

微藻多糖的研究进展

李洁琼, 刘红全*, 袁 莎

(广西民族大学海洋与生物技术学院, 微生物与植物资源利用广西高校重点实验室, 广西 南宁 530008)

摘要: 针对微藻多糖的结构组成、分离纯化技术和主要生物活性进行概述, 并对其研究进展提出展望。

关键词: 微藻多糖; 结构; 纯化; 生物活性

中图分类号: Q946.3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2016)06-0060-03

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2016.06.014

Research progress of microalgae polysaccharide

LI Jie-qiong, LIU Hong-quan*, YUAN Sha

(School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi University for Nationalities, Key Laboratory of Utilization of Microbial and Botanical Resources, Guangxi University for Nationalities, Nanning 530008, China)

Abstract: The structure of microalgae polysaccharide is analyzed. The purification technologies and main biological activities of microalgae polysaccharide are reviewed. Some suggestions about microalgae polysaccharide are also put forward.

Key words: microalgae polysaccharide; structure; purification; biological activities

藻类分布极其广泛, 因其供给地球 90% 以上的氧气, 故有“地球之肺”之称。微藻是一群生理学和生物形态学异构的单细胞微生物, 地球上的品种超过 20 万种。微藻能产生许多生物活性物质, 大多数运用于药物生产、食品饲料添加剂、化妆品和其他应用中^[1]。多糖是重要活性物质之一。大量研究证明, 微藻中提取的多糖品种多、资源丰富, 具有抑菌、抗氧化、抗病毒、增强免疫功能并且毒副作用低等特点。微藻多糖的研究越来越受到关注, 本文中就微藻多糖的结构组成、分离纯化技术、生物活性研究进展进行综述。

1 微藻多糖的结构组成

微藻的总糖含量在 5% ~ 23%, 相比而言绿藻和青绿藻要明显比其他藻多糖含量更丰富。微藻多糖一般为酸性杂多糖, 其单糖组成较为复杂且多带硫酸化修饰^[2]。研究表明, 根据微藻种类的不同, 单糖组成成分也大不相同, 其中葡萄糖是最主要的单糖, 占总含量的 21% ~ 87%; 其次是半乳糖和甘露糖, 分别占 1% ~ 20% 和 2% ~ 46%, 其他为阿拉伯糖、岩藻糖、鼠李糖、核糖和木糖, 占 0% ~ 17%。

定鞭藻中阿拉伯糖含量较高, 占总糖含量的 2% ~ 12%, 三角褐指藻多糖中甘露糖含量最高, 可达 46%。钝顶螺旋藻多糖除含这 6 种中性糖外, 还含有 2 个尿酸和硫酸基团^[3], 其分子结构中的糖苷键为 α 型。张威等^[4]从极大螺旋藻中提取的 2 种

均一多糖中还含有糖醛酸和果糖。新月菱形藻多糖中葡萄糖和木糖占主要部分, 分别为 27.5% 和 16.3%; 盐生舟形藻多糖中以葡萄糖为主, 占 79.1%, 其他单糖含量较少。

2 微藻多糖的分离纯化技术

2.1 微藻多糖的除杂

微藻多糖有不同分子大小, 由不同糖苷键链接, 其结构相当复杂, 因此分离纯化得到均一性多糖是十分关键的步骤。过程通常为脱脂-提取-分级分离, 在不改变原始多糖性质的前提下最终得到分子质量相对单一的组分。在多糖提取的过程中, 会有很多杂质, 如蛋白质、色素、无机盐、小分子物质等, 后两者一般用透析法除去, 透析的时间一般不超过 36 h^[5]。除蛋白质的方法也已研究得很成熟, 大致分为 3 种, Seville 法、三氯乙酸法、酶法, 但 3 种方法均有不足。Seville 法除蛋白次数太多, 多糖损失严重, 得率较低; 三氯乙酸法浓度控制不好会使多糖降解, 丧失原有的活性; 而酶法在除去蛋白的同时又加入了新的物质。李亚清^[6]认为除蛋白过程可结合到浓缩提取液的过程, 蛋白质遇热变性沉淀, 浓缩提取液兼除蛋白功效。胡炜东^[7]将酶法和 Seville 法结合起来提取螺旋藻多糖, 蛋白去除率会比单独使用酶法或 Seville 法要高且所得多糖不易失活。因活性炭对多糖吸附作用很强, 损失很大, 故除多糖色素时不适合用活性炭吸附。过氧化氢法脱色会引起

多糖的降解,故脱色后多糖极易失活。方积年等^[5]发明用十六烷基三甲基溴化铵-正丁醇-异辛烷组成的反胶束溶液对糖粗品进行脱色,效果较好。

2.2 微藻多糖的纯化

2.2.1 有机溶剂沉淀法

根据不同的多糖在低级醇或酮中具有不同溶解度而进行分离^[8],不同浓度的有机溶剂可以沉淀出不同相对分子质量的多糖,但此法得到的多糖一般为杂多糖,还需进一步分离。Pugh等^[9]用有机溶剂沉淀法从螺旋藻、滇池水华束丝藻和核蛋白小球藻3种微藻分离大分子多糖,先用70%乙醇萃取,萃取液放入体积比为1:1的水和氯仿中,随后水层用正丁醇进一步划分,第二次分离出的物质继续用体积比为2:3:1的甲醇乙醇水溶液进行分级沉淀,最后过渗透膜得到杂多糖。

2.2.2 柱层析法

微藻多糖较常用的柱层析一般为阴离子交换柱层析和葡聚糖凝胶柱层析。阴离子交换柱适合分离各种酸性、中性多糖及黏多糖,其机理是吸附与解吸附^[10]。葡聚糖凝胶类似于分子筛,按分子质量的大小分离多糖。李亚清^[6]经Sephadex G-50分离出螺旋藻均一多糖SPSB-1和小球藻均一多糖CPSB-1。孙颖颖等^[11]采用Sephadex G-75凝胶柱层析、Sephadex G-100凝胶柱层析和DEAE-52离子交换柱层析分离出5种球等鞭金藻抗菌多糖IPSI、IPSII、IEPSA、IEPSB和IEPSC。层析技术分离率、灵敏度、选择性都很高^[12],但也有缺点,即多糖会被填料吸附,损失量太大。

2.2.3 膜分离技术

研究表明,传统分离方法如分馏、醇沉、阳离子表面活性剂CTAB等分离出的微藻多糖含盐量高纯度低且溶解性差,因此不适合工业生产。Marcati等^[13]提出利用两步膜分离法得到高含量的紫球藻多糖和藻红蛋白。膜分离技术是一种高效分离技术,无需添加其他化学品,因此可以保持生物分子的原有活性。但膜分离技术也有缺点,即会产生膜污染^[14]。

3 微藻多糖的生物活性

3.1 抗氧化活性

活性氧(如超氧阴离子、羟基自由基、过氧化氢自由基等)会攻击生物活性分子(如脂质、蛋白、酶、DNA和RNA等),导致细胞或组织损伤老化甚至致癌。抗氧化剂可以有效地保护机体免受活性氧的损害。微藻作为具有重要研究价值的海藻,其抗氧化

性是研究热点之一。李羚等^[15]研究得到螺旋藻多糖能够有效清除羟基自由基、超氧阴离子,并且剂量-效应关系及动力学稳定性较好,具有抗脂质过氧化及保护DNA免受自由基损伤的作用。Sun等^[16]从球等鞭金藻中分离出3种多糖IPSI、IPSII,对超氧阴离子和羟基自由基清除能力较高。其中IPSII抗氧化活性更高,其组成中含大量甘露糖和不同比例的葡萄糖、半乳糖、鼠李糖。

3.2 免疫调节和抗病毒活性

研究表明,微藻多糖如紫球藻、三角褐指藻、小球藻多糖等均显示出药用活性,其中免疫调节活性和抗病毒活性表现最为突出。早有报道盐藻水提硫酸化多糖在体内对败血症病毒和非洲猪热病毒的复制有抑制作用^[17]。Guzmán等^[18]研究表明,三角褐指藻多糖在体内外均能显著增强吞噬细胞的吞噬作用,小球藻胞外多糖显示出免疫抑制效应。周妍等^[19]研究了紫球藻、盐藻、等鞭金藻3011、塔胞藻、绿色巴夫藻5种海洋微藻多糖对小鼠体外免疫细胞功能的影响,发现不同的微藻多糖可不同程度地激活巨噬细胞或促进脾淋巴细胞增殖,从而达到提高机体免疫的目的,其中紫球藻活性最强。Yim等^[20]研究得到螺沟藻KG03胞外硫酸化多糖在体外对脑心肌炎病毒(EMCV)有显著抑制作用,一定范围内随着多糖浓度升高,EMCV对HeLa细胞的侵染作用减弱,且多糖对细胞无任何毒副作用。

3.3 抗菌活性

微藻多糖同时也具有一定的抗菌作用。陈晓清等^[21]从海水小球藻和紫球藻中提取到的多糖抗菌谱比蛋白质提取物抗菌谱广,海水小球藻多糖提取物对中华根霉与稻瘟病菌有极强的抗菌效果。郭金英等^[22]研究表明,发状念珠藻多糖在一定的质量浓度范围内对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、青霉及红曲霉都有一定的抑制作用,对根霉却无作用,还能有效缓解二甲苯和角叉菜胶引起的小鼠耳部与足部炎症。周成旭等^[23]对中肋骨条藻、三角褐指藻、假微型海链藻、柔弱角刺藻、球等鞭金藻和颗石藻6种海洋微藻 β -葡聚糖进行抗菌活性分析,得到其对不同的菌有不同的作用,对大肠杆菌抑制作用呈浓度相关性,当浓度达到400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,清除率可达60%。6种微藻 β -葡聚糖均促进金黄色葡萄球菌生长,中肋骨条藻的葡聚糖促生长能力高,且促进作用与浓度明显相关。

3.4 降血糖活性

研究表明,植物多糖通过调节糖代谢酶的活性

达到降血脂血糖的效果,微藻多糖也是重点研究对象之一。陈雷等^[24]研究表明,低剂量复合螺旋藻多糖能够促进葡萄糖转化为肝糖原,抑制肝糖原分解,因此对四氧嘧啶致糖尿病小鼠具有降血糖、保护免疫器官等作用。黄键等^[25]用紫球藻胞外多糖 ESPS 按比例给小鼠灌胃给药连续 21 d,发现实验组小鼠与对照组小鼠相比血糖显著降低,血浆 SOD 活性显著升高,结果表明,ESPS 能降低四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖并呈现一定的抗氧化能力,对四氧嘧啶所致小鼠胰岛细胞损伤具有修复作用。

3.5 其他活性

有研究报道,蓝藻多糖可保护固氮细菌中的固氮酶,同时螯合固氮必须的金属阳离子。庞辉等^[26]研究螺旋藻多糖(PSP)有明显抗胃溃疡作用。曹丽雯^[27]发现盐生藻多糖经过改性处理制备出的生物助凝剂既减少了化学药品的使用,又保障了饮用水安全。微藻多糖在预防和治疗微生物感染活性上也很有发展前景^[28]。

4 展望

微藻多糖的研究报道越来越多,具有较大的应用前景,但仍存在很多问题。首先,不同的微藻或同种微藻在不同的培养条件下产生的多糖含量及结构也大不相同,这使得研究非常具有挑战性。其次,目前微藻多糖的活性研究大多在体外,对于人体本身而言,考虑到它们的抗炎、降血糖、抗凝血、抗血栓等作用,其毒副作用和生物利用度仍有待深入研究。最后,目前相关研究主要集中在几种常见微藻如紫球藻、螺旋藻、小球藻和球等鞭金藻等,且大部分来自于海洋,其他湖泊、荒漠、极地微藻研究甚少。

随着各国对微藻能源关注度的提升,微藻多糖的开发利用会受到更大的重视,相关技术的发展能够进一步拓宽其研究领域。目前微藻多糖的研究范围大多在生物医药、饲料添加剂、化妆品行业,之后可以进一步拓展向机械和船舶工程(如缓冲剂、生物润滑剂等)、生物农药和食品工程等领域。

参考文献

[1] Procházková G, Brányiková I, Zachleder V, *et al.* Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2013, 26(3): 1359 - 1377.

[2] 陈玮, 刘启顺, 李曙光, 等. 微藻多糖生物活性研究进展[J]. *中国海洋药物*, 2012, 31(3): 55 - 60.

[3] 孙建光, 谢应先, 陈婉华. 螺旋藻多糖的组成与功能及影响藻类多糖生成的因素[J]. *海洋科学*, 1998(3): 14 - 15.

[4] 张威, 朱劲华, 王敏, 等. 极大螺旋藻胞内多糖分离纯化及其结构

的初步分析[J]. *天然产物研究与开发*, 2004, 16(6): 548 - 551.

[5] 方积年, 丁侃. 天然药物——多糖的主要生物活性及分离纯化方法[J]. *中国天然药物*, 2007, 5(5): 338 - 347.

[6] 李亚清. 海洋微藻多糖的提取分离纯化和结构特征研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2004.

[7] 胡炜东. 内蒙古地区天然螺旋藻多糖提取工艺及生物活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2005.

[8] 张胜, 李湘洲, 吴志平, 等. 植物多糖分离纯化与含量测定方法研究进展[J]. *林产化学与工业*, 2009, (B10): 238 - 242.

[9] Pugh N, Ross S A, Elsohly H N, *et al.* Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina platensis*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Planta Medica*, 2001, 67(8): 737 - 742.

[10] 陈辉, 李永辉, 姚曲响. 离子交换技术在多糖分离纯化中的应用[J]. *河北农业科学*, 2008, 12(7): 168 - 169.

[11] 孙颖颖, 周豹, 徐深圳, 等. 球等鞭金藻胞内和胞外多糖的分离纯化及其抑菌活性[J]. *食品科学*, 2012(11): 137 - 141.

[12] 李凤玲, 何金环. 植物多糖的结构与分离纯化技术研究进展[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(10): 276 - 279.

[13] Marcati A, Ursu A V, Laroche C, *et al.* Extraction and fractionation of polysaccharides and B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum* by membrane technology [J]. *Algal Research*, 2014, 5(4): 258 - 263.

[14] Bilal M R, Arafat H A, Vankelecom I F J. Membrane technology in microalgae cultivation and harvesting: A review [J]. *Biotechnology Advances*, 2014, 32(7): 1283 - 1300.

[15] 李羚, 高云涛, 戴云, 等. 螺旋藻及螺旋藻多糖体外清除活性氧及抗氧化作用研究[J]. *化学与生物工程*, 2007, 24(3): 55 - 57.

[16] Sun Y, Hui W, Guo G, *et al.* The isolation and antioxidant activity of polysaccharides from the marine microalgae *Isochrysis galbana* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 113: 22 - 31.

[17] 隋晓. 盐藻中 β -胡萝卜素及多糖的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.

[18] Guzmán S, Gato A, Lamela M, *et al.* Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricomutum* [J]. *Phytotherapy Research*, 2003, 17: 665 - 670.

[19] 周妍, 王凌, 孙利芹, 等. 5 种海洋微藻多糖体外免疫调节活性的筛选[J]. *海洋通报*, 2010, 29(2): 194 - 198.

[20] Yim J H, Kim S J, Ahn S H, *et al.* Antiviral effects of sulfated exopolysaccharide from the marine microalga *Gyrodinium impadicum* strain KG0₅ [J]. *Marine Biotechnology*, 2004, 6: 17 - 25.

[21] 陈晓清, 郑怡, 林雄平. 二种微藻多糖与蛋白质提取物的抗菌活性[J]. *福建师范大学学报: 自然科学版*, 2005, 21(2): 76 - 79.

[22] 郭金英, 杜洁, 李彤辉, 等. 发状念珠藻胞外多糖的抑菌与抗炎作用[J]. *食品科学*, 2015, 36(9): 190 - 193.

[23] 周成旭, 田甜, 陈海敏, 等. 海洋微藻 β -葡聚糖的生物活性分析[J]. *海洋与湖沼*, 2014, 45(1): 66 - 72.

[24] 陈雷, 郝言芝, 王慧, 等. 低剂量复合螺旋藻多糖降血糖作用研究[J]. *青岛农业大学学报: 自然科学版*, 2011, 28(2): 142 - 145.

[25] 黄键, 刘丽平, 余颖, 等. 紫球藻胞外多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的调节作用[J]. *福建师范大学学报: 自然科学版*, 2006, 22(3): 77 - 80.

[26] 庞辉, 汤桂芳, 玉艳红. 螺旋藻多糖的抗溃疡作用及机制[J]. *广西医学*, 2006, 28(11): 1772 - 1773.

[27] 曹丽雯. 盐生藻多糖提取与改性制备生物助凝剂的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2009.

[28] Raposo M F, de Moraes R M, Am B D M. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae [J]. *Marine Drugs*, 2013, 11(1): 233 - 252. ■