

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2025.06.005

一株海水小球藻 *Chlorella* sp. TIO-36 的生长及应用潜力评价

林翰清¹, 许浩宸¹, 杨隆河², 张芳^{1,2*}

(1. 福建农林大学, 福建 福州 350002; 2. 自然资源部第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 为深入探索海洋微藻作为新型生物原料在食品、医药、能源等领域应用的可行性与价值, 以新品种小球藻 *Chlorella* sp. TIO-36 为研究对象, 比较不同的培养方式下该小球藻的产量, 检测其产物的生化成分组成、脂肪酸组成及叶黄素含量, 并对该小球藻叶黄素提取物的抗氧化能力进行评价。结果表明, *Chlorella* sp. TIO-36 生长快速、产量高, 藻粉富含蛋白质、不饱和脂肪酸及叶黄素, 其叶黄素提取物具有抗氧化、抗光损伤的作用, 能有效缓解细胞氧化损伤。

关键词: 小球藻; 叶黄素; 脂肪酸; 抗氧化; 抗光损伤

Evaluation of Growth and Application Potential of *Chlorella* sp. TIO-36

LIN Hanqing¹, XU Haochen¹, YANG Longhe², ZHANG Fang^{1,2*}

(1. Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China; 2. Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: In order to explore the feasibility and value of using marine microalgae as a new type of biological raw material in food, medicine, energy, and other fields, the new strain of microalgae, *Chlorella* sp. TIO-36, was selected as the research object. The yields of this microalga under different cultivation methods were compared. The biochemical composition, fatty acid composition, and lutein content of its products were detected. Additionally, the antioxidant capacity of the lutein extract from this microalga was evaluated. The results showed that *Chlorella* sp. TIO-36 grew rapidly and had a high yield. The algal powder was rich in protein, unsaturated fatty acids, and lutein. The lutein extract had an antioxidant effect and light damage resistance, which could effectively alleviate cellular oxidative damage.

Key words: *Chlorella*; lutein; fatty acid; antioxidant effect; light damage resistance

引文格式:

林翰清, 许浩宸, 杨隆河, 等. 一株海水小球藻 *Chlorella* sp. TIO-36 的生长及应用潜力评价[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(6): 31-37.

LIN Hanqing, XU Haochen, YANG Longhe, et al. Evaluation of Growth and Application Potential of *Chlorella* sp. TIO-36[J]. Food Research and Development, 2025, 46(6): 31-37.

微藻是能将阳光、二氧化碳和营养物质转化为生物量的光合微生物, 可以在非耕地上进行培养, 不占用耕地资源^[1]。微藻富含叶黄素、 β -胡萝卜素、虾青素、二十二碳六烯酸和二十碳五烯酸等多种营养成分^[2], 能够作为食品补充剂的生产原料。

小球藻是一种微藻, 属于绿藻门、绿藻纲、绿藻目、

卵巢藻科、小球藻属, 其细胞内含有丰富的活性成分, 主要包括色素、多糖、多不饱和脂肪酸、蛋白质、维生素、矿物质等^[3]。这些成分使小球藻具有增强免疫力、抗氧化、抗血栓等多种功能活性。小球藻富含植物性食物中较为稀缺的维生素 D₂ 和 B₁, 并且叶酸和铁的含量相较于其他植物性食物更为丰富^[4], 因此在食品工

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2020J01107)

作者简介: 林翰清(1999—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品加工技术。

*通信作者: 张芳(1981—), 女, 副研究员, 博士, 研究方向: 海洋生物资源开发。

业中被广泛用作功能性食品原料。有研究表明,人们在日常饮食中摄入鱼类时,往往会伴随摄入一定量的甲基汞,服用小球藻补充剂后能够提升人体内甲基汞的排出效率,显著降低头发与血液中的汞含量,减少重金属对人体的危害^[5]。

我国从20世纪60年代开始对小球藻进行研究,近年来逐渐扩大养殖规模^[6]。在全球范围内,小球藻作为一种多功能资源,在食品、饲料、医药及化妆品等多个行业中均有应用,世界年供应量已超过5 000 t^[7]。目前,小球藻属中蛋白核小球藻和普通小球藻在食品领域应用最为广泛,蛋白核小球藻于2012年被我国批准为新资源食品,普通小球藻、蛋白核小球藻已被美国食品药品监督管理局归类为安全食用食品^[8]。中国、日本、美国、德国、荷兰、澳大利亚以及马来西亚等地区均具备工业化生产和加工小球藻的能力。近年来,消费者健康意识提升促使小球藻市场快速增长,产品形式多为干粉、胶囊或片剂,主要作为营养保健品和膳食补充剂^[9]。

Chlorella sp. TIO-36是从厦门海域采集并分离得到的一株微藻,经过鉴定,确认其属于绿藻门小球藻属。本文以实验室保存的*Chlorella* sp. TIO-36作为研究对象,探索培养条件对该小球藻生长及生物活性成分含量的影响,检测其产物的生化成分组成、脂肪酸组成及叶黄素含量,最后对该小球藻叶黄素提取物的抗氧化能力进行评价,以期后续该小球藻的应用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 小球藻原料及细胞株

Chlorella sp. TIO-36:中国典型培养物保藏中心保藏,保藏号为CCTCC NO:M 2017515;人角质形成细胞系HaCaT:武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.2 主要试剂

叶黄素标准品:美国Sigma公司;DMEM高糖培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)、胎牛血清:美国Gibco公司;CCK-8细胞计数试剂盒、活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒:上海碧云天生物技术有限公司;葡萄糖、硝酸钾、石油醚、七水硫酸镁、碳酸氢钠、柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸二氢钾、枸橼酸铁铵、二水氯化钙、七水硫酸亚铁、乙二胺四乙酸、硼

酸、七水硫酸锌、四水氯化锰、二水钼酸钠、五水硫酸铜(均为分析纯)、氯仿、甲醇、正己烷、氯化钠(均为色谱纯):广州西陇精细化工技术有限公司。

1.2 仪器与设备

数控超声波清洗器(KQ-500DE):昆山市超声仪器有限公司;高压灭菌锅(GR60DA):致微(厦门)仪器有限公司;高速离心机(HC-3018):安徽中科中佳科学仪器有限公司;电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9240A):无锡玛瑞特科技有限公司;倒置生物显微镜(XD-202):南京江南永新光学有限公司;气相色谱-质谱联用仪(ISQ7610):赛默飞世尔科技(中国)有限公司;便携式手持式双管紫外线灯具(CGKJ-UV0906):德国Antoine公司;多功能微孔板分析仪(MithrasLB943):德国Berthold公司;高效液相色谱仪(HPLC1020):上海通微分析技术有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 小球藻培养方法

1.3.1.1 小球藻纯化培养方法

配制自养培养基,加入0.8 g/100 mL琼脂粉,混匀、灭菌。将培养基倒入培养皿,摇匀、冷却凝固后,将稀释后的藻液接种于固体培养基。培养温度为26℃,采用自然光照。培养一段时间后,通过显微镜选取目标小球藻接种到新的培养皿中。反复3次,得到纯化后的藻种。

1.3.1.2 小球藻自养培养方法

藻种在固体培养基上纯化培养后,选取生长良好的藻种,接种于液体培养基中富集培养。培养至对数生长期后,接种于250 mL三角瓶中,装有100 mL自养培养基。接种量为10%(体积分数),摇床培养转速为180 r/min,温度为26℃,采用自然光照。每隔24 h取样测定生物量,并绘制其生长曲线。

1.3.1.3 小球藻异养培养方法

藻种接种于装有100 mL异养培养基的三角瓶中。接种量为10%,摇床培养转速180 r/min,温度26℃,在黑暗环境下培养。每隔24 h取样测定生物量,并绘制其生长曲线。

1.3.1.4 小球藻培养基配方

将硼酸5.72 g、七水硫酸锌0.444 g、四水氯化锰0.62 g、二水钼酸钠0.042 g、五水硫酸铜0.14 g溶于1 L纯水中,得到混合液A。具体培养基配方见表1。

表1 培养基配方

Table 1 Medium formulation

试剂	葡萄糖/g	硝酸钾/g	七水硫酸镁/g	碳酸氢钠/g	柠檬酸/g	柠檬酸钠/g	磷酸二氢钾/g	枸橼酸铁铵/g	二水氯化钙/g	七水硫酸亚铁/g	乙二胺四乙酸/g	混合液A/mL	纯水/mL
自养培养基	0	1	0.075	0.02	0.006	0	0.04	0.006	0.036	0	0	0	1 000.0
异养培养基	30	3	1.200	0	0	0.2	1.20	0	0.105	0.016	0.002 1	0.5	999.5

1.3.2 小球藻生化成分组成检测

收集异养培养 96 h 后的藻液, 8 000 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥得到藻粉。蛋白质含量参考 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中凯氏定氮法测定; 总脂肪酸含量参考 GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》中索式抽提法测定; 水分含量参考 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》中直接干燥法测定; 灰分含量参考 GB 5009.4—2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》中高温灰化法测定。不溶性膳食纤维、可溶性膳食纤维和总膳食纤维含量参考 GB 5009.88—2014《食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》中的方法测定。使用差减法测定碳水化合物含量($T, \%$), 按下列公式计算^[10]。

$$T = 100\% - D - Z - S - H - X$$

式中: D 为蛋白质含量, $\%$; Z 为总脂肪酸含量, $\%$; S 为水分含量, $\%$; H 为灰分含量, $\%$; X 为膳食纤维含量, $\%$ 。

1.3.3 小球藻脂肪酸成分组成检测

1.3.3.1 小球藻总脂肪酸提取

取 100 mg 藻粉, 加入 10 mL 氯仿: 甲醇: 水混合溶剂(1:2:0.8, 体积比), 超声辅助提取 3 min, 3 000 r/min 离心 5 min, 收集提取液。重复提取 3 次, 合并提取液。在提取液中加入氯仿、水, 调整氯仿与甲醇与水的体积比为 2:2:1.8, 3 000 r/min 离心 5 min, 收集氯仿层, 旋转蒸干。取沉淀, 称质量, 得到小球藻总脂肪酸。

1.3.3.2 小球藻总脂肪酸成分组成检测

采用 $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ 法对小球藻总脂肪酸样品进行甲酯化, 甲酯化样品采用气相色谱-质谱联用仪进行分析。

色谱条件: 色谱柱为 HP-5 ms 弹性石英毛细管柱; 进样口温度 290 °C; 程序升温: 初始温度 80 °C; 保持 2 min; 以 6 °C/min 的升温速率升温至 290 °C; 保持 5 min; 载气; 流速为 1 mL/min; 分流比 50:1。

质谱条件: 质谱仪离子源为电子轰击源; 离子源温度 230 °C; 电子能量 70 eV; 质量扫描范围 29~700 amu; 利用美国国家标准与技术研究院(National Institute of Standards and Technology, NIST)NIST05 谱库进行定性分析。

1.3.4 小球藻提取物中叶黄素含量检测及抗氧化活性评价

1.3.4.1 小球藻提取物制备

取藻粉 100 mg, 用 50 mL 甲醇, 分 3 次超声辅助提取(40 °C, 20 min)。合并 3 次提取液, 加入 15 mL 正己烷, 2 mL 饱和氯化钠溶液。待分层后留取正己烷相, 加热旋转蒸干(40 °C), 加入 3 mL 甲醇定容。

1.3.4.2 小球藻提取物中叶黄素含量检测

用甲醇溶解叶黄素标准品, 配制成浓度为 0.01~0.08 mg/mL 的叶黄素溶液, 进行高效液相色谱检测, 再使用标准曲线绘制中的色谱条件对小球藻提取物进行

高效液相色谱检测。

检测条件: 色谱柱为硅胶柱(25 cm×4.6 mm, 3 μm); 流速 0.8 mL/min; 流动相为甲醇: 水(95:5, 体积比); 检测波长 444 nm; 柱温 25 °C。标准曲线: $y=11\ 391x-90.6$ ($R^2=0.992$)。

1.3.4.3 对 H_2O_2 损伤的 HaCaT 细胞保护能力检测

人永生化上皮角质形成细胞系 HaCaT 用完全培养基(89%DMEM+10% 胎牛血清+1% 青霉素-链霉素双抗溶液)在 37 °C、5% CO_2 环境下培养。取 1.3.4.1 项下小球藻提取物进行给药。取对数生长期的细胞, 接种于 96 孔板中, 培养 24 h 使其贴壁。24 h 后给药, 将细胞分为空白对照组、 H_2O_2 模型组和 H_2O_2 给药组(加入藻提取物的体积分数为 0.010%、0.005%)。给药 1 h 后, 加入 H_2O_2 诱导细胞氧化损伤, 使 H_2O_2 终浓度为 200 μmol/L。诱导后继续培养 24 h, 每孔加入 10% 体积的 CCK-8 试剂, 于 37 °C 继续培养 1~2 h, 用多功能微孔板分析仪测定各孔在 450 nm 处的吸光度。细胞增殖能力($C, \%$)按下列公式计算。

$$C = \frac{H - B}{V - B} \times 100$$

式中: H 为处理组测得的吸光度; V 为对照组测得的吸光度; B 为不含细胞的培养基测得的吸光度。

1.3.4.4 紫外光线照射后的 HaCaT 细胞内 ROS 清除能力检测

取对数生长期的细胞, 接种于黑边透明底的 96 孔板中。24 h 后给药, 将细胞分为空白对照组、照射模型组和照射给药组(加入藻提取物的体积分数为 0.01%、0.005%)。给药 30 min 后, 使用紫外光线照射细胞, 诱导细胞氧化损伤, 照射剂量为 55 mJ/cm²。诱导后继续给药, 培养 24 h。24 h 后加入 2,7-二氯荧光素二乙酸酯探针, 于 37 °C 避光培养 30 min。孵育完成后用磷酸盐缓冲液洗去多余探针, 多功能微孔板分析仪测定细胞内 ROS 含量, 激发波长 492 nm, 发射波长 520 nm。细胞内 ROS 含量($R, \%$)按下列公式计算。

$$R = \frac{Z - B}{V - B} \times 100$$

式中: Z 为处理组测得的吸光度; V 为对照组测得的吸光度; B 为不含细胞的缓冲液测得的吸光度。

1.3.5 数据处理

试验重复 3 次, 数据采用 GraphPad Prism 8.3.0 绘图统计软件进行作图分析。所有数据均以平均值±标准差表示。组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 表示两组间差异显著。

2 结果与分析

2.1 小球藻外观形态及培养模式对比

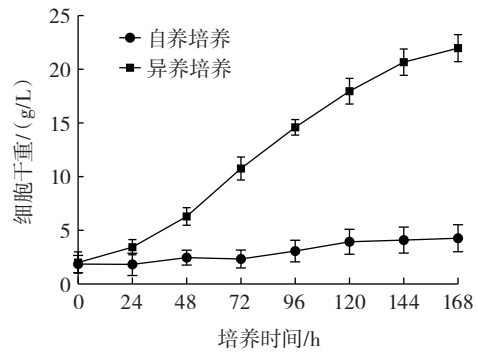
在藻种纯化培养时观察其群落特征, 结果见图 1。

图1 *Chlorella* sp. TIO-36 的外观形态Fig.1 Appearance of *Chlorella* sp. TIO-36

由图1可知, *Chlorella* sp. TIO-36 藻细胞为圆形, 直径为 3~5 μm 。在自养培养基固体平板上, 观察到藻落呈现为绿色, 表面光滑。

在自养和异养两种培养模式下, 分别测定了小球藻培养 24、48、72、96、120、144、168 h 时的细胞干重, 结果见图2。

在自养培养条件下, *Chlorella* sp. TIO-36 的生长速率表现得相对迟缓, 培养 168 h 时, 藻细胞干重仅有

图2 不同培养方式对 *Chlorella* sp. TIO-36 生长的影响Fig.2 Effect of different cultivation methods on growth of *Chlorella* sp. TIO-36

4.7 g/L, 但依然展现出顽强的生存能力和增殖潜力。在异养培养条件下, 其生长速率明显优于自养培养, 培养至 168 h 时, 藻细胞干重达到 21.0 g/L。该藻种在适宜的营养和环境条件下具有极高的生长潜力和生物量积累能力。

2.2 小球藻生化成分组成检测结果

异养培养的 *Chlorella* sp. TIO-36 藻粉的生化成分组成见表2。

表2 *Chlorella* sp. TIO-36 藻粉生化成分含量Table 2 Biochemical composition content of *Chlorella* sp. TIO-36 powder

g/100 g					
蛋白质	总脂肪酸	碳水化合物	总膳食纤维	可溶性膳食纤维	不溶性膳食纤维
30.50±1.32	20.00±1.09	33.46±2.02	14.84±0.68	2.90±0.18	11.94±0.62

由表2可知, 碳水化合物在干藻粉中占 33.46%, 是主要组成成分之一。 *Chlorella* sp. TIO-36 藻粉中蛋白质含量较为丰富, 占比达到 30.50%, 这一含量在植物性蛋白源中属于较高水平。小球藻蛋白质中含有人体所需的 20 种氨基酸, 营养全面^[11]。藻粉中还含有较

丰富的膳食纤维, 占比达到 14.84%, 对于促进肠道健康和调节生理功能具有积极作用。

2.3 小球藻脂肪酸成分组成检测结果

异养培养的 *Chlorella* sp. TIO-36 藻粉的脂肪酸成分组成见表3。

表3 *Chlorella* sp. TIO-36 藻粉脂肪酸成分组成含量Table 3 Fatty acid composition content of *Chlorella* sp. TIO-36 powder

%							
C15:1	C16:0	C16:1	C17:1	C18:0	C18:1n9c	C18:2n6c	C20:1n9
4.06±0.19	18.42±0.76	5.58±0.22	9.77±0.62	1.56±0.08	15.70±0.71	36.93±1.96	5.58±0.30

由表3可知, *Chlorella* sp. TIO-36 藻粉中测定出 8 种脂肪酸, 其中具有调节血脂、增强免疫力功能的不饱和脂肪酸含量占总脂肪酸的 80%。藻粉中亚油酸 (C18:2n6c)、棕榈酸 (C16:0) 和油酸 (C18:1n9c) 占比较高, 分别占总脂肪酸的 36.93%、18.42% 和 15.70%。亚油酸是人和动物营养中必需的脂肪酸, 在医药上可用于治疗血脂过高和动脉硬化等症状。油酸能调节血脂水平、降低胆固醇, 有效减少心血管疾病的发生。

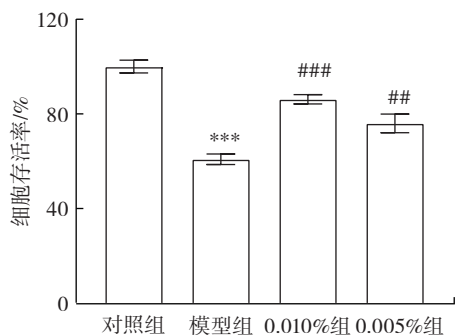
2.4 小球藻提取物中叶黄素含量及抗氧化活性评价结果

Chlorella sp. TIO-36 藻粉提取物中叶黄素的纯度

为 79%, 藻粉中叶黄素含量为 2 mg/g。异养培养 96 h 的 *Chlorella* sp. TIO-36 藻体生物干重达 14 g/L, 此时叶黄素产量为 28 mg/L。

藻提取物对 H_2O_2 诱导后的 HaCaT 细胞的保护作用见图3。

H_2O_2 常被用作体外试验中氧化应激反应的诱导物, 可以诱导机体形成大量自由基, 导致细胞活性损伤。由图3可知, 与对照组相比, H_2O_2 诱导后模型组细胞增殖活性高度显著下降 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 小球藻提取物处理组可增强细胞增殖活性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 促进 H_2O_2 氧化损伤后的细胞活力恢复。



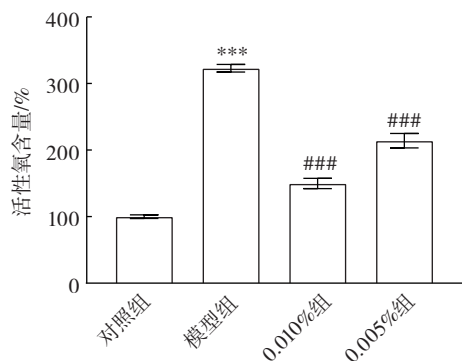
与对照组相比,***表示差异高度显著, $P<0.001$;与模型组相比,##表示差异极显著, $P<0.01$,###表示差异高度显著, $P<0.001$ 。

图3 *Chlorella* sp. TIO-36 提取物对 H_2O_2 损伤的 HaCaT 细胞增殖活性影响

Fig.3 Effect of *Chlorella* sp. TIO-36 extract on proliferative activity of HaCaT cells damaged by H_2O_2

当小球藻提取物添加量为 0.010% 时,细胞存活率更高,抗氧化活性更强。

藻提取物对紫外线照射后的 HaCaT 细胞内 ROS 含量影响见图 4。



与对照组相比,***为差异高度显著, $P<0.001$;与模型组相比,###为差异高度显著, $P<0.001$ 。

图4 *Chlorella* sp. TIO-36 提取物对紫外线照射后的 HaCaT 细胞内 ROS 含量影响

Fig.4 Effect of *Chlorella* sp. TIO-36 extract on ROS content in HaCaT damaged by ultraviolet light radiation

细胞内 ROS 可以氧化无荧光的二氯二氢荧光素而生成有荧光的二氯荧光素。因此可以通过加入 2,7-二氯荧光素二乙酸酯探针,来定量细胞内的 ROS 水平。由图 4 可知,与对照组相比,紫外线照射后模型组细胞内 ROS 含量高度显著增加($P<0.001$)。与模型组比较,小球藻提取物处理后可见细胞内 ROS 含量高度显著减少($P<0.001$),有效缓解紫外线照射后细胞内的氧化应激反应。当小球藻提取物添加量为 0.010% 时,细胞内活性氧含量更少,抗光损伤活性更强。

3 讨论

小球藻能够适应环境波动,并能在光自养、异养和

混合营养条件下生长^[12]。不同的培养方法会对小球藻的活性成分产生影响。如异养培养条件下,小球藻内蛋白质和色素的含量相对减少,而脂肪含量明显增加^[13]。藻类产业的未来发展取决于能否实现商业规模的扩大及生产成本的降低^[14]。因此需要筛选合适的藻种及培养方式,来更高效地培养藻种并降低总体生产成本。本研究对比了自养和异养两种培养模式下 *Chlorella* sp. TIO-36 的生长状况,结果显示,在异养培养条件下,*Chlorella* sp. TIO-36 展现出了卓越的生物量积累能力。培养 7 d 后,藻细胞干重可达到 21 g/L。而异养培养整个反应过程并不需要光照,有助于在工业发酵设备中进行大规模、高密度培养。在高产转基因小球藻研究中^[15],研究人员将透明颤菌血红蛋白编码基因导入目的小球藻中,得到转基因小球藻,从而提高其生物量。但转基因藻存在污染水体环境、对海洋生态系统造成破坏的风险。桂林^[16]异养培养的蛋白核小球藻 15-2070,获得的最高生物量为 19.8 g/L。*Chlorella* sp. TIO-36 藻细胞干重可达到 21 g/L,在生物量积累方面具有优势。

小球藻富含不饱和脂肪酸,能够调节人体的脂质代谢、抗肥胖、促进幼体发育和提高幼体成活率^[17],还能预防和改善阿尔茨海默病^[18]。相较于鱼油,小球藻在脂肪酸组成上更为稳定、不饱和脂肪酸含量更高,且没有鱼腥味。*Chlorella* sp. TIO-36 藻粉中总脂肪酸含量达到 20%,其中不饱和脂肪酸占 80%,高比例的有益脂肪酸使其在功能性食品、保健品和生物医药领域具有广泛的应用前景。在小球藻高脂突变株研究中,研究人员培养了一种小球藻单细胞油脂高脂突变株,可应用于生物柴油生产工艺中。该突变株 A1 诱导脂合成 6 d 后,脂肪酸组成及含量为 C16:1 为 3.2%;C18:1n9c 为 11.4%;C18:2n6c 为 31.86%。*Chlorella* sp. TIO-36 中 C16:1 含量为 5.58%;C18:1n9c 含量为 15.70%;C18:2n6c 含量为 36.94%;均高于该突变株^[19]。

叶黄素是一种类胡萝卜素,广泛存在于蔬菜、水果、花卉以及某些藻类生物中^[20],具有抗氧化、抗炎、保护视网膜和促进婴幼儿神经系统发育等作用^[21]。叶黄素不能在人或动物体内合成,只能从外部来源获取。传统的叶黄素生产过程中使用的原料主要是万寿菊,然而,万寿菊栽培的成本较高,且提取效率较低^[22]。万寿菊中叶黄素含量较高的品种为士杰常规 2 号 (1.778 mg/g)^[23],与万寿菊相比,*Chlorella* sp. TIO-36 的叶黄素含量更高,达到 2 mg/g。在高产叶黄素转基因小球藻研究中,研究人员将异戊烯基焦磷酸异构酶编码基因通过重组载体导入目的小球藻中,得到高产叶黄素转基因小球藻^[24]。但需要使用聚合酶链式反应技术、操作过程烦琐。在高产叶黄素小球藻突变株研究中,研究人员培养了一种在异养培养条件下高产叶黄

素、玉米黄素和 β -胡萝卜素的小球藻突变株。在全氮培养3周,缺氮培养4d后,该突变株内叶黄素含量为0.126%^[25]。*Chlorella* sp. TIO-36叶黄素含量可达0.2%,高于该突变株。韩春然等^[26]研究了海水小球藻产叶黄素的最好条件,在该条件下异养培养的小球藻叶黄素含量为1.45 mg/g。*Chlorella* sp. TIO-36叶黄素含量为2 mg/g,更具优势。

紫外线是阳光的重要组成部分,是对皮肤威胁最大的外部因素之一。紫外线造成皮肤光损伤的机制主要包括以下3个方面^[27]:1)产生基质金属蛋白酶,影响皮肤细胞外基质组成、降解胶原蛋白;2)产生过量自由基,使皮肤细胞产生严重的氧化应激反应;3)诱导皮肤角质层中炎症因子的生成。因此对抗氧化应激是减少紫外线造成的皮肤损伤的有效途径。叶黄素能够有效地吸收和过滤紫外线中的高能波长,减少紫外线对细胞的直接损伤,还能够清除细胞内部产生的自由基,防止自由基对细胞造成进一步的氧化损伤^[28]。*Chlorella* sp. TIO-36提取物可以促进H₂O₂氧化损伤后的细胞活力恢复、增强皮肤细胞的自我修复能力。同时也能减少紫外线照射后细胞内ROS含量,减轻紫外线对皮肤细胞的氧化损伤,有显著的抗氧化、抗光损伤作用。

Chlorella sp. TIO-36培养操作简单,不会污染环境,且培养后叶黄素、脂肪酸的产量均高于其他藻种,经济效益更高。这一优势使得该藻种在工业生产、医药研发等多个领域都具有广阔的应用前景,值得进一步深入研究和开发利用。

4 结论

本研究结果表明,*Chlorella* sp. TIO-36在异养条件下能够快速生长,有较高的产量。收获的藻粉中蛋白质、不饱和脂肪酸及叶黄素的含量较高。其分离出的叶黄素提取物可以帮助细胞对抗氧化损伤、减少紫外线照射造成的皮肤氧化损伤,具有抗氧化、抗光损伤的作用。

参考文献:

- [1] GORGICH M, MARTINS A A, MATA T M, et al. Composition, cultivation and potential applications of *Chlorella zofingiensis*-A comprehensive review[J]. Algal Research, 2021, 60: 102508.
- [2] PATEL A K, VADRALE A P, TSENG Y S, et al. Bioprospecting of marine microalgae from Kaohsiung Seacoast for lutein and lipid production[J]. Bioresource Technology, 2022, 351: 126928.
- [3] YUAN Q X, LI H, WEI Z Y, et al. Isolation, structures and biological activities of polysaccharides from *Chlorella*: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163: 2199-2209.
- [4] BITO T, OKUMURA E, FUJISHIMA M, et al. Potential of *Chlorella* as a dietary supplement to promote human health[J]. Nutrients, 2020, 12(9): 2524.
- [5] WANG C A, ONYEAKA H, MIRI T, et al. *Chlorella vulgaris* as a food substitute: Applications and benefits in the food industry[J]. Journal of Food Science, 2024, 89(12): 8231-8247.
- [6] 郝俊光, 潘喜芳, 莫维, 等. 小球藻作为食品利用的国外报道研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(10): 18-24.
- [7] HAO J, PAN X, MO W, et al. Research progress of foreign reports on *Chlorella* as food utilization[J]. China Brewing, 2022, 41(10): 18-24.
- [8] NETHRAVATHY M U, MEHAR J G, MUDLIAR S N, et al. Recent advances in microalgal bioactives for food, feed, and healthcare products: Commercial potential, market space, and sustainability[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18(6): 1882-1897.
- [9] ZHENG X C, LIN C, LEI Y, et al. Application and prospect of microbial food *Chlorella*[J]. Heliyon, 2024, 10(18).
- [10] JE S, YAMAOKA Y. Biotechnological approaches for biomass and lipid production using microalgae *Chlorella* and its future perspectives[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 32(11): 1357-1372.
- [11] 杨月欣, 王光亚, 周瑞华, 等. 实用食物营养成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
- [12] YANG Y, WANG G, ZHOU R, et al. Practical manual for nutritional analysis of foods[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.
- [13] 方书斌. 小球藻作为蛋白源在凡纳滨对虾饲料中的应用研究[D]. 广东: 广东海洋大学, 2022.
- [14] FANG S. Application of *Chlorella sorokiniana* as protein source in the diets of *Litopenaeus vannamei*[D]. Guangdong Ocean University, 2022.
- [15] IEVINA B, ROMAGNOLI F. Potential of *Chlorella* species as feedstock for bioenergy production: A review[J]. Environmental and Climate Technologies, 2020, 24(2): 203-220.
- [16] 王海英, 郭祀远, 郑必胜, 等. 自养、异养和混养下小球藻的生长及生化成分[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2004, 32(5): 47-50, 55.
- [17] WANG H, GUO S, ZHENG B, et al. Growth and biochemical components of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultivations[J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition), 2004, 32(5): 47-50, 55.
- [18] LOGANATHAN B G, ORSAT V, LEFSRUD M. Evaluation and interpretation of growth, biomass productivity and lutein content of *Chlorella variabilis* on various media[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2020, 8(3): 103750.
- [19] 国家海洋局第三海洋研究所. 高生物量和/或高叶黄素产量转基因小球藻及其制备方法: CN201310120495.7 [P]. 2013-07-10. Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources. Transgenic *Chlorella vulgaris* with high biomass and/or lutein production and its preparation method: CN201310120495.7 [P]. 2013-07-10.
- [20] 桂林. 蛋白核小球藻培养方式的比较及其叶黄素的提取检测[D]. 武汉: 华中农业大学, 2001.
- [21] GUI L. Comparison among of cultivation systems for *Chlorella pyrenoidosa* and extraction and determination of its lutein[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2001.
- [22] 葛胜晗, 林以琳, 李世洋, 等. 小球藻不饱和脂肪酸的提取工艺及功能活性研究进展[J]. 中国油脂, 2020, 45(2): 127-131.
- [23] GE S, LIN Y, LI S, et al. Advances in extraction and functional activities of *Chlorella* unsaturated fatty acids[J]. China Oils and Fats, 2020, 45(2): 127-131.

- [18] YANAI H. Effects of N-3 polyunsaturated fatty acids on dementia [J]. *Journal of Clinical Medicine Research*, 2017, 9(1): 1-9.
- [19] 中国科学院烟台海岸带研究所. 小球藻突变株及其应用: CN201110218479.2 [P]. 2013-01-23.
Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences. *Chlorella* mutant strain and its application: CN201110218479.2 [P]. 2013-01-23.
- [20] 王敏, 王晓黎, 沈慧. 叶黄素预防心血管疾病的研究进展[J]. *职业与健康*, 2020, 36(3): 424-427.
WANG Min, WANG Xiaoli, SHEN Hui. Research progress of lutein in preventing cardiovascular diseases[J]. *Occupation and Health*, 2020, 36(3): 424-427.
- [21] 侯艳梅, 吴桐, 谢奎. 叶黄素生物活性功能的研究进展[J]. *中国食物与营养*, 2021, 27(11): 51-57.
HOU Yanmei, WU Tong, XIE Kui. Research advancement on the biological activity function of lutein[J]. *Food and Nutrition in China*, 2021, 27(11): 51-57.
- [22] 陕梦迪, 张芳, 张怡, 等. 微藻产叶黄素研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(6): 210-217.
SHAN Mengdi, ZHANG Fang, ZHANG Yi, et al. Research advances of lutein produced by microalgae[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(6): 210-217.
- [23] 陈利文, 唐楠. 不同品种色素万寿菊主要农艺性状评价[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(4): 53-55.
CHEN Liwen, TANG Nan. Evaluation of main agronomic characters of different varieties of pigment marigold[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(4): 53-55.
- [24] 国家海洋局第三海洋研究所. 高产叶黄素转基因小球藻及其制备方法: CN201210563819.X [P]. 2013-04-17.
Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources. High yield lutein transgenic microalgae and its preparation method: CN201210563819.X [P]. 2013-04-17.
- [25] 德默特生物科技(珠海)有限公司. 小球藻突变株及其高密度异养培养方法和应用: CN202210257048.5 [P]. 2022-08-16.
Demeter Bio-Tech (Zhuhai) Co., Ltd. *Chlorella* mutant strain and its high-density heterotrophic cultivation method and application: CN202210257048.5 [P]. 2022-08-16.
- [26] 韩春然, 马永强, 孙冰玉. 海水小球藻生产叶黄素的研究[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(6): 187-189.
HAN Chunran, MA Yongqiang, SUN Bingyu. Study on the production of lutein by heterotrophic cultivation of the microalga *Chlorella protothecoides*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 28(6): 187-189.
- [27] 王学红, 尹星星, 陆杰, 等. 树莓果油抑制 UVB 诱导 HaCaT 细胞光老化的作用研究[J]. *西南农业学报*, 2023, 36(2): 285-293.
WANG Xuehong, YI Xingxing, LU Jie, et al. Inhibition effects of raspberry pulp oil on photoaging of HaCaT cells induced by UVB [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 36(2): 285-293.
- [28] KATJA Ž, JANKO Ž, ROGL BUTINA M, et al. Dietary lutein supplementation protects against ultraviolet-radiation-induced erythema: Results of a randomized double-blind placebo-controlled study[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 75: 104265.

加工编辑: 刘艳美
收稿日期: 2024-08-16