

单色光对玫瑰茄悬浮细胞合成花青素的影响

朱新贵 郭 勇

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510641)

摘 要 玫瑰茄悬浮细胞合成花青素受光调节。将不同的单色滤光膜覆盖在摇瓶表面, 控制光照强度, 判定了蓝光为促进玫瑰茄细胞产花青素的最有效单色光; 红光和橙光无效; 其它单色光随其波长接近蓝光, 正效应增强。单色光对玫瑰茄细胞培养过程的其它参数, 如 pH、降糖、细胞生物量等影响不大。

关键词 单色光; 玫瑰茄悬浮细胞; 花青素; 影响

Monochromic effects on anthocyanin synthesis in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) cell suspension

Zhu Xingui Guo Yong

(Food & Bioengineering College, South China Univ. of Technol., Guangzhou 510641)

Abstract The monochromic effects on anthocyanin synthesis in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) cell suspension was studied by covering the agitated culture flasks with light-filter membranes. Through the spectrum of visible light, the blue light displayed the most significant and positive effect, under which the output of anthocyanin in 50 ml was more than 10 times higher than that under red light, orange light or darkness. Other lights with their wavelengths approaching that of the blue showed relatively more positive effects. Monochromic lights showed no obvious effects on the other parameters of the culture, such as pH, sugar residue, or biomass.

Key words Monochromic effect; roselle suspension; anthocyanin synthesis

花青素是植物组织中广泛存在的一类物质^[1], 由于其颜色鲜艳, 且对人的健康有益, 长期以来一直是人们研究、开发和使用的最重要天然色素之一^[2, 3]。通常使用的花青素都是从植物组织中提取的, 其原料来源和产量都受到限制。用培养植物细胞的方法生产花青素可以避免占用大量土地, 同时不受季节限制, 产量还可以提高, 因此近年来为人们所重视。

研究资料表明, 花青素的合成在大多数植物组织细胞中受光调节^[4], 不同材料中, 有的是蓝光起作用, 有的是红光起作用, 也有的是混合起作用^[5, 6]。为了探讨光照对玫瑰茄细胞合成花青素的调节机理, 同时利于设计培养工艺和反应器, 我们进行了单色光对玫瑰茄悬浮细胞合成花青素影响

的研究。

1 材料与方 法

玫瑰茄细胞系,由本室诱导玫瑰茄花萼组织产生并保存。

培养基,继代培养基,由 B₅ 培养基添加 0.5 mg/L 的 kt (Kinetin)、5.0 mg/L 的 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid),30 g/L 的蔗糖和 0.8% 的琼脂制成。

液体培养基,摇瓶用。由 B₅ 培养基添加 0.1 mg/L kt、3 mg/L 2,4-D 和 30 g/L 的蔗糖制成。

培养条件,固体继代培养,1 200 lx 光照,光照周期 16 h/d,培养温度 25 ℃,培养周期 16 d。液态摇瓶培养,采用连续光照,照度 1 200 lx,旋转摇瓶,转速 120 rpm,摇瓶培养液体积为 50 mL。

光强测定,用 Luxion 照度计测定,单位 lx,以培养容器表面的照度计。

单色光的获得,将单色滤光膜(上海伟康)覆盖在培养悬浮细胞的三角瓶表面,在同一光源下培养,透过单色膜到达培养液的光线即为单色光。各单色滤光膜的透光波长见表 1。实验设黑暗和全白光为对照,培养过程

表 1 各单色滤光膜的透光波长 (nm)
Table 1 The transparent wavelength of each monochronic membrane

单色膜	红	橙	黄	绿	蓝	紫
透过波长 nm	> 600	> 580	480 ~ 650	475 ~ 550	420 ~ 530	375 ~ 450

中控制透过滤光膜后的光照强度为 1 200 lx,连续照射,光照为 11 W 荧光灯,色温 7 300 K。

培养液的总可溶性糖的测定采用酮法^[8],生物量的测定采用湿重法^[7]。

花青素含量的测定,将培养液抽滤后所得的湿细胞在室温下干燥 2 h,然后称取 1.0 g 湿细胞加入 10 mL 的 1% 盐酸甲醇溶液进行浸泡抽提 24 h,抽提过程中经常搅动以使抽提彻底。将抽提的细胞悬液用微孔过滤器过滤得抽提液,将抽提液定容至 20 mL。适当稀释后,在波长 523 nm 处测吸光度 A,花青素含量按下面公式计算^[8]:

$$A_{fc} = (27.208 A + 0.0591) \times D \times 20 \times 1000$$

$$A_{dc} = A_{fc} \times 20$$

$$A_t = A_{fc} \times F_{cw}$$

其中 A_{fc} 为湿细胞中花青素的含量;D 为稀释倍数;A_{dc} 为干细胞中花青素的相对含量;A_t 为培养液中花青素的总含量;F_{cw} 为培养液中湿细胞的含量。

以上各项在培养过程中每两天测定一次。

2 结果与讨论

经过 3 次重复实验,结果取其平均值。

经过 16 d 的培养,各光照条件下培养液中的残糖、pH、细胞生物量以及花青素的产量见表 2。

实验结果表明,各光照条件下,玫瑰茄细胞培养液的残糖量、pH 值、细胞量经过 16 d 的培养,差异不大,说明光照条件的差别对这些参数无影响。花青素的产量以蓝光下和全白光下的最高,分别达 21.3 和 19.8 mg/50 mL;红光和橙光下的花青素产量很低,只相当于无光照下花青素的产量。

各光照条件下培养液中花青素含量以及细胞中花青素含量的变化过程见图 1。

从图 1 可以看出,红光、橙光及黑暗下,培养液中花青素的含量基本维持恒定,总量相当于接种时细胞所带入花青素的量,这说明花青素在各光照条件下并没有分解。而细胞中花青素含量在培

表 2 各光照条件下培养 16 d 培养液中的残糖、pH 值、细胞生物量和花青素产量

Table 2 The content of residual sugar (RS)、pH value、biomass (DCW) and output of anthocyanin (Antho) in 50 mL of media under each monochronic light irradiation

光照条件	白光	红	橙	黄	绿	蓝	紫	黑暗
RS (g/L)	4.7	4.8	5.1	5.0	4.7	4.9	4.5	4.9
pH	6.4	6.7	6.3	6.8	6.5	6.4	6.6	6.5
DCW (mg/50 mL)	486	502	493	498	489	512	507	4.85
Antho (mg/50 mL)	19.8	1.93	1.98	14.2	15.4	21.3	16.9	1.63

养过程中逐步下降直到细胞量稳定时才趋于稳定,说明在这几种光照条件下细胞并没有合成新的花青素,细胞中花青素含量的下降是由于细胞生长和分裂时将接种时所带入花青素稀释的结果。在黄光、绿光、蓝光、紫光以及全白光下,培养液中花青素的含量在培养前期(0~4 d)保持不变,在中后期便持续增加,以蓝光下增加速度最快,平均每天增加约1.5 mg/50 mL,和全白光下相当;细胞中花青素的含量在前期有所下降,以后便有所提高,直至趋于稳定。细胞中花青素的含量最初下降是由于细胞分裂增长,而花青素的合成速度相对较低的结果,当花青素的合成速度在特定条件下达到最大,而细胞增长速度恒定后,细胞中花青素的含量也就相对恒定。

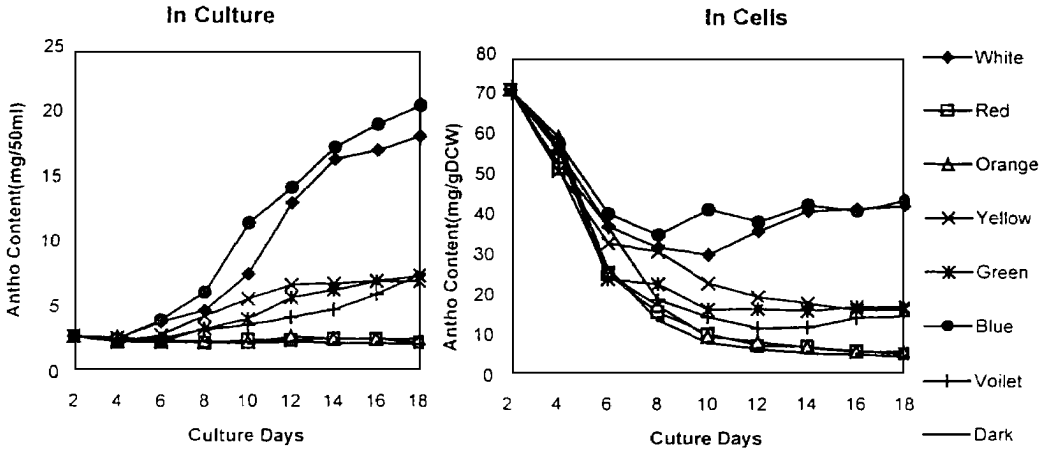


图1 各光照条件下培养液中花青素含量以及细胞中花青素含量变化曲线

Fig. 1 The time courses of anthocyanin content in culture and roselle cells under each light

从以上的实验结果可以看出,蓝光是促进玫瑰茄悬浮细胞合成花青素最有效的单色光,其它单色光随波长接近蓝光,如绿光、紫光等,对玫瑰茄细胞合成花青素也有一定的促进作用。而红光和橙光是可见光中对玫瑰茄细胞合成花青素的无效成分。在植物生理学上一般称受蓝光促进的生理过程为蓝光效应,在这些过程中隐花色素作为光受体吸收蓝光并介导相应的反应进行^[8],因此从本实验结果可以看出,可见光对玫瑰茄悬浮细胞合成花青素的作用是属于蓝光效应。

参考文献

- Hendry G A F, Houghton J D. Natural Food Colorants, Ed2, 1996, pp 12~15
- 马自超, 庞业珍. 天然食用色素化学及生产工艺学. 北京: 中国林业出版社, 1994, 20~95
- Tsukasa Mori, Mieji Sakiura. Riboflavin affect anthocyanin synthesis in nitrogen culture using strawberry susp. *J. of Food*, 1996, **61**: 698~702
- Takeda J. Light-inducible synthesis of anthocyanin in carrot cells susp. *J. of Exp. Bot.*, 1988, **10**: 130~138
- Mancinelli AL. Light-dependent anthocyanin synthesis a model system for study of plant photomorphogenesis. *Bot Rev*, 1985, **51**: 107~157
- Mancinelli AL. Effect of intermittent light treatment of anthocyanin synthesis in dark grown & lightpretreated seedlings. *plant physiol.*, 1985, **78**: 221
- Lucilla B, Johness T. Increased anthraquinone prod. by *Morinda citrifolia* in 2-phase system with pluronic F-68. *Enzyme & Microbiol. Technol.* 1995, **17**: 355~358
- Senger H. Blue light effects in biological systems, Berlin, Heidelberg, SV, 1984, 72~80