

不同氮/碳源组合条件下斜生栅藻的生长、光合及油脂产率

杨宋琪^{1,2}, 魏喜红¹, 王丽娟¹, 杨生辉¹, 罗光宏¹

(1. 河西学院 甘肃省微藻工程技术创新中心, 甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室, 甘肃 张掖 734000;

2. 西南大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要:以斜生栅藻为研究材料, 选取 NaNO_3 、 NaNO_2 、 NH_4Cl 、尿素 ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) 作为氮源, Na_2CO_3 、 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$ 和 CH_3COONa 作为碳源, 进行两两组合培养, 研究不同氮源、碳源组合条件对斜生栅藻生长、最大光量子产率 (F_v/F_m)、油脂产率及脂肪酸组成的影响。结果表明: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作为氮源时, 斜生栅藻生物量、叶绿素 a 含量及 F_v/F_m 均达到最高, 而 NH_4Cl 不利于斜生栅藻的生长。在 NaNO_3 、 NaNO_2 和 NH_4Cl 为氮源时, 3 种碳源对斜生栅藻生长的影响差异不显著 ($P > 0.05$), 而在 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 环境中, Na_2CO_3 的添加使得斜生栅藻生物量显著高于其他两组 ($P < 0.05$), 说明 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 Na_2CO_3 组合更有利于斜生栅藻的生长。12 组处理中, N1 ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3$) 和 Y2 ($\text{NaNO}_2 + \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$) 油脂产率最高, 分别占细胞干重的 23.14% 和 21.54%, 同时藻油中油酸相对含量分别为 57.92% 和 57.81%。因此, 无论是生物量的积累还是油脂产率, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作为氮源且 Na_2CO_3 作为碳源具有一定的应用前景。

关键词:斜生栅藻; 氮源; 碳源; 生长; 油脂

中图分类号: TQ642; S985.4

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2020)12-0112-06

Growth, photosynthesis and total lipid of *Scenedesmus obliquus* under different nitrogen and carbon source combinations

YANG Songqi^{1,2}, WEI Xihong¹, WANG Lijuan¹,
YANG Shenghui¹, LUO Guanghong¹

(1. Key Laboratory of Hexi Corridor Resources Utilization of Gansu, Gansu Engineering Technology Innovation Center for Microalgae, Hexi University, Zhangye 734000, Gansu, China; 2. Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Using *Scenedesmus obliquus* as the research material, NaNO_3 , NaNO_2 , NH_4Cl , urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) as nitrogen sources and Na_2CO_3 , $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$ and CH_3COONa as carbon sources, the effects of different nitrogen and carbon sources on the growth, F_v/F_m , total lipid and fatty acid composition of *S. obliquus* were studied. The results showed that the biomass, chlorophyll a content and F_v/F_m of *S. obliquus* reached the highest value when the $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ was used as the nitrogen source, while the nitrogen source of NH_4Cl was not beneficial to the growth of *S. obliquus*. When NaNO_3 , NaNO_2 and NH_4Cl were used as the nitrogen sources, the effects of three carbon sources on the growth of *S. obliquus* were not significant ($P > 0.05$). In the $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ environment, the addition of Na_2CO_3 significantly

收稿日期: 2020-02-12; 修回日期: 2020-06-28

基金项目: 甘肃省科技计划资助 (18JR2JG001, 18YF1WG087, 20JR5RE646)

作者简介: 杨宋琪 (1988), 男, 助理研究员, 硕士, 主要从事藻类生理生态学研究 (E-mail) sqyang@hxy.edu.cn。

通信作者: 罗光宏, 教授 (E-mail) 13993693452@163.com。

increased the biomass of *S. obliquus* compared to the other two groups ($P < 0.05$). It indicated that the combination of $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ and Na_2CO_3 was more conducive to the growth of *S. obliquus*. Among all the twelve treatments, N1 ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3$) and Y2 ($\text{NaNO}_2 + \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$) had the

highest total lipid, accounting for 23.14% and 21.54% of the dry cell weight, respectively, while the relative contents of oleic acid in algae oils were 57.92% and 57.81% respectively. Therefore, using $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ as the nitrogen source and Na_2CO_3 as the carbon source had certain application prospects for either the biomass accumulation or the lipid production of *S. obliquus*.

Key words: *Scenedesmus obliquus*; nitrogen source; carbon source; growth; lipid

微藻因生长周期短、繁殖速率快、油脂含量高、无污染以及培养不占耕地等特点,在众多生物质能源原料中备受关注^[1]。斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)是广泛分布于河、湖、库、塘、土壤等生境的一种绿藻,容易分离纯化获得。近年来,斜生栅藻因其相对较高的油脂产率而被广泛研究^[2-5]。研究表明,斜生栅藻油脂组成以 C_{16} 、 C_{18} 系脂肪酸为主,且油脂含量占干重的 11%~55%^[6],适宜于生产生物柴油。

氮是藻类生长必需的元素之一,是蛋白质和叶绿素等物质的重要组成部分,对藻类生长、繁殖等生理活动有着重要的作用^[7]。自然界中,藻类可利用硝酸盐、亚硝酸盐、铵盐、氮气、尿素等作为必需氮源^[8]。培养过程中,氮源的选择以及浓度的变化可以显著影响藻的生长速率、光合、油脂的积累及成分组成^[9]。碳元素约占藻细胞干重的 50%,是藻细胞的主要组成部分^[10],也是保证藻细胞大量积累油脂的必要条件^[11]。碳源作为营养物质被藻类利用进行有机物的合成和代谢产物的积累,一些藻类可以利用不同外加碳源进行自养和异养生长并显著提升生物量和油脂产率^[12],小球藻亦可利用不同无机碳进行快速生长并显著提升油脂产率^[13]。

目前,许多学者集中在单一氮、碳、磷营养盐对微藻油脂积累的影响研究,而针对不同氮、碳源组合培养探究藻类生长及油脂产率的研究较少。因此,本研究以斜生栅藻为研究材料,为获得其适宜的氮源与碳源组合培养条件,选取 4 种常见氮源和 3 种不同形式碳源两两组合进行室内培养,对其生长、光合、油脂产率及油脂脂肪酸组成进行比较分析,为斜生栅藻生物量和油脂积累条件的筛选提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*) FACHB-416,购自中国科学院水生生物研究所藻种库。培养基所用氮源为尿素、硝酸钠、亚硝酸钠、氯化铵,碳源为碳酸钠、葡萄糖和乙酸钠。

DR6000 紫外-可见分光光度计(美国哈希),

植物效率分析仪(英国汉莎科技有限公司),BT48 冷冻干燥机(Millrock),RE-2000A 旋转蒸发仪,氮吹仪,GC-2014C 气相色谱(日本岛津)。

1.2 实验方法

1.2.1 藻种培养

根据表 1 将 4 种氮源和 3 种碳源两两组合,并以 BG-11 培养基氮、碳含量为依据分别进行相应氮、碳源的添加,共计 12 组。首先将斜生栅藻扩大培养至对数期,再将藻液进行离心、洗涤,并转接至无氮、无碳培养基中饥饿培养 3 d。饥饿培养后的藻离心收集后分别接入 1.5 L 含有不同氮、碳源培养基的柱状反应器中,初始藻密度(OD_{680})为 0.1。整个培养过程温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光照强度 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗比 12 h:12 h,培养期间每天定时搅动藻液 3 次。

表 1 斜生栅藻培养的不同氮、碳源含量及编号

项目	含量/(g/L)	编号
氮源		
NaNO_3	1.500	X
NaNO_2	1.217	Y
NH_4Cl	0.944	L
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	1.058	N
碳源		
Na_2CO_3	0.020	1
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	0.036	2
CH_3COONa	0.015	3

1.2.2 生长曲线及比生长速率

每 24 h 测定培养藻液的 OD_{680} ,制作斜生栅藻生长曲线。

比生长速率计算公式为:

$$\mu = \frac{\ln(x_2/x_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

$$\mu_{\max} = \max(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \dots, \mu_n) \quad (2)$$

式中: μ 为斜生栅藻在某一时间段内的比生长速率; μ_{\max} 为最大比生长速率; x_2 为 t_2 时间的藻类生物量; x_1 为 t_1 时间的藻类生物量。

1.2.3 叶绿素 a 含量的测定

参照文献[14]方法,各取 5 mL 的藻液进行离

心(7 000 r/min, 10 min), 去除上清液后的藻细胞用 90% 的丙酮在 4 °C 条件下黑暗提取 24 h, 提取液定容至 10 mL 后用紫外-可见分光光度计分别测定 663、645 nm 处吸光值。叶绿素 a 含量(C)按下式计算。

$$C = (8.02OD_{663} + 20.21OD_{645}) \quad (3)$$

1.2.4 最大光量子产率(F_v/F_m)的测定

取对数期藻液 2.3 mL 暗适应 20 min 后, 采用植物效率分析仪测定斜生栅藻最大光量子产率(F_v/F_m), 测定光强为 3 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 最大激发波长为 650 nm。

1.2.5 油脂产率的测定

所有藻液进行离心(6 000 r/min, 10 min), 藻泥经纯水反复洗涤 3~5 次后收集至 50 mL 离心管中冷冻干燥, 获得的冻干藻粉使用甲醇-氯仿法^[15]提取油脂。按下式计算油脂产率(y)。

$$y = m/m_0 \times 100\% \quad (4)$$

式中: m 为藻油质量; m_0 为冻干藻粉质量。

1.2.6 脂肪酸组成分析

根据 Lepage 等^[16]的方法进行脂肪酸甲酯(FAMEs)的分析。气相色谱条件为: DB-5 ms 毛细管柱(60 m \times 0.25 mm, 0.25 μm); 载气为 N_2 , 进样口温度和检测器温度分别为 250 °C 和 290 °C; 初始柱温 120 °C, 保持 3 min, 然后以 4 °C/min 的速率升至 220 °C, 保持 5 min, 再以 3 °C/min 的速率升至 280 °C, 保持 20 min; 进样量 1 μL 。

1.2.7 数据分析

实验数据用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析(One Way ANOVA), 并用 LSD 法进行多重比较, 使用 Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同氮、碳源组合培养条件下斜生栅藻的生长及最大比生长速率

不同氮源、碳源组合培养条件下斜生栅藻的生长曲线如图 1 所示。

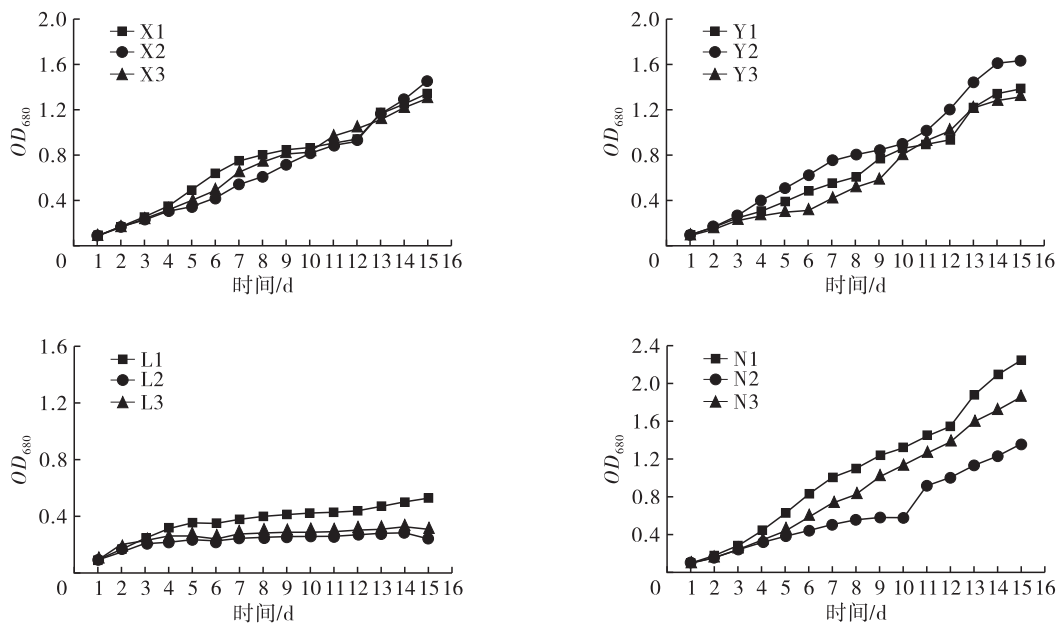
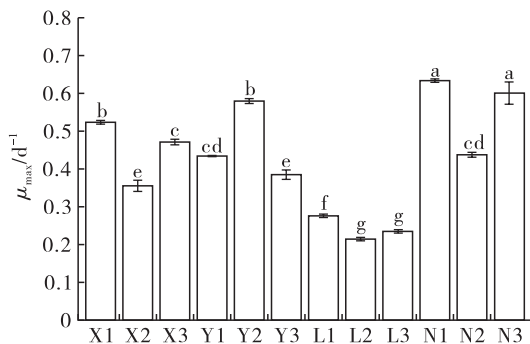


图 1 不同氮、碳源组合培养条件下斜生栅藻的生长曲线

由图 1 可以看出, NaNO_3 、 NaNO_2 和 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作为氮源时, 斜生栅藻藻密度随着培养时间延长而显著增加($P < 0.05$), 而 NH_4Cl 作为氮源时, 斜生栅藻的藻密度随时间延长变化不显著($P > 0.05$)。相同氮源环境中, NaNO_3 与 3 种碳源组合培养时斜生栅藻藻密度在整个培养过程中差异不显著($P > 0.05$); 以 NaNO_2 为氮源时, 在斜生栅藻生长至稳定期后(14~15 d), Y2 组藻密度显著高于 Y1 和 Y3 组($P < 0.05$); $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作氮源时, 3 种碳源对斜生栅藻藻密度影响较大, 培养至对数期后藻密度由

大到小依次为 $\text{N1} > \text{N3} > \text{N2}$, 并呈显著差异($P < 0.05$)。

对 12 组处理的最大比生长速率(μ_{max})进行计算, 可知在培养的 2~4 d, 斜生栅藻 μ_{max} 均达到最大, 具体见图 2。从图 2 可以看出: N1、N3 组 μ_{max} 分别为 (0.633 ± 0.003) 、 $(0.630 \pm 0.031) \text{d}^{-1}$, 显著高于其他 10 组($P < 0.05$); μ_{max} 最低值出现在 L2 和 L3 组, 仅为 (0.214 ± 0.003) 、 $(0.234 \pm 0.003) \text{d}^{-1}$, 均显著低于其他各组($P < 0.05$)。

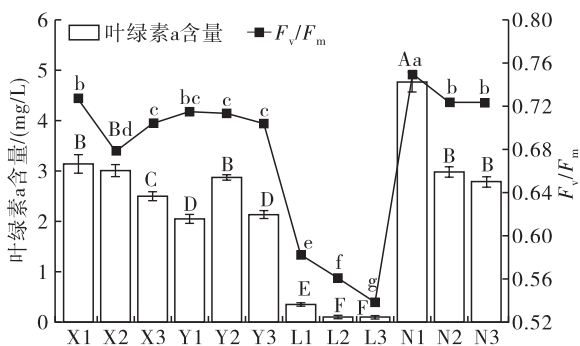


注:不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

图2 不同氮、碳源组合条件下斜生栅藻的最大比生长速率

2.2 不同氮、碳源组合培养对斜生栅藻叶绿素 a 含量及最大光量子产率的影响

培养至对数期中段(培养 8 d)斜生栅藻叶绿素 a 含量及 F_v/F_m 变化如图 3 所示。



注:不同大写字母表示组间叶绿素 a 含量差异显著($P < 0.05$),不同小写字母表示组间 F_v/F_m 差异显著($P < 0.05$)。

图3 不同氮、碳源组合培养对斜生栅藻叶绿素 a 含量及最大光量子产率的影响

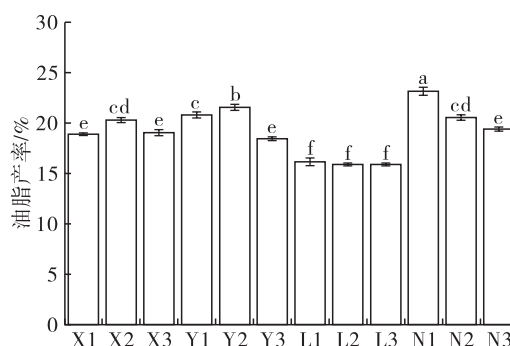
从图 3 可以看出, NH_4Cl 作为氮源显著降低了斜生栅藻叶绿素 a 的含量($P < 0.05$),但 Na_2CO_3 作为碳源时,叶绿素 a 含量高于 CH_3COONa 和 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 处理。另外 3 种氮源中, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 处理后的斜生栅藻叶绿素 a 含量整体较高,其中 N1 组叶绿素 a 含量达到 4.76 mg/L,显著高于其他各组($P < 0.05$),而在 NaNO_3 和 NaNO_2 处理组中斜生栅藻叶绿素 a 含量差异不大。

F_v/F_m 表示 PS II 最大光化学效率,指所有 PS II

反应中心处于开放状态时的量子产量,反映 PS II 的功能,一般而言,该指标较为稳定,但当处于胁迫环境时, F_v/F_m 会显著降低。本研究发现:12 组处理中斜生栅藻 F_v/F_m 受到 NH_4Cl 的影响更为突出, L1、L2 和 L3 组 F_v/F_m 均小于 0.60,可见 NH_4Cl 对斜生栅藻具有一定的胁迫效应,使得斜生栅藻光合作用受到显著抑制;当氮源为 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 时,斜生栅藻平均 F_v/F_m 均高于其他 3 个氮源组。另外还发现,碳源为 Na_2CO_3 时,斜生栅藻 F_v/F_m 均高于同种氮源中其他两种碳源的处理。

2.3 不同氮、碳源组合条件下斜生栅藻的油脂产率及脂肪酸组成

不同氮源、碳源组合处理下,生长至稳定期末(培养 15 d)斜生栅藻的油脂产率如图 4 所示。



注:不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

图4 斜生栅藻在不同氮、碳源处理组的油脂产率

从图 4 可以看出,所有处理组中斜生栅藻油脂产率在 15.80% ~ 23.14% 之间。其中, NH_4Cl 环境中斜生栅藻油脂产率均值仅为 15.94%,显著低于其他各组($P < 0.05$);油脂产率最高的两组为 Y2 和 N1,分别为 21.54% 和 23.14%,显著高于其他各组($P < 0.05$)。可见,所有处理中 NaNO_3 和 NaNO_2 为氮源且 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 作为碳源时,斜生栅藻更容易积累油脂,不同的是, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 环境中,添加 Na_2CO_3 使得斜生栅藻油脂产率最高。

表 2 为斜生栅藻油脂脂肪酸组成及相对含量。

表 2 不同处理组斜生栅藻油脂脂肪酸组成及相对含量

脂肪酸	X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3	L1	L2	L3	N1	N2	N3
C14:0	0.59	0.67	0.32	0.38	0.50	0.40	0.31	0.30	0.33	0.62	0.61	0.51
C15:0	0.71	0.76	1.28	1.28	1.14	1.58	1.17	1.04	1.35	0.64	0.66	1.01
C16:0	33.72	35.80	24.36	25.82	26.01	24.81	21.66	22.33	19.61	26.86	33.76	24.92
C16:1	1.23	1.70	1.78	2.17	1.55	2.22	1.75	1.52	2.35	1.14	1.03	1.97
C17:0	2.11	4.36	1.09	1.82	2.13	2.13	0.62	0.71	0.42	2.01	2.94	2.34
C18:0	1.77	2.20	1.00	0.97	1.90	2.10	1.20	1.54	1.34	1.01	1.48	1.11
C18:1	48.62	46.09	55.75	55.39	57.81	57.19	62.13	62.27	64.56	57.92	47.62	58.31
C18:2	9.93	5.74	12.26	10.27	6.84	8.53	9.05	8.29	8.80	8.24	9.65	7.54

续表 2

脂肪酸	X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3	L1	L2	L3	N1	N2	N3
C18:3	0.59	0.54	0.81	0.60	0.67	0.53	0.61	0.63	0.61	0.55	0.58	0.55
C20:1	-	-	0.29	-	-	-	0.56	0.44	0.34	-	-	-
C20:3	0.73	1.22	0.50	0.56	0.62	0.50	0.32	0.31	0.30	0.74	1.03	0.72
C22:0	-	0.50	0.32	0.33	0.45	-	0.33	0.32	-	0.28	0.33	0.72
C24:0	-	0.40	0.26	0.40	0.38	-	0.29	0.30	-	-	0.32	0.30

从表 2 可以看出,脂肪酸组成中饱和脂肪酸 C16:0(棕榈酸)、单不饱和脂肪酸 C18:1(油酸)和多不饱和脂肪酸 C18:2(亚油酸)三者之和占总脂肪酸含量的 87.63%~93.02%。其中,饱和脂肪酸 C16:0 相对含量在 19.61%~35.80%之间,单不饱和脂肪酸 C16:1 和 C18:1 含量在 47.79%~66.91%之间,多不饱和脂肪酸 C18:2 相对含量在 5.74%~12.26%之间。

2.4 讨论

Berman^[8]研究表明,自然界氮源种类丰富,包括硝酸盐、亚硝酸盐、铵盐、氮气、尿素、腐殖质、氨基酸等。然而,除少数固氮蓝藻能固定利用大气中的氮气外,更多的藻类必须从外界环境中摄取化合态氮源来满足自身所需,同时不同藻对氮源种类的需求存在很大差异^[17-18]。马红芳等^[19]研究发现栅藻 LX1 在养殖废水中能够优先利用氨氮,再依次利用硝态氮和亚硝态氮。胡章喜等^[20]指出 NaNO_3 是葡萄藻生长及油脂积累的理想氮源。在微藻培养过程中加入适量相应碳源,有助于提高微藻生长的密度。在生活污水培养时补充碳源 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 和 CO_2 时,栅藻 LX1 生长及油脂积累特性与对照组无显著差异^[21];在兼性培养时,碳源甘油、葡萄糖和乙酸钠均支持三角褐指藻的生长并提高生物量的积累^[22]。本研究发现, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 使得斜生栅藻生长状况相对较好,藻密度、叶绿素 a 含量及 F_v/F_m 均较高,而 NH_4Cl 不利于斜生栅藻的生长,原因可能是藻优先对铵态氮的利用导致培养基 pH 迅速降低阻碍了生长^[23]。 NaNO_3 、 NaNO_2 和 NH_4Cl 为氮源时,3 种碳源对斜生栅藻生长的影响不显著 ($P > 0.05$),然而在 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 环境中, Na_2CO_3 的添加使得斜生栅藻生物量显著高于其他两组 ($P < 0.05$),相应地叶绿素 a 含量、 F_v/F_m 在所有组别中均为最高。说明在不同氮、碳源的组合中, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 Na_2CO_3 更有利于斜生栅藻的生长。

为使微藻能够积累更多油脂,尝试使用不同氮源、碳源培养成为可行的方案。王立柱等^[24]研究表明, NaNO_3 是 *Chorella vulgaris* 积累油脂的最优氮

源;窦晓等^[25]发现 NaNO_3 对眼点拟微绿球藻油脂积累的影响较大,同时 NaHCO_3 是其积累油脂的最优碳源。本研究结果表明,当氮源为 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$,碳源为 Na_2CO_3 时斜生栅藻油脂产率最高(23.14%),同时 NaNO_2 和 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 组合中斜生栅藻油脂产率也可达到 21.54%。可见从单一碳源角度,无论 Na_2CO_3 作为碳源时的自养还是 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 作为碳源时的兼养均能使得斜生栅藻生长良好并积累较多的油脂。Knothe^[26]研究表明,单不饱和脂肪酸更适合生产生物柴油,制备生物柴油的油脂原料中,C18:1 是重要组成之一,可以使生物柴油具有良好的低温流动性能,并可有效减缓或降低多不饱和脂肪酸易氧化特性。油脂成分中拥有较长的碳直链且无碳支链,尽可能少的双键并含一定量氧元素,且不含有芳香烃结构时^[27]可作为理想的生物柴油原料。本研究中不同氮源、碳源组合培养后斜生栅藻脂肪酸以饱和脂肪酸 C16:0(棕榈酸)、单不饱和脂肪酸 C18:1(油酸)和多不饱和脂肪酸 C18:2(亚油酸)为主,三者之和占总脂肪酸的 87.63%~93.02%。其中,饱和脂肪酸 C16:0 相对含量在 19.61%~35.80%之间,单不饱和脂肪酸 C16:1 和 C18:1 相对含量在 47.79%~66.91%之间,多不饱和脂肪酸 C18:2 相对含量在 5.74%~12.26%之间。培养基中氮源种类能影响微藻脂肪酸比例^[23],本研究中, NH_4Cl 作为氮源时,斜生栅藻油酸含量在 62.13%~64.56%之间,显著高于其他处理组 ($P < 0.05$),但该条件不利于斜生栅藻生物量的积累;而油脂产率最高的两个处理组 N1 和 Y2 油酸含量分别为 57.92% 和 57.81%,相比其他组均处于较高水平。可见从脂肪酸组成及相对含量看,斜生栅藻积累的油脂符合生物柴油的要求,同时在生物量积累和油脂产率方面, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 Na_2CO_3 可作为斜生栅藻生产生物柴油的理想氮源和碳源。

3 结论

本研究对比了 4 种常见氮源和 3 种常见碳源进行两两组合培养条件下斜生栅藻的生长、光合、油脂产率及脂肪酸组成。结果表明, NH_4Cl 不利于斜生栅藻的生长。 NaNO_3 、 NaNO_2 和 NH_4Cl 分别为氮源

时,3种碳源对斜生栅藻生长的影响不显著,而在尿素环境中, Na_2CO_3 的添加使得斜生栅藻生物量显著高于其他两组($P < 0.05$)。同时,12组处理中, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 Na_2CO_3 组合、 NaNO_2 和 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$ 组合培养斜生栅藻时油脂产率最高,分别占细胞干重的23.14%和21.54%,且单不饱和脂肪酸油酸含量分别达57.92%和57.81%。因此,无论从生物量的积累还是油脂产率看, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 Na_2CO_3 可作为斜生栅藻生产生物柴油的理想氮、碳源。然而,本文中的 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 Na_2CO_3 的含量都相对充足,因此通过控制其含量来获得更高的生物量及油脂产率有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 蒋晓菲,周红茹,金青哲,等. 微藻油脂制取技术的研究进展[J]. 中国油脂, 2012, 37(10): 66-70.
- [2] MANDAL S, MALLICK N. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 84(2): 281-291.
- [3] ABOMOHR A E F, ELADEL H, EL-ESAWI M, et al. Effect of lipid-free microalgal biomass and waste glycerol on growth and lipid production of *Scenedesmus obliquus*: innovative waste recycling for extraordinary lipid production [J]. Bioresour Technol, 2018, 249: 992-999.
- [4] SHEN G, ZHAO M, CAO D, et al. Effect of nutrient regimes on desalination rate and lipid production of *Scenedesmus obliquus* in saline water [J]. Desalin Water Treat, 2017, 93: 93-99.
- [5] 王丽娟,杨宋琪,丁丽梅,等. 3种不同培养基对斜生栅藻生长和油脂积累的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(9): 95-99.
- [6] MATA T M, MARTINS A A, CAETANO N S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review [J]. Renew Sust Energ Rev, 2010, 14(1): 217-232.
- [7] RECHT L, ZARKA A, BOUSSIBA S. Patterns of carbohydrate and fatty acid changes under nitrogen starvation in the microalgae *Haematococcus pluvialis* and *Nannochloropsis* sp. [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 94: 1495-1503.
- [8] BERMAN T. Dissolved organic nitrogen utilization by an *Aphanizomenon* bloom in Lake Kinneret [J]. J Plankton Res, 1997, 19(5): 577-586.
- [9] HSIEH C H, WU W T. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation [J]. Bioresour Technol, 2009, 100(17): 3921-3926.
- [10] 陈峰,姜悦. 微藻生物技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [11] COURCHESNE N M D, PARIEN A, WANG B, et al. Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches [J]. J Biotechnol, 2009, 141(1/2): 31-41.
- [12] 杨静,蒋剑春,张宁. 不同培养方式下微藻产油能力的研究[J]. 生物质化学工程, 2011(2): 20-24.
- [13] 郑洪立,高振,张齐,等. 无机碳源对小球藻自养产油脂的影响[J]. 生物工程学报, 2011(3): 64-72.
- [14] WELLBURN A R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution [J]. J Plant Physiol, 1994, 144: 307-313.
- [15] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37: 911-917.
- [16] LEPAGE G, ROY C C. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification [J]. J Lipid Res, 1984, 25: 1391-1396.
- [17] 蒋汉明,高坤山. 氮源及其浓度对三角褐指藻生长和脂肪酸组成的影响[J]. 水生生物学报, 2004, 28(5): 545-551.
- [18] 杨宋琪,王丽娟,谢婷,等. 氮源对杜氏盐藻生长及光合系统II的影响[J]. 西北植物学报, 2017, 37(7): 1397-1403.
- [19] 马红芳,李鑫,胡洪营,等. 栅藻LX1在水产养殖废水中的生长、脱氮除磷和油脂积累特性[J]. 环境科学, 2012, 33(6): 117-122.
- [20] 胡章喜,安民,段舜山,等. 不同氮源对布朗葡萄藻生长、总脂和总烃含量的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(6): 3288-3294.
- [21] 李鑫,胡洪营,张玉平. 无机碳源对栅藻LX1生长及油脂积累特性的影响[J]. 环境科学, 2011, 32(8): 2260-2266.
- [22] 刘晓娟,段舜山,李爱芬. 有机碳源对三角褐指藻生长、胞内物质和脂肪酸组分的影响[J]. 生物工程学报, 2008, 24(1): 142-152.
- [23] 魏东,张学成,隋正红,等. 氮源和N/P对眼点拟微球藻的生长、总脂含量和脂肪酸组成的影响[J]. 海洋科学, 2000, 24(7): 46-51.
- [24] 王立柱,温皓程,邹渝,等. 产油微藻的分离、筛选及自培养氮源、碳源的优化[J]. 微生物学通报, 2010, 37(3): 336-341.
- [25] 窦晓,陆向红,卢美贞,等. 碳源种类及碳氮比对眼点拟微绿球藻生长密度、油脂含量和脂肪酸组成的影响[J]. 生物工程学报, 2013, 29(3): 358-369.
- [26] KNOTHE G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters [J]. Fuel Process Technol, 2005, 86(10): 1059-1070.
- [27] HARRINGTON K J. Chemical and physical properties of vegetable oil esters and their effect on diesel fuel performance [J]. Biomass, 1986, 9(1): 1-17.