

温度对一些浮游植物中脂肪酸组成的影响

杨庆霄

(国家海洋局海洋环境保护研究所,大连)

提要 将两种海洋浮游植物培养在温度不同的 Erdschreiber 培养液中发现,脂肪酸成分的不饱和程度随温度的升高而增加。这是由于温度升高增强了新陈代谢率,使制造、贮存的脂肪酸数量增加。在低温海洋环境中,脂肪酸的消耗是主要的。实验结果为我们研究环境条件的改变对浮游植物中脂肪酸组成的影响以及为研究脂肪酸在食物链中的传递过程提供了依据。

自然界的脂类以几种不同的形式存在,它们主要被生物用甘油酯的形式以次级能量贮存起来。有的和蛋白质结合成结构组织,也发现了和色素结合的情形^[5,9]。从单细胞浮游植物的脂肪酸组成来研究它在食物链中的传递过程的实验工作还不多,仅有少量关于脂肪酸的可靠的定量测定数据。

对于海洋生物的生长,温度是重要的环境因子之一。一些学者发现,当温度降低时,海水和淡水动物中多不饱和脂肪酸的相对含量会增加,他们认为这是由于在高温时增强了新陈代谢率,引起了不饱和脂肪酸和一个双键的不饱和酸消耗增加^[2,6-8,10]。然而 Gardner 和 Riley^[4] 却发现,冬天某些海洋生物体内多不饱和脂肪酸含量与夏天相比有轻微降低的现象,认为这是由于冬季海洋动物对多不饱和脂肪酸选择性新陈代谢的结果。可见在关于海洋动物中不饱和脂肪酸的含量与环境温度的关系方面存在两种不同的观点。海洋动物体内脂类物质的组成主要受两个因素的影响。一是作为其食物来源的每一种浮游植物本身脂肪酸成分的特征;二是在食物中占主要成分的那些浮游植物种类的季节性变化。因此,浮游动物脂类物质中脂肪酸含量的研究,如果没有海洋浮游植物中脂肪酸组成的资料是不能完成的。

本文试图通过测定不同温度下的两种浮游植物 *Ochrosphaera cricosphaera* 和 *Dunaliella tertiolecta* 脂肪酸的组成,来了解温度改变所引起的浮游植物中脂肪酸组成的变化和环境温度的变化在海洋生物新陈代谢过程中的作用。

一、浮游植物的培养和分析方法

1. 浮游植物的培养

(1) 实验设备:浮游植物的培养是在浸入实验槽的 2L 烧瓶中进行的(图1)。槽中的水通过离心泵在恒温器和实验槽之间循环。恒温器由加热器和降温单元控制。水温在 0—35℃,光照条件为 6 只 40W 日光灯(每边三个)。向培养烧瓶中不断鼓入经过过滤的

空气,用气体流量计控制流量。连续搅拌以保证浮游植物均匀分布,并采用 Erdschreiber 培养液进行培养。

(2) 浮游植物的培养和再培养: 浮游植物种是由英国利物浦大学海洋系提供、在 Erdschreiber 培养液中成批培养的。将 *Ochrosphaera cricosphaera* 和 *Dunaliella tertiolecta* 进行再培养。当培养烧瓶中培养液达到恒温时,进行接种。用注射器取 10 ml 种液通过密封器加入。当培养液细胞密度达 5×10^6 个/ml 时,培养液便会自动加入。

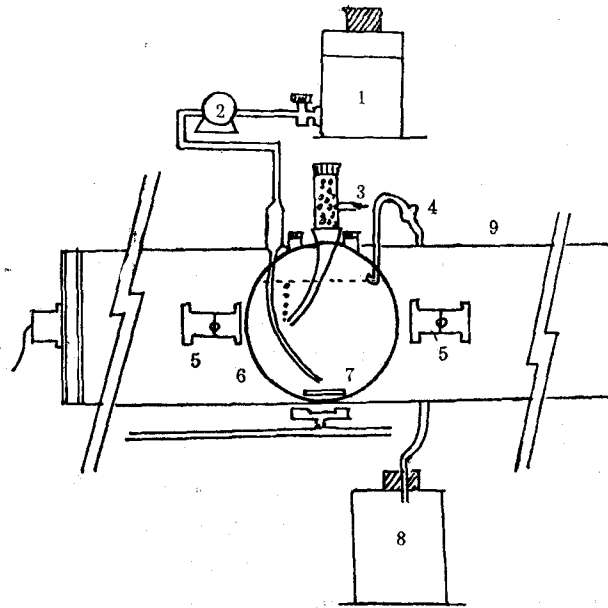


图1 浮游植物培养装置

Fig. 1 Apparatus for culturing phytoplankton

1.培养液; 2.加液泵; 3.空气入口; 4.培养液出口; 5.红外光发射接受器;
6.培养烧瓶; 7.磁转子; 8.接液瓶; 9.实验槽。

2. 浮游植物的采集和脂类的萃取

6 周后可培养出 10L 密度为 5×10^6 个/ml 的浮游植物。培养液用 GF/C 玻璃纤维膜过滤,适当吸干,将过滤物转移到圆底烧瓶中,加入 30ml 2:1(V/V) 氯仿和甲醇混合液,加热回流萃取,直到萃取物变成无色为止。冷却后将萃取液过滤分离,进一步用 5ml 氯仿甲醇混合液冲洗滤纸。合并萃取液和冲洗溶剂,在 40℃ 于旋转蒸发器中减压蒸馏除去溶剂。

3. 脂肪酸成分的测定

浮游植物中脂肪酸成分的测定是用 Gardner 和 Riley 的方法^[3]。主要是: 脂类物质在 1 mol/L KOH 溶液和 90% 乙醇混合溶液 10 ml 中回流。非皂化物用乙醚萃取弃去。用 1 mol/L H₂SO₄ 酸化后,脂肪酸用 1:1(V/V) 正己烷和乙醚混合液萃取。萃取物用酸催化甲基化方法转化成甲酯。

气相色谱分析: 脂类物质脂肪酸甲酯的气相色谱分析是用 Carlo Erbr 程序升温装

置。配有火焰离子化检测器的 Strumentazione FTV 2350 色谱仪。高纯氮为载气。为了定量, 装配一个 6300 数字积分仪和与它同步的 Byam 28000 型记录仪。浮游植物脂肪酸色谱峰的定性是用鱼肝油的质谱图作为次级标准来实现的(表 1)。色谱柱为 2m × 4mm (内径), 操作条件如下:

(1) 恒温条件: 3% (W/W) Silar 5 CP, 80—100 目 Gas-chrom-Q, 恒温 180°C, 载气流速为 30 ml/min。

(2) 程序升温: 初温 140°C, 恒温 5min, 以 3°C/min 升温到 170°C, 恒温 10min, 以 2°C/min 二次升温到 210°C, 恒温至结束。载气流速为 50 ml/min, 注入口和检测器温度为 225°C。

二、结果和讨论

一些海洋性浮游植物甘油脂肪酸的成分和单、多不饱和脂肪酸的组成列入表 1, 2 中。

表 1 鱼肝油和浮游植物中脂肪酸气相色谱分析的相对保留时间
Tab. 1 Relative retention time of the fatty acid in cod-liver oil and phytoplankton by gas chromatography

脂肪酸	本次分析鱼肝油中的百分含量 (%) ¹⁾	鱼肝油样品六次分析的标准偏差	以 18:1=1.00 的相对保留时间		
			本次分析		文献[1]
			鱼肝油 ¹⁾	浮游植物 ²⁾	
12:0	—	—	—	0.15	0.12
13:0	0.08	—	0.17	0.19	0.17
14:0	4.97	0.07	0.26	0.25	0.23
15br	0.89	0.04	0.30	0.30	—
15:0	0.62	0.05	0.35	0.34	0.32
16br	0.06	0.02	0.41	0.41	—
16:0	10.46	0.07	0.47	0.47	0.45
16:1	10.56	0.10	0.54	0.54	0.55
16:2	0.78	—	0.65	0.63	0.66
16:2	—	—	—	—	0.74
16:3	—	—	—	—	0.88
16:4	—	—	—	—	1.19
17br	—	—	—	—	—
17:0	0.78	0.01	0.65	0.63	—
17:1	1.58	0.03	0.73	0.77	—
18:0	2.68	0.03	0.89	0.89	0.86
18:1	20.25	0.08	1.00	1.00	1.00
18:2	2.58	0.10	1.16	1.18	1.27
18:3 ₁	0.23	0.02	1.24	1.32	1.51
18:3 ₂	1.28	0.01	1.45	1.46	1.73
18:4	2.88	0.03	1.61	1.63	2.06
19:0	—	—	—	—	1.18
19:1	—	—	—	—	1.36
20:0	—	—	—	—	1.63
20:1	10.16	0.07	1.88	1.89	1.85

续表 1

脂肪酸	本次分析鱼肝油中的百分含量 (%) ¹⁾	鱼肝油样品六次分析的标准偏差	以 18:1=1.00 的相对保留时间		
			本次分析		文献[1]
			鱼肝油 ¹⁾	浮游植物 ²⁾	
20:2	0.09	0.02	2.22	2.19	2.22
20:3	—	—	—	2.44	2.80
20:4 ₁	0.28	0.03	2.60	2.68	3.19
20:4 ₂	—	—	—	—	3.84
20:5	9.97	0.06	3.23	3.29	4.37
22:0	—	—	—	—	—
22:1	6.37	0.06	3.49	3.57	3.42
22:2	—	—	—	—	—
22:3	0.21	0.04	4.56	4.64	—
22:4	—	—	—	—	5.93
22:5	0.18	—	6.31	6.11	6.90
22:6	12.06	0.04	6.70	6.90	8.10
24:0	—	—	—	—	—

1) 鱼肝油购自市场,为液体黄色食用鱼肝油,英国 littlewood 产。

2) 实验室自己培养的浮游植物。

表 2 在 15°C 培养的五种海洋性浮游植物的脂肪酸成分的百分含量

Tab. 2 Percentage compositions of the fatty acid of five marine phytoplanktons cultured at 15°C

脂肪酸	<i>Chrysochromulina tricina</i>	<i>Chrysothila lamellasa</i>	<i>Olisthodiscus luteus</i>	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Chrysochromulina</i> sp.
14:0	1.79	18.41	3.13	17.16	5.58
15br	0.78	1.51	0.93	0.95	1.26
15:0	0.70	0.88	0.51	1.04	0.81
16br	3.11	0.88	1.78	0.69	2.97
16:0	8.02	10.60	14.65	19.76	9.18
16:1	10.74	13.15	6.60	5.20	10.80
17:0 16:2 ¹⁾	0.62	1.27	3.05	1.47	0.72
17:1 16:3 ¹⁾	12.92	3.19	6.10	2.77	11.88
18:0	3.11	1.27	2.37	1.91	2.25
18:1	13.15	11.08	12.62	17.59	13.05
18:2	0.93	2.55	5.33	2.25	1.26
18:3 ₁	9.57	1.91	4.40	1.56	8.10
18:3 ₂	0.00	0.00	5.50	5.46	0.99
18:4	0.86	4.62	9.23	6.41	1.71
20:1	8.72	12.11	5.25	4.07	7.74
20:2	1.17	4.22	0.68	0.43	1.35
20:3	7.70	1.51	3.30	1.30	6.57
20:4	0.93	0.00	0.00	0.00	0.00
20:5	5.99	1.43	5.76	1.65	5.85
22:1	0.86	0.00	0.00	0.00	0.90
22:3	3.81	0.88	1.78	1.39	3.24
22:5	4.05	1.04	1.44	1.13	2.70
22:6	0.47	7.49	5.59	5.81	1.08

1) 17:0, 16:2, 17:1, 16:3 表示两种脂肪酸的峰叠在一起。

表 3 不同温度下 *Ochrosphaera cricosphaera* 内脂肪酸成分的百分含量Tab. 3 Percentage compositions of the fatty acid of *Ochrosphaera cricosphaera* under different temperatures

脂肪酸 百分含量	温度(°C)			
	10	15	20	23
14:0	1.72	0.76	2.12	1.65
15br	1.92	1.52	1.47	1.49
15:0	0.99	0.41	0.88	1.26
16br	2.05	0.83	1.01	1.57
16:0	14.97	22.61	13.82	12.43
16:1	10.26	7.58	9.58	10.39
17:0 16:2 ¹⁾	1.99	2.76	2.03	1.34
17:1 16:3 ¹⁾	8.48	5.38	6.82	7.95
18:0	2.98	3.65	2.12	0.00
18:1	8.48	7.31	7.18	10.70
18:2	1.19	1.65	1.29	1.97
18:3 ₁	5.43	4.00	4.61	6.14
18:3 ₂	3.71	6.62	7.65	5.74
18:4	9.67	11.99	15.20	5.82
20:1	6.23	4.55	5.34	5.92
20:2	0.73	0.00	0.46	0.87
20:3	4.83	3.03	4.15	5.35
22:1	5.89	6.06	6.17	6.53
22:3	2.65	1.79	2.86	3.46
22:5	2.98	2.00	2.40	4.96
22:6	2.85	5.51	2.86	4.56
平均双键数	1.74	1.80	1.95	1.94
平均链长	18.00	17.94	18.01	18.26

1) 计算 M. D. B. 和 M. C. L. 时 17:0 和 16:2, 17:1 和 16:3 各取一半。

两种浮游植物在 10, 15, 20 和 23°C 温度下进行培养。从表 3, 4 可见, 海洋性浮游植物的脂肪酸组成有着显著的类似性。如偶数碳脂肪酸占优势, 且只有十五、十六低碳数有正烷酸异构体。然而脂肪酸组成中的平均双键数和链长随着温度的变化有明显的改变。在 23°C 条件下培养的 *Ochrosphaera cricosphaera* 的脂肪酸组成, 其 C_{18:4} 较其他三个温度含量偏低(表 3), 其他数值仍表现出一定的规律性。除 14:0, 16:0, 18:0 的百分含量个别值不太规律, 16:3, 18:3 和 22:6 的百分组成随温度上升而增加外, 总的规律还是随温度升高而下降。平均双键数 (M. D. B.) 和平均链长 (M. C. L.) 随着温度的升高都不断增加(表 3, 4; 图 2)。平均双键数和平均链长是由实验得到的。M. D. B. = $\frac{\sum D_i \cdot \eta_i}{100}$; M. C. L. = $\frac{\sum C_i \eta_i}{100}$ 。D_i 为脂肪酸分子中的双键数, C_i 为分子的碳数。如 18:3, D_i = 3, C_i = 18。η_i 为某脂肪酸分子的百分组成。数据表明, 海洋性浮游植物的不饱和脂肪酸随着温度的升高而增加, 分子量变大。

我们用 *Dunaliella tertiolecta* 在 7, 12, 15°C 温度下平行培养了三个样品, 计算了培养后的脂肪酸成分百分组成的标准偏差。结果列于表 5 中。可以看出, 除 C_{18:3}, 7°C 时的

表 4 不同温度下 *Dunaliella tertiolecta* 内脂肪酸成分的百分含量
 Tab.4 Percentage compositions of the fatty acid of *Dunaliella tertiolecta*
 under different temperatures

脂肪酸 百分含量	温度(°C)			
	10	15	20	23
14:0	3.25	4.69	3.13	1.19
15br	5.24	6.07	4.69	4.77
15:0	1.25	2.02	1.28	0.73
16br	3.03	1.38	3.26	1.72
16:0	12.10	16.45	12.50	10.74
16:1	11.73	11.21	11.08	10.74
17:0 16:2	1.33	1.38	1.54	0.90
17:1 16:3	8.86	6.89	7.53	9.78
18:0	4.79	3.86	6.39	3.71
18:1	14.69	9.01	13.35	12.47
18:2	1.18	1.01	0.99	0.93
18:3 ₁	5.31	5.24	5.82	7.43
18:3 ₂	1.03	2.30	1.28	3.05
18:4	0.59	1.10	0.85	0.80
20:1	4.80	5.24	4.97	5.63
20:2	2.44	0.64	0.56	0.53
20:3	4.65	5.33	4.83	6.37
22:1	4.50	6.07	4.83	6.76
22:3	3.03	3.86	3.55	4.84
22:5	4.35	4.50	4.19	3.71
22:6	1.85	1.75	4.19	3.71
平均双键数	1.39	1.39	1.50	1.68
平均链长	17.73	17.73	18.04	18.27

标准偏差 4.37 较大外,其他结果是非常满意的。图 2 所呈现的基本规律也是一致的。

光合作用是浮游植物中出现的主要新陈代谢过程之一。第一种光合作用过程首先产

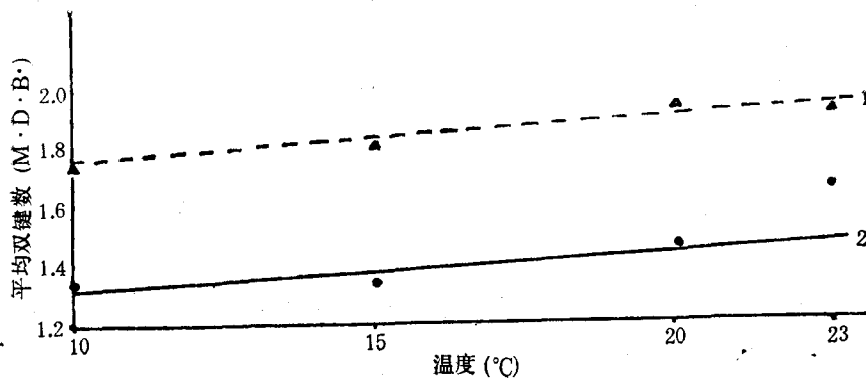


图 2 脂肪酸平均双键数随温度的变化

Fig. 2 Variation of the fatty acid M.D.B. with temperature
 1. *Ochrosphaera cricosphaera*; 2. *Dunaliella tertiolecta*.

表 5 不同温度培养 *Dunaliella tertiolecta* 浮游植物的脂肪酸百分组成的标准偏差Tab. 5 Standard deviation of the percentage compositions of the fatty acid of *Dunaliella tertiolecta* cultured

标准偏差 脂肪酸	温度(°C)	7	12	15
14:0		0.17	0.35	0.72
15br		0.21	0.12	0.05
15:0		0.18	0.20	0.09
16br		0.57	0.38	0.26
16:0		1.88	1.06	2.08
16:1		1.54	1.46	0.01
17:0 16:2		0.30	0.06	0.37
17:1 16:3		1.00	0.71	0.91
18:0		0.26	0.22	0.10
18:1		0.74	0.92	0.52
18:2		1.08	0.46	0.19
18:3 ₁		0.69	1.21	0.74
18:3 ₂		4.37	0.28	0.13
18:4		0.48	0.40	0.16
20:1		0.83	0.60	0.20
20:2		0.38	0.21	0.06
20:3		0.74	0.70	0.64
20:4		0.87	0.72	0.00
20:5		0.43	0.10	0.40
22:1		0.45	0.18	0.73
22:3		0.38	0.06	0.35
22:5		0.30	0.39	0.44
22:6		0.08	0.06	0.02

生碳水化合物,这些碳水化合物再转化为脂肪酸,以作为长期的能量贮存。如果这个过程受到温度的影响,将使脂肪酸组成发生变化。第二种是脂肪酸和藻类中的叶绿体及光合作用其他产物之间的变化。

这些结果表示了浮游植物脂类物质的组成和复杂变化。培养液、营养盐、环境温度、培养方法和培养周期等都是可能引起变化的原因。必须通过这些基本因素,来了解浮游植物脂肪酸物质的新陈代谢过程。对于这一研究领域来说,需要进一步在严格控制条件下研究这些相对重要的因素。

三、结 论

实验结果表明,浮游植物中多不饱和脂肪酸的相对含量随着环境温度的升高而增加。这是由于高温条件下,浮游植物增强了新陈代谢率,因而增加了能量贮存;相反,温度下降时,新陈代谢率下降,生物活动的能量其中一部分靠贮存的脂肪酸来提供,故多不饱和脂肪酸相对含量呈下降趋势。

参 考 文 献

- [1] Ackman, R. J. & R. D. Burgher, 1965. Cod-liver oil fatty acids as secondary reference standards in the GLC of poly-unsaturated fatty acids of animal origin. Analysis of a dermal oil of the Atlantic Leatherback Turtle. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **42**: 38—42.
- [2] Farkas, T. & S. Herodek, 1964. The effect of environmental temperature on the fatty acid composition of crustacean plankton. *J. Lipid Res.* **5**: 369—373.
- [3] Gardner, D. & J. P. Riley, 1972. The component fatty acids of the lipids of some species of marine and freshwater molluscs. *J. mar. biol. Ass. U. K.* **52**: 827—838.
- [4] Gardner, D. & J. P. Riley, 1972. Seasonal variations in the component fatty acid distributions of the lipids of *Balanus balanoides*. *J. mar. biol. Ass. U. K.* **52**: 839—845.
- [5] Kayama, M. & L. C. Nevenzel, 1974. Wax ester biosynthesis by midwater marine animals. *Marine Biology* **24**: 279—285.
- [6] Kayama, M., Y. Tsuchiya, J. F. Mead, 1963. A model experiment of squatic food chain with special significance in fatty acid conversion. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* **29**: 452—458.
- [7] Knipprath, W. G. & J. F. Mead, 1968. The effect of the environmental temperature on the fatty acid composition and on the in vivo incorporation of $1-^{14}\text{C}$ -acetate in goldfish (*Arassius auratus* L.). *Lipids* **3**: 121—128.
- [8] Lewis, R. W., 1967. Fatty acid composition of some marine animals from various depths. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **24**: 1101—1115.
- [9] Morris, R. J., 1972. Occurrence of wax esters in crustaceans from the North-east Atlantic. *Mar. Biol.* **16**: 102—107.
- [10] Morris, R. J., 1971. Comparison of the composition of oceanic copepods from different depths. *Comp. Biochem. Physiol.* **40B**: 275—281.

THE EFFECT OF TEMPERATURE ON FATTY ACID COMPOSITION OF MARINE PHYTOPLANKTON

Yang Qingxiao

(Institute of Marine Environmental Protection, SOA, Dalian)

ABSTRACT

The fatty acid compositions of the marine phytoplankton were examined using gas chromatography. It was found that their component fatty acid characteristics bear little resemblance. Two kinds of the marine phytoplankton (*Ochrosphaera cricosphaera* and *Dunaliella tertiolecta*) grown under similar condition except the temperature in Erdschreiber medium are rich in nutrients. The unsaturated fatty acid components increased with increasing temperature owing to the increase of metabolic rate at the higher temperature, thus resulting in the increase of fatty acid. At the lower temperature the consumption of fatty acid in the marine environment is greater than at higher temperature.

The results provide the basis for us to study the effect of the changes of the environmental condition on the composition of the component fatty acid in the phytoplankton and the transference of the fatty acid within the food chain.