓度和光照强度时的生长率和总脂含量进行了研究.

1 材料与方法

1.1 藻种

试验藻株取自中国海洋大学微藻种质库 (MACC/B222) *Nitzschia closterium* f. *minutissima* 小新月菱形藻.

1.2 微藻培养

对实验藻种作了不同 NaNO_3 浓度 (1.6、8.0、16、32、40 mmol/L) 及不同光照强度 (70、140、260 $\mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$) 的培养实验. 每个浓度两个平行组. 其中海水经脱脂棉过滤, 以自来水稀释至盐度为 28‰, 煮沸消毒. 采用 $t/2$ 培养基, 在 2 L 细口瓶中进行一次性培养, 培养过程中连续充气, 室温 (22 ± 1) $^\circ\text{C}$, 24 h 光照, 光照强度 4 500 lx, 每天用血球计数板对藻细胞计数.

1.3 微藻收获

微藻在指数生长末期离心收获, 收集的藻泥经真空干燥后放入带塞试管中, 充 N_2 于 -40 $^\circ\text{C}$ 保存.

1.4 生长率计算

利用下式计算平均生长率:

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

式中: μ 为每天的平均生长率; t 为培养天数; N_0 为培养开始时的藻细胞数; N_t 为培养 t 天后的藻细胞数.

1.5 总脂测定

采用索氏抽提法: 称取 100 mg 左右藻粉, 用滤纸包裹, 于索氏抽提器中用乙醚抽提 2 h 后洗净接收瓶 (接收瓶预先在 80 $^\circ\text{C}$ 烘干至恒重, 并称重) 外壁, 80 $^\circ\text{C}$ 烘 12 h, 冷却后称重, 由此求出藻粉中脂肪的含量.

1.6 数据处理

平均值与标准差由 Excel 软件求得; 单因子方差分析由 STATISTICA 软件求得.

2 结果与讨论

2.1 氮浓度的影响

不同氮浓度对小新月菱形藻生长和总脂含量的

影响见图 1 和图 2. 由图 1 可知, 氮浓度对小新月菱形藻的平均生长率 μ 有较大影响, 在氮浓度为 32 mmol/L 时达到最大值 0.710 0 d^{-1} , 最低值出现在 1.6 mmol/L 处, 为 0.400 0 d^{-1} . 平均生长率随氮浓度的变化趋势为: 在一定的浓度范围 1.6~32 mmol/L 内, 氮浓度的增加使得小新月菱形藻生长速度加快, 其 μ 值随氮浓度的升高而升高 (0.400 0~0.710 0 d^{-1}), 但过高的氮浓度 (40 mmol/L), 反而会使 μ 下降至 0.520 1 d^{-1} . 由图 2 可知, 脂肪含量随氮浓度的增加也呈现增加的趋势, 在 1.6 mmol/L 时脂肪含量最低, 为 18.2%, 在 16 mmol/L 时达到最大值 34.8%, 并在 32 mmol/L 时仍维持在 32.3%, 但在 40 mmol/L 时降至 18.2%. 单因子方差分析表明, 氮浓度对小新月菱形藻总脂含量的影响差异显著 ($P < 0.05$).

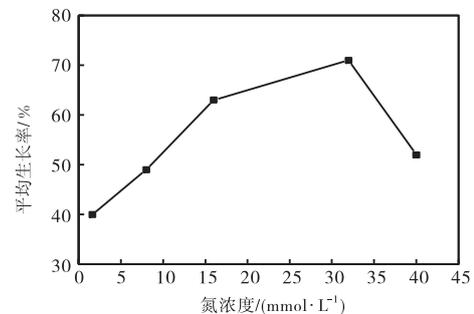


图 1 不同氮浓度下的平均生长率

Fig.1 Average growth rates under different N concentrations

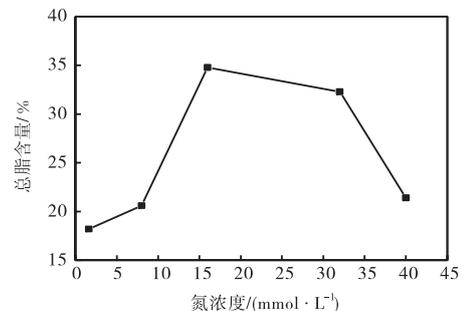


图 2 不同氮浓度下的总脂含量

Fig.2 Total lipid contents under different N concentrations

海洋中浮游植物的生长主要受到氮和磷等营养盐的影响, 不同的氮浓度不仅对细胞的生长速度造成影响, 甚至对细胞内物质的合成积累也有影响^[10-12]. 吴庆余等^[11]通过调整碳、氮源的供给, 获得的异养小球藻细胞粗脂肪含量比自养藻提高了 3.4 倍; 曹春晖等^[6]的实验结果证明了不同氮浓度对一株裂丝藻和两株小球藻的脂肪含量的影响差异极显著 ($P < 0.01$); 刘东艳等^[12]发现在高氮、磷比 (N/P=160:1、80:1) 条件下, 球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 的生

长速度要优于低氮、磷比(N/P=1:1:4:1)状态,但过高的氮浓度对其生长有抑制作用,胞内物质的合成也表现出同样的规律,与本研究结果相符。

2.2 光照强度的影响

不同光照强度对小新月菱形藻生长和总脂含量的影响见图3和图4。由图3可知,平均生长率随光照强度的增加有明显增加趋势,在实验设置的最高光照强度 $260 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 处获得最大生长率 0.650d^{-1} 。由图4可知,脂肪含量在中光照强度时获得最大值33.9%,而在低光照强度和高光照强度时均有所下降,分别为19.8%和25.2%。单因子方差分析表明,光照强度对小新月菱形藻总脂含量的影响差异显著($P < 0.05$)。同时,由于光照强度的变化引起的平均生长率和总脂含量之间无显著相关关系。

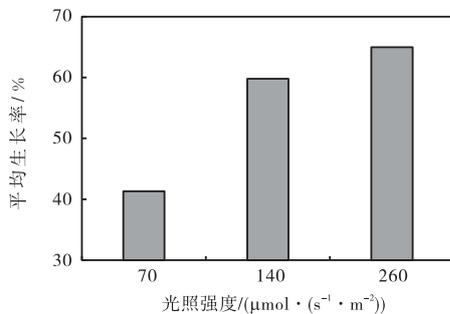


图3 不同光照强度下的平均生长率

Fig.3 Average growth rates under different light intensity

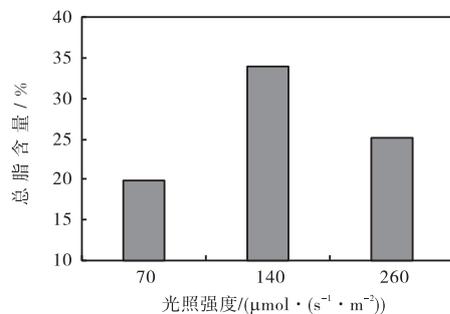


图4 不同光照强度下的总脂含量

Fig.4 Total lipid contents under different light intensity

光是单胞藻培养中影响其生长的重要因子之一。在适当范围内,增加光照强度可使光合作用速度加快,细胞分裂速率达到最高值时的光照强度称最适光强或饱和光强。超过饱和光强后光合作用减弱甚至受抑制^[13]。光照对实验藻种的生长情况的影响因种而异,Grimma等^[14]研究了光强对*Isochrysis galbana* Parke和*Tetraselmis* sp.生长的影响,结果是光强在 $15 \sim 218 \text{W}/\text{m}^2$ 范围内时,*I. galbana* Parke和*Tetraselmis* sp.的最大比生长速率可达 0.032h^{-1} 和 0.059h^{-1} ,光强在 $80 \sim 100 \text{W}/\text{m}^2$ 范围内时两种藻的生长均达到饱和。茅华等^[15]研究了旋链角毛藻在三个

光照梯度下的生长率,结果表明在中光照强度 $78.12 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 下旋链角毛藻生长速率增加,生长较快并达到高峰,光照强度过高过低都影响旋链角毛藻的生长。曾艳艺等^[16]的研究结果表明光照对小环藻生长有极显著影响($P < 0.01$),当光照强度从 $29.25 \sim 146.26 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 时比增长率最高,为 $0.30 \sim 0.32 \text{d}^{-1}$ 。石娟等^[17]研究了小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) (MACC/B228)在4种光照条件下的生长情况,结果表明,小新月菱形藻在光强 $70 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 时平均生长率最大,最适光强 $70 \sim 140 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$; $260 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 光强能导致细胞分裂速率变慢,指数期缩短。而本研究中小新月菱形藻在 $260 \mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 光照下仍然有着高生长率,并没有达到其光饱和点及出现光抑制现象,推测其原因应该是不同品系的小新月菱形藻藻株之间存在的个体差异。

不同光强对细胞内的脂肪含量也有一定影响。本研究中,在中光照强度下,藻细胞内的脂肪含量较多,在高光强下则降低(图4)。这在其他微藻的研究中得到了相似的结果,如石娟等^[17]的研究表明小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) (MACC/B228)的脂肪含量占干重的25.5%~35.3%,而在低光下脂肪含量较多。产生这种变化的原因可能跟细胞内光合作用的机构有关,细胞内的光合作用在叶绿体的类囊体膜上进行,而甘油酯是类囊体膜的主要组分,甘油酯的相对数量与细胞的光合活力密切相关。低光条件下,为了增加光吸收及光利用效率,类囊体膜的表面积有所增加,膜脂的合成速率维持在较高水平。而当光强超过饱和光强时,引起了光合机构的损伤和光合速率的下降,膜脂合成速率降低,甚至受到破坏^[18-20]。

由图3和图4中还可看出,本研究中由光照强度引起的生长率和总脂含量的变化趋势并不同步,推测高光照强度下总脂含量降低的原因之一是高光照引起的细胞分裂速度加快,细胞内脂类物质得不到足够的积累。

由实验结果可知,小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) (MACC/B222)有着较高的脂肪含量,而且其脂肪含量可随环境条件改变,因此可以进一步优化其生长条件为开发和利用小新月菱形藻生物质能源奠定基础。

3 结论

(1)小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutis-*

sima) (MACC/B222) 在氮浓度为 32 mmol/L 时平均生长率 μ 达到最大值 0.7100 d^{-1} , 脂肪含量在 16 mmol/L 时达到最大值 34.8%.

(2)小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) (MACC/ B222) 在光强 $260\text{ }\mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 处获得最大生长率 0.6505 d^{-1} , $140\text{ }\mu\text{mol}/(\text{s}\cdot\text{m}^2)$ 处获得最大总脂含量 33.9%.

参考文献:

[1] 陈昱,林锦明,刘广发. 高脂杜氏藻的诱变筛选与分析 [J]. 厦门大学学报:自然科学版,2008,47(3):397-401.

[2] Aristidou A,Penttilä M. Metabolic engineering applications to renewable resource utilization [J]. *Current Opinion in Biotechnology*,2000,11(2):187-198.

[3] McKendry P. Energy production from biomass(part 1): overview of biomass [J]. *Bioresource Technology*,2002,83(1):37-46.

[4] 孟春晓,高政权. 微藻开发生物质能研究[J]. *安徽农业科学*,2007,35(31):9998-10000.

[5] 缪晓玲,吴庆余. 微藻生物质可再生能源的开发利用 [J]. *可再生能源*,2003(3):13-16.

[6] 曹春晖,孙世春,麦康森,等. 氮浓度对四株海洋绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响 [J]. *海洋湖沼通报*,2006(3):79-84.

[7] Ginzburg B-Z. Liquid fuel(oil) from halophilic algae:a renewable source of non-polluting energy[J]. *Renewable Energy*,1993,3(2/3):249-252.

[8] Dote Y,Sawayama S,Inoue S,et al. Recovery of liquid fuel from hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction [J]. *Fuel*,1994,73(12):1855-1857.

[9] Gelin F,Gatellier J-P L A,Sinninghe Damsté J S,et al. Mechanisms of flash pyrolysis of ether lipids isolated from the green microalga *Botryococcus braunii* race A [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*,1993,

27(2):155-168.

[10] 周洪琪,Pany D L. 温度对新月菱形藻、铲状菱形藻和巴夫藻的生长、总脂含量以及脂肪酸组成的影响 [J]. *水产学报*,1996,20(3):235-240.

[11] 吴庆余,殷实,盛国英,等. 自养与异养小球藻热模拟产气对比研究 [J]. *自然科学进展*,1992(5):435-440.

[12] 刘东艳,孙军,巩晶,等. 不同氮、磷比例对球等鞭金藻生长的影响 [J]. *海洋水产研究*,2003,23(1):29-32.

[13] 李文权,黄贤芒. 4 种海洋单胞藻生化组成的环境因子效应研究 [J]. *海洋学报*,1999,21(3):59-65.

[14] Molina Grima E,García Camacho F,Sánchez Pérez J A, et al. Biochemical productivity and fatty acid profiles of *Isochrysis galbana* Parke and *Tetraselmis* sp. as a function of incident light intensity [J]. *Process Biochemistry*, 1994. 29:119-126.

[15] 茅华,许海,刘兆普. 温度、光照、盐度及 pH 对旋链角毛藻生长的影响 [J]. *生态科学*,2007,26(5):432-436.

[16] 曾艳艺,黄翔鹄. 温度、光照对小环藻生长和叶绿素 a 含量的影响 [J]. *广东海洋大学学报*,2007,27(6):36-40.

[17] 石娟,潘克厚. 不同光照条件对小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 生长及生化成分的影响 [J]. *中国水产科学*,2004,11(2):121-126.

[18] Sukenik A,Carmeli Y,Berner T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp.[J]. *Journal of Phycology*,1989,25(4):686-692.

[19] Berner T,Dubinsky Z,Wyman K,et al. Photoadaptation and the "packace"effect in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) [J]. *Journal of Phycology*,1989,25(1):70-78.

[20] Perry M J,Talbot M C,Alberte R S. Photoadaptation in marine phytoplankton;Response of the photosynthetic unit [J]. *Marine Biology*,1981,62(2/3):91-101.