

不同磁处理方式对小球藻生长的影响

王海英¹ 曾晓波² 郭祀远³

(1 中南民族大学生命科学院 湖北 武汉 430074; 2 武汉大学药学院 湖北 武汉 430072;

3 华南理工大学轻工与食品学院 广东 广州 510640)

摘要 目的:利用恒定均匀磁场研究了不同磁处理方式和磁感应强度对小球藻生长的影响,探索磁处理技术应用于微藻培养的可能。方法:用 t 检验考察静止磁处理、循环磁处理和磁处理水三种不同的磁处理方式对小球藻生长的影响。结果:静止磁处理和循环磁处理分别在 5-15mT 和 10-35mT 范围促进小球藻生长,并且随磁感应强度增强分别从 45mT 与 200mT 开始表现出显著抑制生长作用,相同的磁感应强度下静止磁处理比循环磁处理的影响显著。未发现磁处理水对小球藻的生长有显著影响。结论:不同的磁处理方式对小球藻生长有不同的刺激与抑制的强度阈值;0.8T 和 1.2T 磁感应强度处理下比生长速率下降的差别并不明显,说明磁处理的影响在此强度范围趋于稳定;磁处理水无显著影响说明磁场直接对小球藻细胞产生影响。

关键词:磁处理;小球藻;生长

中图分类号:Q64 **文献标识码:**B

Growth of Chlorella Vulgaris Under Different Magnetic Treatments

WANG Hai-ying¹, ZENG Xiao-bo², GUO Si-yuan¹

(1 College of Chemistry and Life Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074; 2 College of Pharmacy, Wuhan university, Wuhan 430072; 3 College of Light industry and Food Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of different magnetic treatments for the growth of Chlorella vulgaris by constant and uniform magnetic field and develop a magnetic treatment technology for the cultivation of microalgae. **Methods:** Magnetized water treatment, static and circular magnetic treatment were applied to study the influences on growth of C. vulgaris and the results of the three methods were analyzed by t-test. **Results:** The growth of C. vulgaris was stimulated at range of 5-15mT and 10-35mT for static and circular magnetic treatment respectively, and was inhibited remarkably from 45mT and 200mT respectively with the increasing of magnetic intensity. Static magnetic treatment was more effective than circular magnetic treatment at same magnetic intensity. No remarkable effect on growth of C. vulgaris was found with magnetized water. **Conclusion:** Different magnetic treatments show different intensity threshold values of stimulation inhibition for the growth of Chlorella vulgaris. There was no distinct difference between the decrease of growth at magnetic intensity from 0.8T to 1.2T, which tended towards stability. Magnetized water has no effect on the growth of Chlorella vulgaris, on which, magnetic field directly influenced.

Key words: Magnetic treatment; Chlorella vulgaris; Growth

前言

磁生物效应已在生物医学、农业、工业、环保和生物工程等方面得到广泛的应用^[1,2]。磁处理技术在藻类养殖中的应用是一较新的尝试。利用气升式磁处理光生物反应器和循环磁处理技术对螺旋藻进行培养,可以加快螺旋藻生长速度并提高细胞产量,有利于提高螺旋藻的营养成分,表明磁处理强化是一种新型的微藻培养技术^[3]。小球藻含有丰富的营养和生理活性成分,具有防治消化性溃疡、抗肿瘤、增强免疫、抗辐射、抗病原微生物、防治贫血、降血脂和抗动脉粥样硬化等药理作用,对小球藻进行磁处理发现磁场会对小球藻的维生素 B₁、B₂ 和 VC 含量、微量元素的积累产生较大程度的影响^[4]。

由于生物物种和个体的差异性,不同生物对磁场的敏感程

度不同。不同形式的磁场,磁处理方式、磁感应强度的大小都会影响到磁处理的生物学效应。本实验主要讨论恒定均匀磁场不同的磁处理方式及其磁感应强度对小球藻生长的影响,以期以磁处理技术在小球藻培养中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验藻种

华南理工大学生物工程学院发酵实验室提供

1.2 磁场处理装置

恒定磁场装置为本实验室设计研制的可调磁场装置^[5]

1.3 小球藻培养方法

取对数生长的小球藻以无菌方式接种到新鲜灭菌的 Basal 基础培养基中^[6],用渔用泵通气,空气过滤器过滤空气,由荧光

* 基金项目:中南民族大学基金资助项目(YZZ04010)

作者简介:王海英,(1974-),女,博士,讲师,主要研究方向:微藻培养及生物活性物质的研究

E-mail: whyzb@163.com

(收稿日期:2006-09-11 接受日期:2006-10-16)

灯提供照明,光照强度 4klx,温度 25℃~30℃,连续照明培养。

1.4 磁处理方法

1.4.1 静止磁场处理

将 20ml 藻液装于 1.5×35cm 试管中,静止放置在磁场中,调节磁感应强度为 5 mT、10 mT、15 mT、25 mT、35 mT、45 mT、50 mT、100 mT、200 mT、400 mT、800 mT 和 1200mT,分别处理 12 小时。在一定时间间隔中摇动不使其沉淀,保持光照强度 4klx。

1.4.2 水的磁处理

将 200ml 培养基在磁场中循环处理 2h,使用剂量泵的流量为 130ml/min,磁场中玻璃管的容积为 25ml。

1.4.3 循环磁处理

调节磁感应强度为 5 mT、10 mT、15 mT、25 mT、35 mT、45 mT、50 mT、100 mT、200 mT、400 mT、800 mT 和 1200mT,以 200ml 藻液,在上述不同磁感应强度下使用剂量泵循环处理,流量 130ml/min,磁场中的停留体积为 25ml,处理时间 12 小时,保持光照强度 4klx。

循环装置流程(图 1)。

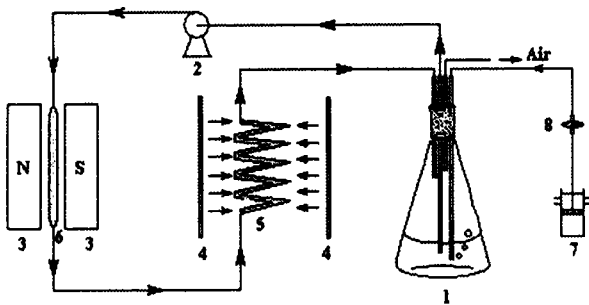


图 1 循环磁处理装置

Fig.1 Circular magnetic treatment installation

1 培养瓶 2 剂量泵 3 可调磁场 4 荧光灯 5 玻璃弯管 6 玻璃管
7 空气泵 8 空气过滤器

1.5 磁处理后的培养

经静止、循环磁处理过的藻液 20ml 转移到 50ml 三角瓶中静止培养 72h,磁处理水中以 10%接种对数生长期的藻液培养至 96h,光照强度 4klx,温度 25℃~30℃,培养过程中每天摇动 4 次。以没有处理的一组为对照组,每组设一个平行样,每个实验重复三次。

1.6 生长测定

比生长速率的测定,用血球计数板计数,比生长速率为:

$$k = \frac{\lg N_t - \lg N_0}{t}$$

N_0 为起始细胞密度, N_t 为 t 时刻细胞密度, t 为培养时间。

1.7 数据统计

用 t -test 检验实验组与对照组之间的差异显著性。用 t 检验分析磁感应强度和处理时间与相对增长率之间的相关程度。每组样品统计数 $n=6$ (2 个平行样×3 次重复)。

2 实验结果

2.1 静止和循环磁处理小球藻的生长规律

在 5mT~1200mT 范围内选取不同的磁感应强度分别进行静止磁处理和循环磁处理的结果(图 2)。

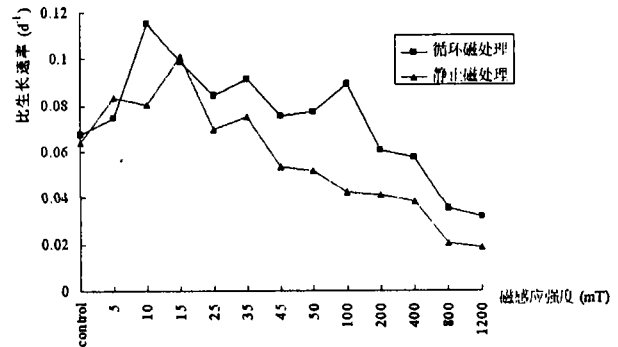


图 2 循环和静止磁处理下小球藻的比生长速率

Fig.2 Special growth rate of *C. vulgaris* under circular and static magnetic treatment



图 3 磁处理水对小球藻比生长速率的影响

Fig.3 Effect of magnetized water on special growth rate of *C. vulgaris*

数据分析表明,循环磁处理 5mT 强度处理没有显著促进生长的作用,而 10mT、15mT、25mT、35mT 磁感应强度对生长有显著刺激作用,10mT 磁处理达到最大的刺激作用,而静止磁处理 5mT、10mT、15mT 的比生长速率的增加均达到显著水平 ($P<0.05$),15mT 磁处理达到最高比生长速率。循环磁处理 25mT 和 35mT 磁感应强度促进了小球藻的生长,并达到显著,静止磁处理这两个强度没有显著促进生长的作用。在 45mT~100mT 小球藻对两种处理方式的响应不同,静止磁处理小球藻的比生长速率均降低,45mT 和 100mT 表现为显著抑制生长的水平,而循环磁处理方式小球藻的比生长速率增加,100mT 磁处理达到显著促进生长的水平。200mT~1200mT 磁处理范围内,静止磁处理和循环磁处理的比生长速率都随磁感应强度的升高不断下降,与对照组相比,各处理组比生长速率的抑制作用均达到显著水平 ($P<0.05$)。可见静止磁处理和循环磁处理对小球藻的生长影响是不同的,刺激与抑制响应的阈值不同,循环磁处理在 0.4T、0.8T、1.2T 的比生长速率分别比对照下降了 15.5%、48.1%、53.3%,而静止磁处理 0.4T、0.8T、1.2T 的比生长速率分别比对照下降了 39.8%、68.0%、70.9%,可见在此相同的较高磁感应强度处理下,静止磁处理对小球藻生长的抑制作用要大于循环磁处理。在静止磁处理培养中,0.1T 和 0.4T 磁感应强度处理藻细胞生长的抑制程度只相差 5.7%,静止与循环磁处理的比生长速率在 1.2T 比 0.8T 分别下降了 3.0% 和 5.2%,下降幅度并不明显。说明磁处理的影响在此较高的磁感应强度下趋于稳定,磁感应强度与生长之间呈现出非线性关系,充分显示了磁生物效应的复杂性。

2.2 磁处理水对小球藻生长的影响

用磁处理水接种后的培养实验(图 3)。结果表明,在所设定的不同强度磁处理中,小球藻的比生长速率的变化均未达到

显著影响($P>0.05$),说明磁处理水培养基对小球藻生长的影响较小。

3 讨论

外加恒定磁场一般对处于磁场中的物质会有磁场力的作用、电效应和磁致能级分裂三种磁作用。这些物理作用会影响细胞中的顺磁性和抗磁性物质,进而影响生化反应效率,改变细胞的生长速率^[6]。本实验磁处理过程中,藻细胞都要受到上述三种基本的磁作用。静止藻细胞在磁场下长时间受到磁场力的作用,细胞内的顺磁性和抗磁性物质产生附加磁场,其取向发生变化,同时在磁场作用下分子能级受到影响,进而影响细胞内的生化反应;由于定时摇动不使其沉淀,藻细胞在试管中始终作无序的布朗运动,细胞中的带电离子也会受到磁场的作用。由于运动速度较慢且无序,磁场的电效应影响是较小的,主要可能是磁场力和能级的变化影响了小球藻的生长^[7,8]。在循环磁处理中,在磁场中停留的时间较短,虽然也受到磁场力的作用,但很快的出入磁场,可能会使磁场力的影响不明显,但快速切割磁力线的方式使带电离子的运动速度增大,对藻细胞生长产生影响。两种不同的磁处理方式中小球藻受到磁场作用不同,可能表现出对不同磁处理的响应的差异。

合适强度的磁处理可以刺激小球藻的生长,在一定强度下出现最大刺激作用。不同磁处理方式下,由刺激到抑制的转折范围不同。从酶的角度出发,在适当强度的磁场条件下,一些蛋白质和酶含有的过渡金属离子表现为顺磁性,这些离子又处于酶的活动中心^[9]。在适当的磁场力作用下,影响酶的活性中心,进而提高酶的反应速度。另一方面,磁场加入时,磁力线对蛋白质中某些基团的扰动和对其共轭结构中自由电子跃迁的影响,或使分子的内部运动形式处于不同寻常状态,造成一定时间内活力部位构象微区发生扰动,并形成某些具有更高活力的构象形式,使酶的活力提高,促使细胞生理代谢加快^[10];磁场强度过高时,磁场力的作用使得活性中心离子的异常,酶构象的转变不利于酶活性的提高,磁场通过酶的作用影响到细胞内的生化反应,表现出对小球藻的生长的影响^[11]。

虽然在很多实验中得到磁处理水刺激生物生长的正效应的结果^[12],在本实验中磁处理水培养基对小球藻的生长没有表现出显著的影响,这可能是由于生物体的多样性和特异性造成的敏感性不同。本实验结果表明在小球藻培养中磁处理水的影响是较微弱的,认为在循环磁处理与静止磁处理中对小球藻生长的影响是磁场直接对小球藻细胞作用的结果。

参考文献

- [1] Adey W R. Biological effects of electromagnetic fields [J]. J. Cell Biochem., 1993, 51(4): 410-416
- [2] 毛宁,黄谚谚. 生物磁技术在工农业的应用及其机理探讨 [J]. 激光生物学报, 1998, 7(4): 307-309
- [3] 李志勇,郭祀远,李琳,等. 磁处理光生物反应器的研制及其应用研究[J]. 生物物理学报, 1999, 15(4): 780-786
- [4] 王海英,郭祀远,郑必胜. 小球藻营养成分的磁强化[J]. 食品科技, 2004, 8: 47-51
- [5] 陈峰,姜悦. 微藻生物技术 [M]. 第一版. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 61
- [6] Schenck J F. The role of magnetic susceptibility in magnetic resonance imaging: magnetic field compatibility of the first and second kinds[J]. Med. Phys., 1996, 23: 815-850
- [7] Winters W D, Doe RH, Stansell MJ, et al. Increased antibiotic resistance of E-coli exposed to static magnetic fields [J]. Bioelectromagnetics, 2001, 22 (2): 129-137
- [8] Alaverdyan Z R, Akopyan L G, Charyan L M, et al. Impact of magnetic fields on growth dynamics and acid formation in lactic acid bacteria [J]. Microbiologiya, 1996, 65: 241-244
- [9] 林沁琪,黄灿灿. 恒定磁场对中华猕猴桃蛋白酶生物效应初探[J]. 生物化学与生物物理学报, 1992, 24(3): 253-256
- [10] 钟科军,曹社祥,文陵飞,等. 超氧化物歧化酶磁效应的研究[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 1999, 26(5): 18-23
- [11] 习岗,傅志东. 外磁场对小麦过氧化物酶酶促反应动力学的影响[J]. 生物物理学报, 1994, 8(3): 512-515
- [12] 陆生海,宋亚英. 磁处理水添食对家蚕若干数量性状影响的初步试验[J]. 蚕业科学, 2001, 27 (4): 329-33

郭剑峰(上接第 100 页)

表 2 凯妮汀治疗妊娠期阴道念珠菌病的疗效观察

Table 2 Clinical cure rate of GCV treated with single-dose canesten

疗效	治疗后情况(n=102)	百分比(%)
治愈	81	79.4
有效	14	13.7
无效	7	6.9
24 小时疗效减少	79	77.5

3 讨论

念珠菌性阴道病 (VVC) 在微生物所致阴道炎中占 1/4 左右。念珠菌为条件致病菌,10%-20%非孕妇女及 30%孕阴道中有此菌生长,但菌量极少,并不引起症状。(1)妊娠期由于机体抵抗力下降,阴道组织内糖原增加,酸度增高,有利于念珠菌生长。口服抗真菌药物由于副作用大,且可能对胎儿造成不良影响,故妊娠期不宜应用。而其它局部抗真菌药物,如:碳酸氢钠、

制霉菌素等,由于疗程长、治疗次数多、治愈率低等原因,受到明显限制。凯妮汀是一种广谱抗真菌药物,其活性成份克霉唑是一个具有高效抗真菌活性的咪唑衍生物,它抑制细胞膜中麦角醇的合成,如果麦角醇合成受阻,细胞膜将丧失其完整性,最终导致真菌死亡。凯妮汀含有特殊的乳酸配方和克霉唑,具有协同作用,从而使药物与致病菌相互充分接触而起到治疗作用。(2)凯妮汀只用 1 片,使可在阴道内保持有效浓度达 72 小时,故一般无需重复给药。(3)对孕妇及胎儿无不良影响。凯妮汀采用单剂量治疗,减少了阴道刺激次数,疗程短、疗效高、安全性好,孕妇可以推广应用。

参考文献

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 第六版. 北京:人民卫生出版社, 2003:259
- [2] 戴钟英. 念珠菌及复发性念珠菌性阴道炎的病因及诊治问题[J]. 实用妇产科, 1999.15(5):235
- [3] Ritter W, Patschke k, kranse U, et al. Pharmacokinetic fundamentals of vaginal treatment with Clotrimazole[J]. Chemotherapy, 2002.28:37