

臭氧处理海水对小球藻蛋白质、氨基酸和碳水化合物含量的影响

王成刚¹ 唐学玺² 郑波² 汤晓华²

(¹ 山东海洋工程研究院 青岛 266071)

(² 青岛海洋大学 266003)

提要 采用臭氧处理的海水培养小球藻,分析了不同生长期小球藻的蛋白质、氨基酸、碳水化合物含量。结果表明,一定剂量的臭氧处理海水可提高小球藻的蛋白质含量,降低碳水化合物的含量,提高氨基酸的绝对含量,鱼类必需氨基酸占所测氨基酸总量比例变化不大。说明该处理有利于小球藻营养价值的提高。

关键词 臭氧,小球藻,蛋白质,氨基酸,碳水化合物

海洋微藻培养的主要用途之一是用于海水鱼、虾育苗的开口饵料、贝类的饵料和饵料动物的饵料,因此,对能够促进微藻生长的培养处理,需要评价该处理对微藻营养组成和营养水平的影响,以确定该处理在海水养殖应用中的取舍。据 Robert L. H. 1984年、孙广明等 1996年报道,一定总氧化剂浓度的臭氧处理的海水对有些微藻有生长促进作用,但对其培养后微藻营养评价,尚未见报道。本实验以高温消毒海水培养的小球藻为对照,对臭氧处理海水培养的小球藻在不同生长阶段的蛋白质、氨基酸、碳水化合物进行了测定,以此对比分析了不同总氧化剂浓度的臭氧处理海水对小球藻营养价值的影响。

1 材料和方法

1.1 实验藻种

选用一种海洋单细胞藻:小球藻(*Chlorella* sp.),藻种取自青岛海洋大学太平角实验场。

1.2 培养方法及条件

海水取自青岛鲁迅公园附近海域。对照组海水经孔径 0.45 μm 醋酸纤维滤膜抽滤、煮沸消毒,冷却后备用;臭氧处理组海水经砂滤、沉淀后,用青岛洁源机

电设备有限公司生产的臭氧发生器(10 g/h)和水气反应罐,通入臭氧分别为 0.5、2.0 min,放置 2 h,用改进的比色法^[1]测定其总氧化剂含量分别为 0.284×10^{-6} 、 0.432×10^{-6} ,立即配成营养液,用于小球藻培养。培养液选用 f/2 营养盐配方^[2]。用于微藻培养的三角瓶,预先在 1 ml/L 的稀盐酸中浸泡数日,蒸馏水冲洗干净后备用。培养条件:光强为 2 500~3 500 lx;光:暗为 14 h:10 h;pH 为 8.0 ± 0.1 ;盐度为 30.0 ± 0.1 ;温度为 25 ± 1 °C。

1.3 测试指标

1.3.1 蛋白质含量的测定 提取液采用 Tris-甘氨酸缓冲液[含 0.6%(W/V) Tris, 2.88%(W/V) 甘氨酸],冰浴中匀浆,在 TGL16 型台式高速离心机上以 15 000 r/min 离心 15 min,上清液即为蛋白质提取液,然后按 Bradford 1976 年的方法进行蛋白质含量的测定。

1.3.2 氨基酸组分及含量的测定 将离心洗涤收集到的单细胞藻烘干后,用 6 ml/L 的盐酸水解,在日立 838-50 型氨基酸自动分析仪上进行测定。

1.3.3 碳水化合物含量的测定 参照袁晓华等 1983 年的萘酚法进行测定^[3]。

2 实验结果

2.1 臭氧处理海水对小球藻蛋白质含量的影响

总氧化剂浓度为 0.284×10^{-6} 和 0.432×10^{-6} 的处理组及对照组实验结果如图 1 所示:臭氧处理对小球藻蛋白质含量有一定的影响, 0.284×10^{-6} 处理组的蛋白质含量比对照组略有提高, 而 0.432×10^{-6} 处理组, 其小球藻蛋白质含量明显高于对照组和 0.284×10^{-6} 的处理组。t 检验表明: 0.432×10^{-6} 的处理组与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 臭氧处理对小球藻组成氨基酸含量的影响

分别在培养的 2, 6 和 12 d 取样, 测定小球藻组成氨基酸含量的变化。结果如表 1 所示:培养 2 d 时, 小球藻的氨基酸组分含量较低, 培养 6 d 时, 氨基酸含量较高, 12 d 时, 氨基酸含量居中。

2.3 臭氧处理海水对小球藻碳水化合物含量的影响

臭氧处理后, 小球藻碳水化合物含量的变化与蛋

白质含量的变化恰好相反, 图 2 显示: 臭氧处理组引起小球藻碳水化合物含量下降, 且随着处理浓度的增加, 下降趋势越加明显。但是在培养的 8 d 过后, 碳水化合物的含量又稍有提高。t 检验知: 在培养的 4~10 d, 处理组与对照组碳水化合物的含量差异显著 ($P < 0.05$)。

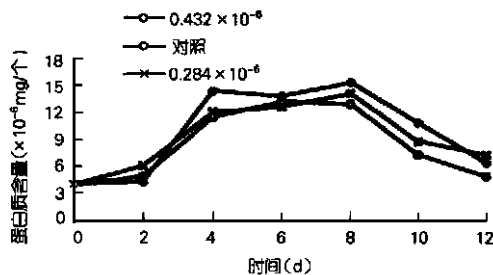


图 1 臭氧处理海水对小球藻蛋白质含量影响
Fig. 1 The effect of ozone treatment on protein content in *Chlorella* sp.

表 1 臭氧处理海水对小球藻组成氨基酸含量的影响

Tab. 1 The effect of ozone treatment on amino acid content in *Chlorella* sp.

氨基酸名称	氨基酸含量(%)								
	总氧化剂浓度(×10 ⁻⁶)								
	0			0.284			0.432		
	2 d	6 d	12 d	2 d	6 d	12 d	2 d	6 d	12 d
天门冬氨酸(ASP)	2.489	2.841	2.511	2.444	2.889	2.507	2.504	3.467	2.499
苏氨酸(THR)	1.304	1.714	1.414	1.501	1.871	1.392	1.212	1.982	1.307
丝氨酸(SER)	0.825	0.831	0.799	0.8111	0.829	0.841	0.734	0.844	0.842
谷氨酸(GLU)	2.937	2.947	3.101	2.643	2.949	3.142	2.834	2.945	2.817
甘氨酸(GLY)	1.394	1.414	1.442	1.534	1.444	1.397	1.511	1.503	1.304
丙氨酸(ALA)	1.730	1.727	1.725	1.901	1.730	1.842	1.673	1.749	1.801
胱氨酸(CYS)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
缬氨酸(VAL)	2.784	2.893	2.811	2.444	2.911	2.900	2.514	2.900	2.724
蛋氨酸(MET)	0.544	0.741	0.548	0.684	0.847	0.448	0.417	0.901	0.498
异亮氨酸(ILE)	0.849	2.049	0.821	1.011	1.947	0.901	0.850	2.141	0.831
亮氨酸(LEU)	1.979	2.444	1.884	2.041	2.518	1.871	2.001	2.493	1.902
酪氨酸(TYR)	0.771	0.814	0.754	0.642	0.844	0.695	0.517	0.839	0.511
苯丙氨酸(PHE)	1.084	1.079	1.182	1.181	1.117	1.084	0.842	1.147	1.174
赖氨酸(LYS)	1.411	1.447	1.541	1.214	1.449	1.711	1.134	1.536	1.321
氨(NH ₃)	0.044	0.051	0.046	0.041	0.051	0.051	0.047	0.053	0.049
组氨酸(HIS)	8.979	8.214	10.001	8.575	8.924	9.896	8.555	8.824	9.017
精氨酸(ARG)	1.712	1.811	1.842	2.042	1.924	1.941	1.801	1.971	1.724
色氨酸(TRP)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
脯氨酸(PRO)	2.041	2.575	2.073	2.156	2.841	2.069	1.972	2.991	1.831
总和	32.886	35.592	34.495	32.865	37.087	34.679	31.118	38.284	32.192

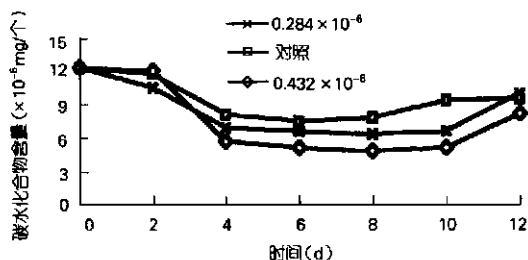


图2 臭氧处理对小球藻碳水化合物含量影响

Fig.2 The effect of ozone treatment on carbohydrate content in *Chlorella* sp.

3 讨论

用不同总氧化剂浓度的臭氧处理海水培养小球藻,小球藻蛋白质、碳水化合物含量表现出不同的反应。总氧化剂浓度 0.432×10^{-6} 处理组,培养起始两天对小球藻呈胁迫作用,蛋白质含量略低于对照组,碳水化合物含量略高于对照组;第4天至第12天的测定数据则显示出对小球藻的促进作用,蛋白质含量平均高于对照组 21.4%,碳水化合物含量平均低于对照组 31.7%;而 0.284×10^{-6} 处理组则在整个培养期间蛋白质含量平均高于对照组 11.6%,碳水化合物含量平均低于对照组 13.0%。这说明一定总氧化剂浓度的臭氧处理海水能够提高小球藻的蛋白质含量,降低碳水化合物的含量,而且稍高总氧化剂浓度的臭氧处理海水对小球藻胁迫较短时间后,更引起了小球藻蛋白质含量的提高和碳水化合物含量的降低。由于蛋白质的营养价值远远高于碳水化合物,所以,可以说臭氧处理海水培养小球藻,提高了小球藻的营养价值,或者说提高了小球藻作为饲料的品质。

为了比较处理组与对照组小球藻的营养价值,作者选用必需氨基酸含量占总氨基酸含量百分比进行探讨。不同的动物种类,其所需必需氨基酸也不尽相同,作者以一般鱼类的10种必需氨基酸^[4](本实验中仅测定9种,色氨酸在酸性条件下水解时被破坏,没有测定)实验测定值和占所测氨基酸总量的百分比,分析处理组与对照组小球藻氨基酸的营养间是否存在差别。实验组小球藻培养2,6,12 d 取样测定结果计算(见表2),所测氨基酸总量和必需氨基酸含量的绝对含量与蛋白质含量变化基本相一致,而所测必需氨基酸占氨基酸总量的百分比则差别很小,培养2,6,12 d 的测定样品与同时对照相比,最多高0.5%,低0.7%,其氨基酸营养价值无明显差别。所以,一定总

氧化剂浓度的臭氧处理海水对小球藻氨基酸营养无不良影响,但氨基酸绝对含量有所提高,故总体营养水平要优于对照组。

表2 不同处理对小球藻氨基酸营养水平的比较

Tab.2 The effect of different treatment on amino acid level in *Chlorella* sp.

处理用浓度($\times 10^{-6}$)	0	0.284	0.432
必需氨基酸总含量(%)	20.646	20.693	19.326
培养2 d 所测氨基酸总含量(%)	32.886	32.865	31.118
含量百分比(%)	62.8	63.0	62.1
必需氨基酸总含量(%)	22.392	23.508	23.897
培养6 d 所测氨基酸总含量(%)	35.592	37.087	38.284
含量百分比(%)	62.9	63.4	62.4
必需氨基酸总含量(%)	22.044	22.144	20.498
培养12 d 所测氨基酸总含量(%)	34.495	34.679	32.192
含量百分比(%)	63.9	63.8	63.6

本次实验,对小球藻的蛋白质、碳水化合物每隔2 d 分析1次,氨基酸含量分别在小球藻生长的延缓期、指数生长期、相对生长下降期的2,6,12 d 取样分析,结果显示,小球藻处于指数生长期,蛋白质含量与氨基酸含量升高,而碳水化合物含量降低,并且生命活动旺盛,其自身各种活性物质应相对较多,用于饵料投喂,效果必然较好。同时,需指出用微藻作为养殖动物饲料,需要在营养方面考虑不同生长期微藻之间的营养差别,有些实验对同种微藻的蛋白质与氨基酸含量分析结果不同^[5],除培养条件、分析方法不同带来差别以外,分析样品微藻的收集时间差异也应是一重要原因。

本实验在小球藻培养阶段,从第3天到第11天,臭氧处理海水比对照组生长速度明显加快,总氧化剂 0.432×10^{-6} 和 0.284×10^{-6} 处理组小球藻的相对增长率比对照组平均高27%和12%。并且该处理培养的小球藻又能提高其营养价值。因此,用臭氧处理海水进行微藻培养应该是一种值得推广应用的好方法。

参考文献

- 1 崔九思,王钦源,王汉平.大气污染监测方法.北京:化学工业出版社,1997.896~899
- 2 梁英,孙世春,魏建功.海水生物饵料培养技术.青岛:青岛海洋大学出版社,1998.47
- 3 袁晓华,杨中汉.植物生理生化实验.北京:高等教育出版社,1983.1~5
- 4 关受江.鱼类营养及饲料学.成都:成都电讯工程学院出版社,1988.14~15

(下转 23 页)

(上接 17 页)

5 王立志,朱友芳,李少菁等.台湾海峡,1999,18(3):297~302

EFFECT OF SEA WATER TREATED WITH OZONE ON CONTENTS OF PROTEIN, AMINO ACIDS AND CARBOHYDRATE IN *Chlorella* sp.

WANG Cheng-gang¹ TANG Xue-xi² ZHENG Bo² TANG Xiao-hua²

(¹ Shandong Marine Science and Technology Academy, Qingdao 266071)

(² Ocean University of Qingdao 266003)

Received: Nov. 23, 2000

Key Words: Ozone, *Chlorella* sp., Protein, Amino acid, Carbo hydrate

Abstract

Effects of sea water treated by ozone on contents of protein, amino acids and carbohydrate were studied in *Chlorella* sp. at the different growth stages. The results showed as follows: A certain dosage of ozone treatment could increase the content of protein and amino acids, but decrease the content of carbohydrate. The proportion of necessary amino acids for fish to the total amino acids in this microalgae did not exhibit significant change compared with control group. Ozone treatment of *Chlorella* sp. could promote the whole nutrient level. (本文编辑:刘珊珊)