

A Preliminary Study on Cultivating *Spirulina Platensis* in Na⁺-Free Culture Medium

Zhizhong Wang¹, Zhiguo Wang²

¹Otog Banner Research Centre of Spirulina Engineer and Technology, Erdos Inner Mongolia

²Erdos Zhuocheng Biotechnology Co., Ltd., Erdos Inner Mongolia

Email: 395212815@qq.com

Received: Jul. 29th, 2020; accepted: Aug. 13th, 2020; published: Aug. 20th, 2020

Abstract

The preliminary experiment of cultivating *Spirulina platensis* with Na⁺-free culture medium was carried out to explore the feasibility of using Na⁺-free raw materials to reduce the accumulation of Na⁺ in this paper. The result shows: there was no significant difference for the growth of *Spirulina platensis* in Na⁺-free cultivation and conventional cultivation, the protein content in Na⁺-free cultivation is higher than that in conventional cultivation ($P > 0.05$). The Na⁺ content of the Na⁺-free culture medium was significantly lower than that of the conventional culture ($P < 0.01$). The process of Na⁺-free cultivation could be used as a supplement of the conventional cultivation, which could reduce the difficulty of the treatment of the aquaculture wastewater.

Keywords

Spirulina Platensis, Na⁺-Free Cultivation, Conventional Cultivation, Protein, Waste Water

钝顶螺旋藻无钠培养初步研究

王志忠¹, 王志国²

¹鄂托克旗螺旋藻工程技术研究中心, 内蒙古 鄂尔多斯

²鄂尔多斯市琢成生物科技有限责任公司, 内蒙古 鄂尔多斯

Email: 395212815@qq.com

收稿日期: 2020年7月29日; 录用日期: 2020年8月13日; 发布日期: 2020年8月20日

摘要

为探讨使用无钠原料的可行性, 减少钠盐累积, 该文开展了钝顶螺旋藻无钠培养初步实验。结果显示: 钝顶螺旋藻在无钠培养条件下生长过程的藻浓度与常规原料培养无显著差异($P > 0.05$), 无钠培养的螺旋

藻粉蛋白质含量无异于常规原料培养($P > 0.05$), 无钠培养养殖液钠离子含量显著低于常规培养($P < 0.01$), 可看出无钠培养过程可以作为常规培养的补充, 可减轻养殖废水处理的难度。

关键词

钝顶螺旋藻, 无钠培养, 常规培养, 蛋白质, 废水

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

螺旋藻, 也被称作节旋藻, 是属于蓝藻门、藻殖段纲、颤藻科、螺旋藻属(节旋藻属)的一类原始生物[1]。人们已经发现 30 多个螺旋藻种, 目前中国允许产业化的螺旋藻种只有钝顶螺旋藻和极大螺旋藻[2]。

螺旋藻以其能量低、蛋白质适中、脂肪、碳水化合物含量低的特性完全可以健康食品的形式进入人们的餐桌, 在最少的脂肪、碳水化合物及能量摄入前提下补充优质蛋白质[3], 提高人们的免疫力[4][5], 也可避免肥胖和高血压等慢性病[6][7]。

螺旋藻含有藻蓝蛋白、多糖、SOD(超氧化物歧化酶)、 γ -亚麻酸、叶绿素等具有改善健康功能的多种有用物质[8][9]。

内蒙古鄂尔多斯市鄂托克旗部分企业从 2003 年开始养殖螺旋藻, 产量逐年增加, 生产工艺不断优化和改善, 产品质量不断提升。2010 年鄂托克旗螺旋藻产业园建立后, 26 家企业入驻螺旋藻产业园区。现园区年生产螺旋藻粉 3500 吨, 占国内螺旋藻粉产量的 40%以上。鄂托克旗螺旋藻产业园区每年产生约 60 万立方米的生产废水, 废水处理成为制约螺旋藻生产企业发展和影响螺旋藻产品质量的主要因素, 为减少螺旋藻废水的钠含量, 最大限度地重复利用养殖废液, 实现零排放, 研究了钝顶螺旋藻无钠和常规培养的生长情况、产品蛋白质含量情况以及废液钠含量情况, 为养殖废液重复利用提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)藻种由鄂托克旗螺旋藻工程技术研究中心提供。

碳酸氢钠、氯化钠、硫酸钾、硫酸镁、磷酸氢二钾、硝酸钠、氯化钙、硫酸亚铁、EDTA-Na、硼酸、氯化锰、硫酸铜、硫酸锌、钼酸铵、碳酸氢钾、硝酸钾、硝酸镁、硝酸亚铁、碳酸氢铵、草酸(均为分析纯)、钠标准贮备溶液, 含钠 1.000 g/L 市售; 实验用水为 18.0 M Ω 的二次去离子水。

2.2. 仪器与设备

722 可见分光光度计上海精密科学仪器有限公司; pH 计上海雷磁仪器厂; 自动凯氏定氮仪上海沛欧分析仪器有限公司; AAnalyst800 原子吸收分光光度计美国安捷伦公司; 0.45 μ m 滤膜微滤装置山东启泽水务设备有限公司。

2.3. 方法

2.3.1. 螺旋藻培养

分别配制 Zarrouk 培养液[10] (P1)和无钠的 Zarrouk 培养液(P2)。P2 培养基中钠盐全部由钾盐替换,

硫酸盐、氯化物由硝酸盐替代, 根据 Zarrouk 培养基折算添加量。取对数生长期的螺旋藻液用滤布过滤, 将藻泥接种到各培养液中, 稀释到 $OD_{560} = 0.15$ 左右, 将藻液充分摇匀后再分别按每瓶 500 mL 的量接入 6 个三角瓶中。设置培养温度 28°C , 光照强度为 $3000\sim 4000\text{ lx}$, $12\text{ h}:12\text{ h}$ 光暗周期培养, 每天定时充分摇瓶 3 次, 并轮流交换位置以减少光照误差。接种后进行初始测定, 然后每天后用 722 型分光光度计对其 OD_{560} 值进行测定, 以 OD_{560} 值作为生长指标, 比较不同处理间螺旋藻生长状况的差异。

2.3.2. 螺旋藻粉蛋白质含量测定

称取充分混匀的螺旋藻粉试样 1.0 g, 精确至 0.001 g, 至消化管中, 再加入 0.4 g 硫酸铜、6 g 硫酸钾及 20 mL 硫酸于消化炉进行消化。当消化炉温度达到 420°C 之后, 继续消化 1 h, 此时消化管中的液体呈绿色透明状, 取出冷却后加入 50 mL 水, 于自动凯氏定氮仪(使用前加入氢氧化钠溶液, 盐酸或硫酸标准溶液以及含有混合指示剂的硼酸溶液)上实现自动加液、蒸馏、滴定和记录滴定数据的过程。

2.3.3. 废液钠离子浓度测定

由于养殖废液中含有定有机物及重金属离子, 需要对废液进行前处理, 先用 400 目滤布滤去残留的螺旋藻等物质, 然后用 0.45 微米水系滤膜进行微滤, 因废液含盐量很高, 需要对废液稀释, 备用。先制作钠标准曲线, 然后将试样稀释后不消解直接上机(AAnalyst800 原子吸收分光光度计)检测, 根据标准曲线计算钠离子浓度。

2.3.4. 统计分析方法

采用 excel2010 进行数据处理和绘图, 采用 SPSS19.0 进行显著性分析。

3. 结果与分析

3.1. 无钠培养与常规培养螺旋藻生长差异

无钠培养与常规培养螺旋藻生长差异如图 1 所示。随着培养期的延长, 钝顶螺旋藻在两种培养基中均生长良好, 两种培养基生长的螺旋藻每两天的 OD_{560} 值差异极显著(图中上标字母表示差异显著水平) ($P < 0.01$), 而同一天两种培养基的螺旋藻 OD_{560} 值无显著差异($P > 0.05$), 由此可见, 无钠培养的钝顶螺旋藻可很好适应生长环境, 无钠培养可作为常规培养的替代方式。

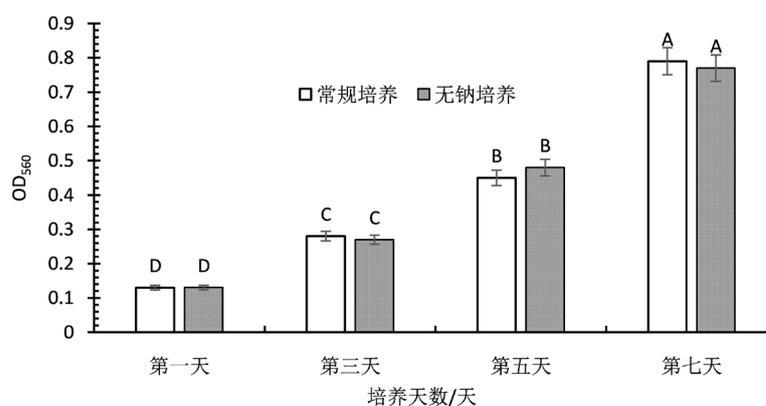


Figure 1. Growth of Spirulina in Na^+ -free cultivation and conventional cultivation

图 1. 无钠培养和常规培养对螺旋藻生长的影响

3.2. 无钠培养与常规培养螺旋藻粉蛋白质含量比较

无钠培养与常规培养螺旋藻粉蛋白质含量见图 2。两种培养方式的蛋白质含量结果趋于相近, 无显

著差异(图中上标字母表示差异显著水平) ($P > 0.05$), 由此可见无钠培养方式生产的螺旋藻粉其主要成分蛋白质含量未受培养原料变化影响, 因蛋白质含量高低主要受氮肥供应程度的影响, 因本实验中氮源充足, 故无钠培养蛋白质含量无明显影响。

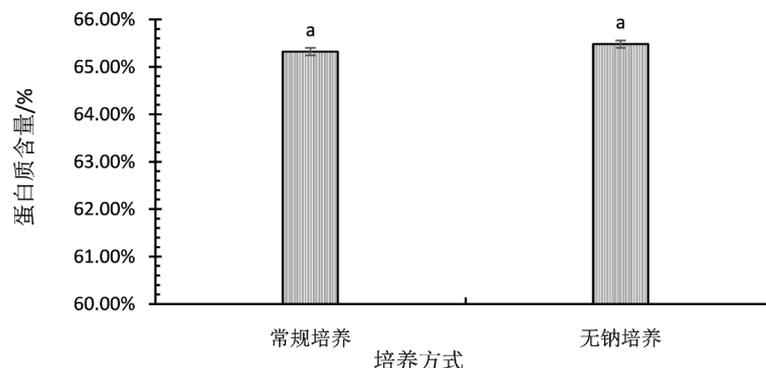


Figure 2. Protein content in Na^+ -free cultivation and conventional cultivation
图 2. 无钠培养与常规培养蛋白质含量

3.3. 无钠培养和常规培养废液钠离子含量

无钠培养和常规培养废液钠离子含量见图 3。从图 3 可见, 两种培养方式的钠离子含量差别较大(图中上标字母表示差异显著水平) ($P < 0.01$), 可见在加入钠盐培养原料后钠离子在培养液中累积, 而无钠培养的培养液因未添加含钠原料其钠离子浓度未检出, 因此无钠培养模式下, 螺旋藻培养液的钠离子浓度可以显著降低, 增加了螺旋藻养殖废液回用的可能性, 减轻了废液处理的难度。

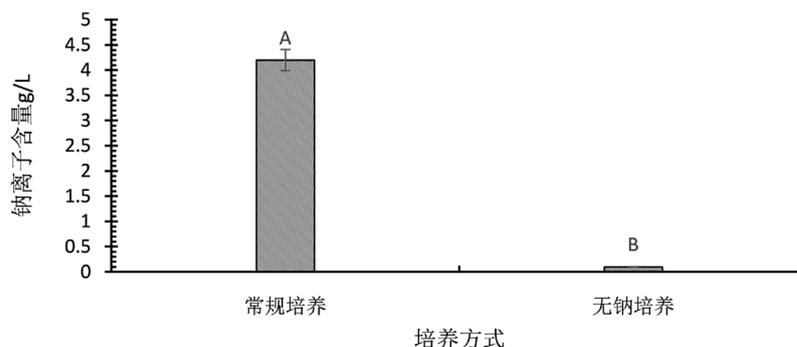


Figure 3. Na^+ content in Na^+ -free cultivation and conventional cultivation
图 3. 无钠培养与常规培养钠离子含量

4. 讨论

螺旋藻在常规培养过程中, 往往需要加入大量钠盐、硫酸盐和氯化物, 这些营养被利用之后, 钠离子、氯离子、硫酸根离子等阴阳离子被残留在培养液中, 随着培养过程的延长, 这些离子被逐步累积, 培养液的盐浓度增大, 培养液的渗透压随即增大, 螺旋藻细胞会出现“生理干旱”现象[10], 螺旋藻细胞会胀破而死亡, 另外液体会使养殖废液的盐浓度增大, 增加水处理的难度和成本, 所以提出螺旋藻无钠培养的概念和技术对产业可持续发展至关重要。

在螺旋藻常规生产方式下, 每年会产生大量养殖废水, 这些废水因盐含量高, 处理过程复杂, 处理成本高, 导致螺旋藻生产的环保压力增加。探讨通过使用能被螺旋藻吸收的钠盐、氯化物、硫酸盐的替

代原料养殖螺旋藻是本文作者最先提出的环保可持续养殖概念和技术, 通过这些概念和技术实现螺旋藻的环保循环培养。

试验结果表明, 在无钠培养条件下, 螺旋藻生长正常, 蛋白质含量正常, 培养液钠离子含量显著减少, 说明无钠培养可以作为螺旋藻培养的替代或交替培养方式, 可以解决螺旋藻培养液中无机盐不断累积的问题。

5. 结论

钝顶螺旋藻在无钠培养条件下可保持正常生长, 含有与常规培养相当含量的蛋白质, 培养液无钠盐累积可循环使用。

基金项目

鄂尔多斯市科技计划项目(YY201820076)。

参考文献

- [1] B. 福迪, 罗迪安, 译. 藻类学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1980: 24.
- [2] 胡鸿均. 国外螺旋藻生物技术的现状及发展趋势[J]. 武汉植物学研究, 1997, 15(4): 369-374.
- [3] Artur, J., Piotr, B., Elzbieta, P., *et al.* (2018) An Attempt to Induce an Immunomodulatory Effect in Rowers with Spirulina Extract. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 1-12.
- [4] Wu, Q.H., Liu, L., Miron, A., *et al.* (2016) The Antioxidant, Immunomodulatory, and Anti-Inflammatory Activities of Spirulina: An Overview. *Archives of Toxicology*, **90**, 1817-1840. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5>
- [5] Chen, Y., Chang, G., Kuo, S., *et al.* (2016) Well-Tolerated Spirulina Extract Inhibits Influenza Virus Replication and Reduces Virus-Induced Mortality. *Scientific Reports*, 1-11. <https://doi.org/10.1038/srep24253>
- [6] Sajjad, M., Rahele, Z., Sahar, F., *et al.* (2019) Effects of Spirulina Supplementation on Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 1-26. .
- [7] Hernandezlepe, M.A., Wallmedrano, A., Lopezdiaz, J.A., *et al.* (2019) Hypolipidemic Effect of *Arthrospira* (Spirulina) Maxima Supplementation and a Systematic Physical Exercise Program in Overweight and Obese Men: A Double-Blind, Randomized, and Crossover Controlled Trial. *Marine Drugs*, 1-13. <https://doi.org/10.3390/md17050270>
- [8] Ciferri, O. and Tiboni, O. (1985) The Biochemistry and Industrial Potential of Spirulina. *Annual Review of Microbiology*, **39**, 503. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.39.100185.002443>
- [9] 李神州, 李岳. 浅谈螺旋藻的开发价值及应用[J]. 科技资讯, 2008(14): 208-209.
- [10] 乔辰, 栗淑媛. 鄂尔多斯高原碱湖螺旋藻[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 26-41.