

文章编号: 1004 - 7271(2008)01 - 0077 - 05

微小色球藻的培养及其营养组成分析

黄旭雄, 胡 盼, 庄林川, 倪良平

(上海水产大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 200090)

摘 要:在实验室条件下,以 Zarrouk 培养液培养微小色球藻(*Chroococcus minutus*),探讨温度对微小色球藻生长的影响,并对微小色球藻的营养组成进行了分析。结果表明:在 $30 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S} \sim 45 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S}$ 光照强度范围内,微小色球藻的最适生长温度范围为 $30 \text{ }^\circ\text{C} \sim 38 \text{ }^\circ\text{C}$ 。对微小色球藻的营养组成分析表明,该藻具有高蛋白,低脂肪,脂肪酸组成简单的特点。其粗蛋白含量为 61.82%,粗脂含量仅为 0.99%,饱和脂肪酸主要为 C16:0 和 C20:0 分别占 44.88% 和 11.47%,不饱和脂肪酸主要为 18:2n6(占 16.01%)。干物质中总氨基酸含量为 564.09 mg/g,其中 7 种必需氨基酸占总量的 37.65%,其营养组成与螺旋藻相似。

关键词:微小色球藻; 温度; 粗蛋白; 总脂肪; 氨基酸; 脂肪酸

中图分类号: Q 949.21 文献标识码: A

The cultivation and nutrition analysis of the blue-green alga *Chroococcus minutus*

HUANG Xu-xiong, HU Pan, ZHUANG Lin-chuan, NI Liang-ping

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Fisheries University, Ministry of Education, Shanghai 200090, China)

Abstract: The microalga *Chroococcus minutus* was cultured in laboratory with Zarrouk medium and the effect of temperature on the growth of *Chroococcus minutus* was studied. The results indicated that the optimum temperature for *Chroococcus minutus* growth is between $30 \text{ }^\circ\text{C} - 38 \text{ }^\circ\text{C}$ when a light intensity of $30 \mu\text{E}/\text{M}^2/\text{S} - 45 \mu\text{E}/\text{M}^2/\text{S}$ applied. The nutrition assays showed that this alga has the characters of high protein content (61.82%), low lipid content(0.99%), simple fatty acid composition. The main parts of saturated fatty acid are palmitate (44.88%) and arachidic acid (11.47%). The most unsaturated fatty acid is 18:2n6 (16.01%). The amino acid content of the algae is 564.09 mg/g.

Key words: *Chroococcus minutus*; temperature; crude protein; total lipid; amino acid; fatty acid

蓝藻又称蓝细菌(Cyanobacteria),是地球上最早出现的绿色自养植物,种类繁多。已有的研究表明,某些蓝藻具有固氮的能力,对于增加水中肥力,提高海洋生产力,在农业增产上具极大的经济意义^[1]。蓝藻中的螺旋藻(*Spirulina*)因其高营养价值被公认为未来的理想营养食品^[2]。而蓝藻中微囊藻等又因其产生的毒素对水域环境及人类有着严重的危害^[3]。国外的最新研究表明,微型蓝藻中蕴藏着潜在的经济价值,可从中提取具很高医学价值的生物活性物质^[4-6],也可通过转基因技术生产高效药

收稿日期:2007-03-12

基金项目:上海市农委重点攻关项目(科05-254);上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介:黄旭雄(1971-),男,浙江浦江人,副教授,博士,主要从事水产养殖和水产动物营养与饵料方面的研究。Tel: 021 - 65710025; E-mail: xhuang@shfu.edu.cn

物^[7]。微型蓝藻的研究将是生物药物开发的重点之一^[8]。微小色球藻(*Chroococcus minutus*)属于蓝藻门、色球藻纲、色球藻目、色球藻科、色球藻属。细胞呈球形,单一或分裂后不分离为2个相连的半球形;细胞直径2.5~4.0 μm。该藻胶被极薄,无色透明;原生质体均匀,蓝绿色。国内外有关色球藻的研究报道较少,主要集中在生态分布与分类^[9-11]、污水处理^[12-13]等领域。有关色球藻的培养条件及其营养组成的研究,尚未见报道。本文研究培养过程中温度和光照对微小色球藻生长的影响,并对微小色球藻的营养组成进行分析,旨在为微小色球藻的培养利用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 藻种

微小色球藻,由上海水产大学生物饵料实验室从上海江湾机场水域分离纯化后得到,并在实验室保种。

1.2 温度对微小色球藻生长影响实验

以 Zarrouk 配方^[14]为培养液,在 PGX 多段恒温光照培养箱内用 150 mL 的三角烧瓶培养。在三个光照强度下(45 μE/M²·S、30 μE/M²·S、12 μE/M²·S)分别探讨温度对微小色球藻生长的影响。每个光照强度下设5个温度水平,分别为25℃、30℃、36℃、38℃、40℃。每水平设三个重复。培养开始时控制接种浓度一致(540 nm 的吸光度值为0.330)。培养过程中每天定时摇动培养瓶,培养7 d后采用高速离心机(5 000 r/s)采收藻细胞,并在60℃下烘干至恒重,测定培养物的干物质重量。

1.3 微小色球藻营养组成的分析

在80 L自动控制的光反应器中接入微小色球藻藻种,以 Zarrouk 培养液在控温控光(33℃, 45 μE/M²·S)的条件下培养12 d。用连续离心机收集藻泥,藻泥经0.1 mol/L的稀盐酸溶液溶解后再离心,然后用蒸馏水溶解藻泥,再离心两次。最后将藻泥转移至培养皿中,经冷冻干燥机冻干后用于营养分析。粗灰分测定采用马福炉550℃法(GB/T6438-92);粗蛋白用KDN-04定氮仪测定,总脂肪用索氏抽提法测定。样品经盐酸水解后用日立L-8800高速氨基酸分析仪测定,脂肪酸经苯-石油醚甲酯化后在HP6890A型气相色谱仪上分析,并用归一化法计算脂肪酸的百分含量。除氨基酸外,其余指标测定均设3个重复。

1.4 数据处理与分析

结果以平均值和标准差表示,生长数据用SPSS 11.0软件进行方差分析并作Duncan's多重比较。

2 结果

2.1 温度对微小色球藻生长的影响

图1为45 μE/M²·S光照强度下温度对微小色球藻生长的影响。在30~38℃温度范围内,微小色球藻的单位水体的生物量都在1.0 g/L以上,极显著地高于25℃和40℃组。

在30 μE/M²·S光照强度下,30~38℃温度范围内微小色球藻的单位水体的生物量维持在1.0 g/L左右,相互间无显著差异,但极显著地高于25℃和40℃组。25℃时单位水体的生物量显著高于40℃时(图2)。

在12 μE/M²·S光照强度下,实验温度下微小色球藻的单位水体的生物量维持在0.6~0.7 g/L,相互间均无显著差异(图3)。

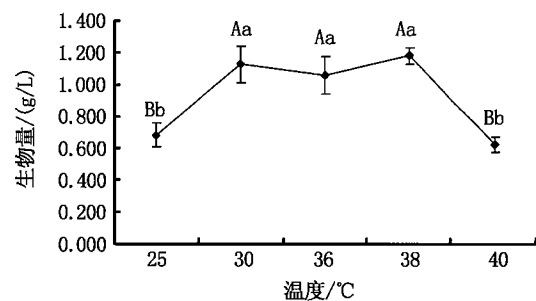


图1 45 μE/M²·S光照时不同温度下微小色球藻的生物量

Fig. 1 The biomass of *Chroococcus minutus* cultured in different temperature with 45 μE/M²·S light intensity

注:同一系列上标不同的大写字母表示数据间有极显著性差异($P < 0.01$),不同的小写字母表示数据间有显著性差异($P < 0.05$)。以下各图同图1

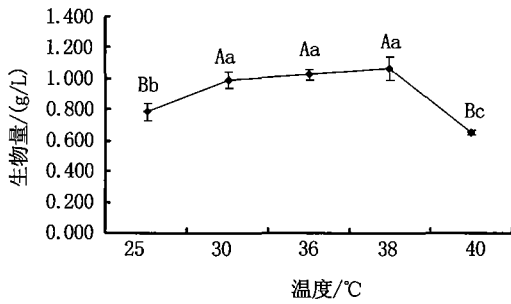


图2 30 μE/M²·S 光照时不同温度下微小色球藻的生物量

Fig. 2 The biomass of *Chroococcus minutus* cultured in different temperature with 30 μE/M²·S light intensity

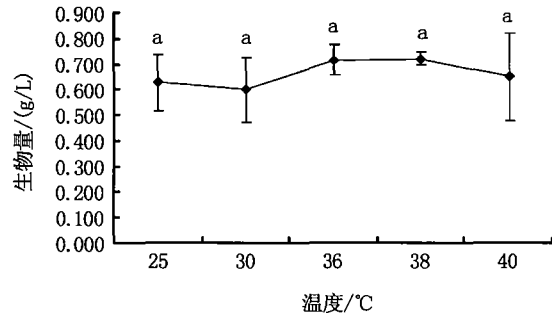


图3 12 μE/M²·S 光照时不同温度下微小色球藻的生物量

Fig. 3 The biomass of *Chroococcus minutus* cultured in different temperature with 12 μE/M²·S light intensity

图4 显示不同温度下光照对微小色球藻培养生物量的影响。在 25 °C 和 40 °C 时,光照对微小色球藻的培养生物量无显著影响,但在 30 °C,36 °C 和 38 °C 时,光照对微小色球藻的培养生物量有极显著影响。45 μE/M²·S 光照强度组和 30 μE/M²·S 光照强度组极显著高于 12 μE/M²·S 光照强度组。

2.2 微小色球藻的营养组成

营养分析结果表明,微小色球藻粗蛋白含量很高,达 61.82%;总脂含量很低,仅占干物质的 1% 左右(表 1)。

微小色球藻的氨基酸组成中,谷氨酸的含量最高、其后依次为天冬氨酸、丙氨酸和亮氨酸;胱氨酸、组氨酸和甲硫氨酸的含量较低(表 2)。

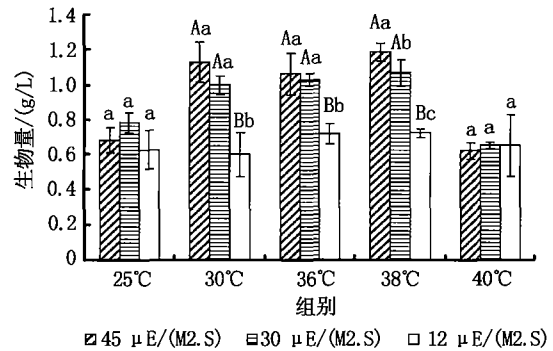


图4 不同温度下光照对微小色球藻培养生物量的影响
Fig. 4 The effect of light intensity on the biomass of *Chroococcus minutus* cultured in different temperature

表 1 微小色球藻的基本营养组成

Tab. 1 The basic nutrition composition of *Chroococcus minutus*

水分 (%)	灰分含量 (%)	粗蛋白含量 (%)	总脂肪含量 (%)
8.45 ± 0.02	7.53 ± 0.15	61.82 ± 0.24	0.99 ± 0.09

气相色谱分析表明,微小色球藻的脂肪酸组成比较简单,含量最高的为棕榈酸(C16:0),占总脂肪酸组成的 44.88%;其次是亚油酸(C18:2n6),占 16.01%;花生酸(C20:0)的含量也较高,占 11.47%。在脂肪酸组成中,饱和脂肪酸占约 60%,n6 不饱和脂肪酸占 24.41%。

3 讨论

温度是微藻生长繁殖的一个极重要生态因子。在适应温度范围内,微藻生长繁殖最快、生命活动最旺盛的温度幅度,为最适温度范围。超出适应温度范围的低限和高限,微藻的生命活动就受到影响。

微藻的最适温度范围因种类的不同而有所差异。螺旋藻的最适温度范围为 35 ~ 37 °C^[14],大多数广温性藻类的最适温度范围在 20 ~ 25 °C 左右。本试验的结果表明,在 45 μE/M²·S 和 30 μE/M²·S 的光照强度下,培养温度对微小色球藻的生长有极显著的影响,其最适生长温度范围为 30 ~ 38 °C。但当光照强度降低为 12 μE/M²·S 时,在 25 ~ 40 °C 的温度范围内微小色球藻的生长无显著差异。表明 12 μE/M²·S 的光照强度成为限制微小色球藻生长的主要因子。

表 2 微小色球藻氨基酸组成的影响

Tab. 2 The amino acid contents and compositions of *Chroococcus minutus*

氨基酸	微小色球藻		极大螺旋藻* ^[15]	
	含量(mg/g 干物质)	百分组成(%)	含量(mg/g 干物质)	百分组成(%)
天冬氨酸(Asp)	61.75	10.96	62.0	9.56
苏氨酸(Thr)	31.05	5.51	36.8	5.67
丝氨酸(Ser)	26.8	4.76	35.9	5.53
谷氨酸(Glu)	79.78	14.16	86.2	13.29
甘氨酸(Gly)	28.92	5.13	33.2	5.11
丙氨酸(Ala)	61.11	10.84	54.0	8.32
胱氨酸(Cys)	0.83	0.15	6.2	0.95
缬氨酸(Val)	31.85	5.65	51.0	7.86
甲硫氨酸(Met)	15.06	2.67	18.8	2.90
异亮氨酸(Ile)	26.39	4.68	39.1	6.03
亮氨酸(Leu)	54.17	9.61	56.8	8.76
酪氨酸(Tyr)	24.8	4.40	/	/
苯丙氨酸(Phe)	28.26	5.01	33.6	5.18
赖氨酸(Lys)	25.81	4.58	34.8	5.37
组氨酸(His)	8.44	1.40	9.9	1.53
精氨酸(Arg)	39.39	6.99	52.2	8.05
脯氨酸(Pro)	19.68	3.49	28.3	4.36
色氨酸(Try)	/	/	9.8	1.51
总必需氨基酸** (ΣEAA)	212.59	37.69	280.7	43.28
总氨基酸(TAA)	564.09	100.00	648.6	100.00

注: * 极大螺旋藻的数据参照文献[15]换算而得, ** ΣEAA 为 8 种 EAA (Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Try, Thr, Val) 之和

表 3 微小色球藻的脂肪酸组成

Tab. 3 The composition of fatty acid of *Chroococcus minutus*

脂肪酸	C10:0	C14:0	C14:1	C16:0	C16:1	C17:1	C18:1
组成(%)	3.19 ± 0.21	0.31 ± 0.08	0.05 ± 0.00	44.88 ± 0.12	7.23 ± 0.05	0.59 ± 0.03	7.47 ± 0.07
脂肪酸	C18:2n6	C18:3n6	C18:3n3	C20:0	饱和脂肪酸	单不饱和脂肪酸	n6 不饱和脂肪酸
组成(%)	16.01 ± 0.20	8.40 ± 0.12	0.39 ± 0.03	11.47 ± 0.22	59.86 ± 0.38	15.34 ± 0.05	24.41 ± 0.33

本研究中,光照在 $45 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S}$ 和 $30 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S}$ 时, $30 \text{ }^\circ\text{C} \sim 38 \text{ }^\circ\text{C}$ 范围内的干物质重稳定在 1 g 左右,数据之间均不存在明显差异,而当温度超出该范围时,干物质重明显下降。

在微小色球藻的最适温度范围内,光照强度对其生长有极显著的影响。随着试验光照强度的增加,微小色球藻的生物量也增加。但当温度不在其最适生长温度范围内时,试验光照对微小色球藻生物量无显著影响。表明光照和温度对微小色球藻的生长影响存在交互作用。类似的发现在其他微藻中也被证实^[14]。

由于实验室条件有限,本实验中最大光照强度为 $45 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S}$ 。通常蓝藻的最适光照强度相对较高,螺旋藻的最适光照强度为 $600 \sim 700 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S}$ ^[14]。高于 $45 \mu\text{E}/\text{M}^2 \cdot \text{S}$ 的光照强度是否更有利于微小色球藻的生长,有待进一步研究。

微藻的生化成分与其生长阶段、培养条件如光照强度和频率、温度、培养液等密切相关。一般而言,微藻蛋白质的含量为 15% ~ 40%,脂肪含量为 5% ~ 20%^[14],对微小色球藻的营养组成分析表明,微小色球藻具有高蛋白低脂肪的特点,氨基酸组成中含量高的为谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸和亮氨酸;不饱和脂肪酸主要为亚油酸(表 2)。所有的这些特点与螺旋藻的营养特点相似^[15]。这可能与微小色球藻和螺旋藻同属低等蓝藻有关。能否将色球藻作为饵料微藻用于水产动物苗种培育仍有待进一步研究。

微小色球藻的定名得到上海水产大学生命学院的马家海教授及王丽卿副教授的大力帮助,在此表示感谢!

参考文献:

- [1] 赵文主.水生生物学[M].北京:中国农业出版社,2005:30-31.
- [2] 陈峰,姜悦.微藻生物技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999:103-143.
- [3] 王朝晖,张玉娟,曹宇,等.微囊藻毒素对水环境的影响研究进展[J].生态科学,2006,25(2):188-191.
- [4] David J S, Victor S K. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and Cyanobacteria[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2000, 45(3):208-227.
- [5] 敖宗华,汤晓智,刘萍,等.蓝藻中生物活性物质的研究概况[J].药物生物技术,2001,8(5):296-300.
- [6] 黄泽波,刘永定.蓝细菌多糖及其应用研究概况[J].生物技术通报,1997,4:26-32.
- [7] 徐旭东.基因工程杀蚊幼蓝藻研究的由来和发展[J].水生生物学报,2001,25(1):76-82.
- [8] Patterson G. Antiviral activity of cultured blue-green algae(Cyanophyta)[J]. J Physcol,1993,29:125-130.
- [9] 乔格侠,李启敏.西安南五台山色球藻科蓝藻的研究[J].陕西师范大学报(自然科学版),1989,17(4):46-49.
- [10] 田友萍,陈建群,张捷,等.云南色球藻科新分类群[J].植物分类学报,2001,39(3):280-282.
- [11] 张淑梅.中国海生色球藻科植物新记录[J].辽宁师范大学学报(自然科学版),2001,24(3):302-305.
- [12] Parikh A, Madamwar D. Textile dye decolorization using cyanobacteria[J]. Biotechnology Letters, 2005, 27(5):323-326.
- [13] Kirkwood A E, Nalewajko C, Fulthorpe R R. The occurrence of cyanobacteria in pulp and paper waste-treatment systems[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2001, 47(8):761-766.
- [14] 成永旭.生物饵料培养学[M].北京:中国农业出版社,2005:324.
- [15] 邱丽珩.大螺旋藻氨基酸成分的研究[J].太原师范学院学报(自然科学版),2004,3(1):81-83.

书籍征订:《世界金枪鱼渔业渔获物物种原色图鉴》

由戴小杰、许柳雄等先生编著的《世界金枪鱼渔业渔获物物种原色图鉴》一书,于2007年1月由海洋出版社出版。该书收录了124种鱼类,重点是金枪鱼类和类金枪鱼类,其中鲭科鱼类49种、剑鱼科鱼类1种和旗鱼科鱼类11种,另有兼捕鱼类软骨鱼类35种及其他鱼类28种。这些鱼类主要分布在300m以内的大洋上层海域。常被延绳钓渔业所捕获,也见于围网和其他渔业的渔获物中。

本图鉴可为从事远洋金枪鱼渔业捕捞企业、科学研究工作者、广大游钓工作者提供基础知识,对从事金枪鱼贸易和市场销售工作者也能提供帮助。

目前该书已开始发行,定价:80元。需要购书者可与上海水产大学学报编辑部联系。

通讯地址:上海市军工路334号上海水产大学48信箱

邮政编码:200090 联系电话:021-65678640

联系人:张美琼 E-mail:jfc@shfu.edu.cn