

杨熙, 向文洲, 黄颖华, 等. CO<sub>2</sub> 浓度对嗜碱绿球藻 MC-1 光合作用和生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(18): 158-162.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.040

# CO<sub>2</sub> 浓度对嗜碱绿球藻 MC-1 光合作用和生长的影响

杨熙<sup>1,2</sup>, 向文洲<sup>2</sup>, 黄颖华<sup>1</sup>, 吕意华<sup>1</sup>, 吴鹏<sup>1</sup>

(1. 国家海洋局南海环境监测中心, 广东广州 510300; 2. 中国科学院南海海洋研究所, 广东广州 510301)

**摘要:** 为了实现微藻的烟气培养, 从而降低培养成本, 达到减排目的, 以 1 株嗜碱绿球藻 *Chlorococcum alkaliphilus* MC-1 为研究材料, 检测不同浓度 CO<sub>2</sub> (5%、15%、50%、100%) 对该藻光合放氧速率和生长的影响。结果显示, CO<sub>2</sub> 浓度为 5% 时, 该藻光合放氧速率最大, 平均值为 117.60 μmol/(h·mg) (以单位时间、单位质量叶绿素的放氧量计), 生长状态也最好, 平均生物量产率、平均比生长速率、平均 CO<sub>2</sub> 固定速率均最大, 分别为 (0.063 ± 0.001) g/(L·d)、(0.201 ± 0.001) d<sup>-1</sup>、(0.188 ± 0.002) g/(L·d), 最高生物量浓度为 (0.778 ± 0.006) g/L。当 CO<sub>2</sub> ≥ 15% 时, 该藻光合作用和生长虽受到一定程度抑制, 但当 CO<sub>2</sub> 浓度达到 100% 时, 该藻光合放氧和生长状态依然保持较高水平, 平均光合放氧速率为 100.38 μmol/(h·mg), 平均生物量产率、平均比生长速率、平均 CO<sub>2</sub> 固定速率分别为 (0.048 ± 0.002) g/(L·d)、(0.179 ± 0.002) d<sup>-1</sup>、(0.090 ± 0.004) g/(L·d), 最高生物量浓度为 (0.613 ± 0.017) g/L。以上结果表明, 该藻对高浓度 CO<sub>2</sub> 具有较强的耐受性, 是 1 株极具潜力的烟气减排藻种。

**关键词:** 微藻; 烟气; 减排; CO<sub>2</sub>; 光合放氧速率

**中图分类号:** Q935 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)18-0158-04

由于温室气体的大量排放所引起的温室效应已经成为全球关注的热点问题, 减排形势也越来越严峻, 其中, CO<sub>2</sub> 是主要的温室气体<sup>[1]</sup>。微藻可通过光合作用将 CO<sub>2</sub> 固定转化为有机物, 从而达到减排目的, 由于微藻具有生长速率快、生长周期短、固碳效率高、产量高等特点, 利用微藻进行减排已成为目前研究的热点<sup>[2]</sup>。

一些工厂由于燃烧煤炭所排放出的烟气中含有大量 CO<sub>2</sub>, 而微藻培养中碳源成本占总培养成本的 41%<sup>[3]</sup>, 如果利用这些烟气作为碳源来培养微藻, 则不但生产所需的碳源成本可忽略不计, 而且能达到减排的目的, 可谓一举两得。煤炭烟气中 CO<sub>2</sub> 浓度 (体积分数) 一般在 15%~20%, 而 CO<sub>2</sub> 浓度是影响微藻光合作用和生长的一个重要因素<sup>[4]</sup>。关于微藻对 CO<sub>2</sub> 浓度适应性的研究已多见报道, 如 Kaplan 等发现微藻 *Anabaena variabilis* 在低浓度 CO<sub>2</sub> (0.03% CO<sub>2</sub>) 下光合放氧速率很快达到最大值, 而在高浓度 CO<sub>2</sub> (5% CO<sub>2</sub>) 下其光合放氧速率受到明显抑制<sup>[5]</sup>; 郭祯等比较了不同 CO<sub>2</sub> 浓度 (1%、3%、5%、10%、15%) 对亚心形扁藻生长的影响, 发现 3% CO<sub>2</sub> 对该藻生长最有利, 当 CO<sub>2</sub> 浓度大于 3% 时, 该藻光合作用和生长受到抑制<sup>[6]</sup>; Chiu 等利用空气与 2%、5%、10%、15% CO<sub>2</sub> 培养 1 株小球藻, 发现该藻最适 CO<sub>2</sub> 浓度为

2%, 当 CO<sub>2</sub> 浓度为 5% 时, 藻的生长受到明显抑制, CO<sub>2</sub> 浓度为 10%、15% 时, 藻的生长完全被抑制, 甚至出现藻细胞死亡现象<sup>[7]</sup>。目前所报道的大部分微藻对 CO<sub>2</sub> 的耐受度较低, 不能适应含有高浓度 CO<sub>2</sub> 的烟气培养条件, 因此, 寻找适应性强、易于培养且能耐受高浓度 CO<sub>2</sub> 的藻种是实现微藻烟气培养的关键。

笔者所在实验室发现 1 株极具潜力的减排藻种——嗜碱绿球藻 *Chlorococcum alkaliphilus* MC-1, 该藻种具有适应性强、生长速度快和 pH 值快速漂移等特性, 易于在室外大规模培养<sup>[8-9]</sup>。但是 CO<sub>2</sub> 浓度对其光合作用和生长的影响尚不明确。因此, 本研究以该藻为试验材料, 通过测定不同浓度 CO<sub>2</sub> 对该藻光合放氧速率、生长状态的影响, 以期为实现该藻的烟气培养和培养条件的优化提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种和培养基

本研究采用 1 株嗜碱绿球藻 *Chlorococcum alkaliphilus* MC-1 (暂定名, 简称 MC-1) 作为试验藻种, 该藻种由中国科学院南海海洋研究所微藻项目组于 2002 年在室外蓝藻培养箱中分离并经过固体纯化培养后获得<sup>[8]</sup>。

本试验中所用培养基配方在原 ZSNT 培养基<sup>[8]</sup>的基础上加以调整, 调整后的配方见表 1。M<sub>2</sub> 溶液: 1 L 蒸馏水中添加 0.24 g FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、0.19 g Na<sub>2</sub>-EDTA。A5 溶液: 1 L 蒸馏水中添加 2.86 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>、1.81 g MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O、0.22 g ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.08 g CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O、0.02 g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>、1 滴浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>。B6 溶液: 1 L 蒸馏水中添加 22.96 mg NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>、19.90 mg K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>、47.85 mg NiSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O、17.91 mg NaWO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、40.00 mg Ti(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>、43.98 mg Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O。

收稿日期: 2017-03-04

基金项目: 国家海洋局南海分局海洋科学技术局长基金 (编号: 1514); 广东省自然科学基金 (编号: 2014A030310495)。

作者简介: 杨熙 (1989—), 男, 湖北荆州人, 硕士, 助理工程师, 主要从事能源微藻的筛选和培养、海洋浮游生物鉴定方面的研究。

E-mail: yang1209xi@163.com。

通信作者: 向文洲, 博士, 博士生导师, 主要从事海藻生理生化、海藻天然产物、保健食品及可再生资源的开发利用研究。Tel: (020) 89023223; E-mail: xwz@scsio.ac.cn。

表1 MC-1 培养基配方

序号	试剂	浓度
1	NaHCO <sub>3</sub>	0.50 g/L
2	KCl	0.10 g/L
3	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.03 g/L
4	NaNO <sub>3</sub>	0.40 g/L
5	CaCl <sub>2</sub>	0.02 g/L
6	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.05 g/L
7	M <sub>2</sub>	1.00 mL/L
8	A <sub>5</sub>	1.00 mL/L
9	B <sub>6</sub>	1.00 mL/L

## 1.2 光合放氧速率的测定

1.2.1 不同浓度 CO<sub>2</sub> 补充下光合放氧速率的测定 先将处于生长期的微藻用 MC-1 培养基配制浓度约为 25 μg/mL (以单位体积的叶绿素质量计) 的藻液, 并在光照度为 135.14 μmol/(m<sup>2</sup> · s)、温度为 25 °C 的条件下光照培养至其 pH 值升至 10.50。试验分 4 组 (CO<sub>2</sub> 含量分别为 5%、15%、50%、100%) 进行, 每组分别通入对应浓度的 CO<sub>2</sub>, 将藻液的 pH 值依次降为 9.50、9.00、8.50、8.00、7.50、7.00、6.50。利用 Hansatech 公司的 Oxygraph 氧电极测定每个 pH 值下的光合放氧速率 (以单位时间、单位质量叶绿素的放氧量计), 测定时的光照度为 135.14 μmol/(m<sup>2</sup> · s), 光源为冷白炽光, 反应杯的温度通过恒温控制仪维持在 25 °C, 在反应杯中加入 2 mL 藻液, 每次测定 8 min。

1.2.2 不同 pH 值下光合放氧速率的测定 将处于对数生长期的微藻利用 MC-1 培养基配制浓度约为 25 μg/mL 的藻液, 然后利用 HCl、NaOH 将藻液 pH 值分别调为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0, 每组设 3 个平行。每次调完 pH 值后, 间隔 30 min, 然后利用氧电极测定光合放氧速率 (以单位时间、单位质量叶绿素的放氧量计)。反应杯中加入 2 mL 藻液, 通过恒温控制仪维持反应杯温度在 25 °C, 测定时的光照度为 135.14 μmol/(m<sup>2</sup> · s), 光源为冷白炽光, 每次测定 8 min。

## 1.3 不同浓度 CO<sub>2</sub> 培养试验的培养条件

本试验于室内进行, 培养容器为 1 L 三角瓶, 藻液体积为 700 mL, 起始  $D_{700\text{nm}}$  为 0.312, 以白炽灯为光源, 光照度为 135.14 μmol/(m<sup>2</sup> · s), 光—暗周期为 12 h—12 h, 培养温度为 25 °C。试验分 4 组进行 (CO<sub>2</sub> 浓度分别为 5%、15%、50%、100%), 每个试验组设 3 个平行。每天摇瓶 3~4 次, 连续培养 11 d, 每天 10:00 测定 pH 值和干质量。其中 pH 值用 FiveGo 基础型便携式 pH 计—FG2—FK (METTLER TOLEDO, 美国) 直接测定; 干质量的测定方法: 取 15 mL 藻液, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤并用去离子水清洗 2 次, 于 110 °C 下烘干至恒质量后测定。

## 1.4 气源和补气方式

气源采用 CO<sub>2</sub>、N<sub>2</sub> 以不同浓度比混合的气罐, CO<sub>2</sub> 体积分数分别设为 5%、15%、50%、100%。采用间歇性补气方式培养, 由于该藻在培养时会产生明显的 pH 值漂移现象, 即藻液 pH 值会在短时间内快速上升<sup>[9]</sup>, 当 pH 值升至 10.0 时, 开始补充 CO<sub>2</sub> 气体, 通气速率为 150 mL/min, 当 pH 值降到 7.00 时停止供气, 如此反复, 此补气过程均采用人工控制, 夜

间停止补气。

## 1.5 生长指标计算

比生长速率 ( $\mu, \text{d}^{-1}$ ) 的计算公式如下:

$$\mu = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)。$$

式中:  $N_2$ 、 $N_1$  分别为  $t_2$ 、 $t_1$  时的生物量浓度, g/L。

生物量产率 [ $P, \text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ ] 的计算公式如下:

$$P = (X_2 - X_1) / (t_2 - t_1)。$$

式中:  $X_2$ 、 $X_1$  分别为  $t_2$ 、 $t_1$  时的生物量浓度, g/L。

CO<sub>2</sub> 固定速率 [ $R_{\text{CO}_2}, \text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ ] 的计数公式如下:

$$R_{\text{CO}_2} = P \times C \times M_{\text{CO}_2} / M_C \approx 1.88 \times P。$$

式中:  $P$  为生物量产率, g/(L · d);  $C$  为藻体中碳元素质量分数;  $M_{\text{CO}_2}$ 、 $M_C$  分别为 CO<sub>2</sub>、C 的相对分子质量。

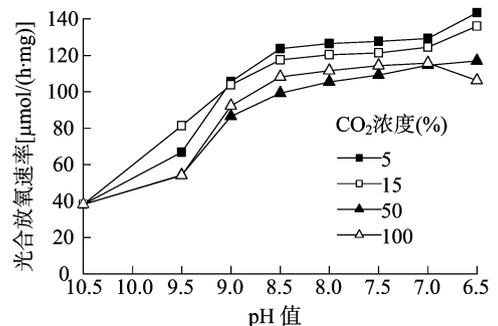
## 1.6 统计分析

采用 SPSS 10.0 对试验结果进行方差分析, 数据以“平均值 ± 标准差”来表示, 用 Origin 8.0 进行数据处理和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度 CO<sub>2</sub> 连续补充下微藻 MC-1 光合放氧速率的变化

通过连续补充不同浓度 CO<sub>2</sub> 气体, 将各试验组藻液 pH 值从起始的 10.50 依次降为 9.50、9.00、8.50、8.00、7.50、7.00、6.50, 并测定各 pH 值下微藻的光合放氧速率。由图 1 可见, 开始补充 CO<sub>2</sub> 气体后, 各试验组光合放氧速率均开始回升, pH 值从 10.50 降至 8.50 这一过程中光合放氧速率上升幅度最大; pH 值从 8.50 减至 7.00 时, 各试验组的光合放氧速率增幅变缓, 处于相对平稳的状态; 当 pH 值从 7.00 降至 6.50 时, 5%、15%、50% CO<sub>2</sub> 组的光合放氧速率都有所增加, 而 100% CO<sub>2</sub> 组则表现出下降趋势。在整个过程中, 虽然各试验组光合放氧速率的变化趋势大体相似, 但各试验组的平均光合放氧速率的大小有显著差异 ( $P < 0.05$ )。其中, 5% CO<sub>2</sub> 组的平均光合放氧速率最大, 为 117.60 μmol/(h · mg); 15% CO<sub>2</sub> 组其次, 为 115.01 μmol/(h · mg); 50%、100% CO<sub>2</sub> 组相对较低, 分别为 98.05、100.38 μmol/(h · mg)。以上结果显示, 微藻 MC-1 在 5% CO<sub>2</sub> 浓度下光合作用最强, 高浓度 CO<sub>2</sub> (15% ~ 100%) 下其光合作用也依然保持较高水平。

图1 CO<sub>2</sub> 连续补充下微藻 MC-1 光合放氧速率的变化

### 2.2 不同浓度 CO<sub>2</sub> 培养试验

2.2.1 微藻 MC-1 光合作用的 pH 值适应特性 通过测定不同 pH 值下微藻 MC-1 的光合放氧速率来检测该藻的 pH 值适应特性, 以便为后面进行不同浓度 CO<sub>2</sub> 培养试验中 pH 值条件的确定提供参考。由图 2 可见, 藻液 pH 值在 6.0 ~

9.0 之间时,该藻的光合放氧速率处于相对高值,当 pH 值为 7.0 时光合放氧速率达最大值,为  $138.42 \mu\text{mol}/(\text{h} \cdot \text{mg})$ 。虽然 pH 值  $< 5.0$  或 pH 值  $> 10.0$  时微藻 MC-1 的光合放氧作用受到一定抑制,但即使 pH 值低至 2.0 或高达 11.0 时,该藻依然保持着一定的光合作用效率,而没有完全被抑制。上述结果表明,该藻的最佳生长 pH 值区间为 6.0~9.0,最适生长 pH 值为 7.0,且对强酸性、强碱性条件有较强的耐受能力。

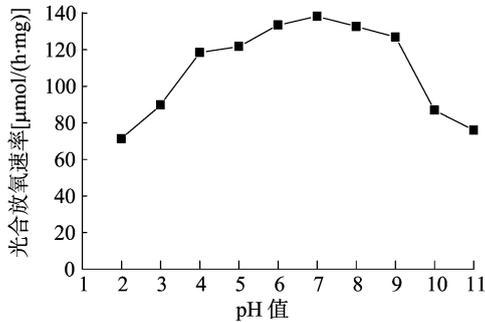


图2 不同 pH 值下微藻 MC-1 的光合放氧速率

### 2.2.2 不同浓度 $\text{CO}_2$ 培养下微藻 MC-1 生长状态的变化

为了验证微藻 MC-1 对  $\text{CO}_2$  浓度的耐受性,本试验测定了不同浓度  $\text{CO}_2$  培养下微藻 MC-1 生长状况的变化。通过参考微藻 MC-1 的 pH 值特性,培养过程中采用间歇性补气方式,藻液 pH 值控制在 7.00 附近。经过 11 d 的连续培养发现,不同浓度  $\text{CO}_2$  对微藻 MC-1 生长有显著影响 ( $P < 0.05$ ),5%  $\text{CO}_2$  组微藻 MC-1 的生长状况最好,平均生物量产率、平均比生长速率、平均  $\text{CO}_2$  固定速率均最大,分别为  $(0.063 \pm 0.001) \text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 、 $(0.201 \pm 0.001) \text{d}^{-1}$ 、 $(0.188 \pm 0.002) \text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ ,最高生物量浓度为  $(0.778 \pm 0.006) \text{g/L}$ 。当  $\text{CO}_2$  浓度为 15% 时,微藻的生长受到 1 个较明显的抑制,各项生

长指标均下降明显;而当  $\text{CO}_2$  浓度从 15% 分别升为 50%、100% 时,虽然微藻各项生长指标也有随  $\text{CO}_2$  浓度升高而出现下降现象,但下降幅度较小;当  $\text{CO}_2$  浓度为 100% 时,该藻依然保持较好的生长状态,其平均生物量产率、平均比生长速率、平均  $\text{CO}_2$  固定速率分别为  $(0.048 \pm 0.002) \text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 、 $(0.179 \pm 0.002) \text{d}^{-1}$ 、 $(0.090 \pm 0.004) \text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ ,最高生物量浓度为  $(0.613 \pm 0.017) \text{g/L}$ (图 3、表 2)。上述结果显示,该藻在 5%  $\text{CO}_2$  浓度下生长最好,在高浓度  $\text{CO}_2$  (15%~100%) 下生长虽受到一定程度抑制,但依然保持较好的生长状态。

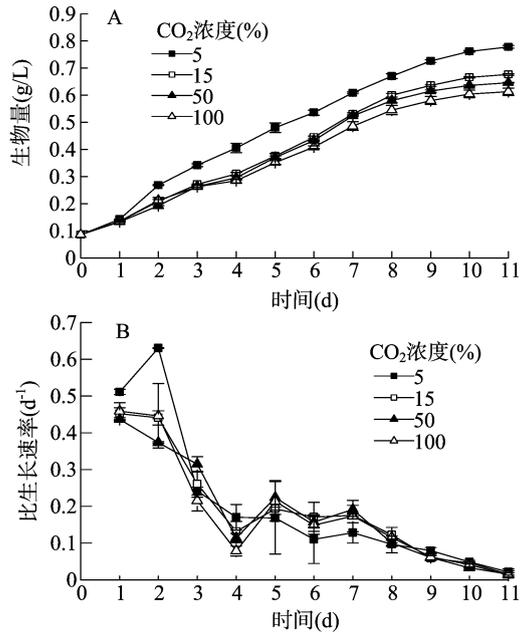


图3 不同浓度  $\text{CO}_2$  培养下微藻 MC-1 生长状况

表 2 各试验组微藻的生长参数

$\text{CO}_2$ 浓度 (%)	最高生物量浓度 (g/L)	平均生物量产率 [ $\text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ ]	平均比生长速率 ( $\text{d}^{-1}$ )	平均 $\text{CO}_2$ 固定速率 [ $\text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ ]
5	$0.778 \pm 0.006$	$0.063 \pm 0.001$	$0.201 \pm 0.001$	$0.188 \pm 0.002$
15	$0.676 \pm 0.004$	$0.054 \pm 0.001$	$0.188 \pm 0.001$	$0.102 \pm 0.003$
50	$0.646 \pm 0.002$	$0.051 \pm 0.001$	$0.184 \pm 0.001$	$0.096 \pm 0.002$
100	$0.613 \pm 0.017$	$0.048 \pm 0.002$	$0.179 \pm 0.002$	$0.090 \pm 0.004$

## 3 讨论

### 3.1 不同浓度 $\text{CO}_2$ 连续补充对微藻 MC-1 光合作用的影响

本研究通过分别导入不同浓度  $\text{CO}_2$  气体,使藻液 pH 值从初始的 10.50 降至 6.50,并测定这一过程中微藻光合放氧速率的变化,以此来模拟平常试验中利用  $\text{CO}_2$  气体对微藻进行间歇性补气以补充碳源的过程。微藻在不同浓度  $\text{CO}_2$  培养下可表现出不同的光合作用特性,Kaplan 等研究不同浓度  $\text{CO}_2$  对微藻 *Anabaena variabilis* 光合放氧速率的影响发现,0.03%  $\text{CO}_2$  浓度下光合放氧速率很快达到最大值,而在 5%  $\text{CO}_2$  浓度下其光合放氧速率随着培养时间增加缓慢上升,但总体上受到明显抑制<sup>[5]</sup>。Satoh 等将空气条件下培养的微藻 *Chlorococcum littorale* 转入高浓度  $\text{CO}_2$  条件下(40%  $\text{CO}_2$ ),发现其光合作用受到强烈抑制<sup>[10]</sup>,其原因与高浓度  $\text{CO}_2$  导致细

胞内酸化,从而造成光合作用相关酶失活有关。

$\text{CO}_2$  浓度是影响微藻光合作用的重要因素,当向藻液中补充  $\text{CO}_2$  气体时,藻液中分子态  $\text{CO}_2$  开始增加,分子态  $\text{CO}_2$  可被微藻直接吸收利用而不需要消耗过多能量,适当增加所补充的  $\text{CO}_2$  浓度可以使藻液中可被直接利用的分子态  $\text{CO}_2$  浓度增加,从而使光合效率提高。而当所补充的  $\text{CO}_2$  浓度过高时( $\text{CO}_2 \geq 15\%$ ),会造成  $\text{CO}_2$  向细胞质内扩散增加,并水解产生  $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{H}^+$ ,造成细胞内 pH 值下降,这种酸化会抑制细胞内碳酸酐酶的活性,并对细胞质造成毒性作用,阻碍微藻对  $\text{CO}_2$  的进一步吸收和利用<sup>[11]</sup>,从而降低光合作用水平。本研究显示,不同浓度  $\text{CO}_2$  对 MC-1 光合放氧速率有显著影响,5%  $\text{CO}_2$  组的光合放氧速率最大, $\text{CO}_2$  浓度为 15%~100% 时光合作用会受到一定程度抑制,但抑制作用并不大,其光合放氧速率仍处于较高水平,说明该藻对高浓度  $\text{CO}_2$  具有较强的

耐受性。

此外,在补充 CO<sub>2</sub> 降 pH 值这一过程中,各试验组光合放氧速率会随 pH 值的变化而呈现出具有一定规律的变化趋势,产生此现象的原因与该藻对无机碳的利用机制有关<sup>[12-13]</sup>。碳源是微藻生长所必需的大量元素,它在溶液中以 CO<sub>2</sub>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 等无机碳形态存在,这 3 种形式无机碳的比例随着溶液中 pH 值的变化而改变,因此,微藻在不同 pH 值下所能利用的无机碳形态也不同。当 pH 值 ≤ 6.0 时,溶液中的无机碳主要以 CO<sub>2</sub> 的形式存在,水体中分子态 CO<sub>2</sub> 可被微藻直接吸收利用而不需要消耗过多能量;当 6.0 < pH 值 ≤ 10.0 时,溶液中无机碳主要以 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的形式存在,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 可以被胞外碳酸酐酶(CA)催化转化为 CO<sub>2</sub>,后者可自由扩散进入细胞被吸收利用,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 也可被主动运输进入细胞,进入细胞内的 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 再通过胞内碳酸酐酶的催化转变为 CO<sub>2</sub> 供 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/氧化酶(Rubisco)固定利用<sup>[14]</sup>;当 pH 值 > 10.0 时,溶液中无机碳主要以 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 的形式存在,目前认为 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 不能是被藻直接利用<sup>[15]</sup>。本试验中,当 pH 值从 10.50 降至 8.50 时,藻液中可被微藻利用的 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度开始增加,从而使光合放氧速率快速升高;当 pH 值从 8.50 降至 7.00 时,藻液中的 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度基本为饱和状态,因此各试验组光合放氧速率基本维持不变;当 pH 值从 7.00 降至 6.50 时,藻液中可利用碳源由 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 向分子态 CO<sub>2</sub> 转变,分子态 CO<sub>2</sub> 是一种比 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 更容易被微藻吸收利用的碳源,其浓度适当增加会促进微藻的光合作用,但浓度太高(100%)时会导致细胞内酸化,造成光合作用相关酶失活而抑制光合作用,出现光合放氧速率下降的现象。

### 3.2 不同浓度 CO<sub>2</sub> 连续补充对微藻 MC-1 生长的影响

关于不同浓度 CO<sub>2</sub> 对微藻生长影响的研究报道已非常多见,如 Mudimu 等分别利用空气、5% CO<sub>2</sub>、15% CO<sub>2</sub> 气体来培养 3 种微藻 *Coccomyxa* sp.、*Desmodesmus* sp.、*Muriella terrestris*<sup>[16]</sup>,发现用空气、15% CO<sub>2</sub> 培养的条件下,藻的生长状态非常相似,但 5% CO<sub>2</sub> 培养下 3 种微藻的生长状态均明显好于空气、15% CO<sub>2</sub> 组;Razzak 等设置 2%、4%、6%、8%、10%、12% 的 CO<sub>2</sub> 浓度梯度来培养微藻 *Nannochloropsis oculata*,结果显示 8% CO<sub>2</sub> 浓度下微藻的生长状态最好,最高产量达 0.088 g/(L·d)<sup>[17]</sup>;郭祯等在鼓泡式光生物反应器中比较了不同 CO<sub>2</sub> 浓度(1%、3%、5%、10%、15%)对亚心形扁藻生长的影响,发现 3% CO<sub>2</sub> 对该藻生长最有利<sup>[6]</sup>。本试验利用不同浓度 CO<sub>2</sub> 培养微藻 MC-1,发现 5% CO<sub>2</sub> 组藻的生长状况最好,虽然高浓度 CO<sub>2</sub>(15%~100%)下藻的生长受到了一定程度的抑制,但依然保持较好的生长状态,这种结果与不同浓度 CO<sub>2</sub> 对微藻 MC-1 光合放氧作用影响的结果形成了很好的对应关系。这是由于不同浓度 CO<sub>2</sub> 对微藻生长的影响首先体现在对藻光合作用的影响上,当光合作用增强,则微藻生长受到促进,反之,当光合作用减弱,则微藻生长受到抑制。该试验结果进一步证明微藻 MC-1 在 5% CO<sub>2</sub> 下具有较好的生长状态,同时也能适应高浓度 CO<sub>2</sub>(15%~100%)的培养条件,对高浓度 CO<sub>2</sub> 的耐受性较强。

### 3.3 微藻 MC-1 烟气培养方法的优化

笔者所在实验室此前的研究已验证微藻 MC-1 能适应

真实烟气的培养条件<sup>[18]</sup>,但培养方法较粗略,需要进行优化。本试验检测了不同浓度 CO<sub>2</sub> 对微藻 MC-1 生长和光合作用的影响,发现该藻对高浓度 CO<sub>2</sub>(15%~100%)的耐受性较强,但在 5% CO<sub>2</sub> 培养下生长状态最佳。而煤炭烟气中 CO<sub>2</sub> 浓度一般为 15%~20%,因此在实施该藻的烟气培养时可以利用混入空气的方法将烟气中 CO<sub>2</sub> 浓度稀释为 5%,这样既有利于微藻的生长,又不影响烟气的吸收处理。通过对该藻 pH 值特性的检测,发现该藻在 pH 值为 7.0 时光合放氧速率最大,其最佳生长 pH 值区间为 6.0~9.0,较嗜好中性偏碱性环境,且该藻具有 pH 值快速漂移特性,即藻液 pH 值可在短时间内快速上升,因此可以采用间歇性补气的方式来培养该藻,即当藻液 pH 值升至 10.0 时,开始补充 CO<sub>2</sub> 气体,当 pH 值降到 7.0 时停止供气,如此反复,这样可以避免连续通气造成的藻液 pH 值过低,以及烟气的过多逃逸,有利于烟气更充分有效地被吸收利用。

### 参考文献:

- [1] Florides G A, Christodoulides P. Global warming and carbon dioxide through sciences[J]. Environment International, 2009, 35(2): 390-401.
- [2] 张一听, 赵兵涛, 熊锴彬, 等. 微藻固定燃烧烟气中 CO<sub>2</sub> 的研究进展[J]. 生物工程学报, 2011, 27(2): 164-171.
- [3] Molina Grima E, Belarbi E H, Acien Fernández F G, et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics [J]. Biotechnology Advances, 2003, 20(7/8): 491-515.
- [4] Yoo C, Jun S Y, Lee J Y, et al. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): S71-S74.
- [5] Kaplan A, Badger M R, Berry J A. Photosynthesis and the intracellular inorganic carbon pool in the bluegreen alga *Anabaena variabilis*: response to external CO<sub>2</sub> concentration [J]. Planta, 1980, 149(3): 219-226.
- [6] 郭祯, 陈兆安, 陆洪斌, 等. CO<sub>2</sub> 对亚心形扁藻生长及光合放氢的影响 [J]. 西安交通大学学报, 2008, 42(6): 779-783.
- [7] Chiu S Y, Kao C Y, Chen C H, et al. Reduction of CO<sub>2</sub> by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(9): 3389-3396.
- [8] 向文洲, 谢科, 吴华莲, 等. 一种绿藻分离物的显微研究 [J]. 热带海洋学报, 2007, 26(2): 65-68.
- [9] 张峰. 嗜碱绿球藻 MC-1 高 pH 下的无机碳利用规律探索 [D]. 广州: 中国科学院南海海洋研究所, 2012.
- [10] Satoh A, Kurano N, Miyachi S. Inhibition of photosynthesis by intracellular carbonic anhydrase in microalgae under excess concentrations of CO<sub>2</sub> [J]. Photosynthesis Research, 2001, 68(3): 215-224.
- [11] Cheng L H, Chen H L, Zhang L, et al. Study on medium composition of microalgae optimization for CO<sub>2</sub> removal from air by a membrane-photobioreactor [J]. Sae Technical Paper, 2004, 41(2): 293-299.
- [12] Badger M R, Kaplan A, Berry J A. Internal inorganic carbon pool of *Chlamydomonas reinhardtii*: Evidence for a carbon dioxide-concentrating mechanism [J]. Plant Physiology, 1980, 66(3): 407-413.
- [13] 夏建荣. 高浓度 CO<sub>2</sub> 对莱茵衣藻光系统 II 能量流和能量利用效

李在建,王怀山,赵京杨,等. 芽孢杆菌对肥胖大鼠肠道微生态的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):162-165.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.041

# 芽孢杆菌对肥胖大鼠肠道微生态的影响

李在建<sup>1,2</sup>, 王怀山<sup>2</sup>, 赵京杨<sup>2</sup>, 操继跃<sup>2</sup>

(1.聊城大学农学院,山东聊城 252000; 2.华中农业大学动物医学院,湖北武汉 430070)

**摘要:**给大鼠饲喂高脂日粮,建立大鼠肥胖模型,以研究肥胖对肠道微生态的影响。给肥胖大鼠灌胃芽孢杆菌悬液,分别在芽孢杆菌处理试验的第4周、第7周采样,研究灌喂芽孢杆菌后肥胖大鼠肠道菌群结构的变化,以及芽孢杆菌对粪便中短链脂肪酸和大鼠体质量的影响。结果表明,芽孢杆菌能够显著提高其肠道菌群的多样性,并且对肥胖动物的体质量控制起到一定的积极作用。

**关键词:**肥胖;大鼠;肥胖抵抗;芽孢杆菌;肠道微生态

**中图分类号:** S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)18-0162-04

近年来,肥胖人群的数量越来越大,肥胖及其引起的一系列疾病已经严重影响到人类的生活质量。尽管有研究证明,某种类型的肥胖可能和机体的基因突变有关,但是人类的基因在短时期内很难发生特别大的改变,所以现在研究专家已经将研究的注意力转移到可能导致肥胖的外界因素上<sup>[1-2]</sup>。有“人类第二基因”之称的肠道微生物目前已经成为研究热点,有研究表明,肠道微生物可以提高宿主从食物中摄取能量的效率并且能对脂肪代谢起调控作用,最终导致肥胖的产生<sup>[3]</sup>。所以,如何通过外界因素影响机体的肠道微生态进而达到控制肥胖的目的已经成为国际关注的焦点。益生菌作为肠道益生产品对肠道微生态的影响较大,它能明显改变肠道的菌群结构,因此,通过益生菌调节肠道微生态来观察其对肥胖的影响就成为了一个比较热门的研究方向<sup>[4-5]</sup>。

本试验首先建立大鼠肥胖模型研究肥胖与肠道微生态之间的关联,然后通过给肥胖大鼠灌喂芽孢杆菌悬液,研究芽孢杆菌对肥胖大鼠肠道微生态、肠道微生物代谢产物(短链脂肪酸)及其体质量的影响,为研究芽孢杆菌对肥胖动物的益生作用提供新的依据,对如何通过外源性益生物调节肥胖动物的肠道微生态进而对肥胖的影响有重要的研究意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

50只健康SD雄性大鼠,体质量100~200g,无特定病原体(SPF)等级,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供;芽孢杆菌,由华中农业大学生理实验室保存;基础日粮,由同济医科大学实验动物中心提供;高脂日粮,由60%基础饲料、15%猪油、10%蛋黄粉、8%脱脂奶粉、5%干酪素、2%白砂糖组成。

### 1.2 主要试剂与设备

Tris饱和酚,北京鼎国昌盛生物科技有限责任公司生产;marker,北京鼎国生物技术有限公司生产;扩增所用引物,生工生物工程(上海)股份有限公司生产;色谱标准酸,上海化学试剂有限公司试剂一厂生产;高速低温离心机,Eppendorf公司生产;水浴锅,常州国华电器有限公司生产;电热恒温培养箱,上海博远实业有限公司生产;PCR仪,广东东盛生物科技有限公司生产;变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)系统(D-Code),Bio-Rad公司生产;气相色谱仪(Trace-GC2000),美国热电集团生产。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 试验动物处理** 50只大鼠于同济医科大学动物实验中心饲养,肥胖模型建立期间把大鼠随机分成2个组:阴性对照组(20只,饲喂基础日粮)、模型组(30只,饲喂高脂日粮)。各组自由饮水、采食。以饲喂高脂日粮组大鼠体质量达到正常大鼠体质量120%以上为肥胖模型建立成功标准<sup>[6]</sup>。肥胖模型建立成功后进入芽孢杆菌灌喂期,进入灌喂期再将阴性对照组分出10只大鼠作为阴性芽孢杆菌组,将模型组分为

收稿日期:2016-04-14

基金项目:聊城大学博士启动基金(编号:318051314)。

作者简介:李在建(1986—),男,山东青州人,博士,讲师,主要从事兽医药理学与生物制品学研究。Tel:(0635)8239936;E-mail:lizj8603@163.com。

通信作者:王怀山,男,硕士,兽医师,主要从事动物微生态制剂方面的研究。E-mail:wanghuaihan@163.com。

率的影响[J].水生生物学报,2005,29(4):449-455.

[14]黄瑾.小新月菱形藻的无机碳利用机制及其碳酸酐酶的环境调控[D].汕头:汕头大学,2008.

[15]Nielsen E S. Uptake of CO<sub>2</sub> by the plant[M]. Berlin-Heidelberg: Springer,1960.

[16]Mudimu O, Rybalka N, Bauersachs T, et al. Influence of different CO<sub>2</sub> concentrations on microalgae growth, α-tocopherol content and

fatty acid composition[J]. Geomicrobiology Journal, 2015, 32(3/4):291-303.

[17]Razzak S A, Ilyas M, Ali S A, et al. Effects of CO<sub>2</sub> concentration and pH on mixotrophic growth of *nannochloropsis oculata*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, 176(5):1290-1302.

[18]杨熙,向文洲,张峰,等.产油嗜碱绿球藻MC-1的烟气适应性[J].生物工程学报,2013,29(3):370-381.