

光强和 CO₂ 体积分数对不同生长时期的钝顶螺旋藻生长和固碳的交互影响

李 姿, 任洪艳, 周骞骞, 阮文权*

(江南大学 环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为了提高钝顶螺旋藻生长过程中的比生长速率和固碳速率, 对钝顶螺旋藻延迟期、对数期前期、对数期后期和稳定期, 光强和 CO₂ 体积分数两个主要环境因子进行优选。实验结果表明: 钝顶螺旋藻在 1 L 三角瓶中培养时, 在温度 30 ℃, 光周期 16/8 下, 延迟期适宜的光强 3 000 Lux, 无需通入 CO₂; 对数期前期适宜的光强为 4 000 Lux, 需补通 15% CO₂; 对数期末适宜的光强为 5 000 Lux, 需补通 15% CO₂; 稳定期适宜的光强低于 3 000 Lux, 无需补加 CO₂。分四个时期调控培养条件进行钝顶螺旋藻的连续培养, 最大生物量和固碳速率均高于对照组, 达到 4.126 g/L 和 58.231 mg/(L·h)。

关键词: 钝顶螺旋藻; 光强; CO₂; 固碳速率

中图分类号: X 511 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2014)08—0827—10

Interaction Effects of Light Intensity and CO₂ Concentration on *Spirulina platensis* Growth and Carbon Sequestration

LI Zi, REN Hongyan, ZHOU Qianqian, RUAN Wenquan*

(School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: To improve the specific growth rate and CO₂ fixation rate of *Spirulina platensis*, the research was divided into four growth period: lag phase, the early of log phase, the end of log phase, the stable phase. The purpose was to optimize two main environmental factor which is light intensity and CO₂ concentration. Experimental results showed that the growth of *Spirulina platensis* was conditioned in a 1 L conical flaske under 30 ℃ of temperature and 16/8 of light period: the optimum condition of lag period is light intensity 3 000 lux, without bubbling the CO₂; the optimum condition of the early of log phase is light intensity 4 000 Lux, with bubbling 15% concentration of CO₂; the optimum condition of the end of log phase is light intensity 5 000 Lux, with bubbling 15% concentration of CO₂; the light intensity the stable phase is lower than 3 000 Lux, no need to bubble CO₂. In continuous cultivation of *Spirulina platensis* regulate culture conditions of four period, the maximum biomass and carbon fixation rates were higher than the control group at 4.126 g/L and

收稿日期: 2014-10-20

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金新教师类资助项目(20120093120011)。

* 通信作者: 阮文权(1966—), 男, 上海人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事水污染控制工程方面的研究。

E-mail: wqruan@jiangnan.edu.cn

58.231 mg/(L·h) respectively.

Keywords: *Spirulina platensis*, light intensity, CO₂, carbon fixation rates

随着世界经济的快速发展,化石燃料的使用量日益增加,据此带来 CO₂ 等温室气体大量排放^[1]。其中 CO₂ 以其浓度最高而成为各界关注的减排焦点。微藻是一类单细胞或简单多细胞的微生物,能够利用无机碳进行光合作用,生长迅速,固定 CO₂ 和储存太阳能的效率是陆生植物的 10~50 倍^[2]。利用微藻生物固定 CO₂ 与物理法和化学法相比,具有繁殖快^[3]、周期短和环境适应性强^[4]、处理速率高等优势^[5]。近年来,国内外对利用微藻生物技术进行碳减排已有大量的研究报道^[6-8]。

微藻固定 CO₂ 的速率取决于光自养生长过程。微藻的光自养生长与多种环境因子相关,包括 CO₂ 体积分数、温度^[9]、光照、微量元素等,其中 CO₂ 是光合作用的底物,光照是光合作用的能源,因此光照和 CO₂ 体积分数对藻类的生长影响很大。光自养过程严格受光照限制;当光照不足或过高时,不利于微藻生长和对 CO₂ 的固定^[10]。由于微藻自身遮蔽现象会导致培养后期微藻对光的可利用率低,从而严重抑制其光合生长。张志斌等人对集胞藻 6803 光自养生长过程的研究显示,在培养后期,光能光生物反应器的暗区部分体积达 80%,甚至出现藻细胞光合作用停滞的现象^[11]。

CO₂ 体积分数对微藻的不同生长阶段生长速率和固碳速率具有不同的影响,Chang 等^[12]认为对于能够利用 NaHCO₃ 作为碳源的微藻,能够很好地利用废水中的 CO₂,并且产生较高的生物量;宋成军^[13]等在研究普通小球藻对 CO₂ 吸收量的测定时,采用体积分数为 99.99% 的 CO₂,发现小球藻要经过一段很长的延滞期;华英^[14]在研究螺旋藻固定电厂尾气中的 CO₂ 时,也发现纯 CO₂ 环境中,反应器内 CO₂ 通气量增大螺旋藻细胞浓度迅速降低。王钦琪等^[15]采用沼液培养普通小球藻,发现向培养液中通入体积分数 5%~20% 的 CO₂ 后,藻细胞的生长延滞期推迟了 1~2 d,培养一段时间后,小球藻生长明显加快,此时小球藻处于对数期;岳丽宏^[16]等向小球藻中分别通入体积分数 5%、10%、15% 和 20% 浓度的 CO₂ 气体,随着 CO₂ 体积分数的增大,其生长的延滞期最大延长 2 d。

螺旋藻是一种主要分布于热带、亚热带地区淡水或盐碱性湖泊中的多细胞丝状蓝藻 (Blue Green Algae), 又称蓝细菌 (*Cyanobacteria*), 属蓝藻门 (Cyanophyta)、颤藻目 (Oscillatoriales)、颤藻科 (Oscillatoriaceae)、螺旋藻属 (*Spirulina*)。是地球上最早的光合生物之一,但真正实现工业化规模培养的主要有两种,即钝顶螺旋藻 (*Spirulina platensis* Geitler) 和极大螺旋藻 (*Spirulina maxima* Geitler)^[17]。据此,作者选取固碳微藻钝顶螺旋藻作为研究对象,考察不同生长阶段,不同的 CO₂ 体积分数和光强对其生长速率和固碳速率的交互影响,以其实实现连续培养时分阶段的生长条件调控,提高生长和固碳速率,为微藻生物固定 CO₂ 的大规模推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

藻种:钝顶螺旋藻购自中科院水生生物研究所淡水藻种库,编号 FACHB-901;培养基采用改良的 Zarrouk 配方 (组分 g/L): NaNO₃ 2.5, NaCl 1.0, K₂HPO₄ 0.5, K₂SO₄ 1.0, MgSO₄·7H₂O 0.2, CaCl₂ 0.04, FeSO₄·7H₂O 0.01, Na₂-EDTA 0.08, 1 mL A₅ 溶液 (1 000 mL 蒸馏水中加 ZnSO₄·7H₂O 0.22 g, H₃BO₃ 2.86 g, CuSO₄·5H₂O 0.08 g, MnCl₂·4H₂O 1.8 g, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 0.02 g)。

1.2 实验装置

实验装置见图 1。采用 1 L 的锥形瓶作为钝顶螺旋藻的培养容器,以曝气的方式通入 CO₂,于 GXZ-380B 光照培养箱中进行培养。

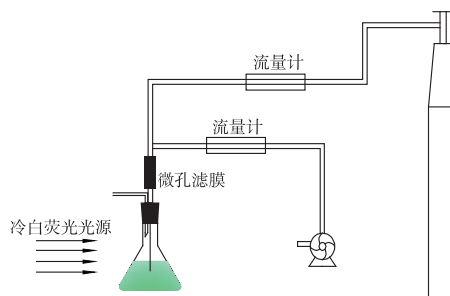


图 1 实验装置

Fig. 1 Experimental facility

1.3 实验方法

1.3.1 自然条件下钝顶螺旋藻的生长曲线 将培养至对数期的藻种接入有新鲜培养基 1 L 的三角瓶中,使其初始光密度值约为 0.1。于光照强度 3 000 Lux, (25.0±1) °C 下培养,光照周期为 16/8 (day/night)。培养周期为 13 d,每天测定钝顶螺旋藻的 OD 值、pH 值及细胞生物量,初步确定其生长曲线,为不同生长时期的实验提供参考。实验设置 3 个平行样。

1.3.2 不同光强和 CO₂ 浓度对钝顶螺旋藻不同时期的生长和固碳速率的交互影响 将培养至对数期的藻种接入有新鲜培养基的 1 L 三角瓶中,根据 1.3.1 初步确定的生长曲线及其对应的 OD 值,培养一定的时间后,确定为考察的钝顶螺旋藻的延迟期、对数期前期、对数期后期、稳定期的时间段,分别设置各个时期需要考察的不同的光照强度,并在每个光照强度下培养 8 h 后分别通入体积分数为 0.03% (空气)、5%、10%、15% 的 CO₂。在不同光照强度和 CO₂ 体积分数交互影响下培养 1 d 后,分别取一定量的藻液测定藻的 OD 值、pH 值和细胞生物量。确定适合钝顶螺旋藻自养生长延迟期的最佳光强和 CO₂ 体积分数。每个实验处理组设置 3 个平行样。

1.3.3 优化调控条件下连续培养钝顶螺旋藻 基于前面得到的各个时期的最优光强和 CO₂ 体积分数,进行连续 7 d 的培养,光暗比为 16:8 (h),结合藻密度和培养时间进行不同生长时期的光强和补加 CO₂ 体积分数的调节。设立对照组,条件为光照时间内光强恒定为 3 000 Lux,培养时间内均间断补加 10% 体积分数的 CO₂。分别在光照培养期间,每隔 8 小时测定藻的 OD 值和细胞生物量。每个实验处理组设置 3 个平行样。

1.4 指标测定及计算方法

1) 细胞干重^[18]:收取藻液,置于日立离心机中 21 400 g 离心 15 min,用蒸馏水洗涤后,置于 60 °C 干燥至恒重,称其干重。

2) 藻干细胞含碳率 C_c : 使用 CHN 元素分析仪 (Vario EL III, 德国) 测定。

3) 比生长速率 (μ):指在某一时间间隔内藻类生长的速率,计算公式^[19]:

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

式(1)中, X_2 为某一时间间隔终结时的藻细胞干质量; X_1 为某一时间间隔开始时的藻细胞干质量; $t_2 - t_1$ 为某一时间间隔。取 μ 的最大值即为最大生长速率 $\mu_{\max}$ 。

4) CO₂ 固定速率^[20]:

$$P_X = \frac{X_2 - X_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

$$R_c = P_X \times C_c \times \frac{M_{CO_2}}{M_C} \quad (3)$$

式(2)、(3)中: R_c 为 CO₂ 固定速率; P_X 为钝顶螺旋藻的生长率; C_c 为藻干细胞含碳率; M_{CO_2} 为 CO₂ 的相对分子质量; M_C 为 C 的原子量。

1.5 数据处理与分析

采用 Origin 8.0 软件作图。采用 SPSS 18.0 软件进行单因子方差分析和多重比较 ($P < 0.05$) 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 自然条件下钝顶螺旋藻的生长曲线

在光强 3 000 Lux 条件下,考察自然条件下钝顶螺旋藻的生长曲线,结果见图 2。在自然生长状态下,随着培养时间的进行,其 OD 值逐渐增大,藻密度增大,最大生物量随着培养时间的进行逐渐增大,最大 OD 值达到 0.959,对应的最大生物量 2.469 g/L;由图 2 钝顶螺旋藻的生长曲线,初步确定 1~2 d 为延迟期,2~4 d 为对数期前期,4~6 d 为对数期后期,6~7 d 为稳定期,据此分别选取对应生长区间的 OD 值 0.1、0.5、0.9、1.1 为考察四个时期条件的初始接种藻密度。

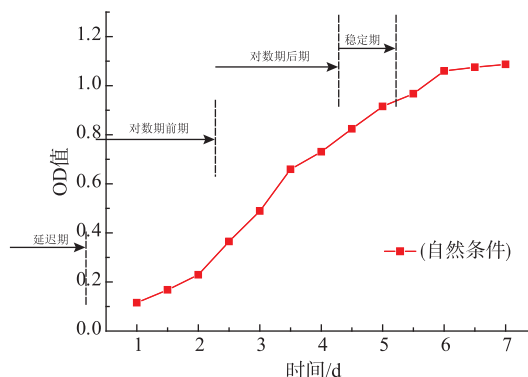


图 2 自然条件下钝顶螺旋藻生长曲线

Fig. 2 Growth curve of *Spirulina platensis* cultures under natural concentrations

2.2 光强和 CO₂ 体积分数对延迟期钝顶螺旋藻生长及固碳速率的交互影响

基于 2.1 初步得到的生长曲线, 进行钝顶螺旋藻延迟期时不同光强和 CO₂ 体积分数对固碳速率和比生长速率的交互影响, 结果见图 3。随着光强的升高, 固碳速率和比生长速率呈现先增大后减小的趋势。光强 3 000、4 000 Lux 组相差不大, 其固碳速率和比生长速率均达到最大值, 分别为 11.212 mg/(L·h) 和 0.370 d⁻¹ 左右, 略好于 2 000 Lux, 明显好于 5 000、6 000 Lux 组; 其次当光强 2 000、3 000、4 000 Lux 时, 分别鼓入 0.03% (空气)、5%、10% 和

15% 四种不同体积分数的 CO₂, 其固碳速率和比生长速率差别不大。说明培养基中的碳源可以保证延迟期微藻的生长需要, 不需要补充 CO₂。

分析延迟期时光强过大对钝顶螺旋藻的固碳和生长速率产生抑制, 可能是因为光合速率呈现光饱和后, 随光照强度继续增高光合作用会立即出现下降的现象^[21]。虽然夏建荣^[22]等人研究报道了在一定的高光强对螺旋藻产生光抑制后, 认为高 CO₂ 体积分数可减轻螺旋藻的光抑制, 但对其光抑制后的恢复不能产生影响。综合考虑能耗和成本, 选择钝顶螺旋藻延迟期时光强 3 000 Lux, 定期通入空气。

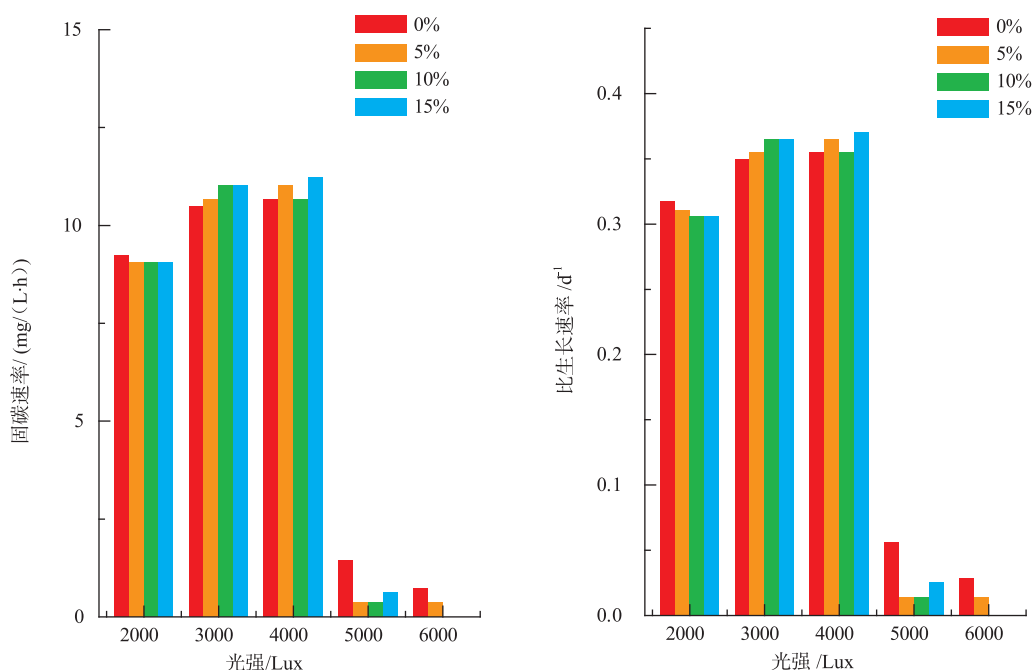


图 3 不同光强和 CO₂ 体积分数下延迟期钝顶螺旋藻的比生长速率和固碳速率

Fig. 3 Reciprocal effect of light intensity and CO₂ concentrations on the growth of *Spirulina platensis* of lag phase and CO₂ fixation rate

2.3 对数期前期光强和 CO₂ 体积分数对钝顶螺旋藻生长及固碳速率的交互影响

基于 2.1 初步得到的生长曲线, 进行钝顶螺旋藻对数期前期时不同光强和 CO₂ 体积分数对固碳速率和比生长速率的交互影响, 结果见图 4。随着光强的升高, 固碳速率和比生长速率均先增大后减小, 在 4 000 Lux 时固碳速率、比生长速率均最大; 对比 4 000 Lux 下四种不同的 CO₂ 体积分数 (0% (空气组)、5%、10%、15%) 对螺旋藻固碳速率和比生长速率的影响。结果显示, 随着 CO₂ 体积分数增加, 固碳速率和比生长速率均增加, CO₂ 体积分数为

15% 时钝顶螺旋藻的固碳速率和比生长速率达到最大值, 分别为 67.997 mg/(L·h) 和 0.561 d⁻¹。

光强 2 000 Lux 时, 微藻生长速度相对较慢, 对碳源的需求较小。可能培养液中初始的碳源已可保障其生长, 过多的补加 CO₂, 有可能不利于其生长^[23]; 随着光强持续升高, 固碳速率和比生长速率下降的原因, 可能是光强大于 4 000 Lux 后, 由于对数期藻体受到损伤, 导致叶绿素 a 的合成受阻, 影响光合作用, 因此光强过高对钝顶螺旋藻的生长产生抑制作用^[24]; 在 5 000、6 000 Lux 下, 随着 CO₂ 体积分数的增大, 其固碳速率和比生长速率也出现明显下

降的趋势,分析可能随着 CO₂ 体积分数增加,水中大量溶解态 CO₂ 向细胞质内扩散,并水解形成 HCO₃⁻和 H⁺,造成胞内 pH 值下降,这种酸化导致麻

醉,进一步降低光合作用水平^[25],并且对藻细胞质的毒性作用会阻碍微藻对 CO₂ 的进一步吸收和利用^[26]。

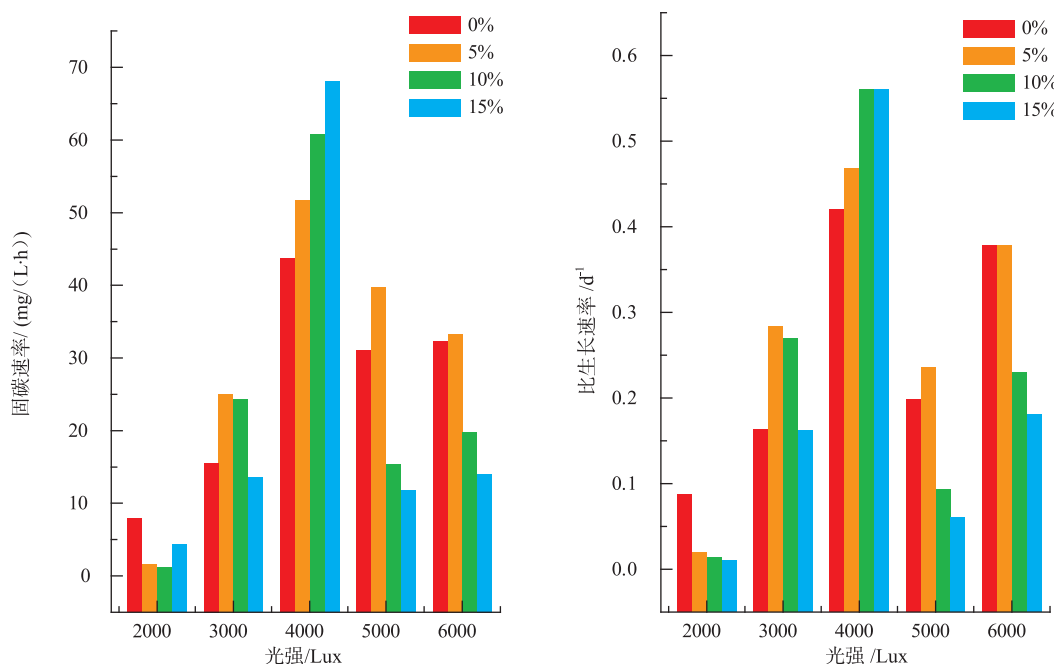


图 4 不同光强和 CO₂ 体积分数下对数期初期钝顶螺旋藻的比生长速率和固碳速率

Fig. 4 Reciprocal effect of light intensity and CO₂ concentrations on the growth of *Spirulina platensis* in the early of log phase and CO₂ fixation rate

为了进一步深入了解光强和 CO₂ 体积分数对钝顶螺旋藻对数期前期比生长速率和固碳速率的交互影响,选取图 4 每个光强,最适 CO₂ 体积分数下的比生长速率和固碳速率数据,结果见表 1。当光强为 2 000、3 000、4 000 Lux 时,合适的补加 CO₂ 体积分数分别为空气(0.03%)、5%和 15%。据此得出光强和 CO₂ 体积分数对螺旋藻的生长和固碳存在相互影响。当光强较低时,其生长速度较慢,对 CO₂

的需求相对较小,因此补加的 CO₂ 体积分数较低。光强 5 000 Lux、10%CO₂ 体积分数时,虽然生物量为 2.633 g/L,大于 4 000 Lux、15%CO₂ 体积分数时的 2.205 g/L,但固碳速率为 39.785 mg/(L·h),明显小于 4 000 Lux 时的 67.997 mg/(L·h)。因此结合生长和固碳结果,确定对数期初期适宜的条件为光强 4 000 Lux,通入体积分数 15%CO₂。

表 1 光强和 CO₂ 体积分数对对数期初期钝顶螺旋藻生长及固碳速率的影响

Table 1 Effects of light intensity and CO₂ concentration on the growth of *Spirulina platensis* in the early of log phase

对数期初期		最大生物量/(g/L)	$\mu_{\max}/d^{-1}$	$P_x/(mg/(L \cdot h))$	CO ₂ 固定速率 $R_f/(mg/(L \cdot h))$
光强	CO ₂ 体积分数/%				
2 000 Lux	0	1.318±0.061 ^a	0.088±0.004 ^b	4.617±0.211 ^d	7.957±0.296 ^c
3 000 Lux	5	1.457±0.068 ^c	0.285±0.010 ^c	14.510±0.686 ^b	25.010±1.219 ^a
4 000 Lux	15	2.205±0.088 ^d	0.561±0.024 ^a	39.457±1.478 ^c	67.997±3.299 ^b
5 000 Lux	5	2.633±0.097 ^b	0.236±0.009 ^d	23.086±0.823 ^c	39.785±0.686 ^d
6 000 Lux	5	2.472±0.099 ^c	0.378±0.013 ^c	19.310±0.687 ^a	33.275±0.881 ^c

注:表中数据为平均值±标准差;同列中不同字母表示各处理间差异显著($P<0.05$);下同。

2.4 光强和 CO₂ 体积分数对对数期后期钝顶螺旋藻生长及固碳速率的交互影响

基于 2.1 初步得到的生长曲线, 进行钝顶螺旋藻对数期后期不同光强和 CO₂ 体积分数对固碳速率和比生长速率的交互影响, 结果见图 5。随着光照强度的增大, 对数期后期钝顶螺旋藻的比生长速率和固碳速率总体呈现上升的趋势; 在同一光强下通入不同体积分数的 CO₂, 其比生长速率和固碳速率也随着 CO₂ 体积分数的增大而增大: 光强 3 000 Lux 时, 通入 10% 体积分数的 CO₂, 钝顶螺旋藻的比生长速率和固碳速率较高, 分别是 0.077 d⁻¹、15.01 mg/(L·h); 当光强增大到 4 000 Lux 时, 补通四种体积分数的 CO₂, 其比生长速率和固碳速率差别不大; 在光强 5 000 Lux、15% 体积分数的 CO₂ 时固碳速率和比生长速率达到最大值, 分别为 32.552 mg/(L·h) 和 0.271 d⁻¹。然后随着光强的继续升高开始下降, 据此得到光强 5 000 Lux, 15% 体积分数 CO₂ 为对数期钝顶螺旋藻生长及固碳的最佳培养条件。

分析在对数期后期通入四种体积分数的 CO₂, 在光强小于 3 000 Lux 时, 由于光强过低, 光合作用较弱, 培养基的营养物质以及通入的 CO₂ 已经不能满足对数期后期钝顶螺旋藻的生长需要; 在光强 4 000 Lux 时, 四种 CO₂ 体积分数下的固碳速率和比生长速率没有明显的区别, 可能是在此光强下, 钝顶螺旋藻很好的利用了培养基中的碳源, 且添加的 CO₂ 结合光强之间交互影响可以保证其正常生长,

差异不大; 在光强 5 000~6 000 Lux 和较高 CO₂ 体积分数下, 固碳速率和比生长速率在 CO₂ 体积分数时最大, 表明钝顶螺旋藻在光强适宜的条件下, 快速生长, 对 CO₂ 的浓度需求提高, 共同达到了钝顶螺旋藻最适生长的条件^[27]。这与文献报道的外源最适 CO₂ 体积分数存在差异, Michele 等人报道钝顶螺旋藻在 6% CO₂ 作用下比生长速率和固碳速率达到最大, 分别为 0.44 d⁻¹ 和 15.797 mg/(L·h); Pierre 等人研究显示钝顶螺旋藻在 1% CO₂ 处理下其生物量和固碳速率较对照提高将近 60%。分析可能与光强调控、实验藻种、及其本文细化了培养时期、通入 CO₂ 的过程和方法有关^[28]。分析在较高光强 5 000~6 000 Lux 和较低的 CO₂ 体积分数下, 固碳速率和比生长速率都较低的原因, 可能是由于较高的光强, 促进钝顶螺旋藻的光合作用加强, 较快的消耗掉培养基中的无机碳, 且补加的 CO₂ 体积分数较低, 无法满足微藻对数期生长的需要。但 CO₂ 体积分数提高到 15% 时, 一方面溶液中的化学反应向着有利于生成 H⁺ 和 HCO₃⁻ 的方向进行, 充足的光能提供和较高的无机碳浓度, 利于提高碳的固定速率; 另一方面, 从 Gao 等在紫菜添加 CO₂ 的研究中发现, 高浓度 CO₂ 培养的紫菜, 其光呼吸速率下降, 可能是培养液内 CO₂ 的分压增加和无机碳浓度较高, 使细胞内 CO₂/O₂ 的比例提高, 有利于 Rubisco 酶起羧化酶作用, 同时抑制光呼吸, 导致了光合作用效率的提高^[29]。

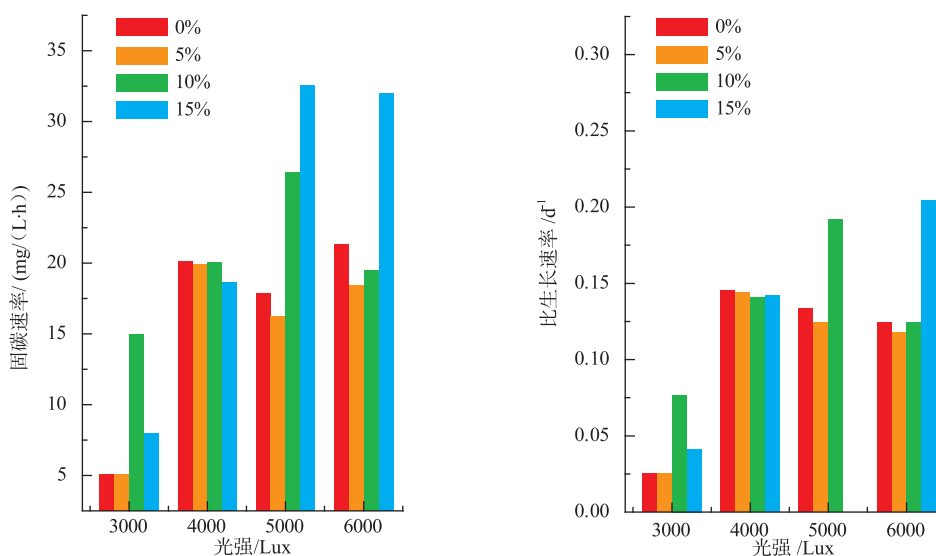


图 5 不同光强和 CO₂ 体积分数下对数期末期钝顶螺旋藻的比生长速率和固碳速率

Fig. 5 Reciprocal effect of light intensity and CO₂ concentrations on the growth of *Spirulina platensis* in the end of log phase and CO₂ fixation rate

为了进一步深入了解光强和 CO₂ 体积分数对钝顶螺旋藻对数期后期比生长速率和固碳速率的交互影响,选取图 5 每个光强,最适 CO₂ 体积分数下的比生长速率和固碳速率数据,结果见表 2。当光强在 3 000、4 000 Lux 和 10%CO₂ 体积分数下,其最

大的比生长速率和固碳速率分别是 0.141 d⁻¹ 和 20.073 mg/(L·h)明显低于 5 000、6 000 Lux 和 15% CO₂ 体积分数下的 0.271 d⁻¹ 和 32.552 mg/(L·h),可进一步证明不同的光强和 CO₂ 体积分数对钝顶螺旋藻生长和固碳的交互影响。

表 2 光强和 CO₂ 体积分数对对数期后期钝顶螺旋藻生长及固碳速率的影响

Table 2 Effects of temperature on the growth of *Spirulina platensis* and CO₂ fixation rate in the end of log phase

对数期末期		最大生物量/(g/L)	$\mu_{\max}/d^{-1}$	$P_N/(mg/(L \cdot h))$	CO ₂ 固定速率 $R_f/(mg/(L \cdot h))$
光强	CO ₂ 体积分数组合				
3 000 Lux	10%	2.834±0.122 ^d	0.077±0.001 ^e	8.710±0.406 ^b	15.010±0.663 ^a
4 000 Lux	10%	2.167±0.908 ^a	0.141±0.005 ^a	12.173±0.587 ^d	20.073±0.949 ^d
5 000 Lux	15%	2.907±0.115 ^b	0.271±0.007 ^b	18.889±0.744 ^a	32.552±1.627 ^b
6 000 Lux	15%	2.406±0.103 ^c	0.205±0.003 ^d	18.574±0.829 ^c	32.009±1.554 ^c

对比表 2 与表 1 的数据,钝顶螺旋藻处于对数期后期时,在最适光强 5 000 Lux、15% CO₂ 体积分数下达最大生物量 2.907 g/L,高于对数期前期时最适光强 4 000 Lux、15%CO₂ 体积分数下的 2.205 g/L。但对数期后期比生长速率和固碳速率的最大值(0.271 d⁻¹、32.552 mg/(L·h))却明显小于对数期前期时(0.561 d⁻¹、67.997 mg/(L·h))。这表明钝顶螺旋藻在对数期后期生物量继续积累,符合钝顶螺旋藻的生长曲线,但固碳速率和比生长速率已较前期明显减小,向稳定期过度。

2.5 光强和 CO₂ 体积分数对稳定期钝顶螺旋藻生长及固碳速率的交互影响

基于 2.1 初步得到的生长曲线,进行钝顶螺旋藻稳定期不同光强和 CO₂ 体积分数对固碳速率和比生长速率的交互影响实验。结果见表 3。在光强 3 000、4 000Lux 下,其比生长速率随着补充的 CO₂ 体积分数的增加而降低,在 0.03%(空气)和 5%的 CO₂ 体积分数下其比生长速率差别不大,但在 10%和 15%的 CO₂ 体积分数下,比生长速率出现负值,

说明此时钝顶螺旋藻由于补加 CO₂, 过高体积分数的 CO₂ 对微藻细胞质有“毒性”作用,因为酸化导致/麻醉(Rabinowitch 1951),从而降低光合作用的水平^[26],导致螺旋藻由稳定期快速进入衰亡期,缩短了稳定期到衰亡期的时间。在光强 5 000、6 000 Lux 下,通入四种体积分数的 CO₂,比生长速率均出现负增长。分析可能是由于钝顶螺旋藻生长到稳定期后,钝顶螺旋藻生长缓慢,在高光强和 CO₂ 的交互影响下会加速钝顶螺旋藻的衰亡。处于稳定期的钝顶螺旋藻对于营养物质的需求减小,生长变缓,CO₂ 的通入引起培养基的 pH 下降,改变了 CO₂/O₂ 的比例,大量 HCO₃⁻ 的存在,抑制了光合作用,对藻的生长产生一定的抑制作用,加速其衰亡。可见对于稳定期的钝顶螺旋藻,在低光强 3 000、4 000Lux 和 0.03%、5%的低 CO₂ 体积分数下的交互作用下,会出现缓慢的增长,光强和 CO₂ 体积分数较高,会缩短钝顶螺旋藻进入衰亡期的时间,因此对于稳定期的钝顶螺旋藻光强不需过高,可以不用补加 CO₂。

表 3 光强和 CO₂ 体积分数对稳定期钝顶螺旋藻比生长速率及固碳速率的影响

Table 3 Effects of temperature on the growth of *Spirulina platensis* and CO₂ fixation rate in the stable phase

光强和 CO ₂ 体积分数组合	$\mu_{\max}/d^{-1}$	光强和 CO ₂ 体积分数组合	$\mu_{\max}/d^{-1}$	光强和 CO ₂ 体积分数组合	$\mu_{\max}/d^{-1}$	光强和 CO ₂ 体积分数组合	$\mu_{\max}/d^{-1}$
3 000 Lux(0%)	0.215	4 000 Lux(0%)	0.187	5 000 Lux(0%)	-0.155	6 000 Lux(0%)	-0.198
3 000 Lux(5%)	0.191	4 000 Lux(5%)	0.136	5 000 Lux(5%)	-0.189	6 000 Lux(5%)	-0.237
3 000 Lux(10%)	-0.104	4 000 Lux(10%)	-0.129	5 000 Lux(10%)	-0.279	6 000 Lux(10%)	-0.303
3 000 Lux(15%)	-0.126	4 000 Lux(15%)	-0.145	5 000 Lux(15%)	-0.278	6 000 Lux(15%)	-0.310

2.6 优化调控条件下连续培养钝顶螺旋藻的生长及固碳速率

结合前面对四个时期光强和 CO₂ 体积分数的优化实验结果, 分别取各个时期的最佳光强和 CO₂ 体积分数进行优化调控连续培养实验, 即延迟期控制光强在 4 000 Lux, 不补加 CO₂; 对数期前期调节光强为 4 000 Lux, 补加 15% 体积分数的 CO₂; 对数期后期调节光强为 5 000 Lux, 补加 15% 体积分数的 CO₂; 稳定期控制光强在 4 000 Lux, 不补加碳源。结果见图 6。其优化组生物量明显高于对照组, 其最

大生物量达到 4.126 g/L; 且结果显示对照组的延迟期变长; 稳定期时钝顶螺旋藻迅速衰亡; 固碳速率分时期调控后整体优于对照组, 其最大值可达到 58.231 mg/(L·h)。分析对照组延迟期延长的原因, 随着 CO₂ 体积分数增加, 水中大量溶解态 CO₂ 向细胞质内扩散, 并水解形成 HCO₃⁻ 和 H⁺, 造成胞内 pH 值下降, 这种酸化对藻细胞质的毒性作用会阻碍微藻对 CO₂ 的进一步吸收和利用^[13]。另外, 高体积分数 CO₂ 会抑制微藻细胞碳酸酐酶活性以及碳浓缩机制的形成, 从而不利于藻细胞的快速繁殖。

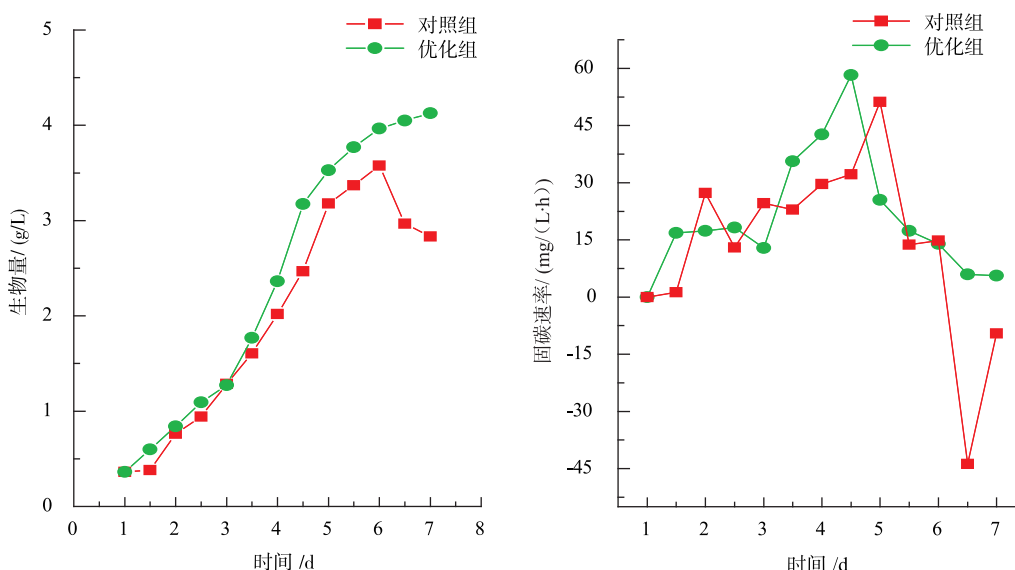


图 6 各时期最优条件下光强和 CO₂ 体积分数对钝顶螺旋藻生长及 pH 的交互影响

Fig. 6 Effect of light intensity and CO₂ concentrations on the growth of *Spirulina platensis* and CO₂ fixation rate under the best conditions

3 结 语

基于不同生长阶段的钝顶螺旋藻, 考察光强和 CO₂ 体积分数对其生长速率和固碳速率的交互影响, 结论如下: 1) 在自然条件下得到钝顶螺旋藻的生长曲线, 初步确定 1~2 d 为延迟期, 2~4 d 为对数期前期, 4~6 d 为对数期后期, 6~7 d 为稳定期, 并分别选取对应生长区间的 OD 值 0.1、0.5、0.9、1.1 作为考察四个时期的初始接种藻密度。2) 结合比生长速

率与固碳速率, 确定如下最佳培养条件: 延迟期光强 3 000 lux, 无需通入 CO₂; 对数期初期补通 15% CO₂, 光强 4 000 Lux; 对数期末期补通 15% CO₂, 光强 5 000 Lux; 稳定期光强低于 3 000 Lux, 无需补加 CO₂。3) 分阶段调控培养条件进行钝顶螺旋藻的连续培养, 最大生物量和固碳速率均高于对照组, 达到 4.126 g/L 和 58.231 mg/(L·h), 表明光强和 CO₂ 体积分数对钝顶螺旋藻的生长和固碳有交互影响。

参考文献:

- [1] Pires J C M, Martins F G, Alvim-Ferraz M C M, et al. Recent developments on carbon capture and storage: An overview[J]. *Chemical Engineering Research and Design*, 2011, 89(9): 1446-1460.
- [2] 龚小宝, 黄华军, 周春飞, 等. 微藻在生物减排 CO₂ 中的应用[J]. *环境污染与防治*, 2010, 32(8): 76-78.

- GONG Xiaobao, HUANG Huajun, ZHOU Chunfei, et al. The application of the microalgae in the biological reduction of CO₂[J]. **Environment Pollution and Control**, 2010, 32(8): 76–78. (in Chinese)
- [3] 王寿权, 群严, 阮文权. 蓝藻猪粪共发酵产沼气及动力学研究[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(5): 108–112.
WANG Shouquan, YAN Qun, RUAN Wenquan. Study on the production and dynamics of methane production by CO₂ fermentation of blue-green algae and pig manure [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2008, 27 (5): 108–112. (in Chinese)
- [4] 任洪艳, 嫫吕, 阮文权. 提高太湖蓝藻厌氧发酵产丁酸的预处理方法[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(5): 735–739.
REN Hongyan, LU Xian, RUAN Wenquan. Pretreatment methods to enhance the anaerobic fermentation on Taihu butyric acid production by lake blue-green algae[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 30(5): 735–739. (in Chinese)
- [5] 杨忠华, 陈明明, 吴高明, 等. 利用微藻减排 CO₂ 的研究[J]. 武汉科技大学学报, 2009, 32(4): 1–5.
YANG Zhonghua, CHEN Mingming, WU Gaoming, et al. Reduction of carbon dioxide emission by microalgae [J]. **Journal of Wuhan University of Science and Technology**, 2009, 32(4): 1–5. (in Chinese)
- [6] Kumar A, Ergas S, Yuan X, et al. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions[J]. **Trends Biotechnol**, 2010, 28(7): 371–80.
- [7] Wang B, Li Y, Wu N, et al. CO₂ bio-mitigation using microalgae[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2008, 79(5): 707–18.
- [8] 陈明明, 杨忠华, 吴高明, 等. 利用微藻技术减排 CO₂ 的研究[J]. 武汉科技大学学报, 2009, 32(4): 436–440.
CHEN Mingming, YANG Zhonghua, WU Gaoming, et al. Reduction of carbon dioxide emission by microalgae [J]. **Journal of Wuhan University of Science and Technology**, 2009, 32(4): 1–5. (in Chinese)
- [9] de Morais M G, Costa J A. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor[J]. **J Biotechnol**, 2007, 129(3): 439–445.
- [10] 张志斌, 朱笃. 微藻光自养培养中光传递及其生长动力学研究[D]. 南昌: 江西师范大学, 2008.
- [11] 张志斌, 颜日明, 曾庆桂, 等. 气升式反应器培养集胞藻 6803 过程中光能利用特性研究[J]. 海洋通报, 2009, 28(4): 54–61.
ZHANG Zhibing, YAN Riming, ZENG Qinggui, et al. Studies on characteristics of light utilization during the culture of *Synechocystis* sp. PCC 6803 in airlift photobioreactor[J]. **Marine Science Bulletin**, 2009, 28(4): 54–61. (in Chinese)
- [12] Chang W T, Lee M, Den W. Simultaneous Carbon Capture, Biomass Production, and Dairy Wastewater Purification by *Spirulina maxima* Photobioreaction[J]. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 2013, 52(5): 2046–2055.
- [13] 宋成军, 董保成, 赵立欣, 等. 纯二氧化碳条件下小球藻固定 CO₂[J]. 环境工程学报, 2012, 12(6): 4566–4572.
SONG Chengjun, DONG Baocheng, ZHAO Lixin, et al. CO₂ fixation by *Chlorella vulgaris* under purified CO₂ conditions [J]. **Chinese Journal of Environmental Engineering**, 2012, 12(6): 4566–4572. (in Chinese)
- [14] 华英. 火力电厂尾气中二氧化碳生物利用技术研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2010.
- [15] 王钦琪, 李环, 王翠, 等. 沼液培养的普通小球藻对 CO₂ 的去除[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(5): 700–705.
WANG Qingqi, LI Huan, WANG Cui, et al. Reduction of CO₂ by *Chlorella vulgaris* Cultured in Biogas Slurry [J]. **Chinese Journal of Applied & Environmental Biology**, 2011, 17(5): 700–705. (in Chinese)
- [16] 岳丽宏, 陈宝智, 钱新明. 供气条件对小球藻固定二氧化碳的影响[J]. 安全与环境学报, 2001, 1(5): 49–52.
YUE Lihong, CHEN Baozhi, QIAN Xinming. Influence of gas supply pattern CO₂ fixation rates with *chlorella* [J]. **Journal of Safety and Environment**, 2001, 1(5): 49–52. (in Chinese)
- [17] 曾文炉, 威 丛, 蔡昭铃, 等. 螺旋藻的营养方式及光合作用影响因素 2002[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 70–77.
ZENG Wenlu, WEI Cong, CAI Zhaoling, et al. Reviews on the Trophic Modes and Factors Affecting Photosynthesis of *Spirulina* 2002[J]. **Chinese Bulletin of Botany**, 2002, 19(1): 70–77. (in Chinese)
- [18] Sydney E B, Sturm W, de Carvalho J C, et al. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae[J]. **Bioresour Technol**, 2010, 101(15): 5892–5896.
- [19] Brennan L, Owende P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products[J]. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, 2010, 14(2): 557–577.
- [20] Chiu S Y, Kao C Y, Chen C H, et al. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp in a semicontinuous photobioreactor[J]. **Bioresour Technol**, 2008, 99(9): 3389–3396.
- [21] 任长江. 光强对雨生红球藻生长的影响[J]. 河南师范大学学报, 2008, 36(6): 112–113.

- REN Changjiang. Effect of Various Light Intensity Oil the Growth of *Haematococcus pluvialis* [J]. **Journal of Henan Normal University: Natural Science**, 2008, 36(6): 112–113. (in Chinese)
- [22] 夏建荣, 高坤山. 高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长和光合作用的影响[J]. 水生生物学报, 2001, 25(5): 475–478.
- XIA Jianrong, GAO Kunshan. Effects of CO₂ concentration on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* [J]. **Acta Hydrobiologica Sinica**, 2001, 25(5): 475–478. (in Chinese)
- [23] 王长寿, 鞠宝, 欧阳藩. 光照与培养密度对螺旋藻生长的影响[J]. 化工冶金, 1999, 20(4): 372–374.
- WANG Changshou, JU Bao, OUYANG Pan. Effect of illumination and culture on the growth od density on *Spirulina platensis*[J]. **The Chinese Journal of Process Engineering**, 1999, 20(4): 372–374. (in Chinese)
- [24] 石娟, 潘克厚. 不同光照条件对小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 生长及生化成分的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(2): 122–126.
- SHI Juan, PAN Kehou. Effects of different light intensities on growth and biochemical composition of *Nitzschia closterium* f. *minutissima* and *Isochysis galbana* Parke8701[J]. **Journal of Fishery Sciences of China**, 2004, 11(2): 122–126. (in Chinese)
- [25] Gilmour D J, Hipkins M F, Webber A N, et al. The effect of ionic stress on photosynthesis[J]. **Planta**, 1985: 163: 250–256.
- [26] 杨启鹏, 岳丽宏, 康阿青. 微藻固定高浓度 CO₂ 技术的研究进展[J]. 青岛理工大学学报, 2009, 30(5): 69–74.
- YANG Qipeng, YUE Lihong, KANG Aaqing. Course of Biological Fixation of High –CO₂ Using Microalgae [J]. **Journal of Qingdao Technological University**, 2009, 30(5): 69–74. (in Chinese)
- [27] Soletto D, Binaghi L, Ferrari L, et al. Effects of carbon dioxide feeding rate and light intensity on the fed–batch pulse–feeding cultivation of *Spirulina platensis* in helical photobioreactor[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2008, 39(2): 369–375.
- [28] Ravelonandro P H, Ratanarivo D H, Joannis–Cassan C, et al. Improvement of the growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO₂ addition[J]. **Food and Bioproducts Processing**, 2011, 89(C3): 209–216.
- [29] Gao K, Aruga Y, Asada K, et al. Influence of enhanced CO₂ on growth and photosynthesis of the red algae *Gracilaria* sp and *G-chilensis*[J]. **Journal of Applied Phycology**, 1993, 5(6): 563–571.

会 议 信 息

会议名称(中文): 第四届水产工业化养殖技术研讨会

开始日期: 2014–09–21

结束日期: 2014–09–23

所在城市: 天津市和平区

具体地点: 天津鑫茂天财酒店

主办单位: 中国农业工程学会特种水产工程分会

议题: 工业化养殖—变革与创新

联系人: 罗国芝

联系电话: 15692165287

E-MAIL: gzhluo@shou.edu.cn

会议网站: http://www.csae.org.cn/news_look.asp?typecode=0602&Id=2392

会议背景介绍: 中国农业工程学会特种水产工程分会举办的“第四届水产工业化养殖技术暨封闭循环水养殖技术国际研讨会”将于 2014 年 9 月 21 日至 9 月 23 日在天津召开。本次会议将采取大会主题报告与学术报告相结合的方式, 届时将邀请国内外知名专家出席会议并做主题报告。