

产油微藻的筛选与培养研究进展

王玉荣, 师文静, 韩伟, 佟明友* (中国石化抚顺石油化工研究院, 辽宁抚顺 113001)

摘要 微藻油含量高, 环境适应性强, 净碳值几乎为零, 因此利用含油微藻作生物柴油的原料来源是生物燃料产业最具竞争力的选择之一。结合国内外研究进展, 综述了有关产油微藻的筛选、培养以及微藻培养反应器等方面的最新研究进展, 对微藻产生物柴油产业的发展趋势和研发方向提出了建议。

关键词 生物柴油; 微藻; 基因工程; 光生物反应器

中图分类号 S181.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)27-11105-04

Progress in the Screening and Culturing of Oil-producing Microalgae

WANG Yu-rong et al (Fushun Research Institute of Petroleum and Petrochemicals of SINOPEC, Fushun, Liaoning 113001)

Abstract Microalgae, with the merits of environmental adaptability, high photosynthetic efficiency, neutral net carbon value and high lipid content, is one of the most competitive options for biofuel industry. Based on the research progress both at home and abroad, the latest research progress of the selection, cultivation and photobioreactor were summarized, and suggestions for the microalgae biodiesel industry development trend and research direction were proposed.

Key words Biodiesel; Microalgae; Genetic engineering; Photobioreactor

由于化石能源的日趋减少和化石能源造成温室效应的危害, 越来越多的科研工作者将目光集中在可再生能源的开发和利用, 微藻作为有希望的生物柴油原料成为国内外研究的热点。从微藻中得到的脂肪酸可转化成脂肪酸甲酯, 即生物柴油。生物柴油作为化石燃料的替代品, 是一种新型可再生能源, 具有广阔的应用前景。作为新一代生物燃料的原料资源, 优良藻种是微藻产油的关键之一。理想的产油微藻应具备光合作用效率高、生物量大、高产油率和高油脂品质、环境适应性强、固碳减排效果显著等特性, 但野生藻种并不完全具备这些特性。因此, 对野生藻种进行选育以及基因工程改造改良是能源微藻研究的关键, 对微藻进行优化培养或通过代谢调控提高其产油性能也是研究的热点。笔者首先介绍了含油微藻制备生物柴油的工艺过程, 然后对产油微藻的筛选、基因改造、微藻培养分别进行了阐述, 并且对微藻培养反应器进行了概述, 指出了各种系统的优缺点和最新研究进

展。最后, 就微藻生物柴油产业存在的问题和解决方案提出了建议。

1 微藻生产生物柴油工艺

用微藻生产生物柴油与其他原料相比, 无论是理论上的油脂含量、实际生产中的经济性, 还是全面替代石化柴油的潜在前景, 都具有一定的优越性^[1]。微藻油脂主要以甘油三酯或脂肪酸形式存在于微藻细胞壁中, 因此利用植物油制备生物柴油的方法同样适用于微藻油脂。其基本工艺过程如下: 首先, 产油微藻在合适的光生物反应器中进行大量繁殖, 利用离心、过滤等手段从培养体系中收获微藻; 然后从微藻中提取油脂; 最后将油脂转化为生物柴油。要获得高的生产效率, 关键是微藻筛选或通过基因工程获得优良的藻种、优化培养条件、开发高效光生物反应器和低成本的收获提取技术。微藻生物柴油产业链如图1所示。

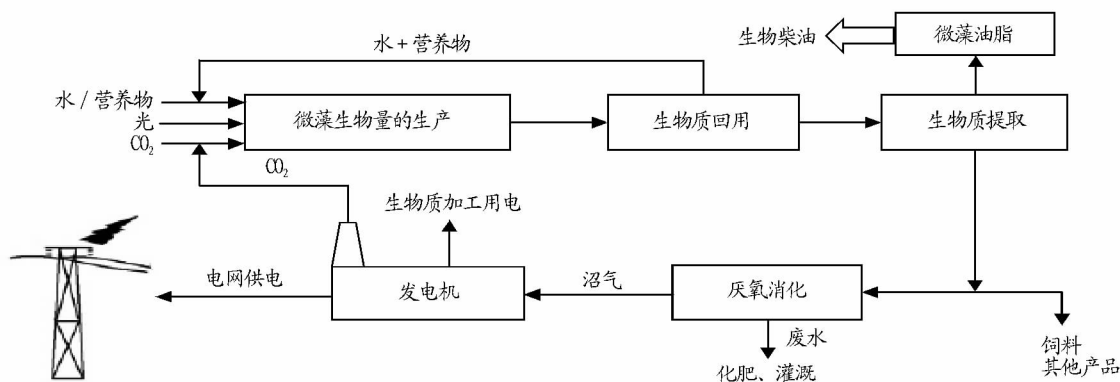


图1 微藻生物柴油产业链

2 优良藻种的筛选

高含油藻株的筛选是微藻能源技术的首要环节。近年

作者简介 王玉荣(1989-), 女, 内蒙古通辽人, 硕士研究生, 研究方向: 微藻生物资源, E-mail: qimuge1989@163.com。*通讯作者, 教授级高级工程师, 博士, 从事生物质能源研究, E-mail: tongmingyou@163.com。

收稿日期 2013-07-13

来, 美国、日本等国家的学者在能源微藻的筛选方面做了大量工作^[2]。国内许多研究机构也在积极开展含油微藻的选育。目前, 已经筛选到的有绿藻、硅藻和部分蓝藻属的藻种(表1)。筛选时应充分考虑地形、气候等条件^[3]。高产油率藻需满足两个基本要求: 较高的含油量和较快的生长速率。此外, 优良的藻种还要具备其他优点, 如耐高浓度CO₂,

温度、光照、盐度等范围广,易于基因工程改造等^[4]。微藻油脂存在于细胞内,传统上采用破胞、萃取后分析油脂含量的方法进行筛选,费时费力。现在多采用尼罗红^[5]或亲脂性荧光染料 BODIPY505^[6]对藻内脂肪进行染色,结合荧光显微镜和流式细胞仪进行筛选。根据染色后藻细胞内黄色油滴的大小或多少,可以初步筛选出产油脂微藻^[7]。

表 1 可用于生产生物柴油的微藻

门类	种名	油脂含量
		% (dew)
绿藻门 (Chlorophyta)	布朗葡萄藻 <i>Botryococcus braunii</i>	29 ~ 75
	小球藻 <i>Chlorella sp.</i>	28 ~ 32
	小球藻 <i>C. protothecoides</i>	15 ~ 55
	盐生杜氏藻 <i>Dunaliella tertiolecta</i>	36 ~ 42
	微拟球藻 <i>Nannochloropsis sp.</i>	31 ~ 68
硅藻门 (Bacillariophyta)	小环藻 <i>Cyclotella sp.</i>	29
	菱板藻 <i>Hantzschia sp.</i>	66
	菱形藻 <i>Nitzschia sp.</i>	28 ~ 50
	三角褐指藻 <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20 ~ 30
金藻门 (Chrysophyta)	假微型海链藻 <i>Thalassiosira pseudonana</i>	21 ~ 31
	绿色巴夫藻 <i>Paulova viridis</i>	19 ~ 82
	湛江等鞭金藻 <i>Isochrysis zhanjiangensis</i>	27
	等鞭金藻 <i>Isochrysis galbana</i> 8701	23 ~ 50
	等鞭金藻 <i>Isochrysis sp.</i>	25 ~ 33

注:% (dew)表示油脂含量占藻粉干重的质量分数。

3 基因工程方法提高微藻油脂产率

基因工程策略主要是基于脂类代谢途径,通过关键酶基因或转录因子的调控以加强微藻细胞内油脂的积累。美国可再生能源实验室(NREL)构建的工程菌大多数属硅藻菌种。在自然条件下微藻的脂肪含量为5%~20%时,工程微藻的脂肪含量在实验室条件下可增至60%以上,在户外扩大培养时脂肪含量达40%以上。工程微藻中脂肪含量的提高主要由于乙酰辅酶A羧化酶(ACC)基因的高效表达^[8]。目前,研究者一直专注于选择合适的分子载体,使ACC基因在细菌、酵母和植物中充分表达。据研究,甘油醛-3-磷酸脱氢酶、磷酸酯酶、二酰基甘油酰基转移酶等酶表达的基因组序列控制微藻脂肪的代谢途径。Hsieh等的研究^[9],通过强化脂肪的代谢途径,使小球藻UTEX 2219的脂肪含量比野生型的增加2倍。

4 微藻的培养

4.1 培养方式对微藻生长的影响 根据对光源和碳源的需求,可将微藻的培养方式分为光自养、异养、混养和光异养4种类型。

4.1.1 光自养培养。光自养培养是指微藻利用光作为能量来源,以空气中的二氧化碳为碳源,将化学能转化为生物能的营养方式^[10]。光自养培养微藻操作简单、易于大规模培养,适宜多数微藻的培养,而且培养成本低。美国的水生物种计划工作总结报告指出,相对低成本的敞开池光自养培养是最有前景的培养模式^[11],但敞开池光自养培养存在培养密度低、易被污染、水分蒸发、CO₂供给不足等问题,难以满足能源产品生产的需求^[12]。

4.1.2 异养培养。异养培养是指微藻仅以有机碳源作为能

源和碳源的培养方式^[13]。微藻异养培养中,葡萄糖、乙酸乙酯钠^[14]和碳酸氢钠^[15]是常见的碳源。这种模式下的生长不仅能消除光带来的不利因素,还能控制培养条件,具有高密度生长量、脂质含量高优点^[16]。利用异养高密度培养技术是提高微藻产量与产率的理想途径。胡文军等^[17]研究发现,藻株Y06在自养条件下的油脂产率为9.40 mg/(L·d),在异养条件下的油脂产率为201.29 mg/(L·d)。但异养微藻消耗葡萄糖等有机碳源,成本较高,并且释放CO₂,不能转化太阳能和利用空气中的CO₂,而且并不是所有的微藻都可以进行异养生长,要通过异养化筛选,找到能异养生长的微藻。

4.1.3 混养。混养又称兼养,是在利用光能和CO₂等无机碳源的同时,以有机碳作为补充碳源和能源的一种培养方法,是光和有机物的联合作用结果。混养不仅增大生物量,提高油脂含量,而且也能通过代谢过程重新利用微藻培养过程中释放的CO₂。研究表明,混养优于自养,杨静等筛选出1株小球藻和1株栅藻,兼养时油脂产率分别高达102.48和129.13 mg/(L·d),是自养组油脂产率的6和8倍^[18]。但同异养培养一样,混养藻种也要经过筛选。

4.1.4 光异养。光异养是光养与异养相结合的培养方式,主要是通过同时提供有机碳源和能量,使能量的转化尽可能最大化,得到的藻密度是自养的数倍。Fábregas等用马铃薯可溶物光异养培养四角藻,最高藻密度为1.4×10⁶ cells/ml,是自养培养的3.9倍^[19]。小球藻*Chlorella protothecoides*异养培养时,外加碳源通常储存为脂滴,脂含量可达干重的55%,比自养时高4倍^[20]。

4.2 培养条件的优化 微藻的生长速度主要取决于培养条件,其中碳源、氮源、光照、温度和酸碱度(pH)起着重要作用。培养液中各营养元素失衡会抑制微藻生长。因此,优化上述因素,是高密度培养微藻、降低生产成本的一条有效途径。

4.2.1 营养元素对微藻培养的影响。

4.2.1.1 碳源。碳源占微藻生物量的45%~50%,微藻光合作用需要CO₂作为无机碳源,微藻生长速率和油脂产率与CO₂浓度密切相关。低浓度CO₂会抑制脂肪酸的合成,而高浓度CO₂利于脂肪酸的合成,但会抑制碳链的去饱和与延长^[21]。Tang等研究了在不同浓度的CO₂下,斜生栅藻*Scenedesmus obliquus* SJTU-3和蛋白核绿藻*Chlorella pyrenoidosa* SJTU-2的生长状态和油脂的积累情况。结果表明,这两种藻在10%CO₂浓度下生长最快,而高CO₂浓度(30%~50%)利于总脂和多不饱和脂肪酸的积累^[22]。为了降低微藻产生物柴油的成本,要有更廉价的碳源。热电厂是重要的CO₂排放源之一,排放的CO₂量约占全球总排放的7%^[23]。利用微藻减排CO₂,同时作为生产生物柴油的原料,对于解决能源短缺和全球变暖具有战略意义。Doucha等利用小球藻去除烟道气中含量为10%~59%的CO₂^[24]。

4.2.1.2 氮源。氮源对微藻的生长、发育、繁殖及油脂的积累等有重要的影响。黄建忠等研究了不同氮源对合成油脂

的影响,结果表明,尿素和硝酸铵等利于细胞的生长,但不利于油脂的积累;牛肉膏和蛋白胨虽利于油脂的合成,但不利于细胞的生长;酵母膏既有利于细胞的生长又利于油脂的合成^[25]。氮短缺或受限时,会加快微藻细胞内油脂的积累^[26]。Liang 等对小球藻抑氮培养后,藻细胞脂质含量由 33% 增至 38%^[27]。Widjaja 等通过对小球藻的研究发现,长期的 N 源缺乏不仅使总脂含量增加,也有利于甘油三酯的积累^[28]。然而,氮饥饿并不能总是导致总脂含量的增加。Zhila 等研究发现,氮限制条件下丛粒藻油酸的含量为 28.4% ~ 38.4%,但总脂质和甘油三酯的含量并没有变化^[29]。

4.2.1.3 其他营养元素。孙漫等研究了 Fe^{3+} 对微藻生长和油脂积累的影响,结果表明,添加 Fe^{3+} 有利于琴氏沙网藻的生长和油脂积累,当 Fe^{3+} 浓度为 4×10^{-4} mol/L 时,其生物量最大(0.65 g/L),油脂产量高达 318.96 mg/L,是不加 Fe^{3+} 培养的 6.15 倍^[30]。此外,磷、硅、 Mg^{2+} 、维生素等营养元素的含量也会对微藻油脂含量带来一定影响。

4.2.2 温度对微藻生长的影响。培养温度对微藻生长的影响很大。当温度较低时,微藻生长和代谢较为缓慢。随着温度升高,藻细胞生长代谢旺盛,细胞内与油脂合成相关的酶被激活,促进油脂的大量积累^[31]。当温度高于最佳温度时,生物量和油脂含量逐渐减少,因为过高的温度会使细胞内与油脂合成相关的酶活力下降甚至部分失活^[32]。温度还可以改变油脂的脂肪酸组成^[33],温度较低时,不饱和脂肪酸和短链脂肪酸的含量会提高;而在温度较高的情况下,饱和脂肪酸和长链脂肪酸的含量就会增加。因此,在生产过程中可以在最适温度下培养一段时间,获得较高生物量后再转入低温使其积累较高的多不饱和脂肪酸^[34]。

4.2.3 pH 对微藻培养的影响。pH 不仅可通过引起细胞膜电荷变化和影响营养物离子化程度来影响微生物对营养物的吸收,而且还影响细胞内多种酶的活性^[35]。不同藻类生活的最佳 pH 不同,偏离最佳 pH,微藻生长和体内有关代谢活动即受抑制,从而直接影响微藻的生长和油脂的积累。微藻细胞最佳的生长 pH 一般应控制在 8.0 左右。

5 培养微藻的光生物反应器

大多数微藻要在反应器中培养,光生物反应器有较高的光能利用效率,在最佳状态下可达 18%,而植物和森林仅能利用入射光能的 0.2%。用光生物反应器可以进行全天候的连续或半连续培养,能实现光合生物的高密度培养,并获得较高的单位面积或体积生物量^[36]。根据是否密封可将微藻反应器分为开放式光生物反应器和密封式光生物反应器。

5.1 开放式光生物反应器 开放式光生物反应器即开放池培养系统(Open pond culture system),其最突出的优点是构建简单、成本低廉及操作简便,已普遍应用于微藻大规模培养中。开放式反应器主要分为 4 类:开放池反应器、跑道池反应器、循环池反应器以及浅池反应器。其中,最典型、最常用的开放池培养系统是 Oswald 设计的跑道池反应器(Raceway photobioreactor)^[37]。由于开放式培养过程受光照、温度等自然环境影响较大,并且易被真菌、原生动物和其他藻种

污染。因此,仅适用于少数几种能耐受极端环境的微藻培养。

5.2 封闭式光生物反应器 对于温和条件培养的微藻、种群竞争能力较弱的微藻以及基因工程微藻,应采用封闭式光生物反应器培养。封闭式光生物反应器除了能采集光能外,其他结构与通用生物反应器相似。封闭式反应器拥有更大的可以接受光照的表面积,减少了阴影效应对微藻培养的影响。封闭式反应器还可以更好地控制培养液的环境,如质量流量、培养液污染、温度、pH,气体的转化以及营养物质的分布。因此,大多数微藻都可以用封闭式反应器培养。但封闭式光生物反应器的投资和操作费用高^[38]。封闭式光生物反应器的主要类型有垂直柱式、管式、板式^[39]。平板、管状光生物反应器的光照表面积大,适合于微藻的室外大规模培养^[40],而柱状生物反应器具有搅拌效率高,气体传输速率的容积高和控制生长条件灵活等优点^[39]。管状光生物反应器能够最大限度调控微藻,提高产量。Wei 等报道,利用管状反应器使小球藻(*Chlorella protothecoides*)的产量提高了 2 倍多^[41]。相比之下,封闭式光生物反应器比敞开式有独特的优点。随着各种新材料、新光源的使用,加上基础研究的深入,封闭式光生物反应器将更为成熟,生产成本不断降低,从而真正应用到工业化生产中。

6 结语

在众多的生物质中,藻类具有生物量大、生长周期短、易培养以及含有较多的脂类物质等优点。因此,利用微藻生产生物柴油具有重要的现实意义。但是,目前利用微藻制取生物燃料还处于初级阶段。限制微藻能源产业化的瓶颈是成本高,Sorguven 等通过热动力学对微藻生物柴油产业分析发现,实际可利用的净能量只占所得生物柴油能量的 1/4^[42]。解决这个问题应从以下 3 个方面入手:第一,筛选和培育优良藻种,可以通过基因工程构建油脂含量高的藻种,筛选或构建要着眼于快速生长、高密度、高效的光利用率等方面;第二,运用生物学方法优化微藻培养方式,从而改变其生长特征。例如,提高培养液的有机物浓度,可以使微藻由自养型调节成异养型,后者产油率比自养型要高得多;第三,光生物反应器的放大是微藻大规模培养的重要环节,要重点解决光利用、温度以及传质等条件的稳定性问题。随着研究的深入,作为新型绿色能源,微藻无疑是制备生物燃料原料的优良替代品,具有广阔的开发利用前景。

参考文献

- [1] TRAN N H, BARTLETT J R, KANNANGARA G S K, et al. Catalytic upgrading of biorefinery oil from micro-algae[J]. Fuel, 2010, 89(2): 265 - 274.
- [2] PEDRONI P, DAVISON J, BECKERT H, et al. A proposal to establish an international network on biofixation of CO_2 and greenhouse gas abatement with microalgae[R]. Canada: IEA Greenhouse Gas R and D Programme Executive Committee, 2002.
- [3] ANDRE DUPONT. Best practices for the sustainable production of algae-based biofuel in China[J]. Mitig Adapt Strateg Glob Change, 2013, 18: 97 - 111.
- [4] 姚茹,程丽华,徐新华,等. 微藻的高油脂化技术研究进展[J]. 化学进展, 2010, 22(6): 1221 - 1232.
- [5] ELSEY D, JAMESON D, RALEIGH B, et al. Fluorescent measurement of microalgal neutral lipids[J]. Microbiol Meth, 2007, 68: 639 - 642.

- [6] COOPER M S, HARDIN W R, PETERSEN T W, et al. Visualizing green oil in live algal cells[J]. *Biosci Bioeng*, 2010, 109: 198–201.
- [7] ELSEY D, JAMSOND, RALEIGH B, et al. Fluorescent measurement of microalgal neutral lipids[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2007, 68: 639–642.
- [8] HUANG G H, CHEN F, WEI D, et al. Biodiesel production by microalgal biotechnology[J]. *Applied Energy*, 2010, 87: 38–46.
- [9] HSIEH H J, SU C H, CHIEN L J. Accumulation of lipid production in *Chlorella minutissima* by triacylglycerol biosynthesis-related genes cloned from *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica*[J]. *The Journal of Microbiology*, 2012, 50(3): 526–534.
- [10] HUANG G H, CHEN F, WEI D, et al. Biodiesel production by microalgal biotechnology[J]. *Applied Energy*, 2010, 87(1): 38–46.
- [11] SHEEHAN J, DUNAHAY T, BENEMANN J, et al. A look back at the U. S. Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from algae [D]. National Renewable Energy Laboratory, 1998: 1–294.
- [12] 黄英明, 王伟良, 李元广, 等. 微藻能源技术开发和产业化发展思路与策略[J]. *生物工程学报*, 2010, 26(7): 907–913.
- [13] HUANG G H, CHEN F, WEI D, et al. Biodiesel production by microalgal biotechnology[J]. *Appl Energy*, 2010, 87: 38–46.
- [14] RATLEDGE C, KANAGACHANDRAN K, ANDERSON A J, et al. Production of docosahexaenoic acid by *Cryptocodinium cohnii* grown in a pH-auxostat culture with acetic acid as principal carbon source[J]. *Lipids*, 2001, 36: 12410–12416.
- [15] YEH K L, CHANG J S, CHEN Y M. Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris*. ESP-31[J]. *Eng Life Sci*, 2010, 10: 201–208.
- [16] LEE K, LEE C. Nitrogen removal from wastewaters by microalgae without consuming organic carbon sources[J]. *Microbiol Biotechnol*, 2002, 12: 979–985.
- [17] 胡文军, 罗玮, 李汉广, 等. 产油微藻筛选和鉴定及其产油性能的研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2012, 32(12): 66–72.
- [18] 杨静, 蒋剑, 张宁. 不同培养方式下微藻产油能力的研究[J]. *生物质化学工程*, 2011, 45(2): 15–19.
- [19] FÁBREGAS J, MORALES E, GARCÍA D, et al. The soluble fraction of *Solanum tuberosum* enhances growth and pigmentation of the microalga *tetraselmis suecica* under photoheterotrophic conditions [J]. *Bioresource Technology*, 1997, 59(2/3): 263–266.
- [20] MIAO X L, WU Q Y. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil[J]. *Bioresou Technol*, 2006, 97: 841–846.
- [21] GE Y M, LIU J Z, TIAN G M. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor[J]. *Biore Technol*, 2011, 102(1): 130–134.
- [22] TANG D H, HAN W, LI P L, et al. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels[J]. *Biores Technol*, 2011, 102(3): 3071–3076.
- [23] 王丽艳. 微藻固定烟中 CO₂ 的发展及可行性探讨[J]. *绿色科技*, 2012(9): 182–183.
- [24] DOUCHA J, STRAKA F, LIVANSKY K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae *Chlorella sp.* in an outdoor open thin-layer photobioreactor[J]. *Appl Phycol*, 2005, 17(5): 403–412.
- [25] 黄建忠, 施巧琴, 周晓兰, 等. 深黄被孢霉高产脂变株的选育及其发酵的研究[J]. *微生物学通报*, 1998, 25(4): 187–190.
- [26] RODOLFI L, ZITTELLI G C, BASSI N, et al. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photo-bioreactor [J]. *Biotechnol & Bioengin*, 2008, 10(2): 1002–1023.
- [27] LIANG Y N, SARKANY N, CUI Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions[J]. *Biotechnology Letters*, 2009, 31(7): 1043–1049.
- [28] WIDJAJA A, CHIEN C C, JU Y H. Study of increasing lipid production from flesh water microalgae *Chlorella vulgaris*[J]. *Taiwan Inst Chem Eng*, 2009, 40: 13–20.
- [29] ZHILA N O, KALACHEVA G S, VOLOVA T G. Effect of nitrogen limitation on the growth and lipid composition of the green alga *Botryococcus braunii* Kutz IPPAS H-252[J]. *Russ J Plant Physiol*, 2005, 52: 357–365.
- [30] 孙漫, 袁娟, 袁维道, 等. 产油脂海洋微藻的筛选、鉴定及 Fe³⁺ 对其生长和油脂积累的影响[J]. *中国油脂*, 2012, 37(12): 70–73.
- [31] 张薇, 吴虹, 宗敬华. 蛋白核小球藻发酵产油脂的研究[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(6): 855–860.
- [32] 王菊芳, 梁世中, 陈峰. 环境条件对隐甲藻生长及 DHA 产量的影响[J]. *海洋科学*, 2002, 26(2): 62–65.
- [33] SATU N, MURATA N. Temperature shift-induced responses in lipids in the blue-green alga, *Anabaena variabilis*; The central role of diacylmonolactosylglycerol in thermo-adaption[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1980, 619(2): 353–365.
- [34] 蒋汉明, 翟静, 张媛英, 等. 温度对海洋微藻生长及脂肪酸组成的影响[J]. *食品研究与开发*, 2005, 26(6): 9–12.
- [35] 于荣清, 刘义, 田思琪, 等. 产油脂微藻的分离鉴定及培养条件优化[J]. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(6): 897–900.
- [36] 伊廷强, 叶静, 何泽超. 海洋微藻培养及光生物反应器的研究进展[J]. *化工设计*, 2008, 18(3): 11–14.
- [37] 刘娟妮, 胡萍, 姚颂, 等. 微藻培养中光生物反应器的研究进展[J]. *食品科学*, 2006, 27(12): 772–777.
- [38] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae[J]. *Biotech Advances*, 2007, 25: 294–306.
- [39] ERIKSEN N T. The technology of microalgal culturing [J]. *Biotechnol Lett*, 2008, 30: 1525–1536.
- [40] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol [J]. *Trends Biotechnol*, 2008, 26(3): 126–131.
- [41] WEI X, XIU F L, JIN Y X. High-density fermentation of microalgae *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 78: 29–36.
- [42] SORGUVEN E, ÖZILGEN M. Thermodynamic assessment of algal biodiesel utilization[J]. *Renewable Energy*, 2010, 35(9): 1956–1966.

- [43] 杨勋, 刘平怀, 郝宗娣, 等. 富油微藻 *Monoraphidium sp.* 的分离及其油脂提取工艺研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(32): 19988–19990, 20124.
- [44] HE R, LIU J H, WANG S A, et al. Screening of the gene for *Chlorella* identification and identification of oil-producing microalgae[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2011, 12(6): 795–798.

(上接第 11051 页)

可以看出, 喂食含 10⁴、10⁶、10⁸ 和 10¹⁰ cfu/kg 植物乳杆菌的大黄鱼溶菌酶活性比对照组显著提高。

3 小结

通过给大黄鱼饲喂含 0、1 × 10⁴、1 × 10⁶、1 × 10⁸ 和 1 × 10¹⁰ cfu/kg 植物乳杆菌的饲料 4 周后, 测定大黄鱼天然免疫活性的免疫参数。结果表明, 植物乳杆菌 *Saccharomyces cerevisiae* P13 可以改善大黄鱼的头肾细胞爆发呼吸力、吞噬活力、补体活力以及血清溶菌酶活性, 并增强大黄鱼的天然免疫系统。该研究可为大黄鱼养殖用生物饲料的研发提供理论依据, 促进大黄鱼养殖业的健康发展。

参考文献

- [1] PAN T M, CHIU C H, GUU Y K. Characterization of *Lactobacillus* isolates

from pickled vegetables for use as dietary or pickle adjuncts [J]. *Foods Food Ingrid J Jpn*, 2002, 206: 45–51.

- [2] SUNYER J O, TORT L. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1995, 45: 333–345.
- [3] YEH S P, CHANG C A, CHANG C Y, et al. Dietary sodium alginate administration affects the fingerling growth and resistance to *Streptococcus sp.* and iridovirus, and juvenile non-specific immune responses of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, 25: 19–27.
- [4] NIKOSKELAINEN S, OUWEHAND A C, BYLUND G, et al. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2003, 15: 44352.

- [5] 潘娟, 李利, 刘丽媛. 益生菌在水产养殖生产中的应用 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2012, 33(4): 90–92.