

{研究简报{

盐生杜氏藻生长及 β -胡萝卜素累积的动力学过程

姜建国 姚汝华

(华南理工大学生物工程系, 广州 510641)

STUDIES ON THE GROWTH *DUNALIELLA SALINA* OF AND β -CARTENE ACCUMULATION KINETICS

Jiang Jianguo and Yao Ruhua

(Department of Biotechnology, South China University of Technology, Guangzhou 510641)

关键词 盐生杜氏藻, β -胡萝卜素, 生长动力学

Key words *Dunaliella salina*, β -carotene, Growth kinetics

国内外学者多注重研究环境因子对盐生杜氏藻生长和 β -胡萝卜素累积的影响, 为此, 作者从温度和盐浓度对盐生杜氏藻生长的动力学及盐度与 β -胡萝卜素累积的关系作了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 藻种 *Dunaliella salina* 购于中国科学院水生生物研究所, 置基本培养基培养。取对数生长期的藻种溶液进行以下实验。

1.2 不同温度和盐度下生长率的测定 取培养的盐生杜氏藻溶液, 置不同温度和盐度中培养, 光照强度 10000lx (16:8D)。采用血球计数板进行细胞数目的测定, 取两次样品的平均数。

1.3 不同盐浓度下 β -胡萝卜素的累积 藻溶液培养到第 15d, 进行 β -胡萝卜素含量的测定。

2 结果与讨论

2.1 盐生杜氏藻的生长

从盐生杜氏藻的生长曲线(图 1)可以看出, 在 3—12d 处于对数生长期, 根据公式:

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t} \quad (1)$$

式中 N_0 为对数期开始时的细胞数, N_t 为对数期结束时的细胞数, t 为时间。得到盐生杜氏藻在对数期的生长率为 0.22d。

2.2 温度对盐生杜氏藻生长的影响

不同温度下盐生杜氏藻的生长率变化(图 2)。当光照一定的情况下, 藻类的最大比生长率与温度之间的关系可用下式表示^[4]:

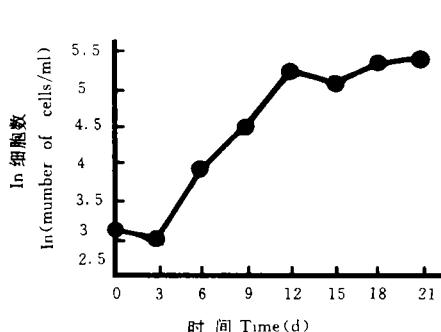
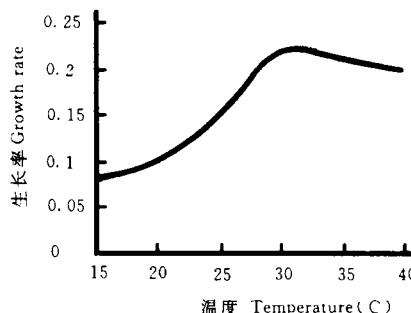


图1 盐生杜氏藻的生长曲线

Fig.1 The growth curve of *D. salina*图2 温度对盐生杜氏藻生长的影响
Fig.2 Affection of temperature on the growth of *D. salina*

$$\mu_m = Ae^{-E/RT} \quad (2)$$

式中, μ_m 为最大比生长率; A 为常数 (d^{-1}); E 为活化能 ($cal \cdot mol^{-1}$); R 为气体常数 ($cal \cdot k^{-1} \cdot mol^{-1}$); T 为绝对温度。上述公式只考虑温度对藻类生长的影响, 当考虑藻类对诸多环境因子的反应时, 温度对藻类生长的影响遵循温氏法则, 即温度每上升 $10^{\circ}C$, 生物的反应大约加倍。温度对藻类生长的影响可用温度系数 Q_{10} 表示:

$$Q_{10} = (r_2/r_1)^{10/(T_2-T_1)} \quad (3)$$

此式描述温度每升高 $10^{\circ}C$, 生长率的变化。式中, r_2 和 r_1 分别表示温度为 T_2 和 T_1 时的生长率。由图 2 的结果, 通过公式 3 计算出盐生杜氏藻的温度系数 $Q_{10} = 1.96$ 。

藻类光合过程的平均活化能可由下式表示:

$$E = \frac{2.3RT_2T_1 \lg Q_{10}}{10} \quad (4)$$

由公式 4 得平均活化能 $E = 47.88 cal/mol$ 。将 Q_{10} 和 E 代入公式 2, 盐生杜氏藻的最大比生长率可表示为:

$$\mu_m = Ae^{-5769/T} \quad (5)$$

前面已经得到在 $30^{\circ}C$ 时盐生杜氏藻的最大生长率是 $0.22 d^{-1}$, 这样由上式可得到 $A = 4.08 \times 10^7$, 因此公式 5 改写为:

$$\mu_m = 4.08 \times 10^7 e^{-5769/T} \quad (6)$$

公式 6 描述了盐生杜氏藻的生长与温度的关系。

2.3 盐浓度对盐生杜氏藻生长的动力学模式

藻类的生长与盐度密切相关, 一般来讲较低的盐度有利于盐生杜氏藻的生长, 而较高的盐度有利于细胞内 β -胡萝卜素的积累。图 3 是不同盐浓度下盐生杜氏藻生长率的变化, 可见盐浓度为 $2 mol/L$ 时, 盐生杜氏藻的生长情况最好。

当考虑单一营养盐为藻类生长的限制因子时, 该营养盐对藻类生长的影响可表示为:

$$\mu = \mu_m \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (7)$$

式中, μ 为比生长速率 (d^{-1}), μ_m 为最大比生长速率 (d^{-1}), S 为营养盐浓度 (mol/L), K_s 为半饱和常数, 单位由 S 决定。

根据式 7, 由图 3 的结果, 以 $1/\mu$ 对 $1/S$ 作图 (图 4), 可得双倒数直线方程, 直线在横轴上的截距为 $-1/K_s$, 纵轴上的截距为 $1/\mu_m$, 斜率为 K_s/μ_m , 由此得到盐浓度的半饱和常数 $K_s = 0.33$, 这样, 公式 7 表示为:

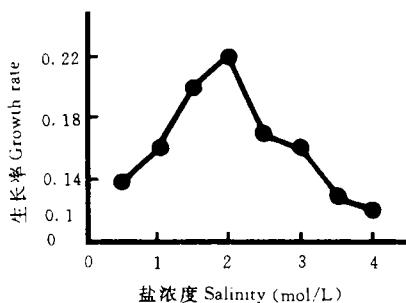


图3 盐浓度对盐生杜氏藻生长的影响

Fig.3 Affection of salinity on the growth of *D.salina*

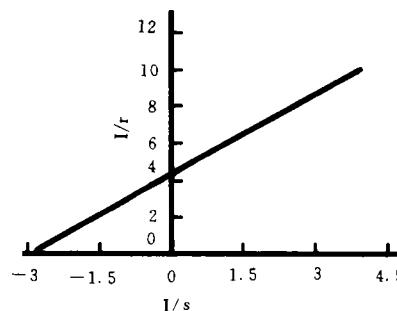


图4 双倒数(1/r对1/s)作图

Fig.4 Analysis figure of double reciprocals (1/r to 1/s)

$$\mu = \mu_m \cdot \frac{S}{0.33 + S} \quad (8)$$

将公式6和公式8联立, 得到盐生杜氏藻生长的动力学模式:

$$\mu = 4.08 \times 10^7 e^{-5769/T} \frac{S}{0.33 + S} \quad (9)$$

为了验证所建立的模型及回归参数的可靠性, 进行了盐生杜氏藻生长速率的实测值和预测值比较, 选择不同盐浓度和温度组合对盐生杜氏藻进行培养, 结果(表1)表明, 模型预测值和实测值吻合得较好, 两者之间的平均相对偏差为4.15%。

表1 盐生杜氏藻生长率的预测值和实测值

Tab.1 The theorial value and the exprimental value

| 盐度 Salinity (mol/L) | T(K) | 预测值 Calculation μ | 实测值 Measurement μ | 相对误差% Relative error(%) |
|---------------------------|------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 0.25 | 298 | 0.069 | 0.072 | 5.80 |
| 0.5 | 303 | 0.096 | 0.092 | 4.17 |
| 0.5 | 298 | 0.132 | 0.138 | 4.55 |
| 1.0 | 303 | 0.131 | 0.136 | 3.82 |
| 1.0 | 298 | 0.180 | 0.186 | 3.33 |
| 1.5 | 298 | 0.120 | 0.117 | 2.50 |
| 1.5 | 303 | 0.165 | 0.173 | 4.85 |

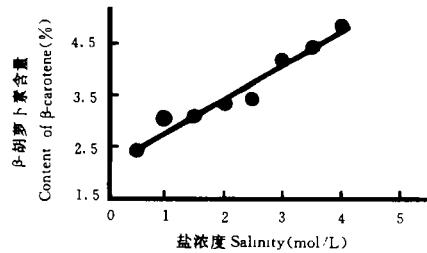
图5 β -胡萝卜素含量与盐浓度的关系

Fig.5 The relationship between the content of β -carotene and the salinity

2.4 盐度对 β -胡萝卜素累积率的关系

研究表明, 高盐浓度有利于盐生杜氏藻 β -胡萝卜素的累积, 在小于30%的盐度范围内, 盐度与 β -胡萝卜素含量呈正相关。图5是30℃条件下 β -胡萝卜素含量随盐度的变化及线性回归分析, 两者之间的关系表示为:

$$C_{\beta} = 0.5845S + 2.3018 \quad (r = 0.9759, n = 8, p < 0.0001) \quad (10)$$

此式表明了盐浓度与盐生杜氏藻 β -胡萝卜素累积的关系。 β -胡萝卜素的累积还受其它因素, 诸如光强、温度、氮源浓度等的影响, 一般来讲, 高盐浓度、高光强和低浓度氮盐是 β -胡萝卜素高度累积的充分条件, 因此盐生杜氏藻 β -胡萝卜素的累积动力学还应作更深入的研究。另外, 由于较高的盐度不利于盐生杜氏藻的生长, 因此, 求出 β -胡萝卜素累积与盐生杜氏藻生长两个动力学过程的相互关系, 推导出获得 β -胡萝卜素最大产量的环境条件, 是一个有待进一步探索的课题。