

李艳荣, 牟桐, 黄莉莉, 等. 甜菜碱脂在 14 种海洋微藻中的分布研究[J]. 海洋学报, 2020, 42(12): 72–81, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2020.12.008

Li Yanrong, Mu Tong, Huang Lili, et al. Distribution of betaine lipids in 14 species of microalgae[J]. Haiyang Xuebao, 2020, 42(12): 72–81, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2020.12.008

## 甜菜碱脂在 14 种海洋微藻中的分布研究

李艳荣<sup>1,2</sup>, 牟桐<sup>1</sup>, 黄莉莉<sup>1</sup>, 徐继林<sup>2\*</sup>, 周成旭<sup>2</sup>, 严小军<sup>2</sup>

(1. 宁波海洋研究院, 浙江 宁波 315832; 2. 宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315832)

**摘要:** 采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用分析系统 (UPLC-Q-TOF MS), 对 4 个微藻门中的 14 种微藻的甜菜碱脂的分子组成及其相应脂肪酸的组成及分布进行分析。结果表明: 在 14 种微藻中共鉴定出 133 种甜菜碱脂, 包括 53 种 DGCC、41 种 DGTS 和 39 种 DGTA。其中甲藻和定鞭藻中主要的甜菜碱脂种类为 DGCC, 绿藻中主要的甜菜碱脂种类为 DGTS; 而在硅藻中的甜菜碱脂主要包括两种: 中心硅藻纲中为 DGCC, 羽纹硅藻纲中为 DGTA。此外, 不同微藻中甜菜碱脂脂肪酸组成差异仅限制在门或纲的水平上, 在较低的分类水平上差异不明显。硅藻门、甲藻门和定鞭藻门中均含有 DGCC, 其脂肪酸链的组成均含有 C14–C18 的脂肪酸以及 C20 和 C22 的多不饱和脂肪酸, 但是甲藻的 C14–C18 脂肪酸链为饱和的, 而 C19 奇数碳原子的脂肪酸链仅在硅藻中发现。认为海洋微藻甜菜碱脂的研究可以为海洋微藻化学分类学以及缺磷极性脂类的生理、生态作用和功能特性研究提供重要参考依据。

**关键词:** 海洋微藻; 甜菜碱脂; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱

中图分类号: P741<sup>+.5</sup>

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2020)12-0072-10

### 1 引言

甜菜碱脂是一类不含磷的甘油酯类, 由两分子的脂肪酸和一分子的极性头部组成, Dembitsky<sup>[1]</sup>对甜菜碱脂的生化结构和生物学功能做了详细的报道。海洋微藻中的甜菜碱脂主要包括 3 大类: 二酰甘油-N-三甲基高丝氨酸 (diacylglycerol-N-trimethylhomoserine, DGTS), 二酰甘油-羟甲基-N,N,N-三甲基-β-丙氨酸 (diacylglycerol-hydroxymethyl-N,N,N-trimethyl-β-alanine, DGTA) 和二酰甘油-O-羧羟甲基胆碱 (diacylglycerol-carboxyhydroxymethylcholine, DGCC), 是海洋微藻中的三大膜脂之一。甜菜碱脂的组成和代谢对于微藻的化学分类具有重要的意义, 甜菜碱脂的

脂肪酸组成和完整极性脂分子可以作为营养标记, 可进一步确认初级生产者在食物网中的作用<sup>[2-3]</sup>。Banskota 等<sup>[4]</sup>在微绿球藻 (*Nannochloropsis granulata*) 中分离出 6 种 DGTS, 即 (2S)-1,2-bis-O-eicosapentaenoylglyceryl-3-O-4'-(N,N,N-trimethyl)-homoserine, (2S)-1-O-eicosapentaenoyl-2-O-arachidonoylglyceryl-3-O-4'-(N,N,N-trimethyl)-homoserine, (2S)-1-O-eicosapentaenoyl-2-O-myristoylglyceryl-3-O-4'-(N,N,N-trimethyl)-homoserine, (2S)-1-O-eicosapentaenoyl-2-O-palmitoylglyceryl-3-O-4'-(N,N,N-trimethyl)-homoserine, (2S)-1-O-eicosapentaenoyl-2-O-palmitoleoylglyceryl-3-O-4'-(N,N,N-trimethyl)-homoserine 和 (2S)-1-O-eicosapentaenoyl-2-O-linoleoylglyceryl-3-O-4'

收稿日期: 2019-09-23; 修订日期: 2020-01-08。

**基金项目:** 国家重点研发计划 (2019YFD0900400); 浙江省科技重大专项 (2019C02057); 宁波市“科技创新 2025”重大专项 (2019B10006); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-49); 宁波市十三五海洋经济创新发展示范项目 (NBHY-2017-P2)。

**作者简介:** 李艳荣 (1989—), 女, 山东省郯城县人, 博士研究生, 从事微藻生物化学研究。E-mail: lyr200810211@163.com

\* **通信作者:** 徐继林 (1965—), 男, 研究员, 主要从事微藻生物化学研究。E-mail: xujilin@nbu.edu.cn

(N,N,N-trimethyl)-homoserine。这些 DGTS 可以通过下调一氧化氮合成酶的表达来抑制 RAW264.7 巨噬细胞中 NO 的产生,首次表明 DGTS 或许具有抗炎活性。此外,甜菜碱脂与微藻的生长和耐盐性有关,DGTS 的含量测定有助于了解微藻生长或耐盐的机制,进而有益于培养出更多使用性微藻<sup>[5-6]</sup>。

海洋微藻是海洋中最主要的光合生物,硅藻、绿藻、甲藻和定鞭藻是4种常见的微藻种类,其季节、种类的变化在海洋生态环境、海区生产力、全球碳循环等方面起着重要作用<sup>[7-8]</sup>。甜菜碱脂是一类极性脂,是生物膜的重要组成部分,在磷胁迫时,甜菜碱脂可以替代磷脂酰胆碱(PC)维持藻类细胞正常的生命活动<sup>[9-10]</sup>。对于甜菜碱脂的研究,大多数研究者是将甜菜碱脂经过复杂的衍生化或酸化后用液相色谱、气相色谱或气相色谱-质谱联用的方法测定甜菜碱脂的组成<sup>[11-13]</sup>。近年来,液相色谱和质谱联用系统为海洋微藻中甜菜碱脂的研究提供了一种新的方法<sup>[3,14-15]</sup>。本文利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用分析系统(UPLC-Q-TOF MS)建立了一种同时检测海洋微藻中3类甜菜碱脂的分析方法,对4个微藻门中的14种微藻的甜菜碱脂分子结构及其相应脂肪酸的组成及分布进行分析。为海洋微藻生态学研究提供理论依据,是进一步阐明脂质代谢必然要做的一项工作,有助于更好地了解甜菜碱脂在人类健康领域的

作用;另一方面,对不同种类海洋微藻中甜菜碱脂分布的研究,也可以为微藻的系统发育及化学分类提供新的见解。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验材料

DGTS 标品 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-O-4-(N,N,N-trimethyl) homoserine (16:0-16:0 DGTS) 以及 DGTS 的同位素标准品 (1,2-di-palmitoyl-sn-glycero-3-O-4'-[N,N,N-trimethyl (D9)-homoserine) 均购买自美国 Avanti Polar Lipids 公司;所有用于样品提取、液质分析的试剂均为色谱级;纯水来自于 Milli-Q 纯水仪;抗氧化剂 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT, >99.9%), 购自美国 Sigma 公司。

### 2.2 样品的培养和收集

表1所示的14种微藻均由宁波大学浙江省海洋生物重点实验室微藻种质库提供。用于微藻培养的海水均经脱脂棉过滤、煮沸消毒,所有容器均高温灭菌。培养液采用 f/2 配方<sup>[16]</sup>,藻种在 5 000 mL 锥形瓶中(20±2)℃ 自然光培养,每天摇动数次,并用颗粒粒度计数分析仪(上海求精生化试剂仪器有限公司)测量藻类密度,14种微藻均在平台期收获,将收获的藻液在 5 000 r/min 的条件下高速离心 10 min 获取藻泥,冷冻干燥机(美国 Labconco 公司)干燥后备用。样品

表1 14种海洋微藻的种名和种质编号

Table 1 The strain number and species name of 14 species of microalgae

序号	分类	种质编号	中文名称	拉丁名称
1	甲藻门	NMBjah045	东海原甲藻	<i>Prorocentrum donghaiense</i>
2		NMBjah047-1	卡罗藻	<i>Karlodinium veneficum</i>
3		NMBjah043	微小亚历山大藻	<i>Alexandrium minutum</i>
4	绿藻门	NMBluh015-1	小球藻	<i>Chlorella</i> sp.
5		NMBluh014	微绿球藻	<i>Nannochloropsis oceanica</i>
6		NMBluh014-1	云微藻	<i>Nannochloris</i> sp.
7	定鞭藻门	NMBjih026-1	颗石藻	<i>Pleurochrysis carterae</i>
8		NMBjih022-2	湛江等鞭金藻	<i>Isochrysis zhanjiangensis</i>
9		NMBjih021-2	球等鞭金藻	<i>Isochrysis galbana</i>
10	硅藻门	NMBguh003-4	角毛藻	<i>Chaetoceros</i> sp.
11		NMBguh005	假微型海链藻	<i>Thalassiosira pseudonana</i>
12		NMBguh021	威氏海链藻	<i>Conticribra weissflogii</i>
13		NMBguh001	三角褐指藻	<i>Phaeodactylum tricorutum</i>
14		NMBguh002	小新月菱形藻	<i>Nitzschia closterium</i> f. <i>minutissima</i>

平行培养 3 份。

### 2.3 样品制备

分别称取各藻类细胞 50 mg 干粉, 加入氯仿/甲醇 (1 : 1, V/V) 混合溶液提取总脂, 氮气浓缩仪 (美国 ATR 公司) 吹干, 甲醇复溶后经孔径为 0.22  $\mu\text{m}$  的超滤膜 (美国 Mil-lipore 公司) 离心过滤, 然后进行 UPLC-Q-TOF-MS (美国 Waters 公司) 分析。所有溶剂中均加入 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  BHT。

### 2.4 UPLC-Q-TOF 分析

用于样品分析的液相色谱和质谱条件见参考文献 [17]。

### 2.5 甜菜碱脂的半定量分析

甜菜碱脂的半定量: 分别在每一种微藻样品中加入 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-O-4'-[N,N,N-trimethyl(D9)] homoserine DGTS 同位素内标 (由于目前市场上只有 DGTS 的同位素内标和标准品, 微藻中所有甜菜碱脂的半定量分析参照相应 DGTS 内标的峰面积) 对样品进行半定量分析。根据流动相比例的改变, 获得相应甜菜碱脂的离子化效果, 从低碰撞能量下的色谱图中提取样品中每一种甜菜碱脂的离子色谱图; 根据不同流动相比例下的甜菜碱脂的离子化效果, 获得相应峰面积积分值。根据峰面积与浓度的线性关系, 利用同位素标准品的浓度和峰面积半定量样品中每毫克干藻粉中甜菜碱脂含量, 取 3 个平行结果的均值。

## 3 结果与讨论

### 3.1 甜菜碱脂质谱规律及鉴定方法研究

由于目前市场上购买不到 DGCC 的相关标准品, 文中选用文献已报道过的富含 DGCC 的微藻进行 DGCC 结构质谱碎裂规律的分析。据文献 [15] 报道, 假微型海链藻中可检测到分子组成为 16:0/22:6 DGCC, 其母离子质荷比为 799.59。利用 UPLC-Q-TOF MS 对假微型海链藻中 16:0/22:6 DGCC 的分子离子峰进行一级和二级质谱扫描。ESI 源正离子模式的一级质谱图上 (图 1a),  $m/z=800.61$  代表的是 16:0/22:6 DGCC 的  $[\text{M}+\text{H}]^+$  的母离子峰; 在碰撞能量为 45 eV 时的二级质谱图中 (图 1b),  $m/z=104.11$ 、 $m/z=132.10$  和  $m/z=178.11$  的碎片离子的元素组成分别为  $[\text{C}_5\text{H}_{14}\text{NO}]^+$ 、 $[\text{C}_6\text{H}_{14}\text{NO}_2]^+$  和  $[\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}_4]^+$ , 这与 Kato 等 [18] 的研究结果一致, 其中  $m/z=104.11$  碎片离子的丰度较高, 可以作为 DGCC 的特征碎片离子, 用于 DGCC 的定性。此外,  $m/z=472.37$  ( $[\text{M}+\text{H}-\text{R}_2\text{COOH}]^+$ ) 和  $m/z=544.36$  ( $[\text{M}+\text{H}-\text{R}_1\text{COOH}]^+$ ) 的碎片离子峰, 可用于 DGCC 脂肪酸链的分析。

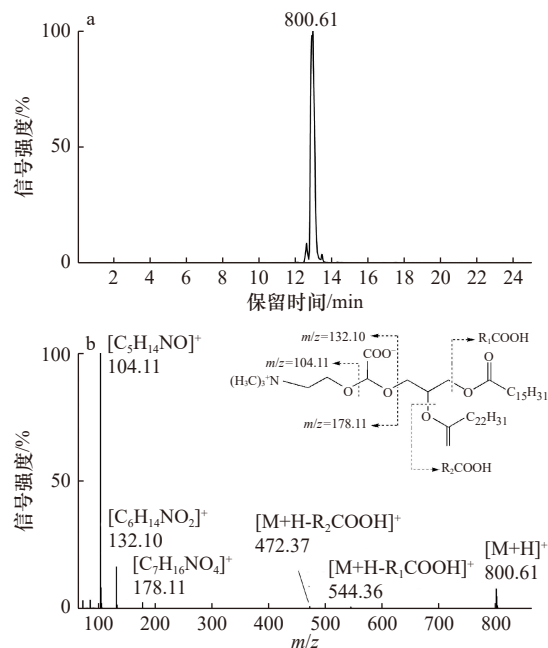


图 1 正离子  $\text{MS}^E$  模式, 假微型海链藻中 16:0/22:6 DGCC ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z=800.61$ ) 低能量下提取离子流色谱图 (a); 正离子模式下假微型海链藻保留时间为 12.98 min 16:0/22:6 DGCC ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z=800.61$ ) 二级质谱图 (b)

Fig. 1 EIC of 16:0/22:6 DGCC ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z=800.61$ ) in *T. pseudonana* at the low collision energy of 6 V in the positive mode with the  $\text{MS}^E$  technique (a); the  $\text{MS}^2$  spectrum of the  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ion at  $m/z=800.61$  of 16:0/22:6 DGCC at retention time 12.98 min extracted from *T. pseudonana* (b)

基于已总结的 DGCC 的质谱碎裂规律, 采用  $\text{MS}^E$  技术对微藻样品中的 DGCC 进行分析, 可以在一次进样全扫中通过高低能量转换得到样品中每一个物质的母离子和对应子离子精确质量数。在  $\text{MS}^E$  的二级质谱图中, 母离子和子离子可以同时存在, 从高碰撞能量扫描的总离子流图中提取含有  $m/z=104.11$  的特征碎片离子的色谱图; 然后在相同保留时间点, 从低碰撞能量扫描的总离子流图中找到相应碎片离子的  $[\text{M}+\text{H}]^+$  的母离子; 最后针对每一个母离子进行二级质谱分析, 进一步确定 DGCC 的结构。例如, 在颗石藻的高碰撞能量扫描的总离子流图中提取  $m/z=104.11$  碎片离子的色谱峰 (图 2b), 从低碰撞能量扫描的总离子流图的对应保留时间找到每一个 DGCC 的母离子 (图 2a), 然后针对每一个母离子分别进行二级质谱分析, 对每一个 DGCC 的分子组成进行鉴定。通过进一步的二级质谱分析, 在颗石藻中一共检测到 17 种 DGCC 甜菜碱脂 (表 2)。

DGTS 和 DGTA 是两种同分异构体,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  的二级质谱碎裂方式非常相似, 均可以产生特征碎片离

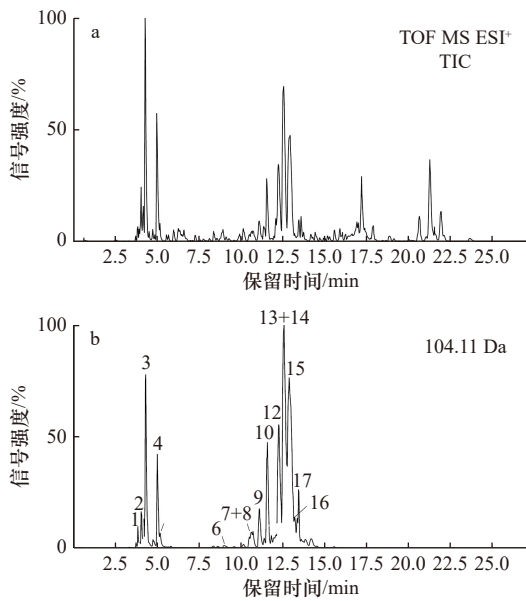


图2 正离子 MS<sup>E</sup> 模式, 颗石藻总脂混合物的低能量总离子流色谱图(a); 高能 MS<sup>E</sup> 色谱图中提取 DGCC 特征碎片离子  $m/z=104.11$  的离子流色谱图(b)  
 Fig. 2 TIC of the lipid mixture extracted from *P. carterae* at the low collision energy of 6 V in the positive mode with the MS<sup>E</sup> technique (a); EIC of  $m/z=104.11$  for characteristic product ion of DGCC in *P. carterae* from high collision energy scans (ramp of 30–60 V) in the positive mode with the MS<sup>E</sup> technique (b)

子  $m/z=236.15$  和  $m/z=144.10$ 。为了更有效地鉴定和区分这两种甜菜碱脂的分子组成, 本文采用  $[M+H]^+$  和  $[M+Li]^+$  两种加合形式相结合的方法。在流动相中加入 0.01% LiCl 和 0.1% HCOOH, 可以同时检测到 DGTS 和 DGTA 的  $[M+H]^+$  和  $[M+Li]^+$  的母离子峰。首先在  $[M+H]^+$  的条件下通过特征碎片离子和脂肪酸链的碎片离子鉴定出 DGTS 或 DGTA 的分子组成, 然后在  $[M+Li]^+$  的二级质谱图中根据碎片离子区分 DGTS 和 DGTA。关于 DGTS 和 DGTA 具体的二级碎裂规律及详细鉴定方法参照本实验室已发表文献 [17]。

### 3.2 14 种海洋微藻中甜菜碱脂的组成和分布

根据以上研究的甜菜碱脂的特征碎片离子及其分析鉴定方法, 对 4 个门的 14 种微藻中的甜菜碱脂组成进行分析。共鉴定出 133 种甜菜碱脂, 包括 53 种 DGCC、41 种 DGTS 和 39 种 DGTA (表 2 至表 4)。本研究基于 MS<sup>E</sup> 技术建立的系统分析海洋微藻中甜菜碱脂的检测方法灵敏度更高, 检测到甜菜碱脂的种类更多。Cañavate 等 [15] 在假微型海链藻中共检测到 8 种 DGCC, 而本研究在假微型海链藻中共检测出 26 种 DGCC 分子, 其中还包括 6 种只含有一条脂肪酸链的甜菜碱脂, 该方法鉴定的种类和数量具有明显

优势。

Armada 等 [3] 对两种定鞭金藻 *Pseudoisochrysis paradoxa* VLP (等鞭金藻纲, Isochrysidaceae) 和 *Diacronema vlkianum* VLP (巴夫藻纲, Pavlovaceae) 中的甜菜碱脂的研究发现, 等鞭金藻纲的 *P. paradoxa* VLP 可以同时检测到 3 种类型的甜菜碱脂, 而巴夫藻纲的 *D. vlkianum* VLP 中仅检测到 DGCC 和 DGTS 两种类型的甜菜碱脂, 且 14:0/18:1 DGTS 占 *D. vlkianum* VLP 中总 DGTS 的 90.9% 以上。本研究的 3 种定鞭金藻中, 湛江等鞭金藻和球等鞭金藻属于等鞭金藻纲, 而颗石藻属于颗石藻纲, 在湛江等鞭金藻和球等鞭金藻中除了 DGCC 外均检测到 14:0/18:1 DGTS, 这与 Armada 等 [3] 的研究结果一致, 而颗石藻种检测到的 DGTS 脂肪酸链组成为 16:0/22:6。研究表明, 等鞭金藻纲主要的甜菜碱脂为 DGCC, 且仅含有或主要含有 14:0/18:1 DGTS, 进一步证明 14:0/18:1 DGTS 及其含量占比可以作为等鞭金藻纲的特征甜菜碱脂, 为等鞭金藻门等鞭金藻纲藻的系统分类提供一种新的依据。

假微型海链藻中发现 26 种 DGCC, 威氏海链藻中发现 25 种 DGCC 和 1 种 DGTS, 角毛藻中发现 16 种 DGCC; 在小新月菱形藻和三角褐指藻中没有发现 DGCC, 但分别检测到 27 种和 30 种 DGTA。由结果可知, 中心硅藻纲 (centric diatom) 的 3 种硅藻, 即假微型海链藻、威氏海链藻和角毛藻中检测到的甜菜碱脂主要为 DGCC, 没有检测到 DGTA, 而在羽纹硅藻纲 (pennate diatom) 的两种硅藻小新月菱形藻和三角褐指藻中检测到甜菜碱脂仅有 DGTA。根据 Vogel 和 Eichenberger [11] 的研究, DGTS 是 DGTA 合成的前体, 即 DGTA 是通过 DGTS 极性头部脱羧基和重新形成羧基, 以及甘油分子脱酰化和再酰化形成的。因此, 所有含有 DGTA 的微藻原则上都应含有少量或痕量的 DGTS, DGTS 的水平取决于它转换成 DGTA 的速率。而小新月菱形藻和三角褐指藻中仅检测到 DGTA, 可能是因为 DGTS 含量太低, 没有达到相应分析的检测限。双眉藻 (*Amphora* sp.) 属于羽纹硅藻纲的硅藻, Li 等 [17] 在双眉藻 (*Amphora* sp.) 中共检测到 16 种 DGTA 和 9 种 DGTS, 没有检测到 DGCC, 且 DGTA 的种类和含量多于 DGTS。说明这种生化组成的不同有助于鉴别硅藻的两个不同纲, 相关的研究也证明了这一结论 [9–10, 15, 18]。因此, 海洋微藻进化过程中两个不同纲的硅藻甜菜碱脂的合成机制仍需要大量的研究去探索。

绿藻门的 3 种微藻中检测到的甜菜碱脂仅为 DGTS, 其种类和含量远远高于其他门微藻中的 DGTS。

表 2 9种海洋微藻中 DGCC 的组成及含量 ( nmol/mg 干藻粉 )

Table 2 The composition and content of DGCC in 9 microalgae ( nmol/mg dry microalgae )

组成	[M+H] <sup>+</sup> <sub>sn-1/sn-2</sub>	硅藻门			甲藻门			定鞭藻门		
		假微型海链藻	威氏海链藻	角毛藻	东海原甲藻	卡罗藻	微小亚历山大藻	颗石藻	湛江等鞭金藻	球等鞭金藻
DGCC-1	462.34	14:0	0.026±0.002	0.057±0.008	0.017±0.001	0.013±0.003	0.007±0.002		0.010±0.002	0.059±0.010
DGCC-2	486.35	16:2				0.004±0.001				
DGCC-3	488.36	16:1	0.017±0.002		0.474±0.031					
DGCC-4	490.37	16:0	0.055±0.004	0.219±0.027		0.139±0.014	0.125±0.031	0.075±0.015	1.053±0.080	0.025±0.003
DGCC-5	504.39	17:0				0.016±0.004				
DGCC-6	510.34	18:4						0.077±0.005		
DGCC-7	514.37	18:2		0.191±0.019	0.059±0.003					
DGCC-8	516.39	18:1	0.009±0.001	0.153±0.016	0.096±0.006			0.133±0.011		
DGCC-9	518.4	18:0				0.122±0.006				
DGCC-10	536.36	20:5	0.046±0.004	0.628±0.091	0.423±0.028			0.418±0.034		
DGCC-11	538.37	20:4			0.218±0.009					
DGCC-12	562.37	22:6	0.053±0.004	0.739±0.086	0.272±0.018	0.046±0.008		1.419±0.054	0.135±0.036	0.691±0.065
DGCC-13	672.54	14:0/14:0					0.016±0.002		0.020±0.002	0.118±0.007
DGCC-14	698.56	14:0/16:1	0.144±0.005		0.326±0.020					
DGCC-15	700.53	14:0/16:0				0.027±0.007	0.025±0.003	0.281±0.020		0.047±0.005
DGCC-16	720.53	16:0/16:4	0.178±0.009							
DGCC-17	720.54	14:0/18:4		0.298±0.049					0.112±0.034	0.139±0.012
DGCC-18	724.57	16:1/16:1	0.091±0.005		0.430±0.024					
DGCC-19	726.59	16:0/16:1	0.175±0.009	0.205±0.020	0.421±0.016				0.030±0.005	
DGCC-20	728.6	16:0/16:0				0.092±0.031	0.012±0.003			
DGCC-21	746.56	16:0/18:5						0.255±0.012		
DGCC-22	746.55	14:0/20:5	0.404±0.013	1.762±0.170			0.010±0.003			
DGCC-23	748.57	16:0/18:4	0.103±0.004					2.990±0.059		
DGCC-24	752.59	16:0/18:2	0.095±0.007	0.244±0.034						
DGCC-25	754.63	16:0/18:1	0.055±0.002	0.164±0.022						
DGCC-26	756.64	16:0/18:0				0.031±0.007				
DGCC-27	768.54	16:3/20:5		0.072±0.005						
DGCC-28	770.56	16:2/20:5	0.153±0.010							
DGCC-29	772.58	16:1/20:5	0.728±0.045	0.855±0.011	1.002±0.065					
DGCC-30	772.57	14:0/22:6	0.902±0.060	0.574±0.028			0.097±0.018		1.542±0.260	9.156±0.935
DGCC-31	774.59	14:0/22:5							0.017±0.002	
DGCC-32	774.58	16:0/20:5	0.124±0.005	0.993±0.173	0.354±0.018		0.023±0.004	8.025±0.171		
DGCC-33	776.61	16:0/20:4			0.131±0.012			0.478±0.033		
DGCC-34	780.63	18:1/18:1	0.056±0.003							
DGCC-35	794.55	18:4/20:5	0.142±0.009	0.224±0.005						
DGCC-36	794.55	16:3/22:6		0.077±0.038						
DGCC-37	796.58	18:3/20:5		0.355±0.063						
DGCC-38	798.6	16:1/22:6	0.179±0.010	0.145±0.016						
DGCC-39	798.57	16:0/22:5							0.073±0.014	

续表 2

组成	[M+H] <sup>+</sup>	sn-1/sn-2	硅藻门			甲藻门			定鞭藻门		
			假微型海链藻	威氏海链藻	角毛藻	东海原甲藻	卡罗藻	微小亚历山大藻	颗石藻	湛江等鞭金藻	球等鞭金藻
DGCC-40	798.58	18:2/20:5	0.170±0.012	0.678±0.035							
DGCC-41	800.59	18:1/20:5		0.156±0.017					0.401±0.007		
DGCC-42	800.6	16:0/22:6	0.180±0.012	0.762±0.151		0.457±0.043	0.366±0.015	0.459±0.041	6.076±0.391	0.624±0.115	0.878±0.086
DGCC-43	802.62	16:0/22:5							0.240±0.030		
DGCC-44	816.52	19:0/20:5	0.338±0.051								
DGCC-45	820.57	18:4/22:6							1.082±0.110	0.126±0.026	0.090±0.012
DGCC-46	820.57	20:5/20:5	0.534±0.067	3.556±0.374	0.483±0.025						
DGCC-47	822.59	20:4/20:5			0.343±0.017						
DGCC-48	826.61	18:1/22:6							3.619±0.400	0.220±0.038	0.389±0.031
DGCC-49	828.63	18:0/22:6				0.057±0.016					
DGCC-50	842.53	19:0/22:6		0.365±0.075							
DGCC-51	846.58	20:5/22:6	1.532±0.173	3.762±0.563	0.472±0.032		0.004±0.001		7.534±0.260		
DGCC-52	870.57	22:5/22:6								0.085±0.012	0.143±0.022
DGCC-53	872.59	22:6/22:6						0.011±0.002	15.478±0.236	1.327±0.196	6.857±0.941

目前关于甲藻门中甜菜碱脂分布的研究较少, Cañavate 等<sup>[15]</sup>在环沟藻中仅检测到 1 种 DGCC(16:0/16:0), Flaim 等<sup>[19]</sup>和 Anesi 等<sup>[20]</sup>在甲藻中仅检测到 DGCC 存在。本研究中, 东海原甲藻和微小亚历山大藻分别发现 3 种和 10 种 DGCC, 而在卡罗藻中同时检测到 3 种甜菜碱脂的存在, 即 11 种 DGCC、2 种 DGTS 和 2 种 DGTA。根据已有报道, 本研究的卡罗藻是目前唯一报道过的同时含有 3 种甜菜碱脂的甲藻。

Cañavate 等<sup>[15]</sup>利用主坐标分析(PCO)方法对微藻中的甜菜碱脂进行研究, 结果表明绿藻纲、共球藻纲和大眼藻纲的微藻聚在第一坐标轴, 与 DGTS 含量成正相关; DGTA 和 DGCC 在第二坐标轴上分开, 隐藻门和硅藻门的甜菜碱脂主要是 DGTA, 间藻门和甲藻门唯一的甜菜碱脂为 DGCC。包括本研究在内的甜菜碱脂的研究都仅是一个初步的研究, 还不能全面了解甜菜碱脂在微藻中的分布, 但可以将甜菜碱脂作为完整极性脂的生物标记物, 用于评估浮游植物天然的种群结构和生理状态<sup>[21]</sup>。

### 3.3 微藻中甜菜碱脂的脂肪酸组成

为了更好地了解不同门的微藻中甜菜碱脂分子的脂肪酸组成特点, 将本研究中甜菜碱脂的脂肪酸组成检测结果与部分文献资料<sup>[3, 15, 18, 22]</sup>报道过的微藻中甜菜碱脂的脂肪酸组成相结合, 对甲藻门、绿藻门、定鞭藻门和硅藻门四大类微藻中甜菜碱脂的脂肪酸组成进行了总结(表 5)。由结果可知, 硅藻门的甜菜

碱脂 DGTS 中脂肪酸组成主要是 C14–C18 偶数个碳原子的饱和以及低不饱和短链脂肪酸, 而 DGTA 和 DGCC 中的脂肪酸组成除了短链脂肪酸外, 还含有多不饱和的脂肪酸和长链的多不饱和脂肪酸, 如 C20:4、C20:5 和 C22:6, 该结果与 Li 等<sup>[17]</sup>对双眉藻 *Amphora* sp. 的脂肪酸组成研究结果一致。定鞭藻门 3 种类型甜菜碱脂的脂肪酸组成差别不大, 基本为 C14 脂肪酸、C16 脂肪酸、C18 脂肪酸以及 C20:5 脂肪酸和 C22:6 脂肪酸; 甲藻门中 DGCC 脂肪酸组成为 C14 饱和短链脂肪酸、C16 饱和短链脂肪酸、C17 饱和短链脂肪酸和 C18 饱和短链脂肪酸以及 C20:5 多不饱和脂肪酸和 C22:6 多不饱和脂肪酸, 而 DGTA 和 DGTS 中仅含有短链脂肪酸。

此外, 对不同门微藻中同一种类型甜菜碱脂的脂肪酸分布进行了分析, 结果表明, 硅藻门、甲藻门和定鞭藻门中均含有 DGCC, 但是甲藻门 C14–C18 脂肪酸链均为饱和的, 而硅藻门中含有 C19 奇数碳原子的脂肪酸链。对于 DGTS, 硅藻中主要含有 C14–C18 的脂肪酸, 甲藻中只含有 C18 的脂肪酸, C20 的脂肪酸仅在绿藻门中检测到, 而 C22:6 脂肪酸仅在定鞭藻中发现, 这些特殊的脂肪酸组成的甜菜碱脂可在水产食物网研究中用作营养标记。

以上研究结果表明, 不同门的微藻甜菜碱脂的脂肪酸组成有其各自的特点, 同一个门内的不同微藻间甜菜碱脂脂肪酸的组成差别不大。相关研究表明, 海

表 3 8 种海洋微藻中 DGTS 的组成及含量 ( nmol/mg 干藻粉 )

Table 3 The composition and content of DGTS in 8 microalgae ( nmol/mg dry microalgae )

组成	[M+H] <sup>+</sup>	sn-1/sn-2	硅藻门		甲藻门		绿藻门		定鞭藻门	
			威氏海链藻	卡罗藻	小球藻	微绿球藻	云微藻	颗石藻	湛江等鞭金藻	球等鞭金藻
DGTS-1	472.36	16:1				0.214±0.045	0.332±0.060			
DGTS-2	474.38	16:0				0.156±0.027	0.175±0.032	0.045±0.002		
DGTS-3	496.36	18:3				0.191±0.034	0.215±0.005			
DGTS-4	498.38	18:2			0.039±0.006	0.053±0.010	0.063±0.014			
DGTS-5	520.36	20:5				1.305±0.322	2.247±0.303			
DGTS-6	522.37	20:4				0.136±0.028	0.487±0.099			
DGTS-7	682.57	14:0/16:1				0.434±0.082	0.105±0.007			
DGTS-8	706.56	16:0/16:3			0.168±0.039					
DGTS-9	708.57	14:0/18:2				0.080±0.008				
DGTS-10	708.57	16:1/16:1				0.258±0.046	0.099±0.004			
DGTS-11	708.59	16:0/16:2			0.077±0.013					
DGTS-12	710.59	14:0/18:1						0.568±0.082	0.482±0.051	
DGTS-13	710.57	16:0/16:1	0.138±0.013			1.509±0.183	0.748±0.031			
DGTS-14	724.59	16:0/17:1				0.071±0.007				
DGTS-15	728.55	16:3/18:3			0.035±0.006					
DGTS-16	730.57	16:3/18:2			0.037±0.005					
DGTS-17	730.55	14:0/20:5				0.546±0.045	0.263±0.006			
DGTS-18	732.57	14:0/20:4				0.131±0.023				
DGTS-19	732.58	16:3/18:1			0.045±0.010					
DGTS-20	734.58	16:0/18:3			0.045±0.006	0.130±0.016				
DGTS-21	734.59	18:0/16:3			0.286±0.049					
DGTS-22	736.61	16:0/18:2			0.119±0.023	0.480±0.064				
DGTS-23	736.6	18:0/16:2			0.091±0.013					
DGTS-24	738.63	16:0/18:1			0.033±0.004	0.069±0.006	0.037±0.001			
DGTS-25	754.55	16:2/20:5				0.108±0.017				
DGTS-26	756.57	16:1/20:5				1.186±0.076	0.537±0.007			
DGTS-27	758.59	16:0/20:5				2.622±0.278	1.683±0.050			
DGTS-28	758.6	18:2/18:3			0.066±0.015					
DGTS-29	760.61	18:2/18:2			0.055±0.003					
DGTS-30	760.61	16:0/20:4				0.477±0.077	0.417±0.011			
DGTS-31	762.62	20:0/16:3			0.402±0.055					
DGTS-32	762.63	18:1/18:2		0.011±0.00						
DGTS-33	764.65	18:1/18:1		0.017±0.006	0.020±0.002					
DGTS-34	764.64	20:0/16:2			0.152±0.026					
DGTS-35	782.59	18:2/20:5				0.340±0.056				
DGTS-36	784.6	18:1/20:5				0.286±0.038				
DGTS-37	784.59	16:0/22:6						0.352±0.017		
DGTS-38	786.59	18:1/20:4				0.062±0.007				
DGTS-39	792.68	20:0/18:2			0.041±0.003					
DGTS-40	804.56	20:5/20:5				3.023±0.304	0.855±0.057			
DGTS-41	806.58	20:4/20:5				1.015±0.083	0.565±0.046			

表4 3种海洋微藻中甜菜碱脂的组成及含量 (nmol/mg干藻粉)

Table 4 The composition and content of betaine lipid in 3 microalgae (nmol/mg dry microalgae)

组成	[M+H] <sup>+</sup>	sn-1/sn-2	硅藻门		甲藻门
			小新月菱形藻	三角褐指藻	卡罗藻
DGTA-1	472.36	16:1	0.173±0.001		
DGTA-2	496.36	18:3		0.598±0.016	
DGTA-3	498.38	18:2	0.554±0.050	0.523±0.033	
DGTA-4	500.39	18:1	1.744±0.129	0.686±0.040	
DGTA-5	520.35	20:5	0.227±0.017	1.115±0.102	
DGTA-6	522.38	20:4	0.172±0.008	1.593±0.095	
DGTA-7	546.37	22:6	0.383±0.034	0.336±0.019	
DGTA-8	654.53	14:0/14:1			0.146±0.004
DGTA-9	656.54	14:0/14:0			0.579±0.035
DGTA-10	682.57	14:0/16:1	0.188±0.028	0.556±0.033	
DGTA-11	704.55	14:0/18:4		0.060±0.006	
DGTA-12	706.57	14:0/18:3		0.408±0.023	
DGTA-13	708.58	16:1/16:1	0.081±0.005		
DGTA-14	708.57	14:0/18:2	0.066±0.007	0.621±0.039	
DGTA-15	710.59	14:0/18:1	1.024±0.152	0.863±0.049	
DGTA-16	730.57	14:0/20:5	0.268±0.031	1.260±0.106	
DGTA-17	732.57	14:0/20:4	0.072±0.021	1.303±0.045	
DGTA-18	734.59	14:0/20:3		0.301±0.033	
DGTA-19	734.59	16:1/18:4	0.047±0.002		
DGTA-20	736.62	16:1/18:1		0.361±0.011	
DGTA-21	736.6	16:0/18:2	0.193±0.012		
DGTA-22	738.62	16:0/18:1	0.125±0.015	0.126±0.008	
DGTA-23	752.55	16:3/20:5	0.021±0.004		
DGTA-24	754.56	16:2/20:5	0.026±0.003	0.014±0.002	
DGTA-25	756.57	16:1/20:5	0.094±0.007	0.209±0.030	
DGTA-26	756.57	14:0/22:6	0.025±0.002	0.507±0.026	
DGTA-27	758.59	16:1/20:4		0.350±0.016	
DGTA-28	758.6	16:0/20:5		0.187±0.014	
DGTA-29	760.61	16:0/20:4	0.026±0.003	0.209±0.015	
DGTA-30	764.64	18:1/18:1	0.112±0.021		
DGTA-31	778.56	18:4/20:5		0.035±0.003	
DGTA-32	780.58	18:3/20:5	0.030±0.001	0.431±0.032	
DGTA-33	782.59	16:1/22:6	0.070±0.005		
DGTA-34	784.61	18:1/20:5	0.517±0.026	0.603±0.042	
DGTA-35	804.57	20:5/20:5	0.776±0.144	0.588±0.029	
DGTA-36	806.59	20:4/20:5	0.078±0.013	0.358±0.039	
DGTA-37	806.59	20:5/20:4		1.189±0.098	
DGTA-38	808.6	20:4/20:4		0.226±0.012	
DGTA-39	830.59	20:5/22:6	0.065±0.003	0.247±0.015	

表 5 4 个门的微藻中甜菜碱脂脂肪酸的组成特点

Table 5 Characteristics of fatty acids of betaine lipids in marine microalgae

	硅藻门	甲藻门	绿藻门	定鞭藻门
DGTA	14:0, 16:0, 16:1, 16:2, 16:3, 18:1, 18:2, 18:3, 18:4, 20:3, 20:4, 20:5, 22:6	14:0, 14:1		14:0, 16:1, 18:3, 18:4, 20:5, 22:6
DGTS	14:0, 15:0, 16:0, 16:1, 17:1, 18:1, 18:2	18:1, 18:2	14:0, 16:0, 16:1, 16:2, 16:3, 17:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:4, 20:5	14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 18:4, 20:5, 22:6
DGCC	14:0, 16:0, 16:1, 16:2, 16:3, 16:4, 18:1, 18:2, 18:3, 18:4, 19:0, 20:4, 20:5, 22:6	14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:5, 22:6		14:0, 16:0, 16:1, 18:1, 18:3, 18:4, 18:5, 20:4, 20:5, 22:5, 22:6

洋大型植物中脂肪酸分布在科的水平上就可以很好地区分<sup>[23]</sup>,而微藻中甜菜碱脂的脂肪酸分布的特点与海洋大型植物中脂肪酸分布存在不同。Dalsgaard 等<sup>[24]</sup>研究表明,微藻的脂肪酸组成在较高的分类水平上表现出一定的特点,在水产食物网研究中被广泛用作营养标记;Thomas 等<sup>[25]</sup>研究也表明不同微藻脂肪酸组成差异只能限制在门和纲的水平上,在较低的分类水平上差异不明显。甜菜碱脂作为一种完整的极性脂已用于浮游植物自然群落结构的研究<sup>[26-27]</sup>,对甜菜碱脂脂肪酸组成的研究有望提高不同物种区分的分辨率,可以为微藻的系统发育及化学分类提供新的见解。

#### 4 结论

本研究运用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱建立了海洋微藻中甜菜碱脂的分析鉴定方法,

对 4 个微藻门中的 14 种微藻的甜菜碱脂分子结构及其相应脂肪酸的组成及分布进行了研究。研究表明,这种简单快速的方法可以同时检测出微藻中 3 种类型的甜菜碱脂。不同门的微藻中甜菜碱脂分布的种类不同,定鞭藻和甲藻中主要的甜菜碱脂是 DGCC,绿藻中主要的甜菜碱脂为 DGTS,而在硅藻中的甜菜碱脂主要包括两种,即 DGCC(中心硅藻纲)和 DGTA(羽纹硅藻纲)。不同门的微藻甜菜碱脂的脂肪酸组成有其各自的特点,根据脂肪酸组成特点对微藻分类只能限制在门和纲的水平上,在较低的分类水平上差异不明显。本研究对微藻中甜菜碱脂的种类和分布特性进行了研究,对于进一步研究这些缺磷极性脂类的生理、生态作用和功能特性具有重要的意义,也可以为微藻的系统发育及化学分类提供新的见解。

#### 参考文献:

- [1] Dembitsky V M. Betaine ether-linked glycerolipids: chemistry and biology[J]. *Progress in Lipid Research*, 1996, 35(1): 1-51.
- [2] Kumari P, Bijo A J, Mantri V A, et al. Fatty acid profiling of tropical marine macroalgae: an analysis from chemotaxonomic and nutritional perspectives[J]. *Phytochemistry*, 2013, 86: 44-56.
- [3] Armada I, Hachero-Cruzado I, Mazuelos N, et al. Differences in betaine lipids and fatty acids between *Pseudoisochrysis paradoxa* VLP and *Diacronema vlkianum* VLP isolates (Haptophyta)[J]. *Phytochemistry*, 2013, 95: 224-233.
- [4] Banskota A H, Stefanova R, Sperker S, et al. New diacylglyceryltrimethylhomoserines from the marine microalga *Nannochloropsis granulata* and their nitric oxide inhibitory activity[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2013, 25(5): 1513-1521.
- [5] Laloknam S, Tanaka K, Buaboocha T, et al. Halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* contains a Betaine transporter active at alkaline pH and high salinity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 6018-6026.
- [6] Nakanishi K, Deuchi K. Culture of a high-chlorophyll-producing and halotolerant *Chlorella vulgaris*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, 117(5): 617-619.
- [7] Bigogno C, Khozin-Goldberg I, Boussiba S, et al. Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid[J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(5): 497-503.
- [8] Sanina N M, Goncharova S N, Kostetsky E Y. Fatty acid composition of individual polar lipid classes from marine macrophytes[J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(6): 721-730.
- [9] Martin P, Van Mooy B A S, Heithoff A, et al. Phosphorus supply drives rapid turnover of membrane phospholipids in the diatom *Thalassiosira pseudonana*[J]. *The ISME Journal*, 2010, 5(6): 1057-1060.
- [10] Van Mooy B A S, Fredricks H F, Pedler B E, et al. Phytoplankton in the ocean use non-phosphorus lipids in response to phosphorus scarcity[J]. *Nature*, 2009, 458(7234): 69-72.
- [11] Vogel G, Eichenberger W. Betaine lipids in lower plants. Biosynthesis of DGTS and DGTA in *Ochromonas danica* (Chrysophyceae) and the possible role of DGTS in lipid metabolism[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1992, 33(4): 427-436.
- [12] Eichenberger W, Gfeller H, Grey P, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric identification of betaine lipids in *Chroomonas salina*[J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(4): 967-972.
- [13] Abida H, Dolch L J, Mei C, et al. Membrane Glycerolipid remodeling triggered by nitrogen and phosphorus starvation in *Phaeodactylum*

- tricornutum*[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(1): 118–136.
- [14] Roche S A, Leblond J D. Betaine lipids in chlorarachniophytes[J]. *Phycological Research*, 2010, 58(4): 298–305.
- [15] Cañavate J P, Armada I, Rios J L, et al. Exploring occurrence and molecular diversity of betaine lipids across taxonomy of marine microalgae[J]. *Phytochemistry*, 2016, 124: 68–78.
- [16] Kröger N, Poulsen N. Diatoms—from cell wall biogenesis to nanotechnology[J]. *Annual Review of Genetics*, 2008, 42: 83–107.
- [17] Li Yanrong, Lou Yamin, Mu Tong, et al. Simultaneous structural identification of diacylglycerol-*N*-trimethylhomoserine (DGTS) and diacylglycerolhydroxymethyl-*N*, *N*, *N*-trimethyl- $\beta$ -alanine (DGTA) in microalgae using dual  $\text{Li}^+/\text{H}^+$  adduct ion mode by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2017, 31(5): 457–468.
- [18] Kato M, Sakai M, Adachi K, et al. Distribution of betaine lipids in marine algae[J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(5): 1341–1345.
- [19] Flaim G, Obertegger U, Anesi A, et al. Temperature-induced changes in lipid biomarkers and mycosporine-like amino acids in the psychrophilic dinoflagellate *Peridinium aciculiferum*[J]. *Freshwater Biology*, 2014, 59(5): 985–997.
- [20] Anesi A, Guella G. A fast liquid chromatography-mass spectrometry methodology for membrane lipid profiling through hydrophilic interaction liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1384: 44–52.
- [21] Van Mooy B A S, Fredricks H F. Bacterial and eukaryotic intact polar lipids in the eastern subtropical South Pacific: water-column distribution, planktonic sources, and fatty acid composition[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74(22): 6499–6516.
- [22] 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]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Lipids and Lipid Metabolism*, 1996, 1299(2): 183–190.
- [23] Galloway A W E, Britton-Simmons K H, Duggins D O, et al. Fatty acid signatures differentiate marine macrophytes at ordinal and family ranks[J]. *Journal of Phycology*, 2012, 48(4): 956–965.
- [24] Dalsgaard J, John M S, Kattner G, et al. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment[J]. *Advances in Marine Biology*, 2003, 46: 225–340.
- [25] Thomas F, Ladislav H, Imke L, et al. Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: a comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection[J]. *BMC Plant Biology*, 2011, 11(1): 124.
- [26] Popendorf K J, Tanaka T, Pujo-Pay M, et al. Gradients in intact polar diacylglycerol lipids across the Mediterranean Sea are related to phosphate availability[J]. *Biogeosciences*, 2011, 8(12): 3733–3745.
- [27] Brandsma J, Hopmans E C, Brussaard C P D, et al. Spatial distribution of intact polar lipids in North Sea surface waters: relationship with environmental conditions and microbial community composition[J]. *Limnology and Oceanography*, 2013, 57(4): 959–973.

## Distribution of betaine lipids in 14 species of microalgae

Li Yanrong<sup>1,2</sup>, Mu Tong<sup>1</sup>, Huang Lili<sup>1</sup>, Xu Jilin<sup>2</sup>, Zhou Chengxu<sup>2</sup>, Yan Xiaojun<sup>2</sup>

(1. Ningbo Institute of Oceanography, Ningbo 315832, China; 2. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315832, China)

**Abstract:** The qualitative and quantitative analyses on betaine lipids of microalgae were conducted by means of the quadrupole flight time ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) using electron spraying ionization. As a result, 133 betaine lipids including 53 DGCC, 41 DGTS and 39 DGTA were identified from 14 species of microalgae in four major phyla. DGCC was the dominant betaine lipid in dinoflagellates and haptophytes, while DGTS was the main betaine lipid in chlorophytes. There were two main types of betaine lipid in diatoms: DGCC in centric diatom and DGTA in pennate diatom. The differences of fatty acid of betaine lipid in marine microalgae were only observed at the phyla and class levels, but at lower taxonomic levels the differences were less stable. DGCC existed in diatoms, dinoflagellates and chlorophytes, which contained C14–C18 saturated and unsaturated fatty acids and C20 and C22 polyunsaturated fatty acids. The difference in DGCC is that saturated C14–C18 fatty acids existed in dinoflagellates, while the fatty acids of odd carbon numbers C19 occurred only in diatoms. The results of description and molecular characterization of betaine lipid in microalgae can be served in future investigation in chemotaxonomy, physiology, ecological role of microalgae and functional properties of these phosphorous-lacking polar lipids.

**Key words:** microalgae; betaine lipids; UPLC-Q-TOF-MS