

文章编号: 1674-5566(2018)02-0196-10

DOI:10.12024/jsou.20170402008

胶网藻 1A10 营养成分及羟基自由基清除能力研究

王盛林^{1,2}, 赵震宇^{1,2}, 刘平怀^{1,2}, 罗 宁^{1,2}, 潘孝妍^{1,2}

(1. 海南大学 材料与化工学院, 海南 海口 570228; 2. 海南大学 热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海南 海口 570228)

摘 要: 为更好地开发胶网藻 (*Dictyosphaerium* sp. 1A10) 在食品及饲料方面的潜力, 以胶网藻 (*Dictyosphaerium* sp. 1A10) 为实验对象, 分析了其营养成分和羟基自由基清除能力。结果显示: 藻粉中含有丰富的多糖、油脂、灰分、粗纤维、蛋白质, 分别占藻粉干重的 19.15%、24.56%、12.43%、12.31% 和 18.55%, 其能量为 371 kcal; 藻粉中含有较高的亚油酸和亚麻酸, 质量分数分别为油脂的 15.3% 和 8.5%; 藻粉含 18 种氨基酸, 含量为 10.16%, 其中 8 种必需氨基酸占 3.2%, 且氨基酸的比值系数分 (SRCAA) 较高; 藻粉中还含有 7 种维生素, 其中 VB₁、VB₃、VB₆、VA 和 VE 的含量较高, 分别为 2.15 mg/100 g、6.25 mg/100 g、1.31 mg/100 g、2.37 mg/100 g 和 5.28 mg/100 g; 藻粉中矿物元素镁、钙、铁、钾含量较高, 分别为 3 517.26 mg/kg、813.27 mg/kg、301.78 mg/kg 和 9 426.87 mg/kg。采用电子顺磁共振技术检测到胶网藻 1A10 对羟基自由基有较强的清除作用, 自由基清除率达 62.62%。胶网藻 1A10 具有开发成为食品和饲料的潜力。

关键词: 胶网藻 1A10; 营养成分; 抗氧化; 电子顺磁共振

中图分类号: S 963.2 **文献标志码:** A

胶网藻 (*Dictyosphaerium* sp.) 也称胶球藻或网球藻, 淡水绿藻, 属于绿藻门 (Chlorophyta)、绿藻纲 (Chlorophyceae)、绿球藻目 (Chlorococcales)、胶网藻科 (Dictyosphaeriaceae)、胶网藻属 (*Dictyosphaerium*)。细胞呈球形、卵形或肾形^[1]。胶网藻具有极端环境适应能力强、生长速度快、易培养、油脂含量高等优点^[2-3]。近年来, 对该藻的应用研究主要集中在环境污染处理、污水处理和高密度培养等方面^[4-5], 未有研究对其营养成分和抗氧化活性进行分析。有研究表明^[6-7], 微藻含有大量的不饱和脂肪酸 (PUFAs), 其中二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA) 都是人体必需脂肪酸, 在增强免疫力、抗衰老和治疗多种疾病方面起着重要的作用^[8-9], 具有丰富的营养价值。

本研究以胶网藻 (*Dictyosphaerium* sp. 1A10) 为研究对象, 对其一般营养成分、维生素、微量元

素、氨基酸和脂肪酸等营养成分和抗氧化活性进行分析, 为其在食品及饲料方面的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

胶网藻 (*Dictyosphaerium* sp. 1A10) 藻种分离自海南热带淡水区域, 经管道式生物反应器培养, 经壳聚糖絮凝采收后 8 000 r/min 离心, 冷冻干燥得藻粉, 于 -20 °C 保存。所需试剂: NaOH、浓硫酸、磺基水杨酸、buffer1 缓冲液、AQC 衍生剂、浓盐酸、三乙胺、KH₂PO₄、浓硝酸、过氧化氢、磷酸盐缓冲液、乙腈、甲醇、正己烷和色谱纯等。所有试剂均采购自国药集团。

1.1.2 仪器设备

仪器设备包括 TU-1810 紫外-可见分光光度

收稿日期: 2017-04-05 修回日期: 2017-10-09

基金项目: 国家科技型中小企业技术创新基金项目 (13C26244604892); 海南省产学研一体化项目 (CXY20150034); 海南省中药现代化科技专项 (ZY201327); 国家科技支撑计划项目 (2011BAD14B01); 海口市应用技术与开发项目 (2017644)

作者简介: 王盛林 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向为微藻及其代谢产物研究开发。E-mail: 1454379982@qq.com

通信作者: 刘平怀, E-mail: pinghuailiu@aliyun.com

计(北京普析有限责任公司),TDL-5 型离心机(常州中捷有限公司),X0-5200DTD 型超声清洗机(南京先欧有限公司),HP6890 型气相色谱仪(美国惠普公司),Waters 2695 型液相色谱仪(美国 Waters 公司),X7 型电感耦合等离子体质谱仪(美国热电公司)和 A320 型电子顺磁共振波谱仪(德国布鲁克公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 一般营养成分测定

蛋白质测定:双缩脲法^[10];总糖测定:硫酸-蒽酮比色法^[10];油脂测定:氯仿-甲醇重量法^[11];灰分的测定:参照 GB 5009.4—2010《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》;粗纤维测定:参照 GB/T 5009.10—2003《植物类食品粗纤维测定法》;能量:蛋白质供能 4 kcal/g、多糖供能 4 kcal/g、油脂供能 9 kcal/g。

1.2.2 脂肪酸分析

取藻粉 0.5 g,加入 0.5 mol/L 的 NaOH-甲醇溶液 5 mL,震荡混合 10 min 后加入 1% 硫酸-甲醇溶液 8 mL,震荡混合 10 min,再依次加入 2 mL 水和 3 mL 正己烷,离心收集上层溶液,重复萃取 3~5 次,合并上层溶液,待溶液挥发浓缩至 1 mL 左右用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,置于气相色谱样品管中,封口待测。

用 HP6890 型气相色谱仪(美国惠普公司)测定脂肪酸种类及其含量。色谱条件:检测器,氢火焰离子化检测器(FID),色谱柱:石英毛细管柱 HP-FFAP(30 m×0.25 mm,0.25 μm),程序升温:从 160 °C 开始,以 6 °C/min 升到 250 °C,保持 5 min;载气:He,柱流量:1.0 mL/min,进样口温度:250 °C,分流比:50:1。质谱条件:EI 源,电离电压:70 eV,离子源温度:230 °C,扫描范围:10~500 amu,进样量:1.0 μL。检索质谱图库,对藻油中脂肪酸进行定性,定量分析采用对各组分峰面积积分,计算出脂肪酸各组分占脂肪酸总量的百分比^[12-14]。

1.2.3 氨基酸分析

1.2.3.1 样品处理与测定

称取 2 g 样品于离心管中,加入 10% 磺基水杨酸 20 mL,用超声波细胞破碎仪低温超声 10 次,混合均匀,于 4 °C 下放置 15~17 h,5 000 r/min 离心 10 min,滤液用 1 mol/L 的 NaOH 调整 pH 至 6.0,加入超纯水定容至 50 mL,取 2 mL 滤

液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,置于样品管中备用。

测定条件参照赵改名等^[15]的方法并加以改进:AccQ·Tag 柱(Nava-Pak,3.9 mm×150 mm,4 μm),柱温 37 °C;进样体积 10 μL;Waters515 双泵梯度洗脱,洗脱液 A 为 AccQ·Tag 洗脱液用超纯水稀释 11 倍而成,洗脱液 B 为 60% 色谱纯乙腈;洗脱速度为 1.0 mL/min,洗脱时间 50 min。梯度洗脱按如下程序进行:洗脱液 B 初始质量浓度为 0,在 0.5 min 内升至 1.0%,接着在 16.5 min 内升至 7.0%,然后 4 min 升至 10.0%,9 min 再升至 33.0%,然后 1 min 升至 100.0%,保持 3 min,最后于 1 min 内降到 0,并维持 12 min。

1.2.3.2 营养评价方法

胶网藻 1A10 的营养评价根据 1973 年世界卫生组织/联合国粮农组织(WHO/FAO)提出的人体必需氨基酸模式^[16-17]计算样品中的下列指标^[18]:

(1) 必需氨基酸(essential amino acid, EAA) 占总氨基酸的质量分数

$$EAA = \frac{A_0}{A} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为样品中必需氨基酸含量; A 为样品中总氨基酸含量。

(2) 氨基酸比值(ratio of amino acid, RAA)

$$RAA = \frac{B_0}{B} \quad (2)$$

式中: B_0 为待评价蛋白质某必需氨基酸含量; B 为 WHO/FAO 模式中相应氨基酸含量。

式中:待评价蛋白质中某必需氨基酸含量与 FAO/WHO 模式中相应必需氨基酸含量单位均为 mg/g pro。胱氨酸和酪氨酸由蛋氨酸和苯丙氨酸分别转变而成,因此分别将苯丙氨酸和酪氨酸,蛋氨酸和胱氨酸合并计算^[18]。

(3) 氨基酸比值系数(ratio coefficient of amino acid, RC)

$$RC = \frac{RAA}{RAA} \quad (3)$$

式中: $RC > 1$ 表明该种必需氨基酸相对过剩, $RC = 1$ 表明其组成比例与 FAO/WHO 模式中相应必需氨基酸一致, $RC < 1$ 表明该种必需氨基酸相对不足, RC 最小者为第一限制氨基酸^[19]。

(4) 比值系数分(score of ratio coefficient of amino acid, SRCAA)

$$SRCAA = 100 \times \left[1 - \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (RC_i - \overline{RC})^2}}{\overline{RC}} \right]$$

式中: $SRCAA = 100$ 时, 表明胶网藻 1A10 中必需氨基酸的组成比例与 FAO/WHO 模式一致, $SRCAA$ 越接近 100, 表明营养价值越高, $SRCAA$ 越小, 则营养价值越低^[20-21]。

1.2.4 维生素的测定

水溶性维生素 ($VB_1, VB_2, VB_3, VB_6, VB_{12}$): 准确称取 2 g 藻粉于研钵中研磨破碎细胞壁, 待研磨充分, 将藻粉完全转入离心管中, 加入 15 mL 0.1 mol/L 的盐酸, 用超声清洗机超声 15 min, 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 mL 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 置于西林瓶中备用。

脂溶性维生素 (VA, VE): 参照 GB/T 5009.82—2003《食品中维生素 A 和维生素 E 的测定》处理藻粉。

测定条件为 VB_1 : Waters X Bridge (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) 反相色谱柱; 流动相为 0.05 mol/L KH_2PO_4 : 乙腈 (含 0.2% 的三乙胺, pH = 6) = 97:3; 检测波长为 254 nm; 流速为 1.5 mL/min。

VB_2 : Waters X Bridge (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) 反相色谱柱; 流动相 A 为 0.05 mol/L KH_2PO_4 (pH = 6): 乙腈 (含 0.2% 的三乙胺, pH = 6) = 9:1, 流动相 B 为: 甲醇, A: B = 75:25, 柱温

30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 270 nm; 流速 1.0 mL/min。

VB_3, VB_6 : Ultimate AQ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) 反相色谱柱; 流动相为 0.05 mol/L KH_2PO_4 : 甲醇 = 9:1; 检测波长为 266 nm; 流速为 1.0 mL/min。

VB_{12} : 参照 GB/T 5009.217—2008。

VA, VE : Waters X Bridge (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) 反相色谱柱; 流动相为 甲醇: 水 = 97:3; 检测波长为 325 nm; 流速为 1.0 mL/min。

VC : 参照 GB/T 5009.86—2003, 采用 2,4-二硝基苯肼比色法测定。

1.2.5 微量元素及重金属测定

准确称取 0.2 g 干燥藻粉于聚四氟乙烯坩埚中, 加入 5 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢, 加盖后于电热板上 120 $^{\circ}\text{C}$ 加热。2 h 后, 开盖, 将温度升高至 160 $^{\circ}\text{C}$ 继续加热, 经常摇动坩埚。当坩埚内的液体澄清时, 取下坩埚, 待其冷却后, 用超纯水冲洗坩埚盖和内壁, 液体转移至 25 mL 容量瓶, 定容, 取 2 mL 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 置于样品管待测。

采用电感耦合等离子质谱 (ICP-MS) 的方法, 对胶网藻 1A10 中 Cu、Li、Mg、Mn、Zn、Ca 等 30 种微量元素进行定量分析。工作参数见表 1。

表 1 ICP-MS 工作参数
Tab. 1 ICP-MS operating parameters

项目 Projects	工作参数 Parameters	项目 Projects	工作参数 Parameters
入射功率/W	1 550	采样深度/mm	8.0
冷却气流量/(L/min)	15	氧化物比值	156Ce + /140Ce + <2%
载气流量/(L/min)	1.05	双电荷比值	70Ce2 + /140Ce + <3%
辅助气流量/(L/min)	0.90	蠕动泵转速/rps	0.1
雾化室温度/ $^{\circ}\text{C}$	2.0	雾化器类型	同心雾化器

1.2.6 胶网藻对羟基自由基的清除作用

准确称取 0.4 g 干燥藻粉于匀浆管中, 加入 4 倍体积的磷酸盐缓冲液, 冰水浴条件下用超声波细胞破碎仪低温超声 10 次, 低温低速离心机 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液待测。

测量方法参照周丽芳等^[22]的方法并加以改进, 量取样品 50 μL , 加入 40 μL 0.2 mmol/L FeSO_4 水溶液、40 μL 的双蒸水和 40 μL 0.1 mol/L DMPO 水溶液, 混合均匀后加入 40 μL 0.1% H_2O_2 , 混合后立即取样, 用微量注射器取上清液

注入 Teflon 毛细管中, 插入顺磁石英样品管底部, 将样品管插入谐振腔中心位置进行 EPR 检测, 整个过程控制在 3 min 内完成。

实验参数为中心磁场: 3 510 G; 扫场宽度: 100 G; 调制频率: 100 kHz; 调制幅度: 1.0 G; 放大倍数: 200e + 004; 扫描次数: 1; 微波功率: 2.017 mW; 时间常数: 600 ms; 扫场时间: 41.943 s。

羟基自由基清除率的计算公式^[20]如下:

$$RSA = \frac{H_0 - H}{H_0} \times 100\%$$

式中: H_0 为空白对照样最高峰的峰高; H 为样品最高峰的峰高。

2 结果与讨论

2.1 胶网藻的一般营养成分及评价

胶网藻的主要营养成分(以每 100 g 可食部计算)结果见表 2,同时将几种常见食物的相应营养成分进行比较。由表 2 可知,胶网藻的能量为 371 kcal,低于黄豆(389.00 kcal)的能量,但比其他常见食物的能量高。胶网藻的多糖含量为 19.15%,高于螺旋藻(18.20%)、牛肉(3.00%)和鸡蛋(0.00%)的多糖含量,但比海带(61.20%)、裙带菜(40.60%)、粳米(78.10%)和黄豆(37.30%)的多糖含量低。陈玮^[23]等研究了微藻多糖生物活性,其中包括抗氧化、抗衰老和抗病毒活

性等,因此胶网藻可作为潜在的多糖微藻资源。胶网藻的油脂含量为 24.56%,在列出的常见食物中属于最高。此外,胶网藻的灰分含量为 12.43%,除低于海带(20.0%)和裙带菜(35.4%)的灰分含量外,高于其他的常见食物的灰分含量,较高的灰分含量说明胶网藻能够吸附水体中的矿物元素而富集于藻体内,因此胶网藻中含有丰富的矿物元素,是很好的矿物源。同时,胶网藻的粗纤维含量为 12.31%,在几种常见食物中最高,其可溶性纤维有利于降低动物体内胆固醇水平,所以胶网藻可以作为膳食纤维来源。并且,胶网藻蛋白质含量为 18.55%,低于螺旋藻(64.7%)和黄豆(33.1%)的蛋白质含量,高于其他常见食物的蛋白质含量,说明胶网藻可作为食品或饲料的蛋白质来源。

表 2 胶网藻 1A10 与常见食物一般营养成分含量

Tab.2 Nutrition components in *Dictyosphaerium* sp. 1A10 and the common food

种类	能量/kcal	多糖/%	油脂/%	灰分/%	粗纤维/%	蛋白质/%
Species	Energy	Carbohydrates	Grease	Ash	Fiber	Protein
胶网藻 1A10	371	19.15	24.56	12.43	12.31	18.55
螺旋藻*	356	18.20	3.10	7.50	1.00	64.70
海带*	89	61.20	0.20	20.00	11.80	8.70
裙带菜*	119	40.60	3.70	35.40	3.10	17.20
粳米*	337	78.10	1.20	0.40	2.80	6.40
黄豆*	389	37.30	15.90	4.50	9.00	33.10
牛肉*	193	3.00	12.40	0.80	-	17.40
鸡蛋*	143	0.00	10.50	0.80	0.00	12.20

注: * 数据来自参考文献[24]; - :表示未检出或含量很少

Note: * the data comes from the reference[24]; - : It means that it is not detected or titts content is very little

2.2 胶网藻脂肪酸组成及含量

表 3 是胶网藻与常见食物的脂肪酸组成。结果显示,胶网藻和其他常见食物相比,未检测出 C12:0(月桂酸)、C14:0(豆蔻酸)和 C15:0(十五酸)。但是其含有的 C20:0(花生酸)和 C20:1(n-9)(鳕油酸)是其他常见食物中没有的,含量分别为 1.3% 和 3.2%。由表 3 可以看出,胶网藻的 C16:0(软脂酸)含量相对不足,除高于鸡蛋中 C16:0(软脂酸)的含量 4.3% 外,低于其他常见食物;胶网藻的 C18:2(n-6)(亚油酸)的含量为 15.3%,除低于粳米中 C18:2(n-6)(亚油酸)的含量

39.6% 外,高于其他常见食物;C18:3(n-6)(亚麻酸)的含量为 8.5%,除螺旋藻中有 C18:3(n-6)(亚麻酸),其含量为 26.9%,其他食物中均不含 C18:3(n-6)(亚麻酸),亚油酸和亚麻酸是生命代谢的必需脂肪酸,是动物体内高度不饱和脂肪酸(EPA 和 DHA 等)的合成前体^[25],胶网藻 PUFA 的含量为 26.5%,远低于螺旋藻中 PUFA 的含量 41.6% 和粳米中 PUFA 的含量 39.6%,但高于其他常见食物。由此可以看出胶网藻作为人体脂肪酸的食物来源相对不足。

表 3 胶网藻 1A10 与常见食物脂肪酸组成

Tab. 3 The fatty acid compositions of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 and the common food

脂肪酸 Fatty acid	胶网藻 1A10	螺旋藻*	海带*	裙带菜*	粳米*	黄豆*	牛肉*	鸡蛋*
C12:0	-	-	0.4	7.3	0.6	-	-	-
C14:0	-	0.2	0.8	10.3	1.2	0.4	3.5	0.2
C15:0	-	0.1	-	9.0	-	-	0.4	27.6
C16:0	24.9	49.8	33.3	40.6	32.0	37.8	26.9	4.3
C16:1(n-7)	5.4	1.8	-	6.6	-	0.8	4.2	8.4
C18:0	4.5	2.8	7.3	4.8	2.4	12.4	22.1	46.4
C18:1(n-9)	32.8	2.6	40.2	11.8	22.6	35.4	41.1	11.8
C18:2(n-6)	15.3	14.7	11.6	4.7	39.6	7.3	1.4	1.0
C18:3(n-3)	-	-	-	-	-	0.1	0.1	-
C18:3(n-6)	8.5	26.9	-	-	-	-	-	-
C20:0	1.3	-	-	-	-	-	-	-
C20:1(n-9)	3.2	-	-	-	-	-	-	-
C20:2(n-9)	2.7	-	-	-	-	0.2	-	-
C20:3(n-6)	-	-	-	-	-	0.2	-	-
C22:1(n-2)	-	-	-	-	-	2.3	-	-
C22:6(n-6)	-	-	-	4.9	-	-	-	-
合计(total)	98.6	98.9	93.6	100	98.4	96.9	99.7	99.7
PUFA	26.5	41.6	11.6	9.6	39.6	7.8	1.5	1.0

注: * 数据来自参考文献[24]; - :表示未检出或含量很少

Note: * the data comes from the reference[24]; - : It means that it is not detected or titts content is very little

2.3 胶网藻氨基酸组成

使用高效液相对样品溶液进行测定,胶网藻的氨基酸组成及含量如表 4 所示。从表 4 中可以看出,胶网藻中共检测出 18 种氨基酸,其中包括 8 种必需氨基酸和 2 种鲜味氨基酸。由表 4 可知,胶网藻氨基酸总量为 10.16%,其中必需氨基酸总量为 3.2%,鲜味氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸)总量为 1.01%。

胶网藻与常见食物中必需氨基酸的 EAA 值比较结果及 WHO/FAO 模式谱 EAA 值见表 5。胶网藻中苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)和色氨酸(Trp)的 EAA 值均高于 WHO/FAO 模式谱对应必需氨基酸的 EAA 值,分别为 4.4、5.4、4.1、4.4、5.8 和 1.1,亮氨酸(Leu)和苯丙氨酸(Phe)的 EAA 值稍低于 WHO/FAO 模式谱对应必需氨基酸 EAA 值,分别为 6.4 和 5.7。

胶网藻与常见食物中必需氨基酸的 RAA、RC 和 SRC 值比较结果见表 6。由 RC 值可以看出,胶网藻中必需氨基酸亮氨酸(Leu)和苯丙氨酸(Phe)相对不足,分别为 0.85 和 0.89。其中亮氨酸(Leu)为第一限制氨基酸。苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)和色氨酸(Trp)均相对较高并且和 WHO/FAO 模式谱接近,分别为 1.03、1.01、1.09、1.03、1.08 和 1.03。由表 6 中 SRC 值可以看出,胶网藻中必需氨基酸的 SRC 值为 98.01,高于海带中必需氨基酸的 SRC 值 94.09 和粳米中必需氨基酸的 SRC 值 96.04,表明胶网藻含有较高的为动物所需的游离氨基酸。

酸(Lys)和色氨酸(Trp)均相对较高并且和 WHO/FAO 模式谱接近,分别为 1.03、1.01、1.09、1.03、1.08 和 1.03。由表 6 中 SRC 值可以看出,胶网藻中必需氨基酸的 SRC 值为 98.01,高于海带中必需氨基酸的 SRC 值 94.09 和粳米中必需氨基酸的 SRC 值 96.04,表明胶网藻含有较高的为动物所需的游离氨基酸。

2.4 胶网藻中的维生素

维生素是人和动物为维持正常的生理功能而必须从食物中获得的一类微量有机物质,在动物体生长、代谢、发育过程中发挥着重要的作用。由表 7 可以看出,胶网藻中 VB₁、VB₃、VB₆、VA 和 VE 的含量较高,分别为 2.15 mg/100 g、6.25 mg/100 g、1.31 mg/100 g、2.37 mg/100 g 和 5.28 mg/100 g。其中 VB₃ 的含量最高,但低于螺旋藻(14.60 mg/100 g)、裙带菜(8.01 mg/100 g)和牛肉(6.3 mg/100 g)。VB₁ 的含量除低于螺旋藻(3.10 mg/100 g)外,均高于其他常见食物,VB₁ 是动物体内能量代谢,特别是糖代谢所必需的。VB₆ 的含量均高于其他常见食物,在蛋白质代谢中起重要作用。VA 的含量低于螺旋藻(6.91 mg/100 g)和裙带菜(53.63 mg/100 g)。VE 的含量低于螺旋藻(10.01 mg/100 g)、黄豆(18.91

mg/100 g)和鸡蛋(5.29 mg/100 g),但高于海带(1.85 mg/100 g)、裙带菜(3.35 mg/100 g)、粳米(1.01 mg/100 g)和牛肉(0.35 mg/100 g),VE有促进生殖等作用^[26]。胶网藻中VB₂和VB₁₂的含量比较低,分别为0.74 mg/100g和0.02 mg/100g,其中VB₂的含量高于海带(0.15 mg/100 g)、粳

米(0.08 mg/100 g)、黄豆(0.24 mg/100 g)、牛肉(0.13 mg/100 g)和鸡蛋(0.32 mg/100 g);VB₁₂的含量低于其他常见食物。由此可见,胶网藻维生素种类较为齐全,且含量丰富,是一种具有潜力的维生素来源。

表4 胶网藻 1A10 的氨基酸组成及含量

Tab.4 Composition and content of amino acids of *Dictyosphaerium* sp. 1A10

氨基酸 Amino acids	含量/% Content	氨基酸 Amino acids	含量/% Content	氨基酸 Amino acids	含量/% Content
天冬氨酸(Asp) [#]	0.47	半胱氨酸(Cys)	0.19	苯丙氨酸(Phe) [*]	0.17
丝氨酸(Ser)	0.23	缬氨酸(Val) [*]	0.55	色氨酸(Trp) [*]	0.11
谷氨酸(Glu) [#]	0.54	蛋氨酸(Met) [*]	0.23	苏氨酸(Thr) [*]	0.45
甘氨酸(Gly)	0.24	异亮氨酸(Ile) [*]	0.45	酪氨酸(Tyr)	0.41
组氨酸(His)	0.64	亮氨酸(Leu) [*]	0.65	精氨酸(Arg)	1.65
丙氨酸(Ala)	1.75	赖氨酸(Lys) [*]	0.59	脯氨酸(Pro)	0.84
必需氨基酸总量(EAA)	3.2	非必需氨基酸总量(NEAA)	6.96	鲜味氨基酸总量(WAA)	1.01
氨基酸总量(TAA)			10.16		

注: * 为必需氨基酸, # 为鲜味氨基酸

Note: * is the essential amino acid and # is a flavor amino acid

表5 胶网藻 1A10 与常见食物中必需氨基酸的 EAA 值

Tab.5 The EAA values of essential amino acids of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 and the common food

氨基酸 Amino acids	WHO/FAO 模式谱 EAA 值	1A10	螺旋藻 [*]	海带 [*]	裙带菜 [*]	粳米 [*]	黄豆 [*]	牛肉 [*]	鸡蛋 [*]
Thr	4	4.4	5.6	4.4	11.9	3.2	3.9	4.7	4.9
Val	5	5.4	6.8	5.4	4.5	4.8	3.6	4.7	5.8
Met + Cys	3.5	4.1	2.4	9.7	6.9	6.4	2.3	3.4	3.7
Ile	4	4.4	5.7	4.4	5.4	6.4	4.2	4.7	5.8
Leu	7	6.4	9.3	7.6	1.4	9.6	7.8	8.9	9.1
Phe + Tyr	6	5.7	8.1	10.2	18.8	12.8	10.4	8.7	9.9
Lys	5.5	5.8	4.6	4.2	5.9	3.2	6.1	9.4	6.6
Trp	1	1.1	2.2	2.9	6.4	0.9	1.6	0.4	1.6

注: * 数据来自参考文献[24]

Note: * The date comes from the reference[24]

表6 胶网藻 1A10 与常见食物中必需氨基酸的 RAA、RC 和 SRC 值

Tab.6 Values of RAA, RC and SRC of essential amino acids of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 and the common food

氨基酸 Amino acids	1A10		螺旋藻 [*]		海带 [*]		裙带菜 [*]		粳米 [*]		黄豆 [*]		牛肉 [*]		鸡蛋 [*]	
	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC
Thr	1.10	1.03	1.40	1.05	1.10	0.71	2.98	1.32	0.8	0.63	0.98	0.88	1.18	1.06	1.23	0.92
Val	1.08	1.01	1.36	1.02	1.08	0.69	0.90	0.4	0.96	0.76	0.72	0.64	0.94	0.85	1.16	0.87
Met + Cys	1.17	1.09	0.69	0.52	2.77	1.78	1.97	0.88	1.44	1.44	0.66	0.59	0.97	0.87	1.06	0.80
Ile	1.10	1.03	1.43	1.08	1.10	0.71	1.35	0.6	1.26	1.26	1.05	0.94	0.93	0.84	1.45	1.09
Leu	0.91	0.85	1.33	1.00	1.09	0.70	0.20	0.09	1.08	1.08	1.11	0.99	1.27	1.14	1.30	0.98
Phe + Tyr	0.95	0.89	1.35	1.02	1.70	1.09	31.3	1.39	168	1.68	1.73	1.54	1.45	1.31	1.65	1.24
Lys	1.16	1.08	0.84	0.63	0.76	0.49	1.07	0.48	0.46	0.46	1.11	0.99	1.71	1.54	1.20	0.90
Trp	1.10	1.03	2.20	1.65	2.90	1.86	6.40	2.84	0.71	0.71	1.60	1.43	0.40	0.36	1.60	1.20
SRCAA	98.01		100.00		94.09		100.00		96.04		100.00		99.09		100.00	

注: * 数据来自参考文献[24]

Note: * The data comes from the reference [24]

表7 胶网藻 1A10 与常见食物中
维生素含量

Tab.7 Vitamin content of *Dictyosphaerium* sp.
1A10 and the common food (mg/100g)

种类 Species	1A10	螺旋藻*	海带*	裙带菜*	粳米*	黄豆*	牛肉*	鸡蛋*
VB ₁	2.15	3.10	0.02	0.28	0.16	0.41	0.07	0.33
VB ₂	0.74	35.10	0.15	1.32	0.08	0.24	0.13	0.32
VB ₃	6.25	14.60	1.31	8.01	1.31	1.53	6.3	0.21
VB ₆	1.31	0.81	0.07	0.05	0.03	0.22	0.35	0.25
VB ₁₂	0.02	0.32	0.13	-	-	0.51	1.82	3.84
VA	2.37	6.91	-	53.63	-	0.05	0.006	0.49
VC	-	-	-	0.16	-	-	-	-
VE	5.28	10.01	1.85	3.35	1.01	18.91	0.35	5.29

注: * 数据来自参考文献[24]; - : 表示未检出或含量很少

Note: * The data comes from the reference[24]; - : It means that it is not detected or its content is very little

表8 胶网藻 1A10 矿物质元素种类及含量

Tab.8 Contents of mineral element in *Dictyosphaerium* sp. 1A10 mg/kg

矿物元素 Mineral elements	含量 Content	矿物元素 Mineral elements	含量 Content	矿物元素 Mineral elements	含量 Content
铜(Cu)	6.43	钴(Co)	1.13	钼(Mo)	0.38
锂(Li)	0.07	镍(Ni)	0.97	锡(Sn)	0.33
铍(Be)	0.006	锌(Zn)	68.29	锑(Sb)	0.01
硼(B)	1.24	镓(Ga)	0.36	钡(Ba)	4.83
镁(Mg)	3517.26	钛(Ti)	50.12	铊(Tl)	0.001
铝(Al)	41.38	钒(V)	0.18	铬(Cr)	2.14
钙(Ca)	813.27	钾(K)	9426.87	铅(Pb)	0.27
铋(Bi)	0.07	钠(Na)	64.29	汞(Hg)	0.01
锰(Mn)	47.23	硒(Se)	0.11	镉(Cd)	0.02
铁(Fe)	301.78	锶(Sr)	25.77	砷(As)	0.15

2.6 胶网藻对羟基自由基的清除作用

羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是一种重要的活性氧,过量的羟基自由基具有极强的氧化作用,破坏机体内平衡。图1中,a表示空白对照样的EPR谱图,得a图最高峰的峰高 H_0 为840 655,b图最高

2.5 胶网藻中矿物质元素

矿物质元素是构成机体组织的重要成份,具有维持机体的酸碱平衡及组织细胞渗透压等作用。由表8可以看出,从胶网藻中共检测出30种矿物质元素,其中镁、钙、铁、钾含量较为丰富,分别为3 517.26 mg/kg、813.27 mg/kg、301.78 mg/kg和9 426.87 mg/kg。重金属铅、汞、砷、镉的含量,分别为0.27 mg/kg、0.01 mg/kg、0.02 mg/kg和0.15 mg/kg,均低于国家食品卫生标准GB 2762—2012《食品安全国家标准食品中污染物限量》(限量标准分别为1.0 mg/kg、0.5 mg/kg、0.5 mg/kg和0.5 mg/kg)。由此表明胶网藻富含多种矿物质元素,可以为动物体提供充足的微量元素。

峰的峰高H为314 221,b表示胶网藻对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用的EPR谱图,根据羟基自由基清除率的计算公式得到自由基清除率为62.62%。可见胶网藻对羟基自由基有一定的清除作用。

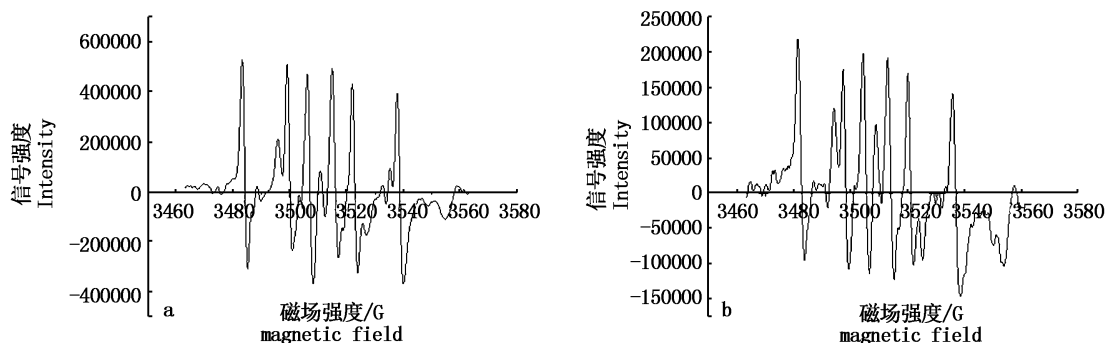


图1 胶网藻 1A10 对羟基自由基清除作用的 EPR 谱图

Fig.1 EPR spectra of scavenging action of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 on hydroxyl radicals

3 结论

胶网藻中含有丰富的营养成分,多糖、油脂、灰分、粗纤维和蛋白质分别占藻粉干重的 19.15%、24.56%、12.43%、12.31% 和 18.55%, 能量为 371 kcal。除制备生物柴油外,可作为动物体营养物质的来源。胶网藻中含有多种脂肪酸,其中含有动物体必需脂肪酸 C18:2(n-6) (亚油酸) 和 C18:3(n-6) (亚麻酸), 含量分别为 15.3% 和 8.5%, 可作为动物体多不饱和脂肪酸的来源;胶网藻含有 18 种氨基酸,包括 8 种必需氨基酸和 2 种鲜味氨基酸,其中必需氨基酸的 SRC 值为 96.04, 表明具有较多的游离氨基酸。胶网藻维生素种类较为齐全,且含量丰富,尤其 V_{B1} 、 V_{B3} 、 V_{B6} 、 V_A 和 V_E 的含量较高,可以加工成食品或饲料,补充维生素缺乏而引起的不适。胶网藻富含多种矿物质元素,其中镁、钙、铁、钾含量较为丰富,可作为动物体必需微量元素的来源,且重金属铅、汞、镉的含量均低于国家标准。胶网藻对羟基自由基有较强的清除作用,清除率达 62.62%。由此,胶网藻具有较高的营养价值,可作为潜在的食品或饲料开发,替代玉米、大豆以及高粱等传统作物,减轻土地压力,但作为动物体脂肪酸的食物来源相对不足。

参考文献:

- [1] 胡鸿钧, 魏印心. 中国淡水藻类[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 310.
HU H J, WEI Y X. Freshwater algae of China [M]. Beijing: Science Press, 2006: 310.
- [2] LÓPEZ-RODAS V, MARVÁ F, ROUCO M, et al. Adaptation of the chlorophycean *Dictyosphaerium chlorelloides* to stressful acidic, mine metal-rich waters as result of pre-selective mutations[J]. *Chemosphere*, 2008, 72(5): 703-707.
- [3] 张翼, 廖浩, 赵秀云. 富油脂微藻的分离筛选与鉴定[J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(3): 574-577.
ZHANG Y, LIAO H, ZHAO X Y. Isolation, screening and identification of Oil-rich microalgae[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(3): 574-577.
- [4] IRFANULLAH H M. Algal taxonomy in limnology: an example of the declining trend of taxonomic studies [J]. *Hydrobiologia*, 2006, 559(1): 1-9.
- [5] PARK J B K, CRAGGS R J, SHILTON A N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(1): 35-42.
- [6] 温少红, 李叙风, 鞠宝, 等. 微藻高度不饱和脂肪酸的研究[J]. *海洋通报*, 2000, 19(4): 86-91.
WEN S H, LI X F, JU B, et al. Studies on polyunsaturated fatty acid in microalgae[J]. *Marine Science Bulletin*, 2000, 19(4): 86-91.
- [7] 林武杰, 吴云辉. 海洋微藻多不饱和脂肪酸研究进展[J]. *福建水产*, 2013, 35(1): 78-82.
LIN W J, WU Y H. Research progress of the polyunsaturated fatty acid in the marine microalgae [J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2013, 35(1): 78-82.
- [8] 古绍彬, 虞龙, 向砥, 等. 利用海洋微藻生产 DHA 和 EPA 的研究现状及前景[J]. *中国水产科学*, 2001, 8(3): 90-93.
GU S L, YU L, XIANG D, et al. Progress and prospect of production of DHA and EPA from oceanic microalgae [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2001, 8(3): 90-93.
- [9] 苏翔, 周晓琴, 王涛, 等. 利用微藻生产 ω -3 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. *重庆工商大学学报(自然科学版)*, 2012, 29(5): 100-104, 110.
SU X, ZHOU X Q, WANG T, et al. Research progress in the application of microalgae to ω -3 polyunsaturated fatty acids production [J]. *Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition)*, 2012, 29(5): 100-104, 110.
- [10] 杨勋, 刘洋洋, 时杰, 等. 热带海藻营养成分分析[C]//第九届全国药用植物及植物药学术研讨会论文集. 海口: 中国植物学会, 2010: 237-240.
YANG X, LIU Y Y, SHI J, et al. Analysis of nutritional components of tropical seaweed [C]//National Symposium on Medicinal Plants and Botany. Haikou: Botanical Society of China, 2010: 237-240.
- [11] 宗娜娜, 韩笑天, 李峰, 等. 南海富油脂微藻的筛选、鉴定及油脂特性分析[C]//中国海洋湖沼学会第十次全国会员代表大会暨学术研讨会论文集. 青岛: 中国海洋湖沼学会, 2012.
ZONG N N, HAN X T, LI F, et al. Screening and identification of Oil - rich microalgae in the South China Sea and analysis of its characteristics [C]//China Ocean Lake Society of the Tenth National Membership Congress and Academic Symposium Proceedings. Qingdao: Chinese Society for Oceanology and Limnology, 2012.
- [12] 蒋霞敏, 郑亦周. 14 种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究[J]. *水生生物学报*, 2003, 27(3): 243-247.
JIANG X M, ZHENG Y Z. Total lipid and fatty acid composition of 14 species of mircoalgae [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(3): 243-247.
- [13] 张小葵, 麦康森, 郭健, 等. 十四株海洋微藻脂肪酸组成的研究[J]. *青岛海洋大学学报*, 2001, 31(2): 205-210.
ZHANG X K, MAI K S, GUO J, et al. Fatty acid composition of 14 strains of marine microalgae [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2001, 31(2): 205-210.
- [14] BREUER G, EVERS W A, DE VREE J H, et al. Analysis of fatty acid content and composition in microalgae [J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2013(80): e50628.

- [15] 赵改名, 周光宏, 柳艳霞, 等. 肌肉非蛋白氮和游离氨基酸在金华火腿加工过程中的变化[J]. 食品科学, 2006, 27(2): 33-37.
ZHAO G M, ZHOU G H, LIU Y X, et al. Muscle changes of Non-protein nitrogen and free amino acids during Jinhua ham processing[J]. Food Science, 2006, 27(2): 33-37.
- [16] WHO. Energy and protein requirements: report of a Joint FAO/WHO ad hoc expert committee[R]. Geneva: WHO, 1973: 150.
- [17] World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations University. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation[R]. Geneva: World Health Organization, 2007: 245.
- [18] 杨旭昆, 汪禄祥, 刘艳芳, 等. 7种云南野生食用菌的氨基酸组成比较分析及营养评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(10): 3912-3917.
YANG X K, WANG L X, LIU Y F, et al. Composition comparison and nutritional evaluation of amino acids in 7 kinds of wild edible mushrooms from Yunnan Province[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(10): 3912-3917.
- [19] LIU G, WANG H, ZHOU B H, et al. Compositional analysis and nutritional studies of Tricholoma matsutake collected from southwest China[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2010, 4(12): 1222-1227.
- [20] 许又凯, 刘宏茂, 肖春芬, 等. 6种食用榕树叶营养成分及作为木本蔬菜的评价[J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(1): 85-90.
XU Y K, LIU H M, XIAO C F, et al. The nutrient contents of six fig species and its evaluation as woody vegetables[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2005, 23(1): 85-90.
- [21] ZHAO Y, MA M, LI X L. Nutritional value and amino acid content of four grasses in eastern Inner Mongolia[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012, 11(21): 3928-3936.
- [22] 周丽芳, 朱翔, 赵红莉, 等. 电子顺磁共振对五种中草药抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(3): 318-323.
ZHOU L F, ZHU X, ZHAO H L, et al. Study on antioxidant activities of traditional Chinese medicines by electron paramagnetic resonance technique [J]. Natural Product Research and Development, 2014, 26(3): 318-323.
- [23] 陈玮, 刘启顺, 李曙光, 等. 微藻多糖生物活性研究进展[J]. 中国海洋药物, 2012, 31(3): 55-60.
CHEN W, LIU Q S, LI S G, et al. Progress in biological activity of microalgae polysaccharide[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2012, 31(3): 55-60.
- [24] 杨月欣, 王光亚, 潘兴昌. 中国食物成分表[M]. 2版. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 77-141.
YANG Y X, WANG G Y, PAN X C. China food composition [M]. 2nd ed. Beijing: Peking University Medical Press, 2009: 77-141.
- [25] 常希斌, 陈绪新, 罗红. 食物中亚油酸与亚麻酸的结构与功能[J]. 职业与健康, 2009, 25(19): 2105-2106.
CHANG X B, CHEN X X, LUO H. Structure and function of linoleic acid in food[J]. Occupation and Health, 2009, 25(19): 2105-2106.
- [26] 宋晓燕, 杨天奎. 天然维生素E的功能及应用[J]. 中国油脂, 2000, 25(6): 45-47.
SONG X Y, YANG T K. Function and application of natural vitamin E[J]. China Oils and Fats, 2000, 25(6): 45-47.

Nutrient components and hydroxyl radicals scavenging capacity research of *Dictyosphaerium* sp. 1A10

WANG Shenglin^{1,2}, ZHAO Zhenyu^{1,2}, LIU Pinghuai^{1,2}, LUO Ning^{1,2}, PAN Xiaoyan^{1,2}

(1. Department of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China; 2. Key Laboratory of Protection and Development Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources (Hainan University), Ministry of Education, Haikou 570228, Hainan, China)

Abstract: In order to develop the potential of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 in food and feed, the nutrient components and hydroxyl radicals scavenging capacity of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 were analyzed. The results showed that *Dictyosphaerium* sp. 1A10 was rich in carbohydrates (19.15%), grease (24.56%), ash (12.43%), fiber (12.31%) and protein (18.55%). Simultaneously, the energy of *Dictyosphaerium* sp. 1A10 was 371 kcal. In addition, the contents of linoleic (15.3%) and linolenic (8.5%) among fatty acids were high, and there were 18 kinds of amino acids in *Dictyosphaerium* sp. 1A10, which took up 10.16% of dry microalgae. And the content of essential amino acids accounted for 3.2% of that of total amino acid, which proved to be high in score of ratio coefficient of amino acid (SRCAA). Also 8 kinds of essential amino acids were detected which took up 3.2% and were attested to be high in score of ratio coefficient of amino acid (SRCAA). Meanwhile, the contents of VB₁ (2.15 mg/100 g), VB₃ (6.25 mg/100 g), VB₆ (1.31 mg/100 g), VA (2.37 mg/100 g) and VE (5.28 mg/100 g) were the highest among the 7 kinds of vitamins detected. Besides, magnesium (3 517.26 mg/kg), calcium (813.27 mg/kg), iron (301.78 mg/kg) and potassium (9 426.87 mg/kg) were also the highest among mineral elements. In this study, electron paramagnetic resonance (EPR) technique was used to investigate the scavenging effect on hydroxyl radicals of *Dictyosphaerium* sp. 1A10, and the scavenging rate was 62.62%. To conclude, *Dictyosphaerium* sp. 1A10 has the potential of developing as food and feed. Furthermore, *Dictyosphaerium* sp. 1A10 had a strong scavenging effect on hydroxyl radicals detected by electron paramagnetic resonance, and the scavenging rate was 62.62%. *Dictyosphaerium* sp. 1A10 has the potential of developing as food and feed.

Key words: *Dictyosphaerium* sp. 1A10; nutrient components; antioxidant; EPR