



## 海洋天然色素—— $\beta$ -胡萝卜素提取及杜氏藻中有关营养成分的测定

孙福璋 贾磊 贺君

(烟台大学, 264000)

作者自 1982 年以来,与青岛海洋大学等单位开展杜氏藻的培养、 $\beta$ -胡萝卜素积累的机理及有关营养成分的测定,其情况如下:

### I. 实验材料和方法

#### I.1. 材料

I.1.1. 藻种 *Dunallia Salina* 购于青岛海洋大学; NaOH、甲醇、无水乙醚、丙酮、石油醚皆为化学纯,氧化镁为分析纯。

I.1.2. 主要仪器 毛细气相色谱仪 (GC-9A/9AM), 721 分光光度计 (上海分析仪器厂), 真空干燥箱, 恒温水浴。

#### I.2. 方法

I.2.1. 藻类的培养 天然海水过滤加入适量的  $MgSO_4$ ,  $KNO_3$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $FeCl_2$ ,  $CaCl_2$  等, 除去杂菌和杂藻, 温度控制在  $28\sim 30^\circ C$  左右, 采用全天光照, 每瓶 1000mL, 培养 40d, 具体方法如表 1。

表 1 盐生杜氏藻的培养成分

| 名称   | mol/L   | 名称         | mmol/L | 名称        | $\mu mol/L$ |
|------|---------|------------|--------|-----------|-------------|
| NaCl | 0.1~5.0 | $KH_2PO_4$ | 0.2    | EDTA      | 30.0        |
|      |         | $MgSO_4$   | 5.0    | $FeCl_3$  | 1.5         |
|      |         | $CaCl_2$   | 0.3    | $NaHCO_3$ | 50.0        |
|      |         | $KNO_3$    | 5.0    |           |             |

#### I.2.2. $\beta$ -胡萝卜素的提取

藻体干重 100g  $\xrightarrow[1h, 60^\circ C]{\text{加 } 100mL 4\% NaOH \text{ 甲醇液}}$  皂化  $\rightarrow$   
 萃取液  $\xrightarrow{\text{加 } 100ml \text{ 无水乙醚}}$  分层  $\xrightarrow{\text{异去水层}}$   
 含有  $\beta$ -胡萝卜素的醚层  $\xrightarrow[\text{(每次 } 100mL \text{ 蒸馏水)}]{\text{水洗 } 3 \text{ 遍}}$   
 $\beta$ -胡萝卜素提取液  $\xrightarrow[50\sim 60^\circ C, \text{ 浓缩至体积为 } 30\sim 40mL]{\text{真空浓缩}}$   
 浓缩液  $\rightarrow$  柱层析 (氧化镁柱)  
 石油醚: 丙酮 = 7:3 洗脱  $\xrightarrow[50\sim 60^\circ C]{\text{真空浓缩}}$  洗脱液  
 浓缩至膏状物  $\xrightarrow[60^\circ C]{\text{真空干燥}}$   $\beta$ -胡萝卜素粗品 6g  $\rightarrow$   
 第二次柱层析 (氧化镁柱)  $\xrightarrow[\text{洗脱}]{\text{用石油醚: 丙酮 (7:3)}}$   
 洗脱液  $\xrightarrow{\text{真空浓缩}}$  膏状物  $\xrightarrow[60^\circ C]{\text{真空干燥}}$  精品 (3.45g)

收率为 3.45%。

#### I.2.3. 营养成分的测定方法

A. 蛋白质的测定: 采用微量凯氏定氮法。

B.  $\beta$ -胡萝卜素的测定: 采用 721 分光光度法。

C. 脂肪的测定: 采用索氏提取法。

D. 氨基酸组成的分析: 采用气相色谱法。

E.  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , P 的测定: 采用原子吸收光谱法。

F.  $V_C$  的含量测定: 采用 2, 6-二氯酚靛酚染色法。

## II. 实验结果

### II.1. 通常培养条件下的实验结果

见表 2。

表 2 每 100g 盐生杜氏藻干品  $\beta$ -胡萝卜素含量

| 序 号           | 1    | 2    | 3    | 平均   |
|---------------|------|------|------|------|
| $\beta$ -胡萝卜素 | 3.08 | 3.56 | 3.75 | 3.46 |

### II.2. 不同浓度 NaCl 对盐生杜氏藻的生长、 $\beta$ -胡萝卜素及蛋白质含量的影响

结果见表 3。

表 3 说明 NaCl 浓度在 2.30mol/L 时生长最好,而 NaCl 浓度在 3.13mol/L 时  $\beta$ -胡萝卜素含量最高。

### II.3. 通气培养对盐生杜氏藻生长的影响

结果见表 4。

表 3 培养在不同 NaCl 浓度中的盐生杜氏藻的藻体干重、胡萝卜素及蛋白质含量

| 序 号               | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 类 别               |       |       |       |       |       |       |       |       |
| NaCl (mol/L)      | 0.40  | 1.64  | 2.30  | 2.78  | 3.13  | 3.61  | 4.21  | 6.01  |
| 藻干重 (g)           | 0.095 | 0.490 | 0.554 | 0.290 | 0.290 | 0.271 | 0.131 | 0.093 |
| $\beta$ -胡萝卜素 (g) | 0.003 | 0.012 | 0.013 | 0.020 | 0.032 | 0.008 | 0.007 | 0.004 |
| $\beta$ -胡萝卜素(%)  | 3.15  | 2.44  | 2.35  | 6.89  | 11.03 | 2.95  | 5.34  | 4.30  |
| 蛋白质含量(%)          | 37.46 | 56.45 | 34.26 | 34.02 | 51.95 | 43.89 | 49.83 | 39.20 |

表 4 通气培养对盐生杜氏藻干重增长的影响

| 序 号        | 藻体重 (mg) | 间断通气体重 | 不通入空气体重 |
|------------|----------|--------|---------|
| 1          | 475.00   |        | 116.05  |
| 2          | 483.12   |        | 126.05  |
| 3          | 467.10   |        | 118.34  |
| 平均藻干重 (mg) | 475.07   |        | 120.15  |

表 4 说明在其他条件相同时,通气比不通气长的好。

### II.4. 杜氏藻中营养成分的测定

II.4.1. 杜氏藻中的营养成分与奶粉的营养成分进行比较见表 5。

从表 5 可以看出盐生杜氏藻含有  $\beta$ -胡萝卜素、蛋白质、V<sub>C</sub> 都比奶粉高。

II.4.2. 杜氏藻蛋白与奶粉蛋白质中的氨基酸进行比较,见表 6。

从表 6 可以看出杜氏藻中的氨基酸种类和含量与奶粉中蛋白质氨基酸含量、种类相似。

II.4.3. 杜氏藻与奶粉中 Ca, P 和 Zn 等微量元素的比较,见表 7。

通过表 7 说明杜氏藻中 Ca, Zn, P 含量比奶粉高。

表 5 杜氏藻的营养成分与全脂奶粉比较\*

| 样 品   | 成 分 | 水 分 (%) | 蛋 白 质 (%) | 脂 肪 (%) | 总碳水化合物 (%) | 灰 分 (%) | $\beta$ -胡萝卜素 (%) | V <sub>C</sub> (%) | 总 重 (g) |
|-------|-----|---------|-----------|---------|------------|---------|-------------------|--------------------|---------|
| 杜 氏 藻 |     | 3.40    | 38.76     | 9.94    | 15.32      | 16.82   | 11.38             | 4.38               | 100     |
| 全脂奶粉  |     | 2.10    | 25.62     | 17.46   | 49.66      | 5.16    | 未测出               | 未测出                | 100     |

\* 选用 NaCl 浓度为 3mol/L, 培养 3 个月的藻体。

表6 盐生杜氏藻与奶粉中蛋白质的氨基酸比较

| 样 品 \ 氨基酸 (%) | Ala   | GLy   | Thr   | Ser   | Val   | Ieu   | Ile   | Pro   |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 杜 氏 藻         | 1.898 | 1.513 | 1.456 | 1.696 | 1.792 | 2.175 | 1.307 | 1.158 |
| 奶 粉           | 0.575 | 0.328 | 0.911 | 1.270 | 1.380 | 1.700 | 0.944 | 2.306 |

  

| 样 品 \ 氨基酸 (%) | Met   | Lys   | Tyr   | Glu   | Arg   | phe   | Asp   |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 杜 氏 藻         | 0.335 | 1.464 | 0.994 | 4.183 | 7.893 | 1.548 | 3.750 |
| 奶 粉           | 0.380 | 2.215 | 0.808 | 4.583 | —     | 0.973 | 1.483 |

注: Cys 由于气相色谱的原因测不出, Trp 因用酸水解全部破坏测不出。

表7 杜氏藻和奶粉中 Ca, P, Zn 的含量比较

| 样 品 \ 元 素 | Ca (%) | P (%) | Zn (%) |
|-----------|--------|-------|--------|
| 杜氏藻       | 0.738  | 0.210 | 0.012  |
| 奶 粉       | 0.629  | 0.039 | 0.003  |

### III. 讨论

III.1. 杜氏藻是一种营养丰富的单细胞藻类, 蛋白质含量达干重的 50% 左右, 脂肪为 9.16%。同时含有较高的 Ca, P, Zn; 其蛋白质中所含氨基酸种类和数量可与奶粉相比, 但它却比蛋白质含有较多的  $\beta$ -胡萝卜素和 V<sub>C</sub>。所

以是天然色素- $\beta$ -胡萝卜素的源泉, 其营养价值有待进一步研究开发。

III.2. 目前可用海水浓缩方法户外大量养殖盐生杜氏藻以降低成本, 但其产量、微生物污染等问题有待进一步研究。

III.3. 通过抑制  $\beta$ -胡萝卜素水解酶和激活  $\beta$ -胡萝卜素合成酶的活性来提高  $\beta$ -胡萝卜素的积累。但其有关的抑制剂和激活剂有待进一步研究。

### 主要参考文献

- [1] 李青选, 1988. 海洋世界 3: 22.
- [2] E. W. Becker, 1982. 藻类大量的培养~生产与利用. 应用微生物 4: 19~26.