

鋸齒麒麟菜種原保存及萃取應用可行性初探

黃君毅、李沛珊、何源興

水產試驗所東部海洋生物研究中心

前言

臺灣的海產紅藻約有 11 科 76 屬 150 種，除含有葉綠素 a 及 d 外，還具有較多的藻紅素，一般藻體多呈紅色或暗紅色，大部分皆有經濟價值，臺灣已利用的有龍鬚菜 (*Gracilaria* sp.)、石花菜 (*Gelidium* sp.)、紫菜 (*Prophyra dentate*) 和頭髮菜 (*Bangia atropurpurea*)，尚未被開發利用的如麒麟菜 (*Eucheuma*)，麒麟菜除可供食用或抽取洋菜外，其萃取之卡拉膠 (carrageenan) 可供多種化學工業所需。

卡帕藻 (*Kappaphycus*) 及麒麟菜為生產最主要之藻種，2014 年統計佔總產膠藻之比例高達 77% (約 1,109 萬公噸) (Nayar and Bott, 2014; FAO, 2016)，而海藻因行斷裂增殖使其品系逐漸單一，無法抵抗環境變化及病變，為克服此問題需從海藻選育種開發，從生活上之繁殖細胞純化培養或以體外培養癒傷組織改良其活性表現 (Reddy et al., 2017)。

鋸齒麒麟菜 (*Eucheuma serra*) (圖 1) 於野外每年 3 月開始增殖，6—8 月為最盛期，9 月開始減少，10 月中旬則幾乎觀察不到 (曾和陳，1977)。海藻養殖主要以片段養殖及繁殖細胞育苗生產為主，片段養殖為海藻碎裂成小片段，誘發其癒傷組織，待癒合後即可獲得小形體之藻種，此方法為最簡易之海藻



圖 1 鋸齒麒麟菜 (上圖為人工馴養；下圖為野外常見型態)

繁殖方法，但其受環境及藻種本身老化程度不同而容易造成大規模死亡。而以室內保種，保留小部分藻種降低其生長速度以降低其老化速度，待戶外大量生產模組需要藻種時，再移出培養以克服此法之缺點。

海藻因光合作用，利用光線產生氧氣，在高濃度氧氣的狀態下，有利於自由基產生，如超氧陰離子 (O_2^-) 和氫自由基 ($\cdot OH$)。但在代謝期間卻沒有遭受嚴重的光學損害，此結果顯示植物細胞有保護的抗氧化

機制 (Matsukawa et al., 1997)。海藻中所含之硫酸多醣為陸上植物所缺乏，並且具有抗氧化活性 (林，2008)。活性氧包含過氧化氫 (H_2O_2)、超氧陰離子和自由基，如氫氧基 ($OH\cdot$)，這些分子的不穩定和高度反應，對生物影響，如脂質過氧化物反應，或 DNA 突變引起癌症的畸變或細胞死亡。近來許多研究致力於海藻各種萃取之活性成分及其應用，例如免疫調節、降血糖；降血脂、抗腫瘤、抗膽固醇及抗氧化活性等 (Jiao et al., 2011)。

材料與方法

一、種原保存之養殖條件試驗

將鋸齒麒麟菜以不同分株尺寸 (1、3、5 cm) 及不同溫度 (20、24°C) 之平板培養基 (1% agarose、PES medium) 試驗其保存效果；養殖條件試驗於 24°C 以不同分株尺寸 (1、3、5 cm) 及不同光照強度 (3,000、5,000、10,000 Lux) 之 150 ml 三角錐瓶液態培養，每週換水 3 次，試驗最適之養殖尺寸及光照條件。

二、鋸齒麒麟菜藻粉製備及萃取

鋸齒麒麟菜清洗後置於烘箱，並以 55°C 烘乾 1 天，將烘乾之海藻經研磨機研磨後冰存備用。取 1 g 烘乾之鋸齒麒麟菜粉加入 100 ml 蒸餾水後，分別以下述之方法萃取 95°C，加熱攪拌 1 小時 (熱萃組)；高溫高壓條件 121°C、1.2 kg/cm² 處理 20 分鐘 (高溫高壓組)；以均質機均質 3 分鐘 (均質組)，3 個組別處理完成後，以 300 目之網袋過濾藻渣後再以離心機離心，收取上清液 (粗萃取液)。

三、鋸齒麒麟菜粗萃取液總醣量、總酚量及抗氧化能力分析

(一) 總醣量檢測

參考 Dubois et al. (1956) 方法，取 1 ml 粗萃取液加入 0.5 ml 的 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 min 後，以波長 490 nm 偵測吸光值，並以葡萄糖製作標準曲線。

(二) 總酚量檢測

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 min，再加入 0.5 ml 的 20% 碳酸鈉溶液，並於 40°C 水浴槽中反應 20 min，以波長 755 nm 測其吸光值。

(三) 抗氧化能力比較

還原力檢測：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°C 水浴槽中反應 20 min，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 min，以波長 700 nm 偵測吸光值。

清除超氧陰離子能力：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 min，以波長 560 nm 測其吸光值，清除率 (%) = $[1 - (\text{含有樣品之實驗組於波長 560 nm 之吸光值} / \text{未添})]$

加樣品之對照組於波長 560 nm 之吸光值)] × 100%。

螯合亞鐵離子能力：依據 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 min，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%。

結果與討論

一、種原保存之養殖條件

大型海藻種原之片段大小對成長及環境耐受強度有極高之差異，故試驗其不同尺寸之保存及成長條件，以供養殖應用，種原保存實驗結果各尺寸之保種條件 24°C 各尺寸組保存 3 週仍保有活性，20°C 組於第 2 週各尺寸組皆白化失去活性；養殖試驗結果如圖 2 所示，試驗結果各光照條件下 1、3 cm 組別皆高於 5 cm 組，其中又以 1 cm、5,000 Lux 組有最高的成長表現，海藻片段斷面越多形成之癒傷組織越多，在同質量下 1、3 cm 組之切口越多使其有較多萌芽點，並有較高的成長。

二、鋸齒麒麟菜不同萃取方式之粗萃取液總醣量、總酚量分析

各組萃取液之總醣量如圖 3 所示，熱萃組 2.66 ± 0.36 mg/ml、高溫高壓組 1.52 ± 0.05 mg/ml、均質組 1.74 ± 0.02 mg/ml，各組萃取液之總酚量如圖 4 所示，熱萃組 17.96 ± 0.49 µg/ml、高溫高壓組 24.1 ± 1.58 µg/ml、均質

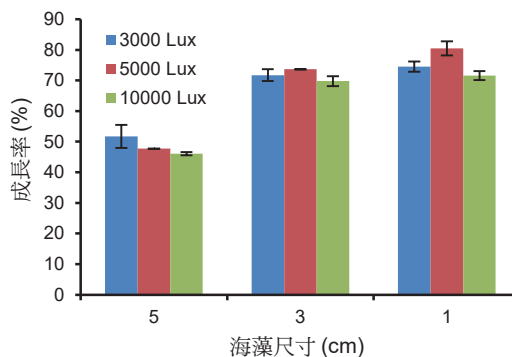


圖 2 鋸齒麒麟菜不同尺寸及光照成長試驗

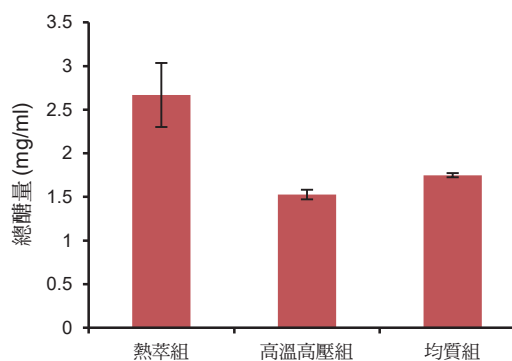


圖 3 鋸齒麒麟菜經由不同萃取方式所產生出來的粗萃取液之總醣量比較

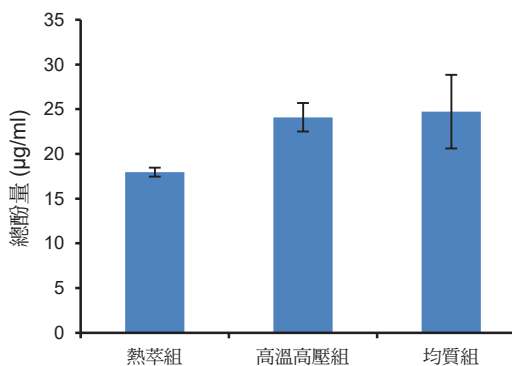


圖 4 鋸齒麒麟菜經由不同萃取方式所產生出來的粗萃取液之總酚量比較

組 24.73 ± 4.11 µg/ml。海藻多醣為水溶性物質故以熱水攪拌萃取效果較佳，然而粗萃取液在冷藏保存時，僅有均質組變為果凍狀，熱萃組與高溫高壓組則稠度增加但仍能流

動。游 (2012) 指出，海藻多酚具有提高抗氧化能力之效果，並且螯合亞鐵離子能力隨多酚含量提高而增加。

三、鋸齒麒麟菜不同萃取方式之粗萃取液抗氧化能力比較

各組萃取液之還原力如圖 5 所示，熱萃組 3.57 ± 0.07 OD_{700 nm}、高溫高壓組 3.53 ± 0.03 OD_{700 nm}、均質組 3.55 ± 0.03 OD_{700 nm}，萃取液之超氧陰離子清除率如圖 6 所示，熱萃組 $49.14 \pm 4.14\%$ 、高溫高壓組 $59.79 \pm 2.57\%$ ，螯合亞鐵離子螯合率如圖 7 所示，熱萃組 $61.08 \pm 3.19\%$ 、高溫高壓組 $88.87 \pm 0.4\%$ ，還原力於不同處理組間無明顯不同，而螯合亞鐵離子能力及超氧陰離子清除率皆以高溫高壓組表現最佳，海藻所含之硫酸多醣具有抗氧化能力，且鍵結組成之醣類不同會影響其機能性 (Jiao et al., 2011)，推測於高溫高壓處理後，改變其硫酸多醣組成，提高其抗氧化能力。

結語

在種原保存上，利用小片段藻體培養於平板培養基上，於 24°C 下保存 3 週仍保有活性。其次培養時則建議以不小於 3 cm 之藻體片段進行放養可提高養殖成效。不同萃取方式不僅影響萃取量，也影響萃取物的抗氧化能力，如總醣量以熱萃組最高，而在亞鐵離子螯合率及超氧陰離子清除率皆以高溫高壓組最高，故可針對所需特性選擇萃取方式，需要高抗氧化能力可以使用高溫高壓條件萃取，而需要高總醣量則以熱萃條件萃取效果最好。

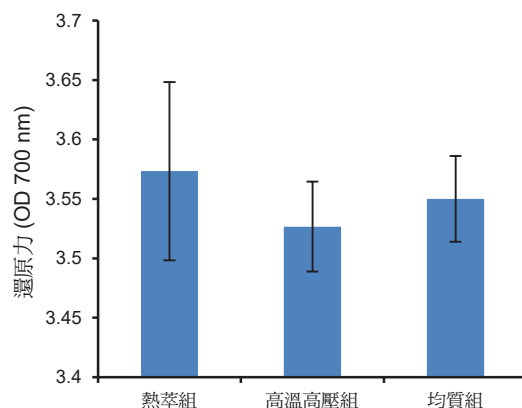


圖 5 鋸齒麒麟菜經由不同萃取方式所產生出來的粗萃取液之還原力之比較

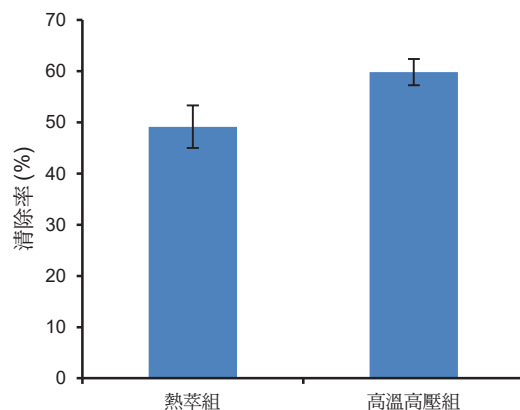


圖 6 鋸齒麒麟菜經由不同萃取方式所產生出來的粗萃取液之清除超氧陰離子能力比較

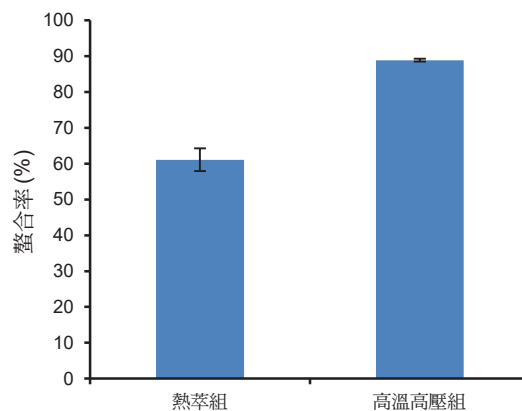


圖 7 鋸齒麒麟菜經由不同萃取方式所產生出來的粗萃取液之螯合亞鐵離子能力比較