

## 三种海洋微藻和三种淡水微藻脂肪酸组成特征的比较分析

董丽华 游江涛 林秋奇 胡韧 韩博平\*

(暨南大学水生生物研究中心, 广东 广州 510632)

**摘要:** 比较了 3 种海洋微藻: 简单角刺藻(*Chaetoceros simplex*)、绿色巴夫藻(*Pavlova viridis*)、扁藻(*Platymonas* sp.) 和 3 种淡水微藻: 蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)、极大螺旋藻(*Spirulina maxima*) 的脂肪酸组成。结果表明: 海洋微藻的饱和脂肪酸种类相对比淡水微藻多, 前者的碳链长度在 14 碳到 20 碳之间, 后者主要有 C16:0 和 C18:0。二者单不饱和脂肪酸均是以 C16:1 $\omega$ 7 和 C18:1 $\omega$ 9 为主。多不饱和脂肪酸中, 海洋微藻以二十碳五稀酸(EPA)和二十二碳六稀酸(DHA)为主, 其中, 绿色巴夫藻含有 24.34% 的 EPA 和 11.48% 的 DHA, 简单角刺藻含有 13.24% 的 EPA; 淡水微藻以 18 碳为主, 其中, 极大螺旋藻含有 24.02% 的  $\gamma$ -亚麻酸(GLA)。

**关键词:** 脂肪酸; 二十碳五稀酸; 二十二碳六稀酸;  $\gamma$ -亚麻酸

中图分类号: Q949.206

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)03-0226-07

## Comparison of Fatty Acids Composition in Marine and Freshwater Microalgae

DONG Li-hua YOU Jiang-tao LIN Qiu-qi HU Ren HAN Bo-ping\*

(Research Center of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The composition and content of fatty acids in three marine (*Chaetoceros simplex*, *Pavlova viridis*, *Platymonas* sp.) and three freshwater microalgae (*Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina maxima*) were measured. Major saturated fatty acids in the marine microalgae were characterized by those with 14-20 carbons, while those in the freshwater microalgae were only C16:0 and C18:0. The monounsaturated fatty acids in both marine and freshwater microalgae were mainly C16:1 $\omega$ 7 and C18:1 $\omega$ 9. Major polyunsaturated fatty acids in the marine microalgae were Eicosapentaenoic acid and Docosahexaenoic acid, while those in the freshwater microalgae were polyunsaturated fatty acids of 18 carbons.

**Key words:** Fatty acid; Eicosapentaenoic acid; Docosahexaenoic acid; Gamma-linolenic acid

微藻是水域生态系统中有机质和能量的主要初级生产者, 其营养价值在一定程度上决定于脂类尤其是脂肪酸的组成<sup>[1]</sup>。就微藻中的多不饱和脂肪酸(PUFA)而言[如二十碳五稀酸(EPA)、二十二碳六稀酸(DHA)、 $\gamma$ -亚麻酸(GLA)], 大多数水生动物, 特别是其幼体在生长发育中不能自行合成。因此, 人们在作饵料选育时常以微藻的多不饱和脂肪酸, 特

别是 EPA 和 DHA 的含量作为主要指标<sup>[2]</sup>。GLA 是人体内的一种必需脂肪酸, 它的缺乏会引起生理失调, 血脂升高, 动脉硬化, 血栓症, 风湿病, 糖尿病, 高血压, 肥胖症及皮肤粗糙等疾病, 目前人类正在寻找其最合适的来源。

通常微藻的脂肪酸组成与其种类有关, 环境条件能在一定程度上改变其组成的比例。海洋与淡水

收稿日期: 2003-06-16 接受日期: 2003-09-15

基金项目: 国家自然科学基金(39900022); 教育部优秀回国青年教师基金资助

\* 通讯作者 Corresponding author

水体是两种不同的自然环境,其微藻的种类组成不同,脂肪酸组成也有着较大的差异,因此在食物链中的功能也不同。已报道的海洋微藻中,大多数种类(如南极棕囊藻 *Phaeocystis antarctica*、三角褐指藻 *Phaeodactylum tricorutum*、新月菱形藻 *Nitzschia closterium* 等)都是以 C14:0、C16:0、C16:1 $\omega$ 7 和 EPA 为主要脂肪酸成份<sup>[3-7]</sup>;部分种类(如刚毛根管藻 *Rhizosolenia setigera*、中肋骨条藻 *Skeletonema costatum*、海链藻 *Thalassiosira stellaris* 等)除了具有以上的脂肪酸外,还含有比较多的 DHA<sup>[8,9]</sup>;另外,也有少数种类(如叉鞭金藻 *Dicrateria inornata*、球等鞭金藻 *Isochrysis galbana* 等),仅含有少量(甚至不含)EPA 和 DHA<sup>[10-12]</sup>。有关淡水藻类脂肪酸组成的研究比较少,现有的报道<sup>[13-16]</sup>表明,淡水藻类(如圆头栅藻 *Scenedesmus abundans*、小球藻 *Chlorella vulgaris* 等)的主要脂肪酸有 C16:0、C16:1 $\omega$ 7、C18:2 $\omega$ 6、C18:3 $\omega$ 6,基本不含有 DHA 和 EPA,但曹吉祥等<sup>[16]</sup>同时指出有 4 种淡水藻含有 EPA 和 DHA,特别是隐藻(*Cryptomonas ovata*)的 EPA 含量达到了 15.53%。本文以 3 种海洋微藻和 3 种淡水微藻为对象,对其脂肪酸组成进行测定和分析,比较不同生长环境下,不同藻类的脂肪酸组成特征及其利用价值。

## 1 材料和方法

**藻种的来源与培养** 蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)由中国科学院水生生物研究所提供,简单角刺藻(*Chaetoceros simplex*)和绿色巴夫藻(*Pawlova viridis*)来源于大亚湾,扁藻(*Platymonas* sp.)来源于深圳盐田港,极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)来源于美国,均由暨南大学藻种室保种提供。

**培养条件:** 温度  $21\pm 1^\circ\text{C}$ , 光强  $80\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 光暗比 12 h:12 h, 培养在 1 000 ml 的三角瓶中,每天摇瓶数次,并随机更换瓶子的位置。海水藻的培养基为 f/2 培养基(Guillard, B7, 盐度 30‰),斜生栅藻和蛋白核小球藻的培养基为 BBM 蓝绿藻培养基,极大螺旋藻的培养基为 Zarrouk 培养基。

**微藻的收集** 每天用记数板记数,在对数期末期收集藻液,用  $0.75\ \mu\text{m}$  孔径的玻璃纤维滤膜(GF/F, Whatman)过滤,冷冻干燥后,在  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。

**脂肪酸提取** 参考彭兴跃等<sup>[17]</sup>的方法提取微

藻脂肪酸并甲酯化。

**仪器及分析条件** 用 TRACE ME™ GC/MS 联用仪(Finnigan)测定脂肪酸种类及其含量。气相色谱条件:色谱柱为 DB-5 石英毛细管柱,柱长 25 m,柱内径为 0.25 mm。载气为高纯氮气。不分流,柱流量  $1.2\ \text{ml min}^{-1}$ 。进样口温度为  $280^\circ\text{C}$ ,柱温  $60^\circ\text{C}$ – $250^\circ\text{C}$ ,以  $2.5^\circ\text{C min}^{-1}$  的速度程序升温。质谱条件:质谱电离方式为 EI,电离电压 70 eV。

**脂肪酸的鉴定** 参照标准样品和谱库进行。定量分析采用对各组分峰面积积分,用归一化法计算出脂肪酸组分的百分含量,以占脂肪酸总量的百分比表示。

## 2 结果和讨论

### 2.1 脂肪酸气相色谱

图 1、图 2 为 6 种微藻的气相色谱,各脂肪酸组分的含量见表 1,从图 1、图 2 和表 1 可见,6 种微藻共检测到脂肪酸 20 种,其中,饱和脂肪酸 5 种,单不饱和脂肪酸 4 种,多不饱和脂肪酸 11 种。尽管脂肪酸组成差异很大,但是含量却都是以饱和脂肪酸(33.89%–77.26%)和多不饱和脂肪酸(16.89%–47.93%)为主,单不饱和脂肪酸含量相对较低(1.4%–26.2%)。

### 2.2 3 种海洋微藻的脂肪酸组成

共检测到海洋微藻的饱和脂肪酸 5 种,介于 14 碳到 20 碳之间,均以 C14:0 和 C16:0 为主,二者分别占脂肪酸含量的 15.28%–29.55%和 13.56%–43.46%,其余的饱和脂肪酸均不超过 4.5%。

单不饱和脂肪酸主要有 16:1 $\omega$ 7 和 18:1 $\omega$ 9,且前者较后者含量多,占脂肪酸含量的 4.38%–21.29%,其中,简单角刺藻和绿色巴夫藻 16:1 $\omega$ 7 的含量明显高于扁藻。18:1 $\omega$ 9 在扁藻中未检测到,在简单角刺藻和绿色巴夫藻中的含量分别是 4.91%和 2.03%。

多不饱和脂肪酸主要有 EPA 和 DHA。简单角刺藻的 EPA 含量为 13.24%,远远高于同属的其它 7 种角刺藻的 EPA 含量(4.2%–10.4%)<sup>[7]</sup>和不同株的纤细角刺藻的 EPA 含量(4.6%–5.7%)<sup>[18]</sup>。一般来说,低的光照强度能促进多不饱和脂肪酸的形成和积累,前人研究的 7 种角刺藻的照度为  $110\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ,而本文的照度仅为  $80\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ,光照条件的不同可能是造成角刺藻 EPA 含量差异的主要原因之一。绿

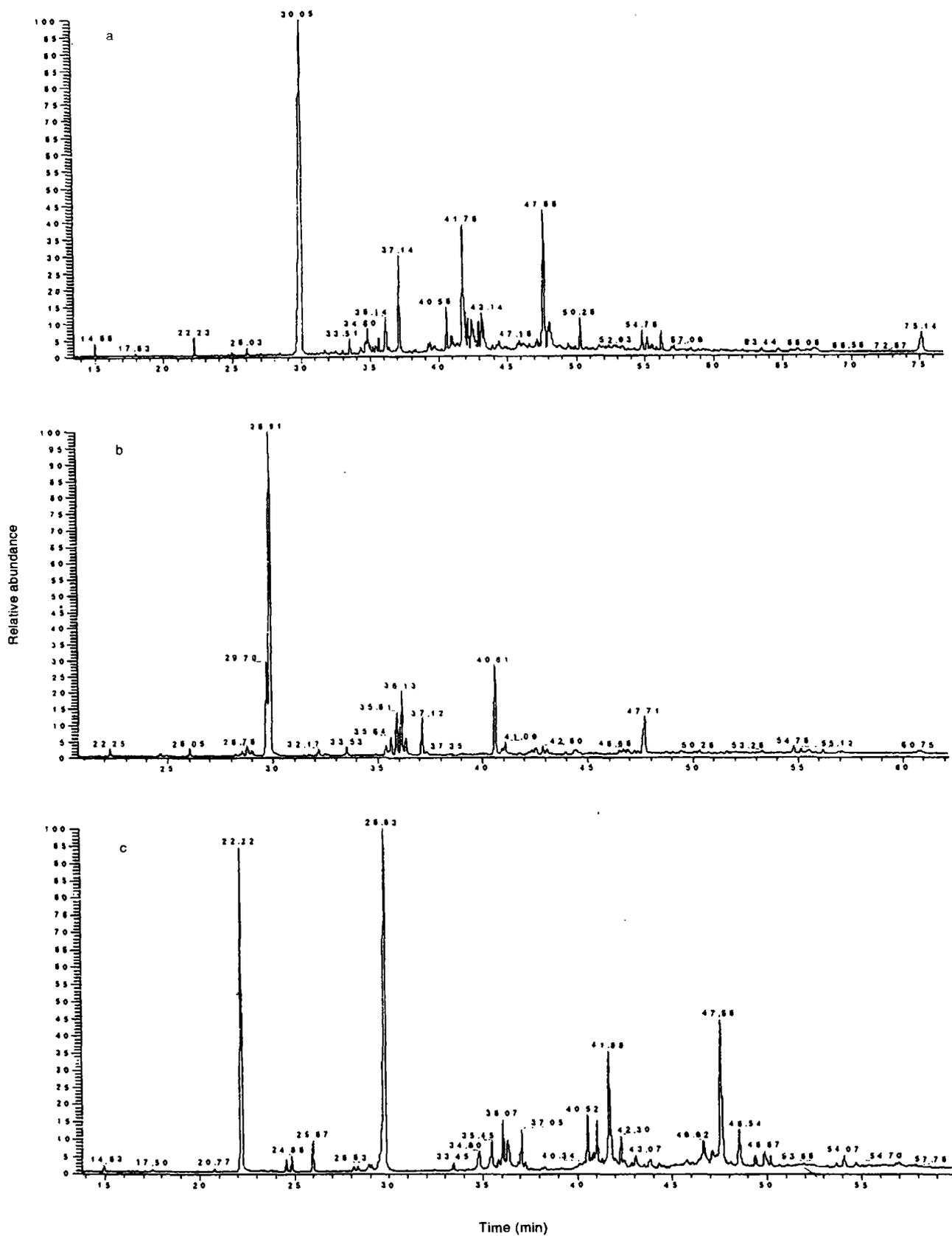


图1 3种淡水微藻的脂肪酸气相色谱图(图中数值为保留时间: min)

Fig. 1 Gas chromatomaps of fatty acids of three fresh microalgae (Retention time: min)

a. 斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus*; b. 蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoida*; c. 极大螺旋藻 *Spirulina maxima*

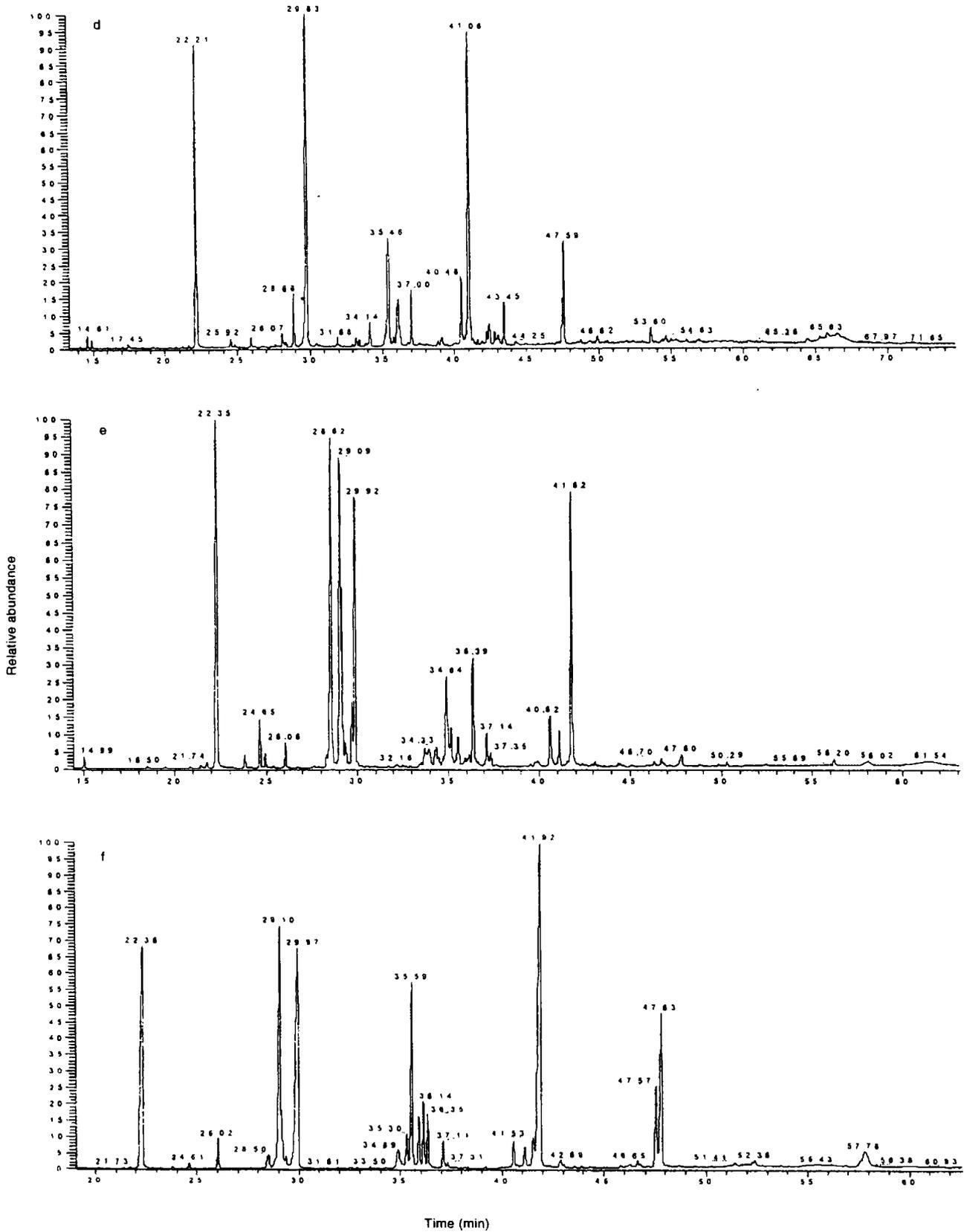


图 2 3 种海洋微藻的脂肪酸气相色谱图 (图中数值为保留时间: min)  
Fig. 2 Gas chromatograms of fatty acids of three marine microalgae (Retention time: min)  
d. 扁藻 *Platymonas* sp.; e. 简单角刺藻 *Chaetoceros simplex*; f. 绿色巴夫藻 *Pavlova viridis*

表 1 3 种海洋微藻和 3 种淡水微藻的脂肪酸组成 (%)  
Table 1 Fatty acid composition in marine microalgae and freshwater microalgae (%)

脂肪酸 Fatty acids	海洋微藻 Marine microalgae			淡水微藻 Freshwater microalgae		
	简单角刺藻 <i>Chaetoceros simplex</i>	绿色巴夫藻 <i>Pavlova viridis</i>	扁藻 <i>Platymonas sp.</i>	蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	极大螺旋藻 <i>Spirulina maxima</i>	斜生栅藻 <i>Scenedesmus obliquus</i>
C14:0	20.15(22.34)	15.28(22.34)	29.55(22.20)	—	—	—
C15:0	1.83(24.64)	1.12(26.06)	—	—	—	—
C16:0	13.5(29.91)	16.26 (29.95)	43.46(29.82)	60.08(29.90)	42.36(29.85)	49.12(29.9)
C18:0	1.56(37.14)	1.13(37.10)	4.19(37.00)	5.1(37.13)	3.13(37.03)	2.56(37.14)
C20:0	0.05(43.95)	0.1(43.91)	0.06(43.80)	0.35(43.94)	—	—
C16:1 ω 9	—	—	—	—	—	1.4(28.82)
C16:1 ω 7	21.2(29.09)	16.14(29.09)	4.38(28.88)	14.97(29.70)	4.27(28.9)	—
C18:1 ω 9	4.91(36.38)	2.03(36.35)	—	2.61(36.35)	2.28(36.06)	—
C18:1 ω 7	—	—	—	—	2.43(36.26)	—
C16:6*	—	—	—	—	—	3.06(28.2)
C16:3*	19(28.6)	—	—	—	—	—
C16:3 ω 3	—	—	—	1.71(28.76)	—	—
C16:2 ω 6	—	—	14.8(35.44)	—	—	—
C18:4*	3.13(35.16)	8.62(35.58)	—	—	—	—
C18:3 ω 6	—	1.59(35.30)	—	—	24.02(35.27)	—
C18:3 ω 3	—	—	—	9.28(36.14)	—	33.98(36.2)
C18:2 ω 7	—	—	3.18(35.79)	—	—	—
C18:2 ω 6	0.31(35.32)	1.9(35.90)	—	5.9(35.91)	21.5(35.87)	9.87(35.93)
C20:5 ω 3	13.2(41.81)	24.34(41.91)	0.37(41.64)	—	—	—
C22:6 ω 3	0.96(47.78)	11.48(47.82)	—	—	—	—

\* 表示双键位置不能确定 Position of double bond uncertain; — 表示未检测到 Not detected; 括号中数字表示保留时间 (min) Numbers in parentheses indicate retention time (min).

色巴夫藻中 EPA 的含量为 24.34%，远远高于 7 种常见饵料藻类中的 EPA 含量 (3.1%–23.2%)<sup>[19]</sup>，也高于陈必链等<sup>[20]</sup>报道的最适生长条件下绿色巴夫藻中的 EPA 含量(18.3%)，另外，该藻中 DHA 含量为 11.48%，比林学政等<sup>[11]</sup>测定的绿色巴夫藻高出 6%，与含有大量 DHA 的虫黄藻(*Zooxanthella microad riatica*)(14.8%)接近<sup>[21]</sup>。一些研究结果表明，氮不足会引起脂肪酸含量的增加，尤其是不饱和脂肪酸的增加<sup>[22]</sup>，本文中氮、磷浓度分别是 9.88 mg L<sup>-1</sup> 和 0.91 mg L<sup>-1</sup>，均低于林学政等的氮、磷浓度(分别是 12.35 mg L<sup>-1</sup>、1.16 mg L<sup>-1</sup>)，这可能是绿色巴夫藻 DHA 和 EPA 含量高于林学政等的测定结果的原因之一。海洋微藻中的 18 碳多不饱和脂肪酸种类较少，除了绿色巴夫藻中含有 8.62% 的 C18:4 以外，其余的藻都仅含有少量或者没有。就 16 碳的多不饱和脂肪酸而言，简单角刺藻中含有 19% 的 16:3 ω 1，扁藻中含有 14.8% 的 16:2 ω 6，其余的未检测到。

3 种海洋微藻中，简单角刺藻的 EPA 含量以及

绿色巴夫藻的 EPA 和 DHA 含量均超过了文献报道，从营养价值的角度来看，在文中所采用的培养条件下，这两种藻是较好的饵料藻。

### 2.3 三种淡水微藻的脂肪酸组成

淡水微藻饱和脂肪酸种类较海洋微藻少，主要有 C16:0 和 C18:0，其中 16:0 含量高达 42.36%–60.08%，而 18:0 仅为 3.13%–5.1%，其余的饱和脂肪酸基本未检测到。

与海洋微藻相似，淡水微藻中单不饱和脂肪酸同样也主要测到 16:1 ω 7 和 18:1 ω 9，但是只有蛋白核小球藻中的 16:1 ω 7 达到了 14.97%，其余两种藻中二者的含量均不超过 5%，甚至检测不到。

就多不饱和脂肪酸而言，许多海洋微藻和大型海藻中都含有较高含量的 EPA 和 DHA，而淡水藻中几乎没有<sup>[21]</sup>。本次测定中，EPA 和 DHA 在淡水藻中也未检测到。但是，18 碳多不饱和脂肪酸较海洋微藻多，其中重要的多不饱和脂肪酸 C18:3 ω 6

(GLA)在极大螺旋藻中的含量为 24.02%, 高于 Sushchik 等<sup>[15]</sup>对钝顶螺旋藻在超适、适合条件下的测定结果(19.4%, 10.3%), 也高于 Oties 等<sup>[24]</sup>对可作为商业来源的 5 株不同的螺旋藻的测定结果(8.87%–21.73%), 而这些结果又同时都远远高于长久以来作为 GLA 主要来源的月见草种子的含量(8%–12%)<sup>[13]</sup>。许多实验都证明低温有利于不饱和脂肪酸的合成<sup>[24]</sup>, 本文的培养温度为 21±1℃, 远低于 Sushchik 等的三个温度梯度(30℃、35℃、40℃), 故温度差异可能是造成本文螺旋藻 GLA 含量较后者高的原因之一。18:3 ω 3 在蛋白核小球藻和斜生栅藻中较高, 尤其在后者中达到了 33.98%; 18:2 ω 6 在三种淡水微藻中均超过了 5%, 在极大螺旋藻中达到了 21.5%。本文中淡水微藻 18 碳多不饱和脂肪酸含量较高这一特征与前人的报道<sup>[14, 16]</sup>较为一致。16 碳多不饱和脂肪酸则种类少, 且含量最高不超过 4%。

3 种淡水藻中, 极大螺旋藻的 GLA 含量超过了文献中的报道, 在本文的培养条件下是 GLA 含量较高的一种藻类来源。

### 2.3 海水藻和淡水藻脂肪酸组成的比较

从表 2 可见, 海水微藻和淡水微藻脂肪酸组成最明显的差异就在于: 海洋微藻的多不饱和脂肪酸中, 20 碳和 22 碳有着较高的含量, 淡水微藻中则主要以 18 碳为主, 20 碳和 22 碳没有检测到。陆开宏等<sup>[6]</sup>在对三角褐指藻不同藻株脂肪酸组成的研究中指出: 培养液的淡化对三角褐指藻脂肪酸组成有明显的影响, 但对不同藻株的作用结果不同。淡化后, DHA 的含量在所有藻株中均有明显下降, 但 EPA

和别的脂肪酸则在不同的藻株中有着不同程度的上升或下降。这一结果同本文的结果均表明藻类生长环境的淡化在一定程度上可以降低其长链多不饱和脂肪酸(20 碳以上)的百分含量。

但是, 就淡水微藻的多不饱和脂肪酸以 18 碳为主这一结论而言, 目前还存在争议。曹吉祥等<sup>[16]</sup>曾对 10 种淡水微藻的脂肪酸组成进行测定, 除了得出与本文一致的结论外, 同时还指出其中的 4 种淡水微藻不同程度的含有 20 碳以上多不饱和脂肪酸, 特别是隐藻的 EPA 含量达到了 15.53%, 除此以外, 直链藻和中型裸藻的 EPA 含量也分别达到了 7.23%和 4.60%。因此, 这一结论是否可以作为淡水微藻区别于海洋微藻的标记性特征还需进一步的研究。

藻类脂肪酸组成及含量受环境条件的影响, 除了文中讨论的一个方面以外, 还有光照、温度、氮磷浓度等许多的方面。对此, 前人已有许多的研究, 但是目前机理仍然不清楚, 在以后的工作中, 我们将做进一步的探讨。

## 3 结论

由于生长环境等的制约, 3 种海洋微藻和 3 种淡水微藻脂肪酸组成有着明显的不同。海洋微藻相对有着较高的 EPA 和 DHA 含量, 淡水微藻则 18 碳多不饱和脂肪酸比较多。海洋微藻中, 简单角刺藻和绿色巴夫藻是营养价值较高的饵料藻类。淡水微藻中, 极大螺旋藻是 GLA 的一种较好的藻类来源。

表 2 海水微藻和淡水微藻脂肪酸组成的比较 (%)

Table 2 Comparison of fatty acid composition in marine and freshwater microalgae (%)

脂肪酸 Fatty acid	海洋微藻 Marine microalgae			淡水微藻 Freshwater microalgae		
	简单角刺藻 <i>Chaetoceros simplex</i>	绿色巴夫藻 <i>Pavlova viridis</i>	扁藻 <i>Platymonas sp.</i>	蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	极大螺旋藻 <i>Spirulina maxima</i>	斜生栅藻 <i>Scenedesmus obliquus</i>
TS	37.15	33.89	77.26	65.53	45.49	51.68
TMU	26.2	18.17	4.38	17.58	8.98	1.4
TPU	36.64	47.93	18.35	16.89	45.52	46.91
16PU	19	—	14.8	1.71	—	3.06
18PU	3.44	29.21	3.18	15.18	45.52	43.85
20PU+22PU	14.20	35.82	0.37	—	—	—

TS: 总饱和脂肪酸 Total saturated; TMU: 总单不饱和脂肪酸 Total monounsaturated; TPU: 总多不饱和脂肪酸 Total polyunsaturated; 16PU: 十六碳多不饱和脂肪酸 16 carbons polyunsaturated; 18PU: 18 碳多不饱和脂肪酸 18 carbons polyunsaturated; 20PU+22PU: 二十碳多不饱和脂肪酸 + 二十二碳多不饱和脂肪酸 20 carbons polyunsaturated + 22 carbons polyunsaturated.

## 参考文献

- [1] Renaud S M, Parry D L, Thinh L V, et al. Effects of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture [J]. *J Appl Phycol*, 1991, 3:43-53.
- [2] Dunstan G A, Volkman J K, Battett S M, et al. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatoms [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(1):155-161.
- [3] Skerratt J H, Davidson A D, Nichols P D, et al. Effect of UV-B on three antarctic marine phytoplankton [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(4):999-1007.
- [4] Liang Y(梁英), Mai K S(麦康森), Sun S C(孙世春), et al. Effects of salinity on the growth and fatty acid composition of six strains of marine diatoms [J]. *Transac Oceanol Limnol(海洋湖沼通报)*, 2000, 4:54-61.(in Chinese)
- [5] Li H F(李荷芳), Zhou H Q(周汉秋). Comparative studies on fatty acid composition of marine microalgae [J]. *Oceanol Limnol Sin(海洋与湖沼)*, 1999, 30(1):34-40.(in Chinese)
- [6] Lu K H(陆开宏), Lin X(林霞), Qian Y X(钱云霞). Studies on fatty acid composition of different strains of *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *J Fish Sci China(中国水产科学)*, 2000, 7(1):20-23. (in Chinese)
- [7] Liang Y(梁英), Mai K S(麦康森), Sun S C(孙世春). Total lipid and fatty acid composition of seven *Chaetoceros* strains [J]. *Transac Oceanol Limnol(海洋湖沼通报)*, 2000, 3:30-33. (in Chinese)
- [8] Huang J X(黄俊辉), Zeng Q X(曾庆孝), She G Z(佘纲哲). Comparative studies on the contents of total lipids and fatty acids of several seaweeds in south China Sea [J]. *J Zhanjiang Ocean Univ(湛江海洋大学学报)*, 2001, 21(2):24-28.(in Chinese)
- [9] Hou X G(侯旭光), Jiang Y H(姜英辉), Li G Y(李光友). Relations of total lipid content and fatty acid composition of antarctic ice-microalgae to low temperature adaptability [J]. *J Oceanogr HuangHai BoHai Sea(黄渤海海洋)*, 2002, 20(1):1-10.(in Chinese)
- [10] Xu X Q, Tran V H, Kraft G, et al. Fatty acids of six *Codium* species from Southeast Australia [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(8):1335-1339.
- [11] Lin X Z(林学政), Li G Y(李光友). Biomass, total lipids and fatty acid EPA/DHA composition of 11 species of microalgae [J]. *J Oceanogr HuangHai BoHai Sea(黄渤海海洋)*, 2000, 18(2):36-40.(in Chinese).
- [12] Wu Z J(吴志军), Xiong H P(熊慧萍), Li Z E(李智恩), et al. Studies on the lipid composition of *Ulva pertusa* [J]. *Marine Sci(海洋科学)*, 2000, 24(5):3-4.(in Chinese)
- [13] Cohen Z, Vonshak A, Richmond A. Fatty acid composition of *Spirulina* strains grown under various environmental conditions [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(8):2255-2258.
- [14] Isik O, Sarihan E, Kusvuran E, et al. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus* and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains [J]. *Aquaculture*, 1999, 174:299-311.
- [15] Sushchik N N, Kalacheva G S, Giadyshv M I. Secretion of free fatty acids by prokaryotic and eukaryotic algae at optimal, supraoptimal, and suboptimal growth temperatures [J]. *Microbiology*, 2001, 70(5):329-635.
- [16] Cao J X(曹吉祥), Li D S(李德尚), Wang J Q(王金秋). Studies on biochemical composition of 10 species of common freshwater phytoplankton [J]. *Acta Sci Natl Univ Sunyatseni(中山大学学报自然科学版)*, 1997, 36(2):22-27.(in Chinese)
- [17] Peng X Y(彭兴跃), Wang D Z(王大志), Xu L(徐立), et al. Fast separation and measurement of fatty acids in microalgae sample in milligram [J]. *J Oceanogr Tai Wan Strait(台湾海峡)*, 1998, 17(3):291-293.(in Chinese)
- [18] Volkman J K, Jeffrey S W, Nichols P D, et al. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in marine culture [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1989, 128:219-240.
- [19] Zhang X K(张宪孔). Culture of cellular microalgae [A]. In: Li D, S(李德尚). *Handbook of Aquiculture* [M]. Beijing: Agriculture Press, 1993. 667.(in Chinese)
- [20] Chen B L(陈必链), Shi Q Q(施巧琴), Wu S G(吴松刚). Studies and exploitation of polyunsaturated fatty acids in marine microalgae [J]. *Today Sci Techn(今日科技)*, 1996, 11:5.
- [21] Zhang X K(张小葵), Mai K S(麦康森), Guo J(郭健), et al. Fatty acid composition of 14 strains of marine microalgae [J]. *J Ocean Univ Qingdao(青岛海洋大学学报)*, 2001, 31(2):205-210.(in Chinese)
- [22] Shifrin N S, Chishom S W. Phytoplankton lipids: interspecific difference and effects of nitrate, silicate light-dark cycles [J]. *J Phycol*, 1981, 17:374-384.
- [23] Otlis S, Pire R. Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae [J]. *AOAC Int*, 2001, 84(6):1709-1713.
- [24] Cohen Z, Vonshak A, Richmond A. Fatty acid composition of *Spirulina* strains grown under various environmental conditions [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(8):2255-2258.