

盐生隐杆藻胞外多糖含量的影响因子

欧 瑜

刘志礼

(南京农业大学理学院生化室, 南京 210095) (南京大学生物科学与技术系, 南京 210093)

Several factors influencing exopolysaccharide contents of *Aphanothece halophytica* Ou Yu (Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095), Liu Zhi-Li (Nanjing University, Nanjing 210093), *J. Plant Resour. & Environ.* 1997, 6(2): 58~60

The effects of culture time, concentration of NaCl, CaCl₂, MgSO₄ and pH value in medium on the growth and exopolysaccharide contents of *Aphanothece halophytica* Fremy were determined. The results showed that the alga produced a large amount of exopolysaccharide during the late logarithmic phase. NaCl levels had evident effect on the growth and exopolysaccharide contents. CaCl₂, MgSO₄ levels and pH value in medium had effects in different degrees. When concentration of NaCl, CaCl₂ and MgSO₄·7H₂O in medium were 1~1.5 M, 0.5 g/l, and 5 g/l respectively, the exopolysaccharide content was twice as much as that produced in the basic medium during the late logarithmic phase.

关键词 盐生隐杆藻; 胞外多糖

Key words *Aphanothece halophytica* Fremy; exopolysaccharide

盐生隐杆藻属蓝藻门(Cyanophyta)色球藻目(Chroococcales),是盐田常见微藻,它生长迅速,不易被污染,具有良好的开发前景。在盐田及实验室中均发现它在生长过程中能使其培养液变得很粘稠,经分离纯化鉴定为一种水溶性多糖(文中以EP表示),其粘度较大,可应用于食品和医药化妆品工业,作为增稠剂、润滑剂等。国内外对盐生隐杆藻多糖的研究尚少见。本文研究了培养时间,某些培养液成分及培养液pH值对盐生隐杆藻生长量及胞外多糖含量的影响,供开发利用参考。

1. 材料与方 法

1.1 材 料

盐生隐杆藻(*Aphanothece halophytica* Fremy)系从山东省广饶盐田中分离纯化所得。

1.2 方 法

1.2.1 基本培养液^[1](g/l) NaCl 116.88, KCl 2.0, MgCl₂·6H₂O 10.5, MgSO₄·7H₂O 10.0, Ca(NO₃)₂·4H₂O 1.0, NaNO₃ 0.5, KH₂PO₄ 0.05, FeCl₃·6H₂O 0.003, Na₂EDTA·2H₂O 0.0023, A₅ 1 ml/l, B₆ 1 ml/l。用 1N NaOH 调 pH 至 7.8。

1.2.2 培养条件 吸取对数生长期藻种于基本培养液中培养,使初始OD₅₆₀(相对生长量)为0.08,光强 4 000 lux,温度 26~32℃,充气搅拌。

1.2.3 盐生隐杆藻生长量的测定 721 分光光度计测定培养液在 560 nm 下的 OD 值。

1.2.4 pH 测定 用 PHS-3C 型酸度计测定。

1.2.5 多糖含量的测定 精密配制梯度的葡萄糖标准溶液,用苯酚-硫酸法在 490 nm 测光密度,绘制标准曲线。摇匀藻液,吸取 5 ml, 4 000 rpm 离心 20 min,取适量上清液,加入 2 倍体积的无水乙醇,4 000 rpm 离心 15 min 后倾去上清液,沉淀溶于 2 ml 水中,用苯酚-硫酸法测定,记录 OD₄₉₀ 值,查标准曲线,计算多糖含量。

2. 结果和讨论

2.1 培养时间对生长量及胞外多糖含量的影响

间隔时间取样,测定盐生隐杆藻相对生长量及胞外多糖含量。结果表明(表1),胞外多糖含量与藻的生长期相关。对数生长前期,胞外多糖含量低,在对数生长后期,胞外多糖大量产生。有报道认为,蓝藻和红藻对对数生长后期到静止期胞外多糖产率最高^[2-4],本实验的结果和其基本一致,说明胞外多糖是由成熟细胞大量合成并分泌到培养液中的。

2.2 NaCl 对胞外多糖含量的影响

改变培养液中 NaCl 浓度,培养 20 d 后分别测定藻的生长量及胞外多糖含量,结果表明(表2),培养液中 NaCl 浓度低(0.5~1 M)时,胞外多糖产量高,随着 NaCl 浓度的增加,胞外多糖的产量下降,但在中等浓度 NaCl(2 M)下,藻的相对生长量最高。

2.3 CaCl₂对胞外多糖含量的影响

在含不同浓度的 CaCl₂培养液中培养 20 d 后,分别测定藻的生长量和胞外多糖含量,结果表明(表3),培养液中 CaCl₂浓度对藻的生长量影响较小,适量的 CaCl₂(0~0.75 g/l)能促进胞外多糖的产生,浓度过高则有抑制现象。

表2 NaCl对隐杆藻胞外多糖含量的影响

Tab 2 Effect of different NaCl levels in the medium on esopolysaccharide (EP) content of *Aphanothece halophytica*

NaCl 浓度(M) Concentration of NaCl	OD ₅₆₀	EP(mg/100ml)
0.5	0.61	7.03
1	0.82	7.94
2	1.03	6.28
3	0.63	2.76
3.5	0.35	1.21

表1 不同培养时间对盐生隐杆藻相对生长量(OD₅₆₀)及胞外多糖(EP)含量的影响

Tab 1 Effects of the varying culture time on OD₅₆₀ and exopolysaccharide (EP) content of *Aphanothece halophytica*

培养天数 Days	OD ₅₆₀	EP (mg/100ml)
0	0.08	0.09
5	0.32	0.36
10	0.69	1.04
15	0.93	3.08
20	1.24	6.08
25	1.35	12.0
35	1.55	16.1

表3 CaCl₂对隐杆藻胞外多糖含量的影响

Tab 3 Effect of different CaCl₂ levels in the medium on esopolysaccharide (EP) content of *Aphanothece halophytica*

CaCl ₂ 浓度(g/l) Concentration of CaCl ₂	OD ₅₆₀	EP(mg/100ml)
0	0.99	5.23
0.25	0.97	5.41
0.50	1.15	6.88
0.75	1.17	5.44
1.25	1.15	5.00

2.4 MgSO₄对胞外多糖含量的影响

在含不同浓度的 MgSO₄培养液中培养 20 d 后的测定结果表明(表4),MgSO₄对胞外多糖分泌的促进作用与 CaCl₂相似,但也限制在一定的浓度范围内。

Ca²⁺和 Mg²⁺对多糖合成的促进作用在细菌、真菌和藻类多糖的研究中早已发现,有人认为它们起了促进多糖合成酶的作用^[5]。本实验发现 Ca²⁺和 Mg²⁺与盐生隐杆藻多糖合成都有相关性。适宜浓度的 Ca²⁺和 Mg²⁺可能促进了藻细胞合成胞内多糖而使胞外多糖产量增加。

2.5 培养液起始 pH 值对胞外多糖含量的影响

改变培养液起始 pH 值培养藻 20 d 后测定结果表明(表5),pH 的变化对藻的生长量影响不大,但 pH 值升高,胞外多糖的产量有所增加。

表4 MgSO₄对隐杆藻胞外多糖含量的影响Tab 4 Effect of varying MgSO₄ levels in the medium on esopolysaccharide (EP) content of *Aphanothece halophytica*

MgSO ₄ ·7H ₂ O 浓度 (g/l) Concentration of MgSO ₄ ·7H ₂ O	OD ₅₆₀	EP (mg/100ml)
0	0.98	5.12
5	1.02	6.60
10	1.08	6.26
15	1.05	5.28
20	0.96	3.59

表5 培养液起始 pH 值对隐杆藻胞外多糖含量的影响

Tab 4 Effect of different pH values in medium on esopolysaccharide (EP) content of *Aphanothece halophytica*

培养液 pH 值 pH values in medium	OD ₅₆₀	EP (mg/100ml)
6	0.97	4.92
7	1.08	5.40
8	1.05	6.16
9	0.96	5.96
10	0.92	5.84

根据以上各单因子的研究结果,选择产多糖最适条件(NaCl 1M, CaCl₂ 0.5 g/l, MgSO₄·7H₂O 5 g/l, 其它同基本培养液),培养盐生隐杆藻 25 d,同时以基本培养液作对照,结果表明:在产多糖最适条件下胞外多糖产量(12.92 mg/100ml)约为在基本培养液条件下(6.20 mg/100ml)的 2 倍。由此可见,培养时间和培养液成分对盐生隐杆藻胞外多糖产量有很大影响,在研究开发该多糖时应注意这一问题。

参 考 文 献

- Tindall D R, Yopp J H, Miller D M *et al.* Physico-chemical parameters governing the growth of *Aphanothece halophytica* in hypersaline media. *Phycologia*, 1978, 17(2): 179~185.
- Lewin R A. The extracellular polysaccharides of green alga. *Can J Microbiol*, 1956, 2: 665~672.
- Ramus J. The production of extracellular polysaccharide by the unicellular red alga *Porphyridium aeruginum*. *J Phycol*, 1972, 8: 97~111.
- Kroen W K. Influence of growth status and matrients on extracellular polysaccharide synthesis by the soil alga *Chlamydomonas mexicana* (Chlorophyceae). *J Phycol*, 1984, 20: 253~257.
- Corpe W A. Factors influencing growth and polysaccharide formation by strains of *Chromobacterium violaceum*. *J Bacteriology*, 1964, 5: 1433~1441.

(责任编辑:惠 红)

(上接第 57 页)

(1) 在悬钩子果实的挥发性成分中,甲氧基次乙基乙酸酯、乙酸乙酯、 α -蒎烯、 β -蒎烯、苈烯、桉烯、柠檬烯、对-伞花烃、萜品醇、芳樟醇及其氧化物等可能是悬钩子类果实主要的香味成分。

(2) 悬钩子类果实中挥发性成分含量很低,应同时采用水蒸汽蒸馏法和乙醚浸提法测定。前者收集的主要是脂肪族化合物,它们同悬钩子果实嗅觉上的香气关系密切。后者收集的主要是萜类化合物,它们在修饰香气的同时可能同味觉上的香味关系更大。

(3) 悬钩子果实,即使是香味最浓郁的蓬蘽果实,作为香料原料开发利用的价值也很小,但是通过研究其挥发性成分可能为优良果实品质和抗病虫害种质的寻找和筛选提供线索。

参 考 文 献

- Heller S R, Georg W A. EPI/NIH Mass Spectral Data Base, Vol. 1~4, Washington: U. S. Government Printing Office, 1980.
- Stenhagen E, Abrahamson S, McLafferty F W. Registry of mass spectral data, Vol. 1~4. New York: Wiley-Interscience Publication, 1974.

(责任编辑:许定发)