

五種海藻粗萃取液之總醣量、總酚量、 抗氧化及抗菌活性分析

陳玉萍、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

近年來由於水產養殖技術快速發展，提升了養殖魚介貝類及藻類產量，加上陸地資源逐漸匱乏，科學家開始關注海洋資源，從中尋找生物活性化合物應用於新藥品和保健食品的開發。海藻中含有許多豐富的營養物質，包括蛋白質、維生素、礦物質及膳食纖維等，且經過研究發現，富含多種具有抗氧化、抗菌、降低膽固醇、增加膳食纖維、提高免疫力及調節身體酸鹼值等功能的活性物質，其潛在價值相當高，為新藥開發中常見之研究題材。

本研究使用石蓴 (*Ulva lactuca*) (綠藻門、石蓴綱、石蓴目、石蓴科、石蓴屬)、長莖葡萄蕨藻 (*Caulerpa lentillifera*) (綠藻門、羽藻綱、羽藻目、蕨藻科、蕨藻屬)、紅葡萄藻 (*Botryocladia leptopoda*) (紅藻門、真紅藻綱、紅皮藻目、紅皮藻科、葡萄藻屬)、海木耳 (*Sarcodia montagneana*) (紅藻門、真紅藻綱、杉藻目、海木耳科、海木耳屬) 及鋸齒麒麟菜 (*Eucheuma serra*) (紅藻門、真紅藻綱、杉藻目、紅翎藻科、麒麟菜屬) 等 5 種海藻 (圖 1)，分別使用熱水及高溫高壓方式進行萃取後，分析其粗萃取液成分，並評估不同萃取方式對總醣量、總酚量、抗氧化活

性及抗菌活性之影響。

海藻培育與收集

本試驗使用之 5 種海藻分別使用圓形 FRP 桶採流水方式、無添加營養鹽及使用自然光照進行培養，待海藻增殖後進行收集。收集之海藻先使用海水清洗乾淨，之後再放入烘箱中進行烘乾備用，烘乾條件為 55℃，24 小時。

海藻粗萃取液備置

取烘乾之海藻經研磨機研磨成粉末狀，再分別以熱水及高溫高壓方式進行萃取。熱水方式萃取為取 1 g 海藻粉末加入已預熱至 95℃ 之 100 ml 蒸餾水後，持續在該溫度下攪拌 1 小時萃取，而後以 300 目之網袋過濾去除海藻渣後，再以離心機離心 (12,000 rpm，5 分鐘)，收取上清液 (粗萃取液) 備用。高溫高壓方式萃取為取 1 g 海藻粉末加入 100 ml 蒸餾水後，放入高壓滅菌釜 (溫度 121℃、壓力 1.2 kg/cm²) 處理 20 分鐘，溶液再以 300 目之網袋過濾海藻渣後以離心機 12,000 rpm 離心 5 分鐘，收取上清液 (粗萃取液) 備用。



石蓴 (*Ulva lactuca*)



長莖葡萄蕨藻 (*Caulerpa lentillifera*)



葡萄藻 (*Botryocladia leptopoda*)



海木耳 (*Sarcodia montagneana*)



鋸齒麒麟菜 (*Eucheuma serra*)

圖 1 試驗藻種

總醣量分析

多醣為海藻主要成分，大約佔乾重之 76%。海藻多醣具有硫酸根，屬酸性水溶性多醣，其由許多單醣組成並通過糖苷鍵結合在一起，具有明顯的免疫學特性，包括非特異性刺激宿主免疫系統，產生抗腫瘤、抗病毒和抗感染等作用，同時也具有抗氧化活性。

本試驗總醣量測定是使用酚－硫酸法 (DuBois et al., 1956)，當醣遇強酸時，其烴基與酚結合，使溶液顏色呈現橘黃色，再使用分光光度計 (波長 490 nm) 測定吸光值。測定結果分別如圖 2 所示。使用高溫高壓方式所萃取之粗萃取液可測得較高的總醣含量，其中以鋸齒麒麟菜 (2.35 ± 0.20 mg/ml) 最高，其次為海木耳 (1.73 ± 0.30 mg/ml)。

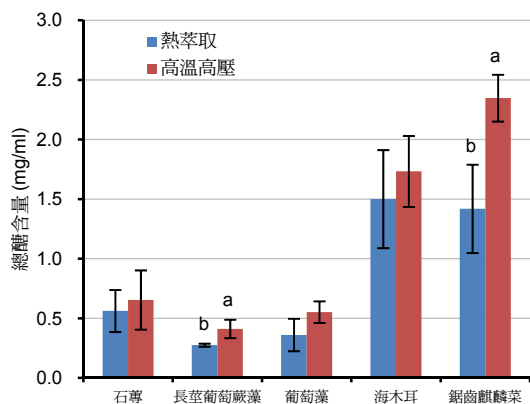


圖 2 總醣量分析結果

總酚量分析

海藻中酚類化合物種類繁多，通常以烴基數目區分為簡單酚類及多酚類；酚類化合物也被證實具有生物活性，包括抗菌及抗氧化活性。總酚量檢測方式參考 Singleton and

Rossi (1965)，樣品中如含有酚類化合物會與試劑反應呈色 (酚類指示劑如 Folin and Ciocalteus phenol reagent)，再利用分光光度計設定波長 755 nm 測量其吸光值。5 種海藻的測定結果，皆以使用高溫高壓方式萃取者之總酚含量較高，其中又以海木耳粗萃液所含的總酚最高 ($OD_{755\text{ nm}} = 0.36 \pm 0.09$) (圖 3)。

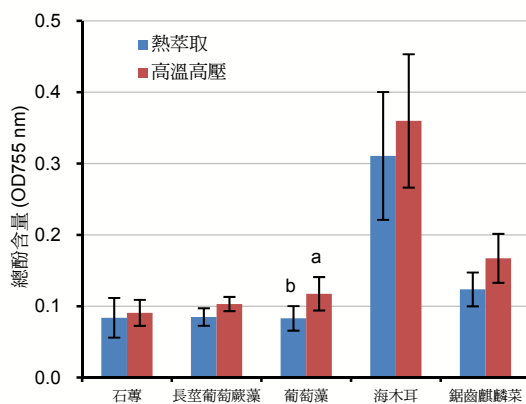


圖 3 總酚量分析結果

抗氧化活性分析

抗氧化活性分析包括還原力、螯合亞鐵離子能力及超氧陰離子去除率等三種：

(一) 還原力

主要在分析海藻萃取物捕捉過氧化氫，清除自由基的能力。本試驗採用 Oyaizu (1986) 方法，以普魯士藍 (Prussian blue) 的生成量為指標，藉由分光光度計 (波長 700 nm) 測定吸光值的變化來檢測還原力的強弱，吸光值越高者表示還原力越佳。測定結果如圖 4 所示，5 種海藻皆以使用高溫高壓方式萃取者還原力較高，其中又以海木耳效果最佳 ($OD_{700\text{ nm}} = 1.03 \pm 0.11$)。

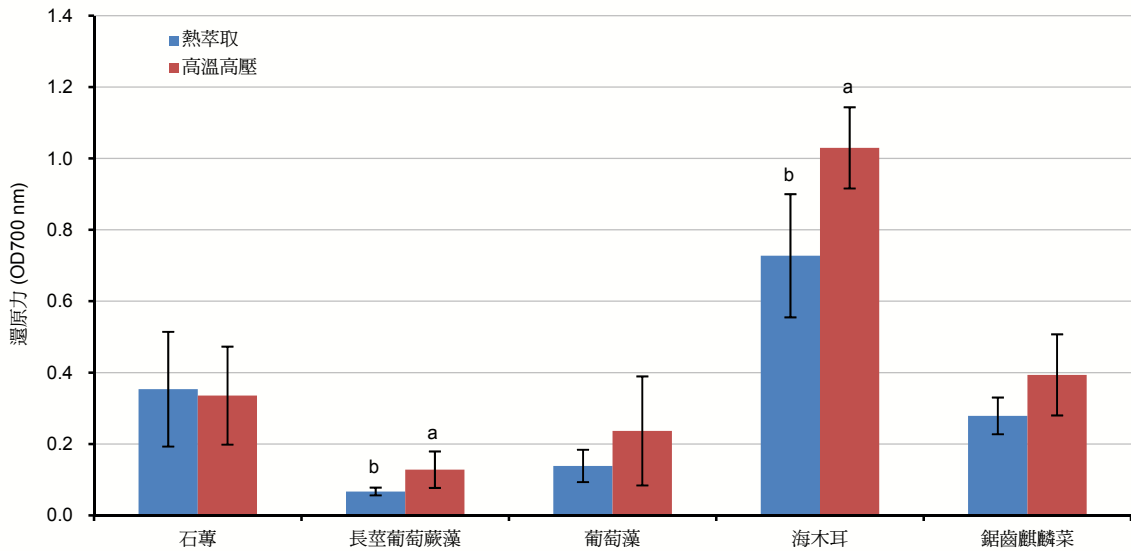


圖 4 還原力分析結果

(二) 螯合亞鐵離子能力

亞鐵離子容易與過氧化氫結合產生氫氧自由基並攻擊細胞造成損壞，藉由測定了解海藻萃取物是否具阻止亞鐵離子與過氧化氫及 O_2^- 作用之能力。試驗方法參考 Decker and Welch (1990)，在甲醇溶液中，藉 ferrozine 與 Fe^{2+} 螯合，產生鮮紅色的 ferrozine- Fe^{2+} 錯化合物，再利用分光光度計（波長 562 nm）測定吸光值，計算試樣螯合亞鐵離子的能力，吸光值愈低表示螯合亞鐵離子的能力愈強。測定結果如圖 5 所示，所測定的 5 種海藻皆以使用熱水方式萃取者的螯合亞鐵離子能力較高，其中又以海木耳最佳 ($62.36 \pm 17.96\%$)。

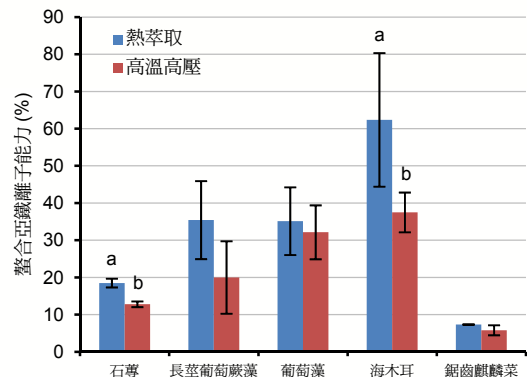


圖 5 螯合亞鐵離子能力分析結果

(三) 超氧陰離子去除率

係利用非酵素系統來產生超氧陰離子，再以 Nitro blue tetrazolium chloride (NBT) 來檢測樣品清除 O_2^- 能力，吸光值愈低，表示清除率愈高。測定結果如圖 6 所示，5 種海

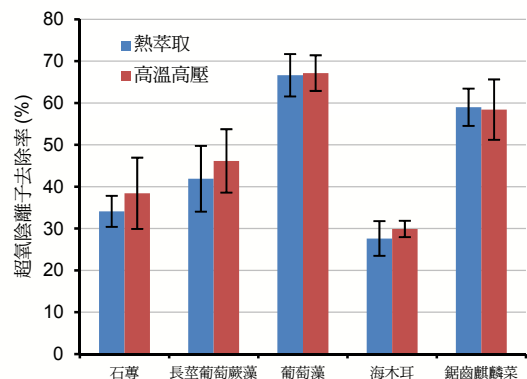


圖 6 超氧陰離子去除率分析結果

藻皆是以高溫高壓方式萃取者具有較高的清除超氧陰離子去除率，其中又以葡萄藻最高 ($67.15 \pm 4.26\%$)。

抗菌活性分析

溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)、副溶血弧菌 (*V. parahaemolyticus*)、哈維氏弧菌 (*V. harveyi*) 及發光桿菌 (*Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*) 等病原菌在養殖環境不佳、管理不善且養殖生物虛弱時，容易造成感染，導致損失。本試驗以該 4 種病原菌對白蝦進行攻毒試驗，並利用紙錠擴散法 (Disk-diffusion method) 測試 5 種海藻粗萃取液的抗菌活性。測定時先將菌液均勻塗布於培養基表面靜置 3—5 分鐘，然後將浸泡過海藻萃取液的濾紙以鑷子夾至培養基表面，將該培養皿放入 28℃ 培養箱中 16—18

小時後觀察與記錄抑制圈的大小。試驗結果顯示，除了使用熱水萃取之海木耳粗萃液對哈維氏菌不具抑菌作用外，其餘不論是使用熱水或是高溫高壓方式萃取者對 4 種病原菌皆有抑菌圈產生 (表 1)。

結語

綜上所述，本研究使用的 5 種海藻，大多以高溫高壓方式得到的粗萃液有較佳的總醣量、總酚量及抗氧化活性。抗菌活性方面，則是對 4 種病原菌皆有抑菌圈產生，除了使用熱水萃取之海木耳粗萃液對哈維氏菌不具抑菌作用。未來將在飼料中添加海藻萃取物，進行白蝦投餌及病菌攻擊試驗，進一步了解其對提昇白蝦免疫力以及加強抗病力之效果。

表 1 藻類萃取物對 4 種病原菌的抗菌圈大小 (公分)

試 驗 樣 品	溶藻弧菌	副溶血弧菌	哈維氏弧菌	發光桿菌
石蓴 (熱水)	0.09±0.04	0.10±0.07	0.05±0.00	0.07±0.03
石蓴 (高溫高壓)	0.10±0.07	0.12±0.06	0.05±0.01	0.08±0.03
長莖葡萄蕨藻 (熱水)	0.07±0.04	0.11±0.03	0.07±0.03	0.08±0.00
長莖葡萄蕨藻 (高溫高壓)	0.08±0.03	0.08±0.03	0.05±0.00	0.10±0.05
葡萄藻 (熱水)	0.08±0.03	0.11±0.06	0.07±0.03	0.09±0.06
葡萄藻 (高溫高壓)	0.09±0.04	0.11±0.06	0.08±0.04	0.19±0.11
海木耳 (熱水)	0.10±0.05	0.14±0.06	未檢出	0.12±0.07
海木耳 (高溫高壓)	0.06±0.03	0.10±0.04	0.05±0.00	0.09±0.03
鋸齒麒麟菜 (熱水)	0.06±0.03	0.11±0.05	0.08±0.03	0.11±0.04
鋸齒麒麟菜 (高溫高壓)	0.09±0.04	0.09±0.05	0.07±0.03	0.08±0.03