

葡萄藻之培育、成分分析及抗氧化能力探討

李沛珊、黃君毅、何源興

水產試驗所東部海洋生物研究中心

前言

葡萄藻屬 (*Botryocladia*) 主要產地在印度洋，臺灣記錄了葡萄藻 (*Botryocladia leptopoda*) 及厚壁葡萄藻 (*Botryocladia skottsbergii*) 2 種。本屬藻體特徵為單個或分枝，具有圓柱形的單管軸，其上有 1 至多個直立囊狀分枝，囊狀分枝有球形、梨形或橢圓形等多種形態，具柄或分枝，內皮層由 1 至數層無色細胞組成，內層壁上長有無柄的腺細胞，單個或集生，突出於腔內，腔內充滿黏液，外皮層細胞較少，四分孢子囊散生在皮層中，呈十字形分裂。

葡萄藻屬於紅藻植物門 (Rhodophyta) 真紅藻綱 (Florideophyceae) 紅皮藻目 (Rhodymeniales) 紅皮藻科 (Rhodymeniaceae) 的葡萄藻屬 (*Botryocladia*)，其外觀和一般綠色的海葡萄相似，但顏色為紅色，因此俗稱紅色葡萄藻 (Red grape algae)。臺灣常見於觀賞水族箱中，除了造景外，也是草食魚類最好的食物來源。本研究除進行葡萄藻培育試驗外，並探討其成分及抗氧化能力，以提高其利用價值。

葡萄藻來源及培育條件

一、種原來源

葡萄藻種原是 2013 年從花蓮業者取得。取得之藻種先進行馴化，以室內 0.5 噸豐年蝦桶培育，採自然光照、流水，以藻體懸浮方式進行培育 (圖 1)，4 週後增重率達 192%。藻種保存方式以 9 L 的酒果桶，藻量維持一定，每星期更換培養液 1 次，採低溫、少量藻體及低營養鹽保存。

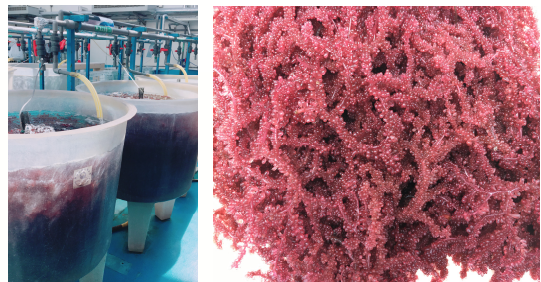


圖 1 現場養殖及所培育的葡萄藻

二、不同光照強度、營養鹽配方及不同濃度的銨鹽或磷酸鹽對葡萄藻成長之影響

本研究之試驗變因為 2 種光照強度 (5,000 或 10,000 lux) 及 13 種營養液 [海水、海水添加 PES (provasoli enriched seawater) 配方 (Provasol, 1968)、海水添加 MSW-III (modified seawater-III) 配方 (Chen et al., 1969)、海水添加花寶 4 號、海水添加台肥活力液肥、海水 + 0.1 μM 銨鹽、海水 + 1 μM 銨鹽、海水 + 10 μM 銨鹽、海水 + 40 μM 銨

鹽、海水 + 0.1 μM 磷酸鹽、海水 + 1 μM 磷酸鹽、海水 + 10 μM 磷酸鹽及海水 + 40 μM 磷酸鹽]。實驗時將 0.5 ± 0.05 g 的葡萄藻置入 250 ml 錐形瓶內，分別以不同光照或營養鹽進行培養，培養時無打氣，每天輕微搖晃，避免部分海藻附著，光週期為 12 小時光照/12 小時黑暗，水溫維持 25°C ，每 5 天更換培養液 1 次，每處理 3 重複，進行 15 天後秤重，並記錄成長情形。

試驗結果如圖 2 及 3，顯示在光照強度為 5,000 lux 時，以海水添加 0.1 μM 鉍鹽培育組，有最佳增重率 ($22.55 \pm 3.62\%$)，但與海水添加 PES 配方組 ($19.71 \pm 2.73\%$) 無顯著差異，唯增重率明顯優於其他組別。當光照強度為 10,000 lux 時，則以海水添加 1 μM 鉍鹽組之增重率 ($50.46 \pm 2.45\%$) 最佳，且顯著優於其他組別。

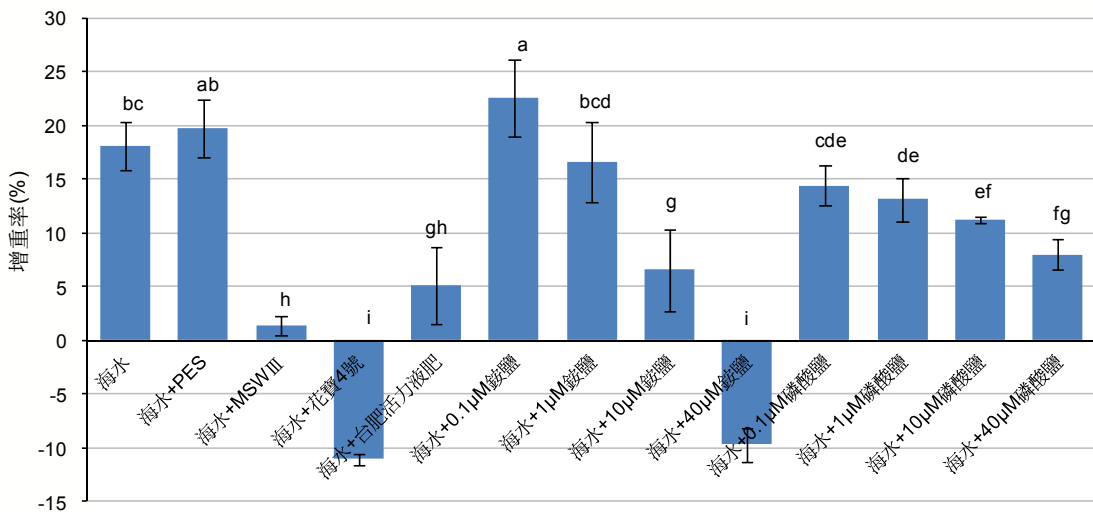


圖 2 於水溫 25°C 及光照強度 5,000 lux 培育條件下，不同營養配方及營養鹽濃度對葡萄藻成長之影響

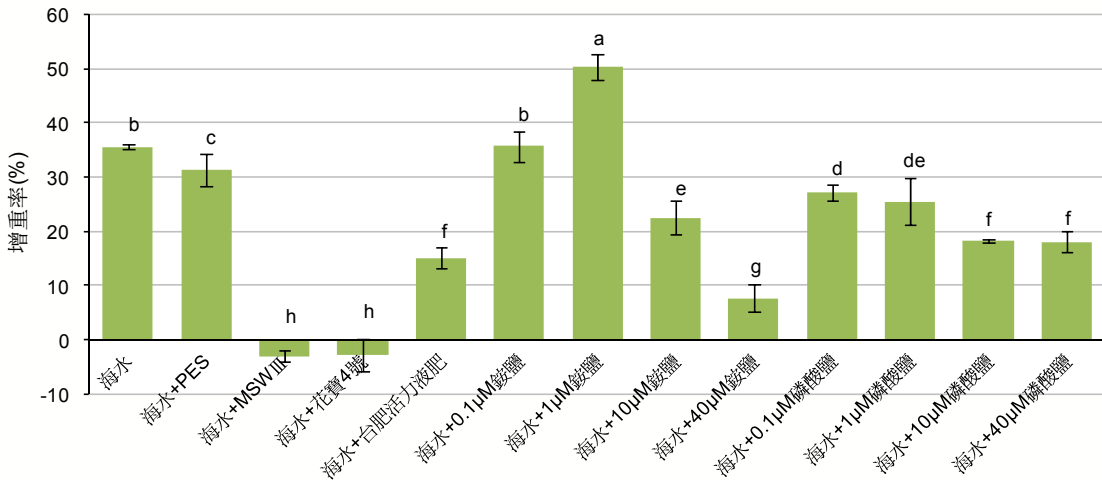


圖 3 於水溫 25°C 及光照強度 10,000 lux 培育條件下，不同營養配方及營養鹽濃度對葡萄藻成長之影響

葡萄藻成分分析

葡萄藻於豐年蝦桶穩定培育 2 個月後，收取新鮮的藻體送至臺灣檢驗公司 (SGS) 進行一般成分、胺基酸、脂肪酸組成分析及礦物質含量檢測。

一、一般成分分析

一般成分分析包括水分、灰分、熱量、粗蛋白質、粗脂肪、飽和脂肪、反式脂肪、碳水化合物、膳食纖維、糖及鈉含量分析。分析結果為每 100 g 的新鮮葡萄藻包含 94.4 g 的水分、3.1 g 的灰分、10 kcal 的熱量、0.5 g 的蛋白質、2.0 g 的碳水化合物及 0.9 g 的膳食纖維，而粗脂肪含量低於 0.1 g，糖含量低於 0.5 g，飽和及反式脂肪皆未檢出。

二、胺基酸及脂肪酸組成分析

分析新鮮葡萄藻 18 種胺基酸及 35 種脂肪酸含量，檢測項目、方法、偵測極限及結果如表 1 及 2 所示，僅檢驗出含有麩胺

表 1 葡萄藻水解胺基酸組成分析結果

| 檢測項目 | 檢測結果 | 偵測極限(ppm) |
|------|------|-----------|
| 絲胺酸 | 未檢出 | 300 |
| 天冬胺酸 | 未檢出 | 380 |
| 麩胺酸 | 439 | 420 |
| 甘胺酸 | 233 | 214 |
| 組胺酸 | 未檢出 | 443 |
| 精胺酸 | 未檢出 | 498 |
| 蘇胺酸 | 未檢出 | 340 |
| 丙胺酸 | 未檢出 | 255 |
| 脯胺酸 | 未檢出 | 329 |
| 胱胺酸 | 577 | 343 |
| 酪胺酸 | 未檢出 | 518 |
| 纈胺酸 | 未檢出 | 335 |
| 甲硫胺酸 | 未檢出 | 426 |
| 賴胺酸 | 未檢出 | 418 |
| 色胺酸 | 未檢出 | 25 |
| 異亮胺酸 | 未檢出 | 375 |
| 亮胺酸 | 未檢出 | 375 |
| 苯丙胺酸 | 未檢出 | 472 |

檢測方法：參考 AOAC 994.12

表 2 葡萄藻脂肪酸組組成分析結果 (偵測極限 0.05%)

| 檢測項目 | 檢測結果 |
|---------|------|
| 酪酸 | 未檢出 |
| 己酸 | 未檢出 |
| 辛酸 | 未檢出 |
| 癸酸 | 未檢出 |
| 十一碳酸 | 未檢出 |
| 月桂酸 | 未檢出 |
| 十三碳酸 | 未檢出 |
| 肉豆蔻酸 | 未檢出 |
| 肉豆蔻烯酸 | 未檢出 |
| 十五碳酸 | 未檢出 |
| 十五碳烯酸 | 未檢出 |
| 棕櫚酸 | 未檢出 |
| 棕櫚烯酸 | 未檢出 |
| 十七碳酸 | 未檢出 |
| 十七碳烯酸 | 未檢出 |
| 硬脂酸 | 未檢出 |
| 十八碳烯酸 | 未檢出 |
| 亞麻油酸 | 未檢出 |
| 次亞麻油酸 | 未檢出 |
| 花生酸 | 未檢出 |
| 二十碳一烯酸 | 未檢出 |
| 二十碳二烯酸 | 未檢出 |
| 二十碳三烯酸 | 未檢出 |
| 二十碳四烯酸 | 未檢出 |
| 二十碳五烯酸 | 未檢出 |
| 二十二碳酸 | 未檢出 |
| 二十二碳一烯酸 | 未檢出 |
| 二十二碳二烯酸 | 未檢出 |
| 二十二碳三烯酸 | 未檢出 |
| 二十二碳四烯酸 | 未檢出 |
| 二十二碳五烯酸 | 未檢出 |
| 二十二碳六烯酸 | 未檢出 |
| 二十三碳酸 | 未檢出 |
| 二十四碳酸 | 未檢出 |
| 二十四碳一烯酸 | 未檢出 |

檢測方法：參考衛福部 102 年 11 月 28 日部授食字第 1021950978 號公告訂定食品中脂肪酸之檢驗方法

酸、甘胺酸及胱胺酸，其他胺基酸含量皆低於偵測極限；而脂肪酸的含量皆低於偵測極限 (0.05%)。

三、礦物質含量檢測

分析一般海藻成分中常見的礦物質，檢測項目、方法、偵測極限及結果如表 3 所示，葡萄藻含有較多量的鈉、鉀、鎂、鈣、磷、硼及鐵，並含有微量的銅、鎳、鋅、錳及鈷。

表 3 葡萄藻礦物質含量檢測結果

| 檢測項目 | 檢測方法 | 檢測結果 (mg/kg) | 偵測極限 (mg/kg) |
|------|---|--------------|--------------|
| 鈉 | 參考 AOAC 984.27 | 8888 | - |
| 鐵 | 參考 USEPA method 3051，以感應偶合電漿質譜儀 (ICP/MS) 分析 | 2.46 | 0.01 |
| 鋅 | | 0.34 | 0.01 |
| 硒 | | 未檢出 | 0.01 |
| 銅 | | 0.39 | 0.01 |
| 錳 | | 0.25 | 0.01 |
| 鉻 | | 未檢出 | 0.01 |
| 鎳 | | 0.35 | 0.01 |
| 鈷 | | 0.01 | 0.01 |
| 鉀 | | 4460 | 2.0 |
| 鈣 | | 479 | 2.0 |
| 鎂 | | 1210 | 2.0 |
| 磷 | | 50.5 | 2.0 |
| 硼 | | 6.1 | 2.0 |

葡萄藻萃取液置備及抗氧化能力比較

一、葡萄藻粗萃取液置備

葡萄藻清洗後置於烘箱，並以 40℃ 烘乾 2 天，取烘乾葡萄藻 5 g 壓碎，萃取的方式分為：(1)直接加去離子水 125 ml 常溫浸泡 1 小時 (未處理組)；(2)以液態氮處理 10 分鐘，加去離子水 125 ml 後，置於 4℃ 萃取 1 小時 (冰萃組)；(3)加去離子水 125 ml 後，以 90℃ 加熱 1 小時 (熱萃組)。3 個組別處理完成後，皆以離心機離心，收取上清液 (粗萃取液)。

二、葡萄藻總糖量及總酚量比較

(一) 總糖量比較

依據 Dubois et al. (1956) 方法，取 1 ml 粗萃取液加入 0.5 ml 5% 酚溶液均勻混合後，立即加入 2.5 ml 濃硫酸，室溫靜置反應 25 分鐘後，以波長 490 nm 偵測吸光值，並以葡萄糖製作標準曲線，換算出各組萃取液的總糖量。結果如圖 4 所示，熱萃組的總糖量為 1.61 ± 0.03 mg/ml，高於冰萃組 (0.62 ± 0.03 mg/ml) 及未處理組 (0.55 ± 0.01 mg/ml)。

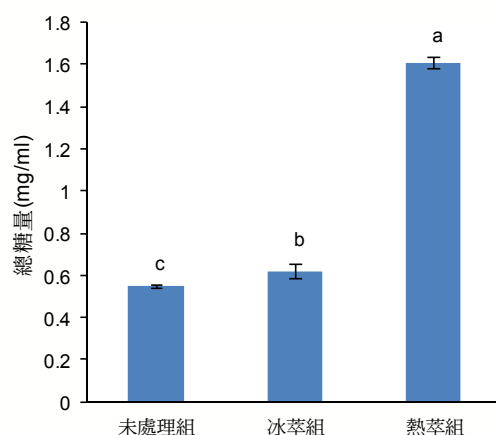


圖 4 葡萄藻經不同方式萃取後之總糖量比較

(二) 總酚量比較

參考 Singleton and Rossi (1965) 方法，取 0.25 ml 粗萃取液加入 0.25 ml 福林試劑 (folin-ciocalteu reagent) 及 3.75 ml 去離子水，均勻混合後靜置 10 分鐘，再加入 0.5 ml 的 20% 碳酸鈉溶液，並於 40℃ 水浴槽中反應 20 分鐘，以波長 755 nm 測其吸光值。結果如圖 5 所示，熱萃組的總酚量 $OD_{755nm} = 0.52 \pm 0.01$ ，高於未處理組 (0.33 ± 0.00) 及冰萃組 (0.27 ± 0.01)。

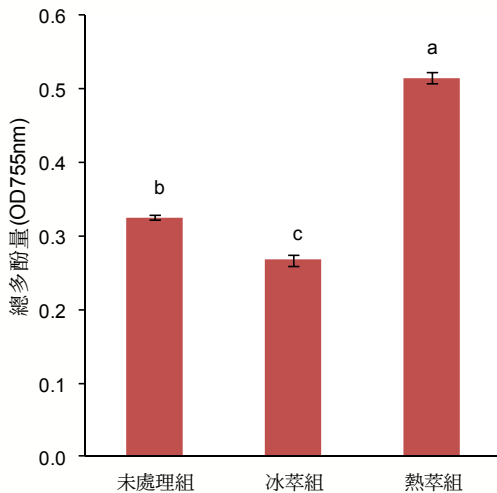


圖 5 葡萄藻經不同方式萃取後之總酚量比較

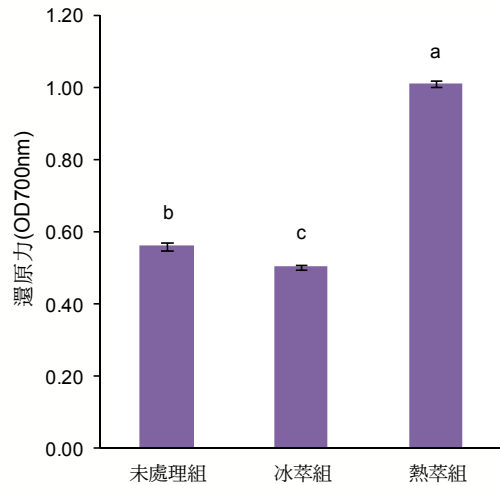


圖 6 葡萄藻經不同方式萃取後之還原力之比較

三、葡萄藻粗萃取液抗氧化能力比較

(一) 還原力比較

採用 Oyaizu (1986) 方法，取 0.25 ml 粗萃取液加入 0.25 ml 磷酸緩衝液及 0.25 ml 赤血鹽，混合均勻後，移入 50℃ 水浴槽中反應 20 分鐘，再加入 0.25 ml 三氯醋酸混合均勻後，離心取 0.5 ml 上清液，並加入 0.5 ml 去離子水及 0.1 ml 氯化鐵均勻混合後反應 10 分鐘，以波長 700 nm 偵測吸光值。結果如圖 6 所示，熱萃組的還原力 $OD_{700nm} = 1.01 \pm 0.01$ ，高於未處理組 (0.56 ± 0.01) 及冰萃組 (0.50 ± 0.01)。

(二) 清除超氧陰離子能力比較

採用 Robak and Glyglewski (1988) 方法，取 0.1 ml 粗萃取液，依序加入 0.25 ml 120 μ M PMS (phenazine methosulphate)、0.25 ml 936 μ M NADH (β -nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form) 及 0.25 ml 300 μ M NBT (nitro blue tetrazolium)，均勻混合後靜置 5 分鐘，以波長 560 nm 測其吸光值，清

除率 (%) = $[1 - (\text{含有樣品之實驗組於波長 } 560 \text{ nm 之吸光值} / \text{未添加樣品之對照組於波長 } 560 \text{ nm 之吸光值})] \times 100\%$ 。結果如圖 7 所示，熱萃組的清除超氧陰離子能力為 $66.38 \pm 1.14\%$ ，高於未處理組 ($34.10 \pm 1.02\%$) 及冰萃組 ($24.75 \pm 2.61\%$)。

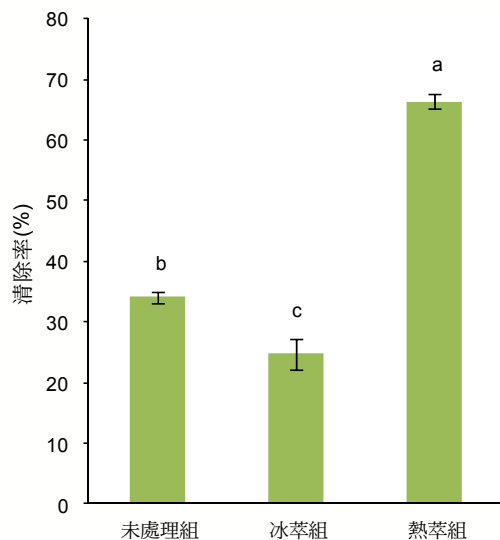


圖 7 葡萄藻經不同方式萃取後之清除超氧陰離子能力比較

(三) 清除 DPPH 自由基能力比較

參考 Yamaguchi et al (1998) 方法, 取 0.8 ml 粗萃取液加入 0.8 ml 0.25 mM DPPH 自由基甲醇溶液, 混合均勻後避光靜置 30 分鐘, 以波長 517 nm 測其吸光值, 清除率 (%) = [(未添加樣品之控制組於波長 517 nm 之吸光值 - 含有樣品之實驗組於波長 517 nm 之吸光值) / 未添加樣品之對照組於波長 517 nm 之吸光值] × 100%。結果如圖 8 所示, 熱萃組的清除 DPPH 自由基能力為 79.55 ± 1.35%, 高於冰萃組 (58.14 ± 0.87%) 及未處理組 (55.30 ± 1.38%)。

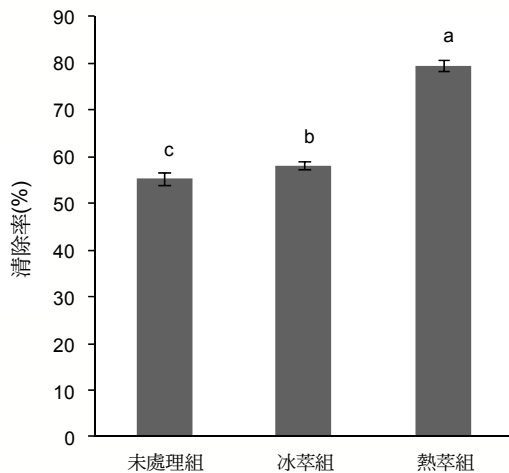


圖 8 葡萄藻經不同方式萃取後之清除 DPPH 自由基能力比較

(四) 螯合亞鐵離子能力比較

參考 Decker and Welch (1990) 方法, 取 0.02 ml 2 mM 氯化亞鐵加入 0.94 ml 粗萃取液及 0.04 ml 5 mM 菲洛嗪 (ferrozine), 混合均勻後, 於室溫下靜置反應 10 分鐘, 以波長 562 nm 偵測吸光值, 螯合亞鐵離子能力 (%) = [1 - (含有樣品之實驗組於波長 562 nm 之吸光值 / 未添加樣品之對照組於波長 562 nm 之

吸光值)] × 100%。結果如圖 9 所示, 熱萃組的螯合亞鐵離子能力為 83.88 ± 0.48%, 高於未處理組 (37.89 ± 0.46%) 及冰萃組 (27.68 ± 1.14%)。

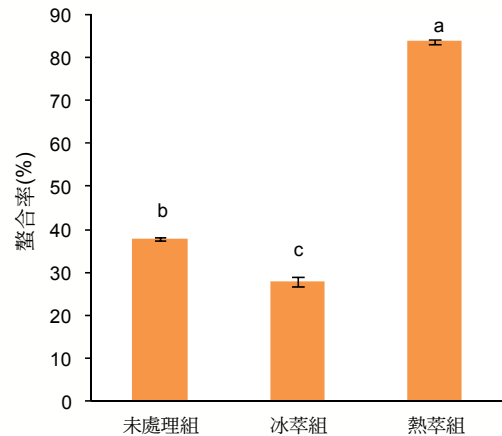


圖 9 葡萄藻經不同方式萃取後之螯合亞鐵離子能力比較

結語

海藻功能繁多, 除可提供氧氣, 減少二氧化碳及作為魚蝦貝類棲息地和餌料之外, 也跟人類的生活息息相關, 例如可供人類食用及作為健康食品與美容醫療方面的素材, 可提煉藻膠與生質能源, 另外也可用於觀賞水族。本研究進行葡萄藻培育試驗、成分分析及粗萃取液抗氧化能力分析, 進一步探討多種抗氧化能力, 得知此藻透過一些簡單方式獲得的粗萃取液即具有良好的抗氧化能力及清除自由基的能力, 可作為天然及安全的抗氧化或抗老化素材, 若能進一步開發與落實應用, 必有助於提高海藻的附加價值, 並促進海藻產業的發展。