

菱形藻株系 MD1 的脂肪酸组成及其在 NaHCO_3 、 NaCl 和 pH 值影响下的生长特征

苏娇娇^{1,2}, 向文洲¹, 萧邺¹, 徐少琨¹, 何慧¹

(1. 中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 研究了具有嗜碱特性的菱形藻 *Nitzschia* sp. (MD1) 株系的脂肪酸组分、含量以及不同 NaHCO_3 、 NaCl 和 pH 值水平下对其生长的影响。GC-MS 测定结果显示, 在 NaHCO_3 浓度为 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 NaCl 浓度为 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、初始 pH 值为 9.5 时, MD1 的 EPA 含量占干重的 3.02%, 占总脂肪酸的比例为 17.93%。生长测定结果表明, MD1 具有极强的耐碱能力, 其生长适宜的 NaHCO_3 浓度为 $0.1\text{—}0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 在 $0.3\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaHCO_3 浓度下仍能良好生长; MD1 最适的起始 pH 值范围为 7.5—9.5, 其生长速率在 pH7.5 与 pH9.5 之间没有显著性差异 ($P>0.05$), 可以耐受 pH 值为 11.5 的高碱性环境并保持较好的生长; MD1 显示广盐适应性, NaCl 浓度在 $0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时获得最大比生长速率, 在 $30\text{—}40\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对其生长没有显著影响 ($P>0.05$), 在 NaCl 浓度 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH 8.5—9.5 及 NaHCO_3 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 获得了最大比生长速率 0.56d^{-1} 。由此可见, MD1 可望具有进行大规模培养开发 EPA 的前景。

关键词: 菱形藻 *Nitzschia* sp.; 嗜碱特性; pH; NaHCO_3 ; EPA

中图分类号: Q945; Q949.9 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2010)06-0079-07

Effect of different levels of NaHCO_3 , NaCl and pH on the growth of a EPA-producing diatom strain

SU Jiao-jiao^{1,2}, XIANG Wen-zhou¹, XIAO Bei¹, XU Shao-kun¹, HE Hui¹

(1. South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou 510301, China; 2. Graduate School of the CAS, Beijing 100049, China)

Abstract: In this study, we investigated the composition and content of fatty acids, and the effects of different levels of NaHCO_3 , NaCl and pH on an alkalophilic diatom strain, *Nitzschia* sp. MD1. We showed that MD1 contained 3.02% EPA in dry weight biomass, which was 17.93% of the total fatty acids. It was indicated that the optimal range of NaHCO_3 for MD1 growth was between 0.1–0.2 M, and that MD1 showed a good growth even when NaHCO_3 was below 0.3. The optimal range of initial pH for MD1 growth was between 7.5 and 9.5, and that MD1 maintained a considerable growth even when initial pH was 11.5. It was also shown that MD1 exhibited adaptation to a wide range of salinity, which brought about no obvious difference in the growth of MD1 when NaCl was between 0– $40\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The maximum specific growth rate of MD1 reached 0.56d^{-1} at $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of NaHCO_3 , $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of NaCl , and 8.5–9.5 of pH. These results present a prospective future for large-scale cultivation and EPA production of MD1.

Key words: *Nitzschia*; alkalophilic; pH; NaHCO_3 ; EPA.

EPA (5, 8, 11, 14, 17-cis-eicosapentaenoic acid) 是 ω -3 系列的二十碳五烯酸, EPA 以及它的衍生物有非常高的生物活性, 可以预防和治疗心脑血管疾病, 对糖尿病、炎症、肾病以及癌症也有一定的疗效^[1-2]。

目前市场对 EPA 的需求越来越大, 仅从鱼油中提取 EPA 已不能满足市场的需要^[3]。许多微藻中含有大量优质的 EPA, 已报道三角褐指藻中 EPA 的含量可占总脂肪酸的 34.5%, 而且利用微藻生产 EPA 具有

收稿日期: 2010-03-25; 修订日期: 2010-04-29。刘学东编辑

基金项目: 广东省海洋与渔业科技项目(A200899101); 广东省科技计划项目(2009B080701093)

作者简介: 苏娇娇(1982—), 女, 河北省晋州市人, 硕士研究生, 主要从事微藻生物技术研究。E-mail: sjjsusan@gmail.com

通信作者: 向文洲。E-mail: xwz@scsio.ac.cn

不受季节限制、价格和质量较为稳定的优点^[4]，因此利用微藻生产 EPA 已成为目前有关研究的热点。

然而微藻工业开发所面临的问题是微藻规模化养殖比较困难以及成本太高^[4]。开放式跑道池培养微藻是目前最为可行的商业化生产模式^[5]，然而由于开放式跑道池容易污染、环境变化较大、对藻种的抗性要求较高，可用开放式跑道池大规模培养的藻种很少。钝顶节旋藻 *Arthrospira platensis* 由于其自身的营养价值以及耐盐碱的特性是利用跑道池工业开发最为成功的藻种之一^[6]，因此，筛选具有抗盐碱特性且有经济价值的藻种可能是解决微藻工业生产问题的重要策略^[7]。

耐盐碱微藻不仅易于开放式大规模培养，而且还可以利用滩涂、盐碱地养殖，不会占用农业用地。我国农用地缺乏，滩涂、盐碱地面积较大，淡水资源日益紧张，通过对耐盐碱微藻的研究开发可以充分利用我国的滩涂、盐碱地以及海水与盐碱水资源。

本实验室从海水螺旋藻培养物中筛选出一株富含 EPA、具有较高的耐盐碱能力的藻种 *Nitzschia* sp. (MD1)。本文拟测定其脂肪酸组分及其含量，研究 NaHCO₃、NaCl 和 pH 的不同水平对其生长的影响，确定其最合适的生长条件以及对盐碱的适应性，分析探讨其实际应用潜力，为利用该藻种大规模工业生产 EPA 提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 藻种预培养

藻种培养：藻种 MD1 株系由本实验室从海水螺旋藻室外培养物中分离纯化而得，初步鉴定为菱形藻属的藻株，文中以 MD1 代替。预培养培养基以 Zarrouk 培养基为基础加入 0.01876g·L⁻¹ 的 NaSiO₃·9H₂O^[8]，NaCl 修改为 30g·L⁻¹，高压蒸汽灭菌后使用，用 250mL 三角瓶加入 100mL 培养基，接种量 10%，光照强度为 70μE·(m²·s)⁻¹，光照周期为 12h:12h。培养至对数生长期备用。

1.2 脂肪酸提取和测定方法

干样制备：取对数生长期的微藻 3000r·min⁻¹ 离心 5min，用去离子水冲洗两遍，冷冻干燥，-20℃ 保存备用。

脂肪酸提取测定依据吴瑞珊等^[9]的方法修改，称取 10mg 左右的干藻粉放入螺口试管中，加入 90μL C17(2μg·μL⁻¹)内标，加入 1mL NaOH-CH₃OH (0.5M)溶液，迅速混匀后，75℃ 皂化 10min，冷却至室温后加入 2mL BF₃-CH₃OH 溶液，迅速混匀，75

甲酯化、酸化 10min。冷却至室温，加入 3mL 正己烷及 1mL 去离子水，充分振荡，静置分层后 4℃，3000r·min⁻¹ 离心 6min，取上层正己烷层，0.22μm 滤膜过滤后用气质联用分析脂肪酸组分。

脂肪酸组分分析采用气质联用的方法^[9]：脂肪酸分析采用 Agilent 6890GC-5975MSD 型气质联用仪，色谱柱型号：Agilent 122-2332 DB-23，进样量 0.2μL，以高纯氦为载气，流速 1.0mL·min⁻¹，进样口和检测器的温度分别为 230℃ 和 250℃；程序升温过程：初始温度为 70℃，然后以 10℃·min⁻¹ 升至 140℃，再以 5℃·min⁻¹ 升至 220℃，保持 1min。MS 参数：检测器为 MSD，扫描范围为 35—400mau，溶剂延迟 3min。峰的鉴定采用谱库(版本号为 NIST05a.L)自动检索，确定各脂肪酸组分所在位置，以面积归一化法得到各脂肪酸组分的相对百分比。再根据每种脂肪酸相对于 C17:0 内标的峰面积来计算各脂肪酸组分的含量。

各脂肪酸组分的含量按下式计算：

$$\text{脂肪酸}(\% \text{干重}) = \frac{X_i(\% \text{总脂肪酸}) \times 180\mu\text{g}}{\text{C17}(\% \text{总脂肪酸}) \times \text{藻粉重}(\text{mg})} \times 10^{-3} \times 100\%$$

式中 X_i (%总脂肪酸)为每一种脂肪酸占总脂肪酸的相对百分比；脂肪酸(%干重)为每一种脂肪酸的含量；180μg 为加入内标的量。

1.3 NaHCO₃ 对 MD1 生长的影响

在预培养培养基的基础上，NaCl 浓度为 30g·L⁻¹，设置 5 个不同的 NaHCO₃ 浓度，分别为 0、0.05、0.1、0.2 和 0.3mol·L⁻¹，每一梯度设置 3 个平行样品，培养基高压蒸气灭菌后使用，接种量为 10%，培养体积为 20mL，光照强度为 70μE·(m²·s)⁻¹，光照周期为 12h:12h，控制温度为 26℃，隔两天取一定的体积的藻液(20mL)测其干重以及培养液中 HCO₃⁻ 的含量，由于 MD1 在初期生长时不能均匀分布，因此取样的方法采用整瓶平行取样法，即每一浓度一次性培养 15 瓶，使初始浓度相同，在取样时取出其中 3 瓶测定，共取样 5 次。培养基中无机碳的含量(以 HCO₃⁻ 的量表示)用滴定的方法测定^[10]。

1.4 pH 值对 MD1 生长的影响

在预培养培养基的基础上，用 1MOL NaOH 或者 1mol HCl 调节培养基初始 pH 值分别为 7.5、8.5、9.5、10.5 和 11.5 共 5 个梯度，培养基高压蒸气灭菌后使用，每一梯度设置 3 个平行样品，接种量为 10%，隔两天取一定体积的藻液(20mL)测其干重及 pH 值。培养条件和取样方法同上。

1.5 NaCl 浓度对 MD1 生长的影响

在预培养培养基的基础上, 初始 pH 值用 1mol NaOH 调为 9.5, 设置 NaCl 浓度为 0、30 和 40g·L⁻¹ 3 个梯度, 每一梯度设置 3 个平行, 培养基高压蒸气灭菌后使用, 接种量为 10%, 隔两天取一定的体积的藻液(20mL)测其干重及 pH 值。培养条件和取样方法同上。比生长速率计算方法:

$$N_t = N_0 e^{\mu t}$$

公式中 N_0 为第 0 天的干重, N_t 为培养 t 天的干重, μ 为比生长速率(d⁻¹), t 为培养天数。比生长速率为 3 个平行实验的平均值, 用 Microsoft Excel 计算标准偏差, SPSS 软件对数据进行单因素方差分析, 两两

比较采用 LSD 法。

2 实验结果

2.1 硅藻 MD1 生长状态

硅藻 MD1 为单细胞, 在生长初期硅藻细胞会聚集在三角瓶的底部结成膜状群体(图 1a), 细胞较密集且不规则的聚集在一起, 以底栖的状态生长(图 1b), 等细胞数量增加到一定程度, 膜会自动脱落, 硅藻细胞在悬浮状态下继续生长, 细胞较均匀分布(图 1c), 此过程硅藻细胞的比生长速率逐步降低。由于 MD1 在生长初期聚集在一起形成膜状群体, 不能混匀取样, 所以在上述实验设计取样时采用了整瓶平行取样法。

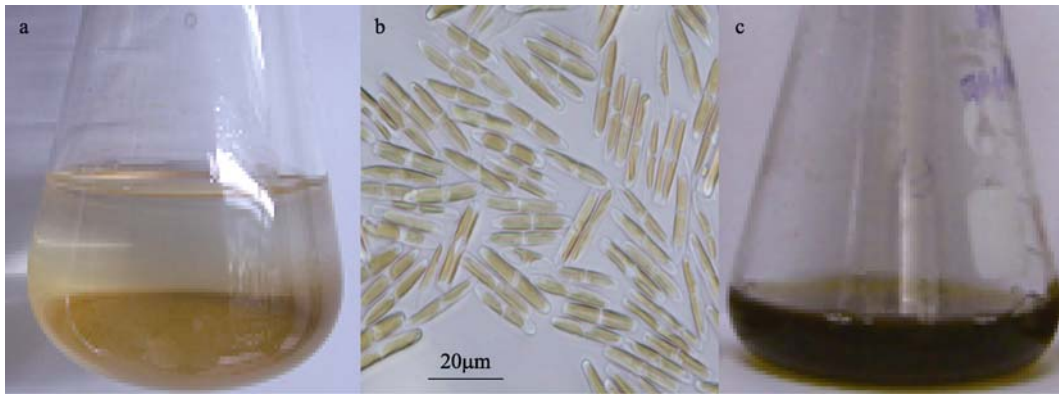


图 1 *Nitzschia* sp. MD1 生长周期中的种群形态变化

a. 生长初期在三角瓶的底部形成膜状群体; b. 生长初期显微镜下膜状群体中的 MD1 细胞; c. MD1 在对数生长期末期时呈现的均匀状态
Fig. 1 Morphological variation of *Nitzschia* sp. MD1 during its growth period

2.2 MD1 的脂肪酸组分及含量

在 NaHCO₃ 浓度为 0.2mol·L⁻¹、NaCl 浓度为 30g·L⁻¹、初始 pH 值为 9.5 时, MD1 的脂肪酸组分见表 1, 总共含有 13 种脂肪酸, 主要的脂肪酸有肉豆蔻酸(C14:0)、棕榈酸(C16:0)、十六碳烯酸(C16:1)、二十碳五烯酸 (C20:5) 4 种脂肪酸, 各脂肪酸组分占干重以及总脂肪酸的百分比见表 1, 单不饱和脂肪酸的含量占总脂肪酸的比例为 38.01%, 其中含量最高的为十六碳烯酸, 占到了总脂肪酸的 37.81%。多不饱和脂肪酸占总脂肪酸的比例为 29.21%, 其中 C20:5(EPA)占总脂肪酸的百分比为 17.93%, 占细胞干重的百分含量达到了 3.02%。MD1 细胞的脂肪酸组分中含有 14.70%的中等长度碳链脂肪酸 C14:0, 以及极少量的二十二碳六烯酸(DHA)。

2.3 NaHCO₃ 对 MD1 生长的影响

本实验结果表明在 15d 培养周期内, 不同 NaHCO₃ 浓度对 MD1 的细胞干重量有显著的影响($P <$

表 1 *Nitzschia* sp. MD1 脂肪酸的各组分及其含量

Tab. 1 Composition and content of fatty acids of *Nitzschia* sp. MD1

脂肪酸组分	脂肪酸含量/(%干重)	脂肪酸组成/%
C14:0	2.479±0.011	14.70±0.07
C15:0	0.099±0.002	0.58±0.01
C16:0	2.692±0.001	15.97±0.01
C16:1ω9	6.375±0.023	37.81±0.13
C16:2ω6	0.458±0.008	2.72±0.05
C16:3ω3	0.642±0.001	3.81±0.01
C18:0	0.141±0.002	0.83±0.01
C18:1ω9	0.033±0.006	0.20±0.03
C18:2ω6	0.320±0.001	1.90±0.01
C18:3ω3	0.286±0.008	1.70±0.05
C20:5 (EPA) ω3	3.024±0.001	17.93±0.01
C22:6 (DHA) ω3	0.194±0.001	1.15±0.01
C24:0	0.117±0.003	0.69±0.02
饱和脂肪酸(SFA)	5.527±0.019	32.78±0.12
单不饱和脂肪酸(MUFA)	6.409±0.032	38.01±0.18
多不饱和脂肪酸(PUFA)	4.924±0.052	29.21±0.31

0.05), NaHCO_3 浓度为 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 获得了最大的干重量为 $320\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 是对照的 1.9 倍, 当 NaHCO_3 的浓度升为 $0.3\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时其干重量为最大值的 77%。然而 NaHCO_3 浓度为 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 MD1 的细胞干重之间没有显著性差异 ($P>0.05$), NaHCO_3 浓度在 $0.1\text{—}0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时较适宜 MD1 生长。当 NaHCO_3 浓度为 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时获得最大比生长速率为 0.39d^{-1} 。

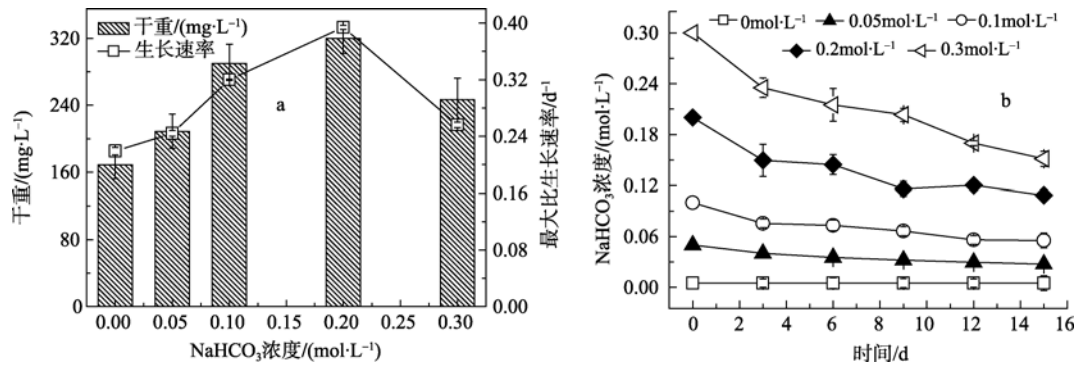


图 2 NaHCO_3 浓度对 *Nitzschia* sp. MD1 生长的影响

a. 培养 15d 时的干重以及最大比生长速率; b. 培养基中无机碳源(以 NaHCO_3 计)浓度的时间变化

Fig. 2 Effects of NaHCO_3 concentration on the growth of *Nitzschia* sp. MD1

2.4 pH 值对 MD1 生长的影响

在 15d 培养周期内, 本实验条件下当培养基的初始 pH 值为 9.5 时获得了最大的干重量为 $424\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, MD1 在初始 pH 为 10.5 时有较好的生长, 其干重为最大值的 59%; 在 pH 值为 11.5 时仍可生长, 得到了 $105\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的细胞干重(图 3a), 可见 MD1 对碱性环境具

有较强的抗性。然而培养基的初始 pH 值从 7.5—9.5 之间时 MD1 的干重没有显著性差异 ($P>0.05$)。当 pH 值为 8.5 和 9.5 时, 最大比生长速率均可达到 0.56d^{-1} 。结合 pH 的变化曲线(图 3b), 可以看出在初始培养基的 pH 值为 7.5—8.5 时, MD1 可以通过自身的生长使培养基的 pH 值在 3d 内上升到 9 左右, 达到适宜生长的范围。

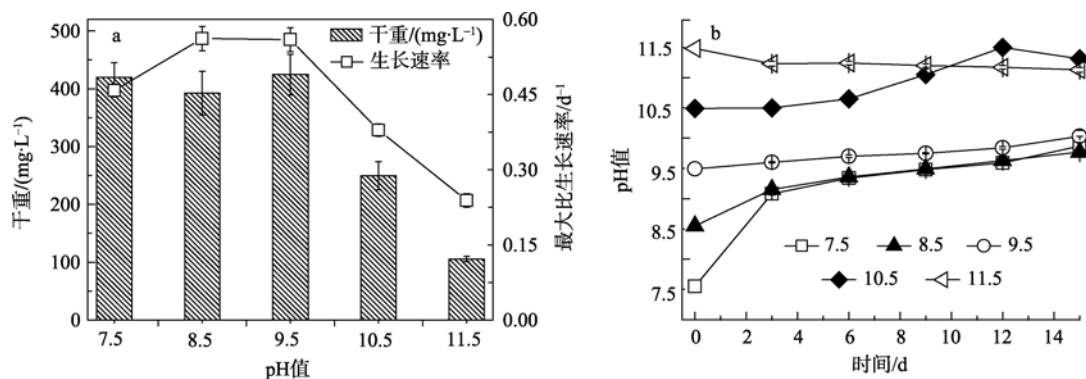


图 3 培养基的初始 pH 值对 *Nitzschia* sp. MD1 生长的影响

a. 培养 15d 不同 pH 下的干重以及最大比生长速率; b. 培养基中 pH 值的变化

Fig. 3 Effects of initial pH on the growth of *Nitzschia* sp. MD1

2.5 MD1 对高 NaCl 浓度的适应性

实验结果表明在 15d 培养周期内, MD1 可以迅速适应从 $0\text{—}40\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 浓度, 属于广盐性微藻, 在 NaCl 浓度为 $0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 MD1 获得最大干重量为

$426\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 4a), NaCl 浓度在 30 和 $40\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 MD1 的干重之间没有显著差异 ($P>0.05$)。当 NaCl 浓度为 $0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 最大比生长速率为 0.45d^{-1} , 从 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降为 $0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, MD1 的比生长速率略有增加, 但其比

生长速率的绝对值差异不大。

从图 4b 中可以看出培养基的 pH 值变化, 培养基 pH 值随着藻细胞的生长而增加, 当 NaCl 浓度为

0g·L⁻¹ 时, 培养基的 pH 值增大速率较其他两组要快; 而 30g·L⁻¹ 和 40g·L⁻¹ 时, 培养基的 pH 值变化相差不大。

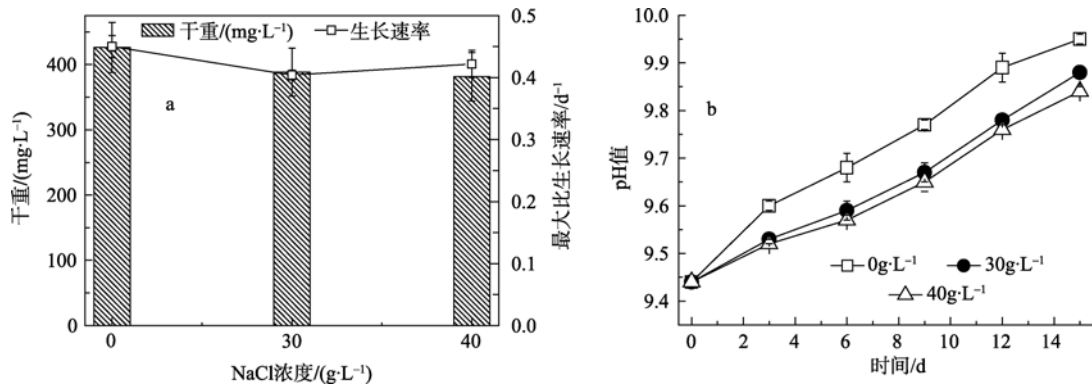


图 4 培养 15d 时不同 NaCl 浓度对 *Nitzschia* sp. MD1 生长的影响

a. 不同 NaCl 浓度下的干重以及最大比生长速率; b. 培养基中 pH 值的变化

Fig. 4 Effects of NaCl concentration on the growth of *Nitzschia* sp. MD1

3 讨论

3.1 MD1 的生长潜力

在本研究一次性培养过程中最大比生长速率可以达到 0.56d⁻¹ (图 3a), 由于本实验采用隔 2d 测定一次, 这一结果为 3d 的平均值, 因此, 若按单天测定的话, 可能得到更高的结果。微藻的生物量、产量受光照、营养盐、pH 等诸多因素的影响, 我们在另外的实验中, 通过适当增加接种密度和光照强度, 可以在 7d 内达到 1.5g·L⁻¹ 的生物量, 远高于本实验 15 天达到的 0.42g·L⁻¹ 的生物量, 因此, 综合考虑这些因素, MD1 显示良好的生长潜力。在未来实际的规模化培养中, 通过采用流加培养的模式, 可望使其产率达到较高的水平。

3.2 NaHCO₃ 和 pH 对 MD1 生长的影响

NaHCO₃ 和 pH 是影响微藻生长的重要因素, 两者相互作用, NaHCO₃ 不仅可以提供碳源, 而且 NaHCO₃ 的消耗也会影响培养基的 pH 值; 而培养基的 pH 值会影响 HCO₃⁻ 的电离平衡, 从而影响微藻对碳源的吸收。因此研究微藻对 NaHCO₃ 的利用和 pH 值的适应性对微藻的工业开发有着重要的指导意义。本实验的结果显示当 NaHCO₃ 为 0.1—0.2mol·L⁻¹ 时适宜 MD1 生长(图 2a), 而梁英等^[11] 研究发现加入 400mg·L⁻¹ 的 NaHCO₃ 有利于新月菱形藻的生长, 与本次实验研究的结果相差较大, 螺旋藻的最适 NaHCO₃ 浓度为 0.2mol·L⁻¹, 表明不同的种系之间对 NaHCO₃ 的吸收利用有着较大的差异,

MD1 具有与螺旋藻相似的高碱适应性。本次实验培养基中加入 NaHCO₃ 的量较大, 由于 NaHCO₃ 的缓冲作用, 凡加入 NaHCO₃ 的各实验组中, 所有实验组在培养周期中培养基的 pH 变化不大, 均在 8.5—9.6 之间(结果未显示), 因此由于碳源吸收而引起的培养基 pH 值的变化对硅藻 MD1 生长的影响不大。

Belkin 等^[12] 报道钝顶螺旋藻(节旋藻)的生长最适 pH 为 9—10, 同时在 pH11.5 的条件下可良好生长, 但在 pH7 时不能生长, 本研究中 MD1 在 pH 值为 9.5 时生长最好(图 3a), 当 pH 值升到 10.5 时其生长略有降低, 当 pH 为 11.5 时, 其细胞干重仍然可达到 105mg·L⁻¹ (图 3a), pH 值为 7.5—8.5 的试验组, 细胞干重与 pH 值为 9.5 实验组没有显著差异, 显示 MD1 有与钝顶螺旋藻十分相似的高 pH 适应性, 但在接近中性 pH 时, MD1 的适应性明显好于钝顶螺旋藻。由 NaHCO₃ 的水解常数计算得出在 pH 值为 8.5—9.6 时, 溶液中主要以 HCO₃⁻ 为主, 可溶性 CO₂(碳酸)含量微乎其微。而初始 pH 值为 10.5—11.5 时培养基中的碳源主要以 CO₃²⁻ 为主, MD1 仍保持了一定的生长(图 3b)。推测硅藻 MD1 可能通过两个方面的原因以保证其在高 pH、低 CO₂ 培养基中生长, 一方面 MD1 不仅可以利用 HCO₃⁻ 而且可以吸收利用 CO₃²⁻, 另一方面 MD1 具有较强的 CO₂ 浓缩机制, 使细胞中碳酸盐平衡体系向 CO₂ 的方向移动, 以保证碳源的供给, 并使得培养基 pH 上升(图 3b)。有关 MD1 对高 pH 和高碱性环境的适应机制, 有待于进一步深入研究。

硅藻 MD1 可在高达 0.3mol 的 NaHCO_3 以及 pH 值 10.5 的条件下仍能良好生长(图 2a、图 3a), 可见 MD1 对极端碱性环境有着极强的适应性, 应属于嗜碱微藻。这一特性与螺旋藻十分近似^[13]。由于高 pH 可以有效避免敌害生物污染, 因此, 在实际生产中, pH 控制在 9.5—10.5 之间可能更为合理。从图 2a 可以看出, MD1 生长最适宜的 NaHCO_3 浓度为 0.1—0.2mol·L⁻¹, 由于 NaHCO_3 浓度为 0.1mol·L⁻¹ 和 0.2mol·L⁻¹ 时 MD1 的比生长速率之间没有显著性差异($P>0.05$), 因此加入 NaHCO_3 的浓度为 0.1mol·L⁻¹ 既可保证其较好的生长又可节约成本。

3.3 MD1 对高 NaCl 浓度的适应性。

Padan 等^[14]认为耐碱的微生物也会耐盐, 本实验也得到相同的结论。螺旋藻也有很良好的广盐适应能力, 本实验室利用螺旋藻的这一特性, 成功将螺旋藻转入自然海水培养基进行规模化培养^[15]。本实验研究发现 MD1 可在 0g·L⁻¹ 和 40g·L⁻¹ 的 NaCl 浓度中都可保持良好的生长(图 4a), 而且有着很强的海水淡水适应能力, 属于广盐性的种类。一般而言, 淡水藻可耐受 0.15mol·L⁻¹ NaCl 的渗透压, 而海水藻类一般可耐受大约 0.5mol·L⁻¹ NaCl 的渗透压^[16]。MD1 对 NaCl 的耐受能力已超过了普通海水藻类的耐受力, 本研究所用藻种是在盐度超过 50‰ 的海水螺旋藻开放培养体系中获得, 而 40g·L⁻¹ 的 NaCl 对 MD1 的生长速度没有明显被抑制, 因此, MD1 可能适应更高浓度的 NaCl, 有关其高盐度适应特性有待进一步研究。

3.4 MD1 的应用价值

MD1 富含二十碳五烯酸(EPA), 含量高达干重的 3.02%(表 1), 由于 EPA 可以预防治疗人类的多种疾病, 如预防和治疗心脑血管疾病, 降低低密度脂

蛋白胆固醇(LDL)的水平, 增加高密度脂蛋白胆固醇(HDL)的水平; 可提高人体免疫力, 对糖尿病、炎症、肾病以及癌症有一定的疗效; EPA 可作为代谢活性因子, 用于合成前列腺素等激素。此外可治疗精神分裂症和抑郁症, 因此 MD1 可望成为 EPA 的重要资源用以医药保健品的开发, 并可作为鱼、虾、贝类极好的饵料^[1,3]。

硅藻 MD1 除了 EPA 外, C14、C15、C16 和 C18 4 种碳链的脂肪酸占总脂肪酸的百分比为 80.92% (表 1), 因此还有望成为开发生物柴油的种源。鉴于 EPA、DHA 等长链多不饱和脂肪酸不利于生物柴油的燃烧和使用^[17]。对于 MD1, 结合其脂肪酸组分特征, 可以采用多种化学分离方法把 EPA 等长链多不饱和脂肪酸分离出来进行高值化开发, 剩下 C14—C18 脂肪酸可用于微藻柴油的生产^[18]。据报道 C10—C14 的中链脂肪酸非常适合用于航空燃料^[19], MD1 脂肪酸含有 14% 以上的 C14 组分(表 1), 有望成为开发航空燃料的微藻种源。

螺旋藻的嗜碱特性是其实现开放式大规模培养成功的主要原因之一^[6]。本研究表明, MD1 具有与螺旋藻非常相似的生理特性, 如高 pH、高碱及广盐适应的特性, 本文研究显示, 通过 pH 值以及 NaHCO_3 和 NaCl 浓度优化, 将为有效促进 MD1 生长并避免很多其他微生物对培养基的污染提供重要的实验基础, 该藻株富含 EPA 等脂肪酸、生长速度较快, 可望作为开发 EPA、生物柴油等生物制品的优良藻种, 具有大规模培养和商业开发的前景。同时, 由于 MD1 具有广盐与高碱适应性, 既可利用海水和沿海滩涂进行养殖开发, 也可利用内陆盐碱地和盐碱水资源进行养殖开发, 其进一步的规模化利用与开发对于缓解我国耕地与淡水资源与生物质资源开发的矛盾将具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] PEET M. Eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia and depression: rationale and preliminary double-blind clinical trial results[J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2003, 69: 477–485.
- [2] WEN ZHI-YOU, CHEN FENG. Production potential of eicosapentaenoic acid by the diatom *Nitzschia laevis*[J]. Biotechnology Letters, 2000, 22: 727–733.
- [3] BELARBI EI H, MOLINA E, CHISTI Y. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2000, 26: 516–529.
- [4] WEN ZHI-YOU, CHEN FENG. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae [J]. Biotechnology Advances, 2003, 21(4): 273–294.
- [5] JORQUERA O, KIPERSTOK A, EMERSON A. et al. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(4): 1406–1413.
- [6] RADMANN E M, REINEHR C O, COSTA J A V. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga

- Spirulina platensis* in open raceway ponds[J]. *Aquaculture*, 2007, 265(1-4): 118–126.
- [7] 向文洲, 吴华莲, 谢科, 等. 一种绿球藻的极端适应特性与虾青素高效诱导[J]. *热带海洋学报*, 2007, 26(1): 50–54.
- [8] GÒDIA F, ALBIOL J, MONTESINOS L.et.al. A loop of interconnected bioreactors to develop life support in Space[J].*Journal of Biotechnology*, 2002, 99(3): 319–330.
- [9] 吴瑞珊, 魏东. 盐度及其调节方式对眼点拟微球藻的生长和 EPA 积累的影响[J]. *现代食品科技*, 2007, 23(12): 5–8.
- [10] APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater, sixteenth ed [M]. APHA-AWWA-WPCF, Washington, DC, 1992.
- [11] 梁英, 麦康森, 孙世春, 等. NaHCO₃ 浓度对塔胞藻、小球藻和新月菱形藻生长的影响[J]. *黄渤海海洋*, 2001, 02: 74–79.
- [12] BELKIN S, BOUSSIBA S. Resistance of spirulina platensis to ammonia at high pH values[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1991, 32(7): 953–98.
- [13] 马成浩, 于丽娟, 彭奇均. pH 值对钝顶螺旋藻生长的影响[J]. *中国食品添加剂*, 2004, 4: 69–71.
- [14] PADAN E, BIBI E, MASAHIRO ITO, et al. Alkaline pH homeostasis in bacteria: New insights[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, 1717(2): 67–88.
- [15] WU B, TSENG C K, XIANG W, Large-scale cultivation of *spirulina* in seawater based culture medium[J]. *Botanica Marina*, 1993, 36(2): 99–102.
- [16] 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.
- [17] 韩笑天, 郑立, 孙珊, 等. 海洋微藻生产生物柴油的应用前景[J]. *海洋科学*, 2008, 32(8): 76–81.
- [18] 蒋汉明. 优化海产微藻多不饱和脂肪酸生产条件的研究[D]. 汕头: 大学, 2003.
- [19] HU QIANG, SUMMERFELD M. Algal medium chain length fatty acids and hydrocarbons: US, 12/441233 [P/OL]. 2010-02-04[2010-03-25].<http://www.freepatentsonline.com/20100028962.pdf>.