

溶剂法提取微拟球藻脂质的工艺优化 及其脂质组学分析

张美兰¹, 赵康宇¹, 张立伟^{1,2}, 何东平^{1,2}, 郑竟成^{1,2}

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 大宗粮油精深加工教育部重点实验室, 武汉 430023)

摘要:研究了溶剂法提取微拟球藻脂质的工艺, 对比了氯仿-甲醇(体积比 1:1)、氯仿、异丙醇、石油醚、正己烷-乙醇(体积比 1:1)、正己烷、乙醇 7 种溶剂对微拟球藻脂质得率和二十碳五烯酸(EPA)含量的影响, 确定乙醇作为提取溶剂。采用单因素试验研究了乙醇体积分数、料液比、提取温度和提取时间对微拟球藻脂质提取的影响, 并通过正交试验对工艺条件进行优化, 最后采用 UPLC-Q-TOF-MS 对所得微拟球藻脂质进行脂质组学分析。结果表明, 微拟球藻脂质最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 80%、料液比 1:17.5、提取温度 65℃、提取时间 2 h。在最佳工艺条件下, 微拟球藻脂质得率为(15.87±0.21)%, EPA 含量为(14.49±0.14)g/100 g。微拟球藻脂质中检出 17 种脂质, 其中 12 种脂质含有 EPA, 含有 EPA 的脂质占总脂质的 45.24%。

关键词:微拟球藻; 脂质; 二十碳五烯酸; 乙醇提取; 脂质组学

中图分类号: TS224.4; TS225 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2022)05-0007-06

Optimization of extraction of *Nannochloropsis* sp. lipid with solvent and its lipidomics analysis

ZHANG Meilan¹, ZHAO Kangyu¹, ZHANG Liwei^{1,2},
HE Dongping^{1,2}, ZHENG Jingcheng^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;
2. Key Laboratory of Deep Processing of Major Grain and Oil, Ministry of Education, Wuhan 430023, China)

Abstract: The extraction of *Nannochloropsis* sp. lipid by solvent was studied. The effects of seven systems including chloroform-methanol (volume ratio 1:1), chloroform, isopropanol, petroleum ether, *n*-hexane-ethanol (volume ratio 1:1), *n*-hexane and ethanol on the yield and EPA content of *Nannochloropsis* sp. lipid were compared. Ethanol was determined as the extraction solvent. The effects of ethanol volume fraction, material-to-liquid ratio, extraction temperature and extraction time on the extraction of *Nannochloropsis* sp. lipid was studied by single factor experiment and the process conditions were optimized by orthogonal experiment. Moreover, the lipidomics of the *Nannochloropsis* sp. lipid were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: ethanol volume fraction 80%, material-to-liquid ratio 1:17.5, extraction temperature 65℃, and extraction time 2 h. Under these conditions, the yield of *Nannochloropsis* sp. lipid

was (15.87±0.21)%, and EPA content was (14.49±0.14)g/100 g. Seventeen kinds of lipids were determined in *Nannochloropsis* sp. lipid, in which only twelve kinds of lipid contained EPA. The lipids containing EPA accounted for 45.24% of the total lipids.

Key words: *Nannochloropsis* sp.; lipid; eicosapentaenoic acid; ethanol extraction; lipidomics

收稿日期: 2021-06-30; 修回日期: 2021-11-30

基金项目: “十三五”国家重点研发计划子课题(2018YFD0401105-3)

作者简介: 张美兰(1996), 女, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail)2286351738@qq.com。

通信作者: 郑竟成, 教授, 硕士生导师(E-mail)jingchengzheng@163.com。

二十碳五烯酸(EPA)是 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸(PUFA),对人体健康有着重要的作用,其不仅具有良好的调节人体免疫作用^[1],还具有抑制肿瘤细胞生长与转移^[2]、降低人体甘油三酯水平从而降低动脉粥样硬化风险的功能^[3]。

人体内 EPA 的来源主要有两种,一种是由人体摄入的 α -亚麻酸经过碳链延长酶和去饱和酶的作用得到^[4]。但根据 Hussein 等^[5]的研究,人体内仅有 0.3% 的 EPA 可以由 α -亚麻酸转化而来,并不能满足人体日常所需摄入量。另一种来源是通过日常的膳食进行补充。目前,市场上 EPA 的主要来源是深海鱼油和磷虾油,也是 EPA 的传统来源,但由于其可持续性较差,供应量无法满足人们日益增长的营养需求^[6]。近年来,人们在寻找各种不同的 EPA 来源,如转基因植物以及海洋微藻^[7-9]。

近年来,微藻由于具有单位面积内培育量大,对环境适应能力强的特点^[10],被广泛应用于水产养殖业^[11]、生物柴油的制备^[12]以及高附加值的人体营养膳食补充剂的生产^[13]。在众多的微藻中,微拟球藻由于具有生长速率快、脂质积累量高、EPA 含量较高的特点,成为近年来制备功能性脂质方向的研究热点^[14]。从微拟球藻中提取的脂质含有 8%~10% 的磷脂、30%~40% 的糖脂和 30%~40% 的中性脂^[15]。不同脂类中脂肪酸组成差别较大,EPA 在糖脂中含量较高,而在中性脂和磷脂中分布较少,3 种脂类中 EPA 含量之和占微拟球藻总脂质的 30%~40%。在正常生长条件下,微拟球藻合成脂肪酸主要用于合成膜脂,膜脂上含有大量的 PUFA,在外部条件发生变化时,微藻合成的脂肪酸会转而积累在中性脂上^[16]。因此,在提取微拟球藻脂质时,所选方法不仅能提取中性脂,还应能提取极性脂,此外还需要考虑提取的脂质中 EPA 含量的高低。

近年来,已有多位学者对微拟球藻脂质的提取方法进行了研究,如:Crampon 等^[17]研究了气流干燥和冷冻干燥对超临界 CO₂ 萃取 *Nannochloropsis oculata* 脂质的影响;Ryckebosch 等^[18]研究了 8 种溶剂对 *Nannochloropsis gaditana* 中脂质提取的影响,发现乙醇提取率较低,且存在纯度较低的情况。采用乙醇提取微拟球藻脂质时,可以得到溶血酰基甘油三甲基高丝氨酸(LDGTS)^[19],该物质具有抗动脉粥样硬化的能力,能通过改善高密度脂蛋白(HDL)的质量和功能来促进心血管健康。

本文对比氯仿-甲醇(体积比 1:1)、氯仿、异

丙醇、石油醚、正己烷-乙醇(体积比 1:1)、正己烷、乙醇 7 种溶剂提取微拟球藻脂质对脂质得率及 EPA 含量的影响,并对乙醇提取微拟球藻脂质工艺条件进行优化,最后对所得脂质进行脂质组学分析,以期对乙醇法提取微拟球藻脂质提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

微拟球藻藻粉,由山东烟台海融微藻养殖有限公司提供。

氯仿、甲醇、石油醚、正己烷、无水乙醇、无水硫酸钠、丙酮、氯化钠、50% 三氟化硼甲醇溶液,分析纯;正己烷、异丙醇、甲醇、乙腈,色谱纯,德国默克集团;EPA 甘三酯标品,上海源叶生物有限公司;氘化脂质内标混合物,美国 Avanti Polar Lipids 公司;HyperSep Silica 固相萃取柱,赛默飞公司。

UPLC LC-10A 超高效液相色谱,日本岛津公司;AB Sciex Triple TOF 6600 质谱仪;GZX-9070MBE 电热鼓风干燥箱;AR423DCN 精密电子天平;SHA-B 数显恒温水浴振荡器;Agilent 7890A-5975C GC-MS;TDZ5-WS 低速离心机。

1.2 试验方法

1.2.1 微拟球藻脂质的提取

取 10 g 微拟球藻藻粉于锥形瓶中,以一定的料液比加入溶剂,在一定温度下提取一定时间后,将混浊液转移至离心管中,并用相同溶剂洗涤锥形瓶 3 次,将洗涤液转移至离心管中,在 4 000 r/min 下离心 15 min,收集上清液,经旋转蒸发浓缩后,收集浓缩液于平板中,在 60 °C 下真空干燥至恒重,获得微拟球藻粗脂质。

将微拟球藻粗脂质溶于 8 mL 氯仿-甲醇(体积比 1:1)中,用 2 mL 水洗涤,在 8 000 r/min 下离心 15 min,去除上层含有多糖和蛋白质等非脂质物质的水层,取下层氮吹去除溶剂,即为微拟球藻脂质。

微拟球藻脂质得率(Y)按下式计算。

$$Y = m_1 / m_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 和 m_0 分别为微拟球藻脂质的质量和微拟球藻藻粉的质量。

1.2.2 微拟球藻脂质中 EPA 含量的测定

甲酯化方法:参照俞喜娜等^[20]的方法,取 200 mg 微拟球藻脂质于 10 mL 试管中,加入 2 mL 0.5 mol/L 的 KOH-CH₃OH 溶液,在 60 °C 水浴中振荡 30 min;小心加入 2 mL 50% 的 BF₃-CH₃OH,继续在 60 °C 水浴振荡 3 min;加入 2 mL 饱和 NaCl 溶液,

再加入 2 mL 色谱级正己烷并振荡,静置后取上清液,过 0.25 μm 有机滤膜后待 GC-MS 分析。

GC 条件:Agilent HP-88 毛细管色谱柱(100 m \times 25 μm , 0.25 μm);进样口温度 260 $^{\circ}\text{C}$;升温程序为 140 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 185 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min,再以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min,再以 2.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 225 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;进样量 1.0 μL ;分流比 1:40。

MS 条件:EI 离子源,电离能量 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$,接口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,全扫描模式,质量扫描范围(m/z) 50 ~ 550,溶剂延时 5 min。

EPA 含量按照 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》第二法外标法中公式进行计算。

1.2.3 微拟球藻脂质的脂质组学分析

样品前处理:称取 10.0 mg 微拟球藻脂质于 1 mL 异丙醇中,涡旋 30 min 使其充分溶解,加入异丙醇稀释至 100 倍后,加入 10 μL 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的氘化脂质内标混合物,涡旋 30 s 后于 12 000 r/min 离心 5 min,取上层清液过 0.22 μm 有机滤膜后,待 UPLC-Q-TOF-MS 测定。

UPLC 条件:Phenomenex Kinetex C18 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm);柱温 60 $^{\circ}\text{C}$;进样量 1 μL ;流动相中 A 相为 H_2O -甲醇-乙腈(体积比 1:1:1,含 5 mmol/L NH_4Ac),B 相为异丙醇-乙腈(体积比 5:1,含 5 mmol/L NH_4Ac);流速 0.4 mL/min;流动相梯度洗脱程序按表 1 进行。

表 1 流动相梯度洗脱程序

| 时间/min | A 相/% | B 相/% |
|--------|-------|-------|
| 0.5 | 80 | 20 |
| 1.5 | 60 | 40 |
| 3.0 | 40 | 60 |
| 13.0 | 2 | 98 |
| 13.1 | 80 | 20 |
| 17.0 | 80 | 20 |

MS 条件:ESI 离子源,正模式,质量扫描范围(m/z) 100 ~ 1 200,干燥气压力 0.24 MPa,离子源气体 1 压力 0.35 MPa,离子源气体 2 压力 0.35 MPa,离子喷射电压 5 500 V,温度 600 $^{\circ}\text{C}$ 。

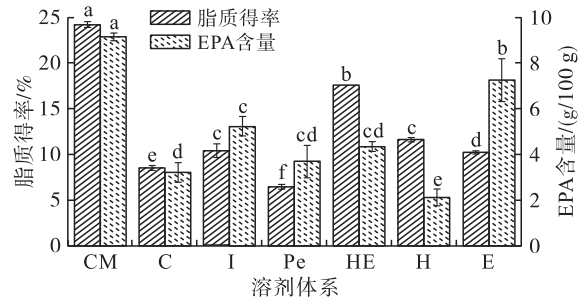
1.2.4 数据统计

所有试验均重复 3 次,采用 Excel 2019 处理数据,结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。以 Origin 2018 进行作图,以 SPSS 19 进行 ANOVA 显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同提取溶剂对微拟球藻脂质得率及 EPA 含量的影响

在料液比 1:10、提取温度 25 $^{\circ}\text{C}$ 、提取时间 3 h 的条件下,考察不同提取溶剂对微拟球藻脂质得率和 EPA 含量的影响,结果如图 1 所示。



注:CM. 氯仿-甲醇(体积比 1:1);C. 氯仿;I. 异丙醇;Pe. 石油醚;HE. 正己烷-乙醇(体积比 1:1);H. 正己烷;E. 乙醇。同一指标不同字母表示存在显著差异($p < 0.05$)。下同

图 1 不同提取溶剂对微拟球藻脂质得率及 EPA 含量的影响

由图 1 可知,与氯仿-甲醇(体积比 1:1)和正己烷-乙醇(体积比 1:1)混合溶剂相比,采用单一溶剂进行微拟球藻脂质提取时脂质得率普遍较低,而 EPA 含量却因溶剂不同呈现出一定的差异。这是由于微拟球藻脂质中含有中性脂与极性脂两类脂质,且微拟球藻中 EPA 主要分布于细胞膜脂等极性脂上,故当提取出的脂质中极性脂含量较高时,提取物中的 EPA 含量较高。如采用正己烷-乙醇(体积比 1:1)混合溶剂提取时,正己烷多用于提取中性脂,乙醇用于提取极性脂。采用单一溶剂提取时,乙醇提取的脂质 EPA 含量最高。考虑到脂质的提取过程需要绿色、安全、无毒,以及较高含量的 EPA,因此选择乙醇作为提取溶剂。

2.2 乙醇提取微拟球藻脂质的工艺优化

2.2.1 单因素试验

2.2.1.1 乙醇体积分数对微拟球藻脂质提取的影响

在料液比 1:10、提取温度 65 $^{\circ}\text{C}$ 、提取时间 3 h 的条件下,考察乙醇体积分数对微拟球藻脂质得率和 EPA 含量的影响,结果见图 2。

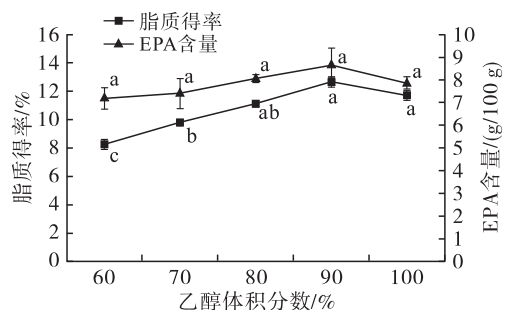


图 2 乙醇体积分数对微拟球藻脂质提取的影响

由图2可知,微拟球藻脂质得率随着乙醇体积分数的增大先升高后减少,脂质中EPA含量变化与脂质得率的趋势相同,脂质得率与EPA含量都在乙醇体积分数为90%时达到最高。综合考虑,选择最佳乙醇体积分数为90%。

2.2.1.2 料液比对微拟球藻脂质提取的影响

在乙醇体积分数90%、提取温度65℃、提取时间3h的条件下,考察料液比对微拟球藻脂质得率和EPA含量的影响,结果见图3。

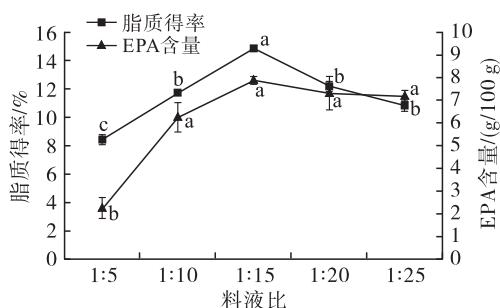


图3 料液比对微拟球藻脂质提取的影响

由图3可知,微拟球藻脂质得率与EPA含量均随着料液比的增加先增加后降低,当料液比为1:15时,脂质得率与EPA含量均最大。综合考虑,选择最佳料液比为1:15。

2.2.1.3 提取温度对微拟球藻脂质提取的影响

在提取时间3h、乙醇体积分数90%、料液比1:15条件下,考察提取温度对微拟球藻脂质得率和EPA含量的影响,结果见图4。

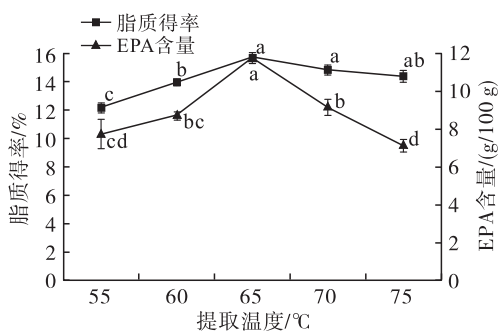


图4 提取温度对微拟球藻脂质提取的影响

由图4可知,随着提取温度的升高,脂质得率和EPA含量均先升高后降低,在提取温度为65℃时,脂质得率和EPA含量最高。这是因为在提取温度低于65℃时,提取温度的上升使溶剂分子运动增强,有利于溶剂分子扩散进入微拟球藻细胞中对脂质进行提取,因此提取温度的上升有利于脂质的提取;而当提取温度高于65℃时,温度过高会导致料液间出现汽化层,渐渐阻碍了溶剂分子的扩散,不利于微拟球藻脂质的提取。同时,EPA不饱和度较

高,高温时易发生氧化。综合考虑,选择最佳提取温度为65℃。

2.2.1.4 提取时间对微拟球藻脂质提取的影响

在提取温度65℃、乙醇体积分数90%、料液比1:15条件下,考察提取时间对微拟球藻脂质得率和EPA含量的影响,结果见图5。

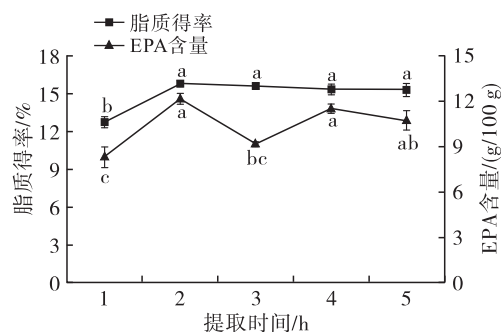


图5 提取时间对微拟球藻脂质提取的影响

由图5可知,微拟球藻脂质得率随着提取时间的延长先上升后趋于稳定,在提取时间2h时微拟球藻脂质的提取达到平衡。随着提取时间的延长,EPA含量呈波动变化趋势。综合考虑,选择最佳提取时间为2h。

2.2.2 正交试验

在单因素试验基础上,以乙醇体积分数、料液比、提取温度和提取时间为因素,分别以微拟球藻脂质得率和EPA含量为指标,采用四因素三水平正交试验 $L_9(3^4)$ 优化微拟球藻脂质的提取工艺条件。正交试验因素水平见表2,正交试验设计与结果见表3。

表2 正交试验因素水平

| 水平 | A 乙醇体积分数/% | B 料液比 | C 提取温度/℃ | D 提取时间/h |
|----|------------|--------|----------|----------|
| 1 | 80 | 1:12.5 | 60 | 1 |
| 2 | 90 | 1:15.0 | 65 | 2 |
| 3 | 100 | 1:17.5 | 70 | 3 |

由表3可知,各因素对微拟球藻脂质得率影响的主次顺序为B(料液比) > C(提取温度) > A(乙醇体积分数) > D(提取时间)。最佳工艺参数组合为 $A_1B_3C_2D_2$,即乙醇体积分数80%、料液比1:17.5、提取温度65℃、提取时间2h。

各因素对微拟球藻脂质中EPA含量影响的主次顺序为D(提取时间) > C(提取温度) > B(料液比) > A(乙醇体积分数)。最佳工艺参数组合为 $A_1B_3C_1D_2$,即乙醇体积分数80%、料液比1:17.5、提取温度60℃、提取时间2h。

由于两个指标的最佳工艺参数组合中,乙醇体积分数、料液比和提取时间相同,仅提取温度存在差异,故分别对两个指标的工艺参数组合进行试验。

当工艺参数组合为 $A_1B_3C_2D_2$ 时,微拟球藻脂质得率为 $(15.87 \pm 0.21)\%$, EPA 含量为 $(14.49 \pm 0.14) \text{ g}/100 \text{ g}$ 。当工艺参数组合为 $A_1B_3C_1D_2$ 时,微拟球藻脂质得率为 $(15.73 \pm 0.17)\%$, EPA 含量为 $(12.49 \pm 0.31) \text{ g}/100 \text{ g}$, 该条件下 EPA 含量低于 $A_1B_3C_2D_2$ 组合条件下的,可能是因为没有考虑到各因素的交互作用。两种条件下脂质得率相差不大,而 EPA 含量相差较大,故选择工艺参数组合 $A_1B_3C_2D_2$ 作为微拟球藻脂质提取的最佳工艺条件。

表3 正交试验设计与结果

| 试验号 | A | B | C | D | 脂质得率/% | EPA 含量/ (g/100 g) |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|----------------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 15.53 | 11.00 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 15.36 | 12.33 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 15.48 | 11.71 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 15.31 | 12.90 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 12.84 | 7.52 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 15.63 | 13.62 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 15.10 | 10.54 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 14.92 | 10.94 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 15.56 | 9.65 |
| 脂质得率 | | | | | | |
| k_1 | 15.46 | 15.31 | 15.36 | 14.64 | | |
| k_2 | 14.59 | 14.37 | 15.41 | 15.36 | | |
| k_3 | 15.19 | 15.56 | 14.47 | 15.24 | | |
| R | 0.87 | 1.19 | 0.94 | 0.72 | | |
| EPA 含量 | | | | | | |
| k_1 | 11.68 | 11.48 | 11.85 | 9.39 | | |
| k_2 | 11.35 | 10.26 | 11.63 | 12.16 | | |
| k_3 | 10.38 | 11.66 | 9.92 | 11.85 | | |
| R | 1.30 | 1.40 | 1.93 | 2.77 | | |

2.3 微拟球藻脂质的脂质组学分析

对最佳条件下提取的微拟球藻脂质进行脂质组学分析,结果见表4。微拟球藻脂质中含有 EPA 的脂质种类及含量见表5。

由表4可知,乙醇提取的微拟球藻脂质中含有17种脂质。其中,糖脂(SQDG、LDGTS、DGDG、MGDG、DGTS和DGGA)的含量最高,占总脂质的62.2%,其次为磷脂(Cer、LPC、LPE、LPG、PC、PE、PG和PI),占总脂的25.2%,中性脂(DG和TG)含量占总脂的5.1%。

表4 微拟球藻脂质中脂质组成及含量 mg/g

| 脂质种类 | 含量 | 脂质种类 | 含量 |
|------|-------|-------|--------|
| Cer | 7.17 | PI | 1.14 |
| FA | 17.75 | DG | 1.90 |
| LPC | 1.89 | DGDG | 44.83 |
| LPE | 0.29 | DGGA | 0.43 |
| LPG | 0.45 | DGTS | 4.26 |
| MGDG | 6.24 | LDGTS | 45.93 |
| PC | 27.84 | SQDG | 47.53 |
| PE | 2.90 | TG | 10.45 |
| PG | 18.71 | 总量 | 239.71 |

注: Cer. 神经酰胺; FA. 游离脂肪酸; LPC. 溶血磷脂酰胆碱; LPE. 溶血磷脂酰乙醇胺; LPG. 溶血磷脂酰甘油酯; MGDG. 单半乳糖酰甘油二酯; PC. 磷脂酰胆碱; PE. 磷脂酰乙醇胺; PG. 磷脂酰甘油; PI. 磷脂酰肌醇; DG. 甘油二酯; DGDG. 双半乳糖甘油二酯; DGGA. 二酰基甘油葡萄糖醛酸; DGTS. 二酰甘油-N-三甲基高丝氨酸; LDGTS. 溶血酰基甘油三甲基高丝氨酸; SQDG. 硫代异鼠李糖甘油二酯; TG. 甘油三酯。

表5 微拟球藻脂质中含 EPA 的

脂质种类及含量 mg/g

| 脂质种类 | 含量 | 脂质种类 | 含量 |
|------|-------|-------|--------|
| LPC | 0.26 | DG | 1.24 |
| LPE | 0.12 | DGDG | 36.01 |
| LPG | 0.12 | DGTS | 1.00 |
| MGDG | 6.06 | LDGTS | 32.49 |
| PC | 10.55 | TG | 3.91 |
| PE | 0.99 | 总量 | 108.45 |
| PG | 15.70 | | |

由表5可知,含有 EPA 的脂质有12种,含有 EPA 的脂质含量按照由高到低依次为 $DGDG > LDGTS > PG > PC > MGDG > TG > DG > DGTS > PE > LPC > LPE = LPG$ 。微拟球藻中的 EPA 主要是在内质网中合成,并进一步输出到质体中与半乳糖脂结合,因此含 EPA 较多的是 DGDG 和 LDGTS。在 DGDG 中,含 EPA 的物质占总 DGDG 的 80.3%; 在 LDGTS 中,含 EPA 的物质占总 LDGTS 的 70.7%; 在微拟球藻 17 种脂质中,含 EPA 的脂质占总脂质的 45.24%。

3 结论

乙醇提取微拟球藻脂质的最佳工艺条件为乙醇体积分数 80%、料液比 1:17.5、提取温度 65℃、提取时间 2 h, 在最佳条件下微拟球藻脂质得率为 $(15.87 \pm 0.21)\%$, EPA 含量为 $(14.49 \pm 0.14) \text{ g}/100 \text{ g}$ 。

采用 UPLC-Q-TOF-MS 对微拟球藻脂质进行脂质组学分析,共检出 17 种脂质,分别是神经酰

胺 (Cer)、游离脂肪酸 (FA)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、溶血磷脂酰甘油酯 (LPG)、单半乳糖酰甘油二酯 (MGDG)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰甘油 (PG)、磷脂酰肌醇 (PI)、甘油二酯 (DG)、双半乳糖甘油二酯 (DGDG)、二酰基甘油葡萄糖醛酸 (DGGA)、二酰甘油-N-三甲基高丝氨酸 (DGTS)、溶血酰基甘油三甲基高丝氨酸 (LDGTS)、硫代鼠李糖甘油二酯 (SQDG) 和甘油三酯 (TG), 其中 12 种脂质含有 EPA, 含 EPA 最多的脂质是 DGDG, 其次是 LDGTS, 在微拟球藻 17 种脂质中, 含 EPA 的脂质占总脂质的 45.24%。

参考文献:

- [1] ONER T, OZDEMIR R, DOKSOZ O, et al. Cardiac function in children with premature ventricular contractions: the effect of *omega*-3 polyunsaturated fatty acid supplementation[J]. *Cardiol Young*, 2018, 28(7): 949-954.
- [2] DUPERTUIS Y M, BOULENS N, ANGIBAUD E, et al. Antitumor effect of 5-fluorouracil-loaded liposomes containing *n*-3 polyunsaturated fatty acids in two different colorectal cancer cell lines[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2021, 22(1): 1-10.
- [3] LOPEZ-HUERTAS E. Health effects of oleic acid and long chain *omega*-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies[J]. *Pharmacol Res*, 2010, 61(3): 200-207.
- [4] PATEL A, ROVA U, CHRISTAKOPOULOS P, et al. Introduction to essential fatty acids[M]. Beverly, USA: Scrivener Publishing LLC, 2020.
- [5] HUSSEIN N, AH-SING E, WILKINSON P, et al. Long-chain conversion of [¹³C] linoleic acid and α -linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men[J]. *J Lipid Res*, 2005, 46(2): 269-280.
- [6] TOCHER D R, BETANCOR M B, SPRAGUE M, et al. *Omega*-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA: bridging the gap between supply and demand[J/OL]. *Nutrients*, 2019, 11(1): 89 [2021-06-30]. <https://doi.org/10.3390/nu11010089>.
- [7] ADARME-VEGA T C, THOMAS-HALL S R, SCHENK P M. Towards sustainable sources for *omega*-3 fatty acids production[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2014, 26: 14-18.
- [8] PELTOMAA E, JOHNSON M D, TAIPALE S J. Marine cryptophytes are great sources of EPA and DHA[J/OL]. *Mar Drugs*, 2018, 16(1): 3 [2021-06-30]. <https://doi.org/10.3390/md16010003>.
- [9] WEST A L, MILES E A, LILLYCROP K A, et al. Dietary supplementation with seed oil from transgenic *Camelina sativa* induces similar increments in plasma and erythrocyte DHA and EPA to fish oil in healthy humans[J]. *Br J Nutr*, 2020, 124(9): 922-930.
- [10] SPOLAORE P, JOANNIS-CASSAN C, DURAN E, et al. Commercial applications of microalgae[J]. *J Biosci Bioeng*, 2006, 101(2): 87-96.
- [11] JKV A, SE B, SP B, et al. Dietary supplementation of microalgae, *Aurantiochytrium* sp. and co-feeding with *Artemia* enhances the growth, stress tolerance and survival in *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) post larvae[J/OL]. *Aquaculture*, 2020, 533: 736176 [2021-06-30]. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736176>.
- [12] DEMIRBAS A, DEMIRBAS M F. Importance of algae oil as a source of biodiesel[J]. *Energy Convers Manage*, 2011, 52(1): 163-170.
- [13] LEU S, BOUSSIBA S. Advances in the production of high-value products by microalgae[J]. *Ind Biotechnol*, 2014, 10(3): 169-183.
- [14] MA X N, CHEN T P, BO Y, et al. Lipid production from *Nannochloropsis*[J/OL]. *Mar Drugs*, 2016, 14(4): 61 [2021-06-30]. <https://doi.org/10.3390/md14040061>.
- [15] SCHNEIDER J C, LIVNE A, SUKENIK A, et al. A mutant of *Nannochloropsis* deficient in eicosapentaenoic acid production[J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(3): 807-814.
- [16] HU Q, SOMMERFELD M, JARVIS E, et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances[J]. *Plant J*, 2008, 54(4): 621-639.
- [17] CRAMON C, MOUAHID A, TOUDJI S A A, et al. Influence of pretreatment on supercritical CO₂ extraction from *Nannochloropsis oculata*[J]. *J Supercrit Fluids*, 2013, 79: 337-344.
- [18] RYCKEBOSCH E, BERMUDEZ S P C, TERMOTE-VERHALLE R, et al. Influence of extraction solvent system on the extractability of lipid components from the biomass of *Nannochloropsis gaditana*[J]. *J Appl Phycol*, 2013, 26(3): 1501-1510.
- [19] KHATTIB A, ATRAHIMOVICH D, DAHLI L, et al. Lyso-diacylglyceryltrimethylhomoserine (lyso-DGTS) isolated from *Nannochloropsis* microalgae improves high-density lipoprotein (HDL) functions[J]. *Biofactors*, 2020, 46(1): 146-157.
- [20] 俞喜娜, 陈康, 张燕平, 等. 酶辅助提取南极磷虾磷脂及脂质组学研究[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(11): 97-106.