



生长时期对4株绿藻脂肪含量和脂肪酸组成的影响

曹春晖^{1,2}, 孙世春¹, 麦康森¹, 梁英¹

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003;
2. 天津科技大学天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津 300457)

摘要: 采用 f/2 培养基, 在不同的生长时期(指数期、稳定前期和稳定后期)对杆状裂丝藻(*Stichococcus bacillaris* MACC/C19)和3株小球藻(*Chlorella* sp. MACC/C95、MACC/C97 和 MACC/C102)共4株绿藻的脂肪含量及脂肪酸组成进行了研究. 结果表明: 生长时期对4株绿藻的脂肪含量和脂肪酸组成影响显著. C19 在稳定后期脂肪含量最高(33.7%), C95 和 C97 均在指数期脂肪含量最低, 之后在稳定前期和稳定后期缓慢增长(分别为 16.6%~19.2%和 27.7%~32.1%), C102 在稳定前期获得脂肪含量的最大值(28.1%). 4株绿藻的二十碳五烯酸(EPA)均在指数期含量最高, C19 为 17.3%, C95 为 28.1%, C97 为 28.4%, C102 为 14.8%, 之后则随生长时期的延长而逐渐降低. C19、C95、C97 和 C102 的高度不饱和脂肪酸(highly unsaturated fatty acids, HUFAs)含量均在指数期达到最大值, 分别为 25.4%、37.9%、36.8%和 24.8%. 4株绿藻的主要脂肪酸成分为 14:0、16:0、16:1(n-7)、16:4(n-3)、18:1(n-9)、18:3(n-3)、20:4(n-6)和 20:5(n-3).

关键词: 小球藻; 杆状裂丝藻; 脂肪; 脂肪酸; 生长时期

中图分类号: Q949.21

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2013)03-0010-05

Effects of Growing Phase on Lipid Content and Fatty Acid Composition of Four Strains of Green Algae

CAO Chunhui^{1,2}, SUN Shichun¹, MAI Kangsen¹, LIANG Ying¹

(1. The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China.)

Abstract: The total lipid content and fatty acid composition of four strains of green algae(*Stichococcus bacillaris* MACC/C19, *Chlorella* sp. MACC/C95, *Chlorella* sp. MACC/C97 and *Chlorella* sp. MACC/C102) grown in f/2 culture medium at different growing phases were examined. The results showed that the growing phase had significant effects on the total lipid and fatty acid composition. The total lipid content in C19 reached the highest value(33.7% of the dry weight) at the late stationary growing phase, while in C102, it was realized at the early stationary growing phase which was 28.1%. In C95 and C97, it reached the lowest values at the exponential growing phase, and then increased slowly in the two coming growing phases(16.6%-19.2% and 27.7%-32.1% of the dry weight, respectively). The proportions of EPA(20:5(n-3)) in C19, C95, C97 and C102 all peaked at the exponential growing phase(17.3%, 28.1%, 28.4% and 14.8% of total fatty acids, respectively), and then decreased with the increase of culture time. The subtotals of HUFA(highly unsaturated fatty acids) in C19, C95, C97 and C102 peaked at the exponential growing phase(25.4%, 37.9%, 36.8% and 24.8% of total fatty acids, respectively). The major fatty acids present in four strains were 14:0, 16:0, 16:1(n-7), 16:4(n-3), 18:1(n-9), 18:3(n-3), 20:4(n-6) and 20:5(n-3) at all stages.

Key words: *Chlorella* sp.; *Stichococcus bacillaris*; lipid; fatty acid; growth phase

收稿日期: 2012-10-16; 修回日期: 2013-02-27

基金项目: 国家海洋 863 高新技术发展计划项目(863-819-02-01)

作者简介: 曹春晖(1971—), 女, 山东人, 副教授, caochunhui@tust.edu.cn.

微藻具有生化合成高度不饱和脂肪酸 (highly unsaturated fatty acids, HUFAs) 的能力, 因此被作为二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA) 等 (n-3) HUFAs 的新来源而受到广泛重视. 微藻可作为浮游动物 (轮虫、枝角类等)、甲壳类、双壳类和幼龄鱼类的饵料而在海水养殖业中占有重要地位. 对许多海产动物来说, 饵料中含有丰富的鱼虾类生长所必需的脂肪酸 (essential fatty acids, EFA) 尤其是 EPA 和 DHA, 能够提高其生长率和幼体的存活率. HUFAs 对人体也有非常重要的生理作用, 可防治多种心血管疾病, 促进儿童智力及心理发育.

微藻的脂肪含量以及脂肪酸构成的数量和质量都可因环境因子而改变^[1-2]. 微藻在不同生长时期脂肪酸组成和含量差别很大, (n-3) HUFAs 的产量可因在藻类生长的特殊时期进行收获而达到最大值. 关于生长时期对微藻脂肪含量和脂肪酸组成的影响已有多个报道^[3-10], 但国内外对裂丝藻的研究则未见报道. 本文对 1 株裂丝藻和 3 株小球藻共 4 株绿藻在不同生长时期培养时其脂肪含量和脂肪酸组成进行了测定, 以期找出其生长和脂肪酸合成的最适条件, 为微藻的不饱和脂肪酸研究提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 藻种

实验所用微藻藻种取自中国海洋大学微藻种质库 (MACC): 小球藻 *Chlorella* spp. MACC/C95、MACC/C97、MACC/C102 和杆状裂丝藻 *Stichococcus bacillaris* MACC/C19.

1.2 培养条件

对 4 株藻种作不同生长时期 (指数期、稳定前期和稳定后期) 的培养实验. 其中海水经沉淀后用脱脂棉过滤, 煮沸消毒. 采用 f/2 培养基. 实验于 2 L 细口瓶中进行, 连续充气, 连续光照 (4 500 lx), 培养液盐度为 28‰, 室温 (20 ± 1) °C. 每天用血球计数板法计数细胞浓度.

1.3 微藻收获

微藻在指数生长末期至稳定前期 4 000 r/min 离心收获, 真空干燥.

1.4 脂肪测定

采用索氏抽提法.

1.5 脂肪酸分析

样品处理及气相色谱分析按文献[11]方法进行.

取 40 mg 样品于离心管中, 加入体积比为 2 : 1 的氯仿和甲醇溶液 10 mL, 振荡后加入 2 mol/L 的 NaOH/CH₃OH 溶液 1 mL, 充分振荡, 75 °C 水浴加热 15 min 进行皂化, 冷却后加入 2 mol/L 的 HCl/CH₃OH 溶液, 调节 pH ≤ 2, 在 75 °C 水浴中加热 15 min, 使其甲酯化, 然后加入 1 mL 的正己烷振荡, 取上清液进行色谱分析.

气相色谱分析采用美国 HP5890 II 型气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器, Coawax carbowax 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm), 进样口和检测器温度均为 280 °C, 程序升温, 载气为高纯氮, 流量 2 mL/min, 进样量 1 μL. 以面积归一法得到各脂肪酸组分的相对含量. 各个脂肪酸的鉴定通过比较实验样品色谱图与标准样品色谱图以及各脂肪酸的出峰时间来进行.

1.6 数据处理

标准差及单因子方差分析由 Excel 软件处理分析, 结果用平均值 ± 标准差表示.

2 结果与分析

2.1 脂肪含量

不同生长时期对 4 株绿藻的脂肪含量的影响见表 1. 结果表明, 生长时期对 4 株绿藻的脂肪含量影响显著 ($P < 0.05$). 从表 1 可以看出: C19、C95 和 C97 的脂肪含量随生长时期的延长呈增加趋势. C19 的脂肪含量在稳定后期达到最大值 (33.7%); C95 和 C97 的脂肪含量在指数期和稳定前期之间随生长时期的延长显著增加, 而在稳定前期和稳定后期之间增长缓慢 (分别为 16.6% ~ 19.2% 和 27.7% ~ 32.1%); C102 的脂肪含量在指数期和稳定前期之间呈增加趋势, 并在稳定前期获得脂肪含量的最大值 (28.1%), 之后则随生长时期的延长有所下降.

表 1 不同生长时期 4 株绿藻的脂肪含量

Tab. 1 Total lipid contents of four green algae at different growing phases

绿藻	脂肪含量/%		
	指数期	稳定前期	稳定后期
C19	14.6 ± 1.1	20.5 ± 1.3	33.7 ± 0.3
C95	6.4 ± 0.5	16.6 ± 0.7	19.2 ± 2.0
C97	5.9 ± 0.8	27.7 ± 2.1	32.1 ± 2.5
C102	22.2 ± 1.1	28.1 ± 1.5	20.3 ± 2.2

2.2 脂肪酸组成

不同生长时期 (指数期、稳定前期和稳定后期) 对 4 株绿藻脂肪酸组成的影响见表 2. 结果表明: 16 : 0

(19.5%~39.8%), 16:1(n-7) (21.9%~32.9%), 18:1(n-9) (3.1%~14.7%), 20:4(n-6) (1.9%~4.8%) 和 EPA (6.7%~28.4%) 是 4 株绿藻的主要脂肪酸成分, 生长时期对 4 株绿藻的主要脂肪酸成分含量影响显著 ($P<0.05$).

表 2 不同生长时期 4 株绿藻的主要脂肪酸组成
Tab. 2 Fatty acid compositions in the four strains of green algae at different growing phases %

脂肪酸	C19			C95		
	指数期	稳定前期	稳定后期	指数期	稳定前期	稳定后期
14:0	3.6±0.1	2.9±1.0	3.1±0.4	3.2±0.1	4.2±0.1	4.5±0.1
16:0	29.4±0.7	36.8±2.6	39.8±0.7	21.5±1.2	25.5±1.0	36.9±0.8
16:1(n-7)	32.9±2.9	28.2±1.1	31.2±0.0	31.3±0.6	21.9±0.7	25.8±0.3
16:3(n-4)	0.4±0.3	0.4±0.2	1.4±0.0	—	0.7±0.0	0.2±0.1
16:4(n-3)	0.6±0.1	1.6±2.1	—	1.5±0.1	1.2±1.2	1.1±0.1
18:0	—	—	—	0.3±0.1	0.1±0.0	0.3±0.0
18:1(n-9)	4.3±0.0	6.1±1.9	7.4±0.3	3.3±0.1	10.1±2.3	9.6±0.2
18:1(n-7)	—	0.3±0.4	—	—	2.9±1.3	0.1±0.2
18:2(n-6)	1.0±0.0	1.5±0.2	0.7±0.0	0.1±0.0	1.4±0.1	0.4±0.0
18:3(n-3)	0.4±0.1	—	1.4±0.1	3.7±0.4	4.5±0.3	2.2±0.1
20:4(n-6)	3.0±0.0	2.9±2.3	3.3±0.1	4.1±0.1	4.6±0.2	3.0±0.1
20:5(n-3)	17.3±0.6	8.2±1.9	7.8±0.9	28.1±0.2	18.6±3.1	11.9±0.1
22:6(n-3)	0.2±0.0	0.1±0.0	—	0.3±0.0	0.1±0.1	—
SFA	33.0±0.3	39.7±0.9	42.9±0.3	25.0±0.5	29.8±0.2	41.7±0.3
MUFA	37.2±0.8	34.6±0.5	38.6±0.1	34.6±0.2	34.9±0.7	35.5±0.1
HUFA	25.4±0.2	14.7±1.1	15.0±0.4	37.9±0.1	31.1±0.6	18.7±0.1

脂肪酸	C97			C102		
	指数期	稳定前期	稳定后期	指数期	稳定前期	稳定后期
14:0	4.0±0.1	5.3±0.1	4.5±0.1	5.2±0.6	3.8±0.6	3.7±0.2
16:0	19.5±0.6	19.5±0.6	35.2±2.4	31.2±1.8	36.9±0.1	38.1±0.4
16:1(n-7)	27.8±0.3	23.7±0.7	27.2±0.5	25.6±2.3	25.8±0.9	26.1±0.3
16:3(n-4)	0.6±0.1	0.3±0.1	—	0.2±0.3	—	—
16:4(n-3)	0.8±0.1	0.7±0.4	1.5±0.1	1.2±0.1	0.6±0.6	1.4±0.0
18:0	0.1±0.1	0.3±0.1	0.4±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.3
18:1(n-9)	4.3±0.2	3.1±1.6	14.7±0.4	8.7±0.4	14.4±2.1	14.5±0.1
18:1(n-7)	—	4.0±0.1	0.1±0.1	—	0.2±0.3	0.1±0.1
18:2(n-6)	0.1±0.1	0.7±0.1	0.4±0.0	0.5±0.1	1.4±1.4	0.5±0.1
18:3(n-3)	2.2±0.1	0.3±0.1	1.6±0.2	3.0±0.3	1.8±1.3	2.7±0.1
20:4(n-6)	4.6±0.1	4.4±0.2	1.9±0.2	4.8±0.1	2.8±0.2	2.2±0.2
20:5(n-3)	28.4±0.2	23.2±4.1	7.9±0.2	14.8±0.1	7.6±0.5	6.7±0.6
22:6(n-3)	—	—	—	—	—	—
SFA	23.6±0.2	25.1±0.3	40.1±0.5	36.6±0.6	40.9±0.4	42.1±0.3
MUFA	32.1±0.1	30.8±0.7	42.0±0.2	34.3±0.4	40.4±0.3	40.7±0.2
HUFA	36.8±0.1	30.3±1.3	13.4±0.1	24.8±0.2	13.9±0.9	13.5±0.4

注：—表示未检出.

由表 2 可以看出: 4 株绿藻的脂肪酸组成和含量随生长时期变化较大. 裂丝藻 C19 和 3 株小球藻 C95、C97 和 C102 中的 EPA 含量均在指数期最高, 分别可达 17.3%、28.1%、28.4%和 14.8%. C19 的 20:4(n-6) 含量在各生长时期保持稳定, 16:1(n-7) 在稳定前期含量最低, 而在指数期和稳定后期含量较大. 16:0 含量随生长时期而增加, 14:0 则在各生长时期变化不明显.

小球藻 C95 的 20:4(n-6)、18:3(n-3)和 16:

1(n-7) 含量随生长时期的延长而减少, 而 18:1(n-9)、16:0、14:0 含量则随生长时期的延长而增加, 在指数期和稳定前期有极低的 DHA 含量. C97 的 14:0 和 16:1(n-7) 含量在各生长时期基本稳定, 16:0 和 18:1(n-9) 含量在指数期和稳定前期较为稳定, 而在稳定后期有显著增加. 18:3(n-3) 含量在稳定前期含量较低, 而在指数期和稳定后期较高. 20:4(n-6) 含量在指数期和稳定前期较为稳定, 而在稳定后期明显降低. 18:1(n-7) 在稳定前期有

较多含量(4.0%),而在稳定后期降为 0.1%,指数期未检出. C102 的 20:4(n-6)含量在指数期较高,在稳定前期和稳定后期含量降低. 18:3(n-3)含量在稳定前期最低,而在指数期和稳定后期都会增加. 16:1(n-7)含量在各生长时期保持稳定,16:0 含量随生长时期的延长而增加,14:0 含量则随生长时期的延长而降低.

C19 的单不饱和脂肪酸(MUFA)总量在各生长时期变化不大,饱和脂肪酸(SFA)总量则随生长时期的延长略有增加,HUFAs 含量在指数期较高,而在稳定前期和稳定后期含量降低但较为稳定. C95 和 C97 的 SFA 总量随收获期的延长而有显著增加,C102 的 SFA 含量随生长时期呈升高趋势. C95 的 MUFA 总量在各生长时期保持稳定,C97 的 MUFA 在指数期和稳定前期保持稳定,而到稳定后期有显著升高,C102 的 MUFA 在指数期含量较低,而在稳定前期和稳定后期有明显升高且保持稳定. 3 株小球藻 C95、C97、C102 的多不饱和脂肪酸含量 HUFAs 总量随收获时期的延长而有明显的降低.

3 讨 论

在本实验结果中,4 株绿藻的主要脂肪酸组成为 14:0、16:0、16:1(n-7)、18:1(n-9)、18:3(n-3)、20:4(n-6)和 EPA,DHA 含量很少或不含,符合绿藻纲的脂肪酸特征^[11-12]. 4 株绿藻的脂肪含量均随生长时期的延长而增加,表明脂肪在稳定期积累. 有报道^[13-14]认为细胞进入稳定期后,培养基中氨基酸合成所必需的氮减少了,细胞内蛋白质的合成量降低,光合作用所同化的碳进入到碳水化合物和脂肪中,出现能量积累的趋势. Mansour 等^[9]的实验结果表明,*Gymnodinium* sp.的脂肪含量在稳定期(第 43 天)比指数期(第 6 天)时提高了 30 倍. 魏东等^[15]对 *Ellipsoidion* sp.和 *Nannochloropsis oculata* 的研究结果也表现出了相同的规律.

研究结果显示指数期 HUFAs 含量较高,这是由于指数期藻细胞生长旺盛,光合效率高,类囊体数量及表面积增加,极性甘油酯(含有较多的 HUFA)作为类囊体膜的主要组分,其含量相应升高^[16]. Piorreck 等^[17]通过对小球藻 *Chlorella vulgaris* 的研究指出,绿藻的脂肪酸组成及含量随生长时期而改变,在生长起始阶段绿藻能产生大量的极性脂肪和 16 碳、18 碳多不饱和脂肪酸,而生长后期,绿藻的主要脂肪变为中

性且 MUFA 和 SFA 的含量大增. Liang 等^[5-6]报道了 *Chaetoceros gracilis* (MACC/B13)、*Cylindrotheca fusiformis* (MACC/B211)、*Phaeodactylum tricornutum* (MACC/B221)和 *Nitzschia closterium* (MACC/B222) 的 HUFAs 和 EPA 含量在指数期最高,随生长时期的延长其含量减少;4 株筒柱藻 *Cylindrotheca* (B156、B164、B196、B200)的 HUFAs 均在指数期或稳定前期达到高峰. Fidalgo 等^[7]的研究结果表明 *Isochrysis galbana* 的 HUFAs 含量在稳定前期达到最大值,随后在稳定期逐渐降低. Lin 等^[8]的结果表明 *I. galbana* CCMP 1324 的 SFA、MUFA 以及 HUFA 含量均在稳定前期达到最大值. 李文权等^[10]的结果表明 *I. galbana*、*Dunaliella salina* 和 *Chlorella* sp.的总多不饱和脂肪酸(THUFA)含量在指数期明显高于稳定期,其中 *D. salina* 的 18:3(n-3)、*Chlorella* sp.的 EPA 和 *I. galbana* 的 DHA 含量均在指数期达到最大值. 本实验结果显示,4 株绿藻的 EPA 和 HUFAs 含量均随生长时期的延长而下降,C19、C95 和 C102 中的 EPA 含量在指数期达到最大值,C97 在指数期和稳定前期 EPA 含量较高,稳定后期显著降低;C19、C95、C97 和 C102 的 HUFAs 含量均在指数期达到最大值,与上述结果一致.

生长时期对微藻脂肪酸的影响因种而异. 三酰甘油含量高的藻类中含有相对高比例的饱和脂肪酸及单烯酸,而 HUFA 较少^[4,18-20]. Fernández-Reiriz 等^[3]报道了生长时期对微藻的 EPA 和 DHA 影响因种而异. Mansour 等^[9]的结果表明 *Gymnodinium* sp.的 18:5(n-3)和 EPA 随培养时间而减少,而 DHA 含量随培养时间增加. Dustan 等^[4]报道了 *N. oculata* 在指数期 HUFAs 相对含量最高,*Pavlova lutheri* 在稳定前期 HUFAs 相对含量最高,而 *Isochrysis* sp.的 HUFAs 含量随生长时期变化不明显. Hopley 等^[21]也报道了 *C. vulgaris* (CCAP211/8 K)和 (CCAP211/11C) 的脂肪酸组成在指数期和稳定期没有明显的变化.

参考文献:

- [1] Grima E M, Perez J A S, Sanchez J L G. EPA from *Isochrysis galbana* growth conditions and productivity [J]. Process Biochemistry, 1992, 27: 299-305.
- [2] Yongmantichai W, Ward O P. Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(2): 419-425.
- [3] Fernández-Reiriz M J, Perez-Camacho A, Ferreiro M J,

- et al. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae[J]. *Aquaculture*, 1989, 83 (1/2) : 17-37.
- [4] Dunstan G A, Volkman J K, Barrett S M, et al. Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1993, 5 (1) : 71-83.
- [5] Liang Ying, Mai Kangsen. Effect of growth phase on the fatty acid compositions of four species of marine diatoms [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2005, 4 (2) : 157-162.
- [6] Liang Ying, Mai Kangsen, Sun Shichun. Effects of harvest stage on the total lipid and fatty acid composition of four *Cylindrotheca* strains[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2002, 20 (2) : 157-161.
- [7] Fidalgo J P, Cid A, Torres E, et al. Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*[J]. *Aquaculture*, 1998, 166 (1/2) : 105-116.
- [8] Lin Y H, Chang F L, Tsao C Y, et al. Influence of growth phase and nutrient source on fatty acid composition of *Isochrysis galbana* CCMP 1324 in a batch photoreactor[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, 37 (2) : 166-176.
- [9] Mansour M P, Volkman J K, Blackburn S I. The effect of growth phase on the lipid class, fatty acid and sterol composition in the marine dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. in batch culture[J]. *Phytochemistry*, 2003, 63 (2) : 145-153.
- [10] 李文权, 廖启斌, 李芊, 等. 三种海洋微藻生长期脂肪酸组成研究[J]. *海洋环境科学*, 2002, 21 (2) : 10-13.
- [11] Volkman J K, Jeffrey S W, Nichols P D, et al. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1989, 128 (3) : 219-240.
- [12] 俞建江, 李荷芳, 周汉秋. 10 种海洋微藻总脂、中性脂和极性脂的脂肪酸组成[J]. *水生生物学报*, 1999, 23 (5) : 481-488.
- [13] Zhu C J, Lee Y K, Chao T M. Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1 [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1997, 9 (5) : 451-457.
- [14] Aaronson S. Effect of incubation temperature on the macromolecular and lipid content of the phytonagellate *Ochromonas danica* [J]. *Journal of Phycology*, 1973, 9 : 111-113.
- [15] 魏东, 张学成. 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[J]. *青岛海洋大学学报*, 2000, 30 (3) : 503-509.
- [16] 石娟, 潘克厚. 不同培养条件对微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响[J]. *海洋水产研究*, 2004, 25 (6) : 79-85.
- [17] Piorreck M, Pohl P. Formation of biomass, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids in green and blue-green algae during one growth phase [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23 (2) : 217-224.
- [18] Suen Y, Hubbard J S, Holzer G, et al. Total lipid production of the green alga *Nannochloropsis* sp. QII under different nitrogen regimes[J]. *Journal of Phycology*, 1987, 23 (S2) : 289-296.
- [19] Hodgson P A, Henderson R J, Sargent J R, et al. Patterns of variation in the lipid class and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) during batch culture I. The growth cycle [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1991, 3 (2) : 169-181.
- [20] Roessler P G. Environmental control of glycerolipid metabolism in microalgae: Commercial implications and future research directions[J]. *Journal of Phycology*, 1990, 26 (3) : 393-399.
- [21] Hopley A, Fallowfield H J. The effect of nitrogen, temperature and growth phase on the fatty acid composition of microalgae[J]. *Journal of Phycology*, 1989, 25 (S2) : 9-15.

责任编辑: 郎婧