

# 海洋微藻高度不饱和脂肪酸的研究

## I. 几种常用海洋微藻的脂类和脂肪酸组成

李荷芳 樊云真 刘发义  
(中国科学院海洋研究所)

高度不饱和脂肪酸,特别是 20:5(EPA)和 22:6(DHA)等 n-3 系列高度不饱和脂肪酸(n-3PUFA)对人类的生长发育和健康有重要的作用,具有降血脂、降血压、抗血栓、防止血小板凝聚,降低胆固醇等作用,可以用于治疗心脑血管疾病,还能抑制某些肿瘤的发生,降低其生长速度(Simopoulos *et al.*, 1991; )。DHA 是人类大脑和视网膜正常发育必不可少的物质,能改善脑机能、提高智力和记忆力(Simopoulos *et al.*, 1991; Carlson *et al.*, 1991),目前尤其受到人们的重视;EPA 和 DHA 也是海洋鱼类及甲壳类动物幼体生长发育所必需的营养要素,近年来在水产养殖中也受到特别重视。

海洋微藻具有合成 EPA 和 DHA 等 n3-PUFA 的奇特能力,其它海洋生物,包括鱼类中的 EPA 和 DHA 大都通过食物链从藻类积蓄而来(齐藤洋昭,1993),而且藻油没有鱼腥味,很少含胆固醇,因此海洋微藻是 EPA 和 DHA 的另一种重要的来源;海洋微藻又是海洋水产动物育苗中非常重要的生物饵料,其 EPA 和 DHA 的含量是衡量其营养价值的非常重要的指标,因此海洋微藻中高度不饱和脂肪酸的研究和开发近年来受到了极大的重视,成了研究的热门。

本文报道了我国沿海水产养殖中几种常用微藻的脂类和高度不饱和脂肪酸的组成和含量,为海洋微藻的开发利用提供了基础资料。

### 一、材料与方 法

**1. 生物材料** 实验用的 7 种微藻,即球等鞭金藻 3011、3018、3009(*Isochrysis galbana*)、绿色巴夫藻 3012(*Pavlova viridis*)、小新月菱形藻 2034(*Nitzschia closterium*)、三角褐指藻 2038(*Phaeodactylum tricornutum*)和小球藻(*Chlorella* sp.)均由本所提供。

**2. 微藻的培养** 将 7 种微藻在室内用 5L 玻璃瓶培养,培养液体积为 3L,初始细胞浓度均为  $8 \times 10^4$ — $10 \times 10^4$  个/mL;室内自然光照,光强 1000—10000 lx,光照周期一般为 15h:9h 的明、暗周期;水温为 15—18℃;pH 值由最初的 8.20—8.30 变到培养后期的

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3101 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。

8.50—9.20;培养期间每日摇动三次,隔日计数。

**3. 样品分析** 参照袁剑青等(1988)和杉山昭博(1993)的方法,取一定体积的藻液,4000rpm 离心 5min,收集沉淀藻泥,用玻璃匀浆器研磨后,按 Bligh-Dyer 法用氯仿-甲醇抽提(Bligh *et al.*, 1959),有机层旋转蒸干,称重测定总脂的含量。

不同种类脂肪用薄层层析法分离,用薄层色谱扫描仪(Shimadzu CS-90(日本产))进行定量测定,所得图谱及数据由 Shimadzu Chromatopac C-E1B integrator 处理。每个样品分别测三块层析板,计算平均值。

脂肪酸的组成和含量用气相色谱法测定,微藻脂肪经甲酯化得到的脂肪酸甲酯经薄层层析(TLC)纯化后,用 Hewlett Packard 5880A 型气相色谱仪测定脂肪酸含量,参数为:色谱柱 25m×0.22mm;柱温 210℃;进样器及检测器温度为 240℃;载气为纯氮气。峰面积和图谱由与 Hewlett Packard 5880A 匹配的计算机和绘图仪计算和绘出。根据各个峰的滞留时间,参照标准样品,由 ECL 值确定其所代表的脂肪酸的种类。

## 二、结果与讨论

**1. 7 种微藻的脂类组成** 在水温 15—18℃、光强 1000—10000 lx、自然光照周期(15h: 9h 明、暗)的条件下,分别培养 2 周左右,其生长情况示于表 1。收集藻体,分别测定其中的总脂、脂类和脂肪酸组成及含量,结果见表 2 和表 3。

表 1 7 种微藻的生长情况

| 微藻种类                       | 养殖时间<br>(d) | 细胞计数(×10 <sup>4</sup> 个/mL) |           | 生长速率<br>K* |
|----------------------------|-------------|-----------------------------|-----------|------------|
|                            |             | 开始                          | 结束        |            |
| <i>I. galbana</i> 3011     | 15          | 10                          | 400—450   | 0.36       |
| <i>I. galbana</i> 3018     | 16          | 10                          | 300—350   | 0.31       |
| <i>I. galbana</i> 3009     | 18          | 8                           | 300—350   | 0.30       |
| <i>P. viridis</i> 3012     | 18          | 10                          | 450—500   | 0.31       |
| <i>N. closterium</i> 2034  | 14          | 15                          | 400—450   | 0.34       |
| <i>P. tricornutum</i> 2038 | 18          | 10                          | 400—420   | 0.30       |
| <i>Chlorella</i> sp.       | 15          | 100                         | 1100—1200 | 0.23       |

\* K 为每天细胞分裂的频率。 $K = \frac{\lg N_t - \lg N_0}{t - t_0} \times 3.322$ , 其中  $t_0$  为开始的时刻,  $t$  为结束的时刻;  $N_0$  和  $N_t$  分别表示  $t_0$  和  $t$  时刻的细胞密度。

从表 1 中可看出,绝大部分微藻的生长速率在 0.30—0.36 之间,比较接近,小球藻的日平均生长速率稍低,为 0.23,这是因为小球藻的开始浓度就较高。7 种藻生长都是正常的。

表 2 7 种微藻中总脂含量和脂类组成

| 微藻种类      | <i>I. gal-<br/>bana</i><br>3018 | <i>I. gal-<br/>bana</i><br>3009 | <i>I. gal-<br/>bana</i><br>3011 | <i>N. clos-<br/>terium</i><br>2034 | <i>P. tri-<br/>cornutum</i><br>2038 | <i>C.<br/>sp.</i><br>3012 | <i>P. vi-<br/>ridis</i><br>3012 |
|-----------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 总脂含量      | 18.6                            | 26.6                            | 26.5                            | 8.8                                | 11.6                                | 12.8                      | 10.2                            |
| 极性脂       | 42.8                            | 27.2                            | 42.5                            | 64.4                               | 66.5                                | 43.2                      | 58.3                            |
| 固醇类+游离脂肪酸 | 6.6                             | 6.0                             | 7.0                             | 19.6                               | 15.7                                | 13.9                      | 32.4                            |
| 三酰甘油酯     | 11.8                            | 14.3                            | 3.9                             | 9.3                                | 15.0                                | 5.3                       | 1.7                             |
| 甲基烷基酮     | 20.4                            | 27.1                            | 22.9                            | ND                                 | ND                                  | 35.4                      | ND                              |
| 固醇酯类      | 16.2                            | 23.5                            | 21.3                            | 1.1                                | 0.6                                 | 0.7                       | 2.5                             |
| 碳氢化合物     | 2.2                             | 3.0                             | 2.4                             | 5.5                                | 2.2                                 | 6.8                       | 5.2                             |

\* 总脂含量为占藻体干重的百分比;其它脂类含量为占总脂的百分比。

从表 2 可看出,7 种微藻总脂的含量大都占藻体干重的 10% 以上,高的达 26.6%,最低的也有 8.8%;而大型海水藻类中总脂含量一般不到 1%,可见这些微藻中总脂的含量是相当高的。从表 2 还可以看出,微藻的脂肪相当大的部分是极性脂,除 3009 外,其它几种极性脂的含量都占总脂的 40% 以上,其中 2038 和 2034 脂肪中的极性脂分别高达 66.5% 和 64.4%;而鱼油中几乎没有极性脂,大豆中的磷脂也只占总脂的 10% 左右,远比上述微藻低。微藻的极性脂中,相当大的一部分是磷脂,磷脂具有许多重要生理功能,无论是对人类还是对鱼、虾的生长发育都是十分重要的。

**2. 高度不饱和脂肪酸的含量** 表 3 是 7 种微藻的脂肪酸组成,从表中可看出,这 7 种微藻中的高度不饱和脂肪酸,特别是 n3-PUFA 含量很高,最高的达 61.3%,最低的也达 29.3%。在这些 n3-PUFA 中,大部分是 EPA 或 DHA,这两种脂肪酸在总脂肪酸中的比例最高的分别为 35.2% 和 22.0%,而鱼油中这两种脂肪酸加起来通常也只有 10%—20%,多的也不超过 30%。上述微藻中的 PUFA 组成还有一个很大的特点,就是 EPA 和 DHA 以及 18:4(n-3)在不同微藻中分布差别很大,如金藻 3018、3009、3011 中 DHA 和 18:4(n-3)的含量之和达 31.3%—48.7%;而 EPA 含量很少,甚至没有;小新月菱形藻 2034、三角褐指藻 2038 和小球藻中 EPA 含量比较高,为 29.3%—35.2%,DHA 含量却很低;在绿色巴夫藻 3012 中 EPA 和 DHA 的含量都比较高,两者之和达 40.5%(表 3)。因此,无论是在水产养殖中应用,还是想用来作为 EPA 和/或 DHA 的原料,都必须根据实际需要选择不同的藻种。

表 3 7 种微藻的脂肪酸组成

| 脂 肪 酸       | <i>I. gal-<br/>bana</i><br>3018 | <i>I. gal-<br/>bana</i><br>3009 | <i>I. gal-<br/>bana</i><br>3011 | <i>N. clos-<br/>terium</i><br>2034 | <i>P. tri-<br/>cornutum</i><br>2038 | <i>C.</i><br>sp. | <i>P. vi-<br/>ridis</i><br>3012 |
|-------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------|---------------------------------|
| 14 : 0      | 12.9                            | 9.9                             | 7.4                             | 6.5                                | 5.1                                 | 3.4              | 11.5                            |
| 14 : 1      | 0.2                             | 0.5                             | 0.3                             | 0.5                                | 0.4                                 | 0.5              | 0.9                             |
| i-15 : 0    | 1.3                             | 1.4                             | —                               | —                                  | —                                   | 0.9              | 1.6                             |
| 15 : 0      | 0.3                             | 0.4                             | 0.3                             | 0.4                                | 0.4                                 | 0.4              | 0.4                             |
| 16 : 0      | 11.0                            | 9.6                             | 8.6                             | 14.3                               | 16.3                                | 24.6             | 12.6                            |
| 16 : 1(n-7) | 2.2                             | 4.5                             | 2.4                             | 18.3                               | 21.8                                | 21.0             | 6.7                             |
| i-17 : 0    | —                               | —                               | —                               | 0.7                                | 1.0                                 | 0.9              | 0.1                             |
| 16 : 2(n-6) | 1.2                             | —                               | —                               | —                                  | 0.3                                 | —                | —                               |
| 16 : 2(n-4) | —                               | 0.3                             | 0.3                             | 4.5                                | 4.3                                 | —                | —                               |
| 17 : 0      | —                               | —                               | 0.1                             | —                                  | —                                   | 0.3              | —                               |
| 16 : 3(n-6) | 0.2                             | 0.3                             | —                               | 7.6                                | 5.7                                 | 0.3              | 0.2                             |
| 16 : 3(n-4) | —                               | —                               | —                               | 0.7                                | 1.2                                 | —                | —                               |
| 18 : 0      | 0.6                             | 0.3                             | 0.7                             | 1.1                                | 1.6                                 | 1.8              | 0.5                             |
| 18 : 1(n-9) | 12.7                            | 13.7                            | 7.5                             | 1.5                                | 1.8                                 | 8.4              | 1.5                             |
| 18 : 1(n-7) | 1.9                             | 0.9                             | 0.8                             | 0.7                                | 0.7                                 | 0.4              | 0.5                             |
| 18 : 2(n-6) | 6.3                             | 3.8                             | 2.9                             | 2.3                                | 2.1                                 | 2.2              | —                               |
| 18 : 3(n-6) | —                               | —                               | 0.4                             | 0.5                                | 0.7                                 | 0.5              | 0.9                             |
| 18 : 3(n-3) | 7.2                             | 10.3                            | 6.5                             | —                                  | —                                   | —                | 0.2                             |
| 18 : 4(n-3) | 14.7                            | 26.3                            | 26.7                            | —                                  | 0.5                                 | —                | 11.0                            |
| 20 : 0      | —                               | —                               | 0.2                             | —                                  | —                                   | —                | —                               |
| 18 : 5(n-3) | 1.6                             | 0.7                             | 4.6                             | —                                  | —                                   | —                | —                               |
| 20 : 2(n-6) | —                               | —                               | 0.1                             | —                                  | —                                   | 0.2              | —                               |
| 20 : 3(n-6) | 5.4                             | 2.2                             | 0.9                             | —                                  | 0.3                                 | —                | —                               |
| 20 : 4(n-6) | —                               | —                               | 0.5                             | 1.4                                | 1.9                                 | 4.7              | 0.8                             |
| 20 : 4(n-3) | —                               | —                               | —                               | 0.4                                | 0.7                                 | —                | —                               |
| 20 : 5(n-3) | —                               | —                               | 1.5                             | 35.2                               | 29.7                                | 29.3             | 27.9                            |
| 22 : 5(n-6) | 3.4                             | —                               | 3.3                             | 0.4                                | —                                   | —                | 8.4                             |
| 22 : 5(n-3) | —                               | —                               | —                               | 1.4                                | 0.8                                 | —                | —                               |
| 22 : 6(n-3) | 16.8                            | 14.2                            | 22.0                            | 0.5                                | 1.8                                 | —                | 12.6                            |
| n3-PUFAs    | 40.3                            | 51.5                            | 61.3                            | 37.5                               | 33.5                                | 29.3             | 51.7                            |
| 总计          | 99.9                            | 99.3                            | 98.0                            | 98.9                               | 99.1                                | 99.8             | 98.3                            |
| 其它          | 0.1                             | 0.7                             | 2.0                             | 1.1                                | 0.9                                 | 0.2              | 1.7                             |

## 参 考 文 献

- 袁剑青等,1988,海洋浮游藻抗真菌活性的初步探讨,中国海洋药物,1—2,30—35。  
齐藤洋昭,1993,水产动物中のDHA分布,食品工业,36(14):33—43。  
杉山昭博,1993,海产微细藻类的冻结保存につて,水产増殖,41(3):287—292。  
Bligh, E. G. and W. J. Dyer, 1959, A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911—917。  
Carlson, S. E. and N. Salem Jr, 1991, Essentiality of  $\omega$ 3 fatty acids in growth and development of infants, In Health effects of  $\omega$ 3 polyunsaturated fatty acids in seafoods, *World Rev Nutr. Diet.*, 66: 74—86。  
Simopoulos, A. P., R. R. Kifer, A. A. Wykes, 1991,  $\omega$ 3 fatty acids: research advances and support in the field since June 1985 (Worldwide), In: Health Effects of  $\omega$ 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods, *World Rev Nutr. Diet.*, 66: 51—71。

## STUDIES ON POLYUNSATURATED FATTY ACIDS OF MARINE MICROALGAE I. COMPOSITION OF LIPIDS AND FATTY ACIDS OF SOME MARINE MICROALGAE USED IN AQUACULTURE\*

Li Hefang, Fan Yunzhen, Liu Fayi  
(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

## ABSTRACT

Seven marine microalgae species (*Isochrysis galbana* 3011, *I. galbana* 3018, *I. galbana* 3009, *Pavlova viridis* 3012, *Nitzschia closterium* 2034, *Phaeodactylum tricornutum* 2038 and *Chlorella* sp.) widely used as live feed in aquaculture, were laboratory cultured separately under identical culture conditions for two weeks, and then analyzed for the compositions of lipids and fatty acids in them. The total lipid contents of the algae (excepting *N. closterium*) were  $>10\%$ , and the highest (26.6%) one was in *I. galbana* 3009. The polar lipid contents in the total lipids were 27.2%—66.5%, and the n3-polyunsaturated fatty acid contents were 29.3%—61.3% of total fatty acids.

---

\* Contribution No. 3101 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.