

营养方式对小球藻生长性能及营养价值的影响

严佳琦 黄旭雄* 黄征征 胡盼 吕为群 林锋

(上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

摘 要 分别对小球藻 *Chlorella* sp. 2003ZGH023 进行光合自养、混合营养高碳、混合营养低碳和异养低碳培养, 探讨不同营养方式对小球藻生长及细胞营养组成的影响。结果表明, 在基础培养基中添加有机碳源, 可显著提高小球藻的细胞密度和生物量, 其中异养低碳组细胞密度可达 54.73×10^6 cell/ml, 生物量 6.86 g(dw)/L, 且混合营养和异养小球藻细胞体积变大。在细胞营养组成上, 与自养小球藻细胞相比, 异养培养的小球藻细胞内蛋白含量显著下降而脂肪含量显著增加。光合自养组、混合营养高碳组、混合营养低碳组和异养组小球藻细胞粗蛋白含量分别是 $41.88\% \pm 0.14\%$ 、 $24.60\% \pm 0.07\%$ 、 $21.93\% \pm 0.13\%$ 和 $12.91\% \pm 0.35\%$ 。不同营养方式下小球藻的氨基酸总量变化与其粗蛋白含量的变化趋势相一致, 光合自养组 > 混合营养高碳组 > 混合营养低碳组 > 异养组。小球藻总脂肪含量最高的为混合营养高碳组 ($15.32\% \pm 1.58\%$) 和异养低碳组 ($14.15\% \pm 0.93\%$), 显著高于混合营养低碳组 ($12.35\% \pm 0.25\%$) 和光合自养组 ($10.04\% \pm 0.39\%$)。小球藻的脂肪酸组成会随着营养方式的改变而改变, 光合自养组小球藻的主要脂肪酸为 18:3n3 和 14:1, 混合营养组小球藻的主要脂肪酸为 14:1 和 18:1n9, 异养低碳组中小球藻的主要脂肪酸为 18:1n9 和 16:0。

关键词 小球藻 光合自养 混合营养 异养 生长 营养组成

中图分类号 S917.3 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2011)04-0077-09

Effect of different trophic modes on the growth performance and nutrition of *Chlorella* sp.

YAN Jia-qi HUANG Xu-xiong* HUANG Zheng-zheng
HU Pan LÜ Wei-qun LIN Feng

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Fisheries University, 201306)

ABSTRACT A *Chlorella* strain 2003ZGH023 was cultured at modes of photoautotrophic (light, basic nutrient formula), mixotrophic with high carbon level (light, basic nutrient formula, 8 gram organic carbon per liter), mixotrophic with low carbon level (4 gram organic carbon per liter), and heterotrophic with low carbon level (darkness, basic nutrient formula, 4 gram organic carbon per liter) respectively. The effects of different trophic modes on the growth performance and nutritional composition of the *Chlorella* were studied. The results indi-

上海市科技兴农项目(05 攻 4-4)、国家 863 课题(2009AA064401)、上海市重点学科建设项目(Y1101)和上海高校创新团队(第二期)建设项目共同资助

* 通讯作者。E-mail: xxhuang@shou.edu.cn, Tel: (021)61900463

收稿日期: 2010-12-19; 接受日期: 2011-04-08

作者简介: 严佳琦 (1985-), 女, 硕士研究生, 主要从事微藻培养及其营养研究。E-mail: x-t. y. h-x@163.com, Tel: 15692165253

cated that the addition of organic carbon in culture medium significantly increased the cell density and biomass of the *Chlorella*. The heterotrophic group had a cell density as high as 54.73×10^6 cell/ml, and biomass of 6.86 g(dw)/L. The sizes of the *Chlorella* cells in heterotrophic and mixotrophic groups were larger than that in autotrophic group. The assays on nutrition showed that the protein content of the *Chlorella* cell declined significantly while the total fat content increased significantly in the heterotrophic modes. The crude protein contents in the photoautotrophic mode, mixotrophic mode with high carbon level, mixotrophic mode with low carbon level and heterotrophic mode were $41.88\% \pm 0.14\%$, $24.60\% \pm 0.07\%$, $21.93\% \pm 0.13\%$ and $12.91\% \pm 0.35\%$ respectively. The variation of amino acid content in cell at different trophic modes was consistent with that of crude protein. The total lipids in the mixotrophic mode with high-carbon group ($15.32\% \pm 1.58\%$) and the heterotrophic mode with low-carbon group ($14.15\% \pm 0.93\%$) were significantly higher than those in the mixotrophic mode with low-carbon group ($12.35\% \pm 0.25\%$) and the photoautotrophic mode ($10.04\% \pm 0.3\%$). There were significant differences in fatty acid compositions of cell cultured in different trophic modes. Fatty acids 18:3n3 and 14:1 were dominant in photoautotrophic *Chlorella*. Fatty acids 14:1 and 18:1n9 were the majority in the mixotrophic modes. Fatty acids 18:1n9 and 16:0 were the most abundant in the heterotrophic mode.

KEY WORDS *Chlorella* sp. Photoautotrophic Mixotrophic
Heterotrophic Growth Nutritional composition

小球藻 *Chlorella* sp. 为绿藻门小球藻属的单细胞藻类,其生态分布广、生长速度快、易于培养。小球藻细胞内含有丰富的蛋白质、氨基酸、不饱和脂肪酸、维生素、矿物质、色素和多种生物活性物质,营养价值全面均衡,被FAO列为21世纪人类的绿色健康食品(周华伟等 2005)。小球藻是最具开发应用前景的微藻之一。小球藻蛋白、小球藻饮品、小球藻化妆品和小球藻医药制品也不断被研发(Borowitzka 1995; 李师翁等 1997)。但如何高效、高密度稳定培养小球藻是制约小球藻产业发展的重要因子之一。

传统的产业化微藻培养多利用开放的水池,微藻以光合自养的模式生长。已有的研究表明,某些微藻可以在无光或有光的条件下以异养或混合营养的方式利用有机碳源进行生长(Gladue *et al.* 1994)。微藻异养培养方式避免了光自养培养过程中光限制等问题,使得工业化大规模高密度培养微藻成为可能(Chen 1996)。*Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella zofingiensis*, *Chlorella protothecoides* 等多种小球藻均可在无光条件下利用糖或其他有机化合物作为能源和碳源进行异养生长(Samejima *et al.* 1958; Mayo *et al.* 1994; Shi *et al.* 2000; Sun *et al.* 2008)。本研究探讨了实验室诱导筛选出的具有异养能力的小球藻在不同营养方式下的生长性能及其营养价值,以期为该小球藻的高密度培养及开发高附加值代谢产物提供基础参数。

1 材料与方法

1.1 藻种的来源及培养液配方

实验用小球藻品系(2003ZGH023)源自上海海洋大学生物饵料保种室,是一个2003年分离获得并经长期诱导后筛选出的具有异养能力的小球藻品系。培养用的基础营养盐配方组成如下: NaNO_3 , 374mg/L; NaH_2PO_4 , 22 mg/L; $\text{Fe C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 19.5 mg/L; F/2 微量元素(不含铁)混合液(成永旭 2005)5 ml,淡水

1 000 ml。

1.2 试验设计

小球藻的培养在3种营养方式进行:光合自养营养方式(光照,基础营养盐配方),混合营养方式(光照,基础营养盐配方,葡萄糖)和异养营养方式(黑暗,基础营养盐配方,葡萄糖)。其中混合营养方式设低碳组(4 gC/L)和高碳组(8 gC/L),异养营养方式仅设低碳组(4 gC/L)。每个处理组设3个平行。

1.3 小球藻的培养与生长检测

在恒温光照培养箱内用3 000 ml的烧瓶进行批次培养。小球藻的初始接种浓度为 10.0×10^6 cell/ml,培养过程中连续充过滤空气,控温 25°C 。光合自养及混合营养组连续光照,光照强度 $70 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。培养周期7 d。

自接种后每天下午取样测定藻细胞浓度及生物量。藻细胞浓度采用血球计数板法。生物量测定采用重量法。用移液管吸取50.0 ml藻液, $5\ 000 \text{ r}/\text{min}$ 离心15 min,去上清液,沉淀物 60°C 烘干至恒重。在培养第3天取样测定不同培养方式下的小球藻细胞大小并计算细胞体积:

$$V=4/3ab^2\pi$$

式中, V 表示藻细胞体积, a 表示藻细胞长轴半径, b 表示藻细胞短轴半径。

1.4 营养成分分析

培养结束后,采用离心法收集藻泥。将藻泥装入样品瓶中于冷冻干燥机中 -46°C 冻干,干燥后的样品用研钵粉碎均匀后低温冷冻保存用于营养分析。粗蛋白用KDN-04定氮仪测定,总脂肪用氯仿-甲醇法测定。藻粉样品经盐酸水解后用氨基酸自动分析仪测定氨基酸含量,脂肪酸经苯-石油醚甲酯化后在HP 6890A型气相色谱仪上分析,以Sigma脂肪酸标准品为参照,并用归一化法计算脂肪酸的百分含量(黄旭雄等 2008)。除氨基酸和脂肪酸外,其余指标测定设3个重复。

1.5 数据统计与分析

测定结果以平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示。采用SPSS 11.0软件进行单因子方差分析,并用Duncan检验进行多重比较, $P<0.05$ 即认为有显著性差异。

2 结果

2.1 营养方式对小球藻生长性能的影响

从图1可知,在7d的培养过程中,不同营养方式下小球藻的生长性能具有差异性。光合自养营养方式下小球藻在接种后第2天开始进入指数增长期,但生长效率(相对生长常数)较低。第4天后生长趋缓,随后进入静止期。在第7天小球藻达到最大细胞浓度(27.15×10^6 cell/ml)。混合营养方式下小球藻在进入指数增长期后的生长效率较高,但持续时间较短,第3天后生长趋缓,随后进入静止期。混合营养下低碳和高碳组的生长性能无明显差异,小球藻在第5天达到最大细胞浓度(36.84×10^6 cell/ml)。在异养营养方式下小球藻进入指数增长期后的生长效率高于光合自养组,而低于混合营养组,但异养营养组微藻指数增长期维持时间最长,直到第5天才进入相对生长下降期。试验期间异养营养方式下小球藻能达到的最大细胞浓度为 54.73×10^6 cell/ml。

不同营养方式下小球藻的生物量也有显著差异(图2)。从接种后第2天起,光合自养方式下小球藻单位体积的生物量显著低于混合营养组和异养组,混合营养方式下小球藻单位体积的生物量显著低于异养组,混合

异养下高碳组和低碳组差异不显著。试验期间光合自养组小球藻的最大生物量为 0.92 g/L,而混合营养高碳组、混合营养低碳组和异养组小球藻的最大生物量分别为 3.15、2.78、6.86 g/L。

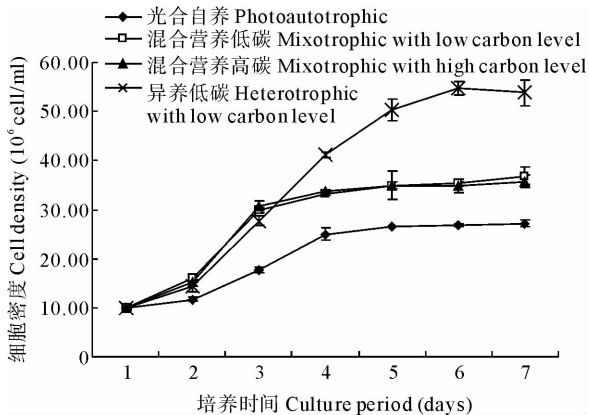
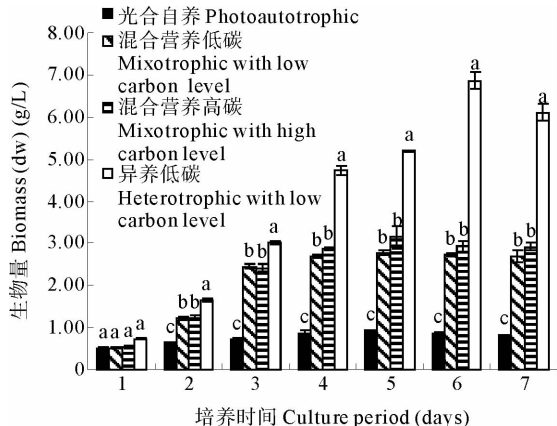


图 1 不同营养方式下小球藻(2003ZGH023)细胞密度的增长

Fig. 1 Growth performance of the *Chlorella* sp. (2003ZGH023) cultured in different trophic mode



注:同一天生物量上标不同字母表示差异显著

Notes: Different letters on the columns at the same day indicate significant difference

图 2 不同营养方式下小球藻(2003ZGH023)生物量的变化
Fig. 2 Changes of biomass of the *Chlorella* sp. (2003ZGH023) cultured in different trophic mode

在添加有机碳源后,小球藻的细胞形态也发生了显著变化(表 1)。混合营养组和异养组的小球藻细胞内颗粒物质增加,呈散乱分布;细胞内色素颜色呈黄绿色,细胞显著大于光合自养组。

表 1 添加有机碳源对小球藻(2003ZGH023)细胞大小的影响

Table 1 Effect of organic carbon in medium on the cell size of the *Chlorella* sp. (2003ZGH023)

组别 Treatment	细胞长径(μm) Long axis of cell	细胞短径(μm) Short axis of cell	细胞体积(μm ³) Volume of cell
光合自养 Photoautotrophic	5.95 ± 1.45 ^b	4.93 ± 0.92 ^b	497.04 ± 314.89 ^b
混合营养/异养 Mixotrophic/Heterotrophic	14.42 ± 1.21 ^a	12.52 ± 0.79 ^a	7 149.77 ± 1 277.60 ^a

注:同一列上标不同字母表示差异显著

Notes: Different letters in same column indicate significant difference

2.2 营养方式对小球藻营养组成的影响

不同营养方式下小球藻细胞的营养组成有显著差异(表 2)。粗蛋白含量最高的是光合自养组,其次为混合营养高碳组、混合营养低碳组和异养组,各组之间均差异显著。而总脂肪含量最高的为混合营养高碳组和异养低碳组,显著高于混合营养低碳组和光合自养组。

不同营养方式下小球藻的氨基酸总量的变化与其粗蛋白含量的变化趋势相一致。光合自养组、混合营养低碳组、混合营养高碳组和异养低碳组小球藻的氨基酸总量分别为 346.5、206.9、181.6、96.8 mg/g 藻粉。在氨基酸的组成上,小球藻中含量较高的氨基酸分别为 Glu、Ala、Asp,含量较少的氨基酸分别为 His、Met、Ile (表 3)。

表 2 不同营养方式下小球藻(2003ZGH023)细胞的蛋白和总脂肪含量

Table 2 The protein and lipid contents of the *Chlorella* sp. (2003ZGH023) cultured in different trophic mode

组别 Treatment	光合自养组	混合营养低碳组	混合营养高碳组	异养低碳组
	Photoautotrophic	Mixotrophic with low organic carbon concentration	Mixotrophic with high organic carbon concentration	Heterotrophic with low-carbon concentration
粗蛋白含量 (%) Crude protein content	41.88±0.14 ^a	24.60±0.07 ^b	21.93±0.13 ^c	12.91±0.35 ^d
总脂肪含量 (%) Total lipid content	10.04±0.39 ^c	12.35±0.25 ^b	15.32±1.58 ^a	14.15±0.93 ^a

注:同一行上标不同字母表示差异显著

Notes: Different letters in each line indicate significant difference

表 3 不同营养方式下小球藻细胞的氨基酸组成及含量

Table 3 Amino acid compositions and contents of the *Chlorella* sp. (2003ZGH023) cultured in the different trophic mode

组别 Treatment	光合自养组		混合营养低碳组		混合营养高碳组		异养低碳组	
	Photoautotrophic		Mixotrophic with low organic carbon concentration		Mixotrophic with high organic carbon concentration		Heterotrophic with low organic carbon concentration	
	含量 (mg/g 藻粉)	占总氨基酸的 百分组成 (%)	含量 (mg/g 藻粉)	占总氨基酸的 百分组成 (%)	含量 (mg/g 藻粉)	占总氨基酸的 百分组成 (%)	含量 (mg/g 藻粉)	占总氨基酸的 百分组成 (%)
天冬氨酸 Asp	36	10.4	20.7	10.0	17.8	9.8	9.4	9.7
苏氨酸 Thr	17.9	5.2	11.9	5.8	10	5.5	6.7	6.9
丝氨酸 Ser	13.9	4.0	9.7	4.7	7.9	4.4	3.9	4.0
谷氨酸 Glu	51.8	14.9	28.9	14.0	25.3	13.9	14.1	14.6
甘氨酸 Gly	22.6	6.5	12.2	5.9	11.3	6.2	6.5	6.7
丙氨酸 Ala	30.5	8.8	20.4	9.9	20.7	11.4	11.3	11.7
缬氨酸 Val	22.2	6.4	13.8	6.7	11.9	6.6	6.3	6.5
蛋氨酸 Met	12.9	3.7	9.4	4.5	6.1	3.4	2.0	2.1
异亮氨酸 Ile	10.8	3.1	6.2	3.0	5.6	3.1	2.8	2.9
亮氨酸 Leu	28.9	8.3	18.1	8.7	16	8.8	7.9	8.2
酪氨酸 Tyr	14.7	4.2	9.3	4.5	8.7	4.8	3.3	3.4
苯丙氨酸 Phe	16.7	4.8	9.2	4.4	7.5	4.1	5.1	5.3
组氨酸 His	5.5	1.6	3.9	1.9	2.8	1.5	1.6	1.7
赖氨酸 Lys	23	6.6	14	6.8	12.5	6.9	6.2	6.4
精氨酸 Arg	21.4	6.2	15.1	7.3	13.1	7.2	8.3	8.6
脯氨酸 Pro	17.7	5.1	4.1	2.0	4.4	2.4	1.4	1.4
总量 Total	346.5	100.0	206.9	100.0	181.6	100.0	96.8	100

注:色氨酸和半胱氨酸在水解过程中遭破坏

Note: Tryptophan and cysteine were destroyed in the hydrolysis process

表 4 为不同营养方式下小球藻细胞的脂肪酸组成。不同营养方式下小球藻的脂肪酸组成有明显差异。光合自养组小球藻中,亚麻酸(18:3n3)占总脂肪酸的 25.13%,主要脂肪酸依次为 18:3n3>14:1>16:4n3>16:0。混合营养低碳组小球藻中为 14:1,占总脂肪酸的 26.77%,主要脂肪酸依次为 14:1>18:1n9>

16:0 > 18:3n3。混合营养高碳组脂肪酸组成和混合营养低碳组相似,主要脂肪酸依次为 14:1 > 18:1n9 > 16:0 > 18:3n3。异养低碳组中,18:1n9 占小球藻总脂肪酸的 33.34%,其次为 16:0(22.67%)、18:3n3(12.64%),其他脂肪酸含量较低。此外,3种营养模式下,小球藻细胞中均未检测到 EPA(20:5n3)和 DHA(22:6n3)。从脂肪酸类别看,光合自养组小球藻中多不饱和脂肪酸(PUFA,52.89%)水平明显高于混合营养组和异养组;混合营养组和异养组小球藻的单不饱和脂肪酸的水平较光合自养组有明显提高。异养组小球藻的饱和脂肪酸水平也较光合自养组和混合营养组高。

表4 不同营养方式下小球藻细胞的脂肪酸组成

Table 4 The fatty acid profiles of the *Chlorella* sp. (2003ZGH023) cultured in different trophic mode

组别 Treatment	光合自养组 Photoautotrophic	混合营养低碳组 Mixotrophic with low organic carbon concentration	混合营养高碳组 Mixotrophic with high organic carbon concentration	异养低碳组 Heterotrophic with low organic carbon concentration
8:0	0.96	1.65	1.54	0.33
10:0	0.69	0.18	0.20	0.67
11:0	0.62	1.07	0.99	0.20
12:0	2.28	0.34	0.34	0.15
14:0	0.20	0.22	0.19	0.23
14:1	15.14	26.77	24.26	0.95
16:0	12.58	14.44	14.89	22.67
16:1n9	1.14	0.99	1.42	3.79
16:1n7	0.88	1.73	0.90	nd
16:1n5	0.65	1.16	1.02	3.52
16:2n9	1.23	1.58	1.47	0.61
16:2n6	4.72	8.36	7.48	0.98
16:2n3	0.81	1.70	1.49	2.53
16:3n3	0.81	1.94	2.30	0.40
16:4n3	13.34	2.37	3.22	5.23
18:0	0.39	1.30	1.20	1.40
18:1n9	5.55	17.02	18.21	33.34
18:1n7	3.19	1.26	1.14	2.86
18:2n	2.72	3.50	2.56	1.45
18:3n6	0.17	0.11	0.17	0.09
18:3n3	25.13	9.02	10.58	12.64
18:4n3	2.98	1.28	1.95	0.06
20:0	2.81	0.33	0.45	1.59
20:1	0.04	0.18	0.24	1.65
20:2n9	0.17	0.13	0.20	0.17
20:2n6	0.10	0.16	0.22	0.24
20:4n6	0.16	0.31	0.49	0.32
22:2n6	0.24	0.33	0.33	1.65
22:4n6	0.32	0.57	0.56	0.21
SFA	20.52	20.48	19.80	27.24
MUFA	26.59	49.11	47.19	46.12
PUFA	52.89	31.37	33.01	26.58

注:nd表示未检测出 Note: nd means not detectable

3 讨论

小球藻的开发利用涉及饲料、水产、食品、药品、保健品、污水处理和环境保护及新型生物能源开发等多个领域,具有广阔的开发应用前景(李师翁等 1997)。*Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella regularis*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella zofingiensis*, *Chlorella protothecoides* 等小球藻的异养性能得到了比较广泛的研究(Samejima *et al.* 1958; Mayo *et al.* 1994; Shi *et al.* 2000、2008; Cheng *et al.* 1991; Endo *et al.* 1997),葡萄糖被认为是小球藻异养培养的最佳有机碳源(Shi *et al.* 1999)。本研究的结果表明,经异养能力筛选的小球藻(*Chl.* sp., 2003ZGH023)在培养基中添加葡萄糖后,细胞的生长性能和生物量得到了显著提高。低碳混合营养组、高碳混合营养组和低碳异养组的单位水体小球藻生物量(干物质)分别是光合自养组的3.4、3.0、7.5倍。异养条件下小球藻培养产量的显著提高,与异养条件下小球藻的代谢方式的转变有关:在光合自养的模式下,小球藻进行有氧的光合作用,利用光能并通过 Calvin 循环固定二氧化碳。在异养条件下,小球藻利用葡萄糖作为碳源和能量来源,并通过糖酵解途径、三羧酸循环和线粒体氧化磷酸化途径进行能量代谢。Yang 等(2006)研究表明,从 ATP 的理论产量看,小球藻获得的 ATP 产量在异养营养下要高于混合营养,而混合营养要高于光合自养。从外界获取的以 ATP 计的最大热力学效率看,异养培养模式也是最高的,而光合自养模式只有异养培养模式的 16%。前人的研究也表明,异养条件下小球藻可以获得比自养更高的生物量。Shi 等(1999)报道蛋白核小球藻 *C. protothecoides* 在以 80 g/L 葡萄糖为有机碳源进行摇瓶异养培养时最高可以获得 31.2 g/L 的生物量,并且当葡萄糖浓度由 10 g/L 升高到 80 g/L,生物量也随之增加,葡萄糖浓度超过 80g/L,则生长受抑制,单位水体的生物量反而降低。本研究中培养基中葡萄糖水平较 Shi 等(1999)的报道要低,单位水体的产量也低。这可能与小球藻的品系有关,也可能与培养基中其他营养物的浓度有关(Shi *et al.* 2000; Chen *et al.* 1991)。本研究中,混合营养模式下,高碳组的生物量要低于低碳组,也表明过高的葡萄糖对小球藻生长有抑制作用。

小球藻营养方式的转变,也会引起小球藻细胞形态和内部结构组成发生变化,表现为:细胞的体积增加,个体变大,细胞内颗粒物增加,呈散乱分布;此外,藻体色素变黄,藻液的颜色由光合自养的深绿色转变成异养的黄绿色。张大兵等(1996)认为,小球藻在异养过程中增大的细胞是一种肥大细胞,在这种细胞中含有许多似亲孢子。这是由于高浓度葡萄糖对分解细胞壁多糖酶活力的抑制,使细胞不断生成的似亲孢子不能及时释放,从而导致细胞体积不断变大(Walter 1987)。对于异养过程中藻液颜色变黄,余若黔等(2000)、缪礼鸿等(2007)、马永强等(2007)等人在他们的研究中都发现同样的现象。Shi 等(2000)研究发现,异养条件下蛋白核小球藻的叶黄素含量增加。王素琴等(2007)等对小球藻 USTBO1 异养培养后也发现叶黄素含量增加。Sun 等(2008)报道小球藻 *C. zofingiensis* 在有外源性葡萄糖添加的异养培养模式下虾青素积累增加。Ochiaa-Yanagi (1970)认为,自养小球藻细胞在向异养转化过程中,叶绿体慢慢膨大,片层结构解体,最终导致叶绿体的解体。这是因为培养基中高浓度的葡萄糖抑制叶绿素合成过程中 α -氨基乙酰丙酸(ALA)以后的反应步骤,与此同时叶绿素降解也加快。由于这两个方面原因作用从而导致异养小球藻细胞中叶绿素消失。细胞内只有少量的胡萝卜素和叶黄素,因此异养小球藻细胞呈现黄色。

在生化成分方面,与自养小球藻细胞相比,异养小球藻细胞内蛋白质的含量下降,氨基酸总量下降而脂肪含量则有所增加。类似的结果在文献中也有报道。在曹春晖等(2000)关于小球油脂含量研究中,小球藻的油脂含量一般为 8%~27%。对于异养小球藻细胞中脂肪含量的变化,江红霞等(2003)认为藻类在不同的营养方式条件下可造成其不同极性脂肪含量的显著差异。吴庆余等(1992)的研究表明,自养小球藻转化为异养生长后,细胞内脂肪含量急剧增加,占细胞干重的 70%,比自养小球藻细胞内脂肪含量高 4.4 倍。张大兵等(1996)研究表明,自养小球藻细胞转化为异养生长后,不但细胞内脂肪的含量急剧增加,而且脂肪的组成成分也有差异。这种差异由环境诱导的细胞内基因表达的改变所引起,某些在自养小球藻中可大量表达的基因在异养小球藻细胞中被关闭,而有些在自养小球藻细胞中不表达的基因在异养小球藻细胞中却能活跃地表达,产生新的蛋白质和代谢酶,调控随后的物质合成。例如,在自养小球藻细胞中转运葡萄糖的蛋白质不能表达,而在异养小球藻细胞中可活跃地表达,翻译产生一种负责将外源葡萄糖转移到细胞内的膜蛋白,参与小球藻细胞

的异养代谢(Kamiya *et al.* 1987)。

对不同营养方式下小球藻脂肪酸组成的研究发现,营养方式对小球藻的脂肪酸组成有明显的影响,各类别的脂肪酸数量发生了明显改变。光合自养小球藻 PUFA 占总脂肪酸的 52.89%,PUFA 具有降血脂、抑制血小板聚集、降血压和抗动脉粥样硬化等多方面的保健和药用价值(Kyle *et al.* 1990; Gill *et al.* 1997)。在添加有机碳源进行混合营养培养或异养培养后,PUFA 的水平明显降低,其含量均不超过总脂肪酸的 1/3。Chen 等(1991)报道,在小球藻的异养培养中,PUFA 的产量与氮源添加量有关,如果控制氮源供给,可以避免藻体生物量增长过快,使 PUFA 累积量相对提高。因此通过控制小球藻的培养条件,可以提高 PUFA 的产量。本试验中,在混合营养条件下,低碳组和高碳组的小球藻的脂肪酸类别并无明显差异(表 4)。已有的研究表明,光照是影响自养小球藻脂肪酸组成的重要因素之一。李荷芳等(2001)研究表明,小球藻的脂肪含量与光照强度呈正相关,其脂肪酸组成中 EPA 的含量与光强呈负相关。在同样的有机碳浓度下,混合营养组小球藻比异养小球藻含有更多的 PUFA,更少的 SFA。表明在有机碳源存在的情况下,光照依然会影响小球藻的脂肪酸组成。利用微藻生产多不饱和脂肪酸(PUFA)如二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)是藻类生物技术的一个研究热点。本研究表明,不论在何种营养方式下,小球藻的 EPA、DHA 含量都极少,而与王大志等(1999)报道的海水小球藻含有较高 EPA(10.6%)有很大差异。这可能与实验所采用的藻的种类不同有关。王大志等(1999)研究所用的海水小球藻可能在分类上属于 Eustigmatophyceae,而非绿藻纲 Chlorophyceae。Zhukova 等(1995)认为绿藻纲微藻含有丰富的十六碳和十八碳脂肪酸,缺乏二十碳和二十二碳多不饱和脂肪酸。Petkov 等(2007)也报道了小球藻本身不含二十碳四烯酸及二十碳五烯酸,小球藻样品中检测到的微量的二十碳和二十二碳多不饱和脂肪酸可能来源于共生的其他细菌。

参 考 文 献

- 马永强,韩春然,孙冰玉. 2007. 淡水小球藻异养培养生产叶黄素的研究. 食品科技, (5): 132~134
- 王大志,彭兴跃,李少菁,程兆第,金得祥. 1999. 海水小球藻脂肪酸组成研究. 海洋科学, 4: 68~70
- 王素琴,李雅雯,闫海,杨帅,林海. 2007. 小球藻 USTB01 的异养培养和叶黄素的生产. 北京科技大学学报, 29 (8): 766~770
- 江红霞,郑怡,林雄平. 2003. 蛋白核小球藻脂溶性化合物的抑菌活性及成分分析. 植物资源与环境学报, 12 (1): 1~5
- 成永旭主编. 2005. 生物饵料培养学(第二版). 北京: 中国农业出版社, 83
- 李荷芳,周汉秋. 2001. 光照强度对海洋微藻脂肪含量及脂肪酸组成影响的研究. 海洋科学集刊, 43: 178~183
- 李师翁,李虎乾. 1997. 植物单细胞蛋白资源-小球藻开发利用研究的现状. 生物技术, 7 (3): 45~48
- 吴庆余,匡梅,Grant, N. G. 1992. 小球藻两个品系在自养与异养条件下的生长、能荷与色素差异. 植物生理学报, 18(3): 293~299
- 余若黔,刘学铭,梁世中,陈子健. 2000. 小球藻(*Chlorella vulgaris*)的异养生长特性研究. 海洋通报, 19 (3): 57~63
- 张大兵,吴庆余. 1996. 小球藻细胞的异养转化. 植物生理学通讯, 32 (2): 140~144
- 周华伟,林炜铁,陈涛. 2005. 小球藻的异养培养及应用前景. 氨基酸和生物资源, 27 (4): 69~73
- 黄旭雄,胡盼,庄林川,倪良平. 2008. 微小色球藻(*Chroococcus minutus*)培养及其营养组成分析. 上海水产大学学报, 17(1): 77~81
- 曹春晖,孙世春. 2000. 30 株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成. 青岛海洋大学学报, 30 (3): 428~434
- 缪礼鸿,文金丽,邹有红,王琛. 2007. 1 株异养型绿球藻的生长特性及营养价值评价. 华中农业大学学报, 26 (4): 533~537
- Borowitzka, M. A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. Journal of Applied Phycology, 7(1): 3~15
- Chen, F. 1996. High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. Trends in Biotechnology, 14: 421~425
- Chen, F., and Johns, M. R. 1991. Effect of C/N ratio and aeration on fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*. Journal of Applied Phycology, 3: 203~209
- Endo, H., and Nakajima, K., Chino, R., and Shirota, M. 1974. Growth characteristics and cellular components of *Chlorella* regulars, heterotrophic fast growing strain. Plant Cell Physiology, 38: 9~18
- Gill, I., and Valivety, R. 1997. Polyunsaturated fatty acids: Part I. Occurrence, biological activities and application. Trends in Biotechnology, 15: 401~409
- Gladue, R. M., and Maxey, J. E. 1994. Microalgal feeds for aquaculture. Journal of Applied Phycology, 6: 131~141
- Kamiya, A., and Kowalik, W. 1987. Photoinhibition of glucose uptake in *Chlorella*. Plant Cell Physiology, 28(4): 611~619
- Kyle, D., Bingham, S., and Radmer, R. 1990. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: Prospects for introduction into horticultural food

- plants. Hortscience,25: 1 523~1 526
- Mayo, A. W., and Noike, T. 1994. Effect of glucose loading on the growth behavior of *Chlorella vulgaris* and heterotrophic bacteria in mixed culture. Water Resource,28: 1 001~1 008
- Ochiai-Yanagi, S. 1970. Studies on chlorophyll II formation in *Chlorella protothecoides*. Enhancing effects of light and added aminolevulinic acid and suppressive effects of glucose on chlorophyll II formation. Plant Cell Physiology,11:663
- Petkov, G., and Garcia, G. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? Biochemical Systematics and Ecology,35: 281~285
- Samejima, H., and Myers, J. 1958. On the heterotrophic growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Journal of General Microbiology,18:107~117
- Shi, X. M., Liu, H. J., Zhang, X. W., and Chen, F. 1999. Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures. Process Biochemistry,34: 341~347
- Shi, X. M., Zhang, X. W., and Chen, F. 2000. Heterotrophic production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* on various nitrogen sources. Enzyme and Microbial Technology,27: 312~318
- Sun, N., Wang, Y., Li, Y. T., Huang, J. C., and Chen, F. 2008. Sugar-based growth, astaxanthin accumulation and carotenogenic transcription of heterotrophic *Chlorella zoofingensis* (Chlorophyta). Process Biochemistry,43:1 288~1 292
- Walter, J. 1987. The role of glucose on enzyme involved in the release of mature spores of *Chlorella fusca* var vacuolate. Plant Physiology,71(2): 219
- Yang, C., Hua, Q., and Shimizu, K. 2006. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgae cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic conditions. Journal of Biochemical Engineering,6: 87~102
- Zhukova, N. V., and Aizdaicher, N. A. 1995. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. Phytochemistry,39(2): 351~356

《渔业科学进展》编辑部网上投稿启事

为充分利用网络资源,提高编辑办公和期刊出版效率,《渔业科学进展》编辑部已从2010年1月开始采用期刊网络化办公系统。该系统使投稿、审稿和编辑工作都在同一个网络平台上完成,可大大节省通讯时间,并规范编辑工作流程。同时,网络投稿将以更加友好的界面服务于广大作者,方便作者与编审之间的沟通,为您提供易查、易用、更加方便快捷的服务。

敬请作者访问黄海水产研究所网站(<http://www.ysfri.ac.cn>)右下角的“《渔业科学进展》期刊网上投稿系统”。投稿程序请参看《渔业科学进展》网络化稿件处理系统作者使用指南。

如有疑问,请致电 0532-85833580 陈严老师或 0532-85800117 王建坤老师咨询。也可发邮件到《渔业科学进展》编辑部咨询,E-mail: chenyan@ysfri.ac.cn。

《渔业科学进展》编辑部

2011年8月20日