

外源物质和培养策略对小球藻产油和净水能力的影响

研究生：占晶晶；导师：洪喻 副教授



研究背景

1. 面临传统化石能源枯竭及环境污染的问题，寻求高效且环境友好型的能源替代品已成为全球关注焦点。
2. 微藻生长周期短，其积累的油脂无毒且可生物降解，因此微藻生物柴油被认为是有望成为传统化石能源的替代品。此外微藻积累生物油脂的同时还能有效去除水中氮磷，微藻的污水深度处理也被认为是水质净化的有效策略。
3. 尽管利用微藻具备很多优点，但微藻油脂生产和水质净化仍不具备大规模的商业化可行性。为了实现微藻大规模商业化生产，目前研究主要集中于微藻生物量的扩大化培养，微藻油脂积累和水质净化潜力的提高和微藻油脂生产成本的降低等。
4. 为了突破上述瓶颈，研究人员提出了同步实现双重目的的微藻培养体系策略。如在构建培养微藻体系的时候同步实现生物柴油的生产和水质的净化。
5. 因此优化微藻的培养条件，提高微藻的生物量和油脂生产并同步实现高效净化水质将进一步提高微藻在实际应用的价值。

研究方法

实验材料

选用含油量丰富的小球藻*Chlorella sp.* HQ (菌种保藏号GCMCC7601)

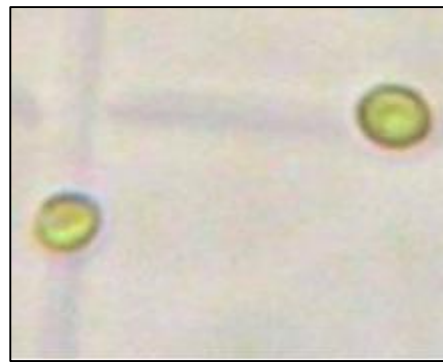


图1 小球藻*Chlorella sp.* HQ在40倍光学显微镜细胞形态(a)和30 000倍透射电镜照片微观结构(b)

实验装置

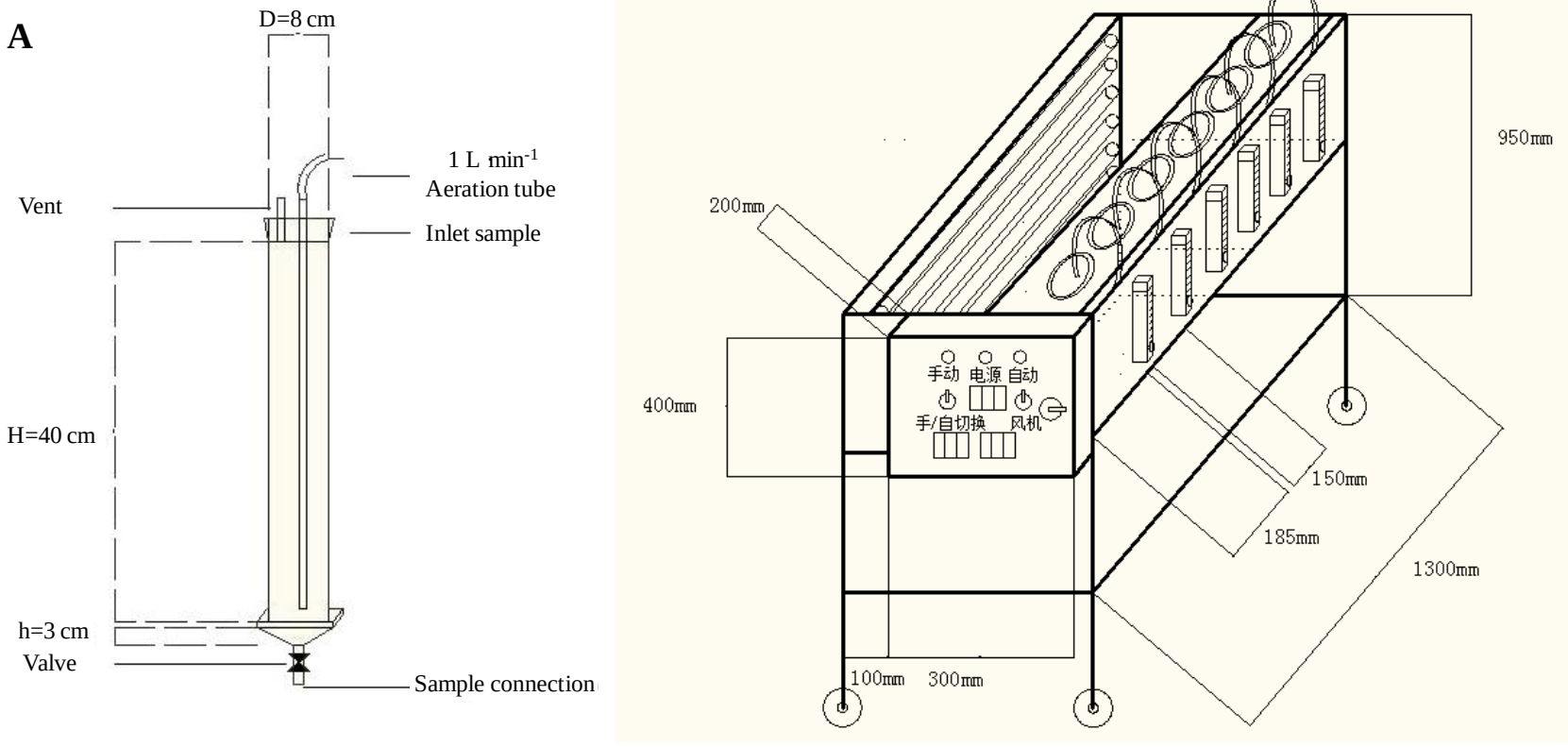


图2 培养策略所用光生物反应器(单根柱子参数H=40cm; D=8cm)

实验设置和方法

碳和氮源：小球藻HQ分别被接种于含有五种不同氮源条件的mBG11培养基中(每种氮源分别设置C/N=0, 1, 3和5四种情况)，并测定其总氮、总磷、藻密度、生物量、总油脂产量及三酰甘油酯(TAG)产量等

金属元素：小球藻HQ分别接种于含K⁺、Na⁺、Fe³⁺、Mn²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺以及Cr⁶⁺的mBG11培养基中(每种金属分别设置低、中、高和缺乏四种浓度，并测定金属、总氮总磷、藻密度、生物量、总油脂和TAG产量等

培养策略：小球藻HQ分别接种于六根反应柱子，采用异养，异养+兼养，异养+自养，半连续，分批补料和异养培养策略进行培养，并测定总氮总磷总碳、藻密度、生物量、总油脂、TAG和活性氧自由基含量等

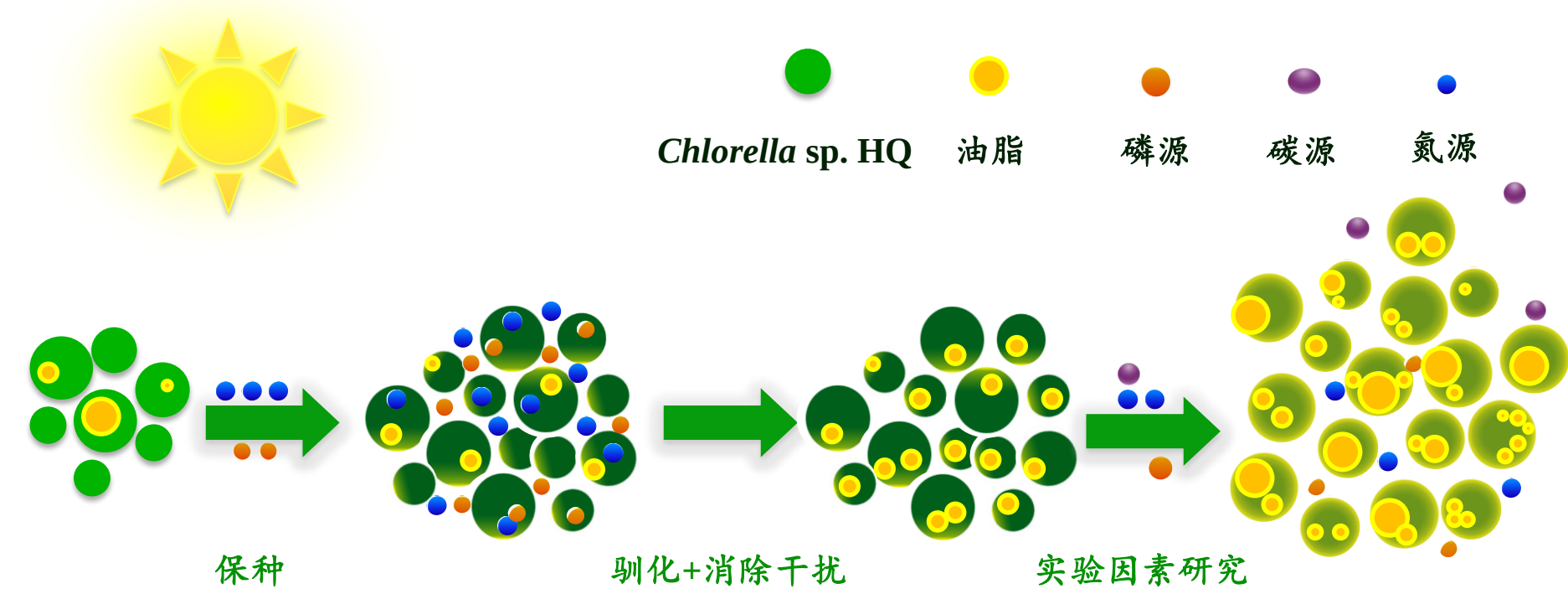
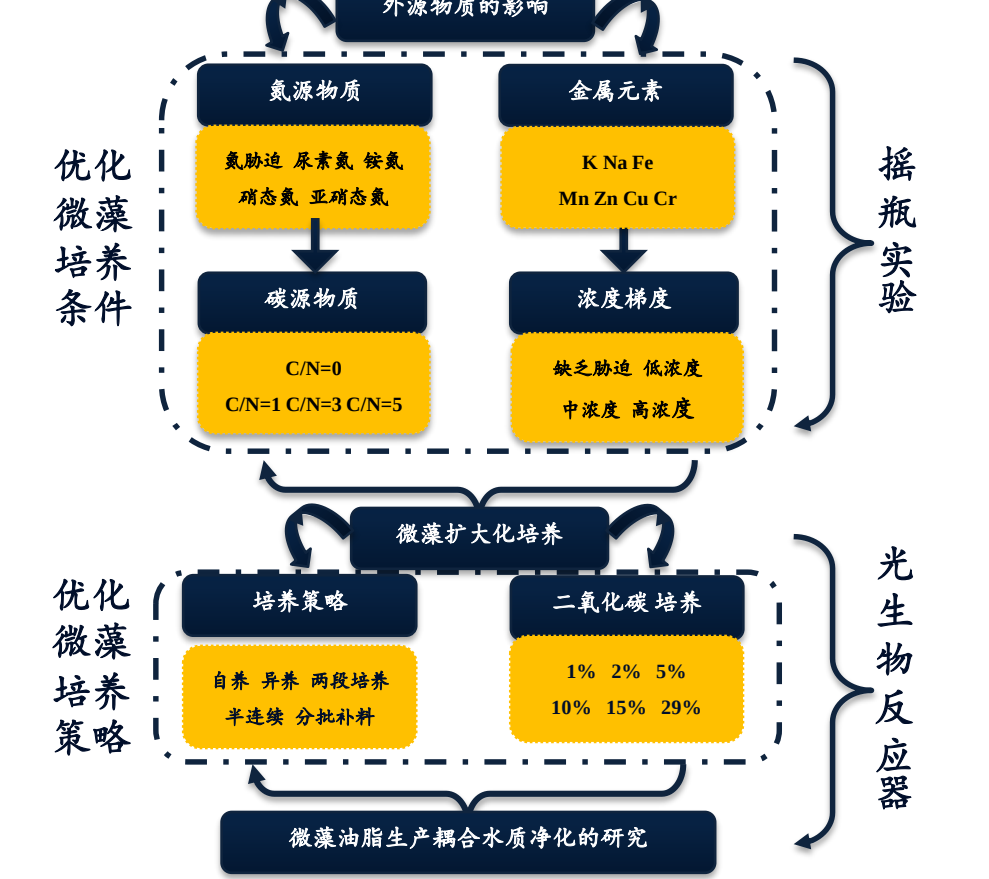


图3 微藻培养及实验



结果与讨论

氮源和碳源对微藻产油和净水能力的影响

1. 小球藻HQ能有效去除了氨氮以外的氮源(91.29~93.85%)，外加无机碳能将NH₄-N去除率由68.33±0.91%提高到91.73~93.80%。
2. 饥饿处理诱导高活性物积累刺激内源磷释放，而外加无机碳将NO₂-N处理组的总磷去除率由42.41±0.04%提高91.83~96.23%。

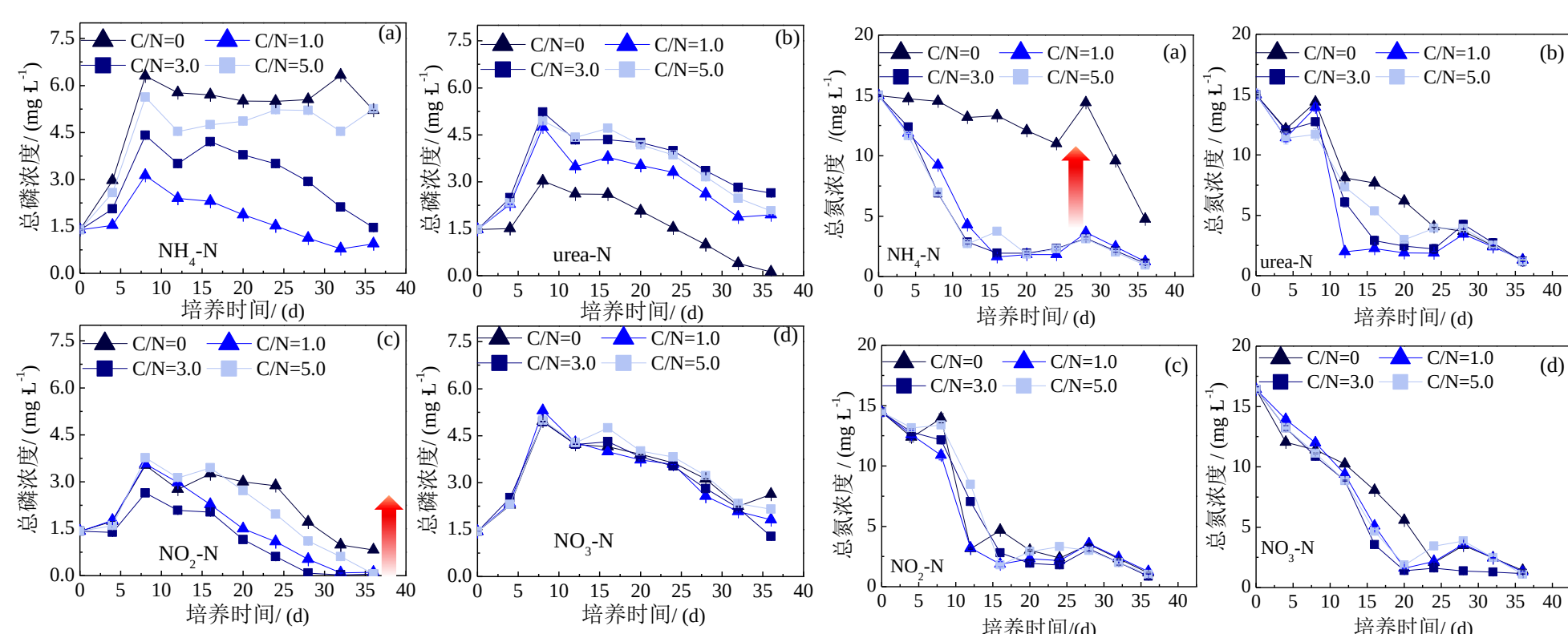


图5 小球藻HQ在不同氮源及碳氮比条件下的总氮浓度

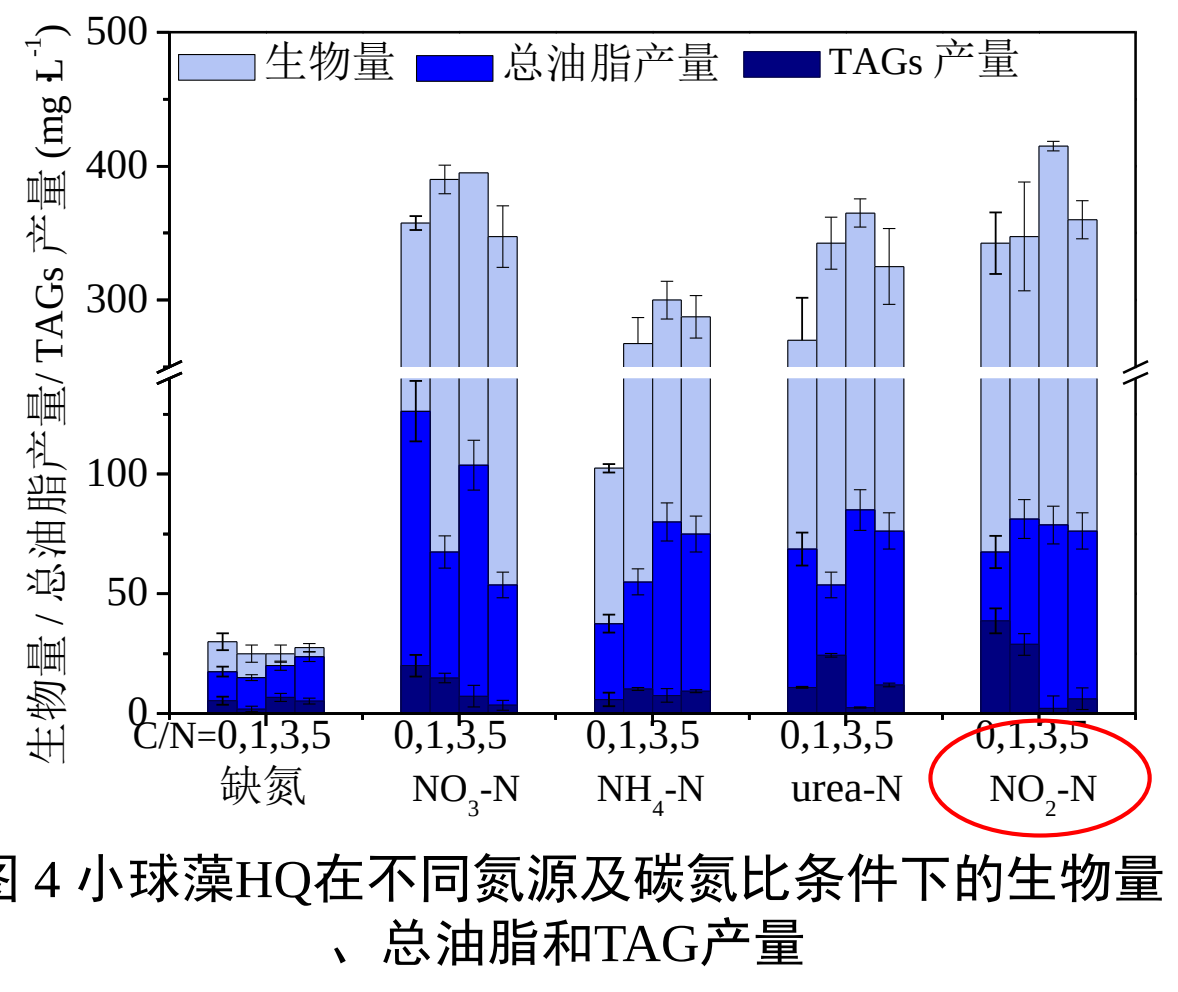


图6 小球藻HQ在不同氮源及碳氮比条件下的总氮浓度

1. 小球藻HQ能有效去除了氨氮以外的氮源(91.29~93.85%)，外加无机碳能将NH₄-N去除率由68.33±0.91%提高到91.73~93.80%。
2. 饥饿处理诱导高活性物积累刺激内源磷释放，而外加无机碳将NO₂-N处理组的总磷去除率由42.41±0.04%提高91.83~96.23%。

金属元素对微藻产油和净水能力的影响

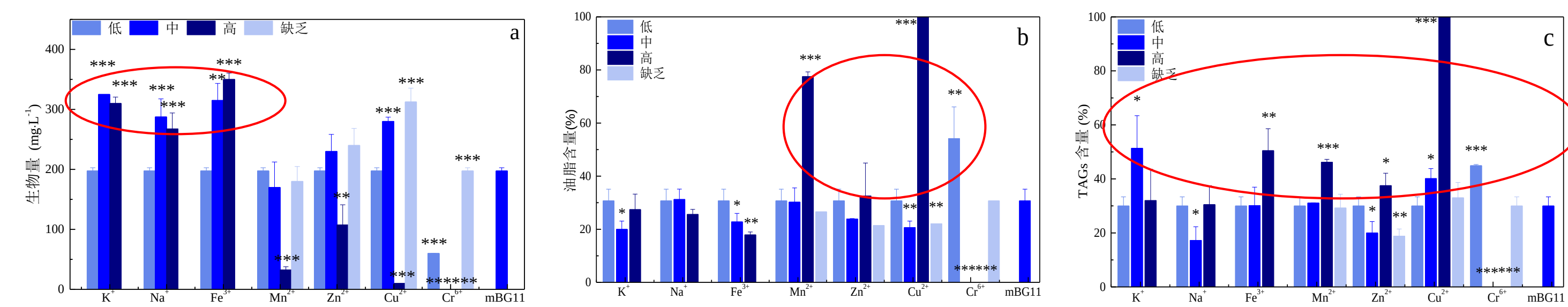


图7 小球藻HQ在七种金属类型和不同金属浓度条件下，其生物量(a)、总油脂含量(b)和TAG含量(c)。*(P<0.05), ***(P<0.001)和***代表各实验组均值与mBG11培养条件下比较时分别在0.05, 0.01和0.001 置信区间存在显著性差异

表1 暴露于不同金属处理组下，小球藻HQ对TN、TP及金属的去除

处理组 (mg L ⁻¹)	总氮去除率 %	总磷去除率 %	金属去除率 %
K ⁺	1.9 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
Na ⁺	31.9	86.58±0.33	82.89±0.14
Fe ³⁺	61.9	88.10±0.22	82.30±0.03
Mn ²⁺	26.81 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
Zn ²⁺	101.81	94.45±0.06	91.15±0.01
Cu ²⁺	151.81	93.11±0.04	73.11±0.21
Cr ⁶⁺	0.6 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
	3.6	86.17±0.07	76.25±0.04
	6.6	89.40±0.20	83.47±0.03
	0	94.04±0.04	93.83±0.15
	0.52 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
	5.52	94.77±0.08	96.27±0.01
	50.52	18.62±1.40	98.60±0.00
	0	92.36±0.03	100±0.00
	0.05 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
	0.55	93.89±0.03	95.46±0.16
	5.05	57.45±0.08	49.24±0.08
	0	89.62±0.12	80.79±0.20
	0.02 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
	0.52	87.98±0.24	77.30±0.20
	5.02	-11.47±1.28	-15.95±0.19
	0 ^a	91.88±0.05	89.52±0.31
	0.5	78.15±0.53	89.17±0.18
	2.5	-16.25±0.88	0.00±0.00
	5	-21.15±0.06	-3.96±0.34

培养策略和对微藻产油和净水能力的影响

1. 异养培养下高的活性氧水平能胁迫小球藻HQ积累更多的有利油脂TAG：40.81mg L⁻¹。
2. 小球藻HQ在六种培养策略条件下总氮的去除率高达95.82~93.72%。
3. 小球藻HQ在六种培养策略条件下总磷的去除率高达92.73~100%。

图8 小球藻HQ在不同培养策略下的TAG产量

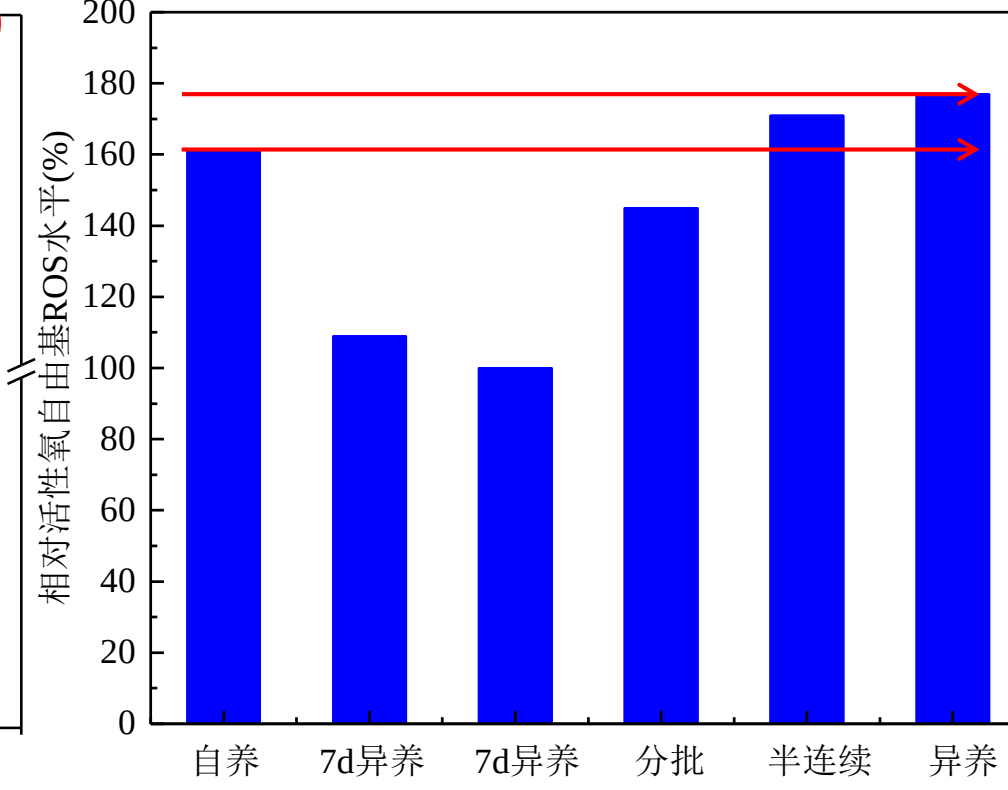


图9 小球藻HQ在不同培养策略下的活性氧水平

表2 基于光生物反应器的培养策略实验设置

培养策略	自养	异养+兼养	异养+自养	分批补料	半连续	异养
TN去除率(%)	95.20	95.41	94.19	95.82	93.95	93.72
TP去除率(%)	100.00	99.27	100.00	92.73	98.93	97.80

结论

1. 为获得最高的油脂积累能力和总氮总磷去除效果，以NO₂-N为氮源并保持C/N=1.0时能满足微藻油脂生产和污水深度处理的耦合技术要求(NO₂-N：91.22±1.38%；TP：91.83±0.09%；TAG：0.64±0.10 mg L⁻¹ d⁻¹)。此外，C/N=1.0时也能有效去除NO₃-N(91.96±0.29%)，尿素-N(91.20±0.74%)和NH₄-N(91.73±0.27%)。
2. 小球藻HQ能有效去除水中的Fe³⁺(85.40~98.73%)、Mn²⁺(45.63~97.24%)、Zn²⁺(81.93~100.00%)和Cu²⁺(81.71~95.19%)并实现同步实现油脂/TAG积累(32.56~100%/37.53~100%)和脱氮除磷(TN：78.15~94.77%；TP：80.52~100%)。
3. 在六种培养策略下，小球藻HQ能有有效的脱氮除磷(TN：93.72~95.82%；TP：92.73~100%)。此外，在异养条件达到最大TAG产量40.81 mg L⁻¹，为小球藻*Chlorella sp.* HQ油脂生产的最佳培养策略。

致谢

This study was supported by Beijing Nova and Leading Talents Cultivation Program (No. Z1511000003150147) and National Natural Science Foundation (No. 51571034).

取得的主要研究成果：

- [1] Zhan J, Hong Y, Hu H. Effects of Nitrogen Sources and C/N Ratios on the Lipid-Producing Potential of *Chlorella sp.* HQ. Journal of Microbiology and Biotechnology. 2016.26(7)
- [2] Zhan J, Zhang Q, Qin M, Hong Y. Selection and characterization of eight freshwater green algae strains for synchronous water purification and lipid production. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2016, Available online: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11783-016-0831-4>.