

# 室内外培养对耐温微藻 *Desmodesmus* sp. F51 细胞生长和叶黄素积累的影响

谢友坪<sup>1\*</sup>, 阳需求<sup>1</sup>, 陈剑锋<sup>1</sup>, 卢英华<sup>2</sup>

(1. 福州大学生物科学与工程学院, 福建 福州 350108; 2. 厦门大学化学工程与生物工程系, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 在室内培养耐温微藻 F51, 考察了培养温度、自来水及非灭菌培养基对细胞生长及叶黄素积累的影响, 并与 50 L 柱状光生物反应器户外分批培养情况进行对比. 结果表明, 藻株在 35 °C 下的生物质产率和叶黄素产率最大, 分别为 767.5 和 3.05 mg/(L·d). 低温培养有利于叶黄素积累, 但生长速率减缓. 用自来水及非灭菌培养基培养时, 藻株无明显的生长抑制及染菌现象, 在 13.0~27.6 °C 户外培养温度下, 藻株最高生物质产率、二氧化碳固定率和叶黄素产率分别为 236.3, 444.2 和 1.17 mg/(L·d).

**关键词:** 耐温; 微藻; 叶黄素; 室内培养; 室外培养

中图分类号: Q939.97 文献标识码: A 文章编号: 1009-606X(2016)05-0849-07 DOI: 10.12034/j.issn.1009-606X.216142

## Effects of Indoor and Outdoor Cultivation Conditions on the Cell Growth and Lutein Accumulation of Thermo-tolerant *Desmodesmus* sp. F51

XIE You-ping<sup>1\*</sup>, YANG Xu-qiu<sup>1</sup>, CHEN Jian-feng<sup>1</sup>, LU Ying-hua<sup>2</sup>

(1. College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou, Fujian 350108, China;

2. Department of Chemical and Biochemical Engineering, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

**Abstract:** The effects of temperature, local tap-water and culture medium without sterilization on cell growth and lutein production of *Desmodesmus* sp. F51 were investigated under indoor conditions. Outdoor batch cultivation of *Desmodesmus* sp. F51 was also investigated in 50 L cylindrical photobioreactor. The results showed that the best biomass productivity [767.5 mg/(L·d)] and lutein productivity [3.05 mg/(L·d)] occurred at a temperature of 35 °C. A low temperature enhanced the lutein content but reduced cell growth rate. There is no significant growth inhibition and microbiological contamination were observed for *Desmodesmus* sp. F51 using local tap-water and culture medium without sterilization. Under the outdoor temperature of 13.0~27.6 °C, the highest biomass productivity, CO<sub>2</sub> fixation rate and lutein productivity of 236.3, 444.2 and 1.17 mg/(L·d) were obtained, respectively.

**Key words:** thermo-tolerant; microalgae; lutein; indoor cultivation; outdoor cultivation

## 1 前言

叶黄素(3'-二羟基- $\alpha$ -胡萝卜素), 又名黄体素, 是一种含氧的类胡萝卜素, 具有较强的抗氧化和抗炎作用, 在增强免疫力、保护视力、抗癌、延缓动脉粥样硬化和预防机体衰老引发的疾病等方面有重要作用, 广泛用于食品、饲料添加剂、医药和保健品等行业<sup>[1-3]</sup>.

商业叶黄素目前主要来自万寿菊, 由于受叶黄素含量低(0.03%,  $\omega$ )、栽培占地面积大及季节、气候和地域等条件限制, 生产成本高居不下, 市场供不应求<sup>[2-4]</sup>. 近年来, 微藻作为新兴的叶黄素来源越来越受到关注<sup>[1-3]</sup>. 微藻中叶黄素含量达 0.3%~1.2%( $\omega$ ), 为万寿菊中的几十倍<sup>[2]</sup>. 传统的陆生植物光合作用效率低于 0.5%, 自养型微藻则可超过 10%, 生长速率远超传统的陆生植物<sup>[5,6]</sup>. 微藻对生长环境要求简单、预处理成本低(不存在叶、

茎、根的分化), 作为叶黄素来源具有很大的生产潜力.

目前用微藻生产叶黄素研究较多, 如考察光照<sup>[7-9]</sup>、氮源种类及浓度<sup>[8,10-12]</sup>、培养温度及 NaCl 浓度<sup>[10,13,14]</sup>等条件对微藻叶黄素合成的影响, 但大都停留于实验室水平. 商业用途的微藻生产普遍采用户外培养, 主要原因是微藻细胞可在户外利用阳光生长<sup>[1]</sup>. Del Campo 等<sup>[15]</sup>用 50 L 管状光生物反应器在户外连续培养 *Muriellopsis* sp., 得到了目前报道的最高叶黄素产率和藻体生物质产率, 分别为 7.2 和 1632 mg/(L·d). 但微藻户外培养常需通过控制光照、温度或 pH 等条件, 使微藻在较适宜的条件下生长, 导致能耗较高<sup>[16,17]</sup>. 热带和亚热带地区由于具有较长的光照时间和较高的光照强度及相对稳定的全年环境温度, 十分适于微藻户外培养<sup>[18]</sup>. 但这些地区 4~10 月份正午的高光照强度往往也使水体温度超过 40 °C<sup>[16,19]</sup>, 而大多数藻种都无法耐受此温度<sup>[17,19,20]</sup>, 细

收稿日期: 2016-02-24, 修回日期: 2016-04-22

基金项目: 福建省青年科技人才创新基金资助项目(编号: 2016J05077); 福建省教育厅资助项目(编号: JA15077)

作者简介: 谢友坪(1986-), 男, 福建省宁德市人, 博士, 助理研究员, 研究方向: 生物化工, E-mail: ypxie@fzu.edu.cn.

胞很易死亡,若额外提供温度将大大增加培养成本.为解决微藻户外培养的高能耗问题,目前较多研究者<sup>[19,21,22]</sup>致力于筛选可耐高温的藻株.

Ho 等<sup>[21]</sup>筛选获得的耐高温微藻 *Desmodesmus* sp. F51 在 45 °C 下培养 24 h,细胞存活率仍可保持 95%以上.*Desmodesmus* sp. F51 的叶黄素含量较高,在氮源非限制条件下才会积累叶黄素,而高光照虽可促进藻细胞生长,但不利于积累叶黄素<sup>[8]</sup>.目前对 *Desmodesmus* sp. F51 在户外环境条件下的细胞生长及叶黄素积累等情况尚缺乏深入研究.本工作采用 50 L 柱状光生物反应器,考察了耐高温微藻 *Desmodesmus* sp. F51 在室内外培养的细胞生长及叶黄素积累情况,为开发低成本、可规模化户外培养的微藻产叶黄素提供理论基础和实验依据.

## 2 实验

### 2.1 材料与试剂

耐高温微藻 *Desmodesmus* sp. F51 由台湾中山大学陈庆能副教授提供;种子培养基为 Modified Bold Basal 3N 培养基<sup>[8]</sup>,实验培养基为 Modified Bristol 培养基<sup>[8]</sup>.

无水乙醚、丙酮、乙酸铵、丁基羟基甲苯、三乙胺、甲醇、乙腈、甲基叔丁基醚、类胡萝卜素标准品为色谱纯,其它试剂均为分析纯.

### 2.2 实验设备与分析仪器

50 L 柱状亚克力光生物反应器(直径 20 cm,高 200 cm)自制,1 L 光生物反应器玻璃瓶(德国 Schott Duran

公司),AB104N 电子天平(德国 Sartorius 公司),U-2001 紫外-可见分光光度计(日本 Hitachi 公司),TDL-40B 低速台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂),Li-190SA 日射强度计(美国 Li-COR 公司),Minibeadbeater-16 破碎仪(美国 Biospec 公司),FD-1000 型冷冻干燥机(上海爱郎仪器有限公司),RCT B S25 型磁力搅拌器(德国 IKA 公司),MOT500-CO<sub>2</sub>-IR 型二氧化碳检测器(美国德康公司),Agilent1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司).

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 1 L 光生物反应器分批培养

种子培养按 Xie 等<sup>[8]</sup>的方法.从平板上刮取 1~2 球藻体,接种于 250 mL 玻璃瓶中,35 °C 下培养,磁力搅拌速度 300 r/min,2.5% CO<sub>2</sub>-空气混合气,通气量 0.2 L/min,光照强度 60 μmol/(m<sup>2</sup>·s),培养至 685 nm 下的吸光度 OD<sub>685</sub>=3.5.

1 L 光生物反应器培养:将种子接种于 1 L 玻璃瓶中,接种量 9%,400 r/min 磁力搅拌,光照强度 600 μmol/(m<sup>2</sup>·s),其余条件同上.

#### 2.3.2 50 L 光生物反应器分批培养

一级种子培养:从平板上刮取 3~4 球藻体,接种于 1 L 玻璃瓶中,培养条件同 1 L 光生物反应器培养.

二级种子培养:将一级种子接种于 5 L 玻璃瓶中,接种量 25%,磁力搅拌速度 600 r/min,其余条件同上.

50 L 柱状光生物反应器培养:将二级种子接种于自制的 50 L 柱状光生物反应器中,接种量 9%,2.5% CO<sub>2</sub>-

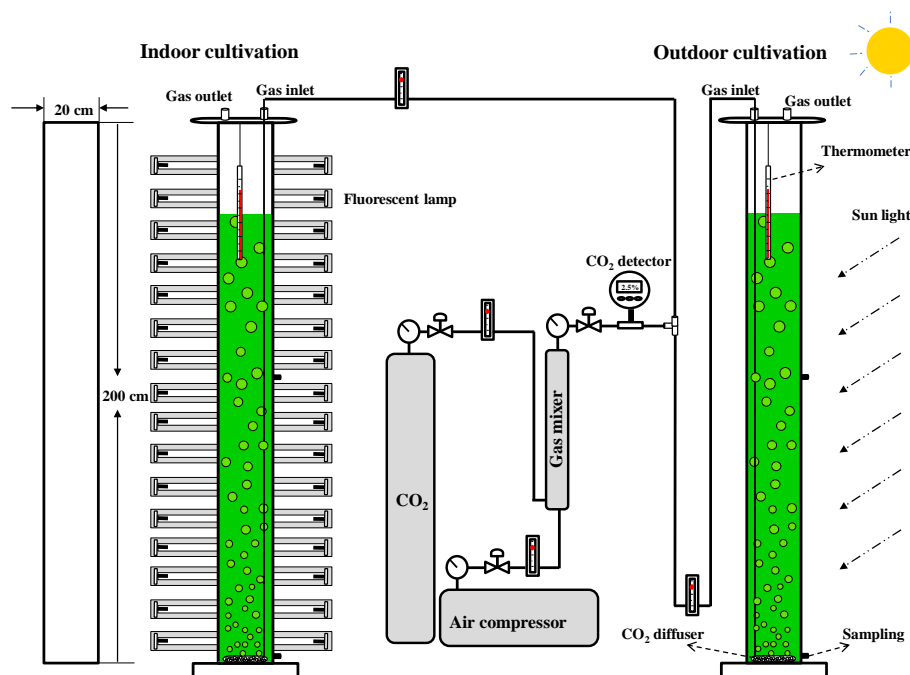


图 1 50 L 光生物反应器培养示意图  
Fig.1 Schematic diagram of 50 L photobioreactor

空气混合气, 通气量 3 L/min. 室内培养外置光源(荧光灯), 光照强度 600  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 温度 35  $^{\circ}\text{C}$ ; 室外培养时, 光照强度和培养温度随外界环境条件变化. 50 L 光生物反应器培养示意图如图 1 所示.

### 2.3.3 生物量的测定

待测藻液适当稀释后测定  $\text{OD}_{685}$ . 用已称重的醋酸纤维素膜(孔径 0.45  $\mu\text{m}$ , 直径 47 mm)过滤 50 mL 待测藻液, 滤膜置于 105  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中烘干至恒重, 根据过滤前后滤膜的干重得藻体细胞干重. 在氮源充足的条件下, 藻体生物质浓度  $X(\text{g/L})$  与其在特定波长下的吸光度呈线性关系<sup>[8]</sup>, 可得回归方程  $X=0.315\text{OD}_{685}-0.024$  ( $R^2=0.988$ ).

### 2.3.4 分析方法

$\text{NaNO}_3$  浓度测定按 Chiu 等<sup>[23]</sup>的方法.  $\text{NO}_3^-$  在 220 nm 处有最大吸收值, 因此用紫外分光光度法测定培养基中  $\text{NaNO}_3$  浓度.

叶黄素含量和类胡萝卜素组成测定按 Xie 等<sup>[8]</sup>的方法. 待测藻液以 6000 r/min 离心 2 min, 倒去上清液, 用等量去离子水清洗 2 次, 藻体冷冻干燥. 准确称取 10 mg 干藻体, 置于 2 mL 离心管中, 加入 1 mL 60%(w) KOH 溶液和 0.5 g 研磨珠, 用破碎机破碎 7 min, 于 40  $^{\circ}\text{C}$  水浴 40 min, 加入 2 mL 无水乙醚萃取类胡萝卜素, 重复萃取至乙醚层无色. 用氮气将乙醚萃取液吹干, 加入 3 mL 丙酮重悬, 用高效液相色谱仪测定重悬液中叶黄素含量和类胡萝卜素组成.

藻体比生长速率  $\mu(\text{d}^{-1})$ 、生物质产率  $P_B[\text{g}/(\text{L}\cdot\text{d})]$  和  $\text{CO}_2$  固定率  $P_C[\text{g}/(\text{L}\cdot\text{d})]$ 、叶黄素产率  $P_L[\text{g}/(\text{L}\cdot\text{d})]$  按下式计算:

$$\mu = d\ln X/dt_{\max}$$

$$P_B = \Delta X/\Delta t$$

$$P_C = 1.88P_B$$

$$P_L = P_B C$$

式中,  $t$  为时间(d),  $\Delta t$  为时间间隔(d),  $\Delta X$  为  $\Delta t$  内的生物质浓度(g/L),  $C$  为叶黄素含量(mg/g).

## 3 结果与讨论

### 3.1 培养温度对藻株 F51 细胞生长及叶黄素积累的影响

微藻户外培养温度会随季节变化而不同. 为考察培养温度对藻株 F51 细胞生长及叶黄素积累的影响, 在室内 1 L 光生物反应器中控制不同温度对藻株 F51 进行分批培养, 所用培养基为 Modified Bristol 培养基, 氮源浓度 8.8 mmol/L, 光照强度 600  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ . 每组均培养至初始氮源耗尽, 取样测定藻细胞生长及叶黄素积累情况. 如图 2(a)所示, 藻株 F51 在 35  $^{\circ}\text{C}$  下的比生长速率和生物质产率最高, 分别为 2.5  $\text{d}^{-1}$  和 767.5  $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ; 培养温度由 25  $^{\circ}\text{C}$  升至 35  $^{\circ}\text{C}$ , 藻株 F51 的比生长速率和生物质产率逐渐提高, 但生物量变化不大; 温度进一步提高, 比生长速率和生物质产率均下降; 温度由 40  $^{\circ}\text{C}$  升至 45  $^{\circ}\text{C}$  时, 比生长速率急剧下降, 培养 24 h 内细胞死亡率小于 5%<sup>[21]</sup>, 但进一步延长培养时间, 细胞死亡率明显提高, 同时也可明显观察到藻体颜色由绿色变为白色. 但户外培养过程中水体的高温条件(大于 40  $^{\circ}\text{C}$ )往往只会维持几小时<sup>[22]</sup>. 由以上结果可知, 藻株 F51 具有较好的耐高温能力, 足以适应外界温度变化. 另外, 由图 2(b)可知, 温度由 25  $^{\circ}\text{C}$  提高至 45  $^{\circ}\text{C}$ , 藻株的叶黄素含量和产量分别由 5.06 mg/g 和 9.61  $\text{mg}/\text{L}$  降至 0.99 mg/g 和 0.15  $\text{mg}/\text{L}$ . 而 Del Campo 等<sup>[13]</sup>研究发现, 分批培养 *Chlorella zofingiensis* 过程中, 温度由 20  $^{\circ}\text{C}$  提高至 28  $^{\circ}\text{C}$  时, 叶黄素含量可由 0.12 pg/cell 提高至 0.18 pg/cell, 但 32  $^{\circ}\text{C}$  时叶黄素含量降至 0.09 pg/cell. Sánchez 等<sup>[14]</sup>在连续培养 *Scenedesmus almeriensis* 过程中, 温度

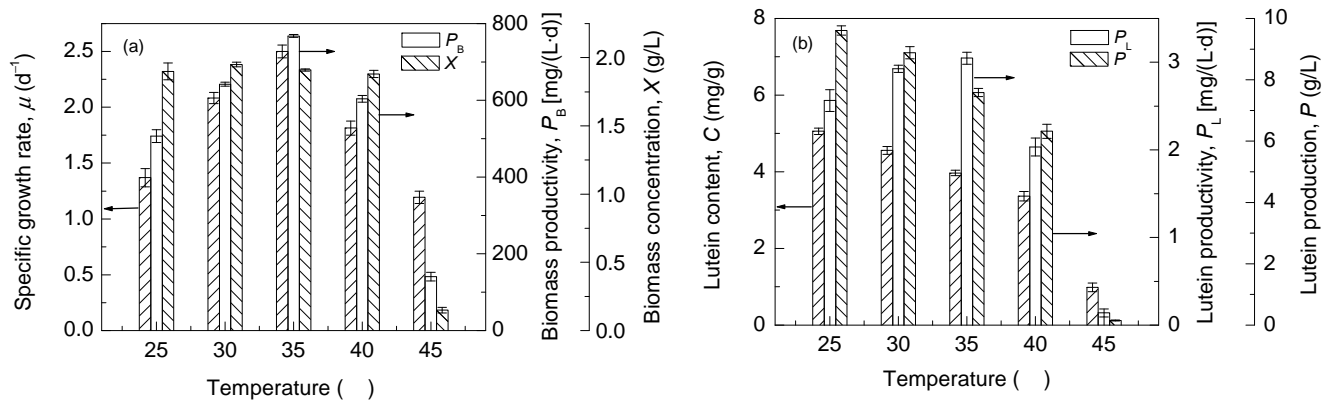


图 2 室内 1 L 光生物反应器中培养温度对 *Desmodesmus* sp. F51 细胞生长和叶黄素积累的影响  
Fig.2 Effect of temperature on cell growth and lutein production of *Desmodesmus* sp. F51 cultivation in indoor 1 L cylindrical photobioreactor

由 10 提至 40 时,叶黄素含量先上升后下降,并在 30 时达最大.而分批培养 *Muriellopsis* sp.过程中,叶黄素含量在 20~28 变化不大,但 33 时叶黄素含量提高约 6 倍<sup>[10]</sup>.可见温度对不同藻种叶黄素含量的影响不同,可能主要与藻种自身特性及不同藻体收获时间相关.温度对光系统 II 的活力影响明显,主要是由于其中的光合电子传递载体、质体醌及脂质分子都对温度极其敏感<sup>[24,25]</sup>.温度高于 40 会明显抑制反应中心的电荷分离活力,降低光系统 II 的放氧能力,产生大量活性氧自由基,也使类囊体膜中的不饱和脂肪酸和不稳定分子容易发生过氧化反应<sup>[26,27]</sup>.因此,较高温度下叶黄素含量降低可能是由于产生的活性氧自由基发生了过氧化作用.本研究以叶黄素产率为指标考察藻株的叶黄素生产能力.由图 2(b)可知,虽然藻株 F51 在 35 下叶黄素含量较低,但由于其生物质产率最高,最终得到了最高的叶黄素产率 $[3.05 \text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})]$ .

### 3.2 室内 50 L 柱状光生物反应器分批培养

垂直柱状光生物反应器具有较好的传质性能,且在较低剪切应力和能量消耗下就可达到很好的混合效果,因此十分适于藻体的放大培养<sup>[28]</sup>.另外,在微藻户外培养过程中,使用自来水和非灭菌培养基明显更适于商业化生产,但同时也存在较高的染菌危险,且自来水中的无机盐对藻体生长的影响还未知.本实验考察了厦门当地自来水对室内 50 L 柱状光生物反应器放大培养藻株 F51 的影响,所用培养基为 Modified Bristol 培养基,氮源浓度 8.8 mmol/L,培养温度 35,光照强度 600  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ .在反应器底部置有圆盘曝气石,通过上升气流将培养液与藻体混合均匀,实验结果如图 3 所示.随培养时间延长,藻株 F51 的类胡萝卜素和叶黄素含量逐渐提高,氮源耗尽时其含量最高可分别达 8.04 和 3.90 mg/g,与室内 1 L 反应器的培养情况相似.F51 的类胡萝卜素组成主要为新黄素、紫黄素、叶黄素、 $\alpha$ -胡萝卜素和 $\beta$ -胡萝卜素等.Chan 等<sup>[29]</sup>也发现微藻 *Scenedesmus obliquus* CNW-N 具有类似的类胡萝卜素组成.随培养时间延长,叶黄素占总类胡萝卜素的含量由 40.0%提高至 48.5%,为藻株 F51 最主要的类胡萝卜素成分.大多数绿藻的叶黄素主要在组成和稳定捕光复合物(LHC-II 三聚体)过程中起重要作用<sup>[30]</sup>.因此在氮源充足的条件下,藻株 F51 主要以积累初级类胡萝卜素(叶黄素)为主,只有在营养缺乏的条件下才会积累次级类胡萝卜素<sup>[7]</sup>.光生物反应器中的光照强度随藻体生物质浓度、产物浓度及反应器表面至中心距离增加而呈指数递减<sup>[31]</sup>.藻株 F51 在 50 L 反应器中的生长速率明显慢于 1 L 反应器,因此需要更长的培养时间才可将氮源耗尽,使其生物质

产率和叶黄素产率均降低了约 75%,可能是由于反应器放大减弱了光的穿透能力,使单位藻体所得平均光照强度明显降低,从而降低了细胞生长速率.但也可看出,使用厦门本地自来水和非灭菌培养基培养时,藻体无明显的生长抑制及染菌现象,适用于放大培养.

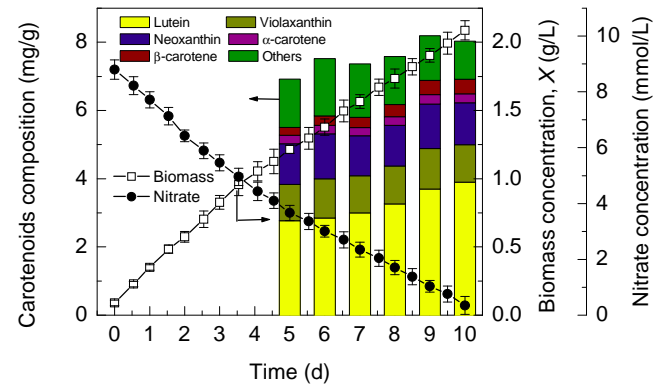


图 3 室内 50 L 柱状光生物反应器培养 *Desmodesmus* sp. F51 的生物量、氮源消耗和类胡萝卜素组成随时间的变化  
Fig.3 Time-course profiles of biomass concentration, nitrogen utilization and carotenoids composition of *Desmodesmus* sp. F51 cultivation in indoor 50 L cylindrical photobioreactor

### 3.3 室外 50 L 柱状光生物反应器分批培养

微藻户外培养过程中的光照强度和温度不仅随昼夜变化,且不同季节的光照强度和温度也不同.藻细胞内的光化学反应不仅依赖于光照,还易受温度影响<sup>[32]</sup>,因此不同季节藻体的生长情况有很大不同.大多数微藻培养(特别是实验室水平)都会在最佳温度和光照条件下进行,以达到最佳生产状态,但这会明显增加生产成本.本实验在不控制培养条件的情况下,考察了季节条件对藻株 F51 细胞生长及其叶黄素积累的影响.

本实验户外培养地点为厦门(北纬 24°26'24", 东经 118°5'29"),培养时间为 2013 年 9 月至 2014 年 3 月.如图 4 所示,在户外培养藻株 F51 过程中,反应器中的水温明显随光照强度变化而变化,白天较强的光照强度会明显提高反应器中水温,而夜晚无光照条件下水温逐渐降低,直至接近环境温度.此外,藻株 F51 的生物量和氮源消耗量随培养时间延长分别阶梯状逐渐上升和下降,这主要是由于藻体在夜晚无光照条件下无法进行光合作用,使细胞生长速率和氮源消耗速率明显降低.在微藻光自养过程中,不同光周期对其细胞生长速率影响明显,降低光照时间会减弱其光合活性,导致细胞生长速率降低<sup>[33]</sup>.

不同月份培养的藻株 F51 的类胡萝卜素含量都随培养时间延长而在一定范围内波动,明显区别于室内连续光照的结果.由图 2 和 Xie 等<sup>[8]</sup>的研究可知,光照强

度及温度对藻株 F51 类胡萝卜素积累影响明显,低光照强度和低温能促进藻株 F51 类胡萝卜素积累,因此类胡萝卜素含量在户外培养过程中会随昼夜变化而波动. 与室内培养情况相比,至培养结束时,藻株 F51 的类胡萝卜素组成变化不明显,叶黄素占总类胡萝卜素的 46.0%~49.7%,与多数文献结果相当,如 *Chlorella zofingiensis* 为 40%~52%<sup>[13]</sup>, *Muriellopsis* sp. 为 50%<sup>[34]</sup>.

由表 1 可知,从 2013 年 9 月至 2014 年 1 月,厦门户外的白天平均光照强度由 871.7  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  下降至 653.5  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ,而日平均最低和最高水温也分别由 25.9 和 40.7 降至 13.0 和 27.6. 9 月和 11 月由于阳光充足和气温较高,使水温易超过 40. 培养温度由 40 提高至 45 时,藻株 F51 细胞的比生长速率将明显下

降(图 2). 因此,藻株 F51 的生物物质产率从 9 月至 1 月呈上升趋势(表 1). 而 3 月份为厦门的春雨季节,天气阴晴冷暖变化快,易出现低温阴雨,常有海雾、雷雨大风等强对流天气,使水温和光照强度低于其它月份,生物物质产率也较低,但较低的光照强度和水温也使其叶黄素含量高于其它月份. 户外不同月份培养的藻株 F51 最终的生物物质浓度均为 1.9~2.0 g/L,与室内培养情况相当,因此叶黄素产量从 9 月到 3 月呈上升趋势. 而户外培养的生物物质产率为 185.1~236.3  $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,优于多数藻种户外培养的生物物质产率<sup>[41~137  $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ]<sup>[35~37]</sup>. 由表 1 还可知,1 月份的叶黄素产率最高<sup>[1.17  $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ]</sup>,比其它月份高 5%~35%.</sup>

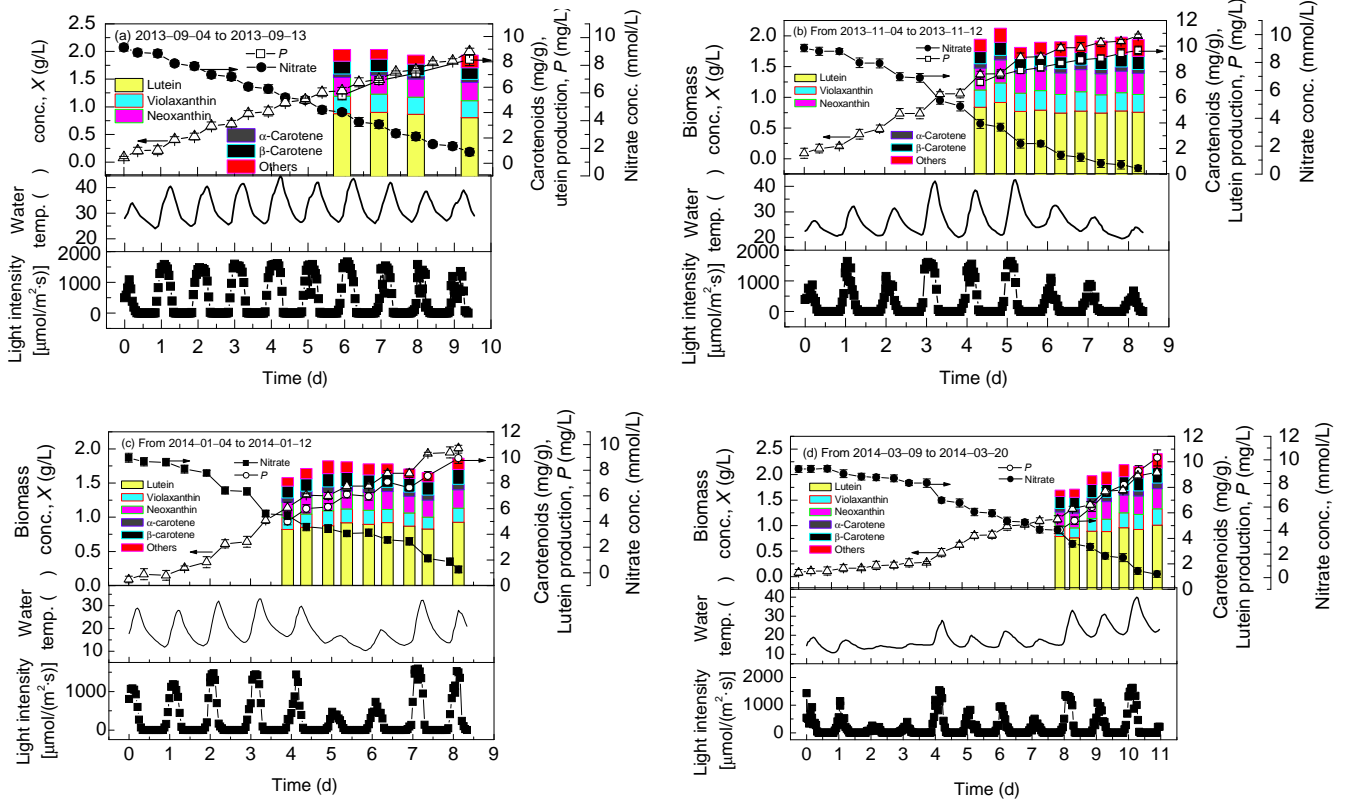


图 4 室外 50 L 柱状光生物反应器培养 *Desmodesmus* sp. F51 的生物物质浓度、氮源消耗和类胡萝卜素组成随时间的变化  
Fig.4 Time-course profiles of biomass concentration, nitrogen utilization and carotenoids composition of *Desmodesmus* sp. F51 cultivation in outdoor 50 L cylindrical photobioreactor

表 1 不同户外培养条件对 *Desmodesmus* sp. F51 细胞生长、二氧化碳固定率及叶黄素积累的影响

Table 1 Performance of biomass production, CO<sub>2</sub> fixation, and lutein production of *Desmodesmus* sp. F51 cultivation under different outdoor conditions

Time	Weather condition	Avg. daily minimum and maximum water temperature (°C)	Average daylight intensity [ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]	Biomass productivity, $P_B$ [ $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ]	CO <sub>2</sub> fixation rate, $P_C$ [ $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ]	Lutein		
						Content, $C$ ( $\text{mg}/\text{g}$ )	Production, $P$ ( $\text{mg}/\text{L}$ )	Productivity, $P_L$ [ $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ]
2013-09	Sunny	25.9~40.7	871.7	204.3±6.4	384.1±12.0	4.22±0.10	8.44±0.46	0.86±0.05
2013-11	Mostly sunny	21.2~34.2	681.0	230.0±3.7	432.4±7.0	4.84±0.09	9.67±0.33	1.11±0.04
2014-01	Mostly sunny	13.0~27.6	653.5	236.3±4.9	444.2±9.2	4.94±0.10	9.93±0.40	1.17±0.05
2014-03	Mostly cloudy	14.7~23.5	461.6	185.1±7.7	348.0±14.5	5.05±0.11	10.31±0.63	0.93±0.06

表 2 户外光自养条件下 *Desmodesmus* sp. F51 的叶黄素生产情况与文献结果的比较  
Table 2 Comparison of the performance of lutein content and productivity of *Desmodesmus* sp. F51 cultivation under outdoor phototrophic conditions with literature

Microalgae strain	Operation strategie	Culture system	Culture condition	Lutein content (mg/g)	Lutein productivity [mg/(L·d)]	Ref.
<i>Muriellopsis</i> sp.	Continuous (daylight)	55 L tubular PBR	pH 7.0, 28	4.3~4.4	2.5~7.2	[15]
<i>Muriellopsis</i> sp.	Semi-batch	100 L open pond	No control	4.0~6.0	0.3~1.0	[34]
<i>Desmodesmus</i> sp. F2	Batch	15 L cylindrical PBR	No control	5.1~5.8	0.5~0.8	[16]
<i>Desmodesmus</i> sp. F51	Batch	50 L cylindrical PBR	No control	4.2~5.1	0.9~1.2	This work

如表 2 所示,目前户外培养微藻产叶黄素的研究较少。Del Campo 等<sup>[15]</sup>用 50 L 管状光生物反应器在户外连续培养 *Muriellopsis* sp., 只在白天有阳光条件下考察叶黄素生产情况, 叶黄素含量和产率分别为 4.3~4.4 mg/g 和 2.5~7.2 mg/(L·d)。虽然这是目前自养微藻生产叶黄素的最好情况, 但需额外控制培养温度和 pH 值, 培养成本较高。用 100 L 开放池半连续培养 *Muriellopsis* sp. 时, 在不控制培养条件的情况下, 叶黄素含量产率降至 0.3~1.0 mg/(L·d), 且受季节天气影响波动较大<sup>[34]</sup>。与之相比, 在不控制培养条件的情况下, 藻株 F51 的叶黄素产率较高, 且受季节天气影响波动较小, 生产情况较稳定。Chiu 等<sup>[16]</sup>在户外培养耐温微藻 *Desmodesmus* sp. F2, 叶黄素含量受季节变化影响也较小, 叶黄素含量和产率分别为 5.1~5.8 mg/g 和 0.5~0.8 mg/(L·d)。

## 4 结论

采用柱状光生物反应器, 考察了培养温度和室内外放大培养对耐温微藻 *Desmodesmus* sp. F51 细胞生长和叶黄素积累的影响, 得出如下结论:

(1) 低温培养有利于藻株 F51 的叶黄素积累, 但其生长速率减缓, 35 °C 下的生物质产率和叶黄素产率最大, 分别为 767.5 和 3.05 mg/(L·d)。

(2) 用自来水和非灭菌培养基培养时, 藻体无明显的生长抑制及染菌现象, 适用于放大培养。

(3) 藻株 F51 可适应室外多变的环境条件, 叶黄素产率受季节影响波动较小, 叶黄素含量和产率分别为 4.2~5.1 mg/g 和 0.9~1.2 mg/(L·d), 其中 1 月份叶黄素产率最高。与室内培养相比, 藻株 F51 的类胡萝卜素组成变化不明显, 叶黄素占总类胡萝卜素的 46.0%~49.7%。

参考文献:

[1] Del Campo J A, Garcia-Gonzalez M, Guerrero M G. Outdoor Cultivation of Microalgae for Carotenoid Production: Current State and Perspectives [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2007, 74(6): 1163-1174.  
[2] Fernandez-Sevilla J M, Fernandez F G A, Grima E M. Biotechnological Production of Lutein and Its Applications [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2010, 86(1): 27-40.  
[3] Lin J H, Lee D J, Chang J S. Lutein Production from Biomass: Marigold Flowers versus Microalgae [J]. Bioresour. Technol., 2015,

184: 421-428.

[4] 吴正云, 史贤明, 曾娟. 微藻生物合成叶黄素的研究进展 [J]. 食品科学, 2010, 31(1): 268-273.  
Wu Z Y, Shi X M, Zeng J. Research Progress of Lutein Biosynthesis by Microalga [J]. Food Science, 2010, 31(1): 268-273.  
[5] Smith V H, Sturm B S, Denoyelles F J, et al. The Ecology of Algal Biodiesel Production [J]. Trends Ecol. Evol., 2010, 25(5): 301-309.  
[6] Costa J A, de Morais M G. The Role of Biochemical Engineering in the Production of Biofuels From Microalgae [J]. Bioresour. Technol., 2011, 102(1): 2-9.  
[7] Solovchenko A E, Khozin-Goldberg I, Didi-Cohen S, et al. Effects of Light and Nitrogen Starvation on the Content and Composition of Carotenoids of the Green Microalga *Parietochloris incisa* [J]. Russ. J. Plant Physiol., 2008, 55(4): 455-462.  
[8] Xie Y, Ho S H, Chen C N N, et al. Phototrophic Cultivation of a Thermo-tolerant *Desmodesmus* sp. for Lutein Production: Effects of Nitrate Concentration, Light Intensity and Fed-batch Operation [J]. Bioresour. Technol., 2013, 144: 435-444.  
[9] Ho S H, Chan M C, Liu C C, et al. Enhancing Lutein Productivity of an Indigenous Microalga *Scenedesmus obliquus* FSP-3 Using Light-related Strategies [J]. Bioresour. Technol., 2014, 152: 275-282.  
[10] Del Campo J A, Moreno J, Rodríguez H, et al. Carotenoid Content of Chlorophycean Microalgae: Factors Determining Lutein Accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta) [J]. J. Biotechnol., 2000, 76(1): 51-59.  
[11] Cordero B F, Obraztsova I, Couso I, et al. Enhancement of Lutein Production in *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta) by Improvement of Culture Conditions and Random Mutagenesis [J]. Mar. Drugs, 2011, 9(9): 1607-1624.  
[12] Ho S H, Xie Y, Chan M C, et al. Effects of Nitrogen Source Availability and Bioreactor Operating Strategies on Lutein Production with *Scenedesmus obliquus* FSP-3 [J]. Bioresour. Technol., 2015, 184: 131-138.  
[13] Del Campo J A, Rodríguez H, Moreno J, et al. Accumulation of Astaxanthin and Lutein in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta) [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2004, 64(6): 848-854.  
[14] Sánchez J F, Fernández J M, Ación F G, et al. Influence of Culture Conditions on the Productivity and Lutein Content of the New Strain *Scenedesmus almeriensis* [J]. Process Biochem., 2008, 43(4): 398-405.  
[15] Del Campo J A, Rodríguez H, Moreno J, et al. Lutein Production by *Muriellopsis* sp. in an Outdoor Tubular Photobioreactor [J]. J. Biotechnol., 2001, 85(3): 289-295.  
[16] Chiu P H, Soong K, Chen C N N. Cultivation of Two Thermotolerant Microalgae under Tropical Conditions: Influences of Carbon Sources and Light Duration on Biomass and Lutein

- Productivity in Four Seasons [J]. *Bioresour. Technol.*, 2016, 212: 190–198.
- [17] 张姗姗, 刘和. 夏季室外光生物反应器培养 *Chlorella sorokiniana* [J]. *食品与生物技术学报*, 2015, 34(3): 260–266.  
Zhang S S, Liu H. Outdoor *Chlorella sorokiniana* Cultivation Using Photobioreactor in Summer [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2015, 34(3): 260–266.
- [18] Franz A, Lehr F, Posten C, et al. Modeling Microalgae Cultivation Productivities in Different Geographic Locations—Estimation Method for Idealized Photobioreactors [J]. *Biotech. J.*, 2012, 7(4): 546–557.
- [19] Pan Y Y, Wang S T, Chuang L T, et al. Isolation of Thermo-tolerant and High Lipid Content Green Microalgae: Oil Accumulation Is Predominantly Controlled by Photosystem Efficiency during Stress Treatments in *Desmodesmus* [J]. *Bioresour. Technol.*, 2011, 102(22): 10510–10517.
- [20] Converti A, Casazza A A, Ortiz E Y, et al. Effect of Temperature and Nitrogen Concentration on the Growth and Lipid Content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for Biodiesel Production [J]. *Chem. Eng. Process.*, 2009, 48(6): 114–1151.
- [21] Ho S H, Lai Y Y, Chiang C Y, et al. Selection of Elite Microalgae for Biodiesel Production in Tropical Conditions Using a Standardized Platform [J]. *Bioresour. Technol.*, 2013, 147: 135–142.
- [22] Huang C C, Hung J J, Peng S H, et al. Cultivation of a Thermo-tolerant Microalga in an Outdoor Photobioreactor: Influences of CO<sub>2</sub> and Nitrogen Sources on the Accelerated Growth [J]. *Bioresour. Technol.*, 2012, 112: 228–233.
- [23] Chiu S Y, Kao C Y, Tsai M T, et al. Lipid Accumulation and CO<sub>2</sub> Utilization of *Nannochloropsis oculata* in Response to CO<sub>2</sub> Aeration [J]. *Bioresour. Technol.*, 2009, 100(2): 833–838.
- [24] Berry J, Bjorkman O. Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1980, 31(1): 491–543.
- [25] Hirano M, Satoh K, Katoh S. The Effect on Photosynthetic Electron Transport of Temperature-dependent Changes in the Fluidity of the Thylakoid Membrane in a Thermophilic Blue-Green Alga [J]. *Biochim. Biophys. Acta (BBA): Bioenergetics*, 1981, 635(3): 476–487.
- [26] Enami I, Kitamura M, Tomo T, et al. Is the Primary Cause of Thermal Inactivation of Oxygen Evolution in Spinach PS II Membranes Release of the Extrinsic 33 kDa Protein or of Mn? [J]. *Biochim. Biophys. Acta (BBA): Bioenergetics*, 1994, 1186(1): 52–58.
- [27] Gombos Z, Wada H, Murata N. Unsaturation of Fatty Acids in Membrane Lipids Enhances Tolerance of the Cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803 to Low-temperature Photoinhibition [J]. *Proc. National Acad. Sci. USA*, 1992, 89(20): 9959–9963.
- [28] Ugwu C U, Aoyagi H, Uchiyama H. Photobioreactors for Mass Cultivation of Algae [J]. *Bioresour. Technol.*, 2008, 99(10): 4021–4028.
- [29] Chan M C, Ho S H, Lee D J, et al. Characterization, Extraction and Purification of Lutein Produced by an Indigenous Microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N [J]. *Biochem. Eng. J.*, 2013, 78: 24–31.
- [30] Bishop N I. The  $\beta$ ,  $\epsilon$ -Carotenoid, Lutein, Is Specifically Required for the Formation of the Oligomeric Forms of the Light Harvesting Complex in the Green Alga, *Scenedesmus obliquus* [J]. *J. Photoch. Photobio. B*, 1996, 36(3): 279–283.
- [31] 黄建科, 康少锋, 李元广, 等. 蛋白核小球藻的光衰减模型及藻细胞受光特性参数的模拟 [J]. *过程工程学报*, 2014, 14(2): 304–311.  
Huang J K, Kang S F, Li Y G, et al. Light Attenuation Models and Simulation of Light Regime Characteristics of *Chlorella pyrenoidosa* Cells [J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2014, 14(2): 304–311.
- [32] Cuaresma Franco M, Buffing M F, Janssen M, et al. Performance of *Chlorella sorokiniana* under Simulated Extreme Winter Conditions [J]. *J. Appl. Phycol.*, 2012, 24(4): 693–699.
- [33] Janssen M, Slenders P, Tramper J, et al. Photosynthetic Efficiency of *Dunaliella tertiolecta* under Short Light/Dark Cycles [J]. *Enzyme Microb. Tech.*, 2001, 29(4): 298–305.
- [34] Blanco A M, Moreno J, Del Campo J A, et al. Outdoor Cultivation of Lutein-rich Cells of *Muriellopsis* sp. in Open Ponds [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, 73(6): 1259–1266.
- [35] Feng P, Deng Z, Hu Z, et al. Lipid Accumulation and Growth of *Chlorella zofingiensis* in Flat Plate Photobioreactors Outdoors [J]. *Bioresour. Technol.*, 2011, 102(22): 10577–10584.
- [36] He Q, Yang H, Xu L, et al. Sufficient Utilization of Natural Fluctuating Light Intensity Is an Effective Approach of Promoting Lipid Productivity in Oleaginous Microalgal Cultivation Outdoors [J]. *Bioresour. Technol.*, 2015, 180: 79–87.
- [37] Arbib Z, Ruiz J, Álvarez-Díaz P, et al. Long Term Outdoor Operation of a Tubular Airlift Pilot Photobioreactor and a High Rate Algal Pond as Tertiary Treatment of Urban Wastewater [J]. *Ecol. Eng.*, 2013, 52: 143–153.