

# 硝酸钠对发状念珠蓝细菌 CO<sub>2</sub> 间断通气培养的影响

吕和鑫, 贾士儒, 申世刚, 崔相敢, 袁南南

(天津科技大学天津市工业微生物重点实验室, 天津 300457)

**摘要:** 研究了不同浓度 NaNO<sub>3</sub> 对 CO<sub>2</sub> 间断通气培养与 NaHCO<sub>3</sub> 添加培养条件下发状念珠蓝细菌生长、光合速率、胞外多糖积累、蛋白质含量、色素含量、磷酸根与硝酸根消耗、细胞固碳率以及光合效率的影响。结果表明, 在 CO<sub>2</sub> 通气条件下添加 NaNO<sub>3</sub> 能够显著促进发状念珠蓝细菌的生长。2.0 g/L 的 NaNO<sub>3</sub> 为最佳浓度, 干重达到 1.56 g/L, 为对照的 2.29 倍, 呼吸与净光合速率达到最大。当 NaNO<sub>3</sub> 浓度达到 2.5 g/L 时, 藻细胞干重停止增加。细胞叶绿素含量随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加而增加。硝酸钠添加组胞外多糖的含量相比不添加组均下降, 但添加组的多糖含量随 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加而增加。细胞蛋白质含量随 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加而增加, 在 2.0 g/L 时达到最高。与生物量的增加相对应, 细胞对两种盐分的利用率在 NaNO<sub>3</sub> 为 2.0 g/L 时达到最大。CO<sub>2</sub> 通气培养时添加 NaHCO<sub>3</sub> 可进一步促进细胞的生长。在两种碳源同时存在时, NaNO<sub>3</sub> 对细胞的生长促进作用与单一碳源存在培养时类似。

**关键词:** 发状念珠蓝细菌; 光合作用; 氮源; 生物量

文章编号: 1673-9078(2014)9-186-191

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.09.031

## Effect of NaNO<sub>3</sub> on *Nostoc flagelliforme* Growth under Intermittent Flow of CO<sub>2</sub>

LV He-xin, JIA Shi-ru, SHEN Shi-gang, CUI Xiang-gan, YUAN Nan-nan

(Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, School of Bioengineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** In this study, the effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on the growth, photosynthetic rate, exopolysaccharide accumulation, protein and pigment content, phosphate and nitrate consumption, cell sequestration rate, and photosynthetic efficiency of *Nostoc flagelliforme*, incubated with intermittent CO<sub>2</sub> flow, was investigated. The results showed that addition of NaNO<sub>3</sub> with intermittent flow of CO<sub>2</sub> could significantly promote the growth of *N. flagelliforme*. The optimal NaNO<sub>3</sub> concentration for biomass production was 2 g/L and the dry weight could reach up to 1.56 g/L, which was 2.29 times as much as that for the control. Maximum respiration as well as net photosynthetic rate was achieved. However, when the concentration of NaNO<sub>3</sub> was increased to 2.5 g/L, the biomass no longer increased. Cell chlorophyll content increased with increasing NaNO<sub>3</sub> concentration. However, in the NaNO<sub>3</sub> group, exopolysaccharide content decreased compared with the groups without NaNO<sub>3</sub>, and polysaccharide content increased with increasing NaNO<sub>3</sub> concentration. The protein content of *N. flagelliforme* cells increased with increasing NaNO<sub>3</sub> concentration and reached maximum value at 2.0 g/L. Corresponding to the increase in biomass, the highest utilization rate of nitrite and phosphate was achieved when the concentration of NaNO<sub>3</sub> was 2.0 g/L. With intermittent CO<sub>2</sub> flow incubation, addition of NaHCO<sub>3</sub> could further promote cellular growth. When two carbon sources co-existed, the growth-promoting effect of NaNO<sub>3</sub> on cells was similar to that when there was only one carbon source.

**Key words:** *Nostoc flagelliforme*; photosynthesis; nitrogen sources; biomass

发状念珠蓝细菌 (*Nostoc flagelliforme*), 又名发状念珠藻, 俗名发菜, 是一种生长在荒漠与半荒漠地带的陆生蓝细菌。其藻体呈黑色, 贴附于地表, 缠绕成团, 与人的头发相似, 故将其称为“发菜”。发状

收稿日期: 2014-03-27

基金项目: 天津科技大学自然科学基金 (20130108)

作者简介: 吕和鑫 (1980-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 微生物工程

通讯作者: 贾士儒 (1954-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 生物反应工程

念珠蓝细菌一般分布于 1000 到 2800 m 的高海拔地区, 其分布地区属于典型的荒漠草原和荒漠带, 在我国分布带地形主要为丘陵、盆地、荒滩等。普遍认为发状念珠蓝细菌的异形胞具有固氮的能力, 对于贫瘠荒漠的矿质营养循环具有特殊意义。在我国, 发状念珠蓝细菌是一种食用历史悠久的食品, 受到我国广东与东南亚国家人民的欢迎。对野生发菜过度采伐导致我国西北地区荒漠化程度加重, 我国政府在 2000 年禁止了野生发菜的开采。因此, 发菜的人工培养对我国

的沙漠化治理与满足市场需求具有双重意义。发状念珠蓝细菌的藻蓝蛋白可作为一种食用色素<sup>[1]</sup>；胞外多糖具有一定的保健功能等，因此发状念珠蓝细菌也具有良好的经济价值。

前期研究表明，发状念珠蓝细菌液体培养中添加无机碳源  $\text{NaHCO}_3$  能够提高细胞的光合速率，促进发状念珠蓝细菌的生长，促进具有免疫活性的发菜胞外多糖的积累，提高叶绿素以及蛋白质含量<sup>[2]</sup>，进一步研究表明在无机碳源  $\text{NaHCO}_3$  存在条件下添加  $\text{NaNO}_3$  能够进一步促进细胞的生长，但抑制发菜多糖的积累<sup>[3]</sup>。 $\text{CO}_2$  通气是微藻产业化培养中常采用的无机碳源供应方式，同时具有调节培养液 pH 值，保持藻体悬浮，减少温室气体排放等作用。本研究对 20%  $\text{CO}_2$  通气培养时，不同  $\text{NaNO}_3$  浓度培养条件下的发状念珠蓝细菌生物量积累、光合作用效率、胞外多糖 (Exopolysaccharides, EPS) 分泌等进行了观察与分析，结果表明，在 20%  $\text{CO}_2$  通气培养条件下添加  $\text{NaNO}_3$  可以促进细胞生长，但在蛋白质、EPS 含量以及呼吸作用变化趋势上与  $\text{NaHCO}_3$  为碳源条件下的促进效果不同。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

发状念珠蓝细菌分离细胞由天津科技大学天津市工业微生物重点实验室保存。修改过的 BG11m 培养基为基础培养基，添加  $\text{NaNO}_3$  分别至终浓度 0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g/L。通入  $\text{CO}_2$  的浓度（与通入空气相比）为 20%。

浓硫酸，天津市文达稀贵试剂化工厂；苯酚，天津科密欧化学试剂开发中心；无水乙醇，天津市四通化工厂；无水葡萄糖，天津市永大化学试剂开发中心；氯化钠，天津北方天医化学试剂厂；盐酸、氢氧化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾，天津化学试剂三厂；所用药品均为 AR 级。

### 1.2 仪器与设备

液相氧电极，英国 Hansatech 公司；PHSJ-4A pH 计，上海雷磁仪器厂；722 型分光光度计，北京光学仪器厂；LD5-2A 台式高速离心机，上海医用分析仪器厂。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 培养方法

经培养活化的发状念珠蓝细菌细胞在无菌条件

下收集细胞悬液，静置细胞悬液，待细胞完全沉淀，去除上清液，收集细胞，重新悬浮于装盛无菌新鲜培养基的 3 L 三角瓶中，调整悬浮液浓度为 750 nm 下吸光度值约为 1.0，作为种子液。培养温度  $(25 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ ，光照强度  $60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  条件下连续培养 15 d，培养体积为 1.5 L，每天定时往三角瓶中通入 20% 的  $\text{CO}_2$  10 min，流速为  $0.1 \text{ m}^3/\text{h}$ 。

#### 1.3.2 分析测定方法

细胞生物量的测定采用干重法，4000 r/min 离心 10 min 收集藻体，弃掉上清液后转移到已烘至恒重的干燥器中， $80^\circ\text{C}$  烘至恒重。

叶绿素 a 的测定采用甲醇提取法<sup>[4]</sup>。

胞外多糖 (EPS) 的测定采用苯酚-硫酸法<sup>[1,2]</sup>。

光合速率以及呼吸速率使用液相氧电极测定<sup>[5]</sup>。

硝酸根离子测定采用水杨酸-浓硫酸法测定<sup>[6]</sup>。

磷酸根测定采用钼蓝比色法<sup>[7]</sup>。

藻体蛋白质含量测定：按照 GB 5009.5-2010《食品中蛋白质测定》的方法<sup>[8]</sup>。

利用 pH 计直接测定培养液的 pH。

藻细胞  $\text{CO}_2$  固定速率与光合效率测定：6000 r/min 离心分离藻细胞，除去上清液，加入蒸馏水漂洗 4~5 次， $-20^\circ\text{C}$  冷冻 24 h；然后  $-58^\circ\text{C}$  下真空冷冻干燥；称重，进行元素分析仪分析。

$\text{CO}_2$  固定速率： $R = C_c \times V \times (M1 / M2)$

注： $R$ - $\text{CO}_2$  固定速率； $C_c$ -微藻藻细胞含碳量，%； $M1$ - $\text{CO}_2$  分子量； $M2$ -C 原子量<sup>[9]</sup>。

光合效率：

$PE = [(C_A - C_{A0}) \times V \times C_c \times 1.989 \times 109 / (I_0 \times S \times T)] \times 100\%$

注： $C_A$ 、 $C_{A0}$  分别为培养结束和培养开始时的藻细胞干重，g/L； $V$ -培养体积。 $C_c$ -微藻藻细胞的含碳量，%。 $I_0$ -入射光强度，Lux； $S$ -光照表面积， $\text{cm}^2$ ； $t$ -光照时间，min<sup>[10]</sup>

### 1.4 数据分析

采用 Origin 7.0 进行数据分析数据，采用 SPSS (v19) 软件的 One way ANOVA, PostHoc Test (LSD) 进行统计学分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同浓度 $\text{NaNO}_3$ 对 20% $\text{CO}_2$ 通气培养发状念珠蓝细菌生物量的影响

以 20% 的浓度量通入  $\text{CO}_2$ ，添加  $\text{NaNO}_3$  的浓度 (g/L) 分别为 0、0.5、1.5、2.0、2.5，在 3 L 三角瓶中培养 15 d 后，测定发状念珠蓝细菌细胞干重，结果

如图 1。由图知，在通入 CO<sub>2</sub> 浓度为 20% 时，细胞生物量随着氮源添加浓度的增加而增加，在添加浓度为 2.0 g/L 时，细胞生物量相比其他浓度达到较高的水平，达到 1.56 g/L，是空白对照的 2.29 倍。而 NaNO<sub>3</sub> 添加浓度为 2.0 和 2.5 g/L 时，两者细胞生物量几乎维持同一量 (P>0.05)。因此，添加适量的 N 源可以促进发状念珠蓝细菌细胞的生长。

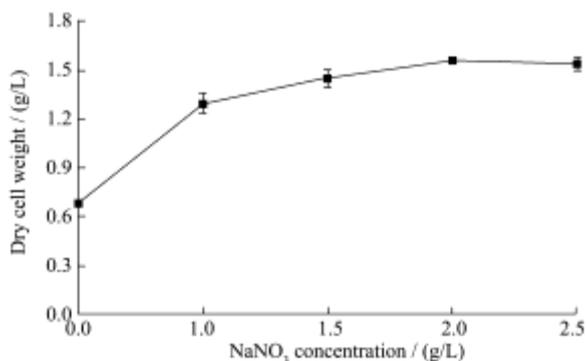


图 1 NaNO<sub>3</sub> 浓度对细胞生物量的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on the biomass of *N. flagelliforme* broth

## 2.2 不同浓度 NaNO<sub>3</sub> 对发状念珠蓝细菌生理活动的影响

发状念珠蓝细菌细胞的光合作用随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加逐渐增强，如表 1 所示，在 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 时达到 170 μmol O<sub>2</sub>/(mg Chl.a·h)，是不添加对照组 67 μmol O<sub>2</sub>/(mg Chl.a·h) 的 2.54 倍，之后随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度增加，光合作用速率不再继续升高 (P>0.05)。叶绿素含量随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加而增加，在 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 1.0 与 1.5 g/L 之间时，叶绿素含量差异不显著 (P>0.05)，但在浓度升高到 2.0 与 2.5

g/L 时，叶绿素含量相比低浓度 NaNO<sub>3</sub> 培养时显著增加 (P<0.05)。胞外多糖在添加 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 0 时最高，说明外加 NaNO<sub>3</sub> 抑制胞外多糖的积累。随着添加 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加，胞外多糖逐渐增加 (P<0.05)，说明高浓度的 NaNO<sub>3</sub> 利于胞外多糖的积累，但仍呈现抑制效应。细胞蛋白质含量与呼吸速率在 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 时达到最大。与细胞生物量的变化趋势类似，细胞对硝酸根与磷酸根的吸收量在 NaNO<sub>3</sub> 添加浓度为 2.0 g/L 时达到最高，分别为 1.34 与 6.92 g/L。因此，光合速率与叶绿素 a 含量的增加与 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下硝酸钠促进生物量积累的结果一致。没有添加 NaNO<sub>3</sub> 的空白对照细胞干重 (0.68 g/L) 相比添加 15 mmol/L 的 NaHCO<sub>3</sub> 培养条件下不添加 NaNO<sub>3</sub> 组 (0.48 g/L) 有所提高，因此，20% CO<sub>2</sub> 通气培养相比的添加 15 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 培养对细胞生长的促进作用更加显著。CO<sub>2</sub> 通气培养条件下随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加，呼吸速率相应增加，但不同于添加 15 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 培养条件下的细胞呼吸速率<sup>[3]</sup>，细胞呼吸速率在 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 时达到最高。对光合速率的测定结果表明，20% CO<sub>2</sub> 的通气培养方式对细胞的生长具有显著促进作用，相比 15 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 培养条件下光合速率<sup>[3]</sup>，在 20% CO<sub>2</sub> 培养条件下 NaNO<sub>3</sub> 添加浓度为 2.0 g/L 时光合速率是同样添加浓度时的 2.36 倍。与 CO<sub>2</sub> 通气培养对生长的促进作用一致，在 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下，在叶绿素 a 含量以及细胞对硝酸根与磷酸根的吸收量上相比添加 NaHCO<sub>3</sub> 培养时也显著提高。相比 NaHCO<sub>3</sub> 添加培养，CO<sub>2</sub> 通气培养可以提高细胞蛋白质的含量。蛋白质的含量随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加而逐渐增大表明 CO<sub>2</sub> 通气培养的同时补加一定量的氮源能够提高发状念珠蓝细菌细胞的品质。

表 1 不同 NaNO<sub>3</sub> 浓度对细胞生理的影响

Table 1 Effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on the physiology of *N. flagelliforme* cell

NaNO <sub>3</sub>	Oxygen evolution rate/[μmol O <sub>2</sub> /(mg Chl.a·h)]			Cell components			Uptake of nutrients	
	Respiration	Net photosynthesis	True photosynthesis	Chl a / (mg/g)	EPS / (mg/L)	Protein / %	Nitrate / (g/L)	Phosphate / (mg/L)
0	20.7±1.78	66.57±4.88	87.54±3.2	20.08±0.17	45.95±1.22	20±1.0	0	5.23±0.77
1.0	22.27±0.77	135.21±5.73	157.27±6.88	36.70±0.22	24.80±2.33	38±0.8	0.61±0.08	6.16±0.49
1.5	24.01±2.20	146.89±2.66	170.80±3.98	37.05±0.13	26.47±2.14	58±1.7	0.65±0.11	6.80±0.81
2.0	30.68±1.89	170.09±3.54	200.78±5.22	41.92±0.24	30.05±1.39	66±2.2	1.34±0.17	6.92±0.62
2.5	28.56±2.55	165.24±6.23	194.81±7.23	42.29±0.37	36.88±1.78	64±1.4	1.32±0.12	6.87±0.33

## 2.3 培养液 pH 变化

由图 2 可知，随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加，发酵结束时 pH 逐渐升高。在硝酸钠浓度达到 1.5 g/L 时培养液

的 pH 达到 8.75，之后培养液的 pH 变化不再显著变化 (P>0.05)。因此，添加硝酸钠导致培养基的碱性升高。培养液 pH 的变化表明，CO<sub>2</sub> 通气培养下不添加 NaNO<sub>3</sub> 的空白组培养 15 d 后的 pH (pH<8) 相比与

NaHCO<sub>3</sub> 添加培养时 (pH>9) 差异显著, 可能的原因为 CO<sub>2</sub> 对溶液酸碱度的调节作用。微生物胞外多糖具有多种多样的生理功能, 如保护微生物免受干燥脱水的伤害<sup>[11]</sup>、参与微生物与植物的相互作用<sup>[12]</sup>等, 发状念珠蓝细菌发菜多糖的生理功能尚不清楚, 但其组成与液体培养中的分泌规律已有较多报道<sup>[13-14]</sup>。在 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下 EPS 的产量相比 NaHCO<sub>3</sub> 添加培养时下降, 可能的原因为培养液的 pH 在 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下相对较低, 于海峰等报道培养液呈碱性可以促进 EPS 的积累<sup>[14]</sup>。因为 EPS 呈酸性<sup>[13]</sup>, 我们推测 EPS 的功能可能是降低培养液的 pH, 因此, CO<sub>2</sub> 通气培养条件下的 pH 降低可能是 EPS 产量减少的原因。

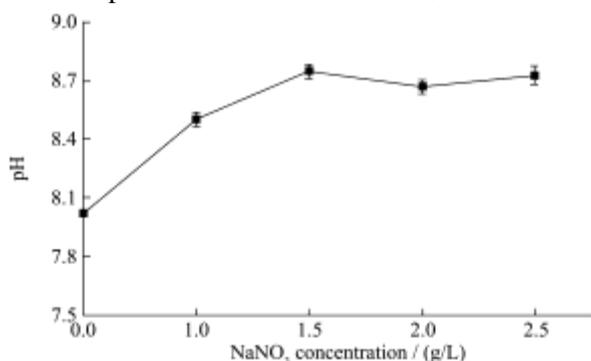


图 2 NaNO<sub>3</sub> 浓度对培养液 pH 值的影响

Fig.2 Effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on the pH of *N. flagelliforme* broth

## 2.4 细胞固碳率及光合效率

表 2 NaNO<sub>3</sub> 浓度对细胞固碳速率及光合效率的影响

Table 2 Effect of different NaNO<sub>3</sub> concentrations on carbon sequestration rate and photosynthetic efficiency of *N. flagelliforme*

NaNO <sub>3</sub> / (g/L)	Carbon sequestration rate/[g CO <sub>2</sub> /(L·d)]	Photosynthetic efficiency/%
0	0.08±0.03	3.71±0.03
1	0.15±0.01	7.45±0.01
1.5	0.17±0.02	8.40±0.02
2	0.18±0.01	9.07±0.01
2.5	0.17±0.03	8.95±0.03

由表 2 可知, 在通入 CO<sub>2</sub> 情况下, 细胞固碳率和光合效率开始随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加而增加, 在 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 时, 细胞内固碳率和光合效率达到最大, 分别为 0.18 g CO<sub>2</sub>/(L·d) 和 9.07%。

## 2.5 通气培养条件下添加无机碳源对细胞生长的影响

以 20% 的浓度通入 CO<sub>2</sub>, 添加 NaHCO<sub>3</sub> 的浓度分别为 5、15、25 mmol/L, 在 3 L 三角瓶中培养至对数期时, 考察在通入 CO<sub>2</sub> 条件下不同浓度的 NaHCO<sub>3</sub> 对发状念珠蓝细菌细胞的光合及呼吸速率的影响 (图 3)。

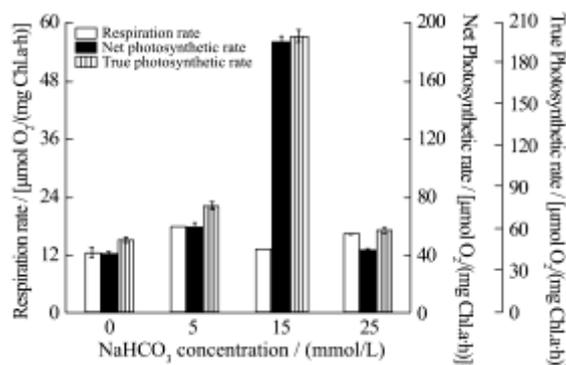


图 3 NaHCO<sub>3</sub> 浓度对发状念珠蓝细菌细胞光合作用的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of NaHCO<sub>3</sub> on the photosynthesis of *N. flagelliforme*

在通入 CO<sub>2</sub> 同时添加 NaHCO<sub>3</sub> 培养时, 对发状念珠蓝细菌细胞光合作用产生了促进作用, 其光合速率随着添加 NaHCO<sub>3</sub> 浓度的增加而上升, 在添加 NaHCO<sub>3</sub> 浓度为 15 mmol/L 时, 光合速率达到最大, 为 187.35 μmol O<sub>2</sub>/(mg Chl a·h), 是不添加 NaHCO<sub>3</sub> 和 CO<sub>2</sub> 空白对照的 4.60 倍。

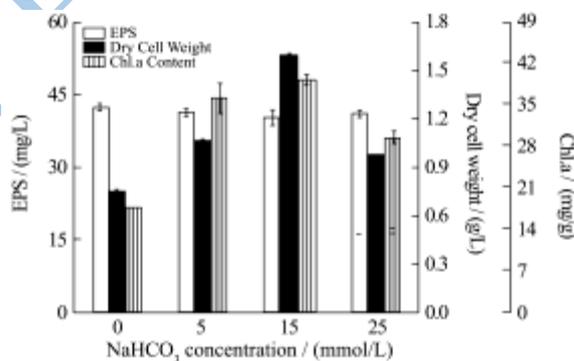


图 4 NaHCO<sub>3</sub> 对发状念珠蓝细菌细胞生长的影响

Fig.4 Effect of different concentrations of NaHCO<sub>3</sub> on the growth of *N. flagelliforme*

在通入 CO<sub>2</sub> 的条件下, 添加 NaHCO<sub>3</sub> 浓度为 15 mmol/L 时, 细胞干重达到 1.60 g/L, 是空白对照细胞干重的 2.13 倍, 是不添加 NaHCO<sub>3</sub> 仅通 CO<sub>2</sub> 培养条件时的 2.35 倍。明显高于单独添加 NaHCO<sub>3</sub> 或是通入 CO<sub>2</sub> 时对细胞生长的促进作用。添加浓度为 5 与 25 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 时, 细胞干重均得到提高。添加不同的 NaHCO<sub>3</sub> 浓度, 多糖含量差异不明显, 当 NaHCO<sub>3</sub> 浓度为 25 mmol/L 时达到最大, 为 40.96 mg/L, 但低于空白对照。两种碳源同时存在培养抑制了仅 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下出现的胞外多糖产量减少现象(表 1)。叶

绿素含量在 NaHCO<sub>3</sub> 浓度为 15 mmol/L 时达到最大, 为 39.34 mg/g, 是空白对照 (17.77 mg/L) 的 2.21 倍, 相比仅 CO<sub>2</sub> 通气培养时叶绿素含量也有增加 (表 1)。

### 2.6 添加两种碳源条件下 NaNO<sub>3</sub> 对细胞生长的影响

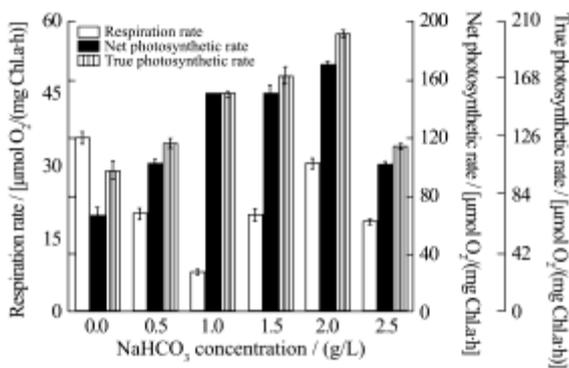


图 5 NaNO<sub>3</sub> 浓度对发状念珠蓝细菌细胞光合作用的影响

Fig.5 Effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on

#### photosynthesis of *N. flagelliforme*

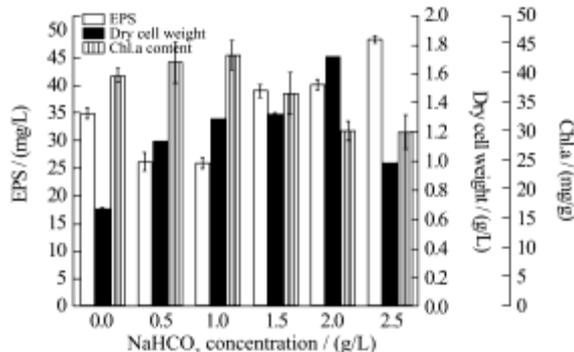


图 6 NaNO<sub>3</sub> 浓度对发状念珠蓝细菌细胞生长的影响

Fig.6 Effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on growth of

#### *N. flagelliforme*

以 20% 的流量通入 CO<sub>2</sub>, 加入 NaHCO<sub>3</sub> 浓度为 15 mmol/L, 添加 NaNO<sub>3</sub> 的浓度为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g/L, 研究其对发状念珠蓝细菌光合作用以及呼吸作用的影响, 结果如图 5。细胞净光合速率以及总光合速率随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度增加而增加; 细胞呼吸速率则出现不同的现象。在加入 N 源为 0 时, 呼吸作用最强, 之后随着添加浓度的增加, 呼吸作用没有明显的变化趋势。图 6 与图 7 为对细胞干重、叶绿素含量、胞外多糖含量以及细胞内蛋白质含量的影响。

由图 6 可知, 在两种碳源同时存在条件下, 胞外多糖含量总体趋势随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度增加而增加; 在添加 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 0.5、1.0 g/L 时, 胞外多糖含量反而低于空白对照, 因此, 结合只有一种碳源时添加 NaNO<sub>3</sub> 对胞外多糖的抑制作用, 表明在碳氮比为零时

最适于胞外多糖的积累。在添加外源氮源后, 碳氮比的降低反而促进胞外多糖的积累。在 NaNO<sub>3</sub> 浓度 2.5 g/L 时达到最大。而叶绿素含量在低浓度的 NaNO<sub>3</sub> 添加条件下 (0~1.0 g/L), 随着添加量增加而增加; 在此基础上继续添加 NaNO<sub>3</sub>, 则其叶绿素含量随添加浓度增加而下降; 细胞干重在 NaNO<sub>3</sub> 添加浓度为 0~2.0 g/L 时, 随添加量逐渐上升, 之后则逐渐下降。细胞干重为主要指标时, 在同时添加两种碳源的条件下, 添加 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 时, 对细胞生长促进效果最好。

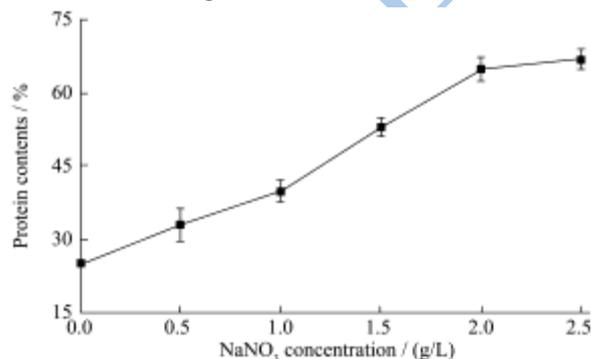


图 7 NaNO<sub>3</sub> 浓度对发状念珠蓝细菌细胞内蛋白质含量影响

Fig.7 Effect of different concentrations of NaNO<sub>3</sub> on protein content of *N. flagelliforme*

细胞内蛋白质含量随着 NaNO<sub>3</sub> 浓度的增加一直处于上升状态。添加 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 时, 与添加 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.5 g/L 时蛋白质含量相差不大。

### 3 结论

由研究结果可知, 在 20% CO<sub>2</sub> 通气培养条件下一定浓度的 NaNO<sub>3</sub> 可以促进发状念珠蓝细菌的生长, 与添加 15 mmol/L 的 NaHCO<sub>3</sub> 培养条件下结果相似<sup>[1]</sup>, 生物量在 NaNO<sub>3</sub> 浓度为 2.0 g/L 细胞干重达到最大, 进一步提高 NaNO<sub>3</sub> 浓度不能继续促进细胞干重的增加。通过测定细胞固碳率与光合效率表明, 在 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下, 增加氮源供应可以促进细胞对碳源的固定效率。相比无外加碳源与仅 CO<sub>2</sub> 通气的培养条件, 在 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下添加 NaHCO<sub>3</sub> 对细胞光合速率、生物量、胞外多糖以及叶绿素含量方面均有促进, 说明添加 NaHCO<sub>3</sub> 可以进一步促进 CO<sub>2</sub> 通气培养条件下的细胞生长。两种碳源同时存在时 NaNO<sub>3</sub> 对细胞的生长同样具有促进作用, 并且对细胞生长最适的 NaNO<sub>3</sub> 浓度与单一碳源培养时相同, 说明 NaNO<sub>3</sub> 对细胞生长的促进作用受碳源种类与供给方式的影响不大。

### 参考文献

[1] 丁文杰, 岳思君, 郭伟, 等. 发状念珠藻不同细胞破碎方法的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(11): 1243-1245

- DING Wen-jie, YUE Si-jun, GUO Wei, et al. Comparison of different cell disruption methods for *Nostoc flagelliforme* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2009, 25(11): 1243-1245
- [2] 袁南南,贾士儒,戴玉杰,等.NaHCO<sub>3</sub>对发状念珠蓝细菌光合作用及生长的影响[J].*中国酿造*,2012,31(1):34-36
- YUAN Nan-nan, JIA Shi-ru, DAI Yu-jie, et al. Effect of NaHCO<sub>3</sub> on growth and photosynthesis of *Nostoc flagelliforme* cells [J]. *China Brewing*, 2012, 31(1): 34-36
- [3] 吕和鑫,贾士儒,肖玉朋,等.硝酸钠对发状念珠蓝细菌生长的促进作用[J].*中国酿造*,2013,32(10):13-16
- LV He-xin, JIA Shi-ru, XIAO Yu-peng, et al. Effect of NaNO<sub>3</sub> on the growth and photosynthesis of *Nostoc flagelliforme* cells [J]. *China Brewing*, 2013, 32(10): 13-16
- [4] Hall D O, Rao K K. *Photosynthesis* [M]. 5th ed. Cambridge: The Press Syndicate of Cambridge, 1994
- [5] Yu H, Jia S, Dai Y. Growth characteristics of the cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* in photoautotrophic, mixotrophic and heterotrophic cultivation [J]. *J. Appl. Phycol.*, 2009, 21(2): 127-133
- [6] Cataldo D, Maroon M, Schrader L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid [J]. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.*, 1975, 6(1): 71-80.
- [7] GB11893-89 水质总磷的测定钼酸铵分光光度法[S]  
GB11893-89, Water quality-determination of total phosphorus-ammonium molybdate spectrophotometric method [S]
- [8] GB 5009.5-2010 食品中蛋白质的测定方法[S]  
GB 5009.5-2010 National food safety standard Determination of protein in foods [S]
- [9] 康阿青.固定高浓度 CO<sub>2</sub> 的微藻的培育与筛选[D].青岛:青岛理工大学,2010
- KANG A-qing. The cultivating and screening technique of microalgae with fixed CO<sub>2</sub> in high density [D]. Qingdao: Qingdao Technological University, 2010
- [10] 岳丽宏.光微生物法固定烟道 CO<sub>2</sub> 的研究[D].哈尔滨:东北大学,2002
- YUE Li-hong. Study on biological fixation of CO<sub>2</sub> from stack gases using photosynthetic organism [D]. Harbin: Northeast University, 2002
- [11] Wang H B, Wu S J, Liu D. Preparation of polysaccharides from cyanobacteria *Nostoc commune* and their antioxidant activities [J]. *Carbohydr. Polym.*, 2014, 99: 553-555
- [12] Pérez-Mendoza D, Aragón I M, Prada-Ramírez H A, et al. Responses to elevated c-di-gmp levels in mutualistic and pathogenic plant-interacting bacteria [J]. *Plo. Sone.*, 2014
- [13] Jia S, Yu H, Lin Y, et al. Characterization of extracellular polysaccharides from *Nostoc flagelliforme* cells in liquid suspension culture [J]. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 2007, 12: 271-275
- [14] Yu H, Jia S, Dai Y. Accumulation of exopolysaccharides in liquid suspension culture of *Nostoc flagelliforme* cells [J]. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2010, 160: 552-560