

几种化学物质对小球藻生长和蛋白含量的效应

李师翁 王毅民

(庆阳师范高等专科学校生物系 甘肃西峰 745000)

摘要 研究了不同有机和无机碳源及生长素对小球藻生长量及叶绿素和蛋白质含量的效应。葡萄糖、蔗糖、乙酸钠和碳酸氢钠及萘乙酸均能提高小球藻的生长量和叶绿素含量,对小球藻具有明显的促生效应。

培养基加入乙酸钠和萘乙酸小球藻细胞蛋白质含量由对照的 43.4% 提高到 46.9% 和 52.5%。

关键词 小球藻, 碳源, 叶绿素, 生长量, 蛋白质

分类号 Q93.936

小球藻为普生性单细胞绿藻,70 年代末发现其细胞糖蛋白具有抗癌抑瘤等许多重要的医疗保健作用,被广泛开发作为人类的健康食品^[1]。近二十年来,在美国、日本、东南亚地区小球藻市场广阔^[2]。作者研究了玻璃管道光合生物反应器中小球藻的大规模培养^[3],对于影响小球藻生长量的因素已有报道^[4],本项工作目的在于为光合反应器中小球藻的大规模工业化生产提供资料。

1 材料和方法

藻种为蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),购自中国科学院武汉水生生物研究所。在三角瓶中加入 500mlLSW₅培养基(作者另文报道),采用静置培养,每日不定时摇动数次,光照强度 2500~3000lx,光照时间 12h,温度 20~25℃,每个培养周期为 7d。为了接近工业化生产的条件,为开放式培养。

生物量测定:将全部培养物在 2500~3000r/min 离心机离心,蒸馏水冲洗 3 次,置 60℃ 恒温干燥 12h 以上,称得恒重。

吸光值测定:藻液在 724 分光光度计 680nm 波长下测定吸光值,在此波长下吸光值与叶绿素含量及干重成正比关系^[5]。

蛋白质含量测定:采用微量凯氏定氮法。

2 结果和讨论

2.1 不同物质对小球藻细胞叶绿素含量的效

应

实验研究了有机碳源葡萄糖、蔗糖、甘氨酸和乙酸钠,无机碳源碳酸氢钠,植物生长素萘乙酸对小球藻细胞在 680nm 处吸光值的效应,结果如表 1。表明上述物质对小球藻细胞叶绿素含量均有不同程度的提高,当浓度为 1.5~2g/L 时,680nm 处的吸光值最大,不同物质的效应为碳酸氢钠>乙酸钠>葡萄糖>蔗糖>甘氨酸,碳酸氢钠具有显著的效果,萘乙酸的效应不明显。已知 650~660nm 的波长是叶绿素的最高吸收值,在此波长下可以比色测定叶绿素的含量^[6],并且 665nm 波长处的光密度值与藻类细胞密度存在很好的相关关系^[5],680nm 波长被用于比色测定小球藻的生物量^[7],实验证明用 680nm 波长进行比色分析,能够反映小球藻细胞叶绿素含量的变化。

2.2 不同物质对小球藻细胞生长量的效应

葡萄糖、蔗糖、乙酸钠和碳酸氢钠及萘乙酸均能不同程度的促进小球藻的生长繁殖,增加小球藻的细胞生物量(表 1),不同物质的效应依次为碳酸氢钠>乙酸钠>萘乙酸>蔗糖>葡萄糖>甘氨酸。使用适宜浓度为 1~2g/L,在培养基中加入 2g/L 时,碳酸氢钠和乙酸钠能使小球藻细胞生物量比对照增加 3~4 倍,甘氨酸对细胞生物量无明显效应。

2.3 不同物质对小球藻细胞蛋白质含量的效应

采用微量凯氏定氮对加入不同物质后小球

表1 不同碳源对培养小球藻细胞光密度和生物量的效应

碳源	浓度 (g/L)	吸光值	生物量 (mg/L)	蛋白质含量 (%)
葡萄糖	0	0.547	231	
	1	0.579	258	
	1.5	0.798	292	43.4
	2	0.866	328	
	2.5	0.863	392	
	3	0.790	370	
蔗糖	1	0.574	323	
	1.5	0.615	376	
	2	0.695	384	43.6
	2.5	0.745	423	
	3	0.767	431	
甘氨酸	1	0.757	204	
	1.5	0.857	203	
	2	1.027	257	44.5
	2.5	1.041	253	
	3	0.863	258	
乙酸钠	1	1.022	582	
	1.5	1.276	665	
	2	0.947	556	46.9
	2.5	1.041	630	
	3	1.136	644	
碳酸氢钠	1	1.523	659	
	1.5	1.657	674	
	2	1.638	715	42.7
	2.5	1.657	714	
	3	1.678	731	
羧乙酸	0.025	0.886	490	52.5
6-BA	0.025	0.646	376	46.6

藻细胞蛋白质含量进行了测定,结果表明培养基中加入羧乙酸、6-BA和乙酸钠时,蛋白质含量有所提高,且以羧乙酸效应为显著,加入碳酸

氢钠后,蛋白质含量略有降低,但差异不显著,这主要是由于碳酸氢钠加速了细胞的生长繁殖,大大增加了细胞生物量,使细胞内蛋白质的积累相对减少。对于羧乙酸促进蛋白质合成和积累,有待进一步研究。

试验表明在开放式培养条件下,加入有机碳源极易引起细菌污染,且以甘氨酸最为明显。而无机碳源碳酸氢钠能够有效防止细菌的污染,且对小球藻的促长作用比有机碳源更为显著,成本也低,是小球藻大规模培养中较为理想的补充碳源。另外实验也表明在开放式培养中采用振荡、搅拌和循环等方式加速小球藻生长,能够有效的抑制细菌的繁殖。

参考文献

- [1] 李勤生,王业勤. 微生物学通报, 1985, (6): 275—277.
- [2] Oh-Hama T, Miyachi S. In Borowitzka M A and Borowitzka L J(eds), Micro-Algae Biotechnology. Cambridge University Press, 1992, 18~19.
- [3] 李师翁,李虎乾. 生物工程学报, 1997, 13(1): 93~97.
- [4] 华汝成著. 单细胞藻类研究与利用. 北京: 农业出版社, 1980.
- [5] Guillard R R L. In Stein J R(eds), Handbook of Phycological Method. Cambridge University Press, Bridge. 1973, 289~311.
- [6] 薛应龙主编. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 105~110.
- [7] Lee Y K, Low C S. Biotech and Bioengin. 1992, 40: 1119~1122.