

Research Progress of Algae Protein

Hong Liu¹, Yarui Li¹, Fangfang Ma¹, Guangxu Ren², Hairong Xiong¹, Ping Zhao¹, Qinghua Liu¹, Jing Wang^{2*}

¹Key Laboratory for Protection and Application of Special Plant Germplasm in Wuling Area of Hubei Province, South-Central University for Nationalities, Wuhan Hubei

²Engineering Research Center of CAAS for Dual Protein, Institute of Food and Nutrition Development, Ministry of Agriculture, Beijing

Email: 995042580@qq.com, *240228429@qq.com

Received: Dec. 29th, 2018; accepted: Jan. 10th, 2019; published: Jan. 17th, 2019

Abstract

Due to the increase in population and the demand for social development, human demand for protein is increasing. However, excavation and utilization of protein is urgent, especially for plant-source protein. As marine protein, algae have become an important candidate of plant-source proteins for humans. Algae protein has multiple components that promote the potential health effects for humans. Specific biological characteristics include anti-oxidation, antihypertensive, anti-thrombotic, anti-tumor and immunostimulatory properties. This review systematically expounds the current algae resources and its protein extraction methods, and provides a reference for the implementation of dual-protein engineering in future.

Keywords

Algae, Phycobiliprotein, Extraction, Proteomics

藻类蛋白质的研究概况

刘虹¹, 李亚蕊¹, 马芳芳¹, 任广旭², 熊海容¹, 赵平¹, 刘庆华¹, 王靖^{2*}

¹中南民族大学武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室, 湖北 武汉

²农业部食物与营养发展研究所, 中国农业科学院双蛋白工程技术研究中心, 北京

Email: 995042580@qq.com, *240228429@qq.com

收稿日期: 2018年12月29日; 录用日期: 2019年1月10日; 发布日期: 2019年1月17日

摘要

由于人口的增加与社会发展的需求, 人类对蛋白质的需求日益增加, 蛋白质生产缺口仍然较大, 目前藻

*通讯作者。

类蛋白已成为人类重要的海洋蛋白质来源之一。藻类蛋白质由于具有促进健康潜在影响的组成部分而具有特定生物特性,包括抗氧化、降血压、抗血栓、抗肿瘤和免疫刺激特性。本文对目前藻类资源及其蛋白质提取方法进行了系统的阐述,为双蛋白工程的实施提供了参考。

关键词

藻类, 藻胆蛋白, 提取, 蛋白质组学

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

根据来源可将蛋白质分为植物蛋白和动物蛋白[1]。动物蛋白质大多从肉类、乳类、蛋类获取,虽然富含所有必需氨基酸,但是同时也会摄入过多的热量、胆固醇和饱和脂肪,增加肥胖、高血压、高血糖等疾病的风险。植物蛋白不含胆固醇和饱和脂肪酸,而且必需氨基酸的组成合理,在获得优质蛋白质的同时可以有效的降低慢性疾病的风险,对人体健康有重要的意义。大豆在植物中为突出。它蛋白质含量高,必需氨基酸含量高,是人类食物蛋白质的良好来源。根据有关部门的统计,近年来,全世界生产的蛋白质已经接近1亿吨,离需要还缺3000万吨左右近年来[2],蛋白质生产缺口持续扩大,但动植物蛋白来源有限,怎样才能弥补人类蛋白质的不足。人们将焦点转向了海洋中的蛋白质,海洋中人类可利用的蛋白质食品有很多,大致分为鱼类,虾类,藻类和海生无脊椎动物这四类。其中无毒害的藻类植物,蛋白质含量高达60%左右比大豆蛋白质的含量还高,可以说藻类是优良的蛋白质源[3]。研究发现,可食用的藻类含有人体必需的8种氨基酸,而且组成合理,并且这些藻类还含有许多生物活性物质,对一些疾病有很好的疗效[4]。

2. 富含蛋白质的藻类

藻类是生长在海洋里的含叶绿素等的其它辅助色素的低等生物。目前海洋中可供人类食用的藻类大概有70多种,如紫菜、石花菜,海带等。一般绿藻和红藻的蛋白含量高于棕色海藻[7],大部分用于工业化开发的棕色海藻的蛋白质含量低于15%(干重),一些绿藻的蛋白含量介于10%~26%之间(干重),更高蛋白含量的藻类为红藻,红藻的有些种类的蛋白含量可达到47%,高于大豆的蛋白含量[8]藻类中含有丰富的蛋白质如藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、藻红蛋白等。科学研究表明[5],藻类蛋白既可以作为天然色素用于食品、化妆品、染料等工业上,也可制成荧光试剂,用于临床医学诊断和免疫化学及生物工程等研究领域[6] [14] [30]。另外,还可以制成食品和药品用于医疗保健上,应用范围广阔,具有很高的开发、利用价值。

2.1. 紫菜

紫菜(*Porphyra*)红藻纲,红毛菜科。早在1400多年前,中国北魏《齐民要术》中就已提到“吴都海边诸山,悉生紫菜”,以及紫菜的食用方法等。至北宋年间紫菜已成为进贡的珍贵食品。明代李时珍在《本草纲目》一书中不但描述了紫菜的形态和采集方法,还指出紫菜主治“热气烦塞咽喉”,“凡瘕结积块之疾,宜常食紫菜”。长期以来紫菜苗只能依赖天然生长,来源有限,故养殖活动的规模不大。紫菜有着很

高的营养价值，含有多种人体必需的营养成分。它的蛋白质含量比鲜蘑菇多 9 倍，每 100 克紫菜就含蛋白质 26.2 克，高于一般的蔬菜，且人体所必需的氨基酸含量多。除叶绿素外，还含藻红素和藻蓝素，故常呈红色或蓝色。红藻有重要经济价值[9]。除食用外，还是医学、纺织、食品等工业的原料。紫菜是蛋白质含量最丰富的海藻之一[10]。紫菜中的蛋白质质量分数占紫菜藻体干重的 25%~50%。通过蛋白质功效评价实验发现，紫菜中蛋白质的含量比海带高出 7.8 倍，其消化率较之也有很大提高，达到 70%以上，是一种优质蛋白质[11]。紫菜中的藻胆蛋白含量较高，大约占紫菜干重的 4%左右，其中藻红蛋白含量最高可达干重的 2.43% [12] [13]。藻红蛋白具有广泛的生物学功能和独特的应用价值，既可以作为天然色素广泛应用于食品、化妆品、染料等工业，又可制成荧光试剂，用于临床医学诊断、免疫化学及生物工程等研究领域中，同时还是一种具有开发潜力的光敏剂，用于肿瘤的光动力治疗，并在光合作用的原初理论方面具有重要的研究价值[14] [15]。

2.2. 普通念珠藻

普通念珠藻(*Nostoc commune*)是一种分布广泛的陆生蓝藻，又名地木耳、地皮菜、地软。《本草纲目》等书记载地木耳有“补心清胃，久食美色，益精悦神，至老不毁”等功效，是一种营养保健野菜。《中国医学大辞典》记载，地木耳具有“明目，益气，令人有子”的功效。全体可入药，味甘性寒，有清热明目、收敛益气功效。用作治疗夜盲症，目赤红肿，久痢脱肛等症；烘干研粉，加香油调敷，可医治烧伤、烫伤[16]。曹东等[17]认为可用地木耳代替药方中的黑木耳或白木耳，治疗精神神经性疾病。普通念珠藻是藻类蓝藻纲念珠藻科念珠藻属的普通藻体，是一种固氮蓝藻。研究表明，普通念珠藻含有多种营养成分，其蛋白质含量高于鸡蛋、木耳、银耳等；总氨基酸含量与发菜、香菇相近[18] [19] [20]，Marc V. Thorsteinsson 等[21] [22]研究发现地木耳含有一种血红蛋白，取名为 cyanoglobin。这种血红蛋白与分子氧的结合是可逆的，它有很强的氧亲和力，但同时自动氧化和 X 因子损失也很快。Donna R. Hill 等[23]发现这种血红蛋白是一种膜外蛋白。Breanne Shirkey 等[24]从休眠多年的地木耳中得到一种有活性的含铁超氧化物歧化酶(SODF)，这些 SODF 可以清除胞外多糖在紫外线照射下产生的超氧自由基，减少紫外线对细胞的损害，并且测定了 SODF 的氨基酸顺序。

2.3. 其他藻类

除了上面两种藻类含有高质量的蛋白质，还有其他藻类也含有大量蛋白质，例如海带和螺旋藻等。

海带一种在低温海水中生长的大型海生褐藻，是一种可食用海藻，可以适用于拌、烧、炖、焖等烹饪方法。海带属于亚寒带藻类，是北太平洋特有地方种类。自然分布于朝鲜北部沿海、日本本州北部，北海道及前苏联的南部沿海，中国北部沿海及浙江、福建沿海大量栽培，产量居世界第一。其叶状体可入药[25]，海带是一种营养价值很高的蔬菜，同时具有一定的药用价值。含有丰富的碘等矿物质元素。海带含热量低、蛋白质含量中等、矿物质丰富，研究发现，海带具有降血脂、降血糖、调节免疫、抗凝血、抗肿瘤、排铅解毒和抗氧化等多种生物功能。

螺旋藻(*Spirulina*)生长在热带亚热带的碱性水体，并且是单细胞的藻类原生生物，细胞壁无细胞膜质，是由大量的粘质化合物、多糖类物质组成，因此螺旋藻的营养物质极易被人体吸收。1974 年联合国粮农组织会议上螺旋藻被认定为 21 世纪最理想的营养品，钝顶螺旋藻和极大螺旋藻两个品种是螺旋藻中最优良的品种。世界微生物蛋白质会议把螺旋藻定性为目前地球上发现的最优质的蛋白来源。法国科学家克里门特曾说过，人类在本世纪，有两项伟大的科学贡献：一个是核能，另一个是螺旋藻，而对于人类的益处与发展而言，后者是远远超过前者的。而且螺旋藻的蛋白质含量丰富(约 65%)，其中所含的藻蓝蛋白营养价值尤为丰富，具有抗氧化的作用[26] [27] [28] [29]。它不仅颜色鲜艳可作为一种纯天然的食用色

素蛋白质之一，而且本身就是一种营养很丰富的蛋白质，当然也是一种良好的保健食品[30]。1) 藻蓝蛋白在调节多种重要酶方面有很大作用[31] [32]；2) 不仅对抑制癌细胞的生长有益，还能促进细胞的再生[33]；3) 可以调节人体的免疫系统，能提高人体对各种疾病的抵抗能力，目前，已经成功研制出了多种含有藻蓝蛋白的复合药品[34]；4) 在国内，伟大的科学家已经将藻蓝蛋白应用在了我们随处可见的地方，如冰淇淋、固体饮料、酸奶、奶油，软糖等。

3. 藻类蛋白质的提取

一般情况下影响海藻蛋白离和提取的最重要因素之一就是复杂的海藻基质。在海洋中，海藻物种的蛋白质会与其他非蛋白质成分如多糖和多酚相结合，这被认为是阻碍海藻蛋白质提取的主要成分。目前藻类蛋白质的提取方法有很多，例如水溶液法、酶法、反复冻融法、高压破碎法、超声波破碎法等[35] [36] [37]。

3.1. 水溶液、酶提取法

稀盐和缓冲体系的水溶液对蛋白质稳定性好、溶解度大，是最常用的蛋白提取溶剂。蔡春尔等[38]采用磷酸盐缓冲液提取紫菜蛋白，研究了不同物液比、浸泡时间和硫酸铵盐析次数对藻胆蛋白纯度和产率的影响。结果表明，在物液比为 1:5，浸泡时间 36 h 时，破碎的效果最佳；经过 4 次硫酸铵盐析，藻红蛋白和藻蓝蛋白的纯度最高可分别达到 1.71 和 0.98。

采用酶法提取紫菜蛋白的研究报导很多[39]。酶法反应条件温和，不会产生有害物质，能更多地保留蛋白质的营养价值[40]。目前用于提取紫菜蛋白的酶主要有糖酶和蛋白酶。糖酶的作用方式是通过破碎植物细胞壁，使细胞内溶物充分游离出来，从而提高蛋白质的提取率。蛋白酶可将紫菜蛋白水解为可溶性的小分子肽，同时也会将与蛋白相连的其他物质水解掉，提高蛋白质的提取率。现多采用蛋白酶提取紫菜蛋白[41] [42]。

3.2. 反复冻融法

冻融法是指采用反复冷冻与融化时由于细胞中形成了冰晶及剩余液体中盐浓度的增高可以使细胞破裂。这种方法简单方便，但要注意那些对温度变化敏感的蛋白质不宜采用此法。刘立闯等[43] [44] [45] [46]对螺旋藻蛋白提取方法比较研究，结果证明最佳冻融条件是：冷冻时长 4 h，冻融 4 次，得到的蛋白溶出率为 72.03%。但反复冻融法其最大缺点是需要时间较长，而且需要冷冻设备、消耗能量较大，只适合于实验室进行小规模实验，不适合应用于工业生产[47] [48]。

3.3. 超声破碎提取法

超声波提取技术是将超声波产生的空化、振动、粉碎、搅拌等综合效应应用到天然成分提取工艺中，通过破坏细胞壁，增加溶剂穿透力，从而提高提取率和缩短提取时间，达到高效、快速提取细胞内容物的技术。肖海芳[49]以条斑紫菜为原料，研究反复冻融法、溶胀法和脉冲超声法等破壁方法对条斑紫菜藻红蛋白提取效果的影响。实验结果表明，采用反复冻融法得到的藻红蛋白提取得率较低。溶胀法破壁得到的藻红蛋白提取得率和纯度均较高，但所需时间太长[50] [51]。脉冲超声法破壁的最佳工艺参数为：对应一个脉冲的超声发出时间 2 s 和间隙时间 3 s、超声处理时间 60 min、超声功率 800 W、料液温度 20℃、料液比 30 mg/ml，对应的藻红蛋白提取得率为 3.249%，纯度(OD561/OD280)为 0.365，脉冲超声法所需时间短，处理量大，适合于工业化生产。

3.4. 高压匀浆破碎法

由于反复冻融，酶融法只适用于实验室中小规模的细胞破碎，在某种程度上限制了藻类蛋白的大规

模分离纯化[52] [53] [54]。高压匀浆法是工业上常用的细胞破碎方法。吴蕾等[55]采用高压匀浆法对螺旋藻进行细胞破碎,对均浆次数、均浆压力、藻细胞密度、缓冲液 pH 值、悬浮液体系等进行系统研究,为藻类蛋白的工业化生产奠定基础。梁文裕等[56]以普通念珠藻为材料,比较藻体及细胞的破碎方法、提取液类型及饱和硫酸铵浓度对藻蓝蛋白提取的影响。结果表明,高压破碎法虽然可使藻蓝蛋白纯度提高,提取时间短、破壁率窝但操作复杂,成本较高[57] [58]。

3.5. 盐析

苏雨等[59]以巢湖打捞的新鲜蓝藻藻泥为处理对象,利用冻融破壁的方法获得藻蓝蛋白粗提液。采取两步盐析初步纯化粗提液获得藻蓝蛋白(PC),再用纤维素(Cellufine A-500)阴离子交换树脂中度纯化 PC,最后用羟基磷灰石(HA)柱高度纯化 PC。结果表明,在室温 25℃下,两步盐析(NH₄)₂SO₄的最佳摩尔浓度分别为 1.0 mol·L⁻¹和 1.8 mol·L⁻¹,PC 纯度(A₍₆₂₀₎/A₍₂₈₀₎)达到 2.168,PC 回收率可达 37.5%。再经 Cellufine A-500 和 HA 两步柱层析纯化,PC 纯度(A₍₆₂₀₎/A₍₂₈₀₎)分别达到 3.211 和 4.133,回收率分别为 20.3%和 7.2%,纯度达到试剂级纯度要求。实验流程主要参考了目前的对于钝顶螺旋藻中藻蓝蛋白的提取纯化方法[60] [61]。由于巢湖蓝藻的特殊性,故要先对巢湖蓝藻进行盐析提取处理,再结合柱层析方法进行纯化。最后在使用羟基磷灰石和纤维素 A-500 二种层析之后,制备可以得到试剂级别的藻蓝蛋白而且其获得率较高,这为下一步单独使用柱层析技术改进提供了思路。

3.6. 小结

除了常用的蛋白提取方法外(方法见表 1)还可以使用其他方法进行蛋白质的提取[62] [63]。例如:亚临界水提取藻粗蛋白,传统的海藻蛋白质提取方法有处理量小、能耗高、甚至引起蛋白质变性的缺点,故使用此法弥补这个缺点。通过超声耦合亚临界水提取获得的粗蛋白在 0.1510 mg/mL~10 mg/mL 浓度范围内均具有很强的抗氧化活性,螺旋藻粗蛋白的活性随着提取温度的升高而逐渐增强,且含量明显大于传统方法提取的粗蛋白[64]。

Table 1. Comparison of different extraction methods of algae protein

表 1. 藻类蛋白质不同提取方法的比较

方法	优点	缺点
水溶液、酶提取法[38] [39]	操作简单,方法容易掌握	耗时长,延展性差
反复冻融法[44] [46]	操作简单,不需使用特殊的设备	耗时长、处理量少[48]
超声破碎提取法[49]	提取时间短、操作简便、破壁率窝[50] [51]	强度和均匀度难以控制,且破壁过程中会产生生物碎片,增加了后续处理的难度,破壁过程会产生大量的热量,需要冰浴
高压匀浆破碎法	破壁率高,耗时短[57] [58]	产生细胞碎片,后续处理增加了难度
盐析[60] [61]	成本低,操作简单	提取蛋白质的纯度不高

单独使用时这些方法可能会有一些不足,提取率低,为了提高蛋白的提取率,可以选择一两种方法混合使用。例如:候兆乾等[65]实验将冻融-超破碎法联用,对螺旋藻中的藻蓝蛋白的提取率大大提升,可能是因为在冻融法破壁之后,螺旋藻细胞壁有了一定程度上的损坏,这个时候再使用超声破碎法进行破壁要比不经过冻融直接使用超声破碎法破壁的效果要好很多;徐长波等[66]将盐析法与双水相萃取结合,从钝顶螺旋藻中分离纯化藻蓝蛋白,单独使用盐析法分离藻蓝蛋白,得到的最高纯度为 3.96,回收率为 9.66%,而双水相萃取技术与二步盐析相结合可获得纯度为 5.01 的藻蓝蛋白[67]。

4. 藻类蛋白质组学的研究

双向电泳是蛋白质组学研究中最常用的技术,具有简便、快捷、高分辨率和重复性高等优点[68]。双向电泳是 O'Farrel 以及 Klose 和 Scheele 等人于 1975 年发明的,大大提高了蛋白质分离的分辨率而得以广泛应用,至今双向电泳技术已较为成熟。可以用于研究样本中总蛋白、不同样本中蛋白质表达差异、蛋白质的相互作用、蛋白质修饰等。2-DE 在动植物的研究中得到了大量的应用,但在海洋生物特别是海洋藻类中发展较慢。Wagner 等[69],对雷氏衣藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 中昼夜节律蛋白进行了研究,藻体的粗蛋白首先经过亲和层析初步纯化,然后经 2-DE 分离纯化,比较 2-DE 图谱上蛋白质点的差异,找到了与昼夜节律相关的蛋白质点,并进行了质谱分析。Chardonnet 等[70]就利用高通量蛋白质组学方法,在集胞藻 PCC 6803 中发现了 383 个谷胱甘肽修饰的蛋白质,这些蛋白广泛参与了碳/氮代谢,细胞分裂,胁迫响应以及 H₂ 代谢等过程。杨明坤等[71]利用高通量蛋白质组学技术,已经发现了一些不同类型的蛋白质翻译后修饰,这些修饰可能具有调控次级代谢产物的功能,从而在抗菌、抗癌以及免疫活性抑制等方面发挥重要作用,此外杨明坤等[71]通过对集胞藻 PCC 6803 中磷酸化蛋白研究发现,较多蛋白参与了能量代谢与光合作途径,进一步功能研究显示,磷酸化修饰参与调控了蓝藻的光能吸收与传递过程。Spät 等[72]则结合磷酸化肽段富集与高通量质谱技术,系统地分析了集胞藻 PCC 6803 中的磷酸化蛋白,共鉴定到 202 个磷酸化蛋白,并通过二甲基化定量标记方法,对藻细胞在缺氮条件下的蛋

白表达水平进行了分析,最终定量到了 2111 个蛋白,表明磷酸化修饰在藻细胞应对环境刺激方面具有重要的调控作用。

5. 结语

海藻早已被确定为提取具有强效功能性生物活性的蛋白质及其衍生物的良好来源。由于研究人员的报道,使得人们越来越关注来自海洋藻类的蛋白质、蛋白质衍生物、肽、肽衍生物、氨基酸和氨基酸类似物。目前国内外对藻类中的化学分、生物活性和开发利用等研究处于起步阶段。藻类蛋白质的大规模开发利用仍是当前国内研究的热点,所以如何在分离纯化的技术上取得突破,低成本高效益地获得高纯度的藻类蛋白已经显得极为迫切[73]。我国在该领域的研究起步较晚,目前对藻类产品开发的深度不够,品种单一,缺乏竞争力,利用其开发成高附加值的产品很少。而蛋白质作为藻类中最重要的一种生理活性物质,已广泛应用于食品、化妆、医药等行业,具有很高的营养价值。因为藻类蛋白的生产成本高、工艺复杂高,高纯度藻类蛋白市场价格居高不下,使之不能广泛应用。因此,应加快在有关分离纯化技术方面的研究,实现藻类蛋白的大规模生产利用,真正造福于人类[74]。

基金项目

国家自然科学基金(81903221);湖北省科技条件平台建设专项(2017BEC014);湖北省重点实验室后补助专项(2018BFC360)。

参考文献

- [1] Chen, L., Remondetto, G.E. and Subirade, M. (2006) Food Protein-Based Materials as Nutraceutical Delivery Systems. *Trends in Food Science & Technology*, **17**, 280-283. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.011>
- [2] 汪玉华. 海洋, 21 世纪天然蛋白质“粮仓” [J]. 肉品卫生, 2000(11): 35-36.
- [3] 曹健, 漆开华, 高孔荣. 微藻的研究进展 [J]. 现代食品科技, 1996(4): 5-9.
- [4] 陶冉, 位正鹏, 崔蓉, 等. 藻类色素蛋白的资源开发和应用研究 [J]. 食品工业科技, 2010(4): 377-380.
- [5] Lukermann, F. (2010) The Role of Theory in Geographical Inquiry. *Professional Geographer*, **13**, 1-6. <https://doi.org/10.1111/j.0033-0124.1961.132.1.x>

- [6] 卓素珍, 张虹. 螺旋藻中藻蓝蛋白的生理功能及其提取纯化研究进展[J]. 食品科技, 2008, 33(1): 150-152.
- [7] Makkar, H.S. 全球新蛋白及能量原料的开发(续) [J]. 中国饲料, 2017(5): 41-45.
- [8] 冯志彪, 李冬梅. 螺旋藻分离蛋白质的制备技术[J]. 食品工程, 2000(3): 4.
- [9] 张全斌, 赵婷婷, 綦慧敏, 等. 紫菜的营养价值研究概况[J]. 海洋科学, 2005, 29(2): 69-72.
- [10] Zhi, W. (2017) Research Progress of Bioactives from *Porphyra yezoensis*. *Food Research and Development*.
- [11] 姚兴存, 王洪斌, 舒留泉, 等. 条斑紫菜与坛紫菜蛋白组成与生物活性比较研究[J]. 水产科学, 2013, 32(4): 215-218.
- [12] 施瑛, 裴斐, 周玲玉, 等. 响应面法优化复合酶法提取紫菜藻红蛋白工艺[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 51-57.
- [13] 王翠芹, 高敏, 顾铭. 坛紫菜藻红蛋白粗提技术的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(21): 12649-12651.
- [14] Fang, Y., Yang, F.M., Zhao, D.F., et al. (2012) Preparation of Enzymatic Hydrolysate of R-Phycocyanin from *Porphyra yezoensis* and Its Antioxidant and Tumor Cell Proliferation Inhibiting Activities. *Scientia Agricultura Sinica*.
- [15] 宋惠平, 于佳, 李钊, 等. 条斑紫菜蛋白酶解多肽的抑菌活性[J]. 渔业科学进展, 2015, 36(2): 140-145.
- [16] 钱信忠. 中国本草彩色图鉴[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [17] 曹东, 来圣吉. 二木琥珀白芍汤治疗神经性障碍[J]. 云南中医中药杂志, 1997(4): 14-15.
- [18] Zhang, G., Zhao, L., Liu, Y., et al. (2005) Study on Nutritional Value of *Auricularia Auricula*. *Journal of Jilin University*, **31**, 220-222.
- [19] 胡良成, 宋光泉. 地木耳营养品质的研究初报[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1998, 11(2): 67-69.
- [20] 苗影志, 王维坚, 田青, 等. 长白山地藻食品——全天然地耳营养保健饮料的研制[J]. 食品科学, 1996, 17(6): 44-46.
- [21] Thorsteinsson, M.V., Bevan, D.R., Potts, M., et al. (1999) A Cyanobacterial Hemoglobin with Unusual Ligand Binding Kinetics and Stability Properties. *Biochemistry*, **38**, 2117-2126. <https://doi.org/10.1021/bi9819172>
- [22] Thorsteinsson, M.V., Bevan, D.R., Ebel, R.E., et al. (1996) Spectroscopical and Functional Characterization of the Hemoglobin of *Nostoc Commune* (UTEX 584 Cyanobacterial). *Biochimica et Biophysica Acta*, **1292**, 133-139. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(95\)00178-6](https://doi.org/10.1016/0167-4838(95)00178-6)
- [23] Hill, D.R., Belbin, T.J., Thorsteinsson, M.V., et al. (1996) GlnB (Cyanoglobin) Is a Peripheral Membrane Protein That Is. *Journal of Bacteriology*, **178**, 6587-6598. <https://doi.org/10.1128/jb.178.22.6587-6598.1996>
- [24] Shirkey, B., Kovarick, D.P., Wright, D.J., et al. (2000) Active Fe-Containing Superoxide Dismutase and Abundant *sodF* mRNA in *Nostoc Commune* (Cyanobacteria) after Years of Desiccation. *Journal of Bacteriology*, **182**, 189-197. <https://doi.org/10.1128/JB.182.1.189-197.2000>
- [25] 潘迎捷. 水产辞典[M]. 上海: 上海辞书出版社, 2007: 284-353.
- [26] 万建东. 螺旋藻——一种很有开发前景的藻类资源[J]. 生物学通报, 1993(3): 49.
- [27] Torzillo, G., Giovannetti, L., Bocci, F., et al. (1984) Effect of Oxygen Concentration on the Protein Content of *Spirulina* Biomass. *Biotechnology & Bioengineering*, **26**, 1134-1135. <https://doi.org/10.1002/bit.260260920>
- [28] 郇延军, 乔虹, 高维道. 螺旋藻的营养及加工研究[J]. 冷饮与速冻食品工业, 1997(2): 4-6.
- [29] 晏荣军, 林溪, 胡佳扬, 等. 螺旋藻有效成分超临界萃取与分离研究[J]. 广西植物, 2014(3): 414-418.
- [30] 崔永舫, 陈庆森, 庞广昌. 碱性蛋白酶对螺旋藻活性蛋白的酶解研究[J]. 农产品加工(学刊), 2008, 2008(7): 22-26.
- [31] 刘小娟, 庞广昌. 螺旋藻蛋白酶解肽对腹腔粘膜系统的作用[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 378-383.
- [32] 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.
- [33] 李小花, 陈高斯, 庞辉, 等. 螺旋藻蛋白激酶提取物对血栓形成抑制作用[J]. 中国公共卫生, 2009, 25(3): 337-338.
- [34] Baghestani, M., Azizkhani, M., Bagheri, Z., et al. (2013) Application of *Spirulina* Algae as a Food Supplementation in the Zinc Fortification of Bread. *Simulation Transactions of the Society for Modeling & Simulation International*, **90**, 800-814.
- [35] Bleakley, S. and Hayes, M. (2017) Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. *Foods*, **6**, 33. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
- [36] Gajaria, T.K., Suthar, P., Baghel, R.S., et al. (2017) Integration of Protein Extraction with a Stream of Byproducts from Marine Macroalgae: A Model Form the Basis for Marine Bioeconomy. *Bioresource Technology*, **243**, 867. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.149>

- [37] Field, L.M., Fagerberg, W.R., Gatto, K.K., *et al.* (2016) A Comparison of Protein Extraction Methods Optimizing High Protein Yields from Marine Algae and Cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*, 1-8.
- [38] 蔡春尔, 周铭, 李春霞, 柳俊秀, 汪卿, 何培民. 条斑紫菜藻胆蛋白提纯方法优化探索[J]. 生物技术通报, 2009(2).
- [39] Shi, Y., Pei, F., Zhou, L., *et al.* (2015) Optimization of Phycoerythrin Extraction from *Lavers* by Mixed Enzymes Using Response Surface Methodology. *Food Science*, **36**, 51-57.
- [40] 郑温翔, 郑惠彬, 王宝周, 等. 发酵酶解法提取紫菜蛋白多肽及其特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(4): 130-134.
- [41] Laohakunjit, N., Selamassakul, O. and Kerdchoechuen, O. (2014) Seafood-Like Flavour Obtained from the Enzymatic Hydrolysis of the Protein By-Products of Seaweed (*Gracilaria* sp.). *Food Chemistry*, **158**, 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.101>
- [42] 周存山, 余筱洁, 杨虎清, 等. 混合酶法制备紫菜蛋白降压肽[J]. 中国食品学报, 2010, 10(1): 156-160.
- [43] 刘立闯, 胡志和, 刘彤, 等. 螺旋藻蛋白提取方法比较研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 228-233.
- [44] 张静. 太湖梅梁湾水体中藻蓝蛋白的提取及其光学特性研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京师范大学, 2012.
- [45] 杨滢滢. 藻蓝蛋白的分离纯化、酶解及其抗肿瘤活性研究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津商业大学, 2009.
- [46] 林罗敏, 唐鹤辉, 彭亮, 等. 浮游植物叶绿素 a 的微波法研究及其与反复冻融法的比较[J]. 湖泊科学, 2016, 28(5): 1148-1152.
- [47] 李志平. 巢湖蓝藻多糖的分离、纯化及理化性质研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽大学, 2014.
- [48] 谷洋洋. 大型红藻的藻红蛋白分离纯化及低凝固温度琼脂糖制备研究[D]: [硕士学位论文]. 汕头: 汕头大学, 2014.
- [49] 肖海芳, 马海乐, 孙进良, 等. 基于藻红蛋白提取的条斑紫菜脉冲超声破壁方法研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 199-202.
- [50] 汤宇青, 吕峰, 傅丽娟. 超声波辅助酶法脱除石莼水溶性膳食纤维中蛋白质的工艺研究[J]. 渔业研究, 2018(2).
- [51] 刘果, 何永红, 万呼春, 等. 超声破碎变异链球菌后蛋白质提取条件的优化研究[J]. 重庆医学, 2012, 41(29): 3051-3053.
- [52] 俞建峰, 傅剑, 马潇, 等. 基于超细剪切细胞破壁技术的藻蓝蛋白提取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(10): 1071-1076.
- [53] 李让, 鲁军, 陈剑婷, 等. 超声波辅助溶菌酶酶解提取地木耳蛋白质工艺优化[J]. 食品与机械, 2014(5).
- [54] Karthikaichamy, A., Deore, P., Rai, V., *et al.* (2017) Time for Multiple Extraction Methods in Proteomics? A Comparison of Three Protein Extraction Methods in the Eustigmatophyte Alga *Microchloropsis gaditana* CCMP526. *Omicron—A Journal of Integrative Biology*, **21**, 678-683.
- [55] 吴蕾, 庞广昌, 陈庆森. 高压匀浆破碎螺旋藻细胞释放藻蛋白的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(3): 43-45.
- [56] 梁文裕. 普通念珠藻(*Nostoc commune* Vauch.)藻蓝蛋白的提取[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(1): 113-115.
- [57] Altuner, E.M., Çeter, T. and Alpas, H. (2012) High Hydrostatic Pressure Processing: A Method Having High Success Potential in Pollen Protein Extraction. *High Pressure Research*, **32**, 291-298. <https://doi.org/10.1080/08957959.2012.678341>
- [58] 张维, 于珊珊, 尹宏兵. 超声破碎法及匀浆法提取鹿茸多肽的比较研究[J]. 吉林中医药, 2017(12): 1252-1254.
- [59] 苏雨, 张发宇, 余金卫, 等. 分段盐析联合两步柱层析纯化巢湖蓝藻藻蓝蛋白[J]. 安徽农业大学学报, 2018(3).
- [60] 徐蕾然. 钝顶螺旋藻中藻蓝蛋白提取纯化及稳定性研究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津科技大学, 2013.
- [61] 刘清新, 郭卫芹, 王巍杰. 盐析结合双水相萃取法提取纯化藻蓝蛋白[J]. 农业机械, 2011(26): 122-125.
- [62] Ge, B., Lin, X., Chen, Y., *et al.* (2017) Combinational Biosynthesis of Dual-Functional Streptavidin-Phycobiliproteins for High-Throughput-Compatible Immunoassay. *Process Biochemistry*, **58**, 306-312. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.006>
- [63] Patil, G., Chethana, S., Madhusudhan, M.C., *et al.* (2008) Fractionation and Purification of the Phycobiliproteins from *Spirulina platensis*. *Bioresource Technology*, **99**, 7393-7396. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.028>
- [64] 卢薇, 丁简, 官燕华, 等. 酶辅助亚临界水提取高温豆粕蛋白及其性质研究[J]. 现代食品科技, 2015(1): 126-130.
- [65] 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(2): 69-75.
- [66] 徐长波. 双水相萃取藻实验蓝蛋白与藻蓝蛋白微囊化研究[D]. 唐山市: 河北理工大学, 2010.

- [67] 蔡春尔, 陈燕, 何培民. 条斑紫菜藻胆蛋白提纯方法探索[C]//中国蛋白质组学学术大会. 2005.
- [68] 李倩, 于振, 江帆, 等. 双向电泳技术在蛋白质组学中的应用[J]. 实验室科学, 2009(2): 81-83.
- [69] Wagner, V., Fiedler, M., Markert, C., *et al.* (2004) Functional Proteomics of Circadian Expressed Proteins from *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Letters*, **559**, 129-135.
- [70] Chardonnet, S., Sakr, S., Cassier-Chauvat, C., *et al.* (2015) First proteomic Study of S-Glutathionylation in Cyanobacteria. *Journal of Proteome Research*, **14**, 59-71. <https://doi.org/10.1021/pr500625a>
- [71] 杨明坤, 林小煌, 马炎炎, 等. 蓝藻的蛋白质翻译后修饰研究进展[J]. 水生生物学报, 2016, 40(5): 1056-1067.
- [72] Spat, P., Macek, B. and Forchhammer, K. (2015) Phosphoproteome of the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 and Its Dynamics during Nitrogen Starvation. *Frontiers in Microbiology*, **6**, 248.
- [73] 夏亚穆, 张振国, 林姣. 海洋藻类蛋白质生物功能的研究[J]. 农产品加工(学刊), 2014(23): 60-63.
- [74] Sekar, S. and Chandramohan, M. (2008) Phycobiliproteins as a commodity: Trends in Applied Research, Patents and Commercialization. *Journal of Applied Phycology*, **20**, 113-136. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9188-1>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org