

小球藻应用研究动态

王业勤 李勤生

(中国科学院水生生物研究所,武汉)

小球藻(*Chlorella*)是一类普生性单细胞绿藻,种类繁多。它们能适应于不同的生长环境,在人工培养基中生长良好,除能利用光能自养外,还可以异养培养。小球藻富含多种有用成分,在特定条件下,其代谢途径改变,积累的产物也不同。因此,长期以来,小球藻不仅是生物学研究中优良的实验材料,而且是引人注目的开发利用的对象。在日、苏、美、英、东欧、以色列和我国台湾省都在进行这方面的研究,尤其日本更为活跃。本文简要介绍近几年来国外有关小球藻应用研究的一些情况,目的在于交流信息,促进我国小球藻资源的开发利用,为经济建设服务。

一、优质食品和饲料

小球藻富含蛋白质、人和动物所必需的氨基酸、维生素、磷、钙、铁等营养成分(表1—2)。被认为是极有价值的食品和饲料来源。在六十年代,小球藻主要作为可开发的单细胞蛋白资源,以后日本在此基础上转向生产价值更高的保健食品、美容食品和食品添加剂,并已进入消费市场。如日本生产的小球藻片剂,作为保健食品,每60g售价1800—2500日元;作为食品添加剂的小球藻提取液浓缩物售价为3000日元/l,据报道主要是添加于陈大米、发酵大豆制品、豆腐、面食、发酵乳制品等食品中。早在1977年,日本市场上已销售了一种新型饮料,是由小球藻提取液和麦芽提取液配制而成的。最近日本市场上又推出了加小球藻提取液酿造的绿酒,每标准瓶售价750日元。值得注意的是发酵过程中加小球藻提取液后,造酒原料利用率大大提高。已知小球藻提取液中含有促长因子(CGF)能促

近微生物的生长。据台湾报道,在日本医院中也使用小球藻提取液。日本不仅本国生产小球藻,并从台湾和亚洲其它地区进口小球藻产品。此外,还有小球藻饮料的专利,其配方如下:100g小球藻悬浮于1l水中(内含10g Na_2PO_4),放置10小时后,与2.59kg乳糖或其它糖混合,再冰冻干燥和粉碎,可获2.7kg绿色粉末。将此粉末溶于水,配成10%溶液,即成鲜绿色饮料。

利用小球藻作为饲料或饲料添加剂,养猪、羊、鸡、鱼、蚕、蜂等的试验报道不少。但由于目前小球藻的生产成本较高,工厂化生产的小球藻并不直接作为饲料,而是将其中有效成分提取后,副产品用作饲料。为了降低成本,许多国家正在设计粗放生产工艺,把饲用小球藻的生产纳入综合利用和环境治理之中。例如以色列等国设计把大规模废水处理与小球藻生产结合起来;又如菲律宾在养牛场和养猪场中,用牛粪、猪粪发酵产生沼气,发酵液用于户外培养小球藻,以提供饲料添加剂。这种综合利用系统已在小规模运转。酒厂的酒糟是难于处理的废弃物,日本正在应用酒糟培养小球藻,以小球藻促进鱼类饵料——原生动物的生长繁殖,使鱼得到充足的饵料,达到丰产的目的。以上生产方式可因地制宜,综合利用。

二、在医药上的应用研究

研究小球藻在医药上的应用,筛选并提纯具有药理作用的某些成分,特别是小球藻的多糖和糖蛋白的抗肿瘤活性、增强免疫力和抗病原菌和病毒的感染能力方面已证明是有效的,已成为小球藻应用研究中十

表1 小球藻成分分析(每100g干藻含量)

成分	含量	成分	含量
粗蛋白质	55.0—62.0g	胡萝卜素	82.6—115mg
粗脂肪	5.6—10.9g	维生素A	119,000—137,000iu
碳水化合物	16.4—19.6g	维生素B ₁	1.6—2.1mg
粗纤维	2.0—2.8g	维生素B ₂	5.3—5.5mg
灰分	5.5—6.6g	维生素B ₆	0.6—0.7mg
叶绿素	3.0—3.8g	维生素B ₁₂	82—83.5μg
		维生素C	61—119.0mg
		尼古酸	25.0—25.6mg
		叶酸	28.9—32.3μg

表2 小球藻氨基酸组成(%)

氨基酸	含量	氨基酸	含量
赖氨酸	3.08	丙氨酸	3.33
组氨酸	1.01	胱氨酸	0.24
精氨酸	4.07	缬氨酸	4.14
天门冬氨酸	5.34	蛋氨酸	0.75
苏氨酸	2.93	异亮氨酸	2.41
丝氨酸	2.42	亮氨酸	5.04
谷氨酸	6.27	酪氨酸	1.82
脯氨酸	2.58	苯丙氨酸	3.09
甘氨酸	3.18	色氨酸	1.42

分活跃、备受重视的一个方面。日本的一些大学、研究所和有关公司,都在积极开展研究;西德 Kiel 大学药物生物化学研究所正在建立中试工厂,发掘小球藻的潜在药物成分。据报道,已知小球藻具有如下药理作用。

1. 抗肿瘤活性: 小球藻干粉用热水抽提后,再经有抗溶剂沉淀和层析分离纯化等工艺过程,可以从1kg 干粉中提取200mg白色粉剂,其主要成分是多糖。此制剂在实验动物身上具有促进网状系统细胞的吞噬作用,诱导干扰素的形成,抑制病毒感染和肿瘤的生长。

已证明从小球藻细胞中可提取出两种分子量不同的糖蛋白: 其一分子量为120,000;另一分子量为70,000。它们均具有抗肿瘤活性。如对腹腔移植肉瘤S180的小鼠,通过腹腔注射糖蛋白治疗,剂量为25mg/kg,连续5天,可使小鼠存活时间延长30—70%,其中部分小鼠得到缓解。对移植淋巴白血病P388的小鼠也有明显的治疗效果: 移植24小时后,通过腹腔注射糖蛋白,剂量为1.5—5mg/kg,连续9天,存活时间可延长30—55%。这样的效果还是可观的。

此外,小球藻多糖和糖蛋白,对腹水肝癌AH44、AH41C、白血病L-120、艾氏腹水癌、Meth A肿瘤均显示了抗肿瘤活性。

2. 抑制癌细胞: 鼠白血病L-120细胞在体外培养时,加入小球藻糖蛋白,能阻止癌细胞的增殖。阻止50%细胞增殖的糖蛋白剂量是: 分子量120,000者为5 μ g/ml; 70,000者为17 μ g/ml。对来源于宫颈癌的Hela-53细胞株的增殖也有抑制作用,其IC-50分别为60 μ g/ml 和85 μ g/ml。

3. 增强免疫和抗感染能力: 小球藻的多糖和糖蛋白能显著地增强抗体的免疫能力,这种作用在动物实验中已得到证实。日本学者林江泽等人发表了详细的专利报道。小鼠在接种致病菌之前5天、3天、1天,口服或皮下注射小球藻多糖和糖蛋白制剂,然后在腹腔内接种致病菌,如绿脓杆菌、肠炎沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、广谱抗药性大肠杆菌等,然后根据感染动物的存活率和存活动物的心、肝、脾、肾等脏器等病原菌消灭情况,判断多糖和糖蛋白制剂的效果,并对170种微生物(其中包括11种小球藻、10种栅藻、1种空盘藻和1种星盘藻)中分离的多糖和糖蛋白的效果作了比较。结果表明小球藻(*Chlorella ovalis*, *Ch. H48*)、栅藻(*Scenedesmus* Tcp-3p, *Sc. Obliquus*, *Sc. nanns*)的糖蛋白对小鼠抗感染效果最好,可以与已知的免疫化剂Levamisole相比。Levamisole使接种绿脓杆菌的小鼠存活50%,使接种肠炎沙门氏菌的小鼠存活40%;而小球藻(*Ch. ovalis*)糖蛋白制剂对接种最低致死量金黄色葡萄球菌小鼠的作用效果可达100%存活率;即使感染量为最低致死量4倍时,仍有30%存活。当用最低致死量肠炎沙门氏菌感染小鼠时,疗效可达90%;

用4倍最低致死量时,仍有60%可以存活。此外,对广谱抗药性大肠杆菌(7R)TW36株的感染亦具有明显的抗感染作用。对感染后存活的小鼠在不同时间进行解剖,检查心、肝、脾、肾等脏器中致病菌的数量,发现至第7天已完全无菌或接近无菌。

由小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)中提取的Chlom A(x)静脉注射小鼠后,2.5小时内血清中干扰素滴度较高,对痘病毒和流感病毒的感染表现了较强的抵抗力。

机体免疫力的强弱直接与对疾病的抵抗力与康复有关。特别是使用某些化疗剂、抗生素、抗癌药物时,往往有很高的毒性和抑制免疫力的作用,致使患者因其它病因死亡。因此筛选低毒性而又能增强抗体免疫力的药物是值得注意的研究方向。小球藻糖蛋白制剂与其它抗癌药物合并使用,可以增强免疫能力、减少抗癌药物的用量,提高疗效。

4. 解毒保肝、降低血压: 根据台北医学院王凌芳等人最近报道,在大鼠饲料中加入5%小球藻干粉作添加剂,结果试验组大鼠的肝总脂量、甘油三酸脂、胆甾醇含量均比对照组低,并对乙(基)硫氨酸(Ethionine)引起的中毒反应较对照组轻,且恢复亦快。故他们认为小球藻中含有某种保肝、解毒的成份。观察实验大鼠的生长情况发现,不论是否用0.25%乙基硫氨酸处理,凡加小球藻饲养的大鼠,生长快,且健壮,血清中谷氨酸草酰乙酸转氨酶和谷氨酸丙氨酸转氨酶、碱性磷酸脂酶活性均比对照组低,对乙(基)硫氨酸引起的中毒有较高的耐受力。

另据报道,从小球藻细胞中提取分子量10,000以上的糖蛋白,经静脉注射给已患高血压(200mm Hg)的大鼠,剂量为10 μ g/100g,在1小时内,可使血压降至150 mmHg,比其它肽降压剂效果好。

三、在工业方面的应用研究

小球藻能利用太阳能和矿盐将CO₂转变成各种有机物质。不同小球藻代谢途径及积累的产物明显不同。有些有用的产物可达细胞总干重的50%以上,具有开发价值。目前美国太阳能研究所、西北太平洋实验室等单位正在探索利用小球藻作为燃料油新能源的可能性。美国乙基公司则正在研究利用小球藻生产脯氨酸的生产工艺。日本、苏联等国利用小球藻作为化妆品原料已有不少报道,而且也在开展其它工业产品方面的应用研究。

1. 用于油脂和燃料生产: 有些小球藻产生和积累的油脂量超过藻体干重的60%,有可能成为一种新的油脂来源。目前已提出了强化培养小球藻大规模生产油脂的经济分析,并提出了建立小球藻农场、浅池连续培养小球藻,经酶解产生酒精和含高蛋白副产品作为饲料的设计方案。设计的最佳年产量为160吨藻/英亩。这个产量比实验观察到的产量高10倍。其关键在

于如何提高小球藻的生长速度,以求达到高产指标。

2. 利用小球藻生产脯氨酸: 有些小球藻品系适应高盐生长条件, 具有很高的渗透压耐受性。在此条件下, 细胞内积累的渗透调节物是脯氨酸。利用这一引起脯氨酸过量生产的特性, 美国乙基公司研究了利用小球藻 580 株生产脯氨酸的工艺, 并陆续发表了有关专利。利用无机盐 (其中含 1M NaCl, 相当于海水盐浓度的 2.5 倍), 通入 5%CO₂, 光照培养。细胞收获后加热水 100℃ 抽提脯氨酸。最初他们从每 mg 干重细胞中得到 0.1mg 脯氨酸, 经过培养条件的改进, 产量提高到 0.48mg, 几乎相当于细胞干重的 50%。提取氨基酸后的副产品还可作饲料。按一般户外培养产量推算, 每平方米每日可收获 20g 干细胞, 一亩培养面积, 每 3 天可得到 6kg 脯氨酸。这样的产量是很可观的。

3. 作化妆品原料: 小球藻含有未知的生理活性物质, 具有活化皮肤细胞, 加速其新陈代谢的功效, 可以滋润皱裂粗糙的皮肤。苏联、日本等国均有将小球藻水溶性提取物添加到搽面油脂或口红等化妆品中的专利。加入量不超过化妆品原料的 0.5%。据试验对中、青年妇女有良好的护肤美容效果。

4. 抗氧化作用: 小球藻提取物具有抗氧化作用, 可添加入亚油酸中作为抗氧化剂。当在亚油酸中加入 0.1% 小球藻提取液, 在 37℃ 下, 经过 7 天, 其过氧化值为 0.21; 而不加此提取物的亚油酸过氧化值为 1.9, 两者相差近 10 倍。目前还不清楚抗氧化作用的有效成分, 如进一步提纯后, 其作用将会有所提高。据日本报道, 在鱼罐头中加小球藻提取液可改善鱼的品质。

5. 加工糙米: 糙米富于营养, 但有气味, 且烹煮不易。日本有人试验将糙米洗涤后与 0.02—0.05% 纤维素酶和 0.3% 小球藻提取液一起在室温下放置一天, 可以消除气味, 易于烹饪, 改善品质。

仅就上述, 可见小球藻是一种具有多方面经济价值的天然资源, 有着巨大的应用潜力, 值得进一步加强研究和开发利用。事实上, 在某些国家和地区已经形成了产业。近 20 年来, 小球藻的大量培养和生产工艺已有相当进展。以日本为例, 1957 年建立小球藻研究所, 当时培养面积为 4000M²。1964 年在日本的爱知县出现了世界上第一个小球藻工业公司, 当时的生产面积为 6230M²。以后在冲绳等地相继设立了新的公司, 至七十年代末期, 至少已有 5 家公司 10 家工厂经营小球藻生产业务。亚洲地区总共有近 50 家小球藻生产工厂。仅在我国台湾即有 30 多个生产工厂, 其中台北小球藻公司日产两吨干藻; 南朝鲜和马来西亚也有工厂或公司。总的生产量每年约 3000 吨干藻。生产方式主要为户外大面积培养, 一般产量可达 20—40g 干藻 / M² / 天。产量高低受气候条件的影响。也有采用发酵罐生产小球藻者, 以葡萄糖等为碳源, 生产率比户外生产高 10 倍。由于小球藻主要作为保健食品和食品添

加剂, 产品质量要求严格, 生产成本较高, 每 kg 小球藻粉的成本约 10 美元, 出口价为 20 美元 / kg。台湾生产的藻粉大部份向日本等国出口, 这是台湾小球藻产业得以迅速发展的主要原因之一。

从应用角度看, 小球藻最初作为单细胞蛋白资源进行开发利用, 因其生长繁殖速度比细菌和酵母慢, 难以在与这些单细胞蛋白竞争中居于优势, 所以日本转向生产保健食品和食品添加剂, 并进一步开发利用小球藻的有效成份于医药和生化制品, 看来这反映了今后小球藻应用研究的方向。如将小球藻干粉脱色处理, 分离叶绿素、胡萝卜素, 作为天然色素原料; 脱色后的藻体再用于分离提取多糖、糖蛋白、ATP、核酸等物质, 作为医药原料、调味品等, 预计将会出现新的小球藻制的商品。

大量培养小球藻是开展各项应用研究的前提。日本的小球藻应用研究的发展与他们对小球藻培养条件和工艺的改进分不开。他们不仅从多种途径探索小球藻应用的可能性, 同时注意不断改善培养条件, 比较不同的培养基配方, 改良培养装置和生产方式, 选育优良藻株等, 从而推进了小球藻生产企业化的进程。今后, 在这方面仍然是一个重要的研究课题。

早在五十年代至六十年代初期, 我国许多地区和单位就已开展了小球藻应用研究, 取得了一些成绩, 积累了经验, 但未能坚持下来形成产业, 其原因是多方面的。我们认为我国有着开发利用小球藻资源的优越条件和基础, 特别是南方地区, 气温高、日照充足, 适于培养小球藻。建议有关部门和单位投资, 大力支持开展应用研究。

参 考 文 献

- [1] 黎尚豪: 我国三十年来淡水藻类学研究的进展, 中国科学院武汉分院学术委员会学术报告文集, 第 33—36 页, 1979 年。
- [2] 比嘉藏邦: 食品工業, 21(13): 34—45, 1978。
- [3] 横倉輝男: 食品工業, 24(11): 57—60, 1981。
- [4] Kawagushi, K.: Microalgae Production System in Asia, in "Algae Biomass Production and Use", ed. by Shelef, G. and C. J. Soeder, pp. 25—33, 1980。
- [5] Leavitt, R. I.: U. S. Patent, 4383039, 1983。
- [6] Line, S. and K. G. Spenser: Energy Biomass Wastes, 7: 1107—1122, 1983。
- [7] Litchfield, J. H.: Science, 219(4585): 740—746, 1983。
- [8] Patton, J. T. and P. F. Phelan: Agriculture Energy, 2: 316—323, 1981。
- [9] Piorreck, M. et al.: Phychemistry, 23: 207—216, 1984。
- [10] Soong Pinnan: Production and Development of Chlorella and Spirulina in Taiwan, in "Algae Biomass Production and Use", ed. by Shelef G. and C. J. Soeder, pp. 97—113, 1980。