

文章编号: 1674-7054(2012)03-0204-04

海水相对密度对琼枝麒麟菜的生长 及其卡拉胶、色素含量的影响

方 哲 刘 敏 梁 磊 黄惠琴 朱 军 鲍时翔

(中国热带农业科学院 热带生物技术研究所 海南 海口 571101)

摘 要: 探讨了海水相对密度对琼枝麒麟菜 (*Betaphycus gelatinum*) 生长及其色素含量的影响规律。结果表明 海水相对密度为 1.016 ~ 1.030 时 琼枝麒麟菜均可生存 海水相对密度为 1.018 ~ 1.024 时 琼枝麒麟菜生长良好 海水相对密度为 1.022 时 日生长率高达 4.6% 海水相对密度为 1.024 时 琼枝麒麟菜卡拉胶含量最高 达到 64.2%; 海水相对密度分别为 1.026、1.024、1.022、1.02 时 叶绿素 a、藻胆蛋白藻蓝素(PC)、藻红素(PE)、别藻蓝素(APC) 含量分别达到最大值。

关键词: 琼枝麒麟菜; 海水; 相对密度; 生长; 色素

中图分类号: S 968.43⁺2

文献标志码: A

琼枝麒麟菜 (*Betaphycus gelatinum*) 又称琼枝, 隶属于红藻门(Rhodophyta)、真红藻纲(Florideae)、杉藻目(Gigartinales)、红翎菜科(Solieriaceae)、琼枝藻属(*Betaphycus*) 是热带、亚热带性海藻, 分布在我国的海南岛、西沙群岛和台湾岛等热带海区^[1], 是海南重要的热带资源之一。琼枝是海南栽培海藻中的重要种类之一, 是生产卡拉胶的重要原料。卡拉胶具备许多独特的性能和高附加经济价值, 已被广泛应用于食品、医药、日化及其他科研领域。如在食品生产中, 其主要作为优良增稠剂、悬浮剂等食品添加剂用于果冻、肉制品等的生产; 在日化生产方面, 其可通过纺丝工艺(按照喷丝得出的最佳纺丝条件进行纺丝) 制得卡拉胶纤维, 制得的卡拉胶纤维机械性能比未交联卡拉胶纤维有明显提高^[2]; 还可应用于制作缓释胶囊/片剂、药膏基和药用胶布等医药用品。近年来, 研究人员发现卡拉胶对许多病毒、病原菌的广谱抑制活性和免疫系统刺激等方面具有特殊的医药疗效^[3-5]。琼枝含有丰富的生物活性物质, 如海藻多糖、海藻氨酸及多种微量元素, 且已证实, 这些活性物质具有抑制肿瘤细胞生长、降低高血脂症患者血清胆固醇和治疗气管炎、痔疮等功效^[6-8]。此外, 它还具有抗胃蛋白酶活性、抗溃疡、抗凝血等作用^[9-10]。红藻、蓝藻和隐藻等的光合色素是叶绿素 a 和各种藻胆蛋白[藻红素(PE)、藻蓝素(PC)、别藻蓝素(APC)]。藻胆蛋白的结构、功能与藻类生理、生态和光合作用的机理变化有直接关系。藻胆蛋白可以作为天然色素应用于食品、化妆品、染料等工业上, 也可应用于制作荧光试剂、临床医学诊断、免疫化学和生物工程等研究领域, 具有很高的开发价值。因此, 对琼枝藻胆蛋白的相关研究非常有意义。目前, 国内外需求的琼枝大部分来自海南的野生种, 但由于海洋环境污染、水质恶化以及人为采摘破坏等原因, 使海南大部分的野生琼枝资源逐年缩小, 目前已处于濒临灭绝的状态。人工养殖可以弥补部分野生琼枝资源的紧缺, 但依然无法满足国内外市场的需要。其主要原因是对琼枝的基本生物学特性的相关研究开展较少, 很多机理尚未得到阐明, 由此造成了养殖技术落后, 可人工培育的优质种苗缺乏, 养殖产量低下等局面。为了深入了解海水理化指标对琼枝麒麟菜生长特性以及一些重要物质含量的影响, 笔者设置了一系列相对密度不同的海水环境, 检测其对琼枝麒麟菜的生长以及卡拉胶、色素含量的影响, 旨在为进一步开发热带海藻资源提供科学依据。

收稿日期: 2012-06-04

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAC18B04); 农业科技成果转化资金项目(2008GB23260410); 中央级公益性科研院所基金(ITBB11-0207)

作者简介: 方哲(1974-) 男, 海南琼海人, 中国热带农业科学院热带生物技术研究所工程师。

通信作者: 鲍时翔, 博士, 研究员, 研究方向: 海洋生物学, 电话: 0898-66988564, E-mail: bsxhhq@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料 琼枝取自中国热带农业科学院热带生物技术研究海水养殖试验基地。养殖海水取自海口西海岸远离港口、排污口等污染源的海域,存放于实验室,经200目纱布过滤后使用。养殖海水pH8.53。

1.2 藻体培养 琼枝在运回实验室后,用消毒海水冲洗2~3次,放置于培养容器内室温下培养,并对海水通气或者采取循环水措施保证水体溶氧量,及时除去腐烂部分。每10 d更换1次海水,保持水体清洁透明,防止杂藻滋生。

1.3 实验设计 选取部分藻体,采用1 L塑料烧杯培养,每杯放1个切段,加海水800 mL,10 d更换1次海水,用 $m_{\text{氮}}:m_{\text{磷}}:m_{\text{钾}}=16:7:8$ 的农用复合肥配制 $m:V=2\text{ g}:1\text{ L}$ 的肥料水,每5 d把琼枝置于肥料水中浸泡5 min。温度为室温,平均水温27℃,光照为自然光。海水相对密度设7个梯度(1.016,1.018,1.020,1.022,1.024,1.026,1.030),每个梯度设3个平行组。不同的海水相对密度用蒸馏水和氯化钠调节。

1.4 检测指标及测定方法

1.4.1 藻体日生长率 藻体日生长率(DRG)计算公式:

$$\text{DRG} = \frac{w_f - w_i}{w_i \times n} \times 100\%,$$

式中 w_i 为起始质量, w_f 为最终质量, n 为培养天数。

1.4.2 叶绿素含量的测定 叶绿素含量的测定方法参考文献[11-12]。用吸水纸吸干琼枝表面水分后称取琼枝0.5 g,置于1 000 mL的烧杯中,加入5 mL $w=80\%$ 的丙酮和少许的碳酸钙、石英砂,研磨成匀浆,过滤,定容至20 mL,用 $w=80\%$ 的丙酮做对照,测663 nm和645 nm处的吸光值 A 。根据公式计算单位质量琼枝中的叶绿素(叶绿素a:Cha;叶绿素b:Chb)含量。

$$\text{Cha}(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 12.7A_{663} - 2.69A_{645},$$

$$\text{Chb}(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 22.9A_{645} - 4.68A_{663}.$$

1.4.3 藻胆蛋白含量的测定 藻胆蛋白含量测定的方法参考文献[4,13]。用吸水纸吸干琼枝表面水分后称取琼枝0.5 g,置于研磨器中,加50 mL pH 7.0的磷酸缓冲液和少许石英砂研磨,用200目筛绢网过滤,把滤液定容至25 mL,置于-20℃冰箱内冷冻12 h,取出解冻,3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液,用磷酸盐缓冲液做空白,测620,652,630 nm处的吸光度 A 。根据公式计算单位质量琼枝的3种藻胆蛋白(藻蓝蛋白:PC;别藻蓝蛋白:APC;藻红蛋白:PE)含量。

$$\text{PC}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = 0.187A_{620} - 0.089A_{652},$$

$$\text{APC}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = 0.196A_{652} - 0.041A_{620},$$

$$\text{PE}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = 0.104A_{562} - 0.253\text{PC} - 0.088\text{APC}.$$

1.4.4 卡拉胶含量的测定^[3] 取琼枝5 g,烘干,称其质量(W_1)。将烘干的琼枝进行洗涤和淡水浸泡1 d后,按 $w_{\text{琼枝}}:w_{\text{KOH}}=1\text{ g}:10\text{ g}$ 添加 $w=7.5\%$ 的KOH,在80℃条件下浸泡1 h,沥干,加120~150 mL的蒸馏水,煮沸20~39 min,加KCl,至胶液中的 $w_{\text{KCl}}=0.1\% \sim 0.2\%$,用200目筛绢趁热过滤,常温冷却,-18℃冻结48 h,流水解冻法脱去水分,干燥,称质量(w_2)。计算卡拉胶含量。卡拉胶含量 $= (w_2/w_1) \times 100\%$ 。

1.5 数据处理与分析 数据以平均值表示,所得数据用统计软件SAS9.0进行单因子方差分析,以 $P < 0.05$ 作为显著差异水平,用*表示; $P < 0.01$ 作为极显著差异水平,用**表示。

2 结果与分析

2.1 海水相对密度对琼枝生长的影响 海水相对密度为1.016~1.030之间,琼枝可正常生长,海水相对密度接近1.035时可维持生长2周,海水相对密度为1.040及其以下,或海水相对密度为1.040及以上,琼枝在12 h内变白死亡。从图1可见,琼枝生长的最适海水相对密度为1.018~1.024之间。

在不同海水相对密度条件下,琼枝日生长率各异(见图1)。海水相对密度从1.06开始,随着海水相对密度的增高,琼枝生长率逐渐升高,而从1.022以后,则随着海水相对密度的增高,琼枝生长逐渐变缓。

慢。在海水密度为 1.022 时,琼枝麒麟菜生长速率最高,日生长率达到 4.6%,由此可见,海水相对密度为 1.022 是琼枝生长最佳条件之一。相对密度超过 1.030 时,琼枝生长极其缓慢,因此提示,高密度海水对琼枝生长起抑制作用。

2.2 海水相对密度对琼枝叶绿素含量的影响

不同海水相对密度下的琼枝叶绿素 a 含量不同

(见图 2)。海水相对密度为 1.016 ~ 1.026 时,叶

绿素 a 含量随着海水相对密度的升高而增加,并在 1.026 时达到最高值 $37.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,而海水相对密度超过 1.026 时,随着海水相对密度的升高,叶绿素 a 含量逐渐降低。海水相对密度的变化对藻体中叶绿素 b 的含量变化不大。

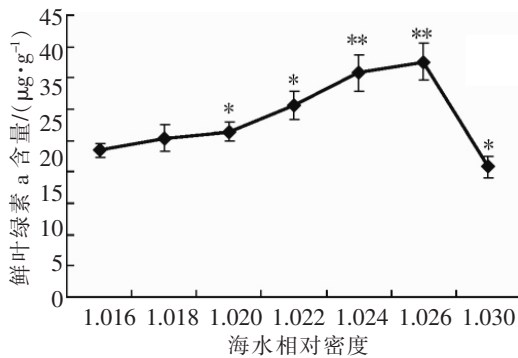


图 2 不同相对密度海水对琼枝叶绿素含量的影响

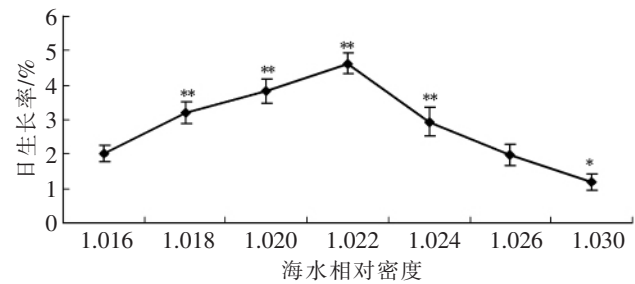
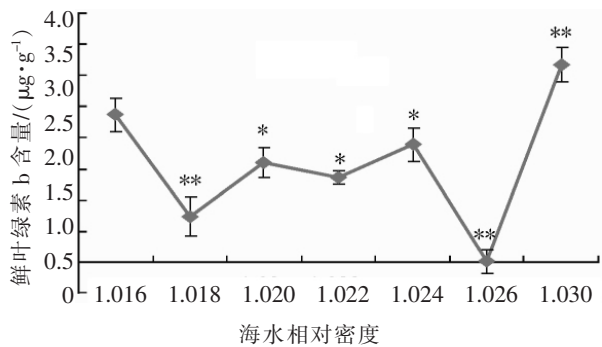


图 1 不同海水相对密度下琼枝麒麟菜的日生长率



2.3 海水相对密度对琼枝藻胆蛋白含量的影响

在不同海水相对密度条件下,琼枝藻胆蛋白各组分 PC, APC, PE 的差异均显著(见图 3)。海水相对密度为 1.03 ~ 1.024 时,PC 和 PE 的含量随着海水相对密度的减少而升高,海水相对密度为 1.024 时,PC 和 PE 的含量达到最高值,分别为 $620 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $378 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。海水相对密度为 1.024 以后,PC 和 PE 的含量逐渐减少。与前两者有所不同,APC 含量在海水相对密度在 1.030 ~ 1.020 范围内都表现为逐渐升高,1.020 处达到最高值,其含量为 $305 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.4 海水相对密度对琼枝卡拉胶含量的影响

海水相对密度为 1.016, 1.018, 1.020, 1.022, 1.024, 1.026 时,琼枝的卡拉胶含量分别为 62.3%, 62.7%, 63.2%, 63.2%, 64.2%, 63.6%。海水相对密度为 1.024 时,琼枝的卡拉胶含量最高,海水相对密度为 1.026, 1.020, 1.018 时,琼枝的卡拉胶含量次之。

3 结 论

从图 1 中可以看出,海水相对密度为 1.018 ~ 1.024 时,琼枝的日生长率呈现出极显著增高,海水相对密度为 1.022 时,琼枝的日生长率达到最大值;从图 2 中可以看出,海水相对密度为 1.020 ~ 1.026 时,叶绿素 a 含量呈显著和极显著差异,海水相对密度为 1.026 时,其含量达到最大值,而叶绿素 b 含量一直处于较低水平,但差异显著;从图 3 中可以看出,海水相对密度为 1.020 ~ 1.024 时,PC, PE, APC 的含量均处于较高水平;海水相对密度为 1.021 ~ 1.027 时,琼枝的卡拉胶含量较高,在 1.024 时达到最大值。综

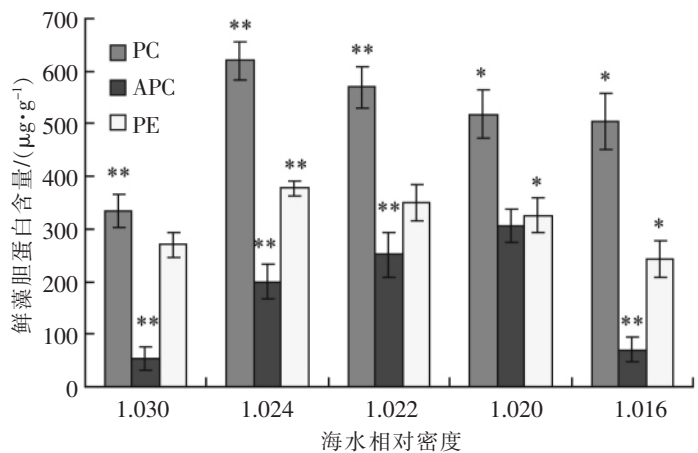


图 3 不同海水相对密度对琼枝藻胆蛋白含量的影响

合上述结果,笔者认为在其他条件不变的情况下,在相对密度为 1.022 ~ 1.024 的海水中养殖琼枝,既能满足琼枝快速生长的条件,又能使琼枝中的色素及卡拉胶含量达到较高的水平,能有效提高琼枝的品质。

参考文献:

- [1] 匡梅,曾呈奎,夏邦美. 中国麒麟菜家族的分类研究[J]. 海洋科学集刊,1999,41:168-198.
- [2] 付永强. 交联卡拉胶纤维的制备[D]. 青岛:青岛大学,2011.
- [3] 宁发子,何新益,殷七荣,等. 卡拉胶的特性与应用[J]. 食品工业,2002,3:30-32.
- [4] 张薇君,郝纯彦. 出口螺旋藻粉中藻胆蛋白测定方法的研究[J]. 光谱仪器与分析,1999(3):8-9.
- [5] 杨宜婷,岑颖洲,肇静娴,等. 麒麟菜中藻胆红素抗肿瘤活性研究[J]. 中国病理生理杂志,2002,18(7):851-852.
- [6] 叶绍明,岑颖洲,张美英,等. 麒麟菜硫酸酯多糖体外抗病毒作用的研究[J]. 中国海洋药物杂志,2007,26(3):14-19.
- [7] 刘玥,江振友,施珊珊,等. 碘化麒麟菜多糖对宫颈癌细胞株生长和凋亡的影响[J]. 暨南大学学报:医学版,2007,28(6):546-549.
- [8] CLINTON J D, LLUISMAN A O, TRONO G C. Laboratory and field growth studies of commercial strains of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines[J]. Journal of Applied Phycology, 1994(6):21-24.
- [9] CRISTIAN B, EDISON J P, FUNGYI C. Germination and survival of tetraspores of *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Soriaceae, Rhodophyta) introduced in subtropical waters of Brazil[J]. Phycological Research, 2008, 56(1):39-45.
- [10] FUKUDA Y, SUGAHARA T, UENO M, et al. The anti-tumor effect of *Eucheuma serra* agglutinin on colon cancer cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Anticancer Drugs, 2006, 17(8):943-947.
- [11] 侯福林. 植物生理学教程[M]. 北京:科学出版社,2005:57-58.
- [12] 李绍炳,黄翔鸽,李长玲,等. 温度、光照及海水相对密度对微小色球藻(*Chroococcus minutus*)生长的影响[J]. 广东海洋大学学报,2011,31(6):55-60.
- [13] 张美如,许璞,朱建一,等. 藻胆蛋白的研究和应用[J]. 科学养鱼,2006,10:69-70.

The Effect of Seawater Relative Density on the Growth and the Carrageenan and Pigment Content of the Agar *Eucheuma* (*Betaphycus gelatinum*)

FANG Zhe, LIU Min, LIANG Lei, HUANG Hui-qin, ZHU Jun, BAO Shi-xiang

(Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: Agar *Eucheuma* (*Betaphycus gelatinum*), rich in carrageenan, polysaccharide and various pigments, is an important economic tropical alga. However, production of *Eucheuma*, both wild and farmed, has become less and less due to the influence of deterioration of seawater environment. *Eucheuma* growing in different relative densities of seawater were observed and determined in growth rate and content of carrageenan and pigment. Results show that *Eucheuma* survived at a seawater relative density range of 1.014 to 1.030 and grew well at the relative density from 1.018 to 1.024. *Eucheuma* grew at a daily rate of upto 4.6% at the relative density of seawater of 1.022, contained 64.2% of carrageenan (the highest among all the treatments) at the seawater relative density of 1.024, and had maximum contents of chlorophyll a, PC, PE and APC at the respective seawater relative densities of 1.026, 1.024, 1.022 and 1.020. These results give us more insight into the growth characteristics of *Eucheuma* to revitalize farming and development of *Eucheuma* in the future.

Key words: *Betaphycus gelatinum*; light intensity; growth; pigment