

盐泽螺旋藻与其他螺旋藻的比较研究

林惠民

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

研究了盐泽螺旋藻的形态、生理生化特性和在不同条件下的生长状况, 并与其他螺旋藻进行了比较。

盐泽螺旋藻、极大螺旋藻和钝顶螺旋藻在蛋白质的含量、氨基酸组分以及可见光吸收光谱等方面差别不大。盐泽螺旋藻的生长速度最快(世代时间为8.4h)。极大螺旋藻、钝顶螺旋藻1926和钝顶螺旋藻2340的世代时间分别为11、11.8和14.8h。盐泽螺旋藻的光合作用和呼吸作用强度亦大于极大螺旋藻和钝顶螺旋藻。此外, 这种藻对盐分和温度还具有较宽的适应范围, 在形态上也和其他3种螺旋藻有较大之差异。

关键词 藻类, 螺旋藻, 光合作用, 呼吸作用。

螺旋藻作为食品已有几百年的历史了, 早在1940年, 法国藻类学家 Dangeard 进行过科学地报道。以后, Zarrouk 和 Clement 做了开拓性研究^[2]。由于该藻富有营养, 培养容易, 便于收集, 许多国家和地区, 纷纷开展大规模培养实验和商品性生产^[3,5]。但是有关的基础研究还远远不够。Warr 等遗憾地指出, 尽管对螺旋藻有着普遍的兴趣, 但对其最适生长和大量培养所需条件, 人们却知甚少^[9]。另外, 虽然螺旋藻有50余种, 而被广泛大规模培养的只有极大螺旋藻和钝顶螺旋藻。

本文作者试图通过将盐泽螺旋藻与其他螺旋藻进行对比研究, 扩大适于大量培养的藻种, 并从中选出更优藻种, 进而探讨简化培养基, 改进培养方法, 以提高其产量和质量, 促进螺旋藻大量培养事业的发展。

材 料 与 方 法

藻种 盐泽螺旋藻 (*Spirulina subsalsa*)、极大螺旋藻 (*S. maxima*)、钝顶螺旋藻 1926 (*S. platensis* 1926)、钝顶螺旋藻 2340 和大螺旋藻 (*S. major*) 均由本所藻种库提供¹⁾, 用前活化, 在与实验相同条件下预培养到指数期。

培养装置和实验条件 由圆形恒温玻璃水槽, 培养管, 环状日光灯, 通气管和控温装

文内插图由本所戴尚真同志描绘, 谨此致谢。

1) 库存之盐泽螺旋藻, 由南京大学赵英华老师惠赠, 深表谢意。

1988年1月28日收到。

置等构成培养装置(图1)。培养管每支体积45ml,加培养物30ml。实验一般采用 Zarrouk 培养基。管壁光强12 000lx,温度35℃,通加5% CO₂的空气(兼起搅拌作用)。

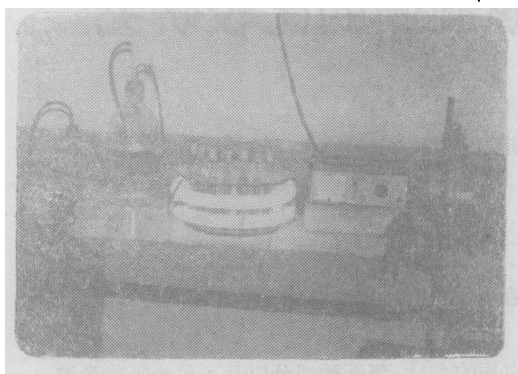


图1 螺旋藻培养系统

Fig. 1 *Spirulina* culture system

生长测定 在650nm波长下测定培养物光密度,每日4次,直至培养物停止生长。按下列公式计算指数生长速度,表达为世代时间。按常规法求出光密度与干重的关系。这种关系随

$$R_E = \frac{\log_2 X_2 - \log_2 X_1^{[8]}}{t_2 - t_1}$$

种的不同略有差异,盐泽螺旋藻: O.D.1 = 0.685mg/ml,极大螺旋藻: O.D.1 = 0.710mg/ml,钝顶螺旋藻: O.D.1 = 0.658mg/ml。

光合作用放氧和呼吸耗氧的测定 取指数期样品5ml置YSI 53型生物氧监测仪中,用极谱法在暗中测耗氧,光下测放氧。测定条件与培养条件相同,光源为22W环状微型日光灯(日本NEC产),套在反应浴外周。每项测定重复3次。

培养物可见光谱测定 用岛津UV-3000型和Specord分光光度计,对处于指数期的培养物进行活体扫描。

生化分析 采用意大利Carlo-Erba 1106元素分析仪测定总氮。使用日立835型氨基酸自动分析仪测定氨基酸组分。

结 果

形态 比较观测表明,盐泽螺旋藻形态与其他螺旋藻差异明显,主要表现为螺旋紧,几乎看不出间距。而且这种形态非常稳定,从未发现过例外。该藻颤动频繁,气泡少,藻丝结块浮于水面。极大螺旋藻的螺旋放松,变化大,旋间距为130—150μm,宽为35—75μm。细胞中气泡密布,藻丝悬于培养液中,分散生长。据报道,钝顶螺旋藻较极大螺旋藻含有更多的气泡,更易悬浮^[4]。我们观察的与之相反,前者的气泡虽略多于盐泽螺旋藻,但少于后者,其他形态特点介于两者之间。这几种藻从未发现过变直的藻丝。藻丝和细胞由小到大的顺序为: 极大螺旋藻>钝顶螺旋藻2340>钝顶螺旋藻1926>盐泽螺旋藻>大螺旋藻。

盐泽、极大、钝顶螺旋藻可见光谱扫描表明,藻蓝素与叶绿素之比无明显差异,而类胡萝卜素与叶绿素之比,则以盐泽螺旋藻最高,极大螺旋藻最低。

蛋白质与氨基酸 盐泽螺旋藻的蛋白质含量高于极大和钝顶螺旋藻(表1)。这些藻的蛋白质营养价值都很高。8种必需氨基酸中,有5—6种的比例达到或超过了联合国粮农组织规定的标准。极大和钝顶螺旋藻氨基酸之比相近,盐泽螺旋藻略有差异,主要是赖氨酸和缬氨酸稍低,苯丙氨酸较高。

表 1 几种螺旋藻的蛋白质含量和氨基酸组成

Tab. 1 Protein content and amino acid composition of some *Spirulina*

		FAO*	<i>S. subsalsa</i>	<i>S. maxima</i>	<i>S. platensis</i>
总氮 Total nitrogen (%)			9.8	9.3	8.1
粗蛋白 Crude protein (% N × 6.25)			61.0	58.2	50.9
必需氨基酸 Essential amino acids (g/16gN)	Ile.	4.0	5.2	5.9	5.8
	Leu.	7.0	9.1	9.4	8.8
	Lys.	5.5	4.4	5.0	5.9
	Met.	3.5	2.8	3.0	2.8
	Phe.	6.0	6.0	5.4	5.5
	Thr.	4.0	4.7	4.8	4.8
	Trp.	1.0	1.0	1.0	1.0
	Val.	5.0	5.0	6.9	6.4
非必需氨基酸 Non-essential amino acids (g/16gN)	Ala.		9.0	9.0	7.8
	Arg.		7.4	6.7	6.2
	Asp.		11.1	10.1	10.5
	Cys.		0.5	0.6	0.5
	Glu.		14.5	14.7	15.4
	Gly.		5.4	5.6	5.2
	His.		1.6	1.5	1.5
	Pro.		2.0	1.3	2.8
	Ser.		4.5	4.0	4.4
	Tyr.		4.9	4.6	4.6
总计 Total			99.1	99.5	99.9

* Energy and protein requirement report of a "joint FAO *ad hoc* expert committee", No. 52. (1973)

表 2 几种螺旋藻在光强 8000 lx 下的生长特性

Tab. 2 Growth characters of some *Spirulina* at a light intensity of 8000 lx

	<i>S. subsalsa</i>	<i>S. maxima</i>	<i>S. platensis</i> 1926	<i>S. platensis</i> 2340
初始浓度 Initial conc. (O. D.)	0.15	0.15	0.15	0.17
延迟期 Lag phase (h)	0	0	0	18
指数期 Exponential phase (h)	40	42	40	54
最高浓度 Max. conc. (O. D.)	5.8	6.8	5.6	5.4
世代时间 Generation time (h)	13.3	14.5	18	23.2

不同光强下的生长特性 在光照度较弱(8 000 lx)条件下,盐泽和极大螺旋藻的生长情况较为接近(表 2),仅前者在指数期生长快些,后者在衰落期生长快些。这种现象表

明前者较后者需要更强的光照,亦可能后者悬浮性好,分散均匀,更能有效地利用光能。当光照强度提高到 12 000 lx 时,盐泽螺旋藻生长速度随之提高幅度较大(表 3),在整个生长周期内生长最快,极大螺旋藻次之,钝顶螺旋藻 1926 和 2340 这两个种,在两种光照强度下,分别处于第 3 和 4 位。

表 3 几种螺旋藻在光强 12 000 lx 下的生长特性

Tab. 3 Growth characters of some *Spirulina* at a light intensity of 12000 lx

	<i>S. subsalsa</i>	<i>S. maxima</i>	<i>S. platensis</i> 1926	<i>S. platensis</i> 2340
初始浓度 Initial conc. (O. D.)	0.15	0.15	0.15	0.15
延迟期 Lag phase (h)	0	0	0	0
指数期 Exponential phase (h)	27	33	33	33
最高浓度 Max. conc. (O. D.)	8.8	7.2	6.8	6.0
世代时间 Generation time (h)	8.4	11.0	11.8	14.8

不同培养基的生长特性 利用 Zarrouk 和 M-Ss 培养基¹⁾,以及分别将两种培养基的 NaHCO_3 由 16.8 减到 8.4g,由 8 减到 4g,共 4 种培养基,对 3 种螺旋藻进行对比实验。这些结果表明(图 2-4),Zarrouk 培养基对 3 种藻都最适宜。不同培养基对这些藻的影响趋势基本相同,但影响程度不同。盐泽螺旋藻受影响最小,钝顶螺旋藻受影响最大。这种影响在藻生长的指数期尚不明显,到衰落期后才越来越显著。所用 4 种培养基的差异主要是 NaHCO_3 的含量不同,其次, M-Ss 培养基的 N. P. K 含量也稍低于 Zarrouk 培养基。这些营养盐在上述藻的生长前、中期并不是限制因子,而是在后期,由于营养大量消耗和藻类浓度的提高,才起到限制作用。

CO_2 对盐泽螺旋藻生长的影响 在分别通入空气、2.5% 和 5% CO_2 的条件下,盐泽螺旋藻生长情况如表 4 所示。在一定的浓度范围, CO_2 对培养物有显著效应。仅通空气,培养物只能维持生长 52h,此后变黄,停止生长。生长速度不太慢,但 pH 值上升很快,在生长期由 8.4 上升到 12。有人报道螺旋藻适宜生长的 pH 范围 8—11^[6]。可见导致培养物停止生长,变黄的原因是过高的 pH 值。

表 4 二氧化碳对盐泽螺旋藻的影响

Tab. 4 The effects of CO_2 on *Spirulina subsalsa*

CO_2 浓度 CO_2 conc.	pH		生长持续时间 Duration of growth (h)	世代时间 Generation time (h)	最高浓度 Max. conc. (O. D.)
	初始 Initial	终结 Final			
Air	8.4	12.0	52	13	2.0
Air + 2.5% CO_2	8.6	9.2	102	8.7	6.8
Air + 5% CO_2	8.6	8.6	96	8.8	6.8

1) 赵英华等(私人通讯)。

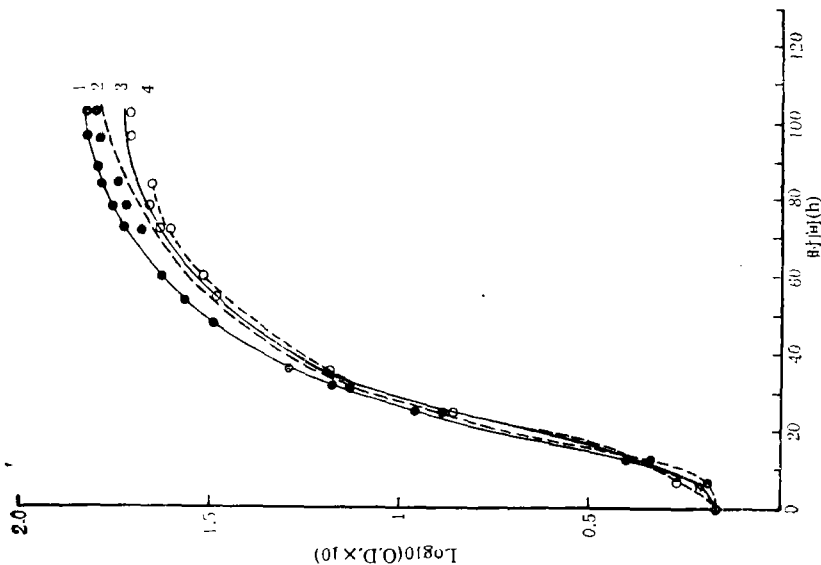


图 2 盐泽螺旋藻在不同培养基下的生长曲线

Fig. 2 Growth curves of *Spirulina subsalsa*

in various media

1 Zarrouk medium, 2 M-Ss medium, 3 Zarrouk medium (-8.4g NaHCO₃), 4 M-Ss medium (-4g NaHCO₃)

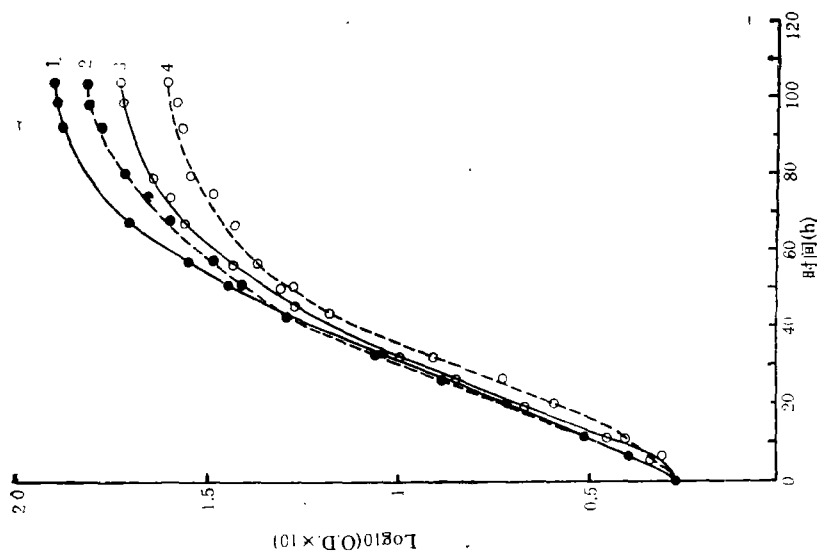


图 3 极大螺旋藻在不同培养基下的生长曲线

Fig. 3 Growth curves of *Spirulina maxima*

in various media

1—4 图注同图 2

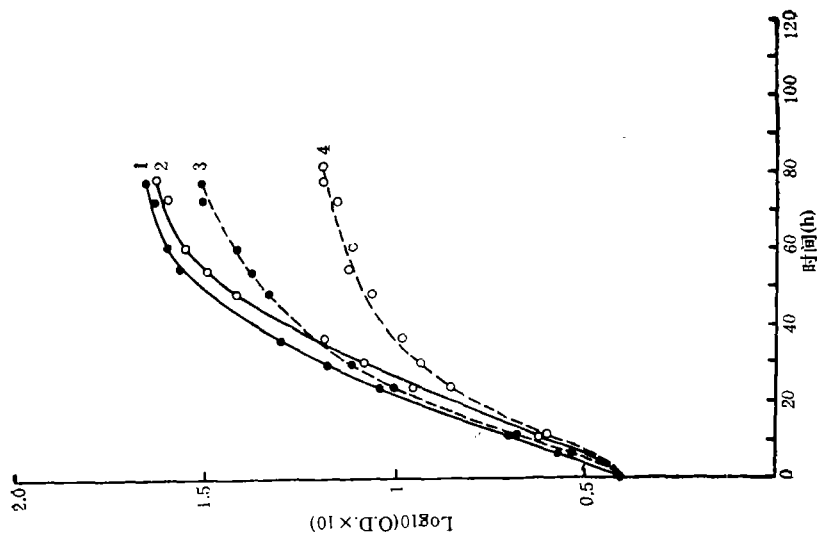


图 4 钝顶螺旋藻在不同培养基下的生长曲线

Fig. 4 Growth curves of *Spirulina platensis*

in various media

1—4 图注同图 2

通入 2.5% 和 5% CO_2 的培养物生长状况彼此接近, 前者 pH 值在 102 h 内由 8.6 上升到 9.2, 而后在 96h 内 pH 值无变化, 可见十分稳定。结果表明 CO_2 除作为培养物的碳源外, 还可作为 pH 的缓冲剂, 对培养物发生影响。

据报道, 以 NaOH 代替 NaHCO_3 , 并用 CO_2 调 pH 值至 10 以下, 其他成分不变, 培养螺旋藻, 效果与 NaHCO_3 类似^[7]。而我们进行的类似实验, 结果不佳(未列出)。因此我们认为, CO_2 和 NaHCO_3 彼此不能完全代替。这可能是两者的生理功能不尽相同所致。

光合作用与呼吸作用 测定了 3 种螺旋藻的光合放氧和呼吸吸氧活性(表 5)。盐泽螺旋藻的光合放氧和呼吸耗氧活性都高于其他螺旋藻。说明其代谢作用较强, 后两种藻光合放氧活性接近, 但钝顶螺旋藻呼吸耗氧较低。苏联学者测定了 *Spirulina platensis* (GOM) Geitler 的光合放氧活性^[10], 与我们的结果接近。

表 5 螺旋藻的光合作用(光下放氧)和呼吸作用(暗中吸氧)*
Tab. 5 Photosynthesis and respiration of some *Spirulina*

	①	②	③	④
<i>S. subsalsa</i>	0.8292	5.5971	6.4263	13
<i>S. maxima</i>	0.4300	5.1613	5.5913	7.1
<i>S. platensis</i>	0.3228	5.2009	5.5237	5.8

* ① 暗中吸氧 Oxygen uptake in the dark.

② 光下放氧 Oxygen evolution in the light O_2 , mg/g·min.

③ = 1 + 2; ④ = 1:(1 + 2)(%)。

讨 论

对大规模培养来讲, 主要应当从 4 个方面来评价一个藻种: 营养价值、生长速率、对环境的适应性和是否便于采收, 加工。从本研究测过的项目看, 盐泽螺旋藻的营养价值与其他螺旋藻类似。而在其他 3 方面有明显优点。在所研究过的各种条件下, 盐泽螺旋藻的生长速度和最后收获量都最高, 因此生长优势明显, 表 5 表明该藻的代谢作用, 特别是光合作用比较旺盛, 恰恰和这种优势相关。另一方面, 还表明其呼吸耗氧量占光合放氧总量的 13%, 这一比例大大高于其他两种螺旋藻。如果控制某些外界条件, 调节其呼吸作用, 使之速率下降, 将减少消耗, 从而加快物质积累。因此, 适当改变培养方法, 有可能进一步加快其生长速度。

实验过的 4 种培养基, NaHCO_3 的含量变化相当大(由每升 4g 到 16.8g), 其他营养盐也不同, 盐泽螺旋藻在这些培养基中, 生长差异不明显, 说明该藻对营养和盐度都有较宽的适应范围。一次在温度失控的意外情况下, 培养物的温度上升到 65℃。立即降温, 使之恢复正常, 极大螺旋藻和钝顶螺旋藻很快漂白并全部死亡。而盐泽螺旋藻则继续正常生长, 看不出热伤害的痕迹。在几种螺旋藻对比实验中, 偶尔发生污染现象, 当这种现象发生时, 总是盐泽螺旋藻污染其他螺旋藻, 而极少见相反的现象, 看来前者的生命力强于后者。根据赵英华等提供的资料, 本实验所用盐泽螺旋藻采自水温 40—43℃ 的碱性热泉,

能够在高温, 高光强条件下很好地生长。无论是在淡水或咸水中都如此。实验结果表明该藻耐盐范围相当宽, 在含 0—5% 的 NaCl 的培养基中都能生长, 并合成蛋白质。而其最适生长的温度范围也很大(31—40℃)。这些事实说明这种藻有顽强的生命力和较其他螺旋藻对环境有更强的适应性。

盐泽螺旋藻的细胞体积和藻丝宽度, 比极大螺旋藻和钝顶螺旋藻小得多, 并没有给采收和加工带来困难, 因为这种藻的螺旋紧密得就象一条藻丝, 在过滤收获时, 起作用的是螺旋的宽度而不是藻丝的宽度, 更重要的是, 在大面积培养中, 这种藻能很快结成团块, 成片浮于水面, 极易捞取。可见, 盐泽螺旋藻是一种适于大量培养的最优良之藻种, 特别对有着酷热夏季的长江中下游地区更是如此。极大螺旋藻生长速度, 对环境的适应性等仅次于盐泽螺旋藻。另外, 该藻个体大, 细胞中气泡极多, 因此悬浮于培养液中, 分散生长, 能更充分利用光能和营养, 很容易用过滤法采收和清洗, 便于用喷雾法干燥、加工、制成优质产品, 该藻不仅适于大面积敞开式培养, 也适于在封闭或光生物反应器中进行立体培养。钝顶螺旋藻 1926 和 2340, 在生长等方面虽然稍差, 但只是相对而言, 从实验结果看, 仍不失为大规模培养中, 可供选择之藻种。多次实验表明大螺旋藻不能在包括上述 4 种培养基在内的多种培养基中生长, 只能在一种加富海水(ES 培养基)中生长, 但速度极其缓慢, 不宜用于大量培养。

一些文献报道^[1], 有的螺旋藻在敞开式大量培养时, NaHCO_3 投放量低到 4.5g/L 的水平, 产量并不降低, 这与我们的结果基本一致; 在本研究的实验中, 当 NaHCO_3 降到 4g/L 时, 对生长有一定影响, 但不明显, 而且主要表现于指数生长期之后。在敞开式大量培养中, 环境条件较实验室中复杂得多。 NaHCO_3 投入量虽然减少了 75%, 在指数期之前对生长的限制因子, 不可能是 NaHCO_3 , 而是环境中的其他因子, 当指数期已过, NaHCO_3 起限制作用的时候, 恰恰是收获或补充营养盐的时候了。所以, 我们认为将 NaHCO_3 降至 4g/L, N、P、K 降至 M-Ss 培养基的水平, 对大量培养的产量不会有明显影响。尽管有的学者的研究发现, 钝顶螺旋藻, 在室外培养所需 NaHCO_3 之最低量为 0.5—1g/L 之间。但我们认为继续将 NaHCO_3 的量降至 4g/L 以下并不可取, 因为这种盐的功能不仅作为营养的碳源, 还起调节 pH 值和离子强度的作用, 并能抑制杂藻的污染, 如果为了减少微量 NaHCO_3 , 而造成污染或其他麻烦, 将得不偿失。

参 考 文 献

- [1] Becker, E. W. and Venkataraman, L. V., 1984. Production and utilization of blue-green alga *Spirulina* in India. *Biomass*, 4: 105—125.
- [2] Clément, G., Giddey, C. and Menzi, R., 1967. Amino acid composition and nutritive value of the alga *Spirulina maxima*. *J. Sci. Food Agric.*, 18: 497—501.
- [3] Durand-chastel, 1980. Production and use of *Spirulina* in Mexico. *Algae Biomass*, pp. 51—64. G. Shelef and C. J. Soeder, Editors. Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- [4] Liu, Huey Ing, 1986. Studies on the comparison of morphological, physiological and growth characteristics between *Spirulina platensis* and *S. maxima*. *Chung-hua Nong Yeh Yen Chiu*, 35(1): 63—80.
- [5] Orio Ciferri, 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews*, 47(4): 551—578.
- [6] Richmond, A. and Grobbelaar, J. U., 1986. Factors affecting output rate of *Spirulina platensis* with reference to mass cultivation. *Biomass*, 10(4): 253—264.
- [7] Soong, P., 1980. Production and development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan. in *Algae Biomass*, pp. 97—113. G. Shelef and C. J. Soeder, Editors. Elsevier/North-Holland Biomedical Press.

- [8] Sorokin, C., 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. *Handbook of Phycological Methods*, pp. 321—343. Janet R. Stein Edited. Published by the Syndics of the Cambridge University Press.
- [9] Warr, S. R. C., Reed, R. H., Chudek, J. A., Foster, R. and Stewart, W. D. P., 1985. Osmotic adjustment in *Spirulina platensis*. *Planta*, 163(3): 424—429.
- [10] Шаренкова, X. A., Семеновко, В. Е., 1982. Характерика фотосинтетического выделения кислорода *Spirulina plantensis* (GOM) Geitl, *Физиология Растений*, 29(3):572—577.

COMPARISON OF *SPIRULINA SUBSALSA* WITH OTHER *SPIRULINA* SPECIES

Lin Huimin

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

Morphology, physiology, biochemical composition and growth of *Spirulina subsalsa* were studied and compared with those of other *Spirulina*.

There are no apparent differences in protein content, amino acid composition and contents of several pigments among *S. subsalsa*, *S. maxima* and *S. platensis*. The generation time of *S. subsalsa* is 8.4 hours. This growth rate is higher than that of any other species reported in the present paper. The generation times of *S. maxima*, *S. platensis* 1926 and *S. platensis* 2340 are 11.0, 11.8 and 14.8 hours respectively. *S. subsalsa* exhibits a wider tolerance of temperature and salinity, and is easily harvested with simple methods. Both rates of photosynthetic oxygen evolution and respiratory oxygen uptake of *S. subsalsa* are higher than those of *S. maxima* and *S. platensis*. The potential of improving the medium is discussed.

Key words Algae, *Spirulina*, Photosynthesis, Respiration