

三十烷醇对极大螺旋藻生物量及生化组成的影响

张跃平¹, 王大志², 高亚辉³, 程兆第³

(1. 福建海洋研究所, 福建 厦门 361012; 2. 厦门大学 环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 3. 厦门大学 生命科学学院 生物系, 福建 厦门 361005)

摘要: 在 Zarrouk 液体培养基中加入 1 g/m^3 液体三十烷醇(LTA), 极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)的生物量增加了 24.6%~25.7%, 即使在碳源 NaHCO_3 减半(实验组 2)的条件下生物量仍增加了 4.43%~4.92%; 碳水化合物含量增加了 11.9%~16.0%, 在实验组 2 条件下也增加 5.7%~8.3%; 叶绿素增加率为 45.8%~63.3%; 蛋白质总量基本不变, 但水溶性蛋白的含量明显增加, 从对照组的 36% 增长至实验组的 60% 左右, 而水不溶性蛋白的含量则明显从 30% 左右减至 10% 左右. 从螺旋藻生产基地的中试培养结果看, 加入 1 g/m^3 液体三十烷醇, 生物量提高了 39.76%, 比在实验室条件下获得更好的增产效果, 但加入固体三十烷醇(STA)反而减少 12%. 以上结果表明, 在极大螺旋藻培养基中添加液体三十烷醇可大幅度提高生物量和生化组成的含量.

关键词: 三十烷醇; 极大螺旋藻; 生物量; 生化组成

中图分类号: Q949.22⁺¹

文献标识码: A

文章编号: 0253-4193(2006)01-0106-05

1 引言

螺旋藻(*Spirulina*)是一种单细胞丝状微生物, 属于蓝藻门螺旋藻属. 它是目前人类已知的蛋白质含量及质量最高的食品, 被联合国粮农组织(FAO)以“人类明天最理想的食物”向全世界推荐发展螺旋藻, 此外由于具有增强人体免疫、调节生理节律以及预防疾病和促进康复等, 还被誉为 21 世纪人类最理想的保健食品^[1].

目前发现的螺旋藻约有 35 种, 用于工业化生产的有钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)和极大螺旋藻(*Spirulina maxima*). 全世界有 10 多个国家养殖螺旋藻, 国内目前年产螺旋藻干粉 2 kt 以上^[2]. 当前对螺旋藻的养殖大多采用简单低级的开放式浅水道生产系统, 效率低、易污染、生产成本低, 产品质量很难保证^[3,4], 严重地影响了螺旋藻产业的进一步发展. 因此, 如何实现螺旋藻高密度养殖, 从而提高

效率、降低其生产成本、保证质量, 是目前世界螺旋藻产业亟需解决的关键问题. 如今国际上主要通过改良培养基和生物光反应器等来提高螺旋藻的产量^[3~7].

三十烷醇(Triacontanol, 简称 TA)是一种植物生长调节剂, 已广泛应用于农作物生产并取得了显著的增产效果. 此外 TA 用于海带、裙带菜的生产, 增产 30%^[8~10], 且质量显著提高, 并可提高碘和胶的含量, 获得了明显的经济效益和社会效益. 研究表明三十烷醇能促进海带叶绿素的合成, 提高岩藻藻黄素的含量, 因而提高了光合速率, 促进海带对磷酸盐、硝酸盐的吸收, 从而提高了生物量^[11].

本文将极大螺旋藻培养在 Zarrouk 及改进的 Zarrouk(NaHCO_3 含量减半)液体培养基中, 研究了三十烷醇对螺旋藻理化特性的影响, 包括生物量、蛋白质、碳水化合物和叶绿素的含量, 以达到提高螺旋藻产量和质量、降低生产成本之目的, 从而为螺旋藻

收稿日期: 2004-03-03; 修订日期: 2004-05-31.

基金项目: 福建省政府重中之重专项基金资助项目.

作者简介: 张跃平(1971—), 男, 福建省惠安县人, 助理研究员, 学士, 从事水产养殖(鱼、虾、藻)研究和开发及底栖生态研究. E-mail: ypzhang8@126.com 或 zhangyueping2000@21cn.com

的低成本、大规模生产提供科学依据。

2 材料和方法

2.1 藻种

实验所用藻种——极大螺旋藻为本实验室保存种。藻种保存在温度(27±1)℃, 照度为3 500 lx左右, 光暗周期为12: 12。所用培养基为Zarrouk液体培养基。

2.2 培养方法及培养基成分

实验设计见表1。对照组为Zarrouk液体培养基, 实验组1为Zarrouk液体培养基加1 g/m³的三十烷醇, 实验组2为改进的Zarrouk液体培养基(即NaHCO₃的含量减少了一半)加1 g/m³的三十烷醇。培养温度为(27±1)℃, 照度为3 500 lx左右, 光暗周期比为12: 12。培养5~7 d后用孔径300 mm的筛绢过滤收集, 藻体用蒸馏水冲洗3~4次。所得藻泥在HETQ-CD2.5型冷冻干燥机上进行冷冻干燥, 藻粉称重, 并密封保存备用。

表1 三种不同培养基成分的实验设计

	对照组	实验组1	实验组2
NaHCO ₃ (g)	8	8	4
三十烷醇/g·m ⁻³	1	1
水/mL	1 000	1 000	1 000

2.3 极大螺旋藻的中试培养

实验在厦门同安凤南螺旋藻养殖基地的标准3 m³的培养池(长椭圆形开放式浅水道, 高度为60 cm, 面积为5 m²)中进行。对照组为Zarrouk液体培养基, 实验组1为Zarrouk液体培养基加1 g/m³的液体三十烷醇, 实验组2为Zarrouk液体培养基加1 g/m³的固体三十烷醇, 所用碳酸氢钠浓度皆为8 g/dm³为培养体积为1.5 m³, 培养期间天气晴朗, 培养温度约为26~33℃。培养7 d后用孔径300 mm的尼龙筛绢过滤收集, 藻泥用自来水冲洗3~4。所得藻泥在60℃烘干, 用研钵将样品磨细备用。

2.4 生化组分的提取和测定

(1) 蛋白质和碳水化合物的提取。准确称取10 mg螺旋藻干粉(LTA), 加入10 mL蒸馏水并搅拌均匀, 然后采用冻融法破碎藻细胞, 重复3次。用Virsonic475超声波细胞破碎仪破碎30 min, 使螺旋藻完全破碎。取出后在TGL-16高速台式离心机上离心30 min, 转速为10 000 r/min, 取出上清液, 用

于测定水溶性蛋白质和碳水化合物。沉淀中加入2 mL 1 mol/dm³ NaOH, 沸水浴中硝化30 min待沉淀完全溶解, 加水稀释至4 mL, 用于水不溶性蛋白质和碳水化合物的测定。

(2) 色素的提取。准确称取10 mg螺旋藻干粉(LTA), 加入10 mL丙酮溶液后搅拌均匀, 置于冰箱中24 h萃取即可。

(3) 生化组分的测定。蛋白质的测定采用Folin-酚法, 碳水化合物的测定采用硫酸-苯酚法。所有样品经比色反应后在HP8543紫外-可见分光光度计上测定光密度。采用标准曲线法确定蛋白质和碳水化合物的含量。

色素的测定采用丙酮萃取法。藻粉经丙酮萃取24 h后离心, 取上清液在HP8543紫外-可见分光光度计上测定其在630, 647, 664, 750 nm波长处的光密度值(OD), 然后将数值代入下面的公式中, 从而计算出叶绿素a, 叶绿素b, 叶绿素c的含量:

$$C_a = 11.85OD_{664} - 1.54OD_{647} - 0.08 * OD_{630};$$

$$C_b = 21.03OD_{647} - 5.43OD_{664} - 2.66 * OD_{630};$$

$$C_c = 24.52OD_{630} - 1.67OD_{664} - 7.60 * OD_{647}.$$

对所有的吸收密度值都要减去750 nm通道处的吸收值。

3 结果和讨论

3.1 三十烷醇对螺旋藻生物量的影响

在培养的前两天, 对照组与实验组生长情况差别不大, 但培养至第3天, 实验组1中的螺旋藻明显比对照组和实验组2长得好。对照组和实验组2藻体颜色为蓝绿色, 实验组1的藻体颜色为深蓝色; 实验组1中藻体分布最均匀, 对照组和实验组2有少量藻体漂浮在水面, 但是5 d后实验组1和实验组2中瓶底均有棕褐色絮状沉淀出现, 这可能是因为三十烷醇的加入使螺旋藻生长旺盛, 代谢速度加快, 从而使有些藻体死亡、解体。

图1为三十烷醇对极大螺旋藻生物量的影响。在第一批培养中, 对照组中的螺旋藻生物量为1.017 65 g(干质量), 实验组1中螺旋藻生物量为1.268 45 g, 增产率高达24.6%, 实验组2中的螺旋藻生物量为1.067 75 g, 增产率达到4.92%。同样, 在第二批培养中, 实验组1和实验组2中的螺旋藻生物量的增产率分别为25.7%和3.94%。由此可得改进的Zarrouk培养液1中的螺旋藻生物量的增产率平均为25.15%, 改进的Zarrouk培养液2中的螺

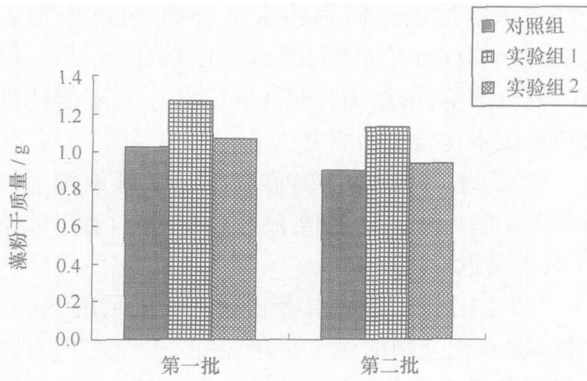


图 1 三十烷醇对螺旋藻生物量的影响

螺旋藻生物量的增产率平均为 44.3%。从以上数据可知,在培养液中加入三十烷醇后,螺旋藻生物量明显提高了,在改进的 Zarrouk 培养液 2 中,即使 NaHCO_3 的含量减少了一半,但由于加入了三十烷醇,螺旋藻生物量也较对照组高。从以上数据可知,在培养液中加入三十烷醇后,螺旋藻生物量明显提高了,在改进的 Zarrouk 培养液 2 中,即使 NaHCO_3 的含量减少了一半,但由于加入了三十烷醇,螺旋藻生物量也较对照组高。这是由于三十烷醇作为一种植物生长调节剂,在实践使用中最适浓度为 $1 \text{ g/m}^3 \sim 5 \text{ g/m}^3$,本实验所采用的三十烷醇浓度为 1 g/m^3 ,用在两种改进的 Zarrouk 培养液中,它均提高了螺旋藻的生物量,其中的原因可能是三十烷醇促进了叶绿素的合成,提高了光合速率,促进对磷酸盐、硝酸盐的吸收,因而提高螺旋藻生物量。三十烷醇这种具有多种生理效应从而达到增产效果的特点在相关的文献已有报道。如 Debata 等^[14] 在水稻生长中对 TA 促进光合作用作了报道;陈敬祥等^[13] 用 TA 处理叶绿体发现有提高光合磷酸化的效应;Hungarter 等^[12] 发现 TA 能使几种植物在组织培养中促进细胞分裂;姚南瑜等^[11] 研究得知 TA 促进海带对营养盐(磷酸盐和硝酸盐)的吸收及可使海带体内核酸含量增加。虽然在国内在螺旋藻养殖中的增产效应并未被报道,但从上面的数据可推断:TA 对螺旋藻的增产效应应该与对海藻和水稻等植物的效应是相同的。由此可知,三十烷醇在提高螺旋藻生物量方面具有可适用性,因其成本较低,故而三十烷醇可用在螺旋藻培养工业以降低生产成本,提高藻类生物量。

3.2 中试培养结果

图 2 为三十烷醇对极大螺旋藻生物量的影响。加入 TA 后第 2 天下午,实验组 1 培养池水体色泽

鲜艳,藻体生长旺盛,明显优于对照组和实验组 2。未加 TA 的池得到干藻粉 207.5 g,加入固体 TA 后,藻粉干质量要低于对照组,减少了 12%,但加入液体 TA 后,藻粉干质量要远高于对照组,达 290 g,提高了近 39.76%。这主要是由于固体 TA 未经乳化处理,不能有效地溶解于培养液中,浮在培养液的表面,一定程度上影响了螺旋藻细胞的生长,导致生物量的减少,而液体 TA 能有效促进藻类细胞的生长,大幅度地提高产量。由于在螺旋藻生产基地进行中试培养,其培养的自然条件与大规模工业化生产条件完全一致,而且增产效果比实验室更明显,这进一步说明液体 TA 增产的有效性。

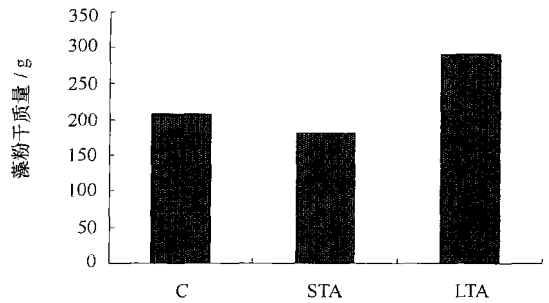


图 2 固体和液体三十烷醇对螺旋藻生物量的影响
C. 对照组; STA. 固体三十烷醇; LTA. 液体三十烷醇

3.3 三十烷醇对蛋白质含量的影响

由表 2 为可知,在二批培养实验中,加入三十烷醇后,对照组与实验组藻细胞中的蛋白质总量基本相同,但水溶性蛋白的含量明显增加(这与陈敏资等^[10] 报道 TA 能提高海带的水溶性蛋白相似),从对照组的 36% 增长至实验组的 60% 左右,而水不溶性蛋白的含量则明显减少,从 30% 左右减至 10% 左右。这说明,加入三十烷醇后,在增加螺旋藻生物量的同时,虽然对螺旋藻中的蛋白质组分(水溶性和水不溶性)的比例有一定的影响,但对总蛋白的含量并没有影响。

表 2 三十烷醇对蛋白质含量(%)的影响

	第一批培养			第二批培养		
	水溶性蛋白质	水不溶性蛋白质	蛋白质总含量	水溶性蛋白质	水不溶性蛋白质	蛋白质总含量
对照组	37	28	65	36	31	67
实验组 1	58	9	67	57	11	68
实验组 2	60	6	66	61	7	68

3.4 三十烷醇对碳水化合物含量的影响

由表 3 可知, 加入三十烷醇后, 水溶性、水不溶性及总碳水化合物的含量有不同程度的增加. 在第一批培养中, 实验组 1 和实验组 2 的碳水化合物总含量分别为 61.5% 和 56%, 对照组为 53%, 因此实验组 1 和实验组 2 中碳水化合物含量分别增长了 16% 和 5.7%, 其中水溶性均增长了 13.3%, 水不溶性实验组 1 增长了 19.6%. 在第二批培养中, 实验组 1 中碳水化合物总含量是对照组的 11.9%, 其中水溶性增长了 15.8%, 水不溶性增长了 8.8%, 而实验组 2 中碳水化合物总含量则增长了 8.3%, 水溶性和水不溶性均增长了 7.7%. 如此看来, 三十烷醇的加入不但可以增加螺旋藻生物量, 而且可以提高螺旋藻中水溶性、水不溶性及总碳水化合物的含量. 据报道, 螺旋藻中含碳水化合物 55%~61%.

表 3 三十烷醇对碳水化合物含量(%)的影响

	第一批培养			第二批培养		
	水溶性 碳水化 合物	水不溶 性碳水 化合物	碳水化 合物总 含量	水溶性 碳水化 合物	水不溶性 碳水化 合物	碳水化 合物总 含量
对照组	30	23.0	53.0	28.5	26	54.5
实验组 1	34	27.5	61.5	33.0	28	61.0
实验组 2	34	22.0	56.0	31.0	28	59.0

3.5 三十烷醇对色素 a 含量的影响

从图 3 可以看出, 在第一批培养中, 实验组 1 中的螺旋藻的叶绿素 a 含量是最高的, 为 0.36%, 而在实验组 2 和对照组中的叶绿素 a 含量接近, 分别为 0.25% 和 0.22%. 在第二批培养中同样也可以看到相同的结果. 实验组 1 中的叶绿素 a 含量最高, 这是因为实验组 1 与对照组的培养液成分相同, 只是多了 1 g/m^3 的三十烷醇, 而三十烷醇可以促进叶绿

素 a 的合成. 实验组 2 中由于 NaHCO_3 含量是对照组的一半, 在碳能和能源不足的情况下, 三十烷醇作为植物生长调节剂的加入, 叶绿素 a 的含量与对照组的含量接近, 进一步说明三十烷醇可能促进了植物光合作用和提高叶绿体光合磷酸化的效应^[12, 13]. 通过计算, 由于三十烷醇的作用, 螺旋藻中叶绿素增加率可达到 45.8%~63.3%.

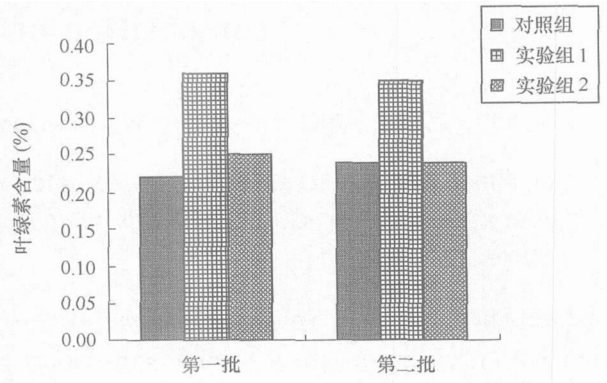


图 3 三十烷醇对色素含量的影响

4 结论

通过以上对螺旋藻生物量和生化组分的比较, 可得出如下结论: 三十烷醇作为一种植物生长调节剂, 在螺旋藻培养基中加入 1 g/m^3 , 能有效地促进螺旋藻的生长; 在螺旋藻生物量增加的同时, 螺旋藻的总蛋白质含量未受影响, 而且水溶性、水不溶性及总碳水化合物的含量有不同程度的增加, 还能促进叶绿素 a 的合成. 另外, 三十烷醇是一种有机物, 易获得, 价格低, 因而本实验可以为工业大批量生产螺旋藻、降低成本、提高生产量提供一个供选择的途径, 因而在螺旋藻培养基中用于螺旋藻工业化大批量生产是可行的, 不仅可降低成本, 还可得到高品质的藻粉.

参考文献:

- [1] 李定梅. 螺旋藻——全球人类最理想的食品[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 3-8.
- [2] 韦成礼. 国内外螺旋藻的研究和开发利用现状[J]. 广西农业大学学报, 1994, 13(4): 358-364.
- [3] 商树田. 螺旋藻的营养保健作用[J]. 植物杂志, 1995, 3: 22-23.
- [4] 商树田. 螺旋藻的培养与应用[J]. 生物学通报, 1994, 29(10): 23-24.
- [5] 李叙凤, 王长海, 温少红. 螺旋藻培养条件研究[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(4): 13-16.
- [6] 孙明芳, 郭宝江. 光生物反应器在螺旋藻大规模培养中的应用前景[J]. 水产学报, 1998, 22(2): 163-169.
- [7] 乔玉辉, 商树田. 施硒对钝顶螺旋藻品质的影响[J]. 中国农业大学学报, 2000, 5: 31-34.
- [8] 吴天明. 三十烷醇对海带生长与产量的影响[J]. 台湾海峡, 2000, 2(19): 223-227.
- [9] 陈敏资, 陈树科, 从云善, 等. 三十烷醇对裙带菜产量的影响[J]. 水产科学, 1987, (1): 12-14.

- [10] 陈敏资, 姚南瑜, 李建元. 三十烷醇对海带产量及成分的影响[J]. 海洋湖沼通报, 1987, (4): 58- 61.
- [11] 姚南瑜, 陈敏资. 三十烷醇对海带生长和生理活性的影响[J]. 水产学报, 1989, 13(2): 133- 137.
- [12] HANGARTER R, STANLEY K R. Effect of triacontanol on plant cell cultures in vitro[J]. Plant Physiol, 1978, 61: 855- 857.
- [13] 陈敬祥, 叶叙丰, 王维光, 等. 三十烷醇提高紫云英产量的生理基础[J]. 植物生理学通讯, 1982(1): 45- 47.
- [14] DEBATA A, MURTY K S. Effect of growth regulators on photosynthetic efficiency, translocation & senescence in Rice[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 1981, 19: 986- 987.

The effects of triacontanol on biomass and biochemical composition of *Spirulina maxima*

ZHANG Yue-ping¹, WANG Da-zhi², GAO Ya-hui³, CHENG Zhao-di³

(1. Fujian Institute of Oceanology, Xiamen 361012, China; 2. Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005 China; 3. Department of Biology, College of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The biomass of *Spirulina maxima* increased 24.6%~ 25.7% when being added 1 g/m³ liquid triacontanol into Zarrouk culture medium; the biomass of *Spirulina maxima* still increased 4.43%~ 4.92% even if content of NaHCO₃ in the medium was decreased half (Test 2). The content of carbohydrate increased 11.9%~ 16.0% in Test 1 and 5.7%~ 8.3% in Test 2 respectively. The content of chlorophyll a increased 45.8%~ 63.3%; the total content of protein kept invariable basically, but hydrosoluble protein was obviously improved from 36% to 60% or so, while non-hydrosoluble protein decreased from 30% to 10% or so. Moreover, 39.76% rate of increase of biomass was got when adding 1 g/m³ liquid triacontanol on a large-scale culture at *Spirulina* produce base, higher than on a little-scale at laboratory, but decreased 12% when adding solid triacontanol. So a conclusion can be obtained: the *Spirulina* biomass and biochemical composition were greatly improved when adding liquid triacontanol into the culture medium.

Key words: triacontanol; *Spirulina maxima*; biomass; biochemical composition