

14 种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究

蒋霞敏 郑亦周

(宁波大学海洋与水产系, 宁波 315211)

摘要: 比较分析了 14 种微藻的总脂含量和脂肪酸组成, 结果表明: 除小球藻、亚心形扁藻、极微小环藻、微绿球藻外, 其他微藻的总脂含量均超过其干重的 10%。每一纲的微藻脂肪酸组成都有各自特点, 绿藻纲中 16: 0、16: 1 (n- 7)、18: 1(n- 9) 含量较高, 但微绿球藻中 16: 1(n- 7)、20: 5(n- 3) (EPA) 含量远高于其他绿藻; 金藻纲中含大量 14: 0、16: 0、18: 3(n- 3)、22: 6(n- 3) (DHA); 硅藻纲中 14: 0、16: 0、16: 1(n- 7)、EPA 含量较高; 黄藻纲的异胶藻富含 16: 0、16: 1(n- 7) 和 EPA。

关键词: 单细胞藻; 总脂; 脂肪酸组成
中图分类号: Q547; Q949. 2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)03-0243-05

微藻是水域生态系统中重要的初级生产力, 具有合成高度不饱和脂肪酸(PUFAs) 的能力。其中二十碳五烯酸[20: 5(n- 3), EPA] 和二十二碳六烯酸[22: 6(n- 3), DHA] 都是人体必需脂肪酸, 在营养强化、预防和治疗多种疾病方面起着重要的作用, 如预防动脉粥样硬化和心血管疾病, 降低血浆中胆固醇和甘油三酯水平、减轻炎症等有明显疗效^[1-2], 在水产养殖上, EPA 和 DHA 又是水产经济动物幼体生长发育所必需, 微藻在饲料的强化方面起了直接或间接作用。目前国内外对微藻脂肪酸作了大量研究, 但报道较多的是小球藻(*Chlorella* sp.)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、三角褐指藻(*Phaeodactylum tri-cornutum*) 等^[3-12]。本文报道了 14 种生产上易大量培养的微藻总脂含量和脂肪酸组成, 以期微藻的开发提供依据。

1 材料方法

1.1 藻种 14 种微藻均来自本校藻种室。绿藻纲有小球藻、亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)、盐藻(*Dunaliella* sp.)、四尾栅藻(*Scenedesmus quadricauda*)、微绿球藻(*Nannochloropsis culata*)、金藻纲有球等鞭金藻、定鞭金藻(*Pavlova gyraus*)、湛江叉鞭金藻(*Dirateria inornata*)、绿色巴夫藻(*Pavlova viridis*); 硅藻纲有新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)、牟氏角毛

藻(*Chaetoceros muelleri*)、三角褐指藻、极微小环藻(*Cyclotella atomus*); 黄藻纲有异胶藻(*Heterogloea* sp.)。
1.2 微藻的培养 用于微藻培养的海淡水均经脱脂棉过滤、煮沸消毒, 所有容器均高温 140℃ 处理, 培养液采用 MAV 配方(表 1), 培养体积 1000mL。培养条件: 水温 20±1℃, 盐度 34, 自然光照, 不充气培养。在盐藻培养液中另加 5gNaCl/L。培养 7d 后收获。

表 1 MAV 培养液配方
Tab 1 Composition of culture fluid

营养成分 Components	含量(mg/L) Content
KNO ₃	100
KH ₂ PO ₄	10
FgSO ₄ •7H ₂ O	2. 5
MgSO ₄	0. 25
EDTA Na ₂	10
V _{B12}	5×10 ⁻⁷
V _{B1}	6×10 ⁻³

1.3 总脂的测定 取一定体积藻液, 4000—4800r/min 离心 5—10min, 再用消毒淡水清洗 2—3 次, 经冷冻干燥, 低温(- 4℃) 保存。将干燥的藻泥用玻璃匀浆器匀浆后, 采用氯仿: 甲醇提取法得出各微藻中

收稿日期: 2002-01-14; 修订日期: 2002-02-01
基金项目: 浙江省自然科学基金项目(301208) 资助
作者简介: 蒋霞敏(1957—), 女, 浙江省人; 副教授; 主要从事水产养殖和饲料生物培养; E-mail: xzchxsc@nbu.edu.cn

总肪含量。

1.4 脂肪酸的测定 脂肪酸的组成和含量用气相色谱法测定。采用 kocher 法萃取脂质, NaOH-CH₃OH 溶液皂化后, 用 30% 二氧化碳乙醚络合物甲醇溶液酯化, 然后加 2mL 正己烷震荡 5min, 静置, 待液体分层后, 抽上层正己烷液上机分析。用 GC-9A 型气相色谱仪(日本岛津公司)测定脂肪酸种类及其含量。检测条件: 检测器, 氢火焰离子化检测器(FID), 色谱柱: PEG-20M 弹性石英毛细管柱, 柱温: 200℃, 气化室温度: 230℃, 进样量: 2μL。定量分析采用对各组分峰面积积分, 用归一化法计算出脂肪酸组分的百

分含量(以占脂肪酸总量的百分比表示)。

2 结果与讨论

2.1 微藻的脂肪含量

表 2 是 14 种微藻的总脂含量。结果显示, 微藻的总脂含量除小球藻、亚心形扁藻、微绿球藻、极微小环藻外大都高于 10%, 其中 4 种金藻的脂肪含量均高于 25%, 特别是定鞭金藻达 32.9%, 说明微藻的脂肪含量远高于大型藻类, 一般大型藻类的脂肪含量仅为 1%, 这与李荷芳、周汉秋的报道相似^[5]。

表 2 14 种微藻的总脂含量
Tab. 2 Total lipid contents of 14 species microalgae

微藻 Microalgae	收获时密度(10 ⁶ cell/mL) Cell density at harvest	总脂含量 Total lipids(% DW)
绿藻纲(Chlorophyceae)		
小球藻(<i>Chlorella</i> sp.)	12.5	6.58
亚心形扁藻(<i>Platymonas subcordiformis</i>)	1.5	4.61
微绿球藻(<i>Nannochloropsis culata</i>)	24.8	6.52
盐藻(<i>Dunaliella</i> sp.)	1.6	25.29
四尾栅藻(<i>Scenedesmus quadricauda</i>)	1.8	14.46
球等鞭金藻(<i>Isochrysis galbana</i>)	3.5	29.70
定鞭金藻(<i>Pavlova gyraus</i>)	3.1	32.96
湛江叉鞭金藻(<i>Dirateria inornata</i>)	3.8	27.93
绿色巴夫藻(<i>Pavlova viridis</i>)	10.3	25.90
新月菱形藻(<i>Nitzschia closterium</i>)	3.3	11.74
牟氏角毛藻(<i>Chaetoceros muelleri</i>)	2.6	15.07
三角褐指藻(<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	3.8	11.72
极微小环藻(<i>Cydotella atomus</i>)	2.1	6.85
异胶藻(<i>Heterogloea</i> sp.)	18.2	11.05

2.2 14 种微藻的脂肪酸组成

2.2.1 绿藻的脂肪酸组成 表 3 是 14 种微藻的脂肪酸组成。结果显示, 研究的 5 种绿藻中 16:0、16:1(n-7)、18:1(n-9) 含量较高, 并且除微绿球藻外其他 4 种藻含有较高的 16:3(n-3) 和 18:3(n-3)。PUFAs(n-3) 的含量达 31.79%—44.53%。但每种绿藻的脂肪酸组成又各有特点, 小球藻中以 16:0、16:3(n-3) 和 18:3(n-3) 为主要的脂肪酸, 16:1(n-9) 和 18:2(n-6) 的含量也较高, 20:0 含量也远高于其他绿藻, 而 EPA、DHA 含量极少, 这和王大志报道的海水小球藻含有较高 EPA(10.6%) 等有很大差异。盐藻的特点是富含 16:0 和 18:3(n-3), 其次是 16:3(n-3)、18:2(n-6) 和 14:1(11.02%); 四尾栅藻中

18:3(n-3) 含量高达 45.39%; 微绿球藻较为特别, 其 18:3 和 16:3 含量远低于其他绿藻, 但富含 16:0、16:1(n-7) 和 20:5(n-3), 分别为 17.28%、20.85% 和 30.57%。Zhukova 等^[6] 认为绿藻纲的藻类不含有 20:5(n-3), 而 Renaud S M^[7]、Dunstan 等^[8] 报道微绿球藻含有很高的 EPA。本研究的结果表明绿藻纲除微绿球藻富含 EPA 和一定量的 20:4(n-6) 外, 其他几种绿藻均很少含有长链(20C 以上) 的脂肪酸。

2.2.2 金藻纲的脂肪酸组成 在金藻纲中 14:0、16:0、18:3(n-3) 和 22:6(n-3) 含量较高, PUFAs(n-3) 的含量达 43.48%—54.26%, 其中湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻的脂肪酸组成相近, 它们的 DHA 含量(8.40%、11.12%)、18:1(n-9) 含量(10.86%、

表 3 14 种微藻脂肪酸组成
Tab. 3 The fatty acid composition of 14 species microalgae

脂肪酸 Fatty acid	小球藻	亚心形扁藻	微绿球藻	盐藻	四尾栅藻	湛江叉鞭金藻	球等鞭金藻	定鞭金藻	绿色巴夫藻	三角褐指藻	牟氏角毛藻	极微小环藻	新月菱形藻	异胞藻
C12:0	0.30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.09	—	0.18
C12:1	1.19	1.14	0.36	—	0.93	0.44	0.63	0.32	0.51	0.57	0.19	0.34	0.27	0.55
C12:2	1.48	7.29	2.99	3.33	6.90	3.41	3.50	2.67	4.20	4.21	1.26	1.52	2.80	3.32
C14:0	0.50	2.90	4.12	5.90	3.88	11.88	13.40	17.5	15.88	7.40	13.41	15.76	7.34	1.24
C14:1	0.61	0.34	0.58	11.02	4.21	0.38	—	0.44	0.36	0.17	0.50	0.31	0.50	3.02
C14:2	0.80	0.64	0.60	—	0.59	0.65	0.35	3.44	0.74	0.50	0.59	1.91	0.47	0.45
C14:3	0.17	0.97	1.05	—	0.74	0.56	0.43	0.50	0.78	0.67	0.43	0.59	0.81	0.26
C16:0	17.89	16.78	17.28	14.75	8.90	6.53	9.13	7.81	9.74	8.65	15.88	20.63	10.50	17.20
C16:1(n-7)	9.21	5.26	20.85	2.99	4.24	5.20	6.15	13.85	14.79	23.58	30.98	26.24	23.89	26.00
C16:2(n-4)	—	1.52	0.62	—	—	0.98	0.73	1.79	0.88	7.10	2.58	2.42	5.72	0.33
C16:3(n-3)	13.94	12.99	1.22	12.50	13.77	5.12	1.47	1.38	1.96	6.94	6.34	5.26	8.49	0.56
C18:0	2.95	0.47	0.59	—	0.86	0.31	0.30	0.27	0.22	0.73	1.17	4.88	0.98	0.65
C18:1(n-9)	3.94	9.06	6.73	6.60	4.58	10.86	10.81	1.48	1.80	1.03	5.95	5.62	1.32	5.06
C18:2(n-6)	8.08	6.70	2.76	12.85	4.99	2.26	5.02	1.46	1.39	1.41	2.33	1.05	1.76	2.57
C18:3(n-3)	30.13	25.57	—	30.07	45.23	38.41	29.58	8.22	8.67	0.38	0.77	2.90	0.65	0.41
C20:0	5.81	0.22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.30	0.09	—
C20:1(n-9)	0.27	1.92	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.21	—	—
C20:2(n-6)	0.28	0.24	—	—	—	—	—	—	—	0.42	—	—	—	—
C20:3(n-3)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.47	—	—
C20:4(n-6)	0.89	0.82	7.18	—	—	0.25	—	1.49	1.88	1.06	2.59	—	1.38	3.44
C20:5(n-3)	0.46	4.33	30.57	—	—	1.43	1.35	21.62	21.66	27.03	13.04	7.68	26.26	31.96
C22:5(n-3)	—	—	—	—	—	0.90	1.26	8.00	6.93	2.87	0.31	—	2.93	—
C22:6(n-3)	—	—	—	—	—	8.40	11.12	4.26	7.04	1.46	0.94	—	1.05	—
合计(total)	98.90	99.16	97.50	100.10	99.98	94.08	95.23	96.5	99.57	97.18	99.26	99.18	97.21	97.00
PUFA(n-3)	44.53	42.89	31.79	42.57	59.0	54.26	44.78	43.48	46.26	38.68	21.40	16.31	39.38	32.93

注:—表示未检出或含量极少。

10.81%) 和 18:3(n-3) 含量(38.41%、29.58%) 比其他 2 种金藻高, 但 EPA 含量较低(1.43%、1.35%); 定鞭金藻和绿色巴夫藻的脂肪酸组成相近, 16:1(n-7) 含量(13.85%、14.79%) 比湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻(5.2%、6.15%) 高, 并且含大量的 EPA(21.62%、21.66%) 和一定量的 DHA(4.26%、7.04%)。

2.2.3 硅藻纲的脂肪酸组成 研究的 4 种硅藻的主要脂肪酸为 14:0、16:0、16:1(n-7)、16:3(n-3) 和 EPA, PUFAs(n-3) 的含量达 16.31%—39.38%, 而且 16:1(n-7) 的含量高于 16:0。硅藻纲这 4 种微藻的脂肪酸组成也各有特点, 三角褐指藻和新月菱形藻中, PUFAs(n-3) 和 EPA 含量较高, 且含 DHA; 角毛藻以 16:1(n-7) 和 EPA 为主, 分别高达 30.98% 和 13.04%; 极微小环藻中 PUFAs(n-3) 的含量相对较低, EPA 为 7.68%, 但富含 14:0(15.76%) 和 16:0(20.63%), 高于其他 3 种硅藻, 16:1(n-7) 为 26.24%。对硅藻脂肪酸进行的大量研究^[12, 13] 表明, 几乎所有的硅藻都含有 14:0、16:0、16:1(n-7) 和 EPA, 一些种类的 16:2(n-4)、16:3(n-4) 含量也较丰富, 而大部分硅藻 C18 和 C22 不饱和脂肪酸的含量较低。本试验结果和上述观点基本一致。

2.2.4 黄藻纲的脂肪酸组成 本次试验所选择的黄藻纲代表种异胶藻脂肪酸组成以 EPA 为主, 高达 31.96%, 居本次所测微藻之首, 16:0、16:1(n-7) 含量也较丰富, PUFAs(n-3) 的含量达 32.93%, 但不含 DHA。这完全不同于其他各纲微藻脂肪酸的组成。

参考文献:

[1] Jiang Y, Chen F, Liang S Z. The production of ω-3 polyunsaturated fatty acids by microalgae[J]. *Marine Science*, 1997, (6): 18—20. [姜悦, 陈峰, 梁世中. 利用海洋微藻生产 ω-3 多不饱和脂肪酸. 海洋科学, 1997, (6): 18—20]

[2] Xu T Y. Production eicosapentaenoic acid and docosahexenoic acid by biotechnology[J]. *Food and Fermentation Industries*, 1995, (1): 56—65. [徐天宇. 利用生物技术生产廿碳五烯酸和廿二碳六烯酸. 食品和发酵工业, 1995, (1): 56—65]

[3] Lu K H, Lin X, Qian Y X. Studies on fatty acids composition of different strains of *Phaeodactylum tricornutum*[J]. *Journal of Fishery Science of China*. [陆开宏, 林霞, 钱云霞. 三角褐指藻不同藻株脂肪酸组成研究. 中国水产科学, 2000, 7(1): 20—23]

[4] Cao C H, Sun S C, Mai K S, *et al.* Fatty Acid Composition and Total Lipid Content of 30 Strains of Marine Green Algae[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2000, **30**(3): 428—434. [曹春晖, 孙世春, 麦康森, 等. 30 株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成. 青岛海洋大学学报, 2000, **30**(3): 428—434]

[5] Li H F, Zhou H Q. Comparative studies on fatty acid composition of marine microalgae[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1999, **30**(1): 34—39. [李何芳, 周汉秋. 海洋微藻脂肪酸组成的比较研究. 海洋与湖沼, 1999, **30**(1): 34—39]

[6] Zhukova N V, Aizlaicher N A. Fatty acid composition of species marine microalgae[J]. *Phytochemistry*, 1995, **39**(2): 351—356

[7] Renaud S M, Parry D L, Luong Van Thinh, *et al.* Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis sp.* and *Nannochloropsis oculata* for use in aquaculture[J]. *J. Phycol*, 1991, **26**: 393—399

[8] Dunstan G A, Volkman J K, Barrett S M D, *et al.* Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture[J]. *J Appl Phycol*, 1993, **5**: 71—83

[9] Wang D Z, Peng X Y, Li S J, *et al.* Fatty acid composition of marine chlorella[J]. *Marine Science*, 1999, (4): 68—70. [王大志, 彭兴跃, 程兆第等. 海水小球藻脂肪酸组成研究. 海洋科学, 1999, (4): 68—70]

[10] Liang Y, Mai K S. Current status and prospect of studies on microalgal EPA and DHA[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24**(3): 289—296. [梁英, 麦康森. 微藻 EPA 和 DHA 的研景. 水产学报, 2000, **24**(3): 289—296]

[11] Yang X X, Yu H, Zeng X Q. Summarization of the factors affecting the fatty acid composition of microalgae[J]. *Transactions of oceanology and limnology*, 2001, (1): 76—81 [杨秀霞, 于浩, 曾晓起. 影响微藻脂肪酸组成因素概述. 海洋湖沼通报, 2001, (1): 76—81]

[12] Lin X Z, Li G Y. Effects of environmental factors on microalgal lipids[J]. *Journal of Oceanography of Huanghai & Bohai Seas*, 2000, **18**(2): 36—40. [林学政, 李光友. 11 种微藻脂肪和 EPA/DHA 组成的研究. 黄渤海海洋, 2000, **18**(2): 36—40]

[13] Zhou H Q, Renaud S M, Parry D L, *et al.* Effect of temperature on growth, total lipid content and fatty acid composition of the microalgae, *Nitzschia dostorium*, *Nitzchiapalleacea* and *Pavlova sp*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1996, **20**(3): 235—240. [周洪琪, Renaud S M, Parry D L. 温度对新月菱形藻、铲状菱形藻和巴夫藻的生长、总脂肪含量以及脂肪酸组成的影响. 水产学报, 1996, **20**(3): 235—240]

TOTAL LIPID AND FATTY ACID COMPOSITION OF 14 SPECIES OF MIRCOALGAE

JIANG Xia-Min and ZHENG Yi-Zhou

(Ocean and Fisheries Department of Ningbo University, Ningbo 315211)

Abstract: 14 species of microalga at exponential phase of growth be cultured in MAV substrate in the condition of water temperature $20 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, salinity 34 and nature illumination. The microalga be collected by 4000~ 8000r/min centrifuge 10 minutes after 7 day's culute, the deposition has been rinsed with asepsis water 3 times be lyophilized and then be freeze preserved($-4\text{ }^{\circ}\text{C}$). The dry alga glomerules be homogenated with bead mill homogenizer for assay of total lipid and every fatty acid content each by chloroform-methanol technique and gas chromatography. The assay results showed that the total lipid contents of the microalgae were more than 10% on dry weight except 4 species. Each class of microalgae was characterized by a specific fatty acid profile. The specific feature of Chlorophyceae were high concents of 16:0, 16:1 (r7), and 18:1 (r9) except *N. oculatas* which contain a little 16:3 (r3) and no 18:3 (r3), but contained high cocentration of 20:5 (r3). The specific features of Chrysophyceae were 14:0, 16:0, 18:3 (r3) and 22:6 (r3). The specific feature of Bacillariophyceae were high in contents of 14:0, 16:0, 16:1 (r7) and 20:5 (r3). The specific feature of *Heterogloea* sp. were high in contents of 16:0, 16:1 (r7) and 20:5 (r3).

Key words: Microalgae; Total lipid; Fatty acid composition