

文章编号:1000 - 0615(2004)06 - 0741 - 04

研究简报 ·

CO₂ 浓度对光生物反应器高效培养的 湛江叉鞭金藻和盐藻的影响

吴 垠¹, 孙建明², 孙培海¹, 张德明²

(1. 大连水产学院农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 辽宁 大连 116023;

(2. 大连汇新海洋科技发展有限公司, 辽宁 大连 116033)

关键词: 湛江叉鞭金藻; 盐藻; 光生物反应器; CO₂ 浓度; 生长; 光合作用

中图分类号: S963.21⁺3

文献标识码: A

Effects of CO₂ concentration on efficiently cultivating *Dicrateria zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp. in photobioreactor

WU Yin¹, SUN Jian-ming², SUN Pei-hai¹, ZHANG De-ming²

(1. Key Laboratory of Mariculture and Biotechnology Agriculture Ministry, Dalian Fishery University Dalian 116023, China;

2. Dalian Huixin Ocean Science & Technology Development Co. Ltd, Dalian 116033, China)

Abstract: The effects of CO₂ concentration on the growth and photosynthesis of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp. in 100 liter air lift photobioreactors were investigated. The results showed that biomass of both algae significantly increased in high CO₂ concentration (above 700 μL L⁻¹) compared to low CO₂ concentration (350 μL L⁻¹), and the culture periods were shorter. However, no significant difference as observed in growth rate when the alga cultured in CO₂ concentration of 700 μL L⁻¹ and 1000 μL L⁻¹, respectively. These for the maximum photosynthetic rate (P_m) and saturating irradiance level (I_k) of the two species remarkably raised with the elevated CO₂ concentration, so was the initial slope () of *Dunaliella* sp.

Key words: *Dicrateria zhanjiangensis*; *Dunaliella* sp.; photobioreactor; CO₂ concentration; growth; photosynthesis

随着人类对微藻需求的不断增加,微藻生产技术以及微藻作为低成本、高附加值的产业有了迅猛发展。一方面,微藻作为水产经济动物幼体的饵料,其计划性、稳定性供给是苗种培育的基础,是工厂化养殖生产最重要环节。另外,微藻中含有多种生物活性物质,因而在人类保健品、食品添加剂、饲料添加剂等方面有着巨大的市场前景。

目前,大规模的微藻培养系统主要是室内外开放式,这种粗放式培养系统存在占地面积大,培养效率低,生产

不稳定,容易污染等问题。因此,为了达到微藻培养高效、稳定的目标,许多学者开始致力于微藻培养用光生物反应器的研究,并已应用于生物工程和化工等领域^[1-5],由于封闭式培养系统中的光能转化效率高、条件易于控制,使微藻生产跨越上新水平。但这种培养方式仍面临很多需要解决的问题,如这种封闭式培养器易造成溶氧蓄积,藻体粘壁,高密度培养时 CO₂ 供应不足等。本文主要研究了在光生物反应器封闭式培养中,补充 CO₂ 对两种海洋经济

收稿日期:2003-09-02

资助项目:辽宁省教育厅重点科研项目(202130893)

作者简介:吴 垠(1962-),女,江苏宜兴人,副教授。Tel:0411-6661696, E-mail:Wuyin@dlfu.edu.cn

微藻(叉鞭金藻和盐藻)生长和光合特征的影响,为光生物反应器高效培养微藻提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用藻种

实验用海洋微藻为盐藻(*Dunaliella* sp.)和湛江叉鞭金藻(*Dicrateria zhanjiangensis*),藻种取自大连水产学院海珍品苗种基地。微藻接种到光反应器之前先在5000mL三角烧瓶用Conwey培养液进行扩大培养。

1.2 实验设备与培养方法

实验于2003年2-6月进行。微藻培养系统由9个100L气升式光生物反应器组成(大连汇新海洋科技发展有限公司制造,结构见图1),连续式水处理器提供恒温消毒海水,水温20~24。光合反应器采用自然光和人工

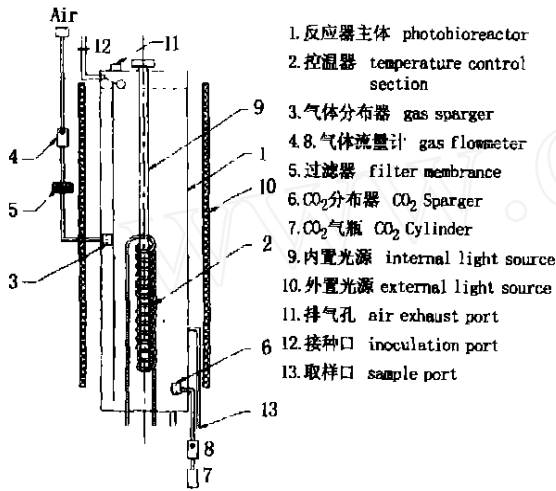


图1 微藻气升式光生物反应器系统

Fig. 1 Diagram of the air-life photobioreactor system of microalgae

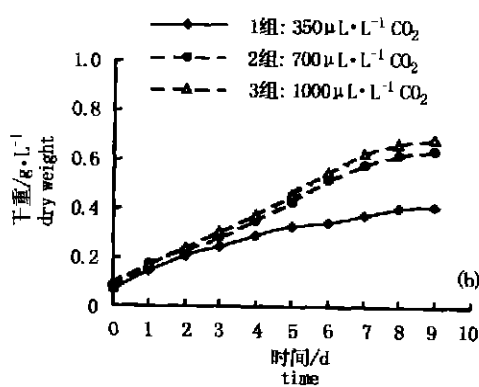
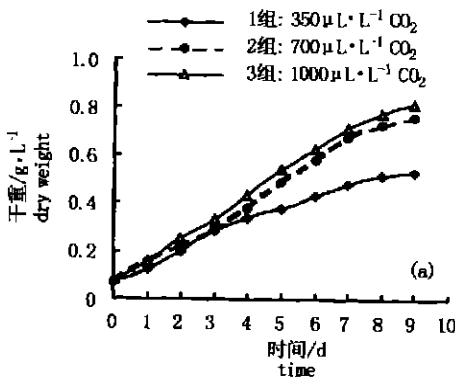


图2 CO₂对叉鞭金藻(a)、盐藻(b)生长的影响

Fig. 2 Effect of CO₂ concentration on growth of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp.

光源(日光灯、外置和内置),光强160μmol·m⁻²·s⁻¹,光暗时间比为14h:10h。设计参数由微电脑自动控制。实验分别设置3组(每组3个平行):1组为低CO₂组(通过滤空气,CO₂浓度为350μL·L⁻¹),2、3组为高浓度组(CO₂浓度分别为350μL·L⁻¹、1000μL·L⁻¹),充气量300mL·min⁻¹。

1.3 测试指标

微藻生物量的测定 每天取一定量的藻液,过滤,在80℃的烘箱恒温24h,测定干重(DW)。

光合作用对光强的响应曲线(P-I曲线)测定 将培养至第9天的藻液经离心后重新悬浮于新鲜的Conwey培养基中,调整各组藻液为相似的细胞密度值,取200mL藻液至反应瓶,通过调整碘钨灯与反应瓶的距离得到不同的光强,温度为25℃,用氧电极测定光合放氧速率^[6]。测定叶绿素(Chl-a)含量时将藻类培养液经0.45μm微孔滤膜过滤,95%丙酮萃取定容至10mL,751型分光光度计测定^[7]。

2 实验结果

2.1 CO₂对两种微藻生长的影响

光生物反应器中补充CO₂培养叉鞭金藻和盐藻的生长结果见图2。叉鞭金藻初始生物量密度为0.07~0.076g·L⁻¹,经9d培养试验(图2-a),表现为前4天,不同CO₂浓度对叉鞭金藻细胞增长未见明显差异(P>0.05),4天后,组间出现生长差异,试验1组藻细胞生物量明显低于2、3组(P<0.05),而2、3组间差异不显著(P>0.05)。

不同CO₂浓度培养盐藻的生长结果显示(图2-b),在盐藻(初始密度为0.07~0.084g·L⁻¹)培养的前3天,各组微藻生长速度相似,组间生物量差异不明显(P>0.05),后随时间推移,试验1组生长缓慢,其它两组生长迅速,第9天的结果表明,试验2、3组微藻生物量明显高于1组(P<0.05),但是2、3组之间差异不显著(P>0.05)。

2.2 CO₂ 对两种微藻光合作用的影响

不同 CO₂ 浓度条件下培养的叉鞭金藻和盐藻的 P-I 曲线及相关参数见图 3、表 1, 随着 CO₂ 浓度增加, 两种微藻的最大光合速率(P_m)值均明显升高(组间差异显著, $P < 0.05$), 叉鞭金藻最高可达 $365.5 \mu\text{molO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \text{chla} \cdot \text{h}^{-1}$, 盐藻最高可达 $623.4 \mu\text{molO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \text{chla} \cdot \text{h}^{-1}$, 光合作用

效率()在盐藻表现为充空气组(1 组)明显低于高 CO₂ 组 ($P < 0.05$), 而叉鞭金藻在组间差异不显著。两种微藻的光合作用饱和光强(I_k)具有相似的变化趋势, 即高 CO₂ 组(浓度为 $700 \sim 1000 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$)出现 I_k 值增高的现象, 由此可见, 不同 CO₂ 浓度影响微藻的光合作用, 而且微藻种类不同对于光合作用的影响力有差异。

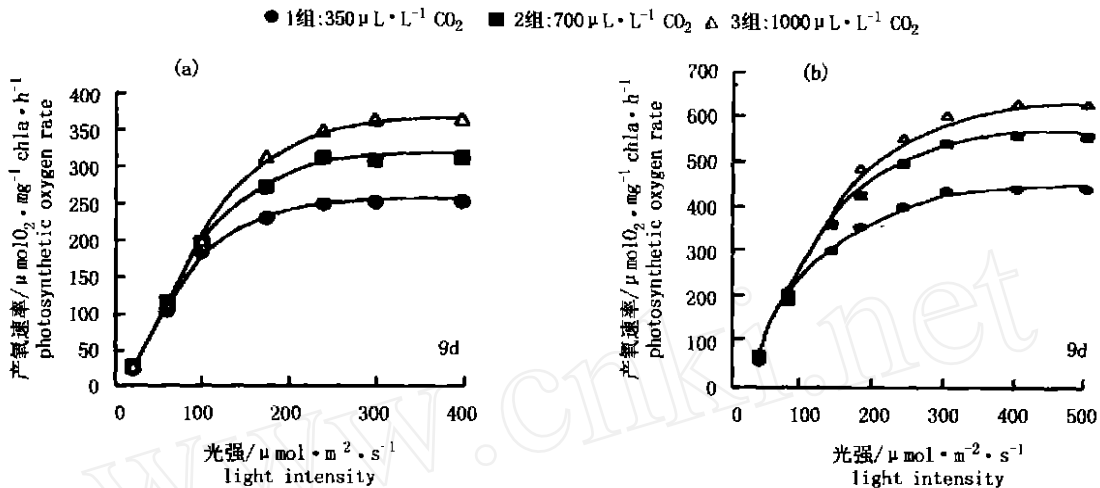


图 3 不同 CO₂ 浓度下叉鞭金藻(a)和盐藻(b)的光合作用—光反应曲线(P-I 曲线)

Fig. 3 Light response curves of photosynthetic oxygen evolution rate of *Dicteria zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp. cultured in different CO₂ concentration

表 1 叉鞭金藻光合作用 - 光反应曲线参数 (n = 3)

Tab. 1 Parameters for photosynthetic-light response (P-I) curves of *Dicteria zhanjiangensis* and *Dunaliella* sp.

	叉鞭金藻 <i>Dicteria zhanjiangensis</i>			盐藻 <i>Dunaliella</i> sp.		
	P _m	I _k		P _m	I _k	
1 组	251.5 ± 2.1a	1.97 ± 0.10a	145.60 ± 7.3a	449.5 ± 4.6a	2.56 ± 0.08a	208.4 ± 8.4a
2 组	321.3 ± 2.8b	2.15 ± 0.21a	159.75 ± 3.2b	562.5 ± 3.5b	2.93 ± 0.11b	217.5 ± 4.3b
3 组	365.5 ± 2.4c	2.14 ± 0.22a	165.44 ± 6.2b	623.4 ± 11.2c	3.05 ± 0.10b	226.4 ± 7.1b

单位(unit): P_m: $\mu\text{molO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \text{chla} \cdot \text{h}^{-1}$; I_k: $[\mu\text{molO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \text{chla} \cdot \text{h}^{-1}] \cdot [\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}]^{-1}$; I_k: $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

3 讨论

在光生物反应器全封闭培养叉鞭金藻和盐藻时, 补充高浓度 CO₂ ($700 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上) 可明显提高实验微藻的生物量, 并使培养周期缩短。胡晗华和高坤山^[6] 在对于牟氏角毛藻的研究中发现, CO₂ 浓度倍增可促进其生长, 使藻细胞的干重显著增大, 而且这种促进作用主要反映在对数生长期末和生长稳定期。我们的结果也显示, 在培养初期, CO₂ 对于两种微藻的生长影响不显著, 随着培养时间的延长, 高 CO₂ 浓度对叉鞭金藻和盐藻生物量的影响明显增大。这表明在培养初期细胞生物量低, 培养液中的 CO₂ 浓度尚未构成藻细胞生长的限制因子, 但随着细胞数量的增加, 对 CO₂ 需求量加大, 此时较低浓度的 CO₂ (如充

气状态) 已严重制约了微藻的生长, 成为光生物反应器培养藻类的限制因子。本实验中, 叉鞭金藻和盐藻在 2 组高浓度 CO₂ 培养液中未见生长方面的明显差异, 说明微藻对于 CO₂ 的需求有饱和现象, 超过其饱和浓度对于生长没有促进作用。相反, Lee 和 Tay^[8] 的研究表明 CO₂ 浓度太高, 还会降低蛋白核小球藻的生长速度。

CO₂ 是植物光合作用的底物, 又是光合作用的主要限制因子之一。藻类光合作用时首先由核酮糖二磷酸羧化酶(rubisco) 将 CO₂ 固定, 再经过卡尔文循环合成有机物。所以微藻生长环境中 CO₂ 浓度升高可在两方面影响其光合作用, 一方面增加了 CO₂ 对 rubisco 酶结合位点的竞争从而提高羧化速度; 另一方面通过抑制光呼吸提高净光合效率^[9]。本实验结果显示, CO₂ 浓度升高可以显著提

高两种微藻的最大光合速率和光合作用饱和光强,并使盐藻的光合作用效率(值)明显升高,这一结果与 Shelp 和 Canvin^[10]、Watanabe 和 Sajki^[11]的研究中认为小球藻能够有效利用外源 CO₂ 而提高细胞光合作用的结论相一致,说明补充 CO₂ 可以提高微藻对于光能的利用和转化,提高光合作用效率,为光合碳同化提供充足的能量,进而导致微藻营养成分的积累。

参考文献:

- [1] Liu J M, Li Y G, Zhang S L. Studies on the cultivation of *Spirulina platensis* in tubular photobioreactor [J]. Chin J Biotech, 1999, 15(4):525 - 528. [刘晶麟,李元广,张嗣良. 用管式光生物反应器培养螺旋藻的研究[J]. 生物工程学报,1999,15(4):525 - 528.]
- [2] Sun J M, Wu Y, Gui Y M. *et al.* A experimental study on enclosed and continuous culture of marine microalgae [J]. Fisheries Science, 2003, 22(3):22 - 24. [孙建明,吴垠,桂远明,等. 海洋微藻全封闭、连续式培养初步试验[J]. 水产科学,2003,22(3):22 - 24.]
- [3] Zitelli G C, Lavista F, Bastianini A, *et al.* Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors[J]. J Biotech, 1999,70: 299 - 312.
- [4] Luo H P, kemoun A, Sevilla J M. Analysis of photobioreactor for culturing high-value microalgae and cyanobacteria via an advanced diagnostic technique: CARPT[J]. Chem Engin Sci, 2003,58(12): 2519 - 2528.
- [5] Li J, Xu N S, Su W W, *et al.* Online estimation of stirred-tank microalgal *Photobioreactor* cultures based on dissolved oxygen measurement[J]. J Bio Engin, 2003,14(1):51 - 66.
- [6] Hu H H, Gao K S. Effects of doubled atmospheric CO₂ on the growth and photosynthesis of *Chactoceros muelleri* [J]. Acta Hydrobio Sin, 2001,25(6):635 - 639. [胡晗华,高坤山. CO₂ 浓度倍增对牟氏角毛藻生长和光合作用的影响[J]. 水生生物学报,2001,25(6):635 - 639.]
- [7] Jensen A. Handbook of physiological methods[M]. New York: Cambridge University Press,1978.59 - 70.
- [8] Lee Y K, Tay H S. High CO₂ partial pressure depresses productibity and bioenergetic growth yield of *Chlorella pyrenoidosa* culture[J]. J Appl Phycol,1991,3:95 - 101.
- [9] Kirk J T. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems[M]. Cambridge Univ Press, 1983.101 - 105.
- [10] Shelp B J, Canvin D T. Utilization of exogenous inorganic carbon species in photosynthesis by *Chlorella pyrinoidosa* [J]. Plant Physi, 1980, 65:774 - 779.
- [11] Watanabe Y, Sajki H. Development of a photobioreactor incorporating *Chlorella* sp.for removal of CO₂ in stack gas[J]. Energy Convers Mgmt, 1997, 38:499 - 503.