

# 硒在极大螺旋藻细胞中的分布特点及对生化组成的影响

张跃平<sup>1</sup>, 王大志<sup>2</sup>, 高亚辉<sup>3</sup>, 程兆第<sup>3</sup>

(1. 福建海洋研究所, 福建 厦门 361012; 2. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 3. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 研究了极大螺旋藻(*Spirulina maxima*) 在实验室培养和规模化中试培养条件下, 在其培养基中添加  $20 \times 10^{-6} \text{Na}_2\text{SeO}_3$  后, 硒在其细胞中的分布特点及对生化组成的影响。结果表明, 硒在细胞中的质量比可达  $126.7 \mu\text{g/g}$  (实验室培养), 甚至高达  $606.5 \mu\text{g/g}$  (中试培养), 其中主要分布于细胞中的蛋白质中, 占总硒的 69.4% (实验室培养), 甚至可达 94% (中试培养), 比对照组增长了 33.4%; 糖类和脂类中硒仅占小部分, 糖类 1.4%, 脂类 2.7%~3.5%。 $20 \times 10^{-6} \text{Na}_2\text{SeO}_3$  的存在没有影响极大螺旋藻的生长, 生物量反而提高了 6.0%; 其中糖类提高了 49.6%, 脂类 25.0%, 但蛋白质下降了 11.1%。

**关键词:** 硒; 极大螺旋藻(*Spirulina maxima*); 分布; 生化组成

中图分类号: Q949.22 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096 (2007) 02-0031-04

螺旋藻(*Spirulina*) 是一种单细胞丝状蓝藻。它是目前人类已知的蛋白质含量及品质最高的食品, 富含人体和动物不能自身合成的赖氨酸、苏氨酸、色氨酸、蛋氨酸等必需氨基酸。联合国粮农组织(FAO)以“人类明天最理想的食物”向全世界推荐发展螺旋藻。此外由于螺旋藻具有降低胆固醇含量, 增强人体免疫能力, 调节生理节律, 以及抗衰老、抗肿瘤、抗辐射等功效, 被誉为 21 世纪人类最理想的保健食品<sup>[1]</sup>。

在动物和人体中, 硒是一种必需的微量营养素, 它在维持正常细胞内抗氧化保护机制的平衡方面具有重要作用, 以硒代半胱氨酸的形式存在的硒被同化到谷胱甘肽过氧化物酶的活性部位, 这种酶可催化谷胱甘肽的活性, 从而减少  $\text{H}_2\text{O}_2$  和有机的超氧化, 包括脂肪酸的氧化, 因而起到降低超氧化、保护细胞免受氧化伤害的作用, 从而达到保护生物膜、清除自由基等生物学功能<sup>[2]</sup>。另外, 它还具有抗癌、抗衰老、增进免疫力等功效<sup>[3,4]</sup>。但研究表明, 无机硒的毒性较大, 只有将无机硒转化为有机硒, 才能提高硒的利用价值。

由于人工合成有机硒技术难度大, 成本高, 因而不少学者对利用动植物的吸收、转化作用获取有机硒进行了研究<sup>[5-7]</sup>。近年来, 利用藻类的吸收转化作用来生产有机硒的研究引起了人们的兴趣。研究表明, 藻类如螺旋藻、盐藻等在其生长过程中能吸收累积一定量的硒并将之结合到细胞的大分子物质中,

将无机形式的硒转化为有机形式<sup>[8-10]</sup>。作者通过在螺旋藻的培养基中添加无机硒以获得有机硒试验, 研究硒在极大螺旋藻细胞中的分布特点及对生化组成的影响, 为螺旋藻的高功效利用和有机硒的深度开发提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 藻种

实验所用极大螺旋藻(*Spirulina maxima*) 为本实验室保存种。藻种保存温度  $27^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , 光照强度 3 500 lx 左右, 光暗周期 L: D 为 12 h: 12 h。所用培养基为 Zarrouk 液体培养基。

### 1.2 富硒螺旋藻的实验室培养

取  $2 \times 3$  只经高温消毒过的  $250 \text{ cm}^3$  三角烧瓶, 其中 3 个作为对照组, 另 3 个作为实验组, 每个各加入经上述藻种扩大的新鲜藻液  $200 \text{ cm}^3$ , 实验组加入  $20 \times 10^{-6} \text{Na}_2\text{SeO}_3$ , 对照组不加, 置于恒温箱培养, 水温控制在  $30^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 光照强度 3 500 lx 左右, 光暗周期 L: D 为 12 h: 12 h。经 6 d 的培养, 将各组 3 瓶

收稿日期: 2004-04-29; 修回日期: 2004-12-23

基金项目: 福建省政府重中之重专项基金资助项目

作者简介: 张跃平(1971-), 男, 福建惠安人, 助理研究员, 从事水产养殖及底栖生态研究, E-mail: ypzhang8@126.com 或 zhangyueping2000@yahoo.com.cn

藻液合在一起,用 300 目的筛绢过滤浓缩,用去离子水冲洗 3~5 遍,将藻泥置于 60℃ 恒温箱中烘干,用研钵将其磨细备用。

### 1.3 富硒螺旋藻的规模化中试培养

实验在厦门同安凤南螺旋藻养殖基地的标准 3 m<sup>3</sup> 的培养池(长椭圆形开放式浅水道,高 60 cm,面积 5 m<sup>2</sup>) 中进行。对照组为 Zarrouk 液体培养基,实验组为在 Zarrouk 液体培养基加入  $20 \times 10^{-6}$  Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>。培养体积 1.5 m<sup>3</sup>,培养期间天气晴朗,培养温度约 26~33℃ 左右。将处于指数生长期的螺旋藻接种入培养池,培养 7 d 后用孔径 300 目的尼龙筛绢过滤收集,藻泥用自来水冲洗 3~5 次。所得藻泥在 60℃ 烘干,用研钵将样品磨细备用。

### 1.4 有机化合物的提取和测定

脂类的提取采用改进的 Bligh 等<sup>[11]</sup>的方法,蛋白质及氨基酸 碳水化合物的提取采用 Gary 等<sup>[12]</sup>的方法。准确称取一定量的螺旋藻干粉,用冷的氯仿:甲醇混合液(φ(氯仿):φ(甲醇)=1:1)提取 2 次,经离心、分液萃取,脂类用氮气吹干后,称质量;沉淀用冷的 6% 三氯醋酸(TCA)提取两次,将两次离心的上清液合在一起,即为氨基酸 碳水化合物,沉淀即为蛋白质。沉淀中加入 2 mL 1mol/L NaOH,沸水浴中消化 30 min 待沉淀完全溶解,加水稀释至 4 mL,用于蛋白质的测定。蛋白质的测定采用 Folin 酚法,碳水化合物的测定采用硫酸 苯酚法。所有样品经比色反应后在 HP8543 紫外-可见分光光度计上测定光密度。采用标准曲线法确定蛋白质和碳水化合物的含量。

### 1.5 总硒和各种有机化合物中硒的测定<sup>[13]</sup>

准确称取 10 mg 实验室培养和 1 g 中试培养的螺旋藻干粉,按上述方法提取分离脂类、蛋白质和碳水化合物。在各提取物及干藻粉(1 g)中,加入 25 mL 混酸(φ(HNO<sub>3</sub>):φ(HClO<sub>4</sub>)=4:1),置铝热块上消化(100~180℃)至出现浓密白烟时,继续消化 20 min 后,冷却,再加入 5 mL 6mol/L HCl 消化(100~120℃)10 min,取出冷却。取适量已消化的样品在等离子体质谱仪(ICP MS)上测量硒的含量。

## 2 结果

### 2.1 实验室培养的藻粉中硒含量及分布

表 1 为加硒和未加硒藻粉中硒的质量比及其在生化组成中的分布。表中结果表明,培养中未加硒

时,藻粉中硒的质量比非常低,仅 2.5 μg/g,蛋白质硒的质量比 1.3 μg/g,为总硒的 52.0%;糖类硒的质量比 0.4 μg/g,占总硒的 16.0%;脂类硒的质量比 0.6 μg/g,占总硒的 24.0%。培养介质中加入  $20 \times 10^{-6}$  亚硒酸钠培养 7 d 后,藻粉中总硒质量比达到 126.7 μg/g,比对照组增加了 50.68 倍,可见硒质量比得到大幅度的提高。在主要生化组成中的分布以蛋白质硒质量比最高,达 87.9 μg/g,占总硒量的 69.4%,无论绝对值或相对值都得到提高(比对照组增长了 33.4%);而脂类中的硒质量比则较少,仅为总硒的 3.5%。

表 1 实验室培养条件下藻粉中硒质量比及其在各生化组成中的分布

Tab 1 Selenium concentrations and distributions in biochemical components of *S. maxima* in lab

成分	硒的质量比(μg/g)	
	未加硒藻粉	加硒藻粉
总硒	2.5	126.7
蛋白质硒	1.3	87.9
糖类硒	0.4	-
脂类硒	0.6	4.5

### 2.2 中试培养的藻粉中硒含量及分布

表 2 为加硒和未加硒中试培养的藻粉中硒的含量及其在生化组成中的分布。表中结果表明,培养中未加硒时,藻粉中硒的质量比非常低,仅 2.0 μg/g,蛋白质硒仅为总硒的 30%,碳水化合物和脂类中未检测到硒。培养介质中加入  $20 \times 10^{-6}$  亚硒酸钠培养 7 d 后,藻粉中总硒质量比达到 606.5 μg/g,比对照组增加了 303.25 倍,其中蛋白质硒质量分数最高,达总硒含量的 94%,而碳水化合物和脂类中的硒质量分数则较少,仅分别为总硒的 1.4% 和 2.7%。本中试培养的研究结果与表 1 实验室培养和已有的一些研究报道相比较<sup>[8,14]</sup>,本中试培养的藻粉中总硒质量分数比文献报道的高很多,其中蛋白质硒质量分数在主要生化组成中所占比例也较高,这可能与培养方式有关。已有的研究基本上都是在实验室的小培养容器或光反应器中进行,而本中试培养则是在螺旋藻养殖基地的中等规模生产性培养池中进行,其结果更接近于日常的螺旋藻生产状况。

表 2 中试培养条件下藻粉中硒质量比及其在各生化组成中的分布

Tab. 2 Selenium concentrations and distributions in biochemical components of *S. maxima* in a large scale culture

成份	硒的质量比( $\mu\text{g/g}$ )	
	未加硒藻粉	加硒藻粉
总硒	2.0	606.5
蛋白硒	0.6	569.8
糖类硒		8.3
脂类硒		16.1

### 2.3 中试培养条件下的富硒藻粉中主要生化组成

表 3 为富硒螺旋藻中主要生化组成。实验结果表明,虽然无机硒具有毒性,但在  $20 \times 10^{-6}$  亚硒酸钠的条件下,螺旋藻的生长没有受到抑制,反而促进生长并提高了藻粉的品质:藻类的生物量提高了 6.0%,糖类质量分数提高了 49.6%,脂类质量分数提高 25.0%,但蛋白质质量分数略有下降,减少了 11.1%。说明通过在培养基中加入  $20 \times 10^{-6}$  亚硒酸钠,可获得高含量的富含有机硒的螺旋藻,因而进行富硒螺旋藻的大规模生产是可行的。根据乔玉辉等<sup>[15]</sup>的研究,低浓度硒可改善钝顶螺旋藻的品质,提高蛋白质含量、氨基酸总量和各种氨基酸量,叶绿素含量也有不同程度的增加。这与本研究结果有些差异,这可能 与种类及培养方法不同有关。

表 3 藻粉中各生化成分的比较

Tab. 3 Comparison among contents of different biochemical components of *S. maxima* in a large scale culture

藻粉	总生物量( $\text{g/m}^3$ )	质量分数(%) <sup>*</sup>		
		蛋白质	糖类	脂类
未加硒藻粉	35.98	56.7	43.9	16.0
加硒藻粉	38.12	50.4	65.7	20.0

\* 指干藻粉的质量分数

## 3 讨论

由于硒和硫在元素周期表中同属于氧族,化学特性很相似,这样在许多情况下催化含硫化合物反应的酶同样能很好地催化含硒化合物反应。相关研究表明了硒和硫化学性质的相似性,当有机体生长

在一定浓度的硒环境中时,在硫酶的参与下硒可取代细胞中某些大分子结构中的部分硫,例如, Bottino 等<sup>[16]</sup>在藻类 *Dunaliella minuta* 和 *Tetraselmis trathelle* 中发现了含硒氨基酸的条件,证明海洋浮游植物能够将无机硒沿着与硫固定极相似的途径进行代谢。Price 等<sup>[17]</sup>在硅藻 *Thalassiosira pseudonana* 中发现了含硒蛋白和依赖硒的谷胱甘肽过氧化物酶,证明硒是以一种特殊的方式结合到一些大分子结构中,参与生物体的正常代谢活动。从本实验室培养和中试培养研究结果看,在螺旋藻培养基中添加了  $20 \times 10^{-6}$  的亚硒酸钠,螺旋藻从培养基中吸收累积了一定的硒,并结合到细胞内的大分子物质中,与前人的研究结果相吻合;在主要生化组成中,大部分累积到蛋白质,脂类和糖类占少部分。至于 Bottino<sup>[16]</sup>和 Gennity<sup>[7]</sup>等人也报道了硒在其它藻类中有的主要分布于糖类和脂类,与本研究存在差异,这其中的原因较复杂,有待于进一步深入研究。

致谢: 厦门检验检疫局黄宗平先生和金献忠先生在硒的测定中给予很大的帮助,特此致谢!

### 参考文献:

- [1] 谭桂英, 庞红卫. 螺旋藻医学应用的最新研究[J]. 海洋科学译报, 1992, 20: 28.
- [2] 王巛. 生命科学中微量元素[M]. 北京: 中国计量出版社, 1996. 664-785.
- [3] 谭见安. 环境硒与健康[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 24-25.
- [4] 梁后杰. 硒抗癌机制研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 1990, 1(1): 92-98.
- [5] 欧阳培, 童斌. 富硒蚯蚓含硒蛋白研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1993, 32(6): 795-798.
- [6] 蒋立科, 巴宇青, 詹万贵. 蜜蜂合成有机硒对酿蜜的影响[J]. 食品科学, 1994, 7: 45-48.
- [7] Gennity J M, Bottino N R, Zingaro R A, et al. A selenium induced peroxidation of glutathione in algae [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(12): 2817-2821.
- [8] 王大志, 高亚辉, 程兆第. 硒对钝顶螺旋藻生长的影响及其在细胞中的分布[J]. 台湾海峡, 1998, 17(4): 433-438.
- [9] 王大志, 高亚辉. 硒对两种盐藻生长的影响及其在细胞中的累积和分布[J]. 海洋学报, 1997, 19(2): 100-115.
- [10] 黄峙, 郑文杰, 向军俭, 等. 钝顶螺旋藻对硒的富集和

- 有机化作用[J]. 暨南大学学报( 自然科学与医学版), 2001, 22: 113-117.
- [11] Bligh E C, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. **Can J Biochem Physiol**, 1959, 37: 911-917.
- [12] Gary H. Quantitation of the macromolecular compounds of microalgae [A]. Hellebust J A, Craigie J. S. Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods [C]. Cambridge: Cambridge University Press, 1978. 360.
- [13] Hundson R J M, Morel F M M. Trace metal transport by marine microorganisms: implications of metal coordination kinetics [J]. **Deep Sea Research**, 1993, 40(1): 129-150.
- [14] 黄峙, 向军俭, 郑文杰. 钝顶螺旋藻富集转化硒及硒在藻体中的分布[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(1): 12-14.
- [15] 乔玉辉, 商树田. 施硒对钝顶螺旋藻品质的影响[J]. 中国农业大学学报, 2000, 5: 31-34.
- [16] Bottino N R, Banks C H, Irgikuc K J, *et al.* Selenium containing amino acids and proteins in marine algae [J]. **Phytochemistry**, 1984, 23(11): 2445-2452.
- [17] Price N M, Harrison P J. Specific selenium containing macromolecules in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* [J]. **Plant Physiol**, 1988, 86: 192-199.

## Character of selenium distribution in *Spirulina maxima* cells and its effect on contents of major biochemical components

ZHANG Yueping<sup>1</sup>, WANG Dazhi<sup>2</sup>, GAO Yahu<sup>3</sup>, CHENG Zhaodi<sup>3</sup>

(1. Fujian Institute of Oceanology, Xiamen 361012, China; 2. Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. Department of Biology, College of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005 China)

**Received:** Apr., 29, 2004

**Key words:** selenium; *Spirulina maxima*; distribution; biochemical components

**Abstract:** The paper reports on character of selenium distribution in *Spirulina maxima* cells and its effect on contents of major biochemical components in lab and a large scale culture when we add  $20 \times 10^{-6}$  Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> into the culture media. The results show that the selenium content of cells is 126.7 μg/g (in lab), even highly reaches 606.5 μg/g (in the large scale). Selenium is mainly distributed in protein, accounting for 69.4% of the total selenium (in lab), even 94% (in the large scale), which relatively increases 33.4% compared with the comparison group; Selenium contents of saccharides and lipids are only a fraction of the total selenium, respectively accounting for 1.4% and 2.7% ~ 3.5%. The existence of  $20 \times 10^{-6}$  selenium does not affect the growth of *S. maxima*, contrary, increases its biomass (6.0%); Therein, the contents of saccharides and lipids respectively increase 49.6% and 25.0% respectively, but the content of proteins decreases 11.1%.

( 本文编辑: 张培新)