

# 天然食用色素藻蓝蛋白研究进展

任顺成<sup>1</sup>, 曹悦<sup>1</sup>, 李林政<sup>2</sup>, 潘天义<sup>2</sup>

(1.河南工业大学 河南省天然色素制备重点实验室, 河南 郑州 450001; 2.河南中大恒源生物科技股份有限公司, 河南 漯河 462600)

**摘要:**藻蓝蛋白是一种罕见的天然蓝色素,也是优质的植物蛋白,具有抗氧化、抗癌、抗炎、增强免疫力等生理活性。该文主要对藻蓝蛋白制备工艺、稳定化技术及生理活性等进行综述,以期对藻蓝蛋白的开发利用提供参考。

**关键词:**藻蓝蛋白;提取方法;纯化方法;稳定性;生理活性

## Research Progress of Natural Food Pigment Phycocyanin

REN Shun-cheng<sup>1</sup>, CAO Yue<sup>1</sup>, LI Lin-zheng<sup>2</sup>, PAN Tian-yi<sup>2</sup>

(1.Henan Provincial Key Laboratory of Natural Pigment Preparation, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, Henan, China; 2.Henan Zhongda Hengyuan Biotechnology Co., Ltd., Luohe 462600, Henan, China)

**Abstract:** Phycocyanin is not only a rare natural blue pigment but also a high-quality plant protein that has physiological activities such as antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, and immunity-enhancing effects. In this study, the physiological activity of phycocyanin and the technologies used to prepare and stabilize phycocyanin were reviewed to provide a reference for the development and utilization of phycocyanin.

**Key words:** phycocyanin; extraction method; purification method; stability; physiological activity

引文格式:

任顺成,曹悦,李林政,等.天然食用色素藻蓝蛋白研究进展[J].食品研究与开发,2021,42(7):203-208.

REN Shuncheng, CAO Yue, LI Linzheng, et al. Research Progress of Natural Food Pigment Phycocyanin[J]. Food Research and Development, 2021, 42(7): 203-208.

螺旋藻是一种具有高营养价值和生物利用价值的水生植物,常用于动物饲料<sup>[1]</sup>及化妆品领域<sup>[2]</sup>,富含的优质蛋白及天然色素成分使其在食品领域备受关注<sup>[3-4]</sup>。螺旋藻中藻胆蛋白根据吸收光谱不同主要分为藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白及藻红蛋白。其中藻蓝蛋白(phycocyanin, PC)又称藻蓝色素,是水溶性植物蛋白<sup>[5]</sup>,据其来源可分为:C-phycocyanin(从蓝藻中获得)、R-phycocyanin(从红藻中获得)和R-phycocyaninII(从共生细菌中获得)<sup>[6]</sup>。藻蓝蛋白的蓝色是因为其蛋白质部分通过硫醚键连有四吡咯发色团,目前研究认为藻

蓝蛋白含两条相对同源的多肽链 $\alpha$ 和 $\beta$ ,连接有3个发色团,分别位于 $\alpha$ 亚基的Cys84和 $\beta$ 亚基的Cys84、Cys155, $\alpha$ 、 $\beta$ 亚基通过分子间相互作用力先形成单体( $\alpha\beta$ ),其亚基聚集形式受环境影响,多呈单聚体、三聚体和六聚体<sup>[7-8]</sup>。藻蓝蛋白是一种高营养的植物提取物,同时具有蛋白质的特性,可作为天然色素用于食品、化妆品等,同时因其荧光特性可制成荧光试剂、探针、示踪物质等,已用于临床医学、免疫学、生物学领域。近年来研究还表明,藻蓝蛋白具有抗氧化、抗肿瘤、抑菌性等功能活性,可作为药物成分用于医疗保健,同时还是一种无毒副作用的理想光敏剂<sup>[9-11]</sup>。因此,藻蓝蛋白无论作为天然色素还是功能活性成分都有重要的研究意义。本文对其提取、纯化方法、稳定性及强化方法、生理活性方面做了比较全面的综述。

基金项目:河南省自然科学基金(182300410079)

作者简介:任顺成(1963—),男(汉),教授,博士,研究方向:天然色素制备与应用。

## 1 提取

藻蓝蛋白提取重在细胞破碎<sup>[12]</sup>,目前还没有标准的提取方法,国内外常用方法包括冻融法、超声波破碎法、溶胀法、化学试剂法等。HADIYANTO等<sup>[13]</sup>以提取率和抗氧化活性( $EC_{50}$ )为响应变量,对超声波频率、时间、温度进行响应面优化。结果表明,超声波可显著提高微藻藻蓝蛋白提取率,最佳条件为提取温度 52.5℃,超声频率 42 kHz 下处理 42 min,产率可达 15.7%, $EC_{50}$  为 85.78 mg/mL。张静等<sup>[14]</sup>以太湖蓝藻为研究对象,以藻蓝蛋白的特征吸收峰和浓度为指标,对比反复冻融法、超声波法、溶胀法、丙酮法的提取效果,发现 4 种方法均能不同程度地提取得到藻蓝蛋白,反复冻融法提取量最高,超声波法最低,且两种方法对应的浓度值变异系数 $<0.6$ ,综合比较发现反复冻融法为最优方法。庞晓宇等<sup>[15]</sup>进一步对液氮反复冻融法中缓冲液的种类进行比较,分别以 Asolctin-CHAPS 缓冲液(AC)、磷酸盐缓冲液和三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液来提取藻蓝蛋白,AC 和磷酸盐缓冲液提取效率较为显著,虽然 AC 缓冲液提取效率最高,但其成本昂贵且制备复杂,因此磷酸盐缓冲液更适用于藻蓝提取。此外也有研究将两种或多种方法结合使用,侯兆乾等<sup>[16]</sup>对冻融法和超声法进行单独优化试验,在此基础上采用先冻融再超声辅助提取藻蓝蛋白,发现提取率较两种方法单独使用时有显著提高。俞建峰等<sup>[17]</sup>采用溶胀法、超细剪切法、超声波法、反复冻融法及溶胀-超细剪切法、溶胀-超细剪切-超声波法破坏螺旋藻细胞,最高得率分别为 8.9%、7.4%、8.0%、8.3%、9.2%、8.9%,结合操作条件最终选择溶胀-超细剪切法且溶胀时间 12 h,超细剪切时间 5 min 可得到最佳破壁效果。胡双飞<sup>[18]</sup>采用反复冻融法与超声均质联用、超声耦合亚临界水提取两种方法提取螺旋藻藻胆蛋白,并对温度、超声功率、时间进行响应面优化,试验发现采用第一种方法得到的蛋白提取率为 45.76%,而优化后超声耦合亚临界水提取的螺旋藻藻胆蛋白得率高达 74.02%。

## 2 纯化方法

藻蓝蛋白根据纯度可分为食品级、医药级和分析级,目前国内外常用的纯化方法包括硫酸铵沉淀法、等电点沉淀法、梯度盐析法、离子交换柱层析法、羟基磷灰石柱层析法、膨胀床吸附法、双水相萃取法及多种方法结合使用。

### 2.1 单一技术纯化藻蓝蛋白

徐润<sup>[19]</sup>采用硫酸铵分级沉淀法和等电点沉淀法纯化藻蓝蛋白粗提液,比较其纯度及回收率。藻蓝蛋白

的纯度和回收率与硫酸铵饱和度呈正相关,饱和度为 40%的硫酸铵效果最优,因此得出纯化藻蓝蛋白最佳硫酸铵饱和度范围在 30%~50%;而等电点沉淀法试验中,pH3.5 时得到沉淀量最大,但相较于硫酸铵沉淀法其纯度和回收率都极低,且试验中酸度的变化易使藻蓝蛋白变性,不推荐此方法。李冰等<sup>[20]</sup>以钝顶螺旋藻为原料优化提取纯化藻蓝蛋白,先用 50%硫酸铵沉淀得到粗蛋白提取液,经一次羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)柱层析后纯度可达 2.56,将得到的藻蓝蛋白组分经过 Sephacryl HR-200 柱凝胶层析后再次经过 HA 柱层析可得到藻蓝蛋白的单一洗脱峰,此时纯度高达 4.71。于淑坤等<sup>[21]</sup>旨在简化试剂级藻蓝蛋白的纯化步骤,首先采用饱和度分别为 30%和 50%的硫酸铵两步沉淀法进行沉淀后用 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液透析,第二步将透析后的藻蓝溶液加入到 HA 柱上进行梯度洗脱,第三步将所得藻蓝蛋白纯度和含量最高的吸收峰浓缩后二次上柱到 DEAE-Sephadex-A-25 层析柱上纯化。每步对应的藻蓝蛋白纯度和提取率分别为 0.87 和 23.6%、2.1 和 49.3%、5.4 和 63.1%,说明上述步骤能够获得试剂级藻蓝蛋白,为进一步研究适合工业生产的纯化工艺给予理论指导。NASCIMENTO 等<sup>[22]</sup>将聚乙二醇分别与磷酸钾、硫酸铵、柠檬酸钠不同质量比混合后,进行双水相萃取藻胆蛋白,发现用 13%聚乙二醇-14%磷酸钾双水相体系萃取念珠藻、13%聚乙二醇-14%柠檬酸钠所组成的双水相体系萃取变异鱼腥藻,二者效果最佳。王勇等<sup>[23]</sup>通过 Sephadex G-200、DEAE-Sephadex A-25、HA、Sephadex G-200 工序纯化,所得纯度值为 14 的藻蓝蛋白,是目前国内外报道中的最高值。

### 2.2 复合技术纯化藻蓝蛋白

张发宇<sup>[24]</sup>选取分段盐析、双水相萃取、层析法 3 种方法对巢湖蓝藻藻蓝蛋白粗提液进行纯化和精致纯化。通过对比每步盐析中所采用的 $(NH_4)_2SO_4$ 的摩尔浓度对纯化效果的影响,结合紫外-可见光谱扫描进行组分分析,确定了六步盐析法中的奇数次盐析用 1.0 mol/L $(NH_4)_2SO_4$ 除杂,偶数次盐析用 1.8 mol/L $(NH_4)_2SO_4$ 沉淀藻蓝蛋白。在六步盐析法中,纯度为 0.4 的藻蓝蛋白经二步盐析后上升到 2.26,经四步盐析沉淀后纯度高达 3.48,六步分段盐析后纯度仅上升至 3.71,而回收率下降明显。说明分段盐析法能够很好地纯化藻蓝,且二步盐析法能够作为一般纯化方法,四步盐析能够得到医药级藻蓝蛋白。此外针对二步盐析结合双水相萃取法进行试验,采用聚乙二醇-硫酸铵双水相在最优体系下纯化,藻蓝蛋白纯度仅由

1.969 升至 2.619,且聚乙二醇不易去除,因此该方法不适用于精致纯化藻蓝。在两步盐析结合柱层析试验中,重点开展接柱层析类型和顺序,最终确定先采用 Cellufine A-500 初步纯化,再进行 HA 柱层析 2 次纯化,可得到医药级 C-藻蓝蛋白和 C-别藻蓝蛋白。GUO 等<sup>[29]</sup>采用膨胀床偶联固定床层析方法分离纯化藻蓝蛋白,将藻蓝蛋白粗提液泵入装有 Sereamline DEAE 膨胀柱后洗脱,纯度最高可提高 8.8 倍,后又采用 XAD7HP 固定床对膨胀床富集得到的藻蓝蛋白溶液进行层析去除杂蛋白,得到的藻蓝蛋白纯度提高 2.36 倍,藻蓝蛋白的总回收率最高可达 34.96%。

### 3 稳定性研究

#### 3.1 稳定性影响因素

纯化后的藻蓝色素易分解,在加工、储存过程中易受光、热、pH 值等影响而褪色。CHAIKLAHAN 等<sup>[26]</sup>在培养基中培养生产螺旋藻,将所得产物抽提、过滤和纯化后得食品级藻蓝蛋白粉,探究温度对其稳定性的影响,发现在 47 °C 下十分稳定,当温度更高时藻蓝蛋白降解速率急剧增加。程超等<sup>[27]</sup>以葛仙米藻胆蛋白为原料,研究环境因素对其色度和含量的影响并建立了藻蓝蛋白及其色度的降解动力学,表明其热降解过程符合一级动力学,且发现藻蓝蛋白在 pH3 时几乎没有可见光区的特征吸收峰,pH4 时色素溶液 Hunter-b 最小,颜色最蓝。刘玉环等<sup>[28]</sup>对极大螺旋藻藻蓝蛋白的稳定性进行研究,发现藻蓝蛋白在 pH5~7,室内可见光或暗光条件下较稳定,常用食品添加剂对藻蓝蛋白影响不显著,Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>对藻蓝蛋白影响也不显著,低浓度的 Fe<sup>3+</sup>、Al<sup>3+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对其稳定性影响不大,但浓度超过 0.002 mol/L 时会使藻蓝蛋白产生沉淀,严重破坏藻蓝蛋白的稳定性。毕海等<sup>[29]</sup>发现紫外辐照后钝顶螺旋藻中 PC 含量和纯度下降,发色团结构发生改变。此外,这些研究中藻蓝蛋白的最适条件略有差异,可能与其提取来源不同有关。

#### 3.2 提高稳定性方法

藻蓝蛋白作为高营养价值的天然色素,具有广泛的市场前景,但在加工和储藏过程中容易受环境影响而褪色,这一弊端大大限制了其应用。目前提高藻蓝蛋白稳定性的措施主要包括添加稳定剂及微胶囊技术。

##### 3.2.1 添加稳定剂

杨立红等<sup>[30]</sup>从鱼腥藻中提取纯度为 1.958 的藻蓝蛋白,探究食品添加剂对其储存稳定性的影响,试验表明不同食品添加剂对其影响不同,糖、苯甲酸、赤藓

醇对藻蓝蛋白具有保护作用,而乙醇、柠檬酸、山梨酸钾等对藻蓝蛋白色泽有破坏作用。Hadiyanto 等<sup>[31]</sup>研究葡萄糖、蔗糖及果糖对螺旋藻藻蓝蛋白溶液颜色在 40、60、80 °C 的保护作用并进行热降解动力学分析,其中葡萄糖能够使藻蓝蛋白被聚合的活化能提高 4 倍,并通过降低 IC<sub>50</sub> 值将其抗氧化活性提高 18.47%,而在 80 °C 条件下,果糖的保护作用最显著。FAIETA 等<sup>[32]</sup>研究不同浓度蔗糖和海藻糖对藻蓝蛋白热稳定性的影响,结果表明同浓度下蔗糖比海藻糖的保护效果更显著,并通过圆二色性证实了藻蓝蛋白颜色的损失与蛋白结构不稳定性密切相关。MARTELLI 等<sup>[33]</sup>进一步研究在高温条件下向藻蓝蛋白溶液中添加蜂蜜或高糖浓度,可有效防止 C-藻蓝蛋白的蓝色降解。数据显示糖对 C-藻蓝蛋白蓝色的稳定作用与加入的糖的最终浓度有关,而不是与糖的类型有关。吕平等<sup>[34]</sup>研究 4 种化妆品添加剂对藻蓝蛋白溶液的影响,发现在 0.1 mg/mL 的藻蓝蛋白溶液中添加 12% 甘油、9% 丁二醇、3% 氯化钠、0.15% 苯甲酸钠后,在 25 °C 避光、25 °C 光照、40 °C 避光的环境中其色素保存率分别提高到 78.24%、57.80%、76.02%。此外针对提高藻蓝蛋白的酸稳定性,ZHANG 等<sup>[35]</sup>为解决藻蓝蛋白在酸性条件下的聚集问题,加入乳清蛋白、蛋清蛋白及豌豆蛋白,发现乳清蛋白溶液的加入能最有效的防止藻蓝蛋白在 pH3 的环境中沉淀聚集,这可能是由于乳清蛋白和藻蓝蛋白通过静电或疏水相互作用而使其与环境隔离。FALKEBORG 等<sup>[36]</sup>研究不同 pH 值条件下十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)对藻蓝蛋白颜色变化的影响,试验表明在临界胶束浓度 0.7% 的 SDS 溶液中,通过阻止藻蓝蛋白质子化形式的生成,使藻蓝蛋白的蓝色构象稳定化。作用机理可能是通过将藻蓝蛋白分子包埋在胶束内部,并通过疏水性相互作用使其稳定。

##### 3.2.2 微胶囊包被技术

YAN 等<sup>[37]</sup>通过挤压法采用海藻酸钠和壳聚糖包裹藻蓝蛋白,优化工艺为海藻酸钠(含量 2.5%)与藻蓝蛋白质量之比为 1:1.5、2% 氯化钙、2% 壳聚糖,分别制备藻蓝蛋白/海藻酸钠/壳聚糖微胶囊及藻蓝蛋白/海藻酸钠微胶囊。进一步分析表明,二者均能提高藻蓝蛋白的酸耐受力,相比于藻蓝蛋白/海藻酸钠微胶囊,藻蓝蛋白/海藻酸钠/壳聚糖结构更致密,且能显著减少藻蓝蛋白的热损失。吕晓玲等<sup>[38]</sup>选取明胶和麦芽糊精为壁材,采取空气悬浮包衣法制备藻蓝蛋白微胶囊,在温度 80 °C、雾化压力 0.15 MPa、芯壁材比 1:1.5(壁材中明胶 20%)的条件下制备藻蓝蛋白微胶囊并进行

稳定性试验,表明其光稳定、热稳定及贮藏稳定性显著提高。

#### 4 生理活性研究

藻蓝蛋白除作为天然色素使用外,也被证实具有抗氧化性、抗癌、抗炎、免疫调节作用等生理活性。

##### 4.1 抗氧化活性研究

刘琪等<sup>[39]</sup>研究藻蓝蛋白对X射线辐射引起小鼠氧化损伤的保护实验,发现藻蓝蛋白显著提高辐射后小鼠血浆和肝脏中抗氧化酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶的活性,降低肝组织中活性氧自由基含量,说明藻蓝蛋白通过增强机体抗氧化能力来削弱辐射导致的氧化损伤。余佳等<sup>[40]</sup>对葛仙米中藻胆蛋白粗提物、藻蓝蛋白、藻红蛋白进行体外抗氧化试验,考察其羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )、超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )清除能力及脂质过氧化抑制能力,证实3种蛋白都有很好的抗氧化活性,但三者作用方式不同。汪兴平等<sup>[41]</sup>对葛仙米藻蓝蛋白进行非脂质体系抗氧化试验、体外抗氧化试验,采用化学发光法证实一定浓度范围内,藻蓝蛋白对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的清除能力与浓度呈正相关, $\text{IC}_{50}$ 值分别为396、185、139  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,且对小鼠肝线粒体损伤具有保护作用,并能显著影响血浆的抗活性氧能力。赵艳景等<sup>[42]</sup>发现紫菜藻蓝蛋白也有上述自由基清除能力,其中对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率33.79%,对 $\cdot\text{OH}$ 清除率为92.71%。为进一步验证其抗氧化作用机理,陈英杰等<sup>[43]</sup>研究藻蓝色素与牛血清白蛋白之间的结合方式,采用荧光光谱及分光光度法发现藻蓝色素浓度与牛血清蛋白的荧光强度成反比,二者相互结合导致的静态荧光猝灭,反应的结合常数 $K=1.22\times 10^6 \text{ L}/\text{mol}$ ,结合位点数 $n=1.14$ 。

##### 4.2 抗肿瘤活性研究

目前国内外很多文献证实藻蓝蛋白具有体内体外抗肿瘤作用,LI等<sup>[44]</sup>通过试验证明藻蓝蛋白能够抑制A549细胞的体内生长,抑制人胚肺细胞的增殖,且与全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)协同作用时可降低重组人细胞周期蛋白依赖激酶mRNA水平,上调半胱氨酸蛋白酶-3表达从而诱导细胞凋亡,当二者联用时能够有效减轻ATRA对人体的毒副作用。SUBHASHINI等<sup>[45]</sup>发现50  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 高纯度藻蓝蛋白能显著抑制人慢性粒细胞白血病K562细胞的生长和增殖,作用48 h后细胞增殖下降了49%,荧光和电镜显示细胞萎缩、核凝聚等凋亡特征,通过流式细胞仪及蛋白质印迹法进一步研究表明藻蓝蛋白是通过裂解DNA修复酶和下调B淋巴细胞瘤-2基因来诱

导K562细胞凋亡的。王雪青等<sup>[46]</sup>对藻蓝蛋白抗肿瘤活性的机理进行初探,并研究蛋白质构象变化与其抗癌性质的关系。通过四唑盐比色法和酶联免疫吸附实验测定表明藻蓝蛋白及其酶解物可提高半胱氨酸蛋白酶-3活性,当用100  $\text{mg}/\text{L}$  PC处理HeLa细胞12 h后,Caspase-3活性迅速增高并达峰值,对HeLa抑制率达29.9%,而酶解1 h产物抑制率高达56.5%,但当酶解时间延长至3 h~4 h时抑制率反而下降,可能是因为适当的酶解使色基基因暴露从而增强抗肿瘤能力,而过度酶解使其活性结构因多肽的失去而发生变化,抑制肿瘤的能力消失。此外多项试验证实藻蓝蛋白能够抑制肝癌细胞SMMC-7721、喉癌细胞HEp-2<sup>[47]</sup>、黑色素瘤细胞<sup>[48]</sup>、肺癌细胞<sup>[49]</sup>等的生长和增殖。

##### 4.3 抗炎及免疫调节研究

LEDON等<sup>[50]</sup>对从微藻中提取出的藻蓝蛋白进行抗炎作用探究,通过诱导小鼠水肿,检测藻蓝蛋白存在下前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)浓度和磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)活性的变化。首次证明藻蓝蛋白的抗炎作用一部分是因对PGE2的产生和对PLA2活性的中度抑制所致。HAO等<sup>[51]</sup>采用SiLAD动态蛋白质组技术分析藻蓝蛋白对脂多糖诱导的RAW264.7巨噬细胞的影响,揭示了藻蓝蛋白是通过下调PDCD5-NF- $\kappa\text{B}$ 信号诱导细胞凋亡从而减轻炎症反应。唐孜等<sup>[52]</sup>培养富硒藻蓝蛋白探究其生理活性,在体外实验中可提高淋巴细胞转化率,在小鼠实验中发现可增强空斑溶血细胞的溶血能力,说明富硒藻蓝蛋白能够提高机体的细胞免疫和体液免疫功能。ZHAO等<sup>[53]</sup>建立D-半乳糖导致的衰老小鼠模型,采用不同剂量藻蓝蛋白处理小鼠并与对照组比较,测其血清超氧化物歧化酶活性、丙二醛含量、胸腺指数和脾脏指数,发现条斑紫菜藻蓝蛋白能够显著提高衰老模型小鼠的胸腺指数、脾脏指数从而提高衰老小鼠免疫功能,通过提高血清中的超氧化物歧化酶活性,显著降低血清中的丙二醛含量,清除小鼠自由基来延缓衰老,初步推断其具有较强的抗衰老作用。

通过学者们的研究,藻蓝蛋白越来越多的医用价值被挖掘,目前从藻蓝蛋白中提取功能性肽是一大研究热点,已有不少试验从螺旋藻及藻蓝蛋白中提取出活性肽并掌握其氨基酸序列。刘立闯等<sup>[54]</sup>采用胃蛋白酶、胰蛋白酶对PC进行酶解,找寻酶解物对血管紧张素转化酶是否有抑制作用。结果表明胰蛋白酶在42  $^{\circ}\text{C}$ 、酶与底物质量比1:50、pH8、底物质量分数6%、水解产物的血管紧张素转化酶抑制率为93.54%。MINIC等<sup>[55]</sup>通过分离鉴定胃蛋白酶消化后的藻蓝色基活性肽并

进行生理活性的测定,表明所得5种多肽组分均具备显著的抗氧化和金属螯合活性。曾巧辉<sup>[59]</sup>制备螺旋藻蛋白源生物肽,探究其抗皮肤光老化的机理。从抗氧化及抗光老化活性较强的组分中鉴定出6条多肽,且其中多肽一号(序列为GMCCSR)保护人红细胞效果最佳,能显著促进老化的皮肤层纤维细胞增殖和胶原蛋白的产生。除藻蓝蛋白及酶解物的功能活性研究外,王雪青等<sup>[57]</sup>对藻蓝蛋白及水解物对玉米直链-支链淀粉老化的影响,并通过X-射线衍射、差示扫描量热、红外等进行机理研究发现:添加10%PC使直链、支链淀粉回生率分别提高了60.4%、69.6%;水解肽在同样剂量下分别提高了184.7%、47.0%。这一研究开辟了功能蛋白干预淀粉回生的新领域,为开发多功能保健食品、拓宽藻蓝蛋白和玉米淀粉应用领域找到一条新途径。

## 5 结语

藻蓝蛋白作为一种稀有的天然蓝色素,在食品、药品、化妆品等领域具有重要的应用价值。藻蓝蛋白色泽独特、营养丰富,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎等多种生理功能,开发应用前景广阔。但从目前开发来看,藻蓝蛋白纯化技术还有待于提高,其稳定性问题也一直没有得到很好的解决,严重制约了该色素的广泛应用,因此,藻蓝蛋白的制备以及稳定化技术还需要深入的研究与探索。

## 参考文献:

- [1] HOLMAN B W B, MALAU ADULI A E O. *Spirulina* as a livestock supplement and animal feed [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2013, 97(4): 615-623.
- [2] DING M L, YU Z Q. *Spirulina* industry in China: Present status and future prospects[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1997, 9(1):25-28.
- [3] LUCAS B F, MORAIS M G D, SANTOS T D, et al. *Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations[J]. *LWT*, 2018, 90: 270-276.
- [4] 刘剑娜, 杨海龙, 李怡萱, 等. 浅谈碱性食物螺旋藻的营养价值[J]. *食品安全导刊*, 2013(7): 56-57.
- [5] 陶冉, 位正鹏, 崔蓉, 等. 藻类色素蛋的资源开发和应用研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(4): 377-380.
- [6] SEKAR S, CHANDRAMOHAN M. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2008, 20(2): 113-136.
- [7] 许宝青. 钝顶螺旋藻中荧光藻蓝蛋白的分离纯化[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [8] HSIEH LO M, CASTILLO G, OCHOA BECERRA M A, et al. Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability[J]. *Algal Research*, 2019, 42: 101600.
- [9] KANNAUJIYA V K, SINHA R P. Thermokinetic stability of phycocyanin and phycoerythrin in food-grade preservatives [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2016, 28(2): 1063-1070.
- [10] DEWI E N, KURNIASIH R A, PURNAMAYATI L. The application of microencapsulated phycocyanin as a blue natural colorant to the quality of jelly candy[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2018, 116: 12047.
- [11] 闫美宏. 基于藻蓝蛋白为荧光探针检测重金属的方法及应用[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2017.
- [12] 付丽丽, 那日, 郭久峰, 等. 螺旋藻藻蓝蛋白提取纯化方法研究进展[J]. *生物技术通报*, 2016(1): 65-68.
- [13] HADIYANTO H, SUTTRISNORHADI S. Response surface optimization of ultrasound assisted extraction (UAE) of phycocyanin from microalgae *Spirulina platensis*[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2016, 28(4): 227.
- [14] 张静, 韦玉春, 王国祥, 等. 太湖蓝藻水样中藻蓝蛋白提取方法比较[J]. *湖泊科学*, 2013, 25(2): 283-288.
- [15] 庞晓宇, 段洪涛, 张玉超, 等. 富营养化湖泊水体中藻蓝蛋白提取方法的对比[J]. *湖泊科学*, 2014, 26(5): 799-806.
- [16] 侯兆乾, 刘鑫阳, 史超, 等. 冻融法和超声破碎法提取螺旋藻中藻蓝蛋白的工艺研究 [J]. *内蒙古农业大学学报 (自然科学版)*, 2017, 38(2): 69-75.
- [17] 俞建峰, 傅剑, 马潇, 等. 细胞破壁对螺旋藻藻蓝蛋白提取效果的影响[J]. *食品与机械*, 2017, 33(5): 173-177.
- [18] 胡双飞. 超声耦合亚临界水提取螺旋藻活性多肽及降血糖活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [19] 徐润. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白储存稳定性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2017.
- [20] 李冰, 张学成, 高美华, 等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白提取纯化新工艺[J]. *海洋科学*, 2007, 31(8): 48-52.
- [21] 于淑坤, 岳思君, 李敏, 等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白分离纯化[J]. *食品科技*, 2019, 44(5): 248-252.
- [22] NASCIMENTO S S, SANTOS V S V, WATANABE E O, et al. Assessment of the purification of phycobiliproteins in cyanobacteria through aqueous two-phase systems with different proportions of PEG/salt[J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2020, 119: 345-349.
- [23] 王勇, 钱凯先, 董强. 高纯度藻蓝蛋白分离纯化及光谱特性研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 1999, 26(5): 457-460.
- [24] 张发宇. 试剂级藻蓝蛋白提取纯化工艺研究及光谱分析 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.
- [25] GUO J, WANG F, CUI Z G, et al. Separation and purification of phycocyanin by combined use of expanded bed and packed bed[J]. *Food Science*, 2013,34(10):107-111.
- [26] CHAIKLAHAN R, CHIRASUWAN N, BUNNAG B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina sp.*: Influence of temperature, pH and preservatives[J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47(4): 659-664.
- [27] 毕海, 张光明, 王伟. 紫外辐照对钝顶螺旋藻藻蓝蛋白的影响研究[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(3): 1033-1039.
- [28] 刘玉环, 李彩霞, 李冬莲. 真空冷冻干燥后藻蓝蛋白提取工艺及稳定性的研究[J]. *中国食物与营养*, 2016, 22(9): 51-55.

- [29] 程超, 薛峰, 李伟, 等. 葛仙米藻胆蛋白与色度降解动力学[J]. 食品科学, 2014, 35(9): 16-19.
- [30] 杨立红, 阮新, 曲慧鸽, 等. 鱼腥藻藻蓝蛋白作为食品着色剂的稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(12): 129-133.
- [31] CHRISTWARDANA M, SUTANTO H, SUZERY M, et al. Kinetic study on the effects of sugar addition on the thermal degradation of phycocyanin from *Spirulina sp.* [J]. Food Bioscience, 2018, 22: 85-90.
- [32] FAIETA M, NERI L, SACCHETTI G, et al. Role of saccharides on thermal stability of phycocyanin in aqueous solutions [J]. Food Research International, 2020, 132: 109093.
- [33] MARTELLI G, FOLLI C, VISAI L, et al. Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications [J]. Process Biochemistry, 2014, 49(1): 154-159.
- [34] 吕平平, 李传茂, 杨登亮, 等. 螺旋藻藻蓝蛋白稳定性的实验研究[J]. 广东化工, 2019, 46(5): 60-61.
- [35] ZHANG Z, LI Y, ABBASPOURRAD A. Improvement of the colloidal stability of phycocyanin in acidified conditions using whey protein-phycocyanin interactions [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105747.
- [36] FALKEBORG M F, RODA-SERRAT M C, BURNÆS K L, et al. Stabilising phycocyanin by anionic micelles [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 771-780.
- [37] YAN M Y, LIU B, JIAO X D, et al. Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties [J]. Food and Bioproducts Processing, 2014, 92(1): 89-97.
- [38] 吕晓玲, 徐蕾然, 陈正函, 等. 空气悬浮包衣法制备藻蓝蛋白微胶囊[J]. 食品科技, 2013, 38(2): 260-263.
- [39] 刘琪, 李文军, 陆丽娜, 等. 藻蓝蛋白对辐射致小鼠氧化损伤的保护作用[J]. 核技术, 2018, 41(1): 27-32.
- [40] 余佳, 王生, 许文琦, 等. 葛仙米藻胆蛋白粗提物、藻蓝蛋白和藻红蛋白的体外抗氧化活性比较研究 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(23): 104-108.
- [41] 汪兴平, 谢笔均, 潘思轶, 等. 葛仙米藻蓝蛋白抗氧化作用研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(12): 458-461.
- [42] 赵艳景, 胡虹, 王颖. 条斑紫菜藻蓝蛋白抗氧化作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(2): 337-338.
- [43] 陈英杰, 刘少芳, 陈华新, 等. 抗氧化活性藻蓝色素与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 药物分析杂志, 2011(1): 87-89.
- [44] LI B, GAO M H, LV C Y, et al. Study of the synergistic effects of all-transretinoic acid and C-phycocyanin on the growth and apoptosis of A549 cells[J]. European Journal of Cancer Prevention, 2016, 25(2): 97-101.
- [45] SUBHASHINI J, MAHIPAL S V K, REDDY M C, et al. Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562 [J]. Biochemical Pharmacology, 2004, 68(3): 453-462.
- [46] 王雪青, 范敏, 杨春艳, 等. 螺旋藻藻蓝蛋白与其酶解物的生物学功能研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 433-435.
- [47] 陈新美, 王晓华. 螺旋藻藻蓝蛋白的稳定性及抗癌活性研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(1): 59-62.
- [48] WU L C, LIN Y Y, YANG S Y, et al. Antimelanogenic effect of c-phycocyanin through modulation of tyrosinase expression by upregulation of ERK and downregulation of p38 MAPK signaling pathways[J]. Journal of Biomedical Science, 2011, 18(1): 1-11.
- [49] DENIZ I, OZEN M O, YESIL CELIKTAS O. Supercritical fluid extraction of phycocyanin and investigation of cytotoxicity on human lung cancer cells[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2016, 108: 13-18.
- [50] ROMAY C, LEDÓN N, GONZÁLEZ R. Effects of phycocyanin extract on prostaglandin E2 levels in mouse ear inflammation test[J]. Arzneimittel-Forschung, 2000, 50(12): 1106-1109.
- [51] HAO S, YAN Y, HUANG W W, et al. C-phycocyanin reduces inflammation by inhibiting NF- $\kappa$ B activity through downregulating PDCD5 in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 42: 21-29.
- [52] 唐玫, 王曼, 郭宝江. 富硒藻蓝蛋白对小鼠免疫功能及抗氧化活性的影响[J]. 营养学报, 2001, 23(3): 275-278.
- [53] ZHAO Y J, TANG Y C. Separation, purification and anti-aging activity of phycocyanin from porphyra yezeensis [J]. Food Science, 2012, 33(17):94-97.
- [54] 刘立闯, 胡志和, 贾静, 等. 螺旋藻藻胆蛋白水解产物对 ACE 抑制活性的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(13): 212-217.
- [55] MINIC S L, STANIC VUCINIC D, MIHAILOVIC J, et al. Digestion by pepsin releases biologically active chromopeptides from C-phycocyanin, a blue-colored biliprotein of microalga *Spirulina*[J]. Journal of Proteomics, 2016, 147: 132-139.
- [56] 曾巧辉. 螺旋藻蛋白源生物活性肽的制备及其抗皮肤光老化机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [57] 王雪青, 蒋荣霞, 郭志鹏, 等. 藻蓝蛋白及其水解物促进玉米直支链淀粉回生机理研究[J]. 农业工程学报, 2019, 35(8): 324-334.

加工编辑:姚骏

收稿日期:2020-04-23