

充气方式对盐藻生长、细胞营养成分及 氮磷营养盐利用的影响

滕怀丽, 黄旭雄*, 周洪琪, 华雪铭, 杨志刚, 冷向军
(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 研究摇瓶、连续充气、补充二氧化碳气体(CO₂)3种充气方式对盐藻生长、氮、磷营养盐利用及藻细胞蛋白质和脂肪含量、氨基酸和脂肪酸组成的影响。结果表明,培养5 d后,连续充气组细胞密度为 $(1.62 \pm 0.40) \times 10^7$ ind/mL,显著高于其它实验组。在培养前3天盐藻主要利用细胞贮存的氮进行生长繁殖,之后主要依靠吸收培养液中的N来维持生长。盐藻细胞能迅速吸收培养液中的P,并贮存在细胞内以备生长繁殖之用。充气方式影响盐藻对培养液中N的吸收,培养3 d后,连续充气组培养液中N水平显著低于其它实验组。充气方式不影响盐藻对培养液中P的吸收。连续充气组藻细胞总脂、粗蛋白、氨基酸及必需氨基酸含量显著低于其它实验组。连续充气组藻细胞中多不饱和脂肪酸占总脂肪酸百分含量显著高于其它实验组。以上结果表明,充气方式不但影响盐藻的生长,还影响其细胞的营养组成,连续充气组生长性能提高,氨基酸营养价值降低,脂肪酸营养价值升高。

关键词: 盐藻; 充气; 生长; 总氮; 总磷; 总脂; 粗蛋白; 脂肪酸; 氨基酸

中图分类号: S 917.3

文献标识码: A

盐藻(*Dunaliella salina*)又称杜氏盐藻,耐高盐、易培养,其蛋白质含量可高达40%^[1],β-胡萝卜素含量可达10%^[2],脂肪含量可达干重的30%^[3-4],是鱼虾贝的重要饵料微藻,在国内外水产动物种苗培育中广泛使用。作为水产动物的饵料,微藻生物量及其营养组成影响养殖动物的生长发育。因此,在评价微藻应用价值时,其生物量和营养价值是重要指标。微藻的生物量及其营养价值受环境因素、生长阶段和培养方式等影响^[5-12]。CO₂为影响微藻生长增殖的环境因子之一,作为微藻光合作用的重要底物,培养液中CO₂含量过低会抑制微藻生长及营养物质合成。向培养液中补充CO₂形式有搅拌、连续充空气和补充含1%~5%二氧化碳的空气。张丽莉等^[13]以连续充气方式补充CO₂能够延长光生物反应器中小球藻的指数生长期,徐芳等^[14]认为补充CO₂能提高微绿球藻生物量。也有研究发现,充气影响微藻脂肪酸组成^[15-18]。吴垠等^[7]认为CO₂浓度影

响光生物反应器中盐藻的培养效果。有关不同的CO₂补充方式对盐藻生长、细胞组成及其对水体中N、P吸收影响尚未见报道。本文研究了摇瓶、连续充气 and 定时补充CO₂3种充气方式对盐藻生长、藻细胞生化组成及其对氮磷营养盐利用的影响,为盐藻的高效培养及改善盐藻营养价值和应用价值提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

盐藻由上海海洋大学生物饵料研究室提供。

1.2 实验设计及微藻培养

实验设人工摇瓶(A)组(早中晚各摇瓶1次,每次正反各摇10下)、补充CO₂(B)组(早中晚各摇瓶1次,每次正反各摇10下,并补充500 mL/min CO₂气体1 min)和连续充空气(C)组(充气量为500 mL/min)3个处理组。每组设3个平行。

微藻的培养在光照培养箱中进行,在1 L三

收稿日期:2009-05-04 修回日期:2010-04-07

资助项目:上海市农委重点攻关项目(沪农科攻字2005第4-4号);上海市重点学科建设项目(Y1101)

通讯作者:黄旭雄,E-mail:xxhuang@shou.edu.cn

角烧瓶中以 1:3 比例接种,接种密度为 $(2.17 \pm 0.02) \times 10^6$ ind/mL。培养液为浓缩海水中添加 NaNO_3 0.1 g/L、 K_2HPO_4 0.05 g/L 及 f/2 微量元素母液 1 mL/L,培养温度、盐度、光周期及光照强度分别为 27 °C、60、24 L:0D、3 500 lx。

1.3 样品采集及测定

培养过程中每天取样测定细胞密度及培养液的 N、P 浓度。

藻细胞密度用血球计数板计数。盐藻生长率计算公式如下:

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

式中, N_0 、 N_t 分别为起始和终止时的藻细胞密度, T 为培养时间。

藻液经 0.22 μm 滤膜过滤即得培养液。培养液与藻液的 TN 含量采用过硫酸钾-紫外分光光度法测定,TP 采用钼锑抗法测定。单个细胞中 TN、TP 含量通过差减法和细胞密度计算获得。

培养第 7 天,全部藻液用冷冻离心机(8 000 r/min,4 °C)离心采收,藻泥经 -42 °C 冷冻干燥后用于分析营养组成。粗蛋白用 KDN-04 定氮仪测定,总脂肪用氯仿-甲醇法测定。样品经盐酸水解后用氨基酸自动分析仪测定,脂肪酸经苯-石油醚甲酯化后在 HP6890A 型气相色谱仪上分析,并用归一化法计算脂肪酸的百分含量^[19]。氨基酸测定设 2 个重复,其余指标测定设 3 个重复。

1.4 数据统计

实验结果均用平均值 \pm 标准差表示。数据均用 SPSS 11.5 进行 One-Way ANOVA 分析,并进行 Duncan 氏多重比较。

2 结果

2.1 不同充气方式下盐藻细胞生长情况

培养 0~1 d 为延缓期,第 2 天进入指数生长期,第 6 天为静止期,第 5 天细胞密度最高,组 A、组 B、组 C 的细胞密度分别为 $(9.99 \pm 0.25) \times 10^6$ ind/mL、 $(10.73 \pm 0.40) \times 10^6$ ind/mL 和 $(16.23 \pm 0.40) \times 10^6$ ind/mL(图 1)。

充气方式对盐藻的生长具有显著影响。从培养第 3 天开始,组 C 的细胞密度显著高于组 A 和组 B ($P < 0.05$),其指数生长期较其他组长(图 1),组 C 盐藻细胞的平均生长率为 (0.29 ± 0.01) ,显著高于组 A (0.22 ± 0.01) 和组 B (0.23 ± 0.01) ,A、B 两组的平均生长率无显著差异 ($P > 0.05$)。

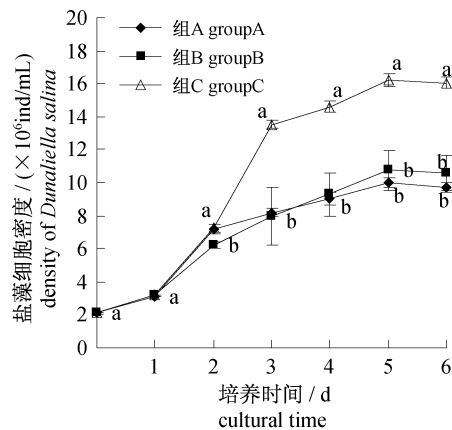


图 1 不同充气方式下盐藻细胞生长曲线

不同组同一天的数值上标不同字母表示差异显著。下同。

Fig. 1 Growth curves of *D. salina* under different bubbling modes

Data of different treatments in the same day super-marked with different letters means significant different ($P < 0.05$). The same as the following.

2.2 不同充气方式下盐藻培养液中 TN、TP 含量变化情况

培养液的 TN 含量 培养液中 TN 含量先缓慢下降,接着快速下降,最后趋于平稳。培养前 3 天,充气方式对培养液的 TN 含量无显著影响 ($P > 0.05$)。从第 4 天开始,充气方式对水体的 TN 含量影响显著,C 组培养液的 TN 含量显著低于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$),A 组和 B 组培养液中 TN 含量无显著性差异 ($P > 0.05$)(图 2)。

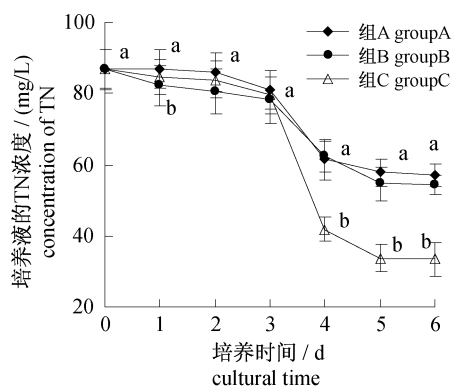


图 2 不同充气方式下盐藻培养液 TN 浓度变化

Fig. 2 Variations of total nitride concentration in the culture mediums of *D. salina* under different bubbling modes

培养液的 TP 含量 A、B、C 3 组培养液中 TP 含量变化趋势基本一致(图 3)。培养前 2 天,

培养液中 TP 含量迅速下降,之后培养液中 TP 含量下降缓慢。培养期间,仅培养 1 d 时 A 组培养液中的 TP 含量显著高于 B、C 两组 ($P < 0.05$); 在其他培养时间,充气方式对水体 TP 含量无显著影响 ($P > 0.05$)。

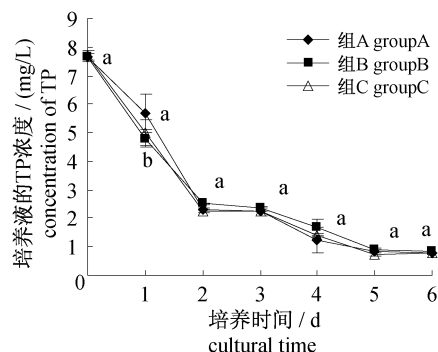


图3 不同充气方式下盐藻培养液 TP 浓度
Fig. 3 Variations of total phosphorous concentration in the culture mediums of *D. salina* under different bubbling modes

2.3 不同充气方式下盐藻细胞中 TN、TP 含量变化情况

随着培养的进行,盐藻细胞的 TN 含量先降低后升高(图4)。实验 0~3 d,盐藻细胞的 TN 含量从实验开始时的(3.77~3.78) pg/ind 降至第 3 天的(0.73~1.26) pg/ind ($P < 0.05$)。3~4 d,细胞的 TN 含量迅速上升,第 4 天升至(3.56~3.74) pg/ind ($P < 0.05$)。4~6 d,细胞中 TN 含量变化趋于平稳 ($P > 0.05$)。

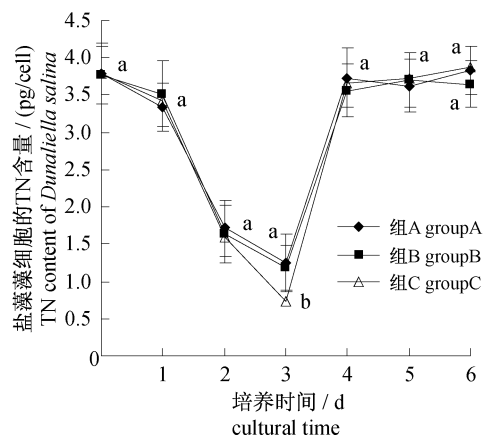


图4 不同充气方式下盐藻细胞中 TN 含量
Fig. 4 Variations of total nitride concentration in the cell of *D. salina* under different bubbling modes

充气方式对培养 3 d 的盐藻细胞的 TN 含量有显著性影响 ($P < 0.05$), C 组藻细胞的 TN 含量显著低于其它组 ($P < 0.05$)。在培养的 1、2、4、5、6 d,充气方式对盐藻细胞 TN 含量均无显著性影响 ($P > 0.05$)。

藻细胞的 TP 含量 随着培养的进行,盐藻细胞的 TP 含量均先升高再降低(图5)。培养 0~1 d 细胞的 TP 含量迅速上升,从实验开始时的(0.80~0.81) pg/ind 上升至第 1 d 的(1.43~1.53) pg/ind; 1 d 之后 A、B、C 3 组藻细胞 TP 含量迅速下降,2 d 之后 A 组和 B 组藻细胞 TP 含量下降幅度较 C 组小,3 d 之后,各组藻细胞 TP 含量趋于平稳。

在培养 0~2 d,充气方式对藻细胞 TP 含量无显著性影响 ($P > 0.05$)。3~6 d,充气方式对藻细胞 TP 含量有显著影响 ($P < 0.05$), C 组藻细胞的 TP 含量显著低于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$), A 组和 B 组藻细胞 TP 含量也有显著差异 ($P < 0.05$)。

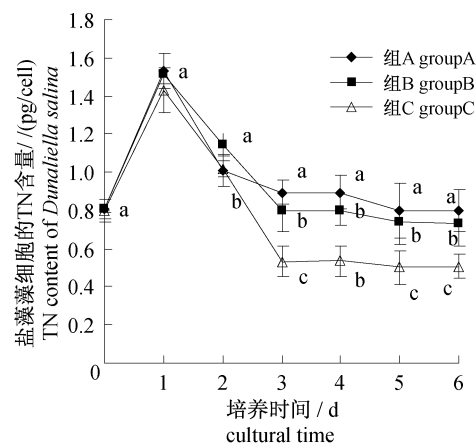


图5 不同充气方式下盐藻细胞中 TP 浓度
Fig. 5 Variations of total phosphorous concentration in the cell of *D. salina* under different bubbling modes

2.4 不同充气方式下盐藻脂肪含量及脂肪酸组成的影响

充气方式对盐藻细胞中的脂肪含量有显著影响, A 组、B 组和 C 组的盐藻细胞脂肪含量分别为干重的 $9.52\% \pm 0.32\%$ 、 $9.95\% \pm 0.56\%$ 和 $7.97\% \pm 0.45\%$ 。C 组的脂肪含量显著低于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$)。A 组和 B 组的脂肪含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。

盐藻的脂肪酸组成中多不饱和脂肪酸 (PUFA) 含量最高(表 1), 其中以亚油酸 (C18:

2n-6)和亚麻酸(C18:3n-3)的含量最高,分别为总脂肪酸的16.66%~19.79%和16.71%~19.00%;未检测到EPA和DHA。盐藻的饱和脂肪酸(SFA)中以C16:0含量最高,为20.01%~21.88%。

充气方式对盐藻的脂肪酸组成有显著影响。A组盐藻的SFA含量显著高于B组和C组($P < 0.05$),B组和C组的SFA含量无显著性差异($P > 0.05$)。C组藻细胞中单不饱和脂肪酸(MUFA)含量显著低于A组和B组($P < 0.05$),而PUFA含量显著高于A组和B组($P < 0.05$),且A、B两组藻细胞PUFA含量无显著性差异($P > 0.05$);C组的亚油酸含量最高、A组次之、B组最低,3组之间均有显著差异($P < 0.05$);B组的亚麻酸含量最高、C组次之、A组最低,3组之间均有显著差异($P < 0.05$)。

表1 不同充气下培养的盐藻脂肪酸组成(%总脂肪酸)
Tab.1 Fatty acid compositions of *D. salina* under different bubbling modes %

脂肪酸 fatty acid	组 A group A	组 B group B	组 C group C
C12:0	0.28 ± 0.01 ^b	0.33 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.03 ^b
C13:0	0.66 ± 0.03 ^b	0.87 ± 0.05 ^a	0.66 ± 0.01 ^b
C14:0	0.62 ± 0.03 ^a	0.37 ± 0.01 ^c	0.56 ± 0.01 ^b
C16:0	21.88 ± 0.19 ^a	20.01 ± 0.10 ^c	21.35 ± 0.04 ^b
C18:0	0.92 ± 0.01 ^a	0.94 ± 0.01 ^a	0.81 ± 0.01 ^b
SFA	24.36 ± 0.19 ^a	22.52 ± 0.15 ^b	23.66 ± 0.01 ^b
C14:1n7	11.72 ± 0.15 ^a	11.94 ± 0.13 ^a	11.10 ± 0.19 ^a
C16:1n7	0.85 ± 0.01 ^a	0.77 ± 0.02 ^b	0.78 ± 0.01 ^b
C16:1n5	3.55 ± 0.28 ^a	3.41 ± 0.03 ^a	3.34 ± 0.02 ^a
C18:1n9	7.81 ± 0.07 ^a	7.02 ± 0.09 ^b	6.73 ± 0.03 ^b
C18:1n7	3.60 ± 0.02 ^a	2.96 ± 0.08 ^b	2.89 ± 0.01 ^b
MUFA	23.98 ± 0.16 ^a	22.69 ± 0.27 ^b	21.50 ± 0.16 ^c
C16:2	1.40 ± 0.01 ^c	2.93 ± 0.07 ^a	2.39 ± 0.01 ^b
C16:3	3.34 ± 0.01 ^a	0.86 ± 0.01 ^c	1.52 ± 0.01 ^b
C18:2n6	18.61 ± 0.16 ^b	16.66 ± 0.11 ^c	19.79 ± 0.09 ^a
C18:3n3	16.71 ± 0.47 ^c	19.00 ± 0.07 ^a	17.64 ± 0.08 ^b
PUFA	41.20 ± 0.64 ^b	40.00 ± 0.44 ^b	43.80 ± 0.16 ^a
其他	6.91 ± 1.02 ^a	10.89 ± 1.21 ^b	9.06 ± 0.97 ^b

注:同一行中上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Data in the same line super-marked with different letters are significantly different($P < 0.05$).

2.5 不同充气方式下盐藻粗蛋白含量及氨基酸组成的影响

A组、B组和C组的盐藻粗蛋白含量分别为干重的37.64% ± 0.80%、37.78% ± 1.08%和30.98% ± 0.95%。充气方式对盐藻细胞中粗蛋白含量有显著影响,C组的粗蛋白的含量显著低

于A组和B组($P < 0.05$)。A组和B组的粗蛋白含量无显著性差异($P > 0.05$)。

盐藻的17种氨基酸(表2)中,含量高的氨基酸为Arg、Glu、Ala和Asp,含量低的氨基酸为Met和His。

充气方式对盐藻的氨基酸含量有显著影响($P < 0.05$)。C组的氨基酸总量(124.80 mg/g)显著低于A组(293.60 mg/g)和B组(305.41 mg/g);C组9种鱼虾必需氨基酸总量(62.83 mg/g)显著低于A组(156.56 mg/g)和B组(160.31 mg/g)($P < 0.05$)。A组的Thr、Glu、His、Met和Lys含量显著低于B组($P < 0.05$),A组的Arg含量显著高于B组($P < 0.05$),A组与B组的Ile、Leu、Phe、Val含量无显著差异($P > 0.05$)。

表2 不同充气下培养的盐藻氨基酸含量(mg/g干物质)
Tab.2 Amino acid contents of *D. salina* under different bubbling modes mg/g DW

氨基酸 amino acid	A组 group A	B组 group B	C组 group C
Tau	0.33 ± 0.01 ^b	0.33 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.02 ^b
Asp	24.51 ± 0.53 ^c	25.58 ± 1.05 ^a	12.04 ± 0.55 ^b
Thr	11.92 ± 0.78 ^b	12.58 ± 0.29 ^a	5.76 ± 0.43 ^c
Ser	10.51 ± 0.19 ^c	11.21 ± 0.98 ^a	5.01 ± 0.04 ^b
Glu	43.9 ± 1.33 ^b	46.95 ± 1.24 ^a	19.67 ± 0.56 ^c
Gly	15.13 ± 0.76 ^a	15.82 ± 0.66 ^a	7.09 ± 0.43 ^b
Ala	24.54 ± 0.98 ^b	25.50 ± 0.77 ^a	11.27 ± 0.71 ^c
Val	15.12 ± 0.45 ^a	15.44 ± 0.73 ^a	7.05 ± 0.43 ^b
Met	2.52 ± 0.28 ^b	4.31 ± 0.03 ^a	1.46 ± 0.02 ^c
Ile	10.6 ± 0.07 ^a	10.69 ± 0.09 ^a	4.79 ± 0.03 ^b
Leu	22.85 ± 0.87 ^a	23.61 ± 0.98 ^a	10.52 ± 0.45 ^b
Tyr	9.67 ± 0.46 ^b	10.01 ± 0.47 ^a	4.09 ± 0.16 ^c
Phe	14.55 ± 0.85 ^a	15.12 ± 0.67 ^a	7.21 ± 0.21 ^b
His	6.07 ± 0.05 ^a	6.32 ± 0.03 ^a	2.29 ± 0.01 ^b
Lys	15.47 ± 0.56 ^b	16.22 ± 0.2 ^a	6.37 ± 0.27 ^c
Arg	53.02 ± 1.47 ^a	51.13 ± 1.07 ^b	14.66 ± 0.88 ^c
Pro	13.22 ± 0.64 ^a	13.92 ± 0.44 ^a	5.52 ± 0.16 ^b
TEAA *	156.56 ± 0.82 ^b	160.31 ± 0.83 ^a	62.83 ± 0.61 ^c
TAA **	293.60 ± 1.02 ^b	305.41 ± 1.21 ^a	124.80 ± 0.97 ^c

注:* TEAA包括:9种氨基酸,Thr,Val,Met,Leu,Ile,Phe,His,Lys,Arg,Trp在水解过程中被破坏。]**总氨基酸中不含牛磺酸。

Notes: * The essential amino acids contain Thr,Val,Met,Leu,Ile,Phe,His,Lys and Arg. Trp was destroyed during hydrolysis.

** taurine is not contained in the total amino acids.

3 讨论

3.1 充气培养对盐藻生长的影响

盐藻是一种光能自养的微藻,需要无机碳作为碳源,多以CO₂形式提供。溶解在水体中的

CO₂一方面可以为微藻生长提供碳源,另一方面可以调节水体 pH。本实验中连续充气组的盐藻生物量最高,这与 Fábregas 等^[9]对盐藻的研究结果一致,其原因可能是连续充气能够使培养液充分混合、增加培养液的 CO₂ 含量^[8],利于微藻生长。在人工培养的情况下,由于密度高,造成培养液中溶解 CO₂ 含量降低。因此,需要向培养液中补充 CO₂ 来平衡培养液中 CO₂ 含量,提高藻细胞密度。补充 CO₂ 主要有搅拌、充空气和补充含 1%~5% 二氧化碳的空气等 3 种形式。其中以补充混合空气的效果最好^[20]。然而,向培养液中补充 CO₂,要有一定的限量,CO₂ 通入量过高对藻细胞也有毒害作用^[20]。海洋微藻对 CO₂ 的利用和吸收能力有一定的限度,过量的 CO₂ 会降低培养液的 pH 值,抑制藻细胞的生长^[14]。本实验中直接补充 CO₂ 可能使盐藻培养液中 CO₂ 含量过高,抑制盐藻生长。

3.2 充气培养对盐藻的氮磷营养盐利用影响

盐藻富含 N、P 等营养物质,其含量与其对 N、P 同化率呈正相关^[21]。微藻对水体中硝酸盐的吸收遵循 Michalis-Menten 酶动力模型^[22],其吸收速率随着底物浓度的增加而增加,当底物浓度达到一定数量后,吸收速率会逐渐趋向某一常数。本实验盐藻的指数生长期早于培养液中 TN 含量迅速下降期。原因可能是微藻可以首先利用 NH₄⁺,而 NO₃⁻-N 只有在硝酸还原酶的作用下转化为 NH₄⁺-N 才可以被微藻利用^[22],NO₃⁻-N 转化 NH₄⁺-N 为耗能过程^[23]。因此,盐藻在从延缓期进入指数生长期时,不是直接吸收利用水体中的无机 N 来合成细胞分裂所需的营养物质,而是首先利用母细胞贮存的 N 来进行细胞分裂。刘东艳等^[24]对球等鞭金藻的研究结果显示,球等鞭金藻从延缓期进入指数生长期时藻细胞的 N 含量即呈现短暂的高峰,这种差异是否因藻种而起有待进一步研究。本实验培养液中的 TP 含量变化趋势与 TN 不同,培养液中的 TP 含量在实验开始时就迅速下降,与郝建欣等^[25]对盐藻的研究结果相似。在自然水域中 P 为微藻生长的限制因子,长期进化形成的应对缺 P 的生理机制使得微藻能迅速吸收周围环境中的可利用 P^[26]。导致藻细胞的 TP 含量迅速上升,随着培养时间的延长,藻生长进入指数生长期,水体的可利用 P 含量减少,随着藻细

胞密度增加,其细胞的 TP 含量逐渐下降。

3.3 充气培养对盐藻营养组成的影响

微藻作为虾、蟹、贝幼体及仔稚鱼的生物饵料生物饵料能否满足其营养需求,主要取决于微藻的生化组成及幼体的营养需求。脂类是水产动物特别是其幼体能量的主要来源,因此,饵料微藻的脂肪含量尤为重要。本实验盐藻细胞的脂肪含量与王铭等^[27]对盐藻的研究结果相似,但是,显著低于其他学者对盐藻脂肪含量的报道^[3-4,28]。本实验盐藻的蛋白质含量也低于相关文献报道^[29]。推测与本实验培养盐藻用海水盐度高(60),采收时藻粉中矿物盐未清洗干净有关。

本实验连续充气组的总脂肪及粗蛋白含量显著低于其它组,可能是因为连续充气组盐藻细胞密度最高,其藻细胞的能量首先用来生长^[30],导致连续充气组藻细胞中总脂肪和粗蛋白等营养物质含量显著低于其它实验组。因此,在实际生产中可以通过适当延长培养时间的方式提高连续充气组藻细胞中总脂肪、粗蛋白及氨基酸含量。

盐藻富含 C18:2n-6、C18:3n-3,占总脂肪酸含量的 35% 以上,但是无 EPA 和 DHA^[25,27-28]。该结果与王铭等^[27]和俞建江等^[4]报道相似。C18:2n-6、C18:3n-3、C20:5n-3 和 C22:6n-3 是水产动物的必需脂肪酸,鉴于淡水鱼类可以将 n-3 脂肪酸去饱和和延长碳链,即可以利用亚油酸和亚麻酸合成 EPA 和 DHA;海水鱼虾不能合成或合成 EPA 和 DHA 的能力有限,需要由饲料提供。因此,盐藻作为海水鱼虾幼体饵料时需要适当补充 EPA 和 DHA。充气方式影响盐藻脂肪酸组成,连续充气组 PUFA 含量显著高于其它实验组。从提供多不饱和脂肪酸角度看,以连续方式培养的盐藻作为水产动物饵料优于其它实验组培养的盐藻。

参考文献:

- [1] 吴南君. 培养耐盐的杜氏盐藻的生物技术[J]. 生物技术通报,1992,8(5):1-3.
- [2] 郭金耀,杨晓玲. 锰对盐藻生长与物质积累的调控作用[J]. 水产科学,2008,27(3):148-150.
- [3] 蒋霞敏,郑亦周. 14 种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究[J]. 水生生物学报,2003,27(3):243-247.
- [4] 俞建江,李荷芳,周汉秋. 10 种海洋微藻总脂、中性脂和极性脂的脂肪酸组成[J]. 水生生物学报,

- 1999,23(5):481-487.
- [5] 朱松玲,王怡洁. 盐度变化对杜氏盐藻的游离氨基酸和脂肪酸含量的影响[J]. 海洋科学,2005,(3):8-11.
- [6] 郭金耀,杨晓玲. 磷酸盐对盐藻生长与物质积累的调控作用[J]. 生物学杂志,2007,24(1):35-37.
- [7] 吴垠,孙建明,孙培海. 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[J]. 水产学报,2004,28(6):741-744.
- [8] Rodríguez-Maroto J M, Jiménez C. Air bubbling results in carbon loss during microalgal cultivation in bicarbonate-enriched media: experimental data and process modeling [J]. Aquacultural Engineering, 2005,32(3-4):493-508.
- [9] Fábregas J, Ferrón L, José Aguilera F X. Improvement of growth rate and cell productivity by aeration rate in cultures of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* [J]. Bioresource Technology, 1994,48(2):107-111.
- [10] 王克明. 流加培养对杜氏盐藻生物量的影响[J]. 浙江科技学院学报,2005,17(3):167-170.
- [11] 姜建国,朱跃辉,黄洋. 小型螺旋管式光生物反应器培养盐藻的研究[J]. 中国食品添加剂,2004,4:15-17.
- [12] 郭金耀,杨晓玲. 营养方式对盐藻生长与物质积累的影响[J]. 江苏农业科学,2007,(1):138-140.
- [13] 张丽莉,吴垠,孙建明. 补充 CO₂对光生物反应器培养小球藻生长和光合作用的影响[J]. 水产科学,2008,27(11):174-177.
- [14] 徐芳,胡晗华,丛威. 通气量和 CO₂对 *Nannochloropsis* sp. 在光生物反应器中的生长和 EPA 合成的影响[J]. 过程工程学报,2004,4(5):457-461.
- [15] Chen F, Johns M R. Effect of C/ N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana* [J]. Appl Phycol J, 1991(3):203-209.
- [16] Schioppa D, Sophie B, George J C. Ingestion rates and dietary lipids affect growth and fatty acid composition of *Dendroaster excentricus* larvae [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2006,328(1):47-75.
- [17] Fabregas J, Abalde J, Buenaventura C. Changes in protein, carbohydrates and gross energy in the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) by nitrogen concentrations as nitrate, nitrite and urea [J]. Aquacultural Engineering, 1989,8(4):223-239.
- [18] Sheffer M, Fried A, Ginzburg B. Lipid composition of the plasma-membrane of the halotolerant alga, *Dunaliella salina* [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1986,857(2):165-172.
- [19] 黄旭雄,周洪琪,朱建忠,等. 不同生长阶段微绿球藻的营养价值[J]. 水产学报,2004,28(4):477-480.
- [20] 成永旭. 生物饵料培养学[M]. 北京:中国农业出版社,2005:73.
- [21] 郑爱榕,李淑英,李文权. 几种藻类对氮、磷的同化率与其营养成分的关系[J]. 海洋科学,1994,3:44-48.
- [22] Pozuelo M, Merehan F, Macias M I. The negative effect of nitrate on gametogenesis is independent of nitrate assimilation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Planta, 2000,211:287-292.
- [23] 蒋汉明,高坤山. 氮源及其浓度对三角褐指藻生长和脂肪酸组成的影响[J]. 水生生物学报,2004,28(5):545-551.
- [24] 刘东艳,孙军,巩晶,等. 不同氮、磷比例对球等边金藻生长的影响[J]. 海洋水产研究,2002,23(1):29-32.
- [25] 郝建欣,孙钰,丛威. 盐藻生长过程中氮磷利用与色素积累[J]. 海洋科学,2003(2):41-44.
- [26] 黄沅,付崇允,周德贵,等. 植物磷吸收的分子机理研究进展[J]. 水产科学,2008,6(1):117-122.
- [27] 王铭,刘然,徐宁. 13种微藻的脂肪酸组成分析[J]. 生态科学,2006,25(6):542-544.
- [28] 李荷芳,周汉秋. 海洋微藻脂肪酸组成的比较研究[J]. 海洋与湖沼,1999,30(1):34-40.
- [29] Wichien Y, Ward O P. ω -3 fatty acids: Alternative sources of production [J]. Process Biochem, 2005(12):3627-3652.
- [30] 邓君明,张曦. 水产动物必需脂肪酸营养与需要研究进展[J]. 江西饲料,2003(6):18-21.

Effects of bubbling on growth, use of N and P and biochemical composition of the microalgae *Dunaliella salina*

TENG Huai-li, HUANG Xu-xiong*, ZHOU Hong-qi, HUA Xue-ming,
YANG Zhi-gang, LENG Xiang-jun

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to assay the effects of different bubbling modes on microalgae during cultivation, the growth, biochemical composition and utilization on N and P from medium for *Dunaliella salina* treated with three bubbling modes (shaking flask manually, continuous aeration and CO₂ bubbling) respectively were investigated in this paper. The results showed that the biomass (1.62×10^7 ind/mL) of *D. salina* treated with continuous aeration was significantly higher than those of the other groups after 5 days. *D. salina* mainly used the nitrogen stored in cell for growth and reproduction in the first 3 days. Then N in the culture medium was dramatically absorbed by *D. salina* cell. While the cell of *D. salina* could rapidly absorb P from the culture medium after inoculation and store P in the cell for the following growth and reproduction. After first three cultured days, N content in the culture medium treated with continuous aeration was significantly lower than those of the other groups. The bubbling mode did not affect the cell of *D. salina* to absorb P from the culture medium significantly. The contents of total lipid, crude protein and amino acid of *D. salina* treated with continuous aeration were significantly lower than those of the other groups. The content of PUFAs (polyunsaturated fatty acids) of the cell treated with continuous aeration was significantly higher than the other groups. It is therefore suggested that the bubbling modes affect growth as well as cell composition of the microalgae *D. salina*. The growth performance and fatty acid nutritional value of the cell treated with continuous aeration improve while the amino acid nutritional value of the same cell decreases.

Key words: *Dunaliella salina*; bubbling; growth; total N; total P; total lipid; crude protein; fatty acid; amino acid

Corresponding author: HAUNG Xu-xiong. E-mail: xxhuang@shou.edu.cn