

谢 靖,陈 蕾,成家杨,等. 生长条件对耐高氮磷青萍淀粉和蛋白质积累的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(12):249-253.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.060

生长条件对耐高氮磷青萍淀粉和蛋白质积累的影响

谢 靖,陈 蕾,成家杨,唐 杰

(北京大学深圳研究生院,广东深圳 518055)

摘要:以 1 株耐高浓度氮磷青萍 5508 (*Lemna aequinoctialis* 5508) 为研究对象,考察不同生长条件对其相对生长率、淀粉和蛋白质积累的影响。结果表明,温度、初始密度、pH 值、总氮及总磷含量对青萍的生物量积累、淀粉和蛋白质含量有显著影响。正交试验结果表明,相对生长率在温度 25 ℃、初始密度 30%、pH 值 5.5、总氮含量 100 mg/L、总磷含量 20 mg/L 的条件下达到最优;淀粉含量在温度 15 ℃、初始密度 70%、pH 值 9.5、总氮含量 150 mg/L、总磷含量为 5 mg/L 的条件下达到最优;蛋白质含量在温度 15 ℃、初始密度 10%、pH 值 3.5、总氮含量 200 mg/L、总磷含量 20 mg/L 的条件下达到最优。这些研究结果为进一步利用青萍进行淀粉、蛋白质生产提供了一定的指导。此外,氨基酸组成及含量分析表明,青萍氨基酸结构合理,赖氨酸含量丰富,接近世界卫生组织(World Health Organization,简称 WHO)/联合国粮食与农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations,简称 FAO)推荐的理想蛋白质氨基酸模式,具有用作蛋白或饲料原料的潜力。

关键词:青萍;生长条件;淀粉;蛋白质;氨基酸

中图分类号: S184 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0249-05

随着我国人口的增加和社会经济的发展,富含氮磷等废水的大量排放已经成为我国水环境污染的重要因素^[1-2]。目前生活废水、养殖废水等富含氮磷废水的处理,一般采用较为传统的物理化学及生物处理方式,这些方法通过物理、化学或者微生物的作用将水中氮磷等污染物从水体中去除^[3-4],但是这个过程并没有对污水中的营养元素进行有效利用,资源没有得到有效利用,且其成本较大^[5]。

水生植物在处理生活废水及养殖废水中因经济有效、资

源利用率高等特点受到各国研究者的重视^[6-7]。研究者利用水生植物如水葫芦等大型水生植物处理废水,水葫芦等大型水生植物去除氮磷等污染物质效率较高,但也存在植物体积大、营养价值低且容易产生二次污染等问题^[8]。浮萍作为一种繁殖速度快、适应能力强、容易回收利用的小型水生植物,在去除水体污染方面尤其是生活废水等方面有着巨大的潜力,同时浮萍可以快速积累淀粉和蛋白质等可利用的营养物质,在资源的利用方面同样具有巨大的潜力^[9-10]。

淀粉、蛋白质是浮萍的主要营养成分。研究表明,在适宜的条件下浮萍的淀粉干质量含量可以高达 75%,其淀粉含量大于木薯、马铃薯等传统作物。据 Cheng 等估算,浮萍大约每年单位面积水域(1 hm²)可以积累 28 t 淀粉^[11],浮萍的干基蛋白质含量在理想条件下也可达 26.3%~45.5%^[12]。但是,现有的研究对浮萍的淀粉积累和蛋白质积累研究相对比较独立^[13-14],难以综合评价生长条件对同一株浮萍的淀粉、蛋白

收稿日期:2016-12-18

基金项目:公益性行业(海洋)科研专项(编号:201305022);广东省深圳市海外高层次人才创新创业专项(编号:KCXC201405211502553)。

作者简介:谢 靖(1992—),男,安徽宣城人,硕士研究生,研究方向为生物能源工程。E-mail: xiejing@sz.pku.edu.cn。

通信作者:唐 杰,博士,助理研究员,主要从事生物质开发与利用相关研究。E-mail: tangjie@pkusz.edu.cn。

yield of wheat[J]. Field Crops Research, 2014, 160: 54-63.

[20] 孙 芳,杨 修,林而达,等. 中国小麦对气候变化的敏感性和脆弱性研究[J]. 中国农业科学, 2005, 38(4): 692-696.

[21] 周曙东,周文魁,林光华,等. 未来气候变化对我国粮食安全的影响[J]. 南京农业大学学报(社会科学版), 2013, 13(1): 56-65.

[22] 商兆堂. 发展农用天气预报业务的思考[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(9): 8-10, 18.

[23] 中国气象局. 农业气象观测规范(上卷)[M]. 北京:气象出版社, 1993.

[24] 谷冬艳,刘建国,杨忠渠,等. 作物生产潜力模型研究进展[J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(5): 89-94.

[25] 赖荣生,余海龙,黄菊莹. 作物气候生产潜力计算模型研究述评[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 11-14.

[26] 陈 浩,罗怀良,李 勇. 气候变化对四川省盐亭县主要农作物生产潜力的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2009,

37(3): 100-104.

[27] Loomis R S, Williams W A. Maximum crop productivity: an estimate [J]. Crop Science, 1963, 3(1): 67-72.

[28] 李继由. 西藏地区光合生产潜力估算[J]. 自然资源, 1980(1): 58-62.

[29] 李白鸽. 江淮地区近 30 年农业气候资源与稻麦生产潜力的演变特征[D]. 南京:南京农业大学, 2011: 63.

[30] 买 苗,火 焰,曾 燕,等. 江苏省太阳总辐射的分布特征[J]. 气象科学, 2012, 32(3): 269-274.

[31] 商兆堂,姜 东,何 浪. 气候变化对小麦生产影响研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(21): 6-11.

[32] 郑建敏,李 浦,廖晓虹,等. 四川冬小麦产量构成因子初步分析[J]. 作物杂志, 2012(1): 105-108.

[33] 中国气象局. 农业气象产量预报业务质量考核办法(试行)[Z]. 2012.

质含量及其积累能力的影响。笔者所在实验室通过前期筛选获得 1 株可以耐高氮磷含量(总氮含量 50 mmol/L、总磷含量 0.75 mmol/L)的浮萍植株,在适应较高氮磷含量生活废水、养殖废水去除污染物方面具有巨大潜力。结合生物学识别及 DNA 测序分析,该浮萍植株被鉴定为青萍 5508 (*Lemna aequinoctialis* L. 5508)。本研究通过正交试验对该株青萍培养条件进行设计和控制,优化培养条件,探索培养条件对青萍淀粉、蛋白质含量及其积累能力的影响,以期为综合利用青萍淀粉及蛋白质提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试青萍及培养条件

本试验用青萍 5508 (*L. aequinoctialis* 5508) 采自广东惠州(地理位置 114°29'27.8"E,22°52'47.3"N)。采集的青萍用自来水轻柔冲洗干净后,置于底面直径约为 14 cm 的塑料小桶内培养。培养液为 N-medium 培养基^[15] [含 0.15 mmol/L KH₂PO₄, 1 mmol/L Ca (NO₃)₂ · 4H₂O, 8 mmol/L KNO₃, 5 μmol/L H₃BO₃, 13 μmol/L MnCl₂ · 4H₂O, 0.4 μmol/L Na₂MoO₄ · 2H₂O, 1 mmol/L MgSO₄ · 7H₂O, 25 μmol/L FeNaEDTA]。光照培养箱中的培养条件设置如下:光照度为 8 000 lx,光—暗周期为 16 h(25 ℃)—8 h(15 ℃)。在试验过程中,每天用去离子水补充蒸发散失的水分。培养 20 d 后收获。

1.2 生长条件对青萍生物物质影响

本试验选取 5 个因素研究生长条件对青萍生长的影响,各因素取 4 个水平。各因素及其水平如下:温度,设为 15、25、35、45 ℃;初始密度(投入青萍覆盖水面的程度),设为 10%、30%、50%、70%;pH 值,设为 3.5、5.5、7.5、9.5;总氮含量,设为 50、100、150、200 mg/L;总磷含量,设为 5、20、50、100 mg/L。具体试验因素水平正交设计如表 1 所示。

表 1 正交试验设计

试验组序号	温度(℃)	初始密度(%)	pH 值	总氮含量(mg/L)	总磷含量(mg/L)
1	15	10	3.5	50	5
2	15	30	5.5	100	20
3	15	50	7.5	150	50
4	15	70	9.5	200	100
5	25	10	5.5	150	100
6	25	30	3.5	200	50
7	25	50	9.5	50	20
8	25	70	7.5	100	5
9	35	10	7.5	200	20
10	35	30	9.5	150	5
11	35	50	3.5	100	100
12	35	70	5.5	50	50
13	45	10	9.5	100	50
14	45	30	7.5	50	100
15	45	50	5.5	200	5
16	45	70	3.5	150	20

1.3 青萍生物物质分析

1.3.1 青萍生物量的测定 将青萍从培养液中取出后,滤去自由水直至无水滴出现,将待测青萍均匀平铺在吸水纸上,

5 min 后测定其鲜质量(g)。

将鲜青萍置于鼓风干燥箱中,于 65 ℃ 烘干 24 h,经过破碎机破碎得到青萍干粉待测定。

相对生长率(relative growth rate,简称 RGR) = (lnN_t - lnN₀)/t。式中:N_t 为收获时青萍的生物量,mg;N₀ 为投入时青萍的生物量,mg;t 为培养周期,d。

1.3.2 青萍干基蛋白质含量的测定 称取 0.1 g 青萍干粉于消化管中,加入催化剂(CuSO₄)和 5 mL 浓硫酸,经红外消化仪(上海沛欧分析仪器有限公司,SKD-08S2)于 450 ℃ 消化 3 h,冷却到室温后加入过量强碱(浓 NaOH 溶液),用凯氏定氮仪(上海沛欧分析仪器有限公司,SKD100)高温蒸馏,并用已知含量和体积的盐酸(过量)进行吸收,最后用电位滴定仪(上海仪点科学仪器股份有限公司,雷磁 ZDJ-5)滴定,计算样品氮含量。通过样品氮含量计算青萍蛋白质含量:样品蛋白质含量(g) = 样品总氮含量(g) × 12.5。

1.3.3 青萍淀粉含量测定 称取 10~15 mg 青萍干粉于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 80% 乙醇溶液,混匀后,置于 95 ℃ 恒温水浴 10 min,于 1 500 r/min 离心 10 min,弃去上清液,重复上述乙醇提取步骤共 3 次,至上清液澄清;然后在 50 ℃ 恒温水浴中蒸发掉剩余的乙醇,向剩余的固体中加入 4.0 mL 0.1 mol/L NaOH 溶液,混匀后,于 50 ℃ 水浴 30 min(水浴期间混匀 2~3 次);然后加入 5.0 mL 0.1 mol/L 乙酸溶液,混匀后加入 1 mL 淀粉水解混合酶液(水解酶购自 Sigma 公司,混合酶液含 2 U/mL 淀粉葡萄糖苷酶和 400 U/mL α-淀粉酶),50 ℃ 水浴 24 h。于 2 500 r/min 离心 10 min,取上清液,用葡萄糖乳酸生物传感器分析仪(山东省科学院生物研究所,SBA-40E)检测葡萄糖的含量。淀粉含量的计算公式如下:

淀粉含量 = 9 × $\frac{\text{葡萄糖浓度(g/L)} \times 10 \text{ mL}}{\text{青萍质量(mg)}}$ × 100%。

1.3.4 青萍蛋白质的氨基酸分析 将青萍干粉充分粉碎后,用酸(盐酸)水解后用日立科技有限公司的氨基酸分析仪 L-8900 进行氨基酸成分和含量的分析^[16]。

1.4 数据处理与统计方法

本试验数据采用 Excel 2016 进行分析和处理。在同一因素下各水平数据使用 SPSS 软件,用 Duncan's 法进行多组样本差异显著性分析,并用不同小写字母表示其显著性(α = 0.05)。

2 结果与分析

2.1 生长条件对青萍生物量的影响

如图 1 所示,在所测试的 5 个影响因素中,最大 RGR 出现在 25 ℃ 条件下,达到 0.140,而最低 RGR 则出现在初始密度为 70% 的条件下,仅为 0.064。青萍在各试验组生长状态良好,但在温度组 45 ℃ 的条件下,青萍已不能很好地繁殖扩增,青萍生长停滞甚至部分死亡,仅部分存活且生物量没有增长,可见过高的温度会让青萍的生长受到限制,青萍品种并不能在 45 ℃ 条件下正常生长,因此在 45 ℃ 条件下的数据未列出。

由图 1 可以看出:(1)青萍在 25 ℃ 条件下表现出最大的 RGR(0.140),且显著(P < 0.05)高于 15、35 ℃ 时的 RGR。

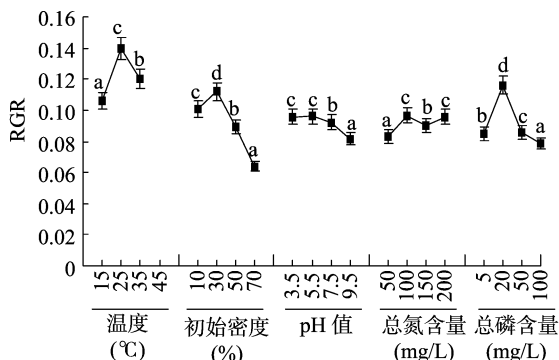
(2) 初始密度对青萍的生长具有重要影响, RGR 伴随着初始密度的升高而升高, 在 30% 初始密度条件下达到最大值, RGR 为 0.112, 显著大于其他各水平 ($P < 0.05$); 但随着初始密度的继续增加, RGR 呈递减趋势, 这表明在高密度条件下青萍的生长受到了抑制, 可能是由植株间的竞争关系造成的。

(3) 青萍的 RGR 总体伴随着 pH 值升高而降低, 在 pH 值为 5.5 的条件下青萍的 RGR 最大, 为 0.096, 略大于 pH 值为 3.5 时的 RGR (0.095); 当 pH 值从 5.5 上升至 7.5、9.5 偏碱性条件下时, 其 RGR 显著下降 ($P < 0.05$); 在 pH 值为 9.5 的条件下其 RGR 达到最低值, 为 0.082, 显著低于其他 pH 值水平 ($P < 0.05$), 但青萍仍然处于生长繁殖状态。可见青萍表现出对 pH 值的广泛适应性, 在 pH 值范围为 3.5 ~ 9.5 时均能生长。Tang 等报道, 在太湖、巢湖流域广泛存在青萍, 且属于优势种群, 而青萍对环境 pH 值条件的广泛适应性很可能是其在自然水体中有着极其广泛分布的重要原因之一^[17-18]。

(4) 在总氮含量为 50 mg/L 的条件下, 青萍的 RGR 最低, 仅为 0.083, 且显著低于总氮含量其他水平 ($P < 0.05$)。总氮含量为 100 mg/L 时, RGR 为 0.097; 随着总氮含量进一步增加至 150 mg/L, RGR 并未进一步提高, 反而出现一定程度的下降; 但随着总氮含量的继续增大, RGR 又恢复到 100 mg/L 含量条件下的水平。RGR 在总氮含量为 150 mg/L 时突然下降, 可能是由试验存在一定的生物学误差造成的。总体来看, 总氮含量高于 100 mg/L 时, 总氮已经不再是青萍生长的限制条件, 因此随着总氮含量的进一步增大, RGR 并未显著提高。

(5) 总磷含量对青萍的生长也有显著影响。随着总磷含量的增加, RGR 也增加并在总磷含量为 20 mg/L 时达到最大值 (0.116), 且显著 ($P < 0.05$) 大于其他各水平的 RGR。但是随着总磷含量的进一步增大, RGR 呈递减趋势, 在总磷含量为 100 mg/L 时降至最低值, 为 0.079。

综合 5 个因素对青萍的 RGR 影响可以得出, 最适合青萍生物量积累的培养条件为温度 25 °C、初始密度 30%、pH 值 5.5、总氮含量 100 mg/L、总磷含量 20 mg/L。



同一影响因素下不同处理间标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同

图1 青萍的相对生长率效应曲线

2.2 生长条件对青萍淀粉含量的影响

如图 2 所示, 青萍在 pH 值为 9.5 时, 淀粉含量达到最大值, 达 15.3%, 在总磷含量为 50 mg/L 的条件下淀粉含量最低, 为 5.5%。

由图 2 还可以看出: (1) 温度对青萍的淀粉含量有显著

影响。随着温度的升高, 淀粉含量呈递减趋势。在较低温度条件下 (15、25 °C), 青萍淀粉含量显著 ($P < 0.05$) 大于 35 °C 条件下的淀粉含量。该结果与张飞等的研究结果^[19]一致, 表明低温条件更有利于青萍淀粉的积累。(2) 初始密度对青萍淀粉含量有重要影响。随着初始密度的提高, 淀粉含量逐渐上升。初始密度在 10%、30%、50% 的条件下, 青萍的淀粉含量比较稳定, 为 8% 左右; 当初始密度达 70% 时, 青萍淀粉含量会达到 12.5%, 显著高于其他条件 ($P < 0.05$)。这与赵昭等关于生物量与淀粉积累的研究结论^[20]一致, 即青萍在较高生物密度条件下有利于淀粉的积累。(3) 总氮含量对青萍淀粉含量的影响并不显著。在 150 mg/L 总氮含量条件下, 淀粉含量最高, 为 10.4%, 在 200 mg/L 总氮含量条件下, 淀粉含量最低 (8.8%)。(4) 总磷含量对青萍淀粉积累具有显著影响。随着总磷含量的升高, 淀粉含量迅速降低, 并在 50 mg/L 条件下达到最低值, 淀粉含量为 5.5%, 随后在 100 mg/L 总磷含量条件下, 淀粉含量出现一定程度的上升, 但仍显著低于较低总磷含量 (5 mg/L) 下的淀粉含量 ($P < 0.05$)。

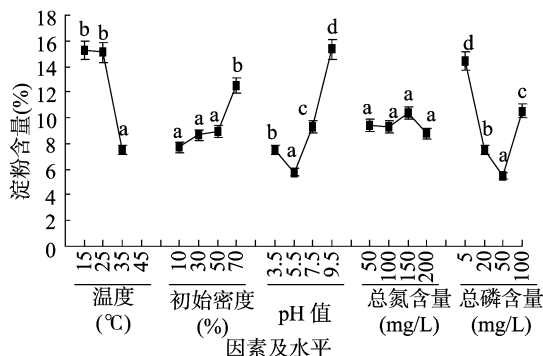


图2 青萍干基淀粉含量效应曲线

综合以上结果, 青萍淀粉含量的最优条件为温度 15 °C、初始密度 70%、pH 值 9.5、总氮含量 150 mg/L、总磷含量 5 mg/L。通过极差分析, 对青萍淀粉积累影响程度最高的 3 个因素依次为 pH 值、总磷含量及温度, 总氮含量对青萍的淀粉含量积累影响最小。

理论上, 提高青萍的生长速率可以收获更多的青萍生物量从而获得更多的淀粉, 但生长速率与淀粉含量并不呈正相关。本试验结果表明, 青萍的淀粉积累量与相对生长速率呈现出一定的负相关关系 (图 1、图 2)。赵昭等曾指出, 在青萍生长的后期, 淀粉的积累与生长速率呈现一定的负相关关系^[20]; Xiao 等也指出, 青萍的淀粉含量与青萍的生长速率呈现出一定的负相关关系^[13]。在实际应用中, 可以通过适当降低青萍培养温度、提高 pH 值等方法, 降低青萍生长速率, 从而提高青萍的淀粉含量, 以期收获更高淀粉含量的青萍生物质。

2.3 生长条件对青萍蛋白质含量的影响

由图 3 可以看出, 青萍在 15 °C 的条件下, 蛋白质含量最高, 为 28.1%, 在总磷含量为 5 mg/L 的条件下蛋白质含量最低, 为 16.1%。

由图 3 还可以看出: (1) 温度对青萍蛋白质含量的影响表现为, 在较低温度下, 蛋白质含量较高。在温度为 15 °C 的

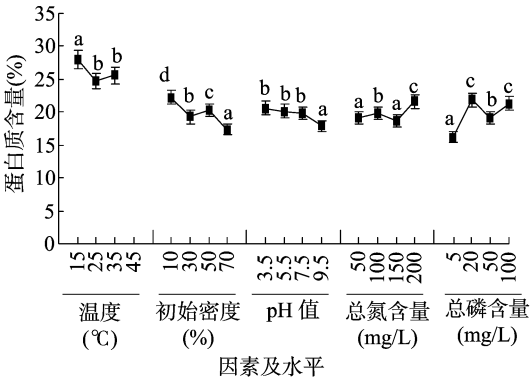


图3 青萍干基蛋白质含量效应曲线

条件下,蛋白质含量最高,为 28.1%,并显著高于其他水平 ($P<0.05$)。(2)初始密度对青萍蛋白质含量影响显著。在较低初始密度条件下,青萍蛋白质含量较高,随着初始密度的增加,蛋白质含量逐渐下降。在 10% 的初始密度下,蛋白质含量最高,为 22.3%,并显著高于其他各水平 ($P<0.05$);在 70% 的初始密度条件下,青萍蛋白质含量最低,为 17.3%。(3)青萍在偏酸性或者中性条件下,蛋白质含量并没有显著变化,在碱性条件下其蛋白质含量显著下降。在 pH 值为 9.5 的条件下,其蛋白质含量为 17.9%,显著低于其他 pH 值水平 ($P<0.05$)。在 pH 值为 3.5 的条件下,青萍蛋白质含量最

高,为 20.6%,略高于 pH 值为 5.5、7.5 条件下的蛋白质含量。(4)总氮含量对青萍蛋白质含量具有重要的影响。在较高总氮含量(200 mg/L)条件下,青萍具有最高的蛋白质含量,为 21.6%,并显著高于其他各水平 ($P<0.05$),而在较低总氮含量(50 mg/L)条件下,青萍的蛋白质含量最低,为 15.48%。张浩等在 250 mg/L 总氮含量下筛选得到较高蛋白质含量的青萍^[21],与本试验结果较为接近,说明总氮对蛋白质积累有重要的影响。

综合以上因素,青萍蛋白质含量的最优条件为温度 15℃、初始密度 10%、pH 值 3.5、总氮含量 200 mg/L、总磷含量 20 mg/L。对青萍蛋白质积累影响程度较高的 3 个因素依次为总磷、总氮、初始密度,pH 值条件对青萍蛋白质含量的积累影响最小。

值得指出的是,青萍的蛋白质含量对应总氮含量的变化与 RGR 对应总氮含量的变化较为一致(图 1、图 3),青萍的淀粉含量也随着总氮含量增大而有一定的增大,但并不显著。在实际应用中,如果以利用青萍蛋白质为目的进行培养,可增加总氮含量,既可以提高 RGR,也可以得到更高蛋白质含量的青萍生物质,取得更好的控制效果。

2.4 生长条件对青萍淀粉、蛋白质生产能力的影 响
淀粉和蛋白质的生产能力也是优化青萍培养条件的重要参考,表 2 为试验期内各因素各水平的淀粉、蛋白质的平均生产能力。

表 2 青萍的淀粉、蛋白质平均生产能力

项目	不同水平的淀粉生产力[g/(m ² ·d)]				不同水平的蛋白质生产力[g/(m ² ·d)]			
	水平 1	水平 2	水平 3	水平 4	水平 1	水平 2	水平 3	水平 4
温度	1.79	4.22	1.22	—	4.57	6.89	4.02	—
初始密度	0.44	2.17	2.38	2.23	1.69	5.98	5.06	2.74
pH 值	1.17	1.06	2.13	2.87	4.31	4.07	3.29	3.77
总氮含量	1.90	2.68	1.36	1.28	3.54	5.68	2.24	3.98
总磷含量	2.50	2.47	1.23	1.02	2.34	6.15	4.29	2.66

注:温度的 1~4 水平分别对应 15、25、35、45℃;初始密度的 1~4 水平分别对应 10%、30%、50%、70%;pH 值的 1~4 水平分别对应 3.5、5.5、7.5、9.5;总氮含量的 1~4 水平分别对应 50、100、150、200 mg/L;总磷含量的 1~4 水平分别对应 5、20、50、100 mg/L。

在 25℃ 条件下,无论是淀粉还是蛋白质的积累能力都是最高的。青萍的淀粉积累能力在较低的初始密度条件下较弱,初始密度的提高可以提高青萍对淀粉的积累速度,其蛋白质积累能力则表现出在适中的初始密度下积累能力较强,过高或者过低的初始密度都会降低青萍积累蛋白质的速度。相较于酸性环境,在偏碱性条件下,青萍淀粉积累速度较快;而蛋白质积累能力则与之相反,在偏酸性条件下,青萍的蛋白质积累能力较强,而在偏碱性条件下,蛋白质积累能力较弱。在 100 mg/L 的总氮含量下,青萍的淀粉和蛋白质积累能力都是最强的。在较低的总磷含量下,青萍的淀粉积累能力更强,20 mg/L 总磷含量青萍的蛋白质积累能力最强,过高或者过低的总磷含量都会降低青萍积累蛋白质的能力。

2.5 青萍的氨基酸组成及含量

在以青萍蛋白质为原料进行加工利用的实际生产中,其蛋白质的氨基酸组成及含量是评价其作为蛋白质原料质量的重要依据。为了更好地评价青萍蛋白质作为原料的利用价值,本研究分析了青萍的氨基酸组成及其含量。

表 3 结果表明,青萍样品中氨基酸总量达 197.10 mg/g,

氨基酸含量最高的是天冬氨酸,达 33.85 mg/g,占氨基酸总量的 17.17%,其次是亮氨酸,为 21.43 mg/g,占氨基酸总量的 10.87%。必需氨基酸中亮氨酸含量最高,达 21.43 mg/g,占氨基酸总量的 10.87%,其次是缬氨酸,为 12.52 mg/g,占氨基酸总量的 6.35%,含量最低的是甲硫氨酸,为 1.57 mg/g,占氨基酸总量的 0.80%。需要特别指出的是,动物第一限制性氨基酸赖氨酸在青萍中的含量较高,达 8.93 mg/g,占氨基酸总量的 4.53%,占必需氨基酸的 12.18%,高于常见饲料原料玉米、高粱、小麦等^[13,22-23]。青萍的必需氨基酸总量达 73.31 mg/g,占氨基酸总量(TAA)的 37.20%,必需氨基酸与非必需氨基酸的比值(EAA/NEAA)为 59.42%,这与世界卫生组织(WHO)/联合国粮食及农业组织(FAO)推荐的 EAA/TAA = 40%、EAA/NEAA = 60%^[21]非常接近。这些结果表明,青萍中蛋白质的营养价值较高,在利用其蛋白质作为饲料原料等方面潜力巨大。

3 结论

(1)青萍在温度为 25℃、初始密度为 30%、pH 值为 5.5、

表 3 青萍的氨基酸组成及含量

氨基酸种类	平均含量 (mg/g)	质量分数 (%)
天冬氨酸(Asp)	33.85 ± 0.07	17.17
亮氨酸(Leu)*	21.43 ± 0.02	10.87
谷氨酸(Glu)	20.18 ± 0.05	10.24
甘氨酸(Gly)	16.51 ± 0.01	8.38
精氨酸(Arg)	14.68 ± 0.01	7.45
缬氨酸(Val)*	12.52 ± 0.01	6.35
丙氨酸(Ala)	11.68 ± 0.02	5.93
苯丙氨酸(Phe)*	11.59 ± 0.00	5.88
苏氨酸(Thr)*	10.93 ± 0.01	5.55
脯氨酸(Pro)	9.41 ± 0.01	4.78
赖氨酸(Lys)*	8.93 ± 0.00	4.53
丝氨酸(Ser)	8.67 ± 0.00	4.40
酪氨酸(Tyr)	6.61 ± 0.01	3.35
异亮氨酸(Ile)*	6.34 ± 0.01	3.21
甲硫氨酸(Met)*	1.57 ± 0.00	0.80
半胱氨酸(Cys)	1.20 ± 0.00	0.61
组氨酸(His)	0.10 ± 0.00	0.51
非必需氨基酸总量(NEAA)	123.79	62.80
必需氨基酸总量(EAA)	73.31	37.20
总氨基酸(TAA)	197.10	100.00

注:标注“*”的表示必需氨基酸。

总氮含量为 100 mg/L、总磷含量为 20 mg/L 的条件下,相对生长速率最快;(2)青萍在温度为 15 ℃、初始密度为 70%、pH 值为 9.5、总氮含量为 150 mg/L、总磷含量为 5 mg/L 的条件下,淀粉含量达到最优;(3)青萍在温度为 15 ℃、初始密度为 10%、pH 值为 3.5、总氮含量为 200 mg/L、总磷含量为 20 mg/L 的条件下,蛋白质含量达到最优;(4)在本试验周期内,单位面积、单位时间积累的淀粉量最大的条件为温度 25 ℃、初始密度 50%、pH 值 9.5、总氮含量 100 mg/L、总磷含量 5 mg/L,而蛋白质量最大的条件为温度 25 ℃、初始密度 30%、pH 值 3.5、总氮含量 100 mg/L、总磷含量 20 mg/L;(5)青萍的氨基酸组成合理,接近 WHO/FAO 推荐的理想蛋白质氨基酸模式,具有作为蛋白或饲料原料的潜力。

根据青萍在不同生长条件下生物质、蛋白质及淀粉积累的特点,可在生产实际中有针对性地对青萍进行控制,为青萍的种属筛选以及蛋白质、淀粉等营养物质的进一步利用提供指导。

参考文献:

- [1] 苏玲. 水体富营养化[J]. 世界环境,1994(1):23-26.
- [2] 邓泓,何国富,邢和祥,等. 河道水体富营养化污染综合治理的研究[J]. 环境科学与技术,2008,31(2):132-135.
- [3] Obaja D, Macé S, Mata-Alvarez J. Biological nutrient removal by a sequencing batch reactor (SBR) using an internal organic carbon source in digested piggy wastewater[J]. Bioresource Technology, 2005,96(1):7-14.
- [4] Moore A D, Israel D W, Mikkelsen R L. Nitrogen availability of anaerobic swine lagoon sludge: sludge source effects[J]. Bioresource Technology, 2005,96(3):323-329.

- [5] 吴百力. 高浓度氨氮废水处理技术及其发展趋势[J]. 环境保护科学,2006,32(2):22-24.
- [6] Dalu J M, Ndamba J. Duckweed based wastewater stabilization ponds for wastewater treatment (a low cost technology for small urban areas in Zimbabwe)[J]. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 2003,28(20/21/22/23/24/25/26/27):1147-1160.
- [7] Ran N, Agami M, Oron G. A pilot study of constructed wetlands using duckweed (*Lemna gibba* L.) for treatment of domestic primary effluent in Israel[J]. Water Research, 2004,38(9):2241-2248.
- [8] Pan X Y, Geng Y P, Zhang W J, et al. The influence of abiotic stress and phenotypic plasticity on the distribution of invasive *Alternanthera philoxeroides* along a riparian zone[J]. Acta Oecologica, 2006,30(3):333-341.
- [9] Wang W. Literature review on duckweed toxicity testing[J]. Environmental Research, 1990,52(1):7-22.
- [10] Leng R A, Stambolie J H, Bell R. Duckweed - a potential high-protein feed resource for domestic animals and fish[J]. Livestock Research for Rural Development, 1995,7(1):1-11.
- [11] Cheng J J, Stomp A M. Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed[J]. Clean - Soil Air Water, 2010,37(1):17-26.
- [12] Mbagwu I G, Adeniji H A. The nutritional content of duckweed (*Lemna paucicostata* Hegelm.) in the Kainji Lake area, Nigeria[J]. Aquatic Botany, 1988,29(4):357-366.
- [13] Xiao Y, Fang Y, Jin Y L, et al. Culturing duckweed in the field for starch accumulation[J]. Industrial Crops and Products, 2013,48:183-190.
- [14] Oron G, Dan P, Jansen H. Performance of the duckweed species *Lemna gibba* on municipal wastewater for effluent renovation and protein production[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2010,29(2):258-268.
- [15] Appenroth K J, Teller S, Horn M. Photophysiology of turion formation and germination in *Spirodela polyrrhiza* [J]. Biologia Plantarum, 1996,38(1):95-106.
- [16] 黄国方, 廖建萌, 罗林, 等. 海产品中蛋白水解氨基酸含量的测定[J]. 科技致富向导, 2014(18):261-262.
- [17] Tang J, Zhang F, Cui W H, et al. Genetic structure of duckweed population of *Spirodela*, *Landoltia*, and *Lemna*, from Lake Tai, China[J]. Planta, 2014,239(6):1299-1307.
- [18] Tang J, Li Y, Ma J, et al. Survey of duckweed diversity in Lake Chao and total fatty acid, triacylglycerol, profiles of representative strains[J]. Plant Biology, 2015,17(5):1066-1072.
- [19] 张飞, 谢滕, 唐杰, 等. 太湖流域不同种浮萍淀粉积累的研究[J]. 可再生能源, 2015,33(6):938-945.
- [20] 赵昭, 姚广保, 张艺琼, 等. 猪场污水中浮萍生物量和淀粉含量变化研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2012,49(3):693-698.
- [21] 张浩, 方扬, 靳艳玲, 等. 耐高氨氮浮萍的筛选及优势品种的生长特性[J]. 应用与环境生物学报, 2014,20(1):63-68.
- [22] 熊本海, 罗清尧, 赵峰. 中国饲料成分及营养价值表(2016年第27版)制订说明[J]. 中国饲料, 2016(21):33-43.
- [23] Pellett P L, Young V R. Nutritional evaluation of protein foods[J]. Food & Nutrition Bulletin, 1980,4:154.