

亚临界法制备的浒苔与铜藻水提物对淡水小球藻生长及代谢的协同调控作用

吴 瑶¹, 蔡春尔^{1,2}, 何培民^{1,2}

(1.上海海洋大学 海洋科学与生态环境学院, 上海 201306; 2.海河湖生物链构建与资源化利用工程技术研究中心, 上海 201702)

摘 要:为协同解决黄海藻华资源化利用与微藻高效培养的难题,本研究创新性地将亚临界法提取的绿潮藻 (*Ulva* sp.) 和金潮铜藻 (*Sargassum horneri*) 水提物作为培养基添加剂,探究其对淡水小球藻 (*Chlorella* sp.) 生长及代谢的调控作用。结果表明,浒苔提取物对小球藻 (*Chlorella* sp.) 生长的促进作用显著优于铜藻提取物及传统乙酸钠组。当浒苔提取物添加浓度为 3.6 g/L 时,培养至第 36 天,藻液细胞密度、生物量、叶绿素 *a* 及类胡萝卜素含量分别达到空白对照组的 1.8 倍、5.7 倍、5.0 倍和 3.7 倍,总糖与可溶性蛋白产量亦提升至 7.1 倍和 6.7 倍。本研究证实黄海藻华提取物作为低成本培养基的可行性,为藻华灾害治理与微藻产业化提供了“以废治废”的新策略。

关键词:藻华资源利用; 生物刺激剂; 浒苔和铜藻提取物; 生长调控

中图分类号: Q938.8

文献标识码: A

文章编号: 1007-6336(2025)06-0804-10

Synergistic regulatory effects of *Ulva* sp. and *Sargassum horneri* aqueous extracts prepared by subcritical method on the growth and metabolism of *Chlorella* sp.

WU Yao¹, CAI Chuner^{1,2}, HE Peimin^{1,2}

(1.College of Oceanography and Ecological Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2.Shanghai Engineering Research Center of River and Lake Biochain Construction and Resource Utilization, Shanghai 201702, China)

Abstract: To collaboratively address the challenges of Yellow Sea algal bloom resource utilization and microalgae cultivation efficiency, this study innovatively employed subcritical water extracts of green tide algae (*Ulva* sp.) and golden tide alga (*Sargassum horneri*) as medium additives to investigate their regulatory effects on the growth and metabolism of freshwater *Chlorella* sp. The results demonstrated that the growth-promoting effect of *Ulva* sp. extract on *Chlorella* sp. was significantly superior to both *Sargassum horneri* extract and the conventional sodium acetate control. At a concentration of 3.6 g/L green tide algae extract, when cultured to the 36th day, the cell density, biomass, chlorophyll *a*, and carotenoid content were 1.8, 5.7, 5.0, and 3.7 times those of the blank control, respectively, with total sugar and soluble protein yields reaching 7.1 and 6.7 times the control levels. This study confirms the feasibility of utilizing Yellow Sea algal bloom extracts as a low-cost culture medium, providing a novel “waste-to-resource” strategy for algal bloom management and microalgae industrial applications.

Key words: algal bloom resource utilization; biostimulants; *Ulva* sp. and *Sargassum horneri* extracts; growth regulation

收稿日期: 2025-03-01, 修订日期: 2025-05-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC3106004); 上海市教委 2025 年上海高校教师产学研研习项目

作者简介: 吴 瑶(1999—), 女, 湖南株洲人, 硕士研究生, 主要研究方向为藻类资源化利用, E-mail: bhexin2202@163.com

通信作者: 蔡春尔(1980—), 男, 浙江海盐人, 博士, 高级实验师, 主要研究方向为藻类生物技术, E-mail: cecai@shou.edu.cn

绿潮是指大型绿藻过度增殖、生长和聚集而形成的一种生态灾害,金潮则指固着生长的马尾藻属褐藻爆发性增殖并大规模聚集于海面而形成的有害藻华现象。在中国,两类藻华甚至同时出现,据估算,我国黄海每年爆发的绿潮生物量达到400万吨~500万吨鲜重^[1]。尽管传统打捞处置可短期缓解生态压力,但其资源化利用率不足15%^[2],且存在二次污染风险。因此,开发藻华生物的高值化利用技术对实现“双碳”目标及海洋生态修复具有重要战略意义。

目前,藻华生物资源化利用主要集中于生物质能源转化、农业肥料开发及高值化利用等方面。在能源化领域,浒苔(*Ulva* sp.)厌氧发酵产甲烷日均产气量可达1.38 L/(L·d)^[3]。肥料化应用方面,缘管浒苔(*Ulva linza*)提取物可使海洋微藻(*Microchloropsis salina*)的生物量提升53%^[4]。高值化利用则包括浒苔多糖制备的医用敷料等^[5]。产业应用层面,青岛海大生物集团开发的浒苔-海带混合物可使草莓总产量提升15.27%^[6]。其市场化产品“海谷特”“海状元真藻”等浒苔基产品已展现出保水保肥、增强抗逆性等特性^[7]。青岛明月海藻集团研究证实,海藻肥能提高番茄植株速效氮含量并增强幼苗抗旱能力^[8]。

然而,现有技术面临两大关键瓶颈:其一,传统低温提取法虽能保留部分活性物质(如植物激素等)^[9],但无法降解藻华生物中的热敏性抑藻成分(如褐藻多酚^[10]),导致提取液对微藻生长产生抑制作用。化学溶剂法虽可提高利用率,但残留的酸碱试剂易引发微藻的细胞毒性^[11],限制其规模化应用。其二,多糖等活性物质提取效率较低,海藻细胞壁破壁效率不足导致多糖得率普遍低于20%^[12]。

亚临界水提法(subcritical water extraction, SWE)通过高温与高压协同作用,为解决上述问题提供了新思路。该技术具有以下优势:(1)高效去毒:高温可降解热敏性的抑藻物质,消除提取液的抑藻效应。研究表明,高温高压致使浒苔对中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)的化感抑制作用失效^[13],石莼(*Ulva lactuca*)高温提取物可显著提高绿豆种子发芽率和作物产量^[14](2)绿色高效:以水为溶剂避免化学残留,利用高压环境

促进褐藻(*Nizamuddinina zanardinii*)细胞壁多糖水解,岩藻聚糖产量较传统水热法提升至2.5倍^[15]。且提取时间从传统工艺的数小时缩短至20分钟,显著降低时间成本与能耗。

淡水小球藻(*Chlorella* sp.)作为高附加值微藻,其规模化培养仍受限于传统培养基的高成本。尽管乙酸钠等有机碳源可通过混合营养培养模式提升微藻生物量^[16],但其工业化应用面临着双重限制:外源碳添加导致生产成本增加以及浓度毒性,如高浓度乙酸钠抑制光合色素合成^[17]。因此,开发兼具低成本与多营养协同效应的替代碳源,成为微藻产业化亟待突破的瓶颈。

基于此,本研究以黄海绿潮藻浒苔与金潮铜藻为对象,探究亚临界水提法制备的藻华提取物对淡水小球藻(*Chlorella* sp.)生长及代谢的调控作用,并以乙酸钠为阳性对照评估其成本效益,旨在为藻华资源化与微藻规模化培养的协同优化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻华提取液制备

浒苔属(*Ulva* sp.)绿潮藻于2022年7月江苏大丰海域绿潮爆发期间采集,金潮铜藻(*Sargassum horneri*)于2022年1月浙江枸杞岛金潮灾害期间获取,经形态学鉴定确认物种。将浒苔和铜藻洗净脱盐后,烘干捣碎并过200目筛分别获得两种藻粉。采用亚临界水提法制备藻华提取物:按1:40(g/mL)固液比将藻粉与纯水混合,于120℃、116 kPa条件下处理20 min,随后依次进行过滤和离心(10000 g, 4℃, 10 min),得上清,分别为亚临界水提法提取的浒苔提取物(subcritical *Ulva* extract, SME)和铜藻提取物(subcritical *Sargassum horneri* extract, SAR)。

1.2 实验设计

淡水小球藻由本实验室保藏并经分子生物学鉴定确定物种,采用BBM培养基进行培养。实验设3组对照组和6组实验组(浒苔和铜藻提取物各3组)。其中空白对照组仅含母液稀释后的工作液。阳性对照设2组,分别在工作液中添加终浓度为0.05%和0.15%(w/v)乙酸钠(记为乙酸钠组)。实验组中,浒苔提取物组在工作液中

添加终浓度为 0.36%、0.72% 和 1.08% 的浒苔提取物(记为 SME 组),而铜藻提取物组添加终浓度的 0.022 5%、0.045% 和 0.09% 的铜藻提取物(记为 SAR 组)。各组培养基均接种 10% 的对数期淡水小球藻藻液,初始细胞密度 $OD_{684}=0.03$,于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,光照强度为 $(100\pm 5)\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光暗比为 12 h : 12 h, 150 rpm, 条件下摇床培养 36 天,培养期间不添加或更换培养基。每组设 3 个平行样,单样终体积 220 mL。

1.3 藻细胞密度的测定

每 6 天取 1 mL 藻液,于 5000 g 下离心 5 min,弃上清液,超纯水洗涤后重悬至 1 mL,使用 BioTek Epoch 酶标仪于 684 nm 下检测吸光度。

1.4 光合色素含量测定

培养过程中,每 6 天取各样品 1 mL 藻液,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 8000 g 下离心 5 min,沉淀用 1 mL 甲醇室温避光浸提 24 h。浸提液经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5000 g 离心 5 min,取上清液,于 470 nm、652 nm、665 nm 波长处测定吸光度。

采用 Lichtenthaler 公式^[18]计算色素浓度:

$$C-\text{Chla}(\text{mg/L}) = 16.72 \times A_{665} - 9.16 \times A_{652}$$

$$C-\text{Chlb}(\text{mg/L}) = 34.09 \times A_{652} - 15.28 \times A_{665}$$

$$C-\text{Car}(\text{mg/L}) = (1000A_{470} - 1.63\text{Chla} - 104.96\text{Chlb})/221$$

以上公式中 C-Chla、C-Chlb 和 C-Car 分别代表叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的浓度。

1.5 叶绿素荧光参数的测定

培养过程中各样品每 6 天使用浮游植物分类荧光仪(PHYTO-ED,WALZ)测定光系统 II(PS II)最大光化学量子产量(F_v/F_m)^[19]。样品测量前先暗适应 15 min,稀释后,取 2 mL 放入样品室测定, F_v/F_m 计算公式如下:

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

式中: F_m 为叶绿素荧光诱导曲线中饱和光脉冲产生的最大荧光产量; F_o 为 PSII 都处于开放状态下的最小荧光; F_v 为计算得到的可变荧光。

1.6 生物量的测定

培养周期结束后,各样品取藻液 50 mL, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 4000 g 离心 10 min,沉淀用超纯水洗涤除盐,采用干燥至恒重的 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 混合纤维滤膜抽滤收集, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 24 h,通过滤膜前后干重差计算单位体积生物量(mg/L)。

1.7 总糖含量测定

采用改良的苯酚硫酸法^[20]测定碳水化合物含量。取培养结束后离心、洗涤并冻干的小球藻粉末 5 mg,重悬于 2 mL、pH7.4 的 PBS 溶液中,涡旋混匀后超声破碎 30 min。破碎藻液在 10000 g 下离心 5 min,保留上清液用于后续分析。取 1 mL 上清液,依次加入 0.5 mL 6.0% (v/v) 苯酚溶液和 2.5 mL 浓硫酸,混合均匀后于 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育 20 min。最后,用 BioTek Epoch 酶标仪在 490 nm 处测定吸光度。

1.8 可溶性蛋白的含量的测定

利用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术,中国)测定可溶性蛋白含量。取超声后的藻体上清液 0.02 mL,加入 0.2 mL BCA 工作液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。随后,在 562 nm 处测定吸光度。

1.9 总脂的测定

培养结束后将藻体经离心、洗涤后冻干保存。采用 Bligh-Dyer 法^[21]提取总脂:称取 20 mg 冻干藻粉,加入 0.75 mL 水-氯仿-甲醇(体积比 0.5 : 2 : 1)振荡 20 min, 10000 g 离心 10 min,重复萃取 3 ~ 5 次,收集合并所有氯仿层,真空干燥至恒重,计算藻细胞油脂含量。

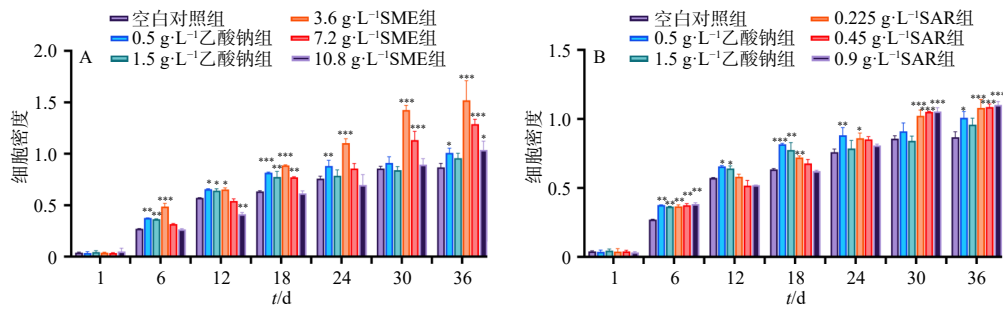
1.10 数据分析

实验数据使用 SPSS Statistics 27 进行独立样本 t 检验以及单因素方差分析(ANOVA)。使用 GraphPad Prism 9 作图,图中通过星号标注组间显著性差异(*代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$),具体符号对应关系在图注中说明。

2 结果与讨论

2.1 细胞密度与生物量的变化

浒苔提取物(SME)对淡水小球藻生长的促进作用显著优于其他处理组(图 1)。当添加 3.6 g/L SME 时,第 36 天的藻液 OD_{684} 达到对照组的 1.8 倍($p < 0.001$),且呈现剂量依赖性(图 1A)。铜藻提取物(SAR) OD_{684} 值较对照组提升 24.1%($p < 0.01$),但各浓度间无差异($p > 0.05$)(图 1B)。乙酸钠组(0.5 g/L)仅提高 15%($p < 0.05$),增幅显著低于 SME 与 SAR 组($p < 0.01$)。



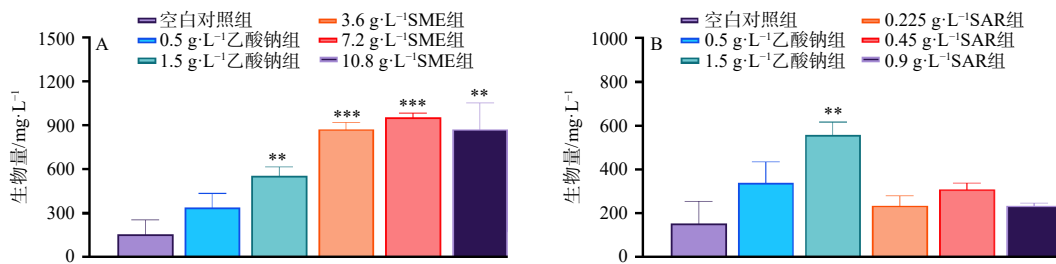
注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图1 SME(A)和 SAR(B)对淡水小球藻细胞密度的影响

Fig. 1 Effects of SME (A) and SAR (B) on cell density of *Chlorella* sp.

培养结束后, SME 组生物量达对照组的 5.7 ~ 6.2 倍 ($p < 0.01$), 其中 7.2 g/L 组最高, 达到 953.3 mg/L (图 2A); 乙酸钠组 (1.5 g/L) 生物量

为对照组的 3.6 倍 ($p < 0.01$); 而 SAR 组虽提升至 1.5 ~ 2.0 倍, 但差异无统计学意义。



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

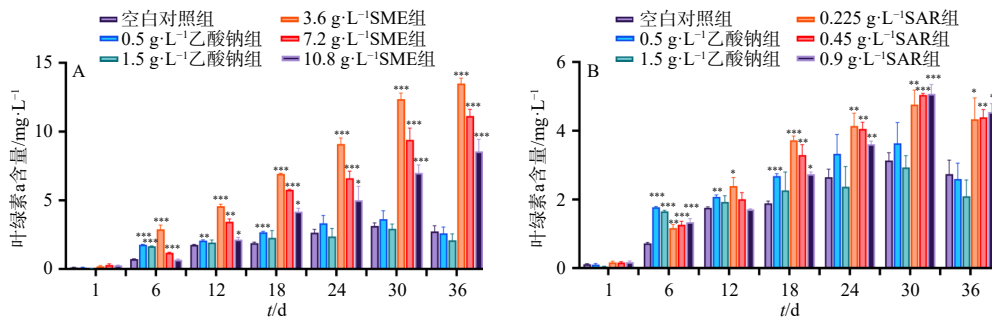
图2 SME(A)和 SAR(B)对淡水小球藻生物量的影响

Fig. 2 Effects of SME (A) and SAR (B) on biomass of *Chlorella* sp.

2.2 叶绿素 a、叶绿素 b 以及类胡萝卜素含量变化

浒苔提取物 (SME) 对光合色素合成的促进作用显著优于铜藻提取物 (SAR) 与乙酸钠组 (图 3、图 4、图 5)。

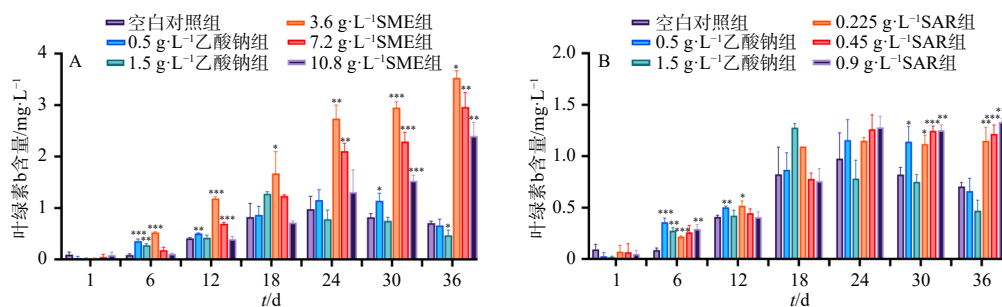
Chl a 合成方面 (图 3), 培养初期 (第 3 天) 多数处理组即与对照组差异显著 ($p < 0.05$)。至第 36 天, 0.36%、0.72%、1.08% SME 组分别达 13.5 mg/L、11.1 mg/L 和 8.6 mg/L, 提高至对照组的 5.0、4.1 和 3.2 倍 ($p < 0.001$)。乙酸钠组则在



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图3 SME(A)和 SAR(B)对淡水小球藻叶绿素 a 含量的影响

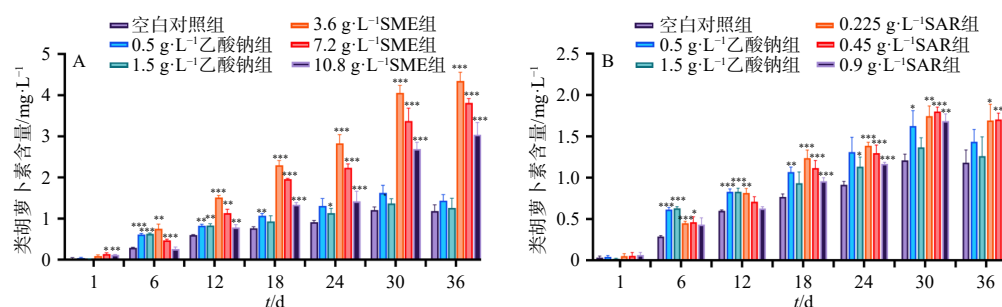
Fig. 3 Effects of SME (A) and SAR (B) on chlorophyll a content of *Chlorella* sp.



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图4 SME(A)和 SAR(B)对淡水小球藻叶绿素 *b* 含量的影响

Fig. 4 Effects of SME (A) and SAR (B) on chlorophyll *b* content of *Chlorella* sp.



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图5 SME(A)和 SAR(B)对淡水小球藻类胡萝卜素含量的影响

Fig. 5 Effects of SME (A) and SAR (B) on carotenoid content of *Chlorella* sp.

第24天后无显著促生效应($p > 0.05$), 而 SAR 组仅提升至 1.5 ~ 1.6 倍($p < 0.01$)。

Chl *b* 合成方面(图4), SME 组呈持续增长趋势, 第36天时, 3.6 g/L SME 组达 3.6 mg/L, 是对照组的 5.1 倍($p < 0.001$), SAR 组促生效应有限, 第30天后 Chl *b* 含量维持对照组的 1.6 ~ 1.9 倍($p < 0.01$), 乙酸钠组末期含量较峰值下降 12.3%($p < 0.05$)。

Car 合成方面(图5), SME 组在第36天达 4.3 mg/L、3.8 mg/L 和 3.0 mg/L, 为对照组的 3.7、3.2 和 2.6 倍($p < 0.001$), 而 SAR 组仅提高至 1.4 倍($p < 0.05$), 乙酸钠组与对照组无显著差异($p > 0.05$)。

综上所述, SME 通过持续调控光合色素代谢路径, 其促生效果显著优于 SAR 与乙酸钠组($p < 0.01$), 且呈现剂量依赖性和时间累积效应。

2.3 PS II 最大光化学量子产量的变化

本研究通过不同处理组对淡水小球藻光系统 II 最大光化学量子产量(F_v/F_m)的动态监测表

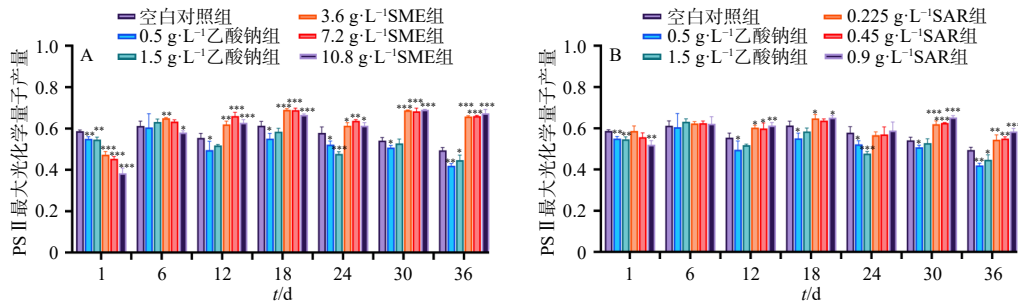
明(图6), 浒苔提取物(SME)对 F_v/F_m 具有显著剂量依赖性。培养中后期(第18~36天), SME 组 F_v/F_m 稳定维持在 0.66 ~ 0.70, 显著高于铜藻提取物(SAR)组的 0.62 ~ 0.66($p < 0.05$)。乙酸钠组则持续衰减, 第18天后 F_v/F_m 值持续低于对照组($\Delta = 0.05 - 0.08$, $p < 0.05$)。第36天, 所有处理组 F_v/F_m 均出现显著降低($p < 0.01$), 可能与光抑制或代谢产物积累相关。

2.4 总糖、可溶性蛋白以及总脂含量

通过不同添加剂对淡水小球藻总糖、可溶性蛋白及总脂积累的调控分析表明, 浒苔提取物(SME)对三类代谢产物的促生效果均显著优于铜藻提取物(SAR)和乙酸钠组(图7、图8、图9)。

总糖合成方面(图7), 3.6 g/L SME 组达 0.26 g/L, 是对照组的 7.1 倍($p < 0.001$), 显著高于乙酸钠组的 4.2 倍($p < 0.001$)和 SAR 组的 2.6 倍($p > 0.05$)。

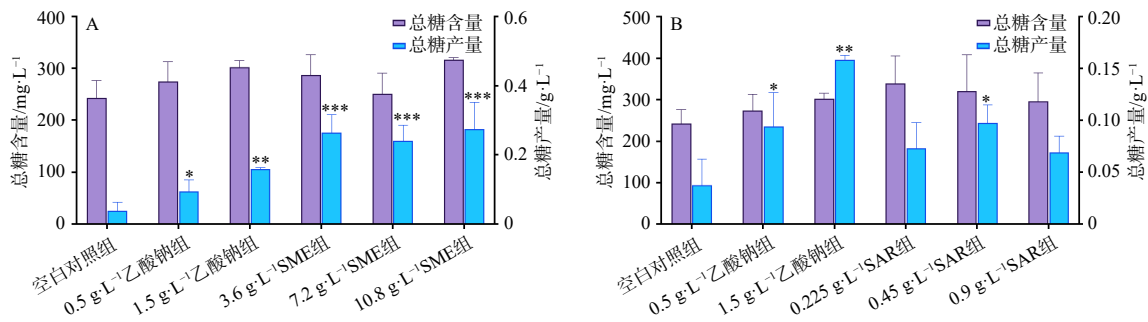
可溶性蛋白合成方面(图8), 7.2 g/L SME 组提升至对照组的 6.7 倍($p < 0.001$), 远超乙酸钠



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图6 SME(A)和SAR(B)对淡水小球藻PS II最大光化学量子产量的影响

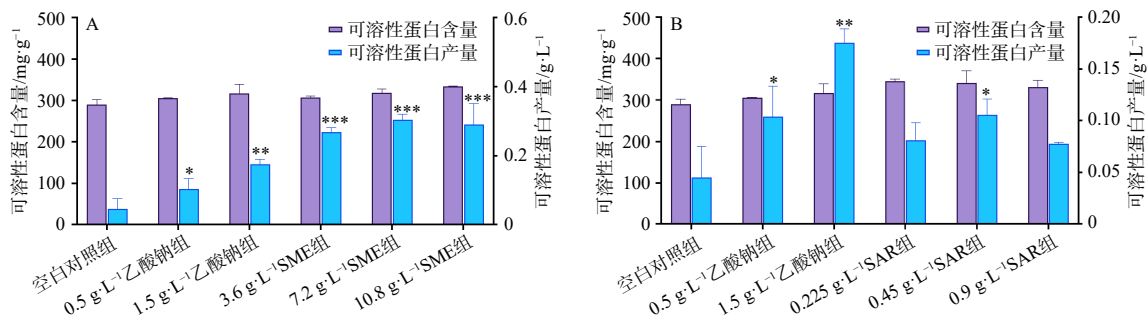
Fig. 6 Effects of SME (A) and SAR (B) on optimal/maximal quantum yield of PSII of *Chlorella* sp.



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图7 SME(A)和SAR(B)对淡水小球藻总糖含量和产量的影响

Fig. 7 Effects of SME (A) and SAR (B) on total sugar content and yield of *Chlorella* sp.



注: 与对照组比较, *代表 $p < 0.05$, **代表 $p < 0.01$, ***代表 $p < 0.001$

图8 SME(A)和SAR(B)对淡水小球藻可溶性蛋白含量和产量的影响

Fig. 8 Effects of SME (A) and SAR (B) soluble protein content and yield of *Chlorella* sp.

组的3.9倍($p < 0.01$)和SAR组的2.3倍($p < 0.05$),但三者对藻体蛋白质量分数均无显著调控($p > 0.05$)。

总脂积累方面(图9), 3.6 g/L SME组增加75.3%($p < 0.001$), 优于乙酸钠组的67.8%($p < 0.01$), 而SAR组促脂效应不显著(7.2%, $p > 0.05$)。

因此, SME对三类产物的协同促进作用显著优于乙酸钠组与SAR组($p < 0.01$), 且未因生物量稀释导致质量分数下降, 显示出高效定向调控潜力。

2.5 海藻提取物对小球藻促生机制的分析——提供营养物质

浒苔由于是水体富营养化的产物, 已经从海

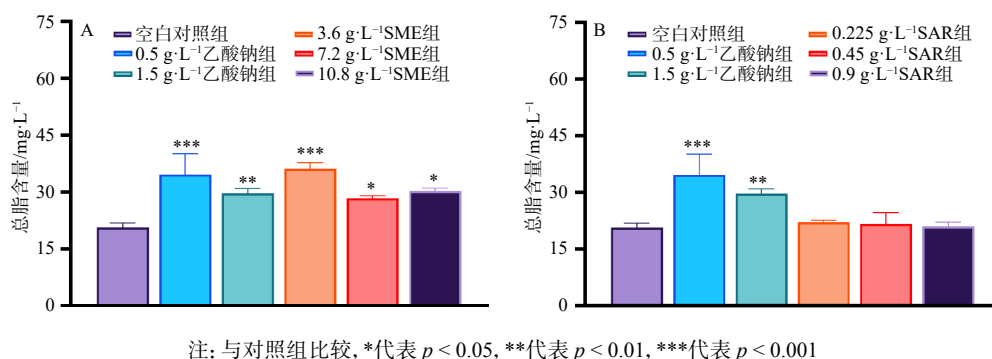


图9 SME(A)和SAR(B)对淡水小球藻总脂含量的影响

Fig. 9 Effects of SME (A) and SAR (B) on total lipid content of *Chlorella* sp.

水中吸取大量的营养物质。海藻提取物中含有可溶性糖、氨基酸、激素、大量元素以及微量元素,这些成分可直接参与微藻碳氮代谢关键过程^[22]。本研究发现,浒苔提取物(SME)可显著提升淡水小球藻光合色素含量,0.36%浓度组叶绿素 a 含量达到对照组的5倍($p < 0.001$)。C、N、P、Mg²⁺、Fe²⁺等元素协同增强光合作用效率,进一步促进叶绿素合成^[23]。海藻肥料中的生长调节激素,如生长素、赤霉素、细胞分裂素等,也在促进植物生长中发挥重要作用。这些激素增强了营养物质的吸收,调节植物生长,如生长素可促进光合磷酸化,增强光合作用反应强度^[24]。而本研究中SME组Fv/Fm值稳定维持(0.66 ~ 0.70),显著高于SAR组(图6),表明其通过激素调控增强了光系统II稳定性,进而促进光合色素合成。

此外,海藻提取物中的植物激素(如生长素、赤霉素等)不仅调控光合系统稳定性,还通过增强营养吸收与代谢活动促进微藻生长^[25]。外施植物激素对微藻的促生效应已获实验验证^[26],而海藻提取物的复合效应更为显著。研究表明,海藻提取物中的营养物质可进入细胞并在液泡内积累,通过激活代谢活动促进受试植物的生物量增加^[27]。而本研究中添加SME和SAR之后,可以看到小球藻生物量的明显提高:7.2 g/L SME组生物量达对照组的6.2倍,0.45 g/L SAR组生物量为对照组的2倍。这一结果与Zheng等^[28]利用海带提取物提升小球藻(*Chlorella* sp.)生物量的结论一致。

同时,海藻提取物可在微藻体内引发级联反

应,改善整体生长。培养结束后,添加不同浓度海藻提取物以及乙酸钠的淡水小球藻总糖、可溶性蛋白及总脂含量均显著提高。例如,添加3.6 g/L的SME,总糖产量可达对照组的7.1倍。这可能归因于海藻中的季铵化合物(如甘氨酸甜菜碱)^[29],提高了光同化作用率并通过促进碳固定途径驱动碳水化合物积累^[30]。添加0.72 g/L SME时,可溶性蛋白产量达3.0 g/L(提高至对照组的6.7倍,图8),总脂含量提升75.3%,推测与海藻提取物中的海藻糖协同激活氮代谢(氨基酸合成)和脂质合成途径有关^[31]。这一结果与Abarna等^[32]的研究形成对比,其使用长心卡帕藻(*Kappaphycus alvarezii*)提取液仅使微藻蛋白质含量提升25%。

值得注意的是,海藻提取物中的单一组分无法替代其整体作用,提取物内各组分通过协同调控代谢网络引发微藻系统的全局响应,而每个组分可能单独或相互作用地影响各种代谢网络^[33]。

2.6 海藻提取物对小球藻促生机制的分析——消除抑藻效应

与前人研究对比发现,不同海藻提取物对微藻的作用效果存在显著差异。本实验中,采用亚临界水提法(120 °C, 116 kPa)制备的浒苔提取物对淡水小球藻生长呈现显著促生效应,而在前人的研究中,浒苔低温提取物对米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)等均有抑制作用^[34],间接表明高温处理可能消除此类物质的影响。这种差异主要是由于浒苔中存在的 α -亚麻酸等抑藻物质在高温下被破坏^[35]。本研究中,浒苔提取

物组的 F_v/F_m 从初始 0.52 升至 0.68(图 6), 且未观察到生长抑制现象, 间接表明高温处理可能消除此类物质的影响。

海藻抑藻成分的热稳定性差异是决定提取工艺的关键因素。除了 α -亚麻酸, 其他大型海藻的抑藻物质如海头红(*Plocamium hamatum*)中的单萜、大叶藻属(*Zostera marina*)中酚酸类化合物、江蓠(*Gracilaria verrucosa*)中的亚油酸^[36], 均不耐高温。此外, 多数抑藻物质为脂溶性, 可通过水提工艺部分去除。例如, 喇叭藻(*Turbinaria ornata*)乙醇提取液比水提液对赤潮藻的生殖活力和营养子代细胞的杀伤效果更强^[37]。

本研究首次将藻华生物与亚临界提取工艺结合, 与 Akalya 等^[38]采用常温提取的肠浒苔(*Ulva intestinalis*)提取物仅使海洋微藻(*Picochlorum maculatum*)生物量提升 3.1 倍相比, 本研究的浒苔提取物效果显著更优(6.2 倍)。该工艺通过高温高压协同作用, 既提高了活性成分释放效率, 又破坏了抑藻成分, 突破了传统工艺的局限性。

2.7 浒苔、铜藻提取物以及乙酸钠的性能差异分析

铜藻提取物效果较弱可能因其细胞壁含纤维素-褐藻胶复合物^[39], 其致密结构限制了营养

释放, 且铜藻提取液(深棕色)较浒苔提取液(黄绿色)具有更高的吸光度, 可能通过遮光效应抑制小球藻光合作用。乙酸钠则因高浓度毒性抑制原叶绿素酸酯转化以及叶绿素合成基因表达, 其代谢主要驱动脂质合成, 对蛋白和多糖促进较弱^[40]。本研究中, 0.15% 乙酸钠组自第 9 天起叶绿素 a 、 b 及类胡萝卜素含量均低于 0.05% 组, 且培养中期 F_v/F_m 值大幅下降至低于对照组(图 6), 这与高浓度乙酸钠抑制光合色素合成的机制一致。而海藻提取物中含有丰富的碳、氮、磷及微量元素^[41], 因此推测 SME 通过同步提供这些元素从而激活多代谢通路协同, 使小球藻摆脱对传统培养基的依赖(可溶性蛋白产量 1.76 g/L vs SME 组 3.0 g/L, 图 8)。此外, 高浓度乙酸钠的代谢副产物(如乙酸自由基)会抑制叶绿体发育^[42], 而浒苔提取液在最高浓度(10.8 g/L)下未表现出毒性。

如图 2 所示, 对照组生物量为 154.4 mg/L, 1.5 g/L 乙酸钠组提升至 556.7 mg/L, 而 7.2 g/L SME 组达 953.3 mg/L, 分别为对照组的 3.6 倍和 6.2 倍($p < 0.01$)。结合表 1 的成本分析, SME 组单位生物量成本(0.29 元/g)较乙酸钠组降低 32%, 较 BBM 培养基降低 78%, 证实亚临界法提取物兼具高效性与经济性。

表 1 与传统培养基的经济性对比

Tab.1 Comparison of the economical aspects with traditional culture medium

培养基类型	成本/元·吨 ⁻¹	淡水小球藻生物量/ g·L ⁻¹	单位生物量成本/元·g ⁻¹	数据来源
商用BBM培养基(2000x)	400 000	0.154	1.30	本实验所购买的培养基价格以及本实验数据 本实验数据 乙酸钠价格参照品牌Greagent, 其余来自本实验数据
浒苔提取物(7.2 g/L)	10 606	0.953	0.29	
无水乙酸钠(1.5 g/L)	28 800	0.56	0.43	

2.8 应用潜力与挑战

本研究通过亚临界水提法将藻华生物浒苔与铜藻转化为高效微藻培养基, 该技术在环境治理、微藻产业化及农业可持续发展等领域展现出重要的应用潜力。

每年黄海绿潮与金潮爆发产生数百万吨藻华生物, 传统打捞处置需耗费大量人力财力, 且堆积腐烂易引发二次污染(如硫化氢释放)。本研究通过亚临界法将藻华转化为高附加值培养基, 构建了“以藻治藻”的闭环治理模式, 有效

减少了生态灾害。浒苔提取物所获的单位生物量成本较商用 BBM 培养基成本降低了 78%。以年产万吨级小球藻的工厂为例, 可节省培养基成本超 5000 万元, 显著提升微藻生物能源、食品及医药产品的市场竞争力。

此外, 该研究的规模化应用可构建“藻华资源→亚临界提取→微藻培养基→高附加值产物→农业肥料→近海生态修复”的产业闭环, 形成资源高效循环链条, 从而带动区域经济发展。以江苏、山东等藻华频发省份为例, 建设藻华资源化

处理中心,能够创造诸如藻类采集、提取液加工等众多就业岗位,为沿海地区的乡村振兴提供有力支持。

本研究为黄海藻华治理与微藻产业化的协同发展提供了创新性解决方案。通过低成本、高效率的亚临界水提工艺,缓解近海生态压力,推动微藻衍生食品、能源及农业产品的商业化进程,助力我国海洋经济绿色转型与“双碳”目标实现。未来需进一步开展规模化验证与全生命周期评估(LCA),加速技术落地。

3 结论

(1)浒苔提取物对淡水小球藻的促生效应显著:添加 3.6 g/L 浒苔提取物(SME)时,藻液生物量、叶绿素 *a* 及类胡萝卜素含量分别达到对照组的 5.7 倍、5.0 倍和 3.7 倍,总糖、可溶性蛋白产量提升至 7.1 倍与 6.7 倍,其效果显著优于铜藻提取物及传统碳源乙酸钠组。

(2)资源化与产业化潜力: SME 所获小球藻单位生物量成本降低了 78%,为构建“藻华治理-资源提取-微藻培养”的绿色闭环模式提供了技术支撑。

参考文献:

- [1] ZHANG Y Y, HE P M, LI H M, et al. *Ulva prolifera* green-tide outbreaks and their environmental impact in the Yellow Sea, China[J]. *National Science Review*, 2019, 6(4): 825-838.
- [2] 网易. 2024 年江苏浒苔登滩量 597 吨,比去年少 949 吨[EB/OL]. (2024-07-19)[2025-02-22]. <https://www.163.com/dy/article/J7G542JU053469KC.html>.
- [3] 冯睿哲. 一体化两相厌氧发酵强化浒苔产氢产甲烷研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学, 2022.
- [4] ABDEL-KAREEM M S, MOHY EL DIN S M, IBRAHIM E S M. Optimization of growth conditions and biochemical composition of *Microchloropsis salina*, cultured with three macroalgal aqueous extracts[J]. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 2020, 36(2): 415-429.
- [5] JIANG F, LI L X, TIAN Y, et al. *Enteromorpha prolifera* polysaccharide-derived injectable hydrogel for fast intraoperative hemostasis and accelerated postsurgical wound healing following tumor resection[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2024, 13(10): 2303456.
- [6] 马 栋, 刘海燕, 单俊伟, 等. 海带与浒苔混合提取液对草莓生长及品质的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2017(5): 129-134.
- [7] 青岛海大生物集团. 科技创新 行业引领: 第 38 届全国植保双交会, 海大生物引领行业新风尚[EB/OL]. (2024-11-28)[2025-03-25]. <https://www.coub.cn/news/185.html>.
- [8] ZHANG N, CHU R W, ZHANG N N, et al. Seaweed fertilizer improved drought tolerance of tomato seedlings in sandy soil[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2023, 46(16): 3869-3880.
- [9] VAGHELA P, DAS A K, TRIVEDI K, et al. Characterization and metabolomics profiling of *Kappaphycus alvarezii* seaweed extract[J]. *Algal Research*, 2022, 66: 102774.
- [10] NAGAYAMA K, SHIBATA T, FUJIMOTO K, et al. Algicidal effect of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome* on red tide microalgae[J]. *Aquaculture*, 2003, 218(1/2/3/4): 601-611.
- [11] NING Y D, LIU X J. RETRACTED: *Enteromorpha* hydrolysate as carbon source for fatty acids production of microalgae *Schizochytrium* sp.[J]. *Energy*, 2020, 203: 117900.
- [12] 王 晔, 姜永江, 龚芳芳, 等. 浒苔多糖的分离纯化及其结构和抗氧化活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(12): 66-72.
- [13] 崔 峰, 涂文斌, 王亦冰, 等. 绿潮藻浒苔对赤潮藻中肋骨条藻化感抑制作用初探[J]. *热带海洋学报*, 2014, 33(5): 28-34.
- [14] CASTELLANOS-BARRIGA L G, SANTACRUZ-RUVALCABA F, HERNÁNDEZ-CARMONA G, et al. Effect of seaweed liquid extracts from *Ulva lactuca* on seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*)[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2017, 29(5): 2479-2488.
- [15] ALBOOFETILEH M, REZAEI M, TABARSA M, et al. Effect of different non-conventional extraction methods on the antibacterial and antiviral activity of fucoidans extracted from *Nizamuddinina zanardinii*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 124: 131-137.
- [16] JOUN J, SIROHI R, SIM S J. The effects of acetate and glucose on carbon fixation and carbon utilization in mixotrophy of *Haematococcus pluvialis*[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 367: 128218.
- [17] CHENG J, FAN W X, ZHENG L G. Development of a mixotrophic cultivation strategy for simultaneous improvement of biomass and photosynthetic efficiency in freshwater microalga *Scenedesmus obliquus* by adding appropriate concentration of sodium acetate[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2021, 176: 108177.
- [18] LICHTENTHALER H K, BUSCHMANN C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV - VIS spectroscopy[J]. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001, 1(1): F4.3. 1-F4.3. 8.
- [19] GENTY B, BRIANTAIS J M, BAKER N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1989, 990(1):

- 87-92.
- [20] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28(3): 350-356.
- [21] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [22] SUJEETH N, PETROV V, GUINAN K J, et al. Current insights into the molecular mode of action of seaweed-based biostimulants and the sustainability of seaweeds as raw material resources[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(14): 7654.
- [23] ABREU A P, FERNANDES B, VICENTE A A, et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 118: 61-66.
- [24] ROSYIDA E, HARRIS E, SUPRIYONO E, et al. Pengkayaan nutrisi dan teknologi budidaya pascapanen untuk meningkatkan kualitas gracilaria verrucosa[D]. Kota Hujan: IPB University, 2014.
- [25] SATI H, CHOKSHI K, SOUNDARYA R, et al. Seaweed-based biostimulant improves photosynthesis and effectively enhances growth and biofuel potential of a green microalga *Chlorella variabilis*[J]. *Aquaculture International*, 2021, 29(3): 963-975.
- [26] HUNT R W, CHINNASAMY S, BHATNAGAR A, et al. Effect of biochemical stimulants on biomass productivity and metabolite content of the microalga, *Chlorella sorokiniana*[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 162(8): 2400-2414.
- [27] SHAH S, LI X L, JIANG Z Y, et al. Exploration of the phytohormone regulation of energy storage compound accumulation in microalgae[J]. *Food and Energy Security*, 2022, 11(4): e418.
- [28] ZHENG S Y, HE M L, JIANG J, et al. Effect of kelp waste extracts on the growth and lipid accumulation of microalgae[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 201: 80-88.
- [29] 宋若晗, 陆长坤, 曲克明, 等. 海洋藻类中甘氨酸甜菜碱的浓度特征与影响因素综述 [J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(21): 19-26.
- [30] LAYEK J, DAS A, RAMKRUSHNA G I, et al. Seaweed sap: a sustainable way to improve productivity of maize in North-East India[J]. *International Journal of Environmental Studies*, 2015, 72(2): 305-315.
- [31] HUANG L M, RUAN L R, GUO Y W, et al. The effect of trehalose on the contents of starch and oil in microalga *Dunaliella parva*[J]. *Algal Research*, 2024, 81: 103600.
- [32] ABARNA K M, VELU R, P P, et al. Effect of seaweed-based liquid extracts on biomass production and lipid accumulation in *Nannochloropsis oculata* and *Dunaliella salina*[J]. *Turkish Journal of Botany*, 2022, 46(4): 361-378.
- [33] MALAGUTI D, ROMBOLÀ A D, GERIN M, et al. Effect of seaweed extracts-based leaf sprays on the mineral status, yield and fruit quality of apple[J]. *Acta Horticulturae*, 2002(594): 357-359.
- [34] 崔峰. 浒苔对赤潮微藻的化感抑制作用以及化感物质的结构鉴定 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
- [35] 孙颖颖, 刘筱潇, 王长海. 浒苔提取物对4种赤潮微藻生长的抑制作用 [J]. *环境科学*, 2010, 31(6): 1662-1669.
- [36] 孙颖颖, 张乃胜, 毛奕淋, 等. 大型海藻代谢产物对赤潮微藻的抑藻活性分析 [J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(2): 9-18.
- [37] MOHAMED Z, ALAMRI S, HASHEM M. Inhibitory effects of the brown macroalga *Turbinaria ornata* on cyst germination and progeny cells of five harmful dinoflagellate species[J]. *Oceanologia*, 2022, 64(1): 63-74.
- [38] AKALYA K, KUMAR S D, MANIGANDAN G, et al. The Influence of the macroalgae liquid extracts on the pigments and fatty acids profile of the marine microalga, *Picochlorum maculatum* (PSDK01)[J]. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 2022, 38(1): 553-564.
- [39] AWANTHI M G G, UMOSA M, YUGUCHI Y, et al. Fractionation and characterization of cell wall polysaccharides from the brown alga *Cladosiphon okamuranus*[J]. *Carbohydrate Research*, 2023, 523: 108722.
- [40] YU X L, YE X, HU C Y, et al. Sodium acetate can promote the growth and astaxanthin accumulation in the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis* as revealed by a proteomics approach[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2022, 40(5): 2052-2067.
- [41] ČMIKOVÁ N, GALOVIČOVÁ L, MIŠKEJE M, et al. Determination of antioxidant, antimicrobial activity, heavy metals and elements content of seaweed extracts[J]. *Plants*, 2022, 11(11): 1493.
- [42] PENG S T, CAO Y Q, XIE Z J, et al. Effects of sodium acetate and ammonium acetate on the growth and production of cellular components of *Chlorella vulgaris* 31[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2024, 36(1): 1-14.

(本文编辑: 曲丽梅)