

废弃植物油对破囊壶菌生产多不饱和脂肪酸的影响

盛哲良, 朱 鹭, 徐继林, 何 山, 严小军*

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为研究废弃植物油对破囊壶菌生产 PUFA 的影响, 以混合葵花籽油和橄榄油高温烹煮后的废弃油为研究对象, 比较了在常规培养基中添加植物油和废弃植物油前后破囊壶菌 *Thraustochytrium* sp.S-3 的繁殖变化和脂肪酸组成变化。结果表明, 添加烹调前后的植物油均能对破囊壶菌生长产生明显的促进作用, 单位体积培养基中的总脂量可增加 1 倍左右; 同时, 破囊壶菌的脂肪酸组成跟植物油本身的脂肪酸组成有着明显正相关, 添加废弃植物油后, 能明显增加破囊壶菌合成 DHA 等 PUFA 的能力, 同时增加了破囊壶菌中十八碳不饱和脂肪酸的含量。研究结果对利用废弃植物油类作为碳源应用到破囊壶菌产业化生产 PUFA 提供了理论依据。

关键词: 废弃植物油; 破囊壶菌; 多不饱和脂肪酸

中图分类号: Q547; Q819

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2017) 02-0006-05

海洋生物(特别是在深海和寒冷地区的海洋生物)是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)等人体必需高度不饱和脂肪酸(PUFA)的主要来源。近 20 年以来, 越来越多的研究关注从海洋微生物中培养获得 PUFA, 这些微生物包括海洋细菌、海洋真菌和微藻类, 相对于鱼类生长, 这些微生物生长周期短且培养简单, 所以利用这类富含 PUFA 的微生物制备 EPA 或 DHA 等 PUFA 已成为当前健康营养来源研究的热点之一^[1-4]。裂殖壶菌类海洋微生物是一个新型的 PUFA 资源, 这类微生物生长速度快、发酵周期短, 是商业化生产 PUFA 特别是 DHA 理想的菌种之一^[5], 其中, 破囊壶菌已应用于商业化生产 DHA^[6-7]。

破囊壶菌是异养微生物, 需要发酵底物, 碳源和氮源的种类和数量对其合成 DHA 等 PUFA 的能力和水平有重要影响^[8-9], 葡萄糖和酵母提取液是最常用的碳源和有机氮源^[10], 蛋白胨、玉米浆及无机氮源等也对其生长具有促进作用^[11-12]。考虑到富含十八碳的植物油资源十分丰富, 如果可以在日常产业中大量的过期植物油资源或者加工食品后的废弃油资源通过添加到可以产生 EPA 或 DHA

的海洋微型生物的发酶培养基中, 则不仅可以产生出产业急需的高度不饱和脂肪酸, 而且可以促进植物油加工处理的循环经济发展。但至今未见破囊壶菌利用废弃植物油的详细研究报道。

本研究将植物油和废弃植物油作为碳源添加到破囊壶菌的培养基中, 考察植物油脂对破囊壶菌繁殖和生产 DHA 等 PUFA 的影响, 为进一步利用废弃植物油类作为碳源应用到破囊壶菌产业化生产 PUFA 提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

破囊壶菌菌株 *Thraustochytrium* sp.S-3(以下简称 *T. sp.S-3*)购自美国典型培养物培养中心(ATCC number 26185), 保存在 -80 °C。混合葵花籽油和橄榄油的原始植物油购自金光食品(宁波)有限公司。200 mL 植物油放在圆底铝锅内加热, 放入 500 g 茄子, 低火闷 15 min, 捞出茄子, 油冷却后, Bligh-Dyer 法^[13]提取油脂作为实验用烹调后的植物油。

1.2 破囊壶菌在不同培养基中的培养

菌株 *T. sp.S-3* 在 790 By+ ATCC 培养基(30 盐

收稿日期: 2016-08-10。

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.g.nbu.edu.cn/>

基金项目: 教育部博士点基金优先发展领域项目(20133305130001); 宁波市科技攻关项目(2015C10026)。

第一作者: 盛哲良(1990-), 男, 浙江宁波人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 海洋生物化学。E-mail: sheng9071@163.com

*通信作者: 严小军(1968-), 男, 江苏苏州人, 博导/教授, 主要研究方向: 海洋生物化学。E-mail: yanxiaojun@nbu.edu.cn

度海水中含葡萄糖 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 酵母膏 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床中培养 7 d, 菌密度达到 $34\,000\text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$. 取 $5\text{ }\mu\text{L}$ 加到 6 个 500 mL 不同培养基中, 在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床中继续培养. 6 种培养基分别为 YP (30 盐度海水中含酵母膏 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、GYP (30 盐度海水中含葡萄糖 $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 酵母膏 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、YPO (30 盐度海水中含酵母膏 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 植物油 $20\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$)、GYPO (30 盐度海水中含葡萄糖 $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 酵母膏 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 植物油 $20\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$)、YPO_f (30 盐度海水中含酵母膏 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 废弃植物油 $20\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 GYPO_f (30 盐度海水中含葡萄糖 $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 酵母膏 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 废弃植物油 $20\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$). 每天取 20 mL 培养液在 660 nm 下测定吸光度和细胞干重^[14]. 培养 5 d 后, 高速离心去除上层液, 用 30 盐度海水反复清洗 3 次, 冷冻干燥后 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存. 所有实验均重复 3 次.

1.3 总脂提取

参考 Bligh-Dyer 法^[13], 称取 1 g 待测样品, 加入 10 mL 甲醇, 加少量酸洗砂研磨, 匀浆 1 min , 然后加入 20 mL 氯仿, 继续匀浆 2 min , $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 上层转入 500 mL 分液漏斗; 下层加入氯仿-甲醇混合液(2:1 V/V) 30 mL 研磨, 离心, 合并上层液; 再用 20 mL 氯仿及 10 mL 甲醇洗涤滤渣, 合并上层液. 再向分液漏斗中加入全部体积 $1/4$ 的水, 振荡, 静置分层, 吸除上层及界面处固体物, 加入下层体积 $1/4$ 的甲醇-水混合物(1:1 V/V), 振荡, 静置分层, 吸掉上层液体及界面物, 重复洗涤 2 次. 下层氯仿溶液旋转蒸发后 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存. 所有总脂提脂重复 3 次, 总脂量取平均值.

1.4 脂肪酸分析

取约 4 mg 总脂, 依次加入 0.2 mL 甲苯、 1.5 mL 甲醇和 0.3 mL 8% (m/V) HCl 甲醇/水(85:15, V/V)溶液, 此溶液 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下油浴 1 h , 冷却后加入 1:4 氯仿:正己烷(V/V) 6 mL 分 3 次提取, 旋转蒸发仪真空干燥后加入 1 mL 正己烷定容后进行 GCMS 分析.

选择 QP 2010 气相色谱-质谱分析仪, 带 AOC-20 自动进样器(日本 Shimadzu 公司), 色谱分析进样口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 选择 $30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ SPB-50 色谱柱(美国 Supelco 公司), 载气纯度为 99.999% 高纯氮, 柱流速 $1.05\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱前压

73.0 kPa , 分流进样 $1\text{ }\mu\text{L}$, 分流比 50:1, 柱起始温度 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 3.5 min , 以 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 3.5 min , 再以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 20 min . 质谱分析离子源选用电子轰击(electron impact, EI)源, 电子能量为 70 eV , 离子源温度 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 接口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 选取全程离子碎片扫描(SCAN)模式, 质量扫描范围为 $50\sim 650\text{ m/z}$, 溶剂延迟 3.5 min .

2 结果

2.1 不同培养基中 *T. sp. S-3* 的生长效果

为比较不同培养基对 *T. sp. S-3* 生长的影响, 选择 2 种常规的破囊壶菌培养基 YP 和 GYP 以及向这些培养基中增加植物油和废弃植物油后的培养基. 结果表明, *T. sp. S-3* 在这 6 种不同培养基中表现出明显差异(图 1). 在无外加碳源的 YP 培养基中, *T. sp. S-3* 生长速率和最高密度均最低, 最高密度在第 4 天检测到, 只有 $3.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. 而在加入葡萄糖后的培养基 GYP 中, *T. sp. S-3* 生长速率比在 YP 中快, 最高密度也在第 4 天达到 $3.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. 而加入植物油后, YPO 培养基中 *T. sp. S-3* 的生物量比对应的 YP 培养基中明显增加, 经过 4 d 培养生物量达到最高 $5.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. 而 GYPO 培养基中 *T. sp. S-3* 的生物量第 3 天就达到最高 $7.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. 而加入烹调过的植物油后, YPO_f 培养基中 *T. sp. S-3* 的生物量在第 3 天达到最高 $6.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 而 GYPO_f 培养基中的生物量同样也在第 3 天达到最高 $8.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

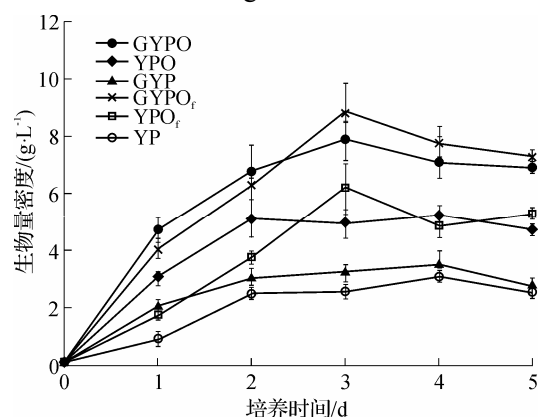


图 1 *T. sp. S-3* 在 6 种培养基中生长

2.2 培养基对 *T. sp. S-3* 脂肪酸组成的影响

比较不同培养基中繁殖的 *T. sp. S-3* 的脂肪酸组成(表 1). 在未添加植物油时, 破囊壶菌 *T. sp. S-3* 的多不饱和脂肪酸主要为 C22:6(n-3)(DHA)、C22:5

(n-6)和 C20:5(n-3)(EPA), 这 3 种脂肪酸之和占总脂肪酸比例超过 70%, 另外, 在添加了葡萄糖的 GYP 培养基里生长的破囊壶菌还含有一定量的 C20:4(n-6)(AA). 饱和脂肪酸主要为 C16:0 和 C15:0 脂肪酸, 另外含有少量的 C17:0 脂肪酸. 而添加了植物油或废弃植物油后, 除了以上脂肪酸组成外, 脂肪酸组成中增加了本来在破囊壶菌中未被检出而在植物油中大量存在的十八碳不饱和脂肪酸, 包括 C18:1(n-9)、C18:1(n-6)、C18:2(n-6)和 C18:3(n-3), 其中以 C18:2(n-6)和 C18:1(n-9)为主.

表 1 破囊壶菌 *T. sp. S-3* 在不同培养条件下的脂肪酸组成分析 %

脂肪酸	YP	YPO	YPO _f	GYP	GYPO	GYPO _f
C14:0	ND	0.12	0.18	0.22	0.18	0.16
C15:0	10.43	0.23	0.06	3.77	0.43	0.35
C16:0	13.32	12.89	15.04	13.31	13.48	13.53
C17:0	2.46	ND	ND	2.57	ND	ND
C18:0	0.99	1.1	1.55	ND	1.7	1.15
C18:1(n-9)	ND	9.17	8.89	ND	7.22	6.57
C18:1(n-6)	ND	2.66	2.91	ND	2.68	3.11
C18:2(n-6)	ND	14.1	16.62	ND	13.41	12.51
C18:3(n-3)	ND	1.7	2.03	ND	1.59	1.60
C20:0	ND	0.07	0.12	ND	0.06	0.32
C20:2(n-7)	ND	0.74	2.05	ND	1.08	0.82
C20:4(n-6)	ND	2.37	1.76	2.7	1.71	1.89
C20:5(n-3)	7.51	5.98	3.82	9.66	4.61	4.34
C22:5(n-6)	12.78	14.2	14.8	16.71	17.6	17.47
C22:6(n-3)	52.46	34.67	30.17	51.06	34.25	36.18

注: ND 指未检出; YP、YPO、YPO_f、GYP、GYPO、GYPO_f 总脂含量分别为 0.25, 0.47, 0.59, 0.37, 0.69, 0.72 mg·mL⁻¹, 总脂含量指单位体积培养液中的破囊壶菌可提出的总脂量.

为了进一步考察植物油对破囊壶菌脂肪酸组成产生影响的原因, 也对植物油烹调前后脂肪酸的组成进行了分析(表 2), 发现该植物油的主要脂肪酸组成为十六碳饱和脂肪酸和十八碳不饱和脂肪酸, 其中, C18:2(n-6)含量最高, 占总脂肪酸一半

表 2 植物油烹调前后的主要脂肪酸组成分析 %

名称	脂肪酸					
	C16:0	C18:0	C18:1(n-9)	C18:1(n-6)	C18:2(n-6)	C18:3(n-3)
1	9.42	0.29	20.42	6.81	58.77	4.29
2	12.38	0.58	20.53	6.92	54.35	5.24

注: 1 为植物油; 2 为废弃植物油.

以上. 该植物油经过高温烹调茄子后主要脂肪酸成分基本不变, 但明显饱和脂肪酸的百分组成增加, 而 C18:2(n-6)的含量有所降低.

3 讨论

为选择合适的添加植物油或废弃植物油的浓度, 预实验了向 GYP 培养基中加入不同浓度(5, 10, 20, 50 mL·L⁻¹)植物油对 *T. sp. S-3* 生长效果的影响, 结果表明, 添加量 20 mL·L⁻¹ 以上后, 跟添加 20 mL·L⁻¹ 的影响结果无统计性差异, 所以本研究选择添加 20 mL·L⁻¹ 植物油或废弃植物油来考察植物油对 *T. sp. S-3* 的生长效果的影响.

研究表明, 培养基的种类和组成直接影响了破囊弧菌的生长^[15-16]. 本研究中, 在无外加碳源的 YP 培养基中, *T. sp. S-3* 生长速率和可达到的最高密度均最低, 而在加入葡萄糖作为碳源后的培养基 GYP 中生长速率明显比在 YP 中快, 葡萄糖对破囊壶菌的这种促进作用跟其他研究者的结果相仿^[16]. 许多学者试图利用更便宜或者废弃碳源来生产 PUFA, 比如 Fan 等^[17]曾试图利用豆渣废弃物来培养破囊壶菌, 但发现效果并不理想; 也有研究者利用酿酒废水作为介质培养一种裂殖壶菌 *Schizochytrium sp. KH105*, 发现通过添加葡萄糖等营养后产 DHA 的效果很好^[18]. 考虑到厨房烹调过程中会产生大量废弃植物油脂, 在本研究中, 比较了植物油和烹调用过的植物油对 *T. sp. S-3* 繁殖的影响. 图 1 表明 YPO 培养基培养 *T. sp. S-3* 效果比 GYP 明显, 说明在促进 *T. sp. S-3* 繁殖效果上, 植物油完全可以代替葡萄糖作为碳源, 而且效果更佳. 同时也表明, GYPO 培养基比 YPO 效果更好, 说明类似植物油和葡萄糖同时存在更为丰富的碳源更有利于促进 *T. sp. S-3* 的繁殖. 另外, 从图 1 也可以看出, GYPO_f 培养基和 GYPO 培养基中 *T. sp. S-3* 的生长速度没有明显差异, 甚至在大多数的生长时期, GYPO_f 培养基和 GYPO 培养基效果更佳, 似乎烹调过的植物油比原植物油有着更强的功效. 可见, 废弃烹调过的植物油脂也是培养破囊弧菌的优良碳源.

从本文的结果看(表 1), 在没有添加植物油之前, 破囊壶菌 *T. sp. S-3* 的总饱和脂肪酸占总脂肪酸比例小于 30%, PUFA 含量超过 70%, 其中 DHA 占总脂肪酸的含量均超过 50%, 其他 PUFA 均为二十

碳以上的不饱和脂肪酸,说明破囊壶菌 *T. sp.*S-3 确实是最具生产 PUFA 特别是 DHA 潜力的微生物之一。比较加入植物油前后的破囊壶菌脂肪酸组成可见(表1中 YP/YPO 组或者 GYP/GYPO 组),破囊壶菌脂肪酸组成跟植物油本身脂肪酸组成有着明显的正相关,十六碳饱和脂肪酸比例基本没有改变,均保持在 13%左右,但其他饱和脂肪酸特别是十五碳和十七碳饱和脂肪酸的比例大大降低;另外,破囊壶菌中本来含有的 PUFA 特别是 DHA 含量大幅降低,均从本来占总脂肪酸一半比例左右降低到 1/3 左右, EPA 也有一定程度降低,但 C22:5(n-6)脂肪酸的比例却能保持不变,甚至略有增加;相反地,本来破囊壶菌中并不存在的十八碳不饱和脂肪酸的比例均大幅度增加,其中 C18:2(n-6)和 C18:1(n-9)含量最高。而从表2中就可以发现,那些加入植物油后从破囊壶菌中多出的十八碳脂肪酸均为植物油本身的主要脂肪酸,植物油中主要的十六碳饱和脂肪酸在破囊壶菌中的比例也可以保持不变,说明破囊壶菌可以直接吸收利用植物油中的脂肪酸合成自身脂质,这也是为什么破囊壶菌原来带有的如 DHA、EPA 等大多脂肪酸比例会降低的缘故。有趣的是, C22:5(n-6)这个脂肪酸在植物油中并不存在,但在加入植物油后培养的破囊壶菌中的比例却能保持不变,甚至略有增加,说明破囊壶菌中 C22:5(n-6)有着不同于其他脂肪酸的合成途径,该途径需要进一步深入研究。

虽然在培养基中添加植物油后,破囊壶菌的 DHA 占总脂肪酸的比例从 50%左右减少到只有 1/3 左右,但由于植物油的添加大大增加了破囊壶菌的生物总量(图1),因而单位体积培养液产出的总脂量也会明显增加(表1),所以产出的 DHA 总量自然增加。再加上其他十八碳不饱和脂肪酸的比例的增加,所以总 PUFA 的量也会明显增加。

另外,通过比较培养基中添加高温烹调前后的植物油的实验结果发现,总体而言,两者的差别不是太明显,均能对破囊壶菌的生长有明显促进作用(图1)。此外,在 YP 中添加烹调后的油后(YPO_F),单位体积培养液中破囊壶菌提取的总脂量从 0.25 mg·mL⁻¹ 可以增加到 0.59 mg·mL⁻¹;而在 GYP 中添加后(GYPO_F),总脂量则从 0.37 mg·mL⁻¹ 增加到 0.72 mg·mL⁻¹,均增加了 2 倍左右。同时脂肪酸组

分之间差别也不太明显(表2),这是因为烹调前后植物油本身除了饱和十六碳有了一定程度增加外,总体脂肪酸组成变化不是很明显的缘故。所以跟烹调前植物油的效果类似,烹调后的植物油同样能使破囊壶菌生产 DHA 等 PUFA 的能力大大增加,是培养破囊壶菌生产 PUFA 的良好碳源。

由于本研究实验用是混合葵花籽油和橄榄油高温烹煎茄子后的废弃油,而不同品牌的植物油加工不同的食品所得废弃植物油的成分一定有一定差异,本研究已经表明,破囊壶菌的脂肪酸组成跟培养基中添加的植物油脂脂肪酸组成有着直接的联系,所以不同类型和烹煮不同食品后废弃植物油对破囊壶菌生产 PUFA 的影响仍需要进一步深入研究。

4 结论

比较了在常规培养基中添加植物油和废弃植物油前后破囊壶菌繁殖速度和脂肪酸组成的变化。结果表明,添加烹调前或烹调后的植物油均能对破囊壶菌生长产生明显促进作用,单位体积培养基中的总脂量可增加 1 倍左右。同时,破囊壶菌的脂肪酸组成跟植物油本身脂肪酸组成有着明显的正相关;添加废弃植物油后,能明显增加破囊壶菌合成 DHA 等 PUFA 的能力,同时增加了破囊壶菌中十八碳不饱和脂肪酸的含量,表明废弃植物油类是破囊壶菌产业化生产 PUFA 的优质碳源。

参考文献:

- [1] BARROW C J. Marine nutraceuticals: glucosamine and omega-3 fatty acids: New trends for established ingredients[J]. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 2010, 21(2):36-39.
- [2] DYAL S D, NARINE S S. Implications for the use of *Mortierella* fungi in the industrial production of essential fatty acids[J]. *Food Research International*, 2005, 38:445-467.
- [3] BARCLAY W R, MEAGER K M, ABRIL J R. Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae like microorganisms[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1994, 6(2):123-129.
- [4] WARD O P, SINGH A. Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(12):3627-3652.

- [5] FEDOROVA-DAHMS I, MARONE P A, BAILEY-HALL E, et al. Safety evaluation of algal oil from *Schizochytrium* sp.[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(1):70-77.
- [6] RAGHUKUMAR S. Thraustochytrid marine protists: Production of PUFAs and other emerging technologies[J]. Marine Biotechnology, 2008, 10(6):631-640.
- [7] LEWIS T E, NICHOLS P D, MCMEEKIN T A. The biotechnological potential of thraustochytrids[J]. Marine Biotechnology, 1999, 1(6):580-587.
- [8] NAGANO N, TAOKA Y, HONDA D, et al. Optimization of culture conditions for growth and docosahexaenoic acid production by a marine thraustochytrid, *Aurantiochytrium limacinum* mh 0186[J]. Journal of Oleo Science, 2009, 58(12):623-628.
- [9] WEN Z Y, CHEN F. Optimization of nitrogen sources for heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by the diatom *Nitzschia laevis*[J]. Enzyme & Microbial Technology, 2001, 29(6):341-347.
- [10] ZHOU L, LU Y, ZHOU M. Enhanced production of docosahexaenoic acid using *Schizochytrium* sp. by optimization of medium components[J]. Journal of Chemical Engineering of Japan, 2007, 40(12):1093-1100.
- [11] BAJPAI P K, BAJPAI P, WARD O P. Optimization of production of docosahexaenoic acid (DHA) by *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1991, 68(7):509-514.
- [12] IIDA I, NAKAHARA T, YOKOCHI T, et al. Improvement of docosahexaenoic acid production in a culture of *Thraustochytrium aureum* by medium optimization[J]. Journal of Fermentation Bioengineering, 1996, 81(1):76-78.
- [13] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. Canadian Journal of Biochemistry & Physiology, 1959, 37(8):911-917.
- [14] GUPTA A, ABRAHAM R E, BARROW C J, et al. Omega-3 fatty acid production from enzyme saccharified hemp hydrolysate using a novel marine thraustochytrid strain[J]. Bioresource Technology, 2015, 184:373-378.
- [15] LI J, LIU R, LI X, et al. A strategy for the highly efficient production of docosahexaenoic acid by *Aurantiochytrium limacinum* SR21 using glucose and glycerol as the mixed carbon sources[J]. Bioresource Technology, 2015, 177(177C):51-57.
- [16] FAN K W, CHEN F, JONES E B G, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids production by and okara-utilizing potential of thraustochytrids[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2001, 27(27):199-202.
- [17] YAMASAKI T, AKI T, SHINOZAKI M, et al. Utilization of shochu distillery wastewater for production of polyunsaturated fatty acids and xanthophylls using thraustochytrid[J]. Journal of Bioscience & Bioengineering, 2006, 102(4):323-327.

Effect of waste plant oil on the production of PUFA by *Thraustochytrium*

SHENG Zhe-liang, ZHU Si, XU Ji-lin, HE Shan, YAN Xiao-jun*

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: This paper aimed to study the effect of waste plant oil on the production of PUFA by *Thraustochytrium*. Waste plant oil was obtained by heating the mixture of sunflower oil and olive oil at a high temperature. The growth and fatty acid composition of *Thraustochytrium* were recorded prior to and following the treatment of plant oil or waste plant oil. The results showed that both plant oil and waste plant oil significantly promoted the growth of *Thraustochytrium* with the total fat per unit medium being increased by 1-fold. Fatty acid composition of *Thraustochytrium* was positively correlated with the fatty acid composition of plant oil. Waste plant oil significantly increased the capacity of the *Thraustochytrium* to synthesize PUFA/DHA and eighteen carbon unsaturated fatty acid content. These results highlight the potential use of plant oils as a carbon source for industrial production of PUFA by *Thraustochytrium*.

Key words: waste plant oil; *Thraustochytrium*; polyunsaturated fatty acids

(责任编辑 章踐立)