

碳酸氢钠体系中基于 pH 特征的聚球藻 生长模型构建与验证

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: 针对聚球藻培养过程中 pH 波动引发生长受限、生长状态难以实时精准预测的问题,提出了基于在线 pH 信号的多因子耦合生长预测模型。设置不同初始接种浓度(以 730 nm 波长下的光密度 OD_{730} 表示,记为 A (无量纲),其取值范围为 0.1~1.3)、光照强度($14\sim 181\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)和碳酸氢钠物质的量浓度($25\sim 125\ \text{mmol/L}$),监测聚球藻的生物量与 pH 动态变化数据;在无机碳形态转换机理分析基础上,采用 Logistic 模型定量表征生物量与 pH 的响应关系,并进一步构建多因子耦合生长预测模型。研究结果表明,生物量积累与培养液 pH 上升高度同步,生长限制主要由 pH 升高促使 HCO_3^- 向 CO_3^{2-} 转化,导致可利用无机碳不足引起;Logistic 模型在 15 组条件下拟合优度 R^2 均大于 0.98,拐点 pH 为 9.5~9.8,且与碳源可利用性转折节点高度吻合;生长预测模型在两组独立实验中预测拟合优度 R_{pred}^2 分别为 0.987 9、0.885 8,平均绝对误差 E 分别为 0.043 9、0.118 1。营养代谢试验证实无机碳消耗与硝态氮消耗呈显著正相关;脂质的质量分数(以细胞干质量为基准)为 13.0%~18.7%,脂肪酸以棕榈酸和棕榈油酸为主要组分,二者合计占总脂肪酸的 75%~85%。经多目标优化得到最优培养条件为:光照强度为 $97\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、初始接种浓度为 0.1~0.4、碳酸氢钠物质的量浓度为 25~50 mmol/L。该模型可依托现场 pH 在线监测,实现聚球藻培养过程精准预判与精细化调控。

关键词: 聚球藻;pH 波动;生长预测模型;营养代谢;脂肪酸

中图分类号: TK6;Q949.22 **文献标志码:** A

DOI: 10.7652/xjtuxb202609019 **文章编号:** 0253-987X(2026)09-0197-11

Growth-pH Coupling Mechanism and Prediction Model for *Synechococcus* in Sodium Bicarbonate Culture System

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

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

Abstract: To address the growth limitation caused by pH fluctuations during *Synechococcus* cultivation and the difficulty in accurate real-time prediction, a multifactor-coupled growth prediction model based on online pH signals is proposed. Experiments are conducted at different initial inoculation concentrations (expressed as optical density at 730 nm, OD_{703} , denoted by A , ranging from 0.1 to 1.3), light intensities ($14\sim 181\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), and sodium bicarbonate concentrations ($25\sim 125\ \text{mmol/L}$) to obtain dynamic biomass and pH data. Based on an analysis of inorganic carbon speciation, a logistic model is used to quantify the biomass-pH relationship, and a multifactor-coupled

收稿日期: 2025-12-01。 作者简介: 许云童(1998—),男,博士生;曹稳(通信作者),男,副研究员,硕士生导师。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52488201)。

网络出版时间: 2026-06-24

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1069.T.20260623.1640.010>

growth prediction model is further established. It is shown that biomass accumulation is highly synchronized with the increase in culture-medium pH, and that growth limitation is mainly caused by the pH-driven conversion of HCO_3^- to CO_3^{2-} , resulting in insufficient available inorganic carbon. R^2 values above 0.98 are obtained by the Logistic model under all 15 conditions, with inflection-point pH values of 9.5—9.8, which closely correspond to the transition points of carbon-source availability. In two independent experiments, predicted determination coefficients R^2_{pred} values of 0.987 9 and 0.885 8 and mean absolute error E of 0.043 9 and 0.118 1 are obtained by the growth prediction model, respectively. A significant positive correlation between inorganic carbon consumption and nitrate-nitrogen consumption is confirmed by nutrient metabolism experiments. The dry cell mass-based lipid mass fraction ranges from 13.0% to 18.7%, and palmitic acid and palmitoleic acid are the main fatty acids, together accounting for 75%—85% of the total fatty acids. The optimal culture conditions are determined through multi-objective optimization as a light intensity of $97 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, an initial inoculation concentration of 0.1—0.4, and a sodium bicarbonate concentration of 25—50 mmol/L. Accurate prediction and refined regulation of *Synechococcus* cultivation can be achieved using the model based on online pH monitoring.

Keywords: *Synechococcus*; pH fluctuations; growth prediction model; nutrient metabolism; fatty acids

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、生物量产率高等优势,在生物燃料、功能食品、水体修复和碳减排等领域展现出巨大的应用潜力^[4-6]。近年来,微藻培养技术领域发展了多种工艺,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]。其核心难点是采用精准化、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化过程的耦合交互,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、干燥质量称量法、叶绿素检测等方法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

的核心技术途径。

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,还可显著调控脂肪酸链长分布与不饱和度,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聚球藻生长动力学、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作用。在此基础上,建立可用于生长预测与培养条件优化的定量化分析方法,确定协同优化的培养参数组合,为开发基于pH在线监控的微藻培养过程智能化预测与调控提供模型基础。

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 121 ℃ 高温灭菌 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 孔径滤膜灭菌后加入。实验采用 250 mL 锥形瓶作为反应器,工作体积为 100 mL。所有培养均在转速为 150 r/min、温度为 30 ℃ 的恒温摇床中进行,以确保培养液充分混合。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,整个取样过程约在 1~2 min 内完成。取样后立即旋紧瓶盖继续培养,取出的样品用于生物量测定与 pH 测量。光照条件由 LED 冷白光提供,保持恒定连续光照,光照强度由照度计 (TES-1330A, TES Electrical Electronic Corp., 中国台湾) 测定,并根据转换系数 $72 \text{ lx} \approx 1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 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 730 nm 波长下的光密度 (OD_{730}) 进行表征,设为 A (无量纲),通过紫外-可见分光光度计 (型号为 DR6000, HACH, 美国) 测定。培养液的 pH 使用实验室台式 pH 计 (型号为 FE28-Standard, METTLER TOLEDO, 瑞士) 进行检测,仪器在使用前均通过两点标准缓冲液进行校准。

当微藻生长曲线显示 A 连续下降超过 24 h 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。经转速 8 000 r/min、离心 5 min 去除藻细胞后,上清液经 0.45 μm 孔径滤膜过滤。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 (型号为 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 (型号为 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计算式如下

$$R_i = \frac{\rho_{i,0} - \rho_{i,t}}{t} \quad (1)$$

式中: R_i 为营养离子平均消耗速率; $\rho_{i,0}$ 为离子的初始质量浓度; $\rho_{i,t}$ 为离子的最终质量浓度; t 为培养周期。TIC、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 和 SO_4^{2-} 的消耗速率分别设为 R_C 、 R_N 、 R_P 和 R_S 。

1.3 脂质质量分数与脂肪酸类型分析

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,在 8 000 r/min 下离心 10 min 收集藻泥,经冷冻干燥后称取细胞质

量。向干燥的细胞中加入体积比为 2 : 1 的氯仿-甲醇混合液,在 500 W 功率下超声提取 10 min,并重复提取两次。合并有机相,使用旋转蒸发器在真空条件下除去溶剂,所得粗脂样品称质量,计算脂质质量占干燥细胞质量的百分比。脂质质量分数计算式如下

$$w_l = \frac{m_l}{m_x} \times 100\% \quad (2)$$

式中: w_l 为脂质质量分数; m_l 为脂质质量; m_x 为干燥细胞质量。

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:将粗脂溶解于质量分数为 1% 的硫酸甲醇溶液中,并在 80 ℃ 下反应 2 h。反应结束后,加入正己烷和质量分数为 5% 的氯化钠溶液进行液-液萃取,取上层有机相。随后使用质量分数为 2% 的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 (型号为 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 ℃ 和 250 ℃,载气为氦气,流速为 33 mL/min,进样体积为 1 μL ,分流体积比为 30 : 1。程序升温条件为:50 ℃ 保持 5 min,以 10 ℃/min 的速率升至 195 ℃ 并保持 10 min,再以 5 ℃/min 的速率升至 210 ℃ 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 3 组单因素梯度实验,以探究初始接种浓度 (以 730 nm 波长下的光密度表示,记为 A_0 ,取值为 0.1、0.4、0.8、1.0、1.3)、光照强度 I (14、56、97、139、181 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 和碳酸氢钠物质的量浓度 c (25、50、75、100、125 mmol/L) 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。验证实验 1 的 A_0 为 0.30, I 为 83 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, c 为 60 mmol/L; 验证实验 2 的 A_0 为 0.60, I 为 125 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, c 为 90 mmol/L。验证实验不参与模型参数拟合,仅用于外部预测误差评估。

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

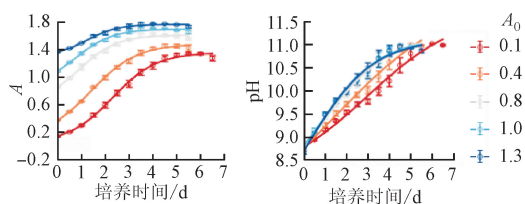
方案	A_0	$I/(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	$c/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$
1	0.1	97	50
2	0.4	97	50
3	0.8	97	50
4	1.0	97	50
5	1.3	97	50
6	0.5	14	50
7	0.5	56	50
8	0.5	97	50
9	0.5	139	50
10	0.5	181	50
11	0.5	97	25
12	0.5	97	50
13	0.5	97	75
14	0.5	97	100
15	0.5	97	125

每组实验设置 3 个生物学重复,在整个培养周期内,每 12 h 取样一次,测定培养液的 A 与 pH。当 A 连续下降超过 24 h 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的测定。

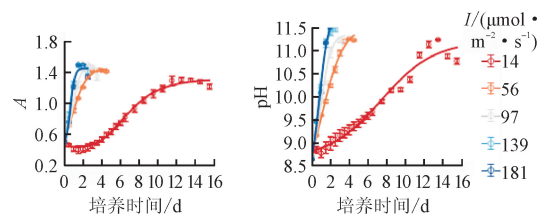
2 结果与讨论

2.1 微藻生长与碱化特征的协同变化

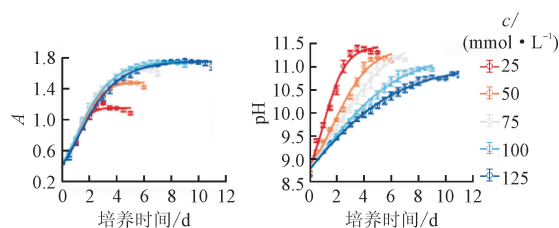
本研究系统考察了初始接种浓度 A_0 、光照强度 I 和碳酸氢钠物质的量浓度 c 对聚球藻生长与培养液 pH 的影响,如图 1 所示。结果表明,这 3 个培养参数对聚球藻生长均表现出显著的调控作用,在不同培养条件下,聚球藻生长曲线与 pH 变化曲线呈现出高度的协同变化规律,即生长旺盛期对应 pH 快速上升期,生长停滞期对应 pH 稳定期。



(a) 不同初始接种浓度



(b) 不同光照强度



(c) 不同碳酸氢钠物质的量浓度

图 1 不同培养条件下聚球藻的光密度和 pH 特性

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

A_0 对聚球藻生长呈现出双重效应。 A_0 为 0.1 时因起始细胞量不足导致生物量积累缓慢,而 A_0 为 0.4~0.8 时最大生物量显著提升,表明适度提高接种浓度有利于生物量积累。然而,当 A_0 进一步增至 1.0 和 1.3 时,最大 A 值在 1.70~1.76 范围内趋于稳定,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]。同时由于细胞数的增加,培养基中的氮、磷和无机碳等养分也会快速被消耗,更快地进入稳态期。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。

I 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 d,最大 A 值仅为 1.29。当 I 提升至 $56 \sim 97 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,生长状况得到显著改善,最大 A 值可达 1.47~1.50。但是,过高的光强则引发了光抑制,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]。

c 在试验范围内表现出对生长的持续的促进作用。随着 c 从 25 mmol/L 增至 125 mmol/L,不仅最大生物量逐步提升,最高 A 值达 1.78,培养周期也相应延长。此外, c 处于较高水平时,pH 上升趋势更为平缓,说明高碳酸氢钠物质的量浓度有效维持

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并释放氢氧根离子,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。

进一步分析结果表明,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。碳酸氢钠实验的结果支持这一推论:在培养的最初 1~2 d 内,尽管体系的 pH 已经在 9.16~9.73 的较宽范围内波动,各处理组的生长速率仍保持基本一致;此外,聚球藻表现出较强的碱性耐受性,pH 在 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 pH<10 时,HCO₃⁻ 占主导地位且被微藻高效利用;而当 pH>10 时,CO₃²⁻ 成为主要形式^[25],但多数微藻对 CO₃²⁻ 的利用效率远低于 HCO₃⁻,最终导致碳源可利用性成为生长的限制瓶颈。

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,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 A 与相应 pH 数据进行建模分析,表达式如下

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

式中: 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 为相对 pH 的生长变化率参数,表征 S 型曲线的陡峭程度; x_m 为拐点 pH,即达到 50% 最大生长量时对应的 pH。

拟合参数结果如图 2 与表 2 所示,所有方案的拟合优度 R² 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。

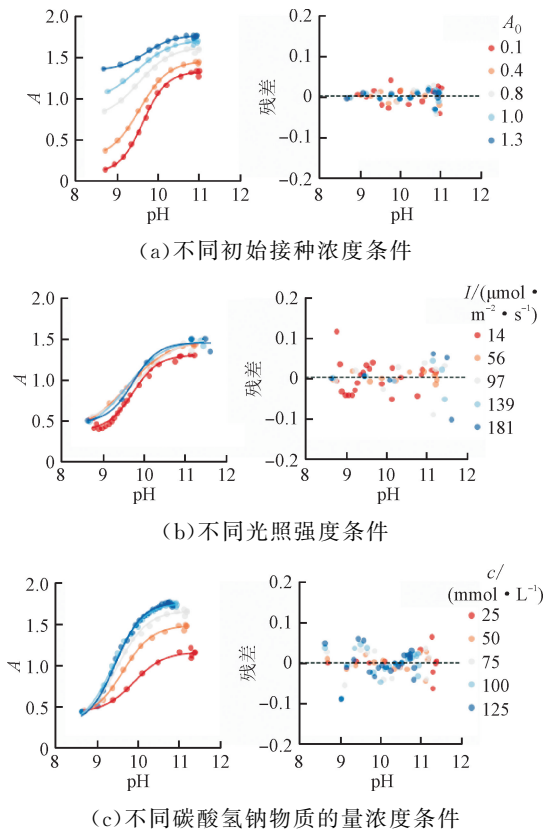


图 2 基于 pH 特征的聚球藻生长动力学 Logistic 模型拟合
Fig. 2 Logistic model fitting for *Synechococcus* growth kinetics based on pH characteristics

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

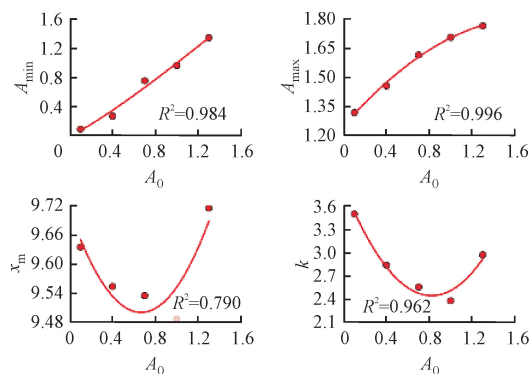
本研究构建的基于 pH 特征的生长预测模型相较于传统模型具有成本低廉、操作简单等优势。与传统依赖离线取样测定吸光度或干质量的监测方法相比, pH 在线监测技术成熟且成本低廉, 便于实现实时监测。与经典的底物限制模型或光抑制模型相比^[10,26], 本模型无需复杂的底物浓度测试或严格的光强输入, 仅通过 pH 这一易测参数即可反演生物量生长状态, 在保证预测精度的同时极大地简化了操作流程。

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, 其在碳供给方式、溶解氧积累与气液传质条件等方面与开放式池塘存在差异^[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、补碳物质的量浓度、碳酸盐平衡与传质条件等因素对模型进一步评估及校准。

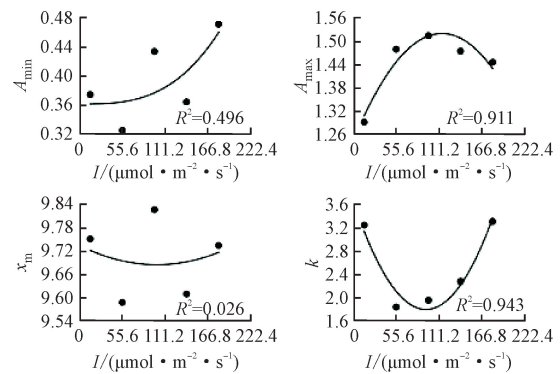
2.3 模型参数环境响应规律与多因子耦合模型构建

为深入理解不同培养条件对生长与 pH 耦合关系的调控机制, 考察了初始接种浓度 A_0 、光照强度 I 和碳酸氢钠物质的量浓度 c 对各模型参数的影响规律, 并进行了单因子响应分析, 结果如图 3 所示。

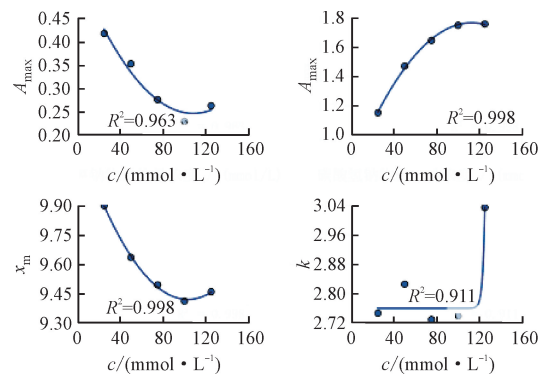
最小渐近值表征生长曲线在低 pH 区间的基线生物量水平, 其与 A_0 呈显著线性相关, 主要反映接种量带来的初始生物量边界约束。在 I 与 c 为变量的实验中 A_0 固定不变, 约为 0.4~0.5。在实际物理意义上, $A_{\min}$ 与 I 、 c 无明显相关关系, 因此 $A_{\min}$ 可近似视为初始接种浓度 A_0 , 作为初始参数条件对模型拟合进行约束。



(a) 不同初始接种浓度



(b) 不同光照强度



(c) 不同碳酸氢钠物质的量浓度

图 3 环境因子对生长-pH 模型参数的调控规律

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

最大渐近值对环境因素响应敏感。高初始接种浓度、适宜的光照强度和高碳酸氢钠物质的量浓度均能有效提升 $A_{\max}$, 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 在不同方案下表现出较强的稳定性, 其数值集中在 9.5~9.8 范围内。这一发现具有重要的生物学意义: pH 在 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。尽管碳酸氢钠物质的量浓度影响 pH 上升速率, 但对 x_m 的影响有限, 验证了该拐点主要由无机碳化学平衡决定。

生长变化率 k 在不同方案下差异显著, 主要反映微藻代谢活跃程度。 A_0 和 I 通过影响光合作用效率对 k 产生直接作用, 而 c 的影响相对较小, 仅在 125 mmol/L 时略有提升。

基于上述单因子分析结果, 构建了综合考虑

A_0 、 I 和 c 的多因子耦合模型

$$A(\text{pH}, A_0, I, c) = A_{\min}^* + \frac{A_{\max}^* - A_{\min}^*}{1 + \exp(-k^*(\text{pH} - x_m^*))} \quad (4)$$

式中: $A_{\min}^*$ 、 $A_{\max}^*$ 、 k^* 、 x_m^* 分别为经多因子耦合计算后的最小渐近值、最大渐近值、生长变化率参数和拐点 pH。各耦合参数 P^* 采用以拟合优度 R^2 为权重的加权平均方法计算

$$P^*(A_0, I, c) = \frac{\sum(\alpha_i f_i)}{\sum \alpha_i} \quad (5)$$

式中: α_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,具体函数形式详见表 3。式(5)适用于表 3 中 $A_{\max}^*$ 、 k^* 及 x_m^* 的计算,而 $A_{\min}^*$ 可近似视为仅由初始接种浓度来确定。

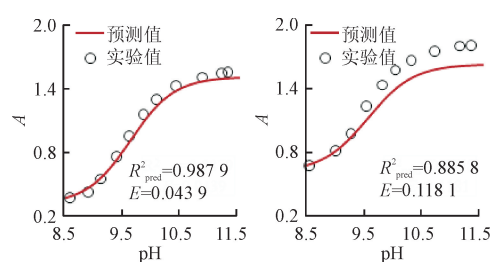
表 3 多因子耦合生长模型参数及权重系数

Table 3 Parameters and weighting coefficients of multi-factor coupled growth model

参数	因子	公式	权重
$A_{\min}^*$		A_0	1.000 0
$A_{\max}^*$	A_0	$1.250 + 0.631A_0 - 0.179A_0^2$	0.342 6
	I	$1.245 + 4.78 \times 10^{-3}I - 2.08 \times 10^{-5}I^2$	0.314 0
	c	$0.762 + 0.018c - 7.9 \times 10^{-5}c^2$	0.343 4
x_m^*	A_0	$9.708 - 0.624A_0 + 0.468A_0^2$	0.433 2
	I	$9.735 - 0.001I + 5.0 \times 10^{-6}I^2$	0.017 4
	c	$10.252 - 0.016c + 7.8 \times 10^{-5}c^2$	0.549 4
k^*	A_0	$3.838 - 3.394A_0 + 2.065A_0^2$	0.373 0
	I	$3.640 - 0.039I + 2.09 \times 10^{-4}I^2$	0.365 4
	c	$2.936 - 7.28 \times 10^{-3}c + 6.16 \times 10^{-5}c^2$	0.261 6

为验证多因子耦合模型的泛化预测能力,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,其中验证实验 1(培养条件为 $A_0 = 0.30$, $I = 83 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $c = 60 \text{ mmol/L}$) 的预测性能较优,拟合优度 R_{pred}^2 为 0.987 9,平均绝对误差 E 为 0.043 9;验证实验 2(培养条件为 $A_0 = 0.60$, $I = 125 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $c = 90 \text{ mmol/L}$) 下预测性能略有下降但仍具有可接受的一致性,拟合优度 R_{pred}^2 为 0.885 8,平均绝对误差 E 为 0.118 1。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。



(a) 实验 1 验证结果 (b) 实验 2 验证结果

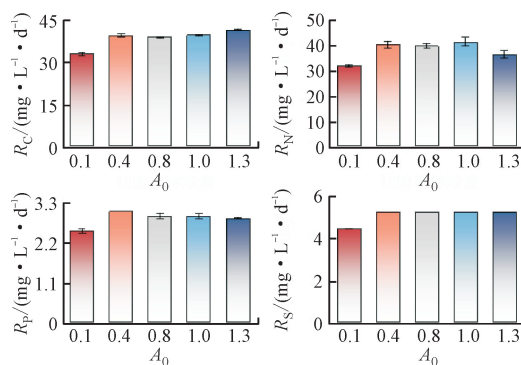
图 4 多因子耦合生长-pH 模型的外部验证结果

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

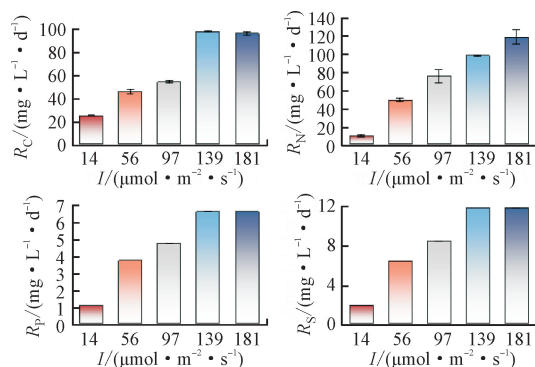
2.4 营养离子消耗及代谢特征

为深入理解聚球藻生长过程中的营养内化规律,分析了不同 A_0 、 I 和 c 条件下无机碳、氮、磷和硫的消耗特征,结果如图 5 所示,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。

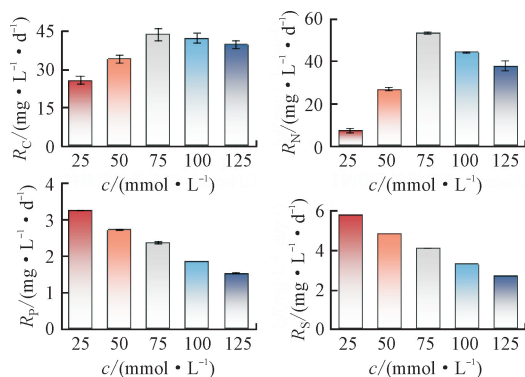
无机碳作为微藻营养需求的核心要素,其固碳过程直接反映微藻的光合活性。实验结果显示, A_0 对无机碳消耗速率的影响相对较小,这一现象看似与生物量积累规律存在矛盾,但实际反映了聚球藻群体固碳能力的复合调控机制。具体而言,低接种浓度虽然细胞数少,但单个细胞的光合活性较高;而高接种浓度虽然细胞总数多,但受光屏蔽效应影响,单细胞光合效率下降。因此,群体总固碳能力是光合活性与细胞密度平衡的结果,在本研究的接种浓度范围内趋于相对稳定。相比之下, I 与 c 对无机碳消耗的影响更为显著。适宜光强显著提升了微藻的固碳效率,而高碳酸氢钠物质的量浓度不仅提供了充足的碳源供应,其缓解 pH 升高的作用也间接促进了碳的持续利用。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。



(a) 不同初始接种浓度



(b) 不同光照强度



(c) 不同碳酸氢钠物质的量浓度

图5 不同培养条件下主要营养离子的消耗速率

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

硝态氮作为主要氮源,其消耗模式与无机碳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,硝态氮的同化过程需要消耗质子,也是培养液碱化的贡献因素之一^[28]。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,分析了不同 A_0 、 I 和 c 对聚球藻脂质质量分数和脂肪酸类型的影响,探讨了环境因子对脂质代谢的调控机制,如图6所示。

实验结果显示,聚球藻在不同培养条件下的脂质质量分数(以细胞质量为基准)介于13.0%~18.7%

之间,其中 I 的调控效应最为显著。在 I 为 $97 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 条件下脂质质量分数达到最高值18.7%,而 I 为 $139 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时脂质质量分数显著下降至14.7%,可能与光胁迫引起的代谢紊乱有关。随后 I 为 $181 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时脂质质量分数恢复至17.5%,表明微藻对强光胁迫具有一定的适应能力。 A_0 与脂质质量分数呈轻微负相关,随着 A_0 由0.1增加至1.3,脂质质量分数从15.1%逐渐降至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。 c 对脂质质量分数的影响相对温和,从25 mmol/L的15.3%缓慢下降至125 mmol/L的13.0%。

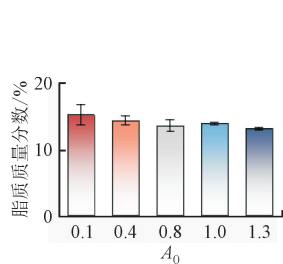
培养条件对微藻脂肪酸类型具有显著调控作用。棕榈酸和棕榈油酸构成了脂肪酸组成的主体,两者合计占总脂肪酸的75%~85%,体现了微藻脂肪酸类型的典型特征^[29-30]。棕榈酸占总脂肪酸的比例在不同条件下稳定在40%~44%,而棕榈油酸占总脂肪酸的比例则在30%~40%之间发生较大波动,表明饱和脂肪酸合成对培养条件更为敏感。

不同环境因子对脂肪酸组成的影响呈现以下规律: A_0 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 A_0 增加,棕榈油酸占总脂肪酸的比例从37.6%升至39.4%,而长链脂肪酸芥酸的比例则由4.4%显著降至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。 c 的增加促进了脂肪酸链延长和去饱和过程。随着 c 由25 mmol/L提升至125 mmol/L,反式亚油酸占总脂肪酸的比例从5.5%增至10.1%,而棕榈油酸的相对占比则由38.2%降至30.2%。该结果表明,充足的碳源有效驱动了脂肪酸碳链的延长与去饱和过程。 I 对脂肪酸组成的调控最为复杂。在 $14 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的低光强条件下,棕榈油酸占总脂肪酸的比例达到31.5%,而多不饱和脂肪酸反式亚油酸占总脂肪酸的比例达到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 I 增加,棕榈油酸占总脂肪酸的比例逐步提升至40.4%,体现了光照充足条件下脂肪酸合成的优化配置。

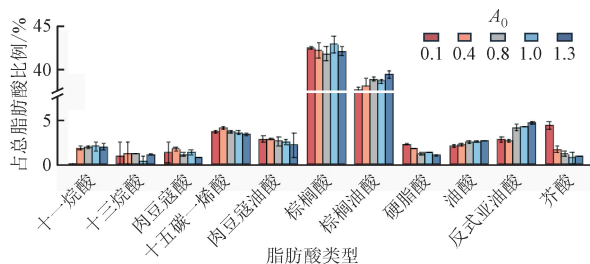
从生物燃料应用角度分析,本研究中微藻脂质以棕榈酸和棕榈油酸为主的组成特征具有良好的应用潜力。根据生物柴油品质标准,棕榈酸和棕榈油酸的高比例有利于燃料的十六烷值和低温性能,而适度的多不饱和脂肪酸占比有助于平衡燃料的抗氧化稳定性^[31-32]。

综合脂质质量分数和脂肪酸组成分析,0.1~0.4 初始接种浓度、 $97 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照强度和 25~50 mmol/L 碳酸氢钠物质的量浓度的培养

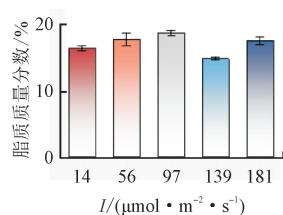
条件组合表现出最佳的脂质生产潜力,既实现了较高的脂质质量分数又保持了相对理想的脂肪酸组成。



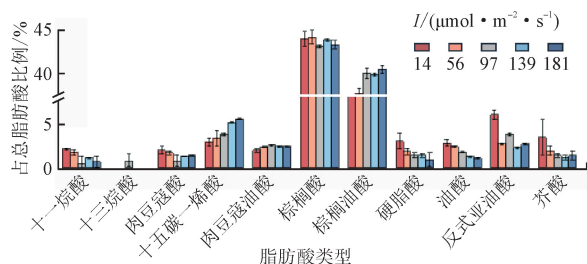
(a) 不同初始接种浓度下脂质质量分数



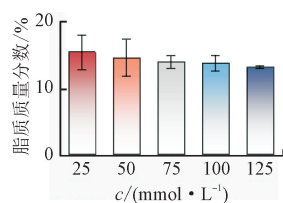
(b) 不同初始接种浓度下各脂肪酸类型占比



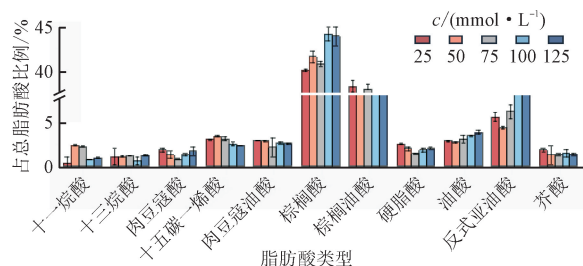
(c) 不同光照强度下脂质质量分数



(d) 不同光照强度下各脂肪酸类型占比



(e) 不同碳酸氢钠物质的量浓度下脂质质量分数



(f) 不同碳酸氢钠物质的量浓度下各脂肪酸类型占比

图6 不同培养条件下聚球藻脂质质量分数和脂肪酸类型

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

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、光照强度和碳酸氢钠物质的量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) 基于生长与 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 均大于 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的预测能力,拟合优度 R_{pred}^2 分别为 0.987 9 和 0.885 8,

平均绝对误差 E 分别为 0.043 9 和 0.118 1,可用于低成本在线预测与过程预警。

(3) 营养盐分析结果表明,无机碳消耗与 NO_3^- 消耗呈显著相关, 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) 聚球藻脂质质量分数为 13.0%~18.7%,脂肪酸类型以棕榈酸和棕榈油酸为主,二者合计占总脂肪酸的 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:光照强度为 $97 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、初始接种浓度为 0.1~0.4,碳酸氢钠物质的量浓度为 25~50 mmol/L。

参考文献:

- [1] Liu Zihe, Wang Kai, Chen Yun, et al. Third-generation biorefineries as the means to produce fuels and chemicals from CO_2 [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.
- He Bin, Zheng Xulei, Wang Keyao, et al. Research progress on the comprehensive utilization of *Sargassum* spp. bioenergy [J]. Transactions of China Pulp and Paper, 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.
- Zou Taozhen, Li Pengfei, Li Xindong, et al. Research progress in microalgal lipid synthesis and cultivation of high-lipid strain [J]. Biotechnology Bulletin, 2025, 41(1): 25-38.
- [4] Liu Yuzhong, 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, 侯铮, 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 Jiang, Hou Cheng, Shen Zheng, 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 Jianguo, Xu Ran. 30-year's footprint and process of microalgal development in China [J]. Journal of Biology, 2017, 34(2): 9-15.
- [10] Wang Jianlong, Guo Xuan. 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 L 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 Weiyin, Raman A A 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] Thimijan 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 pretreatment and purification methods [J]. Bioresource Technology, 2018, 257: 121-128.
- [20] Wu Huaming, Wu Xingqiang, Yang Tiantian, 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]// *Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide*. Berlin, Germany: Springer, 1980: 3-11.
- [26] Lee E, Jalalizadeh M, Zhang Qiong. 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, Netherlands: Springer, 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, Todorut I A. Biodiesel quality, standards and properties [M]//Montero G, Stoytcheva M. *Biodiesel-Quality, Emissions and By-Products*. London, UK: IntechOpen, 2011: 3-28.

(编辑 武红江)

(上接第 196 页)

- Lü Yanjun, Yu Lie, Liu Heng. Stability and nonlinear dynamic behavior of a hydrodynamic journal bearing-rotor system [J]. *Tribology*, 2005, 25(1): 61-66.
- [24] 朱挺, 陈燕. 汽轮机流体动压滑动轴承的优化设计 [J]. *内燃机与配件*, 2021(12): 13-14.
- Zhu Ting, Chen Yan. Optimization design of steam turbine fluid dynamic sliding bearings [J]. *Internal Combustion Engine & Parts*, 2021(12): 13-14.
- [25] 虞烈, 刘恒, 王为民. 轴承转子系统动力学: 基础篇上册 [M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2016.
- [26] 林海东, 邓振鸿, 邓旺群, 等. 考虑混合不确定性的转子临界转速的灵敏度快速计算方法 [J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2025, 64(2): 277-285.
- Lin Haidong, Deng Zhenhong, Deng Wangqun, et al. Rapid sensitivity calculation method for rotor critical speeds considering hybrid uncertainties [J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2025, 64(2): 277-285.

(编辑 武红江)