

硝酸钠浓度对三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) MACC/ B226 生长及脂肪酸组成的影响*

梁 英 麦康森 孙世春 于道德**

(青岛海洋大学海水养殖教育部重点实验室 266003)

摘要 在温度为 22 ± 1 °C, 盐度为 28, 硝酸钠浓度分别为 75, 375, 750, 1 125, 1 500, 1 875 mg/L 的条件下, 用 F/2 培养基对青岛海洋大学微藻种质库保存的三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*) MACC/ B226 进行培养, 测定了生长及脂肪酸组成。实验结果表明, 在硝酸钠浓度为 1 125 mg/L 时, 三角褐指藻相对生长率最高。在 75 ~ 375 mg/L 之间二十碳五稀酸(EPA)含量随着硝酸钠浓度的增加而增加, 在 375 ~ 1 875 mg/L 之间 EPA 含量变化不大, 在 1 875 mg/L 时达到最高值(占总脂肪酸的 12.6%)。

关键词 三角褐指藻, 硝酸钠, 相对生长率, 脂肪酸

高度不饱和脂肪酸 (PUFAs), 特别是二十碳五稀酸(EPA)和二十二碳六稀酸(DHA)等 n-3 系列高度不饱和脂肪酸, 在营养和医学上具有重要作用, 从而日益受到人们的重视^[3,4]。许多种类的微藻含有较多的 EPA 或 DHA, 微藻的脂肪酸组成不仅与微藻的种类与

* 国家 863 高新技术发展计划项目 863-819-02-01 号; 青岛海洋大学海水养殖教育部重点实验室研究报告 389 号。

** 青岛海洋大学水产养殖系 96 级学生。
第一作者: 梁英, 出生于 1967 年, 副教授, 在职博士, 主要从事生物饵料研究。

收稿日期: 2001-01-08; 修回日期: 2001-07-18

品系有关,一些环境因素,如温度、光照、营养盐浓度、盐度等可导致脂肪酸,特别是 EPA 含量的变化。三角褐指藻 *MACC/ B226* (= *UTEX640*) 是从美国引进的一个淡水种类,经驯化可在海水中生长,该藻具有生长快、EPA 含量高的特点。本实验的目的是测定不同硝酸钠浓度对三角褐指藻 *MACC/ B226* 的生长及脂肪酸组成的影响,特别是 EPA/ DHA 含量的变化规律,以期水产动物苗种生产提供营养丰富全面的微藻饵料。

1 材料和方法

1.1 藻种

实验所用微藻藻种取自青岛海洋大学微藻种质库:三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) *MACC/ B226* = *UTEX640*

1.2 培养条件

自然海水经沉淀后,用脱脂棉过滤,煮沸消毒。均采用 F/2 培养基^[1]。实验在 3 L 细口瓶中进行。盐度为 28。温度为 22 ± 1 °C。硝酸钠浓度分别为 75, 375, 750, 1 125, 1 500, 1 875 mg/L。每个浓度两个平行组。连续光照(光照强度为 5 000 lx),连续充气。每天测每瓶藻液的吸光度值。相对生长率 *K* 用下列公式计算:

$$K = (\lg N / \lg N_0) / T,$$

其中: *N* 是起始细胞密度; *N* 是经过 *T* 时间的细胞密度; *T* 代表生长时间,单位为 d。

1.3 离心收获

在指数生长期末期进行收获。4 000 r/min 离心沉淀,冷冻干燥。

1.4 脂肪酸组成的分析

样品处理及气相色谱分析按梁英等^[2]的方法进行。

1.5 数据处理

平均值与标准差由 Excel 软件求得;单因子方差分析由 STATISTIC 软件求得。

2 结果

2.1 生长

硝酸钠浓度对三角褐指藻生长的影响见表 1 和图 1。实验结果表明,在硝酸钠浓度为 1 125 mg/L 时,三角褐指藻相对生长率最高。

2.2 脂肪酸

硝酸钠浓度对三角褐指藻 *MACC/ B226* 脂肪酸组

表 1 硝酸钠浓度对三角褐指藻相对生长率的影响

Tab. 1 Effect of NaNO₃ concentrations on the relative growth rate of *Phaeodactylum tricornutum*

NaNO ₃ 浓度 (mg/L)	相对生长率
75	0.488 ± 0.001
375	0.433 ± 0.001
750	0.639 ± 0.001
1 125	0.732 ± 0.002
1 500	0.580 ± 0.001
1 875	0.705 ± 0.000

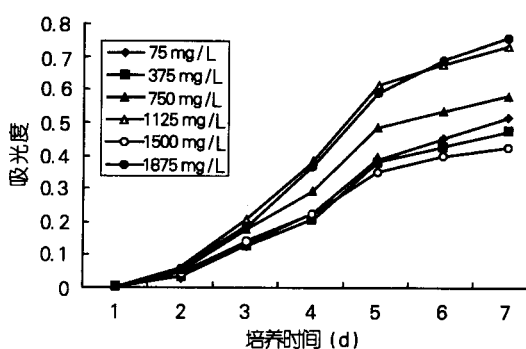


图 1 硝酸钠浓度对三角褐指藻生长的影响

Fig. 1 Effect of NaNO₃ concentrations on the growth of *Phaeodactylum tricornutum*

成的影响见表 2。从表 2 可以看出, B226 的主要脂肪酸是 14: 0 (5.5% ~ 10.1%), 16: 0 (22.1 ~ 31.6%), 16: 1(r7) (35.8% ~ 42.9%) 和 EPA (7.5% ~ 12.6%)。单因子方差分析结果表明:硝酸钠浓度对 16: 1(r9), 18: 1(r7), 16: 2 (r7), 16: 3 (r4), 18: 3 (r3), 20: 4(r3), 22: 4(r6), 22: 5(r3), 22: 6(r3) 的影响差异极显著 ($P < 0.01$)。对 14: 0, 16: 0, 16: 1(r7), 18: 2(r6), 18: 3(r6), 20: 4(r6) 和 EPA 的含量影响差异显著 ($P < 0.05$); 对其它脂肪酸含量的影响差异不显著。在硝酸钠浓度为 75 mg/L 时 EPA 含量最低 (7.5%), 在硝酸钠浓度为 1 875 mg/L 时 EPA 含量最高 (12.6%)。

3 讨论

硅藻的脂肪酸组成有一定的特点, 研究结果表明, 几乎所有的硅藻都含有较多的 14: 0, 16: 0, 16: 1(r7) 和 EPA, 一些种类的 16: 2(r4), 16: 3 (r4), 16: 4(r1) 含量也较丰富。大部分硅藻 C₁₈ 和 C₂₂ 不饱和脂肪酸的含量较低^[5]。本实验结果表明, 三

表 2 硝酸钠浓度对三角褐指藻脂肪酸组成的影响(占总脂肪酸的百分比)

Tab.2 Effect of NaNO₃ concentrations on the fatty acid compositions of *Phaeodactylum tricornutum* (Expressed in percentage of total fatty acids)

脂肪酸	硝酸钠浓度(mg/L)					
	75 mg/L	375 mg/L	750 mg/L	1 125 mg/L	1 500 mg/L	1 875 mg/L
饱和脂肪酸						
14:0	6.7±1.7*	5.5±0.6	7.0±0.2	10.1±0.4	5.4±0.5	8.6±2.2
15:0	0.0±0.0	0.2±0.14	0.4±0.0	0.15±0.07	0.25±0.07	0.65±0.07
16:0	31.6±4.0*	25.3±0.2	26.1±1.1	23.9±0.5	29.1±1.3	22.1±2.6
18:0	0.5±0.1	0.4±0.0	0.4±0.1	0.0±0.0	0.7±0.1	0.4±0.1
总和(%)	38.8	31.4	33.9	34.1	35.6	31.8
单不饱和脂肪酸						
16:1(n-9)	0.2±0.1**	0.5±0.3	1.1±0.2	0.7±0.1	0.9±0.2	1.3±0.1
16:1(n-7)	36.3±1.8*	41.9±2.2	42.4±1.9	35.8±0.8	42.9±2.6	37.3±3.1
18:1(n-9)	5.0±1.3	3.2±0.6	3.9±0.3	4.2±0.4	2.8±0.2	4.3±0.6
18:1(n-7)	0.5±0.1**	0.6±0.0	0.6±0.0	0.2±0.0	0.9±0.0	0.7±0.0
总和(%)	42.0	46.2	48.0	40.8	47.5	43.6
多不饱和脂肪酸						
16:2(n-7)	0.2±0.1**	1.0±0.3	0.6±0.1	0.5±0.1	1.1±0.1	0.9±0.1
16:2(n-4)	0.2±0.1	0.6±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1
16:3(n-4)	0.6±0.1**	1.9±0.1	1.8±0.1	1.4±0.1	1.4±1.4	2.2±0.3
16:4(n-1)	0.1±0.0	0.3±0.1	0.3±0.14	0.3±0.1	0.4±0.1	0.6±0.2
18:2(n-6)	0.5±0.2*	0.8±0.1	0.9±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	1.1±0.2
18:3(n-6)	0.3±0.1	0.3±0.1	0.2±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	0.5±0.1
18:3(n-3)	0.9±0.1	0.3±0.0	0.2±0.0	0.5±0.1	0.2±0.0	0.4±0.2
18:4(n-3)	0.2±0.17	0.3±0.1	0.0±0.0	0.15±0.1	0.1±0.0	0.5±0.1
20:4(n-6)	0.4±0.1*	0.6±0.1	0.7±0.1	0.4±0.0	0.4±0.1	0.7±0.1
20:4(n-3)	0.5±0.1**	0.2±0.0	0.5±0.0	0.7±0.1	0.5±0.3	1.3±0.1
20:5(n-3)	7.5±0.3*	11.6±0.6	9.4±1.1	12.2±0.4	8.9±0.8	12.6±2.0
22:4(n-6)	1.3±0.1**	0.6±0.1	0.8±0.1	1.5±0.1	0.2±0.1	0.8±0.1
22:5(n-3)	3.9±0.01**	0.9±0.1	1.2±0.1	4.4±0.2	1.4±0.1	0.6±0.1
22:6(n-3)	1.0±0.1**	0.7±0.1	0.6±0.1	0.8±0.1	0.7±0.0	1.1±0.1
总和(%)	17.6	20.1	17.5	23.3	16.5	23.9

注: * 表示差异显著(P<0.05); ** 表示差异极显著(P<0.01)。

角褐指藻 MACC/ B226 的饱和脂肪酸占总脂肪酸的 31.4%~38.8%; 单不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的 40.8%~48.0%; 多不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的 16.5%~23.9%。最主要的多不饱和脂肪酸是 EPA, 与前人研究结果基本一致。

微藻的脂肪酸组成受环境条件的影响很大, 这些环境条件包括温度、盐度、光照强度、营养盐浓度等。研究表明, 培养液中氮的种类和浓度都能明显影响微藻中 EPA 和 DHA 含量。Grima 等报道培养液中硝酸钠浓度为 0.5~4 mmol/L 时, *Isochrysis galbana* 中多不饱和脂肪酸、EPA 和 DHA 随硝酸钠浓度上升而增加; 在 4~8 mmol/L 时, 多不饱和脂肪酸、EPA、DHA 变化不大。Yongmanitchai 和 Ward 对三角褐指藻 UTEX640 的

研究发现, 当硝酸盐浓度较低时, EPA 含量随硝酸盐浓度的升高而升高, 而当硝酸盐浓度达到一定水平后, EPA 含量则随硝酸盐浓度的升高而下降。

本实验结果表明, 硝酸钠浓度对三角褐指藻大多数脂肪酸组成的影响差异显著, EPA 含量有随硝酸钠浓度增加而增加的趋势。但在硝酸钠浓度较高 (> 750 mg/L) 时, EPA 含量低于 Yongmanitchai 和 Ward 对三角褐指藻 UTEX640 的测定结果。微藻品系相同, 但实验结果有差异, 可能是由于培养条件 (Yongmanitchai 和 Ward 的培养条件为温度 20 ℃, 光照 4 000 lx, 用 Mann and Myers 培养基) 不同所致。这也给引进优良藻种提出了一个问题, 所引的种是否存在遗传稳定性, 在本地的培养条件下, 能否达到所需指标。综上所述, 硝酸

钠浓度对三角褐指藻 MACC/ B226 脂肪酸组成的影响与硝酸钠浓度的范围有关,作者的目的是通过改变环境条件,增加微藻中 EPA/ DHA 含量,为水产动物苗种生产提供营养丰富全面的微藻饵料。🌊

主要参考文献

- 1 陈明耀. 生物饵料培养. 北京: 农业出版社, 1995. 65 ~ 71
- 2 梁英, 麦康森, 孙世春等. 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
- 3 Grima E. M., Medina A. R., Gimenez A. G. et al. . Gram scale purification of eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) from wet *Phaeodactylum tricornutum* UTEX640 biomass, *J. Appl. phycol.*, 1996, 8: 359 ~ 367
- 4 Kayama M., Araki S., Sato S. . Lipids of Marine Plants. In: Ackman R. G. ed. . Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils. Volume II Florida: CRC Press, 1989. 4 ~ 21
- 5 Tan C. K. and Johns M. R. . Screening of diatoms for heterotrophic eicosapentaenoic acid production, *J. Appl. phycol.*, 1996, 8: 59 ~ 64

辅助参考文献

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, 1995, 20(3): 235 ~ 240

Alonso D. L., Grima E. M., Perez J. A. S. et al. . Isolation of clones of *Isochrysis galbana* rich in eicosapentaenoic acid, *Aquaculture*, 1992, 102: 363 ~ 371

Dunstan G. A., Volkman J. K., Barrett S. M. et al. . Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae), *Phytochemistry*, 1994, 35(1): 155 ~ 161

Grima E. M., Sanchez Perez J. A., Garcia Sanchez J. L. et al. . EPA from *Isochrysis galbana*. Growth conditions and productivity, *Process Biochem*, 1992, 27: 299 ~ 305

Orcutt D. M., Patterson G. W. . Sterol, Fatty acid and elemental composition of diatoms grown in chemically defined media, *Comp. Biochem. Physiol.*, 1975, 50B: 579 ~ 583

Tan C. K., Johns M. R. . Screening of diatoms for heterotrophic eicosapentaenoic acid production, *J. Appl. phycol.*, 1996, 8: 59 ~ 64

Thompson P. A., Harrison P. J., Whyte J. N. C. . Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton, *J. Phycol.*, 1990, 26: 278 ~ 288

Viso A. C. and Marty J. C. . Fatty acids from 28 marine microalgae, *Phytochemistry*, 1993, 34(6): 1521 ~ 1533

Volkman J. K., Jeffrey S. W., Nichols P. D. et al. . Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1989, 128: 219 ~ 240

Yongmanitchai W., Ward O. P. . Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions, *Appl. Envir. Microbiol.*, 1991, 57(2): 419 ~ 425

Zhukova, Aizdaicher N. A. . Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae, *Phytochemistry*, 1995, 39(2): 351 ~ 356

EFFECT OF NaNO₃ CONCENTRATIONS ON THE GROWTH AND FATTY ACID COMPOSITIONS OF *Phaeodactylum tricornutum* MACC/ B226

LIANG Ying MAI Kangsen SUN Shi-chun YU Da-ge

(The Key Laboratory of Nutrition, Ministry of Education, Ocean University of Qingdao, 266003)

Received: Jan., 8, 2001

Key Words: *Phaeodactylum tricornutum*, NaNO₃, Relative growth rate, Fatty acid

Abstract

Relative growth rate and fatty acid compositions of *Phaeodactylum tricornutum* UTEX640 were examined. The algae were grown under different initial NaNO₃ concentrations (75, 375, 750, 1125, 1500 and 1875 mg/L) and harvested at the late exponential phase. The culture temperature was 22 ± 1 °C; the salinity was adjusted to 28 by distilled water. The results showed that the optimum NaNO₃ concentration for the highest relative growth rate was 1125 mg/L. The optimum NaNO₃ concentration for the highest EPA content was 1875 mg/L. (本文编辑:张培新)