

不同培养模式对微藻 *Chlorella vulgaris* 代谢与蛋白质组分的影响

李昌灵^{1,2}, 杨海麟¹, 李宇佳¹, 王 武^{*1}

(1. 江南大学 教育部工业微生物技术重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 怀化学院 生命科学系, 湖南 怀化 418008)

摘要: 研究不同培养模式对小球藻蛋白合成的影响。分别采用自养、异养和混养模式培养小球藻生产蛋白质。结果为混养时藻细胞更易积累生物量,其比生长速率和产率高达 0.526 d⁻¹ 和 0.318 mg/(L·d),且其蛋白质质量分数和产率分别为 35.6%和 0.097 g/(L·d),自养时蛋白质质量分数却最高为 52.1%;3 种方式培养小球藻均含 18 种氨基酸,且必须氨基酸比例均超过总的 40.0%;异养和混养方式下各氨基酸组成比例基本相似,而与自养时相比,Cys-s、Tyr 和 Met 比例差异显著,Cys-s 比例分别高了约 78.57%,而 Tyr 及 Met 分别低 27.59%和 33.33%左右。营养方式显著影响小球藻蛋白质合成及氨基酸组成比例。

关键词: 小球藻;蛋白质;氨基酸;发酵方式

中图分类号:Q 815 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2014)01—0056—07

Effect of Culture Models on Metabolism and Protein Components of Microalgae *Chlorella vulgaris*

LI Changling^{1,2}, YANG Hailin¹, LI Yuji¹, WANG Wu^{*1}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;
2. Department of Life Science, Huaihua University, Huaihua 418008, China)

Abstract: Biosynthesis of protein and amino acids by *Chlorella vulgaris* inoculated in different culture modes were studied, respectively. *Chlorella* strain was cultivated to synthesize protein in autotrophism, heterotrophism and mixotrophism models, respectively. The results were as follows: the mixotrophic algal cell could accumulate higher biomass, with a specific growth rate and productivity of 0.526 d⁻¹ and 0.318 mg/(L·d), respectively. Its high protein productivity was of 0.097 g/(L·d), but the protein content in autotrophic *Chlorella* was the highest (52.1%), which the algal protein contained 18 kinds of amino acids in the three models and the percentage of essential amino acids was 40.0% of the total; under heterotrophism and mixotrophism models, proportions of amino acids

收稿日期: 2013-09-24

基金项目: 工业微生物教育部重点实验室开放课题(KLIB-KF201005); 江苏省高等学校优先发展学科及 111 计划项目(111-2-06)。

作者简介: 李昌灵(1973—), 男, 江西抚州人, 工学博士, 讲师, 主要从事工业微生物与发酵工程研究。E-mail: lehlt311@126.com

* 通信作者: 王 武(1952—), 女, 福建福州人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事发酵工程及遗传工程研究。

E-mail: wangwu@jiangnan.edu.cn

from the algal protein were rather similar, compared with the algae in autotrophism model, proportions of Cys-s, Tyr and Met were the significant difference, additionally Cys-s proportions in the previous two were about 78.57% higher than the later, while proportions of Tyr and Met were about 27.59% and 33.33% lower than the previous two, respectively. Consequently, biosynthesis of protein and proportion of the algal amino acids were both significantly influenced in the culture models.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, protein, amino acid, culture model

小球藻属绿藻门 (Chlorophyta), 小球藻属 (*Chlorolla*), 是一类普生性单细胞微藻^[1]。小球藻广泛分布于淡水和海水中。小球藻除利用光能和无机碳(如 CO₂ 和碳酸盐等)进行光合自养以外,还可利用一种或多种有机物作为能源和碳源在黑暗中生长^[2-3],即进行异养发酵。小球藻富含油脂、蛋白质、碳水化合物、维生素、食用纤维、微量元素和其它生物活性物质^[4],具有降血压、降血脂,抗动脉粥样硬化,增强免疫力,抗肿瘤以及抗病毒感染等保健功能^[5]。小球藻为具保健功能的健康食品,其促进健康主要营养组分之一为蛋白质或氨基酸^[6]。蛋白质质量分数是评价小球藻营养价值的主要因素之一。小球藻细胞中蛋白质质量分数为 16.0%~58.0%,且不同营养因素及培养条件影响蛋白生物合成^[7-8]。小球藻生长和细胞组分(如,蛋白和油脂等)不仅受到培养基中营养元素调控,而且受到环境条件影响。目前,营养方式对小球藻油脂合成研究较多^[2,9-10]。而营养方式影响小球藻细胞生物合成蛋白及氨基酸的研究报道较少。作者研究考察 3 种发酵方式对小球藻细胞生长、蛋白质及氨基酸合成的影响,以探索通过改变营养方式调控小球藻胞内蛋白含量及氨基酸组分的实现手段。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小球藻(*Chlorella vulgaris*)藻株 C9-JN2010:作者所在实验室从海水中分离并经过人工选育获得;培养基为修改 Chu's Medium (MCM) 培养基组分(mg·L⁻¹)^[11]; Nile red Sigma-Aldrich 公司产品;过硫酸钾:爱建德固赛(上海)引发剂有限公司产品。

YXQ-LS-50S1 型立式压力蒸汽灭菌器:上海博迅实业有限公司医疗设备厂产品; ZHWY200B 型摇床:上海智城分析仪器制造有限公司产品; DHP-

2000 型电热恒温培养箱:天津市华北实验有限公司产品;水平层流净化工作台:苏州洁净技术研究所产品;分析天平:梅特勒-托利多仪器有限公司产品; F-4600 荧光分光光度计, U3900 紫外分光光度计:日立公司产品; 1100 HPLC:美国安捷伦公司产品。

1.2 实验方法及步骤

1.2.1 种子培养方法 挑取平板上培养藻株至含有 1.0 mL dd H₂O 的 2 mL 离心管中,混合均匀。分别取适量藻接种于含有 50.0 mL MCM 培养基的 250 mL 三角烧瓶中,置于恒温光照摇床中振荡培养(培养条件为:25±1 °C,光照强度 4 000 lux,光暗周期为 16 h:8 h, pH 为 7.0)。

1.2.2 自养、混养与异养培养实验 分别在 1.0 L MCM 中添加 2.0 g NaHCO₃ 进行自养培养和添加 5.0 g 葡萄糖进行异养及混养培养。将藻种接种于装有 150 mL MCM 的 500 mL 摇瓶中,调整 pH 为 7.0,初始接种量干重为 0.155 g/L,于温度为 25±1 °C,光强为 4 000 lux,光暗周期为 16 h:8 h 条件下自养和混养培养 4 d。异养时用黑布包裹好避光培养。每天取样一次,进行相关参数的检测。

1.2.3 生物量及比生长速率检测 藻生物量及比生长速率采用修改的 Wang^[12]等方法测定。取藻液用无菌水进行 10 倍梯度稀释,于 680 nm 波长测定稀释样品吸光值,另取各稀释藻样 8 000 r/min 离心 5 min 后,收集沉淀于恒温箱 80 °C 干燥至恒重并称干重,并建回归方程,并分别根据式 1 和式 2 计算其生物量和 μ 。

$$\text{干重 (g/L)} = 0.356 2 A_{680 \text{ nm}} - 0.010 94, r^2 = 0.998 3 \quad (1)$$

$$\mu_m = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1) \quad (2)$$

式(2)中: X_1 是第一次取样时(t_1)生物量, X_2 是第二次取样时(t_2)生物量。

1.2.4 蛋白质质量分数及氨基酸分析 HPLC 法测

定蛋白质含量及氨基酸组成分析。色谱条件为:采用 OPA FUOC 柱前衍生化,柱温 40 ℃ (250×4.6 mm, 5 μm, ODSHYPERASIL), 流动相为 A 相和 B 相 (表 1), 流量为 1.0 mL/min, 分别于 338 nm 和 262 nm (Pro, Hypo) 检测。

表 1 氨基酸分析仪所用流动相

Table 1 Mobile phase for analysis of amino acids by HPLC

时间/min	A/%	B/%	流量/(mL/min)
0	92	8	1.0
27.5	40	60	1.0
31.5	0	100	1.5
32.0	0	100	1.5
34.0	0	100	1.0
35.5	92	8	1.0

1.2.5 氮质量浓度测定 采用 APP-UV 法 (GB11894-89) 测定总氮。收集 40 mL 藻液于 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清, 分别在波长 220 nm 和 275 nm 测定吸光值, 根据标准曲线建立回归方程, 氮质量浓度 (mg/L) = $5.966\ 6(A_{220\text{ nm}} - 2 \times A_{275\text{ nm}}) - 0.035\ 8$, $r^2 = 0.999\ 6$, 计算氮质量浓度。

1.2.6 磷质量浓度测定 采用钼酸铵分光光度法 (GB11893-89) 测定总磷含量。收集 40 mL 藻液于 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清, 于波长 690 nm 测定吸光值, 根据标准曲线建立回归方程, 磷质量浓度 (mg/L) = $0.646\ 5 A_{690\text{ nm}} - 0.008\ 5$, $r^2 = 0.999\ 6$, 计算磷质量浓度。

1.2.7 总糖测定 培养液中总糖浓度测定采用 3,5-二-硝基水杨酸-分光光度法^[13]。收集 40 mL 藻液于 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清, 按总糖测定方法标准步骤操作, 于 540 nm 下测定吸光值, 根据标准曲线建立回归方程, 糖质量浓度 (mg/L) = $1.07 A_{540\text{ nm}} - 0.043\ 9$, $r^2 = 0.999\ 8$, 计算 Glc 质量浓度。

1.2.8 数据分析 采用 Excell 和 Origin 软件进行统计分析, 每个实验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 自养、异养、混养模式对小球藻生长的影响

分别于异养、混养及自养方式下培养小球藻, 其生长效果见图 1。3 种培养方式对小球藻生长影响较大。异养条件下, 小球藻在 96 h 进入稳定期, 后期由于有机碳源不足导致细胞开始死亡。而混养条

件下, 在 96 h 培养基中有机碳含量接近零, 后期藻生物量不降反升。相比较, 自养小球藻利用无机碳的速率较慢导致细胞生长速度也更慢。在混养条件下, 藻细胞更容易积累生物量, 在 168 h 生物量可达 1.5 g/L, 而自养条件下藻生物量最低仅为 0.73 g/L。同样, 藻细胞在混养时, 比生长速率和生物量产率在 96 h 均最高, 分别为 $0.526\ \text{d}^{-1}$ 和 $0.318\ \text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 。混养时生物量最高, 为自养时的 2.16 倍。作者结果支持混养小球藻能更有效积累生物量^[9,14]。小球藻在光暗条件转换过程中, 能快速切换自养到异养代谢, 反之亦然^[15]。

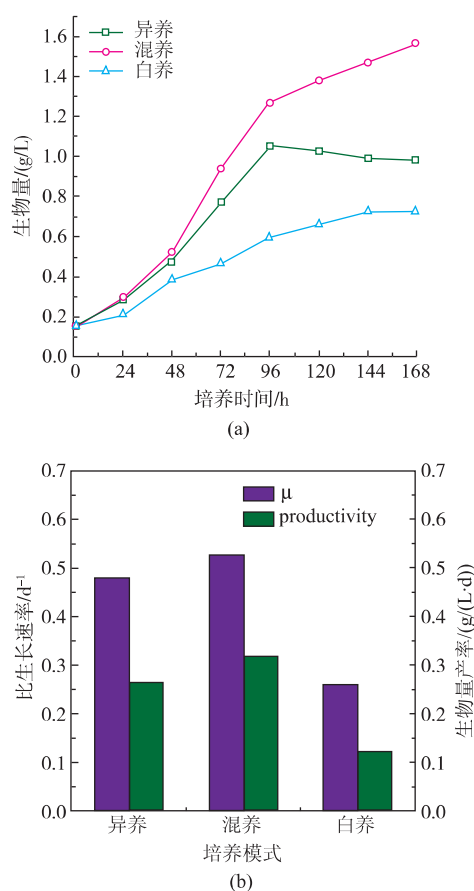


图 1 自养、混养和异养培养模式对 *C. vulgaris* C9-JN2010 的生长的影响

Fig. 1 Effect of autotrophic, heterotrophic and mixotrophic culture models on growth of *Chlorella vulgaris* C9-JN2010

混养方式下小球藻生物量积累更高, 可能混养条件下藻细胞既可通过异养途径快速利用葡萄糖进行生长繁殖, 当培养基中糖不足时, 又可通过光合自养固定空气中 CO_2 , 进一步合成细胞生长繁殖

所需糖类、氨基酸、蛋白质及核酸等有机物从而促进藻生物量积累。微藻自养培养时主要通过获取光能用于自身生长,而光能不足难以维持细胞最优生长。在没有光照时异养培养,适宜的碳源对藻获得高生物量非常重要。Haass 和 Tanner 报道了小球藻拥有一套诱导型己糖运输途径利用葡萄糖^[16]。大量研究表明 *Chlorella sp.*不但能够利用单糖(如,葡萄糖、果糖、半乳糖和甘露糖等),而且能够利用二糖(如蔗糖和乳糖),而不同糖的利用速率不一导致藻细胞产率和生物量浓度的差异较大^[17-20]。一般异养小球藻生物量约为自养的 3-5 倍^[10,19]。甚至有研究报道小球藻异养时还能利用甘油,主要在藻细胞生长后期,培养基中速效糖被消耗完之后会诱导微藻代谢机制发生改变,藻细胞会利用甘油、一些有机酸,甚至是复杂糖类作碳源^[21]。混养时微藻可同时进行异养和自养或单独进行异养或自养^[22],当有机碳出现可改变小球藻异养和自养的代谢途径^[23]。因而,混养不是光合自养与异养简单的结合。此外,Chairsilp 和 Torpee 研究发现光照也可促进藻细胞生长积累生物量^[24]。

2.2 不同培养模式下小球藻叶绿素质量分数与 C/N 利用效率比较

不同培养方式显著影响藻细胞叶绿素含量,见图 2。在 0~24 h,异养、混养和自养培养方式下,叶绿素含量均随着藻细胞生长增加,在 24 h 均达到最高值分别为 20.8、25.6、32.1 mg/g。24 h 后,叶绿素含量开始下降,尤其是异养条件下,于 168 h 降为最低是 3.8 mg/g,在自养条件下叶绿素下降较慢,最终稳定在 25 mg/g 左右。研究报道自养有利于叶绿素合成,而混养和异养不利于叶绿素积累^[24-26]。Boussiba 和 Vonshak 认为氮是用于连续合成色素蛋白质所必需的元素^[27]。产生以上现象的主要原因为:一方面,小球藻细胞在光合自养时,碳利用主要通过光合途径卡尔文循环途径固定 CO₂,进一步形成合成各种所糖类、需氨基酸和蛋白质及核酸等,需要合成大量光合色素来捕获足够能量。若氮源限制出现后,异养和混养能直接利用培养基中葡萄糖等碳源生长繁殖,不需要光合作用固定 CO₂ 而抑制光合色素合成;另一方面,自养光合色素合成需要大量氮,培养基中氮含量过低不利于色素合成^[28]。

3 种培养方式下,小球藻对 Glc 和氮的利用效果见图 3 和表 2。混养时小球藻利用糖和氮速率最

快,在 120 h 时糖浓度接近零,其糖利用率和消耗速率分别为 99.7%和 0.598 g/(L·d)。至 96 h,氮质量浓度降为 0.5 左右,其利用率与利用速率分别为 99.9%和 13.98 mg/(L·d)。

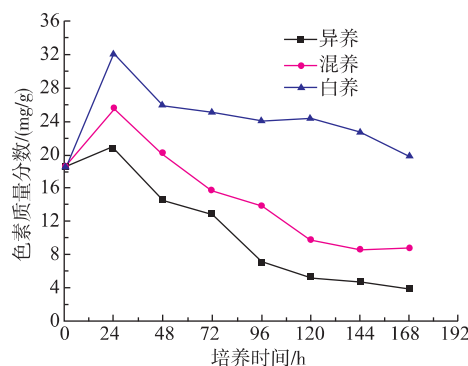


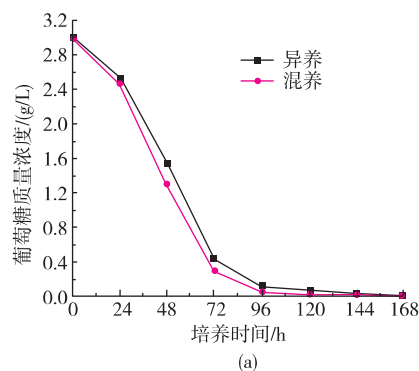
图 2 自养、混养和异养培养模式对 *C. vulgaris* C9-JN2010 胞内光合色素质量分数的影响

Fig. 2 Effect of autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures models on content of chlorophyll in cell *C. vulgaris* C9-JN2010

表 2 自养、异养及混养条件下 *C. vulgaris* C9-JN2010 利用葡萄糖和氮效率

Table 2 Efficiency of consuming Glc and nitrogen in the culture media by *C. vulgaris* C9-JN2010 in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures models

培养方式	Glc 利用率/%	Glc 消耗速率/(g·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	氮利用率/%	氮消耗速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)
异养	98.33	0.59	99.82	13.98
混养	99.67	0.598	99.86	13.98
自养	/	/	70.64	9.89



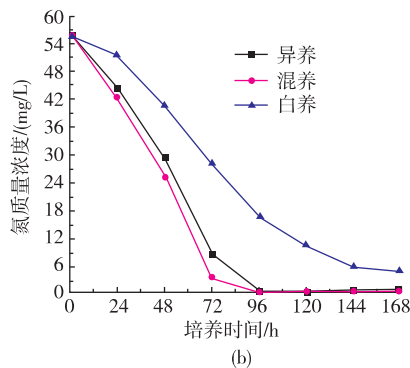


图 3 自养、异养及混养培养模式下 *C. vulgaris* C9-JN2010 消耗糖与氮的曲线

Fig. 3 Curves of consuming glucose and nitrogen by *C. vulgaris* C9-JN2010 in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures models

2.3 3 种培养方式对藻体蛋白质质量分数及氨基酸组分的影响

小球藻 C9-JN2010 在自养条件下蛋白质质量分数最高为 52.1%，但蛋白产率却在混养时最高为 $0.097 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (表 3)。自养小球藻蛋白质含量高于 Mitra^[9] 等人报道，而混养与异养则稍低。一般地，小球藻内蛋白质、油脂及糖质量分数分别为 51%~58%、14%~22% 和 12%~17%^[5]。主要原因是自养培

养时，藻生物量过低导致最后蛋白质产量低。当氮缺乏而碳充足时，微藻细胞通过碳代谢进入乙酰辅酶 A 使脂肪酸积累被激活，或碳参与把糖类或蛋白质转化为脂肪酸^[29-30]，导致蛋白质质量分数降低。

3 种培养方式下，小球藻均含 18 种氨基酸，且 8 种必需氨基酸比例高，约占总氨基酸质量分数的 40.0% (表 3)。另外，在异养和混养条件下小球藻所有氨基酸比例基本相似，与自养时相比，其中 Cys-s、Thr、Tyr 和 Met 差异显著，Cys-s 质量分数分别为 78.57%，而 Thr、Tyr 及 Met 分别低 21.6%、27.59% 和 33.33% (表 4)。可能原因为不同培养方式下碳利用方式和途径不同导致小球藻一些氨基酸代谢产生差异。García 等认为混养条件下细胞内光合成分含量依赖于异养/自养代谢的比重^[31]。

表 3 自养、异养及混养培养模式下培养藻细胞蛋白质质量分数及产率

Table 3 Content and productivity of protein from the algae biomass cultivated in autotrophism, heterotrophism and mixotrophism

培养模式	蛋白质质量分数/%	产率/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)
异养	37.0	0.076
混养	35.6	0.097
自养	52.1	0.069

表 4 自养、异养及混养培养模式下藻细胞氨基酸质量分数及组成

Table 4 Content and components of amino acids from the algae cell cultivated in autotrophism, heterotrophism and mixotrophism

氨基酸种类	氨基酸质量分数/(g/hg)			氨基酸比例/%		
	自养	混养	异养	自养	混养	异养
天冬氨酸(Asp)	5.091	3.445	3.78	10.2	9.8	10.2
谷氨酸(Glu)	6.331	4.423	4.7	12.6	12.6	12.7
丝氨酸(Ser)	1.174	0.858	0.92	2.5	2.5	2.5
组氨酸(His)	0.962	0.649	0.716	1.9	1.9	1.9
甘氨酸(Gly)	3.215	2.125	2.232	6.4	6.1	6.0
苏氨酸(Thr)	2.987	2.269	2.214	5.1	5.5	5.7
精氨酸(Arg)	3.059	1.931	2.034	6.1	5.5	5.5
丙氨酸(Ala)	4.097	3.002	3.248	8.2	8.6	8.7
酪氨酸(Tyr)	1.837	1.023	1.089	3.7	2.9	2.9
半胱氨酸(Cys)	0.281	0.996	1.049	0.6	2.8	2.8
缬氨酸(Val)	3.221	2.327	2.504	6.4	6.6	6.7
甲硫氨酸(Met)	0.805	0.434	0.432	1.6	1.2	1.2
苯丙氨酸(Phe)	3.037	1.881	1.937	6.1	5.4	5.2
异亮氨酸(Ile)	2.348	1.614	1.708	4.7	4.6	4.6
亮氨酸(Leu)	4.647	3.038	3.154	9.3	8.7	8.5

续表 4

氨基酸种类	氨基酸质量分数/(g/hg)			氨基酸比例/%		
	自养	混养	异养	自养	混养	异养
赖氨酸(Lys)	3.001	2.104	2.297	6.0	6.0	6.2
脯氨酸(Pro)	2.552	1.925	2.119	6.0	6.5	6.0
色氨酸(Trp)	1.415	0.964	1.023	2.8	2.8	2.8
总含量	50.1	35.6	37.2			

3 结 语

考察了自养、异养及混养条件下小球藻蛋白质及氨基酸合成效果。混养藻细胞生长更佳,生物量高达 1.5 g/L,为自养时 2.16 倍,而自养时更有利于色素和蛋白质合成,其质量分数分别高达 25 mg/g 和 52.1%。自养藻蛋白质质量分数高于 Mitra^[9]等人报道,而混养与异养则稍低,但混养时蛋白质产率却最高为 0.097 g/(L·d)。3 种方式培养小球藻均含 18 种氨基酸,且必须氨基酸质量分数超过 40.0%。

异养和混养小球藻各氨基酸比例基本相似,与纯自养培养小球藻相比,Cys-s、Tyr 和 Met 比例差异最显著,为作者首次报道。自养能有效提高蛋白质含量,而混养可显著提高蛋白质产率。营养方式显著影响小球藻蛋白质合成及氨基酸组成,籍此可营养方式是小球藻实现一些重要氨基酸积累策略。后续将优化混养小球藻蛋白及氨基酸合成代谢调控策略,预期获得更高的蛋白质产率和提高一些氨基酸质量浓度。

参考文献:

- [1] NAKAJIMA T,SANO,MATSUOKA H. Auto-/heterotrophic endosymbiosis evolves in a mature stage of ecosystem development in a microcosm composed of an alga,a bacterium and a ciliate[J]. **Biosystems**,2009,96(2):127-135.
- [2] TAMARYS HA,WEI W,ROGER R,et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials[J]. **Biomass Bioenergy**,2011,35(5):2245-2253.
- [3] 余云龙,邹华,张强,等. 黑暗条件下普通小球藻处理废水的研究[J]. 食品与生物技术学报,2012,31(9):938-943.
YU Yunlong,ZOU Hua,ZHANG Qiang,et al. Study on wastewater treatment by *Chlorella vulgaris* under dark condition [J]. **J Food Sci Biotechnol**,2012,31(9):938-943. (in Chinese)
- [4] BECKER W. Microalgae in Human and Animal Nutrition[M]. Oxford:Blackwell,2004:312-351.
- [5] SPOLAORE P,JOANNIS-CASAN C,DURAN E,et al. Commercial applications of microalgae [J]. **J Biosci Bioeng**,2006,101(2):87-96.
- [6] PULZ O,SCHEINBENBOGAN K. Photobioreactors:design and performance with respect to light energy input [J]. **Adv Biochem Eng/Biotechnol**,1998,59:123-152.
- [7] ANDRZE B. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris* [J]. **Plant Physiol Biochem**,2000,38(3):209-215.
- [8] HE PJ,MAO B,SHEN CM,et al. Cultivation of *Chlorella vulgaris* on wastewater containing high levels of ammonia for biodiesel production[J]. **Bioresourc Technol**,2013,129:177-181.
- [9] MITRA D,LEEUEWEN JV,LAMSAL B. Heterotrophic/mixotrophic cultivation of oleaginous *Chlorella vulgaris* on industrial co-products[J]. **Algal Res**,2012,1(1):40-48.
- [10] HEREDIA-ARROYO T,WEI W,HU B. Oil accumulation via heterotrophic/mixotrophic *Chlorella protothecoides* [J]. **Appl Biochem Biotechnol**,2010,162(7):1978-1995.
- [11] WANG L,MIN M,LI YC,et al. Cultivation of green algae *Chlorella sp.* in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant[J]. **Appl Biochem Biotechnol**,2010,162(4):1174-1186.
- [12] MILLER GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. **Anal Chem**,1959,31(3):426-428.
- [13] GROBBELAAR JU. Algal Nutrition[M]. Oxford:Blackwell,2004.
- [14] LIANG YN,SARKANY N,CUI Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic,heterotrophic and

- mixotrophic growth conditions[J]. **Biotechnol Lett**, 2009, 31(7): 1043–1049.
- [15] CHEN Y, QIANG H, KAZUYUKI S. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light–autotrophic/dark–heterotrophic conditions[J]. **Biochem Eng J**, 2000, 6(2): 87–102.
- [16] HAASS D, TANNER W. Regulation of hexose transport in *Chlorella vulgaris*[J]. **Plant Physiol**, 1974, 53(1): 291–302.
- [17] WANG B, LI Y, WU N, et al. CO₂ bio-mitigation using microalgae[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2008, 79(5): 707–718.
- [18] SUN N, WANG Y, LI YT, et al. Sugar-based growth, astaxanthin accumulation and carotenogenic transcription of heterotrophic *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta)[J]. **Process Biochem**, 2008, 43(11): 1288–1292.
- [19] ZHENG Y, CHI Z, LUCKER B, et al. Two-stage heterotrophic and phototrophic culture strategy for algal biomass and lipid production[J]. **Bioresour Technol**, 2012, 103(1): 484–488.
- [20] SANCHEZ-LUNA LD, CONVERTI A, TONINI GC, et al. Continuous and pulse feeding of urea as a nitrogen source in fed-batch cultivation of *Spirulina platensis*[J]. **Aquacult Eng**, 2004, 31(3–4): 237–245.
- [21] O'GRASY J, MORGAN JA. Heterotrophic growth and lipid production of *Chlorella protothecoides* on glycerol [J]. **Bioproc Biosyst Eng**, 2011, 34(1): 121–125.
- [22] FACUNDO JM, KEN S, TOSHIHIDE K, et al. Growth characteristics of *Spirulina platensis* in heterotrophic and mixotrophic conditions[J]. **J Ferment Bioeng**, 1993, 76(5): 408–410.
- [23] VILLAREJO A, ORUS MI, MARTINEZ F. Coordination of photosynthetic and respiratory metabolism in *Chlorella vulgaris* UAM 101 in the light[J]. **Physiol Plant**, 1995, 94(4): 680–686.
- [24] LEWITUS AJ, KANA TM. Light respiration in six estuarine phytoplankton species: contrasts under autotrophic and organotrophic growth conditions[J]. **J Phycol**, 1995, 31: 754–761.
- [25] OGBONNA JC, TANAKA H. Cycle autotrophic/heterotrophic cultivation of photosynthetic cells: a method of achieving continuous cell growth under light/dark cycles[J]. **Bioresour Technol**, 1998, 65(1–2): 65–72.
- [26] BOUSSIBA S, VONSHAK A. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. **Plant Cell Physiol**, 1991, 32(7): 1077–1082.
- [27] KONG Q, LI L, MARTINEZ B. Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production [J]. **Appl Biochem Biotechnol**, 2010, 160(1): 9–18.
- [28] LI YT, HAN DX, SOMMERFELD M, et al. Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalga *Pseudochlorococcum* sp. (Chlorophyceae) under nitrogen limited conditions[J]. **Bioresour Technol**, 2011, 102(1): 123–129.
- [29] KLASS DL. Biomass for renewable energy and fuels[M]. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004: 193–212.
- [30] CERON GARCIA MC, SANCHEZ MIRON A, FERNANDEZ SEVILLA, et al. Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricornutum* influence of different nitrogen and organic carbon sources on productivity and biomass composition [J]. **Proc Biochem**, 2005, 40(1): 297–305.

科技信息

欧盟就提高谷物产品中呕吐毒素最大限量相关的健康风险发布声明

12月17日,欧盟食品安全局就半加工谷物产品中呕吐毒素(deoxynivalenol, DON)的最大限量由750 μg/kg提高至1000 μg/kg有关的健康风险发布了声明。

呕吐毒素,霉菌毒素主要是由 *Fusarium graminearum* 和 *F. culmorum* 产生的真菌毒素。这些真菌是植物病原真菌,生长在田地作物上以及温带气候下。

欧盟食品安全局审查了自2007至2012年度的相关数据与成员国的报告。经过评估,欧盟专家组认为,提高呕吐毒素的最大残留限量可以增大呕吐毒素与乙酰呕吐毒素的水平,因此会提高呕吐毒素的暴露水平,进而会超出健康指导值。

专家组还建议采用足量的灵敏方法,开展乙酰衍生物相关的研究,以更好的研究呕吐毒素的健康风险。

[信息来源]EFSA. Statement on the risks for public health related to a possible increase of the maximum level of deoxynivalenol for certain semi-processed cereal products. EFSA Journal 2013;11(12):3490. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3490.htm>.