

光照强度对海洋微藻脂肪含量及脂肪酸组成影响的研究*

李荷芳 周汉秋

(中国科学院海洋研究所)

近年来,海洋微藻脂肪酸组成的研究及其应用越来越受到国内外科学家的重视。高度不饱和脂肪酸(PUFA),特别是长链的 n-3 PUFA,如二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)对海洋动物和人类都具有营养学和医学上的价值。在海洋微藻的培养过程中,光照强度是海洋微藻生长的条件之一,光线的明与暗,光度的强与弱,不仅对微藻的生长速率、产量有影响,而且对其脂肪含量和脂肪酸的组成也有影响(Teshima *et al.*, 1983; Thompson *et al.*, 1990; Renaud *et al.*, 1991)。

作者在以往研究的基础上,选择了 3 种有代表性的海洋微藻:(1)小球藻 *Chlorella* sp-2 (李荷芳等, 1999), 此藻脂肪酸中 EPA 含量高,且不含 DHA;(2)球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*), 该藻 DHA 含量较高,但几乎不含 EPA;(3)前沟藻 (*Amphidinium* sp.) 的 EPA、DHA 含量均高。将以上 3 种微藻作为原料,在不同的光照强度下进行培养,测定并分析藻体中的脂肪含量和脂肪酸组成的变化,从而了解光强对海洋微藻脂肪含量及其脂肪酸组成的影响。

一、材料与方 法

1. 生物材料 实验用的小球藻、球等鞭金藻由中国科学院海洋研究所标本室提供。前沟藻是 1995 年 9 月从青岛上马镇养虾场采集、分离得到。

2. 微藻培养 微藻培养在本所的实验室内进行。培养条件为:温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 盐度 30 左右,培养容器为 1000 mL 透明试剂瓶,每瓶盛藻液 600 mL。培养用的海水经煮沸消毒,不通气培养,每天定时摇动数次,培养周期为 7 d。

3. 光照强度 用 28 W 节能灯调节光强为 8000 lx, 4000 lx, 2000 lx, 光照周期为 12 h:12 h L, D (明、暗) 和 4000 lx, 24 h 连续光照 4 组实验。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 4011 号。
国家自然科学基金资助项目, 39570084 号; 国家“九五”攻关项目, 96-916-04-03 号。
收稿日期: 2000 年 3 月 30 日。

4. 脂肪酸组成和含量的测定 脂肪酸的组成和含量用气相色谱法测定。微藻脂肪按 Carreau 等 (1978) 的方法甲酯化后经薄层层析 (TLC) 纯化, 用上分 1102 型气相色谱仪测定脂肪酸种类及其含量。参数为: 色谱柱为 Carbowax (25 m × 0.2 mm), 柱温为 200 ℃; 进样器及检测器温度为 240 ℃; 载气为纯氮气, 其流速为 68.5 mL/min; 空气压力为 0.147×10^6 Pa, 氢气压力为 0.098×10^6 Pa; 检测器为火焰离子化检测器 (FID)。采用参照标准样品和碳链长度值 (ECL) 的方法进行脂肪酸的鉴定 (Flanzy *et al.*, 1976; Christie, 1988; Ratnayake *et al.*, 1989)。定量分析采用对各组分峰面积积分, 用归一化法来计算脂肪酸组分的百分含量 (以脂肪酸总量 % 表示)。

二、结果与讨论

1. 海洋微藻的脂肪含量

3 种海洋微藻在水温为 20 ± 1 ℃, 盐度为 30 左右, 光强为 8 000 lx, 4 000 lx, 2 000 lx, 明、暗周期为 12 h:12 h 及光强为 4000 lx, 连续光照的条件下, 培养 7 d, 收集藻体, 分别测定其总脂含量 (表 1)。

表 1 微藻的总脂含量/mg·L⁻¹藻液

组别	光照强度 /lx	明、暗周期 (L, D)	藻种名称		
			小球藻 (<i>Chlorella</i> sp-2)	球等鞭金藻 (<i>Isochrysis galbana</i>)	前沟藻 (<i>Amphidinium</i> sp.)
1	8 000	12 h:12 h	30.0	20.0	10.2
2	4 000	12 h:12 h	16.0	13.5	8.0
3	2 000	12 h:12 h	8.8	12.0	14.0
4	4 000	连续光照	55.8	35.2	7.2

从表 1 中可以看出, 小球藻和球等鞭金藻藻体中的脂肪含量与光照强度呈正相关, 光照强度大、时间长, 脂肪含量就高; 反之, 则含量低。而前沟藻却与前两种藻不同, 光照强度大、时间长, 脂肪含量反而降低。由此可以看出, 光照强度的增加和藻体中脂肪含量的增、减与海洋微藻的种类有关。

2. 海洋微藻的脂肪酸组成

在不同的光照强度、光照时间下对 3 种有代表性藻种进行培养, 测定的藻体中的脂肪酸组成为占总脂肪酸含量的百分比 (表 2)。

表 2 不同光照强度下小球藻的脂肪酸组成/%

脂肪酸	组 别			
	1	2	3	4
14:0	3.69	4.81	3.98	3.93
14:1	0.28	0.67	1.31	0.26
15:0	0.36	0.31	0.28	0.42

续表

脂肪酸	组 别			
	1	2	3	4
16:0	36.84	26.24	19.76	34.63
16:1 (n-7)	27.63	22.40	19.15	28.38
i-17:0	0.27	0.38	0.72	—
ai-17:0	0.41	0.56	0.59	—
16:2 (phytanic)	0.20	0.25	0.40	—
16:2 (n-4)	0.42	0.33	0.25	—
16:3 (n-6)	0.14	0.17	0.40	—
18:0	2.47	0.80	0.62	2.07
18:1 (n-9)	7.82	3.40	2.85	13.79
18:1 (n-7)	—	—	0.35	—
18:2 (n-6)	1.01	1.35	2.84	1.33
18:3 (n-6)	0.31	0.41	0.66	0.32
18:3 (n-3)	0.20	0.26	0.15	0.27
20:3 (n-6)	0.69	0.36	0.32	0.66
20:4 (n-6)	2.09	2.50	4.44	1.78
20:5 (n-3)	14.30	32.57	38.17	11.31
其他	0.87	2.23	2.76	0.85
饱和脂肪酸	44.04	33.10	25.95	41.05
烯酸	35.73	26.47	23.66	42.43
多烯酸	19.36	38.20	47.63	15.67
(n-3) PUFAs	14.30	32.53	38.17	11.31
14:0	12.95	14.13	12.53	14.40
14:1	0.24	0.14	0.17	0.68
15:0	0.30	0.45	0.25	0.40
16:0	11.77	12.03	10.99	13.13
16:1 (n-7)	2.40	3.48	4.78	2.74
16:2 (phytanic)	0.36	0.52	0.59	0.45
16:3 (n-6)	0.24	0.52	0.21	—
18:0	0.52	0.39	0.33	1.23
18:1 (n-9)	24.51	20.52	12.23	27.65
18:1 (n-7)	—	—	1.31	—
18:2 (n-6)	7.7	5.42	5.33	6.21
18:3 (n-6)	0.22	0.39	0.98	0.39
18:3 (n-3)	3.73	5.02	6.55	4.96
18:4 (n-3)	10.97	12.90	18.00	12.51

续表

脂肪酸	组 别			
	1	2	3	4
18:5 (n-3)	0.91	1.17	1.90	0.50
20:1	0.95	0.67	0.23	—
20:2	0.87	0.99	0.34	—
20:2 (n-6)	0.57	0.91	1.39	0.44
20:3 (n-6)	0.41	0.45	—	—
20:4 (n-6)	0.66	0.38	0.22	—
20:5 (n-3)	1.26	0.95	0.71	0.73
22:4 (n-6)	0.35	1.03	0.62	—
22:5 (n-6)	1.38	1.38	1.87	—
22:5 (n-3)	0.20	0.34	0.51	—
22:6 (n-3)	13.51	11.83	12.97	13.19
其他	3.02	3.99	4.99	0.39
饱和脂肪酸	25.54	27.0	24.10	29.16
一烯酸	28.10	24.81	18.72	31.07
多烯酸	43.34	44.20	52.19	39.38
(n-3) PUFAs	30.58	32.21	40.64	31.89
14:0	6.18	2.18	2.17	3.39
16:0	23.06	23.38	21.67	30.82
16:1 (n-7)	1.53	0.93	1.22	1.95
i-17:0	0.57	0.28	—	—
18:0	1.93	0.97	1.29	2.38
18:1 (n-9)	16.45	13.55	8.69	16.24
18:2 (n-6)	3.23	2.28	1.79	2.51
18:3 (n-6)	1.29	0.52	1.60	0.46
18:3 (n-3)	0.97	—	—	0.33
18:4 (n-3)	13.07	17.81	23.11	14.53
18:5 (n-3)	0.61	—	—	—
20:5 (n-3)	5.63	8.53	11.78	5.23
22:5 (n-3)	0.89	—	—	—
22:6 (n-3)	23.69	27.91	26.66	20.76
其他	0.90	1.66	0.02	1.40
饱和脂肪酸	31.74	26.81	25.13	36.59
一烯酸	17.98	14.48	9.91	18.19
多烯酸	49.38	57.07	64.94	43.82
(n-3) PUFAs	44.86	54.25	61.55	40.85

从表2中可以看出以下几点:

(1) 小球藻的饱和脂肪酸和一烯酸含量随光照强度的增加而增加, 而高度不饱和脂肪酸的含量反而下降。

(2) 球等鞭藻中的饱和脂肪酸含量与光照强度关系不大, 一烯酸则随光照强度的增加而增加, 而不饱和脂肪酸含量却随着光照强度的增加而下降, 但总的下降幅度比小球藻小。就其总的 (n-3) PUFA 来讲, 光照强度增大, 其含量反而下降, 同样的光照强度, 但光照时间长, 其不饱和脂肪酸的含量也下降。

(3) 前沟藻中饱和脂肪酸、一烯酸的含量随光照强度及光照时间的增加而增加, 而多烯酸则随光照强度的增加而下降。

综上所述, 3 种不同光照强度及连续光照对 3 种海洋微藻进行的光强实验结果表明, 小球藻的脂肪含量与光照强度呈正相关, 其脂肪酸组成中 EPA 的含量与光强呈负相关; 球等鞭金藻藻体脂肪酸组成中的 DHA 含量受光照强度的影响较小; 连续光照时以上两种藻的脂肪含量增加很多, 不过对于小球藻来说, 藻体中 EPA 的含量也降低了很多, 而对球等鞭金藻藻体中的 DHA 的含量影响不大; 光照对于前沟藻的影响与前两种藻有很大的差别, 其脂肪含量随光照强度的升高反而下降, 且光照强度大, DHA 的含量反而降低, 在连续光照时也是如此。尽管光照强度对海洋微藻藻体中的脂肪含量和脂肪酸组成有影响, 但从表2中也可以看出, 这几种海洋微藻的脂肪酸组成和主要脂肪酸种类仍是不变, 这进一步为脂肪酸组成作为海洋微藻分类标记提供了依据。

三、结 论

1. 光密度的增加引起海洋微藻藻体中脂肪含量的增、减与海洋微藻的种类有关。
2. 海洋微藻藻体中脂肪酸组成随光照强度增加而导致饱和脂肪酸和一烯酸的总含量增加, 高度不饱和脂肪酸含量则下降。
3. 光照强度增加, 脂肪酸组成中 EPA 含量下降, 但对 DHA 的含量影响不大。
4. 光照强度的增加, 脂肪酸组成的种类和组成中的主要脂肪酸不变。

参 考 文 献

- 李荷芳、周汉秋, 1999, 海洋微藻脂肪酸组成的比较研究, 海洋与湖泊, 30 (1): 34—40.
- Brown, M. B., G. A. Dunstan, Norwood, S. J. *et al.*, 1996, Effects of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana*, *J. Phycol.*, 32: 64—73.
- Carreau, J. P. and J. P. Dubacq, 1978, Adaptation of macro-scale method to the microscale for the fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts, *J. Chromatogr.*, 151: 384—390.
- Christie, W. W., 1988, Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography. A reappraisal, *J. Chromatogr.*, 447: 305—314.
- Flanzy, J., M. Boudon, C. Leger and J. Pihet, 1976, Application of Carbowax 20M as an open-tubular liquid phase in analyses of nutritionally important fats and oils, *J. Chromatogr. Sci.*, 14: 17—24.
- Ratnayake, W. M. N., B. Olsson and R. G. Ackman, 1989, Novel branched-chain fatty acid in certain fish oils, *Lipids*, 24: 630—637.

- Reitan, K. I., J. R. Rainuzzo and Y. Olsen, 1994, Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae, *J. Phycol.*, 30: 972—979.
- Renaud, S M, D. L. Parry, L. V. Thinh, *et al.*, 1991, Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture, *J. Appl. Phycol.*, 3: 43—53.
- Teshima, S., S. Yamasaki, A. Kanazawa *et al.*, 1983, Effects of water temperature and salinity on eicosapentaenoic acid level of marine *Chlorella*, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 49: 805.
- Thompos, P. A., P. J. Harrison and J. N. C. Whyte, 1990, Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton, *J. Phycol.*, 26: 278—288.

EFFECTS OF LIGHT INTENSITY ON THE CONTENT OF TOTAL LIPID AND FATTY ACID COMPOSITION OF MARINE MICROALGAE*

Li Hefang, Zhou Hanqiu

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

This study on the effect of 12L:12D cycle and continuous light intensity (8 000 lx, 4 000 lx, 2 000 lx 12h:12h L D cycle and 4 000 lx) on the total lipid content and fatty acid composition of three species of marine microalgae (*Chlorella* sp-2, *Isochrysis galbana*, and *Amphidinium* sp.) showed that the major fatty acids of *Chlorella* sp-2 were 16:0, 16:1 (n-7) and 20:5 (n-3); those of *Isochrysis galbana* were 14:0, 16:0, 16:1 (n-7), 18:4 (n-3), and 22:6 (n-3); and those of *Amphidinium* sp. were 16:0, 18:1 (n-9), 18:4 (n-3), 20:5 (n-3) and 22:6 (n-3). The total lipid contents of *Chlorella* sp-2 and *Isochrysis galbana* grown at higher light intensity were higher than those grown at lower light intensity. Generally, their percentage of the saturated and monounsaturated fatty acids increased with light intensity. The total polyunsaturated fatty acids decreased with increasing light intensity. EPA content decreased with increasing light intensity and the was no obvious changes in DHA as light intensity increased.

* Contribution No. 4011 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.