

不同来源钝顶螺旋藻藻蓝蛋白特性比较

王志忠^{1,2}, 刘果厚¹, 包玉兰^{2,4}, 巩东辉³, 李学海⁴

1. 内蒙古农业大学生态环境学院, 呼和浩特 010019
2. 鄂托克旗螺旋藻工程技术研究中心, 鄂尔多斯 016109
3. 内蒙古科技大学数理与生物工程学院, 包头 014010
4. 新宇力藻业集团有限公司, 鄂尔多斯 016109

摘要 为更大程度地开发利用鄂尔多斯螺旋藻藻蓝蛋白资源, 获得螺旋藻藻蓝蛋白提取及保存过程中的最佳参数, 对2藻种藻蓝蛋白硫酸铵盐析饱和度、热稳定性、酸碱稳定性进行了比较。结果显示, 在硫酸铵饱和度达到40%时, 2藻种藻蓝蛋白纯度和藻蓝蛋白提取率均达到最高, 且鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白纯度为引进钝顶螺旋藻的1.67倍, 两者的提取率持平。鄂尔多斯螺旋藻藻蓝蛋白对温度较引进种敏感, 除25℃时相差不大外, 35、45、55℃等条件下均表现出相比引进种更大的纯度降低率, 多数为后者的两倍, 但即使鄂尔多斯钝顶螺旋藻纯度降低率较大, 降低后的纯度仍然比引进种最高纯度高, 显示出鄂尔多斯钝顶螺旋藻在藻蓝蛋白上的优势。在工艺及环境条件允许的情况下, 提取鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白时, 尽量保持在较低温度下操作, 如果兼顾提取率和纯度, 宜选择55℃以内操作。2藻种藻蓝蛋白酸碱稳定性上表现出较一致的反应, pH值5~6可以保持藻蓝蛋白的最大纯度。

关键词 钝顶螺旋藻; 藻蓝蛋白; 热稳定性; 酸碱稳定性

中图分类号 Q513

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.21.004

Comparison of Phycocyanin Characterization of *Spirulina Erdosensis* and the Imported Species

WANG Zhizhong^{1,2}, LIU Guohou¹, BAO Yulan^{2,4}, GONG Donghui³, LI Xuehai⁴

1. Ecology and Environmental Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China
2. Research Centre of Spirulina Engineer and Technology of Etuoke, Erdos 016109, China
3. School of Mathematics, Physics and Biological Engineering, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China
4. Erdos Xinyuli Spirulina Industry Group Co., Ltd., Erdos 016109, China

Abstract This paper presents a comparative study of the characteristics of phycocyanin between *Spirulina Erdosensis* and the imported species to find out the characteristics of two species of *spirulina platensis*, and obtain the optimal parameters of phycocyanin in the process of extraction and preservation. The results show that the purity and the yield of the two *Spirulina* species of phycocyanin are the best and the phycocyanin purity of *Spirulina Erdosensis* is 1.67 times of the imported species and the yield of phycocyanin of two *Spirulina* species is basically the same with 40% (NH₄)₂SO₄ saturation. The phycocyanin is more sensitive to temperature than the introduced species. The reduced percentage of the phycocyanin purity of *Spirulina Erdosensis* is larger than that of the introduced species under the conditions of 35℃, 45℃, 55℃, while it is twice as large under the conditions of 25℃. Nonetheless, the reduced purity of *Spirulina Erdosensis* is still higher than the highest purity of the introduced *Spirulina* species, showing the advantages of Erdos *Spirulina platensis* on phycocyanin. The phycocyanin from *Spirulina Erdosensis* can be extracted at

收稿日期: 2014-02-24; 修回日期: 2014-06-04

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2011MS0519)

作者简介: 王志忠, 工程师, 研究方向为野生植物资源保护与利用, 电子信箱: zhizhong866@126.com; 刘果厚(通信作者), 教授, 研究方向为野生动植物

开发利用, 电子信箱: guohouliu@163.com

引用格式: 王志忠, 刘果厚, 包玉兰, 等. 不同来源钝顶螺旋藻藻蓝蛋白特性比较[J]. 科技导报, 2014, 32(21): 31-36.

55℃ and the lowest temperature should be chosen for both extracting efficiency and purity in the permissible process and environmental conditions. The phycocyanin purity of two *Spirulina* species is the largest when pH value takes 5–6, while the pH stability of phycocyanin for two *Spirulina* species is quite consistent.

Keywords *Spirulina platensis*; phycocyanin; thermostability; pH stability

螺旋藻(*Spirulina*)是丝状的多细胞蓝藻,其藻体细胞内的蛋白质含量高且营养物质丰富,被世界粮农组织誉为21世纪人类最理想的食物^[1,2]。藻蓝蛋白(Phycocyanin, PC)是螺旋藻细胞中重要的光合作用天然色素,螺旋藻中的藻蓝蛋白含量高达10%~20%,它在光合作用过程中起着重要作用^[3]。因其水溶性强、无毒、清亮且着色力强等优点,藻蓝蛋白被广泛用于食品着色剂和化妆品的添加剂^[4];它带有荧光,可用作荧光标记物^[5]。研究表明,藻蓝蛋白还具有提高人体免疫力^[6]、促进动物血细胞再生、抗肿瘤、抑制癌细胞^[7]等医疗作用,同时在抗辐射、抗疲劳、清除自由基等方面也具有一定的生理活性^[8],因此螺旋藻藻蓝蛋白成为螺旋藻类蛋白研究的热点^[9-11]。

本研究选用鄂尔多斯当地钝顶螺旋藻和引进的非洲乍得湖钝顶螺旋藻为材料,用盐析沉淀法分离藻蓝蛋白,同时研究温度和pH值对藻蓝蛋白纯度和提取率的影响,以期为进一步提取藻蓝蛋白和保存藻蓝蛋白提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料及培养

藻种为鄂尔多斯碱湖分离纯化的钝顶螺旋藻和南京大学引进的非洲乍得湖钝顶螺旋藻(以下简称引进藻种),采用Zarrock培养基^[12],接入藻种使藻液OD值(光密度值)达到0.2,培养温度28℃,光暗比12 h:12 h,培养至OD值为0.8时采收、清洗、干燥后备用。

1.2 实验方法

1.2.1 粗藻蓝蛋白溶液制备

取50 g螺旋藻粉,加入500 mL 50 mmol/L磷酸盐缓冲液(PBS)(pH值7.0),搅拌均匀,在-20℃和38℃间交替冻融数次,静置30 min后8000 r/min 4℃离心15 min,所得上清液即为藻蓝蛋白粗提液。

1.2.2 藻蓝蛋白纯度和提取率测定

藻蓝蛋白的纯度用藻蓝蛋白在最大吸收(620 nm)处的吸光度与蛋白质在280 nm处的吸光度的比值 A_{620}/A_{280} 表示^[13]。藻蓝蛋白提取率根据文献[14]所列方法测定和计算。

1.2.3 不同硫酸铵饱和度条件下盐析藻蓝蛋白的纯度及提取率

各取藻蓝蛋白粗提液300 mL放入8个三角瓶中,加入硫酸铵,分别调节溶液中硫酸铵饱和度为20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%,4℃ 8000 r/min离心15 min,沉淀溶于PBS中,定容至1000 mL,然后取1 mL上述溶液再用PBS定容至100 mL,采用1.2.2节的方法测定藻蓝蛋白的纯度和提取率。

1.2.4 藻蓝蛋白热稳定性

将藻蓝蛋白粗提液分别置于25、35、45、55、65℃的水浴中,每隔1 h测量上清液在280、620 nm处的吸光度,计算藻蓝蛋白的纯度,以考察不同温度及不同存放时间对藻蓝蛋白稳定性的影响。

1.2.5 藻蓝蛋白酸碱稳定性

将藻蓝蛋白粗提液加入不同pH值(3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0)的30 mmol/L磷酸氢二钠-柠檬酸-碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液中,室温保存并每隔1 h测量上清液在280、620 nm处的吸光度,计算藻蓝蛋白的纯度,以考查不同pH值及存放时间对藻蓝蛋白稳定性的影响。

2 结果与分析

2.1 硫酸铵饱和度对藻蓝蛋白纯度和提取率的影响

由图1可以看出,鄂尔多斯藻种和引进藻种的最大藻蓝蛋白纯度分别为0.669和0.4,前者为后者的1.6725倍。硫酸铵饱和度对鄂尔多斯当地藻种和引进藻种藻蓝蛋白纯度的影响较大,两藻种都经历了随着硫酸铵饱和度的增加,藻蓝蛋白纯度先增加后减小的变化。其中,硫酸铵饱和度为40%时,两藻种的藻蓝蛋白纯度都达到最大。鄂尔多斯藻种的藻蓝蛋白纯度变化幅度比引进藻种的大,但当硫酸铵饱和度超过50%后,鄂尔多斯藻种藻蓝蛋白纯度下降幅度较大,对于引进藻种,硫酸铵浓度在30%~60%范围总体变化不大。

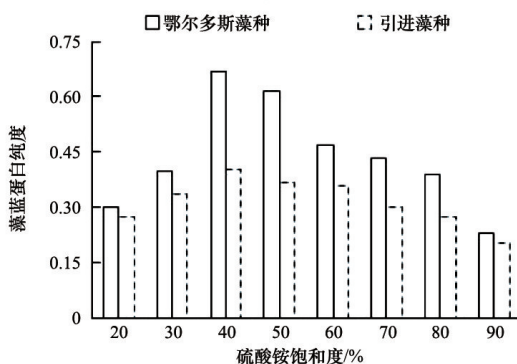


图1 不同硫酸铵浓度下2藻种藻蓝蛋白纯度

Fig. 1 Phycocyanin purity under different (NH₄)₂SO₄ concentrations

由图2可以看出,当硫酸铵饱和度在20%~40%时,藻蓝蛋白提取率逐步增加,这与在此范围的2藻种藻蓝蛋白纯度变化规律一致;当硫酸铵饱和度达到40%后,藻蓝蛋白提取

率的变化不明显,尤其对于引进藻种,藻蓝蛋白的减少率仅为6.4%。而鄂尔多斯藻种,在硫酸铵饱和度40%~50%范围内,藻蓝蛋白提取率保持较高水平,从60%开始提取率略有下降,但变化不剧烈,减小率为17.5%。从图2还可看出,两藻种的藻蓝蛋白最高提取率基本持平。

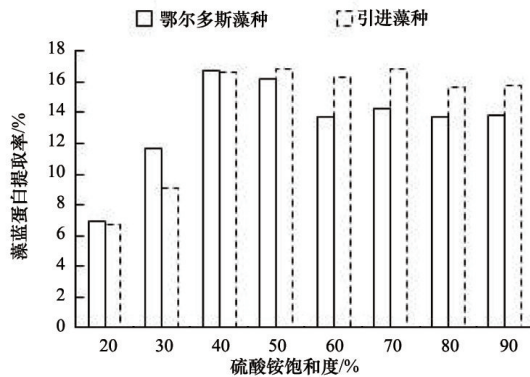


图2 不同硫酸铵饱和度下藻蓝蛋白提取率

Fig. 2 Phycocyanin extraction ratio under different (NH₄)₂SO₄ concentrations

综合图1和图2,无论是鄂尔多斯藻种还是引进藻种,提取藻蓝蛋白时最经济的硫酸铵饱和度范围为40%~50%。

2.2 藻蓝蛋白热稳定性

从图3和表1可以看出,鄂尔多斯钝顶螺旋藻种藻蓝蛋白纯度在25℃下放置5 h内几乎没有下降,只是在6 h时有不到2%的下降;从35℃开始,此藻种藻蓝蛋白纯度随放置时间的增长开始下降,35℃时6 h内,纯度下降率由2.47%最大增加到9.73%;45℃时6 h内纯度下降10%~15%;55℃时6 h内纯度下降率维持在20%左右;65℃时放置6 h,纯度下降剧烈。由此可知,鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白对温度比较敏感,并且在较高的温度下,放置时间越长纯度下降越多。所以,在提取、纯化鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白时,尽可能在较短时间和较低温度下完成操作,如兼顾产量与纯度,可以根据工艺条件选择适合的处理温度和操作时间。

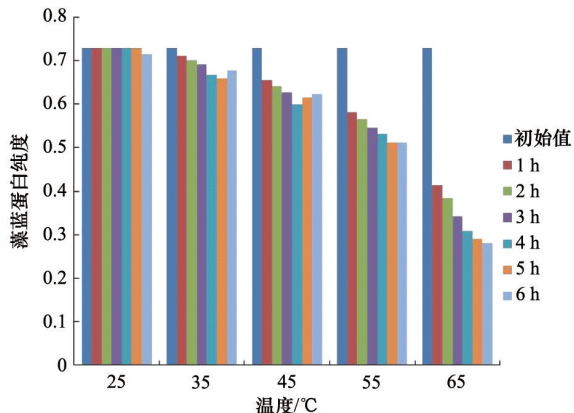


图3 不同温度和存放时间下鄂尔多斯藻种藻蓝蛋白纯度

Fig. 3 Phycocyanin purity under different temperature and storage time on *S. platensis* from Ordos

表1 不同温度下鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白纯度随时间的下降率

Table 1 Declining percentage with time of phycocyanin purity of Ordos *S. platensis*

存放时间/h	藻蓝蛋白纯度下降率/%				
	25℃	35℃	45℃	55℃	65℃
1	0.14	2.47	10.27	20.20	43.30
2	0.14	3.84	12.19	22.60	47.41
3	0.14	5.21	13.97	25.34	53.01
4	0	8.63	17.81	27.12	57.76
5	0.14	9.73	15.75	29.86	60.27
6	1.92	7.26	14.66	30.00	61.62

从图4和表2可以看出,引进藻种的藻蓝蛋白纯度总体上虽然比鄂尔多斯钝顶螺旋藻低,但其适应温度的能力比鄂尔多斯钝顶螺旋藻强,25℃放置6 h,纯度下降率在1.19%~2.38%,同比高于鄂尔多斯当地藻种。其余温度条件下,同比均低于鄂尔多斯当地藻种。35℃时纯度下降率维持在4%左右,45℃时纯度下降率维持在5%~10%,55℃时纯度下降率维持在7%~15%,65℃时纯度下降率维持在42%~57%。尤其当处理温度在55℃及以下时,引进藻种同比纯度下降率不到前者的50%。

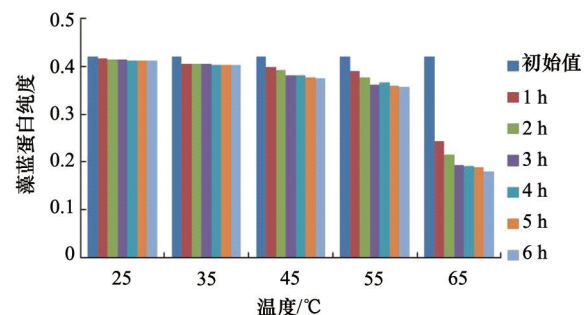


图4 不同温度和存放时间下引进藻种藻蓝蛋白纯度

Fig. 4 Phycocyanin purity under different temperatures and storage times of introduced *S. platensis*

表2 不同温度下引进藻种藻蓝蛋白纯度随时间下降百分率
Table 2 Declining percentage with time table on phycocyanin purity of introduced *S. platensis*

存放时间/h	藻蓝蛋白纯度下降率/%				
	25℃	35℃	45℃	55℃	65℃
1	1.19	3.33	5.00	7.12	42.07
2	1.43	3.57	6.43	10.23	48.52
3	1.67	3.81	9.05	13.88	53.94
4	1.90	3.98	9.52	12.93	54.30
5	2.14	4.20	10.48	14.29	55.00
6	2.38	4.29	10.95	15.15	56.87

分析表1、表2、图3和图4可知,尽管在上述温度下鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白纯度下降率几乎是引进藻种的2倍,但下降后的纯度数值依然远高于引进藻种,从这一角度看,鄂尔多斯钝顶螺旋藻在藻蓝蛋白方面具有可开发优势。以55℃处理6 h的数值为例,鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白纯度为0.511,而引进藻种藻蓝蛋白纯度为0.3564,前者为后者的1.43倍。从实际应用角度看,提取过程保持在55℃以下即可使提取的藻蓝蛋白粉满足质量要求(纯度 ≥ 0.4)。

2.3 藻蓝蛋白酸碱稳定性

由图5可以看出,2藻种藻蓝蛋白纯度随pH值的变化趋势基本一致,在pH=3时,其纯度都随时间的增加而降低,pH=4时随时间的增加其纯度明显升高,pH值在5~7时纯度基本没有变化,然而pH ≥ 8 时2藻种藻蓝蛋白纯度均随时间增加而明显下降。由此可知,2藻种藻蓝蛋白纯度的最适pH值范围为5~7,在此范围内可使其纯度保持较长时间。从表3和

表4也可以看出,2藻种在不同pH值条件下的藻蓝蛋白纯度下降率没有明显差异。在pH值为3、8、9、10、11时,2藻种藻蓝蛋白纯度下降率均超过10%的,表明在上述pH值下,不适合进行藻蓝蛋白提取纯化和保存等操作。在pH值为4时(除引进藻种粗提液存放1 h藻蓝蛋白纯度下降率为4.61%外),2藻种藻蓝蛋白纯度下降率均为负数,说明在此pH值下藻蓝蛋白的纯度在数值上都有大幅度的增加,但并不是该pH值下藻蓝蛋白纯度高,而是pH=4附近是藻蓝蛋白的等电点,在此条件下藻蓝蛋白析出,致使溶液620 nm处吸光度增加,获得比实际值偏大的数值(藻蓝蛋白经等电聚焦显示为一条带,其等电点为pH=4.3^[15])。尽管pH值为5、6、7条件下藻蓝蛋白纯度下降率均较低,但pH值5和6条件下,藻蓝蛋白纯度随存放时间的下降率均较pH=7时低,所以pH值为5和6是处理和保存2藻种藻蓝蛋白较好的酸碱条件。

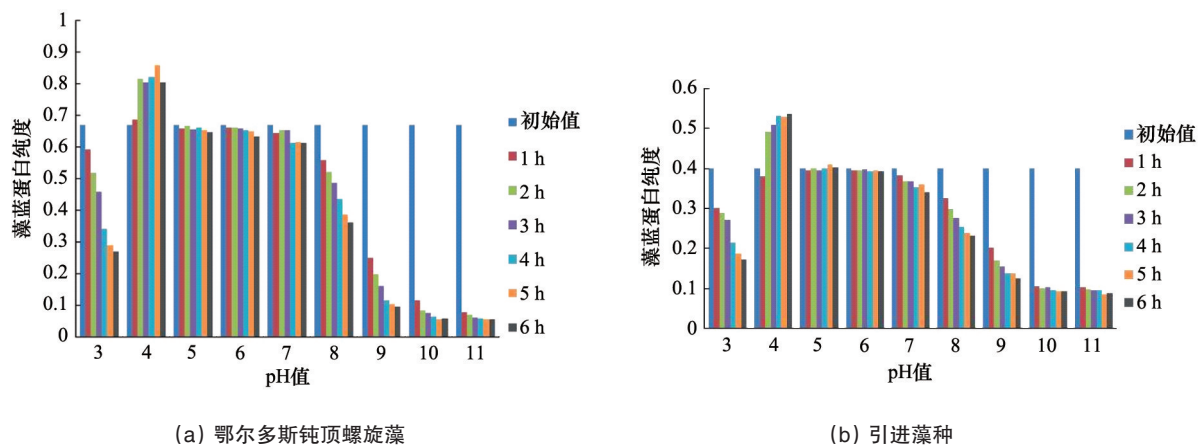


图5 不同pH和存放时间下藻蓝蛋白纯度

Fig. 5 Phycocyanin purity under different temperatures and storage times of introduced *S. platensis*

表3 不同pH值下鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白纯度随存放时间下降率
Table 3 Declining percentage with pH of phycocyanin purity of Ordos *S. platensis*

存放时间/h	藻蓝蛋白纯度下降率/%								
	pH=3	pH=4	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9	pH=10	pH=11
1	11.52	-2.60	1.43	0.94	3.73	16.34	62.80	82.90	88.50
2	22.46	-21.75	0.35	1.10	2.59	21.93	70.38	87.40	89.73
3	31.49	-20.42	2.16	1.64	2.31	27.38	75.88	88.77	90.82
4	48.97	-22.74	1.33	2.33	8.53	35.11	82.63	90.43	91.46
5	56.69	-28.25	2.33	2.97	8.09	42.07	84.66	91.76	91.59
6	59.83	-20.27	3.45	5.43	8.21	46.18	85.82	91.42	91.96

表4 不同pH值下引进藻种藻蓝蛋白纯度随存放时间下降率

Table 4 Percentage of declining with pH on phycocyanin purity of introduced *S. platensis*

存放时间/h	藻蓝蛋白纯度下降率/%								
	pH=3	pH=4	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9	pH=10	pH=11
1	24.66	4.61	1.35	1.19	4.49	18.37	49.36	73.44	73.83
2	27.92	-22.99	0.09	1.26	7.93	25.56	57.56	74.93	75.15
3	31.82	-27.50	0.92	0.40	7.76	30.58	61.28	73.94	75.71
4	46.30	-32.54	-0.36	1.97	11.61	36.50	65.38	76.05	76.25
5	53.09	-32.10	-2.42	1.28	9.66	40.03	65.32	76.71	78.72
6	56.88	-34.13	-0.47	1.61	14.86	41.83	68.41	76.80	77.64

3 讨论

藻蓝蛋白是螺旋藻的重要活性成分,也是近年来研究开发的热点,很多企业也在开展规模化生产藻蓝蛋白的工作,但不同产地的螺旋藻藻种藻蓝蛋白纯度不同,温度和pH值对藻蓝蛋白影响范围也不尽相同,所以研究最适的螺旋藻盐析浓度以及温度和pH值对藻蓝蛋白纯度的影响意义重大。尤其对于鄂尔多斯钝顶螺旋藻来说,藻蓝蛋白的研究仍存在很多空白,其特性还不为人所知,给有效开发利用鄂尔多斯钝顶螺旋藻造成一定影响。为此本研究对比分析了硫酸铵饱和度、温度、pH值等对鄂尔多斯钝顶螺旋藻和国外引进的钝顶螺旋藻的藻蓝蛋白的影响。

从实验结果看,鄂尔多斯钝顶螺旋藻在粗提条件下藻蓝蛋白纯度明显高于引进藻种,这对于产业化开发鄂尔多斯钝顶螺旋藻有着重要的意义。从提取率看,2藻种基本持平,在硫酸铵饱和度较低时,提取率逐步增大,当硫酸铵浓度在40%~50%时,2藻种藻蓝蛋白提取率均达到最大,但随后随着硫酸铵饱和度的继续增大,2藻种藻蓝蛋白提取率虽然有一定程度的下降但下降幅度不大,这可能是多余的硫酸铵使部分藻蓝蛋白发生了变性,致使在高硫酸铵浓度下出现较低藻蓝蛋白提取率的现象。

刘杨等^[16]实验证明,50%的硫酸铵有利于螺旋藻藻蓝蛋白的富集分离,本实验中,藻蓝蛋白分离的最佳硫酸铵浓度为40%~50%,即可以选用40%的硫酸铵进行藻蓝蛋白的富集分离,这样不仅节省硫酸铵的投入,也可以减少硫酸铵在藻蓝蛋白中的残留量。

实验证明鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白比引进藻种藻蓝蛋白对温度更加敏感,当处理温度超过35℃时,前者藻蓝蛋白纯度下降率较高,约为后者的2倍,这也与2藻种生存环境正相关。鄂尔多斯钝顶螺旋藻生活在温带大陆性干旱半干旱气候区的高原碱湖中^[17],该地区四季分明,冬季寒冷漫长,夏季温热短暂,寒暑变化剧烈,气温日、年变化较大,年均温度6.4℃,极端最低气温为-30~-31℃(1月),极端最高气温为36.5~36.7℃(7月),≥10℃积温2796~2820℃,无霜期130~

136 d^[18],鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻种在进化过程中已经适应了当地的气候条件,所以表现出藻蓝蛋白在较低温度下保持较高活性的特性。相对于鄂尔多斯钝顶螺旋藻,引进的钝顶螺旋藻藻蓝蛋白活性在相对较高温度下表现出较强的适应性。引进的钝顶螺旋藻来源于非洲乍得湖,该地区气候属于热带沙漠气候,靠近撒哈拉沙漠,全年高温干旱少雨^[18],在这样的环境下,乍得湖中的螺旋藻必然有着适应高温环境的特性,这也与本实验中引进藻种藻蓝蛋白在较高温度下纯度下降率较低的结果相吻合。

有研究表明,藻蓝蛋白纯度在超过40℃时就会明显下降,藻蓝蛋白应该在低于40℃条件下保存^[19,20],但目前的主要问题不是保存,因为保存藻蓝蛋白需要的低温环境在现实条件下是可以非常容易实现的,主要是藻蓝蛋白规模化提取纯化过程的保护问题,因为在提取纯化过程中,需经历破壁、离心、超滤、脱盐、浓缩、干燥等过程,这些过程一方面增加了藻蓝蛋白在空气中暴露的时间,另外,可增加了低温操作的能耗和工艺难度,从本实验数据可以看出,对于鄂尔多斯钝顶螺旋藻来说,规模化提取藻蓝蛋白完全可以在≤55℃温度条件下进行,因为一方面鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白纯度明显高于引进钝顶螺旋藻,另外通过减少处理时间,实现提取过程中藻蓝蛋白纯度降低率控制在10%~20%,尽管纯度有了一定程度的降低,但因生产效率提高,可以实现规模化生产,兼顾了效率与纯度的问题。

2藻种在酸碱稳定性上表现出较一致的特性,在pH值5~6的条件下具有最低的藻蓝蛋白纯度降低率,说明此pH值范围是保存和提取纯化藻蓝蛋白的最佳酸碱性条件,pH≤4及pH≥7的酸碱度均可能使藻蓝蛋白发生一定的变性,致使纯度降低。

4 结论

在提取藻蓝蛋白过程中,用于盐析螺旋藻藻蓝蛋白的硫酸铵饱和度应为40%~50%,这样既可以保持较高的藻蓝蛋白纯度,同时能保持硫酸铵的适中用量,降低了提取成本。

运用常规冻融破碎细胞、硫酸铵盐析方法提取藻蓝蛋白,在2藻种中,鄂尔多斯钝顶螺旋藻粗藻蓝蛋白纯度最大值为引进藻种的1.67倍,但两者在此提取条件下的提取率较接近。总体来看,鄂尔多斯钝顶螺旋藻藻蓝蛋白对温度较引进藻种敏感,藻蓝蛋白规模提取过程中只要温度控制在55℃以下,即可保持藻蓝蛋白较高的活性。提取液的pH值对藻蓝蛋白的纯度影响较大,2藻种在pH值5~6的条件下均可保持藻蓝蛋白的最大纯度。

参考文献(References)

- [1] 侯建设, 薛凤照, 莫文贵, 等. 螺旋藻的主要生理调节功能[J]. 食品研究与开发, 2001, 22(1): 31-34.
Hou Jianshe, Xue fengzhao, Mo Wengui, et al. Primary physiological regulation function of *Spirulina*[J]. Food Research and Development, 2001, 22(1): 31-34.
- [2] Claudio S. Mass production of *Spirulina*[J]. Experientia, 1982, 38: 40-43.
- [3] 曾繁杰, 林启山, 蒋丽金. 红藻坛紫菜中R-藻蓝蛋白的分离和特性[J]. 生物化学与生物物理学报, 1992, 24(6): 545-551.
Zeng Fanjie, Lin Qishan, Jiang Lijin. Purification and properties of R-phycocyanin from *Porphyra haitanensis*[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 1992, 24(6): 545-551.
- [4] Yoshida A, Takagaki Y, Nishimune T. Enzyme immunoassay for phycocyanin as the main component of *Spirulina* color in foods[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1996, 60: 57-60.
- [5] Glazer A N. Phycobiliproteins—A family of valuable, widely used fluorophores[J]. Journal of Applied Phycology, 1994, 6(2): 105-112.
- [6] 张成武, 刘宇峰, 王习霞, 等. 螺旋藻藻蓝蛋白对人肺癌细胞株 HL-60、K-552 和 L-937 生长影响[J]. 海洋科学, 2000, 24(1): 45-48.
Zhang Chengwu, Liu Yufeng, Wang Xixia, et al. The effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukaemia cell[J]. Marine Sciences, 2000, 24(1): 45-48.
- [7] 李冰, 张学成, 高美华, 等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白和多糖的抗肿瘤免疫活性研究[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(3): 396-402.
Li Bing, Zhang Xuecheng, Gao Meihua, et al. Study on the antitumor immune activities of phycocyanin and polysaccharide from *Spirulina platensis*[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2004, 34(3): 396-402.
- [8] 徐长波, 王巍杰. 螺旋藻藻蓝蛋白的分离纯化研究进展[J]. 山东化工, 2009, 38(1): 32-35.
Xu Changbo, Wang Weijie. Research progress on separation and purification of phycocyanin from *Spirulina*[J]. Shandong Chemical Industry, 2009, 38(1): 32-35.
- [9] 王勇, 钱凯先. 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.
Wang Yong, Qian Kaixian. The study for isolation and purification of phycocyanin with high purity and its spectra characteristics[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 1999, 26(5): 457-460.
- [10] 纪明侯. 海藻化学[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 485-506.
Ji Minghou. Marine alga chemistry[M]. Beijing: Science Press, 1997: 485-506.
- [11] 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.
Li Bing, Zhang Xuecheng, Gao Meihua, et al. New research on extraction and purification of phycocyanin from *Spirulina platensis*[J]. Marine Sciences, 2007, 31(8): 48-52.
- [12] Zarrouk C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch. et Gardner) Geitler[D]. Paris: University of Paris, 1966.
- [13] 张成武, 曾昭琪, 张媛贞. 钝顶螺旋藻藻胆蛋白的分离、纯化及其理化特性[J]. 天然产物研究与开发, 1996, 8(2): 29-34.
Zhang Chengwu, Zeng Chaoqi, Zhang Yuanzhen. Purification and physicochemical properties of phycobiliprotein of *Spirulina platensis* var. *Nanjingensis*[J]. Natural Product Research and Development, 1999, 8(2): 29-34.
- [14] 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准. SN/T 1113—2002 进出口螺旋藻粉中藻蓝蛋白、叶绿素含量的测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002
Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of the People's Republic of China Industrial Standard. SN/T 1113—2002 Methods of chlorophyll and phycocyanin extraction in import and export *Spirulina* [S]. Beijing: Standards Press of China, 2002.
- [15] 殷钢, 刘铮, 刘飞, 等. 钝顶螺旋藻中藻蓝蛋白的分离纯化及特性研究[J]. 清华大学学报: 自然科学版, 1999, 39(6): 20-22.
Yin Gang, Liu Zheng, Liu Fei, et al. Isolation and characterization of c-phycocyanin from *Spirulina platensis*[J]. Journal of Tsinghua University: Science and Technology, 1999, 39(6): 20-22.
- [16] 刘杨, 王雪青, 庞广昌. 反胶团萃取分离螺旋藻藻蓝蛋白[J]. 天津科技大学学报, 2008, 23(2): 30-34.
Liu Yang, Wang Xueqing, Pang Guangchang. Liquid-liquid extraction of c-phycocyanin from *Spirulina* using reversed micelles[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2008, 23(2): 30-34.
- [17] 王志忠, 巩东辉, 刘华, 等. 螺旋藻乙醇酸氧化酶(GO)的研究[J]. 微生物学通报, 2005, 32(4): 68-71.
Wang Zhizhong, Gong Donghui, Liu Hua, et al. Study on G lycolic acid oxidase (GO) of *Spirulina* (Arthrospira)[J]. Microbiology China, 2005, 32(4): 68-71.
- [18] 乔辰, 李博生, 曾昭琪. 鄂尔多斯沙区碱湖与螺旋藻资源[J]. 干旱区资源与环境, 2001, 15(4): 86-91.
Qiao Chen, Li Bosheng, Zeng Zhaoqi. Alkaline lakes and *Spirulina* (Arthrospira) resources in sandy land of Erdos[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2001, 15(4): 86-91.
- [19] 张厚森, 马海乐. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白的稳定性试验研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(3): 74-76.
Zhang Housen, Ma Haile. Stability of phycocyanin in *Spirulina platensis*[J]. Food Research and Development, 2005, 26(3): 74-76.
- [20] 张以芳, 刘旭川, 李琦华. 螺旋藻藻蓝蛋白提取及稳定性试验[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1999, 21(3): 230-232.
Zhang Yifang, Liu Xuchuan, Li Qihua. Study on characteristic and purification of *Spirulina phycocyanin*[J]. Journal of Yunnan University, 1999, 21(3): 230-232.

(责任编辑 王媛媛)