



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.2014.02.003

## 三角褐指藻和小球藻营养成分的对比分析

王晓燕, 邢欢, 钟韵山, 宋东辉, 徐仰仓

(天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457)

**摘要:** 通过检测三角褐指藻和小球藻的蛋白质、糖、色素、游离氨基酸及不饱和脂肪酸的含量, 比较了三角褐指藻和小球藻的营养价值. 结果发现: 在单个细胞中, 三角褐指藻的蛋白质、糖、叶绿素 a、类胡萝卜素、游离氨基酸的含量高于小球藻; 在 1 个生长周期(12 d)中, 三角褐指藻累积的蛋白质、糖、游离氨基酸、棕榈油酸、二十碳五烯酸(EPA)也高于同龄的小球藻, 但叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、油酸、亚油酸、亚麻酸及二十碳烯酸的累积量却低于小球藻. 综合分析, 三角褐指藻的营养价值不比小球藻低, 具有潜在的开发前景.

**关键词:** 三角褐指藻; 小球藻; 营养成分; 生长速率

中图分类号: S917.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2014)02-0011-05

### Comparison of Nutrient Contents between *Phaeodactylum tricornerutum* and *Chlorella vulgaris*

WANG Xiaoyan, XING Huan, ZHONG Yunshan, SONG Donghui, XU Yangchang

(Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The nutritional value of *Phaeodactylum tricornerutum* and *Chlorella vulgaris* was compared by detecting the contents of total protein, sugar, pigments, total free amino acids and the unsaturated fatty acid of *Phaeodactylum tricornerutum* and *Chlorella vulgaris*. The results indicated that the contents of protein, sugar, chlorophyll a, carotenoids, and free amino acids in a signal cell of *Phaeodactylum tricornerutum* were higher than those in a signal cell of *Chlorella vulgaris*. The total contents of protein, sugar, free amino acids, palmitoleic acid and eicosapentaenoic acid(EPA) during one growth cycle(12 days) were also higher in *Phaeodactylum tricornerutum* than those in *Chlorella vulgaris*, while the total contents of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid and eicosatetraenoic acid were lower in the former than in the latter. The nutritional value of *Phaeodactylum tricornerutum* was not lower than that of *Chlorella vulgaris*. Therefore, *Phaeodactylum tricornerutum* has a great potential as a feedstock for food commodities.

**Key words:** *Phaeodactylum tricornerutum*; *Chlorella vulgaris*; nutrients; growth rate

三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornerutum*)是一种单细胞微藻, 生活在近海水域, 易养殖, 含有丰富的蛋白质、多糖、色素、维生素等营养物质<sup>[1]</sup>. 现阶段, 三角褐指藻仅作为动物饲料的原料, 应用领域较为狭窄<sup>[2]</sup>. 三角褐指藻也曾被认为是生产二十碳五烯酸(EPA)<sup>[3-4]</sup>和生物柴油<sup>[5-6]</sup>的潜在生物, 但过高的加工成本限制了其在该领域的应用.

小球藻(*Chlorella vulgaris*)也是一种单细胞微

藻, 同样含有丰富的蛋白质、多糖、色素、维生素、多不饱和脂肪酸等生理活性物质<sup>[7]</sup>, 它的保健功效已被人们广泛认识<sup>[8-9]</sup>. 目前, 小球藻已应用于饲料、环保、食品、保健品、医药等领域. 本文比较了小球藻和三角褐指藻营养物质的含量, 从营养角度分析了三角褐指藻的开发潜力, 旨在使人们充分认识三角褐指藻的营养保健功能.

收稿日期: 2013-09-24; 修回日期: 2013-12-10

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目(第44批); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201310057008)

作者简介: 王晓燕(1988—), 女, 山东人, 硕士研究生; 通信作者: 徐仰仓, 教授, xuyc@tust.edu.cn.

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种和培养方法

三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 由中国科学院海洋研究所王广策研究员馈赠, 藻接种在 f/2 培养基上, 22 °C、1 000 lx 光照 (光/暗周期为 14 h/10 h) 下培养. 小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 由本研究室保存, 藻接种在 BG-11 培养基上, 25 °C、4 000 lx 光照 (全光照) 下培养. 从接种后的第 2 天开始, 用显微镜观察法对培养液中的微藻细胞进行计数.

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝法<sup>[10]</sup>测定微藻细胞中的蛋白质含量. 用牛血清白蛋白制作标准曲线.

#### 1.2.2 总糖含量的测定

采用蒽酮比色法<sup>[11]</sup>. 准确吸取藻液 40 mL, 5 000 r/min 离心 10 min, 去除上清液. 藻泥冻融破碎 3 次后, 加入 3 mL 磷酸缓冲溶液, 沸水中加热 30 min, 取 1 mL 加入 0.1 mL 硫酸锌溶液, 沸水浴 5 min 后, 立即加入亚铁氰化钾溶液 0.1 mL, 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 1 mL 于 4 mL 蒽酮中, 沸水浴 10 min, 冷水迅速冷却至室温, 测定 620 nm 处的吸光度. 用葡萄糖制作标准曲线.

#### 1.2.3 游离氨基酸的测定

采用茚三酮显色法<sup>[12]</sup>测定微藻细胞中的游离氨基酸含量. 用亮氨酸制作标准曲线.

#### 1.2.4 不饱和脂肪酸含量的测定

采用气相色谱法. 准确称取 80 mg 真空冷冻干燥的藻粉于 10 mL 螺口玻璃试管中, 加入 2 mol/L KOH-CH<sub>3</sub>OH 2 mL, 75 °C 水浴中皂化 30 min, 冷却至室温, 加入 3 mol/L HCl-CH<sub>3</sub>OH 2 mL, 75 °C 水浴中甲酯化 15 min, 冷却至室温, 加入 1 mL 正己烷和少量的蒸馏水萃取脂肪酸. 用 GC-7890 II 型气相色谱仪 (日本岛津公司) 测定不饱和脂肪酸的含量. 色谱条件: 色谱柱为强极性柱 (长 50 m, 内径 0.2 mm), 柱温 200 °C, 检测器为氢火焰离子化检测器 (FID), 温度 280 °C, 载气为氮气, 流量 1 mL/min, 分流比 50 : 1. 标准品购于 Sigma 公司, 是由 19 种脂肪酸甲酯组成的混合物. 用面积归一法计算不饱和脂肪酸含量.

### 1.3 统计分析

通过 SPSS 19.0 比较组间差异, 采用 One Way ANOVA 法中的 LSD 比较不同组间的差异性 ( $P < 0.05$  时差异显著). 数据为 3 次重复实验的平均值.

## 2 结果与分析

### 2.1 三角褐指藻和小球藻生长速率的比较

三角褐指藻是海水藻, 而小球藻是淡水藻. 它们的生长环境不同, 对培养基、温度等条件的要求也不相同. 要比较这两种微藻的生长速率, 必须在各自的最优生长条件下比较. 为此, 首先探索了两种微藻的最佳培养条件: 三角褐指藻为 f/2 培养基、22 °C、1 000 lx 光照 (光/暗周期为 14 h/10 h), 而小球藻为 BG-11 培养基、25 °C、4 000 lx 光照 (全光照). 两种微藻都是游离生长的单细胞藻类, 其生长速率可由培养液中藻细胞密度的变化来衡量. 三角褐指藻和小球藻生长曲线如图 1 所示. 三角褐指藻细胞增殖最快的时期是在接种后的 2~6 d, 细胞密度的日增长率在 18.2%~23.3%; 6 d 后细胞增殖率逐渐变小; 12 d 后藻细胞停止增殖, 此时培养液中的藻细胞密度最大, 为  $9.6 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ , 与接种初相比, 细胞密度增大了 4.8 倍. 小球藻细胞增殖最快的时期是在接种后的 2~7 d, 细胞密度的日增长率在 14.6%~50.0%; 7 d 后细胞增殖率逐渐变小; 培养 12 d 时的细胞密度为  $2.31 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ , 与接种初相比, 细胞密度增大了 6.6 倍. 由此可见, 小球藻的生长速率高于三角褐指藻, 平均生长速率是三角褐指藻的 2.4 倍, 说明在相同的时间内, 养殖小球藻可获得较多的生物量 ( $P < 0.05$ ). 在需要通过生物量才能体现效果的领域, 如污染环境中重金属的吸附, 小球藻的优势要高于三角褐指藻.

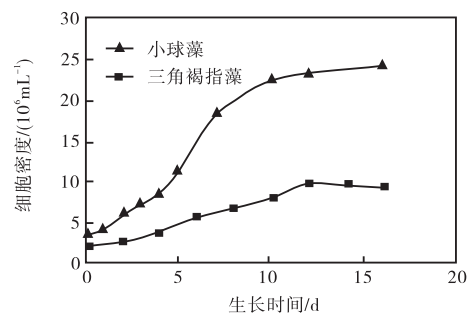


图 1 三角褐指藻和小球藻生长曲线

Fig. 1 Growth curve of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chlorella vulgaris*

### 2.2 三角褐指藻和小球藻糖含量的比较

糖含量是衡量食物营养价值高低的重要指标之一. 就单个细胞而言, 三角褐指藻的糖含量高于小球藻的 (图 2), 前者是后者的 2.71 倍, 说明三角褐指藻具有产生较多糖的潜力; 但是, 能否为人类提供较多

的糖,不仅与单细胞的糖含量有关,还与该生物的生物量有关。为此,对两种微藻在1个生长周期(12 d)内累积的总糖量进行测定,三角褐指藻积累的总糖量达到了 $106.6 \mu\text{g/mL}$ ,是同龄小球藻的1.13倍(图2)。结果表明,用相同的时间养殖三角褐指藻获得的糖要多于小球藻的( $P < 0.05$ )。

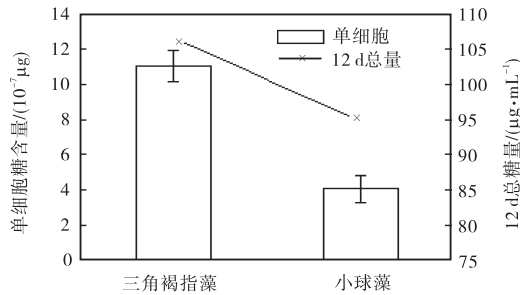
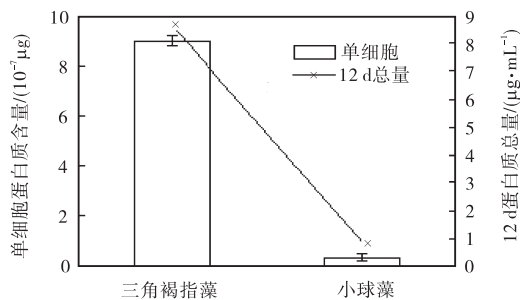
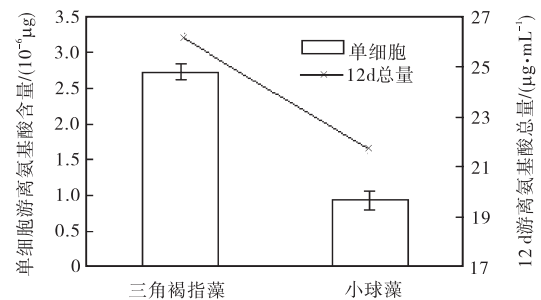


图2 三角褐指藻和小球藻总糖含量比较

Fig. 2 Comparison of sugar content between *Phaeodactylum tricornutum* and *Chlorella vulgaris*



(a) 蛋白质



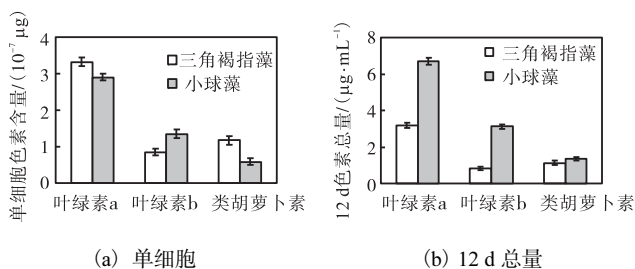
(b) 游离氨基酸

图3 三角褐指藻和小球藻蛋白质和游离氨基酸含量比较

Fig. 3 Comparison of protein and free amino acids contents between *Phaeodactylum tricornutum* and *Chlorella vulgaris*

#### 2.4 三角褐指藻和小球藻色素含量的比较

植物细胞中的色素主要有叶绿素和类胡萝卜素,前者又包括叶绿素a和叶绿素b。叶绿素是人体合成血红素的原料之一,类胡萝卜素具有清除人体自由基的功能<sup>[13]</sup>。为此,对三角褐指藻和小球藻的色素含量进行测定,结果如图4所示。



(a) 单细胞

(b) 12 d 总量

图4 三角褐指藻和小球藻色素含量比较

Fig. 4 Comparison of pigment content between *Phaeodactylum tricornutum* and *Chlorella vulgaris*

#### 2.3 三角褐指藻和小球藻可溶性蛋白和游离氨基酸含量的比较

蛋白质是细胞的重要结构组分,也是细胞多种功能的执行者,而氨基酸又是构成蛋白质的基本单位,因此蛋白质和氨基酸是衡量食物营养价值的重要指标。检测停滞生长前期藻体内蛋白质、游离氨基酸的含量,结果发现单细胞中三角褐指藻的蛋白质和游离氨基酸含量均高于小球藻,分别为小球藻的25.3倍和2.9倍(图3)。在1个生长周期中,三角褐指藻能形成 $8.6 \mu\text{g/mL}$ 的蛋白质和 $26.2 \mu\text{g/mL}$ 的游离氨基酸,而小球藻则能形成 $0.82 \mu\text{g/mL}$ 的蛋白质和 $21.7 \mu\text{g/mL}$ 的游离氨基酸,可见三角褐指藻累积的蛋白质和游离氨基酸比小球藻的多( $P < 0.05$ )。蛋白质和氨基酸的总和代表了人体所能利用的总营养氮。通过计算发现,三角褐指藻的总营养氮是小球藻的1.55倍,说明三角褐指藻能为人类提供更多的营养氮。

单细胞小球藻的叶绿素a、叶绿素b及类胡萝卜素含量分别是三角褐指藻的87.3%、159%和49.7%。结果表明,除叶绿素b外,单细胞小球藻的其他两种色素含量均低于三角褐指藻。1个生长周期后,小球藻中叶绿素a、叶绿素b及类胡萝卜素的累积量分别为三角褐指藻的210%、383%和120%。由此可见,尽管单细胞中三角褐指藻的叶绿素a和类胡萝卜素含量高于小球藻( $P < 0.05$ ),但因小球藻生长速率高,在1个生长周期后,小球藻中色素的含量均超过了三角褐指藻( $P < 0.05$ ),但各色素的超出程度不同,类胡萝卜素的高出量最小。因此,仅从色素角度考虑,特别是从叶绿素角度考虑,小球藻的营养价值要高于三角褐指藻。

#### 2.5 三角褐指藻和小球藻不饱和脂肪酸含量的比较

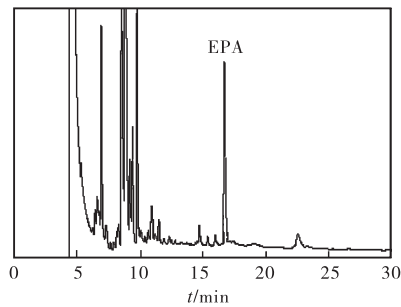
二十碳五烯酸(EPA)(C20:5)是一种长链多不

饱和脂肪酸,在营养强化、防治心血管疾病、减轻炎症等方面起着十分重要的作用<sup>[14]</sup>.采用前述方法测定了两种微藻中 EPA 的含量,1 个生长周期后,三角褐指藻累积了 8.12 mg/g 的 EPA,而小球藻几乎检测不到 EPA(表 1,图 5),说明三角褐指藻的 EPA 含量远远高于小球藻( $P < 0.05$ ).前人也报道了类似的结果<sup>[15-16]</sup>.由此可见,在同一时期内,养殖三角褐指藻获得的 EPA 要比养殖小球藻多得多.另外,三角褐指藻的棕榈油酸(C16:1)含量也明显高于小球藻( $P < 0.05$ );但小球藻的油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、亚麻酸(C18:3)、二十碳烯酸(C20:1)含量却明显高于三角褐指藻( $P < 0.05$ )(表 1),说明在累积不饱和脂肪酸方面,两种微藻各有侧重.

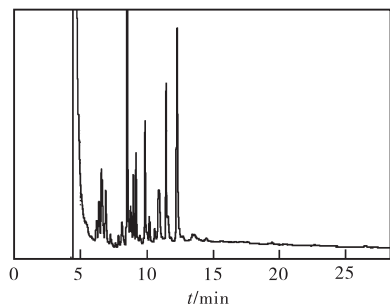
表 1 三角褐指藻和小球藻不饱和脂肪酸含量比较  
Tab.1 Comparison of unsaturated fatty acid content between *Phaeodactylum tricornutum* and *Chlorella vulgaris*

脂肪酸	三角褐指藻/(mg·g <sup>-1</sup> )	小球藻/(mg·g <sup>-1</sup> )
C16:1	40.21*	3.28
C18:1	2.22	6.79*
C18:2	1.43	13.47*
C18:3	0.66	29.07*
C20:1	—	1.26*
C20:5	8.12*	—

注:“—”表示未检出; \*表示  $P < 0.05$ .



(a) 三角褐指藻



(b) 小球藻

图 5 三角褐指藻和小球藻脂肪酸气相色谱图

Fig.5 Gas chromatogram of fatty acid of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chlorella vulgaris*

### 3 讨论

小球藻含有丰富的蛋白质、多糖、维生素、矿物质和色素等,具有多种保健和药理作用<sup>[7,16-17]</sup>.我国已将小球藻批准为新资源食品<sup>[9]</sup>.小球藻作为营养功效食品已经被人们广泛认识<sup>[8]</sup>.本文以小球藻为参照物,分析了三角褐指藻营养物质的含量.就单个细胞而言,小球藻的叶绿素 b 含量高于三角褐指藻.叶绿素 b 是天线色素,在细胞中负责光线的吸收和传递<sup>[18]</sup>,较多的叶绿素 b 能够吸收较多的光能,从而使植物能够适应强光环境.这可能是小球藻的最佳培养条件中光照度高于三角褐指藻的原因所在.叶绿素 b 的含量高,吸收、固定的光能就多,光合作用的产物也多,这些产物能够为生命活动提供更多的能量,因而生长速率也快,最终导致小球藻的生长速率高于三角褐指藻.

单细胞三角褐指藻的多数营养物质含量高于小球藻,说明三角褐指藻具有高效生产营养物质的潜力;但这并不代表人们能够获得较多的营养物质,因为营养物质的总量是由单位细胞中的含量和生物量两个因素决定的.本文检测了 1 个生长周期中两种微藻累积的营养物质总量,结果发现三角褐指藻的蛋白质、游离氨基酸、多糖、EPA 及棕榈油酸的含量高于小球藻,说明三角褐指藻提供的营养物质总量要比小球藻多.

小球藻的叶绿素 b、油酸、亚油酸、亚麻酸、二十碳烯酸含量高于三角褐指藻.植物中的色素主要包括叶绿素和类胡萝卜素,前者的含量是后者的 3 倍,因此,类胡萝卜素比叶绿素更加稀有<sup>[19]</sup>.所以,分析食物的营养价值时,类胡萝卜素的权重要高于叶绿素.另外,油酸、亚油酸、亚麻酸都是高等植物可以合成的不饱和脂肪酸,而高等植物几乎不能合成 EPA,因此 EPA 比油酸等不饱和脂肪酸更加稀有.所以,从营养价值的角度考虑,EPA 权重要高于油酸等不饱和脂肪酸.综上所述,在同一培养时期,三角褐指藻生产的糖、蛋白质、氨基酸及重要不饱和脂肪酸要多于小球藻,因此它的营养价值不比小球藻低.

尽管三角褐指藻易养殖<sup>[1,20-21]</sup>,有作为提取 EPA<sup>[3-4]</sup>和生物柴油<sup>[5-6]</sup>的原料的潜力,但因加工成本高还未工业化.目前,唯一利用三角褐指藻的行业是生产动物饲料<sup>[2]</sup>.据统计,世界年销售小球藻干粉 2 500 吨左右,有人预测<sup>[22]</sup>今后几年内,小球藻干粉

国际市场总需求量有望上升至 8 000 ~ 10 000 吨。而本文研究发现,在相同的生长时期内三角褐指藻能够生产出比小球藻更多的营养物质。因此,三角褐指藻的市场竞争力要强于小球藻。如果小球藻干粉的部分市场被三角褐指藻干粉替代,三角褐指藻产业将会获得极大的发展。Draaisma 等<sup>[23]</sup>对 2011 年欧洲食用油的来源进行了研究,从土地资源、污染物的排放、水资源的消耗等方面分析了养殖三角褐指藻和种植油料作物的经济效益,结果发现前者的养殖效益要高于后者的种植效益。据此,他预测将来欧洲市场的食用油有可能会被三角褐指藻等海洋硅藻油所代替。由此也看出,若三角褐指藻的营养价值被大家认可,则它的开发潜力将是很大的。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 蔡卓平,段舜山. 不同氮浓度下三角褐指藻生长特性和化学组成[J]. 生态环境,2007,16(6):1633-1636.
- [ 2 ] 岳伟萍. 三角褐指藻作为饲料蛋白质的开发前景研究[J]. 河北渔业,2010(12):13-14.
- [ 3 ] Otero A, García D, Fábregas J. Factors controlling eicosapentaenoic acid production in semicontinuous cultures of marine microalgae[J]. Journal of Applied Phycology, 1997, 9(5): 465-469.
- [ 4 ] 吴伟伟,高影影,隆小华,等. 营养盐对三角褐指藻生长及脂肪酸合成的影响[J]. 水产科学,2012,31(9):516-521.
- [ 5 ] 何峰,傅鹏程,徐春明. 三角褐指藻提取生物柴油的生态响应研究[J]. 石油化工高等学校学报,2011,24(1):1-5.
- [ 6 ] Lohman E J, Gardner R D, Halverson L, et al. An efficient and scalable extraction and quantification method for algal derived biofuel[J]. Journal of Microbiological Methods, 2013, 94(3): 235-244.
- [ 7 ] 于贞,王长海. 小球藻培养条件的研究[J]. 烟台大学学报:自然科学与工程版,2005,18(3):206-211.
- [ 8 ] 孙维宝,李龙囡,张继,等. 小球藻的营养保健功能及其在食品工业中的应用[J]. 食品科学,2010,31(9):323-328.
- [ 9 ] 中华人民共和国卫生部. 关于批准蛋白核小球藻等 4 种新资源食品的公告[J]. 中国食品添加剂,2013(1):227-228.
- [ 10 ] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [ 11 ] 林炎坤. 常用的几种蒽酮比色定糖法的比较和改进[J]. 植物生理学通讯,1989,25(4):53-55.
- [ 12 ] 路文静,李奕松. 植物生理学实验教程[M]. 北京:中国林业出版社,2012:59-61.
- [ 13 ] 李福枝,刘飞,曾晓希,等. 天然类胡萝卜素的研究进展[J]. 食品工业科技,2007,28(9):227-232.
- [ 14 ] 胡长伟,刘志礼. 富含 EPA 的海洋微藻的规模化生产[J]. 水产科学,2007,26(8):475-477.
- [ 15 ] Yen H W, Hu I C, Chen C Y, et al. Microalgae-based biorenew: From biofuels to natural product[J]. Biorenewable Technology, 2013, 135: 166-174.
- [ 16 ] 郑雪红,郑爱榕. 气相色谱法分析小球藻脂肪酸的组成[J]. 海洋科学,2012,36(6):22-27.
- [ 17 ] Lee Y J, Hong Y J, Kim J Y, et al. Dietary *Chlorella* protects against heterocyclic amine-induced aberrant gene expression in the rat colon by increasing fecal excretion of unmetabolized PhIP[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 56: 272-277.
- [ 18 ] Ko S C, Kim D, Jeon Y J. Protective effect of a novel antioxidative peptide purified from a marine *Chlorella ellipsoidea* protein against free radical-induced oxidative stress[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(7): 2294-2302.
- [ 19 ] 刘丽娅,陈山,王军,等. 植物天然食用色素的功能及其制备工艺[J]. 食品与发酵工业,2006,32(9):96-100.
- [ 20 ] 蔡卓平,段舜山,朱红惠. 氮和硅对三角褐指藻细胞增殖的交互作用研究[J]. 水产科学,2013,32(3):125-129.
- [ 21 ] Ación Fernández F G, Hall D O, Cañizares Guerrero E, et al. Outdoor production of *Phaeodactylum tricornerutum* biomass in a helical reactor[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 103(2): 137-152.
- [ 22 ] 陈晓清,苏育才. 小球藻的应用研究进展[J]. 生物学教学,2012,37(1):8-9.
- [ 23 ] Draaisma R B, Wijffels R H, Slegers P M, et al. Food commodities from microalgae[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2013, 24(2): 169-177.

责任编辑:郎婧