

小球藻的培养及研究进展

罗 瑶 忠

(广东始兴县隘子中学 广东始兴 512533)

摘 要: 单细胞绿藻在水产养殖、环境保护、人类健康食品和重要生命活性物质生产等众多领域的研究与应用得到不断扩展。主要针对小球藻的异养培养和重要生命活性物质的生产等方面的国内外最新研究进展进行了综述, 并对重要的研究领域进行了展望。

关键词: 小球藻 异养培养 应用

中图分类号: TQ3

文献标识码: A

文章编号: 1672-3791(2009)04(b)-0117-01

1 小球藻的培养

1.1 自养培养

1890 年荷兰微生物学家 Beijerinck 等首先在琼脂平板上成功分离得到了小球藻的纯培养物。Otto Warburg 于 1919 年将这一纯培养物在实验室进行纯培养, 作为研究植物生理学的材料, 研究发现, 小球藻可以进行光合作用, 从而为小球藻的自养培养研究拉开了序幕。小球藻的自养培养既可利用自然光, 也可利用人工光照, 培养基主要由无机化合物组成, 最适 pH 为 6.5~7.5, 最适光照强度为 $36 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s}) \sim 90 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度为 $20^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ 。于贞等^[2]的研究结果表明, pH 是影响小球藻生长的重要因素, 光照强度和通气量通过影响小球藻光合作用强度而调节小球藻的生长。小球藻可以利用铵盐、硝酸盐和尿素作为氮源, 添加适量的含有少量有机酸和微量元素的土壤浸出液有利于小球藻的生长。

1.2 异养培养

小球藻的异养培养是指用一种或多种有机物质作为能源和碳源, 可在黑暗中生长。以异养方式培养小球藻是对小球藻光合自养传统培养方式的革新。小球藻在无光条件下以异养方式利用有机碳源, 尤其是较低价值糖类物质, 可以达到高密度培养微藻以生产高附加值代谢产物的目的。这种培养方式避免了光自养培养过程中光抑制或光限制等问题, 降低了能耗, 节约了成本, 为工业化大规模高密度培养小球藻奠定了基础。1953 年, Lewin 等^[3]首先发现了一些藻类能利用有机物作为唯一碳源和能源进行异养生长, 目前对微藻异养生长机理的研究还处于初级阶段。Gladue 等针对有些微藻不能进行异养生长。这一现象推测有 3 种假说: (1) 缺乏利用有机物的酶类。如一些微藻缺乏利用某些有机物的酶。(2) 通透性障碍。有机物必须通过细胞膜进入细胞内部才能被藻类利用, 然而有藻类缺乏吸收有机物的机制, 为了克服这一问题, 必须选取合适的有机物。(3) 限制性的呼吸能力。藻类通过呼吸作用分解自身储存物质, 获得能量, 维持细胞的存活。然而, 有些藻类在异养条件下呼吸所产生的能量不足以维持生长及运输外界环境中的有机物。Endo 等检测了小球藻利用包括糖、有机酸和醇类等 60 多种有机碳源的能力, 结果表明, 只有葡萄糖、半乳糖、乙酸、乙醇、乙醛、丙酮酸可分别作为唯一碳源支持小球藻的生长, 其中葡萄糖、半乳糖和醋酸盐可在无光照条件下支持蛋白核小球藻的快速生长。

2 小球藻培养的条件控制

2.1 温度

温度是影响藻类所有代谢活动的一个主

要因子。小球藻的适宜生长温度在不同藻株间存在差异, 根据培养小球藻需要的最适温度, 可将小球藻分为两类: 低温藻株, 生长最适宜温度为 $25^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$; 高温藻株, 生长最适宜温度为 $35^\circ\text{C} \sim 40^\circ\text{C}$ 。温度除影响小球藻的生长外, 还影响小球藻代谢产物的形成。高温强化已证明可以提高微藻类胡萝卜素的产量。但是, 在大多数情况下, 藻类细胞合成类胡萝卜素的适宜温度与它们生长的最适温度并不一致。J. A. Del Campo 等研究了 *Chlorella zofingiensis* 产虾青素和叶黄素的条件, 结果表明, 在 28°C 下培养对积累叶黄素有利, 在 24°C 下培养利于积累虾青素。H. Hosono 等研究了温度变化对 *Chlorella pyrenoidosa* (NIES 226) 产多糖的影响, 结果表明, 在对数培养温度为 28°C , 得到较快的生长速率, 在对数生长期后在 $22^\circ\text{C} \sim 28^\circ\text{C}$ 之间变温培养, 这样多糖产量比在 28°C 下恒温培养高 15%。

2.2 培养基的 pH

培养基的 pH 是影响藻类有关生长代谢等许多生理过程的另一重要因子, 它会影响光合作用中 CO_2 的可用性, 在呼吸作用中影响微藻对有机碳源的利用效率, 并影响培养基中藻细胞对离子的吸收和利用以及代谢产物的再利用和毒性。藻类生长的最适 pH 在不同种之间存在差异。一般说来, 小球藻存活的 pH 范围为 4.5~10.6, pH 在 5.5~8.0 时有利于小球藻的生长。在小球藻异养培养体系中多数情况下采用 pH 6.0~7.0。当培养基中加有硝酸盐, 而在培养过程中又不能控制 pH 时, 所采用的起始 pH 一般在 6.0 以下, 这主要是因为培养过程中硝酸根被利用以后 pH 会上升到 6.0 以上。在异养培养体系中, 培养基中所使用的有机碳源种类及浓度对藻细胞生长的最适 pH 均有影响。小球藻的生长代谢也会改变培养基的 pH。在培养基中使用硝酸盐或铵盐, 藻细胞的生长繁殖会使培养基中的 pH 发生很大的改变。培养基的 pH 还会影响微藻细胞中类胡萝卜素的形成。如酸性条件 (pH 5.5~6.5) 能强化绿藻细胞中虾青素的积累。

2.3 生长代谢调节

在小球藻异养培养时, 也可加入植物激素、前体物或阻抑物等生长代谢调节物质, 或促进其生长, 或改变其代谢途径从而使生理活性物质大量合成与积累。Andrzej Bajguz 研究了几种植物生长调节剂对核酸和蛋白质水平的影响, 结果表明, 在一定的浓度范围内, 植物生长调节剂的加入对细胞中核酸和蛋白质的形成有一定促进作用。Andrzej Bajguz 等研究了蜕皮激素对 *Chlorella vulgaris* Beijerinck 的刺激作用, 结果表明, 在适当

浓度范围内, 蜕皮激素对藻细胞生长和代谢物合成有一定促进作用; 当使用浓度为 $10^{-9} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 藻细胞生长最快, 但其对蛋白质分泌有抑制作用, 当浓度为 $10^{-7} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 抑制作用最强。

3 小球藻的应用

小球藻细胞中富含蛋白质、脂肪及维生素, 营养均衡价值高, 在食品领域有良好的应用前景。干燥的小球藻本身味道太重, 难以作为食物直接食用, 但其具有鲜艳的绿色, 可以作为添加剂添加到其它食品中。小球藻细胞的消化率一般较低, 经过胃肠消化以后, 它的细胞破壁率较低, 影响吸收, 但可以通过生物、物理、化学方法加工处理而得到解决; 从另一方面来说, 由于小球藻的这一特点, 使它可以作为一种食用纤维治疗肠胃系统疾病^[4]。小球藻生长因子 (Chlorella Growth Factor, CGF), 也叫小球藻精, 是细胞活性物质, 包括氨基酸、核酸、多糖、多肽、蛋白质、酶、维生素、矿物质、“神秘成分”, 被称为“类荷尔蒙”。国外对其生理功能有较多的研究, 其生理功能包括激活淋巴细胞, 可增强人体免疫能力; 活化人体细胞, 使儿童生长发育加快; 抵抗外来疾病的入侵; 促进人体受伤组织修复; 有机物、重金属等中毒的人服用后能迅速康复; 还能防治胃溃疡、高血压和心血管等疾病。可以预见, CGF 在食品、饮料、保健品、医药等领域有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 魏东, 张学成, 邹丽红, 等. 细胞生长时期对两种海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 2000, 30(3): 503~509. Wei Dong, Zhang Xuechen, Zou Lihong, et al. Journal of Ocean University of Qingdao, 2000, 30(3): 503~509.
- [2] 于贞, 王长海. 小球藻培养条件的研究[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2005 (3): 206~211.
- [3] Lewin J C. Heterotrophy in diatoms [J]. Gen Microbiol, 1953, 9: 305~313.
- [4] Powell R. C., Nevels E. M., McDowell M. E. Algae feeding in humans[J]. J. Nutri., 1961, 75: 7.