

乙酸对两种杜氏藻生长和细胞生化组成的影响

王培磊¹, 张学成¹, 孟 振¹, 张积军²

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 内蒙古兰太实业股份有限公司生物分公司, 内蒙古阿拉善盟 750333)

摘要:研究了乙酸对两种杜氏藻(*Dunaliella salina* 和 *D. parva*)生长、 β -胡萝卜素积累、叶绿素 a 合成、脂肪酸组成和蛋白质含量的影响。结果表明, 对 *D. salina*, 乙酸可明显促进生长。细胞密度最大值 120×10^4 cell/mL ($\text{pH} \leq 8.5$), β -胡萝卜素最大值 102 mg/g ($\text{pH} \leq 8.0$), 叶绿素 a 含量达到 104 mg/g ($\text{pH} \leq 8.5$), 与对照组相比均有显著差异; 乙酸还可提高单不饱和脂肪酸 18:1 和多不饱和脂肪酸 18:2n6 的含量; 蛋白含量随 pH 升高而提高。对 *D. parva*, 乙酸对生长无明显促进作用, 也不能提高 β -胡萝卜素含量, 但明显提高叶绿素 a 含量, 最大值达 144 mg/g ($\text{pH} \leq 9.0$), 还可提高蛋白含量, 达到 33.5% ($\text{pH} \leq 9.0$)。

关键词:乙酸; 盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*); 巴夫杜氏藻(*Dunaliella parva*); 生长; β -胡萝卜素
中图分类号: Q599 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096-0022-06

目前, 对杜氏藻的开发主要是利用其细胞内的 β -胡萝卜素和甘油^[1]。天然 β -胡萝卜素不但能转化为维生素 A, 而且具有淬灭体内自由基、防止衰老以及癌变、防治心脑血管疾病、青光眼、白内障并增强人体免疫力等疗效^[2], 因而具有广阔的应用前景。

在杜氏藻培养过程中, 如何控制 pH 值过高是杜氏藻生产中必须解决的一个重要问题^[3]。目前调节 pH 值多是添加 HCl 和 NaOH, 或通入 CO_2 ^[4], 我们研究了乙酸调节 pH 值对盐生杜氏藻和巴夫杜氏藻生长、色素积累及生化组成的影响, 以期优化杜氏藻生产工艺、提高杜氏藻及其 β -胡萝卜素产量提供参考。

1 材料与方 法

1.1 藻种

盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)由内蒙古兰太股份有限公司生物分公司提供; 巴夫杜氏藻(*Dunaliella parva*)由中国科学院水生生物研究所提供。

1.2 培养条件

饱和卤水取自内蒙古兰太盐湖, 用蒸馏水稀释至盐度 120; 一次性添加营养盐 NaNO_3 1.0 mmol/L, KH_2PO_4 0.1 mmol/L, 柠檬酸铁 0.01 mmol/L, NaHCO_3 12.0 mmol/L; 空调控温, $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 。日光灯管照明, 光强 4 000 lx, 光暗周期为 L/D=16 h/8 h; 用 250 mL 三角烧瓶培养, 培养液为 150 mL; 取对数生长期藻种接种, 接种密度 5×10^4 cell/mL, 每天摇动 6 次; 实验设

3 个平行样, 重复两次。

1.3 测定指标和测定方法

1.3.1 pH 值的测定

用 Orion Model 828 型酸度计测定藻液 pH 值, 然后用 0.1 mol/L 乙酸调至 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 每天一次; 如果 pH 值低于设定的值, 则不予调节; 以不调节 pH 值的藻液为对照。

1.3.2 细胞密度的测定

血球计数板法测定细胞密度, 每个样计数 3 次, 取其平均数, 每天计数一次。

1.3.3 β -胡萝卜素的测定^[4]

5 mL 藻液 \rightarrow 90% 丙酮萃取 \rightarrow 上清液 \rightarrow 定容 50 mL \rightarrow 721 分光光度计测 A_{450} 值

β -胡萝卜素含量(mg/L) = $(V_1 \times 10 \times A_{450}) \times 1\,000 \div (2\,500 \times V_2)$

V_1 为定容体积, V_2 为取样体积, 根据每升藻液干藻粉质量换算成 mg/g, 叶绿素 a 同。

1.3.4 叶绿素 a 的测定^[4]

5 mL 藻液 (加入 1 g NaCl) \rightarrow 90% 丙酮萃取 \rightarrow 上清

收稿日期: 2004-10-05 修回日期: 2005-03-14

基金项目: 国家 863 计划(863-819-04-10)。

作者简介: 王培磊(1966-), 男, 山东临沂人, 讲师, 博士生, 研究方向: 海洋微藻; 张学成, 通讯作者, 教授, 博士生导师, 电话: 0532-2032789, E-mail: xczhang8@hotmail.com

液→定容 50 mL→721 分光光度计分别测 A_{663} 、 A_{645} 值。

叶绿素 a 含量 (mg/L) = $(8.02 \times A_{663} + 20.21 \times A_{645} V_1 \text{ 为定容体积, } V_2 \text{ 为取样体积。}) \times V_1 \div V_2$

1.3.5 脂肪酸测定^[6]

取冷冻干燥的样品 0.1 g, 经皂化、甲酯化, 萃取, 气相色谱仪 (HP-5890 型, 惠谱公司, 美国) 测定脂肪酸组分。按峰面积归一化法计算脂肪酸组分质量分数。

1.3.6 蛋白质测定

取藻液 500 mL, 离心, 蒸馏水冲洗藻泥, 再离心, 重复 3 次, 冷冻干燥。取干藻粉 0.1~0.2 g, 凯氏定氮法测定蛋白质含量。

1.4 数据处理

采用 SPSS 软件包对结果进行统计分析。

2 结果和讨论

2.1 乙酸添加量和藻液 pH 值的关系

从表 1 和表 2 可以看出, 乙酸可降低培养液的 pH 值。乙酸添加量在试验开始和结束时较小, 而第 3、4、5、6 天即细胞对数生长期添加量较大。乙酸添加量按对照组、 $\text{pH} \leq 9.0$ 组、 $\text{pH} \leq 8.5$ 组、 $\text{pH} \leq 8.0$ 组、 $\text{pH} = 7.5$ 组顺序递增。*D. salina* 藻液中乙酸最大添加量为 2.7 mL/L ($\text{pH} = 7.5$ 组, 第 4 天); *D. parva* 藻液乙酸最大添加量为 2.9 mL/L ($\text{pH} \leq 8.0$ 组, 第 4 天)。*D. salina* 对照组的 pH 值在接种后 6d 内急剧上升, 6~10d 在波动中上升, 第 10 天达最大值 9.80。*D. parva* 有相似的规律, 最大值为 9.76 (第 7 天)。

表 1 盐生杜氏藻藻液乙酸添加量 (mL/L) 和调节后的 pH 值

Tab.1 The amount of acetic acid added to *D. salina* culture media and the pH values after being adjusted

实验组	培养时间(d)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH=7.5	0.4/7.51	0.7/7.49	1.5/7.52	1.8/7.50	2.7/7.51	1.8/7.48	1.6/7.49	1.5/7.51	1.2/7.49	1.2/7.52	0.8/7.47
pH≤8.0	0/7.86	0.7/7.99	1.0/7.98	1.2/8.01	1.6/8.02	2.4/8.01	2.0/7.98	1.4/7.99	0.9/7.98	0.6/8.00	0.4/8.01
pH≤8.5	0/7.87	0/8.31	0.6/8.51	0.9/8.49	1.0/8.50	1.4/8.48	1.0/8.50	1.2/8.51	0.5/8.49	0.5/8.52	0.4/8.48
pH≤9.0	0/7.88	0/8.32	0/8.56	0/8.97	0.5/8.99	0.6/9.01	0.6/8.98	1.0/9.02	0.4/8.99	0.4/9.02	0/8.86
对照组	0/7.91	0/8.38	0/8.82	0/9.02	0/9.28	0/9.42	0/9.55	0/9.52	0/9.61	0/9.67	0/9.80

注: 乙酸浓度为 0.1 mmol/L, /前为乙酸日添加量 (mL/L), /后为调节后的 pH 值

表 2 巴氏杜氏藻藻液乙酸添加量 (mL/L) 和调节后的 pH 值

Tab.2 The amount of acetic acid added to *D. parva* media and the pH values after being adjusted

实验组	培养时间(d)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH=7.5	0.3/7.51	0.7/7.51	1.3/7.49	2.0/7.52	2.7/7.48	2.1/7.49	1.1/7.52	1.2/7.49	1.0/7.50	1.0/7.51	0.9/7.48
pH≤8.0	0/7.82	0.4/8.01	1.1/7.99	1.7/8.02	2.9/8.01	1.9/8.00	1.1/7.98	0.8/8.01	0.6/7.99	0.7/7.98	0.5/8.01
pH≤8.5	0/7.84	0/8.31	0/8.48	1.4/8.49	2.1/8.51	2.4/8.49	1.3/8.48	0.2/8.50	0/8.52	0/8.49	0.2/8.51
pH≤9.0	0/7.85	0/8.21	0/8.71	0.4/9.01	1.2/8.98	1.8/9.02	1.0/8.99	0.4/9.02	0/8.96	0/8.84	0/8.76
对照组	0/7.83	0/8.22	0/8.68	0/9.16	0/9.47	0/9.57	0/9.54	0/9.76	0/9.54	0/9.59	0/9.33

注: 乙酸浓度为 0.1 mmol/L, /前为乙酸日添加量 (mL/L), /后为调节后的 pH 值

2.2 乙酸对杜氏藻生长的影响

图 1 显示, $\text{pH} \leq 8.5$ 组 *D. salina* 细胞密度有最大值 120×10^4 cell/mL, 其次为 $\text{pH} \leq 9.0$ 组, 最大值为

98×10^4 cell/mL。对照组和多数处理组在接种后第 10 天达到最高密度。最大细胞密度 (120×10^4 cell/mL) 和对照组密度 (64×10^4 cell/mL) 差异显著 ($P < 0.05$)。图 2 表明, 乙酸调节 pH 对 *D. parva* 生长没有促进作用, 最

高密度 571×10^4 cell/mL 出现在对照组(第 10 天)。最大细胞密度 (pH ≤ 8.5 组) 和对照组密度差异显著 ($P < 0.05$)。另外可见 *D. parva* 细胞密度总体水平远高于 *D. salina*。

关于 *D. salina* 生长的最适 pH 值, 不同学者研究结果不一。Anon、Park 和 Rao^[6] 研究认为 *D. salina* 生长的最适 pH 分别为 9.0、7.0、8.0。我们的实验结果和盐生杜氏藻大规模养殖的试验表明, 杜氏藻培养过程中 pH 值不超过 9.0 为宜。pH 9.0 时, 生长即受到抑制; pH 超过 9.5, 细胞会凝聚在一起, 严重影响生长速度和产量。研究结果的差异可能与杜氏藻品系和环境条件不同(光照、温度、盐度、营养盐)以及诸因子之间复杂的协同或拮抗作用有关。pH 对杜氏藻生长的影响可能是通过影响杜氏藻对营养盐的吸收实现的^[6]。Thakur 等^[8] 研究发现 pH 为 8.0 时 *D. salina* 对 NO_3^- -N、 NH_4^- -N 和 P 的吸收率分别比对照组高 15.3%、11.6% 和 25%。乙酸对微藻的促生长作用在其它藻类中也有发现。朱明等^[9] 研究了乙酸对海链藻 (*Thalassiosira* sp.) 生长的影响, 发现一次性添加 10~100 mg/L、每日一次添加 5~60 mg/L 或调节 pH 值至 8.0、8.5、9.03 种方式, 均可不同程度地促进 *Thalassiosira* sp 的生长, 其中以每日添加 5~15 mg/L 的乙酸效果最好。

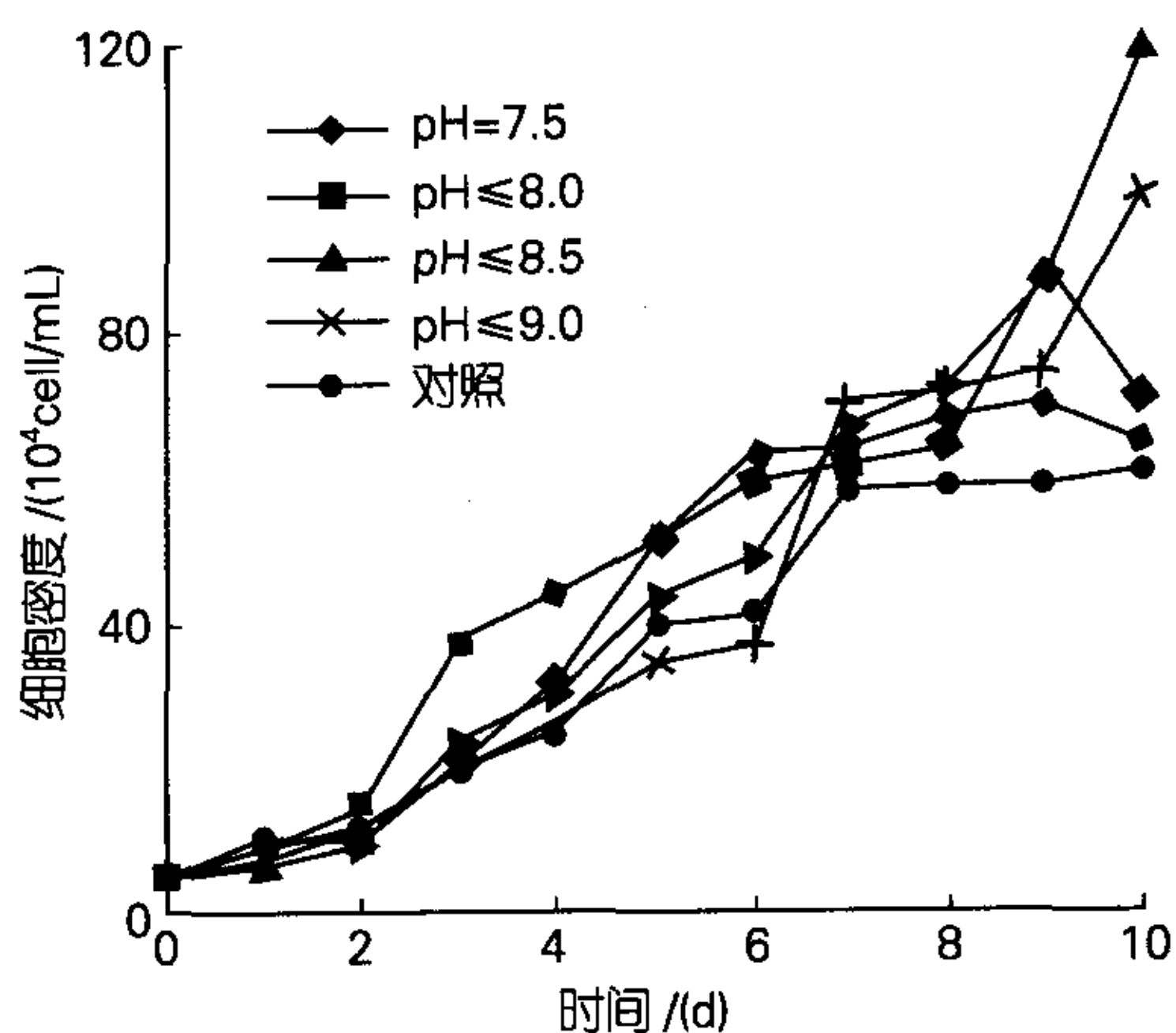


图 1 乙酸对盐生杜氏藻生长的影响

Fig. 1 Effect of acetic acid on the growth of *D. salina*

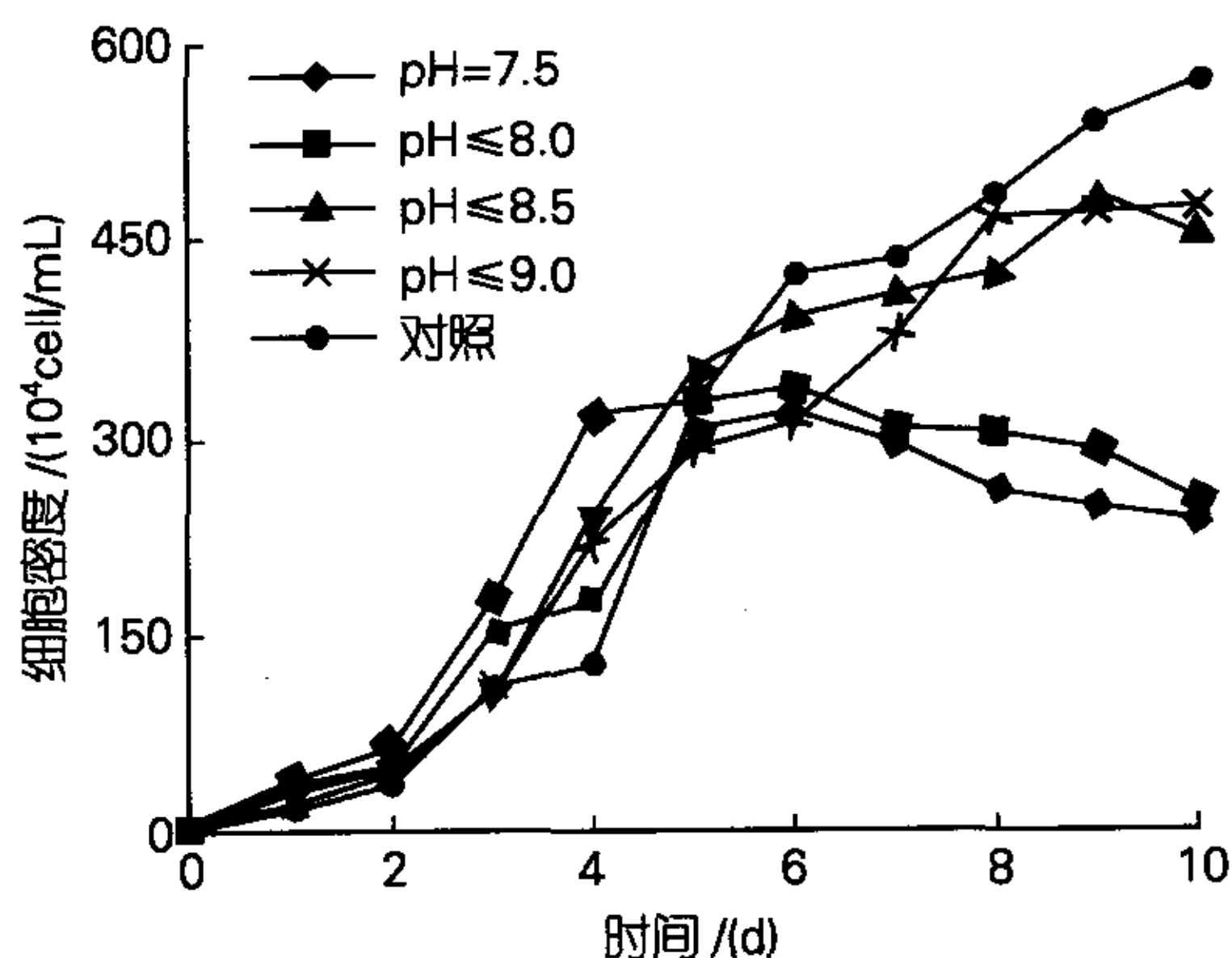


图 2 乙酸对巴夫杜氏藻生长的影响

Fig. 2 Effect of acetic acid on the growth of *D. parva*

2.3 乙酸对杜氏藻 β -胡萝卜素积累的影响

D. salina 是 β -胡萝卜素积累能力最强的单胞藻, β -胡萝卜素积累最高可达细胞质量的 14%^[7]。大量积累的 β -胡萝卜素浓缩于脂肪球中, 分散于叶绿体的类囊体间。 β -胡萝卜素对光伤害所起的保护作用, 一般认为是 β -胡萝卜素对光过度激发叶绿素而产生的有害物质-单态氧所起的淬灭作用^[4]。杜氏藻中的 β -胡萝卜素主要有全反式和 9-顺式两种异构体^[8]。研究者普遍认为, 三高一低(高光照、高温、高盐度、低营养盐特别是低氮和低磷) 有利于 β -胡萝卜素的积累^[7]。图 3 显示了乙酸对杜氏藻 β -胡萝卜素积累的影响。*D. salina* β -胡萝卜素最大值 (102 mg/g) 出现在 pH ≤ 8.0 组, 其次为 pH ≤ 8.5 组, 最大值为 89.5 mg/g, 而对照组 β -胡萝卜素最高含量仅为 79.2 mg/g; *D. parva* β -胡萝卜素最高含量 31.4 mg/g 出现在 pH ≤ 9.0 组, 且 pH 越低, β -胡萝卜素水平越低。对 *D. salina*, 较低的 pH(8.0) 有利于 β -胡萝卜素积累, 而 *D. parva* 在较高的 pH 条件下(9.0) β -胡萝卜素含量最高。

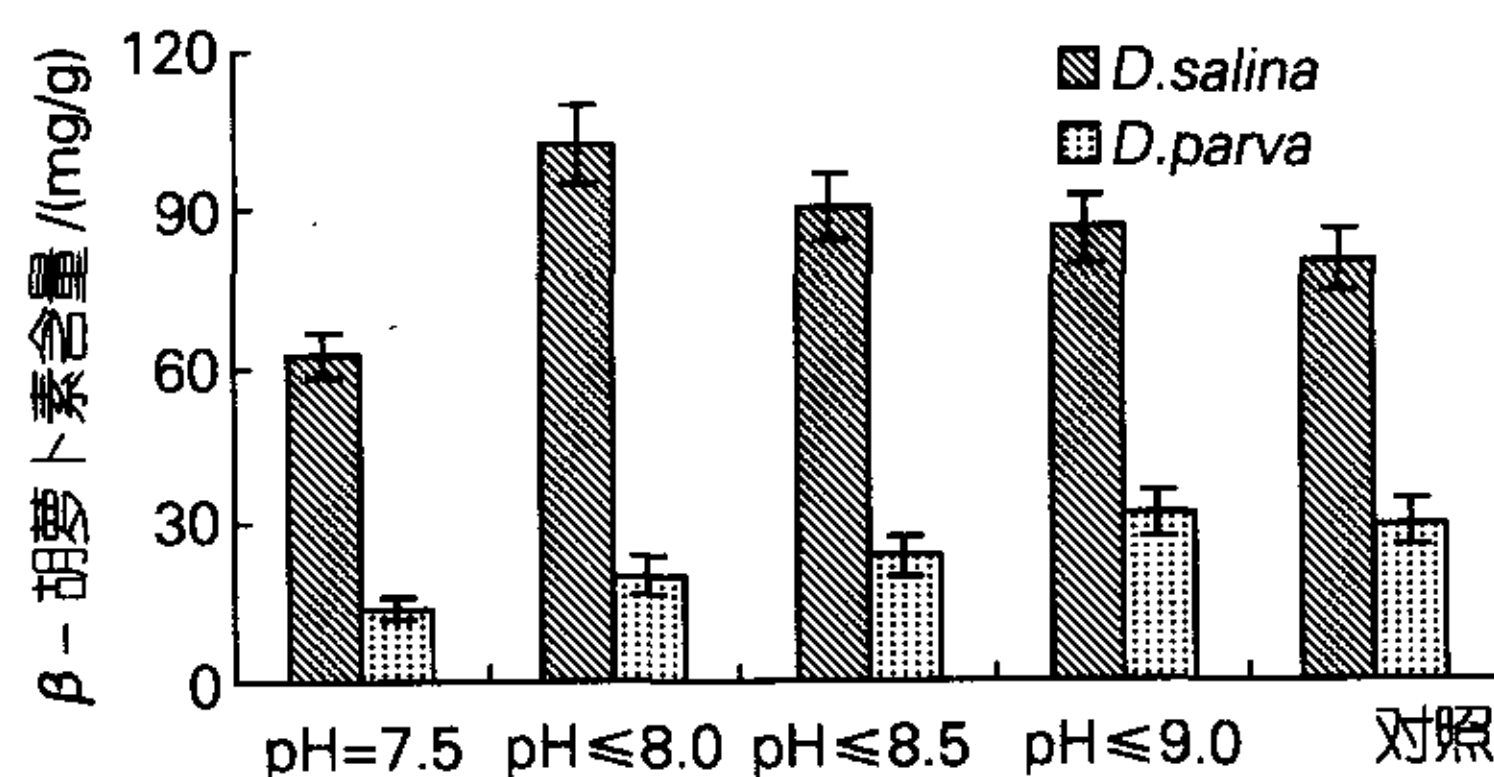


图 3 乙酸对两种杜氏藻 β -胡萝卜素积累的影响

Fig. 3 Effect of acetic acid on accumulation of β -carotene in two isolates of *Dunaliella* species

2.4 乙酸对杜氏藻叶绿素 a 合成的影响

图 4 显示了第 7 天叶绿素 a 合成达高峰时各样品叶绿素 a 含量。可以看出, *D. salina* 叶绿素 a 最高含量 104 mg/g 出现在 pH≤8.5 组, 其次为 pH≤9.0 组。pH=7.5 组叶绿素 a 含量最低。最高含量组 (pH≤8.0 组) 和对照组叶绿素 a 水平差异显著 ($P < 0.05$)。pH 值调至 9.0 对 *D. parva* 叶绿素 a 合成有利, 最大值为 144 mg/g。其次为对照组, 最大值为 86.4 mg/g。二者水平差异显著 ($P < 0.05$)。

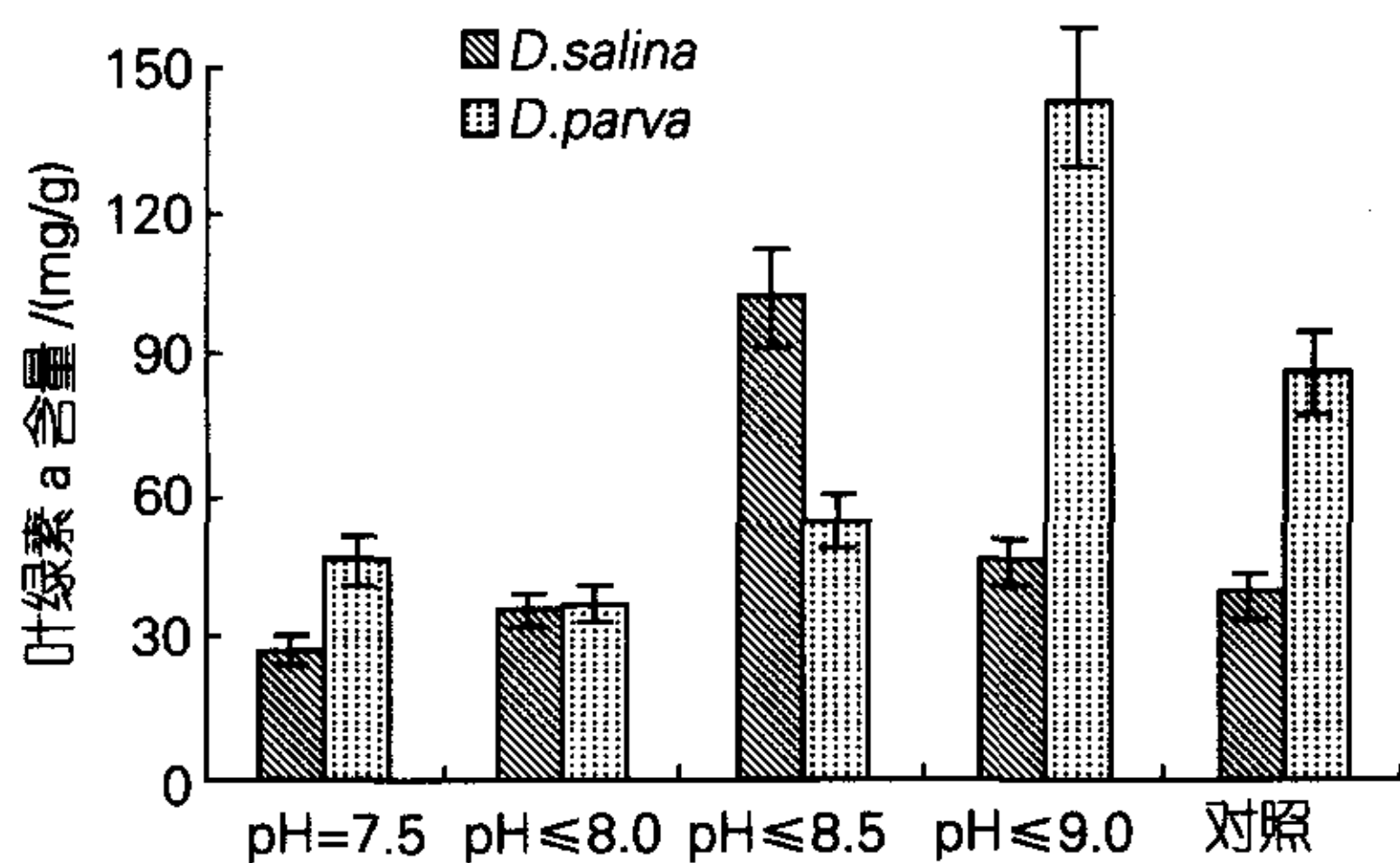


图 4 乙酸对两种杜氏藻叶绿素 a 合成的影响

Fig. 4 Effect of acetic acid on synthesis of Chl a in two isolates of *Dunaliella* species

2.5 乙酸对杜氏藻脂肪酸组成的影响

表 3 显示了乙酸对 *D. salina* 主要脂肪酸组成的影响。可见 *D. salina* 脂肪酸主要由 16:0、18:1 和 18:2n6 三个系列的脂肪酸组成。其中 16:0 系列含量最大 (27.42~39.64%)。乙酸可以显著提高单不饱和酸 18:1 和多不饱和脂肪酸 18:2n6 的含量, 但饱和脂肪酸 16:0 的含量有所降低。微藻脂肪酸组成明显受培养条件的影响。王秀良等^[10]研究了 pH 对眼点拟微绿球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 生长和脂肪酸组成的影响, 结果表明, *N. oculata* 在 pH6.2~9.8 范围

表 3 乙酸对 *D. salina* 和 *D. parva* 蛋白质含量的影响

Tab.3 Effect of acetic acid on the contents of protein in *D. salina* and *D. parva*

处理组	<i>D. salina</i>	<i>D. parva</i>
pH=7.5	21.64 ± 3.45 *	23.42 ± 4.32 *
pH≤8.0	24.18 ± 3.27 *	24.17 ± 3.12 *
pH≤8.5	25.48 ± 2.15 *	28.66 ± 3.24
pH≤9.0	27.78 ± 2.98	33.52 ± 4.51 *
对照组	27.16 ± 2.16	30.16 ± 3.17

注:带 * 者表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)

内均能较好的生长, 但在 pH5.5 时生长受到抑制。pH6.8 时细胞含有较高的 EPA, 而 pH9.8 时 EPA 含量明显下降。曹春晖等^[12]分析了双眼杜氏藻 (*D. bioculata* C33)、巴氏杜氏藻 (*D. parva* C35) 和盐生杜氏藻 (*D. salina* C39、C42、C43、C44、C45、C46) 3 种 8 个品系杜氏藻的脂肪酸组成, 认为杜氏藻主要脂肪酸为 16:0、16:4n3 和 18:3n3。其中 16:4n3 含量为 10%~30%, 18:3n3 含量在 20% 左右。我们的结果与之有差异而与 Renand 等^[13]报道的 *D. salina* 及李荷芳^[14]报道的 *Dunaliella* sp. 的脂肪酸组成相似。这种差异很可能与杜氏藻种类、品系及培养条件不同有关。Mendoza^[11]研究了光强对 *D. salina* 脂肪酸组成的影响, 发现在实验范围内 (1 800~7 200 lx), 高光照增加了 16:0 和 16:1 的含量, 但降低了 16:2、16:4、18:3n6 和 18:3n3 的含量; 随光照的增加, 不饱和脂肪酸含量降低, 但 16:0 与 16:4 的比值增加。他的结果表明 *D. salina* 主要脂肪酸是 16:4、18:2n6 和 18:3n3, 其中 18:3n3 含量最大 (24.17%~45.80%)。Xu 等^[15]研究了盐度对杜氏藻脂肪酸组成的影响, 表明杜氏藻脂肪酸主要由 18:3n3、16:0 和 16:4n3 组成, 这 3 类脂肪酸占总脂肪酸的 72%~75%。在 24~240 盐度范围内, 随盐度的增加, 饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸的比例增加, 但多不饱和脂肪酸比例减少。

2.6 乙酸对杜氏藻蛋白质含量的影响

表 4 可见, *D. salina* 蛋白含量最大值为 27.78% (pH≤9.0 组), 最小值为 21.64% (pH=7.5 组)。蛋白含量随 pH 值升高而升高, pH≤9.0 组蛋白含量 (27.78%) 与对照组 (27.16%) 差异不显著。*D. parva* 蛋白含量有相似的规律。最大值为 33.52% (pH≤9.0 组), 最小值为 23.42% (pH=7.5 组)。pH≤8.5 组蛋白含量 (28.66%) 与对照组 (30.16%) 差异不显著。

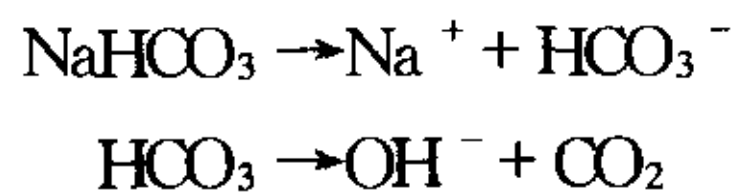
表 4 乙酸对 *D. salina* 主要脂肪酸组成的影响(占总脂肪酸的百分比)

Tab.4 Effect of acetic acid on the fatty acid composition of *D. salina*

脂肪酸	pH 值				对照
	PH=7.5	pH≤8.0	pH≤8.5	pH≤9.0	
14:0	2.02 ± 0.16 *	2.14 ± 0.18 *	2.65 ± 0.29 *	3.37 ± 0.19	3.45 ± 0.06
16:0	34.01 ± 4.18 *	32.57 ± 2.97 *	32.24 ± 3.98 *	27.42 ± 3.24 *	39.64 ± 3.27
16:1	0.97 ± 0.12 *	1.03 ± 0.14 *	1.66 ± 0.12	1.59 ± 0.08	1.47 ± 0.07
16:2	1.52 ± 0.13 *	1.62 ± 0.13 *	2.50 ± 0.23	2.55 ± 0.17	2.41 ± 0.14
16:3	1.28 ± 0.24 *	1.44 ± 0.18 *	1.63 ± 0.14	0.90 ± 0.04	1.86 ± 0.17
16:4	0.29 ± 0.06 *	0.38 ± 0.07 *	0.74 ± 0.06 *	1.83 ± 0.26	1.27 ± 0.32
18:1	17.24 ± 2.75 *	12.93 ± 1.46 *	9.28 ± 0.87 *	6.55 ± 0.38	6.99 ± 0.96
18:2n6	12.90 ± 3.41 *	12.59 ± 1.52 *	12.78 ± 1.86 *	13.93 ± 1.87 *	9.83 ± 1.24
18:3n6	2.48 ± 1.46 *	4.12 ± 0.39 *	6.47 ± 0.59 *	3.49 ± 0.58 *	3.38 ± 0.46
18:3n3	3.36 ± 0.29 *	2.49 ± 0.22 *	4.76 ± 0.34	5.78 ± 0.76 *	4.17 ± 0.33
18:3n4	2.36 ± 0.14 *	5.48 ± 0.38 *	1.92 ± 0.17 *	5.88 ± 0.98 *	5.08 ± 1.02
饱和与单不饱 和脂肪酸	54.24 ± 7.21 *	48.67 ± 4.75 *	45.83 ± 5.26 *	38.93 ± 379 *	51.55 ± 436
多不饱和脂肪酸	24.19 ± 5.93 *	28.12 ± 2.89 *	30.80 ± 3.35 *	34.36 ± 4.86 *	27.93 ± 3.68
总和	78.43 ± 3.14 *	76.79 ± 764 *	76.63 ± 8.61 *	73.29 ± 8.65 *	79.48 ± 8.04

带 * 者表示与对照组差异显著(P<0.05)

D. salina 对照组培养过程的前 6 天,藻液 pH 值明显上升,最高上升到 9.80。Borowiska 认为,培养基中存在电离平衡:



藻类光合作用消耗掉 CO₂, 而将大量 OH⁻留在溶液中而使溶液呈碱性^[6]。随后 4~5d pH 值又有所降低。Fuggi^[11]认为,随着密度的升高,细胞分泌一些酸性物质抑制细胞的继续分裂;大量死亡的细胞也可能向藻液释放酸性物质;再加上营养物质的消耗和细胞代谢产物的大量积累,死细胞及其碎片的堆积和酸败,致使 pH 值下降。作者的镜检结果支持了 Fuggi 的观点。我们认为,β-胡萝卜素的积累是杜氏藻对强光照、高盐度、细胞过度繁殖、营养物质缺乏、代谢产物积累等恶劣环境条件的一种适应性保护,而这种因水质酸败而引起的 pH 值下降也有助于 β-胡萝卜素的积累。

Borowiska^[6], Amotz^[16]等早已发现,杜氏藻生长的二阶段(藻细胞生物量增长阶段和 β-胡萝卜素积累阶段)对光照、温度、盐度、营养盐等环境因子要求显著不同。杜氏藻的细胞生长和 β-胡萝卜素积累是两个矛盾的生理过程,适于细胞生长的氮、磷浓度及 pH

值不再适合其 β-胡萝卜素积累。这里向我们提出了一个重要的启示,就是我们可以通过恰当的程序来控制氮磷浓度、盐度和 pH 值,既能获取较大生物量,又能获得较大的 β-胡萝卜素产量。据此,Amotz 和 Berges 等^[16]提出了杜氏藻生产的二阶段养殖法。即先用较低的盐度和光照及较高的氮盐条件使藻增殖至较理想的密度,再提高盐度和光照、降低 pH 值胁迫 β-胡萝卜素的积累。

此前作者还进行了 HCl 和 NaOH 调节藻液 pH 对 *D. salina* 生长影响的研究(数据未给出),发现无论是细胞生长速度、干物质合成还是 β-胡萝卜素积累效果均不如乙酸。这可能是因为乙酸是弱酸,对细胞作用平缓,且可补充碳源。朱明等^[9]的实验也发现,对 *Thalassiosira* sp., 用乙酸调节 pH 获得的生长率高于盐酸,他认为这可能与乙酸对藻类的异养作用有关。pH 过高是限制藻类生长的一个重要因子,对杜氏藻和 β-胡萝卜素生产不利。目前生产上多采用通入 CO₂ 的办法加以解决,既能调节 pH 值,又能补充碳源,但设备复杂,成本较高。本实验证实,在杜氏藻培养中,用添加乙酸的方法调节 pH 值,既有利于生长,又有利于 β-胡萝卜素积累,在杜氏藻的工业化养殖中有推广前景。

参考文献:

- [1] 陈晗华, 钱凯先. 氮磷对盐藻生长及其 β -胡萝卜素积累的影响[J]. 浙江大学学报, 1997, 31(6): 732-739.
- [2] 李建宏, 翁永萍, 胡寒萍. 不同氮源对盐生杜氏藻生长和 β -胡萝卜素积累的影响[J]. 南京师范大学学报, 1999, 22(3): 73-79.
- [3] Tamar B, Zvy D, Kevin W. Photoadaptation and the "package" effect in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) [J]. *Phycology*, 1989, 25: 70-76.
- [4] Goldman J C, Azov Y, Riley C B. The Effect of pH in intensive microalgal cultures[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1982, 57: 1-10.
- [5] Rao P S N, Chauhan V D, Rao K S. Effects of sodium chloride, pH and carbon source on the growth of brine alga, *Dunaliella* sp. [J]. *Indian Journal of Marine Sciences*, 1982, 11(3): 262-266.
- [6] Borowitzka M A, Borowitzka L J, Kessly D. Effects of salinity increase on carotenoid accumulation in the green alga *Dunaliella salina* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1990, 2: 111-119.
- [7] Goyal A, Gimmler H. Osmoregulation in *Dunaliella tertiolecta*: Effects of salt stress and the external pH on the internal pH[J]. *Arch Microbiol*, 1989, 152: 138-142.
- [8] Thakur A, Kumar H D. Effects of pH, light quality and various carbon sources on glycerol production by the brackish water alga *Dunalia salina* [J]. *Cytobios*, 1997, 90: 95-102.
- [9] 朱明. 环境因子对海链藻(*Thalassiosira* sp.)生长和生化组成的影响[J]. 海洋科学, 2001, 22(3): 34-40.
- [10] 王秀良, 刘晨临, 张学成. pH对眼点拟微绿球藻的生长、总脂含量及脂肪酸组成的影响[J]. 海洋科学, 2002, 26(5): 63-67.
- [11] Fuggi A, Pinto G, Pollio A, Taddei R. Effects of NaCl, Na₂SO₄, H₂SO₄ and glucose on growth, photosynthesis and respiration in the acidophilic alga *Dunaliella acidophila* (Volvocales, Chlorophyta) [J]. *Phycologia*, 1988, 27: 334-339.
- [12] 曹春晖, 孙世春, 麦康森. 30株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成[J]. 青岛海洋大学学报, 2000, 30(3): 428-434.
- [13] Renand. Oleic acid is the main fatty acid related with carotenogenesis in *Dunaliella salina*[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 11(1): 15-19.
- [14] 李荷芳. 氮磷比对盐藻生长及甘油和色素积累的影响[J]. 热带海洋, 1999, 18(1): 68-72.
- [15] Xu Ming. A salt-induced chloroplast protein in *Dunaliella salina* (Chlorophyta) [J]. *Phycology*, 1996, 32: 983-986.
- [16] Amotz A B. Effect of low temperature on the stereoisomer composition of β -carotene in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil* (Chlorophyta) [J]. *Phycology*, 1996, 32: 272-279.

Effects of acetic acid on the growth and chemical composition of two species of *Dunaliella*

WANG Pei-lei¹, ZHANG Xue-cheng¹, MENG Zhen¹, ZHANG Ji-jun²

(1. College of Marine Life, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Inner Mongolia, Lantai Co. LTD, Alashan 750333, China)

Received: Oct., 5, 2004

Key words: acetic acid; *Dunaliella salina*; *Dunaliella parva*; growth; β -carotene

Abstract: The effects of acetic acid on the growth and chemical composition of two species of *Dunaliella* were investigated. Acetic acid can significantly enhance the growth rate of *D. salina*. The maximum cell density of 120×10^4 cell/mL, β -carotene content of 102 mg/g and Chl a content of 104 mg/g were observed in treated groups of pH \leq 8.5, pH \leq 8.0 and pH \leq 7.5, respectively. Three of them significantly differed from those of the control group. Acetic acid also enhanced both the contents of monounsaturated fatty acid of 18:1 and the content of polyunsaturated fatty acid of 18:2n6. The higher the pH values, the higher the contents of protein. To *D. parva*, acetic acid was found neither to enhance the growth rates, nor to enhance the contents of β -carotene of the culture media, though it was found to enhance both the content of Chl a, reaching 144 mg/g (pH \leq 9.0), and the content of protein, reaching 335 mg/g (pH \leq 9.0).

(本文编辑:张培新)