

不同结构褐藻胶寡糖的制备与功效研究进展

黄友涛, 梁青平, 高筱雅, 李东钰*, 牟海津*
(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘要: 褐藻胶是海洋资源中含量较为丰富的多糖类物质之一, 采用化学法、物理法、生物法等手段可以将褐藻胶降解为褐藻胶寡糖 (alginate oligosaccharides, AOS)。AOS是由 α -L-古罗糖醛酸和 β -D-甘露糖醛酸组成的直链寡糖, 具有抑菌、抗炎、调节免疫力等多种生物活性, 这些广泛的生物活性与其结构的多样性密切相关。通过不同降解方法制备的AOS具有不同的糖醛酸组成、聚合度和一些特殊结构, 因此, 探究AOS结构和功效之间的关系有助于深入挖掘AOS的活性并提高AOS的应用价值。本文综述了不同AOS制备方法的反应机理、产物结构以及AOS结构与功效之间的关系, 以期AOS的开发和应用提供重要依据。

关键词: 褐藻胶; 褐藻胶寡糖; 制备方法; 结构; 功效

Research Progress on Preparation and Functions of Alginate Oligosaccharides with Different Structures

HUANG Youtao, LIANG Qingping, GAO Xiaoya, LI Dongyu*, MOU Haijin*
(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Alginate is one of the most abundant marine polysaccharides, which can be degraded into alginate oligosaccharides (AOS) by chemical, physical and biological methods. AOS, linear oligosaccharide composed of guluronic acid and mannuronic acid, have a variety of biological activities such as antimicrobial, anti-inflammatory, and immunoregulatory activities, and these biological activities are closely related to their structural diversity. AOS prepared by different degradation methods have different uronic acid compositions, polymerization degrees and special structures. Therefore, exploring the structure-function relationship of AOS will help to fully understand the activity of AOS and improve its application value. In this paper, the reaction mechanisms of the various methods to prepare AOS, the structures of the resulting products, and the structure-function relationship of AOS are reviewed in order to provide a reference for further research and application of AOS.

Keywords: alginate; alginate oligosaccharides; preparation method; structure; function

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230112-096

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 01-0313-13

引文格式:

黄友涛, 梁青平, 高筱雅, 等. 不同结构褐藻胶寡糖的制备与功效研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 313-325.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230112-096. <http://www.spkx.net.cn>

HUANG Youtao, LIANG Qingping, GAO Xiaoya, et al. Research progress on preparation and functions of alginate oligosaccharides with different structures[J]. Food Science, 2024, 45(1): 313-325. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230112-096. <http://www.spkx.net.cn>

褐藻胶是一种广泛存在于褐藻细胞壁中的多糖, 占其干质量的22%~44%^[1], 同时也存在于固氮菌 (*Azotobacter* sp.) 和假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 的细

收稿日期: 2023-01-12

基金项目: 山东省重点研发计划项目 (2022TZXD005)

第一作者简介: 黄友涛 (1998—) (ORCID: 0000-0002-5061-6749), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋酶资源开发。

E-mail: huangyoutao_ouc@163.com

*通信作者简介: 李东钰 (1992—) (ORCID: 0000-0001-7923-7585), 女, 讲师, 博士, 研究方向为海洋活性成分功效评价。

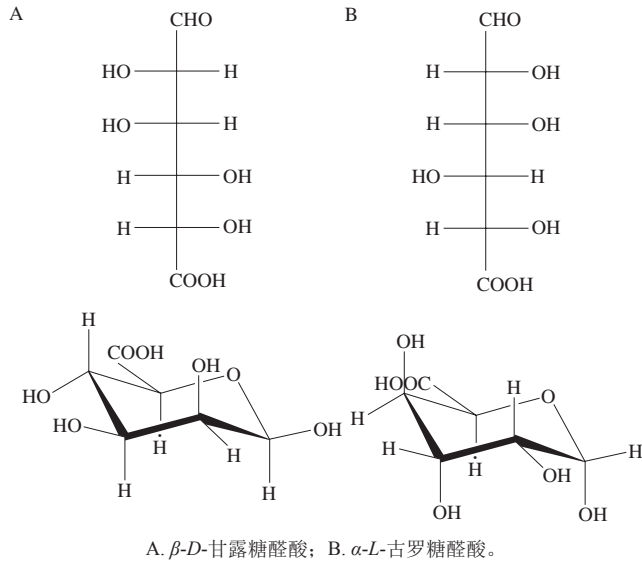
E-mail: ldy1516@ouc.edu.cn

牟海津 (1973—) (ORCID: 0000-0003-3667-1562), 男, 教授, 博士, 研究方向为海洋微生物工程。

E-mail: mousun@ouc.edu.cn

菌生物膜中^[2-3]。褐藻胶由 β -D-甘露糖醛酸 (mannuronic acid, M) 及其C5差向异构体 α -L-古罗糖醛酸 (guluronic acid, G) 两种糖醛酸单体 (图1) 通过1,4糖苷键随机聚

合形成。根据糖醛酸单体聚合的差异,分为均聚甘露糖醛酸 (poly mannuronic acid, PM)、均聚古罗糖醛酸 (poly guluronic acid, PG) 以及由甘露糖醛酸和古罗糖醛酸随机聚合的片段 (poly mannuronic acid and guluronic acid, PMG) [4]。褐藻胶具有良好的凝胶性能,在食品行业中通常用作稳定剂和增稠剂[5],此外褐藻胶还是一种膳食纤维,可以缓解不健康饮食习惯引起的代谢紊乱[6]。



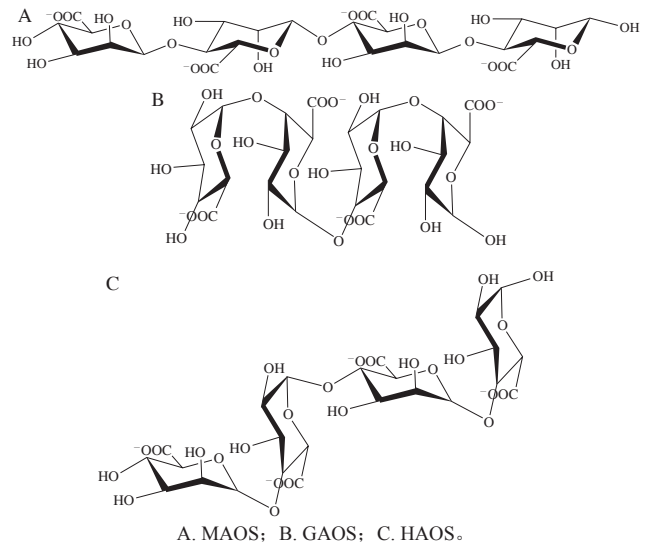
A. β -D-甘露糖醛酸; B. α -L-古罗糖醛酸。

图1 褐藻胶单体结构

Fig. 1 Structures of alginate monomers

褐藻胶的降解产物褐藻胶寡糖 (alginate oligosaccharides, AOS) 是一种聚合度 (degree of polymerization, DP) 为2~25的直链寡糖[7-8]。如图2所示,根据糖醛酸组成的不同,AOS分为甘露糖醛酸寡糖 (mannuronic acid oligosaccharides, MAOS)、古罗糖醛酸寡糖 (guluronic acid oligosaccharides, GAOS) 和杂合糖醛酸寡糖 (heterozygous acid oligosaccharides, HAOS) [9]。MAOS和GAOS都是由单一糖醛酸组成的寡糖,而HAOS根据 β -D-甘露糖醛酸与 α -L-古罗糖醛酸比例 (M/G) 的不同结构有所差异。常见的AOS制备方法有化学法、物理法和生物法,不同方法所制备的AOS结构有所差异,AOS结构的多样性和复杂性赋予了其多种生

物活性[8],包括抗氧化[10]、免疫调节[11]、抗菌[12]、抗炎活性[13]等,因此AOS在食品、医药和绿色农业等领域具有广泛的应用。由于褐藻胶的分子质量高、黏度大、生物利用率低等特性限制了其更深入的应用和开发,将褐藻胶降解为功能性寡糖能提高其应用价值[7],同时近年来对AOS的研究热度呈现上升趋势[14],所以通过合适的方法制备AOS对于相关研究至关重要。本文主要从AOS的制备方法和构效关系两个方面,系统阐述不同制备方法降解褐藻胶的机理以及所获得AOS的结构特征,并进一步深入解析AOS结构差异与所发挥功效之间的潜在关系,以为AOS的研发与精准应用提供重要的理论支撑。



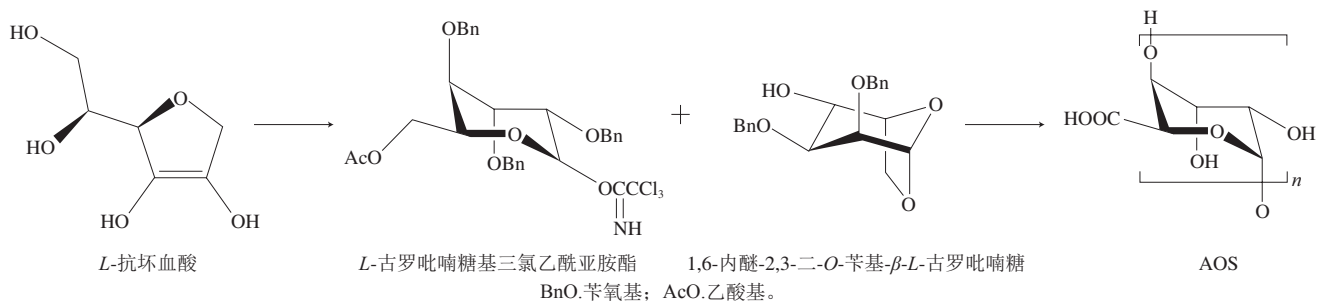
A. MAOS; B. GAOS; C. HAOS。

图2 AOS分类

Fig. 2 Classification of AOS

1 AOS制备方法

AOS的活性受其糖醛酸组成和DP的影响,不同制备方法所获得的AOS结构差异较大,所以探究不同制备方法的机理和所得产物的结构对AOS的后续活性研究极为重要。AOS的制备方法主要有有机合成法和降解褐藻胶法。如图3所示,有机合成法是以L-抗坏血酸为前体,通过化学反应使其分别变成L-古罗吡喃糖基三氯乙酰亚



BnO.苄氧基; AcO.乙酰基。

图3 有机合成法制备AOS的过程

Fig. 3 Preparation of AOS by organic synthesis method

胺酯和1,6-内醚-2,3-二-O-苄基-β-L-古罗吡喃糖。然后,以L-古罗吡喃糖基三氯乙酰亚胺酯作为起始物,1,6-内醚-2,3-二-O-苄基-β-L-古罗吡喃糖作为延伸物,按照非还原端到还原端的顺序制备得到AOS^[15]。降解褐藻胶法是采用化学法、物理法和生物法,将褐藻胶的糖苷键断裂,从而得到小分子的AOS。与有机合成法相比,降解褐藻胶法更易操作、成本较低,是目前最常用的制备AOS方法。本节将重点总结降解褐藻胶法的作用机理和特点。

1.1 化学法

化学法是一种传统制备AOS的方法,主要包括酸解法、碱解法以及氧化降解法,其原理是通过化学试剂将褐藻胶降解为低分子质量的AOS片段(图4),该方法操作简单、成本较低,但是反应过程不易控制、产物分子质量分布较广,且副产物较多,使AOS分离纯化困难。

酸解法的主要特征是对多糖链的随机降解,并产生己糖醛酸残基未被修饰的AOS片段(图4A)。通常采用的酸有盐酸、甲酸等,其中盐酸是较早用来降解褐藻胶的酸。张洪荣等^[16]用盐酸酸解褐藻胶溶液,制备得到DP为2~6的GAOS和MAOS。Chandia等^[17]在100℃条件下用甲酸对褐藻胶进行两步法酸解,通过调整反应时间,制备得到不同M/G值(0.28~0.47)的AOS。酸解法简单易操作,能稳定获得固有结构特征的AOS,缺点是需要用碱中和剩余的酸,酸碱中和产生大量的盐给后续AOS的分离纯化造成困难,此外,酸解法需要在较高的温度下进行,反应剧烈不易控制并且产物外观颜色较差^[18]。

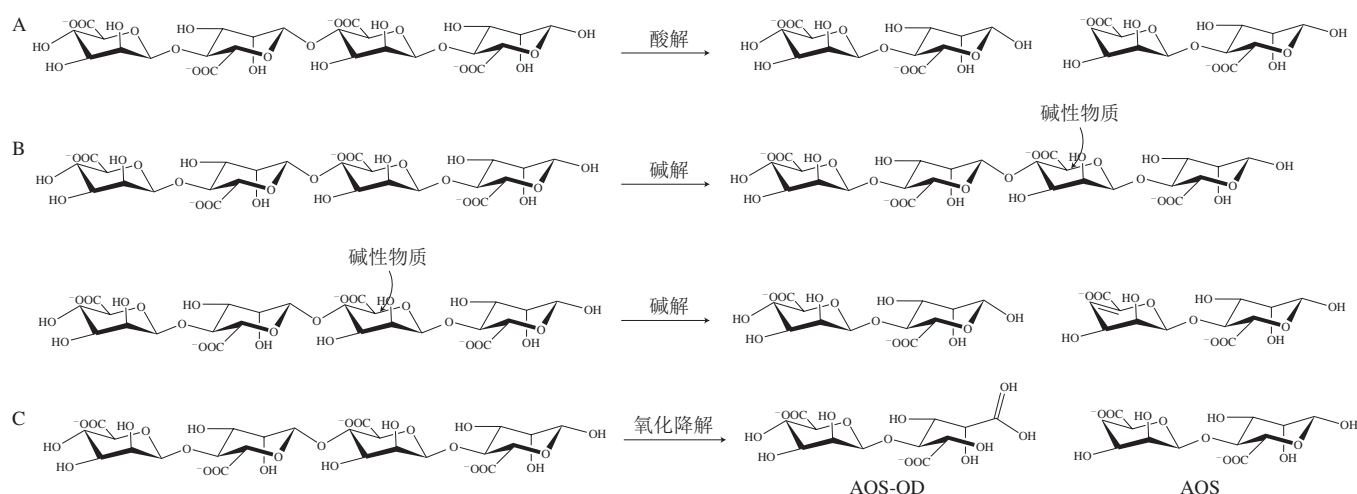
碱解法的原理是在碱性环境中,通过β-消除反应使褐藻胶的糖苷键断裂,C-5上的质子被夺走,同时羧基诱

导电子从C-4位上向C-5位转移,如图4B所示,产物的C-4和C-5位形成与羧基共轭的双键^[19]。Niemel等^[20]分别在95℃和135℃利用浓度为5 mol/L和2 mol/L的氢氧化钠溶液降解褐藻胶,发现在高浓度的碱液下褐藻胶会降解产生脱水异糖精酸、糖化异糖精酸等物质,而在低浓度碱液中褐藻胶降解为2,3-二脱氧戊糖酸。这表明碱解法会导致褐藻胶结构发生复杂改变,且容易生成甲酸、乙酸等副产物,所以一般不采用该方法制备AOS^[21]。

与酸解法和碱解法相比,过氧化氢(H₂O₂)氧化法是一种更环保的制备方法,副产物主要是H₂O^[22]。关于H₂O₂降解褐藻胶的确切机制尚不明晰,目前较为公认的是H₂O₂在反应过程中产生的羟自由基通过攻击糖残基上的C-1位的氢诱导糖苷键的降解(图4C)。氧化法制备的AOS在氧化降解过程中容易在还原端开环形成羧基,称为AOS-氧化降解产物(AOS-oxidative degradation, AOS-OD)^[8]。杨钊等^[23]利用体积分数5%的H₂O₂溶液在90℃条件下和PM溶液反应2 h,制备得到了MAOS,与酸解法相比,氧化降解法制备的寡糖具有更洁白的色泽。Li Xiaoxia等^[24]发现H₂O₂氧化制备AOS的效率和反应时间、温度、H₂O₂浓度有关,通过控制反应时间可以获得不同DP的AOS。氧化降解法同碱解法一样会得到具有特殊结构的AOS,但氧化降解法所得特殊结构单一且反应过程更稳定。

1.2 物理法

γ射线、紫外射线、微波辐射、水热法和超声法是主要的物理降解方法。如图5所示,物理法制备所得的AOS不会发生结构改变。物理法对褐藻胶的降解作用明显,但制备过程中需要消耗大量能源,成本较高。



A.酸解法; B.碱解法; C.氧化降解法。

图4 化学法制备AOS的过程

Fig. 4 Preparation of AOS by chemical degradation methods

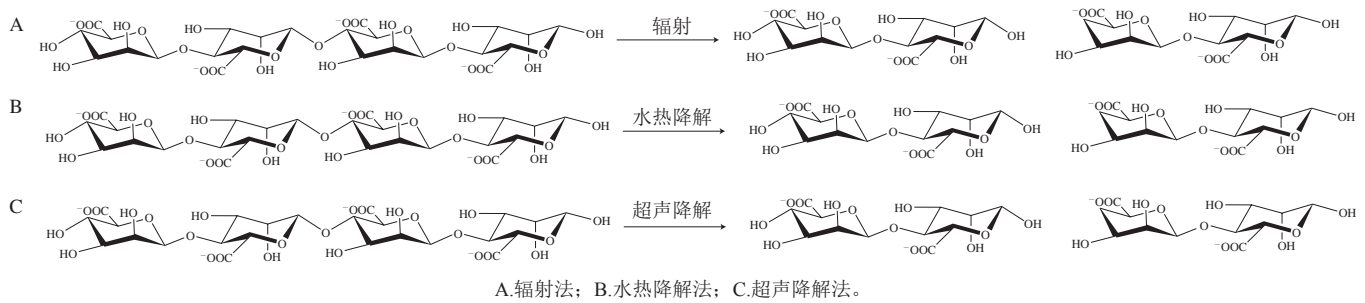


图5 物理法制备AOS的过程

Fig. 5 Preparation of AOS by physical degradation methods

γ 射线、紫外线和微波辐射统称为辐射法，原理是通过不同射线对褐藻胶进行照射使其糖苷键断裂，从而得到AOS。研究发现20~100 kGy的 γ 射线对褐藻胶进行辐射所产生的AOS化学结构没有显著影响^[25]。Mollah等^[26]研究发现当辐射剂量从12.5 kGy升至50 kGy时，产物的DP从50降到5。Lee等^[27]发现随着 γ 射线辐射剂量的增加，虽然产物中M和G的含量均增加，但是M/G值降低，由此可见，通过改变 γ 射线照射褐藻胶的条件，可以制备出不同DP和M/G值的AOS，证明 γ 射线在定向制备AOS方面潜力极大。二氧化钛存在的条件下，将褐藻胶溶液紫外照射3 h后可得到低分子质量的MAOS、GAOS和HAOS^[28]。紫外照射法操作简单、产率高（90%），同时二氧化钛容易去除，这为食品行业制备AOS提供了新思路。用微波辐射褐藻胶可以制备DP为1~10的GAOS，与传统的水解方法相比，微波降解方法不仅操作方便、耗时短、环境友好、减少了脱盐过程，而且制备所得的GAOS产率高（71%）^[29]。

水热降解法也是一种常用的物理法。将水加热到超临界状态，超临界水可以溶解大量的氧气，具有黏度低、扩散系数高、表面张力低等性质。以超临界水为介质，能迅速将褐藻胶降解为AOS。Aida等^[30]在180~250 °C条件下，采用水热降解法将褐藻胶溶液中M-M、M-G和G-G之间的糖苷键断裂并产生AOS，降解过程反应迅速并表现出一定选择性，M-M糖苷键优先断裂，其次是M-G和G-G糖苷键。根据不同温度下水解过程的动力学差异，通过改变温度选择性生产MAOS、GAOS和HAOS的方法有待进一步研究。水热降解法具有快速、高效且无污染等优点，但对反应条件要求较高，反应机理也有待深入探究。

超声降解的原理是物质的质点在超声波的作用下会产生极高的运动加速度，发生激烈的碰撞，从而导致大分子物质内部共价键的断裂^[31]。袁丽等^[32]利用超声波降解褐藻胶并用其降解产物浸泡南美白对虾，对虾的最终质量增加率为14.11%。Feng Liping等^[33]通过不同频率的超声波降解褐藻胶，发现超声波不仅可以使褐藻胶降

解还可以制备不同M/G值的产物。通过改变超声波的频率，可以制备不同分子质量和M/G值的AOS，所以超声降解具有定向制备AOS的潜力。

1.3 生物法

生物法是直接通过微生物发酵或者利用褐藻胶裂解酶对褐藻胶进行酶解制备AOS的方法，此方法绿色环保、能定向制备AOS，但制备效率受褐藻胶裂解酶活力的影响。

目前，多糖利用位点（polysaccharide utilization locus, PUL）体系是研究较为透彻的微生物利用褐藻胶的代谢途径^[34]。PUL体系中PULs是褐藻胶降解的相关基因座，PULs编码相关褐藻胶裂解酶、SusC蛋白、SusD蛋白、MFS转运蛋白，细胞外膜的褐藻胶裂解酶先将大分子褐藻胶降解为AOS，SusC/SusD蛋白复合物将AOS转运到细胞外膜和内膜间隙，在间隙处被酶解成不饱和单糖，随后不饱和单糖被MFS转运蛋白转移至细胞质，不饱和单糖在细胞质中经过一系列反应最终生成三磷酸甘油醛（glyceraldehyde triphosphate, G-3-P）和丙酮酸，G-3-P和丙酮酸最终进入微生物的三羧酸循环^[35]，通过上述路径，褐藻胶可以为微生物的正常代谢提供原料，同时该途径中AOS和不饱和单糖生成的位点不一样，可以开发一些方法在不同位点获得所需产物。Li Miaomia等^[36]从人体粪便中筛选得到的卵形拟杆菌（*Bacteroides ovatus*）G19具有降解褐藻胶的功能。Wang Mingpeng等^[37]从腐烂的海带中分离并鉴定了一株梨形芽孢杆菌（*Bacillus litoralis*），使用该菌株发酵制备所得AOS的DP在2~6之间，其中DP为2的寡糖含量最高，占总产物含量的73.9%。Guo Wenbin等^[38]以葡萄糖为碳源发酵门多萨假单胞菌（*Pseudomonas mendocina*）NK-01，发现该菌株能将葡萄糖同时转化为聚羟基烷酸酯和AOS，当葡萄糖被消耗完后，该菌株能继续将聚羟基烷酸酯转化为AOS，制备所得AOS最终产量为0.57 g/L、分子质量小于2 000 Da。在微生物发酵法制备AOS的过程中，微生物分泌表达褐藻胶裂解酶将褐藻胶降解为AOS^[37-38]，该方法受限于菌株所产褐藻胶裂解酶的活力，另外，微生物菌体和其他代谢产物等会有所残留，影响AOS的纯度。

褐藻胶裂解酶主要来源于海藻^[39]、海洋软脊椎动物^[40]、海洋真菌^[41]、海洋细菌^[42]和陆地细菌^[43]。褐藻胶裂解酶通过 β -消除反应催化褐藻胶的1,4-糖苷键的断裂以产生AOS，其中有些褐藻胶裂解酶催化反应过程中需要金属离子的参与，如图6所示，具体降解机制分为以下几步：1) 带正电荷氨基酸或者金属离子中和底物C5的羧基负电荷并降低H-5质子的解离常数；2) 催化碱吸走C-5上的质子，并形成羧酸根二价阴离子的中间体；3) 催化酸提供质子，在C-4和C-5之间形成双键，导致4-O-糖苷键断裂并在非还原端生成4-脱氧- α -L-4-烯吡喃糖醛酸，最终生成不饱和褐藻胶寡糖（unsaturated alginate oligosaccharides, UAOS）^[44]，需要金属离子参与的反应中，金属离子起到稳定底物带负电羧基的作用。基于一级结构的差异，碳水化合物活性酶数据库将褐藻胶裂解酶分类为不同的多糖裂解酶（polysaccharide lyase, PL）家族，分别为PL5、PL6、PL7、PL8、PL14、PL15、PL17、PL18、PL31、PL32、PL34、PL36、PL39和PL41家族^[10]。根据褐藻胶裂解酶的底物偏好性，可以将其分为PM特异性裂解酶、PG特异性裂解酶和双功能裂解酶^[45]。褐藻胶裂解酶作用模式分为内切和外切型，内切型褐藻胶裂解酶作用位点在褐藻胶内部的糖苷键并产生具有不同DP的AOS，而外切型褐藻胶裂解酶通过从褐藻胶末端逐步催化糖苷键断裂产生单糖，有些褐藻胶裂解酶同时具有内/外切功能，可以同时产生单糖和寡糖^[46-47]。表1展示了不同来源的褐藻胶裂解酶的降解特征，这些酶均具有专一性强、反应条件温和且能定向制备不同结构AOS的特点，证实了褐藻胶裂解酶在定向制备AOS上具有良好应用前景。

表 1 不同来源褐藻胶裂解酶的降解特征

名称	来源	家族	底物偏好性	最适反应温度/ 最适反应pH	降解产物DP	作用模式	参考文献
VsAly7D	<i>Vibrio</i> sp. QY108	PL7	双功能	35 °C/8.0	1	外切型	[47]
PsMan8A	<i>Paradendryphiella salina</i>	PL8	PM	25 °C/5.0	1	外切型	[48]
Alys1	<i>Tamlana</i> sp. s12	PL7	双功能	35 °C/7.0	1	外切型	[49]
Alg17c	<i>Saccharophagus degradans</i> 2-40	PL17	双功能	30 °C/7.5	1	外切型	[50]
102C300C	<i>Microbulbifer</i> sp. Q7	PL7	双功能	45 °C/8.0	2~4	内切型	[13]
Alg7A	<i>Vibrio</i> sp. w13	PL7	双功能	30 °C/7.0	2~3	内切型	[48]
AlgA	<i>Pseudomonas</i> sp. E03	PL5	PM	40 °C/7.0~8.0	2~5	内切型	[51]
AlgH	<i>Marinimicrobium</i> sp. H1	PL7	双功能	45 °C/10.0	2~4	内切型	[52]
AlgMsp	<i>Microbulbifer</i> sp. 6532A	PL7	PG	40 °C/8.0	2~5	内切型	[53]
AlgNJ-04	<i>Vibrio</i> sp. NJ04	PL7	双功能	40 °C/7.0	2~5	内切型	[54]
AlgB	<i>Vibrio</i> sp. Nil	PL7	PM	35 °C/8.0	2~3	内切型	[55]
Alcpt	<i>Paenibacillus</i> sp. LJ-23	PL6	双功能	45 °C/7.0	2~8	内切型	[56]
AlyM2	<i>Pseudoalteromonas arctica</i> M9	PL6	双功能	30 °C/8.0	3	内切型	[57]
AlgL7	<i>Microbulbifer</i> sp. ALW1	PL17	双功能	35 °C/8.0	1~4	内外切双功能型	[58]
Alg2951	<i>Alteromonas portus</i> HB161718 [†]	PL7	PG	25 °C/8.0	1、3	内外切双功能型	[59]
AlgsH17	<i>Microbulbifer</i> sp. SH-1	PL17	双功能	30 °C/7.0	1~6	内外切双功能型	[60]

产业化生产AOS能更好地推广其在食品领域的应用，目前，生物法是产业化制备AOS的主要手段，程跃谟等^[61]以海带为原料，将其浸泡于酶解罐中，用纤维素酶酶解和碳酸钠消化后获得海藻酸钠胶状物质，随后添加褐藻胶裂解酶酶液并搅拌，对反应液进行乙醇脱水后可以批量制备AOS。曹文禹等^[62]将马尾藻洗净烘干并进行破碎，将藻粉浸润在含有软化剂的水中，随后向溶液中加入蛋白酶、纤维素酶、果胶酶和褐藻胶裂解酶，过滤烘干后得到AOS。在大型反应容器中，将原料进行预处理，再用褐藻胶裂解酶降解加工后的原料，可以大规模地生产AOS。

1.4 AOS分离纯化

通过不同方法制备所得的AOS多为混合物，为了获得组成单一、结构确定的AOS，需要借助分离纯化技术的帮助。

尺寸排阻层析是一种常用的分离纯化AOS的方法，SEC的填料由高分子交联而成，同时内部具有多孔网状结构，不同尺寸的物质通过填料的速度不一样，尺寸大的组分流出速度更快，可以通过不同组分流出时间的差异实现对AOS混合物的分离^[63]。Zhang Keke等^[4]利用Superdex Peptide 10/300 GL预装柱和ÄKTA纯化系统分离纯化褐藻胶裂解酶的酶解产物，获得了不同DP的AOS。尺寸排阻层析法分离率高，但是纯化过程中需要严格控制系统的流速，以达到最佳分离效果。

离子交换色谱中的固定相为一些带电荷的基团，流动相为待分离样品，根据固定相和样品之间发生离子交换能力的差异，可以将不同组分分离^[64]。Ballance等^[65]利用酸解法制备得到AOS粗品，用半制备离子型IonPac AS4A柱对其进行纯化，可以获得纯度为96%的AOS。离子交换色谱法灵敏度高，但是分离样品量较少。

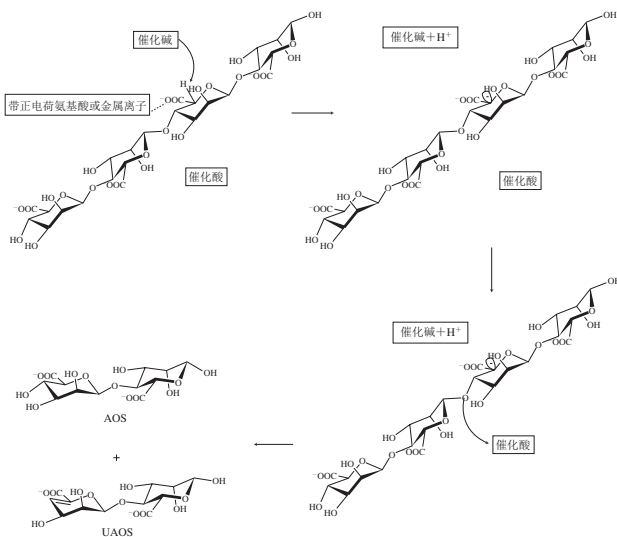


图 6 褐藻胶裂解酶作用机制

Fig. 6 Action mechanism of alginate lyase

胶束电动毛细管色谱以表面活性剂形成的胶束作为准固定相,由于溶质在胶束相和水溶液相间的分配存在差异,从而分离不同组分^[66]。Volpi^[67]用胶束电动毛细管色谱法分离了褐藻胶裂解酶的酶解产物,最终获得了不同DP的AOS,分离过程中胶束电动毛细管色谱法显示出较好的分辨率,此方法分离能力强、分离速度快,但是也存在分离样品量较少的问题。

超高效液相色谱与传统高效液相色谱相比,其使用的是填充颗粒较小的小色谱柱,实现了更高的理论塔板数和更快的分离速度^[68]。Jonathan等^[69]将超高效液相色谱和Acquity UPLC BEH Amide柱联用,将UAOS和AOS分离,同时观察到相同DP的UAOS和AOS中,UAOS先洗脱出来。超高效液相色谱可以高效地将样品分离,但是其需要较高泵压的工作泵,增加了使用成本。

膜分离法的原理是不同分子质量的组分体积有差异,大于滤膜孔径的物质会被截留而小于滤膜孔径的物质可以流出,利用滤膜两侧浓度差、压力差等推动力,使不同体积的组分选择性通过滤膜^[70]。欧昌荣等^[71]通过发酵法制备得到AOS和菌体的混合液,离心除去菌体后通过超滤-纳滤两级膜纯化分离AOS,最终获得不同DP的AOS。膜分离法能处理大批量的混合液,但是分离效率易受到混合液浓度的影响,同时分离膜需要定期更换或清洗,成本较高。

沉降分离法根据物质在有机溶剂中的溶解度不同实现不同组分的分离。Yang Min等^[42]将褐藻胶裂解酶酶解产物通过1、3、5倍的醇沉,分别纯化得到M/G值为2.44、0.85、0.37的AOS。沉降分离法操作简单,但是可能会有杂质的残存。

在分离纯化AOS的过程中,可以根据所需目标产物,选择合适地纯化方法,并通过不同纯化方法的联用,达到最佳纯化效果。

2 AOS结构对功效的影响

AOS因其具有抑菌、抗炎、免疫调节、抗凋亡等多种生物活性受到广泛关注,这些生物活性与其结构多样性和复杂性密切相关,包括AOS糖醛酸组成、DP和特殊结构等。因此,通过对AOS结构与构效之间潜在关系的深入研究,为AOS在食品行业中的选择性制备和精准应用提供重要参考。

2.1 不同糖醛酸组成的AOS的功效

AOS是由G和M两种组分随机组合而成的寡糖,根据糖醛酸组成的不同可以将AOS分为GAOS、MAOS和HAOS,不同糖醛酸组成的AOS功效有所差异。

2.1.1 GAOS的功效

GAOS是由G单体通过 β -1,4糖苷键连接而成的、糖

醛酸组成单一的寡糖,G单体之间垂直排列(图2B)。GAOS展示出良好的调节凝胶特性、抑菌、益生元功效以及可作为微生物诱导剂等多种特殊功效。

GAOS可以通过影响凝胶动力学、凝胶强度、黏度、弹性和溶液体系的平衡特性调节大分子褐藻胶溶液的流变特性。如图7所示,二价阳离子特别是 Ca^{2+} 可以在特定的配位相互作用下和一对相反的GAOS结合,这就是著名的蛋盒二聚体模型,可以作为黏合剂促进大分子褐藻胶溶液凝胶的形成^[72]。Liao Hua等^[73]发现较高 Ca^{2+} 浓度更容易与GAOS形成蛋盒二聚体,此外,GAOS的 Ca^{2+} 结合能力使其具有改善 Ca^{2+} 依赖性凝胶特性的作用^[74]。Cao Lianqi等^[75]发现GAOS的添加降低了大豆分离蛋白凝胶的机械强度、弹性、硬度,且含有30 mmol/L GAOS的大豆分离蛋白显示出最紧密的网络结构,持水量达到77.5%。虽然GAOS显示出与 Ca^{2+} 的结合特性,但是并非所有阳离子都能和GAOS有效结合,镁离子与GAOS结合能力较弱^[76]。GAOS这种调节溶液凝胶特性的功能,在改善酸奶、果冻等食品凝胶特性方面具有一定潜力,但在实际应用中需要考虑与GAOS结合的阳离子种类,在达到凝胶效果的同时确保食品安全。

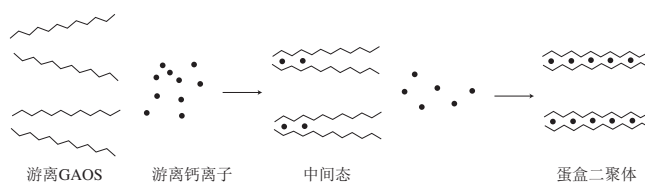


图7 蛋盒二聚体形成过程

Fig. 7 Formation process of egg-box dimer

抗生素的滥用导致了耐药性病原体的肆虐,对世界医疗保健系统产生了重大的影响,而GAOS能削弱病原体对抗生素的抗性,提高抗生素的效果。Khan等^[77]测试了GAOS对耐药性细菌的作用,发现GAOS能够通过调节细菌生物膜的形成和持久性,降低细菌对抗生素治疗的抵抗力,使用GAOS后,细菌生物膜生长明显减弱,细菌细胞的细胞膜明显受损并变得扭曲和不均匀,从而使抗生素在人体更好地发挥作用。

短链脂肪酸对于维持人体大肠的正常功能具有重要作用,Li Miaomiao等^[36]发现AOS、MAOS和GAOS能促进人体合成短链脂肪酸,其中GAOS的效果最好。GAOS比MAOS、HAOS更难被人体降解,可能是因为G-G之间的连接是垂直轴向的,而M-M之间的连接是水平方向的,这导致GAOS的凝胶结构较硬,而MAOS倾向形成较软的凝胶。与MAOS和GAOS相比,GAOS更具有作为益生元并调节肠道健康的潜力。

Kawada等^[78]发现DP为1~3的GAOS具有增强人脐静脉内皮细胞增殖和迁移的能力,由于此细胞的增殖受内

皮细胞生长因子的介导,因此推测GAOS可以作为辅助因子促进内皮细胞生长因子的合成。

GAOS还可以促进一些微生物功能蛋白的表达,比如地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)产生的杆菌肽对革兰氏阳性菌具有杀菌活性,添加GAOS之后发现菌体中控制杆菌肽表达的基因显著上调,同时杆菌肽产量分别增加了68%和29%^[79]。GAOS的添加也可以使产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)的青霉素产量增加50%^[80]。上述研究表明GAOS可以作为诱导剂促进微生物代谢,提高功效成分的生产,这在食品、医药行业中具有很大潜力。

古糖酯(polyguluronate sulfate, PGS)是以GAOS为原料,经酯化试剂修饰得到的一种海洋硫酸多糖类化合物^[81]。Zhao Xia等^[82]探究了PGS的体外抗凝血活性和体内抗炎活性,发现PGS可以延长大鼠全凝血时间并且能抑制大鼠棉球肉芽肿的形成。Wu Lijuan等^[83]证明PGS可以干扰HepG 2.2.15细胞中乙型肝炎病毒的转录,在治疗乙型肝炎病毒方面极具潜力。PGS还对免疫性肝损伤具有保护作用,PGS可以降低H₂O₂诱导的HepG2肝细胞氧化应激,抑制HepG2细胞中丙二醛、乳酸脱氢酶、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素(interleukin, IL)-6的产生,同时上调超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性^[84]。

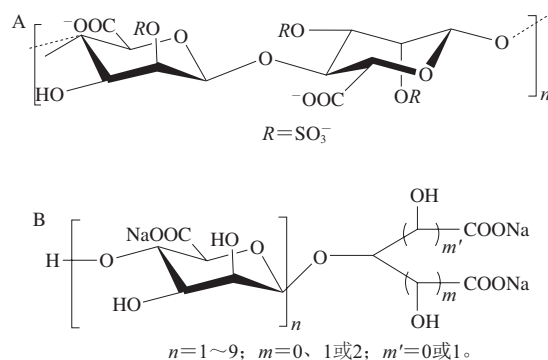
2.1.2 MAOS的功效

MAOS是由M单体通过 β -1,4糖苷键连接而成的、糖醛酸组成单一的寡糖, M单体直接呈水平结构(图2A)。大量研究发现, MAOS具有保护神经系统的功能,以MAOS及其衍生物作为主要成分的保护神经系统药物也已研发成功,此外, MAOS衍生物还表现出了降血脂和降血糖等功效。

微管系统是神经细胞骨架成分,由微管蛋白和微管相关蛋白组成,其中Tau蛋白是人体含量最多的微管相关蛋白, Tau蛋白的异常磷酸化会使神经元微管结构受到破坏,从而引发阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等脑神经退行性疾病^[85-86]。Bi Decheng等^[87]通过细胞实验,发现MAOS能抑制肝素诱导的Tau蛋白聚集,减弱Tau蛋白的磷酸化,证明MAOS有预防和治疗神经退行性疾病的潜力。 β -淀粉样蛋白由人体细胞产生,循环于血液、脑间质液中,其聚集会引起脑内神经病变^[88]。Bi Decheng等^[89]发现DP为2~11的MAOS可以抑制 β -淀粉样蛋白的表达和聚集,具有潜在治疗AD的能力。此外,研究发现, MAOS还能够通过调节5-羟色胺、5-羟基吲哚乙酸和 γ -氨基丁酸的含量改善帕金森病,并通过抑制肠道和大脑炎症调控帕金森病的发病机制^[90]。由此可见, MAOS具有保护神经系统作用,在食品、保健品和医药行业具有重要应用价值。

MAOS可以通过硫酸化修饰、硒化修饰和金属络合等化学反应形成多种衍生物,这些衍生物同样

具有多种生物学活性,包括抗病毒、神经保护、降血糖和降血脂、免疫调节等。MAOS在C-2和C-3位置一定程度硫酸化后,可以形成硫酸化甘露糖醛酸(sulfated polymannuroguluronate, SPMG)(图8A)。SPMG显示出与肝素类似的人体免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)壳膜蛋白结合效果,能够通过HIV壳膜蛋白的高亲和力结合对抗HIV感染人体,由于肝素也是高度硫酸化的,这证实了硫酸基团在与HIV壳膜蛋白结合中发挥关键作用^[91]。甘露特钠胶囊(GV-971)是DP为2~11的MAOS衍生物(图8B),口服GV-971能够通过降低肠道神经炎症患病风险抑制AD的发展^[92],需要注意的是, GV-971的多种C-5差向异构体并未显示出抑制AD的作用^[93],说明M结构对GV-971发挥作用至关重要,所以在应用AOS时要关注其结构,使AOS更充分发挥功效。Hao Cui等^[94]发现MAOS-铬(III)复合物能改善C2C12骨骼肌细胞的胰岛素敏感性,并作为一种新型葡萄糖摄取刺激剂用于2型糖尿病的治疗,同时, MAOS-铬(III)复合物可以激活3T3-L1脂肪细胞中AMPK-PGC1- α 信号通路,增强脂肪酸 β -氧化作用,从而促进线粒体的生物反应,减少细胞中脂质的积累。MAOS硒化衍生物甘露聚糖可以减少一氧化氮(NO)、地诺前列酮、TNF- α 、IL- β 和IL-6的产生,可作为功能性食品调节神经免疫^[95-96]。甘露酯是在MAOS的基础上制备得到的类肝素类酸性多糖^[97],王汝霞等^[98]用甘露酯喂养已有糖尿病肾脏病变的大鼠,发现大鼠的尿蛋白排泄率、肾质量/体质量比值均有不同程度下降,表明甘露酯可以改善肾脏高滤过、肾脏肥大和蛋白尿等情况。



A. SPMG; B.甘露特钠胶囊。

图8 MAOS衍生物结构

Fig. 8 Structures of mannuronic acid oligosaccharide derivatives

2.1.3 HAOS的功效

HAOS是由M和G单体随机聚合而成的寡糖,由于糖醛酸组成的不同, HAOS的结构具有多样性(图2C)。HAOS显示出多种生物学活性,包括抑菌、免疫调节、抗炎、抗氧化、降血脂等。

2.1.3.1 HAOS抑菌活性

细菌生物膜提高了细菌对宿主的免疫防御和抗生素的耐受力,保护细菌在宿主体内生存和繁衍。HAOS能抑制和破坏铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)生物膜的形成,从而预防和减弱*P. aeruginosa*对人体呼吸道的感染^[12]。Powell等^[99]进一步研究发现HAOS与*P. aeruginosa*菌体表面结合,通过调节菌体表面电荷诱导细菌集合并抑制细菌运动。以上所研究HAOS结构的共同点是G组分的含量远大于M组分的含量,且有研究表明G含量占总体的85%以上时,HAOS的抑菌效果更强^[100]。GAOS也显示出抑菌活性,进一步证实G组分对AOS的抑菌活性至关重要^[77]。M/G值影响HAOS的抑菌作用,可能是因为G组分与细菌的相互作用更强,但是具体机制还有待进一步论证。

2.1.3.2 HAOS免疫调节活性

大量研究发现AOS具有调节免疫反应的潜力,其关键功能之一是诱导细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6等)的活性。Ueno等^[101]研究发现不同M/G值的HAOS对小鼠巨噬细胞RAW 264.7中TNF- α 的诱导效果不同,当M/G为2.24时显示出最有效的TNF- α 诱导活性。Kurachi等^[102]发现较高M/G值的HAOS显示出更强的TNF- α 诱导活性,相较于G组分,M组分在诱导TNF- α 分泌中发挥更多作用。Suzuki等^[103]发现HAOS中M组分的含量对小鼠肠道免疫活性起决定性作用,M组分在69%~86%之间时显示出免疫活性,但M组分低于31%时没有显示免疫活性,M组分高的HAOS可以通过派尔集合淋巴结刺激肠道产生免疫活性。由此可见,M/G值比较高的HAOS可能具有更强的促细胞因子分泌作用,从而增强宿主免疫系统的功能。

2.1.3.3 HAOS抗炎活性

肠道屏障结构受损会导致肠道的通透性增加,肠道中的细菌和内毒素等能够穿过肠道屏障进入血液中,从而诱发一系列的炎症反应。Wan Jin等^[104]发现HAOS(M/G=1.5)可以改善由大肠杆菌(*Escherichia coli*)诱发的肠上皮细胞损伤,阻止内毒素与肠上皮细胞的结合,从而减少促炎细胞因子的产生。Xiong Bohui等^[105]研究发现HAOS能显著改善猪空肠上皮细胞的完整性,提高肠道细胞的迁移能力,维护肠道正常的屏障功能,从而预防肠道炎症。HAOS能作为抗炎剂应用在哺乳动物肠道疾病治疗中。

2.1.3.4 HAOS抗氧化活性

活性氧是机体各类生化反应的中间代谢产物,包括超氧化物、H₂O₂、羟自由基等。活性氧过度生成和累积会导致有害的氧化应激,诱导分子损伤和细胞凋亡等,可能会导致各种疾病的发生。Jiang Zedong等^[45]证明HAOS在人脐静脉内皮细胞中显示出对H₂O₂诱导的氧化应激的有效抗氧化作用。张明杰^[106]发现HAOS可以

有效地清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基和羟自由基,其中分子质量为0.84 kDa的组分抗氧化活性最为显著,清除羟自由基的能力和VC相近,同时还发现分子质量较小的HAOS具有更强的抗氧化活性。同时,HAOS的抗氧化活性也受M/G值的影响,M/G值比较高的AOS具有更强的自由基清除活性^[107]。

2.1.3.5 HAOS降血脂活性

低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)是一种运载胆固醇进入外周组织细胞的脂蛋白颗粒,体内LDL-C的浓度过高会导致心血管疾病。低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)和低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor, LDL-R)能够降低LDL-C的含量,在胆固醇代谢中起着至关重要的作用。LDL-R基因表达受固醇调节元件结合蛋白的调控,而前蛋白转化酶枯草溶菌素/Kexin 9型能降解LDL-R,HAOS的添加在增强人体细胞固醇调节元件结合蛋白表达的同时抑制前蛋白转化酶枯草溶菌素/Kexin 9型的合成,从而增加LDL-R的表达,使体内LDL-C趋于正常^[108]。Wang Yuting等^[109]用HAOS(DP 1~4)喂食小鼠,发现HAOS可以降低小鼠体内LDL-C的浓度并抑制脂肪生成相关基因的表达,从而起到降血脂的作用。目前,还没有研究明确表明HAOS的结构对其降血脂活性的影响,需要进行更多研究找出降血脂效果较强的HAOS结构。

2.2 DP对AOS功效的影响

由于褐藻胶在降解过程中 β -1,4糖苷键断裂位置不同,所产生的AOS DP不同,AOS发挥的功效也有所差异,特定DP的AOS具有更显著的抗炎、抗氧化、免疫调节、抗感染等功效。

在DP为2~5的AOS中,DP为5的AOS可以更有效地增加血清中SOD、谷胱甘肽、高密度脂蛋白胆固醇含量,提高人体抗氧化能力并抑制炎症细胞因子IL-1 β 和IL-6的产生^[110]。胡婷等^[111]制备得到了M1~M7,发现MAOS清除DPPH自由基、超氧阴离子自由基及络合亚铁离子的能力随着MAOS的DP增加而降低,而MAOS清除羟自由基能力随着DP增加而升高。

相比于DP为3~6的GAOS,DP为3~6的MAOS诱导TNF- α 的能力更强,其中DP为3的MAOS诱导活性最强^[112],说明AOS的糖醛酸组成和DP都对其诱导细胞因子功效有影响。Iwamoto等^[113]制备了G3~G9和M3~M9两组寡糖,并检测了它们诱导小鼠巨噬细胞RAW 264.7分泌细胞因子的活性,发现G8和M7分别在不同组内表现出较强的诱导活性,推测G8和M7两种寡糖具有合适的分子大小和构象,能更好地刺激细胞因子分泌,从而调节机体免疫力。

Hu Xiaoke等^[114]制备了M1~M5和G1~G5,并评估了它们对不同细菌的体外抑菌效果,结果发现M组显示

出比G组更多的抑菌种类和更有效的抑制作用，其中被M3抑制的细菌种类最多。SPMG抗HIV-1感染的能力和其DP有关，SPMG（DP 15~16）抗HIV-1感染的能力仅为SPMG（DP 19~20）的50%^[91]。

不同DP的AOS功效有所差异，筛选出特定DP的AOS，能更好地满足实际需求并提高AOS的应用效果。

2.3 特殊结构AOS的功效

一些制备方法可以将褐藻胶降解并生成特殊结构的AOS，氧化降解法可以生成开环含羧基结构的AOS-OD，褐藻胶裂解酶酶解法可以制备得到含不饱和端的UAOS，特殊的结构赋予了AOS更多的功效。

2.3.1 AOS-OD的功效

如图4C所示，AOS-OD是通过氧化法降解褐藻胶制备得到的含羧基开环结构化合物，羧基结构使AOS-OD具有特殊生物活性^[8]。Zhou Rui等^[115]发现相较于酸解法制备得到的AOS，氧化法制备而得的AOS-OD显著减少了脂多糖胁迫下RAW 264.7细胞中NO的过量产生，从而发挥抗炎作用。Bouhadir等^[116]利用AOS-OD水凝胶将软骨细胞包埋并注射到小鼠肾侧区域，发现小鼠体内有新的软骨组织生成，说明AOS-OD可以用于体内注射细胞递送系统。目前对AOS-OD的功效研究还较少，对其功效的深入研究能更好地将AOS-OD应用于食品行业。

2.3.2 UAOS的功效

UAOS是褐藻胶裂解酶降解褐藻胶过程中产生的具有不饱和端的特殊结构（图6）。Jonathan等^[69]分别用酸解法制备的AOS和酶解制备的UAOS喂食猪后，发现猪肠道微生物能更有效地利用酶解制备的UAOS。Li Shangyong等^[117]发现相较于酸水解制备的AOS，UAOS显著降低了高脂型小鼠血清中甘油三酯、总胆固醇和游离脂肪酸含量，且这种降血脂功效与M/G值无关，只和不饱和结构有关。进一步研究发现，UAOS可以增加小鼠肠道中乳杆菌（*Lactobacillus*）、阿克曼菌（*Akkermansia*）等有益菌的相对丰度并减少了拟杆菌（*Bacteroides*）、副杆菌（*Parabacteroides*）等致炎细菌的相对丰度，通过调节肠道微生物群减轻高脂饮食引起的肥胖^[118]。这些结果表明，UAOS可以有效地被机体吸收并作为治疗肥胖和相关代谢疾病的益生元。

UAOS还可以调节免疫，He Ningning等^[119]研究了酶解制备的UAOS对右旋糖酐硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎的改善作用，发现UAOS可以通过调节肠道微生物菌群的群落结构维持黏膜屏障功能和抑制免疫损伤。Xu Xu等^[120]证明相较于酸解制备的AOS，UAOS对小鼠巨噬细胞RAW 264.7具有更强的TNF- α 诱导能力，可以作为一种有效的免疫调节剂应用于食品、医药行业。如表2所示，AOS和UAOS都具有降血脂、免疫调节的活性，但是具有不饱和结构的UAOS展示出比AOS更强的功效^[117,120]，所以UAOS极具开发应用价值。

表2 不同结构AOS的功效

种类	功效	作用机理	参考文献
GAOS	改变溶液凝胶特性	与Ca ²⁺ 结合后形成蛋盒二聚体，蛋盒二聚体可以调节溶液的凝胶特性	[72]
	削弱细菌对抗生素的抗性	影响细菌生物膜的形成和持久性，使抗生素更好地对细菌发挥作用	[77]
	调节肠道功能	促进人体合成短链脂肪酸，从而维持肠道健康	[36]
	促进细胞增殖	增强人脐静脉内皮细胞增殖和迁移能力	[78]
	促进微生物表达功能性蛋白	诱导 <i>B. licheniformis</i> 产生对革兰氏阳性细菌有杀菌活性的杆菌肽	[79]
GAOS衍生物—PGS	抗凝血	延长体外全血凝血时间	[82]
	治疗乙型肝炎病毒	抑制乙型肝炎病毒在细胞中的转录	[83]
MAOS	保护免疫性肝损伤	降低肝细胞氧化应激	[84]
	预防和治疗神经退行性疾病	抑制肝素诱导的Tau蛋白聚集，减弱Tau蛋白的磷酸化，从而降低患病风险	[87]
MAOS衍生物—SPMG	治疗艾滋病	与艾滋病病毒壳膜蛋白具有极高的结合能力，从而防止病毒感染人体细胞	[91]
MAOS衍生物—GV-971	治疗AD	通过降低肠道神经炎症患病风险防止AD的发展	[92]
MAOS-铬(III)复合物	治疗糖尿病	改善C2C12骨骼肌细胞的胰岛素敏感性	[94]
MAOS衍生物—甘露聚糖	调节神经免疫病	减少NO、地诺前列酮、TNF- α 的产生	[95]
MAOS衍生物—甘糖酯	治疗糖尿病肾脏病变	改善肾脏高滤过、肾脏肥大和蛋白尿等情况	[98]
HAOS	抑制细菌生长	调节菌体表面电荷并诱导细菌相互靠近，从而抑制细菌运动	[99]
	调节免疫系统	诱导细胞产生免疫细胞因子	[101]
	预防肠道炎症	改善肠上皮细胞损伤，防止内毒素与肠上皮细胞的结合，从而减少促炎细胞因子的产生	[104]
AOS-OD	抗氧化	清除活性氧，防止机体受到氧化应激带来的伤害	[107]
	降血脂	降低体内LDL-C的浓度并抑制脂肪生成相关基因的表达	[109]
	抗炎作用	减少脂多糖胁迫下RAW 264.7细胞中NO的过量产生	[115]
UAOS	药物载体	可以包裹药物并递送到相关部位	[116]
	降血脂	降低体内甘油三酯、总胆固醇和游离脂肪酸含量	[117]
UAOS	调节免疫系统	调节肠道微生物菌群的群落结构，维持黏膜屏障功能，抑制免疫损伤	[119]

3 结语

AOS展现出非常优秀的生物活性，具有广阔的应用前景。不同制备方法所得到的AOS具有不同的糖醛酸组成、DP和特殊结构。AOS的活性与其结构组成密切相关，因此，阐明AOS的结构与活性之间的关系有助于选取合适的方法靶向制备特定结构的AOS。制备特定结构的AOS的意义在于提升AOS的应用价值，比如GV-971的多种C-5差向异构体并没有治疗AD的活性^[93]，G占总体含量85%以上的AOS具有更强的抑菌效果^[100]，特定结构的AOS能更好地满足相关行业的需求。目前，对于AOS的研究大多基于结构不明确的AOS，且与功效之间的关系尚不明晰，大多数研究集中在混合AOS的生物活性上，这制约着AOS的开发与应用，所以需要合适的方法获得结构明确的AOS。目前制备AOS的难点在于如何定向获得所需结构的AOS并且具有

较高的纯度, 可以通过不同制备手段联用并借助合适的纯化方法获得目标AOS, 并对特定结构AOS的功效进行深入挖掘, 对于AOS在食品、医药等领域的精准应用具有重要的实际意义。

参考文献:

- [1] BADUR A R, JAGTAP S S, YALAMANCHILI G, et al. Alginate lyases from alginate-degrading *Vibrio splendidus* 12B01 are endolytic[J]. Applied Environment Microbiology, 2015, 81: 1865-1873. DOI:10.1128/AEM.03460-14.
- [2] HAY I D, REHMAN Z U, MORADALI M F, et al. Microbial alginate production, modification and its applications[J]. Microbial Biotechnology, 2013, 6(6): 637-650. DOI:10.1111/1751-7915.12076.
- [3] VÁSQUEZ-PONCE F, HIGUERA-LLANTÉN S, PAVLOV M S, et al. Alginate overproduction and biofilm formation by psychrotolerant *Pseudomonas mandelii* depend on temperature in Antarctic marine sediments[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2017, 28: 27-34. DOI:10.1016/j.ejbt.2017.05.001.
- [4] ZHANG K K, YANG Y, WANG W D, et al. Substrate-binding mode and intermediate-product distribution coguided protein design of alginate lyase AlyF for altered end-product distribution[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69: 7190-7198. DOI:10.1021/acs.jafc.1c02473.
- [5] TURQUOIS T, GLORIA H. Determination of the absolute molecular weight averages and molecular weight distributions of alginates used as ice cream stabilizers by using multiangle laser light scattering measurements[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(11): 5455-5458. DOI:10.1021/jf0000003v.
- [6] BROWNLEE I A, ALLEN A, PEARSON J P, et al. Alginate as a source of dietary fiber[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2005, 45(6): 497-510. DOI:10.1080/10408390500285673.
- [7] XING M C, CAO Q, WANG Y, et al. Advances in research on the bioactivity of alginate oligosaccharides[J]. Marine Drugs, 2020, 18: 144. DOI:10.3390/md18030144.
- [8] WANG M P, CHEN L, ZHANG Z J. Potential applications of alginate oligosaccharides for biomedicine: a mini review[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 271: 118408. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118408.
- [9] LU S, NA K, WEI J N, et al. Alginate oligosaccharides: the structure-function relationships and the directional preparation for application[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 284: 119225. DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119225.
- [10] YAN F, CHEN J Y, 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. DOI:10.1002/jsfa.11807.
- [11] XU X, BI D C, LI C, et al. Morphological and proteomic analyses reveal that unsaturated guluronate oligosaccharide modulates multiple functional pathways in murine macrophage RAW 264.7 cells[J]. Marine Drugs, 2015, 13(4): 1798-1818. DOI:10.3390/md13041798.
- [12] WANG H Z, SONG Z J, CIOFU O, et al. Oligog CF-5/20 disruption of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in a murine lung infection model[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2016, 60(5): 2620-2626. DOI:10.1128/AAC.01721-15.
- [13] YANG S X, LIU Z M, FU X D, et al. Expression and characterization of an alginate lyase and its thermostable mutant in *Pichia pastoris*[J]. Marine Drugs, 2020, 18(6): 305. DOI:10.3390/md18060305.
- [14] ZHANG C G, WANG W X, ZHAO X M, et al. Preparation of alginate oligosaccharides and their biological activities in plants: a review[J]. Carbohydrate Research, 2020, 494: 108056. DOI:10.1016/j.carres.2020.108056.
- [15] CHI F C, KULKARNI S S, ZULUETA M M L, et al. Synthesis of alginate oligosaccharides containing L-guluronic acids[J]. Chemistry, 2009, 4(3): 386-390. DOI:10.1002/asia.200800406.
- [16] 张洪荣, 王长云, 刘斌, 等. 一种饱和褐藻胶寡糖的制备方法[J]. 中国海洋药物, 2006(3): 1-6. DOI:10.3969/j.issn.1002-3461.2006.03.001.
- [17] CHANDIA N P, MATSUHIRO B, VASQUEZ A E. Alginic acids in *Lessonia trabeculata*: characterization by formic acid hydrolysis and FT-IR spectroscopy[J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 46(1): 81-87. DOI:10.1016/S0144-8617(00)00286-1.
- [18] LIU M, LIU L, ZHANG H F, et al. Alginate oligosaccharides preparation, biological activities and their application in livestock and poultry[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2021, 20(1): 24-34. DOI:10.1016/S2095-3119(20)63195-1.
- [19] 孙哲朴, 刘辉, 武欣雨, 等. 褐藻胶寡糖制备和生物活性的研究进展[J]. 食品工业, 2019, 40(2): 284-289.
- [20] NIEMEL K, SJOSTROM E. Alkaline degradation of alginates to carboxylic acids[J]. Carbohydrate Research, 1985, 144(2): 241-249. DOI:10.1016/s0008-6215(00)90672-4.
- [21] 吴哲, 任丹丹, 梁馨元, 等. 褐藻胶寡糖的制备分离及生物活性[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(1): 1-7. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2020.01.001.
- [22] MAO S R, ZHANG T T, SUN W, et al. The depolymerization of sodium alginate by oxidative degradation[J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2012, 17(6): 763-769. DOI:10.3109/10837450.2011.583927.
- [23] 杨钊, 张真庆, 管华诗. 一种新的褐藻胶寡糖制备方法: 氧化降解法[J]. 海洋科学, 2004(7): 19-22. DOI:1000-3096(2004)07-0019-03.
- [24] LI X X, XU A H, XIE H G, et al. Preparation of low molecular weight alginate by hydrogen peroxide depolymerization for tissue engineering[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79(3): 660-664. DOI:10.1016/j.carbpol.2009.09.020.
- [25] EL-MOHDY H L A. Radiation-induced degradation of sodium alginate and its plant growth promotion effect[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2017, 10: S431-S438. DOI:10.1016/j.arabjc.2012.10.003.
- [26] MOLLAH M Z I, KHAN M A, KHAN R A. Effect of gamma irradiated sodium alginate on red amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) as growth promoter[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2009, 78(1): 61-64. DOI:10.1016/j.radphyschem.2008.08.002.
- [27] LEE D W, CHOI W S, BYUN M W, et al. Effect of γ -irradiation on degradation of alginate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(16): 4819-4823. DOI:10.1021/jf021053y.
- [28] BURANA-OSOT J, HOSOYAMA S, NAGAMOTO Y, et al. Photolytic depolymerization of alginate[J]. Carbohydrate Research, 2009, 344(15): 2023-2027. DOI:10.1016/j.carres.2009.06.027.
- [29] HU T, LI C H, ZHAO X, et al. Preparation and characterization of guluronic acid oligosaccharides degraded by a rapid microwave irradiation method[J]. Carbohydrate Research, 2013, 373: 53-58. DOI:10.1016/j.carres.2013.03.014.
- [30] AIDA T M, YAMAGATA T, WATANABE M, et al. Depolymerization of sodium alginate under hydrothermal conditions[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(1): 296-302. DOI:10.1016/j.carbpol.2009.11.032.
- [31] 刘海超, 张健, 王共明, 等. 褐藻胶的降解方法及其产物生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 350-357; 363. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020.13.055.

- [32] 袁丽, 高瑞昌, 徐敏, 等. 褐藻胶的超声波法降解及其对南美白对虾浸泡效果研究[J]. 食品工业, 2013, 34(11): 130-132.
- [33] FENG L P, CAO Y P, XU D X, et al. Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 609-615. DOI:10.1016/j.ultsonch.2016.06.038.
- [34] HE X X, ZHANG Y H, WANG X L, et al. Characterization of multiple alginate lyases in a highly efficient alginate-degrading *Vibrio* strain and its degradation strategy[J]. Applied Environment Microbiology, 2022, 88(23): e01389-22. DOI:10.1128/aem.01389-22.
- [35] ZHANG L Z, LI X, ZHANG X Y, et al. Bacterial alginate metabolism: an important pathway for bioconversion of brown algae[J]. Biotechnology for Biofuels, 2021, 14(1): 158. DOI:10.1186/s13068-021-02007-8.
- [36] LI M M, LI G S, SHANG Q S, et al. *In vitro* fermentation of alginate and its derivatives by human gut microbiota[J]. Anaerobe, 2016, 39: 19-25. DOI:10.1016/j.anaerobe.2016.02.003.
- [37] WANG M P, CHEN L, LIU Z Y, et al. Isolation of a novel alginate lyase-producing *Bacillus litoralis* strain and its potential to ferment *Sargassum horneri* for biofertilizer[J]. Microbiology Open, 2016, 5(6): 1038-1049. DOI:10.1002/mbo3.387.
- [38] GUO W B, SONG C J, KONG M M, et al. Simultaneous production and characterization of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates and alginate oligosaccharides by *Pseudomonas mendocina* NK-01[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 92(4): 791-801. DOI:10.1007/s00253-011-3333-0.
- [39] CHENG D Y, LIU Z, JIANG C C, et al. Biochemical characterization and degradation pattern analysis of a novel PL-6 alginate lyase from *Sreptomyces coelicolor* A3(2)[J]. Food Chemistry, 2020, 323: 126852. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126852.
- [40] ZHU B W, YIN H. Alginate lyase: review of major sources and classification, properties, structure-function analysis and applications[J]. Bioengineered, 2015, 6(3): 125-131. DOI:10.1080/21655979.2015.1030543.
- [41] WAINWRIGHT M, SHERBROCK-COX V. Factors influencing alginate degradation by the marine fungi: *Dendryphiella salina* and *D. arenaria*[J]. Botanica Marina, 1981, 24(9): 489-492. DOI:10.1515/botm.1981.24.9.489.
- [42] YANG M, YU Y, YANG S X, et al. Expression and characterization of a new PolyG-specific alginate lyase from marine bacterium *Microbulbifer* sp. Q7[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2894. DOI:10.3389/fmicb.2018.02894.
- [43] FERDHOUS B P, AANANDHALAKSHMI R, RAMYA P, et al. Scrutiny of metal ion binding sites in different alginate lyases through in silico analysis[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2022, 194(1): 124-147. DOI:10.1007/s12010-021-03746-y.
- [44] LI Q, ZHENG L, GUO Z L, et al. Alginate degrading enzymes: an updated comprehensive review of the structure, catalytic mechanism, modification method and applications of alginate lyases[J]. Critical Review in Biotechnology, 2021, 41(6): 953-968. DOI:10.1080/07388551.2021.1898330.
- [45] JIANG Z S, ZHANG X W, WU L Y, et al. Exolytic products of alginate by the immobilized alginate lyase confer antioxidant and antiapoptotic bioactivities in human umbilical vein endothelial cells[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 251: 116976. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116976.
- [46] LI S Y, WANG L N, JUNG S, et al. Biochemical characterization of a new oligoalginate lyase and its biotechnological application in *Laminaria japonica* degradation[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 316. DOI:10.3389/fmicb.2020.00316.
- [47] ZHANG F C, FU Z, TANG L Y, et al. Biochemical characterization of a novel exo-type PL7 alginate lyase VsAly7D from marine *Vibrio* sp. QY108[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(16): 8402. DOI:10.3390/ijms22168402.
- [48] PILGAARD B, VUILLEMIN M, HOLCK J, et al. Specificities and synergistic actions of novel PL8 and PL7 alginate lyases from the marine fungus *Paradendryphiella salina*[J]. Journal of Fungi, 2021, 7(2): 80. DOI:10.3390/jof7020080.
- [49] YIN R, YI Y J, CHEN Z, et al. Characterization of a new biofunctional, exolytic alginate lyase from *Tamlana* sp. s12 with high catalytic activity and cold-adapted features[J]. Marine Drugs, 2021, 19(4): 191. DOI:10.3390/md19040191.
- [50] KIM H T, CHUNG J H, WANG D, et al. Depolymerization of alginate into a monomeric sugar acid using Alg17C, an exo-oligoalginate lyase cloned from *Saccharophagus degradans* 2-40[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2012, 93(5): 2233-2239. DOI:10.1007/s00253-012-3882-x.
- [51] ZHU B W, HUANG L S X, TAN H D, et al. Characterization of a new endo-type polyM-specific alginate lyase from *Pseudomonas* sp.[J]. Biotechnology Letters, 2015, 37(2): 409-415. DOI:10.1007/s10529-014-1685-0.
- [52] YAN J 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. DOI:10.3390/md17100545.
- [53] 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. DOI:10.1371/journal.pone.0112939.
- [54] ZHU B W, TAN H, QIN Y, et al. Characterization of a new endo-type alginate lyase from *Vibrio* sp. W13[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 75: 330-337. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2015.01.053.
- [55] SHA L, HUANG M H, HUANG X N, et al. Cloning and characterization of a novel endo-type metal-independent alginate lyase from the marine bacteria *Vibrio* sp. Ni1[J]. Marine Drugs, 2022, 20(8): 479. DOI:10.3390/md20080479.
- [56] WANG M P, CHEN L, LOU Z Y, et al. Cloning and characterization of a novel alginate lyase from *Paenibacillus* sp. LJ-23[J]. Marine Drugs, 2022, 20(1): 66. DOI:10.3390/md20010066.
- [57] XUE Z, SUN X M, CHEN C, et al. A novel alginate lyase: identification, characterization, and potential application in alginate trisaccharide preparation[J]. Marine Drugs, 2022, 20(3): 159. DOI:10.3390/md20030159.
- [58] JIANG Z D, GUO Y X, WANG X X, et al. Molecular cloning and characterization of AlgL17, a new exo-oligoalginate lyase from *Microbulbifer* sp. ALW1[J]. Protein Expression Purification, 2019, 161: 17-27. DOI:10.1016/j.pep.2019.03.015.
- [59] HUANG H Q, LI S, BAO S X, et al. Expression and characterization of a cold-adapted alginate lyase with exo/endo-type activity from a novel marine bacterium *Aalteromonas portus* HB161718(T)[J]. Marine Drugs, 2021, 19(3): 155. DOI:10.3390/md19030155.
- [60] YANG J, CUI D D, MA S, et al. Characterization of a novel PL 17 family alginate lyase with exolytic and endolytic cleavage activity from marine bacterium *Microbulbifer* sp. SH-1[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 169: 551-563. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.12.196.

- [61] 程跃谟, 吴仕鹏, 郭华玉, 等. 酶解法从海带中提取褐藻胶寡糖的新工艺: CN102643882A[P]. 2015-12-09[2023-01-12].
- [62] 曹文禹, 徐静, 王之波. 一种酶解马尾藻提取褐藻胶寡糖的工艺方法: CN110295209B[P]. 2019-10-01[2023-01-12].
- [63] VASUDEVAN U M, LEE O K, LEE E Y. Alginate derived functional oligosaccharides: recent developments, barriers, and future outlooks[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 267: 118158. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118158.
- [64] NICOU D L, GONZALEZ K V, PORTIER A, et al. Using mechanistic modeling for understanding antibiotics purification with ion exchange chromatography[J]. Solvent Extraction and Ion Exchange, 2020, 38(5): 555-570. DOI:10.1080/07366299.2020.1765491.
- [65] BALLANCE S, AARSTAD O A, AACHMANN F L, et al. Preparation of high purity monodisperse oligosaccharides derived from mannuronan by size-exclusion chromatography followed by semi-preparative high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Carbohydrate Research, 2009, 344(2): 255-259. DOI:10.1016/j.carres.2008.10.022.
- [66] 王伟峰, 张瑛, 杨军丽. 胶束电动毛细管色谱法分析玫瑰纯露中的苯乙醇[J]. 色谱, 2020, 38(10): 1232-1237. DOI:10.3724/SP.J.1123.2020.03029.
- [67] VOLPI N. Micellar electrokinetic capillary chromatography determination of alginic acid in pharmaceutical formulations after treatment with alginate lyase and UV detection[J]. Electrophoresis, 2008, 29(17): 3504-3510. DOI:10.1002/elps.200800104
- [68] JAEKEL A, WIRTZ M, LAMOTTE S, et al. Performance in (ultra-) high-performance liquid chromatography: how to qualify and optimize instruments in practice[J]. Journal of Separation Science, 2023, 46(8): 2200894. DOI:10.1002/jssc.202200894.
- [69] JONATHAN M C, BOSCH G, SCHOLS H A, et al. Separation and identification of individual alginate oligosaccharides in the feces of alginate-fed pigs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(3): 553-560. DOI:10.1021/jf304338z.
- [70] HUNG T S, BILAD M R, SHAMSUDDIN N, et al. Confounding effect of wetting, compaction, and fouling in an ultra-low-pressure membrane filtration: a review[J]. Polymers, 2022, 14(10): 2073. DOI:10.3390/polym14102073.
- [71] 欧昌荣, 薛长湖, 汤海青, 等. 微生物发酵-膜分离法制备褐藻胶寡糖及其产物分析[J]. 微生物学报, 2005(2): 306-308. DOI:10.3321/j.issn:0001-6209.2005.02.032.
- [72] MORRIS E R, REES D A, THOM D, et al. Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific, primary dimerisation process in alginate gelation[J]. Carbohydrate Research, 1978, 66: 145-154. DOI:10.1016/s0008-6215(00)83247-4.
- [73] LIAO H, AI W J, ZHANG K, et al. Mechanisms of oligoguluronate modulating the calcium-induced gelation of alginate[J]. Polymer, 2015, 74: 166-175. DOI:10.1016/j.polymer.2015.08.007.
- [74] SLETMOEN M, DRAGET K I, STOKKE B T. Alginate oligoguluronates as a tool for tailoring properties of Ca-alginate gels[J]. Macromolecular Symposia, 2010, 291/292(1): 345-353. DOI:10.1002/masy.201050541.
- [75] CAO L Q, LU W, GE J, et al. Modulation of oligoguluronate on the microstructure and properties of Ca-dependent soy protein gels[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 250: 116920. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116920.
- [76] LATTNER D, FLEMMING H C, MAYER C. C-13-NMR study of the interaction of bacterial alginate with bivalent cations[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 33(1/2/3): 81-88. DOI:10.1016/S0141-8130(03)00070-9.
- [77] KHAN S, TONDERVIK A, SLETTA H, et al. Overcoming drug resistance with alginate oligosaccharides able to potentiate the action of selected antibiotics[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(10): 5134-5141. DOI:10.1128/AAC.00525-12.
- [78] KAWADA A, HIURA N, TAJIMA S, et al. Alginate oligosaccharides stimulate VEGF-mediated growth and migration of human endothelial cells[J]. Archives of Dermatological Research, 1999, 291(10): 542-547. DOI:10.1007/s004030050451.
- [79] MURPHY T, ROY I, HARROP A, et al. Elicitation effects of oligosaccharides on the transcriptional level of bacitracin ABC transporter genes in *Bacillus licheniformis*[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(9): 1665-1670. DOI:10.1007/s10529-008-9743-0.
- [80] RAINA S, MURPHY T, DE VIZIO D, et al. Novel strategies for overproduction of microbial products[J]. Chemical Engineering Transactions, 2011, 24: 847-852. DOI:10.3303/CET1124142.
- [81] 张真庆, 赵峡, 管华诗. 古糖酯的稳定性研究[J]. 药学学报, 2003(9): 711-714. DOI:10.3321/j.issn:0513-4870.2003.09.017.
- [82] ZHAO X, YU G L, GUAN H S, et al. Preparation of low-molecular-weight polyguluronate sulfate and its anticoagulant and anti-inflammatory activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 69(2): 272-279. DOI:10.1016/j.carbpol.2006.10.024.
- [83] WU L J, WANG W, ZHANG X S, et al. Anti-HBV activity and mechanism of marine-derived polyguluronate sulfate (PGS) *in vitro*[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 143: 139-148. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.01.065.
- [84] GAO Y Y, LIU W, WANG W, et al. Polyguluronate sulfate (PGS) attenuates immunological liver injury *in vitro* and *in vivo*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 592-598. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.03.098.
- [85] BELLENGUEZ C, KÜÇÜKALI F, JANSEN I E, et al. New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias[J]. Nature Genetics, 2022, 54(4): 412-436. DOI:10.1080/08039488.2022.2128869.
- [86] SCHELTENS P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, et al. Alzheimer's disease[J]. The Lancet, 2021, 397: 1577-1590. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
- [87] BI D C, XIAO S F, LIN Z J, et al. Alginate-derived mannuronate oligosaccharide attenuates tauopathy through enhancing autophagy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(15): 4438-4445. DOI:10.1021/acs.jafc.1c00394.
- [88] 肖彪, 储超扬, 单江晖, 等. 阿尔茨海默病中淀粉样蛋白的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(8): 1806-1825. DOI:10.16476/j.pibb.2022.0402.
- [89] BI D C, YAO L J, LIN Z J, et al. Unsaturated mannuronate oligosaccharide ameliorates β -amyloid pathology through autophagy in Alzheimer's disease cell models[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 251: 117124. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.117124.
- [90] DONG X L, WANG X, LIU F, et al. Polymannuronic acid prevents dopaminergic neuronal loss via brain-gut-microbiota axis in Parkinson's disease model[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 994-1005. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.180.
- [91] LIU H Y, GENG M Y, XIN X L, et al. Multiple and multivalent interactions of novel anti-AIDS drug candidates, sulfated polymannuronate (SPMG)-derived oligosaccharides, with gp120 and their anti-HIV activities[J]. Glycobiology, 2004, 15(5): 501-510. DOI:10.1093/glycob/cwi031.
- [92] WANG X Y, SUN G Q, FENG T, et al. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial

- amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression[J]. *Cell Research*, 2019, 29(10): 787-803. DOI:10.1038/s41422-019-0216-x.
- [93] 傅政, 张凤超, 李玉姣, 等. 褐藻胶寡糖生物活性研究进展[J]. *中国海洋药物*, 2020, 39(5): 65-74. DOI:10.13400/j.cnki.cjmd.2020.05.010.
- [94] HAO C, HAO J J, WANG W, et al. Insulin sensitizing effects of oligomannuronate-chromium (III) complexes in C2C12 skeletal muscle cells[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(9): e24598. DOI:10.13400/j.cnki.cjmd.2020.05.010.
- [95] BI D C, LAI Q X, CAI N, et al. Elucidation of the molecular-mechanisms and *in vivo* evaluation of the anti-inflammatory effect of alginate-derived seleno-polymannuronate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(9): 2083-2091. DOI:10.1021/acs.jafc.7b05719.
- [96] BI D C, LAI Q X, LI X F, et al. Neuroimmunoregulatory potential of seleno-polymannuronate derived from alginate in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 87: 925-932. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.09.013.
- [97] 张敏, 林鸿, 张岫美, 等. 甘糖酯对大鼠急性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中外医疗*, 2011, 30(22): 30-31. DOI:10.3969/j.issn.1674-0742.2011.22.017.
- [98] 王汝霞, 胡建廷, 高聆, 等. 甘糖酯降低实验性糖尿病大鼠肾脏 ICAM-1, VCAM-1表达[J]. *中国海洋药物*, 2005, 24: 10-16.
- [99] POWELL L C, PRITCHARD M F, EMANUEL C, et al. A nanoscale characterization of the interaction of a novel alginate oligomer with the cell surface and motility of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2014, 50(3): 483-492. DOI:10.1165/rcmb.2013-02870C.
- [100] 曾斌芬, 时瑞, 吴曼铃, 等. 褐藻胶寡糖的功能特性研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(13): 210-216. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2022.13.030.
- [101] UENO M, ODA T. Biological activities of alginate[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2014, 72: 95-112. DOI:10.1016/B978-0-12-800269-8.00006-3.
- [102] KURACHI M, NAKASHIMA T, YAMAGUCHI K, et al. Comparison of the activities of various alginates to induce TNF- α secretion in RAW 264.7 cells[J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2005, 11(4): 199-203. DOI:10.1007/s10156-005-0392-0.
- [103] SUZUKI S, CHRISTENSEN B E, KITAMURA S. Effect of mannuronate content and molecular weight of alginates on intestinal immunological activity through Peyer's patch cells of C3H/HeJ mice[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 83(2): 629-634. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.08.032.
- [104] WAN J, ZHANG J, XU Q S, et al. Alginate oligosaccharide protects against enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced porcine intestinal barrier injury[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 270: 118316. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118316.
- [105] XIONG B H, LIU M, ZHANG C, et al. Alginate oligosaccharides enhance small intestine cell integrity and migration ability[J]. *Life Sciences*, 2020, 258: 118085. DOI:10.1016/j.lfs.2020.118085.
- [106] 张明杰, 李恒, 蒋敏, 等. 低分子量褐藻寡糖的高效酶法制备及其抗氧化活性评价[J]. *海洋科学*, 2016, 40(12): 62-70. DOI:10.11759/hyxx20160315001.
- [107] FALKEBERG M, CHEONG L Z, GIANFICO C, et al. Alginate oligosaccharides: enzymatic preparation and antioxidant property evaluation[J]. *Food Chemistry*, 2014, 164: 185-194. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.05.053.
- [108] YANG J H, BANG M A, JANG C H, et al. Alginate oligosaccharide enhances LDL uptake via regulation of LDLR and PCSK9 expression[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2015, 26(11): 1393-1400. DOI:10.1016/j.jnutbio.2015.07.009.
- [109] WANG Y T, LI L L, YE C Q, et al. Alginate oligosaccharide improves lipid metabolism and inflammation by modulating gut microbiota in high-fat diet fed mice[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(8): 3541-3554. DOI:10.1007/s00253-020-10449-7.
- [110] CHEN J Y, HU Y, ZHANG L, et al. Alginate oligosaccharide DP5 exhibits antitumor effects in osteosarcoma patients following surgery[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8: 623. DOI:10.3389/fphar.2017.00623.
- [111] 胡婷, 辛萌, 周晓琳, 等. 微波法制备甘露糖醛酸寡糖及其体外抗氧化活性研究[J]. *中国海洋药物*, 2014, 33(3): 27-33. DOI:10.13400/j.cnki.cjmd.2014.03.005.
- [112] YAMAMOTO Y, KURACHI M, YAMAGUCHI K, et al. Induction of multiple cytokine secretion from RAW 264.7 cells by alginate oligosaccharides[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2007, 71: 238-241. DOI:10.1271/bbb.60416.
- [113] IWAMOTO M, KURACHI M, NAKASHIMA T, et al. Structure-activity relationship of alginate oligosaccharides in the induction of cytokine production from RAW 264.7 cells[J]. *FEBS Letters*, 2005, 579(20): 4423-4429. DOI:10.1016/j.febslet.2005.07.007.
- [114] HU X K, JIANG X L, GONG J, et al. Antibacterial activity of lyase-depolymerized products of alginate[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2005, 17(1): 57-60. DOI:10.1007/s10811-005-5524-5.
- [115] ZHOU R, SHI X Y, GAO Y, et al. Anti-inflammatory activity of guluronate oligosaccharides obtained by oxidative degradation from alginate in lipopolysaccharide-activated murine macrophage RAW 264.7 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(1): 160-168. DOI:10.1021/jf503548a.
- [116] BOUHADIR K H, LEE K Y, ALSBERG E, et al. Degradation of partially oxidized alginate and its potential application for tissue engineering[J]. *Biotechnology Progress*, 2001, 17(5): 945-950. DOI:10.1021/bp10070p.
- [117] LI S Y, HE N N, WANG L N. Efficiently anti-obesity effects of unsaturated alginate oligosaccharides (UAOS) in high-fat diet (HFD)-fed mice[J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(9): 540. DOI:10.3390/md17090540.
- [118] LI S Y, WANG L N, LIU B, et al. Unsaturated alginate oligosaccharides attenuated obesity-related metabolic abnormalities by modulating gut microbiota in high-fat-diet mice[J]. *Food & Function*, 2020, 11(5): 4773-4784. DOI:10.1039/c9fo02857a.
- [119] HE N N, YANG Y, WANG H Y, et al. Unsaturated alginate oligosaccharides (UAOS) protects against dextran sulfate sodium-induced colitis associated with regulation of gut microbiota[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 83: 104536. DOI:10.1016/j.jff.2021.104536.
- [120] XU X, WU X T, WANG Q, et al. Immunomodulatory effects of alginate oligosaccharides on murine macrophage RAW 264.7 cells and their structure-activity relationships[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62: 3168-3176. DOI:10.1021/jf405633n.