

# 盐泽螺旋藻变种的生长和生化特性\*

钱凯先 侯盛颖

(浙江大学生物科学与技术系, 杭州 310027)

**提要** 采用1984年在美国加利福尼亚大学研究和培育成功的盐泽螺旋藻变种, 经扫描电镜、生物量测定和生化分析, 进一步研究其基本特性。结果表明, 其藻丝呈紧密的逆时针向等宽螺旋结构。它在36℃的平均生长速率( $K$ )=0.12, 产量可达48.4g/(m<sup>2</sup>·d)(干重); 蛋白质含量平均为50.47%; 氨基酸17种; 铁超氧化物歧化酶含量为0.05mg/g(鲜重);  $\beta$ -胡萝卜素含量为3.5mg/g(干重)。以上结果证明, 盐泽螺旋藻变种具有优良的性状, 可以应用于大规模生产开发。

**关键词** 盐泽螺旋藻变种 生长速率 蛋白质 超氧化物歧化酶  $\beta$ -胡萝卜素

螺旋藻是一种正在研究开发的新的蛋白质食物来源, 已受到许多国家的重视, 并开始大规模人工培养。迄今, 国内外普遍采用的螺旋藻有两个种, 即: 钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)和极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)(钱凯先, 1986; Ciffrri, 1983; Richmond, 1988)。作为一优良的种类——盐泽螺旋藻变种, 作者曾予以报道(Qian et al., 1984)。本文主要报告盐泽螺旋藻变种的形态、生长速率、蛋白质组成、超氧化物歧化酶及 $\beta$ -胡萝卜素含量等特性, 以期为进一步开发利用这种螺旋藻提供依据。

## 1 材料和方法

盐泽螺旋藻变种(*Spirulina subsalsa* var., *Crassior virieux*), 系作者(Qian)于1984年在美国加利福尼亚大学研究和培育成功的, 藻种现保存于浙江大学细胞工程实验室。

**1.1 扫描电子显微镜样品制备** 将分散成单条的藻丝体置于0.22 $\mu$ m硝化纤维滤膜上, 用缓冲液(0.1mol/L二甲砷酸钠+0.05%CaCl<sub>2</sub>, pH=7.4)冲洗几次后, 在4℃用含2.5%戊二醛的相同缓冲液固定4h, 然后于室温下用1%四氧化锇再固定2h。用30%—100%的乙醇对样品逐级脱水后, 用100%乙醇作为中间液, CO<sub>2</sub>作为流动相进行细胞临界点干燥。在Desk-1型喷镀器中镀上金膜, 并在15kV AMRAY 1200型扫描电子显微镜下观察和摄影。

**1.2 培养条件** 培养基成份(Qian et al., 1984): N, 675 $\times 10^{-6}$ g/L; K, 225 $\times 10^{-6}$ g/L; P, 90 $\times 10^{-6}$ g/L; Mg, 20 $\times 10^{-6}$ g/L; Ca, 5 $\times 10^{-6}$ g/L; Fe, 2 $\times 10^{-6}$ g/L; NaCl, 1g/L; NaHCO<sub>3</sub>, 10g/L, pH=9.2。生长试验时的温度分别以WMZK-01控温仪保持在36℃与26℃。光照强度为4001x。

\*浙江省自然科学基金资助项目, 288254号。钱凯先, 男, 出生于1938年4月13日, 教授。

收稿日期: 1995年8月23日, 接受日期: 1996年3月5日。

**1.3 蛋白质含量** 按克氏定氮法测定(中山大学生物系, 1978)。

**1.4 氨基酸分析** 称取藻体 15mg (干重), 加入 6mol/L HCl 50ml, 置 110℃ 消化 24h。取 1ml 试液以 Backman System 6300 型氨基酸自动分析仪测定氨基酸组成和含量。

**1.5 超氧化物歧化酶的测定** (彭白露等, 1993) 取鲜藻 500g, 在磷酸盐缓冲液 (pH=7.8) 中超声破碎细胞。离心后取上清液, 以 85% 硫酸铵析蛋白质。离心取沉淀, 依次用 DEAE-23, CM-52 柱层析分段洗脱, DEAE-52 柱层析线性梯度洗脱, Sephadex G-75 凝胶过滤柱层析, 获得纯化的 SOD 分离液。按 Bradford 法 (1976) 测定超氧化物歧化酶 (SOD) 蛋白含量。按氮蓝四唑 (NBT) 还原法 (Beauchamp et al., 1971) 测定 SOD 酶活性。

**1.6  $\beta$ -胡萝卜素含量的测定** 按 GB12389-90. 纸层析法 (中华人民共和国卫生部, 1990) 测定。溶剂为丙酮-石油醚混合液 (5:20 V/V), 石油醚同时是展开剂 (沸程 30—60℃)。

## 2 结果与讨论

**2.1 形态特征** 盐泽螺旋藻变种为丝状蓝藻, 无分枝, 丝体呈直线形。在高倍显微镜下清晰可见其丝体缠绕成非常紧密和规则的等宽螺旋, 见图版 I: 1。在扫描电子显微镜下, 见其丝体呈紧密的逆时针方向螺旋结构 (图版 I: 2)。这种形态特征与钝顶螺旋藻和极大螺旋藻宽松的 S-形螺旋状丝体形态具有显著差异。

**2.2 生长速率** 试验起始的藻体接种量为 0.1280g/L。在 26℃, 经 9d 生长繁殖, 重量增至 1.0640g/L, 平均每天增加 0.1040g/L, 总共增加 7.3 倍; 平均生长速率  $K_1=0.10$  (按公式  $K=\log \frac{N}{N_0}$  计算, 其中,  $N$  为终细胞生物量,  $N_0$  为始细胞生物量)。

而在 36℃, 经 9d 生长繁殖, 重量增至 1.4360g/L, 平均每天增长 0.1453g/L, 增加约 10 倍; 平均生长速率  $K_2=0.2$ 。它们的生长曲线示于图 1。(以上均为干重)

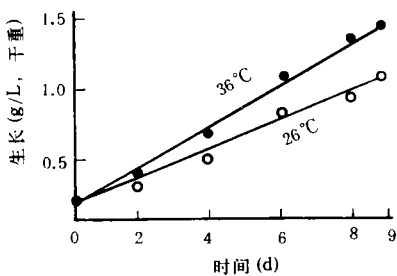


图 1 盐泽螺旋藻变种在不同温度下的生长曲线

Fig.1 The growth curves of *Spirulina subsalsa* var. under different temperatures

根据以上生长速率进行推算, 盐泽螺旋藻变种在 26℃ 的产量为 34.7g/(m<sup>2</sup>·d), 即其年产量可能达到 12.5kg/m<sup>2</sup>; 而在 36℃ 的产量为 48.4g/(m<sup>2</sup>·d), 即其年产量可能达到 17.4kg/m<sup>2</sup>。以色列在夏季高温条件下, 钝顶螺旋藻的产量达 40g/(m<sup>2</sup>·d)(Ciffri, 1983), 即其年产量有可能达到 14.4kg/m<sup>2</sup>。相比之下, 盐泽螺旋藻变种的产量比钝顶螺旋藻略高。(以上均为干重)

**2.3 蛋白质含量** 盐泽螺旋藻变种分别在 26℃ 和 36℃ 下生长时, 其蛋白质含量无明显差异, 分别占藻体干重的 50.64% 和 50.30% (表 1)。根据各国对钝顶螺旋藻和极大螺旋藻的研究报道,

它们的蛋白质含量最高值为 50%—70% (Richmond, 1988), 比盐泽螺旋藻变种的蛋白质含量略高。

表1 盐泽螺旋藻变种的蛋白质含量 (%)

Tab.1 The protein content of *Spirulina subsalsa* var. (%)

项 目	26 ℃			36 ℃		
	No. 1	No. 2	No.3	No. 1	No. 2	No.3
蛋白质	49.31	50.64	51.99	50.89	51.05	48.96
平均值	50.64			50.30		

**2.4 氨基酸组成及含量** 对盐泽螺旋藻变种蛋白质的氨基酸分析表明, 当其分别生长在 26 ℃ 和 36 ℃ 时, 17 种氨基酸的含量无明显差异 (表 2)。生长在 36 ℃ 的藻体比生长在 26 ℃ 的除了蛋氨酸、酪氨酸及苯丙氨酸含量略低之外, 其它的氨基酸含量均略高。

表2 盐泽螺旋藻变种的氨基酸组成和含量

Tab.2 The composition and content of amino acids of *Spirulina subsalsa* var.

组 成	含 量 (%)		组 成	含 量 (%)	
	36 ℃	26 ℃		36 ℃	26 ℃
精氨酸	3.266	3.174	蛋氨酸	1.508	1.593
天冬氨酸	4.364	4.164	异亮氨酸	2.669	2.628
苏氨酸	2.550	2.491	亮氨酸	3.988	3.917
丝氨酸	2.528	2.421	酪氨酸	2.278	2.327
谷氨酸	6.147	5.736	胱氨酸	0.988	0.902
脯氨酸	2.473	2.430	苯丙氨酸	2.402	2.487
甘氨酸	2.738	2.685	组氨酸	1.904	1.842
丙氨酸	3.928	3.701	赖氨酸	2.424	2.338
缬氨酸	2.873	2.859			

**2.5 超氧化物歧化酶含量** 盐泽螺旋藻变种粗蛋白提取液经盐析和各级柱层析分离后, 获得纯化的 SOD, 其比活测定值为 5577.7U/mg。每 g 鲜藻中, 含 SOD 0.05mg。经原子吸收光谱分析, 证明这种 SOD 所结合的金属元素是铁, 即为 Fe-SOD。

**2.6  $\beta$ -胡萝卜素含量** 1g 藻体 (干重) 的丙酮: 石油醚萃取液, 经纸层析分离所得  $\beta$ -胡萝卜素溶液的吸光值  $A_{450nm}=0.292$ 。对照标准曲线求出的每 g 藻体 (干重) 实际含量为 3.5mg, 即每 kg 藻体含  $\beta$ -胡萝卜素 3500mg。而钝顶螺旋藻的  $\beta$ -胡萝卜素含量为 1700mg/kg (Richmond, 1988), 仅为盐泽螺旋藻变种含量的 1/2。

### 3 结论

综上所述, 盐泽螺旋藻变种具有优良的生长和生化性状, 它特别适于温暖条件下大量培养, 是继钝顶螺旋藻和极大螺旋藻后, 被研究证明为又一种很有开发希望的螺旋藻。

## 参 考 文 献

- 中山大学生物系, 1978, 生化技术导论, 人民教育出版社(北京), 34—35.
- 中华人民共和国卫生部, 1990, 中华人民共和国国家标准, GB12389—90.
- 钱凯先, 1986, 世界农业, 5: 42—44.
- 彭白露、钱凯先, 1993, 浙江大学学报, 27(3): 348—353.
- Beauchamp, C. O. and Fridovich, I., 1971, *Anal Biochem*, 44: 276—287.
- Bradford, M. M., 1976, *Anal Biochem*, 72: 248—254.
- Ciffrri, O., 1983, *Microbiological Reviews*, 47(4): 551—578.
- Qian Kaixian et al., 1984, *Genetic Engineering*, 6: 309—318.
- Richmond, A., 1988, *Micro-algal Biotechnology*, ed. by Borowitzka, M. A., Cambridge University Press (Cambridge), pp. 85—121.

## THE GROWTH AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF *SPIRULINA SUBSALSA* VAR.

Qian Kaixian, Hou Shengying

(Department of Bioscience and Technology, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

**Abstract** Some growth and biochemical characteristics of *Spirulina subsalsa* var. *Crassior virieux* determined by Qian et al. in their research by scanning electron microscopy, growth rate measurements, and biochemical analyses at the University of California, San Diego in 1984. The procedures for biochemical analysis included determination of the composition and content of amino acids by Backman autoanalyzer, the purification, content, and activity of superoxide dismutase (SOD) by column chromatography, Bradford's method (1976), and Beauchamp's method (1971) respectively, the content of  $\beta$ -carotene by paper chromatography. Results showed that the trichome was twined into a tight and equally wide anti-clockwise helix very different in morphology from *Spirulina platensis* and *Spirulina maxima*. The biomass of this alga increased about 10 fold (from 0.1 280 g/L to 1.4 360 g/L) in nine days under in temperature of 36 °C, that is, the growth rate ( $K$ ) was 0.12. The yield of this alga at 36 °C may reach 48.4 g/(m<sup>2</sup> · d) (dry weight), while that of *Spirulina platensis* may be as high as 40 g/(m<sup>2</sup> · d) under warm conditions. The protein content was 50.47% algal dry weight. Seventeen kinds of amino acids were measured; the content of Fe-SOD was 0.05 g/g (algal fresh weight) and the SOD activity value was 5 577.7 U/mg; the content of  $\beta$ -carotene was 3.5 mg/g (algal dry weight) twice that of *Spirulina platensis*. The study results indicated that *Spirulina subsalsa* var.

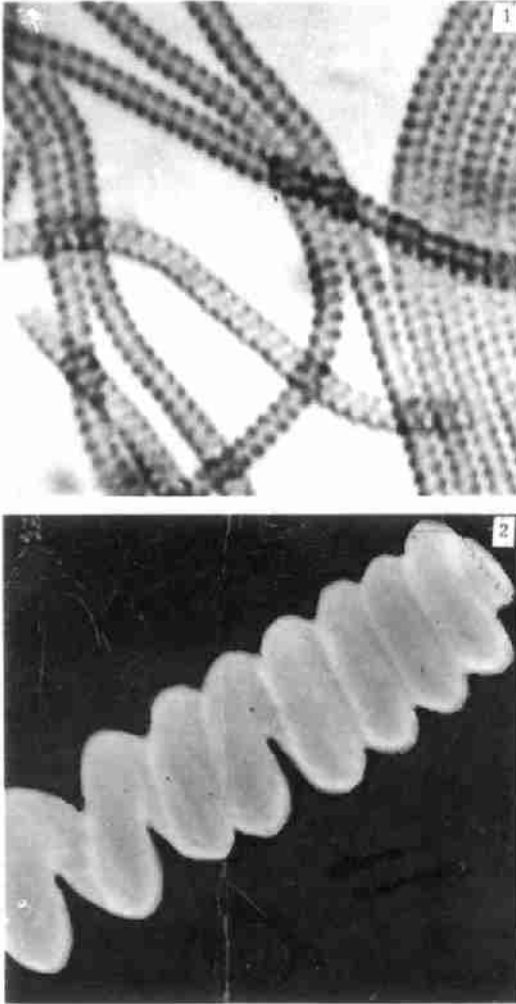
is a promising species for mass culture.

**Key words** *Spirulina subsalsa* var. Growth rate Protein Superoxide  
dismutase  $\beta$ -carotene

\*\*\*\*\*

## 《海洋与湖沼》学报历年获奖目录

- |       |                                       |     |
|-------|---------------------------------------|-----|
| 1988年 | 山东省科协优秀科技期刊                           | 一等奖 |
| 1990年 | 中国科学院优秀自然科学期刊                         | 二等奖 |
| 1991年 | 山东省科委、山东省新闻出版局、山东省科协<br>优秀科技期刊(总分第一名) | 一等奖 |
| 1992年 | 中国科学院优秀科技期刊                           | 二等奖 |
| 1992年 | 中国科协优秀科技期刊                            | 一等奖 |
| 1992年 | 国家科委、中宣部、国家新闻出版总署优秀科技期刊               | 二等奖 |
| 1993年 | 华东区优秀科技期刊                             | 一等奖 |



图版 I 盐泽螺旋藻变种形态

Plate I The morphological Character of *Spirulina subsalsa* Var.

1. 显微镜观察结果,  $\times 1800$ ; 2. 扫描电镜观察结果,  $\times 12000$ 。