

# 氮源和 N/P 对眼点拟微球藻的生长、总脂含量和脂肪酸组成的影响\*

魏东 张学成 隋正红 徐怀恕

(青岛海洋大学海洋生命学院 266003)

**摘要** 报道了  $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  3 种氮源及 N/P 对海洋微藻眼点拟微球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 的生长、总脂含量和脂肪酸组成的影响。结果表明, N/P 从 10 增加到 90, 对细胞生长的影响不大, 总脂含量最终都稳定在干重的 20% 左右。16:0、16:1n9 和 20:5n3 (EPA) 是脂肪酸的主要组分, 三者之和占总脂肪酸的 70%~80%。在培养基 N/P > 20 时, 20:5n3 和 PUFA 占总脂肪酸的比例接近 30% 和 35%。在 3 种氮源中, 使用  $\text{NaNO}_3$  可获得更高的生长速率, 并在相对较低的 N/P 下 (N/P = 54) 时获得约 30% 的 EPA, 故  $\text{NaNO}_3$  是眼点拟微球藻生长、合成和积累 EPA 的最佳氮源。将培养基中所有营养盐增加 4 倍, EPA 含量可提高到 35%, 说明富含氮、磷的培养基可使细胞始终保持旺盛生长、富含 EPA 的状态, 这也是该种微藻大规模培养中高产 EPA 的关键措施。

**关键词** 眼点拟微球藻, 氮源, N/P, 总脂, 脂肪酸, EPA

眼点拟微球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 是一种重要的海产经济微藻, 属 Eustigmatophyceae, 俗称“海洋小球藻” (Marine *Chlorella*), 其最突出的特点是富含二十碳五烯酸 (EPA), 但不含有二十二碳六烯酸 (DHA)<sup>[1]</sup>。它还含有丰富的蛋白质、多种维生素和矿物质, 具有很高的营养价值和多种保健功能, 食用安全, 不仅是水产养殖业的重要饵料微藻, 还是生产高纯度 EPA 产品的极好原料, 国际上已用作健康食品和药品<sup>[2]</sup>。目前, 在意大利、澳大利亚、以色列等国家已进行了规模养殖<sup>[2,3]</sup>, 国际市场供不应求。在国内尚未见到有关其大规模养殖的报道。

眼点拟微球藻的总脂含量和脂肪酸组成, 除了决定于藻种本身的遗传因素外, 还受细胞生长时期<sup>①</sup>和环境条件的极大影响, 其中氮源种类及其浓度是一个重要影响因素。不同微藻的 PUFAs 含量与氮营养的关系是不同的, 甚至是相反的, 例如, Yu Suen 1987 年发现拟微球藻 (*Nannochloropsis* Q1) 在氮缺乏时总脂含量可高达 55%, 其主要的脂肪酸是饱和脂肪酸; 而在氮饱和时总脂的含量只有 24%; Yongmanitchai 和 Ward 1991 年发现小球藻 (*Chlorella* sp.)、栅藻 (*Scenedesmus* sp.)、三角褐脂藻 (*Phaeodactylum tricoratum*) 在高氮浓度下 PUFAs 的含量增加; Berr Amotz 1985 年却发现杜氏藻 (*Dunaliella bardaui*, *D. salina*)

和丛粒藻 (*Botryococcus* sp.) 在氮限制条件下才具有高的 EPA 含量。本文研究了培养基中氮源种类、浓度及 N/P 对眼点拟微球藻细胞的生长、总脂含量和脂肪酸组成的规律, 为大规模培养中实现 EPA 的优化生产提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种来源及其预培养

眼点拟微球藻系从中国水产科学研究院黄海水产研究所获得。实验均采用消毒海水配置的 Provasoli 培养基<sup>[4]</sup>,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  为氮源, 氮、磷的终浓度分别为 8.99 mg/L 和 0.84 mg/L, N/P 为 10.74 (w/w)。所有玻璃器皿均在高压灭菌后使用。在 500 ml 三角瓶内, 接种少量活化的藻液于 300 ml 培养基中, 培养至对数期使用。

\* 国家“九五”攻关项目 (96-C02-04-05, 96-C02-01-10-8), 海洋“863”项目 (819-02-01) 和联合国教科文组织项目 UNESCO 861.359.8 号。

① 魏东、张学成、邹立红、徐年军. 细胞生长时期对两种海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响, 青岛海洋大学学报 (待刊)。

收稿日期: 2000-01-04; 修回日期: 2000-05-08

## 1.2 实验

(1) 在 Provasdi 培养基中, 分别添加  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  或  $\text{NaNO}_3$ , 使终氮浓度在 8.99 ~ 81.55 mg/L 之间, 其他成分不变。(2) 制备加富培养基, 使所有营养盐的浓度是 Provasdi 培养基的 1 ~ 8 倍。每个实验组均设两个重复。培养在无菌的 250 ml 三角瓶中进行, 工作体积为 100 ml, 接种量为 20%, 起始 OD 值达 0.1。培养中光照强度为  $4300 \pm 200 \text{ lx}$ , 温度为  $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , 光/暗周期为 12 h/12 h。培养中每天取样测定 680 nm 下的 OD 值。培养结束后藻液经离心、洗涤、再离心收集藻泥后冷冻干燥, 藻粉用于总脂和脂肪酸分析。实验重复两次, 测试结果为两次实验的平均值。

## 1.3 分析测试与计算

### 1.3.1 比生长速率<sup>[5]</sup>

微藻细胞的比生长速率  $\mu$  按下式计算:  $\mu = (\ln X_t - \ln X_0) / t$ , 式中,  $\mu$  为比生长速率 ( $\text{d}^{-1}$ ),  $X_0$  和  $X_t$  分别为实验开始和结束时的 OD 值,  $t$  为培养时间 (d)。

### 1.3.2 总脂

藻体总脂占干重的百分比按 Ahlgren 1991 年的分光光度法测定, 与亚油酸标准曲线 (式 1) 对照可计算光度法的总脂含量 (式 2), 再按式 3 换算成重量法结果<sup>①</sup>。

$$A_{280\text{nm}} = 20.814 \times \text{亚油酸}(\text{mg}) - 0.0753 \quad (1)$$

( $R^2 = 0.9765$ )

$$\text{总脂}(\% \text{干重, 光度法}) = \quad (2)$$

$$[\text{总脂}(\text{mg}) / \text{藻粉干重}(\text{mg})] \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{总脂}(\% \text{干重, 重量法}) = 6.7823(\text{总脂}(\% \text{干重, 光度法}) + 0.1945) \quad (3)$$

( $R^2 = 0.8565$ )

### 1.3.3 脂肪酸组成的气相色谱分析

按 Lepage 1984 年的方法并进行了改进。在螺口试管中称取约 15 mg 藻粉, 加入 1 ml 被 KOH 饱和的  $\text{CH}_3\text{OH}$  溶液, 迅速混匀, 于  $75 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴中皂化、甲酯化 10 min, 冷却至室温后加入约 2 ml 1 mol/L  $\text{HCl}-\text{CH}_3\text{OH}$  溶液使  $\text{pH} \leq 2$ , 振荡 1 min, 再于  $75 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴酸化 10 min, 冷却至室温, 加入 0.3 ml 石油醚及少许蒸馏水促进分层, 充分振荡, 离心后取上层石油醚相进行色谱分析。

脂肪酸分析采用美国 HP5890 II 型气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器, SGE AC20 毛细管柱 (30 m  $\times$   $\varnothing$  0.25 mm)。进样后程序升温:  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  保持 1 min, 以  $15$

$^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ , 再以  $2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ 。进样口、检测器的温度为  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ 。高纯氮为载气, 流速  $1.5 \text{ ml}/\text{min}$ , 进样量为  $1 \mu\text{l}$ 。以面积归一化法得到各脂肪酸组分的相对百分含量。脂肪酸标准品均为 Sigma 公司产品。

## 2 结果

### 2.1 氮源和 N/P 对眼点拟微球藻细胞生长的影响

氮源和 N/P 对眼点拟微球藻细胞生长的影响见图 1。由图可见, 添加 3 种氮源使 N/P 从 10 增加到 90, 对细胞生长的影响不大。在  $\text{N/P} < 20$  时 (N 约 18 mg/L), 添加 3 种氮源都能使细胞的比生长速率  $\mu$  增加, 以  $\text{NaNO}_3$  和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  为氮源时达到的  $\mu$  值接近, 两者都大于  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  能达到的  $\mu$  值。当  $\text{N/P} > 20$  时 (N 约 72.5 mg/L),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  为氮源使细胞的  $\mu$  值持续下降, 在达到最高氮浓度 72.5 mg/L 时细胞的生长速率仍与  $\text{N/P}$  为 10 时的值相当, 且高于  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  能达到的最高  $\mu$  值。 $\text{NaNO}_3$  或  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  为氮源,  $\mu$  值基本保持不变, 但  $\text{NaNO}_3$  比其他两种氮源能获得更高的平均生长速率, 约为  $0.35 \text{ d}^{-1}$ 。可见,  $\text{NaNO}_3$  是眼点拟微球藻细胞生长的最适氮源。

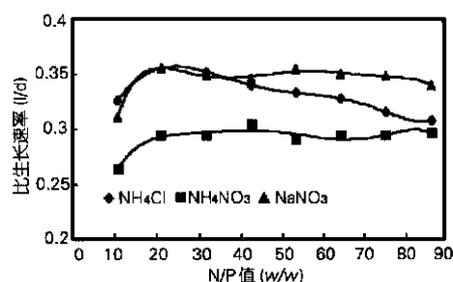


图 1 氮源和 N/P 对眼点拟微球藻生长速率的影响

Fig. 1 Effect of nitrogen sources and N/P on growth rate of *Nannochloropsis oculata*

### 2.2 氮源和 N/P 对眼点拟微球藻细胞总脂含量的影响

氮源和 N/P 对眼点拟微球藻细胞总脂含量的影响见图 2。由图 2 可见, 随着 N/P 的升高, 在 3 种氮源下培养的细胞的总脂含量都在持续下降, N/P 值从 10 增加到 90 时, 总脂含量从占干重的 32.46% 降至 20%

左右。N/P在10~20时,总脂含量下降最快;而在N/P>20时增加含氮量总脂下降减缓。3种氮源中,使用NaNO<sub>3</sub>总脂降低最快,并有波动;另外的两种氮源作用类似。

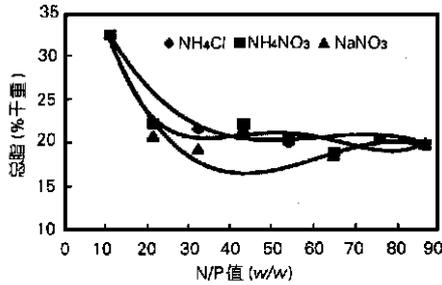


图2 氮源和N/P对眼点拟微球藻总脂含量的影响  
Fig.2 Effect of nitrogen sources and N/P on total lipid content of *N. oculata*

### 2.3 氮源和N/P对眼点拟微球藻脂肪酸组成的影响

表1 氮源种类和N/P对眼点拟微球藻脂肪酸组成的影响

Tab.1 Effect of nitrogen sources and N/P on fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata*

氮源种类	N/P (w/w)	脂肪酸 (% 总脂肪酸)								PUFAs (% TFA)
		16:0	16:1 $\omega$ 9	18:0	18:1 $\omega$ 9	18:1 $\omega$ 7	20:4 $\omega$ 6	20:5 $\omega$ 3	其他	
NH <sub>4</sub> Cl	21.6	24.28	24.68	1.02	3.89	1.81	3.96	24.13	16.23	28.09
	32.4	25.41	26.17	/	3.51	1.80	4.34	26.61	12.16	30.95
	43.2	25.37	25.40	0.84	3.43	2.11	3.92	26.34	14.22	30.26
	54.0	24.35	24.00	0.90	2.74	1.64	4.32	26.32	15.73	30.64
	64.8	23.79	24.49	0.80	2.91	1.74	4.61	27.35	14.32	31.96
	75.6	21.99	23.01	0.54	2.49	0.19	4.20	27.17	18.90	31.37
	86.6	24.01	23.22	1.30	2.66	1.74	5.00	23.12	18.94	28.12
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	10.7	40.83	27.26	1.49	8.70	1.96	1.99	8.42	9.35
21.6		23.21	25.15	/	2.77	1.58	3.44	24.69	19.16	28.13
32.4		22.21	24.37	0.55	2.69	1.42	4.24	27.75	16.77	31.99
43.2		25.24	28.17	2.92	/	/	4.71	27.91	11.05	32.62
54.0		25.31	25.15	1.04	3.51	1.75	4.27	27.87	11.10	32.14
64.8		22.64	21.89	1.02	3.08	1.57	4.16	29.45	16.19	33.61
75.6		21.73	22.30	0.74	2.83	1.45	4.32	30.20	16.43	34.52
86.6		21.01	20.82	0.67	2.59	1.41	4.40	30.84	18.26	35.24
NaNO <sub>3</sub>	21.6	23.75	23.77	1.07	2.49	1.48	3.96	24.10	19.38	28.06
	32.4	19.80	24.45	/	2.21	1.40	3.51	24.28	24.35	27.79
	43.2	25.06	26.82	1.05	2.35	1.45	2.87	25.12	15.28	27.99
	54.0	25.13	31.58	/	/	/	4.46	29.33	9.50	33.79
	64.8	20.63	23.86	1.01	2.27	1.76	4.23	28.87	17.37	33.10
	75.6	18.93	21.27	1.91	1.92	1.16	3.75	25.90	25.16	29.65
	86.6	24.21	25.85	0.70	2.36	1.51	3.90	25.78	15.69	29.68

注:“/”表示峰面积积分小于0.5%。

氮源和N/P对眼点拟微球藻脂肪酸组成的影响见表1。由图可见,细胞内脂肪酸组成与培养基中N/P有明显的相关性。3种氮源下生长的细胞,16:0,16:1 $\omega$ 9和20:5 $\omega$ 3(EPA)始终是脂肪酸的主要组分,三者之和占总脂肪酸的70%~80%。在N/P<20时,氮源是细胞生长的限制因素,增加氮源可明显提高生长速率(见图1),同时使细胞内的16:0,18:1 $\omega$ 9的比例大幅度降低,相反20:4 $\omega$ 6,20:5 $\omega$ 3和PUFAs的比例分别提高了1倍和2倍,16:1 $\omega$ 9,18:0,18:1 $\omega$ 7的比例变化不大。在N/P>20时,培养基达到氮饱和状态,氮源不再是生长限制因素,增加氮源只能使细胞的生长速率维持在一个较高的水平(见图1),20:5 $\omega$ 3和PUFAs的比例虽有升高但升幅不大,只从24%提高到接近30%,PUFAs的比例最高占总脂肪酸的30%~35%。

结果还表明,在相同N/P下,氮源种类对眼点拟微球藻的脂肪酸组成影响不大。3种氮源下细胞脂肪酸的组成十分接近。NH<sub>4</sub>Cl在N/P值为64.8时获得

EPA 和 PUFAs 的最高含量, 分别为 27.35% 和 31.96%, 再提高 N P 两者含量都下降。NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 在最高 N P 时获得 EPA 和 PUFAs 的最高含量, 分别为 30.84% 和 35.24%。NaNO<sub>3</sub> 为氮源时, 在 N P 为 54 时获得 EPA 和 PUFAs 的最高含量, 分别为 29.33% 和 33.79%, 再提高 N P 两者含量都下降。由此可见, 在相对较低的 N P 值下, 添加 NaNO<sub>3</sub> 能获得约 30% 的 EPA 含量, 说明 NaNO<sub>3</sub> 是眼点拟微球藻细胞产生和积累 EPA 的最佳氮源。

### 2.4 外加营养盐浓度对眼点拟微球藻的生长和脂肪酸组成的影响

营养盐浓度对眼点拟微球藻的生长和脂肪酸组成的影响见图 3。由图可见, 培养基中外加营养盐的浓度增加 1 倍, 细胞生长速率稍有增加, 总脂含量却明显降低。继续提高外加营养盐的浓度, 细胞生长速率则稍有降低, 从 0.2 降至 0.17d<sup>-1</sup>, 总脂含量基本保持不变, 约为干重的 20%。这表明, 外加营养盐的过饱和对细胞生长有一定的抑制作用, 可能与高盐度引起细胞渗透压的变化有关, 但这并未完全抑制细胞生长, 并能使总脂含量保持在一个较低水平。另外, 随着培养基中外加营养盐浓度的成倍增加, 细胞内 EPA 和 PUFAs 占总脂肪酸的比例则持续升高, 在营养盐

增加 4 倍以内时两者上升很快, EPA 和 PUFAs 占总脂肪酸的比例在 4 倍时可高达 35% 和 40%, 分别比对照提高了 2 倍和 3 倍; 而在增加 4~7 倍之间则上升减缓, 两者的最大值分别为 37% 和 43%; 增加到 8 倍时 EPA 和 PUFA 的比例均稍有下降。

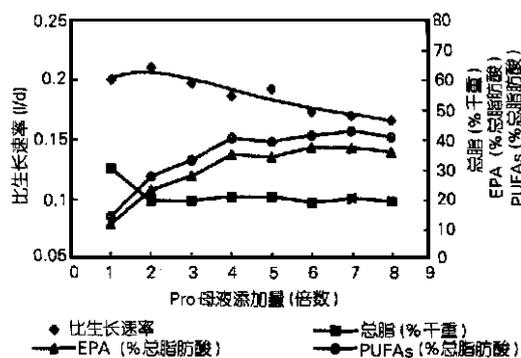


图 3 外加营养盐浓度对眼点拟微球藻的生长和总脂含量的影响

Fig. 3 Effect of exogenous nutrient salts concentration on growth and lipid content of *N. oculata*

眼点拟微球藻的脂肪酸组成与培养基中外加营养盐浓度的相关性见表 2。可以看出, 在这些培养基中, 16:0, 16:1n9 和 20:5n3(EPA) 仍始终是脂肪

表 2 外加营养盐浓度对眼点拟微球藻的脂肪酸组成的影响

Tab.2 Effect of exogenous nutrient salts concentration on fatty acid composition of *N. oculata*

Pro 母液用 量(倍数)	氮浓度 (mg/L)	磷浓度 (mg/L)	脂肪酸(%总脂肪酸)								PUFAs (%TFA)
			16:0	16:1n9	18:0	18:1n9	18:1n7	20:4n6	20:5n3	其他	
CK (×1)	8.99	0.84	34.20	28.93	1.32	8.95	2.12	2.48	11.78	10.22	14.26
×2	17.98	1.67	26.44	26.87	0.75	5.14	2.41	4.63	23.06	10.70	27.69
×3	26.96	2.51	20.18	22.23	0.51	4.06	2.69	5.32	27.88	17.13	33.20
×4	35.95	3.35	15.47	20.19	/	3.26	3.01	5.47	34.97	16.91	40.44
×5	44.94	4.19	13.51	19.15	/	2.51	2.76	5.16	34.11	22.80	39.27
×6	53.93	5.02	11.92	16.01	/	2.12	2.22	4.08	37.23	26.42	41.31
×7	62.92	5.86	15.39	21.53	/	2.63	2.96	5.54	37.30	14.65	42.84
×8	71.9	6.70	15.23	21.20	/	2.63	2.85	5.09	35.86	17.12	40.95

注:“/”表示峰面积积分小于 0.5%。

酸的主要组分,三者之和占总脂肪酸的 70%~80%。当培养基中外加营养盐浓度增加 1~6 倍, 细胞内的 16:0, 16:1n9, 18:0, 18:1n9 的比例大幅度降低, 20:4n6, 20:5n3 和 PUFAs 的比例则分别提高了 1 倍和 2 倍, 18:1n7 的比例变化不大。外加营养盐增加 6 倍以上, 细胞内的 16:0, 16:1n9, 18:0, 18:1n9 的比例又有所回升, 相反 20:4n6, 20:5n3 和

PUFAs 的比例基本保持不变或稍有下降。因此, 为获得高含量的 EPA 和 PUFA, 使培养基中外加营养盐浓度增加 4 倍较为经济实用。

### 3 讨论

上述实验结果表明, 在 N P < 20 时, 氮源是细胞生长的限制因素, 增加氮源可明显提高生长速率。

但在  $N/P > 20$  时达到氮饱和状态,氮源不再是生长限制因素,细胞的生长将决定于磷浓度(见图1)。这与 Mdina 1991 年报道的氮源和磷源对 *Tetraselmis* sp. 生长的影响情况相同。氮饱和下 3 种氮源对细胞生长的影响有较明显的区别(见图1),可能与细胞氮代谢的调节过程有关。Yongmanitchai 1991 年认为,微藻细胞一般优先利用铵态氮。以  $NH_4Cl$  作为氮源,由于  $NH_4^+$  的快速同化,可能导致培养基 pH 迅速下降,从而抑制了细胞的生长,如在三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorulum*)中就是这样。在以  $NaNO_3$  或  $NH_4NO_3$  为氮源时,培养基中硝酸盐浓度的增加,可诱导细胞内硝酸还原酶活性的升高,从而使硝酸盐的同化速率上升,在小球藻(*Chlorella vulgaris*)、骨条藻(*Skeletonema costatum*)和异行鱼腥藻(*Anabaena variabilis*)中都有相同的规律。由于培养基中增加的硝酸盐刺激了还原酶活性,导致培养基中  $NH_4^+$  的产生和积累,以及培养基的 pH 上升, Romero 1987 年和 Jeanfils 1993 年认为这有可能会反过来抑制氮进入碳骨架所需要的中间产物的形成过程,从而诱导硝酸还原酶活性的降低,以及细胞生长速率的下降。这两个方面的作用在细胞中达到平衡后,细胞将维持最大生长速率。本研究结果表明,单一氮源比复合氮源对细胞生长更为有效,按所能获得的最大生长速率排序,氮源种类的顺序为: $NaNO_3 > NH_4Cl > NH_4NO_3$ 。

如前所述,培养基中的氮源种类和浓度能影响许多微藻的总脂含量、饱和与不饱和脂肪酸的比例。Mdina 1991 年发现在  $N/P > 20$ 、培养基达到氮饱和状态, *Tetraselmis* sp. 的总脂含量也随  $N/P$  的增加而降低。Roessler 1990 年和 Yongmanitchai 1991 年发现蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)等 15 种绿藻、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorulum*)的总脂含量,在氮缺乏条件下比氮丰富时的培养物总脂含量要高。本试验结果与上述已有的报道相同(见图2)。作者以前的研究结果也证实,眼点拟微球藻在生长稳定期氮缺乏时总脂含量可高达 43.33%,而在对数生长早期氮饱和时总脂的含量只有 21.97%<sup>①</sup>。对于拟微球藻(*Nannochloris*)、卡德藻(*Tetraselmis* sp.)等几种海洋微藻, Roessler 1990 年发现培养基中营养盐浓度的减小将降低细胞内多不饱和脂肪酸的合成,而 Yongmanitchai 1991 年发现小球藻(*Chlorella* sp.)、栅藻(*Scenedesmus* sp.)、三角褐指藻(*P. tricorulum*)等在高氮浓度下 PUFA 含量增加,本试验结果与这些报道相符(见表

1、表2)。

氮源及  $N/P$  对微藻脂肪酸合成途径的影响,其机理尚不十分清楚。Hynn 1992 年指出,氮饱和和条件激活了微藻的去饱和途径, $\Delta 9$  去饱和酶是这个途径的第一个去饱和酶,其产物是 16:1n-9 和 18:1n-9。后续的碳链的延长和去饱和作用又以它们为底物,使多不饱和脂肪酸得以积累。Yongmanitchai 1991 年证实高氮浓度下小球藻(*Chlorella*)、栅藻(*Scenedesmus* sp.)、紫球藻(*Porphyridium cruentum*)的 PUFAs 含量增加,EPA 是 PUFA 的主要成分,碳链的延长和去饱和作用活跃。*T. suecica* 中不饱和脂肪酸的百分比在氮饱和和条件下达到最大值并保持稳定<sup>[6]</sup>。本试验结果与之相符(见表1、表2)。

拟微球藻(*Nannochloropsis*)长链不饱和脂肪酸的生物合成途径已有一些报道。在 18:2 的合成途径上与高等植物类似<sup>[7]</sup>,从 18:2 开始以 n6 和 n3 两条途径合成 PUFA<sup>[8]</sup>。n6 途径中,18:2-PC(卵磷脂,PC)在细胞质中先在  $\Delta 6$  位去饱和为 18:3n6,再经链延长、 $\Delta 5$  位去饱和转化为 20:4n6/20:4n6-PC,最后再经 n3 途径继续被细胞质中的  $\Delta 17(n3)$  去饱和酶催化产生 20:5n3-PC(EPA)。Yongmanitchai 1989 年发现以 n3 途径为主的其他微藻还有紫球藻(*Porphyridium jezoensis*)、*Monieella alpina*、小球藻(*Chlorella stigmatophom*、*Chlorella* sp.)、拟微球藻(*Nannochloropsis salina*)等。

#### 参考文献

- 1 Brown, M. R., Jeffrey, S. W. et al. . *Aquaculture*, 1997, 151, 315 ~ 331
- 2 Zittelli, GC., Lavista, F. et al. . *Journal of Biotechnology*, 1999, 70(1-3): 299 ~ 312
- 3 Zou, N., Richmond, A. . *Journal of Biotechnology*, 1999, 70(1-3): 351 ~ 356
- 4 Provasoli, L. . Culture and Collection of Algae. In: Watanabe A., Hayashi A. ed. . US-Japan Conf., Hokone, Jpn. Soc. Plant. Physiol., 1968. 63 ~ 75
- 5 Vonshak A. . *Spirulina platensis (Arthrospira)*. In: Avigad Vonshak ed. . Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor & Francis Ltd., 1997. 43 ~ 65
- 6 Otero A., Digna G., Fábregas J. . *J. Appl. Phycol.*, 1997, 9: 465 ~ 469

① 魏东、张学成、邹立红、徐年军. 细胞生长时期对两种海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响, 青岛海洋大学学报(待刊)。

研究报告 *REPORTS*

- 7 Shiran. D., Khozin I., Heimer YM. . *Lipids* , 1996 , 31(12) : 1 277 ~ 1 282  
8 Khozin , I., Adlerstein , D., Bigongo C. . *Plant Physiol.* , 1997 , 114 : 223 ~ 230

## EFFECTS OF NITROGEN SOURCES AND N/P RATION ON CELL GROWTH, TOTAL LIPID CONTENT AND FATTY ACID COMPOSITION OF *Nannochloropsis oculata*

WEI Dong ZHANG Xue-cheng SUI Zheng-hong XU Hua-shu  
( College of Marine Life Sciences , Ocean University of Qingdao , 266003)

Received : Jan . 4 , 2000

**Key Words :** *Nannochloropsis oculata* , Nitrogen source , N/P , Total lipid , Fatty acid , Eicosapentaenoic acid

### Abstract

The effects of three nitrogen sources( NaNO<sub>3</sub> , NH<sub>4</sub>Cl and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) and N/P on cell growth , total lipid content and fatty acid composition of marine microalgae *Nannochloropsis oculata* were investigated in this paper . Results show that when N/P increased from 10 to 90 , a slightly effect on cell growth was observed , and total lipid content was maintained at ca . 20 % of dry weight . 16 : 0 , 16 : 1 and 20 : 5 ( EPA ) were the dominant fatty acids , about 70 % - 80 % of total fatty acids . The maximal ratio of 20 : 5 and PUFAs composition in total fatty acid were obtained at ca . 30 % and 35 % respectively in a medium of N/P > 20 . Among the three nitrogen sources , a higher growth rate and ca . 30 % of EPA to total fatty acid were obtained at a relatively lower N/P ratio at 54 with NaNO<sub>3</sub> . Thus , NaNO<sub>3</sub> was the best nitrogen source for cell growth , synthesis and accumulation of EPA in *N. oculata* . It was also shown that EPA content could be increased to ca . 35 % in medium with 4 times of exogenous nutrient salts to the control . It is indicated that cells were constantly at a rapid growth and EPA-rich stage in culture medium rich in nitrogen and phosphate , and it was also the key step for the high yield of EPA in mass culture of this species .

( 本文编辑 : 张培新 )