

藻胆蛋白质的提取纯化与生物活性研究进展

张唐伟^{1,2} 李天才¹

(¹中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; ²中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 藻胆蛋白的提取原料主要来自于红藻和蓝藻; 细胞破碎的方法主要有反复冻融法、化学试剂处理法等5种方法; 提取的方法主要有盐析法等3种; 分离纯化的方法主要有层析法等3种; 藻胆蛋白其生物活性主要表现在: 抗肿瘤活性、抗病毒活性、抗氧化和消炎活性, 提高免疫活性。

关键词: 藻胆蛋白 提取纯化 生物活性

Review on Extraction Purification and Biological Activity of Phycobiliprotein

Zhang Tangwei^{1,2} Li Tiancai¹

(¹Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008;

²Graduate University, Chinese Academy of Science, Beijing 100049)

Abstract: Through refer to recent literature about phycobiliprotein, we found the usual extracting materials of phycobiliprotein were concluded as rhodophyta and algae. There were five methods to crash cell, mainly including repeated freezing and thawing, chemical reagent. There had three methods of extraction such as the salting-out, and three methods of separation and purification such as chromatography. The biology activity of phycobiliprotein mainly displays on anti-tumor, antiviral, oxidation and anti-inflammatory, improve immunity activity.

Key words: Phycobiliprotein Extraction and purification Biological activity

藻胆蛋白 (phycobiliprotein, PBP) 是藻类特有的捕光色素蛋白, 主要包括藻蓝蛋白 (phycocyanin)、藻红蛋白 (phycoerythrin) 和别藻蓝蛋白 (allophycocyanin) 3类^[1]。藻类适应性强, 养殖成本低, 适宜规模化生产, 被联合国粮农组织推荐为人类明天最理想的食物^[2]。藻胆蛋白用途极为广泛, 可作为天然色素应用于食品、化妆品、染料等工业, 又可制成荧光试剂, 用于临床医学诊断和免疫化学等研究领域中, 同时藻胆蛋白具有抗氧化、提高机体免疫力和抗肿瘤等重要生理功能, 是保健品及药品等的重要资源。

1 藻胆蛋白的提取

1.1 提取原料

不同藻类中蛋白质的种类和含量不同, 藻蓝蛋

白和别藻蓝蛋白在所有的蓝藻和红藻中都有分布, 藻红蛋白则只出现于红藻和部分蓝藻中, 所以藻胆蛋白的提取原料来自于红藻和蓝藻。新鲜海藻中藻胆蛋白含量要比晒干或加工后的含量高^[3]。余九九等^[4]认为以新鲜藻泥为原料比用喷雾干燥后的藻粉提取效果好。藻胆蛋白一般最高含量约为海藻干重的2%左右, 但一些经过培养的螺旋藻, 其藻胆蛋白含量可达干重的18%^[2], O'carra等^[5]甚至培养出藻胆蛋白含量高达24%的蓝藻。林红卫、彭卫民等^[6,7]从钝顶螺旋藻中提取藻红蛋白和藻蓝蛋白等藻胆蛋白, 王广策、张建平^[8-13]分别从多管藻、条斑紫菜、坛紫菜、红毛藻、地木耳为原料分离得到藻胆蛋白。提取藻胆蛋白的原料不同, 藻胆蛋白的含量也有所不同, 要根据自己的试验需要选择合适的

收稿日期: 2009-10-10

作者简介: 张唐伟, 男, 硕士研究生, 研究方向: 药用植物化学; E-mail: zhangtangwei04@163.com

通讯作者: 李天才, E-mail: teli@nwipb.ac.cn

原料进行提取,才能得到较高的得率。

1.2 细胞破碎方法

藻胆蛋白属于胞内蛋白质,要提取分离藻胆蛋白,首先必须要破坏藻类细胞的细胞壁、细胞膜,使藻胆蛋白以溶解的状态释放出来,并保持其活性。目前用于藻胆蛋白提取分离过程中的细胞破碎方法主要有以下几种。

1.2.1 反复冻融法 使用该方法时结冰时间和结冰、溶解次数对藻胆蛋白的提取量有重要影响。李邵蓉、余丽君等用该方法破碎 *Rhodospirillum rubrum* 和螺旋藻细胞提取相应的藻胆蛋白^[14,15]。张薇君等^[16]用该方法试验结果表明,未经冷冻时,因大量色素不能析出,致使吸光度值严重偏低,一次冷冻 8 h 以上或 4 h 重复冻融 2 次后,其色素蛋白含量趋于稳定,重复次数增多,既耗时且易造成损失。该方法操作简单、方便,适用于实验室中少量藻体材料的处理。

1.2.2 超声波破碎法 杨立红等^[17]用 JY92-2D 型超声波细胞粉碎机破碎鱼腥藻细胞的最好处理条件是超声仪的功率为 600 W,超声时间为 9 min,固液比为 1:8,破壁容量为 20 mL。该方法常作为辅助方法,还须与其它方法合用以最大限度破碎细胞,且超声波破碎细胞产热较大,易引起藻胆蛋白的变性,多用在实验室操作。

1.2.3 组织捣碎法 汤朝晖等^[18]曾先用冻融法,再用该方法来破碎钝顶螺旋藻细胞以提取藻胆蛋白。陈芳等^[19]将藻体与少量石英砂混合加入适当的 PBS 提取液制成糊状物用高速组织捣碎机破碎藻体的方法从条斑紫菜中提取藻胆蛋白。

1.2.4 化学试剂处理法 张以芳等用 KCl 和溶菌酶联合作用于螺旋藻细胞壁提取藻蓝蛋白,破壁率达 95% 以上,提取率可达 13%^[20]。林红卫等^[6]利用十二烷基苯磺酸钠破坏钝顶螺旋藻细胞膜提取藻蓝蛋白,提取率高达 98%,并明显优于用冻融法提取的对照组。张建平^[9]则用 0.2% NaNO₃ 溶液浸泡多管藻 4-5 d,破坏细胞膜,从而提取藻胆蛋白。该方法适用于大量样品的制备,但是因加入化学试剂,后期的纯化难度增加,且操作不好容易引起蛋白变性。

1.2.5 溶胀法 程凌江等^[10]直接用水浸泡条斑紫菜可得到含藻红蛋白的提取液;韦萍等^[21]研究了极

大螺旋藻的藻蓝蛋白的提取结果表明,用 15 g/L 的 NaNO₃ 或 10 mmol/L CaCl₂ 的浸泡效果较好;余九九等^[4]比较了液氮冻融法和超声波法,认为采用蒸馏水或低浓度 CaCl₂ 溶液 40℃ 条件下浸泡螺旋藻的提取方法效果较好。溶胀法提取周期较长,用蒸馏水要浸泡 10 d,用低浓度 CaCl₂ 溶液也需要浸泡 3-4 d。

上述的各种细胞破碎的方法都有一定的局限性,实际生产中,上述几种方法经常混合使用,以最大的限度破碎藻体细胞,使藻胆蛋白溶出。

1.3 提取方法

1.3.1 盐析法 将大量盐加到蛋白质溶液中,蛋白质胶粒凝结并沉淀析出,因此向细胞破碎液中加入盐溶液使蛋白质沉淀析出。Siegelma 等^[22]研究表明用 25% 硫酸铵可将藻红蛋白沉淀出,用 30% 硫酸铵可将藻蓝蛋白沉淀出,再用 50% 硫酸铵可将别藻蓝蛋白沉淀出;而也有研究者^[7]认为 30% 和 50% 硫酸铵盐析出的沉淀物中,藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白的比例几乎一样,即无法用硫酸铵盐析将藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白分开。陈芳等^[19]用 50% 的硫酸铵盐析条斑紫菜中的藻胆蛋白。该方法使用简单方便,但不利于以后的分离纯化。

1.3.2 等电点沉淀法 汤朝晖等^[18]用该方法沉淀得到了混有 3 种藻胆蛋白的混合物,并研究了藻胆蛋白在不同 pH 值下的稳定性,认为藻胆蛋白对 pH 值较敏感。藻胆蛋白对 pH 敏感,使用该方法时需注意 pH 引起藻胆蛋白的变性。

1.3.3 超滤法 运用超滤膜过滤藻胆蛋白提取液,获得藻胆蛋白粗制品。用 NaNO₃ 高渗-超滤法分离提纯藻胆蛋白,超滤时选用聚砜膜,在超滤过程中,无机盐和小分子蛋白质,包括小分子的藻毒素透过滤膜而去掉,特别适用于易产生水华的微囊藻脱毒,提高产品的安全性。NaNO₃ 高渗-超滤法是提取藻胆蛋白的简单易行的方法^[22,23]。用此法提取的藻胆蛋白是安全无毒的,且易于纯化,脱水方便,产品易于干燥。

上述方法中,盐析法在藻胆蛋白的提取中较为常用,而结晶法是藻胆蛋白提取中效果较好的方法,但是提取周期较长。从对藻胆蛋白的提取纯化的大量研究来看,采用反复冻融法和超声波破碎法相结

合破碎细胞,再用硫酸铵盐析沉淀出粗蛋白的方法较为普遍,但是这种工艺较复杂,制得的产品纯度不高,安全性不高。

2 藻胆蛋白的分离纯化

传统的藻胆蛋白分离纯化多是提取后的藻胆蛋白经过一系列的层析柱组合分离纯化藻胆蛋白。近年来,还出现了一步层析法、利凡诺法和双水相萃取法等新的分离纯化手段。

2.1 层析法

2.1.1 吸附层析法 以往需多次羟基磷灰石法分离纯化藻胆蛋白,但 Benedetti 等^[24]用一步羟基磷灰石纯化藻蓝蛋白,纯度高达 4.78;Soni 等^[25]采用一步疏水层析柱法纯化藻蓝蛋白,使其纯度达到 4.52;Ge 等^[26]应用单步 phenyl 疏水层析纯化少量别藻蓝蛋白,不仅纯度高,回收率也较高,而大量纯化时疏水层析需结合亲和层析提高别藻蓝蛋白纯度,但是回收率偏低;Patil 等^[27]采用炭柱纯化纯度为 1.18 的藻蓝蛋白,纯度达到 2.58,若先用壳聚糖沉淀细胞碎片再用炭柱处理,则纯度可达 3.96。彭卫民等^[28]用吸附层析法对螺旋藻中藻胆蛋白进行提取纯化,获得了纯度较高的藻蓝蛋白,但是该法对别藻蓝蛋白进行提纯发现其纯度较难提高。

2.1.2 凝胶层析法 Soni 等^[25]用 SephadexG-150 结合 DEAE-cellulose 柱纯化藻蓝蛋白;Chen 等^[29]先用 DEAE-Sepharose 层析,再用 SephacrylS-300 纯化藻蓝蛋白,将纯度从 4.69 提高到了 5.12;Rossano 等^[30]先用一步羟基磷灰石层析纯化藻红蛋白,使其纯度从 0.24 提高到 1.43,再经过 Superdex75 柱,纯度高达 6.67。张建平等^[37]先用羟基磷灰石柱层析,再过 Sephadex G-150 的葡聚糖凝胶层析柱,得到了较纯的藻蓝蛋白($A_{614nm}/A_{280nm} > 4.0$)。

2.1.3 离子交换层析法 Patel 等^[31]用 DEAE-Sepharose CL-6B 一步纯化藻蓝蛋白;Liu 等^[32]改变传统以离子强度作梯度洗脱的方法,根据藻红蛋白的等电点进行 pH 梯度洗脱,仅用 DEAE-Sepharose Fast Flow 一步层析,就将藻红蛋白纯度从 1.402 提高至 5.6,回收率达 67.33%。林红卫等^[6]先用硅藻土 545 柱分级洗脱,再用该法纯化,从螺旋藻中获得初度为 4.1 的藻蓝蛋白和纯度为 4.6 的别藻蓝蛋

白;李邵蓉等^[14]将 *Rhodospirillum rubrum* 提取液上 DEAE-52 纤维素柱,提取纯度只有 1.9,在上葡聚糖凝胶柱 Bios-gelp 300,则得到了纯度较高的藻红蛋白。可见单独使用离子交换层析效果并不理想,与其它方法合用,效果才较好。

2.2 双水相萃取法

Patil 等^[27]采用 12.28% 聚乙二醇和 11.63% 磷酸钾缓冲液形成的双水相体系对藻胆蛋白进行分离,研究发现,在 pH7.2 时,一次萃取藻蓝蛋白,使其纯度从 3.96 提高到 5.22,经双水相萃取的藻蓝蛋白再经 DEAE-Sephadex 离子交换柱,达到了 6.69,放大体系提取所得的藻蓝蛋白纯度为 5.22,回收率为 66%。Patil 等^[33]也指出了双水相萃取法萃取藻蓝蛋白的最佳条件,聚乙二醇 4000-磷酸钾体系,两者体积为 0.8,结线长为 35.53%,体系 pH6.0 时为最优组合,通过超滤去掉聚乙二醇可使藻蓝蛋白的纯度达 3.52,再次萃取可使纯度升到 4.05,总回收率达 85%。Benavides 等^[34]采用该法分离藻红蛋白,得出分离容器的高度和直径比(H/D)会影响两相形成的时间;29%的聚乙二醇 1000 和 9%磷酸钾缓冲液形成的双水相,在结线长为 45%,体积比为 4.5,pH7.0,H/D 为 0.5 时,处理浓度为 40%的藻红蛋白提取液体可以使其纯度达到 3.2,回收率高达 90%。该法具有操作步骤少,时间短,回收率高等优点,同时能使藻胆蛋白在一相中浓缩,并且得到的藻胆蛋白纯度较高。

2.3 利凡诺(rivanol)沉淀法

Minkova 等^[35]先在细胞破碎液中加入利凡诺(2-乙氧基-6,9-二氨基吡啶),搅拌过夜提取藻蓝蛋白,纯度为 1.60,重复 4 次后,纯度提高到 3.90,上清液经 40%的硫酸铵盐析后,以 SephadexG-25 柱除去利凡诺,使纯度达到 4.10,再次以 70%的硫酸铵盐析,纯度达到 4.30,回收率为 45.70%。Minkova 等^[36]还对该法进行改良,使其能同时分离纯化藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白,首先用不含盐的磷酸钾缓冲液破碎细胞,以促进利凡诺与提取液结合,减少利凡诺的处理步骤,彻底分离藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白,提高藻蓝蛋白的纯度和产量。由此可见,利凡诺沉淀法能避免层析等繁杂步骤,提高效率。

3 藻胆蛋白的生物活性研究

3.1 抗肿瘤作用

藻胆蛋白是一种重要的光动力药物的原料,其具有捕光作用即光敏作用,可作为光敏剂用于辅助激光治癌,用于肿瘤和光动力治疗。它对肿瘤细胞比对正常细胞有更强的亲和力,主要在病灶部位富集,吸收光后高效产生自由基和活泼态氧,从而实现了对肿瘤细胞的杀伤,有光毒性而没有暗毒性,在人体中代谢快^[37,38]。藻红蛋白介导的光动力反应能够有效的抑制肿瘤细胞 DNA 合成并杀伤癌细胞^[39]。1982 年, Iijima 等^[40] 研究发现,给接种肝癌细胞的小鼠口服藻蓝蛋白后,小鼠存活率比不给药组明显提高,并发现口服藻蓝蛋白组的淋巴细胞活性高于不给药组,这说明藻蓝蛋白对免疫系统有某种刺激和促进作用。

3.2 抗病毒活性

Chueh 等^[41]证实了从钝顶螺旋藻中提取的酰基载体蛋白 (APC) 能压制肠道病横纹肌肉瘤细胞和非洲绿猴肾细胞的病毒使其半数有效抑制浓度为 (0.045 ± 0.012) mmol/L,而且在细胞受感染前用 APC 处理的抗病毒效果比感染后处理效果更好。

3.3 抗氧化和消炎活性

1998 年, Romay 等^[42] 率先报道从蓝藻 *Arthospira maxima* 中提取的藻蓝蛋白具有抗氧化和消炎的作用。他们的研究表明,藻蓝蛋白能清除 $\text{OH} \cdot$ 和 $\text{RO} \cdot$ 自由基,脱氧核糖测定结果与一些非甾体抗炎的数据相同。藻蓝蛋白还能抑制肝脏微粒脂过氧化物生成。张素萍等^[43] 用竞争反应动力学方法研究 3 种藻胆蛋白对羟基自由基的清除作用,结果表明 3 种藻胆蛋白对羟自由基有很强的清除作用。

3.4 提高免疫力

动物试验表明,藻胆蛋白能提高淋巴细胞活性,通过淋巴系统提高机体免疫力,增强机体的防病抗病能力^[28]。日本学者还曾证实藻胆蛋白能促进动物对铁の利用,恢复造血功能。藻蓝蛋白具有较高的促红细胞生成素 (EPO) 活性,它能直接刺激 CFU-E 的形成,对骨髓造血具有刺激作用^[44]。

4 展望

由于藻胆蛋白的生物活性广泛,所以具有良好

的应用价值;而且我国的海域宽广,藻类产量很大,藻类资源十分丰富。但是目前开发利用的力度和深度还很小,大部分仅限于简单的食用,而藻胆蛋白对人类的贡献和作用显而易见。因此,应该充分利用我国海产资源丰富的优势,改进藻胆蛋白提取、纯化的方法,将藻胆蛋白开发成具有生产规模化的产品。

参考文献

- [1] 王仲孚,赵谋明,彭志英,田庚元,等. 藻胆蛋白研究. 生命的化学,2000,20(2):72-75.
- [2] 李定梅. 螺旋藻:全球人类最理想食品[M]. 中国农业科技出版社,1995. 3-8.
- [3] 纪明侯. 海藻化学[M]. 科学出版社,1997,488.
- [4] 余九九,李宽钰,等. 螺旋藻的藻胆蛋白提取及稳定性研究. 海洋通报,1997,16(4):26-28.
- [5] O'Carra P, O'hEocha C. Chemistry and biochemistry of plant pigments. London: Academic Press, 1976, 328-376.
- [6] 林红卫,伍正清,等. 钝顶螺旋藻中藻蓝蛋白的提取新工艺. 广西化工,1997,26(4):5-7.
- [7] 彭卫民,商树田,等. 钝顶螺旋藻 (Sp-D) 藻胆蛋白的提取. 食品科学,1999,20(6):48-49.
- [8] 王广策,周百成,等. 钝顶螺旋藻 C-藻蓝蛋白和多管藻 R-藻红蛋白的分离纯化及摩尔消光系数的测定. 海洋科学,1996(1), 52-55.
- [9] 张建平,张景民,等. R-藻蓝蛋白的分离及其结构表征. 生物物理学报,1997,13(2):173-178.
- [10] 程凌江,蒋丽金,等. 条斑紫菜中 R-藻红蛋白的纯化及其 α 和 β 亚基的分离与发色团含量的测定. 海洋与湖沼,1990,21(4): 337-342.
- [11] 高洪峰. 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化. 海洋与湖沼,1993,(6):645-648.
- [12] 黄岩,秦利,等. 红毛菜中两种不同分子量的 R-藻红蛋白的性质比较. 生物物理与生物化学,1993(7):434-440.
- [13] 梁文裕. 地木耳藻蓝蛋白 α 和 β 亚基分离纯化的研究. 西北农业学报,2007,16(6):113-116.
- [14] 李邵蓉,林惠民. *Rhodospira rubra* 中藻红蛋白的纯化及其性质的研究. 水生生物学,1996(9):257-264.
- [15] 余丽君,李永明,等. 钝顶螺旋藻藻胆蛋白的纯化及其清除氧自由基的作用. 台湾海峡,1999(6):172-176.
- [16] 张薇君,郝纯彦. 出口螺旋藻粉中藻胆蛋白测定方法的研究. 光谱仪器与分析,1999(3):8-11.
- [17] 杨立红,邹宁,孙东红,等. 鱼腥藻藻蓝蛋白的提取. 食品与发酵工业,2005,31(2):135-138.
- [18] 汤朝晖,蒋加伦. 钝顶螺旋藻藻胆蛋白的提取及其特征初报. 东海海洋,1993,11(4):49-54.

- [19] 陈芳,陈久存.藻胆蛋白提取分离及抗氧化活性的测定.陕西理工大学学报,2007,23(2):62-64.
- [20] 张以芳,刘旭川,李琦华.螺旋藻藻蓝蛋白提取及稳定性试验.云南大学学报(自然科学版),1999,21(3):230-232.
- [21] 韦萍,李环,张成武.极大螺旋藻藻蓝蛋白的提取与纯化.南京化工大学学报,1999,21(3):62-65.
- [22] Hellebust JA, Craigie JS. Handbook of phycological method[M]. Combrige:Combrige University Press,1978,72.
- [23] 赵以军,王旭,程凯.滇池微囊藻“水华”藻胆蛋白资源化研究.华中师范大学学报(自然科学版),1998,32(3):333-337.
- [24] Bendetti S, Rinalducci S, Benvenuti F, et al. Purification and characterization of phycocyanin from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. Journal of Chromatography B, 2006, 833: 12-18.
- [25] Soni B, Kalavadia B, Trivedi U, et al. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*—Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. Process Biochemistry, 2006, 41: 2017-2023.
- [26] Ge BS, Tang ZH, Zhao FQ, et al. Scale-up of fermentation and purification of recombinant allophycocyanin over-expressed in *Escherichia coli*. Process Biochemistry, 2005(40):3190-3195.
- [27] Patil G, Chethana S, Sridevi AS, et al. Method to obtain C-phycocyanin of high purity. Journal of Chromatography A, 2006, 1127:76-81.
- [28] 彭为民,商树田,刘国琴,等.螺旋藻藻胆蛋白研究进展.农业生物技术学报,1998,6(2):173-177.
- [29] Chen TF, Wong YS, Zheng WJ. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enrich *Spirulina platensis*. Phytochemistry, 2006(67):2424-2430.
- [30] Rossano R, Ungaro N, D' Ambrosio A, et al. Extracting and purifying R-phycoerythrin from Mediterranean red algae *Corallina elongata* Ellis & Solander. Journal of Biotechnology, 2003, 101(3): 289-293.
- [31] Patel A, Mishra S, Pawar R, et al. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. Protein Expression and Purification, 2005, 40(2): 248-255.
- [32] Liu LN, Chen XL, Zhang XY, et al. One-step chromatography method for efficient separation and purification of R-phycoerythrin from *Polysiphonia urceolata*. Journal of Biotechnology, 2005, 116(1): 91-100.
- [33] Ganapathi Patil, Raghavarao KSMS. Aqueous two phase extraction for purification of C-phycocyanin. Biochemical Engineering Journal, 2007, 34:156-164.
- [34] Benavides J, Rito-Palomares M. Simplified two-stage method to B-phycoerythrin recovery from *Porphyridium cruentum*. Journal of Chromatography B, 2006, 844:39-44.
- [35] Minkova KM, Tchernov AA, Tchorbadjieva MI, et al. Purification of C-phycocyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*. Journal of Biotechnology, 2003, 102:55-59.
- [36] Minkova K, Tchorbadjieva M, Tchernov A, et al. Improved procedure for separation and purification of *Arthonema africanum* phycobiliproteins. Biotechnol Lett, 2007, 29:647-651.
- [37] 张建平,谢洁,张素萍,等.两种藻蓝蛋白的光动力光敏性质研究.科学通报,1999,44(5):495-499.
- [38] Plank T. Subunit interactions and protein stability in the cyanobacterial light-harvesting proteins. J Bacterial, 1995, 177(23):6789.
- [39] 季宇彬,徐博慧,高世勇,等.藻胆蛋白主要生物活性研究进展.中国药理通讯,2009,26(2):23-24
- [40] Fujiiin I. Antitumor Agent, JP58065216[P]. Japan, 1982.
- [41] Shin RS, Tsai KN, Chueh CC, et al. Inhibition of enterovirus 71-induced apoptosis by allophycocyanin isolated from a blue-green alga *Spirulina platensis*. J Med Virol, 2003, 70(1):119-125.
- [42] Romay C, Armesto J, Ramirez D. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflamm Res, 1998, 47(1):36-41.
- [43] 张素萍,姚德,王文峰,等.用脉冲辐解法研究藻胆蛋白与羟自由基反应动力学.科学通报,2000,45(1):32-36.
- [44] 张成武,殷志敏,欧阳平凯.藻胆蛋白的开发与利用.中国海洋药物,1995(3):52-53.