

马尾藻岩藻聚糖分离纯化及对 HepG2 细胞胆固醇含量的影响

Separation and purification of fucoidan from *Sargassum* and its effect on cholesterol in HepG2 Cells

刘海韵¹ 谌素华^{1,2} 王维民¹ 黄娟娟¹ 廖森泰³

LIU Hai-yun¹ CHEN Su-hua^{1,2} WANG Wei-min¹ HUANG Juan-juan¹ LIAO Sen-tai³

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088; 3. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东 广州 510610)

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Sericulture & Farm Produce Processing Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510610, China)

摘要:采用 DEAE C-52 纤维素阴离子交换层析法对亨氏马尾藻岩藻聚糖进行分级纯化, 将得率最高的组分命名为 HF1, 对其进行自由基氧化降解得到 HDF1 和 HDF2, 取回收率较高的 HDF2 采用 Superdex 75 凝胶柱层析法分离纯化得到 HDF21 和 HDF22 2 种组分。体外培养 HepG2 细胞, 将不同浓度的各组分作用于 HepG2 细胞, 测定细胞内胆固醇含量。结果表明: 经过降解, HDF1 的多糖含量、硫酸基含量和岩藻糖含量均高于 HF1, 但糖醛酸含量低于 HF1。降解作用对 HDF21 的化学成分影响最大。HF1、HDF1、HDF21、HDF22 4 种组分作用于 HepG2 细胞后均能降低细胞内胆固醇含量, 并且在高浓度(500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)时效果最好; 高浓度组作用于细胞 72 h 后细胞内胆固醇含量均极显著降低($P < 0.01$), 并且以 HDF21 降胆固醇效果最佳。

关键词:马尾藻; 岩藻聚糖; 分离; 纯化; 降解; HepG2 细胞; 胆固醇

Abstract: DEAE C-52 cellulose anion exchange chromatography was used to fractionate and purify the fucoidan from *Sargassum henslowianum*. The highest yielding fraction was named HF1. And free radical oxidative degradation was used to obtain HDF1 and HDF2. The higher HDF2 was separated and purified using Superdex 75 gel

基金项目:广东省自然科学基金项目(编号: 2015A030313618); 2015 年广东省联合培养研究生示范基地项目(编号: 粤教研函[2016] 1 号)

作者简介: 刘海韵, 男, 广东海洋大学在读硕士研究生。

通信作者: 王维民(1958—), 男, 广东海洋大学教授, 博士。

E-mail: wwaa1816@163.com

收稿日期: 2018-05-08

column chromatography to obtain HDF21 and HDF22 components. HepG2 cells were cultivated in vitro and it were affected with different concentrations of each component to determine the intracellular cholesterol content. The results showed that after degradation, the polysaccharide content, sulfate content and fucose content of HDF1 were higher than HF1, but the uronic acid content was lower than HF1. The degradation had the greatest influence on the chemical composition of HDF21. The four components of HF1, HDF1, HDF21 and HDF22 could reduce the intracellular cholesterol content after HepG2 cells were treated, and the best effect was at high concentration (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$). After 72 hours of treatment in high concentration group, the intracellular cholesterol content was decreased most significantly ($P < 0.01$), and HDF21 had the best cholesterol-lowering effect.

Keywords: *Sargassum*; fucoidan; separation; purification; degradation; HepG2 cells; cholesterol

中国马尾藻资源丰富, 主要分布在西沙群岛、南沙群岛、碓洲岛、海南岛、涠洲岛等海域中, 且分布在近海岸, 易获得^[1]。岩藻聚糖是马尾藻的主要活性物质, 具有降血脂^[2]、抗氧化^[3]、抗癌^[4]、抗肿瘤^[5]、抗病毒^[6]、抗凝血^[7]、抗血栓^[8]、提高免疫力^[9]等作用, 其生物活性与硫酸根的位置及数量有直接的关系^[10]。有研究表明海藻中提取的岩藻聚糖可以有效地降低血清中胆固醇含量, 如 Park 等^[11]研究表明岩藻聚糖通过调节 SREBP-2 以调节肝脏中胆固醇和甘油三酯合成的关键酶的表达来改善血清脂质水平; Uehara 等^[12]研究表明 ATP 结合盒转运子 ABCA1 是细胞内胆固醇逆转

运的重要调节因子,也是促进胆固醇逆转运(RCT)过程中的关键转运体和受体,主要介导血管壁上的巨噬细胞或其他细胞内的胆固醇及磷脂流出,促进 RCT,调节脂代谢紊乱;谌素华等^[13]通过建立高脂血症小鼠模型,研究了马尾藻岩藻聚糖对脂代谢相关酶和胆固醇合成关键酶的影响,研究表明岩藻聚糖能够显著增加血清卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)、肝脂酶(HL)、脂蛋白脂酶(LPL)和肝脏 LCAT、LPL 活性,增加脂蛋白代谢的关键酶,加速总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白(LDL)的分解代谢,或通过抑制胆固醇合成酶 HMG-CoA 还原酶降低胆固醇的合成。

采用常规水提方式提取岩藻聚糖的分子量较大,不易被生物吸收利用,其活性也往往不佳^[14],所以将纯化的岩藻聚糖降解后再进行相关活性研究越来越受到关注。蔡璐^{[15]1-2}采用酸降解法获得了低分子量的岩藻聚糖组分,并且用于小鼠的体内试验。但酸降解法有污染较重、反应条件难以控制、硫酸基损失较大且降解结束后必须纯化以除去酸等不足^[16],不利于进一步的活性研究,所以本研究拟采用污染小、更高效、硫酸基保护效果优异^[17-18]的基于过氧化氢—抗坏血酸体系的自由基氧化降解法^[19-20]得到低分子量的岩藻聚糖。本研究拟采用体外培养细胞的方式探讨各不同组分对 HepG2 细胞胆固醇含量的影响,以期与小鼠体内试验形成相互对照。由于动物体内的脂质代谢途径十分复杂,不确定因素太多,所以并不能仅仅依靠小鼠体内试验就能完全定论岩藻聚糖具有良好的降血脂活性,还需要体外细胞试验来进一步论证。所以还采用不同分子量的岩藻聚糖,以期使试验结果具有更多的延展性,能够更为全面地论证岩藻聚糖的降血脂活性。本研究旨在为治疗高胆固醇血症提供一定的理论基础,同时为马尾藻资源利用及岩藻聚糖生物活性开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

亨氏马尾藻:2017年3月采摘于广东湛江硇洲岛海域,将采摘的亨氏马尾藻除去烂叶、黄叶、根等不可食部分,反复用自来水冲洗干净,在50℃烘干后粉碎,过80目筛,干燥后装袋贮藏备用;

HepG2 人体肝癌细胞:北纳创联生物技术有限公司;

DEAE C-52 纤维素、BCA 蛋白浓度测定试剂盒:北京鼎国昌盛生物科技有限公司;

Superdex 75 葡聚糖凝胶:美国通用电气公司;

DMEM 培养液、FBS(胎牛血清)、PS(双抗)、PBS 磷酸缓冲液、DMSO(二甲基亚砷)、0.25%胰蛋白酶-EDTA 溶液、MTT(噻唑蓝):西格玛奥德里奇公司;

组织总胆固醇试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.1.2 主要仪器设备

电子天平:AW120 型,日本岛津公司;

真空冷冻干燥机:FD8508 型,韩国 Ilshin 公司;

CO₂ 培养箱:MC0175 型,日本三洋电机株式会社;

智能型倒置荧光显微镜:DMI4000B 型,德国徕卡微系统有限公司;

全自动酶标仪:Varioskan Flash 型,美国热电公司。

1.2 试验方法

1.2.1 粗多糖的制取 将过筛后的马尾藻粉按料液比 1:30(体积比)配成溶液,以 60℃、350 W 超声 50 min,然后在 80℃的恒温水浴浸提 3.5 h。弃去沉淀,45℃旋转蒸发浓缩。加乙醇至体积分数为 30%,滤除沉淀;继续加乙醇至体积分数为 80%,取沉淀用丙酮和无水乙醇交替洗涤各 2 次。将沉淀用少量水溶解,按多糖溶液:Sevag 试剂=5:1(体积比)的比例加入 Sevag 试剂(氯仿:正丁醇=4:1,体积比)进行脱蛋白。透析并真空冷冻干燥^{[15]13}得粗多糖。

1.2.2 DEAE C-52 纤维素阴离子交换层析 将 DEAE C-52 纤维素用蒸馏水清洗干净,装入 2.6 cm×60 cm 的玻璃层析柱,至距离柱顶约 5 cm 处时停止装柱,以蒸馏水平衡柱子。称取 200 mg 粗多糖溶于 20 mL 蒸馏水,依次用蒸馏水和 1.3,2.3,3.0 mol/L NaCl 进行分级洗脱。流速为 1 mL/min,分步收集(5 mL/管),以硫酸—苯酚法在 490 nm 处跟踪检测,分别收集洗脱峰,直至无糖组分流出,依吸光度对洗脱液管号作图,得到洗脱曲线。合并相同峰位组分,透析 48 h 除盐,45℃旋转蒸发浓缩,真空冷冻干燥^{[21]13}得到 HF0、HF1、HF2 和 HF3,其得率分别为 13.98%,67.80%,17.04%,0.24%。

1.2.3 过氧化氢—抗坏血酸体系氧化降解 称取回收率最高的 HF1 组分 300 mg,加入 20 mL 蒸馏水溶解,于 30℃的恒温水中加入 0.103 6 g 抗坏血酸,边搅拌边加入 2%的过氧化氢 1 mL,另称取 300 mg 的 HF1,加入 20 mL 蒸馏水溶解,于 30℃的恒温水中加入 0.259 0 g 抗坏血酸,边搅拌边加入 5%的过氧化氢 1 mL,加完后开始搅拌计时,反应 2 h 后 3 600 r/min 离心 10 min,弃沉淀,透析 72 h 后经 45℃旋转蒸发浓缩,真空冷冻干燥^{[21]13}得到 HDF1 和 HDF2。

1.2.4 Superdex 75 葡聚糖凝胶层析 将 Superdex 75 葡聚糖凝胶用蒸馏水清洗干净,装入 1.6 cm×80 cm 的玻璃层析柱,至距离柱顶约 5 cm 处时停止装柱,以已过 0.22 μm 微孔滤膜的 0.5 mol/L NaCl 平衡柱子。将得率较高的 HDF2 用适量蒸馏水溶解,以已过膜的 0.5 mol/L NaCl 为洗脱液,洗脱速度为 6 s/滴,每管收集 3 mL,用苯酚—硫酸法测定吸光值,确定峰的变化,收集同一峰的多糖组分,经过透析、45℃旋转蒸发浓缩,真空冷冻干燥^{[21]14}得到 HDF21 和 HDF22。

由于 HF0 为中性多糖组分,无理想生物活性,HF2、HF3 回收率不高,HDF2 全部用于了 Superdex 75 葡聚糖凝胶层析。所以本研究最终选择 HF1、HDF1、HDF21 和 HDF22 4 种组分做进一步研究。

1.2.5 化学成分分析

(1) 多糖含量测定:苯酚—硫酸法^[22]。

(2) 硫酸基含量测定:氯化钡—明胶比浊法^[23]。

(3) 岩藻糖测定:半胱氨酸盐酸盐法^[24]。

(4) 葡萄糖醛酸含量测定:改良的呋唑比色法^[25]。

1.2.6 HepG2 细胞培养试剂配置

(1) 完全培养液:89% DMEM+10% FBS+1% PS。

(2) 细胞冻存液:50% DMEM+40% FBS+10% DM-SO。

(3) 5 mg/mL MTT:称取 25 mg MTT 溶于 5 mL PBS 缓冲液中,避光,晃动一段时间后置于超声波中使其充分溶解,-20 °C 保存,使用前用完全培养基稀释成 0.5 mg/mL。

(4) 2 mg/mL 多糖母液:分别称取 10 mg HF1、HDF1、HDF21 和 HDF22 溶于 5 mL DMEM 中,浓度为 2 mg/mL,置于 4 °C 下保存备用,试验前用 DMEM 稀释成需要的浓度,过 0.22 μm 针式滤膜。

1.2.7 HepG2 细胞的复苏、培养、传代及冻存

(1) 细胞复苏:取出细胞冻存管,放入流动的 37 °C 水中,期间不断摇晃使细胞冻存液融化。加入适量的完全培养液,1 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,加入适量的完全培养基后移入培养瓶中,于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养,次日更换培养基继续培养,并观察细胞形态。

(2) 细胞传代培养:从培养箱中取出细胞培养瓶,用酒精喷在培养瓶表面消毒后,在倒置显微镜下观察到细胞汇合度在 70%~80% 时即可进行细胞传代,在超净工作台中操作,弃去培养瓶中旧的培养液,加入 0.01 mol/L PBS 缓冲液 1 mL,洗涤细胞 2 次,吸出 PBS 缓冲液。再加入 0.25% 的胰蛋白酶 2 mL,于培养箱中消化 3 min,观察细胞形态,此时细胞质回缩变圆,细胞间隙变大即可加入 2 mL 完全培养液终止消化。将细胞悬液转移到 15 mL 离心管中,1 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,按一定的比例加入完全培养基吹打均匀,取 10 μL 于计数板上计数,按计数结果进行稀释,分装到新的培养瓶中静置培养。

(3) 细胞冻存:选择处于对数生长期的细胞,更换新的培养液培养过夜,次日将细胞进行消化,终止消化后,转移到 15 mL 离心管中,1 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,按比例加入细胞冻存液,吹打摇晃均匀。每管吸取 1 mL 分装到冻存管中,标好日期和名称后分别于 4 °C 冷冻 30 min,-20 °C 冷冻 1 h,最终在-80 °C 冻存。

1.2.8 MTT 法制作 HepG2 细胞生长曲线 在倒置显微镜下观察到细胞汇合度在 80% 左右时将细胞消化处理,然后用完全培养基将细胞浓度调整为 5×10⁴ 个/mL 接种在 96 孔板上于培养箱内培养,每天同一时间取竖排的 8 孔细胞进行 MTT 法处理,得到 OD 值,以时间为横坐标,OD 值为纵坐标绘制细胞生长曲线。

1.2.9 不同浓度组分及其对 HepG2 细胞胆固醇含量的影响

将多糖样品 HF1、HDF1、HDF21、HDF22 分别设 2 个浓度组,低浓度组(125 μg/mL)和高浓度组(500 μg/mL),并设立空白组。

(1) 细胞铺板:将处于对数生长期的细胞消化制成细胞悬液,稀释成 1×10⁵ 个/mL,接种在 6 孔板中,每孔 2 mL 3 组平行,于培养箱中培养。

(2) TC 含量的测定:待细胞汇合度达 60%~70% 时,弃去旧的培养液,用 PBS 洗 2 次后加入 DMEM 稀释的多糖组分 2 mL,分别培养 24,48,72 h 后弃去培养液,用 PBS 洗 2 次,再分 2 次加入 1 mL PBS 溶液,用刮板把 6 孔板中的细胞

完全转移到 1.5 mL 离心管中。于 1 000 r/min 离心 5 min 后弃上清液,加入胆固醇试剂盒中 100 μL 的细胞裂解液,漩涡震荡 30 s 后静置 5 min,反复 3 次共裂解 25 min;于 1 500 r/min 离心 5 min,取上清液。

(3) 配制工作液:R1 与 R2 体积比为 4:1,混匀,立即使用。

(4) 标准品稀释:将 5 mmol/L 胆固醇标准品用无水乙醇稀释为 1 250.0,625.0,312.5,156.0,78.0,39.0 μmol/L。取 10 μL 于 96 孔板中,并设立空白对照组,3 个平行;分别取 10 μL 待测样品加入 96 孔板中,3 组平行,每孔加入 190 μL 工作液,充分摇匀,37 °C 反应 20 min 后于 550 nm 处测 OD 值。由标准曲线计算出各样品中胆固醇含量。

1.3 统计学分析

试验数据采用 SPSS 19.0 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用单因素方差分析,多组间比较用 *t* 检验法。*P*<0.05 说明有显著性差异,用 * 表示;*P*<0.01 说明极显著性差异,用 ** 表示。

2 结果与分析

2.1 亨氏马尾藻岩藻聚糖化学组成

由表 1 可以看出,经过分离纯化和降解,HDF1 的多糖含量、硫酸基含量和岩藻糖含量均高于 HF1,但糖醛酸含量低于 HF1。降解后的 HDF1 的多糖含量升高了 14.14%。HDF21、HDF22 的多糖含量分别降低了 6.77% 和 8.80%,硫酸基含量分别降低了 1.20% 和 5.88%。HDF22 的岩藻糖含量降低了 5.02%,HDF21 的糖醛酸含量降低了 6.98%,但 HDF21 的岩藻糖含量有明显的升高,提高了 9.47%。因此,从数据来看,降解作用对 HDF21 的化学组成影响最大。

表 1 亨氏马尾藻岩藻聚糖不同组分的化学组成

Table1 Chemical composition of different components of algae polysaccharide sulfate from *Sargassum* %

组分	多糖含量	硫酸基含量	糖醛酸含量	岩藻糖含量
HF1	35.13	16.35	12.53	15.34
HDF1	49.27	17.52	10.85	17.52
HDF21	28.36	15.15	5.55	24.81
HDF22	26.33	10.47	12.84	10.32

2.2 HepG2 细胞生长状况

由于该细胞为肝癌细胞,生长速率快,由图 1 可以看出,细胞在 48~72 h 处生长最快,处于对数生长期,而培养开始及培养后期 OD 值变化不大,这是因为细胞在最初数量较少,且处于适应环境的过程,培养一段时间之后,由于营养充足,细胞增长很快,后期由于营养物质的消耗及代谢产物的增多,细胞增长缓慢。

2.3 马尾藻岩藻聚糖不同组分对细胞内胆固醇含量的影响

由图 2 可知:细胞培养 24 h 后,与空白组相比,不同组分不同浓度的岩藻聚糖均能不同程度地降低细胞内胆固醇含量。其中 HF1 和 HDF1 在浓度为 125 μg/mL 时能极显著降

低($P < 0.01$) HepG2 细胞内胆固醇含量。而当 HF1 的浓度处于 500 $\mu\text{g/mL}$, HDF21 的浓度处于 125 $\mu\text{g/mL}$ 时,也能显著降低($P < 0.05$)细胞内胆固醇含量。

细胞培养 48 h 后,与空白组相比,只有 HF1 浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 时才能极显著降低($P < 0.01$)细胞内胆固醇含量(降低了 57.57%); HF1、HDF1 在浓度处于 125 $\mu\text{g/mL}$, HDF22 浓度处于 500 $\mu\text{g/mL}$ 时能显著降低($P < 0.05$)细胞

内胆固醇含量。其他组胆固醇水平虽然低于空白组,但是没有显著差异。

细胞经培养 72 h 后,与空白组相比,岩藻聚糖各个组分、各个浓度均能明显降低细胞内胆固醇含量。当浓度处于 125 $\mu\text{g/mL}$ 时,除了 HDF21 作用的细胞胆固醇含量没有明显变化外, HF1、HDF1、HDF22 处理的细胞胆固醇含量均有显著性降低($P < 0.05$); 而 HF1、HDF1、HDF21 和 HDF22 4 种组分的高浓度组(500 $\mu\text{g/mL}$)均能极显著降低($P < 0.01$)细胞内胆固醇含量,分别降低了 44.14%, 57.64%, 61.21%, 54.09%。

综上所述:与空白组相比, HF1、HDF1、HDF21 和 HDF22 4 种组分在低浓度和高浓度分别作用细胞 24, 48, 72 h 后均能降低细胞内胆固醇含量,其中作用 72 h 时降胆固醇作用最佳。从图 2(c)来看,浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 时的 HDF21 降胆固醇的效果最好,降低了 61.21%; 其次为 HDF1,降低了 57.64%。同一组分的高浓度样品效果好于低浓度,因此可以看出岩藻聚糖的降胆固醇作用不仅与时间有关还与浓度有关。

3 结论

将亨氏马尾藻粉依次进行超声波辅助热水浸提、乙醇分级沉淀、Sevag 法脱蛋白、透析并真空冷冻干燥后得粗多糖,采用 DEAE C-52 分级纯化得到 HF1,经自由基氧化降解得到 HDF1、HDF2, HDF2 经 Superdex 75 分离纯化得到 HDF21、HDF22。分析了 HF1、HDF1、HDF21、HDF22 的化学组成:多糖含量分别为 35.13%, 49.27%, 28.36%, 26.33%; 硫酸基含量分别为 16.35%, 17.52%, 15.15%, 10.47%; 糖醛酸含量分别为 12.53%, 10.85%, 5.55%, 12.84%; 岩藻糖含量分别为 15.34%, 17.52%, 24.81%, 10.32%。

研究了 4 种不同分子量的岩藻聚糖 HF1、HDF1、HDF21 和 HDF22 对 HepG2 细胞胆固醇含量的影响。结果表明,4 种组分作用细胞后均能降低胆固醇含量,特别是 4 种组分的高浓度(500 $\mu\text{g/mL}$)作用 72 h 均能极显著降低($P < 0.01$)细胞内胆固醇含量, HF1、HDF1、HDF21 和 HDF22 组分别降低了 44.14%, 57.64%, 61.21%, 54.09%。这表明岩藻聚糖对 HepG2 细胞内胆固醇水平的影响可能具有一定的时效与量效关系,且 4 种组分中 HDF21 降胆固醇效果最好,可能与其分子量较低及糖链上的岩藻糖含量较高有关。

本研究采用细胞体外培养方式,通过检测细胞内胆固醇含量探究了岩藻聚糖的降血脂活性。但由于脂质代谢的复杂性,岩藻聚糖的降血脂机理尚不清楚,后续试验可以在岩藻聚糖的结构解析和细胞分子生物学的层面上作进一步的探究。

参考文献

[1] 曾呈奎, 陆保仁. 中国海藻志[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 79-88.
 [2] LY B M. Structure and hypolipidaemic activity of fucoidan extracted from brown seaweed[J]. Natural Product Research, 2015, 29(5): 411-415.
 [3] HUANG Chun-yung, WU Shu-jing, YANG Wen-ning, et al.

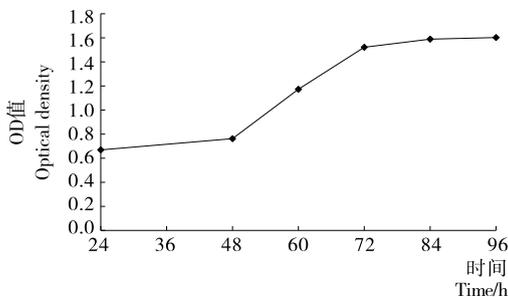
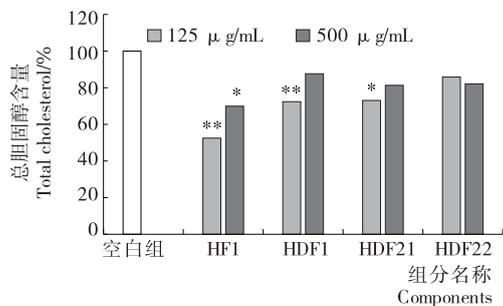
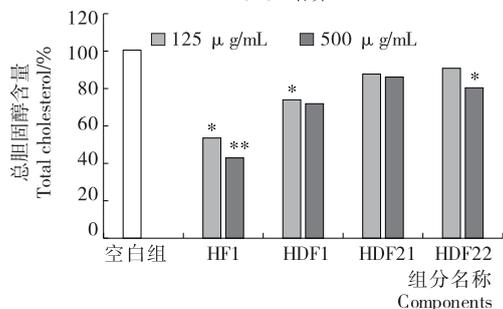


图1 HepG2 细胞生长曲线

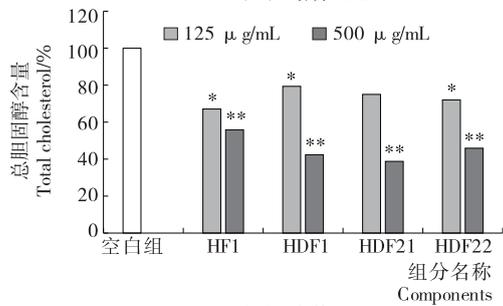
Figure 1 HepG2 cell growth curve



(a) 培养 24 h



(b) 培养 48 h



(c) 培养 72 h

图2 不同组分及浓度岩藻聚糖硫酸酯对细胞内胆固醇水平的影响

Figure 2 Effects of different components and concentrations of fucoidan sulfate on intracellular cholesterol levels

- Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process[J]. *Food Chemistry*, 2016, 197(Pt B): 1121-1129.
- [4] PALANISAMY S, VINOSHA M, MARUDHUPANDI T, et al. Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 102: 405-412.
- [5] KHOTIMCHENKO Y S. Antitumor properties of nonstarch polysaccharides: Fucoidans and chitosans[J]. *Russian Journal of Marine Biology*, 2010, 36(5): 321-330.
- [6] SIVAGNANAVELMURUGAN M, MARUDHUPANDI T, PALAVESAM A, et al. Antiviral effect of fucoidan extracted from the brown seaweed, *sargassum wightii*, on shrimp *penaeus monodon* postlarvae against white spot syndrome virus[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2012, 43(5): 697-706.
- [7] LI Bo, XU Shi-ying. Anticoagulant activity of fucoidan from the brown seaweed *Sargassum fusiform* [J]. *Natural Product Research & Development*, 2004, 281(2): 170.
- [8] MIN S K, KWON O C, LEE S, et al. An antithrombotic fucoidan, unlike heparin, does not prolong bleeding time in a murine arterial thrombosis model: a comparative study of *undaria pinnatifida* sporophylls and *Fucus vesiculosus*[J]. *Phytotherapy Research*, 2012, 26(5): 752-757.
- [9] KIM M H, JOO H G. Immunostimulatory effects of fucoidan on bone marrow-derived dendritic cells[J]. *Immunology Letters*, 2008, 115(2): 138-143.
- [10] SHANMUGAM M, MODY K H. Heparinoid-active sulphated polysaccharides from marine algae as potential blood anticoagulant agents[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1963, 40(5): A6-A40.
- [11] PARK J, YEOM M, HAHM D H. Fucoidan improves serum lipid levels and atherosclerosis through hepatic SREBP-2-mediated regulation[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2016, 131(2): 84-92.
- [12] YOSHINARI Uehara K S. High-density lipoprotein and atherosclerosis: Roles of lipid transporters[J]. *World Journal of Cardiology*, 2014, 6(10): 1049-1059.
- [13] CHEN Su-hua, WANG Wei-min, CAI Lu, et al. The regulatory effect of *sargassum fucoidan* on the lipid metabolism related enzymes and cholesterol synthesis key enzyme of hyperlipidemic mice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology*, 2017, 17(2): 10-16.
- [14] ZHAO Xue, GUO Feng-jun, HU Jing, et al. Antithrombotic activity of oral administered low molecular weight fucoidan from *Laminaria Japonica* [J]. *Thrombosis Research*, 2016, 144: 46-52.
- [15] 蔡璐. 不同分子量马尾藻岩藻聚糖硫酸酯的制备及降血脂机理的初步研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2014.
- [16] HOLTkamp A D, KELLY S, ULBER R, et al. Fucoidans and fucoidanases: focus on techniques for molecular structure elucidation and modification of marine polysaccharides[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2009, 82(1): 1.
- [17] HOU Yun, WANG Jing, JIN Wei-hua, et al. Degradation of *Laminaria japonica* fucoidan by hydrogen peroxide and antioxidant activities of the degradation products of different molecular weights[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(1): 153-159.
- [18] LAHRSEN E, LIEWERT I, ALBAN S. Gradual degradation of fucoidan from *Fucus vesiculosus* and its effect on structure, antioxidant and antiproliferative activities [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 192: 208.
- [19] ZHAO Ting-ting, ZHANG Quan-bin, QI Hui-min, et al. Degradation of porphyran from *Porphyra haitanensis* and the antioxidant activities of the degraded porphyrans with different molecular weight[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2006, 38(1): 45.
- [20] 段科, 单虎, 林英庭, 等. 自由基降解浒苔多糖及其抗氧化活性研究[J]. *饲料研究*, 2015(24): 51-55.
- [21] 廖敏. 不同分子量马尾藻岩藻聚糖硫酸酯对血栓及血管内皮细胞作用的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2017.
- [22] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28(3): 350-356.
- [23] DODGSON K S. Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters[J]. *Biochemical Journal*, 1961, 78(8): 312-319.
- [24] WINZLER R J. Methods of biochemical analysis[J]. *American Journal of Clinical Pathology*, 2006, 2(3): 279-311.
- [25] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids [J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 54(2): 484.

中国油脂 (月刊)

国内邮发代号 52-129 国外发行代号 M5889

追踪学科发展动态 报道行业最新成果 关注油脂发展热点 共谋行业创新未来

<< 全国中文核心期刊 << 中国科技核心期刊
<< 中国科学引文数据库核心期刊 << 中国核心学术期刊
<< 中国精品科技期刊 << 中国期刊方阵双效期刊
<< 第二届国家期刊奖百种重点期刊 << 第三届国家期刊奖百种重点期刊



<< 美国《化学文摘》(CA) 收录期刊
<< 俄罗斯《文摘杂志》(AJ) 收录期刊
<< 美国《剑桥科学文摘》(CSA) 收录期刊
<< 日本《科学技术文献速报》(CBST) 收录期刊
<< 英国《农业与生物科学研究中心文摘》(CABA) 收录期刊

主要栏目

专题论述/油脂加工/油脂化学/油脂深加工/油料资源/油脂营养/油脂安全/综合利用/检测分析/应用技术/生物工程等。

欢迎关注官方微信和微博



微信订阅号 新浪微博

各地邮局均可订阅, 我社常年办理邮购及逾期补订

大16开本 每本20元 全年240元

■ 银行转账: 开户单位: 西安中粮工程研究设计院有限公司

账号: 3700021709088100275 开户行: 工行西安市西关支行

地址: 陕西省西安市劳动路118号
电话: 029-88653157/88621360
E-mail: zyzoil@163.com

邮编: 710082
传真: 029-88625310
网址: www.chinaoils.cn