

STUDY AND DEVELOPMENTAL TECHNOLOGY OF
MARINE BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

海洋生物活性物质 研究与开发技术

李光友 刘发义 李元广 等著

青岛海洋大学出版社

PDF

中科院海洋研究所 编

中国海洋学会海洋生物工程专业委员会编辑出版委员会研究论文集

海洋生物活性物质 研究与开发技术

STUDY AND DEVELOPMENTAL TECHNOLOGY OF
MARINE BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

李光友 刘发义 李元广 等著
Li Guangyou Liu Fayi Li Yuanguang



内 容 简 介

该研究文集是由中国海洋学会海洋生物工程专业委员会组织从事海洋生物技术研究、教学和生产技术工作的专家、学者所撰写的,共30篇。文集抓住“十五”期间海洋生物活性物质研究和开发领域带有普遍意义的、同国计民生密切相关的重点研究方向和课题予以阐明;对海洋生物活性物质研究开发的关键技术之一——海洋生化工程,则从学科建设出发较系统地予以阐述;简明扼要地评价国内外海洋生物活性物质研究开发领域的新趋势和先进技术。文集的着重点在于报道一些海洋生物,如海洋动物、海洋藻类(包括微藻)、海洋微生物、海滩盐碱植物等的活性物质的提取、分离、纯化和产品制备的最新研究成果,以及产业化生产的新技术。文集针对性强、重点突出、成果新颖、实用性强,可供有关大专院校师生、研究和生产技术部门的科技工作者参考和阅读。

图书在版编目(CIP)数据

海洋生物活性物质研究与开发技术/李光友等著.

青岛:青岛海洋大学出版社,2000.1

ISBN 7-81067-129-4

I.海… II.李… III.海洋生物-生物技术-研究IV.Q178.53

中国版本图书馆CIP数据核字(2000)第10439号

青岛海洋大学出版社出版发行

(青岛市鱼山路5号 邮政编码:266003)

出版人:刘宗寅

山东日照市印刷厂印刷

新华书店经销

*

开本:787mm×1092mm 1/16 印张:10.375 字数:252千字

2000年5月第1版

2000年5月第1次印刷

印数:1~1000

定价:20.00元

前 言

生物活性物质(Bioactive Substances)是指对生命现象具有影响的微量或少量的物质。由于海洋生物中的活性物质一般量微且很多结构特异,因之大量获取和制备一直是实际应用的难关。随着分离纯化及分析检测技术的发展,人们获取这些活性物质并搞清其化学结构已变得不那么困难;由于生物培养、基因工程、细胞工程等生物技术的进步,为持续而稳定地获取大量生源材料提供了可行途径。人们预计,在21世纪海洋生物活性物质的研究、开发利用将会取得重大发展,一批以海洋生物活性物质为原料的高新技术产业群在世界经济及社会发展中将产生重大作用。

关于海洋生物活性物质的研究,国内外已有若干报道。据统计,自1977年以来,从海洋微生物、海藻、海绵、腔肠动物、软体动物、棘皮动物以及水产品加工废弃物中,分离得到天然产物达5000余种,其中大约有2000余种初步判定具有各种生物活性。现有研究成果表明,海洋生物的多样性及其生物活性物质化学结构的多样性远远超过了陆生资源,在药用活性物质、生物信息物质、海洋毒素类以及生物功能材料等方面,具有非常良好的开发前景。但从该领域的研究和开发现状看,由海洋生物体内或胞外分泌物中发现的活性成分虽多达数千种,而使之形成产业化规模的品种则很少。其主要原因,生源材料的大规模培养技术、活性物质的大规模分离制备尚不能满足产业化进程的需求。为推动海洋生物活性物质的研究和开发技术的发展,早在三年前,中国海洋学会海洋生物工程专业委员会即组织该研究领域的有关专家学者撰写关于海洋生物活性物质分离制备方面的专著或论文。现在此研究论文集已呈献给读者。它向读者介绍了这一领域中国内外研究的最新进展,学科研究的最新理论成果,某些海洋生物活性物质分离制备的研究新成果,以及进行产业化生产的新技术。

本书并非全面系统地阐述海洋生物活性物质的研究进展,而着重于该领域某些极具直接参考价值的研究新趋势,以及可用于生产的分离制备的新技术。随着科学技术的新发展,以及科技人员的深入研究、不断积累和总结,本专业委员会将陆续组织出版这方面的著述,以加强高新科技成果的转化,促进学术交流,推动海洋生物技术学科的发展。

本书是多位作者共同劳动的结晶,为此衷心地感谢大家的鼎力支持、协同配合。尤其应看到的是,作者中有不少是青年人和在读研究生,他们是海洋生物技术领域中的后备力量,令人欣慰。

最后,应当指出,本书尚有不完善之处,恭请诸位予以指正。我们将在以后的工作中,认真改正,并力求严谨、完美和创新。

李光友 刘发义

1999年12月

44357

目 录

海洋生物活性物质研究开发进展	李光友 刘发义 (1)
海洋生物技术领域一个新分支——海洋生物工程	
.....	李元广 张嗣良 李光友 刘发义 许 璞 曹竹安 (5)
综 述	
微藻生物活性物质的研究概况	刘发义 (12)
海藻中的功能活性物质研究现状及其开发利用前景	范 晓 韩丽君 (17)
共轭亚油酸及其生理功能述评	刘发义 李光友 杨凤丽 (23)
环境因子对微藻脂类的影响	林学政 李光友 (27)
海洋微生物的生物活性物质研究综述	姜英辉 李光友 (33)
研究报告	
高纯度河豚毒素的理化性质研究	黄致强 王宝君 Mosher H S (40)
壳聚糖枸橼酸钙颗粒剂的人体生物利用度实验	
.....	孔繁智 沈 立 王彩练 孙秀珍 (45)
人工蛇毒抗凝血作用的研究	张沂萍 张 栩 吕培顶 张坤诚 (48)
硒化卡拉胶理化性质和分子结构的研究	缪锦来 李光友 (52)
海藻晒多糖对小白鼠免疫功能的影响	辛建杰 李光友 崔科远 (59)
11 种微藻总脂和多不饱和脂肪酸组成的研究	林学政 李光友 (63)
海洋微藻对蔬菜生长及病原真菌的活性初探	田 黎 林学政 李光友 (67)
海藻 II 号对心血管疾病防治的研究	
.....	刘明哲 严建伟 程志清 应华忠 阮积惠 (71)
海洋细菌长期保藏后的复活及其抑菌活性测定	田 黎 王文兴 (74)
微生物多肽对中国对虾弧菌病的防治研究	马桂荣 孟凡伦 孔 健 (78)
碱蓬叶绿素成分的分析测定	张沂萍 吕培顶 (82)
技术报告	
生物活性物质分离纯化技术的最新进展	杨基础 刘 铮 李红旗 (86)
微藻大规模培养过程及光生物反应器特点分析	
.....	李元广 沈国敏 王永红 李志勇 张嗣良 (97)
气升内错流式生物反应器及其在药用植物细胞大规模培养中的应用	
.....	刘大陆 查丽杭 焦玉霞 (105)
分子蒸馏技术综述	冯武文 杨 村 于宏奇 (112)
低沸点溶剂萃取技术研究及其在脂质制备中的应用	石书河 杨凤丽 (116)

膜技术在海洋生物资源产业中的应用	蔡邦肖 (121)
鱼油的溶剂分提技术研究	
..... 沈继红 刘发义 石书河 石红旗 李光友 (125)	
改进的尿素包合法浓缩鱼油中 EPA 和 DHA 的研究	
..... 石红旗 刘发义 石书河 沈继红 李光友 (129)	
鱼油微囊化技术研究	
..... 沈继红 李光友 边 际 石书河 石红旗 刘发义 (134)	
高脱乙酰度、高分子量、高产率壳聚糖的制备及其结构性能研究	
..... 孙秀珍 张碧珍 (139)	
羊栖菜保健食品开发研究初报	郑海龙 邬建敏 贾之慎 (146)
碱蓬籽油的萃取和精炼	石书河 李光友 刘发义 沈继红 (150)
机构简介	
山东鸿洋神集团总公司简介	(154)
中国海洋学会海洋生物工程专业委员会编辑出版委员会	(155)

CONTENTS

- The status and perspective of marine bioactive substances
research Li Guangyou and Liu fayi (1)
- A new branch of marine biotechnology — marine biochemical
engineering Li Yuanguang, Zhang Siliang, Li Guangyou, et al (5)

REVIEWS

- A survey of the study on bioactive substances in microalgae Liu Fayi (12)
- The staus and perspective of the research and development of functional
substances in marine algae Fan Xiao and Han Lijun (17)
- A review of conjugated linoleic acid and its physiological
functions Liu Fayi and Li Guangyou (23)
- Effects of environmental factors on microalgae lipids
..... Lin Xuezheng and Li Guangyou (27)
- A review of the studies on bioactive substances in marine
microorganisms Jiang Yinghui and Li Guangyou (33)

RESEARCH REPORTS

- The physical and chemical characteristics of pure
Tetrodotoxin Huang Zhiqiang, Wang Baojun and H. S. Mosher (40)
- The availability of calcium citrate covered by chitin in human
bodies Kong Fanzhi, Shen Li, Wang Cailian, et al (45)
- Study on the anticoagulation of the snake-venom-like substances
..... Zhang Yiping, Zhang Xu, Lu Peiding and Zhang Kun-cheng (48)
- The physical and chemical properties and stucture of
selno-carrageenan Miao Jinlai and Li Guangyou (52)
- The effects of selno-polysacchrde from sea algae on immunity of
mouse Xin Jianjie, Li Guangyou and Cui Yuanke (59)
- The determination of lipids and polyunsaturated fatty acids in 11 kind of marine
microalgae Lin Xuezheng and Li Guangyou (63)

Effects of marine microalgae on vegetable growth and its antifungal activities	Tian Li, Lin Xuezheng and Li Guangyou (67)
The study on preventing and treating cardiovascular disease of "Haizao 1"	Liu Mingzhe, Yian Jianwei, Cheng Zhiqing, et al (71)
The survive and antibiotic activities of marine bacteria after long-term storage	Tian Li and Wang Wensing (74)
Prevention and treatment of Microorganism polypeptides to vibrios disease of shrimp, <i>Penaeus chinensis</i>	Ma Guirong, Meng Fanlun and Kong Jian (78)
Determination of chlorophyll in <i>Sueda Salsa</i>	Zhang Yiping and Lu Peiding (82)

TECHNIQUE REPORTS

Advances of techniques of isolation and purification of bioactive substances	Li Yuanguang, Shen Guomin, Wang Yonghong, et al (86)
Microalgae culture and light-bioreactors	Li Yuanguang, Shen Guomin, Wang Yonghong, et al (97)
Air-lift Bioreactor and its application in large-amount culture of drug-plant cells	Liu Dalu, Cha Lihang and Jiao Yuxia (105)
A review of molecular distillation technique	Feng Wuweng, Yang Cun and Yu Hongqi (112)
Extract technique with Low-boiling-point solvent and its application in lipid production	Shi Shuhe and Yang Fengli (116)
Application of film techniques in marine bioresources industry	Cai Bangxiao (121)
Isolation of high-solidifying-point fat from Anchovy fish oil by solvent	Shen Jihong, Liu Fayi, Shi Shuhe, et al (125)
Concentrating EPA and DHA from fish oil using modified urea adduct method	Shi Hongqi, Liu Fayi, Shi Shuhe, et al (129)
The study of technique making microencapsulated fish oil	Shen Jihong, Li Guangyou, Bian Ji, et al (134)
The study of production and structure of high molecular chitin with high content of acetyl	Sun Xiuzhen and Zhang Bizheng (139)
Primary study of the development of health food made from <i>Sargassum fusiforme</i>	Zheng Hailong, Wu Jianmin and Jia Zhishen (146)
Extraction and refinement of the <i>Suaeda Salsa</i> seed oil	Shi Shuhe, Li Guangyou, Liu Fayi, et al (150)

INTRODUCTION OF ORGANIZATIONS

Brief introduction of Shandong Hongyangshen Group (154)
Editorial committee of Marine Bioengineering Branch of China Oceanography
Society for Serial Publications (155)

海洋生物活性物质研究开发进展

李光友 刘发义

(国家海洋局第一海洋研究所,青岛,266003)

摘要 着重介绍海洋生物活性物质筛选,富含活性物质的海洋生源材料的培养,活性物质的分离、纯化及产品制备等技术的国内外研究进展,并就我国海洋生物活性物质研究开发存在的问题提出建议和对策。

关键词 海洋生物 活性物质 研究进展

所谓生物活性物质,是指来自生物体内的对生命现象具有影响的微量或少量物质,因此一般的蛋白质、氨基酸、脂肪、糖类和常量矿物元素,尽管它们对生命现象具有影响,但它们不是微量或少量物质,因此不包括在生物活性物质范围内。海洋生物活性物质,则是指海洋生物体内所含有的对生命现象具有影响的微量或少量物质,主要包括海洋药用物质、生物信息物质、海洋生物毒素和生物功能材料等海洋生物体内的天然产物。

随着社会的发展,人们生活习惯的改变,环境污染的加剧和人类寿命的延长,心脑血管疾病、恶性肿瘤、糖尿病、老年性痴呆症、乙型肝炎等疾病日益严重地威胁着人类健康,艾滋病、马尔堡病毒病、伊博拉出血热、川崎病、克麦罗氏脑炎等新的疾病又不断出现,仅病毒病世界上平均每年就新增2~3种。人类迫切需要寻找新的、特效的药物来治疗这些疾病。陆生药源由于经过长期的研究开发,新药源日渐减少。海洋中生活着大量的种类繁多的生物,蕴藏着大量的生物活性物质,而且它们生活在盐度高的条件下,有些生物还生活在高压、低温或高温等极端环境中,使得很多活性物质具有非常独特的功能,因此,人们纷纷将目光投向海洋,希望从中获得具有特殊疗效的药物。此外,人们还希望利用海洋生物活性物质开发出增进健康、预防疾病的营养食品、保健食品,有些海洋生物活性物质还可用于化妆品中,有的可制成特殊的生物功能材料,为此使得海洋生物活性物质成了近年来国内外研究的热点。下面就该领域中的几个主要方向的研究进展及我国存在的问题和对策谈谈看法。

1 海洋生物活性物质的筛选

筛选是研究和开发海洋生物活性物质的第一步,是一项基础性的工作。传统的筛选方法是利用实验动物或其组织器官对某种化合物或混合物进行逐一的试验,速度慢,效率低,费用高。近年来,随着科学技术的发展,活性物质筛选逐步趋向系统化、规模化、规范化,特别是分子生物学技术的发展,使得活性物质的筛选技术有了很大的改进。目前国际上发明了以分子水平的药物模型为基础的大规模筛选(High throughput screening)技术,即使用生命活动中具有重要作用的受体、酶、离子通道、核酸等生物分子作为大规模筛选中的作用靶点,来进行活性物质的筛选,这些方法具有简便、快速、命中率高、费用低等优点。

点,有的还可以用机器人进行操作。美国还发明了用基因工程受体,如以癌基因和抑癌基因为作用靶点进行抗肿瘤药物筛选;还发明了谓之 Hollow Fiber Assay 筛选抗肿瘤活性物质的新方法,该方法也可用于抗艾滋病活性物质的筛选;美国国立癌症研究所还建立了 60 株人癌细胞株组成的板块筛选系统,对化合物进行初步筛选,然后再进行动物体内试验。而目前国内对海洋生物活性物质的筛选主要还是使用传统的方法。

2 海洋生物活性物质生源材料的培养

能获得丰富的生源材料是开发海洋生物活性物质的基础。由于大多数生物活性物质在海洋生物体内含量很微,用现有的海洋生物作为开发的资源是相当困难的,而大部分海洋生物活性物质结构比较复杂,又难以进行全人工合成,因此,富含生物活性物质生源材料的大规模培养就成了关键的问题之一。解决之一问题,一是通过人工栽培或养殖富含活性物质的海洋生物;另一条途径是利用生物技术培养生源材料。

目前,国际上对生物技术在海洋生物活性物质研究和开发中应用研究得最多的是基因工程,即通过分离、克隆活性物质的基因,转入高效、廉价表达系统进行生产,以获得大量高质量的产物。在医药研究领域,基因工程多肽和蛋白质类药物、单克隆抗体及新型诊断试剂的研究和开发,是现代生物技术影响最大、效益最好、发展最快的领域。以美国为例,据 1995 年底统计,生物技术药品和疫苗已有 20 多种新产品投放市场,1997 年 7 月,美国食品药品监督管理局(FDA)已准上市的基因工程药物、疫苗和注射用单克隆抗体达 39 种,尚有 10 多种产品正待 FDA 批准,还有 300 多种生物制剂正在进行或完成临床试验。另有 2 000 多种药品处于研制阶段,预计每年平均有 5~8 种产品投放市场。各类生物技术公司 1 000 多家,形成规模生产的有 20 多家,基因工程药物销售额 1995 年约为 48 亿美元,1997 年则超过 60 亿美元,年增长 20% 以上。世界其他国家在基因工程药物研究方面也发展很快。但是,海洋基因工程药物研究仅是开始。90 年代以来开始了海洋药用基因的克隆以及在微生物中的表达工作,研究较多的有海葵毒素、芋螺毒素、藻胆蛋白、鲨鱼软骨素、降钙素等几种海洋生物活性物质,并取得了一定的进展。但到目前为止,世界上尚未有转化成工业化生产的海洋基因工程药物产品。

海洋生物发酵工程主要是通过对富含活性物质的海洋微生物进行发酵培养,从中获得大量的产物。很多研究表明,海洋生物活性物质的初始来源,大部分甚至全部来自海洋微藻和微生物等低等海洋生物。目前,对海洋微生物发酵生产活性物质研究较多的有河鲀毒素、高度不饱和脂肪酸等。如日本用海洋微生物发酵生产河鲀毒素的产业化前景已经明朗,发酵海洋细菌生产 EPA 和 DHA 的研究也在进行之中。

利用生物反应器培养微藻开发海洋生物活性物质,也是世界上的一个研究热点。从广义上讲,用敞开的水池培养微藻也是一种生物反应器技术,但其效率比较低。研究较多的是,利用封闭的光生物反应器来培养微藻,但这项技术目前还未达到大规模实用化的阶段。有些海洋异养微藻可以通过发酵法进行培养,也是一种生物反应器技术,美国 Omega 公司和 Martek 公司,利用发酵法培养异养微藻,以之生产 EPA 和 DHA,已经达到了工业化生产的阶段。

酶的生产和应用的技术过程称为酶工程。国外从耐寒、耐高温、耐高压和耐高盐度的

海洋微生物中,分离出了一些特殊的酶类,如,对热稳定的DNA聚合酶、在组织培养中有分散细胞作用的胶原酶、能催化卤素进入代谢产物中的卤素过氧化物酶等等。日本的研究者已经建立了一种诱导微藻大量生产超氧化物歧化酶(SOD)的方法,可以用在医药、化妆品和食品上。酶工程的发展,为工业技术的进步作出了巨大贡献,酶制剂本身也形成了巨大的市场。至1997年,全球的酶市场约为14亿美元,并以每年4%~5%的速度增长。由于新药开发及制药新技术的需要,特殊用酶迅速增加,已成为酶技术开发中的重点。由于海洋生物的特殊性,特别是生活在极端环境下的海洋微生物和微藻,其体内含有丰富的极端酶,已成为生物技术的重要研究领域,这不仅可提供工业特殊用酶,也为获得新的生物活性物质提供极好的生物资源库。

国内应用生物技术进行海洋生物活性物质的研究和开发,也做了不少工作。其中利用基因工程技术开发海洋蛋白类药物起步较快,先后开展了别藻蓝蛋白、海葵毒素、鲨鱼软骨蛋白、芋螺毒素、降钙素等药用基因克隆与表达的研究,已形成了一定的优势。海洋微藻光生物反应器技术,海洋微生物活性物质的筛选和发酵培养,应用细胞工程技术开发生物活性物质等研究工作都已经启动。但总的来看,还是处于刚刚开始阶段。

3 海洋生物活性物质分离纯化和产品制备技术

开展海洋生物活性物质的研究,其最终目的是将其开发成产品投放市场,因此海洋生物活性物质的分离、纯化及产品制备等技术,是海洋生物活性物质的重要研究领域,也是目前国内生物活性物质研究开发中最迫切的需要,而且今后无论发展到什么阶段,这类技术也是必不可少的。

近年来,有许多新的、先进的技术应用于海洋生物活性物质的分离、纯化及产品制备过程中,如超临界流体萃取、双液相萃取、灌注层析、分子蒸馏、膜分离等现代分离技术,提高化合物活性的分子修饰、组合化学技术,加速药物研制的计算机辅助药物设计技术等。上述技术有的已经在国内海洋生物活性物质研究与开发中得到了应用,如超临界CO₂萃取技术已用于海洋生物中脂类和高度不饱和脂肪酸的分离提取,分子蒸馏技术已经在海洋鱼油制品的生产中得到了应用;以分子修饰提高天然产物的生理活性的例子则更多。近十几年来,我国已经有一大批海洋药物和海洋保健食品投放市场,如PSS、硫酸软骨素、脱溴海兔毒素、头孢菌素、玉足海参素渗透剂、鱼油胶囊、β-胡萝卜素等,这些产品都是通过海洋生物中天然存在的活性物质的提取、分离、纯化等过程而研制得的,其中有些经过化学修饰,进一步提高了其作用效果。随着科学技术的发展,现有的技术将不断完善,新的技术会不断出现,将带动海洋生物活性物质的研究与开发以更快的速度发展。

4 我国海洋生物活性物质研究和开发中存在的主要问题及其对策

目前我国海洋生物活性物质的研究和开发与世界先进国家相比还存在相当差距,其主要表现在以下几个方面。

(1) 活性物质的筛选等基础性工作薄弱。1976年以来,全世界从海洋生物中分离得到的新型化合物达3000多种,而我国进行海洋生物活性物质筛选的单位不多,分离得到单体且属新型化合物的很少,其原因是筛选需要大量的投入,而且短期内难以见到经济效

益。我国虽筹建了国家新药筛选中心,但是该中心接受的样品中鲜有海洋来源的纯化合物或混合物。

(2) 活性物质的分离、纯化等技术与国外存在较大差距,设备落后,质量差,速度慢。

(3) 利用基因工程、细胞工程、酶工程、生化工程等生物技术手段,进行海洋生物活性物质开发更是刚刚起步,大部分项目还是处于研究的初期。

(4) 产业化水平低。国内虽已开发出了一些海洋药品,但真正能称为海洋一类新药的很少,大多属于中药类,而且其中绝大部分的长期疗效还有待进一步观察;开发出的海洋保健食品,只有少数是功能因子已知的第三代保健食品;海洋化妆品、海洋生物分子材料的研究开发则更少。很多研究和开发项目常常出现一窝峰而上的现象,很多是在低水平上重复。

存在上述问题的原因很多,科技投入不足是重要原因之一。我国投入海洋生物活性物质研究与开发的经费,同发达国家相比很少。以海洋药物这一最重要的领域为例,美国投入海洋药物的研究基金达到植物化学药物和合成药总资金的 11%,而我国不到 1%;1991 年,美国大学与国立海洋生物技术研究中心的研究费为 4 400 万美元,其中海洋药物占 14.6%;日本通产省 1991 年对海洋药物和其他精细化学品研究的投资也达 150 亿日元;我国高校或科研单位的海洋新药能得到的资金投入则很少。从企业投入来看,国外制药集团每年用产值的 10%~15%投入新药研究开发,少则几百万美元,多至几亿美元,尤其重视发现新的单体。我国制药企业多数规模不大,利润有限,每年能拿出 100 万元人民币用于新药,特别是用于海洋药物研究开发的单位甚少;大多数企业只需要短平快项目,而不肯投入基础研究,使新药开发缺乏资金后盾。另外,科技力量分散,中试环节薄弱等,也是影响我国海洋生物活性物质研究的重要原因。

为了加快我国海洋生物活性物质研究和开发的速度,我们认为,首先应增加经费支持,国家和地方政府应加大资金投入,相关企业从自身利益出发也应给予充分的重视,提前介入有关的研究与开发;全国应建立相应的海洋生物活性物质研究开发中心(或基地),中心既要有较高水平的研究技术队伍,又要配备比较先进齐全的设备;要发挥高校、科研院所和生产企业三方面优势,共同努力,加快培养相关的研究技术人才,同时要吸引更多从事本领域研究和开发的留学人员回国参与该领域工作;建立全国从事海洋生物活性物质研究开发的协调组织和全国海洋生物活性物质数据库。海洋生物活性物质的研究与开发是比较容易见到直接经济效益的领域,应该特别给予重视,使之能够得到快速的发展。

海洋生物技术一个新分支

——海洋生化工程

李元广^① 张嗣良^① 李光友^② 刘发义^② 许璞^③ 曹竹安^④

①华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室、国家生化工程技术研究中心,上海,200237;

②国家海洋局第一海洋研究所、国家海洋局海洋生物活性物质重点实验室,青岛,266003;

③江苏省海洋水产研究所,南通,226007;④清华大学生物化工研究所,北京,100084)

摘要 对海洋生物技术领域的一个重要分支——海洋生化工程这一新兴学科的定义、研究范畴、特点等问题进行较系统的探讨和阐述,并简要介绍我国海洋生化工程的某些进展,以期推动海洋生化工程学科的发展并加快海洋生物技术产业化的进程。

关键词 海洋生物技术 海洋生化工程 海洋生物资源 开发利用

海洋生物技术目前正处于蓬勃发展阶段,在海洋生物资源的研究、开发利用中日益发挥着其重要作用。许多国家纷纷制定相应政策以大力发展海洋生物技术,如美国国家科技委员会下属的基础研究委员会生物技术研究分委员会发表的《21世纪生物技术新前沿》的长篇报告认为,当今生物技术研究已进入“第二次浪潮”,美国政府除向与健康相关的生物技术投资外,应重点把握的4个投资领域就包括海洋生物技术(徐庆毅,1999)。我国政府有关部门也对海洋生物技术予以了高度重视,已将海洋生物技术列入国家“九五”科技攻关计划、“海洋863”计划和“科技兴海”计划中;此外,我国政府目前正在制定的“生物技术‘十五’科技计划”和“2015年规划”及“S863”计划也均已将海洋生物技术列入其中。

海洋生物技术(Marine Biotechnology)起始于本世纪80年代(Colwell et al., 1984)。海洋生物技术,也被称为海洋生物工程(Marine Bioengineering)。目前,一般通称为海洋生物技术。海洋生物技术,是运用现代生物学、化学和工程学手段,利用海洋生物体、生命系统和生命过程,生产有用产品的高技术(林锦湖,1994)。也可以更完善的说,海洋生物技术,是以海洋生命科学为基础,利用海洋生物体系和工程学原理改造海洋生物遗传特性、开发海洋生物制品和保护海洋环境的综合性科学技术。海洋生物技术是现代生物技术与海洋生物学交叉的产物,是继80年代蛋白质工程之后发展起来的生物高技术,被誉为“第三代生物技术”。由于海洋生物的多样性和种类远较陆地生物更丰富、数量更多,也由于海洋的生态环境比陆地复杂和特殊,这就决定了海洋生物技术的特殊性。迄今,海洋生物技术的任何研究成果,大都是多学科综合运用产生的,涉及诸多的技术和方法。从这个意义上讲,海洋生物技术充分体现了它的综合性和研究分支丰富的突出特性。本文就海洋生物技术领域的一个重要新分支——海洋生化工程学科的有关定义、研究范畴、特点等进行较系统的探讨、阐述,以期对海洋生化工程学科的发展以及加速海洋生物技术产业化进程提供参考。

1 海洋生化工程产生的背景

关于海洋生物技术涵盖的分支,从狭义上讲,主要包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程。随着海洋生物技术的飞速发展、陆地生物技术的借鉴和引入、国际现代学术思想的引进,以及学科发展的需要等,海洋生物技术的外延已经且需要扩展至更大的范围,如海洋生化工程、海洋微生物工程、海洋生物免疫学工程、海洋生物蛋白质工程,以及海洋环境生物工程学等。

关于海洋生化工程(Marine Bioprocess Engineering)方面的研究工作国外已有报道,如国际上已于近年召开了专门的学术研讨会(Wijffels et al, 1998)^①。在中国也已出现了一批重要研究成果,如藻酸双酯钠、海藻多糖、海藻硒多糖、微生物多肽,以及全自动封闭式光生物反应器、多参数水质计算机在线检测系统等。这些成果大都已应用于食品、药物、保健品、化妆品等海洋生物制品及海水养殖与微藻大规模培养中。实践表明,海洋生化工程是海洋生物技术产业化的关键技术之一。但迄今为止,对于海洋生化工程这一新学科的知识领域,国内外尚缺乏基础理论方面的探讨。国内学者(李元广等,1996)曾指出,海洋生化工程是一交叉学科,这对学科的建设无疑是一进步。

2 海洋生化工程的定义

参照生化工程的定义(俞俊棠等,1991),海洋生化工程可定义为:运用生化工程的原理和方法,结合海洋生物的特点,对实验室所取得的海洋生物技术成果加以开发、放大和工程化,使之成为可供产业化的工艺过程的一门工程技术学科。海洋生化工程可被简单地理解为:将实验室所取得的海洋生物技术成果开发成可用于工业化生产的海洋生物技术,最终可高效、低成本、大规模地生产出海洋生物技术产品。概括地说,海洋生化工程是为海洋生物技术产业化服务的生化工程,它是海洋生物技术和生化工程技术相结合而形成的一门新兴交叉学科。

3 海洋生化工程的研究范畴

海洋生化工程是研究海洋生物技术中具有普遍性意义的特殊工程技术问题。从国内外海洋生物技术发展现状来看,海洋生化工程研究范畴如下:(1)水产动物的大规模集约化育苗与养殖,以及海洋动物细胞大规模培养过程中的工程技术问题。(2)微藻及大型海藻细胞和组织大规模高密度培养过程中的工程技术问题。(3)海洋微生物大规模高密度培养过程中的工程技术问题。(4)海洋生物(包括天然海洋生物、人工培养的天然海洋生物和通过基因工程或细胞工程等技术改造后的海洋生物)的收获,以及海洋生物中生物活性物质的分离提取和综合利用过程中的工程技术问题。

^① Wijffels R H, Osinga R, Wessels H S et al. 1998. Marine Bioprocess Engineering: An International Symposium Held Under Auspices of the Working Party on Applied Biocatalysis of the European Federation of Biotechnology and the European Society for Marine Biotechnology — Book of Abstracts (Noordwijkerhout, The Netherlands), 2~136

概括的说,海洋生化工程研究任务主要有三个:(1)海洋生物技术研究及产业化过程中所需的各类装置,即海洋生物技术发展的支撑技术,如各类传感器、反应器、分离提取设备等的研制和开发。(2)传统海洋生物技术产业的改造,提高其生产效率,保证其持续稳定地发展。(3)促进新型海洋生物技术产业的形成。开发新的海洋生物技术及产品,大规模培养天然海洋生物以及通过基因工程或细胞工程等技术改造后的海洋生物,以大规模地获得海洋生物活性物质。

4 海洋生化工程的特点

海洋生化工程问题同我国生化工程学科过去所涉及的问题相比,两者之间既有许多联系,又有很大差异。依据现有的资料和研究成果,从海洋生化工程学科所涉及的主要研究内容来分析海洋生化工程这一新领域的特点(主要是和生化工程学科进行对比)。

4.1 海水动物工厂化养殖与育苗过程的特点

与陆地好氧生物(主要是指微生物、动物细胞及植物细胞)培养过程相比,海水动物工厂化养殖与育苗过程具有以下特点。

(1)从培养系统中物相角度来看。陆地好氧生物培养系统和海水动物工厂化养殖与育苗系统均为气—液—固三相体系;但前者中的固相为陆地好氧生物,其个体均很小(一般为微米级),而后者中的固相为海水动物,其个体较大,且在养殖与育苗过程中由小变大,最大者可达数十厘米;此外,后者的培养体积一般比前者大得多。

(2)从培养系统中的营养成分角度来看。陆地好氧生物培养过程所需营养几乎全为水溶性物质,而海水动物工厂化养殖与育苗过程所需营养几乎全为固体饵料。陆地好氧生物培养过程中营养过多会对生物的生长和产物的形成产生抑制作用,而海水动物工厂化养殖与育苗过程的投饵过多,虽不会对动物生长直接产生抑制作用,但过多的残留饵料会引起系统内水质恶化,最终影响海水动物的生长。

(3)从培养过程有害物质来源及其作用角度来看。陆地好氧生物培养过程中生物产生的有害物质会抑制生物的生长或产物的形成;而海水动物工厂化养殖与育苗过程中有害物质有两个来源,一是残留饵料,二是海水动物产生的代谢废物和粪便。这些物质会使水质恶化,为了保持养殖及育苗过程的顺利进行,必须设法去除这些有害物质。

(4)从有害物质去除角度来看。陆地好氧生物培养过程中有害物质的去除都采用反应分离耦合技术,但这一技术正在研究开发之中,尚未进入产业化;而海水动物工厂化养殖与育苗过程中有害物质的去除则是通过固液分离、水质生物净化、泡沫分离、臭氧灭菌等单元操作来实现,这些技术已用于循环水式工厂化海水动物养殖与育苗过程,但尚存在许多问题亟待解决。

(5)从气液传递的角度来看。陆地好氧生物培养过程需供大量的氧,海水动物工厂化养殖及育苗过程也同样需大量供氧,因而可借鉴生化工程领域中的某些强化供氧技术来提高海水动物工厂化养殖及育苗系统的供氧效率。

(6)从培养系统操作及工艺优化角度来看。陆地好氧生物培养过程及海水动物的工厂化养殖与育苗过程均涉及水体流动,但后者还涉及水体输送问题,而前者不涉及。此外,前者一般均为纯种培养需无菌操作,而后者为敞开式培养,不需要无菌操作,这为后者水质

的在线检测用传感器的研制带来方便,但因后者的水体流速较慢,且温度变化幅度较大,因而给在线检测带来一些新的问题,如水体流动对检测的影响,温度补偿等问题。两个系统的工艺优化技术基本相同,其差异在于前者是结合陆地好氧生物生理生化特性进行,而后者是结合海水动物的生理生化特性来进行。

4.2 微藻光自养培养过程的特点

微藻大多为光能自养型。用于光能自养型海洋微藻培养的封闭式光生物反应器应具有如下特点:(1)必须要用光照。对于外部光源的反应器,要求反应器的比表面积很大,培养液的深度要相对小,否则藻体就得不到充足的光能。为了充分利用自然光,反应器必须放在户外,而户外的光照条件受地域和气候的影响,难以控制。对于采用内部光源的反应器,则需要在反应器中加上复杂的光照系统,而且光源产生的热量会给温度控制带来困难。所有这些问题在常规生物反应器中均不存在(Pirt et al, 1983)。(2)从混合角度来看,在藻类培养过程中的混合,除了具有促进气液传递、液固传递、防止细胞沉降作用外,还必须使藻细胞在与反应器表面垂直的方向上能充分混合,否则藻细胞受光就不均匀(Laws et al, 1986)。(3)从气液传递角度来看,藻类培养必须供应大量的二氧化碳,即要强化二氧化碳吸收过程;同时将微藻产生的氧气从培养液中排出,即要强化氧解析过程(Olaizola et al, 1991; Lee et al, 1991)。而在好氧生物培养过程中,要强化氧吸收过程和二氧化碳解析过程。因此,微藻培养过程的气液传递方向与好氧生物培养过程的气液传递方向正好相反。(4)从培养液性质来看,好氧生物培养基大多用淡水配制,而海洋微藻的培养基多用海水配制。由于二氧化碳和氧在海水及淡水中的溶解度差别很大,因而海洋微藻培养中的气液传递过程将出现许多新的问题。此外,海水具有很强的腐蚀性,因而培养设备的材料选择又将遇到新的问题。

4.3 海洋微生物培养过程的特点

将陆地好氧微生物培养同海洋微生物的培养相比,两者的异同点如下:(1)培养基成分相差较大,前者用淡水配制,后者用海水配制。海洋微生物大都具有嗜盐性,适宜的盐度范围为 2.5%~4.0%,很多种类在淡水培养基中生长不良,甚至根本无法存活。(2)前者的培养温度一般为 30℃左右,后者的培养温度一般较低,大多为 18~22℃。对于海洋中生活于极端环境下的嗜高温、嗜低温、嗜压、嗜碱微生物来说,它们对条件的要求又是极为苛刻和特殊的,这同陆地淡水微生物是不可同日而语的。(3)前者培养的 pH 值多为中性或偏酸性,后者多为中性或偏碱性。

4.4 海洋生物活性物质分离提取的特点

同陆地好氧生物活性物质分离提取相比,海洋微藻生物活性物质分离提取具有以下特点:(1)海洋微生物(包括微藻)在培养液或天然水体中的细胞密度往往很低(如微藻培养密度一般为 0.1g/L),因此从水体中收获细胞难度大。(2)海洋生物活性物质大多为胞内产物,且胞内活性物质含量往往很低。从海洋生物中分离提取活性物质经常用到的技术有粉碎、匀浆、溶剂提取、离心或过滤、浓缩、脱色、液-液萃取、真空减压浓缩、分子蒸馏、层析、喷雾或冷冻干燥等。