

螺旋藻过氧化氢酶的比较研究*

栗淑媛¹ 刘燕¹ 乔辰² 扈瑞平¹

(内蒙古师范大学生物系 呼和浩特 010022)¹

(内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010018)²

摘要: 采用碘量法对毛乌素沙地碱湖的钝顶螺旋藻 S_1 与国外引进的钝顶螺旋藻 S_2 和极大螺旋藻 S_3 的过氧化氢酶 (CAT) 进行了比较研究。结果表明: S_1 、 S_2 和 S_3 CAT 活性在 25℃、pH 7.0 时分别为 410.7 U/g·FW、550.4 U/g·FW 和 370.3 U/g·FW; K_m 值分别为 5.0×10^{-2} mol/L、 5.4×10^{-2} mol/L 和 3.8×10^{-2} mol/L; 最适温度分别为 25℃、25℃和 40℃; 最适 pH 值分别为 7.2、7.6 和 7.8。内蒙古特有的 S_1 CAT 对温度和 pH 适应范围宽, 且在低温、高温和强碱下的活性比引进种的高。

关键词: 螺旋藻, 过氧化氢酶 CAT, 温度, pH 值

中图分类号: Q5546 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 06-0016-04

A COMPARATIVE STUDY OF CATALASE FROM *SPIRULINA* (*ARTHROSPITA*)

LI Shu-Yuan¹ LIU Yan¹ QIAO Chen² HU Rui-Ping¹

(Department of Biology, Inner Mongolia Normal University, Huhehaote 010022)¹

(Department of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhehaote 010018)²

Abstract: A comparative study of the catalase (CAT) from the domestic *Spirulina platensis* (S_1) from alkaline lake in Mu Us Sandy Land and the imported *S. platensis* (S_2) and *S. maxima* (S_3) as well made by means of iodometry. The results showed that activities (25℃, pH 7.0) of S_1 , S_2 and S_3 is 410.7 U/g·FW, 550.4 U/g·FW and 370.3 U/g·FW respectively; K_m values 5.0×10^{-2} mol/L, 5.4×10^{-2} mol/L and 3.8×10^{-2} mol/L; Optimum temperatures 25℃, 25℃ and 40℃; Optimum pH 7.2, 7.6 and 7.8. Adaptive range of S_1 CAT which is endemic in Inner Mongolia for

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39960062)

Project Granted by Chinese National Natural Science Found (No. 39960062).

内蒙古自然科学基金资助项目 (No. 990303-4)

收稿日期: 2001-09-14, 修回日期: 2001-11-18

temperature and pH are wide, and activity under low and high temperature as well as strong alkali conditions is higher than that of imported species.

Key words: *Spirulina* (*Arthrospira*), Catalase (CAT), Temperature, pH values

过氧化氢酶 (catalase, 简写 CAT) (EC 1.11.1.6.) 是一种广泛存在动、植物组织中的氧化还原酶类。它把细胞代谢产生的对机体有害的 H_2O_2 分解成 H_2O 和 O_2 , 避免了 H_2O_2 在体内积累, 具有解毒作用^[1]。

螺旋藻含有极为丰富的营养成分和生理活性物质, 具有提高机体免疫力和抗衰老的作用^[2]。作为功能性食品和保健品的螺旋藻日益受到人们的重视, 但螺旋藻的基础研究相对滞后^[3]。有关螺旋藻 CAT 的研究报道较少^[4], 本文以内蒙古毛乌素沙地碱湖特有的钝顶螺旋藻与国外引进的钝顶螺旋藻和极大螺旋藻为材料, 对其 CAT 进行了初步的比较研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

见表 1。

1.2 方法

1.2.1 藻的培养: 采用 Zarrouk 培养液在室温自然光照下通气培养。

1.2.2 酶液制备: 准

确称取处于对数生长期新鲜的藻 1g, 置于预冷研钵中, 加入少许 pH 7 的磷酸缓冲液及石英砂, 在冰浴中充分研磨, 破碎细胞。4℃下离心 20min (RCF = 8, 500g), 取上清液定容备用。

1.2.3 CAT 活性测定: 采用碘量法^[5]。每个样品至少重复 3 次。每 min 催化 1μmol H_2O_2 分解的酶量定义为一个酶活力单位 (U)。

1.2.4 米氏常数 (Km) 和最大反应速度 (Vmax) 测定: 在 25℃、pH 7 条件下, 采用 Lineweaver-Burk 作图法确定, 每个样品重复 3 次。

1.2.5 温度对 CAT 活性影响测定: 在 0℃ ~ 96℃ (沸腾) 条件下分别测定酶活性, 每个样品重复 3 次。绘制酶活性温度曲线。

1.2.6 pH 值对 CAT 活性影响测定: 在 pH 2.2 ~ 14.0 缓冲液范围内分别测定酶活性, 每个样品重复 3 次。绘制酶活性 pH 值曲线。

2 结果与分析

2.1 螺旋藻 CAT 活性、Km 和 Vmax

在 25℃、pH 7.0 时, 螺旋藻 CAT 活性、Km 和 Vmax 见表 2。从表 2 看出, 引进的钝顶螺旋藻 (S₂) CAT 活性最高, 内蒙古特有的钝顶螺旋藻 (S₁) 活性居中, 极大螺旋藻 (S₃) 活性最低, 且钝顶螺旋藻 (S₁、S₂) CAT 活性大于极大螺旋藻。螺旋藻 CAT 的 Km

表 1 实验材料

样品代号	物 种	产 地	来 源
S ₁	钝顶螺旋藻 <i>Spirulina</i> (<i>Arthrospira</i>) <i>platensis</i>	内蒙古巴彦淖尔碱湖	自 采
S ₂	钝顶螺旋藻 <i>S. (A.) platensis</i>	非洲乍得湖	南京大学生物科学与 技术系
S ₃	极大螺旋藻 <i>S. (A.) maxima</i>	墨西哥 Sosa Texcoco 湖	中国农业科学院

注: 下文对应样品代号以此表为准

表 2 螺旋藻 CAT 活性、Km 和 Vmax (25℃、pH 7.0)

材料	CAT 活性 (U/g·FW)	Km (mol/L)	Vmax (1μmol/min)
S ₁	410.7	5.0×10^{-2}	33.3
S ₂	550.4	5.4×10^{-2}	30.3
S ₃	370.3	3.8×10^{-2}	23.3

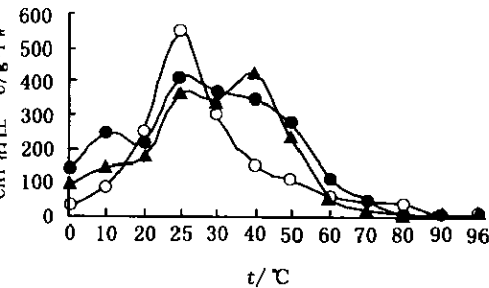


图 1 螺旋藻 CAT 温度曲线
● S₁, ○ S₂, ▲ S₃

活性的比较见表 3。从表 3 可以看出，在 0℃、10℃、50℃ 和 60℃ 下，内蒙古特有螺旋藻 S₁ 的 CAT 活性远高于引进种。虽然 S₁ CAT 的活性在最适温度下相比最低，但对低温和高温的耐受能力却比引进种都强。

表 3 在低温和高温下螺旋藻 CAT 活性的比较

温 度 (℃)	S ₁		S ₂		S ₃		S ₁ /S ₂	S ₁ /S ₃
	活性 (U/g·FW)	最大 活性 (%)	活性 (U/g·FW)	为最大 活性 (%)	活性 (U/g·FW)	最大 活性 (%)		
0	142.3	34.6	32.3	5.9	96.4	22.4	4.4	1.5
10	250.4	61.0	90.6	16.5	146.7	34.1	2.8	1.7
50	283.4	69.2	111.5	20.3	238.7	55.4	2.5	1.2
60	110.7	27.0	64.2	11.7	53.9	12.5	1.7	2.1

注：S₁/S₂ 和 S₁/S₃ 是指酶活性的比

2.3 pH 值对 CAT 活性的影响

螺旋藻 CAT 活性随 pH 值的变化见图 2。从图 2 看出，螺旋藻 CAT 的最适 pH 值在 7.2~7.8 之间，S₁ 为 7.2，活性 354.9 U/g·FW；S₂ 为 7.6，活性 556.2 U/g·FW；S₃ 为 7.8，活性 322.3U/g·FW。在 pH 2.2 时，酶基本失活。当 pH 9.0~10.0 时，螺旋藻 CAT 均保持较高的活性。然而 pH > 10.0，S₂ 和 S₃ 酶活性均已降得很低，S₁ 仍有较高的酶活性，且 pH 10.0、12.0 时其活性为最大活性的 3/4；pH 14.0 时为最大活性的近一半，见表 4。说明内蒙古特有藻 S₁ 的 CAT 比 S₂、S₃ 有更强的耐碱性。

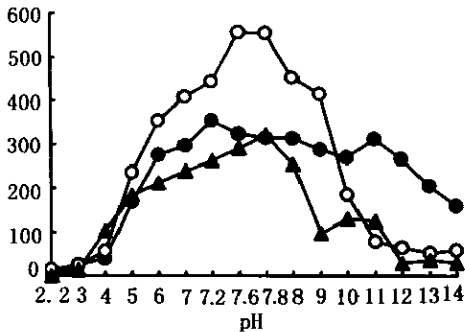


图 2 螺旋藻 CAT-pH 曲线
● S₁, ○ S₂, ▲ S₃

均在同一数量级 ($\times 10^{-2}$) 上，这与 P. Nicholls 等报道的 CAT 的 Km 值为 1.1 mol/L (牛肝, 30℃, pH7)^[6] 相差 2 个数量级；而与沈仁权书中给出的 Km 值为 2.5×10^{-2} mol/L (肝)^[7] 相近。两个不同产地钝顶螺旋藻的 Km 值和 Vmax 值相近，而极大螺旋藻的 Km 值和 Vmax 值均较钝顶螺旋藻的低。

2.2 温度对螺旋藻 CAT 活性的影响

温度对螺旋藻 CAT 活性的影响见图 1。从图 1 可见，钝顶螺旋藻 (S₁、S₂) CAT 的最适温度均为 25℃，而极大螺旋藻 (S₃) 为 40℃。温度 > 60℃ 时，螺旋藻 CAT 活性均已很低。从对温度适应范围来看，S₁ 最宽，S₃ 次之，S₂ 最窄。

在低温和高温下，3 个样品的 CAT

表 4 在强碱条件下螺旋藻 CAT 活性的比较

pH	S ₁		S ₂		S ₃		S ₁ /S ₂	S ₁ /S ₃
	活性	最大	活性	最大	活性	最大		
	(U/g·FW)	活性 (%)	(U/g·FW)	活性 (%)	(U/g·FW)	活性 (%)		
10.0	269.9	76.0	184.2	33.1	129.4	40.2	1.5	2.1
12.0	266.2	75.0	64.9	11.7	29.5	9.2	4.1	9.0
14.0	158.0	44.5	58.7	10.6	30.0	9.3	2.7	5.3

注: S₁/S₂ 和 S₁/S₃ 是指酶活性的比

3 讨论

从 CAT 对温度的适应范围来看, 内蒙古的钝顶螺旋藻最宽, 极大螺旋藻次之, 乍得湖钝顶螺旋藻最窄。在低温和高温下, 内蒙古的钝顶螺旋藻 CAT 活性远高于引进种, 特别是比乍得湖的高得多。这说明内蒙古的钝顶螺旋藻 CAT 不仅对温度的适应范围广, 而且对低温和高温的耐受能力强。温度是植物生长的必需条件, 也是植物自然地理分布的主要限制因素。来自非洲乍得湖的钝顶螺旋藻和墨西哥的 Sosa Texcoco 湖的极大螺旋藻, 它们原产地均在北纬十几度, 属于热带地区, 这两个藻种就明显打上低纬度的烙印。而内蒙古的钝顶螺旋藻产于鄂尔多斯高原毛乌素沙地巴彦淖尔湖 (39°01'N, 109°17'E) 及其邻近碱湖, 该地区是典型温带大陆性干旱半干旱气候区。冬季寒冷漫长, 夏季温热暂短, 气温日、季节变化大。极端最低温度为 -29.8℃ ~ -35.7℃, 极端最高温度 35.0℃ ~ 40.2℃, 年平均气温 6.4℃^[8]。该藻多少年来就在这里自生自灭, 繁衍生息, 在长期与周围环境相互作用的过程中, 也就适应了当地的温度及其变化, 通过遗传变异和自然选择获得了一种既抗寒又抗热的能力^[9], 其中特别是抗寒性。

内蒙古的钝顶螺旋藻对 pH 值适应范围较另两个样品宽, 特别是在 pH≥10 的强碱条件下, 其活性比另两个样品高得多。毛乌素沙地碱湖位于世界盐湖带上, 湖泊面积小。该地区年降水量为 250mm ~ 360mm, 年蒸发量为 2470mm ~ 2691mm, 蒸发量是降水量的 7 ~ 11 倍^[8]。碱湖多数年份有湖表卤水, 但当气候连续干旱时, 也会出现干涸, 湖水的 pH 值波动比较大。在这样碱湖中生存的螺旋藻经过自然选择表现出对 pH 变化范围大和高 pH 环境的适应性。

致谢 钝顶螺旋藻和极大螺旋藻由曾昭琪教授和陈婉华研究员惠赠, 特此致谢。

参 考 文 献

[1] 孟繁静, 刘道宏, 苏业瑜. 植物生理生化. 北京: 中国农业出版社, 1999.141.
[2] 马贵武, 邱春吟. 湛江海洋大学学报, 1997, 17 (1): 78 ~ 80.
[3] 林惠民. 水生生物学报, 1991, 15 (1): 27 ~ 34.
[4] 刘志礼, 李鹏云. 植物学通报, 1998, 15 (3): 43 ~ 47.
[5] 西北农业大学植物生理生化教研组. 植物生理学实验指导. 西安: 陕西科学技术出版社, 1987.92 ~ 93.
[6] Nicholls P, Schonbaum G. In The Enzymes, (P. D. Boyer, H. Lardy, and K. Myrback, eds.), Vol. 8, Academic Press, New York, 1963, 147.
[7] 沈仁权, 顾其敏, 李咏棠, 等. 基础生物化学. 上海: 上海科学技术出版社, 1980.175.
[8] 《伊克昭盟农业区划》编辑委员会. 伊克昭盟农业区划 (第一版). 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1990.9 ~ 105.
[9] 李 博, 杨 持, 林 鹏. 生态学. 北京: 高等教育出版社, 2000.26 ~ 30.