

绿光条件下氮浓度对紫球藻生长和生物活性产物合成的影响

郭 帅¹, 黄子诚¹, 谢 点¹, 吴黎明¹, 郑明敏^{1,2}, 陈必铤^{1,2}, 何勇锦^{1,2*}

¹福建师范大学生命科学学院; ²福建师范大学 工业微生物教育部工程研究中心, 福州 350117

摘要:本文以紫球藻 FJ-12 为藻株,在发光二极管(LED)绿光条件下,研究不同氮浓度(0、0.5、1 和 1.5 g/L)对紫球藻细胞的生长和生物活性产物(藻胆蛋白、胞外硫酸酯多糖和多不饱和脂肪酸)合成的影响。结果表明:在氮浓度为 1 g/L 的条件下,紫球藻可获得最大生物量,为 3.09 g/L。藻细胞在氮浓度为 1 g/L 和 1.5 g/L 的条件下培养可合成最高的藻蓝蛋白、藻红蛋白、别藻蓝蛋白、胞外硫酸酯多糖和油脂浓度与产量。紫球藻在 1.5 g/L 氮浓度下可合成最大的花生四烯酸(ARA)和二十碳五烯酸(EPA)占比,但 ARA 和 EPA 产量分别与 1 g/L 氮浓度下的 ARA 和 EPA 产量无显著差异。综上可得,在 LED 绿光下,1 g/L KNO₃ 是紫球藻最适合生长和活性物质合成的氮浓度,可实现紫球藻多联产高效协同合成藻胆蛋白、胞外硫酸酯多糖和多不饱和脂肪酸,解决紫球藻协同合成活性物质的瓶颈问题,绿光和氮浓度为规模化养殖紫球藻和开发其活性物质提供实践证据。

关键词:紫球藻;氮浓度;培养;生物活性产物

中图分类号:Q939.97

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)10-1751-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.10.016

Effects of different nitrogen concentrations on the growth and bioactive compounds biosynthesis of *Porphyridium cruentum* under green light

GUO Shuai¹, HUANG Zi-cheng¹, XIE Dian¹, WU Li-ming¹, ZHENG Ming-min^{1,2}, CHEN Bi-lian^{1,2}, HE Yong-jin^{1,2*}

¹College of Life Sciences, Fujian Normal University; ²Engineering Research

Center of Industrial Microbiology of Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China

Abstract: Using *Porphyridium cruentum* as the algae strain, the aim of this work was to investigate the effects of different nitrogen concentrations (0, 0.5, 1 and 1.5 g/L of KNO₃) on the growth and bioactive compounds (phycobiliproteins, extracellular sulfate polysaccharides and polyunsaturated fatty acids) biosynthesis of *P. cruentum* under the light-emitting diodes (LED) green light. The results showed that *P. cruentum* could obtain the maximum biomass (3.09 g/L) in the nitrogen concentration of 1 g/L under the LED green light. Moreover, microalga cultivated under LED green light at 1 g/L and 1.5 g/L KNO₃ achieved the highest concentrations and productivity of phycocyanin, phycoerythrin, allophycocyanin, extracellular sulfate polysaccharide and lipid. Furthermore, *P. cruentum* attained the highest contents of ARA and EPA at 1.5 g/L KNO₃. However, no significant difference in ARA content was found by microalga between 1 g/L KNO₃ and 1.5 g/L KNO₃. Based on these results, it could draw a conclusion that *P. cruentum* grown in 1 g/L KNO₃ under LED green light exhibited the excellent growth characteristic and ability to maximally produce phycobiliproteins, extracellular sulfate polysaccharides and polyunsaturated fatty acids. This work addressed the bottleneck about the coproduction of *P. cruentum*-derived bioactive compounds, offering the scientific reference to cultivate *P. cruentum* and exploit its bioactive substances for food, feed and cosmetic in future.

Key words: *Porphyridium cruentum*; nitrogen concentrations; cultivation; bioactive substances

紫球藻(*Porphyridium cruentum*)是紫球藻科、紫

球藻属一种较为原始的单细胞红藻,是红藻门中唯一的单细胞微藻^[1]。紫球藻可合成藻胆蛋白、多不饱和脂肪酸(PUFAs)、硫酸酯胞外多糖等生物活性物质^[2,3]。Ismail等^[4]利用藻胆蛋白制成银纳米粒子,实验结果表明该粒子比原有藻胆蛋白表现出更

收稿日期:2021-03-26

接受日期:2021-07-13

基金项目:福建省科学计划引导性项目(2020N0008);国家自然科学基金(31900092);2021年大学生创新创业训练计划(cxsl-2021477)

*通信作者 Tel:86-591-22867856; E-mail:heyj1234@163.com

强的抗菌、抗氧化和抗病毒活性。对于 PUFAs, 已有大量临床研究证实了, 食用 PUFAs 可促进神经细胞和组织的发育, 降低肿瘤、心血管疾病和其它慢性疾病的发生^[5]。紫球藻硫酸酯多糖, 具有抗病毒、抗辐射、抗氧化、抗癌等多种生物学功能^[6]。因此, 开发紫球藻生物活性物质对我国生物医药、化妆品、保健食品等行业的发展具有重要的意义。

已有研究表明^[7], 与其它光源(如白炽灯、金属卤化物灯)相比, 发光二极管(LED)灯的使用寿命更长(约5万h), 生产工艺更环保, 已广泛用于培养微藻。本课题组最近研究发现, 与LED源的蓝灯、红灯和白灯相比, 紫球藻(*Porphyridium cruentum*, FJ-12)在LED绿光条件下生长最好^[8]。因此, 本研究培养紫球藻所使用的光源为LED绿光。

有研究表明, 紫球藻细胞的生长特性及其活性物质的产量与氮源浓度存在很大的相关性。Guihéneuf等^[9]研究表明, 与缺氮条件相比, 紫球藻在富氮(1g/L)条件下可促进合成藻红蛋白或藻胆蛋白; 然而, 紫球藻在缺氮条件下, 有利于PUFAs的合成和胞外多糖的分泌。已有的研究^[10,11]也得到类似的结果。这些研究可表明, 氮浓度调节着微藻细胞机体内蛋白质、油脂和糖类代谢的平衡, 影响微藻储存物质的方向。正如前人的研究结果^[9,11], 氮调控只能调节紫球藻合成藻红蛋白或合成PUFAs和胞外多糖。因此, 非常有必要调控培养紫球藻的工艺条件, 使其机体内的代谢处于最佳平衡状态, 进而达到协同合成藻红蛋白、PUFAs和胞外多糖。

有研究指出^[12], 在不适宜的光质条件下, 微藻机体内的活性氧(ROS)水平上升, 进而加速对藻红蛋白或藻胆蛋白的氧化或降解, 降低对光量子的吸收, 影响捕光效率和光合作用。本课题组的前期研究发现, LED绿光是最适合培养紫球藻(*Porphyridium cruentum*, FJ-12)的光质。因此, 有必要研究, 在LED绿光条件下, 不同氮源浓度对紫球藻生长和活性物质合成的影响。寻找最适合协同合成紫球藻藻红蛋白、PUFAs和胞外多糖的培养工艺。目前, 关于这一方面的研究还尚未报道。基于本课题组已有的研究基础上, 选择紫球藻(*Porphyridium cruentum*, FJ-12)为藻种, 在LED绿光条件下, 系统评估不同氮源浓度对紫球藻细胞生长和藻胆蛋白、PUFAs与胞外硫酸酯多糖合成的影响, 解决现有紫球藻协同合成生物活性物质的技术瓶颈, 为产业化养殖紫球藻协同合成活性物质提供实践依据。

1 材料与方法

1.1 实验藻种及光生物反应器

紫球藻(*Porphyridium cruentum*, FJ-12)藻种保藏于本实验室。培养紫球藻所使用的反应器为柱式光生物反应器(长1000mm, 外径50mm和内径45mm), 购置于南京启衡渔业科技有限公司。

1.2 培养基

人工海水(ASW)培养基^[13]: 27g NaCl, 6.6g MgSO₄·7H₂O, 5.6g MgCl₂·6H₂O, 1.5g CaCl₂·2H₂O, 1g KNO₃, 0.07g KH₂PO₄, 0.04g NaHCO₃, 1mol/L Tris·HCl(pH 7.6)20mL, 1mL微量元素母液a, 1mL FeEDTA溶液b, 加蒸馏水至1L, 121℃灭菌20min。

微量元素母液a: 4mg ZnCl₂, 60mg H₃BO₃, 1.5mg CoCl₂·6H₂O, 4mg CuCl₂·2H₂O, 40mg MnCl₂·4H₂O, 37mg (NH₄)₆Mo₇O₂₄, 加蒸馏水至100mL, 121℃灭菌20min。

FeEDTA溶液b: 100mL 0.05mol/L Na₂EDTA(pH 7.6), 240mg FeCl₃·4H₂O。

1.3 实验设计

将紫球藻细胞接种于含250mL ASW培养基的500mL锥形瓶中, 在培养温度为25℃和光照强度为3000Lux条件下, 24h持续光照, 培养10天, 藻细胞作为种子。

用1%盐酸溶液浸泡柱式光生物反应器处理48h, 蒸馏水冲洗反应器管内, 用已灭菌的ASW培养基充分润洗反应器3次。在LED绿灯条件下, 设置KNO₃浓度分别为0、0.5、1和1.5g/L的不同实验组, 每组3管。紫球藻培养条件为: 初始生物量为0.1g/L, LED绿光强度为3000Lux, 光照时间为24h, 培养温度为25℃, 通气速率为1L/min, 通气中的CO₂为5%, 装液量为1L。培养过程中, 每3天取样测定细胞生物量和生化组分指标。

1.4 生物量的测定

取藻液10mL, 在8000rpm条件下离心10min, 弃去上清液收集藻泥, 用蒸馏水洗涤藻泥, 重复操作两次, 最后将处理好的藻泥置于80℃干燥箱中烘干至恒重, 测定其干重。紫球藻生物产量的计算公式为:

$$\text{紫球藻生物产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = \frac{\text{微藻生物量}(\text{mg}/\text{L})}{\text{培养时间}}$$

1.5 藻胆蛋白浓度的测定

依据 Marcati 等^[14]的方法, 测定藻胆蛋白的步

骤如下:取 3 mL 藻液离心收集藻泥,加入 5 mL PBS 缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4),放入-20 °C 冰箱中反复冻融,至藻泥颜色变白,离心收集上清液分别于 650、620 和 565 nm 波长条件下测吸光值,藻胆蛋白中别藻蓝蛋白(APC)、藻蓝蛋白(R-PC)和藻红蛋白(B-PE)浓度换算用如下公式:

$$R-PC(\text{mg/mL}) = (OD_{620} - 0.7 \times OD_{650}) / 7.38$$

$$APC(\text{mg/mL}) = (OD_{650} - 0.19 \times OD_{620}) / 5.65$$

$$B-PE(\text{mg/mL}) = (OD_{565} - 2.8 \times (R-PC) - 1.34 \times (APC)) / 12.7$$

紫球藻别藻蓝蛋白、藻蓝蛋白和藻红蛋白产量计算使用如下公式:

$$R-PC \text{ 产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = R-PC \text{ 浓度}/\text{培养时间}$$

$$APC \text{ 产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = APC \text{ 浓度}/\text{培养时间}$$

$$B-PE \text{ 产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = B-PE \text{ 浓度}/\text{培养时间}$$

1.6 胞外多糖的测定

根据 Dubois 等^[15]的方法测定微藻胞外多糖含量,取 1 mL 的藻液,离心(8 000 rpm, 5 min)收集上清液。取适量的上清液,加入 5 mL 98% 硫酸和 1 mL 6% 苯酚溶液,反应 30 min 后,在波长 490 nm 条件下测定吸光值,D-葡萄糖作为测定微藻胞外多糖的标准品。测定公式为:

$$S = 174.83 \times OD_{490} - 0.95, R^2 = 0.997$$

其中, S 为胞外多糖的浓度(mg/L); OD_{490} 为 490 nm 的吸光值。

紫球藻胞外多糖产量的计算使用如下公式:

$$\text{紫球藻胞外多糖产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = \text{紫球藻胞外多糖浓度}/\text{培养时间}$$

1.7 样品的甲酯化和脂肪酸组成的测定

取藻液 5 mL 离心收集藻泥,加 1 mL 1% 硫酸-甲醇溶液,加入 100 μL 1 mol/L 的 BHT(2,6-二叔丁基对甲酚)溶液,置于 70 °C 水浴处理 45 min,待样品冷却至室温,加 2 mL 含十七酸甲酯(0.5 mg/L)的正己烷和 2 mL 蒸馏水,4 000 rpm 离心 5 min,取上清液的正己烷于试管中,加 1 mL 正己烷再次萃取,重复 3 次,合并提取的正己烷溶剂,氮吹去除正己烷,最后加 1 mL 正己烷溶解脂肪酸甲酯。37 种脂肪酸甲酯标准品和十七烷酸甲酯(0.1 mg/mL)对处理样品进行定性定量分析。利用气相色谱仪(SCI-ON 436-GC, Bruker)^[8]测定样品的可皂化脂肪酸(TFA)浓度(mg/L)。

紫球藻 ARA 和 EPA 产量的计算公式为:

$$\text{ARA 产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = \text{紫球藻 TFA 浓度} \times \text{ARA 含量}/\text{培养时间}$$

$$\text{EPA 产量}(\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})) = \text{紫球藻 TFA 浓度} \times \text{EPA 含量}/\text{培养时间}$$

2 结果与分析

2.1 不同氮浓度条件下紫球藻的生长情况

在不同氮浓度条件下,紫球藻的生长情况如图 1 所示。由图 1 可得,在缺氮培养基条件下,紫球藻细胞的生长缓慢,其生物量维持在 0.1 ~ 0.55 g/L。与其他氮浓度相比,紫球藻在 1 g/L 氮浓度条件下可获得最大生物量(3.09 g/L)。Kim 等^[16]在研究紫光(400 nm)、蓝光(465 nm)、绿光(520 nm)、黄光(590 nm)和红光(625 nm)对培养紫球藻的生长影响,结果表明:紫球藻在绿色波长条件下培养 14 天,可获得最大生物量(1.28 g/L)。Li 等^[10]研究低氮(3.5 mM)、中氮(5.9 mM)和高氮(17.6 mM)对培养紫球藻生长的影响,结果表明:紫球藻在高氮条件下可获得最大生物量(5.54 g/L)。在本研究中(1 g/L KNO_3 即为 9.9 mM),紫球藻获得的最高生物量比 Li 等^[10]的研究结果低,这可能是由于培养紫球藻的培养基氮浓度的不同和培养条件的差异(如不同光质)所引起的。

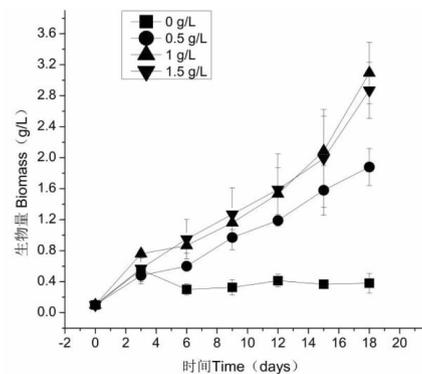


图 1 不同氮浓度对紫球藻生长的影响

Fig. 1 Effect of different nitrogen concentration on *P. cruentum* cell growth

2.2 不同氮浓度条件下紫球藻藻胆蛋白的合成情况

紫球藻所合成藻胆蛋白包括别藻蓝蛋白、藻红蛋白和藻蓝蛋白。在 LED 绿光条件下,不同氮浓度对紫球藻 APC、B-PE 和 R-PC 合成性能的影响,见图 2 所示。从图 2 结果可以看出,在缺氮条件下,紫球藻所合成 APC、B-PE 和 R-PC 浓度先上升后下降

的趋势;当培养结束后,紫球藻 APC、B-PE 和 R-PC 浓度分别为 0.24、2.52 和 0.58 mg/L。这表明,缺氮条件下紫球藻进行光合作用产生的氧气会提高机体内活性氧水平,使叶绿体类囊体腔内的 pH 值下降,酸化环境易导致藻胆蛋白的分解^[17]。

对于氮浓度为 0.5 g/L 时,紫球藻 APC、B-PE 和 R-PC 的最高浓度处于第 12~15 天、第 15 天和第 15 天;当培养时间超过 15 天,藻细胞可能已耗尽了培养基中的氮元素,进而影响对藻胆蛋白的合成,导致 APC、B-PE 和 R-PC 浓度下降。当氮浓度分别提高到 1 g/L 和 1.5 g/L 时,紫球藻所合成的 APC、B-PE 和 R-PC 浓度能维持在较高水平。这可能是因

为充足氮浓度可满足紫球藻细胞合成所需的蛋白质。值得注意的是,Li 等^[10,11]的研究选择白光培养紫球藻,其合成的藻胆蛋白浓度在中后期(9~12 天)则呈现下降趋势。在本研究中,选择 LED 绿光作为培养紫球藻的光源,则不会出现下降趋势。一方面,与白光光源相比,绿色具有较低的光量子吸收值,可能降低类囊体腔的 ROS 水平,避免藻胆蛋白的分解^[18]。另一方面,紫球藻叶绿素 a 和捕光藻胆素可能赋予其对绿光的适应,促进光合效应^[19]。因此,从图 2 结果可得,最适合紫球藻合成藻胆蛋白的氮浓度为 1~1.5 g/L。

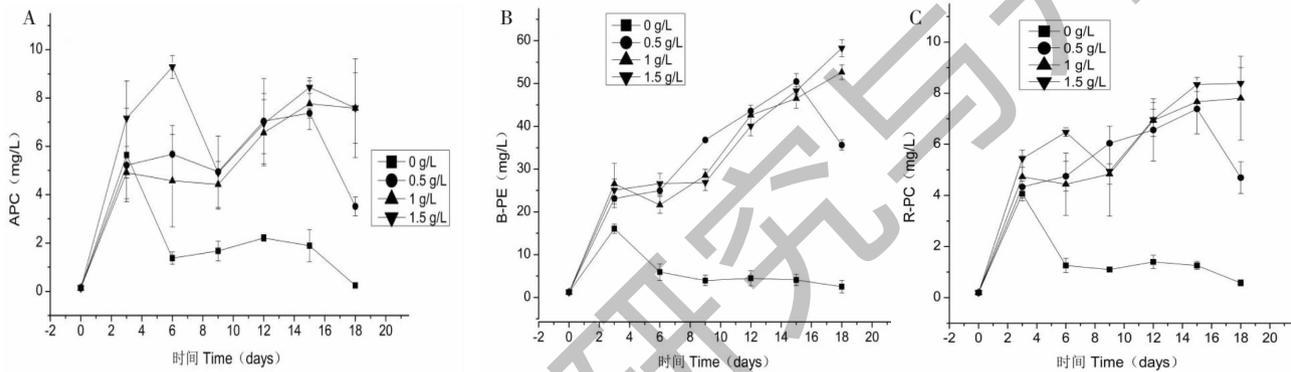


图 2 不同氮浓度对紫球藻藻胆蛋白含量的影响

Fig. 2 Effects of different nitrogen concentrations on pycocyanobiliprotein content of *P. cruentum*

2.3 不同氮浓度条件下紫球藻胞外多糖的合成情况

不同氮浓度对紫球藻合成胞外多糖的影响,结果见图 3。由图 3 可知,在缺氮条件下,随着培养时间的延长,紫球藻胞外多糖浓度逐渐升高。已有的研究也证实,紫球藻在缺氮条件下,紫球藻细胞光合作用固定二氧化碳主要用于合成胞外多糖^[20]。当氮浓度从 0.5 g/L 提高到 1 g/L 时,经 18 天培养后,

紫球藻胞外多糖的浓度从 103.81 mg/L 提高到 255.62 mg/L。但是,在氮浓度为 1 g/L 和 1.5 g/L 条件下的紫球藻所合成胞外多糖浓度则无显著差异。因此,最适合紫球藻合成胞外多糖的氮浓度为 1~1.5 g/L。

2.4 不同氮浓度条件下紫球藻油脂的合成情况

图 4 为不同氮浓度条件下紫球藻合成油脂的结果。已有的研究^[10,11,21]和本研究的结果都表明,缺氮有利于紫球藻油脂的合成。但是,与缺氮条件相比,紫球藻在 0.5、1 和 1.5 g/L 三个氮浓度条件下具有更高油脂浓度。这主要是因为微藻在这三个氮浓度条件下具有更高的生物量(见图 1)。同时,与其他氮浓度相比,在氮浓度为 1 g/L 下的紫球藻可合成最大的油脂浓度 233.86 mg/L。

在 LED 绿光下,经 18 天培养后,采收紫球藻细胞,利用气相色谱法分析其脂肪酸组成,结果见表 1。由表 1 可知,紫球藻所合成的主要脂肪酸是二十碳五烯酸(EPA/C20:5(ω -3))、花生四烯酸(ARA/C20:4(ω -6))、亚油酸(LA/C18:2(ω -6))和棕榈

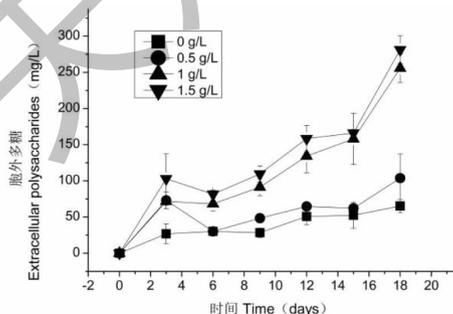


图 3 不同氮浓度对紫球藻胞外多糖含量的影响

Fig. 3 Effect of different nitrogen concentrations on extracellular polysaccharides content of *P. cruentum*

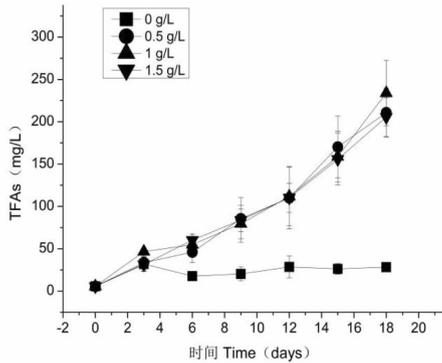


图4 不同氮浓度对紫球藻 TFAs 含量的影响

Fig. 4 Effects of different nitrogen concentrations on TFAs content of *P. cruentum*

酸 (PA/C 16:0)。此外,实验结果表明,不同氮浓度

会明显影响紫球藻某些脂肪酸的合成。如,在缺氮条件下,紫球藻有利于棕榈酸和亚油酸的合成。但是,随着培养基氮浓度的升高,紫球藻油脂中棕榈酸和亚油酸的比例呈下降趋势;相反的是,ARA 和 EPA 的比例则呈上升趋势。Breuer 等^[22] 和 Asgharpour 等^[23] 研究也表明,在缺氮的条件下,紫球藻倾向合成棕榈酸和亚油酸,不利于 ARA 和 EPA 的积累。Hu 等^[21] 考察氮磷胁迫对紫球藻脂肪酸合成的影响,结果发现紫球藻在氮充足和磷限制的条件下可提高 ARA 和 EPA 的合成。这些已有的研究和本研究的结果都可表明,氮浓度水平可调控紫球藻机体某些特定脂肪酸的合成。因此,从紫球藻脂肪酸组成上,高氮 (1.5 g/L) 有利于紫球藻合成 ARA 和 EPA。

表1 紫球藻在不同氮浓度实验组培养 18 天后的脂肪酸组成

Table 1 Fatty acid composition of *P. cruentum* after cultivation for 18 days under the different nitrogen concentrations media treatments

脂肪酸 Fatty acid	脂肪酸组成 Fatty acid composition (%)			
	0 g/L KNO ₃	0.5 g/L KNO ₃	1 g/L KNO ₃	1.5 g/L KNO ₃
C14:0	0.13 ± 0.09	0.25 ± 0.06	0.61 ± 0.03	0.36 ± 0.04
C16:0	42.83 ± 0.63	29.76 ± 0.32	25.17 ± 0.27	23.17 ± 0.09
C18:0	2.71 ± 0.03	2.54 ± 0.08	3.95 ± 0.04	2.89 ± 0.06
ΣSFA	45.67 ± 0.76	32.55 ± 0.47	29.73 ± 0.35	26.42 ± 0.20
C16:1	0.56 ± 0.08	2.60 ± 0.17	1.43 ± 0.10	1.35 ± 0.06
C18:1	0.56 ± 0.13	0.46 ± 0.04	2.76 ± 0.04	2.90 ± 0.12
C20:1	1.23 ± 0.14	2.46 ± 0.09	3.17 ± 0.12	3.42 ± 0.15
ΣMFA	2.35 ± 0.36	5.52 ± 0.31	7.36 ± 0.27	7.67 ± 0.34
C18:2ω-6	27.02 ± 0.56	24.12 ± 0.21	17.50 ± 0.18	13.74 ± 0.36
C20:2ω-6	0.20 ± 0.07	1.72 ± 0.18	1.56 ± 0.21	0.69 ± 0.09
C20:4ω-6	15.29 ± 0.12	19.59 ± 0.51	24.49 ± 0.60	28.70 ± 0.54
Σω-6 FA	42.51 ± 0.75	45.43 ± 0.91	43.55 ± 0.99	43.13 ± 1.00
C18:3ω-3	0.12 ± 0.01	1.14 ± 0.36	2.84 ± 0.14	1.51 ± 0.06
C20:5ω-3	9.35 ± 0.12	15.36 ± 0.39	16.52 ± 0.74	21.26 ± 0.99
Σω-3PUFAs	9.47 ± 0.14	16.50 ± 0.76	19.36 ± 0.86	22.78 ± 1.06

2.5 不同氮浓度条件下的紫球藻生物产量和活性物质产量

经培养 18 天后,分析不同氮浓度条件下的紫球藻生物产量和活性物质产量,结果见图 5。在紫球藻生物产量方面,在氮浓度为 1 g/L 条件下培养紫球藻可获得最大生物产量为 150 mg/(L·d)。在藻胆蛋白产量方面,紫球藻在 1 g/L 和 1.5 g/L 的氮浓

度下可获得最大 APC 和 R-PC 产量;对于 B-PE,紫球藻 B-PE 产量随氮浓度的升高而升高。在胞外多糖产量方面,紫球藻获得最大胞外多糖所需的氮浓度为 1.5 g/L;但是,氮浓度为 1 g/L 和 1.5 g/L 下的紫球藻胞外多糖产量则无显著差异。对于 ARA 产量方面,紫球藻在 1 g/L 和 1.5 g/L 的氮浓度下获得的 ARA 产量无显著差异,但显著高于其他氮浓度下

的值。EPA 产量的变化趋势与 ARA 产量趋势是一致的。因此,基于图 5 的结果,为了节省培养成本,选择氮浓度为 1 g/L 作为紫球藻 FJ-12 培养的最佳氮浓度,不仅有利于紫球藻细胞的生长,还可以促进藻胆蛋白、胞外硫酸酯多糖和 PUFAs 活性产物的联产协同合成,克服了现有技术调控紫球藻合成多种活性物质的瓶颈问题。

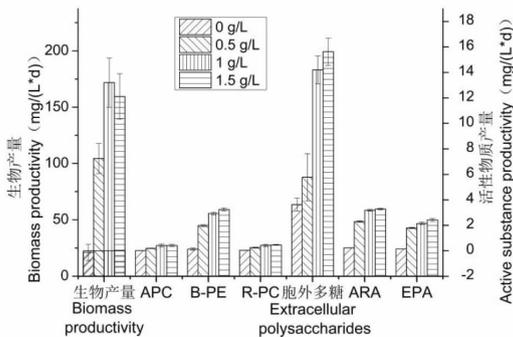


图5 不同氮浓度条件下的紫球藻生物产量和活性物质产量

Fig. 5 Biomass and active substance productivity of *P. cruentum* under different nitrogen concentrations

在 LED 绿光条件下,探究了不同氮浓度(0、0.5、1 和 1.5 g/L)对紫球藻细胞的生长和活性产物合成的影响。实验结果表明:紫球藻细胞在氮浓度为 1 g/L 条件下可获得最大的生物量(3.09 g/L);在氮浓度为 1 g/L 和 1.5 g/L 条件下,紫球藻细胞可获得较高的 APC、B-PE、R-PC、胞外多糖、ARA 和 EPA 浓度和产量。此外,与其他前人研究不同的是,本研究在 LED 绿光条件下,紫球藻在高氮浓度条件下所合成的这些活性物质不会出现下降趋势,可实现紫球藻联产协同合成藻胆蛋白、胞外硫酸酯多糖和 PUFAs,为规模化养殖紫球藻多联产开发生物活性物质提供实践依据。

参考文献

- Kavitha MD, Seema Shree MH, Vidyashankar S, et al. Acute and subchronic safety assessment of *Porphyridium purpureum* biomass in the rat model[J]. J Appl Phycol, 2016, 28: 1071-1083.
- Lin LQ, Liu LP, Huang J, et al. Immunomodulation of *Porphyridium cruentum* and its exopolysaccharides in mice[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2011, 23: 236-239.
- Adda M, Merchuk JC, Arad S. Effect of nitrate on growth and production of cell-wall polysaccharide by the unicellular red

- alga *Porphyridium* [J]. Biomass, 1986, 10: 131-140.
- Ismail GA, El-Sheekh MM, Samy RM, et al. Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of biosynthesized silver nanoparticles by phycobiliprotein crude extract of the cyanobacteria *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia* [J]. Bio-NanoScience, 2021, 11: 355-370.
- Mimkova KM, Toshkova RA, Gardeva EG, et al. Antitumor activity of B-phycoerythrin from *Porphyridium cruentum* [J]. J Pharm Res, 2011, 4: 1480-1482.
- Soanen N, Silva ED, Gardarin C, et al. Improvement of exopolysaccharide production by *Porphyridium marinum* [J]. Bioresour Technol, 2016, 213: 231-238.
- Ramanna L, Rawat I, Bux F. Light enhancement strategies improve microalgal biomass productivity [J]. Renew Sust Energ Rev, 2017, 80: 765-773.
- Huang ZC, Zhong C, Dai JX, et al. Simultaneous enhancement on renewable bioactive compounds from *Porphyridium cruentum* via a novel two-stage cultivation [J]. Algal Res, 2021, 55: 102270.
- Guihéneuf F, Stengel DB. Towards the biorefinery concept: Interaction of light, temperature and nitrogen for optimizing the co-production of high-value compounds in *Porphyridium purpureum* [J]. Algal Res, 2015, 10: 152-163.
- Li T, Xu J, Wu H, et al. Growth and biochemical composition of *Porphyridium purpureum* SCS-02 under different nitrogen concentrations [J]. Mar Drugs, 2019, 17: 124-140.
- Li SH, Ji L, Chen C, et al. Efficient accumulation of high-value bioactive substances by carbon to nitrogen ratio regulation in marine microalgae *Porphyridium purpureum* [J]. Bioresour Technol, 2020, 309: 123362.
- Wiltbank LB, Kehoe DM. Two cyanobacterial photoreceptors regulate photosynthetic light harvesting by sensing teal, green, yellow, and red light [J]. mBio, 2016, 7(1): e02130-15.
- You T, Barnett SM. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum* [J]. Biochem Eng J, 2004, 19: 251-258.
- Marcati A, Ursu AV, Laroche C, et al. Extraction and fractionation of polysaccharides and B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum* by membrane technology [J]. Algal Res, 2014, 5: 258-263.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Anal Chem, 1956, 28: 350-356.
- Kim SH, Sunwoo IY, Hong HJ, et al. Lipid and unsaturated fatty acid productions from three microalgae using nitrate and light-emitting diodes with complementary LED wavelength in

- a two-phase culture system [J]. *Bioproc Biosyst Eng*, 2019, 42:1517-1526.
- 17 Levy I, Gantt E. Development of photosynthetic activity in *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) following nitrogen starvation[J]. *J Phycol*, 1990, 26(1):62-68.
- 18 Carvalho AP, Silva SO, Baptista JM, et al. Light requirements in microalgal photobioreactors; an overview of biophotonic aspects[J]. *Appl Microbiol Biot*, 2011, 89:1275-1288.
- 19 Liu HX, Pan LL, Shi DJ. Effect of different light quality on growth and phycobilin of *Porphyridium cruentum* [J]. *J Tianjin Univ Sci Technol* (天津科技大学学报), 2007(1):26-28.
- 20 Razaghi A, Godhe A, Albers E. Effects of nitrogen on growth and carbohydrate formation in *Porphyridium cruentum* [J]. *Cent Eur J Biol*, 2014, 9:156-162.
- 21 Hu H, Wang HF, Ma LL, et al. Effects of nitrogen and phosphorous stress on the formation of high value LC-PUFAs in *Porphyridium cruentum* [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2018, 102:5763-5773.
- 22 Breuer G, Lamers PP, Martens DE, et al. The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalgae strains[J]. *Bioresour Technol*, 2012, 124:217-226.
- 23 Asgharpour M, Rodgers B, Hestekin J. Eicosapentaenoic acid from *Porphyridium cruentum*: increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products [J]. *Energies*, 2015, 8:10487-10503.

米糠和米糠油中植物甾醇的多巴胺神经保护作用研究

衰老相关的神经系统疾病目前是世界上致残的主要原因之一,帕金森病在这些疾病中发展最为迅速。到目前为止,还没有有效的神经保护疗法,因此,寻找预防或治疗帕金森病的药物具有重要的意义。研究发现,线粒体复合物 I 的抑制和氧化应激可能参与了帕金森病多巴胺能神经元的杀伤过程,因此,一些具有抗氧化特性或线粒体保护作用的天然产物由于具有细胞保护作用而备受关注。植物甾醇广泛存在于食品中,研究发现植物甾醇可以穿过血脑屏障并在大脑中积累,在治疗中枢神经系统疾病和神经退行性疾病方面具有一定的潜力。

来自江南大学食品科技学院的常明及其团队对米糠中的阿魏酸环烯酯(CYC-SF)、24-亚甲基环己烷阿魏酸酯(24-M-SF)和西托酯 3 β -D-吡喃葡萄糖苷(SITO-SG)以及米糠油中的谷甾醇(SITO)和阿魏酸酯(CAM-SF)的多巴胺能神经保护作用进行了研究。结果表明,除 SITO-SG 外, SITO、CYC-SF、24-M-SF 和 CAM-SF 对鱼藤酮诱导的秀丽隐杆线虫神经毒性具有保护作用。这些植物甾醇可以通过激活 DAF-16 通路,增加谷胱甘肽 S-转移酶 4(GST-4)和超氧化物歧化酶 3(SOD-3)的表达来抑制氧化应激,通过增加线粒体 ATP 含量和线粒体膜电位来调节线粒体功能。此外,它们还可以抑制鱼藤酮诱导的秀丽隐杆线虫中 CED-3 的过度表达。作为米糠和米糠油中重要的生物活性化合物,该结果不仅为 SITO、CYC-SF、24-M-SF 和 CAM-SF 作为神经退行性疾病治疗药物的潜力提供了重要启示,而且揭示了植物甾醇新的生物活性,为基于米糠开发的食品和米糠油的应用建立了营养学基础。相关研究发表在《Food & Function》杂志上。

胡乃华编译自: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/FO/D1F001509E>

原文标题: The dopaminergic neuroprotective effects of different phytosterols identified in rice bran and rice bran oil