

文章编号: 1000-0615(2000)03-0289-08

• 综述 •

# 微藻 EPA 和 DHA 的研究现状及前景

## Current status and prospect of studies on microalgal EPA and DHA

梁 英, 麦康森

(青岛海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003)

LIANG Ying, MAI Kang-sen

(College of Fisheries, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

关键词: 微藻; 二十碳五烯酸; 二十二碳六烯酸

Key words: microalgae; EPA; DHA

中图分类号: Q946.4; S917.3 文献标识码: A

高度不饱和脂肪酸(PUFA)在营养和医学上的重要作用,已引起人们广泛的兴趣,特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)两者对防治心脏疾病、动脉硬化、癌症、风湿关节炎、气喘和糖尿病等人类疾病有明显效果<sup>[1-3]</sup>,已成为研究开发的热点。在水产上,EPA和DHA是许多鱼类幼体、对虾幼体、双壳类幼虫的必需脂肪酸,关系到幼虫和幼体的生长发育和存活。EPA和DHA虽然对有些动物不是必需的,但在饵料中适当添加这些物质,可提高投喂动物的生长速度和存活率<sup>[4-6]</sup>。目前国内外对微藻中的EPA和DHA已进行了大量研究,取得了不少成就。

## 1 研究的主要种类及 EPA 和 DHA 含量

国外早在五十年代就已对微藻的脂肪酸含量进行研究,到目前为止,已测定了上百个品种微藻的脂肪酸。它们隶属硅藻类、金藻类、绿藻类、甲藻类、红藻类、隐藻类、蓝藻类、黄藻类。其中研究最多的是三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、小球藻(*Chlorella* spp.)、盐藻(*Dunaliella* sp.)、微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)等。其中EPA含量高的有*Anphiprora hyalina*, *Nitzschia closterium*, *Thalassionema pseudonana*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Chlorella minutissima*, *Nannochloropsis oculata*, *Porphyridium cruentum*等。DHA含量高的有*Cylindrotheca fusiformis*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Peridiniopsis borgei*, *Gymnodinium* sp., *Peridinium cinctum*, *Peridinium cinctum*等。Kayama等<sup>[7]</sup>对七十年代中期以前所测微藻的脂肪酸含量进行了总结。现将七十年代中期之后所测微藻的EPA和DHA含量总结如下(表1)。

## 2 藻种及培养条件对微藻 EPA 和 DHA 含量的影响

### 2.1 微藻的种类和品系

国外早在五十年代就已进行微藻脂肪酸组成的分析,结果表明:不仅不同种类的微藻EPA和DHA含量差别很大,即使同一种类的不同品系之间也存在很大差别<sup>[1,11,12,15,27]</sup>。Alonso等<sup>[1]</sup>对分离出的*Isochrysis galbana*的59个品系的EPA和DHA含量进行了测定,结果表明,不同品系EPA和DHA含量差别很大,EPA占总脂的百分比为13.19%~31.93%,平均为23.00%,占总干重的百分比为1.81%~6.61%,平均为4.23%,DHA占总脂的百分比为4.25%~13.36%,占总干重的百分比为0.58%~2.77%,EPA和DHA含量的差异可能是由于不同品系之间遗传差异引起的。Alonso等<sup>[27]</sup>选择一株富含EPA的*Isochrysis galbana*进行培养,结果表明,原始培养物中,EPA占总干重的2.4%,第一代分离出来的培养物的

收稿日期: 1998-09-29

基金项目: 国家海洋 863 高新技术发展计划资助项目(863-819-02-01)

作者简介: 梁英(1967-),女,讲师, Tel: 0535-2032273, E-mail: fieldey@mail.ouqd.edu.cn

EPA 占总干重的 6.6%，第二代占总干重的 7.8%。每一代有明显增长。同样，DHA 占总干重的百分比也从原始培养物的 0.9% 上升到第二代的 3.8%。而同时，*Isochrysis galbana* 其它品系的第二代培养物 EPA 和 DHA 含量的差别有明显下降，这表明，选择 EPA 和 DHA 高含量的微藻品系是完全可行的。

表 1 微藻 EPA 和 DHA 含量

Tab. 1 Contents of EPA and DHA in some microalgae

藻种名称	EPA		DHA		参考文献
	占总脂肪酸 (%)	占总脂 (%)	占总脂肪酸 (%)	占总脂 (%)	
海水硅藻类					
<i>Amphirra hyalina</i>	30.0		1.9		[8]
<i>Amphora exigua</i>	8.9	2.1			[9]
<i>Amphora</i> sp.	12.7	7.8	0.7		[8, 9]
<i>Asterionella glacialis</i>	3.1		-		[10]
<i>Biddulphia curita</i>	25.6	15.2	-		[9]
<i>Chaetoceros affinis</i>	0.6		0.1		[10]
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	11.1~15.7		0.6~1.5		[11, 12]
<i>Chaetoceros constrictus</i>	18.8		0.6		[13]
<i>Chaetoceros gracilis</i>	4.6~14.9		0.3~1.5		[11, 12]
<i>Chaetoceros mudleri</i>	12.8		0.8		[13]
<i>Chaetoceros simplex</i>	6.1~15.5		1.0~1.2		[12]
<i>Chaetoceros</i> sp.	15.6~20.3	7.2~8.7	3.0~5.4	1.4~2.5	[6]
<i>Coscinodiscus</i> sp.	26.0		4.6		[8]
<i>Cylindrotheca fusiformis</i>	7.7~20.3		1.1~12.6		[3, 8]
<i>Fragilaria pinnata</i>	20.7		-		[8]
<i>Fragilaria</i> sp.	13.0	11.2			[9]
<i>Haslea ostrearia</i>	12.2		3.3		[8]
<i>Navicula inerta</i>	15.3~25.2	2.2~3.6			[3]
<i>Navicula pelliculosa</i>	9.4~16.4	1.2~11.8			[3, 9]
<i>Navicula</i> sp.	20.1	7.9~9.3	2.6		[8, 14]
<i>Nitzschia dosterium</i>	2.6~44.6		0.1~2.4		[8~10, 15, 16]
<i>Nitzschia frustulum</i>	4.0	2.6			[9]
<i>Nitzschia laevis</i>	16.7~23.2	1.7~4.2			[3]
<i>Nitzschia longissima</i>	3.6	1.5			[9]
<i>Nitzschia ovalis</i>	9.5	4.8			[9]
<i>Nitzschia paleacea</i>	18.1~28.4		0.6~1.3		[15, 16]
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	9.1~39.0	3.7~10.8	1.1~5.3	1.0~2.2	[2, 6, 10, 12, 13, 17]
<i>Rhizosolenia setigera</i>	17.5		6.1		[8]
<i>Skeletonema costatum</i>	19.3~26.1		3.9~4.7		[8, 11]
<i>Skeletonema</i> sp.	18.3		4.2		[8]
<i>Thalassiosira</i> sp.	1.7		-		[10]
<i>Thalassiosira stellaris</i>	25.3		4.8		[8]
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	3.8		0.1		[10]
<i>Thalassiothrix heteromorpha</i>	12.9		1.6		[8]
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	25.2		1.0		[8]
<i>Thalassionema pseudonana</i>	7.7~32.7		1.4~6.2		[2, 9, 11, 12]
海水绿藻类					
<i>Chlorella minutissima</i>	16.1~44.7	6.4~20.0			[19]
<i>Chlorella</i> sp.	1.3~38.4		-		[13, 20]
<i>Dunaliella minuta</i>	-		-		[10]
<i>Dunaliella primolecta</i>	-		-		[10]
<i>Dunaliella salina</i>	0.1		-		[13]
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	0.08~0.14		0~0.14		[11~13]
<i>Nannochloris atomus</i>	3.2~19.3	3.8~6.2	0.0~0.5		[6, 11]
<i>Nannochloris</i> sp.	-		-		[10]
<i>Nannochloropsis oculata</i>	13.0~40.0		0.0~0.6		[5, 8, 13]
<i>Tetraselmis marina</i>	5.8		-		[10]
<i>Tetraselmis</i> sp.	9.4~10.9	4.3~5.0	0.0~0.5	-	[6, 13]
<i>Tetraselmis suecica</i>	4.2~5.3		0~0.8		[10, 11]
<i>Tetraselmis viridis</i>	6.7		-		[13]

续表 1

藻 种 名 称	EPA		DHA		参考文献
	占总脂肪酸 (%)	占总脂 (%)	占总脂肪酸 (%)	占总脂 (%)	
<b>海水金藻类</b>					
<i>Chrysolita lamellosa</i>	0.3		-		[10]
<i>Chrysolita stipitata</i>	-		-		[10]
<i>Emiliana huxleyi</i>	-		-		[10]
<i>Hymenomonas elongata</i>	1.3		-		[10]
<i>Isochrysis galbana</i>	8.0~12.8	13.2~32.0	3.6~6.4	4.3~13.4	[1, 22]
<i>Isochrysis galbana</i> (Tahitian)	0.2~12.8		3.7~19.4		[5, 6, 12, 16, 23]
<i>Isochrysis</i> sp.	0.2~4.1		5.3~10.3		[15]
<i>Isochrysis</i> sp. (Tahitian)	0.5~0.8		6.8~10.2		[11, 15, 21]
<i>Pavlova lutheri</i>	16.2~28.3	9.4~11.3	3.6~15.5	2.5~6.2	[6, 11, 12, 21]
<i>Pavlova lutheri</i> (CS-182)	20.4~22.4		9.7~10.7		[24]
<i>Pavlova pinguis</i>	3.1		-		[10]
<i>Pavlova salina</i>	19.1		1.5		[13]
<i>Pavlova salina</i> (CS-49)	25.4~28.2		10.2~11.0		[24]
<i>Pavlova</i> sp.	0.2~0.5		6.0~9.0		[16]
<i>Pavlova</i> sp. (CS-50)	23.5~25.0		8.4~9.2		[24]
<i>Pavlova</i> sp. (CS-63)	21.5~24.2		7.7~9.3		[24]
<b>海水甲藻类</b>					
<i>Amphidinium</i> sp.	8.0		17.4		[10]
<i>Gymnodinium</i> sp.	13.3~13.7	6.5	31.9~32.3	15.5~15.6	[6]
<i>Gymnodinium kawalevskii</i>	0.1		9.5		[13]
<i>Prorocentrum micans</i>	0.1		2.8		[10]
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	0.1		4.2		[10]
<b>海水蓝藻类</b>					
<i>Aphanizomenon quadruplicatum</i>	-		-		[10]
<i>Anacyclops marina</i>	-		-		[10]
<i>Synechocystis</i> sp.	-		-		[10]
<b>海水隐藻类</b>					
<i>Chroomonas fragarioides</i>	4.7		2.3		[10]
<i>Chroomonas salina</i>	10.9~12.9		5.2~7.1		[11, 13]
<i>Rhodomonas lens</i>	1.3~13		1.3~5		[10]
<b>海水红藻类</b>					
<i>Porphidium cruentum</i>	2.9~37.5		-		[10, 13, 25]
<b>海水黄藻类</b>					
<i>Heterothrix</i> sp.	4.1		0.1		[10]
<b>淡水硅藻类</b>					
<i>Chlamydomonas</i> sp.	-		-		[26]
<i>Chlorella hanosphaera</i>	0.12		-		[26]
<i>Scenedesmus acutus</i>	0.06		-		[26]
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	-		-		[26]
<b>淡水蓝藻类</b>					
<i>Anabaena</i> sp.	0.37		-		[26]
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0.64		-		[26]
<i>Microcystis wesenbergii</i>	0.46		-		[26]
<i>Nostoc muscorum</i>	-		-		[26]
<i>Oscillatoria agardhii</i>	1.6		-		[26]
<i>Spirulina</i> sp.	-		-		[26]
<i>Spirulina</i> sp. (Mexico)	-		-		[26]
<b>淡水鞭毛藻类</b>					
<i>Chlamydomonas chinophilus</i>	-		2.4		[26]
<i>Cryptomonas</i> sp.	9.9		3.5		[26]
<i>Peridinium cinctum</i> (Israel)	0.6		0.4		[26]
<i>Peridinium cinctum</i>	7.8		11.1		[26]
<i>Peridiniopsis borgei</i>	10.5		14.9		[26]
<i>Rhodomonas lacustris</i>	14.1		4.1		[26]

注:“-”表示很微量,测不出来。

## 2.2 温度

大量的实验结果表明,温度对 EPA 和 DHA 含量有显著的影响, Teshima 等<sup>[20]</sup>对海洋小球藻 (*Chlorella* sp.) 的研究结果表明,当盐度为 25, 温度 14.0~24.7℃时, EPA 含量(占总脂肪酸的百分比, 以下同)从 28.2% 上升到 38.4%, 随温度的升高而升高, 但当温度为 24.7~28.5℃时, EPA 含量则从 38.4% 下降到 16.0%。Renand 等<sup>[15]</sup>进行的实验表明, 温度为 10~25℃时, *Nitzschia paleacea* 的 EPA 含量从 28.4% 下降到 18.1%, 随温度的升高而下降; 同样, DHA 含量(占总脂肪酸的百分比, 以下同)也从 1.2% 下降到 0.6%。温度为 20~30℃时, *Nitzschia closterium* 的 EPA 含量从 8.3% 下降到 6.5%, DHA 含量从 0.4% 下降到 0.1%。Seto 等<sup>[19]</sup>的实验结果表明, 当温度为 20℃时, *Chlorella minutissima* 的 EPA 含量为 44.7%, 而当温度升到 25℃时, 这种藻的 EPA 含量则下降到 20.3%。周洪琪等<sup>[16]</sup>发现, 温度为 15~30℃时, *Isochrysis* sp. (Tahitian) 的 EPA 含量受温度的影响不大, DHA 含量随温度的升高而下降, 当温度为 15℃时, *Isochrysis* sp. (Tahitian) 的 DHA 含量最高, 为 11.4%。温度对有些藻类影响不大, 如 *Chlorella vulgaris*, 其脂肪和脂肪酸在不同温度下变化不大, 只是在低温时, 碳水化合物较高<sup>[28]</sup>。因此温度与微藻 EPA 和 DHA 含量的变化并非都是一致的, 可能与微藻的生态类型有关。

## 2.3 盐度

盐度能改变微藻中脂肪酸的组成, 但作用结果因种而异。Cohen 和 Heimer<sup>[25]</sup>对 *Porphyridium cruentum* 的研究发现, 当 NaCl 浓度从 0.25M 增加到 2.0M 时, EPA 含量从 37.5% 下降到 18.9%。Yongmanitchai 和 Ward<sup>[17]</sup>对 *Phaeodactylum tricornutum* 的研究发现, 当 NaCl 浓度在 0~5g·L<sup>-1</sup>时, EPA 含量变化不大, 在 39.0%~37.6% 之间; 但当 NaCl 浓度大于 5g·L<sup>-1</sup>时, EPA 含量迅速下降, 当 NaCl 浓度为 24g·L<sup>-1</sup>时, EPA 含量仅为 24.3%。

Teshima 等<sup>[20]</sup>对海洋小球藻 (*Chlorella* sp.) 研究发现, 当温度为 14.5℃、盐度为 4~30 时, EPA 含量在 29.4%~33.3% 之间变化, 变化不明显, 表明小球藻在较低的盐度下也能合成较多的 EPA。

## 2.4 光照

光照对 EPA 和 DHA 含量的影响十分显著。大多数藻类其 EPA 含量随光强的增加而减少, 其中包括 *Nannochloropsis* sp.<sup>[29]</sup>; *Nannochloropsis oculata*<sup>[5]</sup>; *Chaetoceros simplex*<sup>[12]</sup>等。

例如当光子流密度(PFDS)从 225μE·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>下降到 6μE·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>时, *Chaetoceros simplex* 的 EPA 含量从 6.1% 上升到 15.5%。而藻类中的 DHA 含量则一般随光强的增加而增加<sup>[5,12]</sup>。例如当光子流密度从 225μE·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>下降到 6μE·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>时, *Pavlova lutheri* 的 DHA 含量从 9.7% 下降到 3.6%<sup>[12]</sup>。但并非所有的藻类都有这种趋势, 光照对 *Chlorella minutissima* 的总脂含量和脂肪酸组成影响不大, EPA 含量随光照的增强而略有上升(从 39.1% 到 43.5%)<sup>[19]</sup>。光照对可异养或混养的藻类 EPA 含量的影响较大。Day 和 Tsavalos<sup>[30]</sup>对 *Tetraselmis* sp. 进行的实验表明, 在有光照的条件下, EPA 占总脂的 5.31%, 而在黑暗的条件下仅占 0.73%。

## 2.5 培养液的化学组成

培养液化学组成的变化包括氮、磷、维生素和微量元素的含量、氮与磷的比例、是否添加 HUFA 前体、是否添加葡萄糖、果糖、蔗糖、酵母浸膏、乙酸、乙醇等作为碳源和能源, 以上这些因素都可影响 EPA 和 DHA 含量。

培养液中氮的种类和浓度都能明显影响微藻中 EPA 和 DHA 含量。Yongmanitchai 和 Ward<sup>[17]</sup>对 *Phaeodactylum tricornutum* 的研究发现, 不同氮源对 EPA 含量有明显影响, 分别使用硝酸钠、氯化铵、尿素作为氮源时, EPA 含量分别为 25.2%、10.1% 和 31.8%。可以看出, 用硝酸盐和尿素作为氮源时, EPA 含量较高, 而用铵盐作为氮源时, EPA 含量较低。但分别用硝酸盐和铵盐作为氮源培养 *Nannochloropsis oculata* 时, 则发现用铵盐作为氮源, EPA 含量为 17.8%, 比用硝酸盐作为氮源时 EPA 含量(13.0%)高<sup>[5]</sup>。

氮的浓度对 EPA 含量也有影响。当氮浓度较低时, EPA 含量随氮浓度的升高而升高, 而当氮浓度达到一定水平后, EPA 含量则随氮浓度的升高而下降<sup>[5,17]</sup>。当硝酸钠的浓度在 0.25~1.50g·L<sup>-1</sup>时, EPA 含量从 9.1% 上升到 32.1%, 随硝酸钠浓度的增加而增加, 而当硝酸钠浓度超过 1.50g·L<sup>-1</sup>时, EPA 含量和生物量都下降<sup>[17]</sup>。

磷对 EPA 含量的影响也很显著。培养 *Phaeodactylum tricornutum* 时发现, 当培养液中磷酸盐(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)浓度从 0.05g·L<sup>-1</sup>增加到 0.5g·L<sup>-1</sup>时, EPA 含量从 20.1% 上升到 28.4%<sup>[17]</sup>。

## 2.6 收获期

微藻细胞在不同生长时期有不同的生化组成。Brown 等<sup>[18]</sup>对 *Thalassiosira pseudonana* 的研究表明, 当光照为 50μmol

phone $\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (24 0 L:D)时,在指数生长期收获和静止期收获对 EPA 和 DHA 含量影响不明显。而当光照为 100 $\mu\text{mol}$  photon $\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (24 0 L:D)时,收获期对 EPA 和 DHA 含量影响都比较明显,EPA 占干重的百分比从指数生长期的 24.3% 下降到静止期的 16.2%,而 DHA 占干重的百分比则从指数生长期的 4.7% 下降到静止期的 3.0%。

Fernandez Reiriz 等<sup>[31]</sup>对七种微藻分别在指数生长期、静止期早期、静止期晚期进行收获,测定脂肪酸含量。结果表明:*Phaeodactylum tricorutum* EPA 含量在上述三个时期分别是 6.3%、14.9% 和 9.1%,DHA 含量分别是 0.61%、1.1% 和 0.4%。EPA 和 DHA 含量都是在静止期早期达到最大。而 *Isochrysis galbana* 的 EPA 含量和 DHA 含量则在静止期晚期达到最大,*Rhodomonas* sp. 的 EPA 和 DHA 含量则在指数生长期达到最大。说明收获期对 EPA 和 DHA 影响较大,而且影响程度因种而异。

## 2.7 自养和异养

Tan 和 Johns<sup>[3]</sup>对九种海水硅藻进行筛选,只有一种能在异养条件下产出比自养条件下更多的 EPA,即 *Nitzschia laevis*。在异养条件下 EPA 含量为 23.2%,而自养条件下为 16.7%,这表明,可在培养基中添加葡萄糖作为碳源和能源异养培养此种藻,来生产 EPA。

## 2.8 不同的保存方法

Grima 等<sup>[32]</sup>对 *Isochrysis galbana* 进行冷冻干燥、冷冻(不加防冻剂)、冷冻(加防冻剂)、4℃下冷藏四种不同的方法进行保存,结果表明,不同的保存方法对 EPA 和 DHA 含量影响不明显,保存一个月后,EPA 和 DHA 含量均有所下降。Ahlgren 等<sup>[26]</sup>对 *Chlamydomonas* sp., *Chlorella* sp., *Rhodomonas* sp. 三种藻类进行了冷冻干燥处理,结果发现冷冻干燥处理对 EPA 和 DHA 含量影响不明显。

## 2.9 诱变

通过诱变可提高 EPA 含量。Alonso 等<sup>[33]</sup>以 *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin UTEX# 640 为亲本用紫外线对其进行了诱变,结果第一代 EPA 含量比亲本提高了 37%,第二代 EPA 含量比亲本提高了 44%。当在 1L 的细口瓶中进行培养时,亲本、第一代、第二代 EPA 分别占干重的 1.73%、3.15% 和 3.86%。EPA 产量分别为 3.48 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、4.01 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  和 4.98 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。Cohen 和 Heimer<sup>[34]</sup>用除草剂(SAN9785)对 *Porphyridium cruentum* 进行诱变,使 EPA 含量从亲本的 29.1% 提高到诱变种的 45.4%。实验结果表明,通过诱变来筛选 EPA 含量高的藻种,是很有发展前途的。

## 3 利用微藻生产 EPA、DHA 的现状 & 前景

目前市场上的 EPA 和 DHA 产品主要从深海鱼油中提取,而鱼类对 EPA 和 DHA 的合成能力很弱,主要从食物中摄取,其产量仅能满足世界需求量的 60%<sup>[4]</sup>。微藻是主要的初级生产力,许多种类的微藻能自身合成 EPA 和 DHA,其相对含量远远高于鱼油中的<sup>[6,8,10-12,15,16,21,24]</sup>。从藻细胞中提取的 EPA 和 DHA 产品没有腥臭味,不含胆固醇。某些藻类分别具有较丰富的 EPA 或 DHA,例如 *Isochrysis galbana*(Tahitian) EPA 含量很低(0.2%~0.9%),而 DHA 的含量很高(15.4%~19.4%)<sup>[6]</sup>。*Nannochloropsis oculata* EPA 含量很高(17.8%~39.9%),而 DHA 含量很低(<0.1%)<sup>[5]</sup>。这样就减少了 EPA 和 DHA 提取过程中的相互干扰。有些藻类可以直接食用,避免了提纯过程中的氧化分解。由于许多藻类可进行大规模的人工培养,产量高,周期短。因此,利用微藻生产 EPA 和 DHA 是很有前途的。

培养微藻生产 EPA、DHA 的研究始于 80 年代初期,培养的形式主要有三种。

### 3.1 开放式大池培养

开放式大池培养是既传统又简单的微藻培养系统,但开放式大池培养系统中存在着二氧化碳供给不足、难以控温、水份蒸发严重、易污染及生产不稳定等问题。据 Cohen 和 Heimer<sup>[35]</sup>报道,大池培养的 *Porphyridium cruentum* EPA 产量冬天为 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,夏天为 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

### 3.2 密闭式光生物反应器

国外光生物反应器的研究工作,自 80 年代以来,发展迅速,已设计的用于微藻培养的光生物反应器有各种形式和特点。密闭式光生物反应器主要有以下几种形式:管道式光生物反应器、平板式光生物反应器、光纤光生物反应器等各种光生物反应器,其主要特点为:最大的表面积与体积比、最有效的光源系统、光能传递到微藻的最短光路、最有效的混合

循环等<sup>[36~40]</sup>,因此,可取得高密度、高产、高效培养。Burgess等<sup>[41]</sup>用光纤生物反应器培养 *Isochrysis galbana* (Tahitian), DHA 的最大产量为  $4.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。Grima等<sup>[42]</sup>用管道式光生物反应器培养 *Isochrysis galbana* ALI4, EPA 的最大产量为  $8.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。Molina等<sup>[43]</sup>用管道式光生物反应器培养 *Phaeodactylum tricorutum* UTEX 640, EPA 的最大产量为  $13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。Sanchez Perez等<sup>[44]</sup>用恒化器培养 *Isochrysis galbana*, EPA 的最大产量为  $7.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , DHA 的最大产量为  $3.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

但利用封闭式光生物反应器进行微藻自养培养生产 EPA、DHA 存在着以下问题: (1) 培养后期,由于细胞密度升高,降低了光照强度,大部分细胞处于“黑暗”之中。(2) 反应器内壁易发生附壁现象。(3) 反应器内易积累氧气,降低不饱和脂肪酸的含量。

### 3.3 异养培养

异养培养是以可利用有机碳(葡萄糖、醋酸盐等)作为唯一碳源和能源进行微藻培养,异养培养可解决封闭式光生物反应器培养微藻存在的问题,具有以下优点: (1) 易进行高密度的纯种培养, (2) 可实现培养条件的自动控制。由于异养培养具有上述优点,近几年开展了大量的研究工作, Gladue<sup>[45]</sup>对可异养培养微藻进行了很好的总结,除此之外,还有以下种属可进行异养培养:

硅藻类: *Navicula incera*<sup>[3]</sup>, *Navicula pelliculosa*<sup>[3]</sup>, *Nitzschia laevis*<sup>[3]</sup>。

绿藻类: *Chlamydomonas humicola*<sup>[46]</sup>, *Chlamydomonas reinhardtii*<sup>[47]</sup>, *Chlorella autotrophica* (Clone 580)<sup>[48]</sup>, *Chlorella saccharophila*<sup>[49]</sup>, *Chlorella sorokiniana*<sup>[50]</sup>, *Tetraselmis*<sup>[30]</sup>, *Tetraselmis* CSL161<sup>[51]</sup>, *Ulva lactuca*<sup>[52]</sup>。

蓝藻类: *Anabaena variabilis*<sup>[53]</sup>, *Fremyella diplosiphon*<sup>[54]</sup>, *Nostoc* sp.<sup>[54]</sup>, *Oscillatoria rebeszens*<sup>[55]</sup>, *Phormidium luridium*<sup>[54]</sup>, *Plectonema* sp.<sup>[54]</sup>, *Scytonema schmidlei*<sup>[56]</sup>, *Spirulina platensis*<sup>[57]</sup>。

甲藻类: *Oxyrrhis* sp.<sup>[58]</sup>, *Dinophysis* sp.<sup>[59]</sup>。

隐藻类: *Pyrenomonas salina*<sup>[60]</sup>。

鞭毛藻类: *Actinomonas* sp.<sup>[38]</sup>, *Bodo* sp.<sup>[38]</sup>, *Ciliophrys* sp.<sup>[58]</sup>, *Desmardia* sp.<sup>[38]</sup>, *Diphanoeca grandis*<sup>[38]</sup>, *Ochromonas* sp.<sup>[61]</sup>, *Paraphysomonas imforatd*<sup>[62]</sup>, *Paraphysomonas* sp.<sup>[58]</sup>, *Percolomonas cosmopolitus*<sup>[58]</sup>, *Poteroochromonas malhamensis*<sup>[63, 64]</sup>, *Pseudobodo* sp.<sup>[58]</sup>, *Pteridomonas danica*<sup>[58]</sup>。

筛选可完全异养生长的藻种,选择合适的培养条件,进行微藻大规模异养培养生产 EPA 和 DHA 很有发展前途。目前美国、日本的一些公司已进行了这方面的工作,美国的 Martek 公司已建成  $150 \text{ m}^3$  规模的工业化异养培养设备,生产富含 DHA 的微藻饲料,该公司以 *Nitzschia alba* 作为生产 EPA 的藻种, EPA 最终产量为  $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ; 以 *Cryptocodinium cohnii* 作为 DHA 生产藻种, DHA 最终产量为  $1.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ <sup>[47]</sup>。

EPA 和 DHA 在营养学和医学上具有多种重要作用,但目前 EPA 和 DHA 的生产还远远不能满足人们的需要,因此筛选富含 EPA 和 DHA 的藻种,选择合适的培养条件和培养方法,改进提取工艺,大规模生产 EPA 和 DHA 产品是很有必要的,也是完全可能的。

### 参考文献:

- [1] Alonso D L, Grima E M, Perez J A S, et al. Isolation of clones of *Isochrysis galbana* rich in eicosapentaenoic acid[J]. *Aquac*, 1992, 102: 363~371.
- [2] Grima E M, Medina A R, Gimenez A G, et al. Gram-scale purification of eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) from wet *Phaeodactylum tricorutum* UTEX 640 biomass[J]. *J Appl phycol*, 1996, 8: 359~367.
- [3] Tan C K, Johns M R. Screening of diatoms for heterotrophic eicosapentaenoic acid production[J]. *J Appl phycol*, 1996, 8: 59~64.
- [4] Yongmanitchai W, Ward O P. Omega 3 fatty acids: Alternative sources of production[J]. *Process Biochem*, 1989, 8: 117~125.
- [5] Renaud S M, Parry D L, Thinh L V, et al. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture[J]. *J Appl phycol*, 1991, 3: 43~53.
- [6] Reitan K I, Rainuzzo J R, Olsen Y. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae[J]. *J Phycol*, 1994, 30: 972~979.
- [7] Kayama M, Araki S, Sato S. Lipids of Marine Plants[A]. In: Ackman R G, ed. *Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils*. Volume II CRC Press, Florida, 1989. 4~21.
- [8] Dunstan G A, Volkman J K, Barrett S M, et al. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae)[J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(1): 155~161.
- [9] Orcutt D M, Patterson G W. Sterol, fatty acid and elemental composition of diatoms grown in chemically defined media[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1975, 50B: 579~583.

- [10] Viso A C, Marty J C. Fatty acids from 28 marine microalgae[J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(6): 1521~ 1533.
- [11] Volkman J K, Jeffrey S W, Nichols P D, et al. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1989, 128: 219~ 240.
- [12] Thompson P A, Harrison P J, Whyte J N C. Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton[J]. *J Phycol*, 1990, 26: 278~ 288.
- [13] Zhukova, Aizdaicher N A. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae[J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(2): 351~ 356.
- [14] Al-Hasan R H, Ali A M, Ka'wash H H, et al. Effect of salinity on the lipid and fatty acid composition of the halophyte *Nawicula* sp. potential in mariculture[J]. *J Appl phycol*, 1990, 2: 215~ 222.
- [15] Renaud S M, Zhou H Q, Parry D L, et al. Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis* sp., *Nitzschia colostereum*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp. (clone T. ISO)[J]. *J Appl phycol*, 1995, 7: 595~ 602.
- [16] 周洪琪, Renaud S M, Parry D L. 温度对新月菱形藻、铲状菱形藻和巴夫藻的生长、总脂肪含量以及脂肪酸组成的影响[J]. *水产学报*, 1995, 20(3): 235~ 240.
- [17] Yongmanitchai W, Ward O P. Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions C [J]. *Appl Envir Microbiol*, 1991, 57(2): 419~ 425.
- [18] Brown M R, Dunstan G A, Norwood S J, et al. Effects of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana* [J]. *J Phycol*, 1996, 32: 64~ 73.
- [19] Seto A, Wang H L, Hesseline C W. Culture conditions affect eicosapentaenoic acid content of *Chlorella minutissima* [J]. *Jaocs*, 1984, 61(5): 892~ 894.
- [20] Teshima Shirichi, Yamasaki S, Kanazawa A, et al. Effects of water temperature and salinity on eicosapentaenoic acid level of marine *Chlorella* [J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1983, 49(5): 805.
- [21] Dunstan G A, Volkman J K, Barrett S M, et al. Changes in the lipid composition and maximisation of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture[J]. *J Appl phycol*, 1993, 5: 71~ 83.
- [22] Grima E M, Sanchez Perez J A, Garcia Sanchez J L, et al. EPA from *Isochrysis galbana*. Growth conditions and productivity[J]. *Process Biochem*, 1992, 27: 299~ 305.
- [23] Grima E M, Sanchez Perez J A, Camacho F G, et al. Variation of fatty acid profile with solar cycle in outdoor chemostat culture of *Isochrysis galbana* ALIF 4[J]. *J Appl phycol*, 1995, 7: 129~ 134.
- [24] Volkman J K, Dunstan G A, Jeffrey S W, et al. Fatty acids from microalgae of the genus Pavlova[J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(6): 1855~ 1959.
- [25] Cohen Z, Vonshak A, Richmond A. Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red alga *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate[J]. *J Phycol*, 1988, 24: 328~ 332.
- [26] Ahlgren G, Gustafsson I B, Boberg M. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae[J]. *J Phycol*, 1992, 28: 37~ 50.
- [27] Alonso D L, Sanchez, J L G, et al. Improvement of eicosapentaenoic acid content in isolates of *Isochrysis galbana*[J]. *J Mar Biotechnol*, 1993, 1(3): 147~ 149.
- [28] Hopley A, Fallowfield H J. The effect of nitrogen, temperature and growth phase on the fatty acid composition of microalgae[J]. *J Phycol*, 1989, 25(2): 9.
- [29] Sukenk A, Yael C. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp[J]. *J Phycol*, 1989, 25: 686~ 692.
- [30] Day J G, Tsavalos A J. An investigation of the heterotrophic culture of the green alga *Tetraselmis*[J]. *J Appl phycol*, 1996, 8: 73~ 77.
- [31] Fernandez Reiriz M J, Ferreira M J, Perez-Camacho A, et al. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae[J]. *Aquac*, 1989, 83: 17~ 37.
- [32] Grima E M, Sanchez Perez J A, Camacho F G. Preservation of the marine microalga, *Isochrysis galbana*: influence on the fatty acid profile[J]. *Aquac*, 1994, 123: 377~ 385.
- [33] Alonso D L, Clara I, Segura D C, et al. First insights into improvement of eicosapentaenoic acid content in *Phaeodactylum tricornutum* (Bagiellariophyceae) by induced mutagenesis[J]. *J Phycol*, 1996, 32: 339~ 345.
- [34] Cohen Z, Reungjitchachawali M, Sangdung W, et al. Herbicide resistant lines of microalgae: Growth and fatty acid composition[J]. *Phytochemistry*, 1993, 34: 973~ 978.
- [35] Cohen Z, Heimer Y M. Production of polyunsaturated fatty acids (EPA, ARA and GLA) by the microalgae *Porphyridium* and *Spirulina* [A]. In: Kyle D J, Ratledge C, eds. *Industrial Applications of Single Cell Oils* [C]. Am Oil Chem Soc Champaign, Illinois, 1992, 243~ 273.
- [36] Torzillo G, Carozzi P, Pushparaj B, et al. A two plane tubular photobioreactor for outdoor culture of *Spirulina* [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1993, 42: 891~ 898.

- [37] Lee Y K, Ding S Y, Low C S. Design and performance of an alpha type tubular photobioreactor for mass cultivation of microalgae[J]. J Appl Phycol, 1995, 7(1): 47~ 51.
- [38] Hu Qiang, Guterman H, Richmond A. A flat inclined modular photobioreactor for outdoors mass cultivation of photoautotrophs[J]. Biotechnol Bioeng, 1996, 51: 51~ 60.
- [39] Acier Fernandez F G, Garcia C F, Sanchez Perez J A, et al. A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture[J]. Biotechnol Bioeng, 1997, 55(5): 701~ 714.
- [40] Tredici M R, Zittelli G C. Efficiency of sunlight utilization: *Tubular versus* flat photobioreactors[J]. Biotechnol Bioeng, 1998, 57(2): 187~ 197.
- [41] Burgess J G, Iwamoto K, Miura Y, et al. An optical fibre photobioreactor for enhanced production of the marine unicellular alga *Isodhrysis galbana* T-Iso (UTEX LB 2307) rich in docosahexaenoic acid[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1993, 39(4~ 5): 456~ 459.
- [42] Grima E M, Perez J A S, Camacho F G. Outdoor culture of *Isodhrysis galbana* ALII- 4 in a closed tubular photobioreactor[J]. J Biotechnol, 1994, 37(2): 159~ 166.
- [43] Molina G E, Sanchez P J A, Garcia F, et al. Biomass and eicosapentaenoic acid productivities from an outdoor batch culture of *Phaeodactylum tricornutum* UTEX 640 in an airlift tubular photobioreactor[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1995, 42(5): 658~ 663.
- [44] Sanchez Perez J A. N-3 Polyunsaturated fatty acid productivity of the marine microalga *Isodhrysis galbana*: Growth conditions and phenotypic selection[J]. J Appl Phycol, 1994, 6(5~ 6): 475~ 478.
- [45] Gladue R. Heterotrophic microalgae production: Potential for application to aquaculture feeds[A]. In: Fulks W, Main K L, eds. Rotifer and microalgae culture systems proceedings of an U S Asia Workshop[C]. The Oceanic Institute, Honolulu, Hawaii, 1991, 279~ 281.
- [46] Laliberte G, De la Nouee J. Autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic growth of *Chlamydomonas humicola* (Chlorophyceae) on acetate[J]. J Phycol, 1993, 29(5): 612~ 620.
- [47] Chen F, Johns M R. A strategy for high cell density culture of heterotrophic microalgae with inhibitory substrates[J]. J Appl phycol, 1995, 7: 43~ 46.
- [48] Laliberte G, Hellebust J A. Heterotrophic growth of *Chlorella autotrophica* on acetate of ethanol[J]. J Phycol, 1989, 25(2): 10.
- [49] Tan C K, Johns M R. Fatty acid production by heterotrophic *Chlorella saccharophila*[J]. Hydrobiologia, 1991, 215(1): 13~ 19.
- [50] Chen F, Johns M R. Effect of C/N ratio and aeration of the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*[J]. J Appl Phycol, 1991, 3(3): 203~ 209.
- [51] Day J G, Edwards A P, Rodgers G A. Large scale, heterotrophic production of microalgal biomass[J]. Br Phycol J, 1990, 25(1): 86.
- [52] Markager S, Sand J K. Heterotrophic growth of *Uva lactuca* (Chlorophyceae)[J]. J Phycol, 1990, 26(4): 670~ 673.
- [53] Mannan R M, Pakrasi H B. Dark heterotrophic growth conditions result in an increase in the content of photosystem II units in the filamentous Cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413[J]. Plant physiol, 1993, 103: 971~ 977.
- [54] Barnum S R, Gendel S M. Heterotrophic growth of nine strains of filamentous cyanobacteria[J]. Iowa State J Res, 1987, 62(2): 147~ 159.
- [55] Feuillade M, Feuillade J. Heterotrophic capabilities of the blue green alga *Oscillatoria rubescens*[J]. Arch hydrobiol, 1989, 117(1): 61~ 76.
- [56] Padhi S B, Dash P I, Padhi S. Studies on the heterotrophic growth and nitrogen fixation of a blue green alga, *Scytonema schmidlii*[J]. Comp Physiol Ecol, 1987, 12(4): 213~ 219.
- [57] Marquez F J, Sasaki K, Kakizono T, et al. Growth characteristics of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions[J]. J ferment Bioeng, 1993, 78: 408~ 410.
- [58] Tobiesen A. Temperature dependent filtration rates and size selection in some heterotrophic microflagellates and one dinoflagellates[A]. Proceedings of the fourth international workshop on the measurement of microbial activities in the carbon cycle in aquatic ecosystems[C], 1990, 34: 293~ 304.
- [59] Hansen P J. *Dionophysisa* planktonic dinoflagellate genus which can act both as a prey and a predator of a ciliate[J]. Mar Ecol Progr Ser, 1991, 69(1~ 2): 201~ 204.
- [60] Lewitus A J, Caron D A, Miller K R. Effects of light and glycerol on the organization of the photosynthetic apparatus in the facultative heterotroph *Pyrenomonas salina* (Cryptophyceae)[J]. J Phycol, 1991, 27: 578~ 587.
- [61] Andersson A, Falk S, Samuelsson G, et al. Nutritional characteristics of a mixotrophic nanoflagellate, *Ochromonas* sp.[J]. Microbiol Ecol, 1989, 17(3): 251~ 262.
- [62] Nagata T, Kirchman D L. Release of macromolecular organic complexes by heterotrophic marine flagellates[J]. Mar Ecol Prog Ser, 1992, 83(2~ 3): 233~ 240.
- [63] Caron D A, Porter K G, Sanders R W. Carbon, nitrogen, and phosphorus budget for the mixotrophic phytoflagellate *Poteroochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) during bacterial ingestion[J]. Limnol Oceanogr, 1990, 35(2): 433~ 443.
- [64] Sanders R W, Porter K G, Caron D A. Relationship between phototrophy and phagotrophy in the mixotrophic chrysophyte *Poteroochromonas malhamensis*[J]. Microb Ecol, 1990, 19(1): 97~ 109.