

應用與保健食品之海洋藻類藻株的分離、培養與活性分析

(NSC 90-2317-B-002 -007)

主持人：黃 穰 台灣大學海洋研究所

台灣沿岸的海洋藻類種類相當多樣化，且有許多種類具有食用及他種經濟價值。過去的研究報告指出海藻體內有多種可開發利用的生物活性物質，而親醣蛋白是其中之一。該蛋白質具有促進淋巴細胞增殖，抑制腫瘤細胞生長及抗海水病原菌的活性。本計畫即在以海藻親醣蛋白活性物質為根據研發應用出海藻做為保健食品，以增強人體免疫力及他種特殊功效。第一年(90)研究計畫之進行及工作內容是依計畫內容及審查意見加強活性篩選工作，並合併另一子計畫親醣蛋白的分離純化項目內容。因此研究工作朝此二方面分別進行。此將已完成的工作成果扼要分述如下：

一. 海藻的來源及採集

從 90 年 8 月至今年(91)7 月我們分別從東北角的澳底、小香蘭，東部的杉原，南部的貓鼻頭，香蕉灣以及離島的澎湖等地依不同季節採集海藻。採集到的海藻經過分類及清洗之後再予以冷凍乾燥。

二. 海藻親醣蛋白的萃取及凝集活性分析及篩選

以含食鹽的磷酸鹽緩衝液(PBS)及 20%酒精用來萃取海藻。之後，以人類的四種血型(A、B、O、AB)的紅血球做凝集活性檢測分析。迄今已完成超過 277 個海藻樣品及 125 種以上海藻的凝集活性篩選。活性分析篩選結果可以歸納以下幾點：

- (1)大部分(約 67%)的海藻種類具有凝集活性，其活性介於 2^2 - 2^8 titer 之間。少部分種類的活性可達 2^{12} titer 以上。紅藻與綠藻呈現活性的種類數百分比大致相等。再者，有許多褐藻種類也呈現較高的活性，但檢測的種類不多。一般而言，紅藻類的活性較綠藻類為大。
- (2)海藻的凝集活性有明顯的季節變化。甚至在不同地區採集到的同一種類海藻標本之活性也會有變化。
- (3)所採集的海藻針對四種血型的紅血球所呈現凝集活性的種類數百分比相差不大。惟同種類以磷酸緩衝液(PBS)及 20%酒精分別萃取所得活性強度的結果有時差異很大。
- (4)珊瑚藻及鈣化的綠藻萃取液經酵素處理後也能呈現明顯的凝集活性，且其凝集活性不需二價陽離子。此結果顯示這些特殊構造的海藻也含有凝集素。

三. 生長環境因子對海藻凝集活性的影響

目前已對食用紅藻類的翼枝菜、麒麟菜和龍鬚菜分別進行初步培養實驗，以了解生長環境與活性間的關係。將海藻培養在不同的溫度、光度及含不同營養鹽組成的培養液 2-4 個星期。藻類經培養後的活性分析結果為：

- (1)凝集活性的強度會受到溫度的影響，但依紅血球的血型而異。其中以凝集 O 型血球的活性較有明顯的影響。凝集活性在 15-20°C 較高；之後，活性隨溫度提高而降低。
- (2)光度也會影響凝集活性，且其活性強度也依紅血球的血型不同而有不同的凝集結果。未來我們還需要繼續對幾種食用的經濟綠藻及紅藻做培養實驗，以深入了解及再確認。
- (3)以不同營養鹽度強度或不同的 N,P 濃度比值培養海藻會造成海藻凝集活性在不同處理之間的明顯變化。此結果顯示營養鹽是控制海藻凝集素合成的重要條件。
- (4)依上述活性變化，未來將可以環境因子來控制凝集素合成，以確保海藻來源及有利於保健食品研發應用。

四. 蛋白質的電泳分析及親糖蛋白分離純化

目前實驗室已建立基本的海藻蛋白質電泳分析方法及步驟，以比較不同藻類萃取液之間蛋白質的表現情形。另外利用購置的分離純化分析儀器進行分離純化親糖蛋白工作。純化過程是以離子交換、親和管柱及膠體過濾層析進行。最後分析其生化組成及特性。

- (1)我們已陸續完成四種食用紅藻的親糖蛋白純化工作。
- (2)純化前後電泳分析的比對結果顯示具活性的蛋白質分子量不大，約是在 26-80KDa 之間。
- (3)純化後的蛋白質予以糖類親和性測定，回收率，分析胺基酸組成，及二價陽離子需求性等生化特性。除外，也測定萃取液及親糖蛋白呈現活性的酸鹼值及耐熱性等項目。
- (4)我們發現親糖蛋白在不同種類的海藻含量差別很大。有些種類含量很少，但活性很高。因此，未來在蛋白質濃縮方面還需要設法加強。

五. 已參加八次以上國內外研討會並發表研究成果。部分成果已投稿於國外的期刊，並已完成文稿修改，可望被接受發表。