

# 小球藻在食品中的应用研究进展

王宝贝<sup>1,2</sup>, 蔡舒琳<sup>1</sup>, 李丽婷<sup>1</sup>, 戴聪杰<sup>1,2</sup>, 卢英华<sup>3</sup>

(1.泉州师范学院海洋与食品学院 福建泉州 362000;

2.福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室 福建泉州 362000;

3.厦门大学化学化工学院化学工程与生物工程系 福建厦门 361005)

**摘要:**现代食品工业正朝着绿色健康、便利的方向发展,具有保健功能的天然产物将是今后新型食品的一个重要发展方向。小球藻因高蛋白、富含类胡萝卜素、维生素等特点,具有多种保健功能,可作为功能性食品或保健品应用于食品行业中。本文综述了近年来小球藻在保健食品、功能性食品中的研究和应用进展,着重介绍了小球藻在保健食品及主食、副食、饮料等功能性食品中的具体应用和国内外研究进展,以期今后小球藻在食品行业中的应用提供参考。

**关键词:**小球藻;功能性食品;保健食品;食品工业

## Applications of *Chlorella* in food industry

WANG Bao-bei<sup>1,2</sup>, CAI Shu-lin<sup>1</sup>, LI Li-ting<sup>1</sup>, DAI Cong-jie<sup>1,2</sup>, LU Ying-hua<sup>3</sup>

(1.College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, China;

2.Fujian Province Key Laboratory for the Development of Bioactive Material from Marine Algae, Quanzhou 362000, China;

3.Department of Chemical and Biochemical Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** Modern food industry aimed at green, healthy and more convenient foods. The use of natural ingredients with functional activity was an attractive way to design new foods. Due to its high in protein content and richness in carotenoids and vitamins, *Chlorella* had many healthcare functions and could be used in food industry as a functional food and nutrition enhancing agent. Research progress in the applications of *Chlorella* in health food and functional foods in recent years, especially in staple food, baked food, and beverage, was reviewed in this paper in order to provide valuable information for the further application of *Chlorella* in food industry.

**Key words:** *Chlorella*; functional food; health food; food industry

中图分类号:TS202.3

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2017)17-0341-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.17.066

现代食品工业正朝着绿色健康、便利的方向发展,具有保健功能的天然产物是今后新型食品的一个重要发展方向。小球藻(*Chlorella*)是一种单细胞绿藻,含有丰富的蛋白质、多糖、类胡萝卜素、维生素等营养成分,具有提高免疫力、抗肿瘤、降血糖和血脂等功能<sup>[1-4]</sup>,在医药、食品及饲料中均有很好的应用前景<sup>[5]</sup>。其最先是作为一种单细胞蛋白资源被加以开发利用,之后又在此基础上转向开发生产价值更高的保健品、美容食品和食品添加剂。时至今日,小球藻已被世界各地广泛用作健康食品添加剂和动物饲料,美国、日本、以色列和我国台湾地区将小球藻粉作为优良饲料添加剂已有30多年的历史<sup>[6]</sup>。其中,小球藻在家禽、水产养殖饲料中的应用已取得较好的成果。

本文综述了近年来小球藻在保健食品、功能性

食品中的应用及研究现状,在此基础上提出小球藻在食品行业应用中存在的亟待解决的问题,以期今后小球藻在食品行业中的应用提供参考。

### 1 小球藻的营养成分及其功能

小球藻细胞内含有丰富的蛋白质、必需氨基酸、多糖、色素、脂肪酸,并富含多种维生素、矿物元素等营养成分,具有全面而均衡的营养价值和保健功能。

#### 1.1 蛋白质及氨基酸

小球藻细胞内的蛋白质含量可达55%~65%,是丰富的单细胞蛋白来源,可作为蛋白营养强化剂应用于食品产业中<sup>[7]</sup>。食品蛋白质的营养价值不仅取决于蛋白质含量的高低,还与其中氨基酸的种类密切相关。研究表明,小球藻中氨基酸种类多达18种,以谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸含量最高,其中必需氨基酸的含量占总氨基酸含量的42%,达细胞干重

收稿日期:2017-03-08

作者简介:王宝贝(1982-),女,博士,讲师,研究方向:微藻资源化利用, E-mail: baobeiw@qztc.edu.cn。

基金项目:国家自然科学基金(41606177);福建省高校产学研合作项目(2015N5006);福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JA15393);泉州市科技局校地协同创新项目(2016N056)。

的20%以上<sup>[8-9]</sup>。此外,小球藻蛋白质还具有清除超氧阴离子自由基、羟自由基<sup>[10]</sup>和提高免疫力的功效<sup>[11]</sup>。小球藻蛋白作为免疫激活剂,其抗肿瘤的机制可能为抑制致癌物的诱变性和基因毒性、增生核细胞、与宿主或受体一起作用、通过抗原专一性免疫、使T细胞增殖和活化等<sup>[11]</sup>。

## 1.2 多糖

多糖在小球藻中的含量仅次于蛋白质,约为细胞干重的25%~35%<sup>[12-13]</sup>,具体因藻株和培养方式的不同略有区别。小球藻多糖具有调节机体免疫、抗肿瘤、抗病毒和抗辐射、减轻铜离子等重金属对机体的毒害等多种生物学活性<sup>[14]</sup>。一般认为小球藻多糖通过促进细胞因子产生,提高人类白细胞抗原(HLA)以及巨噬细胞共刺激分子的表达,增强巨噬细胞吞噬功能,从而达到增强机体免疫力的功能<sup>[15]</sup>。Hsu等<sup>[16]</sup>对蛋白核小球藻的水溶性多糖进行分析,发现其主要由乳糖(31.8%)、葡萄糖(20.42%)、半乳糖(10.28%)、甘露糖(5.23%)和木糖(1.27%)等单糖构成。小球藻可溶性多糖通过Toll样受体-4(Toll-like receptor 4,TLR4)介导的蛋白激酶信号通道诱导巨噬细胞中炎症细胞因子IL-1 $\beta$ 的分泌。

## 1.3 多不饱和脂肪酸

小球藻在高光、缺氮等条件下会积累大量的脂肪酸,其中不饱和脂肪酸含量十分丰富。多不饱和脂肪酸具有调节血脂、降血黏、提高集体免疫力等功效<sup>[17]</sup>。不同小球藻藻株中脂肪酸的种类和含量略有不同,此外培养方式也会影响细胞中脂肪酸的含量及组成。郑雪红等<sup>[18]</sup>对一株小球藻的脂肪酸组成进行分析,鉴定出C14:0、C16:2、C16:1、C16:0、C18:2、C18:1、C18:3、C18:0、C20:0共9种脂肪酸,其中不饱和脂肪酸占总脂肪酸的65%。肖艳<sup>[19]</sup>等采用GC-MS对一株海水小球藻的脂肪酸进行分析,亦从中鉴定出9种脂肪酸,且碳链长度多集中在C16-C18之间。其中,十六烷酸(C16:0)含量最高,十六烷烯酸(C16:1)次之,二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid,EPA)第三;其含量分别占脂肪酸总量的24.88%、24.10%和18.45%。张玲等<sup>[13]</sup>对Chlorella sorokiniana C74进行营养分析,发现其不饱和脂肪酸含量高达总脂肪酸的72%,而且以亚油酸和亚麻酸含量最多,分别为22.73%和14.87%。亚油酸、亚麻酸和EPA是人体常用必需的 $\omega$ -3不饱和脂肪酸,人体内无法合成,必须通过食物摄入来补充。因此,可将小球藻作为人体多不饱和脂肪酸的来源应用于食品中。

## 1.4 色素、维生素等

小球藻细胞内含有叶绿素、叶黄素、 $\beta$ -胡萝卜素等色素。叶绿素具有吸附毒素、排除体内化学毒素和重金属的作用,可用于清除肠、肾、肺血液中的有害物质<sup>[20]</sup>,能有效保护肝、肾等重要排毒器官<sup>[21]</sup>。叶黄素和 $\beta$ -胡萝卜素均具有很强的抗氧化能力,可以有效清除机体新陈代谢产生的各种自由基<sup>[22]</sup>。其中,叶黄素在保护视力<sup>[23]</sup>、防治动脉粥样硬化<sup>[24-25]</sup>和糖尿病视网膜病变<sup>[26]</sup>等慢性疾病方面具有良好功效。 $\beta$ -胡萝卜素不仅能预防机体老化和衰老引起的

多种退化性疾病,还是维生素A的间接来源,对防止夜盲症具有重要意义<sup>[14]</sup>。

维生素是维持身体健康所必需的一类有机化合物,其中维生素B<sub>1</sub>不仅具有保护神经系统的作用,还能促进肠胃蠕动,增加食欲;维生素B<sub>3</sub>能促进血液循环、预防和缓解严重的偏头痛;维生素C和维生素E具有强的抗氧化能力,具有提高免疫力和美容的效果<sup>[13]</sup>。小球藻细胞含有维生素B<sub>1</sub>、维生素B<sub>3</sub>、维生素C等多种维生素。张玲等<sup>[13]</sup>对一株蛋白核小球藻的营养成分进行分析,发现其维生素B<sub>1</sub>、维生素B<sub>3</sub>是淀粉和瘦牛肉的3.75倍和2.43倍;维生素A和维生素E则是鸡蛋黄的1.35倍和1.75倍。小球藻细胞中的维生素种类齐全,含量丰富,加工成食品或保健品对改善维生素缺乏的人群的身体健康状况具有重要的意义。

## 1.5 小球藻生长因子

小球藻生长因子(Chlorella growth factor,CGF)是小球藻的热水提取物,主要成分为蛋白质、氨基酸、多糖、维生素等。它具有显著的促进细胞生长的功能<sup>[27]</sup>,可使乳酸菌呈4倍增殖<sup>[28-29]</sup>。此外,CGF还具有激活淋巴细胞、增强机体免疫能力、促进伤口愈合的作用,还能预防胃溃疡、高血压和心血管等疾病<sup>[14]</sup>,其在保健食品中的应用前景十分可观。韩世群<sup>[30]</sup>等发现,CGF具有增强小鼠免疫调节的生理活性,对造血功能受损的小鼠有恢复作用,并具有增强小鼠单核巨噬细胞的吞噬功能。进而,刘海琴等<sup>[31]</sup>连续给小鼠喂食不同剂量的CGF 30 d发现,每天喂食150、450 mg/(kg·d)剂量的CGF可以增强二硝基氟苯(DNFB)引起的小鼠迟发性超敏反应,对造血功能受损的小鼠具有恢复作用,同时还可以提高小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能,可以增强小鼠免疫能力。

## 2 小球藻在保健食品中的应用

随着海洋湖泊资源开发受到广泛关注,小球藻因其全面而丰富的营养价值,在家禽、水产养殖饲料及食品中已取得较好的应用成果。研究表明,在家禽日粮中添加0.2%和0.3%小球藻能提高饲料的摄取率、减少家禽的死亡率<sup>[32-33]</sup>,Köhler等<sup>[34]</sup>在母猪和仔猪饲料中添加1%小球藻,实验组的成活数量提高50%。将其用于水产饲料不仅能作为鱼虾蟹等的开口饵料及饲料营养强化剂,还能在一定程度上改善水产品品质及养殖水域的水质<sup>[35-36]</sup>。小球藻还可作为食品添加剂,用于面食、酿酒、发酵食品等食品的品质改良和调味<sup>[37]</sup>,并能利用其生产叶绿素、脯氨酸、油脂等能为食品起到增色添香和提高营养作用的副产品。日本已在2003年研发出以小球藻的热水抽提液为主要原料,辅以多种调味料制成的小球藻食品添加剂<sup>[38]</sup>。

同时,生物技术的迅猛发展,推动了小球藻产业化迅速发展,研究小球藻的营养保健和功能作用对开发新的保健功能食品具有重要的意义<sup>[39]</sup>。目前,小球藻保健食品的形式主要以小球藻片、小球藻粉、小球藻胶囊、小球藻颗粒及小球藻保健饮料为主<sup>[40]</sup>。

## 2.1 小球藻单一成分的保健品概况

日本开发的小球藻片以破壁的小球藻粉和大豆磷脂为主要原料配制而成,其采用独特的细胞破壁专利技术使产品的有效成分更容易被人体消化吸收。我国台湾地区某公司研制出一种荣获卫生署健康食品(调节免疫功能)认证的绿藻片及绿藻粉,是我国小球藻健康食品的代表之一。目前国内藻类保健食品大多以藻片、藻粉为主,其中藻粉又有破壁与否之分。由于小球藻细胞被较为坚韧的细胞壁所包裹,营养物质大多存在于藻体细胞内,不易为机体吸收。因此,食品加工过程中会将小球藻粉进行破壁预处理以提高人体对藻细胞营养成分的吸收利用率。目前,应用于食品工业中的小球藻常采用研磨法、高压匀浆法、超声波破碎法等较为温和、无毒的物理破壁方法<sup>[41]</sup>。液氮研磨的小球藻破壁率理想,但该方法效率低、成本高,不适合大规模生产<sup>[42]</sup>。相比之下,采用球磨机更适用于工业上破碎藻体细胞。鲁龙等<sup>[43]</sup>采用星式球磨机破碎小球藻细胞,并对工艺参数进行优化,发现当藻液浓度为150 g/L、破碎时间为2.5 h、球磨机转速为400 r/min、藻液与钢珠的质量比为3:4时,小球藻的破壁效果理想,油脂得率为46.89%。高压匀浆法常用于破碎藻类细胞提取藻蛋白,细胞破碎率随着压力的增大、时间的延长而增加<sup>[44]</sup>。鲁龙等<sup>[45]</sup>以小球藻发酵液为原料,对其高压均质工艺参数进行优化,发现当藻液浓度为140 g/L、均质压力940 bar、均质时间为14 min时,藻液破碎效果理想,油脂得率最高可达51.25%。超声波破碎技术利用微喷射流和超微束作用机制<sup>[46]</sup>使细胞壁破碎,其破壁率较高,且对生物活性物质的影响较小。刘圣臣等<sup>[47]</sup>采用超声波破壁法处理小球藻发酵液,发现当超声功率为400 W、破碎时间/间歇时间为3 s/3 s时,小球藻的破壁率达到90%以上。破壁率随着发酵液浓度的增大有所下降。虽然延长超声波作用时间,可以提高细胞的破壁率,但由于在处理过程中产生的局部高温现象,易导致细胞内蛋白质变性、不饱和脂肪酸氧化等问题,所以超声波破碎要注意控制温度。

与小球藻粉相比,经热水提取制得的小球藻提取物的应用范围更加广泛,可用于制备小球藻保健口服液,以克服藻片难吞咽、有藻腥味、消化率低的缺点。郑祖凤等<sup>[48]</sup>将新鲜小球藻以1:10~30比例溶解在无菌水中洗涤后,放入常压搅拌热萃取罐,加入小球藻重量1~3倍的水,煮沸萃取1~2 h,得到萃取液。再将萃取液经两台串联的离心机连续离心分离,得到上清液即为小球藻生长因子提取液。该上清液经浓缩、灭菌后密封灌装制成小球藻保健口服液。此法工序短,工艺简单,生产过程中含小球藻的生长因子损失少,有望得到产业化的开发利用。

## 2.2 小球藻复合配方的保健品概况

复合配方相对于单一配方更能实现食品营养的互补与强化,将小球藻与其他微藻、中药等营养成分制成复合配方的保健食品,不仅可以提高其保健效果,还可避免未经加工的小球藻本身所带有的藻

腥味。

小球藻降低血糖的方式主要通过调节胰岛素的敏感性来实现,而螺旋藻则是通过促进肝糖原合成或抑制其分解来降低血糖浓度。利用以上两种微藻在调节血糖作用机制上的互补特性,开发小球藻保健食品与螺旋藻复方产品,便有可能通过不同的作用机制,对更多不同病因引起的血糖异常升高患者血糖的辅助降低发挥更有效的作用<sup>[49]</sup>。然而该复合配方的开发还在初步研究阶段,目前尚未有小球藻与螺旋藻具体复配产品的报道。

小球藻内富含的叶绿素和植物纤维素能预防各种肠胃炎症及结肠癌<sup>[31]</sup>。针对该功能,可将小球藻与其他天然中草药复合制备成具有相关功能的保健品。周建志<sup>[50]</sup>以小球藻、玫瑰花、黄芪、酸枣仁为原料,通过磨粉、压片等工艺制得小球藻保健片,该制备工艺简单,且最大程度保持了小球藻的营养成分。

未经加工的普通藻粉存在藻腥味重、不易服用以及消化吸收率低等缺点。当前小球藻的藻腥味的去除主要通过掩蔽法,如在生产小球藻口服营养液时,添加适量的中药材保健食品抽提液,用以掩蔽和调和藻腥味,使产品的口感和风味更易为消费者接受。其中 $\beta$ -环糊精除腥效果好,且小球藻有效成分的损失及其对产品本身色泽感官性状的影响也较小<sup>[9]</sup>。

近年来,也有学者采用发酵法对小球藻提取液进行脱腥,用以制备小球藻发酵饮料。庞庭才等<sup>[51]</sup>以破壁的小球藻粉为原料,采用发酵脱腥的方法,在小球藻发酵液(80 mL)中接入甜酒酵母,并加入2 g糖、1 g蜂蜜、0.2 g柠檬酸,调配制成的一种小球藻发酵保健饮料。其最佳发酵脱腥的工艺参数为:糖量6%、时间9 h、接种量3 g、温度28℃,此法制出的饮料颜色为澄清黄绿色,无藻腥味,营养丰富,且具有良好的风味口感。

## 3 小球藻在功能性食品中的研发与应用

随着生活水平的日益提升,人们对膳食营养的要求也不断提高。小球藻可作为营养强化剂添加到食品中,制成具有海藻风味的小球藻功能性食品。作为理想的保健食品和预防或辅助药物,小球藻早已被FAO列为21世纪人类的健康食品<sup>[14]</sup>。我国卫生部在2012年正式批准蛋白核小球藻作为新资源食品。

### 3.1 小球藻在主食中的应用

近年来国内外已研发出多种营养功能性面条,如胡萝卜面条、西兰花营养面条、黑豆营养面条等,这对于丰富功能性食品的种类、提高人们的膳食营养与健康水平具有十分重要的意义<sup>[52]</sup>。在制作面条、米粉等主食的原料中添加小球藻粉,不仅能赋予成品更加丰富均衡的营养及独特的色香味,还能增加面团的延展性和柔软性,避免食品在烹饪过程中品质下降及糊烂易断。

日本已研制并批量生产小球藻面条,小球藻的添加量为质量分数0.1%~1.0%<sup>[9]</sup>。我国赵景歧<sup>[53]</sup>以小麦粉为主要原料(60%~70%),辅以小球藻粉



(20%~30%)、荞麦粉(5%~10%)、玉米粉(5%~10%)、鸡蛋(2%~4%)、食盐(0.5%~1.0%)和食用碱(0.8%~1.0%)加水揉制(料水比为30:1.5)压制厚度为0.5~1.0 mm的面片,再切制成细条,然后干燥制成营养挂面。该小球藻营养挂面口感爽滑,小球藻内大量的膳食纤维使面条更加劲道,经久耐煮,且不会发生糊锅现象,还能补充各种人体所需的营养素。

传统米粉的风味和口感较为空洞单调,为改善其感官品质及营养价值,胡上英等<sup>[54]</sup>以糯米粉为主要原料,添加适量小球藻粉制成具有较高营养价值的小球藻米粉。其最佳工艺参数为:小球藻粉9.0%、水量45.0%、食盐3.5%、玉米淀粉磷酸酯4.0%。在此条件下研制出的小球藻米粉口味清香爽滑,有正常的藻香味(经烘焙的小球藻粉味道醇香,与未烘焙前的新鲜藻粉的气味完全不同)和米粉色泽,复水率高,断条率低,粘弹性好。

### 3.2 小球藻在辅食中的应用

传统烘焙产品存在着保存期限短,营养价值低等不足。小球藻的保水作用及丰富多样的营养素恰能与之互补强化,不仅能提高传统烘焙产品的营养价值,还可赋予其小球藻特有的色泽与风味,制成各种高营养价值的休闲食品。

3.2.1 小球藻面包 面包在存放过程中会发生显著的老化现象:面包芯的硬度和粗糙度增加,易掉渣;面包皮软化,失去脆性和光泽;风味变劣,芳香消失,消化吸收率降低;面包瓤中淀粉凝沉,可溶性淀粉减少等<sup>[55]</sup>。藻体具有持水作用,可延缓淀粉老化变硬,延长保存期限<sup>[9]</sup>。小球藻面包的制作与普通面包并无太大差别,只是在原材料中添加了小球藻粉。普通面包制作采用一次发酵或二次发酵均可;而小球藻面包的制作一般采用二次发酵,该法所制的面包的风味口感和外观性状会比一次发酵的面包更好一些。通过二次发酵法制备小球藻面包的工艺流程为:75%面粉、水、植物油、乳化剂、改良剂、酵母等→混料和面→第一次发酵(28℃,3h)→第二次调制面团,加入小球藻以及糖、鸡蛋、奶粉等余料→第二次发酵(28℃,1h)→调制整形→醒发(34℃,1h)→烘烤(220℃,10min)→冷却→成品面包<sup>[56]</sup>。添加小球藻的面包成品,无论颜色、形态、内部色泽及口感均较未添加时好。研究表明小球藻的添加量占面粉质量的0.1%~1.0%为宜<sup>[57]</sup>。

刘琦<sup>[58]</sup>将小球藻粉和金藻粉以不同比例与面包的其它原料混合制成三种不同的微藻面包,与未添加藻粉的面包进行营养指标检测和感官评定。营养指标检测结果表明,添加藻粉的三组面包品质和营养价值均有不同程度的提高,添加藻粉的三种面包中脂肪含量均极显著低于空白对照组,添加1%小球藻粉的面包其蛋白质、总糖及水分含量极显著高于对照组。其中,蛋白质及总糖含量较对照组提高了1.5%左右。此外,添加微藻虽赋予了面包更高的营养价值,但口感、气味等可能尚未得到大众的认可。因此,产品在口感、气味等方面的改良将是今后微藻在食品应用推广中需要进一步完善和研究的方面

之一。

3.2.2 小球藻饼干 传统普通饼干的营养成分单调,主要是糖和油脂,且热量高。开发添加小球藻的新型营养饼干,综合小球藻本身所富有的多种营养物质,能弥补市场上传统饼干类产品在营养的不足<sup>[59]</sup>。若在饼干中加入小球藻,即可实现营养的互补与强化。

上世纪80年代,日本就研制开发成功小球藻饼干,或单独添加小球藻,或在添加小球藻的同时,适当添加蔬菜汁或海带等。添加量控制在0.2%~2%之间<sup>[56]</sup>。

近年,我国汤永强<sup>[60]</sup>为提高传统饼干的营养价值,将小球藻同面粉、水组合,其中小球藻占食品组分总质量的0.9%,面粉占食品组分总质量的90%以上,加入适量的水混合搅拌,得到面粉和小球藻的混合物用以制作饼干。小球藻的加入,能在丰富饼干口味的同时提高其营养价值,有效利用了小球藻的资源,为普通大众提供了营养高、且能长期安全食用的食品。

### 3.3 小球藻在饮料类食品中的应用

小球藻因其广为人知的营养价值而备受青睐,国内外已研发出许多具有特色的小球藻健康饮品。

早在20世纪80年代,日本市场就曾推出以小球藻提取液和麦芽提取液配制而成的饮料,还成功开发了以小球藻浸提物为主要原料,加入蜂蜜和梅汁调配而成的蜂蜜绿藻精<sup>[61]</sup>。韩国学者<sup>[62]</sup>则以0.1%~5%小球藻粉为原料,添加0.01%~5%蜂蜜、0.001%~0.5%柚子提取物、0.001%~0.1%酶解甜叶菊、0.001%~1%柠檬酸、0.01%~5%葡萄聚糖和90%~99%海洋深层水制成一款功能型饮料。我国关于小球藻在饮料中的应用研究起步较晚,近年,庞庭才等<sup>[63]</sup>研制出一种以小球藻粉为原料,采用超声波辅助提取小球藻多糖,再利用木瓜蛋白酶与中性蛋白酶进行水解藻蛋白,合并滤液后,按一定比例添加适量蜂蜜、白糖、柠檬酸直接配制而成的澄清型小球藻保健饮料。经研究表明,提取藻多糖的最佳工艺为:料液比1:15, pH7, 温度60℃, 时间30 r/min, 小球藻多糖提取得率为18.94 mg/g。水解藻蛋白的最佳工艺为:底物浓度100 g/L, 混合酶量12000 U/g, pH6.5, 温度55℃, 小球藻蛋白水解度达27.83%。该产品营养丰富、风味独特,是一款老少皆宜的营养保健饮品。小球藻还能调节乳酸杆菌与链球菌的数量比值、延长乳酸制品的保质期、改善品质、增加营养等功能。实验表明<sup>[64]</sup>加入CGF能延长乳酸制品的保存期,保存72 h后乳酸菌数为原来的90.2%。因此,在乳酸发酵时添加CGF对提高产品质量、改善品质和增加营养有显著的效应。刘进杰等<sup>[65]</sup>将小球藻提取液添加入牛乳中,经乳酸菌发酵,制得一种兼具小球藻和酸乳双重营养的新型食品。然而,由于小球藻略有腥味,其添加量会影响酸乳成品的品质,故一般建议添加量不高于8%为宜。

小球藻胞内活性物质还可以显著促进啤酒发酵过程中酵母的生长,加快发酵进程,延缓酵母菌的死

亡时间。韩士群<sup>[64]</sup>等发现添加小球藻的实验组啤酒酵母菌数量是对照组的14.98倍,乳酸菌数量是对照组的2.2倍。因此,小球藻对酵母工业、酿酒工业生产亦有良好的应用前景。此外,添加了小球藻进行发酵的啤酒还含有小球藻生长因子(*Chlorella growth factor*, CGF)、各种氨基酸等多种营养物质,大大提升了啤酒的营养价值。已有实验表明<sup>[57]</sup>,加入0.1%、0.4%、0.5%、0.84%、1.0%的CGF后24 h计数啤酒酵母菌的数量分别为对照组的3.75、6.09、6.95、10.84、14.98倍。可见,CGF能大幅度提高啤酒酵母菌生长速度,并且效果随CGF浓度的增加而增强。

### 3.4 小球藻在其他食品中的应用

近年来,小球藻在食品中的应用形式越来越多,除上述几种常见应用形式,小球藻还可用于豆制品、调味品和油炸物等食品中。在制造豆腐时添加小球藻浸提液,可赋予豆腐天然的淡绿色及小球藻特有的风味,且成品豆腐的质地细嫩,凝固状态好并富有弹性<sup>[66]</sup>;加工豆豉食品时,在待接种的豆豉菌中加入小球藻浸提物,可促进豆豉菌的生长,从而促进发酵,稳定发酵温度,赋予成品亮白的色泽;在番茄酱、蛋黄酱、沙司、酱油、食醋等调味品中添加小球藻浸提物盐溶液,可使口感更加醇厚柔和;制作油炸食品时,在油中添加0.3%~1.0%小球藻浸提液,可赋予成品小球藻特有的藻绿色及其营养成分,使成品的感官性状有所改善等<sup>[67]</sup>。

## 4 存在的问题及展望

虽然小球藻具有丰富的营养,且其作为食品及绿色天然的营养强化剂应用于食品中将成为一种新兴的食品时尚与潮流,但由于部分未经加工的小球藻本身所具有的特殊藻腥味无法顺应大众主流,使得小球藻在食品中的应用推广受限<sup>[63]</sup>,未能将其可利用的价值最大化地应用于食品方面。在生产含小球藻的食品时,一般需要添加适当的香精、中草药或其他物质来掩盖其自带的不良风味,但效果往往差强人意。此外,小球藻原粉的蓝绿色较浓,且藻细胞在溶液中易沉淀而影响饮料的外观<sup>[61]</sup>。因此,如何去除小球藻的藻腥味、提高小球藻的色泽、品质等稳定性成为研究、开发和推广小球藻食品亟待解决的两大问题。

现阶段应围绕如何去除小球藻藻腥味、研发更加节能温和的破壁技术及提高小球藻产品稳定性展开相应研究。今后小球藻除腥应在现有的发酵法、掩蔽法等基础方法上进行进一步的探索和创新,在尽可能保障不损失小球藻营养物质的前提下研发最有效的除腥方法。而未来小球藻破壁技术应该朝两个方向发展,一是不断开发新的物理、化学破壁方法,以弥补原有方法的不足;二是同时使用多种传统的物理或化学破壁方法,每种方法有自己的长处与不足,相互配合使用,能够起到取长补短的效果<sup>[41]</sup>。国内各研究机构、企业对小球藻在食品中的应用和推广正不断进行探索,随着研究的推进和技术的不断完善,将会有越来越多的高品质的小球藻食品为大众所接受。

## 参考文献

- [1] Živan G, Garbayo - Nores I, Gómez - Jacinto V, et al. Continuous production of selenomethionine - enriched *Chlorella sorokiniana*, biomass in a photobioreactor [J]. Process Biochemistry 2013, 48(8): 1235-1241.
- [2] Panashi Y, Darvishi B, Jowzi N, et al. *Chlorella vulgaris*: A multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties [J]. Current Pharmaceutical Design, 2016, 22(2): 164-173.
- [3] Chen Y X, Liu X Y, Xiao Z, et al. Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations [J]. International Journal of Biological Macromolecules 2016, 91: 505-509.
- [4] 凌娜, 李红秀, 仲星, 等. 不同价态铁及添加方式对蛋白核小球藻营养及生理特性的影响 [J]. 食品与药品, 2015, 17(3): 170-174.
- [5] Posten C, Chen S F. Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology [M]. Switzerland: Springer, 2016: 1-35.
- [6] 梅帅, 赵凤敏, 曹有福, 等. 三种小球藻的蛋白质营养价值评价 [J]. 营养学报, 2014, 36(5): 505-507.
- [7] Matsukawa R, Hotta M, Masuda Y, et al. Antioxidants from carbon dioxide fixing *Chlorella sorokiniana* [J]. Journal of Applied Phycology, 2000, 12(3): 263-267.
- [8] 杨鹭生, 李国平, 陈林水. 蛋白核小球藻粉的蛋白质、氨基酸含量及营养价值评价 [J]. 亚热带植物科学, 2003, 32(1): 36-38.
- [9] 孔维宝, 李龙因, 张继, 等. 小球藻的营养保健功能及其在食品工业中的应用 [J]. 食品科学, 2010, 31(9): 323-327.
- [10] 魏文志, 夏文水, 吴玉娟. 小球藻糖蛋白的分离纯化与抗氧化活性评价 [J]. 食品与机械, 2006, 22(5): 20-22.
- [11] 胡开辉, 汪世华. 小球藻的研究开发进展 [J]. 武汉工业学院报, 2005, 24(3): 27-29.
- [12] 李师翁, 李虎乾. 小球藻干粉的营养学与毒理学研究 [J]. 食品科学, 1997, 18(7): 48-51.
- [13] 张玲, 刘平怀, 罗宁, 等. 小球藻 *Chlorella sorokiniana* C74 营养成分分析 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(10): 10-15.
- [14] 郝宗娣, 刘洋洋, 续晓光, 等. 小球藻 (*Chlorella*) 活性成分的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2010(12): 369-372.
- [15] Yang F M, Shi Y, Sheng J C, et al. *In vivo* immunomodulatory activity of polysaccharides derived from *Chlorella pyrenoidosa* [J]. European Food Research and Technology, 2006, 224(2): 225-228.
- [16] Hsu H Y, Narumon J, Yeh C H, et al. Immunostimulatory Bioactivity of Algal Polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* activates macrophages via toll-like receptor 4 [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(2): 927-936.
- [17] Sano T, Kumamoto Y, Kamiya N, et al. Effect of lipophilic extract of *Chlorella vulgaris* on alimentary hyperlipidemia in cholesterol-fed rats [J]. Artery, 1988, 15(4): 217-224.
- [18] 郑雪红, 郑爱榕. 气相色谱法分析小球藻脂肪酸的组成 [J]. 海洋科学, 2012, 36(6): 22-27.
- [19] 肖艳, 牛荣丽. 海水小球藻中脂类物质的成分分析及其

抗菌活性研究[J].食品工业科技 2013 34(1):60-62.

[20]黄燕娟,王小芬,陈向凡.小球藻的营养及药用价值[J].现代生物医学进展 2013 13(32):6396-6398.

[21] Morita K, Matsueda T, Iida T, et al. *Chlorella* accelerates dioxin excretion in rats [J]. The Journal of Nutrition, 1999, 129(9): 1731-1736.

[22] Vijayavel K, Anbuselvam C, Balasubramanian MP. Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats [J]. Molecular and Cellular Biochemistry 2007 303(1-2): 39-44.

[23] Renzi L M, Johnson E J. Lutein and age-related ocular disorders in the older adult: a review [J]. Journal of Nutrition for the Elderly 2007 26(3-4): 139-157.

[24] Agarwal M, Parameswari R P, Vasanthi H R, et al. Dynamic action of carotenoids in cardioprotection and maintenance of cardiac health [J]. Molecules 2012 17(4): 4755-4769.

[25] Dwyer J H, Navab M, Dwyer K M, et al. Oxygenated Carotenoid Lutein and progression of early atherosclerosis the los angeles atherosclerosis Study [J]. Circulation, 2001, 103(24): 2922-2927.

[26] Ozawa Y, Sasaki M, Takahashi N, et al. Neuroprotective effects of lutein in the retina [J]. Current Pharmaceutical Design, 2012 18(1): 51-56.

[27]韩士群,张振华,刘海琴.小球藻生长因子对免疫功能的影响[J].中国生化药物杂志 2004 25(1):5-7.

[28] Lei Y, Meng Q W, Kim I H. Effect of fermented *chlorella* supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, fecal microbial and fecal noxious gas content in growing pigs [J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences 2012 25(12): 1742-1747.

[29]庄秀园,黄英明,张道敬,等.小球藻高附加值生物活性物质“小球藻热水提取物”的研究现状与展望[J].生物工程学报 2015 31(1):24-42.

[30]韩士群,张振华,刘海琴.小球藻生长因子的生理功能研究[J].江苏农业科学 2003(5):99-101.

[31]刘海琴,韩士群.小球藻提取物的生物活性研究[J].海洋科学 2005 29(9):23-26.

[32] Swiatkiewicz S, Arczewska - Wlosek A, Jozefiak D. Application of microalgae biomass in poultry nutrition [J]. World's Poultry Science Journal 2015 71(4): 663-672.

[33]常杰.小球藻在动物营养中的应用研究进展[J].饲料研究 2016(2):7-10.

[34] Köhler P, Storandt R, Pulz O. Study on influence of algal supplementation on both reproduction performance of sows and parameters of piglet breeding [J]. Acta Agron ováriensis, 2008 (50): 53-66.

[35]罗柳茵,李家泳,陈卓,等.小球藻在水产动物饲料中的应用研究进展[J].粮食与饲料工业 2016(6):55-57.

[36]何春丽.小球藻在养殖调水方面几种应用方法[J].渔业致富指南 2016(16):64.

[37]陈小清,苏育才.小球藻的应用研究进展[J].生物学教学 2012 37(1):8-9.

[38]佚名.日本开发的新型食品添加剂[J].保鲜与食品加工,

2006 6(1):27.

[39]张旗,尚小玉,王娜,等.小球藻营养活性研究进展[J].食品研究与开发 2015 36(13):139-142.

[40] Champenois J, Marfaing Hélène, Pierre R. Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe [J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(5): 1845-1851.

[41]钟韵山,徐仰仓,荆柏林,等.小球藻破壁技术研究进展[J].食品研究与开发 2014(14):120-124.

[42] Zheng H, Yin J, Gao Z, et al. Disruption of *Chlorella vulgaris* cells for the release of biodiesel-producing lipids: a comparison of grinding, ultrasonication, bead milling, enzymatic lysis, and microwaves [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2011, 164(7): 1215-1224.

[43]鲁龙,毕生雷,金洪波,等.研磨法破碎小球藻细胞工艺优化[J].中国酿造 2017 36(1):116-119.

[44] Doucha J, Lívanský K. Influence of processing parameters on disintegration of *Chlorella* cells in various types of homogenizers [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 81(3): 431-440.

[45]鲁龙,毕生雷,金洪波,等.高压匀质法破碎小球藻细胞工艺优化[J].食品工业科技 2017 38(6):304-307.

[46]邵明飞,张宏宇,杨金萍,等.响应面法优化螺旋藻藻蓝蛋白的超声波提取工艺[J].生物学杂志 2013 30(4):93-96.

[47]刘圣臣,邹宁,吴电云,等.小球藻海藻油提取中不同破壁方法的研究[J].中国食品添加剂 2009(5):100-102.

[48]郑祖凤,郑训艺.小球藻保健口服液的制备方法: CN, CN104939076A [P]. 2015.

[49]史坤,张旗,王娜,等.小球藻和螺旋藻的营养成分及其降血糖活性比较[J].食品研究与开发 2015 36(10): 121-125.

[50]周建志.一种小球藻保健片及其制备方法: CN, CN104957680A [P]. 2015.

[51]庞庭才,胡上英,林美芳,等.小球藻发酵饮料加工工艺[J].食品与发酵工业 2014 40(11):260-264.

[52]孙茹,张正茂,刘苗苗,等.营养功能性面条研究现状[J].麦类作物学报 2014 34(4):568-575.

[53]赵景歧.一种小球藻营养挂面: CN, CN105077001A [P]. 2015.

[54]胡上英,庞庭才,罗腾升.小球藻米粉的研制[J].中外食品工业 2014(3):6-7.

[55]赵旭,马兰,张家成,等.小米营养面包的研制[J].食品研究与开发 2015 36(21):90-94.

[56]朱明军,陈峰.富硒小球藻食品的开发[J].河南工业大学学报:自然科学版,1999 20(3):77-80.

[57]刘学铭,梁世中.小球藻在食品工业中的应用及小球藻食品的研制[J].武汉轻工大学学报,1999(1):47-52.

[58]刘琦.两种微藻喷雾干燥工艺优化及微藻面包的制作[D].大连:大连海洋大学 2015.

[59]段秋虹,魏龙.黑豆营养饼干的配方研制[J].山东工业技术 2015(19):270-271.

[60]汤永强.小球藻在食品中的应用: CN, CN102934810A (下转第352页)



及调控研究[J].化工学报 2012 63(11):3639-3644.

[32] Zou X, Tu G, Zan Z. Cofactor and CO<sub>2</sub> donor regulation involved in reductive routes for polymalic acid production by *Aureobasidium pullulans* CCTCC M2012223 [J]. Bioprocess and biosystems engineering 2014 37(10):2131-2136.

[33] Cao W, Luo J, Qi B, et al.  $\beta$ -poly(L-malic acid) production by fed-batch culture of *Aureobasidium pullulans* ipe-1 with mixed sugars[J]. Engineering in Life Sciences 2014 14(2):180-189.

[34] 乔长晟, 郑志达, 孟迪, 等. 出芽短梗霉发酵生产聚苹果酸的代谢通量及关键酶活性分析[J]. 现代食品科技 2014 30(7):74-80.

[35] Li Y, Chi Z, Wang G Y, et al. Taxonomy of *Aureobasidium* spp. and biosynthesis and regulation of their extracellular polymers [J]. Critical Reviews in Microbiology 2015 41(2):228-237.

[36] Gostinčar C, Ohm R A, Kogej T, et al. Genome sequencing of four *Aureobasidium pullulans* varieties: biotechnological potential, stress tolerance, and description of new species [J]. BMC Genomics 2014 15(1):1-29.

[37] Olickal T. Search for malic acid activating enzyme involved in the synthesis of polymalic acid from plasmodia of *Physarum polycephalum* [D]. 2005.

[38] Willibald B, Bildl W, Lee B S, et al. Is  $\beta$ -poly(L-malate) synthesis catalysed by a combination of  $\beta$ -L-malyl-AMP-ligase and  $\beta$ -poly(L-malate) polymerase? [J]. European Journal of Biochemistry 1999 265(3):1085-1090.

[39] Feng J, Jing Y, Li X, et al. Reconstruction of a genome-scale metabolic model and in silico analysis of the polymalic acid producer *Aureobasidium pullulans* CCTCC M2012223 [J]. Gene 2016.

[40] 吴小燕, 周峰, 涂光伟, 等. 聚苹果酸聚合途径中苹果酰辅酶 A 连接酶基因的克隆、表达及酶学性质[J]. 微生物学报, 2014 4(8):919-925.

[41] Leathers T D, Manitchotpitit P. Production of poly( $\beta$ -l-malic acid) (PMA) from agricultural biomass substrates by *Aureobasidium pullulans* [J]. Biotechnology Letters 2013 35(1):83-89.

[42] Amartey S, Jeffries T W. Comparison of corn steep liquor with other nutrients in the fermentation of D-Xylose by *Pichia stipitis* CBS 6054 [J]. Biotechnology Letters 1994 16(2):211-214.

[43] Knuf C, Nookaew I, Brown S H, et al. Investigation of Malic Acid Production in *Aspergillus oryzae* under Nitrogen Starvation Conditions [J]. Applied & Environmental Microbiology 2013 79(19):6050-6058.

[44] Rødkær S V. Glucose- and nitrogen sensing and regulatory

mechanisms in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Fems Yeast Research 2014 14(5):683-696.

[45] 殷海松, 范栩嘉, 汤卫华, 等. 氨基酸对出芽短梗霉发酵生产苹果酸的影响[J]. 食品工业科技 2016 37(8).

[46] 王丽燕, 郑谊丰, 刘婷婷, 等. 聚苹果酸的发酵培养条件优化[J]. 生物加工过程 2010 8(2):41-45.

[47] Wang Y, Song X, Zhang Y, et al. Effects of nitrogen availability on polymalic acid biosynthesis in the yeast-like fungus *Aureobasidium pullulans* [J]. Microbial Cell Factories, 2016 15(1):146.

[48] Chi Z, Wang X X, Geng Q, et al. Role of a GATA-type transcriptional repressor Sre1 in regulation of siderophore biosynthesis in the marine-derived *Aureobasidium pullulans* HN6.2 [J]. 2013 26(6):955-967.

[49] Zelle R M, Hulster E D, Kloezen W, et al. Key Process Conditions for Production of C4 Dicarboxylic Acids in Bioreactor Batch Cultures of an Engineered *Saccharomyces cerevisiae* Strain [J]. Applied & Environmental Microbiology 2010 76(3):744-750.

[50] 李睿颖, 乔长晟, 国华, 等. 出芽短梗霉发酵合成聚苹果酸的研究[J]. 食品与发酵科技 2011 47(5):68-71.

[51] Cao W, Chen X, Luo J, et al. High molecular weight  $\beta$ -poly(L-malic acid) produced by *A. pullulans* with Ca<sup>2+</sup> added repeated batch culture [J]. International journal of biological macromolecules 2016 85:192-199.

[52] Tu G, Wang Y, Ji Y, et al. The effect of Tween 80 on the polymalic acid and pullulan production by *Aureobasidium pullulans* CCTCC M2012223 [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology 2015 31(1):219-226.

[53] Xia J, Liu X, Xu J, et al. Simultaneously enhanced production of poly( $\beta$ -malic acid) and pullulan using a dissolved oxygen shift (DO-shift) control strategy [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology 2016.

[54] Li B X, Ning Z, Peng Q, et al. Production of pigment-free pullulan by swollen cell in *Aureobasidium pullulans* NG which cell differentiation was affected by pH and nutrition [J]. Applied Microbiology and Biotechnology 2009 84(2):293-300.

[55] Wittmann-Liebold B, Graack H R, Pohl T. Two-dimensional gel electrophoresis as tool for proteomics studies in combination with protein identification by mass spectrometry [J]. Proteomics, 2006 6(17):4688-4703.

[56] Böhmer M, Colby T, Böhmer C, et al. Proteomic analysis of dimorphic transition in the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis* [J]. Proteomics 2007 7(5):675-685.

(上接第346页)

[P]. 2013.

[61] 张强. 小球藻活性成分的研究及食品方面的开发进展[J]. 山东青年 2010(8):59-60.

[62] Kim M K, Kim S, Yoo B H. Functional beverage composition comprising *Chlorella* and deep sea water: US, US20130028929A1 [P]. 2013.

[63] 庞庭才, 胡上英, 熊拯, 等. 小球藻保健饮料的研制[J]. 食品工业科技 2015 36(7):252-256.

[64] 韩士群, 常志州, 郑勤. 小球藻生长因子对啤酒和乳酸发酵的影响[J]. 食品科学 2001 22(10):54-56.

[65] 刘进杰, 刘倩, 张玉香, 等. 小球藻保健乳酸工艺研究[J]. 食品工业科技 2011 32(5):285-286.

[66] 陈洪兴. 小球藻豆腐的研究[J]. 盐城工学院报 2001 14(4):51-52.

[67] 徐扬辉. 小球藻及其在食品中的应用[J]. 冷饮与速冻食品工业 1997(4):38-41.