

光照强度对四株海洋绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响

曹春晖^{1,2}, 孙世春^{1,*}, 麦康森¹, 梁英¹

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003; 2. 天津科技大学天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津 300457)

摘要:采用 f/2 培养基, 在 3000lx, 5000lx, 8000lx 光照强度时对杆状裂丝藻 (*Stichococcus bacillaris*, MACC(中国海洋大学微藻种质库)/C19) 和 3 株小球藻 (*Chlorella* sp. MACC/C95, MACC/C97 和 MACC/C102) 等 4 株海洋绿藻的总脂含量及脂肪酸组成进行了研究。单因子方差分析结果表明, 光照强度对 4 株海洋绿藻的相对生长率、EPA (二十碳五烯酸, 20:5(n-3)) 含量及 PUFA (多不饱和脂肪酸) 总量, C19、C97 和 C102 的脂肪含量和 SFA (饱和脂肪酸) 总量, C19、C95 和 C102 的 MUFA (单不饱和脂肪酸) 总量均有显著影响 ($P < 0.05$)。C19 和 C95 的总脂含量随光照强度的增加总体呈降低趋势, C97 和 C102 的总脂含量则随光照强度的升高而明显升高。C19 的 EPA 含量随光照强度的增加呈现低-高-低趋势, C95 在中低光照强度下 EPA 含量较高, C97 和 C102 的 EPA 含量则随光照强度的增加而明显降低, 4 株绿藻的 AA (花生四烯酸, 20:4(n-6)) 含量和 PUFA 总量均随光照强度的增加而降低。多重比较结果表明: C19 在高光照强度 (8000lx) 时总脂含量显著低于其它各组, 低光照强度 (3000lx) 和中光照强度 (5000lx) 处理间没有显著性差异 (12.9%—12.7%), C97 和 C102 则分别在高光照强度时总脂含量显著高于其它各处理 (分别为 40.6% 和 33.3%)。C19 的 EPA 含量在中光照强度水平显著高于其它处理 (12.7%), C97 和 C102 的 EPA 含量分别在低光照强度水平显著高于其它处理 (分别为 12.0% 和 10.5%), C95 的 EPA 含量在高光照强度水平显著低于其它处理, 低光照强度和中光照强度处理间没有显著性差异 (14.0%—14.7%); C19 和 C95 的 PUFA 总量均在高光照强度水平显著低于其它处理, 在低光照强度和中光照强度处理间没有显著性差异 (分别为 19.1%—19.4% 和 21.3%—21.3%), C97 和 C102 的 PUFA 总量均在低光照强度水平显著高于其它处理 (分别为 19.2% 和 18.9%)。4 株绿藻的主要脂肪酸成份为 14:0、16:0、16:1(n-7)、16:4(n-3)、18:1(n-9)、18:3(n-3)、20:4(n-6) 和 EPA。

关键词: 小球藻; 杆状裂丝藻; 总脂; 脂肪酸; 光照强度

Effect of light intensity on the total lipid contents and fatty acid composition in 4 strains of marine green algae

CAO Chunhui^{1,2}, SUN Shichun^{1,*}, MAI Kangsen¹, LIANG Ying¹

1 The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

2 Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China

Abstract: The total lipid contents and fatty acid composition in four strains of marine green algae (*Stichococcus bacillaris* MACC/C19, *Chlorella* sp. MACC/C95, MACC/C97 and MACC/C102) cultivated under different light intensities (3000lx, 5000lx and 8000lx) in f/2 medium were determined. One-way analysis of variance showed that light intensity had significant effects on the relative growth rates, eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5(n-3)) and subtotals of polyunsaturated fatty acids (PUFA) contents of 4 strains of green algae ($P < 0.05$). Light intensity had significant effects on the total lipid contents and subtotals of saturated fatty acids (SFA) of C19, C97 and C102 ($P < 0.05$). Light intensity also had significant effect on subtotals of monounsaturated fatty acids (MUFA) of C19, C95 and C102 ($P < 0.05$). The total lipid contents weakly decreased with the increase of light intensity in C19 and C95, however it was significantly increased with

基金项目: 国家高新技术发展计划资助项目(863-819-02-01); 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2007CD407306-2); 天津市科技攻关资助项目(033122211)

收稿日期: 2009-12-15; 修订日期: 2010-02-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sunsc@ouc.edu.cn

the increase of light intensity in C97 and C102. The proportions of EPA decreased with the increase of light intensity in all strains except C19, the proportions of 20:4(n-6) and subtotals of PUFA in all 4 strains decreased with increasing light intensity. Multiple comparison tests showed that the total lipid content in C19 grown at high light intensity (8000 lx) was lower than those grown at other treatments, but was not significantly different between the treatments of low light intensity (3000 lx) and middle light intensity (5000 lx) (12.9% and 12.7% of the dry weight, respectively). C97 and C102 had the highest total lipid contents (40.6% and 33.3% of the dry weight, respectively) when grown at high light intensity. The proportion of EPA in C19 reached its highest value (12.7% of total fatty acids) when grown at middle light intensity, and the proportions in C97 and C102 of EPA reached their highest values (12.0% and 10.5% of total fatty acids, respectively) when grown at low light intensity. The proportion of EPA in C95 grown at high light intensity was lower than those grown at other treatments. However there was no significant difference between the treatments of low light intensity and middle light intensity (14.0% and 14.7% of total fatty acids, respectively). The subtotals of PUFA in C19 and C95 cultivated at high light intensity were lower than those cultivated at other treatments. However there was no significant difference between the treatments of low light intensity and middle light intensity (19.1%—19.4% and 21.3%—21.3% of total fatty acids, respectively). The subtotals of PUFA in C97 and C102 reached their highest values (19.2% and 18.9% of total fatty acids, respectively) when light intensity was 3000 lx. The main fatty acids of 4 strains of marine green algae were 14:0, 16:0, 16:1(n-7), 16:4(n-3), 18:1(n-9), 18:3(n-3), 20:4(n-6) and EPA.

Key Words: *Chlorella*; *Stichococcus*; total lipid; fatty acids; light intensity

海洋微藻因富含 AA、EPA 和 DHA(二十二碳六烯酸, 22:6(n-3))等(n-3)PUFAs 而备受关注。(n-3)PUFA 的生理功能包括增强机体免疫系统功能、预防和治疗多种心血管疾病、促进婴幼儿智力及脑发育等, 尤其是其中的 AA 和 EPA 是前列腺素及衍生物的前列环素、凝血烷、白三烯的天然前体, 在机体的多种生理过程中起着重要的调节作用, 因此微藻可作为人类的高级营养食品和药品。微藻在水产养殖业中还是浮游动物(轮虫、枝角类等)、甲壳类、双壳类和幼龄鱼类的饵料, 其中含有的 EPA 和 DHA 等海产动物所必需的脂肪酸(EFA), 能够提高其生长率和幼体的存活率。

海洋微藻的脂肪含量以及脂肪酸构成的数量和质量可随环境因子而改变^[1-2], 如培养基中的营养盐组成及比例、环境条件(光照、温度、盐度等)、生长期等。光照强度影响微藻的光合作用和生长, 从而对其体内生化成分产生影响。关于光照强度对海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响已有多个报道^[3-21], 但国内外对裂丝藻的研究尚未见报道。本文对 1 株裂丝藻和 3 株小球藻等 4 株海洋绿藻在不同光照强度培养时的相对生长率、总脂含量和脂肪酸组成进行了测定, 以期找出其生长和脂肪酸合成的最适光照条件, 为微藻的不饱和脂肪酸研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种

实验所用微藻藻种取自中国海洋大学微藻种质库(MACC):

小球藻 *Chlorella* spp. MACC/C95, /C97, /C102;

杆状裂丝藻 *Stichococcus bacillaris* MACC/C19。

1.2 培养条件

对 4 个藻株作了不同光照强度(3000lx, 5000lx, 8000lx)的培养实验。每个光照强度水平设 3 个重复。其中海水经沉淀后用脱脂棉过滤, 煮沸消毒。采用 f/2 培养基^[22]。实验于 2L 细口瓶中进行, 连续充气, 连续光照, 盐度 28, 室温(20 ± 1)℃。每天用血球计数板法计数细胞浓度。

1.3 微藻收获

微藻在指数生长末期 $4\ 000 \times g$ 离心 15 min 收获, 收集的藻泥经冷冻干燥后放入带塞试管中, 充 N₂ 气

-40℃保存。

1.4 相对生长率计算

利用下式计算相对生长率:

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / T$$

式中, μ 为每天的平均分裂速率; T 为培养天数; N_0 为培养开始时的藻细胞数; N_t 为培养 T 天后的藻细胞数。

1.5 总脂提取

总脂提取和测定按文献^[23]方法进行。

1.6 脂肪酸分析

样品处理及气相色谱分析按文献^[24]方法进行。取 40 mg 左右样品于离心管中,加入体积分数为 2:1 的氯仿/甲醇溶液,振荡后加入 1 mL 2 mol·L⁻¹ NaOH-CH₃OH 溶液,充分振荡后在 75℃水浴中加热 15 min 进行皂化,冷却后加入 2 mol·L⁻¹ HCl-CH₃OH 溶液,调 pH≤2,在 75℃水浴中加热 15 min,使其甲酯化,然后加入 1 mL 正己烷振荡,取上清液进行色谱分析。

气相色谱分析采用美国 HP5890II 型气相色谱仪,氢火焰离子化检测器,Coawax carbowax 毛细管柱(30 m ×Φ0.25 mm),进样口和检测器温度均为 280℃,程序升温,载气为高纯氮,流速 2 mL·min⁻¹,进样量 1 μL。以面积归一划法得到各脂肪酸组分的相对百分含量。

1.7 数据处理

用 SPSS 13.0 软件分别进行单因子方差分析和多重比较。 $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 相对生长率

本文做了不同光照强度对 4 株海洋绿藻的相对生长率的影响,结果见表 1。从表 1 可以看出,C97 在中光强(5000lx)下获得最大相对生长率,C19、C95 和 C102 均在高光强(8000lx)下获得最大相对生长率,且相对生长率随光照强度的增加呈增加趋势。单因子方差分析结果表明,光照强度对 4 株绿藻的相对生长率均有显著影响($P < 0.05$)。

表 1 不同光照强度条件下四株海洋绿藻的相对生长率

Table 1 Relative growth rates of four marine green algae under different light intensity

光照强度/lx Light intensity	相对生长率 Relative growth rate/d ⁻¹			
	C19	C95	C97	C102
3000	0.578 ± 0.02c	0.393 ± 0.01c	0.290 ± 0.01c	0.378 ± 0.01c
5000	0.598 ± 0.02b	0.448 ± 0.04b	0.388 ± 0.04a	0.422 ± 0.03b
8000	0.633 ± 0.04a	0.476 ± 0.03a	0.366 ± 0.05b	0.539 ± 0.03a

注:对于每一个藻株,同一列数据的不同字母(a, b 和 c)表示有显著性差异($P < 0.05$)

2.2 总脂含量

本文做了不同光照强度对 4 株绿藻的总脂含量的影响,结果见表 2。从表 2 可以看出:C19 的脂肪含量在

表 2 不同光照强度条件下四株海洋绿藻的脂肪含量

Table 2 Total lipid contents in four marine green algae under different light intensity

光照强度/lx Light intensity	脂肪含量 Lipid content /%			
	C19	C95	C97	C102
3000	12.9 ± 0.6a	23.9 ± 3.0	28.1 ± 0.7b	19.7 ± 1.3b
5000	12.7 ± 0.9a	22.9 ± 2.8	22.8 ± 2.1b	27.4 ± 2.5 ab
8000	9.1 ± 0.5b	20.8 ± 2.6	40.6 ± 3.9a	33.3 ± 1.1a

注:对于每一个藻株,同一列数据的不同字母(a, b 和 c)表示有显著性差异($P < 0.05$)

低-中光强(3000—5000lx)间变化不大,高光强下有所降低;C95的总脂含量随光照强度的升高略有降低;C97和C102的总脂含量随光照强度升高而明显升高。单因子方差分析结果表明,光照强度对C95脂肪含量的影响没有显著性差异,而对C19、C97和C102的脂肪含量的影响有显著性差异($P < 0.05$)。多重比较结果表明:C19在高光照强度时总脂含量显著低于其它各组,低光照强度和中光照强度处理间没有显著性差异(12.9%—12.7%);C97和C102则分别在高光照强度时脂肪含量显著高于其它各组(分别为40.6%和33.3%)。

2.3 脂肪酸组成

本文做了3个光照强度水平(3000lx, 5000lx, 8000lx)对4株绿藻脂肪酸组成的影响,实验结果见表3。由表3可知,14:0、16:0、16:1(n-7)、16:4(n-3)、18:1(n-9)、18:3(n-3)、AA和EPA是4株绿藻的主要脂肪酸成

表3 不同光照强度下四株海洋绿藻的主要脂肪酸组成

Table 3 The fatty acid compositions (% of total fatty acids) in the four strains of marine green algae at different light intensity (means S. D.)

	C19			C95		
	3000lx	5000lx	8000lx	3000lx	5000lx	8000lx
14:0	3.3 ± 0.1b	5.0 ± 0.4a	3.3 ± 0.1b	4.5 ± 0.2	4.2 ± 1.0	4.7 ± 0.1
16:0	36.6 ± 0.2a	34.1 ± 0.2b	33.1 ± 0.1c	32.1 ± 0.1	31.3 ± 1.5	34.5 ± 1.7
16:1(n-7)	28.0 ± 1.2 ab	22.3 ± 1.1b	33.2 ± 1.6a	24.8 ± 0.4b	24.3 ± 0.3b	27.2 ± 0.3a
16:3(n-4)	0.3 ± 0.1	—	0.5 ± 0.0	—	—	0.2 ± 0.1
16:4(n-3)	2.1 ± 0.9	1.4 ± 0.6	1.4 ± 0.3	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.6 ± 0.4
18:0	2.2 ± 0.3	2.8 ± 0.3	2.7 ± 0.1	1.6 ± 0.2	1.1 ± 0.0	0.9 ± 0.6
18:1(n-9)	5.5 ± 0.6	6.9 ± 0.1	5.4 ± 0.4	11.6 ± 0.1 ab	10.3 ± 0.7b	12.5 ± 0.2a
18:1(n-7)	0.1 ± 0.1	—	—	—	—	0.1 ± 0.1
18:2(n-6)	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.1	—	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.3
18:3(n-3)	1.6 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.7 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.1 ± 0.4	1.8 ± 0.1
20:4(n-6)	4.5 ± 0.1a	3.5 ± 0.1b	3.9 ± 0.3 ab	3.9 ± 0.1a	2.9 ± 0.1b	1.8 ± 0.1c
20:5(n-3)	9.1 ± 0.2b	12.7 ± 0.0a	9.0 ± 0.1b	14.0 ± 0.1a	14.7 ± 0.8a	7.3 ± 0.5b
22:6(n-3)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—	—	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0
SFA	42.1 ± 0.2a	41.9 ± 0.3a	39.3 ± 0.1b	38.2 ± 0.2	37.6 ± 0.8	39.8 ± 0.9
MUFA	33.6 ± 0.7b	39.2 ± 0.6a	38.6 ± 1.0a	36.4 ± 0.3b	34.6 ± 0.5c	39.8 ± 0.2a
PUFA	19.1 ± 0.2a	19.4 ± 0.2a	17.9 ± 0.2b	21.3 ± 0.1a	21.3 ± 0.2a	13.3 ± 0.2b
C97			C102			
	3000lx	5000lx	8000lx	3000lx	5000lx	8000lx
14:0	5.1 ± 0.4	6.1 ± 0.5	4.3 ± 0.4	4.7 ± 0.1a	3.2 ± 0.2b	4.8 ± 0.2a
16:0	32.0 ± 0.1b	29.5 ± 0.9b	36.7 ± 0.4a	32.4 ± 0.4b	37.1 ± 0.1 ab	37.6 ± 1.8a
16:1(n-7)	26.0 ± 0.1b	27.1 ± 0.1a	26.9 ± 0.2a	25.3 ± 0.1b	25.0 ± 0.3b	26.8 ± 0.1a
16:3(n-4)	0.3 ± 0.1	—	—	—	—	—
16:4(n-3)	1.0 ± 0.2b	1.0 ± 0.1b	1.8 ± 0.1a	1.0 ± 0.1a	0.2 ± 0.0b	1.3 ± 0.1a
18:0	1.6 ± 0.1	—	1.2 ± 0.1	1.5 ± 0.4	—	0.6 ± 0.0
18:1(n-9)	13.1 ± 0.3	13.9 ± 0.1	14.2 ± 1.3	14.4 ± 0.4 ab	13.1 ± 0.3b	15.5 ± 0.3a
18:1(n-7)	0.1 ± 0.1	—	—	0.2 ± 0.0	0.4 ± 0.0	—
18:2(n-6)	0.6 ± 0.3	0.6 ± 0.3	—	0.3 ± 0.0	2.2 ± 0.2	—
18:3(n-3)	2.5 ± 0.1a	2.1 ± 0.1b	1.8 ± 0.0b	3.5 ± 0.1	—	2.5 ± 0.1
20:4(n-6)	2.8 ± 0.3a	2.3 ± 0.1 ab	1.8 ± 0.1b	3.6 ± 0.3	2.9 ± 0.3	2.7 ± 0.1
20:5(n-3)	12.0 ± 0.1a	10.8 ± 0.1b	8.1 ± 0.3c	10.5 ± 0.2a	8.0 ± 0.1b	6.2 ± 0.1c
22:6(n-3)	—	—	—	—	—	—
SFA	38.7 ± 0.2b	35.6 ± 0.7c	42.2 ± 0.3a	38.6 ± 0.3b	40.3 ± 0.2b	43.0 ± 0.7a
MUFA	39.2 ± 0.2	41.0 ± 0.1	41.1 ± 0.8	39.9 ± 0.2b	38.5 ± 0.2c	42.3 ± 0.2a
PUFA	19.2 ± 0.2a	16.9 ± 0.1b	13.5 ± 0.1c	18.9 ± 0.1a	13.5 ± 0.2b	12.7 ± 0.1c

注:—表示未检出;对于每一个藻株,同一行数据的不同字母(a, b 和 c)表示有显著性差异($P < 0.05$)

份。小球藻 C95 的 EPA 含量在中低光照强度下含量较高,C97 和 C102 的 EPA 含量随光照强度的增加而明显降低,SFA 和 MUFA 总量随光照强度的增加总体呈增加趋势。杆状裂丝藻 C19 的 EPA 含量随光照强度的增加呈现低—高—低趋势,SFA 随光照强度的增加呈降低趋势,MUFA 随光照强度的增加呈增加趋势。4 株绿藻的 20:4n-6 含量和 PUFA 总量均随光照强度的增加而降低。

单因子方差分析结果表明:光照强度对 C19 的 14:0、16:0、EPA 含量及 SFA、MUFA 和 PUFA 总量的影响有显著性差异($P < 0.05$),对其他脂肪酸含量的影响没有显著性差异;光照强度对 C95 的 16:1(n-7)、AA、EPA 含量及 MUFA 和 PUFA 总量的影响有显著性差异($P < 0.05$),对其他脂肪酸含量的影响没有显著性差异;光照强度对 C97 的 16:0、16:1(n-7)、16:4(n-3)、18:3(n-3)、EPA 含量及 SFA 和 PUFA 总量的影响有显著性差异($P < 0.05$),对其他脂肪酸含量的影响没有显著性差异;光照强度对 C102 的 14:0、16:1(n-7)、16:4(n-3)、EPA 含量及 SFA、MUFA 和 PUFA 总量的影响有显著性差异($P < 0.05$),对其他脂肪酸含量的影响没有显著性差异。

多重比较结果表明,C19 的 EPA 含量在中光照强度水平显著高于其它处理(12.7%),低光照强度和高光照强度处理间没有显著性差异;C95 的 EPA 含量在高光照强度水平显著低于其它处理,低光照强度和中光照强度处理间没有显著性差异(14.0%—14.7%);C97 和 C102 的 EPA 含量分别在低光照强度水平显著高于其它处理(分别为 12.0% 和 10.5%)。C19 的 16:0 含量和 C95 的 AA 含量在低光照强度水平显著高于其它处理;C19、C95 和 C102 的 16:1n-7 含量、C97 的 16:0 含量均在高光照强度水平显著高于其它处理,低光照强度和中光照强度处理间没有显著性差异;C19 的 AA 含量在低光照强度水平显著高于其它处理,中光照强度和高光照强度处理间没有显著性差异;C97 的 16:1(n-7)含量在低光照强度水平显著低于其它处理,中光照强度和高光照强度处理间没有显著性差异;C95 和 C102 的 18:1(n-9)含量在中光照强度和高光照强度处理间有显著性差异,其它处理间没有显著性差异;C97 的 AA 含量和 C102 的 16:0 含量在低光照强度和高光照强度处理间有显著性差异,其它处理间没有显著性差异。4 株绿藻的 16:4(n-3)、18:2(n-6) 和 18:3(n-3)含量较低。

C19 的 SFA 和 PUFA 总量分别在高光照强度水平显著低于其它处理,在低光照强度和中光照强度处理间没有显著性差异(分别为 41.9%—42.1% 和 19.1%—19.4%);MUFA 总量则在低光照强度水平显著低于其它处理,在中光照强度和高光照强度处理间没有显著性差异(38.6%—39.2%)。在高光照强度水平,C97 和 C102 的 SFA 总量(分别为 42.2% 和 43.0%)及 C95 和 C102 的 MUFA 总量(分别为 39.8% 和 42.3%)均显著高于其它处理;C97 和 C102 的 PUFA 总量均在低光照强度水平显著高于其它处理(分别为 19.2% 和 18.9%),C95 的 PUFA 总量则在高光照强度水平显著低于其它处理,在低光照强度和中光照强度处理间保持稳定(均为 21.3%)。

3 讨论

微藻的脂肪酸组成在不同的培养条件下可能会有所变化,但仍保持其特殊的特征。绿藻纲富含 16 碳和 18 碳 PUFAs,其特征脂肪酸是 16:4(n-3) 和 18:3(n-3)^[25],一些海产小球藻种有着较高含量的 EPA,大多数的绿藻种类都仅含有少量的 DHA 或不含^[26]。在本实验结果中,4 株海洋绿藻的主要脂肪酸组成为 14:0、16:0、16:1(n-7)、16:4(n-3)、18:1(n-9)、18:3(n-3)、AA 和 EPA,与前人的研究结果相符。

微藻的脂类物质包括中性脂(三酰甘油)和极性脂(磷脂和甘油脂),三酰甘油通常含有更多的饱和与单不饱和脂肪酸,甘油脂则含有较多的 PUFAs,磷脂的含量相对稳定。微藻细胞随环境变化而改变各类脂的比例,从而也改变了脂肪酸的组成,光是其中最重要的因子之一^[3]。在 Thompson 等^[4]的研究结果中,球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)的总脂含量在较低光强取得最大值,绿色巴夫藻(*Pavlova lutheri*)的总脂含量则随光照强度的增加(1120—18000lx)由低—高—低—高变化,在 3520lx 和 18000lx 光强下总脂含量最高。李荷芳等^[5]的结果表明小球藻(*Chlorella sp-2*)的脂肪含量与光照强度呈正相关,而前沟藻(*Amphidinium sp.*)的脂肪含量随光照强度的升高反而下降。石娟等^[6]和 Emdadi D 等^[7]的研究也表明微藻在低光照下脂肪含量较高。本实验结果中,C19 的脂肪含量在高光强下有所降低,C95 的总脂含量随光照强度变化不大,C97 和 C102 的

总脂含量则随光照强度升高而明显升高,表明微藻的脂肪含量随光照强度的变化因种而异。

早期的研究结果表明光照强度的增加有利于海洋微藻16碳和18碳PUFAs的形成,主要是16:2(n-6),16:3(n-6),16:4(n-3),18:2(n-6)和18:3(n-3)^[8],Lee Y K等^[9]的结果也表明紫球藻(*Porphyridium cruentum*)的18:2、20:4和20:5含量随光照强度的增加而增加,Seto等^[10]的结果表明微小小球藻(*Chlorella minutissima*)的EPA含量随光照强度的增加略有增加。但更多的研究表明,生长在高光强条件下的微藻不饱和脂肪酸的比例降低。Renaud等^[11]认为这是由于不同的微藻细胞中存在不同类型的去饱和酶,而这些酶的活性受光强的影响不同,并研究了不同光照条件下等鞭金藻(*Isochrysis* sp.)和微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)的脂肪酸组成,结果显示,*Isochrysis* sp.的EPA等几种PUFA含量和*N. oculata*中的16:2(n-4)、18:3(n-3)、EPA含量及PUFA总量均随光照增加而下降。在Sukenik等^[12]的研究结果中微绿球藻(*Nannochloropsis* sp.)的AA、EPA含量、Molina-Grima等^[13]的研究结果中*I. galbana*的EPA含量以及Mortenson等^[14]的结果中纤细角毛藻(*Chaetoceros gracilis*)的16:2(n-7)、18:1(n-9)、18:2(n-6)、18:4(n-3)、AA和DHA含量均在高光强下比例降低,Thompson等^[4]的结果显示当光强从18000lx下降到480lx时,简单角毛藻(*Chaetoceros simplex*)中的EPA从6.1%增加到15.5%,而DHA从9.7%减少到3.6%。孙利芹等^[15]的研究结果表明中低光照有利于紫球藻AA和EPA的积累。廖启斌等^[16]对三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)和小球藻(*Chlorella* sp.)、徐年军等^[17]等对后棘藻(*Ellipsoidion* sp.)、蒋霞敏^[18,19]对微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)和绿色巴夫藻、缪锦来等^[20]对两种南极绿藻(*Pyramidomonas* sp., Chlorophyceae L-4)以及Liang Y等^[21]对三角褐指藻等6株海洋硅藻的研究中也发现PUFAs含量随光强的增加而呈下降趋势。

在本实验结果中,小球藻C95的EPA含量在中低光照强度下含量较高,分别为14.0%和14.7%,高光照下降低至7.3%,与孙利芹等^[15]的研究结果相似;C97和C102的EPA含量随光照强度的增加而明显降低,C97从12.0%降至8.1%,C102从10.5%降至6.2%,与Thompson等^[4]、Renaud等^[11]、Sukenik等^[12]、Grima等^[13]和Mortenson等^[14]的结果相似。C19的EPA含量随光照强度的增加呈现低—高—低趋势(9.1%—12.7%—9.0%),表明杆状裂丝藻在中等光照强度下能够获得EPA的最大值。4株绿藻的AA含量均随光照强度的增加而降低,与Sukenik等^[12]和Mortenson等^[14]的结果一致,4株绿藻的PUFA总量均随光照强度的增加而降低,与廖启斌等^[16]、徐年军等^[17]、蒋霞敏^[18-19]、缪锦来等^[20]及Liang Y等^[21]的结果一致。产生这种变化的原因一方面可能是由于微藻细胞在高光照条件下生长快速,体内的PUFA得不到足够的积累所致;另一方面还可能跟细胞内光合作用的机构有关,微藻细胞内的光合作用在叶绿体的类囊体膜上进行,富含PUFA的甘油脂是类囊体膜的主要组分,其数量与细胞的光合活力密切相关。低光照条件下,为了增加光吸收及光利用效率,膜脂的合成速率维持在较高水平,类囊体膜的表面积有所增加,因而PUFA含量增加。而当光强超过饱和光强时,引起了光合机构的损伤和光合速率的下降,膜脂合成速率降低,甚至受到破坏^[12,27-28],PUFA含量随之下降。

References:

- [1] Grima E M, Perez J A S, Sanchez J L G, Camacho F G, Alonso D L. EPA from *Isochrysis galbana*. Growth conditions and productivity. *Process Biochemistry*, 1992, 27(5): 299-305.
- [2] Yongmanitchai W, Ward O P. Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(2): 419-425.
- [3] Shi J, Pan K H. Effects of different culture conditions and growth phases on lipid of microalgae. *Marine Fisheries Research*, 2004, 25(6): 79-85.
- [4] Thompson P A, Harrison P J, Whyte J N C. Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton. *Journal of Phycology*, 1990, 26(2): 278-288.
- [5] Li H F, Zhou H Q. Effects of light intensity on the content of total lipid and fatty acid composition of marine microalgae. *Studia Marine Sinica*, 2001, 43:178-183.
- [6] Shi J, Pan K H. Effects of different light intensities on growth and biochemical composition of *Nitzschia closterium* f. *minutissima* and *Isochrysis galbana* Parke 8701. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, 11(2): 121-128.
- [7] Emdadi D, Berland B. Variation in lipid class composition during batch growth of *Nannochloropsis salina* and *Pavlova lutheri*. *Marine Chemistry*, 1989, 26(3): 215-225.

- [8] Pohl P, Zurheide F. Fatty acids and lipids of marine algae and the control of their biosynthesis by environmental factors//Hoppe H A, Levring T, Tanaka Y eds. *Marine Algae in Pharmaceutical Science*. Berlin: Walter de Gruyter, 1979: 473-523.
- [9] Lee Y K, Tan H M. Effect of temperature, light intensity and dilution rate on the cellular composition red alga *Porphyridium cruentum* in light-limited chemostat cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1988, 4(2) : 231-237.
- [10] Seto A, Wang H L, Hesseltine C W. Culture conditions affect eicosapentaenoic acid content of *Chlorella minutissima*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1984, 61(5) : 892-894.
- [11] Renaud S M, Parry D L, Thinh L V, Kuo C, Padovan A, Sammy N. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 1991, 3(1) : 43-53.
- [12] Sukenik A, Carmeli Y, Berner T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *Journal of Phycology*, 1989, 25(4) : 686-692.
- [13] Grima E M, Camacho F G, Perez J A S, Sanchez J L G. Biochemical productivity and fatty acid profiles of *Isochrysis galbana* Parke and *Tetraselmis* sp. as a function of incident light intensity. *Process Biochemistry*, 1994, 29(2) : 119-126.
- [14] Mortensen S H, Borsheim K Y, Rainuzzo J R, Knutsen G. Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1988, 122(2) : 173-185.
- [15] Sun L Q, Guo J L, Jiang T, Wang C H. Effect of environment factors on fatty acids composition of *Porphyridium Cruentum* cell. *China Oils and Fats*, 2004, 29(9) : 55-58.
- [16] Liao Q B, Li Q, Li W Q, Chen Q H. Effect of irradiance of fatty acid composition of marine microalgae. *Ocean Technology*, 2002, 21(1) : 46-48.
- [17] Xu N J, Zhang X C. Effect of temperature, light intensity and pH on the growth and fatty acid compositions of *Ellipsoidion* sp. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2001, 31(4) : 541-547.
- [18] Jiang X M. Effects of temperatures, light intensities and nitrogen concentrations on the growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis oculata*. *Marine Sciences*, 2002, 26(8) : 9-13.
- [19] Jiang X M, Liu M H, Xing C G. Effect of different ecological conditions on the growth and fatty acid composition of *Pavlovia viridis*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, 31(1) : 88-93.
- [20] Miao J L, Wang B, Kan G F, Ding Y, Jiang Y H, Hou X G, Li G Y. The influence of environment factors on lipid content and fatty acid composition in two species of Antarctic green microalga. *Marine Sciences*, 2005, 29(1) : 4-11.
- [21] Liang Y, Mai K S, Sun S C, Yu D Z. Effect of light intensity on the total lipid and fatty acid composition of six strains of marine diatoms. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2001, 19(3) : 249-254.
- [22] Guillard R R L, Ryther J H. Studies of marine planktonic diatoms I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, 8(2) : 229-239.
- [23] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1959, 37(8) : 911-917.
- [24] Liang Y, Mai K S, Sun S C, Zhou H C, Pan J H. Effects of different media on the growth and fatty acid composition of *Cylindrotheca fusiformis*. *Transaction of Oceanology and Limnology*, 2000, 1:60-67.
- [25] Yu J J, Li H F, Zhou H Q. Fatty acid composition of total, neutral and polar lipids of ten marine microalgae. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, 23(5) : 481-488.
- [26] Volkman J K, Jeffrey S W, Nichols P D, Rogers G L, Garland C D. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1989, 128(3) : 219-240.
- [27] Berner T, Dubinsky Z, Wyman K, Falkowski P G. Photoadaptation and the "package" effect in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 1989, 25(1) : 70-78.
- [28] Perry M J, Talbot M C, Alberte R S. Photoadaptation in marine phytoplankton: Response of the photosynthetic unit. *Marine Biology*, 1981, 62(2/3) : 91-101.

参考文献:

- [3] 石娟, 潘克厚. 不同培养条件对微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. *海洋水产研究*, 2004, 25(6) : 79-85.
- [5] 李荷芳, 周汉秋. 光照强度对海洋微藻脂肪含量及脂肪酸组成影响的研究. *海洋科学集刊*, 2001, 43: 178-183.
- [6] 石娟, 潘克厚. 不同光照条件对小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 生长及生化成分的影响. *中国水产科学*, 2004, 11(2) : 121-128.
- [15] 孙利芹, 郭尽力, 江涛, 王长海. 环境因子对紫球藻细胞脂肪酸组成的影响. *中国油脂*, 2004, 29(9) : 55-58.
- [16] 廖启斌, 李芊, 李文权, 陈清花. 光辐射对海洋微藻脂肪酸含量的效应. *海洋技术*, 2002, 21(1) : 46-48.
- [17] 徐年军, 张学成. 温度、光照、pH 值对后棘藻生长及脂肪酸含量的影响. *青岛海洋大学学报: 自然科学版*, 2001, 31(4) : 541-547.
- [18] 蒋霞敏. 温度、光照、氮含量对微绿球藻生长及脂肪酸组成的影响. *海洋科学*, 2002, 26(8) : 9-13.
- [19] 蒋霞敏, 柳敏海, 邢晨光. 不同生态条件对绿色巴夫藻生长与脂肪酸组成的影响. *水生生物学报*, 2007, 31(1) : 88-93.
- [20] 缪锦来, 王波, 阚光锋, 丁燏, 姜英辉, 侯旭光, 李光友. 环境因子对 2 种南极绿藻脂肪含量和脂肪酸组成的影响. *海洋科学*, 2005, 29(1) : 4-11.
- [24] 梁英, 麦康森, 孙世春, 周华财, 潘敬洪. 不同培养基对筒柱藻 *Cylindrotheca fusiformis* 生长及脂肪酸组成的影响. *海洋湖沼通报*, 2000, 1: 60-67.
- [25] 俞建江, 李荷芳, 周汉秋. 10 种海洋微藻总脂、中性脂和极性脂的脂肪酸组成. *水生生物学报*, 1999, 23(5) : 481-488.