

蓝细菌胞外多糖及其应用

于海峰,逢圣慧,崔 波

(山东轻工业学院食品与生物工程学院,山东 济南 250353)

摘 要: 介绍了蓝细菌多糖的研究进展,包括产胞外多糖的蓝细菌菌株和蓝细菌胞外多糖的性质、生理功能等。展望了蓝细菌胞外多糖的工业化应用价值及其前景。

关键词: 微生物; 蓝细菌; 胞外多糖; 生理功能; 应用

中图分类号: TS261.1; Q93-3; Q949

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2009)11-0069-04

Exopolysaccharide from *Cyanobacteria* and Its Applications

YU Hai-feng, PANG Sheng-hui and CUI bo

(College of Food and Bioengineering, Shandong Institute of Light Industry, Ji'nan, Shandong 250353, China)

Abstract: The research progress in exopolysaccharide from *Cyanobacteria* were introduced including exopolysaccharide-producing *Cyanobacteria* strains, exopolysaccharide properties and its physiological functions etc. Besides, the industrial application of exopolysaccharide was discussed and its application foreground was described.

Key words: microbe; *Cyanobacteria*; exopolysaccharide; physiological function; application

蓝细菌(*Cyanobacteria*),又称蓝藻,出现于 35 亿年前,是地球上最古老的能进行光合放氧的原核生物。它具有与植物类似的光合作用,光合自养是其生长的主要营养模式,同时它的细胞与典型的革兰氏阴性菌一致,因此蓝细菌具有细菌和藻类的双重代谢特性^[1]。蓝细菌的形态多种多样,从单细胞到丝状多聚体,按其形态可分为 5 个群。蓝细菌生活在各种环境下,包括陆生及水生,数量庞大。许多种类还能生活在极端环境下(高盐、高碱、低温、干旱)。为适应这种多变的恶劣环境,蓝细菌形成一系列的代谢适应机制。其中,蓝细菌分泌到细胞外的黏性物质被认为对其适应恶劣的环境起重要作用,其主要成分是蓝细菌胞外多糖。蓝细菌分泌大量多糖在体外形成鞘体、黏液层和荚膜。在批次培养蓝细菌时,荚膜及粘液层可作为水溶性物质释放到培养基中,使培养基粘度不断增加。蓝细菌胞外多糖有助于提高细胞膜囊对干旱和冷冻的耐受性。Hill^[2],Yoshiyuki Tamaru^[3]等人对蓝细菌 *Nostoc commune* 的研究表明,蓝细菌分泌的胞外多糖在其耐受干旱胁迫中具有重要作用。从野生发状念珠藻中分离得到的多糖 nostoflan 对单纯疱疹病毒(HSV-1)、人巨细胞病毒(human cytomegalovirus)、流感病毒(influenza A virus)等多种具有封套的病毒(enveloped viruses)有很强的抗病毒活性,是一种新型的生物活性多糖^[4-5]。

由于蓝细菌多糖具有的一些特性优于从植物或大型藻类中提取的多糖,近年来人们对它的研究逐渐增多。作为一种新型材料,蓝细菌胞外多糖具有很多适合工业应用的特点,例如具有很好的持水性,可以从工业废水中去除重金属离子,可以作为食品添加剂等等。而且释放到培养基中的多糖易于提取,具有较好的工业价值,使得蓝细菌成为一种引人注目的新型产多糖资源。

本文就蓝细菌胞外多糖的性质及其在工业中的应用前景,结合作者自己的工作,作一综述。

1 产胞外多糖的蓝细菌

从 20 世纪 50 年代起,许多蓝细菌被报道具有合成胞外多糖的能力,在一定条件下,胞外多糖分泌到细胞外,形成粘液层。目前,已报道有 33 个属(见表 1)超过 100 多种蓝细菌被发现具有分泌胞外多糖的能力,按照伯杰氏细菌分类手册,这些蓝细菌广泛分布在 5 个群中^[6]。目前,对其中的念珠藻属(*Nostoc*)、螺旋藻属(*Spirulina*)、节螺藻属(*Arthrospira*)和微鞘藻属(*Microcoleus*)等蓝细菌多糖研究较多。

2 蓝细菌胞外多糖的性质和生理功能

2.1 蓝细菌多糖的组成和性质

据报道,目前已有超过 100 株蓝细菌分泌的多糖得

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No20806047);中国博士后科学基金面上资助项目(20090450116);山东轻工业学院博士科研启动项目(12042924)。

收稿日期:2009-09-22

作者简介:于海峰(1975-),女,博士,副教授,硕士生导师。研究方向为功能性食品与食品添加剂。

表 1 伯杰氏细菌分类手册中产胞外多糖的蓝细菌^[6]

类别(菌种数量)	产胞外多糖菌种数量	蓝细菌种名称
I (14)	10	<i>Chamaesiphon</i> , <i>Chroococcus</i> , <i>Cyanobium</i> , <i>Cyanotheca</i> , <i>Gloeobacter</i> , <i>Gloeocapsa</i> , <i>Gloeotheca</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Synechococcus</i> , (including former <i>Anacystis</i>), <i>Synechocystis</i> (including former <i>Aphanocapsa</i>), <i>Dermocarpella</i> , <i>Stanieria</i> (including former <i>Dermocarpa</i>), <i>Xenococcus</i> , <i>Chroococcidiopsis</i> , <i>Myxosarcina</i> , <i>Pleurocapsa</i>
II (7)	6	<i>Geitlerinema</i> (including former <i>Phormidium</i>), <i>Lyngbya</i> , <i>Microcoleus</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Pseudoanabaena</i> , <i>Spirulina</i>
III (17)	6	<i>Anabaena</i> , <i>Anabaenopsis</i> , <i>Cyanospira</i> , <i>Cyclindrospermum</i> , <i>Nodularia</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Scytonema</i> , <i>Calothrix</i> , <i>Tolypothrix</i> (including former <i>Microchaete</i>)
IV (12)	9	<i>Chlorogloeopsis</i> (including former <i>Mastigocladus</i>), <i>Fischerella</i>
V (6)	2	

到研究,大部分是关于蓝细菌多糖组成的研究^[7]。有关蓝细菌胞外多糖最早的研究是柱孢鱼腥藻胞外多糖,含有葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖和糖醛酸^[8]。大多数蓝细菌胞外多糖是杂多聚体,80%的蓝细菌胞外多糖由6~10种单糖组成,这是与其他微生物多糖的显著区别。在蓝细菌多糖中出现最多的是葡萄糖,大约90%的多糖含有葡萄糖,接下来是半乳糖、甘露糖和鼠李糖(85%的多糖含有)。而且在大多数多糖中葡萄糖的含量也是最高的,核糖仅存在少数种类的多糖中(9%)。糖醛酸的存在是蓝细菌多糖呈现带负电荷的主要原因。在糖醛酸的分析中仅有葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸被检测到,而且大约一半的多糖含有2种糖醛酸。但这些单糖的种类和比例在不同菌株中有所不同,而且与培养条件有关。Huang等^[9]对3种念珠藻多糖的研究发现,相对野生念珠藻多糖而言,液体悬浮培养得到的胞外多糖在单糖组分上更复杂,而且不同的菌株差异不同。但是发状念珠藻细胞培养得到的胞外多糖不含有木糖,而野生发状念珠藻多糖中却含有木糖。在对发状念珠藻多糖研究时发现,培养基中有无氮源对胞外多糖的产量影响显著,在无氮培养基中添加复合碳源,培养15d,胞外多糖产量达到2447 mg/L^[10],细胞培养胞外多糖与野生发状念珠藻多糖一样也含有木糖,只是含量有变化^[5,11]。

目前,关于蓝细菌产多糖菌株的特性报道中很少涉及其胞外多糖化学成分的稳定性,是否受批次培养条件的影响,而这正是作为一种具有工业价值的微生物菌株的最重要的特性。报道表明,多糖组成在细胞生长过程中会发生变化^[12-13],两种(*Synechocystis*)菌株的多糖分子量会改变,其中一株当培养时间延长后,会产生一种不同类型的多糖;*Spirulina platensis* PCC8005在培养后期,其多糖中半乳糖的含量有少许减少。在另一方面,*Cyanospira capsulata*在其生长的整个阶段以及在不同的生长条件下,其胞外多糖的单糖组成都很稳定,从细胞生长不同阶段取样测定其多糖组成,结果都相同。而且不同的光照条件对单糖组成或单糖形成的结构单位没有影

响。*C. Cap2sulata*经过10年的培养,合成的胞外多糖仍然相同^[14]。以上结果表明,该菌在产胞外多糖方面是很稳定的,这些特点使其极易在工业生产中得以应用。

关于蓝细菌多糖所具有的理化性质、结构特性和流变学特性方面已经有一些研究。对多糖性质影响较大的因素之一是其分子量。对7种蓝细菌多糖的分子量进行了测定,其中5种超过了1000 kDa(表1),最高分子量在1400~2800 kDa。

表 2 蓝细菌多糖的分子量

蓝细菌(种)	表观分子量(kDa)	分子量的测定方法	参考文献
<i>C. minutus</i> B 41.79	1200~1600	GPC	[15]
<i>Oscillatoria</i> sp.	200	GPC	[16]
<i>Phormidium</i> J-1	1200	GPC	[17]
<i>S. platensis</i>	81~98	GPC	[18]
<i>A. circularis</i> PCC 6720	>1200	GPC	[17]
<i>C. capsulata</i> ATCC 43193	1400~1900	LALLs; GPC	[19-20]
<i>N. insulare</i> 54.79	540~1300	GPC	[15]
<i>Nostoc flagelliforme</i>	211	HPLC	[4]
<i>Nostoc flagelliforme</i>	295	HPLC	[5]

2.2 蓝细菌胞外多糖的生理功能

胞外多糖作为细胞与环境直接接触的桥梁,对蓝细菌具有重要的生理功能。

2.2.1 抵抗外界环境的胁迫功能

研究表明,对于一些产胞外多糖的*Nostoc*属菌株,细胞外的黏液层保护它们免受极端环境胁迫的危害(如干旱)。目前,关于蓝细菌在沙漠或盐湖中抗干旱能力的研究较多。例如对耐干旱菌株*Nostoc commune*的研究表明,其胞外多糖为细胞在干旱地区的生存建立了储水库,起很重要的缓冲作用。将*N.communis* sp.CHEN所产的胞外多糖加入到人造膜中,可以防止人造膜溶化,而细胞膜溶化是细胞在干旱后重新吸水过程中所面临的最严重损害。从而作者推断胞外多糖是细胞在面临干旱时保持细胞正常状态的稳定剂。Mazor等^[21]对从沙漠土中分离的蓝细菌产多糖的研究表明:胞外多糖在干旱环境中维持细胞表面的湿润起到了重要的作用。

2.2.2 保护固氮蓝细菌固氮酶免受氧气的侵害

固氮酶是一种需要严格厌氧环境的酶,胞外多糖可以在细胞与大气之间形成隔膜,从而保护固氮酶不与大气中的氧气直接接触。*Nostoc cordubensis* 的异形胞外包裹了一层厚的黏液层,可以保护固氮酶失活^[22]。Reddy 等对生长在琼脂平板上的 *Cyanothece* BH68 进行了研究^[23],菌株周围包裹的黏液层,除了能够作为物理屏障来隔绝氧气之外,还能螯合铁离子和钙离子,而这两种离子在固氮中也是必需的。

2.2.3 吸收营养功能

蓝细菌多糖通常具有阴离子特性,它可以螯合金属离子,或使金属离子固定化。金属离子的隔离和固定对细胞的生长有很大影响作用。对于蓝细菌 *Microcystis flos-aquae* c3-40 这样生长在碱性环境中的菌株,胞外多糖可以积累铁离子和锰离子,这两种离子对菌株的生长是必需的,但两者均难溶于碱性富氧水^[24]。从生态学的角度,蓝细菌可以耐受较高浓度的重金属离子,可以用来除去有机废水中的重金属离子。蓝细菌 *Gloeotheca cam-agna* 可用来吸附钙离子和锰离子^[25]。对于与高等植物共生的蓝细菌来说,其胞外多糖可以粘附在植物表面。研究表明,*Nostoc* 丝状体与小麦根部的紧密结合与胞外多糖有关^[26-27]。

3 蓝细菌多糖的应用

3.1 蓝细菌多糖在食品工业中的应用

蓝细菌多糖尤其是水溶性胞外多糖,其来源于可选择的蓝细菌,分泌到培养基中,在可控的外界条件中产率稳定,具有很好的工业应用价值。蓝细菌多糖的非牛顿流体性质使其具有很好的絮凝性和乳化性,其粘度及其他理化性质甚至高于黄原胶的特性,这使蓝细菌多糖特别适合在食品工业中应用。同时它也被作为絮凝剂、粘性剂应用于工业废水的处理。有关蓝细菌多糖的流变学特性只是最近才开始研究,而且极不全面。但是已有事实表明,这些多糖拥有在工业上应用价值的溶液特性(较高的粘度、对盐粘度稳定,而且可以耐受较高的温度和 pH 变化)。如 *S. platensis* PCC8005 除有荚膜围绕细胞外,还能产生大量的胞外多糖。这种胞外多糖在低浓度下就能形成很高粘度的溶液,其流变学特性和剪切力变化与黄原胶类似,而且初步实验证明该胞外多糖具有良好的悬浮和乳化特性^[12]。对地木耳、葛仙米和发菜 3 种念珠藻多糖的研究发现,3 种念珠藻的多糖制备物具有优良的理化性质和生物活性。它们的粘度大大高于市售商品多糖的粘度,如树胶、果胶、褐藻酸和琼胶。

3.2 蓝细菌多糖在土壤改良和沙漠治理中的应用

荒漠结皮对荒漠地区的土壤改良和固沙起着重要作

用。主要组成部分是荒漠藻类,因此也叫藻类结皮。藻类结皮的形成主要由藻丝缠结和所分泌的代谢产物的粘结起作用^[28]。代谢的主要产物为胞外疏水性蛋白和多糖组成的蛋白聚糖。Gideon Mazor 等^[25]研究表明,蓝细菌胞外多糖在荒漠结皮中起关键作用,一方面它能在夏季的 7 月、8 月保持土壤湿润;另一方面,其能保护结皮的微生物群落。Painter^[29]等认为胞外聚合物有助于土壤团聚体的形成,磷及微量元素的释放,可以作为绿肥进行荒漠改良。胡春香等^[30]研究发现胞外多糖与粘土矿物质间主要靠羟基形成的氢键发生连接,阐明了藻类胞外聚合物中多糖与土壤胶结的分子机制,进一步证实了它在流沙固定方面的生态功效。可以预期蓝细菌及其多糖在土壤改良和沙漠治理方面在不久的将来会有进一步的改进。如通过筛选和基因手段获得固氮效率更高、胞外多糖产量更高,可以在更广范围内生长,以及忍受干旱能力更强的蓝细菌。对蓝细菌多糖的进一步研究将会为世界范围内的沙漠化治理做出贡献。

参考文献:

- [1] Liu X.J, Chen F. Cell differentiation and colony alteration of an edible terrestrial *Cyanobacterium Nostoc flagelliforme* in liquid suspension cultures [J]. Folia Microbiol. 2003, 48 (5):619-626.
- [2] Donna R. Hill, Thomas W. Keenan, Richard F. Helm, Malcolm Potts, Lois M. Crowe, John H. Crowe. Extracellular polysaccharide of *Nostoc commune* (*Cyanobacteria*) inhibits fusion of membrane vesicles during desiccation [J]. Journal of Applied Phycology, 1997, (9):237-248.
- [3] Yoshiyuki Tamaru, Yayoi Takani, Takayuki Yoshida, Toshio Sakamoto. Crucial role of extracellular polysaccharides in desiccation and freezing tolerance in the terrestrial *Cyanobacterium Nostoc commune* [J]. Applied and Environment Microbiology, 2005, 71(11):7327-7333.
- [4] Kenji Kanekiyo, Jung-Bum Lee, Kyoko Hayashi, Hiroyuki Takenaka, Yumiko Hayakawa, Shunro Endo, Toshimitsu Hayashi. Isolation of an antiviral polysaccharide nostoflan from a terrestrial *Cyanobacterium Nostoc flagelliforme*[J]. Journal of Natural Products.2005, 68:1037-1041.
- [5] Jia Shi ru, Yu Hai feng, Lin Yong xian, Dai yujie. Characterization of extracellular polysaccharides from *Nostoc flagelliforme* cells in liquid suspension culture[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering. 2007,(12):271-275.
- [6] Liu X. J., and F. Chen. Food Biotechnology: Potential uses of cyanobacterial polysaccharides in the food industry. 2nd Ed[M]. Marcel Dekker and CRC Press (Taylor and Francis Co.), Boca Raton, FL, USA,2005, 473-490.
- [7] De Philippis, R., C. Sili, P. Raffaella, and M. Vincenzini. Exopolysaccharide-producing *Cyanobacteria* and their possible exploitation: A review[J]. J. Appl. Phycol.2001, (13):293-299.

- [8] De Philippis, R. and M. Vincenzini Exocellular polysaccharides from *Cyanobacteria* and their possible applications [J]. FEMS Microbiol. Rev. 1998,(22):151-175.
- [9] Huang, Z. B., Y. D. Liu, B. S. Paulsen, and D. Klaveness. Studies on polysaccharides from three edible species of *Nostoc* (*Cyanobacteria*) with different colony morphologies: Comparison of monosaccharide compositions and viscosities of polysaccharides from field colonies and suspension cultures[J]. J. Phycol. 1998,34:962-968.
- [10] 于海峰. 发状念珠藻细胞高密度培养的研究[D]. 天津:天津科技大学,2007.
- [11] 于海峰,贾士儒. 液体悬浮培养发状念珠藻多糖的分离、纯化及性质研究[J]. 酿酒科技,2008,(9):20-22.
- [12] Panoj, J.M., Priem, B., Morvan, H. and Joset, F. Sulphated exopolysaccharides produced by two unicellular strains of *Cyanobacteria*, *Synechocystis* PCC 8005 and 6714[J]. Arch. Microbiol. 1988,150: 558-563.
- [13] Filali Mouhim, R., Cornet, J.F., Fontaine, T., Fournet, B. and Dubertret, G. Production, isolation and preliminary characterization of the exopolysaccharide of the *Cyanobacterium Spirulina platensis* [J]. Biotechnol. Lett. 1993,(15):567-572.
- [14] Vincenzini, M., De Philippis, R., Sili, C. and Materassi, R. Stability of molecular and rheological properties of the exopolysaccharide produced by *Cyanospira capsulata* cultivated under different growth conditions[J]. J. Appl. Phycol.1993,(5): 539-541.
- [15] Fischer, D., Schloesser, U.G. and Pohl, P. Exopolysaccharide production by *Cyanobacteria* grown in closed photobioreactors and immobilized using white cotton towelling[J]. Appl. Phycol. 1997,(9):205-213,
- [16] Bender, J., Rodriguez-Eaton, S., Ekanemesang, U.M. et al Characterization of metal-binding biofloculants produced by the cyanobacterial component of mixed microbial mats[J]. Appl. Environ. Microbiol. 1994,60:2311-2315.
- [17] Bar-Or, Y. and Shilo, M. Characterization of macromolecular flocculants produced by *Phormidium* sp. strain J-1 and by *Anabaenopsis circularis* PCC 6720[J]. Appl. Environ. Microbiol. 1987,53: 2226-2230.
- [18] Tseng, C.T. and Zhao, Y. Extraction, purification and identification of polysaccharides of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (*Cyanophyceae*) [J]. Alg. Studies 1994,75:303-312.
- [19] Vincenzini, M., De Philippis, R., Sili, C. and Materassi, R. Stability of molecular and rheological properties of the exopolysaccharide produced by *Cyanospira capsulata* cultivated under different growth conditions. J. Appl. Phycol.1993,(5): 539-541.
- [20] Cesaé ro, A., Liut, G., Bertocchi, C., Navarini, L. et al. Physicochemical properties of the exocellular polysaccharide from *Cyanospira capsulata*[J]. Int. J. Biol. Macromol.1990,(12): 79-84.
- [21] Mazor, G., Kidron, G.J., Vonshak, A. and Abeliovich, A. The role of cyanobacterial exopolysaccharides in structuring desert microbial crusts[J]. FEMS Microbiol. Ecol.1996 ,21 :121-130.
- [22] Prosperi, C.H. A cyanophytes capable of fixing nitrogen under high levels of oxygen[J].J.Phycol 1994,30:222-224.
- [23] Reddy, K.J., Soper, B.W., Tang, J. and Bradley, R.L. Phenotypic variation in exopolysaccharide production in the marine, aerobic nitrogen-fixing unicellular *Cyanobacterium Cyanosphaera* sp[J]. World J. Microbiol. Biotechnol.1996, (12):311-318.
- [24] Parker, D.L., Schram, B.R., Plude, J.L. and Moore, R.E. Effect of metal cations on the viscosity of a pectinlike capsular polysaccharide from the *Cyanobacterium Microcystis-aquae* C3-40[J]. Appl. Environ. Microbiol. 1996,62:1208-1213.
- [25] Mohamed, Z.A. Removal of cadmium and manganese by no-toxic strain of freshwater *Cyanobacterium Gloeotheca magna*[J]. Water Res. 2001,35:4405-4409.
- [26] Robins, R.J., Hall, D.O., Shi, D.J., Turner, R.J. and Rhodes, M. J.C. Mucilage acts to adhere cyanobacteria and cultured plant cells to biological and inert surfaces[J]. FEMS Microbiol.Lett. 1986, 34: 155-160.
- [27] Gantar, M., Rowell, P., Kerby, N.W. and Sutherland, I.W. Role of extracellular polysaccharide in the colonization of wheat (*Triticum vulgare* L.) roots by N₂-fixing *Cyanobacteria*[J].Biol. Fertil. Soils 1995,19:41-48.
- [28] Hu, C .X, Zhang D .L . Liu,Y D. Research progresses on algae of the microbial crusts in arid and semiarid regions[J]. Prog. in Nat. Sin.2004,14 (4):28 9-29.
- [29] Painter T.J. Carbohydrate polymers in desert reclamation the potential of microalgal biofertilizers [J]. 1993. Carbohydr. Polym., 20:77-86.
- [30] HU Chun-xiang, LIU Yong-ding, Berit Smestad Paulsen, et al . Extracellular carbohydrate polymers from five desert soil algae with different cohesion in the stabilization of fine sand grain[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 54:33-42.

2008 年世界啤酒产量达 1811 亿升

本刊讯 2008 年,世界啤酒产量为 1811 亿升,比 1998 年的 1327 亿升增长 36.5 %。受金融危机和经济下滑的影响,2008 年世界啤酒增速变缓,只有 1.2 %,低于 2007 年的 5.6 %。(丹妮)