

农村生活污水培养杜氏盐藻的初步研究

张 扬,刘亚梦,高苑融,覃丹凤,袁 玫,肖泽雨

(山东大学威海分校 海洋学院,山东 威海 264209)

摘要:通过以含有不同浓度(0、20%、40%、60%、80%、100%)的农村生活污水的培养基培养杜氏盐藻,研究了不同浓度的农村生活污水对杜氏盐藻生长、 β -胡萝卜素含量、叶绿素 a 含量、蛋白质含量及可溶性糖含量的影响。结果表明:盐藻在各种处理培养基中都能生存,当培养到第 21 天时,不含污水样品的 β -胡萝卜素含量和叶绿素 a 含量最高,含 100% 污水样品的 β -胡萝卜素含量和叶绿素 a 含量最低,含 60% 的污水样品的蛋白质含量最高,含 100% 的污水的样品可溶性糖含量最高。可见,用适当浓度的农村生活污水可以培养杜氏盐藻。

关键词:农村生活污水;杜氏盐藻; β -胡萝卜素;叶绿素 a;蛋白质;可溶性糖

中图分类号:Q949.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)06-0039-03

杜氏盐藻(*Dunaliella*)是一种无细胞壁的双鞭毛单细胞真核绿藻,隶属绿藻门、绿藻纲、团藻目、杜氏藻科。该藻富含胡萝卜素、甘油和蛋白质等,是一种重要的海洋经济藻类,在食品、医药和养殖业中具有独特的商业价值^[1]。目前,降低盐藻的生产成本是比较迫切的问题。国内已经有用啤酒废水和碱厂污水培养盐藻的研究^[2-3],但用农村生活污水培养盐藻还未见相关的报道。

农村生活污水中主要污染物为 COD、氮和磷,污水中的有机污染物含量低于城市污水,水质相对较稳定^[4-5]。该研究采用农村生活污水培养杜氏盐藻不仅使污水得到很好的净化,而且还能使营养物质得以循环,可降低微藻的生产成本,生产的微藻可应用于食品和养殖业,防止环境污染,为农村生活污水的合理利用提供新途径。

1 材料与方法

1.1 材料

供试微藻物种为杜氏盐藻(*Dunaliella*),由山东大学威海分校海洋学院藻种室提供。农村生活污水采自威海市东涝台村。

1.2 培养基

基本培养基为改良的 Johnsons 培养基^[6]。处理培养基:在改良的 Johnsons 基本培养基基础上,添加农村生活污水,使培养基中的污水浓度为 0、20%、40%、60%、80%、100%。

1.3 培养液制备和培养条件

在 250 mL 三角瓶加入各种培养基 150 mL,取对数期藻种,每瓶中加入 15 mL 藻液,密度达到 $2.3 \times 10^5 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。在自然光下培养,每天手摇 3~5 次,试验设 3 个平行,2 次重复。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 杜氏盐藻细胞数量的测定 血球计数板法计数,每天 1 次,取平均数^[7]。

1.4.2 杜氏盐藻内 β -胡萝卜素含量的测定 每 5 d 取藻液 1 mL,加入 0.2 g NaCl,用 90% 丙酮充分萃取,取上清液,用 90% 丙酮定容至 10 mL,721 分光光度计测定在波长 450 nm 时的吸光值 OD_{450} ^[8]。

β -胡萝卜素含量/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} = (\text{定容体积} \times 10 \times \text{OD}_{450}) \times 1000 \div (2500 \times \text{取样体积})$

1.4.3 杜氏盐藻内叶绿素 a 含量的测定 每 5 d 取藻液 1 mL,加入 0.2 g NaCl,用 90% 丙酮充分萃取,取上清液,用 90% 丙酮定容至 10 mL,分别测定波长 645 和 663 nm 时的吸光值,求叶绿素含量。

叶绿素 a 含量/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} = (8.02 \times \text{OD}_{663} + 20.21 \times \text{OD}_{645}) \times \text{定容体积} \div \text{取样体积}$ ^[8]。

1.4.4 杜氏盐藻细胞内可溶性糖含量测定 取培养 23 d 的各样品的藻细胞悬浊液,2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,收集细胞,取 0.1 g 鲜细胞,快速研磨,沸水浴抽提可溶性糖,以蒽酮法在 630 nm 波长下比色测定可溶性糖的含量^[9]。

1.4.5 杜氏盐藻内蛋白质含量的测定 取培养 23 d 的各样品的藻细胞悬浊液,2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,收集细胞,取 0.1 g 鲜细胞加入少量石

收稿日期:2011-03-14

基金项目:山东大学威海分校大学生科技立项资助项目(A10045)

第一作者简介:张扬(1989-),女,吉林省长春市人,在读学士,从事微生物生理学研究。E-mail: yangzhang77 @ 163.com。

英砂和 5 mL 蛋白质提取液 Buffer, 快速研磨, 将研磨液转入离心管, $6\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min, 取上清, 用双缩脲法在 550 nm 波长下比色测定总蛋白质含量^[9]。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的农村污水对杜氏盐藻生长量的影响

用含有不同浓度的农村污水的培养基培养杜氏盐藻后, 每天测定其细胞数量。结果表明, 在前 16 d, 随着培养时间的增加, 各个样品的细胞数量持续增长, 各样品的生长状况基本一致。从第 17 天起, 含 100% 污水的样品细胞增长呈下降趋势, 并与其它样品逐渐拉开距离, 其它样品一直保持较高的细胞数量(见图 1)。说明用一定浓度的农

村污水培养杜氏盐藻可获得较高密度的杜氏盐藻。

用公式 $u = (\lg N_t - \lg N_0) / T$ 计算各个样品的比生长速率, 各样品均从第 5 天开始进入对数生长期, 计算出第 5 天至第 23 天各样品的细胞比生长率。其中, N_0 为细胞的起始浓度, N_t 为细胞培养 t d 后的数量, T 为培养时间, u 为细胞比生长速率。

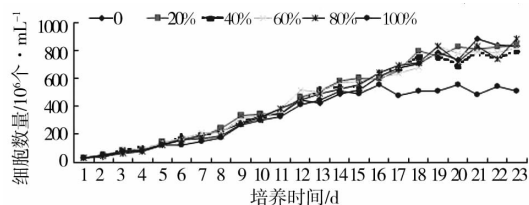


图 1 不同浓度农村污水的杜氏盐藻生长曲线

表 1 杜氏盐藻的细胞比生长率

生活污水浓度/%	0	20	40	60	80	100
$N_t(1 \times 10^6)$	8.316667	8.387500	8.037500	8.175000	8.837500	5.079267
$N_0(1 \times 10^6)$	1.290000	1.453333	1.343333	1.447500	1.256667	1.228333
u	0.044964	0.042293	0.043163	0.041771	0.047062	0.034249

注: N_0 为细胞的起始浓度, N_t 为细胞培养 t d 后的数量, T 为培养时间, u 为细胞比生长速率。

由表 1 可知, 含 80% 污水样品的比生长率高于对照, 说明添加一定浓度的生活污水的混合培养基可以使杜氏盐藻能较好的生长。

2.2 不同浓度的农村污水对杜氏盐藻的 β -胡萝卜素含量影响

由图 2 可知, 在前 11 d, 各样品的 β -胡萝卜素含量逐渐增加且差距不大。从第 11 天起各样品的 β -胡萝卜素含量有较为明显的差距, 含 100% 污水的样品的 β -胡萝卜素含量与其它样品比较呈下降趋势, 其它样品间差距较小。当培养到第 21 天时, 不含污水的样品的 β -胡萝卜素含量最高, 含 100% 污水的样品的 β -胡萝卜素含量最低。由此可初步说明用适当浓度的农村污水培养杜氏盐藻对 β -胡萝卜素的含量影响较小。

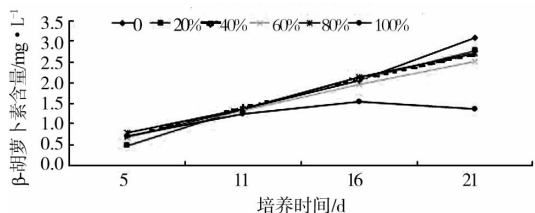


图 2 β -胡萝卜素的含量随时间的变化曲线

2.3 不同浓度的农村污水对杜氏盐藻叶绿素 a 含量的影响

每 5 d 测定各样品的叶绿素 a 含量, 结果表

明, 在前 16 d, 随着培养时间的延长, 各样品的叶绿素 a 含量一直保持上升的趋势。从第 11 天起, 含 100% 污水的样品的叶绿素 a 含量与其它样品比较呈下降趋势, 其它样品间差距较小。当培养到第 21 天时, 不含污水的样品的 β -胡萝卜素含量最高, 含 100% 污水的样品的 β -胡萝卜素含量最低(见图 3)。说明用适当浓度的农村污水培养杜氏盐藻对叶绿素 a 的含量影响较小。

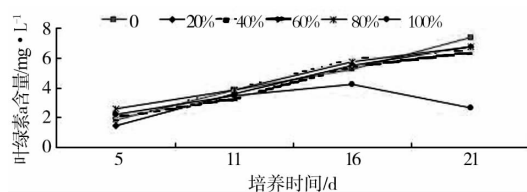


图 3 叶绿素 a 的含量随时间的变化曲线

2.4 不同浓度的农村污水对杜氏盐藻的蛋白质含量和可溶性糖含量的影响

由表 2 可知, 含 60% 污水的样品的蛋白质含量最高, 其它样品间差距较小, 说明以一定浓度的农村污水培养杜氏盐藻对蛋白质的积累影响较小。不含污水的样品的可溶性糖含量最低, 含 100% 污水的样品的可溶性糖含量最高, 说明在逆境条件下可溶性糖含量的积累较高。

表 2 不同浓度的农村污水对杜氏盐藻的蛋白质含量和可溶性糖含量的影响

生活污水浓度/%	0	20	40	60	80	100
蛋白质含量/mg·g ⁻¹	124.43	125.40	91.90	487.91	87.94	238.91
可溶性糖含量/mg·g ⁻¹	18.16	21.16	27.28	34.49	30.67	56.93

3 结论与讨论

目前,农村生活污水中主要污染物为 COD、氮和磷,污水中的有机污染物含量低于城市污水,水质相对较稳定^[4-5],而且其中含有对海洋微藻生长和繁殖非常有利的营养成分,这对于快速和大量培养微藻创造了极为有利的条件^[11]。国内外已经利用各种废水培养微藻,其中利用废水培养螺旋藻取得很多进展^[11-13],而盐藻方面的研究大多集中于无机营养特别是氮、磷等方面的研究^[7]。该试验表明,采用农村生活污水代替基本培养基培养杜氏盐藻可以使营养物质得以循环、藻类的生长繁殖速度较快、细胞内的蛋白质和可溶性糖含量有较明显的增加,同时有助于藻类的 β-胡萝卜素和叶绿素 a 的积累,生产的杜氏盐藻可应用于食品和养殖业,又可降低养殖成本,净化环境^[14]。

由于一些原因,没有得到生活污水的水质指标,因为不同地区的农村生活污水水质成分会有不同程度的差异,因此需要采取合理的处理技术^[10],建议在实际条件允许的情况下,利用污水处理厂回收的混合农村生活污水,使其更适合杜氏盐藻的生长,为农村生活污水的合理利用提供新途径。

参考文献:

[1] 侯召丽,刘鑫,郝晓华,等. 杜氏藻应用现状与展望[J]. 生物

学通报,2009,44(12):1-2.
[2] 姜建国,黄洋,宋古祥. 啤酒厂排放水培养盐藻的研究[J]. 海湖盐与化工,2003,32(2):13-15.
[3] 党志超,李永棋. 碱厂污水对盐藻生长及其组分的影响[J]. 海洋环境科学,1992,11(1):88-90.
[4] 彭举威,汪诚文,付宏祥,等. 分散农村生活污水处理模式分析[J]. 环境与可持续发展,2010(1):28-30.
[5] 曹群,余佳荣. 农村生活污水处理技术综述[J]. 环境科学与管理,2009,34(3):118-120.
[6] Borowitzka M A, Borowitzka L J. Micro-algae biotechnology[M]. London:Cambridge Uni. Press,1988.
[7] 孙辉. 盐藻的生长特性及逆境下胡萝卜素积累规律和机理研究[D]. 重庆:四川大学,2005.
[8] 记明侯. 海藻化学[M]. 北京:科学出版社,1997.
[9] 张建民,张倩,赵宏,等. 利用不同浓度啤酒废水培养塔胞藻的生物学效应研究[J]. 海洋湖沼通报,2008(4):63-67.
[10] 张静霞. 利用微藻处理污水的研究进展及发展趋势[J]. 现代农业科技,2008(4):206.
[11] 蒋培森,蒋家伦,汪富三,等. 利用啤酒厂废水污泥培养钝顶螺旋藻和普通小球藻的研究[J]. 海洋湖沼通报,2000(3):15-19.
[12] 刘如冰,马金才,陈天乙,等. 乳品厂污水养殖螺旋藻的研究[J]. 海洋通报,2000(1):68-71.
[13] 高建华,葛蔚哲,高孔荣. 啤酒厂排放水培养螺旋藻的研究[J]. 食品科学,2000(4):32-35.
[14] 郑爱榕,蔡阿跟,许伟斌,等. 光合细菌和螺旋藻对啤酒废水的净化与利用研究[J]. 环境科学学报,1999,19(1):22-27.

Preliminary Studies of *Dunaliella salina*
Grown on Rural Domestic Sewage

ZHANG Yang, LIU Ya-meng, GAO Yuan-rong, QIN Dan-feng, YUAN Mei, XIAO Ze-yu
(Marine College of Shandong University at Weihai, Weihai, Shandong 264209)

Abstract: The *Dunaliella salina* was cultured in the medium contained different concentration of rural domestic sewage(0、20%、40%、60%、80%、100%), the effect of different concentration rural domestic sewage on the growth, the content of β-carotene, chlorophyll a, protein and soluble sugar of *Dunaliella salina* was studied. The results showed that *Dunaliella salina* could survive and grow in all samples. When it was cultured 21 days, contain 0 of the sewage samples of the acculmu-lation of contained β-carotene and chlorophyll a were the highest, contain 100% of the sewage samples of the acculmu-lation of contained β-carotene and chlorophyll a were the lowest, contain 60% of sewage samples of protein content was the highest, contain 100% of the sewage samples of soluble sugar was the highest. Thus, it was clearly that the *Dunaliella salina* could be cultured in the appropriate concentration of rural domestic sewage.

Key words: rural domestic sewage; *Dunaliella salina*; β-carotene; chlorophyll a; protein; soluble sugar