

小球藻的生产现况与展望

随着人类人口的不断增长和可耕面积的不断减少,摆在人们面前的严重问题就是粮食短缺。目前世界上有些国家和地区竞相开展小球藻的研究与生产其主要目的就是解决人类的粮食需要。经过人们半个世纪的努力已取得相当大的进展。美国著名生物化学家坦皮特松博士说:“二十世纪人类引以自豪的发现有两个。一个是原子能的发现;另一个是小球藻可作为粮食的发现。而小球藻对于人类的贡献其意义尤为重大”。下面就小球藻的生产历史、生产技术、营养情况及将来的展望简单地谈一下。

一、小球藻的生态与研究

小球藻在植物分类学上属于绿藻纲绿球藻目小球藻科,通常在淡水中进行浮游生活,形状呈球形或椭圆形,直径3至12微米,细胞壁平滑行无性分裂繁殖,分裂周期为10至20小时。小球藻是具有原始形态的细菌藻类,大约在20亿年前的原始时代既已出现在地球上,今天的小球藻与其化石相比几无差别。现在世界上已知有15种左右,加上它的变种可达数百种之多。小球藻在地球上几乎到处可见,从南极的欧古尔岛的雪地到喜马拉雅山巅的岩石上都有发现。小球藻具有很强的光合作用能力,它通过空气中的二氧化碳和水在阳光的照射下能合成包括蛋白质在内的各种有机物。因此它的培养只需水、空气和阳光,如用有机物作为碳源也能进行无光增殖。总之,小球藻的培养是比较容易的。

第一次世界大战中德国为了解决粮食问题曾试图大量生产小球藻,只是由于战争失败而未能实现。第二次世界大战以后由于世界范围的农业荒废和蛋白质资源的不足,因此各国都在努力寻找新的粮食资源,而且不约而同地把注意力转到了小球藻方面来,促成了对小球藻大规模的研究。

1940年美国的普拉特教授从小球藻中提取出细胞藻素这种抗生素。

1957年日本政府在日本都设立了国立市谷保小球藻研究所,政府拨给5千万日元实验费,建立了总面积为4000m²的培养池,这是当

时世界最大的培养池。采用的培养法是德川生物化学研究所发明的开放循环式。

1959年以色列的马尼亚教授发明了深层培养法,水深一米,适于日照强的热带地区培养。

1959年12月在印度成立了国际藻类学会,各国学者就小球藻作为粮食问题展开了讨论。

1961年苏联发射人造卫星以后,为了解决宇航员的口粮,苏联和美国均支出很大一笔研究费委托各大学将小球藻作为宇航食品进行研究,相继发明了更小型效率更高的培养方法。

美国钮伦顿潜水艇基地生物化学研究所完成了气体交换小球藻培养法。所谓气体交换就是利用小球藻的光合作用将CO₂变成O₂,这对潜艇航行和宇宙航行时补充氧气具有重大意义。同时对都市的空气净化也有很大意义。

1962年日本高田氏发现小球藻内含有的对酵母、高等植物生理活性的促进物质。1964年武智博士发明了用醋酸作为培养小球藻的碳源,使产量稳定提高,特别是收获干燥时采用喷雾干燥机,使干燥体的质量获得显著提高。

1970年我国台湾也成立了台湾绿藻工业股份有限公司。在台北郊外设立的青洲绿藻工业股份有限公司拥有3万m²培养池,是世界最大的小球藻生产工场,由日本的河口宏太郎担任技术指导。

二、小球藻的生产

小球藻的生产方法主要有四种,即培养池培养法,缸培养法、混合营养培养法和无光培养法。这四种方法各有优缺点,目前普遍采用

Myers 培 养 液		武 智 基 本 培 养 液		武 智 补 充 培 养 液	
KNO ₃	5.0 克	尿 素	2.4 克	醋 酸	64.8 克
KH ₂ PO ₄	1.25 克	KH ₂ PO ₄	0.95 克	尿 素	6.7 克
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.5 克	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.55 克	KH ₂ PO ₄	3.2 克
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.003 克	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.04 克	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.9 克
A ₅ 溶 液	1 毫 升	地 下 水	1000 毫 升	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.13 克
蒸 溜 水	1000 毫 升			地 下 水	1000 毫 升
pH	5~5.5			pH	3.0

的是室外培养池培养法，这种方法成本低，简单易行。下面仅就这种方法谈一下生产过程。

1. 选种：应根据以下条件选择。①要选择适合当地环境、气候条件的藻种。一般培养池都应设在热带、亚热带光照强的地方。热带水温夏季常达40℃，所以要选择耐40℃以上的高温菌株。②含蛋白质、色素、小球藻生长素(CGF)高的藻种。③增殖速度快的。④光饱和点高的。⑤收获率大的。⑥抗杂菌性能好的。⑦沉降、附着、凝集性弱的。⑧细胞壁薄、消化率高的。⑨能适应醋酸等有机酸的。如果能满足上述条件当然是最理想的。但实际上很困难。根据经验与其选择标准藻种不如在培养池附近采集野生藻种进行培养较有成效。

2. 培养液：在室内培养可选用Myers培养液；室外培养和大量生产可采用武智氏的醋酸尿素培养液。

3. 室外培养的形式：室外培养目前采用的培养方式有开放循环式和开放流路式两类。

开放循环式的培养池为圆形，水深10~15厘米，用水泥砌成。在池的中心有两根水平管装成的长臂，此臂是可以旋转的。在这两根管子上每隔10厘米开有一个3~5毫米的斜孔。在培养池的一端有一个坑，培养液在此由泵吸入地下的铁管，经过培养池中心的垂直管送到两根水平长臂管中，从小孔中喷出。如果培养是

以CO₂为碳源的话，CO₂气体可由装在泵的出口附近的喷嘴吹入。水平臂的转动是靠小孔的喷力而旋转的，长臂上还装有搅拌装置，以免藻体沉淀。(见图1)

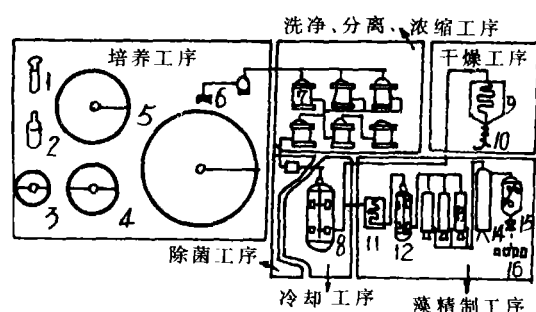


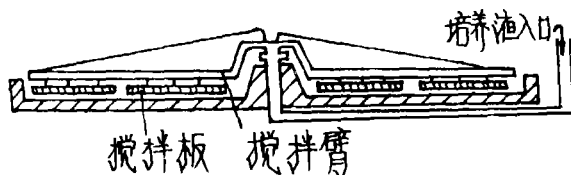
图 2 小球藻生产工序图

- | | |
|------------------|--------------|
| ①藻种 | ⑨喷雾干燥 |
| ②室内培养 | ⑩小球藻干燥粉末(制品) |
| ③室外藻种培养池(直径2 m) | ⑪钢板散热器 |
| ④室外藻种培养池(直径6 m) | ⑫冷却贮藏缸 |
| ⑤室外藻种培养池(直径18 m) | ⑬切变压榨离心分离机 |
| ⑥室外大量培养池(直径45 m) | ⑭减压浓缩机 |
| ⑦拉杆型离心分离机 | ⑮分法缸 |
| ⑧冷却贮藏缸 | ⑯藻精(制品) |

这种方法的缺点是土地利用率低，只有75.5%如配置成蜂巢状则可达90.5%，CO₂的利用率也低，只有4~5%，靠近圆心的地方搅拌不充分，有藻体聚积沉淀的现象。此后对搅拌装置进行了改革，又制成开放二重搅拌培养池，开放环流搅拌培养池等。

1960年以来广泛采用的是开放循环培养池，我国台湾就是采用这种方式。可是目前已开始使用流路式培养池了，这是1959年德国碳素生物学研究所发明的。其CO₂的利用率可达50%，土地利用率高。

培养完了的藻种就可以移入这样的池中进行大面积生产了。其总生产工序如图2所示。



(C)1994-图 21 开放循环培养池(剖面图) Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

4.藻种的培养:从野外采来的标本水中有许多细菌、原生动物、硅藻、兰藻等,把它们放入Myers培养液中通入含有5%CO₂的空气进行集体培养,温度为25℃,光照强度为5000勒克司,初始pH5.0。培养3~5日后绿藻类增殖,特别是采用少量培养液,用混释培养法使各藻形成群落,只把小球藻分离出来,接着再放入含有1%葡萄糖的Myers培养液中用混释分离法进行三次分离提纯。将提纯的藻种放在含有1.8%琼胶的Myers斜面培养基上,光度400勒克司,在室温下可保存60天。

在扁平烧瓶中装入八分满的Myers培养液,灭菌后将藻种移入此瓶中,在烧瓶口上接上滤管通入5~10%浓度的CO₂进行通气培养,温度25℃,光度5000勒克司,pH5.0,并且可加0.1%的醋酸作为碳源进行通气培养。这个时期很容易受细菌的污染,所以要采取滤菌措施。通气培养的增殖力虽因藻种而异,但在以CO₂为碳源的上述条件下,在增殖旺盛期可得4.0~10.0PCV/天。(PCV为浓缩细胞体积,单位为毫升/升)。

在室内充分繁殖后的小球藻可移到室外直径2米的小型培养池中继续培养。在室外可用醋酸为碳源。一般以光能自养繁殖的小球藻在醋酸培养池中有降低增殖力的倾向,因此有使之适应醋酸培养液的必要。而且在室内用人工光培养的小球藻不适应室外的强光,因而也降低活性,增加了死细胞。所以也有必要使其慢慢适应自然光的过程。从室内培养移到室外小型培养池的作用不只是为了使其增殖,还有使其适应自然环境和醋酸培养液的过渡作用。这是很重要的培养过程。在2米小型培养池增殖后的小球藻顺次移入6米,18米的中型培养池完成藻种的培养。

5.大面积生产:直径40~50米的大型培养池通常称为收获培养池,培养方式采用连续培养法,收获是采用分批或半分批式。前者多被台湾的工场采用。其优点是杂菌污染比较少,缺点是肥料损失大。后者是回收培养液的一半或三分之二,在回收的培养液中重新加水继续

培养,优点是可提高肥料利用率。

在直径50米的大型培养池中培养液的理想深度为15~20厘米,重量为300~400吨。液深达到30~40厘米时,可能由于搅拌不充分而使增殖率降低,或由于某些培养条件不能人为地控制而影响产量,故各工场应考虑采用适于本地区气候条件的培养法,因此必须充分掌握当地气象资料。

将在直径18米的藻种培养池培养好的小球藻移大型培养池中,然后再将基本培养液加到培养池中。24小时后从输送缸添加补充培养液。补充培养液的添加量根据水温 and 日照时间而不同,通常在0.4~4.0毫升/升(培养液与补充培养液之比)的范围内加肥,添加率1.0毫升/升·天,可以调整藻体为了每天增加1.0PCV所必需的C—N源和其它无机盐含量。

6.小球藻的收获:培养液中藻体的浓度达到10~15PCV时就可以收获了。收获可用拉杆离心分离机来进行,浓缩后送到洗净槽,由离心分离机进行浓缩和洗净。在室外培养受细菌污染程度很高,所以洗净工序是小球藻生产中很重要的一环。最后浓缩到PCV 500~600毫升/升放在冷却缸(5℃)中降温保存。

7.干燥:被冷却后的小球藻由定量泵送到喷雾干燥机去进行干燥。由于在干燥机中停留时间短,温度不太高,所以破坏不了成分,叶绿素也没有褪色,可以得到品质优良的干燥藻体,并且消化率也显著地得到了提高。也有些工场采用真空冻结干燥法进行干燥。

8.藻精的制造:藻精是浓缩洗净后的生藻体(PCV300毫升/升)用预热器抽取热水,用离心分离机从藻体中分离出来的。再用减压浓缩机浓缩4倍,最后浓度调整为O、D、200(紫外吸收光度260nm)。藻精中含有相当的凝固蛋白质,在作澄清处理以前可作为食品添加剂而出售。

9.藻精的化学成分:藻精中含有胞嘧啶系,鸟嘌呤系,腺嘌呤系以及尿嘧啶系的磷酸化合物。具有医药价值的三磷酸腺苷含有率为0~6克/公斤,在紫外吸收部具有260nm极大值和

235~240nm极小值。在藻精中的核酸系物质含有SH基。作为与肽结合的复合体(核苷酸肽)而存在。还含有活性多糖体。

三、小藻培养条件的总结

繁殖率的测定:繁殖率一般用PCV表示,PCV即Packed Cell Volume之缩写,意思是压紧细胞容积。 $PCV=1$ 时就是说在1公升培养液中含有鲜藻体1毫升的意思。 $PCV=4$ 时含干藻重1克。所以要了解小球藻的繁殖情况通过测定PCV值就可知道。含有藻体的培养液可用吸管取出一定的量放入离沉管,用离心机以4000转/分,分离30分钟即可使藻体沉于下部。根据测定沉积藻体数量即可得出小球藻的体积。如一英亩培养池的培养液深30厘米,设其 $PCV=4$,则该池整个繁殖藻体重量为1.2吨。

培养温度:培养温度对小球藻的增殖率影响很大,特别是光合成时对暗反应的速度影响很大。强光下小球藻温度系数为2,温度上升10℃时,反应速度提高到2倍。所以温度高增殖率也高。小球藻的增殖量与气温关系如下:

增殖量(克/米²·日)=月平均气温℃×0.7

如某场的年产量可按下列方式求出:

小球藻产量克/年=年平均气温℃×0.7×365×培养面积米²。此时小球藻产量为干物重量。

光的强度:光的强度对小球藻的培养有很大影响,但是不同的藻种对光的需求也不同。即便是同一藻种也因情况而异。在室外日照时间越长小球藻,繁殖也越好。培养液中的藻体浓度过高和水太深也会影响光透力,实际上培养池的水深10~15厘米光透效果比较好。而藻体浓度以每公升培养液含1~2克藻体效果为好。向培养池中的接种量夏季以每公升含藻种0.02克为宜,冬季以每公升含0.1克为宜。冬季接种量多是因为冬季水温低、晴天时光照强,由于低温强光易引起细胞色素的褪色而使细胞死亡。

小球藻光合作用的能源是日光,不用日光用人工光源也可以。光合成有明反应和暗反应

两种。明反应是由光化学反应而引起的光合作用。暗反应是酵素反应与光无关。明反应与光强成比例,但暗反应是由温度来决定的。在强光低温的情况下,由明反应而生成的物质却不能由暗反应所全部处理,因此固定光能为化学能的效率降低了,也就是光能转换率降低了,这种现象名为光饱和。在室外培养小球藻,夏天阳光强度为10万千勒克司左右,光能转换率只不过6%左右。光合成的热化学方程式为: $6CO_2 + 6H_2O + 674KCal \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2$,根据测定产氧量可得化学能所固定的能量。

用人工光源进行光合成如果用钠灯则24%的电转换为化学能。每度电所收获的小球藻计算式为:小球藻增殖量克/度=860千卡/度×光能转换率×光合成转换率/5.6千卡/克,用此式计算每度电可收0.46~7.7克小球藻。

碳源:小球藻以空气中的CO₂为碳源,其理想浓度为5%。一般用气泵将纯CO₂送到培养液中,CO₂的利用率仅为2~10%。除CO₂外还可使用醋酸,此法优点是炭的利用率高达50%,小球藻繁殖率也高。在温度条件良好时用CO₂为炭源小球藻繁殖量为每天每平方米产18克,而用醋酸可产25克,产量增加1.4倍。其原因是每克醋酸具有3.5千卡化学能。因此光能量虽少也无碍小球藻的繁殖,在光弱的阴天小球藻也能繁殖得很好。

四、小球藻的营养价值:

1.藻体的一般成分及氨基酸的组成:在室外培养的藻体含50~65%的粗蛋白,2.5~4.0%的叶绿素。氨基酸的含量以赖氨酸,氨酸,丙氨酸,谷氨酸等为多,含硫氨基酸较少,粗CGF含量为4~6%。(参照表)

2.小球藻的消化吸收率:由于小球藻的细胞膜很坚固,所以消化吸收率很差。1959年日本国立营养研究所的速水泱博士对藻体进行了热处理,消化吸收率可提高到83%,此值与普通食品的消化吸收率大致相同。京都大学的满田久辉教授1959年发现了从藻体内提取蛋白质的方法,所提出的蛋白质消化吸收率极其良好。此后由于冻结干燥小球藻技术的进步,其

藻 体 一 般 成 分 (100 克 中)	
粗蛋白质	55.0 ~ 62.0 克
粗 脂 肪	5.6 ~ 10.9 克
碳水化合物	16.4 ~ 19.6 克
粗 纤 维	2.0 ~ 2.8 克
灰 分	5.5 ~ 6.6 克
叶 绿 素	3.0 ~ 3.8 克
总胡萝卜素	82.6 ~ 115 毫克
维生素A效力	119,000 ~ 137,000 I U
V _{B1}	1.6 ~ 2.1 毫克
V _{B2}	5.3 ~ 5.5 毫克
V _{B6}	0.6 ~ 0.7 毫克
V _{B12}	82.0 ~ 83.5 毫克
总 V _C	61.0 ~ 119.0 毫克
烟 酸	25.0 ~ 25.6 毫克
叶 酸	28.9 ~ 32.3 微克

氨 基 酸 的 组 成 (%)	
赖 氨 酸	3.08
组 氨 酸	1.01
精 氨 酸	4.07
氨 基 丙 氨 酸	5.34
苏 氨 酸	2.93
丝 氨 酸	2.42
谷 氨 酸	6.27
脯 氨 酸	2.58
甘 氨 酸	3.18
丙 氨 酸	3.33
胱 氨 酸	0.24
缬 氨 酸	4.14
蛋 氨 酸	0.75
异 亮 氨 酸	2.41
亮 氨 酸	5.04
酪 氨 酸	1.82
苯 基 丙 氨 酸	3.09
色 氨 酸	1.42

消化吸收率已达86%，比普通食品还高。

3. 各种各样的小球藻食品：小球藻干燥后呈浓绿色的粉末，具有绿紫菜、末茶相似的独特香味。把它加在面包、面条、菜汤、冰激凌、糖果里能增加很好的风味。可是添加量如果超过5%，食品就呈浓绿色而不美观了。把小球

藻用盐酸加水分解能得到氨基酸酱油，而且以小球藻为原料也能造豆酱。可是关于制造方法还存在技术问题，尚在研究中。把小球藻掺入蛋糕等点心里，可长期存放而不变质，因此可作防腐剂使用。小球藻撒在鱼体上还可除却鱼腥味。用藻酸钠还可把小球藻制成颗粒或细丝，以便于贮存，食用时加水即可溶解。

4. 小球藻的医疗效果：小球藻作为蛋白质粮食不仅营养价值高，而且每天吃一点还有显著的医疗效果，这是许多国家医师所公认的。

委内瑞拉的空毕特博士从1942年到1946年以小球藻为主体给患者服用藻汤进行临床试验，其结果大部分患者体力增强了，体重增加了，健康状况显著地改善。1959年日本荒川清二博士认为常用小球藻能增加对赤痢菌的抵抗力。1963年藤卷昭博士把小球藻煮成热汤，从中提取的液体可降低溃疡的发生。1962年山岸芳雄氏给胃溃疡、十二指肠溃疡患者每日服2克小球藻，胃疼烧心的症状消失，治愈率达80%以上。1966年斋藤辰巳博士进行了同样的临床试验，认为小球藻有增强肠蠕动的功能，可治便秘，还可预防治疗癌症对白血球的减少。同年莲田晶一氏发现吃小球藻对难以治愈的创伤有增强组织新生力、形成良性肉芽、上皮新生等效果。福田四郎博士说给服刑期间的犯人每天吃2克小球藻使他们增进了体质，性情也变温和了。陀摩武人教授说给吃牛奶过敏的乳儿吃用小球藻蛋白做的代乳品有显著效果。在对牛奶过敏的乳儿里，有的吃普通人工营养物，脸和脖子就产生湿疹，而吃小球藻就无此现象。经常服用小球藻还具有提高人体各器官的功能，促进生长和返老还童的效果。美国的马克特外鲁博士把50个更年期的妇女分为两组，一组每天每人吃10克小球藻经过半年与另一组没吃的进行比较，其结果服用小球藻的25人中15人又来了月经，突出显示了年轻。

小球藻的医疗效果除此以外还有许多。如对于胆固醇沉着于血管壁而引起的高血压有效，能减轻痔症，对肝硬变、肝炎等肝脏患者也有效力，对白血球减少也有作用，对糖尿病

患者也有疗效。常吃小球藻不易感冒,还能醒酒,对过敏性疾病,对巴塞杜氏病,对“脚气”也都有疗效。小球藻的这些医疗效果可能与它所含有的特殊成分有关。

5. 小球藻所具有的特殊成分: 小球藻细胞中含有大量叶绿素还含有各种酵素。常服小球藻可以改善体质提高细胞的机能可归于酵素的作用。从小球藻里提取出的各种有效成分最引人注目是 小球藻生长素 CGF (Chlorella Growth Factor)。在CGF中含有对细菌、酵母、蘑菇生长的促进物质, 植物激素的物质和调味物质。

CGF 经过透析可分为高分子和低分子成分, 这些还可再分为几个成分。促进乳酸菌生长的是CGF₁, 促进酵母生长的是 CGF₂, 对动物体有作用的是 CGF₃, 对植物激素有作用的是CGF₄。

CGF 的含量可用紫外吸收和生物学定量法测出。日本富山大学的市村昭二教授发现在小球藻培养液中含有 0.4% 浓度的重水, 对于核燃料的开发也存在着用小球藻精制重水的可能性。

五、小球藻的利用现况与展望:

现在生产的小球藻90%以上被制成粒剂作为保健食品在食品店、药店以每60克1800~2500日元的价格出售。藻精每升3000日元。作为食品添加剂只用在面包、面类、陈米、豆豉、豆腐、发酵乳制品等食品工业。有关用小球藻作保健食品, 食品添加剂的效果, 过去已有许多研究报告, 但是对有些效果还未找到足够的科学根据, 这还有待今后继续研究。

为了降低小球藻的价格一方面加强培养管理合理化, 二要充分利用工业三废开发新的培养技术。目前在此方面已发现突破口, 即利用甘蔗糖蜜作为廉价碳源。废糖蜜在冲绳地区是精糖工业的副产物, 每公斤约3日元, 这比170日元1公斤的醋酸便宜多了。进行纯培养的试验结果表明, 利用废糖蜜为碳源进行小球藻大量生产是可行的。即: 1. 糖蜜浓度在0.5~4%时增殖良好, 特别是在2%时增殖速度最高。

2. 温度在10~40℃可以增殖、最合适的温度为27~30℃, 3. 最适 pH为5.5~6.5, 光照强度5~10千勒克司, 4. 为了以糖蜜为培养基得到充分的增殖须加上镁盐、磷酸盐、铁盐及微量金属。5. 在含有2%尿素的糖蜜培养基上进行分批培养增殖度可达12.5PCV/天。6. 在连续培养使用NBS测微器时的生产率可以得到稀释率为0.2时最大值1.4克/升·小时。7. 所使用的藻种为糖蜜转化率最高的MAO16。

此外美国和日本在利用小球藻处理城市污水的研究方面也取得进展。以美国的研究实验结果为例: 从前处理100万加仑污水费用是40~80美元, 用小球藻处理费用为80~100美元。1英亩培养池每年小球藻的产量是20吨, 而1英亩土地产粮是1.5吨。从这个结果来看虽然处理费高了点, 可是小球藻的产量比粮食产量却高得多。

在用小球藻作为宇航食品的研究方面, 目前虽还未听到过成功的报导, 但是从某些设想来看是能够行得通的。例如在飞船内安装一个培养装置利用人体的排泄物培养小球藻可作到连续生产。生产的小球藻一部分作为人的粮食, 另一部分作为饲料喂养小动物以此解决人的食肉问题。日本人搞了一个宇航食品菜单, 其中包括菜、汤、鱼、肉、饭后的茶点、面包、酒等。这些食品全是用小球藻食用酵母等制作的, 其中一部分在先般赤坂的高级饭馆大桥巨泉先生和朝日周刊编辑部的人亲口品尝了, 全都给与好评。虽说我们距宇宙时代还很遥远, 但是作为营养品和美味食品将来也是应该研制和生产的。

赵福耀 编译

