

# 不同盐度对两株盐藻脂质合成 及生物燃料生产的影响

吴芷馨, 曾俞霖, 陈 骋, 俞秋燕, 刘 青, 周晓见, 靳翠丽

(扬州大学 环境科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

**摘要:**为了筛选出生产生物燃料的优质藻种, 采用不同盐度培养巴达维盐藻和杜氏盐藻, 分析盐度对两种盐藻生长、生物质合成和生产生物柴油性能的影响。结果表明: 巴达维盐藻和杜氏盐藻均在低盐度(15~30 g/L)时生长和生物量积累最快; 均在盐度 30 g/L 时比生长速率最高, 分别为  $0.18 \text{ d}^{-1}$  和  $0.09 \text{ d}^{-1}$ ; 均在盐度 15 g/L 时生物量、脂质含量、碳水化合物含量最高, 分别为 1 716.67 mg/L 和 494.85 mg/L, 344.75 mg/L 和 107.75 mg/L, 651.60 mg/L 和 130.52 mg/L; 两株盐藻脂质的脂肪酸组成不同, 但均以  $\alpha$ -亚麻酸为主; 在盐度 15~30 g/L 时, 两株盐藻脂质生产的生物柴油燃烧性能和氧化稳定性较高, 但低温流动性低于其他盐度的。综上, 利用盐藻适应高盐环境的特性, 可在高盐水中实现微藻生物燃料物质的高效生产, 且巴达维盐藻的生物量、脂质含量和碳水化合物含量、生产的生物柴油低温流动性以及对盐度的适应范围, 均优于杜氏盐藻, 是极具潜力的生物燃料生产藻种。

**关键词:** 盐藻; 盐度; 脂质; 脂肪酸; 生物燃料

中图分类号: Q815; TE667

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2025)05-0112-08

## Effect of different salinity on the lipid synthesis and biofuel production of two *Dunaliella* strains

WU Zhixin, ZENG Yulin, CHEN Cheng, YU Qiuyan,  
LIU Qing, ZHOU Xiaojian, JIN Cuili

(College of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University,  
Yangzhou 225127, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to screen out high quality algae species for biofuel production, different salinities were used to cultivate *D. bardawil* and *D. salina* to analyze the effects of salinity on the growth, biomass synthesis and performance of the two species of *Dunaliella* for biodiesel production. The results showed that the optimum salinity for the growth and biomass accumulation of both *Dunaliella* strains was low salinity of 15–30 g/L. *D. bardawil* and *D. salina* obtained the highest specific growth rates of  $0.18 \text{ d}^{-1}$  and  $0.09 \text{ d}^{-1}$  at a salinity of 30 g/L, respectively. The highest biomass, lipid content, and carbohydrate content of 1 716.67 mg/L and 494.85 mg/L, 344.75 mg/L and 107.75 mg/L, and 651.60 mg/L and 130.52 mg/L, respectively, were found in both strains of *D. bardawil* and *D. salina* at a salinity of 15 g/L. The fatty acid composition of the lipids of the two strains of *Dunaliella* differed, but both were

dominated by  $\alpha$ -linolenic acid. The salinity of 15–30 g/L improved the combustion performance and oxidation stability of biodiesel produced from two strains at the cost of the slight loss of the low-temperature fluidity. In conclusion, the halotolerant nature of *Dunaliella* species enables efficient biofuel synthesis in hypersaline aquatic

收稿日期: 2024-03-28; 修回日期: 2025-02-28

基金项目: 国家自然科学基金(42177459); 江苏省大学生创新创业训练计划(202311117097Y)

作者简介: 吴芷馨(2003), 女, 在读本科, 海洋资源与环境专业(E-mail)3207893045@qq.com。

通信作者: 靳翠丽, 副教授(E-mail)cljin@yzu.edu.cn。

*environments*. *D. bardawil* emerges as a prime algal candidate for hypersaline – adapted biofuel production due to its higher biomass, lipid content, carbohydrate content, low – temperature fluidity of biodiesel as well as its adaptability to salinity compared to those of *D. salina*.

**Key words:** *Dunaliella*; salinity; lipid; fatty acid; biofuel

随着全球经济和人口的快速增长,CO<sub>2</sub>排放量大幅上升,不可再生的化石能源面临枯竭的危机。在“双碳”背景下,生物质能源被视为理想的可再生能源解决方案<sup>[1]</sup>。生物质能源产品主要包括生物乙醇和生物柴油,其中生物乙醇可通过碳水化合物发酵而成,而生物柴油是由生物油脂中的脂肪酸与甲醇或乙醇经酯化反应形成的脂肪酸酯<sup>[2]</sup>。微藻作为第三代生物质能源生产原料,不仅富含脂质和碳水化合物,而且在特定培养条件(如光氧化应激、营养缺乏或其他不利生长条件)下还能在体内合成并积累更多的储能物质<sup>[3-4]</sup>。微藻具有生命周期短、生长速度快的特点,能够高效地将太阳能转化为有机化合物,适合规模化培养<sup>[5-6]</sup>。此外,微藻培养不需要占用耕地,并且使用海水和耐盐物种时,还可降低对淡水的依赖和消耗<sup>[2]</sup>。同时,微藻提油后剩余的蛋白质可作为饲料原料。因此,微藻作为一种可持续的生物质能源生产原料,展现出巨大的应用潜力。

目前,微藻生物燃料生产最迫切需要解决的问题是如何进一步地提高微藻的生产效率。更高的生物量和脂质产量对于微藻生物柴油生产、更高的碳水化合物产量对于微藻生物乙醇生产及更高的蛋白质对于生物饲料生产经济可行性至关重要<sup>[1-2]</sup>。研究发现,一定的胁迫条件下微藻细胞会积累更高的脂质和碳水化合物,其中盐胁迫操作简单、效果明显且成本低廉<sup>[3]</sup>。盐藻(*Dunaliella*)是一种嗜盐微藻,生长迅速、容易培养、脂质含量和碳水化合物含量高,且没有细胞壁,易于提取细胞内容物,用于生产生物柴油和生物乙醇的潜力较高<sup>[7]</sup>。已有研究尝试利用杜氏盐藻(*D. salina*)在海水或含盐水中生产生物燃料物质<sup>[3,7]</sup>。但不同微藻对盐度适应能力不同,其生长和生物燃料物质生产对盐度变化的响应也不尽相同<sup>[8-9]</sup>。因此,进一步深入研究微藻对盐度的适应能力和生物燃料物质生产上的变化,寻找生物燃料物质生产性能更优的耐盐微藻显得尤为重要。本文以巴达维盐藻(*D. bardawil* FACHB – 847)和杜氏盐藻(*D. salina* UTEX – LB – 1644)为研究对象,研究盐度对两株盐藻的生长情况,蛋白质、碳水化合物、脂质含量,以及脂肪酸组成的影响,并对以

其脂质为原料的生物柴油性能进行评价和比较,以期以为以盐藻为原料生产生物柴油提供优化的培养方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

巴达维盐藻(*D. bardawil* FACHB – 847),中国科学院藻种库;杜氏盐藻(*D. salina* UTEX – LB – 1644),中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室。

DM 培养基: 0.42 g/L NaNO<sub>3</sub>、0.015 g/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O、1.23 g/L MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O、0.074 g/L KCl、0.84 g/L NaHCO<sub>3</sub>、0.044 g/L CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O、0.5 mL/L Fe – EDTA 溶液、1 mL/L 微量元素溶液<sup>[5]</sup>。另根据盐度设置需要,添加相应浓度的 NaCl。

正己烷、氯仿、甲醇、三氯甲烷、硫酸,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;C10 ~ C24 混合脂肪酸甲酯标样,色谱纯,阿拉丁试剂有限公司。

ITQ900 气相色谱 – 质谱联用仪,赛默飞世尔科技公司;318 – MC 酶标仪,上海精密科学仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 盐藻的培养

根据预实验结果,设置 6 个盐度梯度(15、30、60、80、90 g/L 和 120 g/L)的 DM 培养基<sup>[5]</sup>,其中 80 g/L 盐度常规培养为对照。取对数生长期的藻种接种于含 150 mL 培养基的 250 mL 三角瓶中,接种后调整初始光密度(OD<sub>690</sub>)为 0.055 左右。采用一次性培养方式,在培养温度(25 ± 2)°C、光照强度(90 ± 5) μmol/(m<sup>2</sup> · s)、不充气条件下培养 18 d。培养期间每日摇动三角瓶 2 次以防止沉淀和附壁。

#### 1.2.2 盐藻生长情况的测定

培养期间每 48 h 取微量藻液,用血球计数板计数细胞密度,按式(1)计算微藻的比生长速率( $\mu$ )。

$$\mu = (\ln C_t - \ln C_0) / t \quad (1)$$

式中: $C_t$ 、 $C_0$  分别为培养  $t$  d 和开始(0 d)时的细胞密度。

培养结束后,取 120 mL 藻液于 3 700 r/min 下离心 10 min,磷酸盐缓冲液洗涤后收集藻泥,真空冻干 24 h,60 °C 烘箱烘至恒重得干藻粉,以每升藻液中干藻粉质量计算生物量<sup>[7]</sup>。

### 1.2.3 盐藻脂质、蛋白质、碳水化合物含量的测定

取 20 mg 1.2.2 中干藻粉,加入 0.8 mL 纯水、1 mL 三氯甲烷、2 mL 甲醇,混匀后冰浴超声破碎(700 W,超声 5 s,间隔 3 s)8 min,再加入 1 mL 三氯甲烷、1 mL 纯水,混匀,于 3 700 r/min 离心 10 min,去除水层以及破碎的细胞层,在三氯甲烷层中加入等体积纯水,摇匀后于 3 700 r/min 离心 10 min,收集三氯甲烷层,氮气吹干,60 °C 烘干至恒重得脂质,以每升藻液中脂质质量计算脂质含量<sup>[7]</sup>。

培养结束后,取 5 mL 藻液于 3 700 r/min 下离心 10 min,取下层藻泥并向其中加入 5 mL 纯水后超声破碎(700 W,超声 5 s,间隔 3 s)8 min,于 3 700 r/min 离心 10 min,取 0.5 mL 上清液,加入 2.5 mL 考马斯亮蓝染色液,摇匀后静置 3 min,测定 595 nm 处吸光度,根据以不同质量浓度牛血清蛋白绘制的标准曲线计算蛋白质含量<sup>[10]</sup>。取 0.5 mL 上清液,加入 300  $\mu$ L 6 g/100 mL 苯酚、1.5 mL 浓硫酸,摇匀后测定 495 nm 处吸光度,根据以不同质量浓度葡萄糖绘制的标准曲线计算碳水化合物含量<sup>[11]</sup>。

### 1.2.4 盐藻脂质脂肪酸组成的测定

称取 2 mg 1.2.3 中的脂质样品,加入 1 mL 正己烷,充分溶解后超声处理 10 min,加入 200  $\mu$ L 0.11 g/mL KOH-甲醇溶液,再次超声处理 10 min,加入纯水清洗至清洗液 pH 为中性,转移正己烷相至试管中,加入 0.125 g 无水硫酸钠,摇匀混合,静置后取上清液过 0.22  $\mu$ m 滤膜,转移至样品瓶中待气相色谱-质谱(GC-MS)分析<sup>[12]</sup>。

GC-MS 条件:TR-5MS 色谱柱(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m),载气为 He(99.999%),流速 0.8 mL/min,不分流进样,进样口温度 230 °C,进样量 1  $\mu$ L;升温程序为 120 °C 恒温 1 min,以 3 °C/min 升至 240 °C,保持 10 min;离子源温度 220 °C,溶剂延迟时间 4 min;全扫描质谱模式,质量扫描范围( $m/z$ ) 50~800,时间 0.68 s。

对峰面积占比大于 0.25% 的峰进行脂肪酸鉴定(根据标样定性),采用峰面积归一化法计算各组分的相对含量<sup>[13]</sup>。

### 1.2.5 生物柴油性能参数的测定

参考文献[14-15],根据微藻脂质脂肪酸组成,采用经验公式计算盐藻脂质生产生物柴油的皂化值、碘值、十六烷值、不饱和度、长链饱和因子和冷滤点等性能参数。

### 1.2.6 数据处理与分析

用 IBM SPSS22 软件对数据进行单因素方差分析,对于方差分析差异显著的因素,用最小显著差数法(LSD)或 Dunnett T3 进行多重比较。不同大写字母代表差异极显著( $p < 0.01$ ),不同小写字母代表差异显著( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 盐度对两株盐藻生长情况的影响

盐度对两株盐藻生长情况的影响如图 1 所示。实验发现,在盐度 120 g/L 时,培养 2 d 杜氏盐藻就出现藻细胞大量死亡现象,因此对于该藻的分析只包含 15~90 g/L 的盐度。

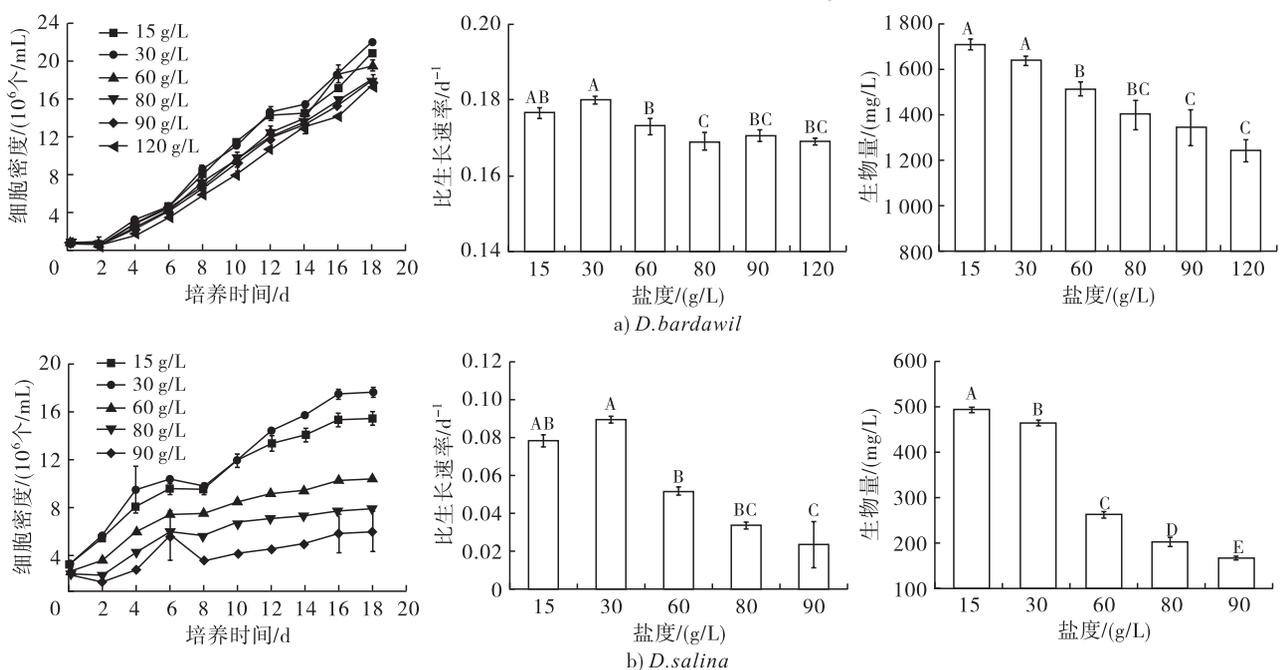


图 1 盐度对两株盐藻生长情况的影响

Fig. 1 Effects of salinity on the growths of two *Dunaliella* strains

由图 1a 可知,在 18 d 的培养过程中,巴达维盐藻在 15 ~ 120 g/L 的盐度范围内均生长良好,未发现藻细胞死亡现象。培养结束时,巴达维盐藻在盐度 15、30 g/L 和 60 g/L 时的细胞密度均高于对照组 (80 g/L) 的,其中在盐度 30 g/L 时的细胞密度最高,达到  $21.91 \times 10^6$  个/mL,其次是盐度 15 g/L 时的 ( $20.78 \times 10^6$  个/mL)。由图 1b 可知,培养结束时,杜氏盐藻同样在盐度 30 g/L 时的细胞密度最高,达到  $17.59 \times 10^6$  个/mL,其次是盐度 15 g/L 时的 ( $15.43 \times 10^6$  个/mL),远高于其他盐度的。由图 1 可知,巴达维盐藻和杜氏盐藻的比生长速率都在盐度 30 g/L 时最大,分别为  $0.18 \text{ d}^{-1}$  和  $0.09 \text{ d}^{-1}$ ,其次是盐度 15 g/L 时的。两株盐藻的生物量均随盐度升高而降低,最大值都出现在盐度 15 g/L 时,此时巴达维盐藻的生物量为 1 716.67 mg/L,是对照组的 1.22 倍,杜氏盐藻的生物量为 494.85 mg/L,是对照组的 2.45 倍。

总体来看,相较于杜氏盐藻,巴达维盐藻的生长受盐度的影响较小,培养 18 d 后,巴达维盐藻的细胞密度、比生长速率和生物量均远高于杜氏盐藻,其最高细胞密度、比生长速率和生物量分别是杜氏盐

藻的 1.25、2.00 倍和 3.47 倍。已有研究表明,不同微藻盐度耐受范围区别很大,生长的最适盐度也不同<sup>[16]</sup>。如:盐藻 *D. salina* Teodoresco 1905 的最适盐度是 41 g/L,此时比生长速率 ( $0.53 \text{ d}^{-1}$ ) 最高<sup>[17]</sup>; 盐藻 *D. salina* 和 *Dunaliella* sp. 能达到最大细胞密度的盐度分别是 44 g/L 和 29 g/L<sup>[8]</sup>; 盐藻 *D. tertiolecta* ATCC 30929 在盐度不超过 58.5 g/L 时,能维持较高的细胞密度,但在 58.5 ~ 117 g/L 的盐度范围内,细胞密度持续下降<sup>[18]</sup>; 盐藻 *D. salina* Y6 在 175.5 g/L 高盐度时细胞密度只有盐度为 99.86 g/L 时细胞密度的 87%<sup>[19]</sup>。在本研究中,两株盐藻的最适盐度范围均为 15 ~ 30 g/L,在 30 g/L 时均能获得最高的细胞密度和比生长速率,并在 15 g/L 时均能获得最高的生物量,而盐度大于 30 g/L 时对于这两株盐藻的生长和生物量积累都是不利的。这与微藻 *Nannochloropsis* sp.、*Tisochrysis lutea*、*Tetraselmis suecica* 和 *D. salina* 的盐度实验结果<sup>[16]</sup> 基本一致。

## 2.2 盐度对两株盐藻生物质产量的影响

盐度对两株盐藻生物质产量的影响如图 2 所示。

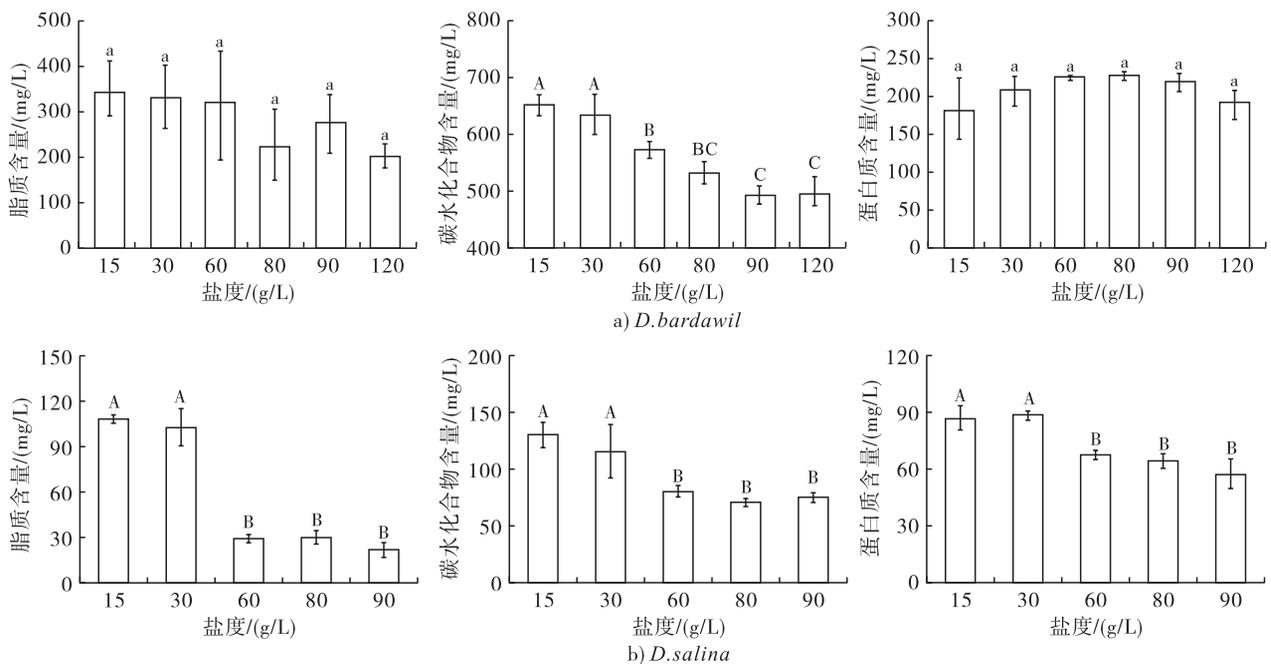


图 2 盐度对两株盐藻生物质产量的影响

Fig. 2 Effects of salinity on the biomass production of two *Dunaliella* strains

由图 2 可知,盐度对巴达维盐藻的脂质含量影响不显著,但对杜氏盐藻的影响显著。在盐度 15 g/L 时,巴达维盐藻的脂质含量最高 (344.75 mg/L),是对照组的 1.53 倍。在盐度 15 g/L 和 30 g/L 时,杜氏盐藻脂质含量极显著高于其他盐度下的,分别达到 107.75 mg/L 和 101.95 mg/L,是对照组的 3.62 倍和

3.43 倍。两株盐藻的碳水化合物含量均随着盐度的升高而降低。在盐度 15 g/L 时,巴达维盐藻和杜氏盐藻碳水化合物含量均最高,分别为 651.60 mg/L 和 130.52 mg/L,是对照组的 1.22 倍和 1.84 倍。盐度对巴达维盐藻的蛋白质含量影响不大,但对杜氏盐藻的蛋白质含量影响显著,其蛋白质含量在盐度 15 g/L

和 30 g/L 时显著高于其他盐度下的,分别达到 86.81 mg/L 和 88.93 mg/L,是对照组的 1.35 倍和 1.38 倍。

综上,盐度对杜氏盐藻的生物物质生产影响大于对巴达维盐藻的。两株盐藻积累脂质和碳水化合物最适宜的盐度范围都是 15~30 g/L。在生物物质生产性能上,巴达维盐藻优势明显,其脂质、碳水化合物和蛋白质含量均远高于杜氏盐藻。已有研究表明,不同微藻适合积累胞内物质的盐度差异很大。如:盐藻 *D. tertiolecta* 在低盐度(3.7 g/L)最适合积累脂质,而在无盐条件下适合积累碳水化合物<sup>[2]</sup>;盐藻

*D. tertiolecta* ATCC 30929 在盐度升高时脂质含量升高,在盐度从 29.3 g/L 提高到 58.5 g/L 时,胞内脂质含量能从 60% 提升到 67%<sup>[18]</sup>;30 g/L 是微藻 *Tetraselmis* sp. 积累蛋白质的最适盐度<sup>[20]</sup>。因此,盐度不仅显著影响微藻的生物量积累,也是调控微藻生物物质生产的有效手段<sup>[9]</sup>。

### 2.3 盐度对两株盐藻脂质脂肪酸组成的影响

不同盐度对巴达维盐藻、杜氏盐藻脂质的脂肪酸组成及相对含量的影响分别见表 1、表 2。

表 1 不同盐度对巴达维盐藻脂质的脂肪酸组成及相对含量的影响

Table 1 Effects of salinity on composition and relative contents of fatty acids in the lipids of *D. bardawil*

| 脂肪酸     | 相对含量/%                    |                           |                           |                            |                            |                           |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|         | 15 g/L                    | 30 g/L                    | 60 g/L                    | 80 g/L                     | 90 g/L                     | 120 g/L                   |
| C16:0   | 14.57 ± 0.13 <sup>a</sup> | 14.84 ± 1.19 <sup>a</sup> | 12.41 ± 0.36 <sup>b</sup> | 12.24 ± 0.93 <sup>b</sup>  | 12.01 ± 0.32 <sup>b</sup>  | 11.71 ± 0.60 <sup>b</sup> |
| C16:4n3 | 19.56 ± 0.02 <sup>b</sup> | 18.44 ± 1.93 <sup>b</sup> | 21.06 ± 0.35 <sup>a</sup> | 19.81 ± 0.54 <sup>ab</sup> | 20.32 ± 0.29 <sup>ab</sup> | 19.44 ± 0.07 <sup>b</sup> |
| C16:3n3 | 1.01 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.91 ± 0.05 <sup>b</sup>  | 0.66 ± 0.04 <sup>c</sup>  | 0.49 ± 0.01 <sup>d</sup>   | 0.47 ± 0.05 <sup>d</sup>   | 0.48 ± 0.02 <sup>d</sup>  |
| C18:0   | 0.48 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.57 ± 0.20 <sup>a</sup>  | 0.38 ± 0.12 <sup>a</sup>  | 0.33 ± 0.08 <sup>a</sup>   | 0.31 ± 0.06 <sup>a</sup>   | 0.32 ± 0.03 <sup>a</sup>  |
| C18:2n6 | 10.28 ± 0.34 <sup>a</sup> | 8.73 ± 0.32 <sup>b</sup>  | 6.62 ± 0.10 <sup>d</sup>  | 5.92 ± 0.06 <sup>c</sup>   | 6.07 ± 0.23 <sup>de</sup>  | 7.51 ± 0.20 <sup>c</sup>  |
| C18:3n6 | 3.13 ± 0.10 <sup>a</sup>  | 2.82 ± 0.18 <sup>a</sup>  | 2.65 ± 0.06 <sup>a</sup>  | 2.66 ± 0.42 <sup>a</sup>   | 2.69 ± 0.42 <sup>a</sup>   | 2.76 ± 0.41 <sup>a</sup>  |
| C18:3n3 | 50.98 ± 0.37 <sup>d</sup> | 53.70 ± 0.52 <sup>c</sup> | 56.21 ± 0.02 <sup>b</sup> | 58.54 ± 0.13 <sup>a</sup>  | 58.12 ± 0.44 <sup>a</sup>  | 57.79 ± 0.47 <sup>a</sup> |

注:同行不同字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。下同

Note: Different letters in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ). The same below

由表 1 可知,巴达维盐藻脂质中含有 7 种脂肪酸,其中含量最高的是  $\alpha$ -亚麻酸(C18:3n3),其含量始终大于 50%,但盐度为 15 g/L 时的 C18:3n3 含量显著低于其他盐度的,且随盐度的增加,其含量呈先上升后降低的趋势,在盐度 80 g/L 时达到最高。

不同盐度下巴达维盐藻脂质十六碳四烯酸(C16:4n3)和棕榈酸(C16:0)的含量均高于 10%,分别在盐度 60 g/L 和 30 g/L 时达到最高;十六碳三烯酸(C16:3n3)、硬脂酸(C18:0)、亚油酸(C18:2n6)、 $\gamma$ -亚麻酸(C18:3n6)含量较低,总体上均小于 10%。

表 2 不同盐度对杜氏盐藻脂质的脂肪酸组成及相对含量的影响

Table 2 Effects of salinity on composition and relative contents of fatty acids in the lipids of *D. salina*

| 脂肪酸     | 相对含量/%                     |                           |                           |                           |                           |
|---------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|         | 15 g/L                     | 30 g/L                    | 60 g/L                    | 80 g/L                    | 90 g/L                    |
| C16:0   | 16.11 ± 0.22 <sup>a</sup>  | 12.87 ± 0.62 <sup>b</sup> | 10.74 ± 0.26 <sup>c</sup> | 10.70 ± 0.45 <sup>c</sup> | 10.62 ± 0.25 <sup>c</sup> |
| C16:4n3 | 10.34 ± 0.33 <sup>c</sup>  | 15.32 ± 0.79 <sup>d</sup> | 26.26 ± 0.09 <sup>a</sup> | 23.37 ± 0.38 <sup>b</sup> | 18.88 ± 0.18 <sup>c</sup> |
| C18:0   | 3.03 ± 0.23 <sup>a</sup>   | 2.70 ± 0.14 <sup>a</sup>  | 1.81 ± 0.06 <sup>b</sup>  | 1.83 ± 0.06 <sup>b</sup>  | 1.96 ± 0.10 <sup>b</sup>  |
| C18:2n6 | 20.92 ± 0.18 <sup>a</sup>  | 17.05 ± 0.90 <sup>b</sup> | 6.06 ± 0.30 <sup>d</sup>  | 11.33 ± 0.45 <sup>c</sup> | 20.36 ± 0.03 <sup>a</sup> |
| C18:3n3 | 46.60 ± 0.41 <sup>bc</sup> | 46.79 ± 1.20 <sup>b</sup> | 50.15 ± 0.02 <sup>a</sup> | 48.51 ± 0.48 <sup>a</sup> | 44.63 ± 0.04 <sup>c</sup> |
| C20:0   | 2.31 ± 0.11 <sup>c</sup>   | 3.52 ± 0.11 <sup>a</sup>  | 3.12 ± 0.16 <sup>b</sup>  | 3.30 ± 0.04 <sup>ab</sup> | 2.74 ± 0.06 <sup>b</sup>  |
| C20:3n6 | 1.80 ± 0.09 <sup>a</sup>   | 1.79 ± 0.60 <sup>a</sup>  | 1.77 ± 0.18 <sup>a</sup>  | 0.88 ± 0.54 <sup>ab</sup> | 0.81 ± 0.27 <sup>b</sup>  |

由表 2 可知,杜氏盐藻脂质中主要有 7 种脂肪酸,含量最高的是 C18:3n3,不同盐度下其含量均超过 40%,在盐度 60 g/L 时最高,为 50.15%;C16:4n3、C18:2n6 和 C16:0 含量也较高,三者分别在盐度 60、15 g/L 和 15 g/L 时达到最高;C18:0、花生酸(C20:0)、二高- $\gamma$ -亚麻酸(C20:3n6)含量较低,均小于 10%。

综上,两株盐藻脂质中共有的脂肪酸有 C16:0、C16:4n3、C18:0、C18:2n6、C18:3n3,且都是 C18:3n3

含量最高。巴达维盐藻独有的脂肪酸为 C16:3n3 和 C18:3n6,含量分别小于 2% 和小于 4%,杜氏盐藻独有的脂肪酸为 C20:0、C20:3n6,含量均小于 4%。可以看出,两株盐藻脂质中脂肪酸组成存在差异,这会影响到生物柴油的性能<sup>[21]</sup>。

### 2.4 盐度对两株盐藻生物柴油性能的影响

盐度对巴达维盐藻生物柴油性能的影响如图 3 所示。

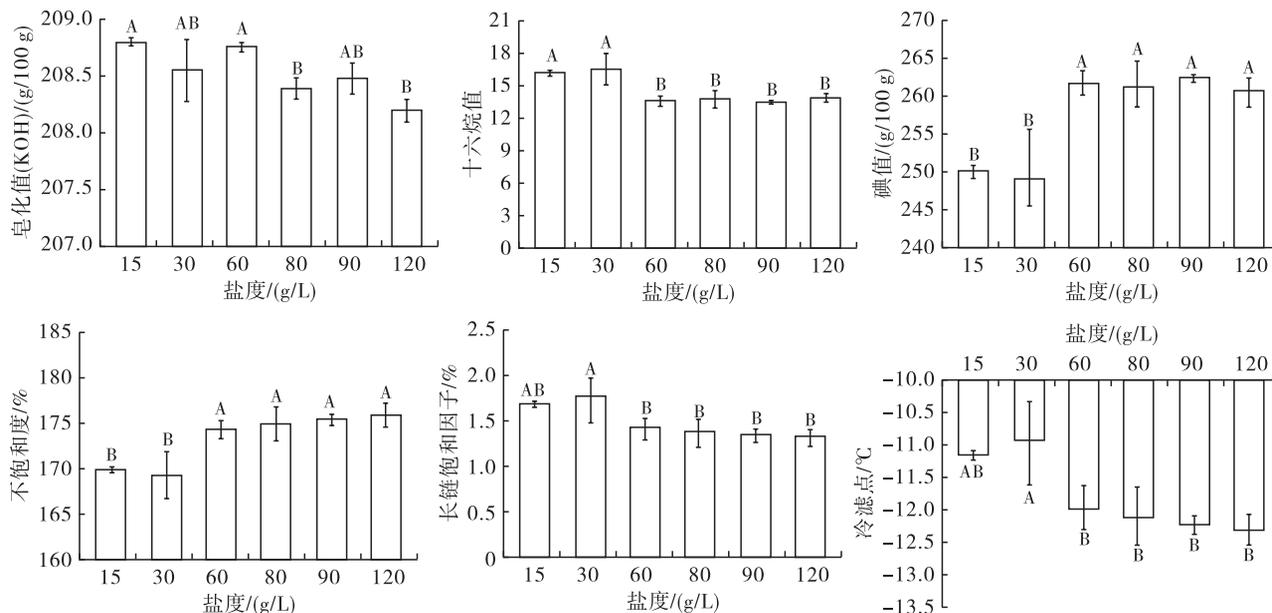


图3 盐度对巴达维盐藻生物柴油性能的影响

Fig. 3 Effects of salinity on the biodiesel performance of *D. bardawil*

由图3可知,巴达维盐藻生物柴油的皂化值随盐度升高呈波动变化,在盐度15 g/L时皂化值最高。巴达维盐藻生物柴油十六烷值在盐度15 g/L和30 g/L时分别为16.15和16.43,极显著高于其他盐度的。巴达维盐藻生物柴油碘值和不饱和度的变化趋势一致,均在盐度为60 g/L时显著升高并且之后趋于稳定。巴达维盐藻生物柴油长链饱和因子

在高盐度时较低,在盐度30 g/L时达到最高值(1.77%)。在盐度15~120 g/L时,巴达维盐藻生物柴油冷滤点在-10.50~-12.30℃之间,而且冷滤点在盐度高于60 g/L时进一步降低,在120 g/L时达到最低值(-12.30℃)。

盐度对杜氏盐藻生物柴油性能的影响如图4所示。

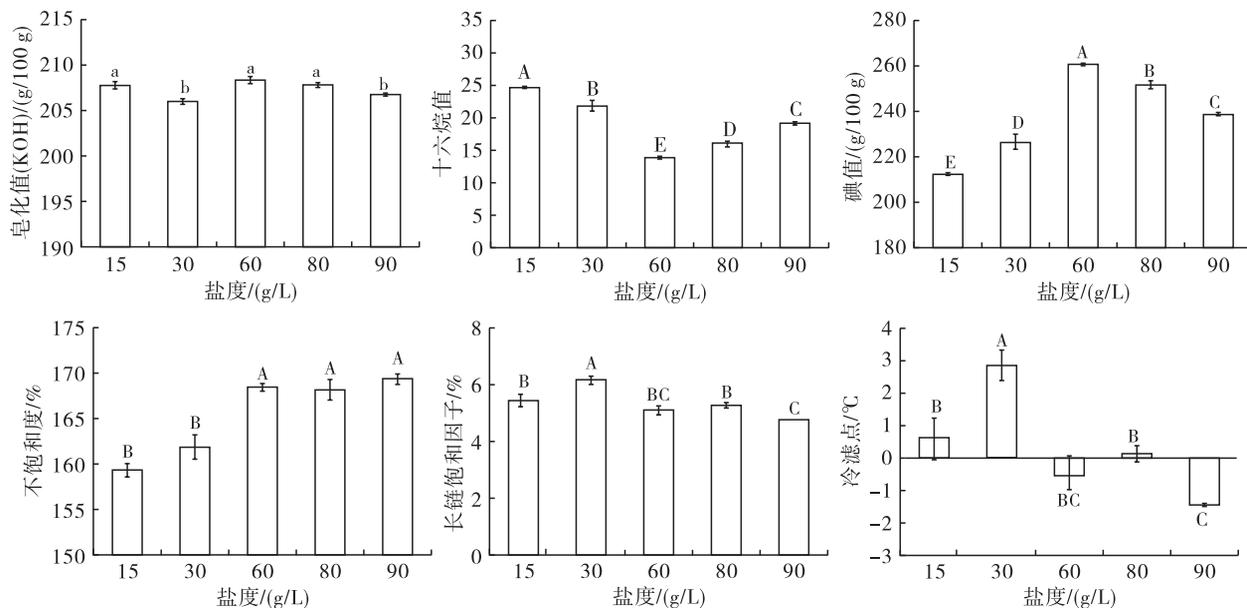


图4 盐度对杜氏盐藻生物柴油性能的影响

Fig. 4 Effects of salinity on the biodiesel performance of *D. salina*

由图4可知,杜氏盐藻生物柴油的皂化值在盐度30、90 g/L时显著低于其他盐度的。低盐度时杜氏盐藻生物柴油十六烷值较高,在盐度15 g/L时达到最高值(24.76)。杜氏盐藻生物柴油的碘值和不

饱和度在盐度15、30 g/L下均极显著低于其他盐度的。杜氏盐藻生物柴油长链饱和因子随盐度升高总体先升高后降低,在盐度30 g/L时最高(6.16%)。盐度在15~90 g/L时,杜氏盐藻生物柴油冷滤点在

-2 ~ 3 °C 之间,在盐度 90 g/L 时达到最低值 (-1.46 °C)。

生物柴油的性能与碳链长度和饱和度有关<sup>[21-22]</sup>。两株盐藻生物柴油的十六烷值、长链饱和因子都是在低盐度时较高。杜氏盐藻生物柴油的十六烷值远高于巴达维盐藻生物柴油的,其碘值和不饱和度低于巴达维盐藻生物柴油的,而且低盐度能使这些特征得到进一步加强。巴达维盐藻生物柴油的冷滤点远低于杜氏盐藻的,高盐度(60 ~ 120 g/L)能使该特征进一步加强。在本研究中,因为两株盐藻脂质的脂肪酸组成都是以不饱和脂肪酸为主,所以十六烷值较低,低于我国 BD100 生物柴油要求 ( $\geq 49$ ),同时氧化稳定性也较低,碘值高于欧盟 EN 14214:2003 标准要求 ( $\leq 120$  g/100 g),因此其生物柴油最好与其他柴油混合使用。值得注意的是,两株盐藻生物柴油的低温流动性都很高,冷滤点都接近或低于 0 °C,优于我国生物柴油调合燃料(B5)0 号普通柴油的限值标准 ( $\leq 4$  °C),尤其巴达维盐藻生物柴油的冷滤点最低可达到 -12.30 °C,其生物柴油的低温流动性优于杜氏盐藻生物柴油的。因此,将两株盐藻生物柴油与常见高饱和柴油混合使用,可以获得满足标准要求的十六烷值和氧化稳定性,同时可大幅度优化调合燃料的低温流动性。

### 3 结 论

本文采用不同盐度培养巴达维盐藻和杜氏盐藻,分析和比较盐度对两种盐藻生长情况、生物质合成和生产的生物柴油性能的影响,主要结论如下。

(1) 两株盐藻均能在 15 ~ 90 g/L 的盐度范围内生长,且在盐度 15 ~ 30 g/L 时生长良好,巴达维盐藻在盐度 120 g/L 时仍能实现较快生长,但杜氏盐藻在此盐度下培养 2 d 便出现藻细胞大量死亡现象,且盐度对杜氏盐藻的生物质生产影响大于巴达维盐藻的。

(2) 除盐度对巴达维盐藻的蛋白质含量影响不大外,两株盐藻均在 15 ~ 30 g/L 低盐度范围时有较高含量的脂质和碳水化合物。

(3) 两株盐藻脂质中的脂肪酸组成不同,但均以 C18:3 $n$ 3 为主,脂肪酸组成的差异影响生物柴油的性能。

(4) 两株盐藻脂质的生物柴油燃烧性能(十六烷值)和氧化稳定性(长链饱和因子)均在盐度 15 ~ 30 g/L 时高于其他盐度的,而低温流动性(冷滤点)在高盐度时(60 ~ 90 g/L)更优,且巴达维盐藻的生物柴油低温流动性优于杜氏盐藻的。

综上,利用盐藻在高盐水中生产生物燃料物质

是可行的,最优盐度范围为 15 ~ 30 g/L。相较于杜氏盐藻,巴达维盐藻在生长速度、耐盐能力、生物质产量、生物柴油的低温流动性等方面更优,具有更高的开发利用潜力。

### 参考文献:

- [1] 毛炜炜,张磊,尹庆蓉,等. 微藻固碳光合作用强化策略及展望[J]. 洁净煤技术, 2022, 28(9): 30-43.
- [2] RIZWAN M, MUJTABA G, MEMON S A, et al. Influence of salinity and nitrogen in dark on *Dunaliella tertiolecta*'s lipid and carbohydrate productivity [J]. Biofuels, 2022, 13(4): 475-481.
- [3] REETU, CLIFFORD M, PRAKASH R, et al. Latest advances and status analysis of nanomaterials for microalgae photosystem, lipids and biodiesel: A state of art [J/OL]. J Environ Chem Eng, 2023, 11(1): 109111 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.109111>.
- [4] ANITHA S, SHAH A R, ALI B M J. Modulation of lipid productivity under nitrogen, salinity and temperature stress in microalgae sp [J]. J Environ Biol, 2018, 39(5): 625-632.
- [5] QV X Y, ZHOU Q F, JIANG J G. Ultrasound-enhanced and microwave-assisted extraction of lipid from *Dunaliella tertiolecta* and fatty acid profile analysis [J]. J Sep Sci, 2014, 37(20): 2991-2999.
- [6] HUANG Y, SUN W, QIN Z, et al. The role of China's terrestrial carbon sequestration 2010-2060 in offsetting energy-related CO<sub>2</sub> emissions [J/OL]. Natl Sci Rev, 2022, 9(8): nwac057 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac057>.
- [7] JIN C, YU B, QIAN S, et al. Impact of combined monochromatic light on the biocomponent productivity of *Dunaliella salina* [J/OL]. 2021, 13(2): 023101 [2024-03-28] <https://doi.org/10.1063/5.0041330>.
- [8] JOSEPH S, RAMADOSS D, CHELLANDI M. Photoinhibition and  $\beta$ -carotene production from *Dunaliella* sp. isolated from salt pans of Goa [J/OL]. Biomass Convers Biorefin, 2022: 1-14 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03327-x>.
- [9] 孔维宝,华绍烽,宋昊,等. 利用微藻生产生物柴油的研究进展[J]. 中国油脂, 2010, 35(8): 51-56.
- [10] 李娟,张耀庭,曾伟,等. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J]. 中国生物制品学杂志, 2000, 13(2): 118-120.
- [11] 罗毅,潘细贵,刘刚,等. 苯酚-硫酸法测定多糖含量显色方式的优选[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(1): 45-46.
- [12] HOSSEINZADEH GHARAJEH N, VALIZADEH M, DORANI E, et al. Biochemical profiling of three

- indigenous *Dunaliella isolates* with main focus on fatty acid composition towards potential biotechnological application [J/OL]. *Biotechnol Rep*, 2020, 26: e00479 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00479>.
- [13] CHA T S, CHEN J W, GOH E G, et al. Differential regulation of fatty acid biosynthesis in two *Chlorella* species in response to nitrate treatments and the potential of binary blending microalgae oils for biodiesel application [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102 (22): 10633 - 10640.
- [14] RAMOS M J, FERNÁNDEZ C M, CASAS A, et al. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100 (1): 261 - 268.
- [15] WU H, MIAO X. Biodiesel quality and biochemical changes of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in response to nitrate levels [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 170: 421 - 427.
- [16] ISHIKA T, BAHRI P A, LAIRD D W, et al. The effect of gradual increase in salinity on the biomass productivity and biochemical composition of several marine, halotolerant, and halophilic microalgae [J]. *J Appl Phycol*, 2018, 30(3): 1453 - 1464.
- [17] KHATOON H. Growth and carotenoid production of *Dunaliella salina* (dunal) teodoresco, 1905 cultured at different salinities [J/OL]. *Asian Fish Sci*, 2020, 33 (3): 001 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2020.33.3.001>.
- [18] TAKAGI M, KARSEN O, YOSHIDA T. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells [J]. *J Biosci Bioeng*, 2006, 101(3): 223 - 226.
- [19] WU M, ZHU R, LU J, et al. Effects of different abiotic stresses on carotenoid and fatty acid metabolism in the green microalga *Dunaliella salina* Y6 [J/OL]. *Ann Microbiol*, 2020, 70(1): 48 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01588-3>.
- [20] KHATOON H, ABDU RAHMAN N, BANERJEE S, et al. Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition [J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2014, 95: 11 - 18.
- [21] KNOTHE G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters [J]. *Fuel Process Technol*, 2005, 86(10): 1059 - 1070.
- [22] 陈艳凤, 曾建立, 杜泽学, 等. 生物柴油原料中不皂化物 and 脂肪酸分析 [J]. *中国油脂*, 2024, 49(4): 83 - 87.
- .....
- (上接第 111 页)
- [25] ZEEB B, SABERI A H, WEISS J, et al. Formation and characterization of filled hydrogel beads based on calcium alginate: Factors influencing nanoemulsion retention and release [J]. *Food Hydrocolloid*, 2015, 50: 27 - 36.
- [26] LIU Z, ZHAO M, SHEHZAD Q, et al. Whippable emulsions co - stabilized by protein particles and emulsifiers: The effect of emulsifier type [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2023, 137: 108379 [2024 - 02 - 03]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108379>.
- [27] MCCLEMENTS D J, BAI L, CHUNG C. Recent advances in the utilization of natural emulsifiers to form and stabilize emulsions [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2017, 8: 205 - 236.
- [28] 吴迪, 程艺超, 姜娇, 等. 酵母中葡萄糖阻遏作用机制研究进展 [J]. *微生物学报*, 2023, 63(9): 3409 - 3427.
- [29] 杨静, 齐男, 赵鑫, 等. 复合有机氮对产氢新菌 *C. guangxiense* 产氢的促进作用 [J]. *可再生能源*, 2019, 37(3): 317 - 321.
- [30] GUO J, MA Z, GAO J, et al. Recent advances of pH homeostasis mechanisms in *Corynebacterium glutamicum* [J/OL]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2019, 35(12): 192 [2024 - 02 - 23]. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2770-2>.
- [31] JU J H, KO D J, HEO S Y, et al. Regulation of lipid accumulation using nitrogen for microalgae lipid production in *Schizochytrium* sp. ABC101 [J]. *Renew Energ*, 2020, 153: 580 - 587.
- [32] 王寒, 罗庆华, 魏梦雅, 等. 大鲵油微胶囊的贮藏稳定性研究 [J]. *中国油脂*, 2018, 43(11): 24 - 27, 48.