

# 微生物混合培养生产油脂的研究进展

张勇<sup>1</sup>, 陈燕<sup>1</sup>, 李欣阳<sup>1</sup>, 王全颖<sup>1</sup>, 张永丰<sup>1</sup>, 王秋珍<sup>2</sup>

(1. 国家海洋局秦皇岛海洋环境监测中心站, 河北秦皇岛 066002; 2. 河北农业大学海洋学院, 河北秦皇岛 066000)

**摘要:**产油微生物具有生长迅速、对环境适应能力强等诸多优点,是油脂生产领域的研究热点。与单一微生物培养相比,微生物混合培养对底物的选择性更广泛、利用效率更高,近几年越来越多地应用于工农业废弃物、城市废水和食物垃圾等的处理以及微生物油脂的生产。简要介绍了微生物油脂,综述了微生物混合培养生产油脂的现状以及发酵底物的研究情况,并提出了今后的研究方向。藻-菌、藻-藻和菌-菌混合培养是微生物混合培养生产油脂的主要研究对象,尤其是微藻与酵母混合培养利用废弃物生产油脂,对于降低生产成本和保护环境具有重要意义。今后应扩大混合培养微生物的种类,并筛选高产高附加值代谢产物的微生物作为混合培养的研究对象。

**关键词:**产油微生物;混合培养;油脂;小球藻

中图分类号:Q939.9;TQ920 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)04-0133-06

## Progress on oil production by microbial mixed culture

ZHANG Yong<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, LI Xinyang<sup>1</sup>, WANG Quanying<sup>1</sup>,  
ZHANG Yongfeng<sup>1</sup>, WANG Qiuzhen<sup>2</sup>

(1. Marine Environment Monitoring Central Station of Qinhuangdao, State Oceanic Administration, Qinhuangdao 066002, Hebei, China; 2. Ocean College, Hebei Agricultural University, Qinhuangdao 066000, Hebei, China)

**Abstract:** Oleaginous microorganism which have many advantages, such as rapid growth and strong adaptability to the environment, has attracted intensive attention. Besides, compared with the monoculture, mixed culture exhibit wider selection for substrates as well as higher utilization efficiency. Recently, it has been increasingly used in the treatment of industrial and agricultural wastes, municipal wastewater and food wastes, as well as the microbial oil production. The microbial oil was simply introduced, the present situation of oil production by microbial mixed culture and the research status of substrates were reviewed, and the future research directions were proposed. The main object of microbial oil production by mixed culture was the combination of algae - yeast, algae - algae and yeast - yeast. Especially, oil production using wastes by mixed culture of microalgae and yeasts was of great significance in cost reduction and environment protection. Besides, it was necessary to enlarge the microorganism species as well as screening high - yield and high - value - added ones in the mixed culture in the future.

**Key words:** oleaginous microorganism; mixed culture; oil; *Chlorella* sp.

收稿日期:2021-04-23;修回日期:2021-05-15

基金项目:河北省自然科学基金(D2019204215);河北农业大学人才引进科研专项(YJ201834);自然资源部北海局海洋科技项目(202014)

作者简介:张勇(1989),男,工程师,硕士,研究方向为海洋生物资源(E-mail)zy19890105@163.com。

通信作者:王秋珍,讲师,硕士生导师(E-mail)qqzz1990@163.com。

在自然生态环境中,微生物之间具有错综复杂的互作关系(如互利共生、竞争拮抗等),通过调控自身以及其他生物的生长、生理和代谢活动,不断适应变化莫测的外界环境。在实验室纯培养条件下微生物能够调节自身活动以适应人工培养条件,生长和代谢活动均发生显著改变,最终导致可培养性和代谢产物的变化。混合培养方式能够促进微生物之间的物质、能量和信息交流,使微生物对碳、氮等营养物质的同化作用加强,促使更多的碳流向碳水化

合物<sup>[1]</sup>。因此,采用混合培养方法获得的微生物物质在食品、饲料、化工、可再生能源等方面具有更大的应用潜力。

全球范围内能源消耗和环境污染问题的加剧,促使人类对于生物质能源的探究更加深入。微生物油脂作为一种绿色可再生能源,不仅是合成生物柴油的重要底物,而且是很多功能化学品的重要来源。因此,通过微生物混合培养方式实现微生物油脂的高效生产对于解决当前的能源与环境问题具有重要意义。本文对微生物混合培养生产油脂的现状进行了综述,以为微生物油脂的高效生产提供参考。

## 1 微生物油脂概述

随着化石燃料的不断消耗,生物质能源的研究愈加深入。微生物具有生长迅速、底物来源广泛、油脂含量高的特点,是生物质燃料和天然活性产物的重要来源。某些微藻、真菌、原生生物和细菌等微生物均能合成大量的脂类物质,组成这些脂质的脂肪酸主要为中长链(14~22个碳原子)的饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸<sup>[2-3]</sup>。其中:含有14~18个碳原子的饱和脂肪酸如十四烷酸(C14:0)、棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)等,以及单不饱和脂肪酸如棕榈油酸、油酸等,是制备生物柴油的优良底物<sup>[4]</sup>;而长链多不饱和脂肪酸如二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、花生四烯酸(AA)和 $\gamma$ -亚麻酸(GLA)等具有重要的生理功能,在食品、医药、保健、饲料等行业具有重要的应用价值<sup>[5-6]</sup>。

微生物油脂的合成受多种因素的影响,其中培养基组成(碳源、氮源、无机盐等)和环境条件(温度、pH、盐度等)是工艺优化中研究最多的<sup>[2]</sup>。充足的碳源有利于微生物的快速生长,而限氮和低温条件则能够促进微生物细胞内油脂的累积。在操作模式上,与分批发酵相比,补料分批发酵更有利于微生物的生长和代谢产物的合成,但生产成本也更高。另外,某些微生物之间混合培养可以通过营养互补和信息交流互相促进彼此的生长和产物合成,同时结合培养条件的优化,最终比微生物单独培养表现出更高的生物量和油脂产量。

## 2 微生物混合培养生产油脂的现状

目前,关于微生物混合培养生产油脂的研究主要集中在藻-菌混合培养方面。藻-菌之间明显的营养互补优势,使其在废弃物处理和微生物油脂生产方面备受瞩目。菌-菌混合培养虽然研究得比较早,但近些年相关研究并不多;而藻-藻混合培养的研究较为缺乏。

### 2.1 藻-菌混合培养

藻-菌混合培养主要是微藻与酵母或细菌之间的混合培养。用于混合培养的微藻主要包括小球藻<sup>[7-8]</sup>、栅藻<sup>[9-10]</sup>、小椿藻<sup>[11]</sup>、雨生红球藻<sup>[12]</sup>、斜生四链藻<sup>[13]</sup>等;酵母主要包括粘红酵母<sup>[3,14-16]</sup>、圆红冬孢酵母<sup>[17-18]</sup>、酿酒酵母<sup>[2,19]</sup>、解脂耶氏酵母<sup>[20-21]</sup>等;细菌包括巴西固氮螺菌<sup>[9]</sup>、微藻共生菌<sup>[10]</sup>等。微藻与酵母混合培养具有诸多优点,是混合发酵中应用最多的微生物组合,其中小球藻与粘红酵母混合培养生产油脂的研究最多(表1)。一方面,微藻对有机物的降解能力较弱,但能够利用底物中的大量无机物,通过光合作用吸收环境中的二氧化碳并释放氧气,而酵母菌在有氧条件下可利用底物中的大量有机物进行自身的代谢,释放出二氧化碳。因此,微藻与酵母混合培养能够通过营养互补、气体交换和pH调节等机制,促进微生物代谢产物的合成和底物的有效利用。并且,微藻释放的一些次生代谢产物可以作为化感物质刺激酵母细胞的生长<sup>[14]</sup>。另外,在光照条件下微藻也可以与细菌在人工培养基和废弃物中进行混合培养。小球藻 *Chlorella vulgaris* SAG 211-19 与需氧细菌混合培养可以处理水产品加工废水,培养14 d后,小球藻的生物量和油脂含量分别达到0.82 g/L和32.15%<sup>[22]</sup>。栅藻可以与巴西固氮螺菌 *Azospirillum brasilense* ATCC 29145 或自身共生细菌进行混合培养<sup>[11-12]</sup>。

接种量和接种时间是影响藻-菌混合培养生长和油脂累积的重要因素。多数研究在进行藻-菌混合培养时,同时接种一定比例的藻液和菌液,并且藻液的细胞密度高于菌液。Zhang等<sup>[14]</sup>研究表明,同时接种不同比例的小球藻 *Chlorella vulgaris* 与粘红酵母 *Rhodotorula glutinis* (CGMCC No. 2258) 进行混合培养,当藻和菌的种子液接种比例均为3%时,其生物量和油脂产量分别为10.3 g/L和1.56 g/L,而当藻和菌的种子液接种比例分别为6%和3%时,其生物量和油脂产量分别为8.7 g/L和1.03 g/L。因此,微藻接种比例的增加会抑制菌体的生长和油脂累积。另外,少数研究先接种菌液,当菌体生长进入对数期以后,再接种藻液<sup>[17]</sup>。

微藻可以进行自养、异养和混合营养生活,微藻在进行纯培养时多数利用光合作用进行光自养生活。而在藻-菌混合培养时,光自养仍然是微藻的主要生活方式,但在暗发酵的异养条件下,培养体系中其他微生物的存在能够提高微藻对难降解底物的利用效率。在异养条件下单一微藻培养难以利用二糖,但蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa* 与粘红酵

母 *Rhodotorula glutinis* 在蔗糖条件下进行混合培养时,蛋白核小球藻却可以利用由粘红酵母水解蔗糖生成的葡萄糖和果糖,摇瓶培养 5 d 后,其油脂含量

达到 30% 以上(占细胞干重的比重)<sup>[15]</sup>。与自养方式相比,异养方式不需要光照,对环境 and 发酵设备的要求更低,在规模化生产中更具优势。

表 1 小球藻与酵母混合培养生产油脂的研究

菌株	发酵底物	培养条件	培养时间	油脂产量	参考文献
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 15-2070 和 <i>Rhodotorula glutinis</i> (GIM2.27)	未脱毒的木薯蔗渣水解液	光照,28℃,150 r/min	12 d	18.47 g/L	[3]
<i>Chlorella vulgaris</i> 和 <i>Rhodotorula glutinis</i> (CGMCC No.2258)	添加葡萄糖的改造 BG11 培养基	光照,30℃,180 r/min	120 h	1.56 g/L	[14]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 和 <i>Rhodotorula glutinis</i>	添加 1% 蔗糖的 BG11 培养基	暗培养,25℃,150 r/min	5 d	>0.79 g/L	[15]
<i>Chlorella vulgaris</i> UTEX2714 和 <i>Rhodotorula glutinis</i> 2.704	TAP 液体培养基添加葡萄糖至 7 g/L	16 h:8 h 光暗循环,30℃,150 r/min	72 h	1.05 g/L	[16]
	TAP 液体培养基添加乙酸钠至 10 g/L		84 h	0.74 g/L	
<i>Chlorella vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i> TISTR 8261 和 <i>Rhodotorula glutinis</i> TISTR 5159	纯甘油和人工培养基	16 h:8 h 光暗循环,30℃,140 r/min	5 d	0.05~0.12 g/g	[23]
	粗甘油和人工培养基			0.03~0.06 g/g	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> FACHB-9 和 <i>Rhodospiridium toruloides</i> AS 2.1389	黄酒酿造废水和生活废水(体积比 1:1)	12 h:12 h 光暗循环,30℃,140 r/min	5 d	4.60 g/L	[17]
<i>Chlorella vulgaris</i> 和 <i>Rhodospiridium toruloides</i>	未经脱毒和营养添加的餐厨垃圾水解物	暗培养,28℃,180 r/min	5 d	3.4 g/L	[18]
		光照,28℃,180 r/min		3.8 g/L	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 和固定化 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	添加 1% 蔗糖的液体 BG11 培养基	暗培养,25℃,150 r/min	96 h	0.04 g/L	[2]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 15-2070 和 <i>Yarrowia lipolytica</i> GIM 2.197	人工培养基	光照,28℃,170 r/min	72 h	0.77 g/L	[1]
<i>Chlorella vulgaris</i> NIES-227 和 <i>Yarrowia lipolytica</i> GIM 2.197	添加甘油的乳品废水消化液	光照,28℃,150 r/min	144 h	0.31 g/L	[20]
<i>Chlorella vulgaris</i> 和 <i>Yarrowia lipolytica</i>	稀释 5 倍的酵母工业消化液	光照,28℃,150 r/min	48 h	1.30 g/L	[21]

## 2.2 藻-藻混合培养

微藻与微藻之间混合培养生产油脂的研究较少,为数不多的研究表明栅藻可以与雨生红球藻、小球藻、野生藻类等进行混合培养<sup>[24-26]</sup>。一方面,混合培养微藻之间由于对营养成分的竞争导致培养液中总氮浓度的降低,以此作为环境压力有利于藻类细胞内油脂的合成<sup>[24]</sup>。另一方面,混合培养微藻释放的可溶性藻产物能够促进彼此的光合作用和同化作用,促进藻细胞的生长和油脂合成<sup>[24]</sup>。小球藻 *Chlorella vulgaris* 与二形栅藻 *Scenedesmus dimorphus* 同时接种至人工培养基中培养 10 d 后,油脂产量和油脂含量达到 3.84 g/L 和 10.9%<sup>[25]</sup>。栅藻 *Scenedesmus* sp. LX1 与雨生红球藻 *Haematococcus pluvialis* 混合培养可以用于处理生活二级废水(Domestic secondary effluent),同时接种不同比例(藻-藻细胞干重的比例 4:1、1:1 和 1:10)的两种

微藻时,其生物量可达到 0.51~0.54 g/L;并且在接种比例为 4:1 时,生物量最大<sup>[24]</sup>。故接种比例影响混合培养微藻的生长和油脂累积。此外,以模拟城市污水为发酵底物,栅藻 *Scenedesmus obliquus* FACHB 416 与池塘或湖泊野生藻可以进行混合培养,但其油脂产量显著低于栅藻单独培养<sup>[26]</sup>。因此,藻-藻混合培养能够用于多种废弃物的处理和油脂的生产,但对底物的利用效率普遍不高,并且藻类之间的混合培养工艺研究尚且缺乏,仍有待进一步探究。

## 2.3 菌-菌混合培养

菌-菌混合培养中经常使用的真菌包括酵母和霉菌,多用于发酵农业废弃物如玉米秸秆<sup>[27]</sup>、谷氨酸发酵废水<sup>[28]</sup>、丢糟<sup>[29]</sup>等。一般在采用的混合菌株中,至少有一种菌株具有较强的大分子物质降解能力,另外的菌株则具有较强的油脂累积能力。假

丝酵母 *Candida* sp. 具有较强的纤维素等多糖降解活性,而皮状丝孢酵母 *Trichosporon cutaneum* GIM 2.68 油脂累积能力强,两者混合培养可用于发酵丢糟,在最适培养条件下发酵 4 d 后,油脂转化率达到 2.114%<sup>[29]</sup>。玉米秸秆含有丰富的纤维素成分,可以用作多菌种发酵生产油脂的底物。利用绿色木霉 Green wooden mould GIM 3.139、烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* Fresenius GIM3.421 与皮状丝孢酵母 *Trichosporon cutaneum* GIM2.68 混合发酵玉米秸秆,在最适条件下油脂转化率达 1.247%<sup>[27]</sup>。其中绿色木霉和烟曲霉具有较强的纤维素降解活性,生成的五碳糖和六碳糖可用于皮状丝孢酵母油脂的合成。此外,酿酒酵母可以分别与德式乳酸杆菌、毕赤酵母等进行混合培养<sup>[30]</sup>。与藻-菌混合培养以及藻-藻混合培养相比,菌-菌混合培养的微生物之间在生长和油脂累积方面的协同作用不强,并且已有的研究主要集中在酵母和霉菌混合培养对农业废弃物的转化方面。因此,寻找更加多样的底物来源以及高产高附加值代谢产物的菌株类型,是未来值得探究的方向。

### 3 微生物混合培养产油的发酵底物研究现状

混合培养能够提高微生物对发酵底物的选择性和利用效率。混合培养体系中底物的碳、氮源种类和浓度以及二氧化碳水平也是影响微生物生长和油脂累积的关键因素。将酵母工业消化液用作小球藻 *Chlorella vulgaris* 与解脂耶氏酵母 *Yarrowia lipolytica* 的混合培养底物,随着底物稀释倍数的增加,其生物量和油脂产量均降低<sup>[21]</sup>。刘方舟等<sup>[16]</sup>研究了不同碳源(葡萄糖、甘油和乙酸钠)在不同初始质量浓度(1~10 g/L)下普通小球藻 *Chlorella vulgaris* UTEX2714 和粘红酵母 *Rhodotorula glutinis* 2.704 共培养的生长和油脂累积的情况,结果表明,不同碳源的最适质量浓度存在差异,3 种碳源的最适质量浓度分别为 7.5 g/L 和 10 g/L,栅藻 *Scenedesmus obliquus* 与其共生细菌 B1 进行混合培养时,使用添加 NaHCO<sub>3</sub> 的 BBM 人工培养基培养 16 d 后,栅藻的生物量和油脂含量分别达到 2.42 g/L 和 24.4%,显著高于未添加 NaHCO<sub>3</sub> 的对照组(1.38 g/L 和 22.0%)<sup>[10]</sup>。二氧化碳水平的增加能够提高微藻的光合作用速率,有利于推动混合培养体系碳的转化,进而促进微生物的生长和油脂合成。

与人工培养基相比,虽然废弃物作为发酵底物时微生物的生长相对较慢,但仍然可以获得较多的生物量和胞内油脂。微生物混合培养的研究多使用

工农业废弃物、城市废水、食物垃圾等作为发酵底物,废弃物中人工营养成分的添加能够促进微生物的生长和代谢产物的累积。小球藻与酵母混合培养能够利用酿酒厂废水<sup>[17]</sup>、工厂粗甘油副产物<sup>[23]</sup>、海产品加工废水<sup>[22]</sup>、城市废水<sup>[24]</sup>、木薯蔗渣水解液<sup>[3]</sup>、食品废弃物<sup>[18,31]</sup>等进行生长和油脂合成。蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa* 15-2070 与粘红酵母 *Rhodotorula glutinis* (GIM2.27) 在未脱毒的木薯蔗渣水解液中混合培养 12 d 后,两者的生物量和油脂产量分别达到 31.45 g/L 和 18.47 g/L<sup>[3]</sup>。微生物混合培养的底物可以使用一种废弃物,也可以使用两种以上的废弃物混合液。蛋白核小球藻与圆红冬孢酵母在黄酒酿造废水和生活废水混合液中培养 5 d 后,油脂含量和产量分别达到 63.45% 和 4.60 g/L<sup>[17]</sup>。藻-菌混合培养能够对多种废弃物进行高效利用,同时累积较高含量的油脂,是极具工业化应用前景的微生物组合,在废弃物资源化再利用方面具有很好的应用潜力。

此外,废弃物中添加一定比例的人工培养基成分或者碳氮源,往往更有利于微生物的快速生长和油脂累积,并且不同种类的外加碳源影响微生物的转化能力<sup>[16]</sup>。斜生四链藻 *Tetrademus obliquus* (ACOI 204/07) 与圆红冬孢酵母 *Rhodospiridium toruloides* NCYC 921 以啤酒厂二次废水为发酵底物进行混合培养,底物中甘蔗糖蜜的添加促进了微生物的生长,其生物量(1.68 g/L)明显高于未添加的对照组(0.44 g/L)<sup>[13]</sup>。以乳品废水发酵液和甘油为底物,小球藻 *Chlorella vulgaris* NIES-227 与解脂耶氏酵母 *Yarrowia lipolytica* GIM 2.197 混合培养 144 h 后,其生物量和油脂产量分别达到 1.62 g/L 和 0.31 g/L<sup>[20]</sup>。微生物混合培养利用来源广泛、价格低廉的各种废弃物作为发酵底物,能够降低生产成本,实现资源再利用和环境保护的目的。

### 4 结语

微生物混合培养生产油脂的研究主要集中在藻-菌、藻-藻和菌-菌混合培养,既可以利用富营养人工培养基,也可以发酵各种废弃物,是一种绿色、经济的油脂生产方式。藻-菌混合培养通过微藻与酵母(或细菌)之间的营养互补和化感物质作用,实现微生物的快速生长和油脂的大量累积,是目前该领域的研究热点。藻-藻混合培养可通过加强微藻之间的相互竞争,提供低氮环境促进脂质的累积。而菌-菌混合培养分别利用微生物的降解能力和油脂合成能力,提高产油微生物对大分子底物的利用效率。一方面,目前用于混合培养生产油脂的

微生物种类较少,主要为小球藻、栅藻、粘红酵母、圆红冬孢酵母和酿酒酵母,未来可以进一步将高产高附加值代谢产物的微藻和原生生物等用于混合培养生产油脂的研究。另一方面,混合培养代谢产物组成简单,脂肪酸组成多为 C14 ~ C18 的饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸,可用于生物柴油的生产原料;而针对长链多不饱和脂肪酸合成微生物的混合培养研究短缺,亟待全面深入研究。

#### 参考文献:

- [1] QIN L, LIU L, WANG Z, et al. The mixed culture of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and yeast *Yarrowia lipolytica* for microbial biomass production [J]. *Bioproc Biosyst Eng*, 2019, 42(9): 1409 – 1419.
- [2] WANG Q Z, CUI Y, SEN B, et al. Characterization and robust nature of newly isolated oleaginous marine yeast *Rhodospiridium* spp. from coastal water of Northern China [J]. *AMB Expr*, 2017, 7(1): 1 – 13.
- [3] LIU L, CHEN J, LIM P, et al. Enhanced single cell oil production by mixed culture of *Chlorella pyrenoidosa* and *Rhodotorula glutinis* using cassava bagasse hydrolysate as carbon source [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 255: 140 – 148.
- [4] WANG Q, SEN B, LIU X, et al. Enhanced saturated fatty acids accumulation in cultures of newly – isolated strains of *Schizochytrium* sp. and *Thraustochytriidae* sp. for large – scale biodiesel production [J]. *Sci Total Environ*, 2018, 631/632: 994 – 1004.
- [5] WANG Q, YE H, SEN B, et al. Improved production of docosahexaenoic acid in batch fermentation by newly – isolated strains of *Schizochytrium* sp. and *Thraustochytriidae* sp. through bioprocess optimization [J]. *Synth Syst Biotechnol*, 2018, 3(2): 121 – 129.
- [6] WANG Q, YE H, XIE Y, et al. Culturable diversity and lipid production profile of *Labyrinthulomycete* protists isolated from coastal mangrove habitats of China [J/OL]. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 268 [2021 – 04 – 23]. <https://doi.org/10.3390/md17050268>.
- [7] DASH A, BANERJEE R. Enhanced biodiesel production through phyco – myco co – cultivation of *Chlorella minutissima* and *Aspergillus awamori*: an integrated approach [J]. *Bioresour Technol*, 2017, 238: 502 – 509.
- [8] QIN L, WEI D. Transcriptome analysis reveals metabolic regulation mechanism of microalga *Chlorella pyrenoidosa* in response to the mixed culture with yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. *J Appl Phycol*, 2020, 32(5): 2841 – 2849.
- [9] CONTRERAS – ANGULO J R, MATA T M, CUELLAR – BERMUDEZ S P, et al. Symbiotic co – culture of *Scenedesmus* sp. and *Azospirillum brasilense* on N – deficient media with biomass production for biofuels [J/OL]. *Sustainability*, 2019, 11(3): 707 [2021 – 04 – 23]. <https://doi.org/10.3390/su11030707>.
- [10] 王雪晴, 邢向英, 董庆霖, 等. 藻 – 菌混合培养及添加 NaHCO<sub>3</sub> 促进栅藻生长和脂类合成 [J]. *中国油脂*, 2020, 45(8): 96 – 102.
- [11] BERTHOLD D E, SHETTY K G, JAYACHANDRAN K, et al. Enhancing algal biomass and lipid production through bacterial co – culture [J]. *Biomass Bioenerg*, 2019, 122: 280 – 289.
- [12] 董庆霖, 王瑶, 邢向英, 等. 淡紫拟青霉 TD16 促进雨生红球藻生长和油脂合成的研究 [J]. *中国油脂*, 2019, 44(8): 102 – 108.
- [13] DIAS C, GOUVEIA L, SANTOS J A L, et al. Using flow cytometry to monitor the stress response of yeast and microalgae populations in mixed cultures developed in brewery effluents [J]. *J Appl Phycol*, 2020, 32(6): 3687 – 3701.
- [14] ZHANG Z, JI H, GONG G, et al. Synergistic effects of oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and microalga *Chlorella vulgaris* for enhancement of biomass and lipid yields [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 164: 93 – 99.
- [15] WANG S, WU Y, WANG X. Heterotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* using sucrose as the sole carbon source by co – culture with *Rhodotorula glutinis* [J]. *Bioresour Technol*, 2016, 220: 615 – 620.
- [16] 刘方舟, 任洪艳, 陈红芬, 等. 不同碳源对普通小球藻和粘红酵母共培养产油脂的影响 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(8): 3612 – 3619.
- [17] LING J, NIP S, CHEOK W L, et al. Lipid production by a mixed culture of oleaginous yeast and microalga from distillery and domestic mixed wastewater [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 173: 132 – 139.
- [18] ZENG Y, XIE T, LI P, et al. Enhanced lipid production and nutrient utilization of food waste hydrolysate by mixed culture of oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* and oleaginous microalgae *Chlorella vulgaris* [J]. *Renew Energ*, 2018, 126: 915 – 923.
- [19] LA A, PERRÉ P, TAIDI B. Process for symbiotic culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Chlorella vulgaris* for in situ CO<sub>2</sub> mitigation [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2018, 103(2): 731 – 745.
- [20] QIN L, LIU L, WANG Z, et al. Efficient resource recycling from liquid digestate by microalgae – yeast mixed culture and the assessment of key gene transcription related to nitrogen assimilation in microalgae [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 264: 90 – 97.

合加注的样品,由于测试时先加入液氮后加入气氮,气氮的加注可能会将部分刚挥发的液氮排出,因此其内压值较低,满瓶抗压能力较低。本次实验中所使用的瓶型瓶口与瓶盖为压盖型,其密封性可能较旋盖型瓶口和瓶盖搭配的效果弱,因此可能在更换旋盖型瓶口和瓶盖后,液氮加注样品瓶内正压的保持时间能够进一步地延长。

### 3 结论

液氮加注、气氮加注和气液氮混合加注样品的酸值和过氧化值变化趋势基本一致;与常温储藏相比,液氮加注样品 45℃ 储藏 5 个月后酸值没有明显差别;液氮加注和气液氮混合加注样品初始及储藏过程中的过氧化值比气氮加注样品的稍高;常温下 3 种充氮方式样品的初始残氧值相差不大,但储藏过程中液氮加注和气液氮混合加注样品的残氧值明显低于气氮加注样品;常温下液氮加注样品瓶内存在正压,其满瓶抗压能力优于气氮加注和气液氮混合加注样品。

本次研究中有些问题还需改进:①此次研究中并未对产品的色泽进行测定;②液氮加注设备为临时增加设备,其与生产线的匹配度还有待完善和提高,应先按瓶内残留空间计算好液氮加注量,给予液氮充分的汽化时间,以逼走产品瓶内的空气;③未对

液氮加注量进行充分的梯度测试,未确定最适宜的液氮加注量来提升产品抗氧化能力;④可在以后的实验中进行旋盖型瓶口与瓶盖的搭配测试。

### 参考文献:

- [1] 李敏利,李宗军,熊巍林,等. 包装葵花籽油氧化稳定性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(6):42-45.
  - [2] 王洁,邹惠玲,夏攀登,等. 植物油脂氧化及其氧化稳定性研究进展[J]. 保鲜与加工, 2019(4):207-210.
  - [3] 程宏,隗合贵,李庆鹏,等. 油脂充氮储藏技术的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(3):161-163.
  - [4] 李庆鹏,程宏,陈钊. 规模型食用油氮气储藏工艺参数的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(12):186-189.
  - [5] 袁建,何海艳,何荣,等. 模拟油罐储藏大豆油氧化稳定性研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(3):92-98.
  - [6] 赵冬旺. 充氮法在油脂储藏保鲜方面的应用研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(2):146-148.
  - [7] 邹小雨,宋鹏,李万振,等. 大豆油充氮储藏技术的研究[J]. 食品工业科技, 2012(24):366-368.
  - [8] 吴木生,周欣欣,李爱梅,等. 充氮技术对天然矿泉水品质的影响[J]. 食品与机械, 2015(4):223-227.
  - [9] 蒋甜燕,孟庆宇,孔伟,等. 包装材料对食用植物油产品使用性能的影响因素分析[J]. 化工管理, 2019(34):128-129.
- 
- (上接第 137 页)
- [21] QIN L, WEI D, WANG Z, et al. Advantage assessment of mixed culture of *Chlorella vulgaris* and *Yarrowia lipolytica* for treatment of liquid digestate of yeast industry and cogeneration of biofuel feedstock[J]. Appl Biochem Biotech, 2018, 187(3): 856-869.
  - [22] NGUYEN T D P, NGUYEN D H, LIM J W, et al. Investigation of the relationship between bacteria growth and lipid production cultivating of microalgae *Chlorella vulgaris* in seafood wastewater[J/OL]. Energies, 2019, 12(12): 2282 [2021-04-23]. <https://doi.org/10.3390/en12122282>.
  - [23] CHEIRSILP B, KITCHA S, TORPEE S. Co-culture of an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and a microalgae *Chlorella vulgaris* for biomass and lipid production using pure and crude glycerol as a sole carbon source[J]. Ann Microbiol, 2011, 62(3): 987-993.
  - [24] WU Y, ZHU S, YU Y, et al. Mixed cultivation as an effective approach to enhance microalgal biomass and triacylglycerol production in domestic secondary effluent[J]. Chem Eng J, 2017, 328: 665-672.
  - [25] ZHU L, LI S, HU T, et al. Effects of nitrogen source heterogeneity on nutrient removal and biodiesel production of mono- and mix-cultured microalgae[J/OL]. Energ Convers Manage, 2019, 201: 112144 [2021-04-23]. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.112144>.
  - [26] QU Z, DUAN P, CAO X, et al. Comparison of monoculture and mixed culture (*Scenedesmus obliquus* and wild algae) for C, N, and P removal and lipid production[J]. Environ Sci Pollut R, 2019, 26(20): 20961-20968.
  - [27] 殷桃,李新社,胡墩柱,等. 多菌种混合发酵玉米秸秆生产微生物油脂的研究[J]. 中国酿造, 2011(6): 110-112.
  - [28] ZHENG S, YANG M, YANG Z, et al. Biomass production from glutamate fermentation wastewater by the co-culture of *Candida halophila* and *Rhodotorula glutinis* [J]. Bioresour Technol, 2005, 96(13): 1522-1524.
  - [29] 陆步诗,李新社,董海燕. 双菌混合发酵丢糟生产微生物油脂的研究[J]. 中国酿造, 2013, 32(1): 81-83.
  - [30] 白梦洋,吴祖芳,李若云,等. 混合培养条件下酿酒酵母菌与毕赤酵母菌的相互影响[J]. 食品科学, 2017, 38(12): 9-14.
  - [31] 孙万里. 利用餐厨垃圾和废水生产油脂研究[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(4): 30-33.