

384-285

太湖蓝藻中天然色素的分离提取及测定

TS 202

瞿文川 潘红奎

(中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊沉积与环境开放实验室, 南京 210008)

提要 本文对太湖蓝藻中的叶绿素、胡萝卜素、藻蓝素等天然色素进行了分离提取, 并运用紫外可见分光光度法对色素含量进行测定, 最后对色素在食品、化妆品等方面的应用进行了初步探讨。

关键词 紫外可见分光光度法 太湖 叶绿素 胡萝卜素 藻蓝素

近年来蓝藻的培养利用及从中提取植物蛋白、天然色素等已成为生物学、生命保健学、食品工程学等学科研究和开发的一个热点^[1]。目前国内外已有许多厂家在进行螺旋藻的商业生产, 在日本从螺旋藻中提取的藻蓝蛋白以“Lina Blue-A”为商品名, 用作食物色素, 也用于化妆品生产。螺旋藻中的蓝绿色素由两种色素——藻蓝蛋白(蓝色)和叶绿素(绿色)所致, β -胡萝卜素可用作维生素A原或作食物色素, 日本用螺旋藻喂养鲤鱼时, 由于蓝藻中类胡萝卜素的作用, 使鱼的颜色非常鲜艳^[1]。

太湖中的蓝藻主要由微囊藻(*Microcystis*)组成, 其中, 铜绿微囊藻(*M. aeruginosa*)约占90%, 还有少量水华微囊藻(*M. flosaquae*)以及螺旋鱼腥藻(*Anabaena spiroides*)等, 色素含量丰富, 本文介绍了对几种色素的分离提取方法, 同时利用叶绿素、类胡萝卜素等色素在紫外-可见光谱区域均有特征吸收峰, 如叶绿素特征吸收峰在666nm波长处; 胡萝卜素在448nm等处^[2]。根据比耳定律 $A=abc$, 可以用紫外可见分光光度法对蓝藻的色素含量进行测定, 取得了较为满意的结果。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 (1) Hp8452 紫外可见分光光度计(美国惠普公司); (2) H110 Sartorius 电子天平(德国 Sartorius 公司); (3) GL-20 离心机(日本精工有限公司)。

1.1.2 试剂 丙酮、氢氧化钾、石油醚、无水硫酸钠、无水乙醇、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾等试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的采集及处理 在水体污染较小的太湖水域中, 用25号浮游生物网捞取蓝藻, 采样时间为1995年9月, 将采集的蓝藻除去其中一些漂浮的碎屑杂物, 将藻液静置1h, 由于微囊藻存在气囊这一特点, 藻类将浮于上层, 弃去清水和沉淀物, 如入2-3倍体积的蒸馏水洗涤, 再静置后弃去清水和沉淀物, 用纱布将藻液滤下, 装进塑料袋中低温保存。

1.2.2 太湖蓝藻样品含水量分析 将太湖蓝藻样品从冰柜中取出, 化冻后称取约8g样品, 于室内风干1-2周, 称重测定其含水量, 为95.1%。

1.2.3 脂溶性色素含量的测定 将蓝藻样品从冰柜中取出, 解冻后称取3.7042g样品于塑料离心管中, 加入90%丙酮20-30mL, 放置8-10h后, 在5000转/min速度下离心2-3min, 过滤于100mL容量瓶中, 再向离心管中加入90%丙酮20-30mL, 反复萃取3-4次, 每次将离心液也过滤至容量瓶中, 最后用90%丙酮定容至100mL。

(1) 叶绿素: 取10mL待测液, 用紫外可见分光光度计, 在666nm波长处测定。

(2) 总胡萝卜素: 取20mL待测液加入分液漏斗中, 加入KOH(W/V)甲醇溶液皂化2h, 加入石油醚30mL进行萃取, 分层后将下层弃去, 用蒸馏水洗涤石油醚层至中性, 并用硫酸钠脱水, 将溶液在此300-

中国科学院南京分院择优支持基金与南京地理与湖泊研究所所长基金资助。

收稿日期: 1996-02-05; 收到修改稿日期: 1997-03-24。

1 张成武, 南京大学生物系博士毕业毕业论文, 1995。

600nm 波长范围内进行扫描,于 446nm 长处测定。

(3) 颤藻黄素和蓝藻叶黄素:取 60ml 待测液,通过抽真空处理约 24h(溶液约剩 5mL),最后用无水乙醇定容至 25mL,于 412nm、504nm、528nm 波长处测定。

1.2.4 水溶性色素 从冰柜中取出蓝藻,取一研钵加入蓝藻 2.3837g,同时加入少量石英砂,用玻棒搅匀后,反复冻融细胞 3—4 次,并快速研磨,然后在 4℃,20000 转/min 速度下离心 15min,取少量萃取液,于 615nm 处测定。

2 结果与讨论

太湖蓝藻样品经上述方法处理可抽提出其中的色素,通过对几种色素的测定,利用比耳定律进行计算,得到以下结果:

(1) 叶绿素(CD): $CD\% = 8.385 / \text{蓝藻干重} = 8.385 / 0.1834 = 45719.7 \text{mg/kg}$

(2) 总胡萝卜(TC): $TC\% = 0.316 / \text{蓝藻干重} = 0.316 / 0.1834 = 1725.74 \text{mg/kg}$

(3) 颤藻黄素(O_x)和蓝藻叶黄素(M_{yx})

$$O_x = 167.23 \mu\text{g/g} = 167.23 \text{mg/kg}, M_{yx}\% = 1767.97 \mu\text{g/g} = 1767.97 \text{mg/kg}$$

(4) 藻蓝素(Phy):

$$C = A/EB = 5.845 \text{mg}/100 \text{mL}, W = 5.584 / 100 \text{ml} \times 62 \text{mL} = 3.46 \text{mg}$$

所以, $W_{\text{Phy}}\% = 3.46 / 0.1168 = 29.62 \text{mg/g} = 29620 \text{mg/kg}$

实验表明太湖等淡水湖泊中蓝藻色素含量较为丰富,有着较好的利用价值,100kg 的干藻,这些生物量可以提供 60kg 粗蛋白,2—3kg 藻蓝蛋白,4kg 叶绿素,170g 胡萝卜素和 170g 蓝藻叶黄素等,目前螺旋藻(蓝藻的一种),其中的藻蓝素、胡萝卜素作为食品的着色剂和化妆品的组成部分,已进行商业生产,此类商品已在日本经销,正逐步打入美国市场,美国的保健部门已将其列入安全性产品一类,另一方面当夏季高温时期,太湖蓝藻大量发生,对生活 and 工业用水构成威胁,如果选择其作为研究开发的对象,可以达到变废为宝、净化水体的目的。

参 考 文 献

- 1 瞿文川,余葆盛,苏晨伟.巢湖蓝藻水华藻胆蛋白的分离与鉴定.湖泊科学,1995,7(3):289—292
- 2 方肇伦.仪器分析在土壤学和生物学中的应用.北京:科学出版社,1983
- 3 Swun E B. Measurement and interpretation of sedimentary pigments. *Freshwater Biology*, 1985, 15:53—75

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF NATURAL PIGMENTS OF CYANOBACTERIAL BLOOM FROM TAIHU LAKE

Qu Wenchuan Pan Hongxi

(Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008)

Abstract

A method of extracting several pigments in blue-green algae of Taihu Lake including Chlorophyll, Carotenoids, Phycocyanin, Oscillaxanthin and Myxoxanthophyll is introduced. The pigments are measured by UV—VIS Spectrophotometry, and the method of calculating the pigments content in lake blue-green algae is also described. Finally, the conditions of exploitation and utilization of algae pigments in the field of food industry and cosmetics industry are discussed.

Key Words Spectrophotometry, pigment, Chlorophyll, Carotenoids, Phycocyanin