

# 微拟球藻总脂中甘油酯组成定量分析及 EPA 的存在形式研究

黎崎均<sup>1,2</sup>, 周真真<sup>1,2</sup>, 张东梅<sup>1</sup>, 丛威<sup>1</sup>

(1. 中国科学院过程工程研究所 生化重点实验室, 北京 100190; 2. 中国科学院大学 化学工程学院, 北京 100190)

**摘要:**采用正己烷-乙醇混合溶剂提取微拟球藻总脂, 分级后得到中性脂、糖脂和磷脂, 采用薄层层析分离 3 组分, 并采用气相色谱法定量分析各组分在总脂中的含量及脂肪酸组成, 同时分析了 EPA 在各脂质中的分布。结果表明: 微拟球藻总脂甘油酯的中性脂、糖脂、磷脂占比分别为 33.42%、38.22% 和 28.36%; 中性脂主要组分为甘油三酯 (TAG) 和游离脂肪酸 (FFA), 在总脂中的含量分别为 9.27 g/100 g 和 5.79 g/100 g; 糖脂主要组分为单半乳糖甘油二酯 (MGDG) 和双半乳糖甘油二酯 (DGDG), 在总脂中的含量分别为 14.03 g/100 g 和 5.81 g/100 g; 磷脂主要组分为磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰胆碱 (PC) 和磷脂酰肌醇 (PI), 在总脂中的含量分别为 6.22、3.53 g/100 g 和 1.53 g/100 g。3 类脂质之和占微拟球藻总脂的 51.49%; 不同脂类脂肪酸组成差别较大, EPA 在甘油一酯 (MAG)、MGDG、DGDG 和 PE 中比例较高, 分别占各组分脂肪酸总量的 16.94%、37.24%、14.32% 和 10.51%, EPA 在中性脂中分布最低, 83.59% 的 EPA 以糖脂形式存在。

**关键词:**微拟球藻; 油脂分析; 薄层层析; EPA 分布

中图分类号: Q936; TQ646

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2021)06-0119-06

## Quantitative analysis of glycerides composition and existence form of EPA in total lipid of *Nannochloropsis* sp.

LI Qijun<sup>1,2</sup>, ZHOU Zhenzhen<sup>1,2</sup>, ZHANG Dongmei<sup>1</sup>, CONG Wei<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Chinese Academy of Sciences Institute of Process Engineering, Beijing 100190, China; 2. School of Chemical Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

**Abstract:** The total lipid was extracted from *Nannochloropsis* sp. by mixed *n*-hexane and ethanol solvent, neutral lipid, glycolipid and phospholipid were obtained after lipid fractionation, the components in the three lipids were separated by thin-layer chromatography, and quantitatively determined with gas chromatography, and the fatty acid compositions of the components in neutral lipid, glycolipid and phospholipid were also determined. At the same time, the distribution of EPA in each lipid was analyzed. The results showed that the proportions of neutral lipids, glycolipids and phospholipids in glycerides of total lipid of *Nannochloropsis* sp. were 33.42%, 38.22% and 28.36%, respectively. The main components of neutral lipids were triacylglycerol (TAG) and free fatty acid with the contents of 9.27 g/100 g and 5.79 g/100 g respectively in the total lipid; the main components of glycolipids were medium monogalactose diglyceride (MGDG) and digalactosyl diglyceride (DGDG) with the contents of

14.03 g/100 g and 5.81 g/100 g, respectively in the total lipid; the main components of phospholipids were phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylinositol (PI) with the contents of 6.22, 3.53 g/100 g and 1.53 g/100 g, respectively in the total lipid. The absolute total

收稿日期: 2020-08-13; 修回日期: 2021-02-25

基金项目: “十三五”国家重点研发计划 (2018YFD0401105)

作者简介: 黎崎均 (1993), 男, 在读博士, 研究方向为微藻油脂开发利用 (E-mail) liqijun15@mails.ucas.ac.cn。

作者简介: 张东梅, 副研究员, 博士 (E-mail) dmzhang@ipe.ac.cn。

content of the three lipids in total lipid was 51.49 g/100 g. The fatty acid composition of different lipids was quite different. EPA had a higher proportion in monoglyceride (MAG), MGDG, DGDG and PE, accounting for 16.94%, 37.24%, 14.32% and 10.51% of the total fatty acids of each component, respectively. EPA had the lowest distribution in neutral lipids, and 83.59% of EPA existed in the form of glycolipids.

**Key words:** *Nannochloropsis* sp.; lipid analysis; thin-layer chromatography; EPA distribution

微拟球藻 (*Nannochloropsis* sp.) 为不等鞭毛门真眼点藻纲的单细胞微藻,其胞内富含碳水化合物、蛋白质以及油脂<sup>[1-2]</sup>。微拟球藻油脂含量高达37%~60%,且油脂中富含多不饱和脂肪酸(PUFA),尤其是二十碳五烯酸(EPA)含量较高,具有降低血脂、预防心血管疾病的效用<sup>[1]</sup>。微拟球藻生长速度快,易于大规模培养,被认为是未来最有可能商业化的藻种之一<sup>[3-4]</sup>。

解析微藻胞内油脂组成是有效开发和利用微藻油脂的基础。微藻油脂主要成分为甘油酯,还含有少量的色素和维生素。根据极性和结构差异,甘油酯又分为中性脂、糖脂和磷脂。中性脂包括甘油三酯(TAG)、游离脂肪酸(FFA)、甘油一酯(MAG)和甘油二酯(DAG),TAG是主要的储能物质。糖脂主要包括单半乳糖甘油二酯(MGDG)、双半乳糖甘油二酯(DGDG)以及硫代异鼠李糖甘油二酯(SQDG),糖脂主要以类囊体脂质的形式存在。磷脂主要包括磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、溶血磷脂酰胆碱(LPC)和磷脂酰肌醇(PI)等,磷脂以双分子层形式构成细胞膜支架<sup>[5]</sup>。对于微拟球藻胞内油脂组分及含量变化已有相关报道<sup>[6]</sup>。然而,目前关于微拟球藻胞内油脂组成的测定,即便采用各种质谱分析也多以相对含量表示,无法获知其在生物质或总脂提取物中的具体含量。而微拟球藻总脂提取物中非油脂类物质含量高、种类复杂,其比例可能高达60%左右<sup>[7]</sup>。直接以总脂含量计算各种脂类或脂肪酸的相对含量,常常导致结果偏差较大。

微拟球藻中EPA在不同脂类中的分布尚未有明确的报道,研究者往往止步于研究EPA含量或其占总脂肪酸的比例,导致EPA最终产品不明确。因此,通过分离脂质各组分,明确各类脂质的含量以及EPA的分布,可以为后续EPA藻油产品的开发提供依据。

微拟球藻全脂分析通常基于氯仿-甲醇溶剂获得,但是氯仿、甲醇均具有神经致毒作用,不能应用于大规模提取,本文选用可用于食品提取的正己烷-乙醇混合溶剂提取微拟球藻中总脂,利用薄层层析将中性脂、糖脂、磷脂各组分分离,再结合气相

色谱定量分析各组分脂肪酸组成,确定了各组分绝对含量以及EPA的存在形式。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

微拟球藻 (*Nannochloropsis oceanica*) 藻粉,山东烟台海融公司。硅胶板,青岛海洋化工厂; Waters Sep-Pak<sup>TM</sup> 硅胶柱(500 mg),沃特世(上海)有限公司。37种脂肪酸甲酯混合标准品、TAG标准品(十一烷甘油三酯,≥98%)、DAG标准品(1,2-棕榈酰基甘油二酯,≥99%)、FFA标准品(棕榈酸,≥98%)、MAG标准品(油酸酰基甘油一酯,≥99%),美国Sigma-Aldrich公司;MGDG标准品(≥99%)、DGDG标准品(≥99%)、SQDG标准品(≥99%)、DGTS标准品(≥99%)、大豆磷脂混标(38% PC、30% PE、18% PI、7% PA和7% LPC)、PE标准品(二棕榈酰磷脂酰乙醇胺,≥99%),Avanti公司。PC标准品(二棕榈酰磷脂酰胆碱,≥98%)、PI标准品(≥50%)、PG标准品(≥98%),上海源叶生物科技有限公司;LPC标准品(≥99%),美国Sigma-Aldrich公司。正己烷、乙醇、甲醇、三氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯、冰乙酸、异丙醇等均为分析纯。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 微拟球藻总脂提取

微拟球藻藻粉按文献[8]进行膨化破壁处理后,取一定量的藻粉,按质量体积比1:5加入正己烷-乙醇(体积比10:3)混合溶剂,在磁力搅拌器中60℃浸提1h,于4000 r/min离心5 min,收集上清液,然后加入少许溶剂洗涤沉淀两次,离心后合并上清液,在氮气保护下挥发溶剂,60℃烘干至恒重即获得总脂。

#### 1.2.2 脂质分级

先加入10 mL甲醇活化Sep-Pak<sup>TM</sup>硅胶柱,再用30 mL氯仿平衡。取约50 mg微拟球藻总脂溶于1 mL氯仿,上样。用25 mL氯仿洗脱得到中性脂,用20 mL丙酮洗脱得到糖脂,用15 mL甲醇洗脱得到磷脂,3组分在氮气保护下使溶剂挥发,然后60℃烘干

至恒重后备用<sup>[8]</sup>,通过计算获得各组分占比。

### 1.2.3 薄层层析分离

#### 1.2.3.1 中性脂

将中性脂溶于氯仿,质量浓度约为20 g/L,选用10 cm × 10 cm 硅胶板,展开剂为正己烷-乙酸乙酯-冰乙酸(体积比70:30:1),展开至9 cm<sup>[5]</sup>。0.05%的樱草黄(80%丙酮溶解)喷板,自然晾干后在紫外波长365 nm下显色。各色带刮下后待气相色谱分析。

#### 1.2.3.2 糖脂

将糖脂溶于氯仿,质量浓度约为20 g/L,选用10 cm × 10 cm 的硅胶板,以乙酸乙酯-异丙醇-氯仿-甲醇-0.25% KCl水溶液(体积比25:25:25:10:4)为第一展开剂,展开至6.5 cm,自然晾干后以正己烷-乙醚-乙酸(体积比70:30:2)为第二展开剂,展开至9 cm<sup>[9]</sup>,自然晾干后用碘蒸气显色。各色带刮下后待气相色谱分析。

#### 1.2.3.3 磷脂

将磷脂溶于氯仿,质量浓度约为20 g/L,选用10 cm × 10 cm 硅胶板,展开剂为氯仿-甲醇-乙酸-丙酮-水(体积比45:25:7:4:2),展开至9 cm<sup>[10]</sup>,自然晾干后碘蒸气显色。各色带刮下后待气相色谱分析。

### 1.2.4 气相色谱分析

在样品中加入2 mL 2%的NaOH甲醇溶液,加入0.1 mL 1 mg/mL的十一烷甘油三酯作为内标,80℃水浴2 h。加入1.75 mL 14%的BF<sub>3</sub>甲醇溶液,继续水浴10 min后快速冷却至室温。然后加入1 mL色谱纯正己烷,振荡,加入2 mL饱和NaCl溶液。离心分层,取正己烷相用0.22 μm膜过滤上样。

气相色谱条件:DB-23色谱柱(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm);进样器温度250℃;FID检测器温度280℃;载气为氮气,流速1 mL/min;尾吹气流速25 mL/min;氢气流速40 mL/min;空气流速400 mL/min;升温程序为70℃保持1 min,以4℃/min升至185℃,然后以1.5℃/min升至230℃,并保持1 min。

通过脂肪酸甲酯(FAME)峰面积与内标峰面积比值计算各脂肪酸甲酯的相对含量。通过脂质组分换算系数计算得到各组分在总脂中的绝对含量。

脂质组分换算系数的计算:根据气相色谱的分析结果,以3种含量最多的脂肪酸作为各组分的支链构成,计算各组分与脂肪酸甲酯之间的换算系数

(*F*)。以MGDG为例的*F*计算过程见式(1)~(3),*R*<sub>1</sub>、*R*<sub>2</sub>、*R*<sub>3</sub>是MGDG中含量最多的3种脂肪酸。

$$M = (M_{2R_1} + M_{2R_2} + M_{2R_3})/3 \quad (1)$$

$$M_R = (M_{R_1} + M_{R_2} + M_{R_3})/3 \quad (2)$$

$$F = M/(2M_R) \quad (3)$$

式中:*M*为MGDG的平均相对分子质量;*M*<sub>2*R*</sub>代表含有两条*R*支链的MGDG的相对分子质量;*M*<sub>*R*</sub>为脂肪酸甲酯的平均相对分子质量;*M*<sub>*R*1</sub>、*M*<sub>*R*2</sub>和*M*<sub>*R*3</sub>为3种含量最高脂肪酸甲酯的相对分子质量;*F*为换算系数;2为MGDG中含有两条脂肪酸支链。则,MGDG在总脂中的绝对含量按下式计算。

$$C = m \times F/m_T \times 100\% \quad (4)$$

式中:*C*为MGDG在总脂中的绝对含量;*m*表示气相色谱测定MGDG中的脂肪酸甲酯质量;*m*<sub>T</sub>为总脂的质量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微拟球藻总脂甘油酯组成(见图1)

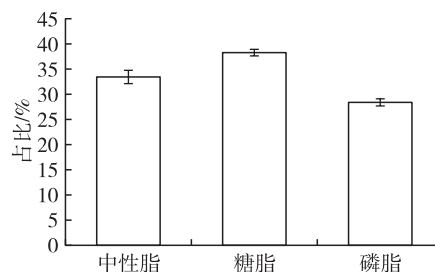


图1 微拟球藻总脂甘油酯的中性脂、糖脂和磷脂占比

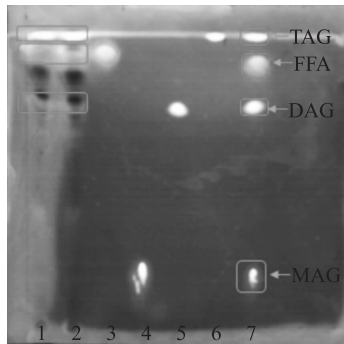
由图1可知,微拟球藻总脂甘油酯的糖脂占比最高,达到38.22%,其次是中性脂(33.42%)和磷脂(28.36%)。糖脂和磷脂均属于极性脂,其含量远高于中性脂。Yao等<sup>[11]</sup>利用薄层层析分离微拟球藻油脂,极性脂的含量是中性脂的1.7倍,与本文研究结果相似。微拟球藻中极性脂含量较多,通常是以膜脂形式存在或与其他成分紧密相连,正己烷等非极性溶剂难以提取,通过加入与极性脂具有相近汉森溶解度的乙醇,可以破坏极性脂与其他成分的连接,使极性脂更容易溶解<sup>[12-13]</sup>。因此,正己烷-乙醇混合溶剂体系也常被用作微藻油脂的提取溶剂。

### 2.2 中性脂组分及其脂肪酸组成

微拟球藻中性脂薄层层析结果见图2,中性脂各组分含量见表1,中性脂各组分的脂肪酸组成见表2。

由表1可知,在微拟球藻总脂中,主要包含9.27 g/100 g的TAG以及5.79 g/100 g的FFA,还含有大量未鉴定出的脂质,如蜡、固醇等。微拟球藻总脂中FFA含量高达5.79 g/100 g,与Yao等<sup>[11]</sup>报

道微拟球藻总脂中游离脂肪酸约占 5.9% 相似, Wang 等<sup>[7]</sup>测得微拟球藻油脂中含有 9.3% 的游离脂肪酸,略高于本文结果。微藻生长条件会使游离脂肪酸含量发生波动,而储存和加工过程中脂质降解则会使游离脂肪酸含量增加<sup>[11]</sup>。



注:1、2 道为中性脂样品;3、4、5、6 道分别为 FFA、MAG、DAG 和 TAG 标准品;7 道为 FFA、MAG、DAG 和 TAG 混合标准品。

图 2 微拟球藻中性脂薄层层析结果

表 1 中性脂各组分的含量

组分	含量/(g/100 g)
TAG	9.27
FFA	5.79
DAG	1.31
MAG	0.45

表 2 中性脂各组分脂肪酸组成

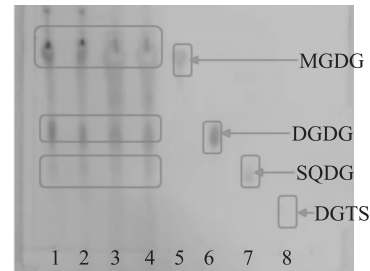
脂肪酸	TAG	FFA	DAG	MAG	%
C14:0	6.53	6.89	7.75	1.43	
C16:0	40.56	43.27	40.33	35.78	
C16:1	31.49	28.01	25.21	4.77	
C18:0	2.28	4.26	7.40	29.51	
C18:1	14.49	13.33	10.80	6.30	
C18:2	1.76	1.76	1.99	Nd	
C20:4	0.88	0.83	2.01	5.26	
C20:5	2.00	1.61	4.29	16.94	
SFA	49.37	54.42	55.48	66.72	
MUFA	45.98	41.34	36.01	11.07	
PUFA	4.64	4.20	8.29	22.20	

注:Nd 为未检出。下同

由表 2 可知:TAG、FFA 和 DAG 的脂肪酸组成相似,C16:0、C16:1 和 C18:1 占比较大,共占 80% 左右;MAG 中含有较多的 C20:5(EPA),占 MAG 脂肪酸总量的 16.94%。因为 MAG 的含量极低,所以中性脂中含有较少的 EPA。

### 2.3 糖脂组分及其脂肪酸组成

微拟球藻糖脂的薄层层析结果见图 3,糖脂各组分的含量见表 3,糖脂各组分的脂肪酸组成见表 4。



注:1、2 道为糖脂样品;3、4 道为糖脂经脱色处理后的样品;5、6、7、8 道分别为 MGDG、DGDG、SQDG 和甜菜碱酯(DGTS)标准品。

图 3 微拟球藻糖脂薄层层析结果

表 3 糖脂各组分含量

组分	含量/(g/100 g)
MGDG	14.03
DGDG	5.81
SQDG	2.17
DGTS	0.39

表 4 糖脂各组分脂肪酸组成

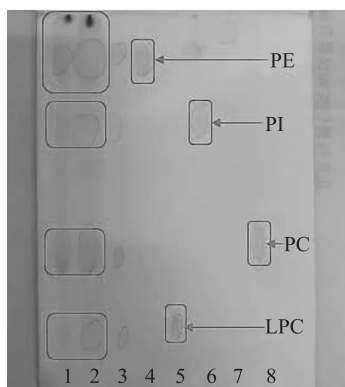
脂肪酸	MGDG	DGDG	SQDG	DGTS	%
C14:0	9.87	9.31	5.96	7.10	
C16:0	17.84	35.61	48.48	3.08	
C16:1	14.67	30.84	33.67	9.09	
C18:0	2.16	0.95	2.44	21.13	
C18:1	5.11	3.11	1.73	4.75	
C18:2	2.98	2.84	1.25	10.33	
C20:4	5.53	0.98	Nd	Nd	
C20:5	37.24	14.32	1.32	4.84	
C22:1	4.60	2.04	5.16	39.66	
SFA	29.87	45.87	56.88	31.31	
MUFA	24.38	35.99	40.56	53.50	
PUFA	45.75	18.14	2.57	15.17	

由表 3 可知,糖脂样品中 MGDG 和 DGDG 为主要成分,分别在微拟球藻总脂中的含量为 14.03 g/100 g 和 5.81 g/100 g。与 Wang<sup>[7]</sup>的研究结果不一致,其研究表明微拟球藻极性脂中 DGDG 含量高于 MGDG,分别为 28.4% 和 2.1%,可能培养条件的差异导致脂质各组分含量不同。由表 4 可知,在 MGDG 和 DGDG 的脂肪酸组成中,C16:0、C16:1 和 C20:5(EPA) 是主要脂肪酸,其中 EPA 含量分别高达 37.24% 和 14.32%。SQDG 脂肪酸主要是 C16:0 和 C16:1, C16 脂肪酸达到 82.15%。Guschina 等<sup>[14]</sup>研究表明一些淡水藻中 MGDG 以 PUFA 为主要脂肪酸,而 DGDG 和 SQDG 则以 C16 作为主要脂肪酸。关于富含 EPA 的 MGDG 的合成途径,Adlerstein 等<sup>[15]</sup>认为首先在细胞质基质中合成 C20:4-PC 和 C20:5-PC,然后其 DAG 部分被转运到叶绿体中,糖基化形成 MGDG 分子,C20:4-

MGDG 继而进一步去饱和形成 C20:5 - MGDG,而且低温还会强化 C20:4 - MGDG 转化成 C20:5 - MGDG 的过程。孟迎迎<sup>[16]</sup>发现微拟球藻的叶绿体脂质中 EPA - MGDG 分子占 MGDG 的 85%。在其他藻类中,EPA 也可能大量存在于 DGTS 中。Haigh 等<sup>[17]</sup>发现在海洋微藻 *Chlorella minutissima* 中,DGTS 是主要脂质,占总脂的 44%,而其脂肪酸组成中 EPA 高达 90%,相反,在微拟球藻中 DGTS 的含量则很少,微拟球藻的糖脂中大部分 EPA 都存在于 MGDG 中。为了保留微拟球藻油脂的 EPA,在后续精炼过程中叶绿体脂质中的 MGDG 需大量保留,这也会赋予微拟球藻油脂特定的颜色,影响精炼的脱色处理。

#### 2.4 磷脂组分及其脂肪酸组成

微拟球藻磷脂薄层层析结果见图 4。因 PG 在碘蒸气下不显色,所以后续分析中不计 PG。磷脂各组分含量见表 5。磷脂组分的脂肪酸组成见表 6。



注:1、2 道为磷脂样品;3 道为磷脂混合标准品(包含 38% PC、30% PE、18% PI、7% PA 和 7% LPC);4 道为 PE;5 道为 LPC;6 道为 50% PI;7 道为 PG;8 道为 PC。

图 4 微拟球藻磷脂薄层层析结果

由表 5 可知,微拟球藻总脂的磷脂组成中 PE 含量最高,达到 6.22 g/100 g,其次为 PC,含量为 3.53 g/100 g。与文献[7,11]中报道的两株微拟球藻 *Nannochloropsis* sp. 的磷脂中 PC 的最高含量不一致,这可能是因为不同的微拟球藻亚种或培养条件的变化均可能导致磷脂组成的变化。由表 6 可知,PE 的脂肪酸组成中 C16:0、C16:1 和 C20:5(EPA)为主要脂肪酸,共占 79.34%。而 PI、PC 和 LPC 的脂肪酸组成中,C16:0、C16:1 和 C18:1 共占 78% 以上。在磷脂各组分及脂肪酸组成中,PE 含量以及 EPA 比例均最高。Muhlroth 等<sup>[18]</sup>报道微藻 EPA 合成于细胞质内质网,进而转运至叶绿体中糖基化后形成含 EPA 的 MGDG。而在内质网中,EPA 则是以 PE 的形式存在的,孟迎迎<sup>[16]</sup>研究表明,微拟球藻磷脂 PE 中的 3 个主要分子为 C40:9(20:5/20:4)、

C40:8(20:4/20:4)和 C40:10(20:5/20:5),占 PE 的 60%。所以微拟球藻中 PE 是叶绿体中 EPA - MGDG 的供体。

表 5 磷脂各组分含量

组分	含量/(g/100 g)
PE	6.22
PI	1.53
PC	3.53
LPC	0.99

表 6 磷脂各组分脂肪酸组成 %

脂肪酸	PE	PI	PC	LPC
C14:0	7.50	8.98	2.81	7.10
C16:0	42.64	51.22	25.97	43.86
C16:1	26.19	21.73	21.84	17.23
C18:0	1.86	2.87	0.90	4.56
C18:1	4.86	9.10	35.86	17.42
C18:2	1.77	2.45	9.48	4.50
C20:4	4.65	1.51	1.49	1.11
C20:5	10.51	2.13	1.64	4.21
SFA	52.00	63.07	29.68	55.52
MUFA	31.05	30.83	57.70	34.65
PUFA	16.93	6.09	12.61	9.82

#### 2.5 EPA 的分布及存在形式

表 7 为微拟球藻总脂甘油酯各组分中 EPA 在总脂中的含量及分布。

表 7 微拟球藻总脂甘油酯各组分中 EPA 在总脂中的含量及分布

甘油酯	组分	EPA 含量/(g/100 g)	占比/%
中性脂	TAG	0.185 4	2.54
	FFA	0.093 2	1.28
	DAG	0.056 3	0.77
	MAG	0.077 0	1.05
	总和	0.411 9	5.64
糖脂	MGDG	5.224 9	71.55
	DGDG	0.831 4	11.39
	SQDG	0.028 7	0.39
	DGTS	0.018 9	0.26
	总和	6.103 9	83.59
磷脂	PE	0.654 0	8.96
	PI	0.032 5	0.45
	PC	0.058 0	0.79
	LPC	0.041 9	0.57
总和	0.786 4	10.77	
总和		7.302 2	100.00

由表 7 可知,微拟球藻总脂中含有 7.302 2 g/100 g 的 EPA,对于高产 EPA 的微拟球藻藻种,一般 EPA 占总脂肪酸比例在 20% ~ 30%,但是由于微拟球藻总脂中含有大量的不可皂化脂质,如固醇、蜡

等,导致 EPA 在总脂中的含量远低于其在总脂肪酸中的比例<sup>[11]</sup>。从表 7 可看出,EPA 主要的存在形式是 EPA - MGDG,占总 EPA 的 71.55%,其次是 EPA - DGDG 和 EPA - PE,分别占 11.39% 和 8.96%,三者总量超过 90%,说明 EPA 主要分布在极性脂中,尤其是糖脂。MGDG 和 DGDG 是糖脂的两种组分,是构成类囊体膜脂的重要组成,这符合微藻光合膜系统中含有较多 PUFA 的报道<sup>[14]</sup>。

### 3 结论

本文测定了正己烷 - 乙醇混合溶剂提取的微拟球藻总脂提取物的甘油酯各组分组成、含量和 EPA 含量及其存在形态。首先通过硅胶柱对总脂进行初步分离,得到中性脂、糖脂和磷脂,占比分别为 33.42%、38.22% 和 28.36%。中性脂主要组分为 TAG 和 FFA,在总脂中的含量分别为 9.27 g/100 g 和 5.79 g/100 g;糖脂主要组分为 MGDG 和 DGDG,在总脂中的含量分别为 14.03 g/100 g 和 5.81 g/100 g;磷脂主要组分为 PE、PC 和 PI,在总脂中的含量分别为 6.22、3.53 g/100 g 和 1.53 g/100 g。3 类脂质之和占总脂提取物的 51.49%,表明总脂提取物中含有大量非甘油酯成分。

同时发现,83.59% 的 C20:5(EPA)以糖脂形式存在且主要是以 MGDG 形式存在,MGDG 中 EPA 占其总脂肪酸的 37.24%;10.77% 的 EPA 以磷脂形式存在,且主要以 PE 形式存在,EPA 占其总脂肪酸的 10.51%。尽管中性脂 MAG 中 EPA 占其总脂肪酸的 16.94%,但 MAG 含量很少,因此 EPA 在中性脂中的比例很低。因此,后续的 EPA 产品开发应依据糖脂和磷脂特性进行。

### 参考文献:

[1] MA X N, CHEN T P, YANG B, et al. Lipid production from *Nannochloropsis*[J/OL]. *Mar Drugs*, 2016, 14(4): 61 [2020 - 08 - 13]. <https://doi.org/10.3390/md14040061>.

[2] 马国红,郭芳芳,冒树泉,等.不同前处理方法对微拟球藻脂肪酸组成的影响[J].*广东海洋大学学报*, 2014, 34:30 - 34.

[3] TALEB A, PRUVOST J, LEGRAND J, et al. Development and validation of a screening procedure of microalgae for biodiesel production: application to the genus of marine microalgae *Nannochloropsis*[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 177:224 - 232.

[4] HUANG Y, ZHANG D, XUE S, et al. The potential of microalgae lipids for edible oil production [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2016, 180(3): 438 - 451.

[5] 孟迎迎,王海涛,薛松,等.高效薄层色谱测定湛江等

鞭金藻培养过程脂质变化[J].*微生物学通报*, 2014, 41(1):178 - 183.

[6] SIMIONATO D, BLOCK M A, LA ROCCA N, et al. The response of *Nannochloropsis gaditana* to nitrogen starvation includes de novo biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus[J]. *Eukaryotic Cell*, 2013, 12(5): 665 - 676.

[7] WANG G, WANG T. Characterization of lipid components in two microalgae for biofuel application [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2011, 89(1): 135 - 143.

[8] LI Q, ZHOU Z, ZHANG D, et al. Lipid extraction from *Nannochloropsis oceanica* biomass after extrusion pretreatment with twin - screw extruder: optimization of processing parameters and comparison of lipid quality[J]. *Bioproc Biosyst Eng*, 2020, 43(4): 655 - 662.

[9] FUCHS B, SUSS R, TEUBER K, et al. Lipid analysis by thin - layer chromatography: a review of the current state [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(19): 2754 - 2774.

[10] 马辰,段宏瑾.大豆磷脂中磷脂类成分的含量测定[J].*中国中药杂志*, 1999, 24(11):671 - 672.

[11] YAO L, GERDE J A, LEE S L, et al. Microalgae lipid characterization[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(6): 1773 - 1787.

[12] DONG T, KNOSHAUG E P, PIENKOS P T, et al. Lipid recovery from wet oleaginous microbial biomass for biofuel production: a critical review [J]. *Appl Energy*, 2016, 177:879 - 895.

[13] KWAK M, KIM D, KIM S, et al. Solvent screening and process optimization for high shear - assisted lipid extraction from wet cake of *Nannochloropsis* sp. [J]. *Renew Energ*, 2020, 149:1395 - 1405.

[14] GUSCHINA I A, HARWOOD J L. Algal lipids and their metabolism [M]//GUSCHINA I A, HARWOOD J L. *Algae for Biofuels and Energy*. New York:Springer,2013: 17 - 36.

[15] ADLERSTEIN D, BIGOGNO C, KHOZIN I, et al. The effect of growth temperature and culture density on the molecular species composition of the galactolipids in the red microalga *Porphyridium cruentum* (Rhodophyta)[J]. *J Phycol*, 1997, 33(6): 975 - 979.

[16] 孟迎迎.两株海洋微藻甘油酯组学的研究[D].辽宁大连:大连理工大学,2017.

[17] HAIGH W G, YODER T F, ERICSON L, et al. The characterisation and cyclic production of a highly unsaturated homoserine lipid in *Chlorella minutissima*[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1299(2): 183 - 190.

[18] MUHLROTH A, LI K, ROKKE G, et al. Pathways of lipid metabolism in marine algae, co - expression network, bottlenecks and candidate genes for enhanced production of EPA and DHA in species of *Chromista*[J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(11): 4662 - 4697.