

doi: 10.7541/2018.100

# 一株富含 $\alpha$ -亚麻酸栅藻的异养培养条件优化

孟霞<sup>1,2</sup> 高宏<sup>1</sup> 孔任秋<sup>1</sup> 徐旭东<sup>1</sup>

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** HSJ296是本实验室分离纯化的1株能够异养生长、富含 $\alpha$ -亚麻酸的栅藻(*Scenedesmus* sp.)。研究比较了不同温度、氮源和葡萄糖浓度对其生长的影响, 结果显示, 其最适培养条件为30℃、4 g/L尿素和20—40 g/L葡萄糖。通过分析不同培养条件下HSJ296总脂中的脂肪酸组成, 发现主要含有十六碳脂肪酸(C16:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)和 $\alpha$ -亚麻酸( $\alpha$ -C18:3), 并且 $\alpha$ -亚麻酸的含量稳定在35%—45%。栅藻HSJ296发酵产品或可用作鱼类饲料添加剂以补充 $\alpha$ -亚麻酸等营养。

**关键词:** 栅藻HSJ296;  $\alpha$ -亚麻酸; 异养生长

**中图分类号:** S917.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-3207(2018)04-0819-05

$\alpha$ -亚麻酸( $\alpha$ -linolenic acid, ALA) 为全顺式9,12,15-十八碳三烯酸, 属于 $\omega$ -3系列多不饱和脂肪酸, 通过碳链的延长及进一步的脱饱和, 最终可以形成二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)<sup>[1]</sup>。EPA是动物体内三烯前列腺素(如PGI<sub>3</sub>, TXA<sub>3</sub>)的前体, DHA则是大脑、视网膜等神经系统磷脂的主要成分。ALA及其衍生物EPA和DHA对于动物的脑组织发育、神经系统的信号传导、心血管系统的发育以及细胞抗氧化等方面的重要作用已被公众所认知和接受。由于人类和其他哺乳动物自身不能合成ALA, 体内所需的ALA必须从食物中摄取; 而且, 摄入的 $\omega$ -3/ $\omega$ -6脂肪酸比例过低也会导致ALA不能向DHA和EPA有效转化, 导致心理疾病和心血管疾病<sup>[2,3]</sup>。因此, 及时补充 $\alpha$ -亚麻酸对人类和动物的健康非常必要。2011年欧盟食品安全局(EFSA)在营养科学公告中也提出, ALA与大脑及神经组织发育密切相关, 建议在日常膳食中添加ALA<sup>[4]</sup>。

人类的 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸来源于植物和鱼类等食物中的油脂成分。鱼类的生长发育也需要 $\omega$ -3系列多不饱和脂肪酸, 在自然水体主要来自于摄食的藻类和其他植物。研究表明, 在饲料中添加ALA可以满足养殖鱼类对于这类脂肪酸的需求, 促

进其生长和健康<sup>[5,6]</sup>。

微藻是一类单细胞或多细胞的低等植物或微生物。微藻中许多种类富含蛋白质、油脂、多糖等营养成分, 还有的种类富含不饱和脂肪酸、类胡萝卜素、维生素等生理活性成分。螺旋藻、小球藻等藻类干粉作为饲料添加剂, 可显著促进水产动物的生长、代谢和抗病力<sup>[7-10]</sup>。但是, 目前的微藻产业主要依靠自养生长进行开放池培养, 总体产量低、价格高, 只能满足较高端的消费, 难以用于水产动物饲料产业, 并且螺旋藻等藻种ALA含量很低。为此, 需要筛选富含ALA、可异养生长的藻种, 发展微藻的发酵技术, 极大地提高单位面积微藻产量。本文对一种筛选到的富含ALA的栅藻(*Scenedesmus* sp.)进行异养培养条件优化, 作为对这一思路的初步尝试。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种来源

栅藻HSJ296是本实验室分离筛选到的能利用葡萄糖作为碳源进行异养生长的藻株, 其 $\alpha$ -亚麻酸占总脂含量较高。

### 1.2 培养条件

采用基础培养基(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.7 g/L; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,

收稿日期: 2017-05-31; 修订日期: 2017-12-16

基金项目: 中国科学院科技服务网络计划(KFJ-SW-STS-163)资助 [Supported by the Science and Technology Service Network Program of CAS (KFJ-SW-STS-163)]

作者简介: 孟霞(1991—), 女, 山东菏泽人; 硕士研究生; 研究方向藻类生物技术。E-mail: 15927573633@163.com

通信作者: 徐旭东, E-mail: xux@ihb.ac.cn

0.3 g/L;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.3 g/L;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3 mg/L; glycine, 0.1 g/L; vitamin  $\text{B}_1$ , 0.01 mg/L; A5, 1 mL/L), 碳源为葡萄糖, 其浓度根据实验需求确定。氮源经比较尿素、酵母提取物、甘氨酸、硝酸钾、硝酸铵确定。藻株在黑暗条件下异养培养, 在500 mL三角瓶加入120 mL培养基, 控温摇床转速为150 r/min, 初始接种量为 $A_{680}$ 为0.05。

使用发酵罐培养时, 首先校准5 L规格(BI-OTECH-5BG)发酵罐的pH电极和溶氧电极, 以及补料泵的流速, 在发酵罐罐体中加入3 L培养基, 密封各接口, 然后放置在高压灭菌锅内121℃高压灭菌30min。灭菌后, 插入温度探测器, 连接pH电极和溶氧电极, 设置温度为 $(30.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 搅拌速度为200 r/min, 溶氧不低于40%。pH利用接种火环将对数期种子液、葡萄糖以及不能灭菌的培养成分接入罐体, 黑暗异养培养5d, 每隔24h取样, 测定各项指标。

### 1.3 总脂提取和脂肪酸组分分析

按照本实验室以前报道中的方法进行<sup>[11, 12]</sup>, 略有修改。以6000 r/min离心5min收集藻细胞, 使用无菌水洗藻细胞2—3次, 对其进行冷冻干燥。称取0.1 g干燥粉于15 mL玻璃离心管中, 加入2 mL的氯仿和2 mL的甲醇, 涡旋振荡1min左右, 初步打散藻细胞。然后利用超声波破碎仪, 以200 W功率的超声波粉碎藻细胞。超声破碎后, 静置30min, 以2000 r/min离心10min, 转移上层提取物至50 mL圆底玻璃离心管中, 然后重复超声和转移提取液步骤3遍。最后, 向50 mL圆底玻璃离心管中加入1/3体积(4 mL)灭菌超纯水, 稍微振荡后, 以2000 r/min离心10min。转移下层有机相至已知重量的称量瓶中, 置于通风橱中用氮气吹干至恒重, 称重并计算总脂含量。

称取约10 mg总脂进行甲酯化, 将称好的总脂转至1.5 mL Agilent玻璃瓶中, 用氮气吹干各溶剂后, 加入1 mL 1mol/L的硫酸甲醇溶液, 充氮气密封, 在沸水浴中处理1h。自然冷却后, 加入200 mL ddH<sub>2</sub>O, 混匀, 用200 mL正己烷萃取3次, 合并有机相, 用氮气吹干。用100 mL正己烷重新溶解油脂, 取1 mL样品通过气相色谱分析脂肪酸组分。所有结果均是3次平行实验测试数据的平均值 $\pm$ 标准误。

## 2 结果

### 2.1 氮源的优化

在30℃条件下对栅藻HSJ296进行异养培养, 比较了5种氮源, 即尿素、硝酸钾、硝酸铵、甘氨酸和酵母提取物对藻株生长的影响。培养基内葡萄

糖浓度均为6 g/L, 5种氮源的浓度均为1 g/L。

如图1所示, 相比其他氮源, 尿素最适合HSJ296的生长。之后, 我们设置了1—10 g/L的4个尿素浓度梯度, 进行藻株培养。如图2所示, 尿素浓度为4 g/L时, HSJ296的生长状况较好。在这4个尿素浓度条件下, 其总脂含量都在10%左右(数据未显示)。

### 2.2 葡萄糖浓度的优化

在尿素浓度为4 g/L、培养温度为30℃条件下, 设置10、20、30和40 g/L葡萄糖浓度梯度, 进行异养培养。如图3所示, 在96h内, 10—40 g/L初始葡萄糖浓度对HSJ296的生长影响不大。96h以后, 10 g/L葡萄糖已基本被消耗完, 藻株停止生长; 而葡萄糖初始浓度设置为20、30和40 g/L时, 藻株仍保持快速增长, 与图1、图2相比在120h内一直未进入稳衡期。在不同葡萄糖浓度下, 总脂含量约为

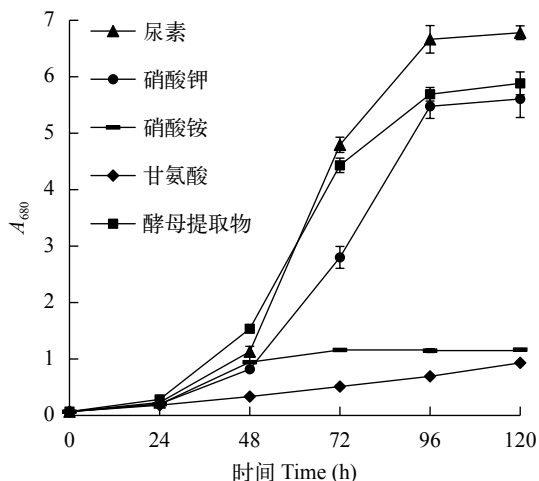


图1 不同氮源下HSJ296的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of HSJ296 for different nitrogen sources

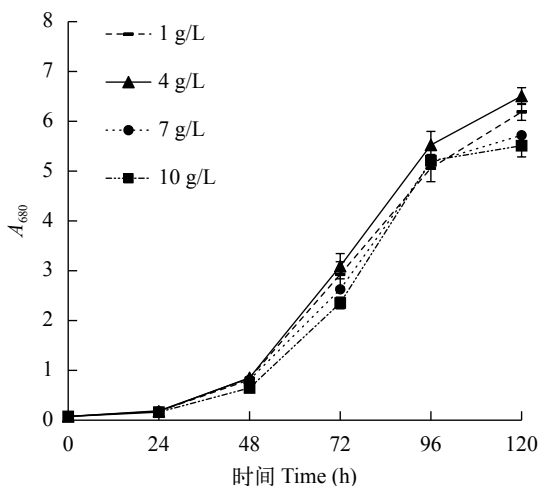


图2 不同尿素浓度下HSJ296的生长曲线

Fig. 2 Growth curves of HSJ296 at different concentrations of urea

10% (数据未显示)。

2.3 温度的比较

在尿素浓度为4 g/L、葡萄糖浓度为20 g/L条件下,比较了不同温度对藻株生长的影响。设置20、25、30和35℃四个梯度培养该藻。如图4所示,培养温度为30℃时,HSJ296的生长速率最快。在该温度下油脂含量略高,达到11.43%。

2.4 脂肪酸组分分析

对以上在不同尿素浓度下培养至120 h收集获得的藻细胞进行脂肪酸组分分析(表1),发现在浓度为7 g/L时,总脂中ALA含量平均值略高,为47.7%;浓度为1、4和10 g/L时总脂中ALA的含量分别为39.99%、42.54%和40.8%,但平行实验之间有变动,差异并不显著。

对在不同温度条件下培养收集获得的藻细胞,

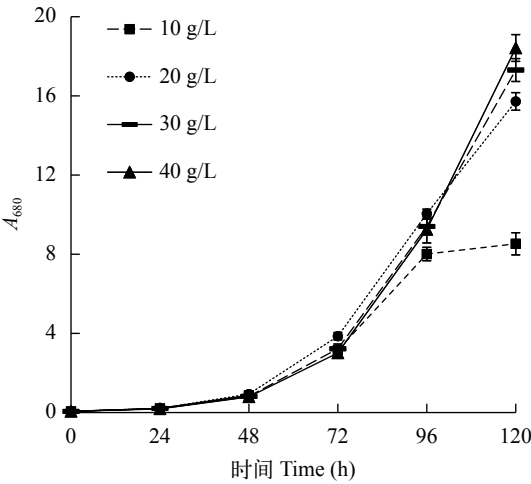


图3 不同葡萄糖浓度下HSJ296的生长曲线

Fig. 3 Growth curves of HSJ296 at different concentrations of glucose

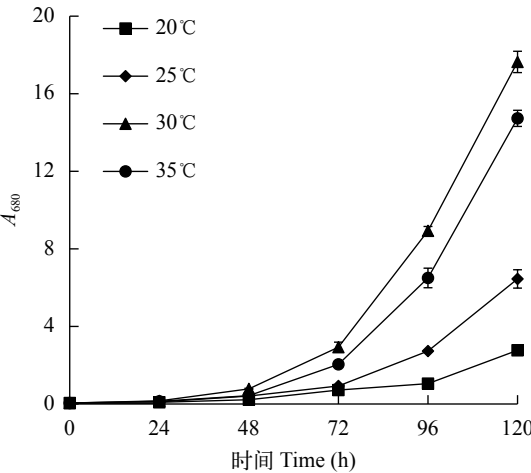


图4 不同温度下HSJ296的生长曲线

Fig. 4 Growth curves of HSJ296 at different temperatures

进行脂肪酸组成分析(表2),表明在30℃时ALA含量平均值略高,为42.56%。

对在不同葡萄糖浓度条件下培养收集获得的藻细胞进行脂肪酸组成分析(表3),表明在葡萄糖浓度为30 g/L时总脂中ALA含量平均值略高,为43.8%。

通过以上实验,我们发现30℃、4 g/L尿素和20—40 g/L葡萄糖是适合HSJ296异养培养的条件。但是,在7 g/L尿素时ALA含量平均值略高。两者相比较,尿素在4—7 g/L范围都适合该种栅藻的发酵。

2.5 发酵罐培养

在碳源(葡萄糖)相对充足的情况下,不添加其他任何营养物质,利用基础培养基异养培养HSJ296 120h。培养温度为30℃,初始葡萄糖浓度为20 g/L,转速为200 r/min,不控制pH。

表1 在不同尿素浓度条件下HSJ296总脂的脂肪酸组成

Tab. 1 Fatty acid composition (mol %) of total lipids in HSJ296 cultured at different concentrations of urea

| 脂肪酸<br>Fatty acid | 尿素浓度<br>Urea concentration (g/L) |            |            |            |
|-------------------|----------------------------------|------------|------------|------------|
|                   | 1                                | 4          | 7          | 10         |
| C14:0             | 0.22±0.21                        | 0.23±0     | 0.33±0     | 0.47±0.01  |
| C14:1             | 0±0                              | 0.02±0     | 0±0        | 0.02±0.03  |
| C16:0             | 30.24±6.14                       | 26.41±0.57 | 29.3±0.05  | 32.5±0.06  |
| C16:1             | 2.31±3.31                        | 0.36±1.71  | 0.5±0.02   | 0.36±0.01  |
| C18:0             | 0.69±0.67                        | 1.05±0.06  | 0.7±0.02   | 0.82±0.63  |
| C18:1             | 11.32±1.61                       | 14.09±1.54 | 10.02±1.52 | 10.75±0.41 |
| C18:2             | 8.86±1.28                        | 9.85±0.56  | 10.12±0.96 | 8.59±0.44  |
| $\alpha$ -C18:3   | 39.99±5.53                       | 42.54±3.09 | 47.7±4.06  | 40.8±0.04  |
| $\gamma$ -C18:3   | 0.07±0.13                        | 0.19±0     | 0±0        | 0.17±0     |
| C18:4             | 3.64±0.54                        | 3.65±0.61  | 4.49±0.41  | 3.9±0.19   |

表2 在不同温度条件下HSJ296总脂的脂肪酸组成

Tab. 2 Fatty acid composition (mol %) of total lipids in HSJ296 at different temperatures

| 脂肪酸<br>Fatty acid | 温度<br>Temperature (℃) |            |            |            |
|-------------------|-----------------------|------------|------------|------------|
|                   | 20                    | 25         | 30         | 35         |
| C14:0             | 0.43±0.05             | 0.63±0.03  | 0.41±0.07  | 0.44±0.12  |
| C14:1             | 0.01±0.02             | 0.14±0.19  | 0±0        | 0±0        |
| C16:0             | 29.39±3.06            | 26.21±1.31 | 27.4±4.61  | 20.23±0.74 |
| C16:1             | 2.07±0.68             | 3.25±0.02  | 3.48±0.75  | 4.03±0.2   |
| C18:0             | 1.01±1.42             | 0.33±0.47  | 1.6±0.27   | 2.42±0.43  |
| C18:1             | 16.64±0.97            | 15.24±2.1  | 11.33±0.88 | 18.75±0.52 |
| C18:2             | 6.95±1.48             | 6.13±0.62  | 10.76±3.36 | 13.38±0.03 |
| $\alpha$ -C18:3   | 38.17±1.46            | 41.78±0.81 | 42.56±1.83 | 36.11±0.12 |
| $\gamma$ -C18:3   | 0±0                   | 0.1±0.14   | 0.19±0.03  | 0.45±0.63  |
| C18:4             | 4.07±0.1              | 4.6±0.21   | 1.17±0.53  | 1.7±0.81   |

如图 5 所示, 培养时间在 52—88h, 细胞开始呈指数生长, 90h 之后, 该藻进入平台期。同时, 在 52h, 葡萄糖也开始被快速消耗, 在 76h, 葡萄糖浓度下降到 4 g/L (数据未显示)。培养至 120h, HSJ296 停止生长, 细胞干重达到 19.48 g/L, 总脂含量为 12.1%, 总脂中 ALA 的含量为 42.42%。ALA 的产量可达到 1 g/L, 即 ALA 的产率为 0.2 g/(L·d)。

3 讨论

本文对栅藻 HSJ296 的异养生长条件进行了初步的优化, 着重对不同氮源种类和葡萄糖浓度进行了比较, 取得了有价值的研究结果, 并据此对该藻的应用前景进行初步评估。

有研究比较不同氮源, 如尿素、碳酸铵、硝酸钾、硝酸铵和硝酸钠, 对小球藻 M2 生长的影响, 发现尿素最有利于小球藻的生长以及油脂中 C16 和

C18 脂肪酸的积累<sup>[13]</sup>。本研究比较了尿素、硝酸钾、硝酸铵、甘氨酸和酵母提取物等五种不同氮源对栅藻 HSJ296 生长的影响, 结果显示, 尿素也是最合适 HSJ296 生长的氮源。尿素浓度为 4 g/L 时, 其生长速率和总脂含量略高, 而尿素浓度为 7 g/L, 该藻的油脂中 ALA 的含量最高。因此, 可以认为尿素在 4—7 g/L 内都是合适的。

葡萄糖是异养培养微藻常见的碳源。本研究比较了葡萄糖浓度对栅藻 HSJ296 生物量积累的影响, 在 10—40 g/L 葡萄糖浓度范围内设置四个浓度梯度进行异养培养。结果显示, 把葡萄糖设置在为 20 g/L 以上时可以维持该藻株更长时间的快速增长。将来在发酵生产时, 采用较高浓度的葡萄糖可以减少其补加次数。

在本研究中, 栅藻 HSJ296 总脂中 ALA 的百分比比较高, 大体上稳定在 35%—45%, 在发酵条件下 ALA 产率可达到 0.2 g/(L·d)。与以前的研究<sup>[14, 15]</sup>相比, 本研究采用的异养培养方式未来可大大减少培养占地面积, 有利于工业化生产。而且, 本文报道的培养条件仅是以摇瓶培养初步优化的结果, 尚未开展补料发酵条件下的优化, 提高产量和产率还有较大空间。此外, 通过诱变选育也可能提高 HSJ296 中 ALA 含量。总之, HSJ296 有望发展成为发酵水产饲料微藻添加剂的优良藻株。

参考文献:

[1] Stark A H, Reifen R, Crawford M A. Past and present insights on alpha-linolenic acid and the omega-3 fatty acid family [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, **56**(14): 2261—2267

[2] Hibbeln J R, Nieminen L R, Blasbalg T L, et al. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, **83**(6 Suppl): 1483S—1493S

[3] Simopoulos A P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2002, **56**(8): 365—379

[4] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to alpha-linolenic acid and contribution to brain and nerve tissue development pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No. 1924/2006 [J]. *EFSA Journal*, 2011, **9**(4): 2130—2137

[5] Zuo R, Mai K, Xu W, et al. Dietary ALA, but not LNA, increase growth, reduce inflammatory processes, and increase anti-oxidant capacity in the marine finfish *Larimichthys crocea* [J]. *Lipids*, 2015, **50**(2): 149—63

[6] Tan X Y, Luo Z, Xie P, et al. Effect of dietary linolenic acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic

表 3 在不同葡萄糖浓度条件下 HSJ296 的脂肪酸组成  
Tab. 3 Fatty acid composition (mol %) of total lipids in HSJ296 at different concentrations of glucose

| 脂肪酸<br>Fatty acid | 葡萄糖浓度<br>Glucose concentration (g/L) |            |            |            |
|-------------------|--------------------------------------|------------|------------|------------|
|                   | 10                                   | 20         | 30         | 40         |
| C14:0             | 0.27±0.09                            | 0.14±0.12  | 0.25±0.19  | 0.28±0.05  |
| C14:1             | 0±0                                  | 0.01±0.01  | 0±0        | 0±0        |
| C16:0             | 29.89±3.78                           | 28.27±4.4  | 27.94±5.51 | 30.9±6.42  |
| C16:1             | 4.39±0.66                            | 4.64±0.24  | 3.08±0.04  | 0.25±0.04  |
| C18:0             | 0±0                                  | 0.57±0.78  | 0±0        | 0±0        |
| C18:1             | 14.17±1.17                           | 13.93±3.6  | 12.11±2.06 | 11.47±2.05 |
| C18:2             | 11.96±3.26                           | 11.47±2.22 | 12.45±3.01 | 12.18±1.64 |
| α-C18:3           | 35.13±3.02                           | 39.28±4.5  | 43.8±3.48  | 41.04±5.69 |
| γ-C18:3           | 0.11±0.15                            | 0.16±0.22  | 0.05±0.07  | 1.49±0.27  |
| C18:4             | 3.4±0.6                              | 0.5±0.67   | 0.17±0.1   | 0.26±0.05  |

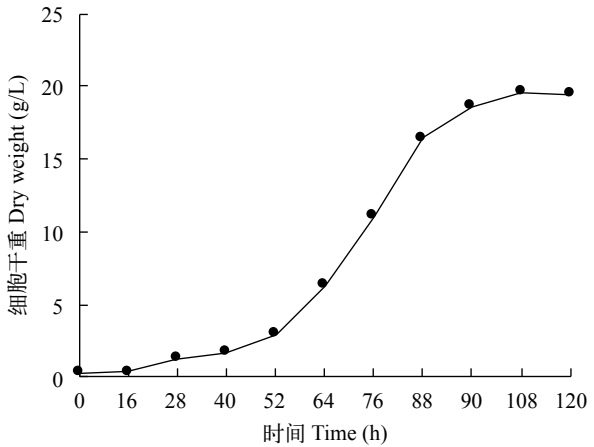


图 5 利用发酵罐培养时 HSJ296 的生长曲线  
Fig. 5 Growth curves of HSJ296 cultured in a fermenter

- fatty acid profiles and intermediary metabolism of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus falvidraco* [J]. *Aquaculture*, 2009, **296**(1-2): 96—101
- [7] Nandeesha M C, Gangadhara B, Manissery J K, *et al.* Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis* [J]. *Bioresource Technology*, 2001, **80**(2): 117—120
- [8] Chen Y Y, Chen J C, Tayag C M, *et al.* Spirulina elicits the activation of innate immunity and increases resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, **55**: 690—698
- [9] Adel M, Yeganeh S, Dadar M, *et al.* Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, **56**: 436—444
- [10] Grammes F, Reveco F E, Romarheim O H, *et al.* *Candida utilis* and *Chlorella vulgaris* counteract intestinal inflammation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(12): e83213
- [11] Xu J, Xu X D, Fang X T, *et al.* Screening and lipid analyses of high oleaginous *Chlorella* species [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(3): 426—432 [徐进, 徐旭东, 方仙桃, 等. 高产油小球藻的筛选及其油脂分析. 水生生物学报, 2012, **36**(3): 426—432]
- [12] Li X B, Xu X D, Kong R Q. Studies on the production of oil and polyunsaturated fatty acids in five species of *Nannochloropsis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(5): 893—897 [李秀波, 徐旭东, 孔任秋. 五种微绿球藻产油和产多不饱和脂肪酸的研究. 水生生物学报, 2010, **34**(5): 893—897]
- [13] Amin N F, Khalafallah M A, Ali M A, *et al.* Effect of some nitrogen sources on growth and lipid of microalgae *Chlorella* sp. for biodiesel production [J]. *Journal of Applied Sciences Research*, 2013, **9**(8): 4845—4855
- [14] Parsaeimehr A, Sun Z, Dou X, *et al.* Simultaneous improvement in production of microalgal biodiesel and high-value alpha-linolenic acid by a single regulator acetylcholine [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, **8**: 11, doi: [10.1186/s13068-015-0196-0](https://doi.org/10.1186/s13068-015-0196-0)
- [15] Vidyashankar S, Deviprasad K, Chauhan V S, *et al.* Selection and evaluation of CO<sub>2</sub> tolerant indigenous microalga *Scenedesmus dimorphus* for unsaturated fatty acid rich lipid production under different culture conditions [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **144**: 28—37

## OPTIMIZATION OF HETEROTROPHIC GROWTH CONDITIONS FOR A *SCENEDESMUS* STRAIN WITH HIGH CONTENT OF $\alpha$ -LINOLENIC ACID

MENG Xia<sup>1,2</sup>, GAO Hong<sup>1</sup>, KONG Ren-Qiu<sup>1</sup> and XU Xu-Dong<sup>1</sup>

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** HJSJ296, a *Scenedesmus* strain isolated and purified by this lab, can grow heterotrophically in the dark and contains a relatively high amount of  $\alpha$ -linolenic acid. Comparisons of heterotrophic growth at different temperatures and concentrations of glucose, or with different nitrogen sources, indicated that the optimal culture conditions included 30°C, 4 g/L urea and 20—40 g/L glucose. As shown with fatty acid composition analyses under different conditions, the fatty acids of HJSJ296 were mainly composed of hexadecanoic acid (C16:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2) and  $\alpha$ -linolenic acid ( $\alpha$ -C18:3), and the  $\alpha$ -linolenic acid content in total lipids was between 35%—45% in independent experiments. The fermentation product of *Scenedesmus* HJSJ296 may be used as a fish dietary supplement to supply  $\alpha$ -linolenic acid and other nutrients.

**Key words:** *Scenedesmus* sp. HJSJ296;  $\alpha$ -linolenic acid; Heterotrophic growth