

30种海洋绿藻的脂肪酸分类与评价

许河峰

(湛江海洋大学理学院 湛江 524025)

提要 以平方欧氏距离为相似性测度,类间距用离差平方和法,对11属30株海洋绿藻所含脂肪酸进行聚类分析,结果分为5类。类I含EPA和DHA最高;类IV含总(n-3)PUFAs最高。混合培养小球藻C95,C97与杜氏藻C33,C42,可能得到EPA,DHA和其它(n-3)PUFAs含量最丰的绿藻种群。系统聚类分析为海洋绿藻分类与量化评价提供了一种好方法。

关键词 海洋绿藻,脂肪酸,聚类分析,分类,评价

中图分类号 O6-04 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)08-0077-04

海藻是继鱼类之后人们研究得最多的富含高度不饱和脂肪酸(PUFA)的生物,它能合成PUFA并通过食物链转移到不能直接合成这些多烯酸的鱼类或其它水生生物中去。因而,研究、开发、利用海藻丰富的脂肪酸资源是当前的热点。曹春晖等人^[1]应用气相色谱分离、测定技术,对11属30株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成、含量进行了详细的研究,结果表明海洋绿藻的脂肪酸组成和含量因藻种不同而异,不同的培养条件也会对其产生影响,但对所得数据中可能隐藏的规律未做探讨。本文将对其数据进行数理统计分析,实现藻类基于化学指标而“物以类聚”的分类,并做相关评价,以期通过优化选择、培养富含特定脂肪酸的海藻,为水产养殖中藻类饲料的生产和对人类心血管系统疾病有防治效果的EPA, DHA工厂化分离生产提供切实可行的理论指导。

1 数据采集与计算方法简介

30株绿藻在生物学分类中归为11属,其脂肪酸组成、含量与生物分类归属之间的关系表现上是不明确的,所以计算时选用无管理模式识别方法——系统聚类分析。文献[1]之表2虽然提供了30种单一脂肪酸含量及5种脂肪酸合计量共35种变量,但一些藻类或是不能合成某种(些)脂肪酸,或是其含量太低以致气相色谱仪检测不出,造成表中数据不全,根据计算方法对变量的要求,只好采集30种绿藻都同时具有的7种变量(具体名称和含量见表1)组成一个 $X_{30 \times 7}$ 数据矩阵供编程计算、讨论。这些绿藻样品均来

自青岛海洋大学微藻种质库(MACC),培养条件相同,生物学分类至属,藻种仅有编号,具体名称如下:*Chlorella autotrophica* 自养小球藻 MACC/C3, *Chlorella vulgaris* 普通小球藻 MACC/C7, *Chlorella* sp. 小球藻 MACC/C57,/C65,/C95,/C97,/C102,/C103,/C104, *Nannochloris maculata* 微绿球藻 MACC/C10, *Nannochloris oculata* 眼点微绿藻 MACC/C12,/C14, *Stichococcus bacillar* 杆状裂丝藻 MACC/C19,/C20, *Braconiomonas submarina* 咸胞藻 MACC/C21, *Dunaliella bioculata* 双眼杜氏藻 MACC/C33, *Dunaliella parva* 巴氏杜氏藻 MACC/C35, *Dunaliella salina* 盐生杜氏藻 MACC/C39,/C42,/C43, *Dunaliella* sp. 杜氏藻 MACC/C44,/C45,/C46, *Halochlorococcum marinum* 海绿球藻 MACC/C8, *Chlorosarcinopsis* 绿囊藻 MACC/C9, *Halochlorococcum sarcotum* 海绿球藻 MACC/C11, *Oocystis minuta* 卵胞藻 MACC/C16, *Protococcus* sp. 原球藻 MACC/C17, *Chlamydomonas* sp. 衣藻 MACC/C30, *Pyramimonas* sp. 塔胞藻 MACC/C53。另外,聚类过程中选用不同的样间距与类间距,得到的结果如聚类过程树形图等也不同,经反复验证计算,表明其中以平方欧氏距离——离差平方和法为最佳。所以,下文讨论时

作者:许河峰,出生于1965年,讲师, E-mail: HFXZJOU@hotmail.com

收稿日期:2002-05-21;修回日期:2002-12-26

表 1 30 种海洋绿藻的脂肪酸组成(占总脂肪酸含量的百分比)

Tab.1 Fatty acid composition of 30 strains of marine green algae (% of total fatty acids)

| 海洋绿藻 | 脂肪酸组成(占总脂肪酸%) | | | | | | |
|-----------|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|------------|
| | SFA 16:0 | MUFA 18:1(n-9) | MUFA 18:1(n-7) | PUFA 16:4(n-3) | PUFA 18:2(n-6) | PUFAs (n-3) | EPA DHA |
| MACC/C3 | 23.90 | 33.20 | 15.10 | 7.20 | 8.50 | 13.00 | 0.20 |
| MACC/C7 | 25.80 | 15.20 | 12.20 | 6.00 | 13.30 | 15.10 | 2.90 |
| MACC/C57 | 19.20 | 22.00 | 2.10 | 3.50 | 21.30 | 22.10 | 0.00 |
| MACC/C65 | 23.90 | 25.20 | 2.50 | 4.20 | 15.10 | 23.70 | 0.10 |
| MACC/C95 | 24.80 | 8.40 | 3.90 | 0.40 | 1.30 | 25.90 | 21.00 |
| MACC/C97 | 19.00 | 2.00 | 4.10 | 0.10 | 0.60 | 27.60 | 26.10 |
| MACC/C102 | 37.00 | 12.90 | 0.40 | 0.20 | 2.40 | 9.00 | 8.00 |
| MACC/C103 | 23.70 | 29.00 | 15.50 | 5.00 | 11.00 | 6.80 | 0.20 |
| MACC/C104 | 19.10 | 23.90 | 9.20 | 3.30 | 6.80 | 14.00 | 5.70 |
| MACC/C10 | 13.70 | 1.60 | 1.70 | 4.10 | 10.00 | 56.00 | 1.50 |
| MACC/C12 | 23.10 | 2.00 | 2.00 | 2.50 | 26.20 | 30.30 | 2.50 |
| MACC/C14 | 24.40 | 27.70 | 14.90 | 2.10 | 18.30 | 23.30 | 1.50 |
| MACC/C19 | 35.00 | 7.50 | 0.60 | 0.10 | 1.40 | 7.70 | 7.00 |
| MACC/C20 | 33.70 | 6.90 | 0.60 | 0.30 | 1.60 | 10.70 | 8.10 |
| MACC/C21 | 17.70 | 1.20 | 1.70 | 0.50 | 39.80 | 0.00 | 0.30 |
| MACC/C33 | 17.00 | 11.70 | 3.30 | 10.80 | 5.70 | 40.20 | 2.50 |
| MACC/C35 | 17.10 | 17.30 | 2.10 | 5.50 | 19.00 | 24.90 | 1.50 |
| MACC/C39 | 22.10 | 18.10 | 1.90 | 6.90 | 8.80 | 30.20 | 0.50 |
| MACC/C42 | 26.50 | 0.00 | 2.90 | 31.40 | 4.50 | 48.90 | 2.70 |
| MACC/C45 | 34.30 | 0.70 | 0.30 | 14.90 | 0.60 | 26.70 | 8.30 |
| MACC/C46 | 24.80 | 12.90 | 1.30 | 6.00 | 16.20 | 31.00 | 1.60 |
| MACC/C43 | 27.40 | 13.40 | 1.70 | 6.20 | 14.30 | 29.00 | 1.30 |
| MACC/C44 | 21.70 | 2.30 | 2.40 | 9.70 | 6.50 | 47.80 | 0.00 |
| MACC/C8 | 21.40 | 30.00 | 1.30 | 1.30 | 11.90 | 10.50 | 5.80 |
| MACC/C9 | 21.20 | 1.20 | 0.00 | 3.60 | 30.40 | 28.00 | 2.80 |
| MACC/C11 | 26.40 | 4.60 | 4.90 | 1.40 | 29.80 | 27.90 | 0.20 |
| MACC/C16 | 29.70 | 3.00 | 5.90 | 1.00 | 31.80 | 23.40 | 0.60 |
| MACC/C17 | 22.20 | 33.80 | 1.40 | 2.20 | 12.10 | 13.00 | 3.30 |
| MACC/C30 | 11.70 | 5.50 | 0.70 | 0.40 | 1.20 | 28.30 | 0.30 |
| MACC/C53 | 28.70 | 43.80 | 2.00 | 1.30 | 3.40 | 9.70 | 1.00 |

样间距选用平方欧氏距离^[2,3],表达式为:

$$d_{ij} = \sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2$$

式中 d_{ij} 表示藻种 i, j 间的平方欧氏距离, x_{ik} 表示藻种 i, j 的第 k 个脂肪酸变量。类间距选用离差平方和法^[2,3],把两类 G_p, G_q 合并所增加的离差平方和定义为两类平方距离,即 $G_r = G_p \cup G_q$ 时,定义:

$$D_{pq}^2 = \frac{n_p n_q}{n_p + n_q} (X_p - X_q)' (X_p - X_q),$$

式中 X_p, X_q 分别为 G_p, G_q 的重心。若在某一步将类 G_p 和 G_q 合并为 G_r , 任一类 G_k 与 G_r 的类间离差

平方和法距离可用递推表达式

$$D_{kr}^2 = \frac{n_k + n_p}{n_k + n_r} D_{kp}^2 + \frac{n_k + n_q}{n_k + n_r} D_{kq}^2 - \frac{n_k}{n_k + n_r} D_{pq}^2$$

求算。式中 $D_{kr}^2, D_{kp}^2, D_{kq}^2$ 与 D_{pq}^2 意义类似, n_p, n_q, n_r 和 n_k 表示相应各类分别含有的藻种样品个数。编写程序^[2,3],通过计算机运算输出聚类结果。

2 结果与讨论

结果见聚类过程树形图(图1)、描述性统计量表(表2)。

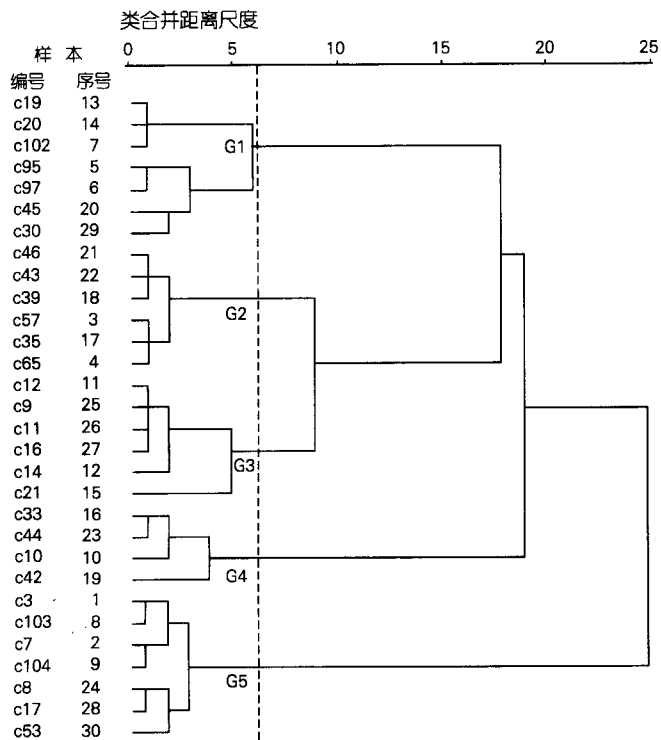


图1 聚类树形图

Fig.1 Dendrogram using Ward Method

从图1看出,类合并距离尺度定义为25时,总样本30种藻株分为一大类,而距离尺度约为6时则分为5类。此时,类I包括裂丝藻 MACC/C19,/C20;小球藻 MACC /C95,/C97,/C102;衣藻 MACC/C30 及杜氏藻 MACC/C45 共7个样品。类II包括小球藻 MACC/

C57,C65 及杜氏藻 MACC/C35, /C39, /C43, /C46 共6个样品。类III包括微绿球藻 MACC/C12, /C14;绿囊藻 MACC/C9;海绿球藻 MACC/C11;卵胞藻 MACC/C16 及咸胞藻 MACC/ C21 共6个样品。类IV包括微绿球藻 MACC/C10;杜氏藻 MACC/C33, /C42, /C44 共4个样品。类V包括小球藻 MACC/C3,/C7,/C103,/C104;海绿球藻 MACC/ C8;原球藻 MACC/ C17 及塔胞藻 MACC/ C53 共7种样品。聚为5类与生物学上分为11属之间并不存在相关性。

对照描述性统计表2可知,同一脂肪酸在不同类内的统计平均含量不同,同一类内各脂肪酸的统计平均含量也不同。如类I含饱和脂肪酸(SFA)16:0,多烯酸20:5(n-3)(EPA)和22:6(n-3)(DHA)最高,达28.8%和11.3%,且后者是总体均值(3.9%)的近3倍;类V含单不饱和脂肪酸18:1(n-9)和18:1

(n-7)最高,达29.8%和8.1%,是总体均值(13.0%及4.0%)的2倍多;类IV含多不饱和脂肪酸16:4(n-3)及总(n-3)PUFAs最多,达14.0%及48.2%,是总体均值4.7%及23.5%的3和2倍;类III含多不饱和脂肪酸18:2(n-6)最多,达29.4%,约是总体均值之

表2 30种海洋绿藻脂肪酸组成描述性统计量

Tab.2 Descriptive statistics of fatty acid composition for 30 strains of marine green algae

| 脂肪酸 | 类内脂肪酸平均值(%) | | | | | 总体样本(n=30)脂肪酸(%) | | | |
|---------------------|-------------|--------------|---------------|--------------|-------------|------------------|------|------|------|
| | 类I (n=7) | 类II (n=6) | 类III (n=6) | 类IV (n=4) | 类V (n=7) | 最小值 | 最大值 | 平均值 | 标准偏差 |
| 饱和脂肪酸 SFA 16:0 | 28.8 | 22.4 | 23.8 | 19.7 | 23.5 | 13.7 | 37.0 | 24.1 | 5.7 |
| 单烯酸 MUFA 18:1(n-9) | 6.3 | 18.2 | 2.5 | 3.9 | 29.8 | 0.0 | 43.8 | 13.0 | 12.0 |
| 单烯酸 MUFA 18:1(n-7) | 1.5 | 1.9 | 4.9 | 2.6 | 8.1 | 0.0 | 15.5 | 4.0 | 4.6 |
| 多烯酸 PUFA 16:4(n-3) | 2.4 | 5.4 | 1.8 | 14.0 | 3.8 | 0.1 | 31.4 | 4.7 | 6.2 |
| 多烯酸 PUFA 18:2(n-6) | 1.3 | 15.8 | 29.4 | 6.7 | 9.8 | 0.6 | 39.8 | 12.5 | 10.6 |
| 多烯酸(n-3)PUFAs (n-3) | 19.4 | 26.8 | 22.2 | 48.2 | 11.7 | 0.0 | 56.0 | 23.5 | 13.2 |
| 多烯酸 EPA 20:5(n-3) | 11.3 | 0.8 | 1.3 | 1.7 | 2.7 | 0.0 | 26.1 | 3.9 | 6.0 |
| DHA 22:6(n-3) | | | | | | | | | |

2.5倍;对比之下,类Ⅱ在7项变量指标中无一项占优,倒是所含EPA与DHA最低。由于微藻的营养价值同所含多不饱和脂肪酸,特别是EPA和DHA有关,因此,从营养角度考虑,将含EPA和DHA最多的类Ⅰ评价为优,类Ⅳ次之,类Ⅲ居中,类Ⅱ、类Ⅴ较差。若从类Ⅰ中选出含EPA和DHA最多的C95、C97两种小球藻与类Ⅳ中选出的含其它(n-3)PUFAs最多,而其中含EPA和DHA较均值远少的C33、C42两种杜氏藻混合培养,有可能通过优化条件得到含量最丰的EPA和DHA及其它(n-3)PUFAs的绿藻种群。

聚类分析是一种数理统计方法,它通过计算样间距离,类间距离进行相似样本的并类、分类,与传统生物分类学侧重于生物形态的异同性等有明显区别,与探索所含化学成分特性、生物合成、分布规律等为任务的植物化学分类^[4]也不同,聚类分析不但可把30株绿藻按脂肪酸含量的内在统计规律分为5类,还可

提供7种脂肪酸变量的统计值,有利于做出相关量化评价,帮助从不同藻类中筛选出富含特定脂肪酸如EPA、DHA的单一藻种或种群,满足养殖生产和营养食品、药物生产对富含特殊脂肪酸藻种的选择要求。因此,将聚类分析应用于藻类的分类与相关变量的量化评价,具有实际指导意义,值得做进一步探讨。

参考文献

- 1 曹春晖,孙世春,麦康森.30株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成.青岛海洋大学学报,2000,30(3):428-434
- 2 许禄.化学计量学方法.北京:科学出版社,1997.234-241
- 3 刘树深,易忠胜.基础化学计量学.北京:科学出版社,1997.158-166,183-195
- 4 陈孝泉.植物化学分类学.北京:高等教育出版社,1990.1-9

CLASSIFICATION AND EVALUATION ON FATTY ACIDS OF 30 STRAINS OF MARINE GREEN ALGAE

XU He-Feng

(College of Science, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang, 524025)

Received: May, 21, 2002

Key Words: Marine green algae, Fatty acids, Cluster analysis, Classification, Evaluation

Abstract

30 strains of 11 genera of marine green algae were classified into 5 groups by carrying out a cluster analysis of fatty acids, while squared Euclidean distance was used as similarity measure and ward method as clustering algorithm. Group I had the highest content of EPA and DHA; Group IV had the highest content of total(n-3) PUFAs. A new community of green algae could be cultured to product high levels of EPA, DHA and other(n-3)PUFAs by mixing up two *Cohlorella* C95, C97 and two *Dunaliella* C33, C42. So hierarchical cluster analysis was suggested be a good method of classification and quantitative evaluation on marine green algae.

(本文编辑:刘珊珊)