

生活废水培养螺旋藻(*Spirulina platensis*)中的 营养物质构成

黄 昆¹, 张逸波², 黄 峙², 郑文杰²

(1. 信阳师范学院城市与环境科学系, 河南 信阳 464000; 2. 暨南大学生命科学技术学院, 广东 广州 510632)

[摘 要] 研究生活废水培养螺旋藻(*Spirulina platensis*, SP)中的主要营养物质构成. 用厨房废水(kitchen wastewater, KW)摇瓶培养SP, 观察藻细胞在KW中的生长状态, 以及低、高光照强度($36 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 和 $108 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)对SP生长的影响. 化学比色法检测KW培养的SP(KW-SP)中的总蛋白质(Pr)、脂(Lip)和水溶性多糖(Ploys)等主要营养物质的构成. 结果发现, SP在KW中的生长速率、生物量及产率可达在Zarrouk培养液(ZM)中的80%以上, 并表现有明显氮营养缺乏特点; 与ZM培养的SP(ZM-SP)相比, 低、高光照强度下培养的KW-SP中Pr(分别占干质量的47.7%和40.3%)明显降低($P < 0.05$), Lip(26.5%和19.3%)显著增高($P < 0.05$), 高光照强度下培养的KW-SP中Ploys(24.1%)显著增高($P < 0.05$); KW-SP中天冬氨酸(Asp)和蛋氨酸含量明显增加($P < 0.05$), 精氨酸、组氨酸和胱氨酸含量则明显降低($P < 0.05$). 用生活废水培养的SP营养价值仍然较高, 培养过程中氮缺乏和光照强度对KW-SP中蛋白质、脂、多糖及氨基酸构成有重要影响.

[关键词] 螺旋藻; 营养物质; 生活废水

[中图分类号] Q656.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2009)05-0576-05

Nutrient composition of *Spirulina platensis* grown on digested domestic wastewater

HUANG Kun¹, ZHANG Yi-bo², HUANG Zhi², ZHENG Wen-jie²

(1. Department of Urban and Environmental Science, Xin Yang Normal University, Xinyang, Henan 464000, China;

2. College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

[Abstract] Evaluation of nutrient composition of *Spirulina platensis* (SP) grown on domestic wastewater (DW) was undertaken. SP cultivation was carried out in digested kitchen waster (KW) either at a light flux of 36 (lower) or $108 \mu\text{mol photon}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ (higher), utilizing shaking flasks. Contents of total protein, lipids and water soluble polysaccharides were determined by colorimetric methods. Although SP cultivation in DW displayed nitrogen deficiency, the special growth rate and biomass concentration (as dry weight) after 10 days of cultivation in the DW was above 80% to the one observed in Zarrouk medium (ZM), regardless of the light intensity. Compared to the SP grown on ZM (ZM-SP), the protein and the total lipids contents of the biomass in SP grown on KW (KW-SP) were significantly decreased ($P < 0.05$), regardless of the light flux. However, the water soluble polysaccharide was obviously enriched in KW-SP (21.4%) at the higher light intensity ($P < 0.05$). Additionally, the contents of

[收稿日期] 2009-03-31

[基金项目] 广东省自然科学基金重点项目(05103295)

[作者简介] 黄 昆(1968-), 男, 讲师, 研究方向: 城市环境与生态研究. 通讯作者: 郑文杰, 教授, 博士生导师, E-mail: tzhwj@jnu.edu.cn.

amino acids of Asp and Met were increased, while that of Arg, His and Cys were decreased in KW-SP ($P < 0.05$). Present results indicated that SP products with high nutrient value could be obtained by cultivation in DW. The variation of nutrient compositions in KW-SP was related to the nitrogen deficiency and light intensity during the cultivation.

[Key words] *Spirulina platensis*; nutrient composition; domestic wastewater

螺旋藻(*Spirulina platensis*, SP)具有很高的营养和药物应用价值^[1].螺旋藻除了富含蛋白质外,还含有丰富的色素(如藻蓝素和 β -胡萝卜素)、多不饱和脂肪酸(PUFA)、藻多糖等活性营养成分^[2-5].环境因素和培养条件对螺旋藻化学成分及营养物质的构成有重要影响,建立生物量产率高或富集特定营养物质的螺旋藻人工培养方法,对实际开发应用螺旋藻具有重要意义^[2].螺旋藻对培养条件的适应范围较宽,利用粗海盐、土壤滤液和垃圾肥料等低成本材料配制人工培养基,开展螺旋藻的培养和生产实验研究已经有大量报道^[2,6-7].有研究发现,利用螺旋藻在特定的人工培养条件下可产生较高水平的色素及PUFA^[5].

另外,研究者也关注利用螺旋藻对造纸和酿酒工业污水、养殖废水及城市垃圾处理液等进行生物净化和修复的可行性^[8-11].城市生活废水(domestic wastewater, DW)一般未经任何处理而直接排放,是造成水体富营养化的重要原因之一.本实验利用生物活废水的主要来源厨房废水(kitchen waster, KW)培养螺旋藻,观察KW对螺旋藻生长的影响,分析KW培养螺旋藻(KW-SP)中的主要营养物质构成,并探讨培养过程中氮的缺乏和光照强度对KW-SP中营养物质构成的影响.将螺旋藻人工培养与废水净化处理结合起来,统一实现螺旋藻的生物转化和环境废水治理双重价值,将具有较好的实际应用前景.

1 实验材料与方法

1.1 藻种及培养

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*, SP)由暨南大学水生生物研究所藻种库提供. Zarrouk's 培养液^[12]光照摇瓶培养保种.

1.2 生活废水收集和处理

2007年5~9月期间,分3次从某学生食堂收集厨房废水(kitchen wastewater, KW) 100 L,置于密封陶缸中3周,室温发酵降解其中有机物,多层纱布过滤后煮沸1 h.将煮沸后的废水用80 μm 过滤器

过滤,得KW原液备用.测定KW的pH值为 8.5 ± 0.3 (pH Meter 3310 JENWAY),文献[11]的方法测定 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、BOD和COD等理化参数的质量分数分别为 $(12.6 \pm 2.7) \text{ mg/L}$ 、 $(4.6 \pm 0.6) \text{ mg/L}$ 、 $(6.2 \pm 0.4) \text{ mg/L}$ 、 $(30.7 \pm 9.6) \text{ mg/L}$ 和 $(46.4 \pm 3.5) \text{ mg/L}$. ICP-MS (ELAN 600型 ICP-MS仪, USA)方法测定KW中的主要重金属砷(As)、镉(Cd)、铜(Cu)、铅(Pb)、镍(Ni)、硒(Se)、锌(Zn)、铬(Cr)等金属污染物的质量浓度,均低于我国GB3838—2002地表水(Ⅲ类)环境质量标准. KW使用前用 NaHCO_3 调pH值到 9.5 ± 0.5 .

1.3 实验分组与培养条件

实验分Zarrouk培养液(ZM)对照组和KW培养液实验组,各组设低、高光照强度($36 \mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ 和 $108 \mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$)处理,3次重复. 500 mL三角瓶中分装培养液300 mL,接种15 mL对数期SP藻种(藻液 $A_{560 \text{ nm}} = 1.5$).所有三角瓶置恒温摇床(100 r/min)于 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光/暗周期12 h/12 h培养12 d.

1.4 分析与检测

每2天取培养藻液25 mL按文献[10]方法测定藻细胞干质量,计算生长率、最大生物量及产率.滴定法测定藻细胞滤液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度^[11].

蛋白含量测定采用改良双缩脲法^[2](试剂盒购自南京建成生物工程研究所);总脂抽提和测定参照文献[2]方法;水溶性多糖提取及测定按文献[2]方法进行.氨基酸采用Hitachi L-8800氨基酸分析仪进行测定,测定前用6 mol/L HCl于充氮管中充分酸水解(110°C , 22 h).

1.5 统计分析

全部数据用均值 \pm 标准差表示,用SPSS 10.0软件进行统计学处理,采用单因素方差分析进行差异显著性检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义.

2 结果与讨论

2.1 KW对SP生长的影响

在低、高光照强度下,用KW培养SP,藻细胞的

生长速率、最大生物量及产率都可达到 ZM 培养时的 80% 以上(图 1), 提示生活废水可以作为 SP 人工培养生产的培养基原料。厨房废水是生活废水的主要来源, 本实验中对收集的 KW 进行自然发酵处理, 释放大量的 N、P、微量元素等 SP 生长所需营养成分, 其中主要的重金属污染物均低于我国 GB3838-2002 地表水(Ⅲ类)环境质量标准, 因此, 作为 SP 培养基的营养源是安全可靠的。人工配制无机培养基进行 SP 大规模培养, 需要提供 SP 生长所需的全部营养成分, 因而生产成本较高^[2,6]。利用废水作为 SP 生长的低成本营养源, 是一个值得研究探讨的 SP 培养生产策略。Olguin 等^[2]用动物垃圾混合培养基开展了 SP 生产的实验研究。我们的研究也表明, 用垃圾填埋渗滤液可以维持 SP 较高的生长水平, 同时也有效清除其中的 N、P 等营养物质, 净化水质^[11]。

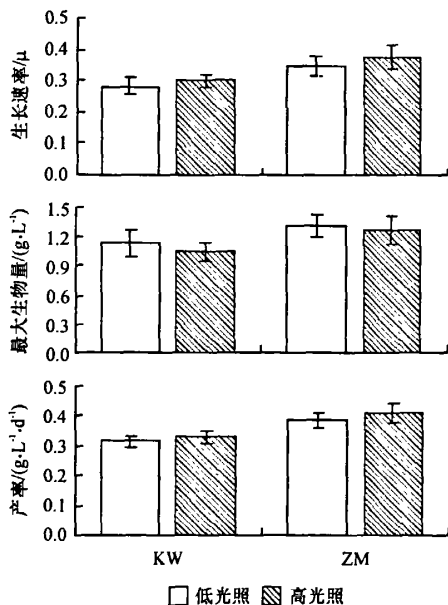


图1 KW培养SP的生长特性

从图2中可看出, 低和高光照强度下, 用 KW 培养 SP 虽然都可维持藻细胞较高的增殖水平, 但从第 6 天开始, 培养液表现出明显的氮缺乏现象。过去, SP 培养和生产中采用的氮营养源主要是氨氮(NH_3-N)或硝基氮(NO_3-N)。我们实验中采用的对照 ZM 培养基不含 NH_3-N , 但 KW 中不仅含有较高水平的 NH_3-N [(12.6 \pm 2.7) mg/L], 而且也含有一定水平的 NO_3-N [(4.6 \pm 0.6) mg/L]。有研究报道, 微藻利用 NH_3-N 的效率比 NO_3-N 更高, 微藻生长最适宜的 NH_3-N 水平为 1.3 ~ 6.5 mg/L ^[6]。本实验发现, SP 在

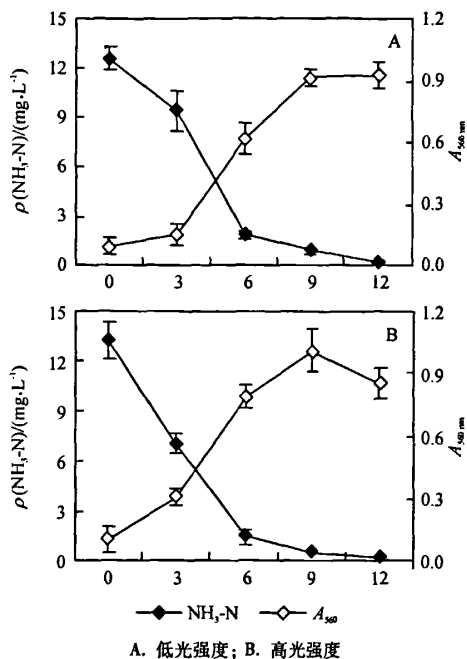


图2 SP增殖及KW中氮的消耗

含有较高 NH_3-N 水平的 KW 中生长良好, 并能快速转化清除 KW 中的 NH_3-N 。

2.2 KW培养SP的营养物质构成

图3显示 KW 培养 SP (KW-SP) 和 ZM 培养 SP (ZM-SP) 中的总蛋白 (Pr)、总脂 (Lip) 和水溶性多糖 (Ploys) 构成及相对含量。与 ZM-SP 相比, 低和高光照强度下培养的 KW-SP 中 Pr (分别占干质量的 47.7% 和 40.3%) 均明显降低 ($P < 0.05$)。KW-SP

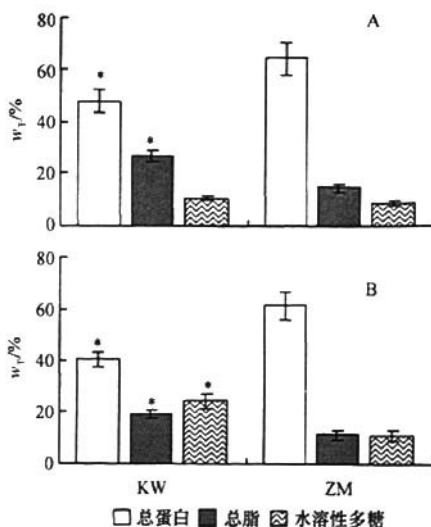


图3 KW培养SP的主要营养物质构成

蛋白质相对含量下降,可能与氮营养缺乏有关,在培养第6天,培养液中的NH₃-N质量浓度<2 mg/L,到第10天采收时,NH₃-N质量浓度<0.5 mg/L(图2).随着培养基中氮缺乏,将优先供给细胞增殖必需的核酸合成所需的氮,导致一些贮藏蛋白质的合成速度相对下调,甚至会引起这些贮藏蛋白质的降解.我们发现第6天采收的KW-SP比12 d时采收的KW-SP中蛋白质相对含量高,而且第6天采收的KW-SP与ZM-SP相比,所含蛋白质相对含量没有明显差异(实验数据未提供).KW-SP中Lip在低光照强度时占干质量的26.5%,高光照下为19.3%,均明显高于ZW-SP中Lip相对含量(14.6%和11.2%)($P<0.05$).

有研究报道,光照强度是调控SP中总脂含量及其构成的关键环境因素^[2],但也受藻种、培养方式、培养基成分及藻细胞生长阶段等多因素的影响.我们的实验结果发现,KW培养促进SP脂类物质的合成和累积,进一步将分析不同脂类化合物的构成,特别是PUFA的组成及含量.本研究还发现高光照强度下培养的KW-SP中Ploys(24.1%)显著高于ZM-SP($P<0.05$).氮缺乏具有促进蓝绿藻细胞糖类化合物合成和累积的作用,光照强度也是多糖合成的刺激因素之一^[2],氮缺乏和高光照的双重刺激,可能是造成KW-SP中Ploys相对含量显著增加的原因.特定的SP多糖组份具有抗病毒、抗血栓和调节免疫功能等活性,具有药物应用前景^[3-4].从富含多

糖的KW-SP中将可能分离纯化获得药物活性的多糖化合物.另外,SP胞外多糖含有硫酸基和糖醛酸,能够有效吸附重金属,SP固定化培养进行重金属的清除也值得进一步研究.

为保证KW-SP进一步开发利用的安全性,我们对其中主要控制重金属污染物的含量进行了分析,从表1结果可见,KW-SP中砷(As)、镉(Cd)、铅(Pb)、铬(Cr)等重金属的质量分数没有明显的变化($P>0.05$),锌(Zn)、硒(Se)、钙(Ca)、铜(Cu)等人体有益元素的质量分数明显提高($P<0.05$),铁(Fe)和镍(Ni)也有较大水平的增加.上述结果表明,KW-SP中的蛋白质相对含量仍较高(>40%),并且含有丰富的脂类和多糖等营养成分,无重金属污染,可以开发成为优质安全的螺旋藻饲料,也可从中提取有药用价值的生物活性成分.

2.3 KW培养SP的氨基酸组成

从表2中可见,与ZM-SP相比,KW-SP的氨基酸构成中天冬氨酸(Asp)和蛋氨酸(Met)质量分数明显增加($P<0.05$),精氨酸(Arg)、组氨酸(His)和胱氨酸(Cys)质量分数则明显降低($P<0.05$),其中Met为必需氨基酸,质量分数增加了3倍.Arg和His为碱性氨基酸,含有多个N原子,其质量分数明显减少可能与培养液中N缺乏有关.其它氨基酸特别是必需氨基酸的质量分数没有明显变化.结果提示,利用KW培养生产SP,可获得氨基酸构成均衡的螺旋藻产品,可以作为优质动物饲料开发利用.

表1 KW培养SP的主要金属含量($\bar{x}\pm s$)

μg/g干质量

金属元素	KW-SP	ZM-SP	金属元素	KW-SP	ZM-SP
锌(Zn)	199.73±36.60 ¹⁾	78.12±10.30	铜(Cu)	116.39±12.15 ¹⁾	27.47±12.06
铁(Fe)	131.40±31.68	58.50±13.31	砷(As)	8.83±1.55	8.30±0.78
硒(Se)	8.59±1.79 ¹⁾	1.70±0.74	镉(Cd)	2.20±0.95	1.61±0.80
镍(Ni)	26.66±3.80	17.30±3.72	铅(Pb)	12.39±2.06	10.91±1.90
钙(Ca)	1062.00±72.75 ¹⁾	790.10±18.11	铬(Cr)	14.18±3.17	11.61±1.97

1) 与ZM-SP比较, $P<0.05$

表2 KW培养SP的氨基酸组成($\bar{x}\pm s$)

g/100 g蛋白

氨基酸	KW-SP	ZM-SP	氨基酸	KW-SP	ZM-SP
Asp	9.23±1.42 ¹⁾	5.31±0.79	Met	2.61±0.32 ¹⁾	0.86±0.16
Thr	4.86±0.82	4.53±0.91	Ile	4.13±0.52	4.77±0.37
Ser	5.28±1.13	5.06±0.77	Leu	6.85±1.05	6.28±0.86
Glu	14.67±0.82	15.30±1.21	Tyr	4.26±0.95	4.51±1.01
Pro	4.79±0.79	5.08±1.06	Phe	5.28±0.38	5.03±0.52
Gly	5.12±0.43	5.48±0.37	His	1.34±0.18 ¹⁾	2.15±0.22
Ala	8.47±0.85	9.66±1.26	Lys	6.39±1.10	5.82±0.89
Cys	0.76±0.17 ¹⁾	1.24±0.23	Arg	1.83±0.23 ¹⁾	4.52±0.57
Val	5.27±0.75	5.45±0.92	Trp	1.56±0.15	2.01±0.17

1) 与ZM-SP比较, $P<0.05$

3 结论

结果提示,用生活废水培养的螺旋藻营养价值仍然较高.氮营养缺乏,以及培养时的光照强度对生活废水培养螺旋藻中的蛋白质、脂和多糖等营养成分构成重要影响.低光照强度培养可促进螺旋藻中脂类化合物的合成累积,而高光照强度下将获得富含水溶性多糖的螺旋藻.生活废水培养螺旋藻中的蛋白质相对含量仍较高(>40%),含有丰富的脂类和多糖等营养成分,无重金属污染,可以开发成为优质安全的螺旋藻饲料,也可从中提取有药用价值的生物活性成分.

[参考文献]

- [1] 胡鸿钧. 螺旋藻生物学及生物技术原理[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 1-36.
- [2] OLGUIN E J, GALICIA S, ANGULO-GUERRERO O, et al. The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp (*Arthrospira*) grown on digested pig waste[J]. *Bioresource Technol*, 2001, 77(1): 19-24.
- [3] KULSHRESHTHA A, ZACHARIA A J, JAROULIYA U, et al. *Spirulina* in health care management[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2008, 9(5): 400-405.
- [4] ZHANG H Q, LIN A P, SUN Y, et al. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(12): 1121-1124.
- [5] COHEN Z, REUNGJITCHACHAWALI M, SIANGDUNG W, et al. Production and partial purification of gamma-linolenic acid and some pigments from *Spirulina platensis* [J]. *J Appl Phycol*, 1993, 5: 109-115.
- [6] PROMYA J, TRAICHAITYAPORN S, DEMING R. Phytoremediation of kitchen wastewater by *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geiteler: pigment content, production variable cost and nutritional value[J]. *MAEJO Int J Sci Technol*, 2008, 2(1): 159-171.
- [7] VOLKMANN H, IMIANOVSKY U, OLIVEIRA J L B, et al. Cultivation of *Arthrospira* (*spirulina*) platensis in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino-acid profile[J]. *BRAZ J Microbiol*, 2008, 39(1): 98-101.
- [8] OLGUIN E J, GALICIA S, MERCADO G, et al. Annual productivity of *Spirulina* (*Arthrospira*) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions[J]. *J Appl Phycol*, 2003, 15(2-3): 249-257.
- [9] PHANG S M, MIAH M S, YEOH B G, et al. *Spirulina* cultivation in digested sago starch factory wastewater[J]. *J Appl Phycol*, 2000, 12(3-5): 395-400.
- [10] KIM M H, CHUNG W T, LEE M K, et al. Kinetics of removing nitrogenous and phosphorus compounds from swine waste by growth of microalga, *Spirulina platensis* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2000, 10(4): 455-461.
- [11] 黄 昆, 黄 峙, 吕颂辉. 螺旋藻(*Spirulina*)对垃圾填埋渗滤液污染物的净化作用[J]. *生态环境*, 2006, 15(3): 509-512.
- [12] 黄 峙, 郑文杰, 郭宝江. 钝顶螺旋藻富硒培养条件的优化[J]. *生物工程学报*, 2002, 18(3): 373-376.

[责任编辑:黄建军]