

碳酸氢钠培养体系中聚球藻生长-pH 协同机制及预测模型研究

许云童 于归源 冯敏 曹稳 魏雯雯 郭烈锦

(西安交通大学动力工程多相流国家重点实验室, 710049, 西安)

摘要: 传统微藻培养监测依赖光密度测量等成本高昂的技术手段, 缺乏简便可靠的在线监测技术。本研究建立了基于pH特征的微藻生长预测模型, 为实现低成本、非侵入式的培养过程智能监控提供了新的技术路径。通过分析不同初始接种浓度 ($0.1-1.3 OD_{730}$)、光照强度 ($14-181 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 和碳酸氢钠浓度 ($25-125 \text{ mM}$) 对生长与pH动态的影响, 发现生物量积累与培养液碱化过程高度同步规律, 生长限制主要来自pH升高导致无机碳形态由 HCO_3^- 向 CO_3^{2-} 转化引起的可利用碳下降。基于此发现, 构建了Logistic数学模型以描述生物量与pH的响应关系, 15组条件下拟合优度 R^2 值均 >0.98 , 拐点pH稳定在 $9.5-9.8$, 且该范围对应碳源可利用性转折点。进一步建立了多因子耦合模型, 并在两组独立实验中获得较好预测效果 ($R^2_{\text{pred}}=0.886-0.988$, $\text{MAE}=0.044-0.118$)。营养代谢分析揭示了无机碳消耗与硝态氮消耗的显著相关性, 表明了碳氮代谢的协同机制; 脂质代谢研究表明, 聚球藻脂质含量在 $13.0-18.7\%$ 范围内变化, 脂肪酸组成以C16: 0和C16: 1为主 (占 $75-85\%$)。通过多目标优化分析, 得到较优条件为 $97 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度、 $0.1-0.4$ 初始接种密度和 $25-50 \text{ mM}$ 碳源浓度。本研究为基于pH在线监测的微藻培养过程预测与调控提供了模型基础。

关键词: 微藻培养; pH监测; 生长模型; 营养代谢; 脂质积累

中图分类号: TK6 文献标志码: AA

文章编号: 0253-987X(XXXX)XX-0001-19

Growth-pH Synergistic Mechanism and Predictive Model of *Synechococcus* in Sodium Bicarbonate Culture System

XU Yuntong, YU Guiyuan, FENG Min, CAO Wen, WEI Wenwen, GUO Liejin

(State Key Laboratory of Multiphase Flow Engineering, Xi'an Jiaotong University,
Shaanxi, Xi'an 710049, China)

Abstract: Traditional microalgae cultivation monitoring relies on costly techniques such as optical density measurement, lacking convenient and reliable online monitoring approaches. This study established a pH-based predictive model for microalgal growth, offering a novel technical pathway toward low-cost, non-invasive intelligent process monitoring. By systematically investigating the effects of initial inoculation density ($0.1-1.3 OD_{730}$), light intensity ($14-181 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), and sodium bicarbonate concentration ($25-125 \text{ mM}$) on the growth and pH dynamics of *Synechococcus* sp., a highly

收稿日期: XXXX-XX-XX。

synchronous relationship between biomass accumulation and culture medium alkalization was identified. Growth limitation was primarily attributed to the decline in bioavailable carbon resulting from the pH-driven shift of the dominant inorganic carbon species from HCO_3^- to CO_3^{2-} , rather than direct pH inhibition. Based on this finding, a Logistic mathematical model was constructed to quantitatively describe the sigmoidal response between biomass and pH, achieving coefficients of determination (R^2) exceeding 0.98 across all 15 experimental conditions, with the inflection-point pH consistently stabilizing within the range of 9.5–9.8, a region corresponding to the critical transition in carbon bioavailability. A multi-factor coupled model was further developed by integrating the effects of inoculation density, light intensity, and carbon source concentration, and validated against two independent experiments, yielding satisfactory predictive performance ($R^2_{\text{pred}}=0.886\text{--}0.988$, $\text{MAE}=0.044\text{--}0.118$). Nutrient metabolism analysis revealed a significant correlation between inorganic carbon consumption and nitrate uptake, indicating a synergistic carbon–nitrogen metabolic mechanism. Lipid metabolism investigation showed that the total lipid content of *Synechococcus* ranged from 13.0% to 18.7%, with the fatty acid profile dominated by C16:0 and C16:1 (accounting for 75–85% of total fatty acids). Through multi-objective optimization, the favorable cultivation conditions were determined as a light intensity of $97\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, an initial inoculation density of 0.1–0.4 OD_{730} , and a carbon source concentration of 25–50 mM. This study provides a robust model foundation for pH-based online monitoring, prediction, and regulation of microalgal cultivation processes.

Keywords: microalgae cultivation; pH monitoring; growth model; nutritional metabolism; lipid accumulation

随着全球能源危机和气候变化问题的日益严峻,寻找可再生的清洁能源和环境友好的生物技术已成为国际社会的共同目标^[1-3]。微藻作为一类光合自养的单细胞微生物,具有生长周期短、环境适应性强、生物量产出高等优势,在生物燃料、功能食品、环境修复和碳减排等领域展现出巨大的应用潜力^[4-6]。近年来,微藻培养技术发展了多种模式如开放式池塘培养、封闭式反应器培养等,微藻产业化生产已具备了初步的技术基础,但仍面临培养成本高、产量不稳定、品质控制困难等关键技术瓶颈^[7-8]。其核心挑战在于如何通过精准化、智能化的手段实现对复杂培养过程的高效稳

定控制^[9]。

微藻培养过程的复杂性主要体现在多重生物学过程的交互作用上,涉及光合作用、营养代谢、环境响应等多方面因素。现有的生长预测模型大多基于单一因素考量,如光照限制模型、营养限制模型等,难以全面反映培养过程的实际复杂性^[10-11]。更为关键的是,传统的生长监测方法如光密度测量、称重法、叶绿素检测等存在成本高昂或操作复杂的问题,限制了其在工业化生产中的应用。pH作为微藻光合固碳过程的重要指示参数^[12],与生物量积累存在紧密的内在联系。相比其他监测手段,pH测量技术成熟、成本低廉、易于实现在线

监测。因此,建立能够定量描述生物量与pH耦合关系的数学模型,发展基于pH监控的微藻生长预测方法,是实现培养过程智能化控制的关键技术突破点。

除生长监测外,微藻培养过程中的营养代谢模式和脂质积累特征同样缺乏定量化描述。氮、磷、硫、碳等主要营养元素的消耗规律直接反映细胞的生理状态,但目前对不同培养条件下营养消耗模式的系统性认知有限^[7]。脂质代谢作为微藻应用价值的核心所在,其含量和脂肪酸组成直接决定生物燃料的产量和品质特性^[13-14]。研究表明,培养条件不仅影响脂质积累量,更对脂肪酸的链长分布和不饱和度产生显著调控作用,但多因子协同调节脂质代谢的机制仍需深入阐明^[15]。

基于上述科学挑战,本研究以pH为核心特征参数,通过构建Logistic函数的生物量-pH关系数学模型,系统分析初始接种浓度、光照强度和碳源浓度等关键培养因子对微藻生长动力学、培养液碱化规律、营养离子消耗模式以及脂质代谢特征的调控机制。研究旨在建立定量化的培养过程分析方法,确定协同优化的培养参数组合,为开发基于pH监控的智能化培养系统提供理论基础,对推进微藻生物技术的产业化发展具有重要意义。

1 试验方法及研究方案

1.1 微藻菌株及培养条件

本研究所使用微藻为聚球藻(*Synechococcus* sp., FACHB-805),来源于中国科学院水生生物研究所。实验所用培养基为BG11^[16],所有培养基使用前均经高温除菌处理(121 °C,持续30 min)。碳源以碳酸氢钠(NaHCO_3)形式添加至培养基中,并经0.22 μm 滤膜除菌后加入。实验采用250 mL锥形瓶作为反应器,工作体积为100 mL。所有培养均在30 °C的恒温摇床(150 rpm)中进行,以确保培养液充分混合。本研究采用螺口锥形瓶进行封闭培养,但在取样检测时需短暂开启瓶口。取样时在超净工作台的无菌条件下打开培养瓶,使用无菌枪头取出1.5 mL藻液,整个取样过程约1-2 min内完成。取样后立即旋紧瓶盖继续培养,取出的样品用于 OD_{730} 测定与pH测量。光照条件由LED平板灯(冷白光)提供,保持恒定连续光照,光照强度由照度计(型号:TES-1330A, TES Electrical Electronic Corp., 中国台湾)测得,并根据转换系数($72 \text{ lux} \approx 1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)统一换算为光子通量密度($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)^[17]。

1.2 生长与理化参数测定

微藻生长情况通过光密度(OD_{730})进行表征,通过紫外-可见分光光度计(型号:DR6000, HACH, 美国)在730 nm波长下测定。培养液的pH值

使用实验室台式 pH 计（型号：FE28-Standard, METTLER TOLEDO, 瑞士）进行检测，仪器在使用前均通过标准缓冲液进行校准。

当微藻生长曲线显示 OD_{730} 值连续下降超过 24 小时，判定为培养周期结束，此时收集培养液样本进行后续分析。离心（8000 rpm, 5 min）去除藻细胞后，上清液经 0.45 μm 滤膜过滤。滤液中硝酸根（ NO_3^- ）、磷酸根（ PO_4^{3-} ）和硫酸根（ SO_4^{2-} ）的含量通过离子色谱仪（型号：940 Professional, Metrohm, 瑞士）进行测定，色谱柱、流动相及其他参数均按照厂家推荐标准进行设置。总无机碳（TIC）含量采用总有机碳分析仪（型号：vario TOC cube, Elementar, 德国）测定，通过样品酸化使 TIC 转化为 CO_2 后进行红外检测。营养离子平均消耗速率（ $Rate_{ion}$ ）计算公式如下。

$$Rate_{ion} = \frac{Con_i - Con_f}{Growth\ period} \quad (1)$$

式中： Con_i 表示离子的初始浓度； Con_f 表示离子的最终浓度； $Growth\ period$ 表示一个培养周期。

1.3 脂质含量与脂肪酸组成分析

微藻总脂质的提取和含量测定采用经典 Folch 法^[18]。取 50 mL 藻细胞悬浮液离心（8000 rpm, 10 min）收集藻泥，经冷冻干燥后称取细胞干重。向干燥的细胞中加入氯仿-甲醇（2:1, v/v）混合液进行超声提取（功率 500 W，

10 min），重复提取两次。合并有机相，使用旋转蒸发仪在真空条件下除去溶剂，所得粗脂样品称重，计算脂质含量占细胞干重的百分比（w/w%）。计算公式如下。

$$Lipid\ content = \frac{Lipids\ weight}{Dry\ weight} \quad (2)$$

提取的粗脂样品通过酯交换反应制备脂肪酸甲酯（FAME）^[19]。具体步骤为：将粗脂溶解于含有 1% 硫酸的甲醇溶液中，并在 80 °C 下反应 2 h。反应结束后，加入正己烷和 5% 氯化钠溶液进行液-液萃取，取上层有机相。随后使用 2% 碳酸氢钾溶液对有机相进行洗涤，并用无水硫酸钠进行干燥。最后，通过旋转蒸发除去溶剂，获得纯化的 FAME 样品。

制备的 FAME 样品采用气相色谱-氢火焰离子化检测器（GC-FID，型号：Agilent 7820, Agilent Technologies, 美国）进行分析。色谱条件设置如下：进样口和检测器温度分别设定为 240 °C 和 250 °C，载气为氦气（流速 33 mL/min），进样量 1 μL ，分流比 30:1。程序升温条件为：50 °C 保持 5 min，以 10 °C/min 的速率升至 195 °C 并保持 10 min，再以 5 °C/min 的速率升至 210 °C 并保持 10 min。脂肪酸组分通过与 Supelco 37 种脂肪酸甲酯标准品（Sigma-Aldrich, 美国）的保留时间与峰面积进行对比以进行定性定量。

1.4 实验设计

本研究设计了三组单因素梯度实

验,以探究初始接种浓度 (OD_{730} : 0.1、0.4、0.8、1.0、1.35)、光强 (14、56、97、139、181 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 和碳酸氢钠浓度 (25、50、75、100、125 mM) 对聚球藻生长、pH变化、营养离子消耗和脂质积累的影响。具体实验方案详见表1。此外,为检验模型的泛化预测能力,在表1所列15组建模实验之外,补充了两组独立验证实验: Test 1: 初始接种浓度 0.30, 光强 83 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 碳酸氢钠浓度 60 mM; Test 2: 初始接

种浓度 0.60, 光强 125 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 碳酸氢钠浓度 90 mM。验证实验不参与模型参数拟合,仅用于外部预测误差评估。

每组实验均设置三个生物学重复,在整个培养周期内,每12小时取样一次,测定培养液的 OD_{730} 与 pH 值。当 OD_{730} 连续下降超过24小时时,判定为一个生长周期结束。在培养结束时,收集样品用于营养盐和脂质含量的测定。

表1 聚球藻培养单因素实验设计方案

Table 1 Single-factor experimental design for *Synechococcus* cultivation

方案	命名	初始接种浓度 (OD_{730})	光照强度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	碳酸氢钠浓度/mM
1	A0.1	0.1	97	50
2	A0.4	0.4	97	50
3	A0.8	0.8	97	50
4	A1.0	1.0	97	50
5	A1.3	1.3	97	50
6	L14	0.5	14	50
7	L56	0.5	56	50
8	L97	0.5	97	50
9	L139	0.5	139	50
10	L181	0.5	181	50
11	C25	0.5	97	25
12	C50	0.5	97	50
13	C75	0.5	97	75
14	C100	0.5	97	100
15	C125	0.5	97	125

2 结果与讨论

2.1 微藻生长与碱化特征的协同变化

本研究系统考察了初始接种浓度、

光照强度和碳酸氢钠浓度对聚球藻生长与培养液 pH 的影响 (图1)。结果表明,这三种培养参数对聚球藻生长均表现出显著的调控作用,同时发现,在不同培养条件下,聚球藻生长曲线与pH

变化曲线呈现出高度的协同变化规律,即生长旺盛期对应pH快速上升期,生长停滞期对应pH稳定期。

初始接种浓度对聚球藻生长呈现出双重效应。低接种组 ($OD_{730}=0.1$) 因起始细胞量不足导致生物量积累缓慢,而适中接种浓度 (0.4-0.8) 时最大生物量显著提升,表明适度提高接种密度有利于生物量积累。然而,当接种浓度进一步增至 1.0 和 1.3 时,最大OD值趋于稳定 (1.70-1.76),这一现象主要归因于高密度培养条件下的光屏蔽效应限制了光能的有效利用^[20]。同时由于细胞数量的增加,培养基中的氮、磷和无机碳等养分也会更快地被消耗,会更快的进入稳态期。除高密度条件下的光屏蔽效应降低瓶内有效光强外,连续光照下光合作用产生的 O_2 在培养体系中逸散受限,可能导致溶解氧累积甚至过饱和,从而对光合效率产生抑制^[21]。因此,高接种密度条件下生长停滞可能由光限制与气液传质限制共同作用导致。

光照强度对聚球藻生长的调控作用最为显著,呈现典型的光响应特征。极低光强 ($14 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 条件下,聚球藻生长极为缓慢,生长周期长达约 15 天,最大OD值仅为 1.29。而当光强提升至 $56\text{-}97 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,生长状况得到显著改善,最大生物量可达 1.47-1.50。但是,过高的光强 (139 和 $181 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 则引发了光抑制,导致后期生长衰退,表明强光胁迫破坏了细胞的光合生理平衡^[22-23]。

碳酸氢钠浓度在试验范围内表现出对生长的持续的促进效应。随着碳源浓度从 25 mM 增至 125 mM,不仅最大生物量逐步提升 (最高达 1.78),培养周期也相应延长。此外,高碳源浓度组表现出更平缓的pH上升趋势,有效维持了培养体系的pH稳定。

通过生长曲线与pH动态变化的联合分析,聚球藻生长与培养液碱化具有一定的同步性。这一现象的机理在于,微藻光合作用过程中消耗溶液中的碳酸氢根离子 (HCO_3^-) 并释放氢氧根离子 (OH^-),从而导致培养液碱化^[24],pH上升速率与光合固碳强度直接相关。光照组实验很好地验证了这一机制:光合活性受到光强调控,光强越强,生长速率和pH增长速率均相应加快。

进一步分析表明,微藻生长进入限制期的主要原因并非培养液过度碱化本身,而是pH变化导致的无机碳可利用性降低。碳酸氢钠梯度实验的结果支持这一推论:培养初期 (1-2 天) 各处理组的生长速率基本一致,尽管此时pH已跨越较大范围 (9.16-9.73);此外,聚球藻表现出较强的碱性耐受性,在pH 9-11 范围内仍能维持基本生理活动。因此,pH升高通过改变无机碳的化学形态间接限制微藻生长:当 $\text{pH} < 10$ 时, HCO_3^- 占主导地位且被微藻高效利用;而当 $\text{pH} > 10$ 时,碳酸根离子 (CO_3^{2-}) 成为主要形式^[25],但多数微藻对 CO_3^{2-} 的利用效率远低于 HCO_3^- ,最终导致碳源可利用性成为生长的限制

瓶颈。

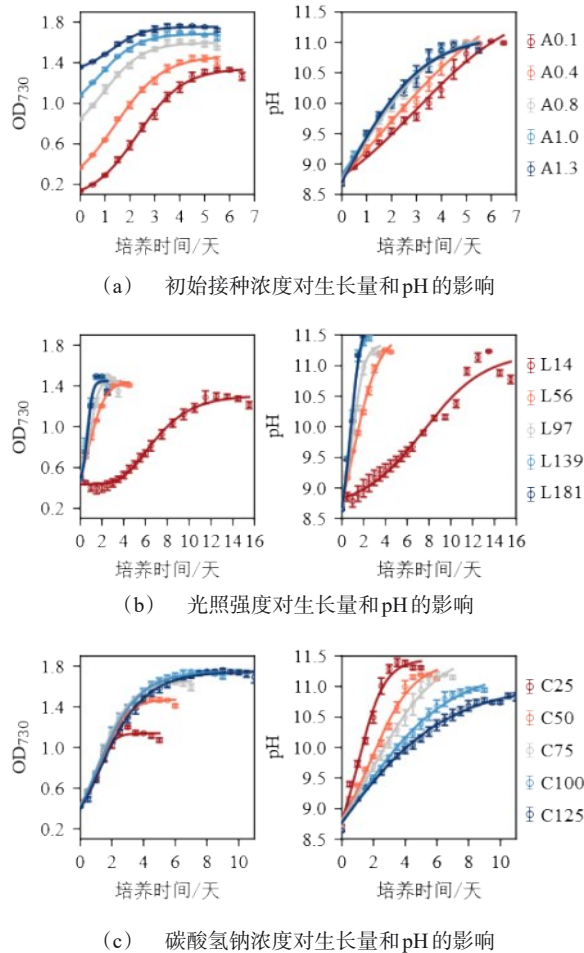


图1 不同培养条件下聚球藻的生长和pH特性

Fig. 1 Growth and pH dynamics of *Synechococcus* under various cultivation conditions

2.2 基于pH特征的微藻生长动力学模型构建

基于聚球藻培养过程中生物量与pH变化的密切关联,本研究旨在建立两者间的定量关系,以实现通过pH监测预测微藻生长状态的目标。考虑到生

物量随pH变化呈现典型的S型响应特征,选择Logistic模型作为核心拟合框架,对15个不同培养条件下的OD₇₃₀-pH数据进行建模分析(图2):

$$X = A_{min} + \frac{A_{max} - A_{min}}{1 + \exp(-k(pH - x_m))} \quad (3)$$

式中: X表示光学密度值(OD₇₃₀),即

微藻生物量；pH表示培养基pH值； A_{min} 表示最小渐近值，即pH极低时的基础生物量； A_{max} 表示最大渐近值，即pH极大时的最大生物量；k表示相对pH的生长变化率参数，表征S型曲线的陡峭程度； x_m 表示拐点pH值，即达到50%最大生长时对应的pH。

拟合参数结果如表2显示，所有方

案的拟合优度 R^2 均超过0.98，表明该模型能够精准描述聚球藻生物量与pH之间的S型响应关系。这一结果不仅从数学角度验证了细胞增殖与环境碱化过程的高度耦合机制，也为基于pH特征的生长监测技术提供了可靠的数学模型基础。

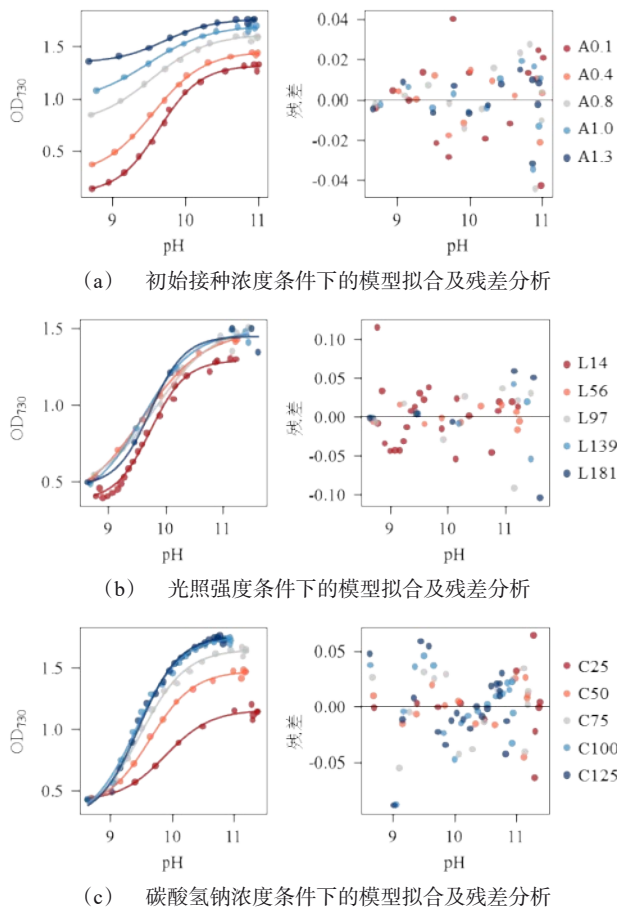


图2 基于pH特征的聚球藻生长动力学Logistic模型拟合

Fig. 2 Logistic model fitting for *Synechococcus* growth kinetics based on pH characteristics

表2 基于pH特征的聚球藻生长动力学模型参数

Table 2 Parameters of pH-dependent growth kinetic model for *Synechococcus*

方案	R^2	A_{min}	A_{max}	x_m	k
1	0.997	0.089	1.318	9.635	3.493
2	0.999	0.267	1.456	9.554	2.835
3	0.995	0.755	1.615	9.535	2.554
4	0.995	0.963	1.706	9.487	2.377
5	0.993	1.342	1.765	9.715	2.968
6	0.988	0.374	1.291	9.751	3.242
7	0.999	0.325	1.479	9.587	1.835
8	0.986	0.434	1.514	9.826	1.950
9	0.994	0.364	1.474	9.609	2.274
10	0.980	0.471	1.446	9.734	3.303
11	0.986	0.417	1.153	9.899	2.746
12	0.997	0.352	1.472	9.635	2.825
13	0.994	0.276	1.647	9.494	2.728
14	0.994	0.229	1.750	9.410	2.738
15	0.994	0.263	1.759	9.459	3.035

本研究构建的基于pH特征的生长预测模型相较于传统模型具有成本低廉、操作简单等优势。与传统依赖离线取样测定吸光度或干重的监测方法相比, pH在线监测技术成熟且成本低廉, 便于实现实时监测。与经典的底物限制模型或光抑制模型相比^[10,26], 本模型无需复杂的底物浓度测试或严格的光强输入, 仅通过pH这一易测参数即可反演生物量生长状态, 在保证预测精度的同时极大地简化了操作流程。

然而, 需要指出的是, 本研究在相对封闭的锥形瓶体系(仅取样时短暂开放)下建立生长-pH耦合模型, 其碳供给方式、溶解氧积累与气液传质条件与开放式池塘及强鼓气式光生物反应器存

在差异^[27]。因此, 本文模型更适用于以碳酸氢盐为主要无机碳来源、且气液交换相对受限或可控的培养工况, 用于低成本在线监测与过程预警; 其在开放或强鼓气工况下的适用性及在长期连续培养条件下的参数稳定性仍需进一步验证, 需引入补碳周期、补碳浓度、碳酸盐平衡与传质条件等因素, 对模型进一步评估及校准。

2.3 模型参数环境响应规律与多因子耦合模型构建

为深入理解不同培养条件对 OD_{730} -pH关系的调控机制, 对各模型参数进行了单因子响应分析(图3)。分析结果揭示了以下规律:

最小渐近值(A_{min})表征生长曲线在低pH区间的基线生物量水平, 其与初始接种浓度 C_0 呈显著线性相关, 主要反映接种量带来的初始生物量边界约束。在光照(I)梯度与碳源(TIC)梯度实验中(C_0 固定约0.4-0.5 OD_{730}), 比较不同I与TIC条件下的拟合结果可见, A_{min} 随I和TIC的变化不呈现稳定的单调响应, 其波动幅度较小且缺乏一致趋势(图3)。因此 A_{min} 可近似视为初始接种浓度 C_0 , 作为初始参数条件进行约束。

最大渐近值(A_{max})对环境因素响应敏感。高初始浓度、适宜的光照强度和高碳酸氢钠浓度均能有效提升 A_{max} , 这与2.1节生物量积累规律高度一致。光强对 A_{max} 的影响呈饱和曲线特征, 存在明显的光饱和点与光抑制点, 进一步

证实了光照是决定微藻最大生长潜力的关键限制因子。

拐点pH值 (x_m) 在不同方案下表现出较强的稳定性, 其数值范围集中在9.5-9.8范围内。这一发现具有重要的生物学意义: 在pH 9.5-9.8区间, 培养液中高效利用的 HCO_3^- 开始向低效利用的 CO_3^{2-} 转化, 恰好对应微藻生长速率显著下降的转折点。尽管碳酸氢钠浓度影响pH上升速率, 但对 x_m 的影响有限, 印证了该拐点主要由无机碳化学平衡决定。

生长变化率参数 (k) 在不同方案下差异显著, 主要反映微藻代谢活跃程度。初始接种浓度和光照强度通过影响光合作用效率对 k 值产生直接作用, 而碳源浓度的影响相对较小 (仅在 125 mM 时略有提升)。

基于上述单因子分析结果, 构建了综合考虑初始接种浓度 (C_0)、光照强度 (I) 和总无机碳浓度 (TIC) 的多因

子耦合模型:

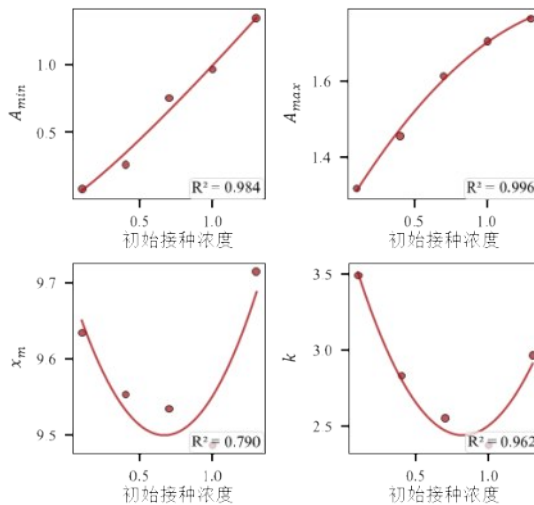
$$X(\text{pH}, C_0, I, \text{TIC}) = A_{\min}^* + \frac{A_{\max}^* - A_{\min}^*}{1 + \exp(-k^*(\text{pH} - x_m^*))} \quad (4)$$

其中多因子耦合参数 P^* 采用基于拟合精度的加权平均方法计算:

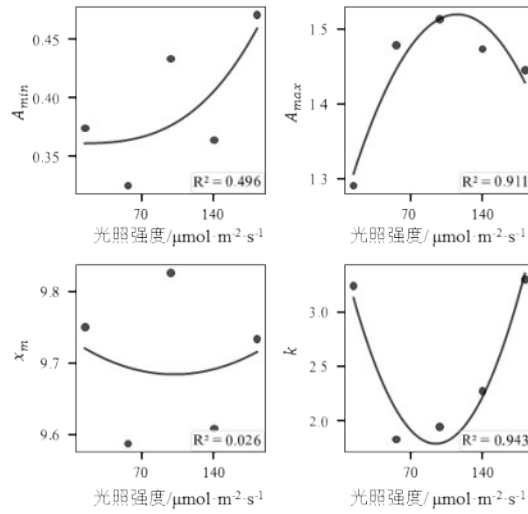
$$P^*(C_0, I, \text{TIC}) = \frac{\sum(w_i \times f_i)}{\sum w_i} \quad (5)$$

式中: w_i 表示权重系数, 取各单因子拟合的决定系数 R^2 并进行归一化; f_i 为各因子的响应函数, 具体函数形式详见图3和表3; P^* 适用于 $A_{\max}^*$ 、 k^* 、及 x_m^* 的计算, 而 $A_{\min}^*$ 由初始接种浓度约束确定 (表3)。

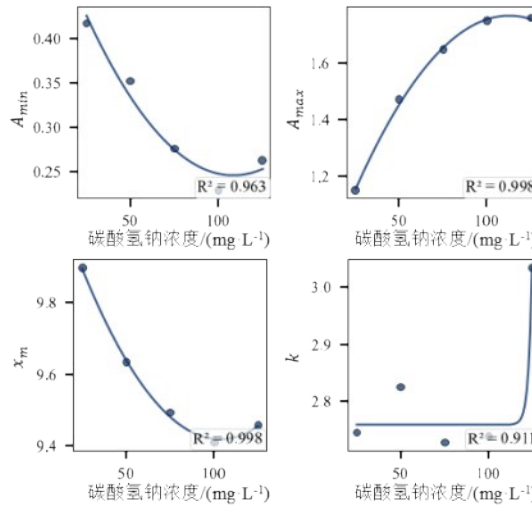
为验证多因子耦合模型的泛化预测能力, 本研究测试了两组独立验证实验, 结果如图4所示。模型对验证集仍保持较好的预测精度, 其中 Test1 (培养条件为 $C_0=0.30$, $I=83 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $\text{TIC}=60 \text{ mM}$) 的



(a) 初始接种浓度条件的影响



(b) 光照强度条件的影响



(c) 碳酸氢钠浓度条件的影响

图3 环境因子对生长-pH模型关键参数的调控规律

Fig. 3 Influences of environment factors on microalgae growth-pH models

预测性能较优 ($R^2_{\text{pred}}=0.9879$, $\text{MAE}=0.0439$), Test2 (培养条件为 $C_0=0.60$, $I=125 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $\text{TIC}=90 \text{ mM}$) 下预测性能略有下降但仍具有可接受的一致性 ($R^2_{\text{pred}}=0.8858$, $\text{MAE}=0.1181$)。总体而言,模型在独立验证数据上仍能

较准确地反映生长-pH关系,表明本文构建的耦合模型具有一定的预测能力。此耦合模型为微藻多因子模型的建立提供了理论框架,并为实现基于pH特征的远程、非侵入式生长监测提供了可行的范式。

2.4 营养离子消耗及代谢特征

表3 多因子耦合生长模型参数及权重系数

参数	因子	公式	权重
A_{min}^*	C_0	C_0	1
	I	-	-
	TIC	-	-
A_{max}^*	C_0	$1.250 + 0.631 \bullet C_0 - 0.179 \bullet C_0^2$	0.3426
	I	$1.245 + 4.78 \times 10^{-3} \bullet I - 2.08 \times 10^{-5} \bullet I^2$	0.3140
	TIC	$0.762 + 0.018 \bullet TIC - 7.9 \times 10^{-5} \bullet TIC^2$	0.3434
x_m^*	C_0	$9.708 - 0.624 \bullet C_0 + 0.468 \bullet C_0^2$	0.4332
	I	$9.735 - 0.001 \bullet I + 5.0 \times 10^{-6} \bullet I^2$	0.0174
	TIC	$10.252 - 0.016 \bullet TIC + 7.8 \times 10^{-5} \bullet TIC^2$	0.5494
k^*	C_0	$3.838 - 3.394 \bullet C_0 + 2.065 \bullet C_0^2$	0.3730
	I	$3.640 - 0.039 \bullet I + 2.09 \times 10^{-4} \bullet I^2$	0.3654
	TIC	$2.936 - 7.28 \times 10^{-3} \bullet TIC + 6.16 \times 10^{-5} \bullet TIC^2$	0.2616

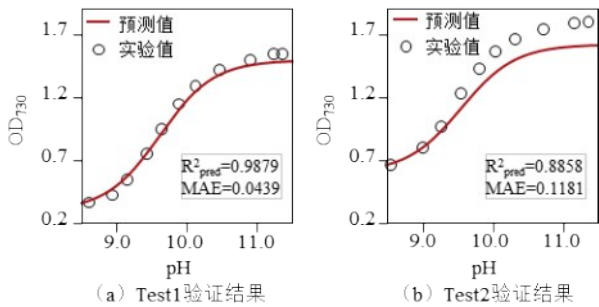


图4 多因子耦合生长 - pH模型的外部验证结果

Fig. 4 External validation of the coupled growth - pH model

为深入理解聚球藻生长过程中的营养内化规律，本研究分析了不同培养条件下氮、磷、硫和无机碳的消耗特征（图5），并探讨了营养代谢与生长动力学、培养液碱化过程的内在联系。

无机碳作为微藻营养需求的核心要素，其固碳过程直接反映微藻的光合活性。实验结果显示，初始

接种浓度对TIC消耗速率的影响相

对较小，这一现象看似与生物量积累规律存在矛盾，但实际反映了聚球藻群体固碳能力的复合调控机制。具体而言，低接种浓度虽然细胞数量少，但单个细胞的光合活性较高（光照充足）；而高接种浓度虽然细胞总数多，但受光屏蔽效应影响，单细胞光合效率下降。因此，群体总固碳能力是光合活性与细胞密度平衡的结果，在本研究的接种浓度

范围内趋于相对稳定。相比之下,光照强度和碳酸氢钠浓度对TIC消耗的影响更为显著。适宜光强显著提升了微藻的固碳效率,而高碳源浓度不仅提供了充足的碳源供应,其缓解pH升高的作用也间接促进了碳的持续利用。因此,在微藻培养过程中,通过提高外部光强、减少反应器遮光等方式提升光合作用活性,或是通过pH调控,可以有效地提升微藻固碳性能。

硝态氮作为主要氮源,其消耗模式与TIC消耗呈现显著的相关性。这一现象符合微藻细胞组成的化学计量学规律,反映了碳氮代谢的协同性。值得注意的是,硝态氮的同化过程($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{有机氮}$)需要消耗质子,也是培养液碱化的贡献因素之一^[28],尽管其贡献程度远小于光合固碳过程。此外,磷酸根和硫酸根的消耗量相对较低,但在培养后期出现明显的耗竭现象,成为限制聚球藻继续生长的次要潜在因素。

基于上述分析,建议在微藻培养过程中采用多参数协同调控策略:通过优化光照条件和碳源供应提升固碳效率,同时关注磷硫营养的补充,以避免后期营养限制对生产效率的影响。

2.5 脂质积累特征

为评估微藻生物质的应用价值,本研究分析了不同培养条件对聚球藻脂质含量和脂肪酸甲酯(FAME)组成的影响,探讨了环境因子对脂质代谢的调控

机制(图6)。

实验结果显示,不同培养条件下聚球藻脂质含量呈现一定的变化范围(13.0-18.7%),其中光照强度的调控效应最为显著。在 $97 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 条件下脂质含量达到最高值(18.7%),而过强光照($139 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)导致脂质含量显著下降至14.7%,可能与光胁迫引起的代谢紊乱有关。随后在 $181 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时脂质含量部分恢复(17.5%),表明微藻对强光胁迫具有一定的适应能力。初始接种浓度与脂质含量呈轻微负相关,从0.1接种密度的15.1%逐步下降至1.3接种密度的13.1%,这可能与高密度培养条件下营养竞争加剧和光照限制有关。碳源浓度对脂质含量的影响相对温和,从25 mM的15.3%缓慢下降至125 mM的13.0%。

脂肪酸甲酯(FAME)组分分析揭示了微藻脂质的典型结构特征和培养条件的显著调控作用。棕榈酸(C16:0)和棕榈油酸(C16:1)构成了脂肪酸组成的主体,两者合计占总脂肪酸的75-85%,体现了微藻脂质以C16链长脂肪酸为主的典型特征^[29-30]。C16:0含量在不同条件下相对稳定(40-44%),而C16:1含量变化较大(30-40%),表明不饱和脂肪酸合成对培养条件更为敏感。

不同环境因子对脂肪酸组成的影响呈现以下规律:接种浓度对脂肪酸组成的影响主要体现在脂肪酸链长分布的调节。随着接种密度增加,C16:1含量从

37.6%增加至39.4%，而长链脂肪酸C22:1含量从4.4%显著下降至0.9%，反映了高密度培养条件下脂肪酸合成向短链不饱和脂肪酸倾斜的代谢重编程。碳源浓度的增加促进了脂肪酸链延长和去饱和过程。C18:2（反式）含量从25 mM条件下的5.5%增至125 mM的10.1%，同时C16:1含量从38.2%下降至30.2%，表明充足碳源促进了脂肪酸链延长和去饱和酶系统。光照强度对脂肪酸组成的调控最为复杂。低光强条件下（ $14 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ）C16:1含量较低（31.5%）而多不饱和脂肪酸C18:2含量较高（6.0%），反映了光限制条件下细胞通过增加膜脂不饱和度来维持膜流动性的适应机制。随着光强增加，C16:1含量逐步提升至40.4%，体现了光照充足条件下脂肪酸合成的优化配置。

从生物燃料应用角度分析，本研究微藻脂质以C16饱和和单不饱和脂肪酸为主的组成特征具有良好的应用潜力。根据生物柴油品质标准，C16:0和C16:1的高比例有利于燃料的十六烷值和低温性能，而适度的多不饱和脂肪酸含量（<15%）有助于平衡燃料的抗氧化稳定性^[31-32]。

综合脂质含量和脂肪酸组成分析，0.1-0.4初始接种密度、 $97 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度和25-50mM碳源浓度的培养条件组合表现出最佳的脂质生产潜力，既实现了较高的脂质含量（15-18%）又保持了相对理想的脂肪酸组成。

3 结论

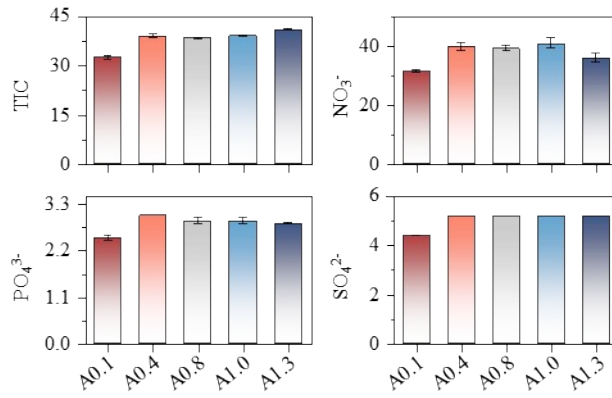
本研究在碳酸氢钠培养体系中系统考察了初始接种浓度、光照强度和碳源浓度对聚球藻生长与pH动态的影响，构建了基于pH特征的生长预测模型，并分析了营养盐消耗与脂质积累规律，主要结论如下：

(1) 聚球藻生物量积累与培养液碱化过程高度同步；生长进入限制期主要与pH升高引起无机碳由 HCO_3^- 向 CO_3^{2-} 转化、可利用碳下降有关，而非pH本身的直接抑制作用。

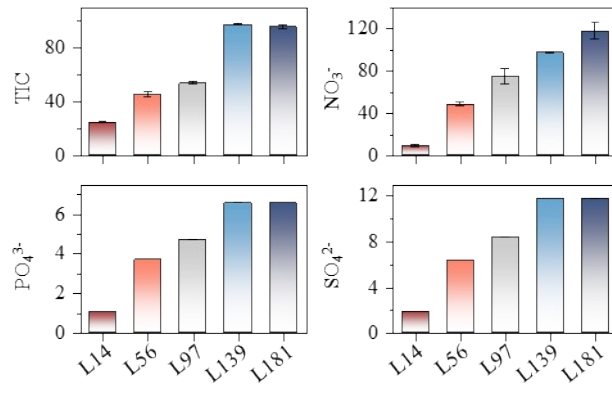
(2) 基于 OD_{730} -pH关系建立Logistic模型可准确表征生长-pH的S型响应（15组条件 R^2 均>0.98），其拐点pH稳定在9.5-9.8；进一步构建的多因子耦合模型在两组独立实验中仍保持较好预测能力（ $R^2_{\text{pred}}=0.886-0.988$ ， $\text{MAE}=0.044-0.118$ ），可用于低成本在线预测与过程预警。

(3) 营养盐分析表明TIC消耗与 NO_3^- 消耗呈显著相关，培养后期 PO_4^{3-} 耗竭可能是培养后期的叠加限制，为培养过程中碳氮磷协同调控提供了依据。

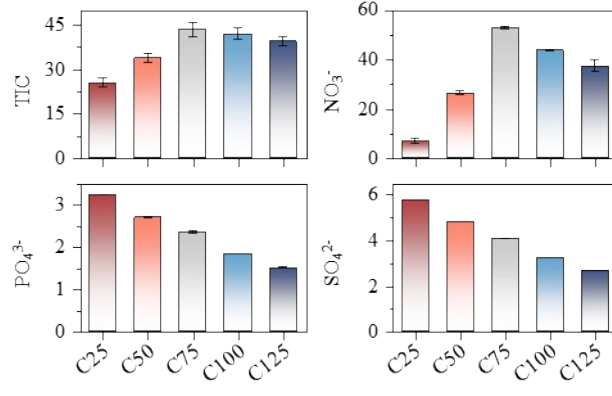
(4) 聚球藻脂质含量为13.0%-18.7%，脂肪酸以C16:0和C16:1为主（75%-85%）。综合生长、pH稳定性、营养利用与脂质品质等指标，较优培养条件为 $97 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度、0.1-0.4初始接种密度和25-50 mM碳酸氢钠浓度。



(a) 不同初始接种浓度下的离子消耗速率/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$)



(b) 不同光照强度下的离子消耗速率/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$)



(c) 不同碳酸氢钠浓度下的离子消耗速率/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$)

图5 不同培养条件下主要营养离子消耗速率

Fig. 5 Consumption rates of major nutrient ions under different cultivation conditions

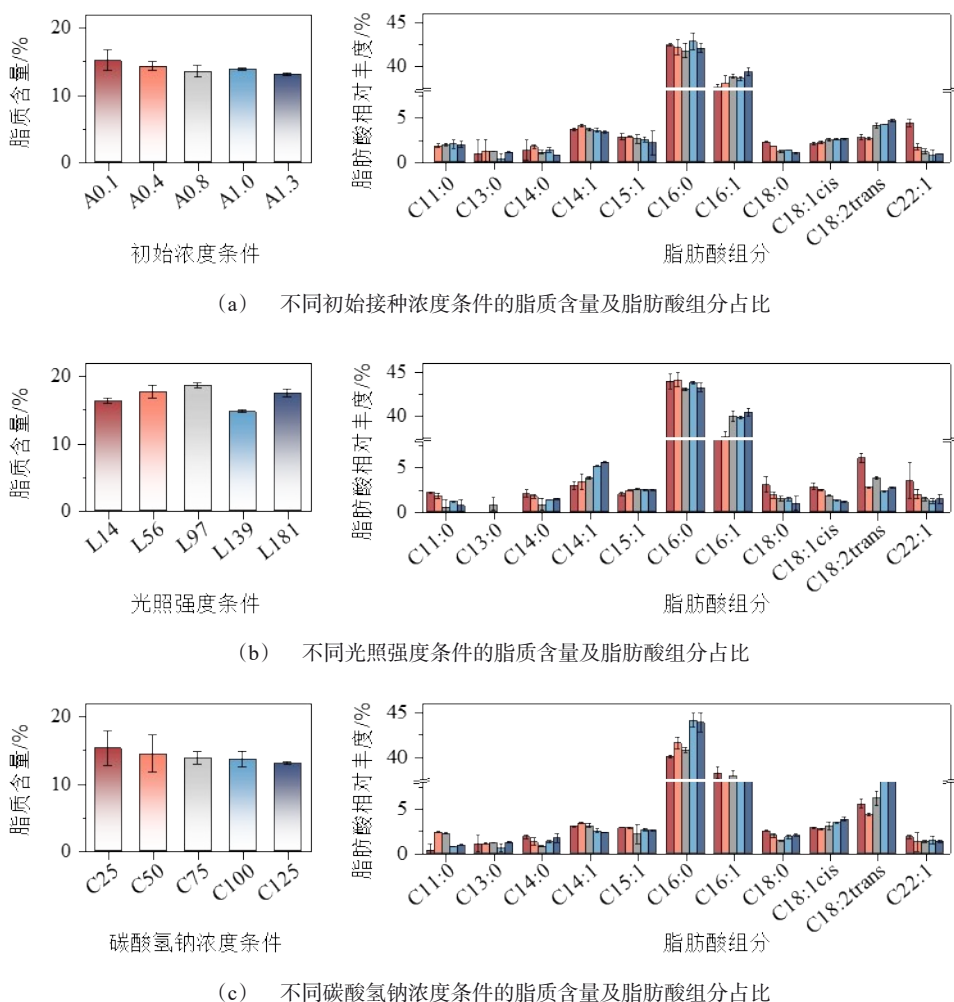


图6 不同培养条件下聚球藻脂质含量和脂肪酸组成

Fig. 6 Lipid content and fatty acid profiles of *Synechococcus* under various cultivation conditions

参考文献

- [1] LIU Z, WANG K, CHEN Y, et al. Third-generation biorefineries as the means to produce fuels and chemicals from CO₂[J]. Nature Catalysis, 2020, 3(3): 274-288.
- [2] 贺斌, 郑旭磊, 王科尧, 等. 马尾藻生物能源全面利用的研究进展[J]. 中国造纸学报, 2025, 40(1): 1-10.
- [3] 邹涛圳, 李鹏飞, 李新冬, 等. 微藻油脂合成及高脂藻株培育研究进展[J]. 生物技术通报, 2025, 41(1): 25-38.
- HE B, ZHENG X, WANG K, et al. Research progress on the comprehensive utilization of *Sargassum* spp. bioenergy[J]. Transactions of China Pulp and Paper, 2025, 40(1): 1-10.

- ZOU T, LI P, LI X, et al. Research progress in microalgal lipid synthesis and cultivation of high-lipid strain[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2025, 41(1): 25-38.
- [4] LIU Y, CRUZ-MORALES P, ZARGAR A, et al. Biofuels for a sustainable future [J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1636-1647.
- [5] NGUYEN L N, VU M T, VU H P, et al. Microalgae-based carbon capture and utilization: A critical review on current system developments and biomass utilization[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2023, 53(2): 216-238.
- [6] 赵江, 侯琤, 沈峥, 等. 微藻在农业可持续发展中的应用研究进展[J]. *农业工程学报*, 2024, 40(3): 14-25.
- ZHAO J, HOU C, SHEN Z, et al. Application of microalgae in sustainable agricultural development[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2024, 40(3): 14-25.
- [7] MARKOU G, VANDAMME D, MUYLAERT K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients[J]. *Water Research*, 2014, 65: 186-202.
- [8] RESURRECCION E P, COLOSI L M, WHITE M A, et al. Comparison of algae cultivation methods for bioenergy production using a combined life cycle assessment and life cycle costing approach[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 126: 298-306.
- [9] 刘建国, 徐冉. 我国微藻资源开发30年蜕变之路[J]. *生物学杂志*, 2017, 34(2): 9-15.
- LIU J, XU R. 30-year footprint and process of microalgal development in China [J]. *Journal of Biology*, 2017, 34(2): 9-15.
- [10] WANG J, GUO X. The Gompertz model and its applications in microbial growth and bioproduction kinetics: Past, present and future[J]. *Biotechnology Advances*, 2024, 72: 108335.
- [11] ESTEVES A F, GONÇALVES A L, VILAR V J, et al. Comparative assessment of microalgal growth kinetic models based on light intensity and biomass concentration[J]. *Bioresource Technology*, 2024, 394: 130167.
- [12] BOATMAN T G, MANGAN N M, LAWSON T, et al. Inorganic carbon and pH dependency of photosynthetic rates in *Trichodesmium*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(15): 3651-3660.
- [13] KNOTHE G. Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition[J]. *Energy & Environmental Science*, 2009, 2(7): 759-766.
- [14] WILLIAMS P J le B, LAURENS L M L. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics[J]. *Energy & Environmental Science*, 2010, 3(5): 554-590.
- [15] SAJJADI B, CHEN W Y, RAMAN Abdul Aziz A, et al. Microalgae lipid and biomass for biofuel production: A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2018, 97: 200-232.
- [16] STANIER R Y, KUNISAWA R, MANDEL M, et al. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales)[J]. *Bacteriological Reviews*, 1971, 35(2): 171-205.

- [17] THIMIJJAN R W, HEINS R D. Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: a review of procedures for interconversion[J]. HortScience, 1983, 18 (6): 818-822.
- [18] FOLCH J, LEES M, STANLEY G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues [J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [19] LAGE S, GENTILI F G. Quantification and characterisation of fatty acid methyl esters in microalgae: Comparison of pre-treatment and purification methods[J]. Bioresource Technology, 2018, 257: 121-128.
- [20] WU H, WU X, YANG T, et al. Feedback regulation of surface scum formation and persistence by self-shading of *Microcystis* colonies: Numerical simulations and laboratory experiments[J]. Water Research, 2021, 194: 116908.
- [21] KAZBAR A, COGNE G, URBAIN B, et al. Effect of dissolved oxygen concentration on microalgal culture in photobioreactors[J]. Algal Research, 2019, 39: 101432.
- [22] BURLACOT A, DAO O, AUROY P, et al. Alternative photosynthesis pathways drive the algal CO₂-concentrating mechanism [J]. Nature, 2022, 605(7909): 366-371.
- [23] BÉCHET Q, SHILTON A, GUIEYSSE B. Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation[J]. Biotechnology Advances, 2013, 31(8): 1648-1663.
- [24] PRICE G D, BADGER M R, WOODGER F J, et al. Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating mechanism (CCM): functional components, Ci transporters, diversity, genetic regulation and prospects for engineering into plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(7): 1441-1461.
- [25] KNOCHE W. Chemical reactions of CO₂ in water[C]//BAUER C, GROS G, BARTELS H. Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide. Berlin, Heidelberg: Springer, 1980: 3-11.
- [26] LEE E, JALALIZADEH M, ZHANG Q. Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review[J]. Algal Research, 2015, 12: 497-512.
- [27] SATHINATHAN P, PARAB H M, YUSOFF R, et al. Photobioreactor design and parameters essential for algal cultivation using industrial wastewater: A review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2023, 173: 113096.
- [28] PASSUCCI V, ARECO M M, FERRARO G, et al. Nitrogen uptake and associated pH changes influence growth and biomass composition in microalgae from a polluted river[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2025, 22 (11): 9807-9824.
- [29] LI-BEISSON Y, THELEN J J, FEDOSEJEVS E, et al. The lipid biochemistry of eukaryotic algae[J]. Progress in Lipid Research, 2019, 74: 31-68.
- [30] ZIENKIEWICZ K. Lipid composition of cyanobacteria (Spec) [M]//WENK M R. Encyclopedia of Lipidomics. Dordrecht: Springer Netherlands, 2017: 1-4.
- [31] KNOTHE G. A technical evaluation of biodiesel from vegetable oils vs. algae. Will algae-derived biodiesel perform? [J]. Green Chemistry, 2011, 13(11): 3048-

- 3065.
- [32] BARABAS I, TODORU I A. Biodiesel quality, standards and properties[M]// MONTERO G. Biodiesel- Quality, Emissions and By-Products. InTech, 2011.