

培养条件对极大螺旋藻胞内和胞外多糖含量的影响[△]

郑怡, 刘艳如

(福建师范大学 生物工程学院, 福州 350007)

摘要:极大螺旋藻胞内和胞外多糖的含量与培养条件有关。在营养盐中, NaHCO_3 和 NaNO_3 浓度减少, 胞内多糖含量也减少。硝酸钠浓度减少还使胞外多糖含量增加; K_2HPO_4 和 NaCl 浓度变化对藻的胞内和胞外多糖含量也有影响。培养液的 pH 维持在 8.0 和培养 9d 后的藻的胞内和胞外多糖含量均最高。连续光照比光暗周期培养的藻的胞内多糖含量高。

关键词:培养条件; 极大螺旋藻; 多糖

中图分类号: R931.711 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-3461-(2001)06-0029-03

Effects of Cultural Conditions on the Content of Intra-and Extracellular Polysaccharides in *Spirulina Maxima*

ZHENG Yi, LIU Yan-ru

(Bioengineering College, Fujian Teachers University, Fuzhou 350007)

Abstract: This study revealed that the content of intra-and extracellular polysaccharides may be related to the cultural conditions. With decreasing NaHCO_3 or NaNO_3 concentration, the content of intracellular polysaccharide was reduced. Reduction of NaNO_3 concentration still caused the rise of extracellular polysaccharides. The K_2HPO_4 or NaCl concentration also had an effect on the production of both intracellular and extracellular polysaccharides. When PH value of media maintained at 8.0, there was the highest content of intra-and extracellular polysaccharides. The same high content also occurred after culture of nine days. In addition the content of intracellular polysaccharide was higher under continuous light than under the light/dark circle.

Key words: cultural condition; *spirulina maxima*; polysaccharide

螺旋藻不仅富含蛋白质, 各种营养成分全面, 而且还含有重要的生理活性物质。螺旋藻多糖是藻类中研究最多的生理活性物质之一, 其研究的内容主要集中在螺旋藻多糖的分离纯化、组成结构^[1~4]、药理作用^[5]及免疫学研究等几个方面, 而有关培养条件对螺旋藻胞内多糖含量影响的研究极少^[6], 尤其是对影响胞外多糖生成因素的研究还未见报道。但一些学者对其它微藻如紫球藻(*Phor-*

phyridium cruentum)、小衣藻(*Chlamydomonas mexicana*)、隐杆藻(*Aphanothece halophytica*)等的胞外多糖生成因素进行了一些研究^[9]。目前螺旋藻工厂化生产已十分普遍, 多糖是螺旋藻品质的重要指标之一。因此研究不同培养条件下螺旋藻多糖含量的变化, 无论在理论上还是在生产应用上都具有重要意义。本文探讨了培养条件对极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)胞内和胞外多糖含量

的影响。

1 材料与方法

1.1 藻种

极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)引自中国科学院水生生物研究所藻种库。

1.2 培养条件

以 500mL 三角瓶为容器,在往复式摇床或培养架上培养。光强 3000Lx,光周期 16:8h,温度 24~28℃,培养周期 9d。各培养条件按以下分组:(1)营养盐浓度设 3 组,NaNO₃ 浓度分别为 2.5、1.5 和 1.0g·L⁻¹;NaHCO₃ 分别为 16.8、8.0 和 4.0g·L⁻¹;NaCl 分别为 1.0、0.5 和 0.1g·L⁻¹;K₂HPO₄ 分别为 0.5、0.25 和 0.1g·L⁻¹,其它组分按 Zarrouk 培养基配方。(2)培养液的 pH 值分 8.0、9.0 和 10.0 共 3 组,每天以 NaOH 或 HCl 溶液调整。(3)培养周期:分别在培养的后的第 3 天、第 6 天和第 9 天收获。(4)光照条件组:分为光强 1500Lx 和 3000Lx,光周期 16:8h 和连续光照。

1.3 胞内和胞外多糖的提取

将以上各条件组培养的藻液经离心收集藻泥和上清液,藻泥在 60℃下恒温干燥并恒重,研磨成粉。藻粉加乙醚研磨,热水抽提,去蛋白提取胞内多糖^[7]。

离心得到的培养液(上清液),在 80℃的恒温干燥箱中浓缩到 100mL,取出冷却后加等倍的无水乙醇,待产生沉淀后,离心收集沉淀物,将沉淀溶解于蒸馏水中,并定容到 50mL,得到胞外多糖提取液。

1.4 多糖含量的测定

按文献[8]的方法测定多糖的含量。

2 结果

2.1 几种主要营养盐浓度对极大螺旋藻多糖含量的影响

表 1 NaCO₃ 和 NaHCO₃ 浓度对极大螺旋藻多糖含量的影响

多 糖	NaNO ₃ (g·L ⁻¹)			NaHCO ₃ (g·L ⁻¹)		
	2.5	1.5	1.0	16.8	8.0	4.0
胞内(占细胞干重%)	3.6	2.4	0.8	3.6	1.3	1.4
胞外(μg/ml)	28.6	32.4	38.4	28.6	29.1	32.0

表 1 结果表明,氮源硝酸钠浓度对极大螺旋藻胞内和胞外多糖的含量有较大的影响,随着培养液中硝酸钠浓度的降低,胞内多糖含量减少,当浓度降至 1.0g·L⁻¹时,胞内多糖的含量仅占细胞干重的 0.8%。但胞外多糖含量的变化相反,硝酸钠浓度的降低,胞外多糖的含量有所增加。碳酸氢钠浓度对极大螺旋藻胞内多糖含量也有较明显的影响,当其浓度从 16.8g·L⁻¹减为 8.0g·L⁻¹时,胞内多糖从占细胞干重的 3.6%降到 1.3g·L⁻¹,而胞外多糖的含量没有明显变化。

表 2 K₂HPO₄ 和 NaCl 浓度对极大螺旋藻多糖含量的影响

多 糖	K ₂ HPO ₄ (g·L ⁻¹)			NaCl(g·L ⁻¹)		
	0.5	0.25	0.1	1.0	0.5	0.1
胞内(占细胞干重%)	2.2	3.3	0.6	2.2	3.3	2.9
胞外(μg/ml)	13	20	6.0	13	23	20

从表 2 可见,磷酸氢二钾浓度对极大螺旋藻多糖的含量有影响,其浓度为 0.25g·L⁻¹时,胞内和胞外多糖含量均最高,当浓度减少到 0.1g·L⁻¹时,两者含量都明显地减少。氯化钠浓度的变化也使极大螺旋藻多糖含量改变,当其浓度为 0.5g·L⁻¹时,胞内和胞外多糖含量最高。

2.2 pH 值和培养时间对极大螺旋藻多糖含量的影响

培养液的 pH 值对极大螺旋藻多糖的含量影响较大,当培养液的 pH 值维持在 8.0 时,藻的胞内和胞外多糖含量最高,pH 在 9.0 和 10.0 时,胞内和胞外多糖明显减少。

极大螺旋藻在培养 3d 和 6d 后收获,其胞内和胞外多糖含量都很低且没有明显变化,但培养 9d 后收获胞内和胞外多糖含量达

到最高值(表 3)。

表 3 不同 pH 值和培养天数极大螺旋藻多糖含量的影响

多 糖	培养液 pH 值			培养天数		
	8.0	9.0	10.0	3	6	9
胞内(占细胞干重%)	5.5	0.9	1.7	0.2	0.2	2.7
胞外(mg · L ⁻¹)	33	9	11	3.0	2.0	16

2.3 光照条件对极大螺旋藻多糖含量的影响

表 4 不同光照条件下极大螺旋藻胞内和胞外多糖含量的影响

多 糖	光周期:16/8h		连续光照
	1500Lx	3000Lx	3000Lx
胞内(占细胞干重%)	3.4	3.6	4.9
胞外(mg · L ⁻¹)	30.0	28.6	34

由表 4 可见不同光照强度对极大螺旋藻胞内和胞外多糖含量没有明显的影响,但连续光照比光暗周期培养的胞内多糖含量有所提高,而胞外多糖含量只有少量升高。

3 讨论

本研究结果表明极大螺旋藻多糖(胞内和胞外)的含量与培养条件有关,但各种条件的影响结果不相同。在微藻培养的营养盐研究中,氮源硝酸钠是研究较多的营养盐之一,它对微藻的生长和生化组成有重要影响,不同形式的氮源如硝酸盐、氨或尿素影响微藻的产量^[6],Hiroaki^[10]报道了隐球藻(*Aphanocapsa halophyllia*)细胞中多糖的含量随着培养液中硝酸钠浓度的减少而降低,与本文对极大螺旋藻研究的结果一致。

碳酸氢钠作为螺旋藻培养的碳源在 Zarrouk 的培养基中用量很大,直接关系到培养基的成本。但如果将其浓度适当减少对螺旋藻的生长并没有很大的影响。刘平怀^[11]等报道碳酸氢钠用量减半后(即为 8.4g · L⁻¹时),盐泽螺旋藻的粗多糖含量、多糖的种类及分子量等无显著差异。但在本实验碳酸氢钠减为 8g · L⁻¹时,极大螺旋藻的胞内多糖含量有较明显的减少。因此,在实

际生产过程中必须考虑碳酸氢钠用量的减少可能会影响螺旋藻多糖的含量,乃至藻粉的品质。

培养 9d 后藻的胞内和胞外多糖含量都比培养 3d 和 6d 的含量有明显地增加,可能是因为培养初期,藻细胞处于生长期,消耗细胞中的养分,而培养后期开始积累多糖并分泌到胞外。

李乐荣等^[9]对钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)的研究结果表明,随着光照时间的延长,藻细胞的干重、叶绿素及蛋白质含量有所减少。在本实验连续光照也比光暗周期培养的藻的胞内多糖含量有所增加。因此,延长光照时间或给予连续光照可能有利于螺旋藻胞内多糖的积累和不利于蛋白质合成。

参考文献

- [1] 庞启深,郭宝江,阮继红,等.螺旋藻抗辐射多糖的提取和分析[J].生物化学与生物物理学报,1989,21(5):445.
- [2] 曾和平,郭宝江.螺旋藻多糖的化学研究[J].药物学报,1995,30(11):856.
- [3] Filkwill DL. Production, isolation, preliminary characterization of the exopolysaccharide of *Cyanobacterium Spirulina platensis*[J]. *Biotechn Lett*, 1993, 15(6):567.
- [4] 周志刚,刘志礼,刘雪梅.极大螺旋藻多糖的分离、纯化及其抗氧化特性的研究[J].植物学报,1997,39(1):77.
- [5] 刘茜,焦庆才,刘志礼.螺旋藻多糖及其药理作用的研究进展[J].中国海洋药物杂志,1998,(1):48.
- [6] 孙建光,谢应光,陈婉华.螺旋藻多糖的组成与功能及影响藻类多糖生成的因素[J].海洋科学,1998,(3):14.
- [7] 张志良.植物生理学实验指导(第二版)[M].北京:高等教育出版社,1992,160.
- [8] 无锡轻工业学院编.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,1994,114.
- [9] 李乐荣,郭宝江.光照时间对螺旋藻生长的影响[J].海洋科学,1998,(3):3.
- [10] Hiroaki Sudo. Sulfate exopolysaccharide production by the halophilic *Cyanobacterium Aphanocapsa halophylla*[J]. *Current Microbiology*, 1995, 30:219.
- [11] 刘平怀,汤晓静,曾昭琪.螺旋藻不饱和脂肪酸和多糖的保健作用及应用开发(一)[J].中国保健食品,1996,(5):78.

(收稿日期:2001-02-26)