

海洋微藻高度不饱和脂肪酸的研究

Ⅲ. 高度不饱和脂肪酸从海洋微藻 向卤虫传递的研究

樊云真 李荷芳 刘发义

(中国科学院海洋研究所)

很多研究表明, n-3 高度不饱和脂肪酸(n3-PUFA)是海洋动物, 特别是其幼体生长发育所必需的营养成分, (Kanazawa *et al.*, 1979; Levine *et al.*, 1984)。很多海洋微藻中含有很高浓度的 n3-PUFA, 因此在水产养殖中, 为了提高鱼、虾幼苗的成活率, 增强幼体的体质, 常用微藻来强化培养轮虫和卤虫, 以提高其 n3-PUFA 的含量(赖户明 1993; Ben-Amotz *et al.*, 1987), 为此我们选择了 DHA 含量比较高而 EPA 含量很低的金藻 3011 (*Isochrysis galbana*)、EPA 含量较高而 DHA 含量很低的三角褐指藻 2038 (*Pheodactylum tricornutum*) 和小球藻 (*Chlorella* sp.), 研究了它们体内的 EPA 和 DHA 向卤虫传递的情况, 同时用不含 PUFA 的面包酵母作对照, 为水产养殖中进行卤虫的强化培养提供依据。

一、材料与方 法

1. 生物材料 实验用的金藻 3011、三角褐指藻 2038 和小球藻由本所提供; 面包酵母是由市场购买的烟台酵母厂的产品; 卤虫 (*Artemia salina*) 卵由青岛海洋大学提供。

2. 微藻和卤虫的培养 微藻的培养与研究 I 的方法相同。

卤虫的培养方法如下: 按每 kg 海水放 2g 卤虫卵的量, 将卤虫卵用海水淘洗三次, 用 1% 次氯酸钠消毒 10min, 过滤后再用海水冲洗, 然后置于孵化容器中, 在盐度为 31—35、温度为 15—18℃ 的海水中, 充气条件下孵化; 36—48h 后孵出幼虫, 立即利用其趋光性进行分离。分离出来的幼虫分放到 4 个培养容器中, 每个容器约放 2×10^4 个, 分别加入一定体积的微藻液: 金藻 3011 2 L ($2-2.5 \times 10^6$ 个/mL), 三角褐指藻 2 L (2.5×10^6 个/mL), 小球藻 1 L (5×10^6 个/mL), 面包酵母粉海水溶液 1 L (200mg/L), 在 16—20℃、通气的条件下培养 2 周左右。当所加的微藻基本上被消耗完后 (3d 左右), 每组每天添加 1 L 相应的藻液 (小球藻为 0.5 L/d), 每天上午 9:00—9:30 投喂。作为饵料用的微藻液每 3d 更新一次, 以保证藻液浓度和生长期的恒定。养殖卤虫的海水每 4—5d 彻底更换一次, 以去除

• 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3103 号。
国家自然科学基金资助项目, 39570084 号。
收稿日期: 1997 年 1 月 17 日。

排泄物等污物。

3. 样品分析 微藻的收集,处理和样品分析与研究 I 方法相同。

卤虫用 150 目筛绢过滤后,用海水冲洗三次,然后放到过滤海水中 12h,以使卤虫排出消化道中积累的不消化的微藻,将卤虫过滤收集起来,用海水冲洗。收集起的卤虫用玻璃匀浆器研磨后的分析方法与微藻的分析方法相同,测定其中的脂类和脂肪酸组成。

二、结果与讨论

1. 投喂微藻后卤虫体内脂类组成的变化

表 1a—d 分别是投喂金藻 3011、三角褐指藻、小球藻和面包酵母一定时间后,卤虫体内脂类组成的变化。

金藻 3011、三角褐指藻、小球藻和面包酵母脂肪中极性脂(PL)分别占 42.5%、66.5%、43.2%和 24.3%;中性的甘油酯分别为 3.9%、15.0%、35.4%和 10.5%(见研究 I)。用上述 4 种微藻分别投喂卤虫 3d 后,卤虫脂肪中的 PL 从原来的 34.4%分别变为 55.1%、48.4%、35.5%和 48.5%,在以后的 10 多天中,除了投喂三角褐指藻的卤虫脂肪中的 PL 几乎又恢复到原来的水平外(其原因不清楚),其它各组均没有太大的波动,甘油三酯 3d 后则从原来的 52.5%分别降为 21.2%、23.2%、35.6%和 20.2%。而后其含量虽有波动,但不是很大。

表 1a 投喂金藻 3011 的卤虫体内脂类组成的变化(%)

脂类组成	养 殖 时 间 (d)				
	0	3	7	14	17
极 性 脂	34.4	55.1	59.9	51.9	57.4
固 醇 类	8.1	17.4	20.8	17.8	17.3
游离脂肪酸	1.7	3.2	4.5	6.5	3.5
三酰甘油酯	52.5	21.2	5.2	17.3	15.3
甲基烷基酮	ND	1.9	6.4	2.0	3.6
碳水化合物	2.4	0.7	1.4	3.6	1.7

表 1b 投喂三角褐指藻的卤虫体内脂类组成的变化(%)

脂类组成	养 殖 时 间 (d)				
	0	3	7	10	14
极 性 脂	34.4	48.4	52.5	45.3	35.1
固 醇 类	8.1	18.3	19.9	15.5	12.3
游离脂肪酸	1.7	4.8	9.2	3.7	3.1
三酰甘油酯	52.5	23.2	10.6	30.8	44.0
碳水化合物	2.4	4.0	5.9	3.2	4.0

表 1c 投喂小球藻的卤虫体内脂类组成的变化(%)

脂类组成	养 殖 时 间 (d)				
	0	3	7	10	14
极 性 脂	34.4	35.5	36.4	37.2	32.1
固 醇 类	8.1	18.5	11.2	12.9	8.2
游离脂肪酸	1.7	4.3	7.8	5.2	5.0
三酰甘油酯	52.5	35.6	28.0	32.7	32.0
碳水化合物	2.4	5.7	16.1	11.5	22.3

表 1d 投喂面包酵母的卤虫体内脂类组成的变化(%)

脂类组成	养 殖 时 间 (d)			
	0	3	7	10
极 性 脂	34.4	48.5	43.8	41.1
固 醇 类	8.1	17.2	15.1	22.9
游离脂肪酸	1.7	6.0	11.2	8.4
三酰甘油酯	52.5	20.2	17.7	18.0
碳水化合物	2.4	6.3	5.2	4.4

上述结果说明,卤虫体内的脂类组成容易受到饵料藻中脂类组成的影响,而且这种影响很快,仅 3 天就能达到平衡。但是不同饵料藻对卤虫的影响程度不同。如三角褐指藻,尽管其 PL 含量很高,但对卤虫体内 PL 含量的影响没有金藻 3011 大;面包酵母的 PL 含量比卤虫原有的还低,但卤虫摄食后其体内脂肪中 PL 含量也增加,这可能是由于不同饵料中 PL 的组成不同,因而在卤虫体内消化吸收不同的原故;小球藻尽管其极性脂含量与金藻 3011 差不多,但对卤虫体内 PL 含量基本没有影响,这可能由于小球藻细胞壁厚,不容易被消化的结果。同样是甘油三酯,但由于几种饵料中的含量都大大低于卤虫体内原有的含量,用它们投喂卤虫使得其脂肪中这种脂类的含量下降,其下降的程度基本与饵料中的相应的脂类的含量相关,即饵料中含量高,卤虫体内下降程度小,反之则下降程度大。这说明,卤虫可以通过摄取外源脂肪增加相应种类脂肪的含量,同时在外源脂肪中的能源物质——中性脂不足的情况下,会消耗自身的中性脂。

2. 投喂微藻后卤虫体内高度不饱和脂肪酸的变化

表 2a—d 分别为投喂金藻 3011、三角褐指藻、小球藻和面包酵母后,卤虫体内 18:3、18:4、20:5 和 22:6 几种主要 n3-PUFA 含量的变化情况。

表 2a 投喂金藻 3011 的卤虫体内主要的 n3-PUFA 含量的变化(%)

脂 肪 酸	卤虫养殖时间(d)				
	0	3	7	14	17
18:3(n-3)	3.4	3.3	4.8	7.0	8.3
18:4(n-3)	0.7	0.7	7.9	9.2	12.1
20:5(n-3)	13.1	11.9	14.7	9.1	9.2
22:6(n-3)	ND	ND	ND	ND	ND

注:ND 为未检出(下同)。

表 2b 投喂三角褐指藻的卤虫体内主要的 n3-PUFA 含量的变化(%)

脂 肪 酸	卤虫养殖时间(d)				
	0	3	7	14	17
18:3(n-3)	3.4	2.1	1.1	0.3	0.7
18:4(n-3)	0.7	0.4	0.3	0.3	0.6
20:5(n-3)	13.1	21.9	18.3	28.1	27.1
22:6(n-3)	ND	ND	ND	ND	0.3

表 2c 投喂小球藻的卤虫体内主要的 n3-PUFA 含量的变化(%)

脂 肪 酸	卤虫养殖时间(d)				
	0	3	7	14	17
18:3(n-3)	3.4	2.9	2.2	2.6	2.7
18:4(n-3)	0.6	0.6	0.6	0.7	1.0
20:5(n-3)	13.1	17.2	13.0	14.1	14.2
22:6(n-3)	ND	ND	ND	ND	ND

表 2d 投喂面包酵母的卤虫体内主要的 n3-PUFA 含量的变化(%)

脂 肪 酸	卤虫养殖时间(d)			
	0	3	7	14
18:3(n-6)	0.4	0.2	0.3	ND
18:3(n-3)	3.4	1.8	2.6	2.1
18:4(n-3)	0.7	0.9	1.6	1.3
20:4(n-6)	2.4	3.9	4.3	3.3
20:5(n-3)	13.1	14.2	14.3	16.2
22:6(n-3)	ND	ND	ND	ND

金藻 3011 体内主要的 n3-PUFA 是 18:3、18:4 和 22:6, 分别占脂肪酸总量的 6.5%、26.7% 和 22%, 仅有很小量的 20:5(1.5%) (见研究 I)。用金藻 3011 投喂卤虫, 发现卤虫体内的 18:3(n-3) 和 18:4(n-3) 的含量随着时间的延长而增加, 14d 后由原来的 3.4% 和 0.7% 分别变为 8.3% 和 12.1%, 但 22:6(n-3) 却一点也不在卤虫体内积累。三角褐指藻中主要的 n3-PUFA 20:5(n-3) 占脂肪酸总量的 29.7%; 22:6(n-3) 很少, 仅占 2.0%; 18:3(n-3) 和 18:4(n-3) 则基本没有或微量(见研究 I)。卤虫摄食三角褐指藻 14d 后, 体内的 20:5(n-3) 由原来的 13.1% 增加到 28.1%, 18:3(n-3) 则由原来的 2.1% 降到 0.7%; 小球藻中主要的 n3-PUFA 也是 20:5, 占脂肪酸总量的 29.3% (见研究 I), 但经过 14d 的喂养, 卤虫体内的 20:5 却基本没有增加, 其它 n3-PUFA 的含量也基本没有变化; 作为对照组的面包酵母不含 n3-PUFA, 用它投喂卤虫, 其体内 n3-PUFA 也基本没有变化。但投喂 6—7d 后有卤虫死亡, 到两周后则基本上全部死光。

上述结果说明, 不同的 n3-PUFA 在卤虫体内的代谢行为是不同的。18:3、18:4 和 20:5 在卤虫体内的含量随食物中含量的变化而变化, 食物中含量高, 卤虫体内的含量也

随之增高,反之则降低,说明卤虫本身不能合成这些脂肪酸,只有从外界摄取并积累。22:6 则不同,即使饵料藻中的含量很高,卤虫体内也不蓄积,说明这种脂肪酸在卤虫体内或被转化为其他脂肪酸,或被作为能源而消耗。

上述结果还说明,不同藻类的同一种 n3-PUFA 在卤虫体内被吸收的情况也不同。同是 20:5,来自三角褐指藻的容易被卤虫吸收,而来自小球藻的却不能在卤虫体内积累,其原因可能是由于小球藻的细胞壁厚,难以被卤虫消化。在实验过程中我们也发现,用小球藻喂养卤虫时,卤虫对食物的消耗比较少,生长速度比投喂其它藻时慢,说明小球藻不是卤虫适宜的饵料;面包酵母不含 n3-PUFA,用其投喂卤虫最后全部死亡,说明 n3-PUFA 对卤虫生长发育是非常重要的。

本研究的实验结果提示我们,用微藻强化卤虫时,一要选择合适的藻种,小球藻是不适宜的;二要看强化什么样的 n3-PUFA,强化 EPA 是可以的,如要强化 DHA 恐怕难以达到目的。当然本实验结果只是反映了金藻 3011 的 DHA 向卤虫体内传递的情况,其它藻类的 DHA 向卤虫体内传递是否可能,尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 瀬戸 明,1993,海产藻类による多不飽和脂肪酸の生産とその利用,油化学,42(4):352—356。
Ben-Amotz, A., T. G. Tornabene, and W. H. Thomas, 1987, Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids, *Mar. Biol.*, 95: 31—36.
Kanazawa, A., S. Teshima, S. Tokiwa, et al., 1979, Essential fatty acids in the diet of prawn- I, Effect of docosa-hexaenoic acid on growth, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 45(9): 1151—1153.
Levine, D. M. and S. D. Sulkin, 1984, Nutritional significance of long-chain polyunsaturated fatty acids to the zoeal development of the brachyuran crab, *Eurypanopeus depressus* (Smith), *J. Exp. Mar. Ecol.*, 81: 211—223.

**STUDIES ON POLYUNSATURATED FATTY ACIDS OF MARINE
MICROALGAE II. TRANSFER OF POLYUNSATURATED FATTY
ACIDS FROM MICROALGAE TO ARTEMIA SILINA***

Fan Yunzhen, Li Hefang, Liu Fayi

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

This study on the transfer of lipids and n-3 polyunsaturated fatty acids from three microalgae, *Isochrysis galbana* 3011, *Phaeodactylum tricornutum*, *Chlorella* sp., to *Artemia silina* showed that the polar lipid ratio in total lipid of the *Artemia* fed the microalgae (excepting *Chlorella* sp.) increased, and that the neutral lipid ratio decreased; that 18: 3(n-3), 18: 4(n-3) and 20: 5(n-3) levels in total fatty acids varied with that in the microalgae (excepting *Chlorella* sp.) too, and that 22: 6(n-3) was not accumulated in the *Artemia*, Perhaps because the *Chlorella* sp. cell wall was too thick for the *Artemia* to digest. The compositions of lipids and fatty acids of the animal fed the microalgae was not much changed.

* Contribution No. 3103 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.