

# 微藻生物活性物质在食品工业中的应用进展

王冬琴, 谭瑜, 卢虹玉, 苏伟明, 胡雪琼, 李雁群

(广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

**摘要:** 微藻能产多种生物活性物质, 其中一些可以作为功能性食品的添加剂。一些微藻能积累大量人体所需的超长链不饱和脂肪酸, 包括花生四烯酸 (ARA)、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。尽管利用微藻生产 DHA 技术已得到商业化应用, 其他超长链不饱和脂肪酸仍尚不能通过微藻商业化生产。微藻中的多糖是微藻的细胞结构成分、储能物质或充当其他生理功能, 它们通常具有粘弹性等流变特性, 因此它们不仅可以作为保健食品的功能因子, 还适合作为果冻和饮料的配料。类胡萝卜素、藻胆蛋白和叶绿素等色素, 具有生物活性, 可作为具有保健作用的食物着色剂。一些微藻类胡萝卜素已经能够商业化生产, 但是像叶绿素等其他微藻色素的工业化生产技术仍待开发。微藻还能合成多种具有抗病毒、抗氧化和血管紧张素转换酶抑制活性的肽, 一些生物活性肽也可通过水解微藻蛋白获得。本文综述了微藻的生物活性物质以及这些活性成分在功能性食品中应用的可能性。

**关键词:** 食品原料; 微藻; 脂肪酸; 多糖; 色素; 多肽

**文章篇号:** 1673-9078(2013)5-1185-1191

## Application of Microalgal Bioactives in Food Industry

WANG Dong-qin, TAN Yu, LU Hong-yu, SU Wei-ming, HU Xue-qiong, LI Yan-qun

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** Microalgae can produce many bioactives, some of which can be used as ingredients of functional food. Some microalgae can accumulate large amount of long-chain unsaturated fatty acids, including arachidonic acid (ARA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which are very important for human. Except for DHA, other very long chain unsaturated fatty acids have not been commercially produced by microalgae. Microalgae synthesize polysaccharides as their cell structural components, energy storage materials or other physiological molecules. Some polysaccharides also have bioactivities for human health. Microalgal polysaccharides usually can give a good viscoelastic rheological property which is benefit in some function foods, such as jells and drinks. Pigments, including carotenoids, phycobiliproteins and chlorophylls, are good food colorants with bioactivities. Some carotenoids pigments have been commercially developed, but others, including chlorophylls, are waiting for well development. Microalgae synthesize many kinds of peptides, some of which have bioactivities such as antivirus, angiotensin converting enzyme inhibitory activity and antioxidative activity. Some bioactive peptides can also be produced through hydrolysis of microalgal proteins. This paper reviewed the health-promoting properties of microalgal bioactives and their applications in functional food ingredients of the microalgal actives.

**Key words:** food ingredients; microalgae; fatty acid; polysaccharide; pigment; peptides

微藻是一种光合自养微生物, 是生产食品、药品、高价值生物活性物质和生物燃料的细胞“工厂”<sup>[1]</sup>。近年来, 利用微藻作为可持续和可再生生物燃料的研究受到越来越多的关注<sup>[2-3]</sup>。然而, 微藻在食品, 尤其是功能性食品中, 存在许多商机。几千年前, 就有人

收稿日期: 2012-12-26

基金项目: 国家十二五农业领域项目子课题 (2011BAD14B03-06); 广东省国际合作项目 (2011B050400027); 教育部留学回国人员启动经费项目教外司留 [2011] 1139 号; 广东海洋大学引进人才启动项目 (1112096)

作者简介: 王冬琴 (1988-), 女, 硕士研究生, 海洋生物活性物质

将发菜、螺旋藻等可食藻作为食物<sup>[4]</sup>, 但是对微藻人工培养的研究只有几十年的历史。二十世纪 50 年代初期, 经历第二次世界大战后世界人口迅速增加, 食物供应出现不足, 有人用藻代替传统的蛋白质以解决当时蛋白质供应不足的问题<sup>[5]</sup>。随着随后的农业技术的改进和粮食产量的提高, 用微藻作食物的研究工作被搁置。近年来, 因为微藻能生产营养性、保健性甚至具有治疗作用的生物活性物质, 再次引起了人们的注意。本文对微藻生物活性物质在功能性食品中的应用进行了综述。

## 1 超长链不饱和脂肪酸

含 18 个碳以上的脂肪酸称为超长链脂肪酸 (VLCFAs), 具有特殊的生理功能。常见的超长链脂肪酸有花生四烯酸 (AA 或 ARA)、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。

花生四烯酸 (ARA, 20:4), 是  $\omega$ -6 系列的一种重要的不饱和脂肪酸, 是人体大脑和视网膜等神经组织的重要组成部分。ARA 作为一种超长链多不饱和脂肪酸 (VLCPUFA), 存在于乳汁中, 对婴幼儿的生长发育具有特殊作用。因此, 对于人工喂养的婴儿, 应该在婴儿配方奶粉中以特定比例补充 ARA 以满足婴儿的营养需求, 保证婴儿的生长发育。二十碳五烯酸 (EPA, 20:5 $\omega$ 3), 是  $\omega$ -3 系列的另一种重要的多不饱和脂肪酸, 对心血管疾病的防治具有非常好的效果<sup>[6]</sup>, 同时还具有抗炎活性<sup>[7]</sup>、免疫调节作用<sup>[8]</sup>、预防糖尿病肾脏疾病<sup>[9]</sup>和肌营养不良<sup>[10]</sup>等作用。二十二碳六烯酸 (DHA, 22:6 $\omega$ 3) 也属于  $\omega$ -3 型脂肪酸, 它不仅作为一种重要的结构脂类广泛存在于大脑灰质和视网膜中, 而且还是心脏组织的关键组成部分。因此, DHA 能促进大脑和眼睛发育, 对婴儿和患心血管疾病的成年人具有重要作用<sup>[13]</sup>。DHA 只少量存在于鱼、肉和母乳中, 牛奶不含有 DHA。因此, 健康营养组织建议将 DHA 添加到用于早产和足月婴儿人工喂养的奶粉中, 以促进这类婴儿的大脑发育和脑细胞的增生<sup>[1]</sup>。世界批发市场每年婴幼儿配方奶粉的销售额大约在 100 亿美元<sup>[11]</sup>。2003 年 DHA 的全球生产量达到了 700 吨<sup>[12]</sup>, 全球有超过 60 个国家在配方奶粉中添加了 DHA (如: 英国、墨西哥、中国、美国、加拿大等)。在我国, 2006 年市售食品级低浓度(22%~25%)DHA 价格在 26.9 万元~36.5 万元/t; 食品级高浓度 DHA(27~30%)为 73 万元~109.5 万元/t, 而纯度为 99.9%的 DHA 售价高达 16.8 万美元/kg。最近十年我国超长链多不饱和脂肪酸油脂的生产和消费得到大幅度的增长, 据分析 2011 年 DHA 在中国市场的销售量达到 4300 t。

大多数高等植物和人类缺乏合成超长链多不饱和脂肪酸 (VLCPUFAs) 的必需酶<sup>[13]</sup>, 人类必须从食物中获得这些必需脂肪酸。实际上, 鱼和肉是人类获得 VLCPUFAs 的主要来源, 但利用鱼油生产的 VLCPUFAs 具有腥臭味, 容易氧化, 大大的影响了产品的质量。但是, 微藻来源的 DHA 没有这样的风味缺陷, 如在月饼中添加微藻 DHA 油脂并不影响月饼的风味<sup>[14]</sup>。此外, 由于深海鱼类资源有限和环境保护的需要, 以鱼油作为 VLCPUFAs 来源受到了很大的限

制。幸运的是, 许多微藻可以生产 ARA、EPA 和 DHA 等多不饱和脂肪酸 (如表 1), 因此, 微藻具有取代鱼油作为 VLCPUFAs 主要来源的潜力。

然而, 迄今为止只有 DHA 能够利用微藻商业化地生产, 其他的 VLCPUFA 都还不能利用微藻商业化生产。尽管 EPA 和 ARA 也存在于微藻中, 如: 紫球藻 (*Porphyridium purpureum*)、三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*)、等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)、微拟球藻 (*Nannochloropsis sp.*) 和硅藻 (*Nitzschia laevis*) 都含有较高含量的 EPA 和 ARA<sup>[22~23]</sup>, 但是由于生产成本高昂, 利用这些微藻进行商业化生产尚无经济竞争力。

表 1 藻类是超长链多不饱和脂肪酸的潜在生产者

Table 1 Algae as potential producer of very long chain polyunsaturated fatty acids

VLCPUFA	Structure	Algae	Reference
Arachidonic acid (ARA)	20:4 $\omega$ 6,9,12,1	<i>Parietochloris</i>	[15~16]
		<i>incise</i> , <i>Porphyridium Cruentum</i> ,	
Eicosapentaenoic acid (EPA)	20:5 $\omega$ 3,6,9,12,15	<i>Nannochloropsis</i> , <i>Phaeodactylum</i> , <i>Nitzschia</i>	[17~19]
Docosahexaenoic acid (DHA)	22:6 $\omega$ 3,6,9,12,15,18	<i>Cryptocodinium</i> , <i>Schizochytrium</i>	[20~21]

通过基因改造提高微藻产 VLCFAs 的能力可能是实现利用微藻商业化生产的有效途径<sup>[16,24]</sup>。微藻生长速度快, 产油速率远高于动物, 更是高等植物产油率的百倍以上<sup>[3]</sup>。此外, 许多藻类积累甘油三酯的含量达到了藻干重的 50% 以上<sup>[2~3]</sup>。因此, 微藻是生物合成 VLCFAs 的理想工具。因此, 可以通过生物技术手段, 通过将合成 VLCFAs 途径中的一些关键酶 (如延长酶和脱氢酶) 的基因转入微藻, 通过调节脂肪酸合成代谢途径的代谢流, 可以增加 VLCFAs 的产量。

## 2 多糖

微藻在生长过程中能合成大量多糖, 作为微藻的细胞结构成分和能量储存物质或在受到外界刺激时用于自我保护, 其中许多多糖有益人体健康。

一些微藻多糖具有抗病毒、抗菌活性。Santoyo 等<sup>[25]</sup>人从小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 中提取的多糖对非洲绿猴肾细胞单纯疱疹病毒 I 型具有抑制作用。Huleihel 等<sup>[26]</sup>人从红藻中分离获得的硫酸多糖能够渗透到细胞内, 作用于病毒, 改变病毒复制周期, 对单纯疱疹病毒 I 型、II 型和水痘带状疱疹病毒等多种病

毒的增殖具有抑制作用。Yim 等人<sup>[27]</sup>报道了来自海洋微藻螺沟藻 (*Gyrodinium impudicum*) 的硫酸多糖对脑心肌炎病毒 (EMCV) 具有较强的抑制作用。Loke 等人<sup>[28]</sup>从螺旋藻 (*Spirulina*) 中提取的螺旋藻多糖能减少幽门螺杆菌胃粘液的粘性, 有利于预防幽门螺杆菌感染。

微藻多糖也具有免疫调节作用。Suarez 等<sup>[29]</sup>从蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 中获得一种阿拉伯糖与半乳糖构成的多糖, 它由 “ $\rightarrow 2$ )- $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow 3$ )-[ $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow 4$ )]- $\beta$ -d-Galp-(1 $\rightarrow$ ” 重复结构单元组成, 具有免疫刺激的功能, 在胞外能较好的抑制疱疹病毒的活性。Yim<sup>[27]</sup>和 Joun<sup>[30]</sup>等从赤潮微藻螺沟藻中提取的硫酸胞外多糖对机体具有免疫调节功能, 它是一种含 2.96% 的糖醛酸和 10.32% 的硫酸基团的半乳糖。而且, 微藻硫酸多糖还能增强体内巨噬细胞和自然杀伤细胞的杀伤活性, 在溶血空斑试验中, 加入此种多糖, 可以增加 IgM、IgG、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  等抗体含量, 加快绵羊红细胞的溶解。除此之外, 也有研究证明微藻多糖具有抗氧化活性<sup>[31]</sup>。

微藻多糖不仅在医药领域具有多种药用价值, 它还可以应用于不同功能性食品开发。一些微藻多糖高度分支, 甚至隔 6~7 个糖单体就分支<sup>[32]</sup>, 使得多糖水溶液通常具有较高粘弹特性。微藻多糖的分子量在 1~1000 kDa<sup>[33]</sup>, 通常具有凝胶特性。在微藻培养期间, 一些胞外多糖分泌到培养液中导致培养液粘度增加, 给微藻培养带来困难, 如在培养微藻生产油脂的工艺中<sup>[33]</sup>。但是可以利用藻多糖溶液这种非牛顿流体的特性, 将多糖添加到食品中以获得较好的食品流变特性<sup>[34]</sup>。微藻产多糖能力与微藻藻种和培养条件有很大关系, 在某些条件下可以获得很高的产量, 布朗葡萄球藻 (*Botryococcus braunii*) 在受到压力刺激条件下, 可以产生 4~4.5 g/L 胞外多糖<sup>[35]</sup>。

### 3 色素

#### 3.1 类胡萝卜素

类胡萝卜素有 400 多种, 其中  $\beta$ -胡萝卜素、叶黄素、虾青素、玉米黄质、番茄红素和胭脂树橙等都已经应用于商业生产。类胡萝卜素最主要的用途是作为天然食用色素和功能性食品的配料。类胡萝卜素具有由黄到红的颜色, 其中大部分呈橙色。近年来, 由于某些化学合成色素存在毒性问题, 应用受到了限制, 使得安全性高的天然色素获得了广阔的市场前景。此外, 某些类胡萝卜素本身就具有营养价值, Nesaretnam 等<sup>[36]</sup>研究得出类胡萝卜素在体内能转化成维生素 A, 同时, 也有研究得出一些类胡萝卜素具有抗氧化、抗

癌和增强人体免疫功能的作用。

类胡萝卜素中  $\beta$ -胡萝卜素已成功应用于商业生产。代谢生成  $\beta$ -胡萝卜素的微藻较多, 其中杜氏盐藻 (*Dunaliella salina*) 最适合大规模生产。有研究表明, 在最佳培养条件下, 其藻细胞生物量达 290 mg/L<sup>[37]</sup>, 所产  $\beta$ -胡萝卜素达到藻干重的 14%<sup>[38]</sup>。杜氏盐藻可以在开放池或生物反应器中大规模培养, 澳大利亚、以色列、美国和中国都是杜氏藻的主要生产地。

虾青素 (Astaxanthin) 是一种酮类胡萝卜素, 同样具有很高的商业价值。虾青素具有较强的抗氧化活性。有研究表明, 虾青素的抗氧化活性是叶黄素、玉米黄质、 $\beta$ -胡萝卜素的 10 倍,  $\alpha$ -生育酚的 100 倍<sup>[39]</sup>。同时, 虾青素已被证明具有其他生物活性, 包括抗炎作用、保肝作用、保护心血管和肠胃、抗癌及治疗神经损伤等功效<sup>[40]</sup>。尽管, 虾青素具有明显的生理活性, 它主要还是应用于饲料和食品行业。在饲料领域, 虾青素主要用作鲑鱼饲料, 其他鱼虾饲料也消耗了大量的虾青素。全球水产养殖饲料用虾青素平均价格在 2500 美元/kg, 销售总额达到 2 亿美元<sup>[41]</sup>。然而, 目前供应的虾青素主要通过人工合成来获得<sup>[1]</sup>, 由于担心合成色素的安全性, 市场上对天然虾青素的需求快速增长。植物、酵母菌、真菌和藻类都可合成虾青素, 但是只有少数微生物 (含微藻) 的虾青素含量相对较高, 如: 雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*)、小球藻 (*Chlorella sp.*)、绿球藻 (*Chlorococum sp.*) 以及红发夫酵母 (*Huffier rhodozymaji*) 和橙黄农杆菌 (*Agrobacterium aurantiacum*)<sup>[42]</sup>, 其中, 雨生红球藻产虾青素能力较强, 其体内的虾青素积累量能够达到干基的 4~5%<sup>[43]</sup>。

#### 3.2 藻胆蛋白

藻胆蛋白是一类由藻胆色素与相应的脱辅基蛋白中保守性半胱氨酸残基的巯基以硫醚键共价结合而成的色素蛋白 (又名藻红素或藻蓝蛋白)。在原核蓝藻和真核红藻中, 不同的藻胆蛋白通过连接多肽组成高度有序的超分子复合物—藻胆体, 由“锚蛋白”将其“锚”在类囊体膜上, 作为光合作用的捕光色素系统。根据生物体和培养条件的不同, 藻胆体由 10~20 个不同的蛋白质组成, 而其中又以藻胆蛋白的含量为最高, 可达细胞干重的 40%。藻胆蛋白容易分离, 易于成为具有商业生产价值的天然色素<sup>[44]</sup>。

大量研究表明, 藻胆蛋白具有促进健康的功能<sup>[7]</sup>。其光化学特征主要表现为摩尔吸收系数高、荧光量子产率高、斯托克位移大、低聚物稳定性高、高光强等。这些特性使它们具有高能量和荧光敏感性, 从而可用作生物检测或诊断试剂<sup>[45]</sup>。

用作商业生产的藻胆蛋白大多来自蓝藻（如 *Arthrospira*）和红藻（如 *Porphyridium*）<sup>[46]</sup>，其主要用途是作为食用色素以替代人工合成色素。由日本 DIC 集团生产的一种称作 *Lina blue* 的微藻藻胆蛋白已成功用作食品添加剂，添加到口香糖、冰淇淋、冰棒、糖果、饮料和乳制品等食品中<sup>[47]</sup>。据估计，用藻胆蛋白制成的天然色素价格在 3~25 美元/mg，全球市场销售额至少 5000 万美元<sup>[1]</sup>。

### 3.3 叶绿素

叶绿素及其衍生物是最好的天然绿色食品色素，被广泛应用于食用油、口香糖、冰淇淋、饮料、速食汤、奶酪和酸奶等食品中。对于食用色素级纯度的叶绿素在使用剂量上没有限制，因为它们基本不被消化道吸收。

目前，市场上使用的大多数叶绿素色素都是从陆生植物提取而来，包括苜蓿草、苧麻或一些牧草。在中国和日本，很大一部分叶绿素来自于蚕沙。虽然提取叶绿素的原材料比较便宜，容易获得，提取工艺简单，但是叶绿素提取率并不高。此外，在温带地区，原材料供应有限，往往一年只有几个星期能获得原材料<sup>[48]</sup>。

植物光合作用是将太阳能转换为化学能的过程，在光能的吸收、传递和转换过程中，叶绿素起着接收光能的作用。近年来，利用微藻生产生物燃料已成为一个热点话题。其中微藻油脂用来生产生物柴油，而其他的生物质可以通过热解手段，液化或气化成生物燃料。叶绿素含氮量较高，若叶绿素保留在微藻中进入加工过程，则所得的生物燃料含氮量相对较高，在生物燃料燃烧过程中氮氧化物的排放量也会较高；同时，叶绿素本身是价值很高的色素，如果预先提取叶绿素并加以综合利用，则叶绿素的收益可以抵消一部分生物燃料的生产成本。因此，在微藻生产中可将叶绿素作为主要目的产物之一，而将剩余的微藻材料用作生物燃料或饲料原料。

Bai 等人<sup>[49]</sup>在生物反应器中对五种微藻产色素（主要是叶绿素和类胡萝卜素）和油脂能力进行了研究，结果表明，*Dunaliella primolecta* 和 *Isochrysis aff. galbana* 产叶绿素能力最强，产量分别为 5.3% 和 5.6%，其油脂产量分别为 23% 和 24%。同时，Bai 使用甲醇和正己烷提取微藻油脂和色素，使色素和油脂提取率分别达到了 98% 和 90%。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取具有萃取快速、纯化简单、对环境的影响小的特点。大多数天然食品色素是热不稳定的，尤其是叶绿素，然而采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺色素在提取过程中不需经历加热过程，有利于得到高质量的色素，因此超临界 CO<sub>2</sub> 提取

技术是有机溶剂萃取很好的替代。有人采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取微藻叶绿素，最终获得了高的提取率和品质好的叶绿素<sup>[50]</sup>。

## 4 肽

存在于微藻中或由微藻蛋白水解所得的肽具有较高的生物活性。在微藻加工业中，微藻蛋白通常被丢弃或用作动物饲料。其实，我们可以从这些废弃的蛋白中获得一些高价值的肽，从而变废为宝。此外，微藻在生长过程中本身就具有合成功能性肽的能力，这些肽存在于细胞中或被分泌到细胞外，因此也可直接从微藻细胞中提取生物活性肽。

Sheih 等<sup>[51]</sup>用胃蛋白酶水解废弃的小球藻蛋白，最终获得一种十一肽。这种多肽能抑制血管紧张素转换酶（AEC）活性，其半抑制浓度为 29.6 μmol。通过测序得出其氨基酸序列为 Val-Glu-Cys-Tyr-Gly-Pro-Asn-Arg-Pro-Gln-Phe。这种十一肽不仅能抑制 AEC 活性，还具有较好的热稳定性（40~100 °C）和酸碱稳定性（pH=2~10）。除此之外，也有其他研究获得具有 AEC 抑制活性的微藻蛋白水解肽。如，肽 Ile-Val-Val-Glu（半抑制浓度为 315.3 μM）、Ala-Phe-Leu（63.8 μM）、Phe-Ala-Leu（26.3 μM）、Ala-Glu-Leu（57.1 μM）和 Val-Val-Pro-Pro-Ala（79.5 μM）由水解小球藻蛋白所得。Suetsuna 和 Chen<sup>[52]</sup>水解钝顶螺旋藻（*Spirulina platensis*）蛋白，获得的肽 Ile-Ala-Glu（34.7 μM）、Phe-Ala-Leu、Ala-Glu-Leu、Ile-Ala-Pro-Gly（11.4 μM）和 Val-Ala-Phe（35.8 μM）都具有较好的生物活性。

通过水解微藻蛋白所得的一些肽还具有抗氧化活性。有研究者从小球藻蛋白水解产物中获得了一种序列为 VECYGPNRPQF 的肽，具有抗氧化活性，能清除各种自由基，包括羟自由基、超氧阴离子自由基、过氧化基、DPPH 自由基和 ABTS 自由基，并且其抗氧化活性比 BHT、维生素 E 更有效。此外，这种肽不会被胃肠道酶水解，用人肺成纤维细胞系（WI-38）实验没有细胞毒性<sup>[53]</sup>。

微藻能合成一些结构特殊的肽，环状肽就是一个例子。从巨大鞘丝藻（*Lyngbya majuscula*）分离获得的环状缩酚肽能有效抑制植物病原真菌的生长<sup>[54]</sup>。同时，Helms 发现伪枝藻（*Scytonema* sp.）也能合成环状肽，这种肽钙通道阻滞作用<sup>[55]</sup>。

## 5 结论

微藻产生的功能性脂肪酸、色素、蛋白质、肽和多糖等代谢物，具有较好的生物活性，可应用于医药、能源领域，更可作为食品添加剂，特别是应用于功能

性食品开发。几千年前,就有将微藻作为食物使用的记载,但人类对微藻的大规模培养却只有几十年的历史。近年来,随着微藻培养和加工技术的改进,对微藻生物活性物质物理、化学和生物特性了解的加深,为微藻生物活性物质应用于功能性食品添加剂提供了机会,同时,随着人类研究的深入,有望将这些活性物质应用于新领域。

### 参考文献

- [1] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006,101: 87-96
- [2] Li Y, Horsman M, Wu N, et al. Biofuels from microalgae [J]. Biotechnology Progress, 2008, 24: 815-820.
- [3] Chisti Y. Biodiesel from microalgae [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25: 294-306
- [4] Jensen G S, Ginsberg D I, Drapeau M S. Bluegreen algae as an immuno-enhancer and biomodulator [J]. J. Am. Nutraceutical Assoc, 2001, 3: 24-30
- [5] Becker W. Microalgae in human and animal nutrition [M]. Blackwell, Oxford: Handbook of microalgal culture, 2004: p.312-351
- [6] Kanai S, Uto K, Honda K, et al. Eicosapentaenoic acid reduces warfarin-induced arterial calcification in rats [J]. Atherosclerosis, 2011, 215: 43-51
- [7] Figueras M, Oliván M, Busquets S, et al. Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: Improvement of the inflammatory status [J]. Obesity, 2011, 19: 362-369.
- [8] Iwami D, Nonomura K, Shirasugi N, et al. Immunomodulatory effects of eicosapentaenoic acid through induction of regulatory T cells [J]. International Immunopharmacology, 2011, 11: 384-389.
- [9] Taneda S, Honda K, Tomidokoro K, et al. Eicosapentaenoic acid restores diabetic tubular injury through regulating oxidative stress and mitochondrial apoptosis [J]. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 2010, 299: F1451-F1461
- [10] Machado R V, Mauricio A F, Taniguti A P T, et al. Eicosapentaenoic acid decreases TNF- $\alpha$  and protects dystrophic muscles of mdx mice from degeneration [J]. Journal of Neuroimmunology, 2011, 232: 145-150
- [11] Ward O P, Singh A. Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production [J]. Process Biochem., 2005, 40: 3627-3652
- [12] Ratledge C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production [J]. Biochimie., 2004, 86: 807-815
- [13] Certik M, Shimizu S. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production [J]. J. Biosci. Bioeng., 1999, 87
- [14] 张影霞, 黄巍锋. 微藻 DHA 在月饼中的应用 [J]. 现代食品科技, 2011, 27(12): 1494-1497
- [15] Guil-Guerrero J L, Belarbi E H, Rebolledo-Fuentes M M. Eicosapentaenoic and arachidonic acids purification from the red microalga *Porphyridium cruentum* [J]. Bioseparation, 2000, 9: 299-306.
- [16] Iskandarov U, Khozin-Goldberg I, Ofir R, et al. Cloning and characterization of the  $\omega 6$  polyunsaturated fatty acid elongase from the green microalga *parietochloris incise* [J]. Lipids, 2009, 44: 545-554
- [17] Cao X, Li S, Wang C, et al. Effects of nutritional factors on the growth and heterotrophic eicosapentaenoic acid production of diatom *Nitzschia laevis* [J]. Journal of Ocean University of China, 2008, 7: 333-338
- [18] Desbois, A P, Meams-Spragg A, Smith V J. A fatty acid from the diatom *Phaeodactylum tricorutum* is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Marine Biotechnology, 2009, 11: 45-52
- [19] Hoffmann M, Marxen K, Schulz R, et al. TFA and EPA productivities of *Nannochloropsis salina* influenced by temperature and nitrate stimuli in turbidostatic controlled experiments [J]. Marine Drugs, 2010, 8: 2526-2545
- [20] Qu L, Ji X J, Ren L J, et al. Enhancement of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. using a two-stage oxygen supply control strategy based on oxygen transfer coefficient [J]. Letters in Applied Microbiology, 2011, 52: 22-27
- [21] Racine R A, Deckelbaum R J. Sources of the very-long-chain unsaturated omega-3 fatty acids: Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid [J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2007, 10: 123-128
- [22] Wen Z Y, Chen F. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae [J]. Biotechnol. Adv., 2003, 27: 273-294
- [23] Chini Zittelli G, Lavista F, Bastianini A, et al. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors [J]. J. Biotechnol., 1999, 70: 299-312
- [24] Li Y T, Li M T, Fu C H, et al. Improvement of arachidonic

- acid and eicosapentaenoic acid production by increasing the copy number of the genes encoding fatty acid desaturase and elongase into *Pichia pastoris* [J]. *Biotechnology Letters*, 2009, 31: 1011-1017
- [25] Santoyo S, Plaza M, Jaime L, et al. Pressurized liquid extraction as an alternative process to obtain antiviral agents from the edible microalga *Chlorella vulgaris* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58: 8522-8527
- [26] Huleihel M, Talyshinsky M, Souprun Y, et al. Spectroscopic evaluation of the effect of a red microalgal polysaccharide on herpes-infected vero cells [J]. *Applied Spectroscopy*, 2003, 57: 390-395
- [27] Yim J H, Kim S J, Ahn S H, et al. Antiviral effects of sulfated exopolysaccharide from the marine microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03 [J]. *Marine Biotechnology*, 2004, 6: 17-25
- [28] Loke M F, Lui S Y, Ng B L, et al. Antiadhesive property of microalgal polysaccharide extract on the binding of *Helicobacter pylori* to gastric mucin [J]. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2007, 50: 231-238
- [29] Suárez E R, Kralovec J A, Nosedá M D. Isolation, characterization and structural determination of a unique type of arabinogalactan from an immunostimulatory extract of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Carbohydrate Research*, 2005, 340: 1489-1498
- [30] Joung H Y, Son E, Pyo S, et al. Novel sulfated polysaccharide derived from red-tide microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03 with immunostimulating activity in vivo [J]. *Marine Biotechnology*, 2005, 7: 331-338
- [31] Tannin-Spitz T, Bergman M, Van-Moppes D, et al. Antioxidant activity of the polysaccharide of the red microalga *Porphyridium* sp. [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2005, 17: 215-222
- [32] Stadnichuk I N, Semenova L R, Smirnova G P. A highly branched storage polyglucan in the thermoacidophilic red microalga *Galdieria maxima* cells [J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2007, 43: 78-83
- [33] De Swaaf M E, Grobber G J, Eggink G, et al. Characterisation of extracellular polysaccharides produced by *Cryptocodium cohnii* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, 57: 395-400
- [34] Eteshola E, Gottlieb M, Arad S. Dilute solution viscosity of red microalga exopolysaccharide [J]. *Chemical Engineering Science*, 1996, 51: 1487-1494
- [35] Fernandes H L, Lupi F, Tome M M, et al. Rheological behaviour of the culture medium during growth of the microalga *Botryococcus braunii* [J]. *Bioresource Technology*, 1991, 38: 133-136
- [36] Nesaretnam K, Jin Lim E, Reimann K, et al. Effect of a carotene concentrate on the growth of human breast cancer cells and pS2 gene expression [J]. *Toxicology*, 2000, 151: 117-126
- [37] Jiang J G, Zhu Y H. Preliminary and comparative studies on the cultivations of *dunaliella salina* between outdoors and in the photobioreactor [J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2010, 33: 104-114
- [38] Metting F B. Biodiversity and application of microalgae [J]. *J. Ind. Microbiol.*, 1996, 17: 477-489
- [39] McNulty H P, Byun J, Lockwood S F, et al. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, 1768: 167-174
- [40] Yuan J P, Peng J, Yin K, et al. Potential health-promoting effects of astaxanthin: A high-value carotenoid mostly from microalgae [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2011, 55: 150-165
- [41] Hejazi M A, Wijffels R H. Milking of microalgae [J]. *Trends Biotechnol.*, 2004, 22: 189-194
- [42] Yuan J P, Chen F, Liu X, et al. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum* [J]. *Food Chem.*, 2002, 76: 319-325.
- [43] Boussiba S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response [J]. *Physiol. Plant*, 2000, 108: 111-117
- [44] 丁文杰,岳思君,郭伟,等.发状态珠藻不同细胞破碎方法的研究[J].现代食品科技,2009,25(11):1243-124.
- [45] Bermejo Román R, Álvarez-Pez J M, Ación Fernández F G, et al. Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum* [J]. *J. Biotechnol.* 2002, 93: 73-85.
- [46] Borsari R R J, Morioka L R I, Ribeiro M L L, et al. Mixotrophic growth of *Nostoc* sp. on glucose, sucrose and sugarcane molasses for phycobiliprotein production [J]. *Acta Scientiarum-Biological Sciences*, 2007, 29: 9-13
- [47] Viskari P J, Colyer C L. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples [J]. *Anal. Biochem.*, 2003, 319: 263-271
- [48] Hendry G A F, Houghton J D. *Natural Food Colorants* [M]. Springer, 1996
- [49] Bai M D, Cheng C H, Wan H M, et al. Microalgal pigments potential as byproducts in lipid production [M]. *Journal of the*

- Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2011
- [50] Macías-Sánchez M D, Fernandez-Sevilla JM, Fernández F G A, et al. Supercritical fluid extraction of carotenoids from *Scenedesmus almeriensis* [J]. Food Chemistry, 2010, 123: 928-935
- [51] Sheih I C, Fang T J, Wu T K. Isolation and characterisation of a novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from the algae protein waste [J]. Food Chemistry, 2009, 115: 279-284
- [52] Suetsuna K, Chen J R. Identification of antihypertensive peptides from peptic digest of two microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* [J]. Marine Biotechnology, 2001, 3: 305-309
- [53] Sheih I C, Wu T K, Fang T J. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems [J]. Bioresource Technology, 2009, 100: 3419-3425
- [54] Carter D C, Moore R E, Mynderse J S, et al. Structure of majusculamide C, a cyclic depsipeptide from *Lyngbya majuscula* [J]. Journal of Organic Chemistry, 1984, 49: 236-241
- [55] Helms G L, Moore R E, Niemczura W P, et al. Scytonemin A, a novel calcium antagonist from a blue-green alga [J]. Journal of Organic Chemistry, 1988, 53: 1298-1307