

纤细裸藻培养及其产物功能的研究与展望

张凯凯¹, 万民熙¹, 章真¹, 张道敬¹, 王伟良¹, 樊飞¹, 谢静莉¹, 周焜鹏², 李元广^{1*}

1 华东理工大学 生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237

2 云南保山泽元藻业健康科技有限公司, 云南 保山 678200

张凯凯, 万民熙, 章真, 张道敬, 王伟良, 樊飞, 谢静莉, 周焜鹏, 李元广. 纤细裸藻培养及其产物功能的研究与展望[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 705-721.

ZHANG Kaikai, WAN Minxi, ZHANG Zhen, ZHANG Daojing, WANG Weiliang, FAN Fei, XIE Jingli, ZHOU Kunpeng, LI Yuanguang. Advances of studies on culture and product functions of *Euglena gracilis*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 705-721.

摘要: 纤细裸藻(*Euglena gracilis*)是一类介于动物和植物之间的单细胞真核生物, 在自然界中分布广泛。纤细裸藻兼具动植物细胞的特征, 可进行光合自养、混养和异养培养, 细胞内含有丰富的营养物质。近年来随着对纤细裸藻生物特性和胞内组分的深入研究, 发现其在医药、食品以及饲料方面具有重要的应用价值, 在提高免疫力、抗炎以及降低尿酸等方面的功效非常值得开发, 特别是纤细裸藻特有的裸藻多糖等在生物医药领域具有广阔的应用前景。纤细裸藻作为食品原料、食品添加剂、饲料添加剂以及化妆品原料在国内外已经获得相关机构的认证, 国外尤其是日本已经开发出系列产品。然而, 国内对纤细裸藻的研究及开发还处于起步阶段, 发展空间巨大, 且目前关于纤细裸藻培养与功能研究及潜在的应用的综述报道较少。本文系统地介绍了纤细裸藻培养和生产的国内外研究现状, 以及纤细裸藻粉与裸藻多糖活性功能的国内外研究结果, 并对纤细裸藻应用开发存在的问题以及未来可能的发展方向进行了展望, 为进一步建立和优化大规模且高效异养培养工艺、开发具有特定功能的纤细裸藻相关产品等提供科学依据。

关键词: 纤细裸藻; 裸藻多糖; 培养; 功能

资助项目: 国家自然科学基金(21706071); 云南省科技厅专家工作站(202305AF150101)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (21706071) and Yunnan Provincial Science and Technology Department (202305AF150101).

*Corresponding authors. E-mail: ygli@ecust.edu.cn

Received: 2023-04-20; Accepted: 2023-06-22

Advances of studies on culture and product functions of *Euglena gracilis*

ZHANG Kaikai¹, WAN Minxi¹, ZHANG Zhen¹, ZHANG Daojing¹, WANG Weiliang¹,
FAN Fei¹, XIE Jingli¹, ZHOU Kunpeng², LI Yuanguang^{1*}

1 State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology,
Shanghai 200237, China

2 Yunnan Baoshan Zeyuan Algal Health Technology Co., Ltd., Baoshan 678200, Yunnan, China

Abstract: *Euglena gracilis* is a unicellular eukaryote between animal and plant cells, which is widely distributed in nature. *E. gracilis* has both plant and animal characteristics, and can grow photoautotrophically, heterotrophically and mixotrophically. *E. gracilis* also features on abundant and various cellular composition. Recently, extensive researches on unique cellular components of *E. gracilis* have revealed its application in the field of medicine, food, and feedstuff, in terms of improving immunity, fighting inflammation, and lowering uric acid levels. The application prospects of paramylon in biomedical area were also discovered. As food ingredients, food additives, feedstuffs and cosmetic ingredients, *E. gracilis* has been certified domestically and overseas. A series of products have been developed overseas, especially in Japan. However, the research and development of *E. gracilis* are still in its infancy in China, and there is huge space for development. At present, the research and potential application of cultivation and product functions of *E. gracilis* have been rarely reviewed. This review systematically examines both the domestic and abroad research of cultivation and production of *E. gracilis*, as well as the biological activity of *E. gracilis* powder and paramylon. The existing problems in the application, exploitation, and possible development direction of *E. gracilis* in the future are prospected. This review might be useful for establishing and optimizing large-scale and efficient heterotrophic technology, as well as developing related products of *E. gracilis* with specific functions.

Keywords: *Euglena gracilis*; paramylon; cultivation; functions

裸藻是一类介于动物和植物之间的单细胞真核生物^[1], 其形态结构详见图 1^[2]。由于裸藻没有细胞壁, 在植物学中被称为裸藻, 可进行光合作用, 呈纺锤形至针形; 具有眼点光感受器, 在动物学中又被称为眼虫, 可感知光并且使用其单一鞭毛运动, 又称绿虫藻, 而裸藻属也称眼虫藻属。裸藻属常见的有纤细裸藻(*Euglena gracilis*)、绿色裸藻(*Euglena viridis*)、血红裸藻(*Euglena sanguinea*)、中型裸藻(*Euglena intermedia*)及尖尾裸藻(*Euglena gasterosteus*)等。其中纤细

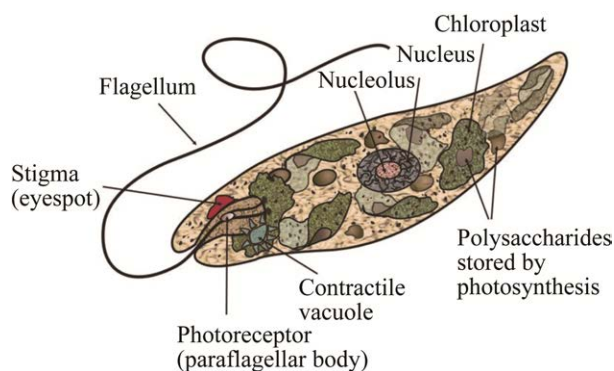


图 1 纤细裸藻的生理结构图示例^[2]

Figure 1 Physiological structure of *Euglena gracilis*^[2].

裸藻具有营养方式多样、生长快、胞内营养物质丰富的特点,已被广泛研究且是裸藻属中唯一实现大规模培养和产业化的种。本文主要以纤细裸藻为对象进行文献综述并讨论。

纤细裸藻在自然界中分布广泛,既适宜在阳光充足、有机物质丰富的水体中大量繁殖,又可以在恶劣的环境条件(如低 pH、高盐、高能量电离辐射等)下生存^[3]。其营养方式为兼性营养,既可以通过光合作用合成有机物,有效固定环境中的 CO₂, 又可以通过渗透营养的方式来摄取外界的有机物,还可以直接吞食有机颗粒,如牛肉膏、蛋白胨等^[4]。纤细裸藻既可以进行光自养培养,也可进行混养和异养培养^[5]。基于不同的培养模式,纤细裸藻的生物量、细胞组成也明显不同^[6]。

纤细裸藻细胞含有丰富的营养成分,包括维生素、矿物质元素、氨基酸、不饱和脂肪酸、叶绿素和抗氧化成分(如 β-胡萝卜素、维生素 C、维生素 E、叶黄素、玉米黄质和 γ-氨基丁酸)等维持健康所不可缺少的营养元素^[1]。它能够全面地补充人体所需的营养,缓解隐性饥饿,是高效的天然膳食营养补充剂。不仅如此,纤细裸藻没有细胞壁,所含有的微量营养物质更容易被消化和吸收,吸收率高达 93.1%^[7]。

综上所述,纤细裸藻是一种极具经济价值的微藻,在医药、食品、化妆品和饲料等领域具有广阔的应用前景。因此,有必要对纤细裸藻的培养及其产物功能的研究进展进行文献综述,用以剖析纤细裸藻应用开发存在的问题以及未来可

能的发展方向。

1 纤细裸藻的培养

1.1 光自养培养

在有光的条件下,纤细裸藻可以利用自身光合作用所放出的 O₂ 进行呼吸作用,并通过呼吸作用释放出 CO₂^[8]。如表 1 所示,纤细裸藻在光自养培养方面有一定的研究与应用。Kiyaya 等^[9]在纤细裸藻作为水产饵料方面,对纤细裸藻与水产综合养殖光自养最佳培养条件进行研究。Chae 等^[10]对纤细裸藻在固碳方面的应用,针对培养条件优化以及光生物反应器进行研究。纤细裸藻光自养培养在日本已经实现产业化^[12]。光自养时,即使在高光强条件下,也只有部分多余的能量以裸藻多糖的形式储存^[13],有报道表明光自养培养的纤细裸藻细胞干重仅为 3.2 g/L,裸藻多糖含量仅为 23%,但 α-生育酚(α-tocopherol)含量要高于混养和异养培养^[11]。纤细裸藻光自养培养时裸藻多糖含量低有深层次原因:首先胞内碳水化合物与脂类物质作为主要储能和储碳形式,合成都是以碳作为基本骨架,与裸藻多糖是竞争碳源底物的关系,培养基中有多余碳源时细胞才会合成裸藻多糖,而当细胞饥饿时则会消耗多糖用于细胞生存;其次是纤细裸藻光自养培养过程中存在独特的“蜡酯发酵”现象,裸藻多糖与蜡酯间会相互转化,当培养条件由光照转为黑暗(如昼夜循环)或者由富氧转为厌氧时,细胞会降解裸藻多糖以合成积累蜡酯(肉豆蔻酸酯, C14:0)^[8,13]。

表 1 纤细裸藻光自养培养研究现状

Table 1 Summary of photoautotrophic *Euglena gracilis*

| Research objective | Scale | References |
|--|----------------------------------|------------|
| Optimization of culture conditions | Laboratory scale | [9] |
| Optimization of carbon fixation culture conditions | Laboratory scale and pilot-scale | [10] |
| Production of paramylon and α-tocopherol | Laboratory scale | [11] |

然而, 纤细裸藻在光自养培养时易受自然界中敌害微生物污染。在开放式跑道池培养纤细裸藻时, 为防治敌害微生物污染, 将 pH 值控制在 2.8 左右, 并添加 2% 的乙醇、间歇加入制霉素, 但污染物仍占到生物量的 10%^[14]。而可消毒的光生物反应器的设计与放大也是制约纤细裸藻光自养培养的重要因素。目前纤细裸藻光自养培养存在成本高、生产效率低、纤细裸藻多糖含量低和品质难以控制等问题, 因此纤细裸藻产品价格昂贵。

1.2 混养培养

有关纤细裸藻混养培养的研究较少。如表 2 所示, 混养生物量积累能力与纤细裸藻多糖、 α -生育酚合成能力介于光自养与异养之间。Grimm 等^[13]利用葡萄糖为原料实验室规模混养培养纤细裸藻, 细胞密度、细胞裸藻多糖与 α -tocopherol 的含量分别达到 7.3 g/L、72% 与 0.9 mg/g。Afiukwa 等^[15]在户外 10 L 光生物反应器中使用废水进行纤细裸藻的混养培养, 考察了纤细裸藻在户外生产维生素的可行性, 结果表明相比于葡萄糖, 乙醇是生产维生素的较合适的碳源。Rubiyatno 等^[16]为了进一步降低成本, 通过向废水中添加有机废物、糖蜜、玉米浆和废葡萄酒可显著提高裸藻多糖产量, 废水中的乙酸盐和乙醇是提高裸藻多糖产率的关键成分, 然而密度仅达到 0.52 g/L。由于混养培养对反应器要求很高, 所用反应器既要有充足的光照又要无菌, 这在反应器放大时难以做到, 因此纤细裸藻混养培养很难实现产业化。

1.3 异养培养

在无光的条件下, 纤细裸藻也可通过吸收利

用有机碳源和氮源进行异养生长, 通过在线粒体中的呼吸作用提供机体所需的能量^[8]。较为特殊的是, 纤细裸藻能利用细胞膜直接吸收溶解于水中的有机物质, 这种营养方式称为渗透营养 (osmotrophy)^[4]。纤细裸藻异养培养时, 部分碳源被细胞直接用于裸藻多糖的合成。纤细裸藻的异养培养排除了光照的影响, 并且由于碳源等有机物质的提供和相对可控的理化条件使得细胞密度较高。另外, 由于纤细裸藻可以通过细胞膜直接吸收溶解于水中的有机物质, 使得纤细裸藻的异养培养对有机物的利用效率大幅度提高。如表 3 所示, 已有研究对纤细裸藻异养过程所需培养基进行优化。Rodríguez-Zavala 等^[17]在 Hut 培养基的基础上进行优化并得到碳源最佳组合为谷氨酸盐和乙醇, 摇瓶培养 120 h 细胞干重可达到 4.2 g/L; Ivušić 等^[18]研究结果证实葡萄糖及果糖适宜作为碳源, 玉米浆适宜作为氮源。

如表 4 所示, 纤细裸藻异养培养的工艺分为分批培养^[19]、补料分批培养^[20]、重复分批培养^[20]与重复补料分批培养^[21]。Šantek 等^[22]对纤细裸藻进行异养分批培养, 最终细胞干重可达 15 g/L, 裸藻多糖含量可达 75%, 远远高于光自养培养过程中细胞干重与裸藻多糖的积累量(细胞干重 3.2 g/L, 裸藻多糖含量仅为 23%)^[11]。补料分批异养培养 6 d (马铃薯粉水解液作为部分碳源) 细胞密度可达 17.8 g/L^[20]; 重复分批培养过程中细胞产率 4 g/(L d), 裸藻多糖含量可达 70%^[20]。美国 Algal Scientific Corporation 在 1 000–50 000 L 发酵罐内采用重复补料分批工艺进行规模化纤细裸藻异养培养, 细胞密度可达在 20–60 g/L 之间, 裸

表 2 纤细裸藻混养培养研究现状

Table 2 Summary of photoheterotrophic *Euglena gracilis*

| Research objective | Scale | References |
|--|------------------|------------|
| Production of paramylon and α -tocopherol | Laboratory scale | [11] |
| Production of <i>E. gracilis</i> in wastewater | Laboratory scale | [15] |
| Production of paramylon | Laboratory scale | [16] |

表 3 纤细裸藻异养培养基优化研究现状

Table 3 Summary of optimizing heterotrophic medium of *Euglena gracilis*

| Temperature | Results | References |
|-------------|--|------------|
| 25 °C | Optimal carbon sources: glutamate and ethanol | [17] |
| 28 °C | Optimal carbon sources: glucose and fructose Optimal nitrogen source: corn pulp | [18] |

表 4 纤细裸藻异养培养模式研究现状

Table 4 Summary of heterotrophic cultivation strategy of *Euglena gracilis*

| Reactor volume (L) | Cultivation strategy | Biomass (g/L) | Paramylon content (%) | References |
|--------------------|----------------------|---------------|-----------------------|------------|
| 30 | Batch | 15.0 | 75 | [19] |
| 30 | Fed-batch | 17.8 | 77 | [20] |
| 7 | Repeated-batch | 23.1 | 70 | [20] |

藻多糖含量 30%–70%，带放再培养细胞产率不少于 20 g/(L·d)，并申请相关专利(该技术 2017 年被美国 Kemin Industries 收购)。有研究表明，经过系列优化后成功在 10 000 L 发酵罐内采用补料分批工艺进行规模化纤细裸藻异养培养，细胞密度可为 80 g/L 以上，裸藻多糖含量>65%^[23-26]。表明纤细裸藻异养培养在产裸藻多糖方面具有重要潜力。

纤细裸藻能够利用多种碳源，如葡萄糖、谷氨酸、苹果酸、丙酮酸、乳酸、醋酸钠和乙醇。乳酸与醋酸钠分别通过乳酸穿梭途径与乙醛酸途径代谢，而乙醇等可以通过乙醇脱氢酶作用代谢^[12]。异养培养时丙酮酸和乙酰辅酶 A 的代谢随着培养条件变化而变化，在厌氧条件下，会形成琥珀酸和乳酸等产物^[27]，因此控制培养的条件非常重要。

1.4 串联培养

串联培养模式可减少单一培养模式的劣势，整合各培养模式的优势。关于纤细裸藻串联培养的研究见表 5。Takeyam 等^[28]提出两步培养法，即

当纤细裸藻在混养条件下补料分批培养至 145 h 后的密度达到 19 g/L 时，将细胞转移到光自养条件下，细胞内各种维生素含量明显增加，总维生素产量增加。Ogbonna 等^[29]利用异养-光自养培养模式来提高 α -生育酚的含量，纤细裸藻首先通过异养培养提高细胞浓度，然后将异养细胞转移到光自养培养条件下进行连续培养， α -tocopherol 的合成速率分别是分批光自养和异养的 9.5 倍和 4.6 倍。Wu 等^[30]以葡萄糖为碳源，NH₄Cl 为氮源，培养方式采用“混养-异养”两阶段培养法，在 4 000 L 发酵罐内进行了纤细裸藻补料分批培养中试研究。然而，混养培养对生物反应器要求较高，规模化生产过程中会大幅度提高成本。

2 纤细裸藻的重要产物

2.1 裸藻多糖

纤细裸藻具有一系列的重要产物，如裸藻多糖、抗氧化活性物质和蛋白质。裸藻多糖是纤细裸藻最重要的产物之一，是纤细裸藻的能量储存物质^[31]，为裸藻属所特有。

表 5 纤细裸藻串联培养研究现状

Table 5 Summary of tandem cultivation of *Euglena gracilis*

| Research objective | Scale | Strategy | References |
|---|------------------|--------------------------------|------------|
| Production of β -carotene, vitamin C, and vitamin E | Laboratory scale | Mixotrophic-photoautotrophic | [28] |
| Production of α -tocopherol | Laboratory scale | Heterotrophic-photoautotrophic | [29] |
| Production of paramylon | Pilot-scale | Mixotrophic-heterotrophic | [30] |

2.1.1 裸藻多糖结构与分子量

红外光谱和核磁共振($^1\text{H NMR}$ 谱、 $^{13}\text{C NMR}$ 谱)的结果证明,裸藻多糖是由 D-glucan 为基本单元组成,以 β -(1 \rightarrow 3)糖苷键连接而成的无分支线性多糖(结构详见图 2)。X-射线衍射分析(X-ray diffraction analysis, XRD)发现裸藻多糖的结晶度为 83.49%,扫描电镜发现裸藻多糖粒度大小在 1.5–4 μm 之间。凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)测定裸藻多糖的分子量 Mw 为 $1.9 \times 10^5 \text{ Da}$ ^[33],也有报道称裸藻多糖的分子量 Mw 为 $1.1 \times 10^5 \text{ Da}$ ^[34]。由于裸藻多糖是一种高聚物,裸藻多糖分子的聚合度不同会造成分子量的差异。

2.1.2 裸藻多糖提取方法

有关裸藻多糖提取的研究极少。裸藻多糖不溶于水和多种有机与无机溶剂^[35],因此相比于可溶性多糖,提取裸藻多糖一般采用“裂解细胞 \rightarrow 洗涤纯化 \rightarrow 收集 \rightarrow 干燥”的方法,即使用裂解试剂将蛋白、脂质等裸藻多糖外的成分裂解后,纯化干燥即得到裸藻多糖^[36–38]。裂解细胞可以采用碱、酶、超声等处理方式。栗晓庆等^[36]利用 0.6 mol/L NaOH 提取光自养培养纤细裸藻粉中

裸藻多糖,提取过程需要有机溶剂洗涤对提取物进行纯化。葛智超等^[37–38]将 pH 为 7.0 的磷酸缓冲液作为裂解试剂,在超声处理和中性蛋白酶辅助的条件下提取光自养培养纤细裸藻粉中的裸藻多糖,提取过程需要 DEAE 层析对提取物进行纯化,获得裸藻多糖的纯度为 94%–97%。Daniel 等^[39]利用稀酸(HCl/H₂SO₄)与甲醇或氯仿为裂解试剂提取异养培养纤细裸藻泥中的裸藻多糖,获得裸藻多糖的纯度为 95%–97%。有研究者利用十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)成功进行了裸藻多糖的中试规模的提取,在不使用任何有机溶剂的前提下裸藻多糖的纯度>96%,该技术已被申请为专利^[40–41],为裸藻多糖的大规模生产奠定了基础。

2.2 抗氧化活性物质

纤细裸藻是少数几个能同时生产多种抗氧化活性物质和维生素的藻类之一,包括 β -胡萝卜素、维生素 C 和维生素 E 等^[15,28,42]。Nitsche^[43]报道了纤细裸藻产黄藻黄素(heteroxanthin)的情况,并讨论了其与三油酰甘油酯状色素的差异。Goodwin 等^[44]研究发现纤细裸藻能同时合成 β -胡萝卜素、叶黄素和新黄质 3 种类胡萝卜素,其

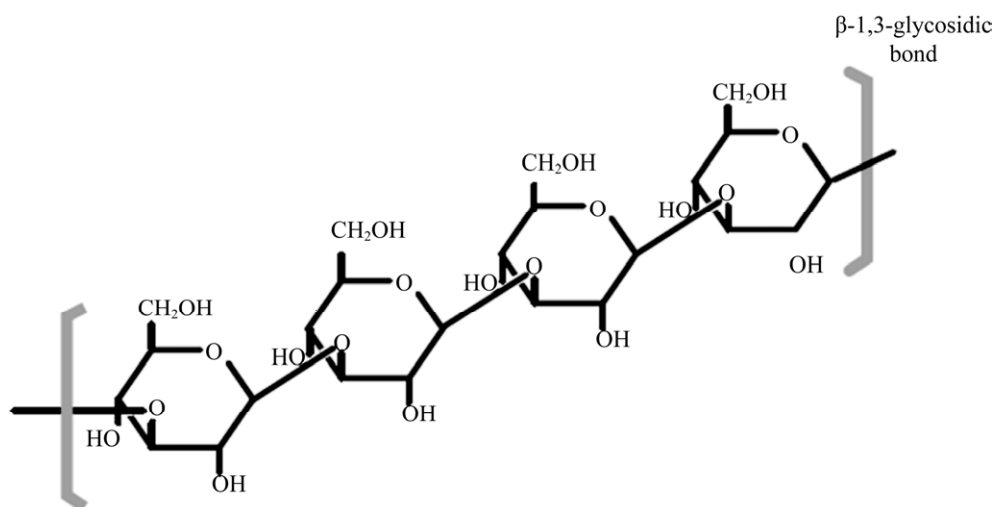


图 2 裸藻多糖的分子结构式^[32]

Figure 2 Molecular structure of paramylon^[32].

中叶黄素是主要色素,细胞内类胡萝卜素的含量占总色素的比例为 10%–15%,含量达到细胞干重的 0.7%。Ogbonna 等^[45]通过异养培养纤细裸藻生产 α -tocopherol,产率达到 0.102 g/(L·h)。此外,纤细裸藻在积累维生素 E 的同时也可合成维生素 C 等其他抗氧化物^[15,46]。

2.3 蛋白质

目前 RCSB PDB 数据库已经公布序列号的纤细裸藻蛋白质有信号转导蛋白 6RSX,细胞膜蛋白 6TDW、6TDX、6TDU、6TDV、6TDY、6TDZ 和 6TE0,核蛋白体 6ZJ3,裂解酶 4YUS、4YUT、1T6J、1T6P 和 1Y2M,电子传递蛋白 6J3Y、6J3Z、6J40、6L4T、6L4U、7VD5 和 7VD6,氧化还原酶 1C0I、1C0L、1C0K 和 1C0P,光合作用蛋白 4K7B、6LY5,植物性蛋白 6JLU。相较于螺旋藻、小球藻而言,由于纤细裸藻无细胞壁的特点,使人体对纤细裸藻蛋白有高达 93.1% 的高效吸收率^[7]。同时纤细裸藻也含有类似母乳的人体所需的全部氨基酸(水解产物可以添加至配方奶粉中)^[47]。

纤细裸藻在特定的光自养条件下,干细胞中 50% 是蛋白质,其质量优于植物产生的蛋白质,内含 20 种氨基酸,其中有异亮氨酸等 9 种人体必需的氨基酸,比小球藻更适合作为食品^[10]。

3 纤细裸藻及裸藻多糖的功能与应用前景

3.1 医药

大量的研究表明纤细裸藻以及裸藻多糖具有降低尿酸水平、抗流感病毒与人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)病毒、增强人体免疫力、抗炎以及抗氧化等活性。

3.1.1 降尿酸

有研究表明,4 名 20–65 周岁的健康男性经口服摄取裸藻多糖可降低血液中的尿酸水

平,裸藻多糖可以抑制肠管吸收嘌呤将其排出体外,从而降低形成痛风的尿酸的水平,在喜食海鲜的日本已有相关发明专利^[48]。另外,有专利^[49]表明,裸藻与裸藻多糖可以通过降尿酸与保护肾脏来改善高尿酸血症,并通过促进肠道中益生菌群生长、抑制肠道中有害菌群的生长来调节肠道菌群,进而促进肠道中嘌呤和尿酸的分解代谢。痛风是由单钠尿酸盐沉积所致的晶体相关性关节病。中国的痛风群体非常庞大,目前已有超千万的痛风患者^[50],因此纤细裸藻在缓解痛风方面的功效非常值得开发。

3.1.2 抗流感病毒与 HIV 病毒活性

裸藻多糖与非裸藻多糖的纤细裸藻提取物具有一定的抗病毒的活性。Nakashima 等^[51]动物实验研究表明给小鼠喂养含 2% 的纤细裸藻粉或裸藻多糖的食物 2 周后可显著降低感染 H1N1 病毒小鼠的死亡率,且喂养 2% 裸藻多糖的食物 1 d 后可降低流感引发的肺炎程度。体外细胞实验研究表明非裸藻多糖的纤细裸藻提取物可降低流感病毒滴度,当宿主细胞预先暴露于纤细裸藻提取物中时,对流感病毒具有更强的抑制活性,这表明纤细裸藻提取物可能与宿主细胞的防御机制相互作用^[52]。2019–2020 年流感进入年度常规高发阶段。因此,裸藻多糖作为新型应对流感高发季或相关疫情暴发的食品具有潜在应用价值。

天然的裸藻多糖几乎没有抗 HIV 活性,但是其硫酸化衍生物有着明显的抑制人免疫缺陷病毒(HIV-1, HIV-2)的细胞病变效应以及培养的 MT-4、MOLT-4 细胞、人外周血单核细胞中 HIV 抗原表达的功能^[53]。

3.1.3 增强人体免疫力

一项临床研究表明^[54],连续 90 d 摄入裸藻多糖含量高于 50%、蛋白质含量高于 15% 的异

养纤细裸藻产品,在临床上可通过触发先天免疫系统来提高人体免疫力,从而降低由流感引发上呼吸道感染(upper respiratory tract infection, URTI)症状总体严重性的 80%,并且可减轻临床研究中评估的所有 13 项 URTI 症状。组成裸藻多糖的 β -1,3 葡聚糖属于非自身分子病原体相关分子模式(non-self molecules pathogen-associated molecular patterns, PAMPS),与细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs)结合后,使致病性代谢原件保守化,触发先天免疫^[35],进而提高人体免疫力。在新冠病毒流行期间,人体免疫力至关重要,纤细裸藻可作为一种提高人体免疫力的食品来应对疫情暴发,具有较高的应用价值。

3.1.4 抗炎与抗氧化活性

裸藻多糖大小通常为 2–3 μm ,这与致病菌的大小相似,通过跨上皮细胞转运而起作用,可以被细胞膜受体 Dectin-1 和细胞质中的炎症小体 NLRP3 所识别,导致人巨噬细胞中白细胞介素 1 β (interleukin 1 β , *IL-1 β*)基因翻译,促进 IL-1 β 分泌^[55];同时,它可以通过上调单核细胞的促炎因子(NO、IL-6、TNF- α 和 COX-2 等)激活淋巴细胞,增强免疫活力^[35,56];另外,Guo 等^[57]的研究结果表明裸藻多糖通过激活核转录因子 κB (nuclear transcription factor kappa B, NF- κB)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路调节免疫系统,当裸藻多糖被巨噬细胞膜上的受体识别后,NF- κB 和 MAPK 信号通路的成员被磷酸化,从而激活细胞核中的相关免疫基因(如 *iNOS*, TNF- α 和 *IL-6*)。

裸藻多糖能通过抑制 T 辅助细胞 Th1 和 Th2 反应缓和小鼠特应性皮炎^[58]。对使用 2,4,6-三硝基氯苯反复处理而引起的特应性皮炎的小鼠饲喂含不同含量裸藻多糖的饲料 53 d 后,发

现添加 1%裸藻多糖可显著降低小鼠背部、耳溶胀、皮肤增大和血清 IgE 水平等炎症评分,且能够降低小鼠血清中白细胞介素 4 (interleukin 4, IL-4)、12 (interleukin 12, IL-12)、18 (interleukin 18, IL-18)以及干扰素 γ (interferon γ , INF- γ)水平。在以小鼠为模型的胶原诱导性关节炎研究中,饲喂纤细裸藻粉和裸藻多糖均能显著地缓解小鼠类风湿关节炎症状视觉评分,并且均能显著降低细胞因子如白细胞介素 17 (interleukin 17, IL-17), 16 (interleukin 16, IL-16)和 IFN- γ 分泌^[59]。

在小鼠急性皮肤伤口愈合实验中,与使用常规纤维素薄膜敷料相比,使用裸藻多糖薄膜敷料能加速小鼠急性皮肤伤口愈合,这种裸藻多糖薄膜敷料能抑制炎症因子 INF- γ 、IL-6 和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)产生^[60]。Lei 等^[61]研究表明,制备的裸藻多糖水凝胶具有良好的抗炎与抗氧化作用,能够通过自由基破坏、脱氧和单线态氧猝灭清除活性氧,并通过螯合形成活性氧所需的金属离子来抑制活性氧的产生,可以有效减少伤口炎症,促进伤口修复,通过 HIF-1 α -VEGF 途径促进血管生成。也有研究表明制备的纤细裸藻细胞与纤细裸藻水提取物(非裸藻多糖成分)水凝胶可以促进小鼠皮肤伤口修复,同时不会诱导过度的炎症反应^[62]。

与炎症有关的疾病很多,纤细裸藻或裸藻多糖是否能改善对其他与炎症有关的疾病(如肩周炎等)亟待研究。

3.1.5 降血脂和血糖作用

研究发现从小白鼠 8 周龄开始对其喂养纤细裸藻-DHA 复合膳食直到 20 周龄,发现小白鼠体内总胆固醇含量较对照组显著降低,这表明了纤细裸藻-DHA 复合膳食降血脂的作用^[63]。将纤细裸藻粉和裸藻多糖作为实验组研究了小鼠 2 型糖尿病的影响,发现喂食纤

细裸藻粉能够降低高血糖症的影响,而喂养裸藻多糖却对降低高血糖无影响,因此小鼠血液中血糖的控制取决于纤细裸藻粉末中裸藻多糖以外的物质^[64]。由此可知纤细裸藻粉具有降血糖,改善2型糖尿病症状的作用。

3.1.6 保护生殖系统

裸藻多糖具有抗氧化活性^[65],而活性氧(reactive oxygen species, ROS)会对各种精子功能造成严重损伤,有研究表明裸藻多糖在改善某些精子特征运动性、活力和顶体完整性以及曲细精管直径方面非常有效^[66],Salvador 等^[67]也得到类似研究结果。近年来我国男性精子下降明显,因此裸藻多糖可为患有不育、精子活力较差、精子完整性较差等生殖系统疾病的男性产生积极影响。

3.1.7 抑制肝损伤

裸藻多糖对四氯化碳以及脂多糖诱导的小鼠急性肝损伤具有抑制作用。分别给小鼠饲喂500、1 000、2 000 mg/kg 裸藻多糖饲料3 d后,由四氯化碳诱导的肝损伤被抑制^[68]。Xie 等^[69]的研究结果显示超声与碱处理的裸藻多糖可以降低脂多糖诱导的小鼠肝损伤,表明裸藻多糖在肝脏保护的应用方面有重要潜力。

3.1.8 抑制慢性肾病的发展

慢性肾病模型鼠经过为期8周的饲喂含有5%裸藻多糖的饲料后,裸藻多糖通过抑制肾纤维化和促炎细胞因子的基因表达,减弱了肾功能、肾小球硬化、肾小管间质损伤和足细胞损伤。另外,裸藻多糖抑制了尿毒症毒素的积累,并且提高了肠道菌群中真细菌数量、真杆菌属(*Eubacterium*)、*Marvinbryantia*属、细小杆菌属(*Microbacterium*)、粪球菌属(*Coprococcus*)、罗宾逊杆菌属(*Robinsoniella*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)的数量^[70]。慢性肾病可引发肾衰竭,而裸藻多糖在抑制慢性肾病的发展方面有重要潜力。

3.1.9 抗肿瘤活性

裸藻多糖具有一定的抗肿瘤活性。Chan 等^[71]先给小鼠移植了恶性肉瘤S-180,在24 h后给小鼠腹腔注射1 μg/g碱性裸藻多糖溶液,虽然不能使肿瘤完全消失,但是对肿瘤有一定的抑制作用。Watanabe 等^[72]通过给小鼠喂食裸藻多糖研究了其对小鼠结肠中肿瘤前异常隐窝病灶(abnormal crypt lesions, ACF)的影响,证明了裸藻多糖具有预防结肠癌的功效,但研究没有明确裸藻多糖对ACF抑制的机制。

另外,Ishiguro 等^[73]的研究表明纤细裸藻细胞的水溶性提取物以剂量和时间依赖性的方式抑制小鼠Lewis肺癌细胞与人肺癌细胞A549和H1299细胞的生长,而纤细裸藻水溶性提取物通过抑制粒细胞源性骨髓抑制细胞的生长和减少外周粒细胞的数量来刺激宿主抗肿瘤免疫,从而抑制小鼠肺癌细胞的生长。

3.1.10 益生元活性

培养基中添加纤细裸藻粉与裸藻多糖均可显著提高乳酸杆菌的数量,表明纤细裸藻与裸藻多糖均具有益生元活性^[74]。Dai 等^[75]的研究结果表明相比于异养培养的纤细裸藻细胞,光自养培养的纤细裸藻细胞对乳酸杆菌生长的促进效果较好。

3.1.11 改善工作负荷下人体睡眠质量与缓解疲劳感

Nakashima 等^[76]的临床研究表明,受试者经过连续12周每天2次分别摄入500、1 000或3 000 mg纤细裸藻粉后进行内田-克雷佩林负荷压力测试,通过自主神经系统反应指标检测,36项简式健康调查(36-Item Short-Form Health Survey, SF-36),第二版心境状态量表(Profile of Mood States 2nd Edition, POMS2)检测,视觉模拟标度(Visual Analog Scale, VAS)测试,睡眠状况与匹兹堡睡眠质量指数(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)评估,以及血液与唾液中皮质醇检

测,与摄入安慰剂相比,睡眠质量得到了改善。

Kawano 等^[77]的临床研究表明,日常生活中有疲劳感的人连续 4 周每天摄入 1 次含有 175 mg 裸藻多糖的纤细裸藻粉后,通过整体疲劳感觉、身体疲劳感觉、心理疲劳感觉评估,血清 d-ROMs (serum derivatives of reactive oxygen metabolites) 值、BAP (biological antioxidant potential) 水平和 BAP/d-ROMs 比率的检测,常规血液生化检测,自主神经功能评估,以及疲劳载荷和工作效率的评估,与摄入安慰剂相比,精神与身体疲劳得到缓解。

3.1.12 促进排便

Nakashima 等^[78]的临床研究表明,每名受试者连续 30 d 每天摄入 2 g 纤细裸藻粉,通过肠道菌群检测以及体外人体肠道菌群模型验证,纤细裸藻(而非裸藻多糖)可以刺激共生粪杆菌的生长,并通过增加丁酸生产来促进人体排便。

3.2 食品

纤细裸藻含有丰富的营养成分,已得到美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的认证(GRAS Notice No. 513); 欧盟食品安全管理局也在 2020 年授权纤细裸藻作为一种新型食品(2020/1820),并在 2023 年 5 月经过专家小组的评估认为裸藻多糖作为新型食品是安全的(2015/2283); 我国国家卫生计生委于 2013 年批准纤细裸藻为新食品原料(2013 年第 10 号)。因此,纤细裸藻在食品领域有极好的应用前景。

3.3 化妆品

中国药监局 2021 年将纤细裸藻与裸藻多糖列入化妆品原料目录(2021 年第 62 号)。上述内容已经介绍裸藻多糖具有抗氧化的活性,而 β -葡聚糖大分子的结构能在皮肤上形成有弹性、透明、透气的薄膜,这层薄膜能充分地锁住水分,避免水分的流失,使得皮肤能光滑滋润,说明 β -葡聚糖具有高效保湿性^[79]。因此裸藻多糖可以作为抗氧化剂与保湿剂用于化妆品中。目前市场上有多种含有裸藻多糖的护肤品,这些护肤品中

裸藻多糖的作用为保湿与抗氧化。

3.4 饲料

饲料中添加裸藻多糖可缓解猪腹泻^[80]。连续饲喂 21 日龄的仔猪 17 d 分别含有裸藻多糖高剂量 108 mg/kg 与低剂量 54 mg/kg 的饲料,发现饲料中添加高剂量裸藻多糖使猪腹泻的发生率从 29.01%降低到 17.28%,这可能是由于裸藻多糖降低了猪空肠黏膜的肠道通透性以及肠道屏障功能基因(*Claudin*、*occludin* 和 *MUC2*)的表达量增加造成的。饲料中添加的裸藻多糖还降低了猪白细胞和中性粒细胞数以及血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、皮质醇和触珠蛋白含量,并下调了 *IL-1 β* 、*IL-6* 和肿瘤坏死因子(*TNFA*)基因的表达水平。

畜牧业在气候变化中扮演重要角色,据估计占全球人为温室气体(greenhouse gases, GHG)排放量的 14.5%^[81]。反刍动物^[82]或人为活动^[81]的甲烷排放是瘤胃发酵过程中产生的主要温室气体。纤细裸藻的脂肪酸含量较低,常规饲料被纤细裸藻替代后,可以通过影响反刍动物瘤胃发酵过程中微生物的数量而减少甲烷排放^[83]。岳玉秀^[84]的研究结果表明纤细裸藻粉代替豆粕作为饲料可以使绵羊甲烷排放量降低 35%, Aemiro 等^[85]的研究结果表明纤细裸藻粉代替豆粕作为饲料可以使科里代尔湿羊的甲烷排放量降低 37%,表明纤细裸藻作为饲料具有降低牲畜碳排放的巨大潜力。另外,我国农业农村部拟将纤细裸藻列入《饲料原料目录》^[86],表明纤细裸藻在饲料领域有广阔的应用前景。

3.5 生物燃料

纤细裸藻在黑暗厌氧条件下能将胞内裸藻多糖转化为蜡酯等能源物质^[87-88],液态蜡酯能作为航空航天工业、人工心脏、精密仪器仪表和特种机械等高精尖领域专用的润滑剂,具有较高的应用价值。自从世界捕鲸公约颁布后,加州希蒙得木蜡成为主要商用蜡酯的来源,然而有限的资

源和不断增长的市场需求使其价格高昂。因此,来源于纤细裸藻的蜡酯具有巨大的潜力。Zhu 等^[89]的研究表明酚类化合物可以提高纤细裸藻细胞内的脂质含量,有助于生物燃料的生产。因此纤细裸藻具有作为生物能源的潜在用途。

4 纤细裸藻合成裸藻多糖的遗传转化研究进展

裸藻多糖作为纤细裸藻细胞内最重要的产物,在食品、化妆品、医药以及饲料领域有极好的应用前景,那么如何提高纤细裸藻细胞内的裸藻多糖含量是未来的一个研究方向。遗传转化是提高微藻中目的产物的常用手段,但至今纤细裸藻的完整核基因组序列尚未被确定,这主要是由于除了典型的真核表观遗传修饰外(DNA 甲基化和组蛋白乙酰化),纤细裸藻基因组内的修饰核苷酸还有葡糖基化羟基胸苷(Base J),使得 DNA 测序的复杂化。另外,纤细裸藻在转录过程中能够通过多种方法处理 mRNA 从而改变翻译以前的序列,因此难以从其蛋白质组进行基因组测序^[90]。目前有关纤细裸藻合成裸藻多糖的遗传转化研究较少。Yoshida 等^[91]转录组结果表明葡聚糖合酶(EgGSL1 和 EgGSL2)在纤细裸藻合成裸藻多糖的过程中扮演重要的角色。Nomura 等^[92]利用 CRISPR/Cas9 系统对纤细裸藻内裸藻多糖合成酶基因 *EgGSL2* 序列进行单链寡核苷酸介导的基因敲除。

5 纤细裸藻应用开发存在的问题与挑战

5.1 现有的纤细裸藻的培养工艺成本高、产率低

纤细裸藻的光自养培养需要得天独厚的自然条件,目前全球仅有日本悠绿那株式会社在气候适宜的石垣岛开展光自养生产出系列产

品。我国的相关养殖产业还存在短板,且如前所述光自养存在诸多问题。纤细裸藻异养培养可明显提高细胞密度与裸藻多糖含量,但目前全球仅美国 Kemin Industries、中国云南保山泽元藻业健康科技有限公司、韩国 Daesang 以及以色列 Solabia-Algatech Nutrition 开发了纤细裸藻异养技术生产出纤细裸藻系列产品,而高成本的生产工艺导致裸藻产品价格较高。另外,裸藻异养培养工艺的报道极少,已报道的工艺裸藻与裸藻多糖产率较低,因此亟待开发出低成本、高产率的产业化生产技术。

5.2 裸藻多糖的规模化提取技术不成熟

由于纤细裸藻的原料受限,以及裸藻多糖提取工艺的不成熟,裸藻多糖开发力度远远不够,制约了纤细裸藻及其下游产品应用研究的开展。裸藻多糖的提取方法还需要进一步开发,提取工艺需要持续优化并放大。

5.3 纤细裸藻功能产品市场狭窄

目前,市场上纤细裸藻相关产品价格昂贵,品类较少,消费者认知度低,仍处于市场教育阶段。但是美国和日本悠绿那株式会社已经开始布局纤细裸藻功能食品市场,所以未来纤细裸藻功能产品一定会在全球健康产品市场占有一席之地。

因此,如图 3 所示,建立低成本、稳定高效的纤细裸藻生产工艺是开发功能性产品的关键。一方面,需要继续优化纤细裸藻异养培养工艺流程,提高目标产物产出率。同时针对纤细裸藻光自养、混养以及异养培养的不足开展串联培养工艺,通过不同培养模式对比,开发出高质高产的纤细裸藻生产工艺。加快纤细裸藻规模化生产进度,提高原料供应能力。另一方面,创新裸藻多糖提取工艺,为开发纤细裸藻产品及下游产品奠定坚实的基础。此外,深入研究纤细裸藻与裸藻多糖的某种特定功能并结合线上与线下的市场推广有利于二者作为功能性食品、医药的推广与应用。

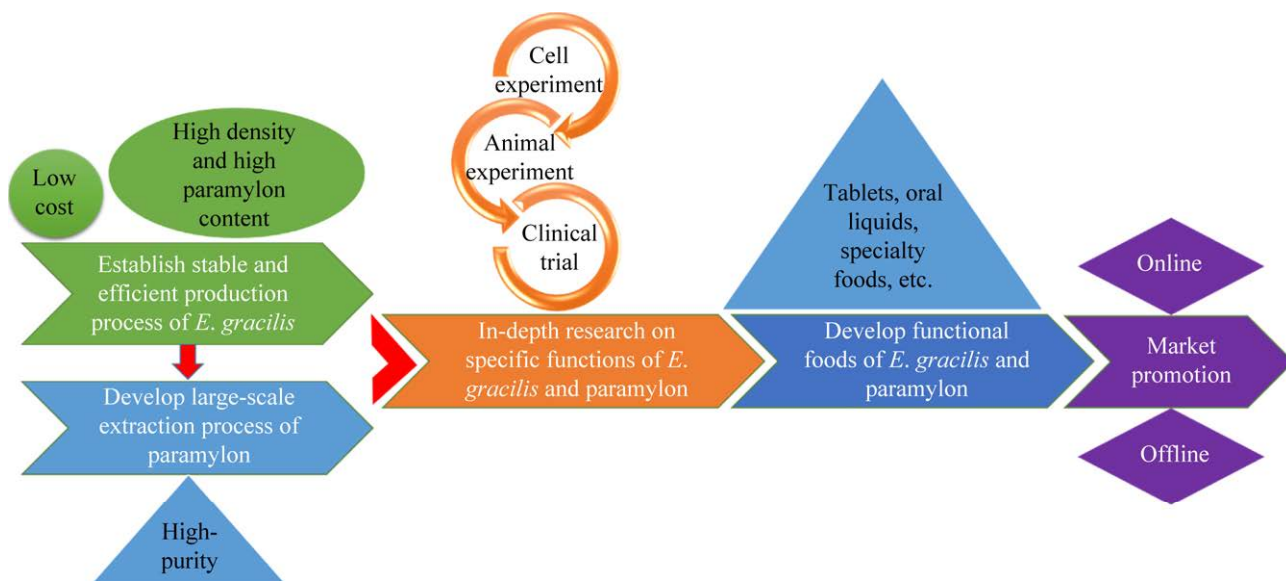


图3 纤细裸藻与裸藻多糖的开发路线图

Figure 3 The development roadmap of *Euglena gracilis* and paramylon.

6 结论与展望

综上所述，基于纤细裸藻全面的营养成分、高吸收率、特殊的生物活性以及高裸藻多糖产量，其在医药、食品、化妆品以及饲料等领域已经得到广泛应用。尤其在健康食品领域，日本悠绿那株式会社、美国建明工业和我国的云南保山泽元公司已正式进军全球健康产品市场。

当前，中国正处在大健康产业快速发展阶段，尤其经历了新型冠状病毒之后，消费者对提高免疫力的需求会大大提升。独特的生物特性决定了纤细裸藻相比于小球藻、螺旋藻与雨生红球藻3种市场上常见微藻具有独特的优势。随着大规模高效异养培养技术和裸藻多糖分离技术的成熟，以及市场的大力推广，纤细裸藻一定会随着市场教育不断成熟而被消费者认可和接受；将遗传转化技术应用到构建提高裸藻多糖产量纤细裸藻突变株后，裸藻多糖粉、裸藻多糖片等形式的纤细裸藻产品会丰富全球功能性食品市场，同时也有利于全球微藻产业的扩大。

REFERENCES

- [1] KOTTUPARAMBIL S, THANKAMONY RL, AGUSTI S. *Euglena* as a potential natural source of value-added metabolites: a review[J]. *Algal Research*, 2019, 37: 154-159.
- [2] BUETOW DE. *Euglena*[M]. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- [3] MORENO-SÁNCHEZ R, RODRÍGUEZ-ENRÍQUEZ S, JASSO-CHÁVEZ R, SAAVEDRA E, GARCÍA-GARCÍA JD. Biochemistry and physiology of heavy metal resistance and accumulation in *Euglena*[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2017, 979: 91-121.
- [4] ZAKRYŚ B, MILANOWSKI R, KARNKOWSKA A. Evolutionary origin of *Euglena*[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2017, 979: 3-17.
- [5] HASAN MT, SUN A, KHATIWADA B, MCQUADE L, MIRZAEI M, TE'O J, HOBBA G, SUNNA A, NEVALAINEN H. Comparative proteomics investigation of central carbon metabolism in *Euglena gracilis* grown under predominantly phototrophic, mixotrophic and heterotrophic cultivations[J]. *Algal Research*, 2019, 43: 101638.
- [6] 张文慧. 不同培养方式对纤细裸藻生长及代谢作用机理的研究[D]. 天津: 天津农学院硕士学位论文, 2018.

- ZHANG WH. Effects of different culture methods on growth and metabolic mechanism of *Euglena gracilis*[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [7] IRINA M, NEPOGODIEV SA, SAALBACH GE. Fluorescent mannosides serve as acceptor substrates for glycosyltransferase and sugar-1-phosphate transferase activities in *Euglena gracilis* membranes[J]. Carbohydrate Research, 2017, 438: 26-38.
- [8] ZIMORSKI V, RAUCH C, van HELLEMOND JJ, TIELENS AGM, MARTIN WF. The mitochondrion of *Euglena gracilis*[J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2017, 979: 19-37.
- [9] KIYAYA Y, AZUMA H, KIYOTA. Effects of temperature, CO₂/O₂ concentrations and light intensity on cellular multiplication of microalgae, *Euglena gracilis*[J]. Advances in Space Research, 2005, 35(9): 1584-1588.
- [10] CHAE SR, HWANG EJ, SHIN HS. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photo-bioreactor[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(2): 322-329.
- [11] GRIMM P, RISSE JM, CHOLEWA D, MÜLLER JM, BESHAY U, FRIEHS K, FLASCHEL E. Applicability of *Euglena gracilis* for biorefineries demonstrated by the production of α -tocopherol and paramylon followed by anaerobic digestion[J]. Journal of Biotechnology, 2015, 215: 72-79.
- [12] SUZUKI K. Large-scale cultivation of *Euglena*[M]//Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2017: 285-293.
- [13] NAKAZAWA M. C₂ Metabolism in *Euglena*[M]//Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2017: 39-45.
- [14] SCHWARZ T, BARTHOLMES P, KAUFMANN M. Large-scale production of algal biomass for protein purification: tryptophan synthase from *Euglena gracilis*1[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 1995, 22(2): 179-190.
- [15] AFIUKWA CELESTINE A, OGBONNA JAMES C. Effects of mixed substrates on growth and vitamin production by *Euglena gracilis*[J]. African Journal of Biotechnology, 2007, 6(22): 2612-2615.
- [16] RUBIYATNO, MATSUI T, MORI K, TOYAMA T. Paramylon production by *Euglena gracilis* via mixotrophic cultivation using sewage effluent and waste organic compounds[J]. Bioresource Technology Reports, 2021, 15: 100735.
- [17] RODRÍGUEZ-ZAVALA JS, ORTIZ-CRUZ MA, MENDOZA-HERNÁNDEZ G, MORENO-SÁNCHEZ R. Increased synthesis of α -tocopherol, paramylon and tyrosine by *Euglena gracilis* under conditions of high biomass production[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(6): 2160-2172.
- [18] IVUŠIĆ F, ŠANTEK B. Optimization of complex medium composition for heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* and paramylon production[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(6): 1103-1112.
- [19] ŠANTEK B, FELSKI M, FRIEHS K, LOTZ M, FLASCHEL E. Production of paramylon, a β -1,3-glucan, by heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* on potato liquor[J]. Engineering in Life Sciences, 2010, 10(2): 165-170.
- [20] ŠANTEK B, FRIEHS K, LOTZ M, FLASCHEL E. Production of paramylon, a β -1,3-glucan, by heterotrophic growth of *Euglena gracilis* on potato liquor in fed-batch and repeated-batch mode of cultivation[J]. Engineering in Life Sciences, 2012, 12(1): 89-94.
- [21] LEVINE RB, LEBRUN JR, HORST GP. Multi-stage process for production of immune modulator: US9574217[P]. 2017-02-21.
- [22] ŠANTEK B, FELSKI M, FRIEHS K, LOTZ M, FLASCHEL E. Production of paramylon, a β -1,3-glucan, by heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* on a synthetic medium[J]. Engineering in Life Sciences, 2009, 9(1): 23-28.
- [23] 保山泽元藻业健康科技有限公司. 一种快速积累裸藻多糖以及高效稳定生产的方法: CN202211725124.7[P]. 2022-12-30. Baoshan Zeyuan Algae Health Technology Co., Ltd. A method for rapid accumulation of paramylon and efficient, stable production thereof: CN202211725124.7[P]. 2022-12-30 (in Chinese).
- [24] 保山泽元藻业健康科技有限公司. 一种裸藻高原缺氧环境下高产率异养培养的方法: CN202211725013.6[P]. 2022-12-30. Baoshan Zeyuan Algae Health Technology Co., Ltd. A method for high-yield heterotrophic cultivation of

- Euglena gracilis* under high-altitude hypoxic conditions: CN202211725013.6[P]. 2022-12-30 (in Chinese).
- [25] 保山泽元藻业健康科技有限公司. 一种高产裸藻多糖的裸藻异养培养方法: 202311605699.X[P]. 2023-11-28.
Baoshan Zeyuan Algae Health Technology Co., Ltd. A method for heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* with high yield of paramylon: 202311605699.X[P]. 2023-11-28 (in Chinese).
- [26] ZHANG KK, WAN MX, BAI WM, BAO ZX, DUAN XB, WANG WL, FAN F, LI YG. A novel heterotrophic cultivation process of *Euglena gracilis* based on NaCl stress significantly increases the paramylon production[J]. *Algal Research*, 2024, 78: 103391.
- [27] TOMITA Y, YOSHIOKA K, IJIMA H, NAKASHIMA A, IWATA O, SUZUKI K, HASUNUMA T, KONDO A, HIRAI MY, OSANAI T. Succinate and lactate production from *Euglena gracilis* during dark, anaerobic conditions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 2050.
- [28] TAKEYAMA H, KANAMARU A, YOSHINO Y, KAKUTA H, KAWAMURA Y, MATSUNAGA T. Production of antioxidant vitamins, β -carotene, vitamin C, and vitamin E, by two-step culture of *Euglena gracilis* Z[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1997, 53(2): 185-190.
- [29] OGBONNA JC, TOMIYAMA S, TANAKA H. Production of α -tocopherol by sequential heterotrophic-photoautotrophic cultivation of *Euglena gracilis*[J]. *Progress in Industrial Microbiology*, 1999, 35: 213-221.
- [30] WU MC, QIN H, DENG JQ, LIU YQ, LEI AP, ZHU H, HU ZL, WANG JX. A new pilot-scale fermentation mode enhances *Euglena gracilis* biomass and paramylon (β -1,3-glucan) production[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 321: 128996.
- [31] BARSANTI, GUALTIERI. Paramylon, a potent immunomodulator from WZSL mutant of *Euglena gracilis*[J]. *Molecules*, 2019, 24(17): 3114.
- [32] NAKASHIMA A, YAMADA K, IWATA O, SUGIMOTO R, ATSUJI K, OGAWA T, ISHIBASHI-OHGO N, SUZUKI K. β -glucan in foods and its physiological functions[J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2018, 64(1): 8-17.
- [33] 鞠海军. 裸藻多糖分离提取, 结构鉴定及生物活性研究[D]. 上海: 华东理工大学硕士学位论文, 2020.
JU HJ. Separation, structure identification of paramylon and study on its bioactivities[D]. Shanghai: Master's Thesis of East China University of Science and Technology, 2020 (in Chinese).
- [34] CLARKE A, STONE B. Structure of the paramylon from *Euglena gracilis* [J]. *Biochimbiophyacta*, 1960, 44: 161-163.
- [35] RUSSO R, BARSANTI L, EVANGELISTA V, FRASSANITO AM, LONGO V, PUCCI L, PENNO G, GUALTIERI P. *Euglena gracilis* paramylon activates human lymphocytes by upregulating pro-inflammatory factors[J]. *Food Science & Nutrition*, 2017, 5(2): 205-214.
- [36] 栗晓庆, 吕俊平, 刘琪, 南芳茹, 刘旭东, 谢树莲, 冯佳. 裸藻多糖碱提工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(9): 209-215.
LI XQ, LV JP, LIU Q, NAN FR, LIU XD, XIE SL, FENG J. Optimization of alkaline extraction process of polysaccharide from *Euglena* sp. and its antioxidant activity *in vitro*[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(9): 209-215 (in Chinese).
- [37] 葛智超, 李燕, 施文正, 郎蒙. 裸藻多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *食品与机械*, 2020, 36(1): 186-191.
GE ZC, LI Y, SHI WZ, LANG M. Optimization of the extraction process of polysaccharides from *Euglena* and its antioxidant activity[J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(1): 186-191 (in Chinese).
- [38] 葛智超, 郎蒙, 李燕. 裸藻多糖的分离纯化. 单糖组成及其抗氧化活性[J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(3): 564-571.
GE ZC, LANG M, LI Y. Isolation, purification, monosaccharide composition and antioxidant activity analysis of *Euglena gracilis* polysaccharides[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(3): 564-571 (in Chinese).
- [39] DANIEL TF, LETICIA MB, LESLIE E, HOKAMA M. Method for obtaining highly pure beta 1,3-glucan from *Euglena*, US 005385832 A [P/OL]. 1995.
- [40] 保山泽元藻业健康科技有限公司. 一种以异养培养所得裸藻培养液为原料进行裸藻多糖规模化低成本生产的新方法: CN202211735150.8[P]. 2022-12-30.
Baoshan Zeyuan Algae Health Technology Co., Ltd. A novel method for the scalable, low-cost production of paramylon using the culture medium obtained from heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* as raw material: CN202211735150.8[P]. 2022-12-30 (in

- Chinese).
- [41] ZHANG KK, WAN MX, BAI WM, HE ML, WANG WL, FAN F, GUO JC, YU T, LI YG. A novel method for extraction of paramylon from *Euglena gracilis* for industrial production[J]. Algal Research, 2023, 71: 103058.
- [42] OGBONNA JC. Microbiological production of tocopherols: current state and prospects[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 84(2): 217-225.
- [43] NITSCH H. Heteroxanthin in *Euglena gracilis*[J]. Archiv Für Mikrobiologie, 1973, 90(2): 151-155.
- [44] GOODWIN TW, JAMIKORN M. Studies in carotenogenesis. some observations on carotenoid synthesis in two varieties of *Euglena gracilis*[J]. The Journal of Protozoology, 1954, 1(4): 216-219.
- [45] OGBONNA JC, TOMIYAMAL S, TANAKA H. Heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* Z for efficient production of α -tocopherol[J]. Journal of Applied Phycology, 1998, 10(1): 67-74.
- [46] Nakashima A, Suzuki K, Asayama Y, Konno M, Saito K, Yamazaki N, Takimoto H. Identification of euglenoid algae that produce ichthyotoxin(s)[J]. Journal of Fish Diseases, 2004, 27(2): 115-117.
- [47] MILLER JH, KEMPNER ES. The molecular biology of *Euglena gracilis*. X. amino acid composition of protein[J]. The Journal of Protozoology, 1976, 23(3): 444-446.
- [48] 伊藤良一, 杉山和久, 柳江高次, 稲垣弘之, 織谷幸太, 西村栄作. プリン体吸収抑制剤及び血中尿酸値低減剤: JP2008266267A[P/OL]. Japan. 2008.
YOICHI ITO, KAZUKI SUGIYAMA, TAKASHI RYUKAWA, HIROSHI INAGAKI, YUKIO ODA, RONGZUO NISHIMURA. Absorption and reduction of uric acid levels in blood by *Euglena gracilis*: JP2008266267A[P/OL]. Japan. 2008.
- [49] 嘉兴泽元生物制品有限责任公司. 一种裸藻及其产物在改善高尿酸血症中的应用: CN 2024101984726[P]. 2024-02-22.
Jiaxing Zeyuan Bioproducts Co., Ltd. An application of *Euglena gracilis* and its products in improving hyperuricemia: CN 2024101984726[P]. 2024-02-22 (in Chinese).
- [50] LIU R, HAN C, WU D, XIA XH, GU JQ, GUAN HX, SHAN ZY, TENG WP. Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: a systematic review and meta-analysis[J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 1-12.
- [51] NAKASHIMA A, SUZUKI K, ASAYAMA Y, KONNO M, SAITO K, YAMAZAKI N, TAKIMOTO H. Oral administration of *Euglena gracilis* Z and its carbohydrate storage substance provides survival protection against influenza virus infection in mice[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017, 494(1/2): 379-383.
- [52] NAKASHIMA A, HORIO Y, SUZUKI K, ISEGAWA Y. Antiviral activity and underlying action mechanism of *Euglena* extract against influenza virus[J]. Nutrients, 2021, 13(11): 3911.
- [53] KOIZUMI N, SAKAGAMI H, UTSUMI A, FUJINAGA S, TAKEDA M, ASANO K, SUGAWARA I, ICHIKAWA S, KONDO H, MORI S, MIYATAKE K, NAKANO Y, NAKASHIMA H, MURAKAMI T, MIYANO N, YAMAMOTO N. Anti-HIV (human immunodeficiency virus) activity of sulfated paramylon[J]. Antiviral Research, 1993, 21(1): 1-14.
- [54] EVANS M, FALCONE PH, CROWLEY DC, SULLEY AM, CAMPBELL M, ZAKARIA N, LASRADO JA, FRITZ EP, HERRLINGER KA. Effect of a *Euglena gracilis* fermentate on immune function in healthy, active adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Nutrients, 2019, 11(12): 2926.
- [55] KANKKUNEN P, TEIRILÄ L, RINTAHAKA J, ALENIOUS H, WOLFF H, MATIKAINEN S. (1,3)- β -glucans activate both dectin-1 and NLRP3 inflammasome in human macrophages[J]. The Journal of Immunology, 2010, 184(11): 6335-6342.
- [56] BROWN GD, GORDON S. A new receptor for β -glucans[J]. Nature, 2001, 413(6851): 36-37.
- [57] GUO QQ, BI DC, WU MC, YU BM, HU L, LIU CC, GU L, ZHU H, LEI AP, XU X, WANG JX. Immune activation of murine RAW_{264.7} macrophages by sonicated and alkalized paramylon from *Euglena gracilis*[J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 1-10.
- [58] SUGIYAMA A, HATA S, SUZUKI K, YOSHIDA E, NAKANO R, MITRA S, ARASHIDA R, ASAYAMA Y, YABUTA Y, TAKEUCHI T. Oral administration of paramylon, a β -1,3-D-glucan isolated from *Euglena gracilis* Z inhibits development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/nga mice[J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2010, 72(6): 755-763.
- [59] SUZUKI K, NAKASHIMA A, IGARASHI M, SAITO K, KONNO M, YAMAZAKI N, TAKIMOTO H.

- Euglena gracilis* Z and its carbohydrate storage substance relieve arthritis symptoms by modulating Th17 immunity[J]. PLoS One, 2018, 13(2): e0191462.
- [60] YASUDA K, OGUSHI M, NAKASHIMA A, NAKANO Y, SUZUKI K. Accelerated wound healing on the skin using a film dressing with β -glucan paramylon[J]. In Vivo, 2018, 32(4): 799-805.
- [61] LEI H, ZHAO J, LI H, FAN DD. Paramylon hydrogel: a bioactive polysaccharides hydrogel that scavenges ROS and promotes angiogenesis for wound repair[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 289: 119467.
- [62] LI J, ZHENG ZZ, DU M, CHEN JC, ZHU H, HU ZL, ZHU YX, WANG JX. *Euglena gracilis* and its aqueous extract constructed with chitosan-hyaluronic acid hydrogel facilitate cutaneous wound healing in mice without inducing excessive inflammatory response[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021, 9: 713840.
- [63] MURAKAMI T, OGAWA H, HAYASHI M, YOSHIZUMI H. Effect of *Euglena* (*Euglena gracilis* Z) enriched with docosahexaenoic acid on lipid metabolism in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi, 1995, 48(4): 319-324.
- [64] SHIMADA R, FUJITA M, YUASA M, SAWAMURA H, WATANABE T, NAKASHIMA A, SUZUKI K. Oral administration of green algae, *Euglena gracilis*, inhibits hyperglycemia in OLETF rats, a model of spontaneous type 2 diabetes[J]. Food & Function, 2016, 7(11): 4655-4659.
- [65] KOFUJI K, AOKI A, TSUBAKI K, KONISHI M, ISOBE T, MURATA Y. Antioxidant activity of β -glucan[J]. ISRN Pharmaceutics, 2012, 2012: 125864.
- [66] AK SONAT F, ALCAY S, TOKER MB, PEKER S, USTUNER B. The effects of dietary restriction and administration of β -glucan from *Euglena gracilis* on the sperm characteristics and reproductive organs of rats[J]. Andrologia, 2018, 50(9): e13088.
- [67] SALVADOR GFO, BENEY G, NIGON V. Control of δ -aminolevulinic acid synthesis during greening of dark-grown *Euglena gracilis*[J]. Plant Science Letters, 1976, 6(3): 197-202.
- [68] SUGIYAMA A, SUZUKI K, MITRA S, ARASHIDA R, YOSHIDA E, NAKANO R, YABUTA Y, TAKEUCHI T. Hepatoprotective effects of paramylon, a β -1,3-D-glucan isolated from *Euglena gracilis* Z, on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats[J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2009, 71(7): 885-890.
- [69] XIE YH, LI J, QIN H, WANG Q, CHEN ZX, LIU CY, ZHENG L, WANG JX. Paramylon from *Euglena gracilis* prevents lipopolysaccharide-induced acute liver injury[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 12: 797096.
- [70] NAGAYAMA Y, ISOO N, NAKASHIMA A, SUZUKI K, YAMANO M, NARIYAMA T, YAGAME M, MATSUI K. Renoprotective effects of paramylon, a β -1,3-D-glucan isolated from *Euglena gracilis* Z in a rodent model of chronic kidney disease[J]. PLoS One, 2020, 15(8): e0237086.
- [71] CHAN GCF, CHAN WK, SZE DMY. The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells[J]. Journal of Hematology & Oncology, 2009, 2: 25.
- [72] WATANABE T, SHIMADA R, MATSUYAMA A, YUASA M, SAWAMURA H, YOSHIDA E, SUZUKI K. Antitumor activity of the β -glucan paramylon from *Euglena* against preneoplastic colonic aberrant crypt foci in mice[J]. Food & Function, 2013, 4(11): 1685-1690.
- [73] ISHIGURO S, UPRETI D, ROBBEN N, BURGHART R, LOYD M, OGUN D, LE T, DELZEIT J, NAKASHIMA A, THAKKAR R, NAKASHIMA A, SUZUKI K, COMER J, TAMURA M. Water extract from *Euglena gracilis* prevents lung carcinoma growth in mice by attenuation of the myeloid-derived cell population[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 127: 110166.
- [74] BHATYAD T, KORADIYA A, PRAKASH G. Prebiotic activity of paramylon isolated from heterotrophically grown *Euglena gracilis*[J]. Heliyon, 2021, 7(9): e07884.
- [75] DAI JJ, HE JY, CHEN ZX, QIN H, DU M, LEI AP, ZHAO LQ, WANG JX. *Euglena gracilis* promotes *Lactobacillus* growth and antioxidants accumulation as a potential next-generation prebiotic[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 864565.
- [76] NAKASHIMA A, YASUDA K, MURATA A, SUZUKI K, MIURA N. Effects of *Euglena gracilis* intake on mood and autonomic activity under mental workload, and subjective sleep quality: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Nutrients, 2020, 12(11): 3243.
- [77] KAWANO T, NAITO J, NISHIOKA M, NISHIDA N, TAKAHASHI M, KASHIWAGI S, SUGINO T, WATANABE Y. Effect of food containing paramylon

- derived from *Euglena gracilis* EOD-1 on fatigue in healthy adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial[J]. *Nutrients*, 2020, 12(10): 3098.
- [78] NAKASHIMA A, SASAKI K, SASAKI D, YASUDA K, SUZUKI K, KONDO A. The Alga *Euglena gracilis* stimulates *Faecalibacterium* in the gut and contributes to increased defecation[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 1074.
- [79] KRISDAPHONG T, TOIDA T, POPP M, SICHAEM J, NATKANKITKUL S. Evaluation of immunological and moisturizing activities of beta-glucan isolated from molasses yeast waste[J]. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 80(5): 795-801.
- [80] KIM K, EHRLICH A, PERNG V, CHASE JA, RAYBOULD H, LI XD, ATWILL ER, WHELAN R, SOKALE A, LIU YH. Algae-derived β -glucan enhanced gut health and immune responses of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *E. coli*[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 248: 114-125.
- [81] GERBER PJ. A Global Assessment of Emissions and Mitigation Opportunities[M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013.
- [82] VEYSSET P, LHERM M, BEBIN D. Energy consumption, greenhouse gas emissions and economic performance assessments in French Charolais suckler cattle farms: model-based analysis and forecasts[J]. *Agricultural Systems*, 2010, 103(1): 41-50.
- [83] AEMIRO A, WARANABE S, SUZUKI K, HANADA M, NISHIDA T. Effects of *Euglena* (*Euglena gracilis*) supplemented to diet (forage: concentrate ratios of 60:40) on the basic ruminal fermentation and methane emissions in *in vitro* condition[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 212: 129-135.
- [84] 岳玉秀. 裸藻替代豆粕对绵羊甲烷排放和氮效率的影响[J]. *中国饲料*, 2020(6): 32-35.
YUE YX. Effect of substitution of soybean meal by euglenophyte on methane emission and nitrogen efficiency of sheep[J]. *China Feed*, 2020(6): 32-35 (in Chinese).
- [85] AEMIRO A, WATANABE S, SUZUKI K, HANADA M, UMETSU K, NISHIDA T. Effect of substituting soybean meal with *Euglena* (*Euglena gracilis*) on methane emission and nitrogen efficiency in sheep[J]. *Animal Science Journal*, 2019, 90(1): 71-80.
- [86] 中国农业农村部拟将 28 种(类)饲料原料增补进入《饲料原料目录》的公告[EB/OL]. [2018-02-23] http://www.moa.gov.cn/hd/zqyj/201802/t20180213_6136960.htm.
- [87] OGAWA T, NAKAMOTO M, TANAKA Y, SATO K, OKAZAWA A, KANAYA S, OHTA D. Exploration and characterization of chemical stimulators to maximize the wax ester production by *Euglena gracilis*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2022, 133(3): 243-249.
- [88] SHIMADA I, NAKAMURA Y, KATO S, MORI R, OHTA H, SUZUKI K, TAKATSUKA T. Catalytic cracking of wax esters extracted from *Euglena gracilis* for hydrocarbon fuel production[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2018, 112: 138-143.
- [89] ZHU JY, TAN XM, HAFID HS, WAKISAKA M. Enhancement of biomass yield and lipid accumulation of freshwater microalga *Euglena gracilis* by phenolic compounds from basic structures of lignin[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 321: 124441.
- [90] EBENEZER TE, ZOLTNER M, BURRELL A, NENAROKOVA A, NOVÁK VANCLOVÁ AMG, PRASAD B, SOUKAL P, SANTANA-MOLINA C, O'NEILL E, NANKISSOOR NN, VADAKEDATH N, DAIKER V, OBADO S, SILVA-PEREIRA S, JACKSON AP, DEVOS DP, LUKEŠ J, LEBERT M, VAUGHAN S, HAMPL V, et al. Transcriptome, proteome and draft genome of *Euglena gracilis*[J]. *BMC Biology*, 2019, 17: 11.
- [91] YOSHIDA Y, TOMIYAMA T, MARUTA T, TOMITA M, ISHIKAWA T, ARAKAWA K. *De novo* assembly and comparative transcriptome analysis of *Euglena gracilis* in response to anaerobic conditions[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 1-10.
- [92] NOMURA T, INOUE K, UEHARA-YAMAGUCHI Y, YAMADA K, IWATA O, SUZUKI K, MOCHIDA K. Highly efficient transgene-free targeted mutagenesis and single-stranded oligodeoxynucleotide-mediated precise knock-in in the industrial microalga *Euglena gracilis* using Cas9 ribonucleoproteins[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(11): 2032-2034.

(本文责编 郝丽芳)