

不同质量浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻生长及营养物质含量的影响

马玉心, 叶立果, 崔大练, 杨圣琼, 周秋怡, 闻雪萍 (浙江海洋大学海洋科学与技术学院, 浙江舟山 316000)

摘要 [目的] 研究不同质量浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻生长及营养物质含量的影响。[方法] 研究不同质量浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻生物量、多糖含量、藻胆蛋白含量、质量叶绿素 a 含量的影响。[结果] NaCl 质量浓度为 0.5% 时, 钝顶螺旋藻产量最大、叶绿素 a 浓度最高、藻胆蛋白含量最高; 当 NaCl 质量浓度低于 0.5% 时, 钝顶螺旋藻产量随着 NaCl 质量浓度的升高而增大, 所得藻中叶绿素 a 含量、藻胆蛋白含量随着 NaCl 质量浓度的升高而增多; 当 NaCl 质量浓度高于 0.5% 时, 钝顶螺旋藻产量随着 NaCl 质量浓度的升高而减小, 所得藻中叶绿素 a 含量、藻胆蛋白含量随着 NaCl 质量浓度的升高而减少; NaCl 质量浓度为 0.6% 时, 钝顶螺旋藻的多糖含量最高, 但质量浓度 0.6% 与 0.5% NaCl 的多糖含量差异不大, 且 NaCl 质量浓度对多糖含量的影响趋势也呈先增加后减少。[结论] NaCl 胁迫对钝顶螺旋藻的生长和营养物质含量影响显著。

关键词 钝顶螺旋藻; NaCl 质量浓度; 叶绿素 a; 多糖; 藻胆蛋白

中图分类号 S-3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)18-0013-03

Effects of NaCl Concentrations on the Growth and Nutrient Content of *Spirulina platensis*

MA Yu-xin, YE Li-guo, CUI Da-lian et al (College of Marine Science and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316000)

Abstract [Objective] To research the effects of NaCl concentrations on the growth and nutrient content of *Spirulina platensis*. [Method] We researched the effects of NaCl concentrations on the biomass, polysaccharide content, phycobiliprotein content, chlorophyll a content. [Result] When NaCl concentration was 0.5%, the yield of *S. platensis* was the highest, with the maximum chlorophyll a concentration and the highest phycobiliprotein content. When NaCl concentration was lower than 0.5%, the yield of *S. platensis* enhanced with the increase of NaCl concentration, and the chlorophyll a concentration and phycobiliprotein content increased with the enhancement of NaCl concentration. When NaCl concentration was higher than 0.5%, the yield of *S. platensis* decreased with the increase of NaCl concentration; and the chlorophyll a concentration and phycobiliprotein content decreased with the enhancement of NaCl concentration. When NaCl concentration was 0.6%, polysaccharide content of *S. platensis* was the highest, but there were little differences in polysaccharide contents between 0.6% and 0.5% NaCl concentrations, and the influence of NaCl concentration on polysaccharide content was increased at first and then decreased. [Conclusion] NaCl stress had significant influences on the *S. platensis* growth and nutrient content.

Key words *Spirulina platensis*; NaCl concentration; Chlorophyll a; Polysaccharide; Phycobiliprotein

螺旋藻是一种开发价值极高的新资源微藻, 它富含藻多糖、不饱和脂肪酸、藻胆蛋白、 β -胡萝卜素、超氧化物歧化酶(SOD)以及多种维生素等生物活性物质, 具有营养保健、预防疾病和辅助治疗的功效, 是天然保健食品和药源食物^[1-2]。目前全世界已知螺旋藻有 30 余种, 国内外人工养殖和工厂化生产的螺旋藻只有极大螺旋藻和钝顶螺旋藻 2 种。与钝顶螺旋藻相比, 极大螺旋藻的藻丝更长、螺距更宽, 但从营养成分来说, 钝顶螺旋藻的营养成分更高、更易于吸收, 所以国际上都食用钝顶螺旋藻^[3]。近年来, 关于钝顶螺旋藻在光照、温度及部分重金属离子的影响下的生理生化效应已较为明晰^[4-5], 然而在关于 NaCl 胁迫对钝顶螺旋藻的生长状况和营养物质含量的影响研究方面虽做出了相关工作^[6], 但在 NaCl 胁迫对钝顶螺旋藻的营养物质含量的影响趋势上仍存在较大空白。鉴于此, 笔者研究了 NaCl 质量浓度对钝顶螺旋藻的生长和营养物质含量的影响, 对指导螺旋藻养殖产业生产、降低养殖成本具有重要意义, 对于定向获取藻蓝蛋白、多糖等营养物质的养殖商有重要借鉴价值。

1 材料与方

1.1 材料来源与培养 材料选用钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*), 来自中国海洋大学的藻种实验室。培养条件为: 日 30 °C/夜 25 °C、昼 4 000 lx/夜 0 lx, 光/暗周期为 12 h/12 h

的光照培养箱。培养周期为 20 d。

1.2 方法

1.2.1 NaCl 浓度梯度设置。 采用 Zarrouk 培养基培养, 共 2 大组: A 组 100 mL 培养液定量培养和 B 组 500 mL 大规模增殖培养; 每组均分为 12 小组, 设 3 个平行对照, NaCl 质量浓度(以下简称浓度)分别为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、1.5%、2.0%。100 mL 定量培养所得钝顶螺旋藻用于藻体干重分析, 500 mL 大规模增殖培养所得钝顶螺旋藻用于叶绿素 a 含量、多糖含量和藻胆蛋白含量分析。

1.2.2 钝顶螺旋藻的收集。 在不同 NaCl 浓度的培养基中培养 20 d 后, 用 200 目纱布过滤 B 组培养液得到新鲜藻体, 再用无菌水进行清洗得到新鲜藻体。

1.3 项目测定

1.3.1 生物量测定。 将培养 20 d 的 A 组培养液置于抽滤装置上用已称重的滤纸进行抽滤, 并用无菌水清洗 2~3 次。标明组别后, 将附着有新鲜钝顶螺旋藻的滤纸置于 80 °C 烘箱烘干至恒重。A 组藻连同滤纸置于分析天平中精确称量减去已称重的滤纸质量后进行培养所得藻体质量对比分析。

1.3.2 多糖含量测量。 采用蒽酮硫酸法^[7]。

1.3.3 叶绿素 a 含量测定。 采用 PHYTO-PAM-I 型浮游植物荧光测定仪测定叶绿素含量, 稀释比例为 20 倍。

1.3.4 藻胆蛋白含量测定。 采用刘涛^[8]的方法, 称取新鲜钝顶螺旋藻 1.0 g 放入预冷的研钵, 分批加入 10 mL 0.1 mol/L

基金项目 浙江海洋大学大学生科技创新项目。

作者简介 马玉心(1965—), 男, 辽宁东港人, 教授, 博士, 从事藻类生理生态学研究。马玉心和叶立果为共同第一作者。

收稿日期 2018-03-21; 修回日期 2018-03-26

磷酸缓冲液 (pH=6.8), 冰浴下研磨成匀浆。将匀浆液在离心机中 5 000 r/min 离心 10 min (2~4 °C), 所得上清液为样品提取液。吸取样品上清液, 测定其在 455、564、592、595、618、645 nm 处的吸光值。藻胆蛋白含量计算公式为:

$$\text{藻红蛋白含量}(\%) = [(A_{564} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) \times 0.2] \times 0.12$$

$$\text{藻蓝蛋白含量}(\%) = [(A_{618} - A_{645}) - (A_{595} - A_{645}) \times 0.15] \times 0.15$$

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻生物量的影响 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻的生长趋势有明显的影 响。由表 1 可知, 当培养液的 NaCl 浓度低于 0.5% 时, 钝顶螺旋藻的产量随着 NaCl 浓度的增大而增大; 而当培养液中 NaCl 的浓度高于 0.5% 时, 钝顶螺旋藻的产量随着 NaCl 浓度的增大而减小。当 NaCl 浓度高于 1.0% 时对钝顶螺旋藻的产量影响显著。当 NaCl 浓度为 0.5% 时, 钝顶螺旋藻的产量达到最大值, 为 0.485 0 g。NaCl 浓度为 0.5% 和 2.0% 的培养基所得钝顶螺旋藻的干重相差 172.93%。

表 1 不同浓度 NaCl 培养 20 d 后 A 组藻体干重比较

Table 1 Comparison of *S.platensis* dry weight in group A cultivated for 20 d in different NaCl concentrations

NaCl 浓度 NaCl concentration // %	藻体干重 <i>S.platensis</i> dry weight // g	NaCl 浓度 NaCl concentration // %	藻体干重 <i>S.platensis</i> dry weight // g
0.10	0.367 5	0.70	0.400 1
0.20	0.401 2	0.80	0.393 9
0.30	0.407 2	0.90	0.389 7
0.40	0.426 8	1.00	0.383 0
0.50	0.485 0	1.50	0.345 8
0.60	0.409 7	2.00	0.177 7

2.2 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻多糖含量的影响 螺旋藻多糖具有较高的药用价值, 在抗凝、抗血栓、调血脂、抗辐射、抗肿瘤方面有显著作用^[9]。不同浓度的 NaCl 胁迫对螺旋藻的多糖含量有一定影响^[10]。但其选用的藻种具体种类不清晰、所涉及的盐度包含物质种类范围较大、NaCl 浓度梯度设置过于简单, 对于钝顶螺旋藻受 NaCl 胁迫所产生的影响不够明晰。由图 1 可知, 当培养基中 NaCl 的浓度不高于 0.6% 时, 钝顶螺旋藻的多糖含量随着 NaCl 浓度的增加呈上升趋势。

当培养基中 NaCl 的浓度高于 0.6% 时, 钝顶螺旋藻的多糖含量随着 NaCl 浓度的增加呈下降趋势; 当 NaCl 浓度为 0.6% 时藻中多糖含量最高。而当 NaCl 浓度高于 1.0% 时多糖含量显著下降, 在 NaCl 浓度为 2.0% 时含量最低, 与最高值相差 3.81 百分点。这说明高浓度的 NaCl 胁迫对钝顶螺旋藻的多糖含量有显著的抑制作用。

2.3 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻藻胆蛋白含量的影响 钝顶螺旋藻中含有丰富的藻胆蛋白, 藻胆蛋白又包含藻蓝蛋白和藻红蛋白。其中藻蓝蛋白是钝顶螺旋藻中重要的

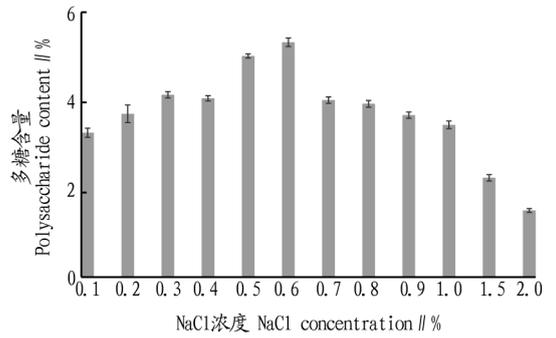


图 1 不同 NaCl 浓度对钝顶螺旋藻的多糖含量影响

Fig.1 Effects of NaCl concentration on polysaccharide content of *S.platensis*

捕光色素蛋白, 它以近乎 100% 的高效率把光能优先地传递给光系统 II^[11-13]。研究表明, 藻胆蛋白具有提高人体免疫力, 促进动物血细胞再生, 抑制某些癌细胞等作用。蔡西栗等^[14]研究显示, NaCl 胁迫对藻蓝蛋白的含量影响明显, 但其对钝顶螺旋藻受 NaCl 胁迫下藻蓝蛋白的含量影响状况研究不够清晰。由图 2、3 可知, 当培养液的 NaCl 浓度为 0.1%~0.5% 时均能提高钝顶螺旋藻的藻胆蛋白含量。当 NaCl 浓度为 0.5% 时 1 g 新鲜藻体含藻蓝蛋白量为 0.017 9 g, 含藻红蛋白量为 0.0027 5 g。

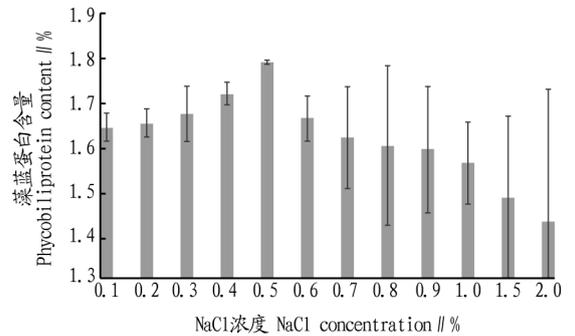


图 2 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻藻蓝蛋白含量的影响

Fig.2 Effects of NaCl concentration on pycobiliprotein content of *S.platensis*

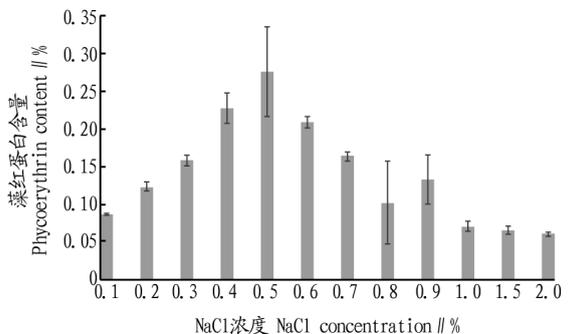


图 3 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻藻红蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of NaCl concentration on phycoerythrin content of *S.platensis*

2.4 不同浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻叶绿素 a 含量的影响 叶绿素是大部分植物进行光合作用的主要色素, 也是钝顶螺旋藻的主要光合色素。而叶绿素 a 是直接参与光合作

用的色素,其他辅助色素(如 β -胡萝卜素等)吸收的光能必须传递给叶绿素 a 才能被利用。因此叶绿素 a 含量水平的高低直接影响到螺旋藻的光合能力强弱。Chen 等^[15]的研究得出 NaCl 胁迫对钝顶螺旋藻的光合色素含量有显著影响。由表 2 可知,当 NaCl 浓度为 0.5% 时,钝顶螺旋藻的生长最旺盛,培养液中藻密度最大,故测得的样液中叶绿素 a 浓度最高。当 NaCl 浓度高于 1.0% 时,钝顶螺旋藻的生长受到明显抑制,所测样液中叶绿素 a 浓度显著降低;当 NaCl 浓度为 2.0% 时,钝顶螺旋藻的生长受到的抑制最强,培养液中叶绿素 a 含量比最高值低 27.30%。

表 2 不同浓度 NaCl 培养 20 d 后叶绿素 a 浓度比较

Table 2 Comparison of chlorophyll a content cultivated for 20 d in different NaCl concentrations

NaCl 浓度 NaCl concentration/%	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content// $\mu\text{g/L}$	NaCl 浓度 NaCl concentration/%	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content// $\mu\text{g/L}$
0.10	5 416.37	0.70	5 576.91
0.20	5 469.82	0.80	5 516.92
0.30	5 546.00	0.90	5 462.81
0.40	5 573.14	1.00	5 406.89
0.50	5 810.54	1.50	4 832.63
0.60	5 658.62	2.00	4 224.13

3 结论与讨论

在螺钝顶螺旋藻的培养基中加入适度的氯化钠会使钝顶螺旋藻的产量提升、多糖含量增加、叶绿素 a 含量升高,对钝顶螺旋藻的生长有较明显的促进作用,在添加氯化钠浓度为 0.5% 时各项指标达到最大值;当 NaCl 的浓度高于 0.5% 时,随着浓度的逐渐加大,各项指标又逐渐降低。结果表明,0.5% NaCl 浓度最适于钝顶螺旋藻的生长,而过高浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻的生长有显著的抑制作用。当 NaCl 浓度低于 0.5% 时,随着浓度的增加,NaCl 浓度恰好满足钝顶螺旋藻光合作用对钠离子的需要,因此光合速率和营养物质含量显著增加。而当 NaCl 浓度高于 0.5% 时,培养液的浓度逐渐加大,导致藻细胞内渗透压升高,对其光合作用和生命活动有较大

抑制作用,因此光合色素含量和营养物质含量再次降低。此外,较高浓度 NaCl 对钝顶螺旋藻的代谢也有一定影响,使其所产生代谢废物种类及数量产生变化,进而影响到培养液的 pH^[16],导致再次发生负反馈作用,抑制了钝顶螺旋藻的生长。

参考文献

- [1] 曹申平,韩冬,解绍启,等.螺旋藻粉替代饲料中鱼粉对异育银鲫幼鱼生长、饲料利用和蛋白沉积的影响[J].水生生物学报,2016,40(4):647-654.
- [2] 李茜,黄伟,黄蓓,富硒螺旋藻对急性高脂血症小鼠血脂水平的影响[J].食品科学,2016,37(1):194-197.
- [3] 左绍远.螺旋藻的营养价值及其综合利用[J].生命的化学,1994,14(6):46-47.
- [4] SHI W Q,LI S D,LI G R,et al.Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*[J].Optik,2016,127(16):6688-6694.
- [5] GUNASUNDARI E,SENTHIL KUMAR P.Ad sorption isotherm, kinetics and thermodynamic analysis of Cu(II) ions onto the dried algal biomass (*Spirulina platensis*) [J].Journal of industrial and engineering chemistry, 2017,56:129-144.
- [6] 刘志礼,李鹏云.NaCl 胁迫对螺旋藻生长及抗氧化酶活性的影响[J].植物学通报,1998,15(3):43-47.
- [7] 张杰,李春艳,李劲平,等.萘酚硫酸法与苯酚硫酸法测定竹节参多糖含量的比较研究[J].中南药学,2012,10(6):421-424.
- [8] 刘涛.大型海藻实验技术[M].北京:海洋出版社,2016:97-99.
- [9] 隋璐,刘坤,沈薇,等.螺旋藻多糖对胃溃疡大鼠胃黏膜的修复作用及对 EGF 和 EGFR 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):162-165.
- [10] 李庭古,马牲,徐国成,等.不同盐度对螺旋藻的生长和生化成分影响的研究[J].海洋湖沼通报,2006(4):58-62.
- [11] 殷钢,刘铮,刘飞,等.钝顶螺旋藻中藻蓝蛋白的分离纯化及特性研究[J].清华大学学报(自然科学版),1999,39(6):20-22.
- [12] KHATOON H,LEONG L K,RAHMAN N A,et al.Effects of different light source and media on growth and production of phycobiliprotein from freshwater cyanobacteria[J].Bioresour. technology, 2018,249:652-658.
- [13] LI Y,LU L Y,ZHANG H J,et al.The pH regulated phycobiliprotensis loading and releasing of polyelectrolytes multilayer microcapsules [J]. Colloids and surfaces B:Biointerfaces,2012,93:121-126.
- [14] 蔡西栗,孙雪,邵旻玮,等.龙须菜对不同盐度胁迫的应激生理响应[C]//渔业科技创新与发展方式转变:2011 年中国水产学会学术年会论文集摘要集.北京:中国水产学会,2011:51.
- [15] CHEN M.Investigation on the detrimental effects of salt stress on photosynthesis of *Spirulina platensis* [J].Agricultural science & technology, 2012(8):1625-1627,1770.
- [16] AINAN M,HASNAOUI S,BOUARAB R,et al.Hydrogen production with the cyanobacterium *Spirulina platensis* [J].International journal of hydrogen energy,2017,42(8):4902-4907.

(上接第 4 页)

- [5] 杨昭,李想,陶志超.豌豆种子吸附等温线与热力学性质研究[J].农业机械学报,2017,48(10):323-329.
- [6] 高艳波,王振兴,耿晓东.超干贮藏对美女樱种子活力的影响[J].安徽农业科学,2013,41(12):5492-5494.
- [7] 廖文燕,高捍东.超干处理对金钱松种子活力的影响[J].安徽农业科学,2011,39(18):10877-10879.
- [8] ZHENG G H,JING X M,TAO K L.Ultrady seed storage cuts cost of gene bank [J].Nature, 1998,393(6682):223-224.
- [9] LAMINE H,BETTAIEB E,DESMORIEUX H,et al.Desorption isotherms

and thermodynamic properties of prickly pear seeds [J].Industrial crops & products, 2015,67:457-465.

- [10] FREITAS M L F,POLACHINI T C,DE,SOUZA A C,et al.Sorption isotherms and thermodynamic properties of grated Parmesan cheese[J].International journal of food science & technology,2016,51(1):250-259.
- [11] 程红焱.种子超干贮藏技术应用面临的问题和研究方向[J].云南植物研究,2006,28(1):59-68.
- [12] WALTERS C,ENGELS J M M.The effects of storing seeds under extremely dry conditions[J].Seed science research,1998,8(5):3-8.
- [13] VERTUCCI C W,ROOS E E.The oretical basis of protocols for seed storage[J].Plant physiol,1990,94:1019-1023.

本刊提示 文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年—),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。