海藻寡糖的生理活性与酶法转化研究进展

朱玥明[1]， 陈 朋[1]， 刘德川[1,2]， 孙媛霞[*1]
（1. 中国科学院 天津工业生物技术研究所，天津 300308；2. 中国科学院大学，北京 100049）

摘要：我国海藻资源极其丰富，但目前其利用主要集中于食品、饲料和保健品生产等少数方面，海藻资源的高值化利用途径有待进一步开发。海藻多糖是海藻细胞壁重要组分，具有多种生物活性功能，但因其聚合度高、黏度大、溶解性差，很难被机体吸收利用。海藻多糖经物理、化学、生物等方法可降解为海藻寡糖，其溶解性和生理学活性显著提升，更适合应用于食品、保健品、饲料、农业等诸多领域。基于酶法开发海藻寡糖绿色制备技术，具有传统方法不可比拟的优势，效率高、成本低、污染少。作者综述了褐藻寡糖、琼胶寡糖、卡拉胶寡糖、岩藻寡糖等海洋寡糖的生理活性及酶法转化的研究进展，为海藻资源的高值化利用提供新思路。

关键词：海藻寡糖；生理活性；酶转化；海藻资源；高值化利用
中图分类号：Q 814 **文章编号**：1673-1689(2022)08-0022-13 **DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.08.003

Progress on Physiological Activities and Enzymatic Conversion of Algal Oligosaccharides

ZHU Yueming[1]， *CHEN Peng*[1]， *LIU Dechuan*[1,2]， *SUN Yuanxia*[*1]
（1. Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China）

Abstract: The seaweed resources are extremely abundant in China, but currently it is mainly used in a few areas, such as food, feed and health goods manufacture. Hence, the high-value utilization of seaweed resources needs to be further developed. Algal polysaccharides are important components of seaweed cell wall and possess various biological activities. However, it is difficult to be absorbed and utilized by the body due to its high polymerization, high viscosity and poor solubility. Algal polysaccharides can be degraded into oligosaccharides through physical, chemical and biological methods, resulting in significantly increased solubility and physiological activity, which makes them suitable for use in a variety of fields including food, health goods, feed and agriculture. The development of green preparation technology of algal oligosaccharides based on enzymatic process has superior advantages over traditional methods in terms of efficiency, cost and pollution. This paper reviews the research progress on the physiological activities and enzymatic conversion of marine oligosaccharides, such as alginate oligosaccharides, agar oligosaccharides, carrageenan oligosaccharides and fucoidan oligosaccharides, which could provide the basis for the high-value

收稿日期：2022-03-07
基金项目：国家自然科学基金青年基金项目(42106124)。
作者简介：朱玥明(1982—)，男，博士，副研究员，主要从事酶工程方面的研究。E-mail：zhu_ym@tib.cas.cn
* **通信作者**：孙媛霞(1963—)，女，博士，研究员，博士研究生导师，主要从事功能糖生物转化方面的研究。E-mail：sun_yx@tib.cas.cn

utilization of seaweed resources.

Keywords: algal oligosaccharides, physiological activity, enzymatic conversion, seaweed resources, high-value utilization

我国大型海藻主要包括褐藻、红藻、绿藻和蓝藻等 4 大类，产量极其丰富，2019 年我国养殖产量达 253.8 万 t，超过世界藻类养殖总产量的 50%[1]。褐藻、红藻是我国最重要的经济藻类，2019 年褐藻中海带、裙带菜、羊栖菜产量分别为 162.4 万t、20.2 万t 和 2.7 万t，红藻中江蓠、紫菜、麒麟菜产量分别为 34.8 万t、21.2 万t 和 0.042 万t[1]。海藻多糖是海藻细胞壁的主要成分，褐藻中多糖主要为褐藻胶和褐藻糖胶（岩藻胶），红藻中多糖主要为琼胶和卡拉胶，4 种多糖的结构式见图 1。海藻多糖具有一定的生理学功能，例如褐藻裙带菜中分离出的岩藻多糖可以刺激巨噬细胞产生细胞因子和趋化因子[2]；红藻紫菜和江蓠中提取的多糖在体外和体内都具有巨噬细胞刺激活性[3]。但是，海藻多糖溶解度差、相对分子质量大，不能被生命体直接吸收利用，导致其生物学功能不能充分发挥，同时限制了海藻资源的高值化应用。

据统计，我国海藻资源的应用目前主要集中于食用方面，其加工技术主要涉及食品、饮品、食品添加剂、调味品的制备方法[4]。2019 年我国海藻加工品达 115.2 万t，加工比例仅为 45.4%[1]。海藻多糖经物理、化学、生物等方法可降解为海藻寡糖，其溶解性和生物学活性显著提升。例如，褐藻胶降解而成的褐藻寡糖是一种新型的植物刺激剂，对农作物具有多种生物学功能，如促进作物生长、诱导抗逆及抗病、提高产量和品质、延长货架期等[5]；同时褐藻寡糖对人类健康具有多种有益功能，如免疫调节活性、抗菌活性、抗氧化、抗肿瘤、抗高血压、抗糖尿病等[6]。随着海藻寡糖的特殊生理学功能被认知，其应用将扩展至保健品、医药、饲料、农业等诸多领域，从而带动海藻的高值化加工的发展。

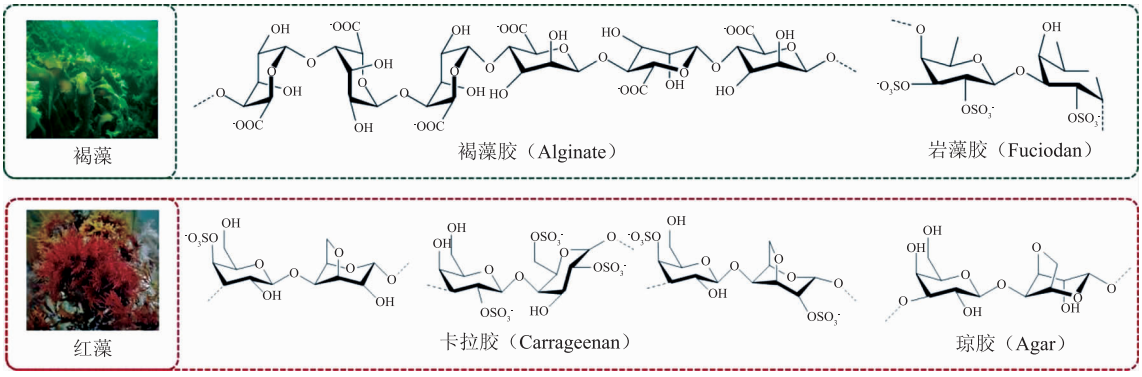


图 1　4 种海藻多糖的分子结构

Fig. 1　Molecular structures of four seaweed polysaccharides

降解海藻多糖的传统制备方式是利用物理或化学方法，通过高温、高压、加酸、加碱等手段获得，存在反应条件难控制、降解不彻底导致收率低、生物活性遭到破坏等问题。利用生物法降解海藻多糖，具有效率高、成本低、条件温和、基本无污染，降解彻底、寡糖聚合度可控、最大程度保留生物活性成分等优势。作者将从海藻寡糖生物活性和生物绿色制备技术两个方面展开，为海藻资源的高值化利用提供一定参考。

1　海藻寡糖的生理活性

海藻多糖经降解而成的海藻寡糖，由于其相对分子质量和黏度显著降低，具有更佳的溶解性和生物利用度，且表现出更显著的生理学活性，主要包括抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、免疫调节等几个方面，见图 2。以下综述褐藻寡糖、琼胶寡糖、卡拉胶寡糖、岩藻寡糖 4 种典型海洋寡糖的生物学功能。

1.1　褐藻寡糖及其生理活性

褐藻寡糖（alginate oligosaccharides，AOS）是褐藻细胞壁成分褐藻胶（褐藻酸、褐藻多糖）的降解产物[7]。褐藻胶是由 β–D–甘露糖醛酸（β–D–1，4–mannuronic acid，简称 M）和 α–L–古罗糖醛酸（α–L–1，4–guluronicacid，简称 G）以 1，4 糖苷键非均聚形成的线性分子。根据 2 种糖的组合方式不同，褐藻

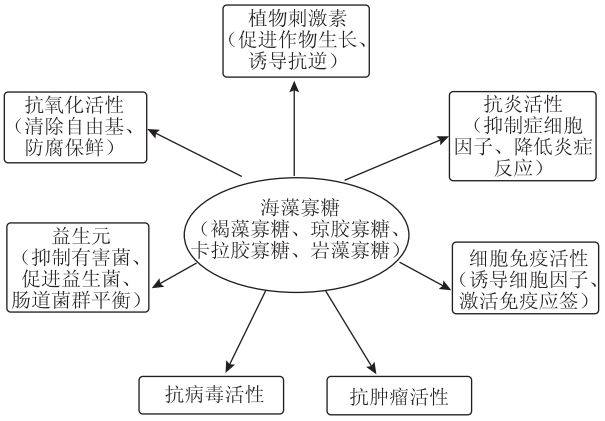


图 2　海藻寡糖的生理活性

Fig. 2　Physiological activities of seaweed oligosaccharides

胶具有 3 种结构单元，聚甘露糖醛酸片段(polymannuronic acid,PM)、聚古罗糖醛酸片段(polyguluronic acid,PG)以及甘露糖醛酸与古罗糖醛酸的交替片段(PMG)。

AOS 具有抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等多种生物活性[8]。Falkeborg 等发现 AOS 在铁诱导氧化乳化亚油酸过程中表现出良好的抗氧化活性，能够完全抑制硫代巴比妥酸反应性物质(thiobarbituric acid reactive substances,TBARS)的形成；AOS 不仅能清除稳定的 ABTS 自由基，还能清除羟自由基(OH·)和超氧自由基(O_2^-·)，清除率分别为 99.5%、90%和 87%[9]。相对分子质量和 G/M 比值是影响 AOS 抗氧化活性的两个重要因素。研究发现，相对分子质量较小的 AOS 具有更显著的抗氧化活性和清除羟自由基的能力[10]；Ramos 等发现 G/M比值较低的 AOS 表现出较好的 DPPH 自由基清除活性[11]。AOS 具有明显的抗肿瘤活性，Chen 等研究了 AOS 对骨肉瘤患者术后的抗肿瘤作用，发现褐藻五糖在体外对骨肉瘤的生长具有显著的抑制作用，它可以通过提高血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)和谷胱甘肽(glutathione,GSH)的水平来改善患者血液的抗氧化性能，并降低血清中丙氨酸转氨酶(alanine transaminase,ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST)水平[12]。AOS 的免疫调节活性主要体现在其对细胞因子的诱导作用。Iwamoto 等研究发现褐藻寡糖 G8 和 M7 对 RAW264.7 细胞诱导细胞因子的的活性最强[13]；Yamamoto 等报道甘露酸寡聚物可诱导多种细胞因子的产生和分泌，如肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、粒细胞集落刺激因子(GCSF)和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)[14]。AOS 的结构特征，尤其是其末端不饱和结构、分子大小和 M/G 比在决定巨噬细胞激活效应中发挥重要作用[15]。AOS 具有的多种生理学功能使得其在功能食品、保健品、新药开发等领域具有很大的潜力。

最近的研究发现，AOS 对植物具有很强的诱导生长、增强抗逆作用。李佳琪等研究发现 AOS 能够促进黄瓜幼苗的生长，且相对分子质量为 8 000 的褐藻寡糖处理的效果最好[16]；陈芊如等发现褐藻寡糖中浓度处理对烟草生长效果最佳[17]；Natsume 等发现 AOS 可以促进大麦根系的生长尤其是胚根的生长[18]；Ma 等发现 AOS 能提高豌豆的发芽率[19]。在植物防御环境胁迫中，AOS 可以作为防御反应的信号分子。Liu 等人发现 0.2%的 AOS 能增强番茄对干旱胁迫的耐受性[20]。因此，AOS 可作为一种新型的植物刺激剂，目前已经开始应用于农业领域[21]。

1.2　琼胶寡糖及其生理活性

琼胶寡糖(agar oligosaccharides,AGOS)是红藻细胞壁组分琼胶(琼脂)的降解产物，根据断裂位置不同可分为琼寡糖(agaroligosaccharides)和新琼寡糖(neoagarooligosaccharides)两大类。琼脂由琼脂糖(agarose)和琼脂胶(agaropectin)组成，琼脂糖的主要结构由 *β*-*D*-半乳糖和 3,6-脱水-*α*-*L*-半乳糖的重复单元组成，硫酸酯质量分数低于 0.15%；琼脂胶具有与琼脂糖相同的二糖重复单元，但某些 3,6-脱水-*α*-*L*-半乳糖残基的羟基被亚砜或甲氧基和丙酮酸残基取代，硫酸盐质量分数高达 5%~8%[22]。

AGOS 具有多种特殊生理活性，受到越来越多的关注。AGOS 具有益生元效果，可以抑制有害菌的生长，同时促进有益菌的增殖。Enoki 等人发现琼脂二糖具有明显的抗菌活性，可以保持食物新鲜[23]；Tatsuji 等发现新琼寡糖可抑制某些有害细菌的增殖和生长[24]；新琼寡糖可促进双歧杆菌、乳酸杆菌、德氏乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌的生长和增殖[25-26]。因此，AGOS 有望作为一种新的益生元改善肠道微环境，可应用于新型功能性食品或食品添加剂开发。AGOS 具有明显的抗氧化活性，Chen 等人研究发现以琼二糖为主的琼胶寡糖可以有效消除自由基[27]；赵雪等人发现以二糖、四糖为主的琼胶寡糖具有极好的清除 O_2^-·，OH·和 DPPH·的能力[28]；Zhang 等研究发现新琼寡糖的聚合度会影响其抗氧

化能力[26]。AGOS具有抗肿瘤和抗炎活性，Higashimura等发现琼寡糖可以抑制前列腺素PEG2和TNF-α的产生，进而抑制肿瘤细胞的生长[29]，还指出琼二糖对前列腺素PEG2的抑制率为75%[30]；AGOS对TNF-X、IL-1β、IL-6等炎性细胞因子也有抑制作用。可见，AGOS在新药开发领域具有巨大潜力。

除此之外，AGOS在农业领域也具有很大的应用潜力。AGOS可以增强普通小麦对干旱胁迫的耐受性，并促进根系生长[31]；陈芊如等对比3种海洋寡糖对植物生长的促进作用，发现AGOS对烟株生长发育的促进作用最为显著[17]；李倩等发现，0.02%的AGOS显著促进了秋葵植株的生长并提高了果实产量和营养品质[32]。

1.3 卡拉胶寡糖及其生理活性

卡拉胶寡糖（carrageenan oligosaccharides，COS）是红藻多糖卡拉胶的降解产物。卡拉胶为线性硫酸多糖结构，由交替的3-β-*D*-吡喃半乳糖和4-α-*D*-吡喃半乳糖或4-3，6-脱水-α-*D*-吡喃半乳糖组成重复的双糖单元。卡拉胶可分为λ型、ι型和κ型3大类。

COS具有多种生理活性，包括抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、抗炎和抗凝活性[33]。Sun等人发现COS可有效消除自由基并表现出显著的抗氧化活性[34]，Yuan等人发现COS的硫酸化衍生物具有更高的抗氧化活性[35]。Yuan等发现COS可显著抑制可移植肉瘤细胞S180的生长，促进巨噬细胞吞噬、脾细胞分泌抗体、脾淋巴细胞增殖、NK细胞活性以及血清中IL-2和TNF-α水平的增加[36]。Yao等发现COS可以抑制ECV304细胞的增殖、迁移和成管，并且可以抑制CAM模型中新血管的生长。COS在S180和MCF-7异种移植模型中均显示出较强的抗肿瘤活性[37]。因此，COS可作为治疗肿瘤的新靶分子。COS具有抗病毒功能，相对分子质量和硫酸化程度影响其抗病毒能力。Wang等人研究表明，从卡拉胶多糖中制备的相对分子质量为2 000的COS比5 000的COS能更有效抑制甲型流感病毒H1N1在MDCK细胞中的复制[38]；Qiang等人发现硫酸化程度和相对分子质量是影响λ-卡拉胶低聚糖抗流感病毒IAV活性的主要因素[39]。Xu等人的研究表明，COS可剂量依赖性抑制LPS激活的小胶质细胞释放的NO、TNF-α和IL-10的活性和含量[40]。此外，COS还具有抗菌、抗氧化和细胞保护活性[41-43]。

1.4 岩藻寡糖及其生理活性

岩藻寡糖（fucoidan oligosaccharides，FOS）是岩藻多糖降解的产物。藻类的岩藻多糖结构复杂，单糖的连接、分支、硫酸化位置和组成有很大的不同。尽管许多研究试图确定岩藻多糖的精细结构，但发现规律性的例子很少。大多数藻类的岩藻多糖主要由硫酸化的*L*-岩藻糖组成，岩藻糖质量分数约为34%~44%，同时可能含有少量的半乳糖、甘露糖、木糖和糖醛酸[44]。

FOS具有黏度低、溶解性好、生物利用度高等优点，且具有多种生理活性，在功能食品、新药等领域显示出巨大的潜力。Zhao等人比较了FOS和岩藻多糖的抗氧化活性，结果表明寡糖对AAPH诱导的低密度脂蛋白氧化的抑制作用强于多糖[45]。Yang等人研究了水解型FOS作为抗癌剂的作用机理，并对其抗癌活性进行了初步研究，结果表明通过水解降低其相对分子质量可以显著提高抗癌活性，在1.0 mg/mL质量浓度下，天然褐藻多糖和FOS的抗癌活性分别为37.6%和75.9%，同时水解过程不会引起大量的脱硫[46]。在db/db小鼠中，FOS显著降低血糖、甘油三酯、胆固醇和低密度脂蛋白水平，并通过降低脂质参数逐渐减轻体质量；同时通过提高糖耐量有效地改善了血糖稳态。研究结果表明，低相对分子质量FOS激活AMPK（AMP activated protein kinase）信号转导途径，通过控制内质网应激依赖途径来预防代谢性疾病，这为改善内质网应激介导的代谢功能障碍提供了一种潜在的治疗策略[47]。FOS可作为同种异体免疫损伤的保护剂。文献[48]报道了注射低相对分子质量的FOS可以防止内膜损伤，而在大鼠心脏移植模型中，注射低相对分子质量的FOS显示出有效预防同种异体免疫损伤所致的动脉和实质损伤。FOS也可作为心血管疾病血管再生剂，与低相对分子质量肝素和硫酸葡聚糖相比，低相对分子质量的FOS更有效地与P-选择素的配体结合[49]。此外，FOS在治疗高脂血症、风湿性关节炎和肌细胞增多症方面也显示出巨大的潜力[50-52]。

2 海藻寡糖的酶法转化研究

利用传统的物理、化学等方法能够降解海藻多糖来制备海藻寡糖，但收率低，能耗高，且带来很大的环境污染。利用生物酶法制备海藻寡糖具有效率

更高、条件温和、过程可控、环境友好等优势,是高效制备海藻寡糖的最有前景的方法。作者以褐藻寡糖和琼胶寡糖的生物绿色制备为例,介绍海藻多糖降解酶在海藻寡糖制备中的应用,为海藻寡糖的工业化生产提供一定的借鉴意义。

2.1 褐藻寡糖的酶法转化研究

利用褐藻胶裂解酶可将褐藻胶降解为褐藻寡糖。褐藻胶裂解酶(*Alginate lyase*)属于多糖裂解酶家族(PL family),通过β-消除反应降解褐藻胶,产生非还原端双键的不饱和寡糖[53]。根据其降解底物不同,褐藻胶裂解酶可以分为 polyM 裂解酶、polyG 裂解酶和 polyMG 双功能裂解酶。根据降解方式不同,褐藻胶裂解酶可分为内切型和外切型褐藻胶裂解酶,内切型褐藻胶裂解酶降解褐藻多糖内部的糖苷键,产生不同聚合度的 AOS,外切型褐藻胶裂解酶一般以寡糖为底物,从某一末端降解生成单糖。由此可见,内切型、双功能的褐藻胶裂解酶降解多糖效率更高,更加适合于规模化放大应用。褐藻胶裂解酶主要来源于海洋微生物,表 1 列出一些双功能褐藻胶裂解酶的酶学性质。

表 1 双功能褐藻胶裂解酶酶学性质比较

Table 1 Comparison of the enzymatic properties of bifunctional alginate lyases

PL 家族	名称	来源	最适 pH	最适温度/℃	酶活/(U/mg)	文献
PL6	KJ-2	*Stenotrophomas maltophilia*	8.0	40	N/A	[54]
PL7	AlgH-I	*Marinimicrobium koreense* H1	10.0	45	5510	[55]
	Aly7B_Wf	*Wenyingzhuangia funcanilytica*	8.5	40	23.24*	[56]
	AlgM4	*Vibrio weizhoudaoensis* M0101	8.5	30	463.8	[57]
	rAlgSV1-PL7	*Shewanella* species YH1	8.0	45	N/A	[58]
	AlyA	*Isoptericola* halotolerans NJ-05	7.5	55	798.4	[59]
	AlgNJU-03	*Vibrio* sp. NJU-03	7.0	30	6468.9	[60]
	AlgNJ-04	*Vibrio* sp. NJ-04	7.0	40	2416	[61]
	AlyH1	*Vibrio furnissii* H1	7.5	40	2.40*	[62]
	AlgMsp	*Microbulbifer* sp. 6532A	8.0	50	N/A	[63]
	BY17PV7	*Microbulbifer* sp. BY17	8.9	43	150.42*	[64]
	AlyDS44	*Streptomyces luridiscabiei*	8.5	45	108.6*	[65]
	AlyS02	*Flavobacterium* sp. S02	7.6	30	442.84*	[66]
	ALFA3	*Formosa algae* KMM 3553	6.0	35	21.5*	[67]
	AlyL1	*Agarivorans* sp. L11	8.6	40	1370	[68]
	AlyPI	*Pseudoalteromonas* sp. CY24	7.0	40	N/A	[69]
	A1-II'	*Sphingomonas* sp. A1	7.5	40	2.89	[70]
	AlyVI	*Vibrio* sp. QY101	7.5	40	N/A	[71]
PL15	A1-IV'	*Sphingomonas* sp. A1	8.5	50	12.1	[72]
PL17	Alg17c	*Saccharophagus degredans*	7.5	30	N/A	[73]
	Oal17A	*Vibrio* sp. W13	7.0	30	2.11	[74]
	AlgL	*Sphingomonas* sp. MJ-3	6.5	50	N/A	[75]
PL18	Aly-SJ02	*Pseudoalteromonas* sp. SM0524	N/A	N/A	N/A	[76]

注:* 表示利用 DNS 法测定酶活,其余为 235 nm 吸光法测定酶活;N/A 为未报道。

从表 1 可以看出,不同 PL 家族、不同来源的双功能褐藻胶裂解酶在酶活性质和酶活上差异很大。其中嗜极性的酶由于能够耐受较宽泛的 pH 和较高的温度,更适合于产业化应用而备受关注,例如来自 *Marinimicrobium* sp.H1 的 AlgH-I 的最适 pH 达到 10.0[55],来自 *Isoptericola halotolerans* NJ-05 的 AlyA 最适温度为 55 ℃[59]。除稳定性之外,比酶活也是决定该酶能否应用于实际生产的一个重要因素,已报道双功能褐藻胶裂解酶中,AlgH-I 和 AlgNJU-03 表现出很高的比酶活,因此具有很强的应用前景[55,60]。

目前,对褐藻胶裂解酶结构和功能的关系研究越来越深入,已经有 27 个不同来源的褐藻胶裂解

酶的结构被解析[77]。褐藻胶裂解酶的结构可以分为4大类：$(\alpha/\alpha)_n$ 滚筒、β–螺旋、β–果冻卷折结构和 $(\alpha/\alpha)_n$ 滚筒+反平行 β 折叠结构[77-78]，见图 3。对褐藻胶裂解酶的三维结构研究有助于酶分子的定向进化，以提高酶活性、增强酶的稳定性，使其更适合应用于褐藻寡糖的工业化生产。Yan 等通过结构域优化大幅提升该酶的酶活和热稳定性，获得耐热、耐碱、耐盐的改造酶，且酶活性不依赖于金属离子，是一个非常适合工业化生产 AOS 的工具酶[55]。

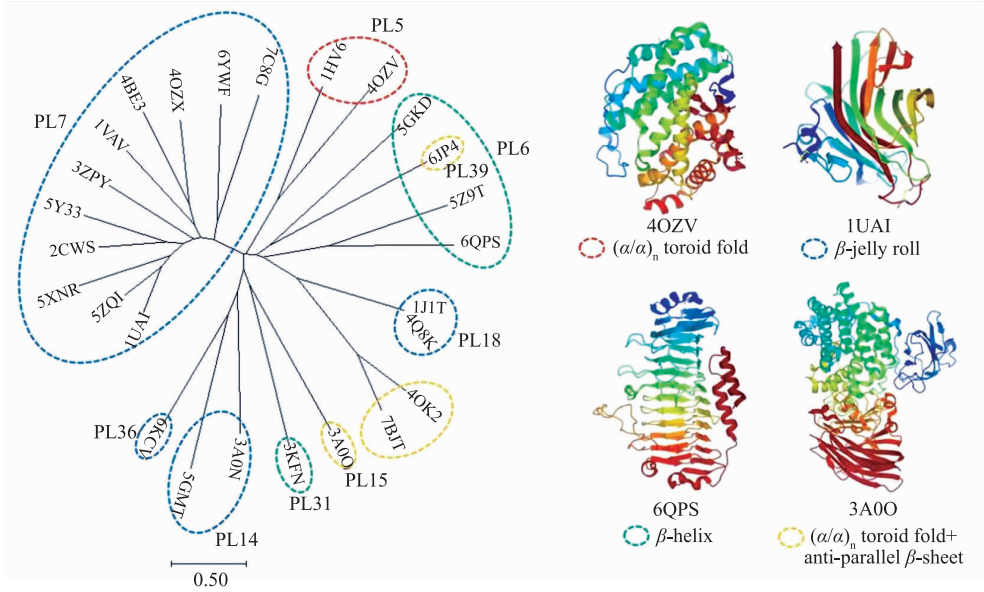


图 3　褐藻胶裂解酶的结构解析

Fig. 3　Structural analysis of alginate lyase

利用褐藻胶裂解酶建立大型褐藻的酶解工艺能够实现功能性 AOS 的绿色制备。Li 等基于褐藻胶裂解酶的酶解技术开发一种以海带为原料高效生产 AOS 的方法，首先利用纤维素酶对干海带进行预处理，以释放可发酵糖（8.5 g/L 葡萄糖和 15.2 g/L 甘露醇），然后将表达褐藻胶裂解酶的解脂耶氏酵母工程菌株发酵 72 h，葡萄糖和甘露醇供菌体生长被完全消耗，褐藻多糖被裂解酶水解，从发酵上清液中提取获得聚合度为 2~3 的 AOS[79]，见图 4。Sun 等人利用来源 *Pseudoalteromonas* sp. Alg6B 的褐藻胶裂解酶与固体纤维素酶混用，建立以海带等大型褐藻生产 AOS 的方法，该方法能够完全降解海带，水解率高达 97%，主要 AOS 产物为二糖和四糖[80]。

2.2　琼胶寡糖的酶法转化研究

利用琼胶酶可以将琼胶降解为琼胶寡糖，目前研究发现的大多数琼胶酶来自海洋微生物。琼胶酶分为 α–琼胶酶和 β–琼胶酶，分别切割琼脂糖的 α–1,3 键和 β–1,4 键，生成琼脂寡糖和新琼寡糖产物。根据作用方式不同，琼胶酶可分为内切琼胶酶和外切琼胶酶，内切琼胶酶从糖链内部进行降解，生成

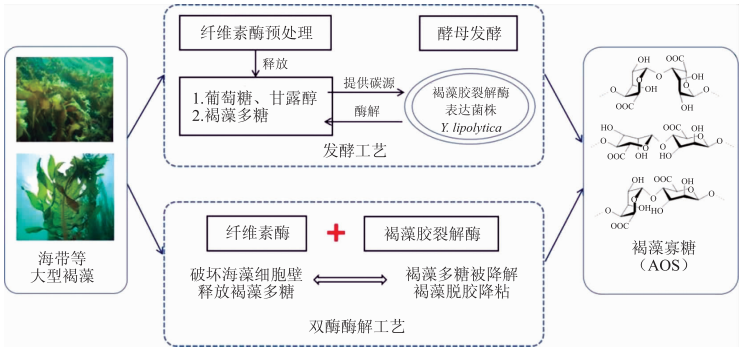


图 4　褐藻寡糖酶法转化工艺

Fig. 4　Enzymatic conversion processes of alginate oligosaccharides

聚合度为2、4、6的寡糖混合物,而外切琼胶酶从糖链的末端逐步降解,产物聚合度更为均一。琼胶酶属于糖苷水解酶家族,包括GH16、GH50、GH86、GH96和GH118等家族[83],以GH16和GH50家族的β-琼胶酶为例,对其酶学性质和产物做一介绍,见表2。

表2 琼胶酶(GH16和GH50家族)酶学性质比较

Table 2 Comparison of the enzymatic properties of agarases (GH16 and GH50 families)

GH家族	名称	来源	最适温度/℃	最适pH	酶活/(U/mg)	主产物	文献
GH16	AgaA	*Marinimicrobium* sp. H1	60	6.0	417	NA4, NA2	[84]
	rAgaA	*Microbulbifer* sp. JAMB-A94	55	7.0	517	NA4	[85]
	AgaA7	*Microbulbifer* sp. JAMB-A7	50	7.0	398	NA4	[86]
	AgaA	*Agarivorans* sp. LQ48	40	7.0	349	NA4, NA6	[87]
	rAgaB34	*Agarivorans albus* YKW-34	30	7.0	242	NA4	[88]
	rAgaDCM	*Vibrio* sp. PO-303	40	7.5	63.6	NA4, NA2	[89]
	AgaAc	*Zobellia galactanivorans*	44	7.5	160	NA4, NA6	[90]
	AgaB	*Zobellia galactanivorans*	44	7.5	100	NA4, NA2	[90]
	AgaDL6	*Flammeovirga* sp. HQM9	50	3.0	N/A	NA4, NA6	[91]
	Aga862	*Pseudoalteromonas* sp. Q30F	45	6.5	4.6	NA4, NA6	[92]
GH50	AgaB	*Marinimicrobium* sp. H1	40	7.0	4.31	NA2	[84]
	Aga50D	*Saccharophagus degradans* 2-40	30	7.0	N/A	NA2	[93]
	rAgaO	*Flammeovirga* sp. MY04	45	7.0	185	NA2	[94]
	Sco3478	*Streptomyces coelicolor* A3(2)	40	7.0	N/A	NA2	[95]
	AgWH50B	*Agarivorans gilvus* WH0801	40	7.0	1523	NA4	[96]
	AgaW	*Cohnella* sp. LGH	50	7.0	387	NA4	[97]
	AgaACN41	*Vibrio* sp. CN41	40	7.5	N/A	NA4	[98]
	RagaAII	*Agarivorans* sp. JAMB-A11	40	7.5-8.0	371	NA2	[99]
	AgaE	*Agarivorans* sp. JA-1	40	8.0	167	NA2	[100]
	AgaA34	*Agarivorans albus* YKW-34	40	8.0	25.54	NA2, NA4	[101]

注:N/A为未报道。

从表2可以看出,大多数琼胶酶最适pH为6.0~8.0,最适温度为30~50 ℃。由于琼胶在低温下会凝结成冻状,因此最适温度较高,且热稳定性较强的琼胶酶才有应用前景,如来自*Marinimicrobium* sp. H1的内切型琼胶酶AgaA的最适温度达到60 ℃,非常适合琼胶底物的液化[84]。GH16家族的琼胶酶为内切型,终产物为聚合度2、4、6的新琼寡糖的混合物;GH50家族的琼胶酶为外切型,终产物聚合度较均一(2或4)。

利用琼胶酶以琼脂为底物制备琼胶寡糖的关键是如何快速使琼胶底物溶解,进而加速酶水解的效率。Yan等建立组合利用特异性琼胶酶制备均一新琼二糖的新策略,首先利用热稳琼胶酶AgaA将琼脂底物快速液化(琼胶液化模块),然后利用外切型琼胶酶AgaB将产物相对分子质量均一化,生成终产物新琼二糖(寡糖均一化模块);由于AgaB对硫酸酯化的琼脂糖也具有水解活性,利用该策略可直接以硫酸酯化程度较高的红藻多糖为底物进行反应,制备新琼二糖[84]。Song等建立琼胶酶鸡尾酒策略,探索具有最高协同效应的酶比例和酶解条件,以大型红藻石花菜为原料实现新琼寡糖的生产[102],见图5。JEON等利用谷氨酸棒杆菌构建琼胶酶的分泌表达工程菌株,实现琼胶酶的胞外高水平表达(最高酶产量达1.53 g/L),应用于新琼二糖的生产,大幅降低了产酶成本[103]。

2.3 其他海藻寡糖的酶法转化研究

卡拉胶酶可以将卡拉胶降解为卡拉胶寡糖,根据其底物特异性可分别分为3类,即λ-卡拉胶酶、ι-卡拉胶酶和κ-卡拉胶酶[104]。卡拉胶酶都是内切酶,能够切割卡拉胶的内部β-1,4-糖苷键并产生一系列偶数的寡糖。Duan等开发了一种利用纤维素酶和重组κ-卡拉胶酶直接从麒麟菜中制备卡拉胶寡

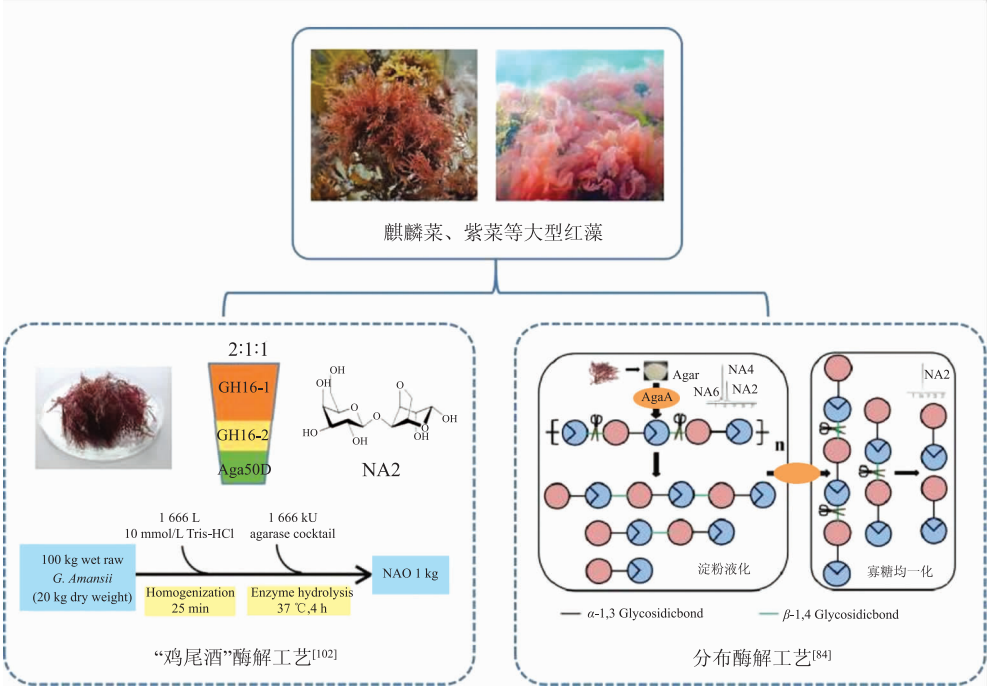


图 5　琼胶寡糖酶法转化工艺(以新琼二糖为例)

Fig. 5　Enzymatic conversion processes of neoagarooligosaccharides (with NA2 as example)

糖的高效方法[105]。Yao 等人利用来自溶纤藻菌株 N5-2 的卡拉胶酶从 κ-卡拉胶中制备了 κ-新卡拉二糖硫酸盐、κ-新卡拉六糖硫酸盐和 κ-新卡拉八糖硫酸盐的混合物[106]。

岩藻多糖酶可以降解岩藻多糖生成岩藻寡糖。Bakunina 等发现，柠檬假交替单胞菌的岩藻多糖酶在 pH 6.5~7.0 范围内能有效降解岩藻多糖，形成硫酸化的 α-*L*-岩藻寡糖[107]。Wang 等提纯了一种新的岩藻多糖酶，并利用其水解岩藻多糖。结果表明，该岩藻多糖酶可直接水解不经脱硫处理的岩藻多糖，生成岩藻寡糖的聚合度为 2~10[108]。

除此之外，降解紫菜多糖、褐藻淀粉、石莼多糖等海藻多糖的降解酶也被广泛研究，应用于相应海藻寡糖的酶法制备中[109]。

3 展　望

海藻寡糖因其具有独特结构与生理学特性越来越受到人们的关注，已经或有望应用于健康食品、保健品、医药品、农业等诸多领域。利用海藻多糖降解酶建立高效、绿色酶解工艺是未来海藻寡糖规模化生产的趋势。酶工程、发酵工程等学科的日益完善和发展，有助于我们获得酶活更高、稳定性更强的海藻多糖降解酶，并且实现这类工具酶的低成本生产，使其更适合应用于海藻多糖的绿色酶解工艺，开发功能性更强的海藻寡糖产品，进而提升我国海藻资源的高值化利用。

参考文献：

[1] 农业农村部渔业渔政管理局，全国水产技术推广总站，中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京：中国农业出版社，2020.

[2] MARUYAMA H，TAMAUCHI H，HASHIMOTO M，et al. Antitumor activity and immune response of mekabu fucoidan extracted from sporophyll of *Undaria pinnatifida*[J]. **In Vivo**，2003，17(3)：245-249.

[3] MENSI F，KSOURI J，SEALE E，et al. A statistical approach for optimization of R-phycoerythrin extraction from the red algae *Gracilaria verrucosa* by enzymatic hydrolysisusing central composite design and desirability function[J]. **Journal of Applied Phycology**，2012，24(4)：915-926.

[4] 王先磊，杨俊杰，赵中华，等. 基于专利分析的我国大型海藻开发技术研究[J]. 海洋开发与管理，2021，38(2)：30-35.

[5] ZHANG C，WANG W，ZHAO X，et al. Preparation of alginate oligosaccharides and their biological activities in plants：a review[J]. **Carbohydrate Research**，2020，494：108056.

[6] LIU J,YANG S,LI X,et al. Alginate oligosaccharides:production,biological activities,and potential applications[J]. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**,2019,18(6):1859-1881.
[7] GOH C H,HENG P W S,CHAN L W. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications [J]. **Carbohydrate Polymers**,2012,88 (1):1-12.
[8] 阿拉腾珠拉,胡永飞. 褐藻寡糖的制备方法及生物活性研究进展[J]. 生物工程学报,2022,38(1):104-118.
[9] FALKEBORG M,CHEONG L Z,GIANFICO C,et al. Alginate oligosaccharides:enzymatic preparation and antioxidant property evaluation[J]. **Food Chemistry**,2014,164:185-194.
[10] 包华芳,刘璘,丁玉庭. 酶解制备褐藻胶寡糖及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造,2010,4:82-84.
[11] RAMOS P E,SILVA P,ALARIO M M,et al. Effect of alginate molecular weight and M/G ratio in beads properties foreseeing the protection of probiotics[J]. **Food Hydrocolloids**,2018,77:8-16.
[12] CHEN J Y,HU L,ZHANG Y,et al. Alginate oligosaccharide DP5 exhibits antitumor effects in osteosarcoma patients following surgery[J]. **Frontiers in Pharmacology**,2017,8:1-13.
[13] IWAMOTO M,KURACHI M,NAKASHIMA T,et al. Structure-activity relationship of alginate oligosaccharides in the induction of cytokine production from RAW264.7 cells[J]. **FEBS Letters**,2005,579(20):4423-4429.
[14] YAMAMOTO Y,KURACHI M,YAMAGUCHI K,et al. Induction of multiple cytokine secretion from RAW264.7 cells by alginate oligosaccharides[J]. **Bioscience,Biotechnology and Biochemistry**,2007,71(1):238-241.
[15] XU X,WU X,WANG Q,et al. Immunomodulatory effects of alginate oligosaccharides on murine macrophage RAW264.7 cells and their structure-activity relationships[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2014,62(14):3168-3176.
[16] 李佳琪,汤洁,李明月,等. 不同分子量的褐藻寡糖对黄瓜幼苗光合作用及生长的影响[J]. 中国农业大学学报,2018,23(9):53-59.
[17] 陈芊如,李振,汪娴娴,等. 不同海洋寡糖对烟草生长、根际土壤特征和养分吸收的影响[J]. 山东农业科学,2021,53(10):72-78.
[18] NATSUME M,KAMO Y,HIRAYAMA M,et al. Isolation and characterization of alginate-derived oligosaccharides with root growth-promoting activities[J]. **Carbohydrate Research**,1994,258(6):187-197.
[19] MA L. Effects of alginate-derived oligosaccharide on seed germination and some physiological characters of seedlings in garden pea (*Pisum sativum* L.)[J]. **Plant Physiology Communications**,2007,43(6):1097-1100.
[20] LIU R,JIANG X,GUAN H,et al. Promotive effects of alginate-derived oligosaccharides on the inducing drought resistance of tomato[J]. **Journal of Ocean University of China**,2009,8(3):303-311.
[21] 李倩,杨锐,孙辉,等. 大型海藻功能物质在农业生产中的应用[J]. 生物学杂志,2018,35(5):99-103.
[22] ANTONIO M,ANDREA S,NUNZIACARLA S,et al. *Gracilaria gracilis*,source of agar:a short review[J]. **Current Organic Chemistry**,2017,21(5):380-386.
[23] ENOKI T,OKUDA S,KUDO Y,et al. Oligosaccharides from agar inhibit pro-inflammatory mediator release by inducing heme oxygenase 1[J]. **Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan**,2010,74(4):766-770.
[24] TATSUJI E,HIROAKI S,TAKESHI S,et al. *In vitro* and *in vivo* investigation for biological activities of neoagarooligosaccharides prepared by hydrolyzing agar with β-agarase[J]. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**,2017,22:1-3.
[25] HU B,GONG Q,WANG Y,et al. Prebiotic effects of neoagaro-oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis of agarose[J]. **Anaerobe**,2006,12(5-6):260-266.
[26] ZHANG Y H,SONG X N,LIN Y,et al. Antioxidant capacity and prebiotic effects of *Gracilaria neoagaro* oligosaccharides prepared by agarase hydrolysis[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2019,137:177-186.
[27] 陈海敏,严小军. 琼脂寡糖对糖尿病小鼠血糖和氧化 - 抗氧化态的效应[J]. 营养学报,2006,28(2):152-155.
[28] 赵雪,薛长湖,徐强,等. 琼胶寡糖体外清除自由基活性的研究[J]. 中国水产科学,2002,9(3):280-282.
[29] HIGASHIMURA Y,NAITO Y,TAKAGI T,et al. Preventive effect of agaro-oligosaccharides on non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal injury in mice[J]. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**,2014,29(2):310-317.
[30] HIGASHIMURA Y,NAITO Y,TAKAGI T,et al. Oligosaccharides from agar inhibit murine intestinal inflammation through the induction of heme oxygenase-1 expression[J]. **Journal of Gastroenterology**,2013,48(8):897-909.
[31] 王秀娟,陈海敏,严小军. 琼胶寡糖诱导菜豆活性氧相关防御及机理初探[J]. 中国生物防治学报,2011,27(2):254-259.

[32] 李倩，杨锐，陈海敏. 琼胶寡糖对秋葵生长及品质的影响[J]. 核农学报，2019，33(7)：1465-1471.
[33] ZHU N，YAO Z. Research progress on carrageenan oligosaccharides[J]. **Chemistry & Bioengineering**，2009，6(10)：9-12.
[34] SUN Y，YANG B，WU Y，et al. Structural characterization and antioxidant activities of κ-carrageenan oligosaccharides degraded by different methods[J]. **Food Chemistry**，2015，178：311-318.
[35] YUAN H，ZHANG W，LI X，et al. Preparation and in vitro antioxidant activity of κ-carrageenan oligosaccharides and their oversulfated，acetylated，and phosphorylated derivatives[J]. **Carbohydrate Research**，2005，340(4)：685-692.
[36] YUAN H，SONG J，LI X，et al. Immunomodulation and antitumor activity of κ-carrageenan oligosaccharides[J]. **Cancer Letters**，2006，243(2)：228-234.
[37] YAO Z A，XU L，WU H G. Immunomodulatory function of κ-carrageenan oligosaccharides acting on LPS-activated microglial cells[J]. **Neurochemical Research**，2014，39(2)：333-343.
[38] WANG W，ZHANG P，HAO C，et al. In vitro inhibitory effect of carrageenan oligosaccharide on influenza A H1N1 virus[J]. **Antiviral Research**，2011，92(2)：237-246.
[39] QIANG S，QIANG G，PING XW，et al. Specific inhibitory effect of κ-carrageenan polysaccharide on swine pandemic 2009 H1N1 influenza virus[J]. **Plos One**，2015，10(5)：e0126577.
[40] XU L，YAO Z，WU H，et al. The immune regulation of κ-carrageenan oligosaccharide and its desulfated derivatives on LPS-activated microglial cells[J]. **Neurochemistry International**，2012，61(5)：689-696.
[41] GONZALEZ OCAMPO J I，BASSOUS N，OSSA OROZCO C P，et al. Evaluation of cytotoxicity and antimicrobial activity of an injectable bone substitute of carrageenan and nano hydroxyapatite[J]. **Journal of Biomedical Materials Research**，2018，106(11)：2984-2993.
[42] SUN T，TAO H N，ZHOU D X，et al. Antioxidant activity of phthaloyl derivative of κ-carrageenan oligosaccharides[J]. **Natural Product Research Development**，2011，23：530-533.
[43] YUAN HM，SONG JM，ZHANG WW，et al. Antioxidant activity and cytoprotective effect of kappa-carrageenan oligosaccharides and their different derivatives[J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**，2006，16(5)：1329-1334.
[44] HOLTKAMP AD，KELLY S，ULBER R，et al. Fucoidans and fucoidanases—focus on techniques for molecular structure elucidation and modification of marine polysaccharides[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2009，82(1)：1-11.
[45] ZHAO X，WANG J F，XUE C H. The inhibitory effects of fucoidans from *Laminaria japonica* on oxidation of human low-density lipoproteins[J]. **Advanced Materials Research**，2011，236-238：2067-2071.
[46] YANG L，WANG P，WANG H，et al. Fucoidan derived from *Undaria pinnatifida* induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells via the ROS-mediated mitochondrial pathway[J]. **Marine Drugs**，2013，11(6)：1961-1976.
[47] JEONG B E，KO E J，JOO H G. Cytoprotective effects of fucoidan，an algae-derived polysaccharide on 5-fluorouracil-treated dendritic cells[J]. **Food and Chemical Toxicology**，2012，50(5)：1480-1484.
[48] TATYANA K，NATALYA B，LARISA S，et al. Fucoidan extracted from Fucus evanescens prevents endotoxin-induced damage in a mouse model of endotoxemia[J]. **Marine Drugs**，2014，12(2)：886-898.
[49] DURAND E，HELLEY D，AL HAJ ZEN A，et al. Effect of low molecular weight fucoidan and low molecular weight heparin in a rabbit model of arterial thrombosis[J]. **Journal of Vascular Research**，2008，45(6)：529-537.
[50] CHEN S H，WANG W M，LIU H，et al. Study on the purification and lowing hyperlipidemia activity of fucoidan from *Sargassum henslowianum*[J]. **Food Fermentation Industries**，2010，36(5)：28-31.
[51] SHU Z，SHI X，NIE D，et al. Low-molecular-weight fucoidan inhibits the viability and invasiveness and triggers apoptosis in IL-1β-treated human rheumatoid arthritis fibroblast synoviocytes[J]. **Inflammation**，2015，38(5)：1777-1786.
[52] AZOFEIFA K，ANGULO Y，LOMONTE B. Ability of fucoidan to prevent muscle necrosis induced by snake venom myotoxins：comparison of high- and low-molecular weight fractions[J]. **Toxicon**，2008，51(3)：373-380.
[53] WONG T Y，PRESTON L A，SCHILLER N L. Alginate lyase：review of major sources and enzyme characteristics，structure-function analysis，biological roles，and applications[J]. **Annual Review of Microbiology**，2000，54(1)：289-340.
[54] LEE S I，CHOI S H，LEE E Y，et al. Molecular cloning，purification，and characterization of a novel polyMG-specific alginate lyase responsible for alginate MG block degradation in *Stenotrophomas maltophilia* KJ-2 [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2012，95(6)：1643-1653.

[55] YAN J,CHEN P,ZENG Y,et al. The characterization and modification of a novel bifunctional and robust alginate lyase derived from *Marinimicrobium* sp. H1[J]. **Marine Drugs**,2019,17(10):545.
[56] PEI X,CHANG Y,SHEN J. Cloning,expression and characterization of an endo-acting bifunctional alginate lyase of marine bacterium Wenyingzhuangia fucanilytica[J]. **Protein Expression and Purification**,2019,154:44-51.
[57] HUANG G,WANG Q,LU M,et al. AlgM4:a new salt-activated alginate lyase of the PL7 family with endolytic activity[J]. **Marine Drugs**,2018,16(4):120.
[58] WANG Y,CHEN X,BI X,et al. Characterization of an alkaline alginate lyase with pH-stable and thermo-tolerance property[J]. **Marine Drugs**,2019,17(5):308.
[59] ZHU B,NING L,JIANG Y,et al. Biochemical characterization and degradation pattern of a novel endo-type bifunctional alginate lyase *AlyA from marine* bacterium Isoptericola halotolerans[J]. **Marine Drugs**,2018,16(8):258.
[60]ZHU B,SUN Y,NI F,et al. Characterization of a new endo-type alginate lyase from *Vibrio* sp.NJU-03[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,108:1140-1147.
[61] ZHU B,NI F,NING L,et al. Cloning and characterization of a new pH-stable alginate lyase with high salt tolerance from marine *Vibrio* sp NJ-04[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,115:1063-1070.
[62] ZHU X,LI X,SHI H,et al. Characterization of a novel alginate lyase from marine bacterium *Vibrio furnissii* H1[J]. **Marine Drugs**,2018,16(1):30.
[63] SWIFT S M,HUDGENS J W,HESELPOTH R D,et al. Characterization of AlgMsp,an alginate lyase from *Microbulbifer* sp. 6532A[J]. **PLoS One**,2014,9(11):e112939.
[64] YAN F,CHEN J,CAI T,et al. Cloning,expression,and characterization of a novel endo-type alginate lyase from *Microbulbifer* sp. BY17[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,2022,102(11):4522-4531.
[65] NGUYEN T N T,CHATAWAY T,ARAUJO R,et al. Purification and characterization of a novel alginate lyase from a marine *Streptomyces* species isolated from seaweed[J]. **Marine Drugs**,2021,19(11):590.
[66]ZHOU HX,XU SS,YIN XJ,et al. Characterization of a new bifunctional and cold-adapted polysaccharide lyase (PL) family 7 alginate lyase from *Flavobacterium* sp[J]. **Marine Drugs**,2020,18(8):388.
[67] BELIK A,SILCHENKO A,MALYARENKO O,et al. Two new alginate lyases of PL7 and PL6 families from polysaccharide-degrading bacterium *Formosa algae* KMM 3553 T:structure,properties,and products analysis[J]. **Marine Drugs**,2020,18(2):130.
[68] LI S,YANG X,ZHANG L,et al. Cloning,expression,and characterization of a cold-adapted and surfactant-stable alginate lyase from marine bacterium *Agarivorans* sp. L11[J]. **Journal of Microbiology and Biotechnology**,2015,25(5):681-686.
[69] DUAN G,HAN F,YU W. Cloning,sequence analysis,and expression of gene alyPI encoding an alginate lyase from marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. CY24[J]. **Canadian Journal of Microbiology**,2009,55(9):1113-1118.
[70] MIYAKE O,OCHIAI A,HASHIMOT W,et al. Origin and diversity of alginate lyases of families PL-5 and -7 in *Sphingomonas* sp. Strain A1[J]. **Journal of Bacteriology**,2004,186(9):2891-2896.
[71] HAN F,GONG Q H,SONG K,et al. Cloning,sequence analysis and expression of gene alyVI encoding alginate lyase from marine bacterium *Vibrio* sp. QY101[J]. **DNA Sequence**,2004,15(5-6):344-350.
[72] HASHIMOTO W,MIYAKE O,OCHIAI A,et al. Molecular identification of *Sphingomonas* sp. A1 alginate lyase (A1-IV') as a member of novel polysaccharide lyase family 15 and implications in alginate lyase evolution[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**,2005,99(1):48-54.
[73] PARK D,JAGTAP S,NAIR SK. Structure of a PL17 family alginate lyase demonstrates functional similarities among exotype depolymerases[J]. **Journal of Biological Chemistry**,2014,289(12):8645-8655.
[74] YU Z,ZHU B,WANG W,et al. Characterization of a new oligoalginate lyase from marine bacterium *Vibrio* sp[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,112:937-942.
[75] PARK H H,KAM N,LEE E Y,et al. Cloning and characterization of a novel oligoalginate lyase from a newly isolated bacterium *Sphingomonas* sp. MJ-3[J]. **Marine Biotechnology**,2012,14(2):189-202.
[76] DONG S,WEI T D,CHEN X L,et al. Molecular insight into the role of the N-terminal extension in the maturation,substrate recognition,and catalysis of a bacterial alginate lyase from polysaccharide lyase family 18[J]. **Journal of Biological Chemistry**,

2014，289(43)：29558-29569.
[77] GAO S K，YIN R，WANG X C，et al. Structure characteristics，biochemical properties，and pharmaceutical applications of alginate lyases[J]. **Marine Drugs**，2021，19(11)：628.
[78] ZHU B，YIN H. Alginate lyase：review of major sources and classification，properties，structure-function analysis and applications [J]. **Bioengineered**，2015，6(3)：125-131.
[79] LI S Y，WANG Z P，WANG L N，et al. Combined enzymatic hydrolysis and selective fermentation for green production of alginate oligosaccharides from *Laminaria japonica*[J]. **Bioresource Technology**，2019，281：84-89.
[80] SUN C，ZHOU J，DUAN G，et al. Hydrolyzing Laminaria japonica with a combination of microbial alginate lyase and cellulase [J]. **Bioresource Technology**，2020，311：123548.
[81] ZHANG W，XU J，LIU D，et al. Characterization of an α-agarase from *Thalassomonas* sp. LD5 and its hydrolysate[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2018，102(5)：2203-2212.
[82] KIRIMURA K，MASUDA N，IWASAKI Y，et al. Purification and characterization of a novel β-agarase from an alkalophylic bacterium，*Alteromonas* sp. E-1[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**，1999，87(4)：436-441.
[83] JIANG C，LIU Z，CHENG D，et al. Agarose degradation for utilization：Enzymes，pathways，metabolic engineering methods and products[J]. **Biotechnology Advances**，2020，45：107641.
[84] YAN J，CHEN P，ZENG Y，et al. Production of neoagarobiose from agar through a dual-enzyme and two-stage hydrolysis strategy [J]. **International Journal of Biological Macromolecules**，2020，160：288-295.
[85] OHTA Y，NOGI Y，MIYAZAKI M，et al. Enzymatic properties and nucleotide and amino acid sequences of a thermostable beta-agarase from the novel marine isolate，JAMB-A94[J]. **Bioscience，Biotechnology and Biochemistry**，2004，68(5)：1073-1081.
[86] OHTA Y，HATADA Y，NOGI Y，et al. Enzymatic properties and nucleotide and amino acid sequences of athermostable beta-agarase from a novel species of deep-sea microbulbifer[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2004，64(4)：505-514.
[87] LONG M，YU Z，XU X. A novel beta-agarase with high pH stability from marine *Agarivorans* sp. LQ48[J]. **Marine Biotechnology**，2010，12(1)：62-69.
[88] FU XT，PAN CH，LIN H，et al. Gene cloning，expression，and characterization of a beta-agarase，agaB34，from *Agarivorans albus* YKW-34[J]. **Journal of Microbiology and Biotechnology**，2009，19(3)：257-264.
[89] DONG J，TAMARU Y，ARAKI T. A unique beta-agarase，AgaA，from a marine bacterium，*Vibrio* sp. strain PO-303[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2007，74(6)：1248-1255.
[90] JAM M，FLAMENT D，ALLOUCH J，et al. The endo-beta-agarases AgaA and AgaB from the marine bacterium *Zobellia galactanivorans*：two paralogue enzymes with different molecular organizations and catalytic behaviours[J]. **Biochemical Journal**，2005，385(3)：703-713.
[91] LIU Y，TIAN X，PENG C，et al. Isolation and characterization of an eosinophilic GH16 β-agarase（AgaDL6）from an agar-degrading marine bacterium *Flammeovirga* sp. HQM9[J]. **Journal of Microbiology and Biotechnology**，2019，29(2)：235-243.
[92] CUI X，JIANG Y，CHANG L，et al. Heterologous expression of an agarase gene in *Bacillus subtilis*，and characterization of the agarase[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**，2018，120：657-664.
[93] KIM HT，LEE S，LEE D，et al. Overexpression and molecular characterization of Aga50D from *Saccharophagus degradans* 2-40：an exotype beta-agarase producing neoagarobiose[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2010，86(1)：227-234.
[94] HAN W，CHENG Y，WANG D，et al. Biochemical characteristics and substrate degradation pattern of a novel exo-type β-agarase from the polysaccharide-degrading marine bacterium *Flammeovirga* sp. strain MY04[J]. **Applied and Environmental Microbiology**，2016，82(16)：4944-4954.
[95] TEMUUJIN U，CHI W J，CHANG Y K，et al. Identification and biochemical characterization of Sco3487 from *Streptomyces coelicolor* A3(2)，an exo- and endo-type β-agarase-producing neoagarobiose[J]. **Journal of Bacteriology**，2012，194 (1)：142-149.
[96] LIANG Y，MA X，ZHANG L，et al. Biochemical characterization and substrate degradation mode of a novel exotype β-agarase from *Agarivorans gilvus* WH0801[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**，2017，65(36)：7982-7988.
[97] LI G，SUN M，WU J ，et al. Identification and biochemical characterization of a novel endo-type β-agarase AgaW from *Cohnella* sp. strain LGH[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2015，99(23)：10019-10029.

[98] LIAO L,XU X W,JIANG X W,et al. Cloning,expression,and characterization of a new beta-agarase from *Vibrio* sp. strain CN41[J]. **Applied and Environmental Microbiology**,2011,77(19):7077-7079.
[99] OHTA Y,HATADA Y,ITO S,et al. High-level expression of a neoagarobioseproducing beta-agarase gene from *Agarivorans* sp. JAMB-A11 in *Bacillus subtilis* and enzymic properties of the recombinant enzyme[J]. **Biotechnology and Applied Biochemistry**,2005,41(2):183-191.
[100] LEE D G,PARK G T,KIM N Y,et al. Cloning,expression,and characterization of a glycoside hydrolase family 50 beta-agarase from a marine *Agarivorans isolate*[J]. **Biotechnology Letters**,2006,28(23):1925-1932.
[101] FU X T,LIN H,KIM S M. Purification and characterization of a novel beta-agarase,AgaA34,from *Agarivorans albus* YKW-34 [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2008,78(2):265-273.
[102] SONG T,WANG X,WU M,et al. Agarase cocktail from agar polysaccharide utilization loci converts homogenized *Gelidium amansii* into neoagarooligosaccharides[J]. **Food Chemistry**,2021,352:128685.
[103] JEON E J,CHOI J W,CHO M S,et al. Enhanced production of neoagarobiose from agar with *Corynebacterium glutamicum* producing exo-type and endo-type β-agarases[J]. **Microbial Biotechnology**,2021,14(5):2164-2175.
[104] GHANBARZADEH M,GOLMORADIZADEH A,HOMAEI A. Carrageenans and carrageenases:versatile polysaccharides and promising marine enzymes[J]. **Phytochemistry Reviews**,2018,17(3):535-537.
[105] DUAN F,YU Y,LIU Z,et al. An effective method for the preparation of carrageenan oligosaccharides directly from *Eucheuma cottonii* using cellulase and recombinant κ-carrageenase[J]. **Algal Research**,2016,15:93-99.
[106] YAO Z,WANG F,GAO Z,et al. Characterization of a κ-carrageenase from marine *Cellulophaga lytica* strain N5-2 and analysis of its degradation products[J]. **International Journal of Molecular Sciences**,2013,14(12):24592-24602.
[107] BAKUNINA IY,NEDASHKOVSKAYA OI,ALEKSEEVA SA,et al. Degradation of fucoidan by the marine proteobacterium *Pseudoalteromonas citrea*[J]. **Microbiology**,2002,71(1):41-47.
[108] WANG Y,LI B,ZHAO X,et al. Isolation and characterization of a fucoidan-degrading bacterium from *Laminaria japonica*[J]. **Journal of Ocean University of China**,2014,13(1):153-156.
[109] JAGTAP A S,MANOHAR C S. Overview on microbial enzymatic production of algal oligosaccharides for nutraceutical applications[J]. **Marine Biotechnology**,2021,23(2):159-176.

科　技　信　息

美国拟制订食品中双酚 A 的最大限量

2022 年 7 月 8 日,美国联邦公报消息,美国食药局(FDA)发布 2022-14682 号公告,拟取消或限制双酚 A 作为食品添加剂的使用授权,同时将其在食品中的最大限量制订为 0.5 ng/kg。该公告将在 2022 年 7 月 11 日的联邦公报上正式发布,意见征集期 60 日。

[信息来源]海关总署.美国拟制订食品中双酚 A 的最大限量[EB/OL]. (2022-7-12). http://www.tbt.org.cn/warningDetail.html?id=A16VKmRXrdAAjI48BcElMbCyqgZST3qREV3lGML