

刺参多糖的提取纯化及其组分的分析

穆琳^{1,2}, 赵晓玥¹, 高岳¹, 郭振宇¹, 林研彤¹, 李智博¹, 祁艳霞¹,
胡玉才¹, 赵前程^{1*}

(1. 大连海洋大学食品科学与工程学院, 大连 116023;

2. 辽宁省水产品分析检验及加工技术科学技术服务中心, 大连 116001)

摘要: **目的** 研究圈养刺参多糖的组成。**方法** 以大连圈养刺参为研究对象, 采用酶解醇沉法提取刺参的粗多糖, 并通过 DEAE-Sephrose Fast Flow 阴离子交换树脂进行进一步纯化, 并分别采用高效液相色谱法和红外光谱法对多糖的单糖组成及其含量和多糖的结构进行分析。**结果** 提取的刺参粗多糖含量为 62.30%, 蛋白质含量为 14.27%, 纯度较好, 经纯化后得到的三个组分峰(峰 1、峰 2 和峰 3), 除甘露糖外, 组分峰 2 和组分峰 3 中各单糖含量间均存在显著性差异($P < 0.05$), 且组分峰 3 多糖的质量比最高, 为 36.45%; 刺参多糖中的单糖以岩藻糖、氨基半乳糖、葡萄糖醛酸为主, 除葡萄糖外, 组分峰 3 中的其他单糖含量均高于组分峰 2; 组分峰 3 的结构较复杂。**结论** 本文为海参多糖的开发与利用提供了技术支撑。

关键词: 刺参; 多糖; 纯化; 组分; 分析

Purification of polysaccharides and analysis of their contents and compositions in sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*)

MU Lin^{1,2}, ZHAO Xiao-Yue¹, GAO Yue¹, GUO Zhen-Yu¹, LIN Yan-Tong¹, LI Zhi-Bo¹,
QI Yan-Xia¹, HU Yu-Cai¹, ZHAO Qian-Cheng^{1*}

(1. Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Liaoning Aquatic Products Analysis Testing and Processing and Science Technology Service Center, Dalian 116001, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the composition of polysaccharide of farmed sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*). **Methods** Dalian sea cucumber was used as raw materials. Crude polysaccharides of sea cucumber was extracted by enzyme alcohol sink method and purified by DEAE-Sephrose Fast Flow anion exchange chromatography. The structure and compositions of purified polysaccharide were analyzed by infrared spectral and precolumn derivatization high performance liquid chromatography, respectively. **Results** The polysaccharides and protein content were 62.30% and 14.27%. Three peaks were obtained after purified by DEAE-Sephrose Fast Flow anion exchange chromatography. There were significant difference between peak 2 and peak 3 (except for mannose). The polysaccharide of peak 3 of mass ration was 36.45%. Fucose, galactosamine and glucuronic acid were the primary monosaccharide in polysaccharides of farmed sea cucumbers from Dalian. Except for glucose, the content of the above 3 kinds of monosaccharide were all higher in peak 3 than that in peak 2. The constitution of peak 3 was complex. **Conclusion** This article provides

基金项目: 大连市海洋与渔业局资助项目

Fund: Supported by the Dalian Ocean and Fishery Bureau

*通讯作者: 赵前程, 教授, 主要研究方向为食品营养与安全。E-mail: qczhao@dlou.edu.cn

*Corresponding author: ZHAO Qian-Cheng, Professor, Dalian Ocean University, No.52, Heishijiao Road, Shahekou Area, Dalian 116001, China. E-mail: qczhao@dlou.edu.cn

technical support for the development and utilization of polysaccharides of sea cucumber.

KEY WORDS: sea cucumbers; polysaccharides; purified; component content; analysis

1 引言

刺参(*Apostichopus japonicas*)属棘皮动物门、海参纲、楯手目、刺参科、仿刺参属,有“海中人参”的美誉。近现代科学研究表明,刺参体内含有丰富的营养物质,具有蛋白含量高、脂肪含量少的特点,同时含有丰富的氨基酸、脂肪酸和矿物元素^[1-3]。此外,刺参还富含多种活性物质,如多糖、皂苷、胶原蛋白以及稀有微量元素等,具有多种生理功能。刺参多糖主要存在于刺参的体壁中,其对调控人体生理功能等具有非常重要的意义,主要表现在抗肿瘤活性、抗凝血活性、抗血栓活性、抗血脂活性、抗氧化活性以及增强免疫活性等^[4]。Paulo 等研究发现,岩藻糖化的硫酸软骨素能增强抗凝血酶和肝素辅助因子 II 的凝血酶抑制活性,且发现海参岩藻多糖的抗凝血活性更多地依赖于硫酸酯化类型和单糖连接情况^[5]。Ning 等从梅花参体壁提取的硫酸软骨素能有效阻止艾滋病毒进入细胞并抑制艾滋病毒的复制^[6]。郭莲英等通过实验证明了仿刺参多糖具有增强脾淋巴细胞和巨噬细胞活性的作用,同时可以促进 TNF- α 和 IL-2 的产生,在肿瘤的免疫治疗中发挥作用^[7]。李圣明等研究发现海参多糖能够促进小鼠淋巴细胞产生抗体,提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬作用,对特异性免疫防御系统起到了扶正固本的作用^[8]。

刺参产业是我国重要的渔业产业之一,我国刺参产地主要集中于黄渤海海域,山东半岛和辽东半岛周边沿海地产量较高,其中,辽宁大连的刺参尤其受到消费者的喜爱^[9,10]。近几年,刺参以其特有的营养价值和药用价值得到了消费者的广泛青睐。本文提取了大连圈养刺参中的粗多糖并分离纯化,利用高效液相色谱法测定多糖不同纯化组分峰中单糖组分的含量,为海参原料及制品的质量评价及海参多糖的进一步研究提供基础实验数据。

2 材料与方法

2.1 材料、试剂与仪器

刺参:取大连市庄河圈养海参,取样水深为 2 m 以上,样品 15 kg。将打捞上来的新鲜刺参样品放置

于加冰的泡沫箱运送至实验室。

浓盐酸(分析纯,新光化工试剂厂);氢氧化钠(分析纯,沈阳市联邦试剂厂);三氟乙酸(分析纯,萨恩化学技术(上海)有限公司);N₂(湖南湘钢梅塞尔气体产品有限公司);超纯水(实验室自制);乙腈(色谱纯,美国 Spectrum);氯仿(分析纯,天津市恒星化学试剂制造有限公司);1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮、磷酸氢二钾、浓硫酸、苯酚(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);L-半胱氨酸(分析纯, Solarbio 公司);95%乙醇、无水乙醇(分析纯,北京化工厂);3,5-二硝基水杨酸(分析纯,北京化学试剂公司);木瓜蛋白酶(Papain Papaya, 6 \times 10⁶ U/g, Solarbio 公司)。

D-葡萄糖(Glc)、D-甘露糖(Man)、D-半乳糖(Gal)、D-(+)-半乳糖醛酸(GalUA)、D-(+)-氨基半乳糖酸盐(GAIN)、L-岩藻糖(Fuc)、D-葡萄糖醛酸(GlcUA)、D-(+)-氨基葡萄糖(GlcN)(美国 Sigma)。

BS224S 分析天平(北京赛多利斯有限公司);超声波制造仪(无锡市科洁超声电子设备有限公司);101-2-BS 型电热恒温鼓风干燥箱(上海平轩科学仪器有限公司);HH-4 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);漩涡混合器(金坛市华城润华实验仪器厂);过膜器(大连中汇达科仪公司);DHZ-D(III)循环水式多用真空泵(郑州博科仪器设备有限公司);Milli-Q 超纯水仪(法国 Millipore);L-2000 液相色谱仪、La Chorm C₁₈ 柱(日本日立公司);721 可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);BS224S 型精密电子天平(德国赛多利斯仪器系统有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品的准备

将刺参去内脏清洗后, -25 °C 平板速冻 5 h, -18 °C 冰柜冷冻储藏。冷冻刺参切片后用冷冻真空干燥机冷冻干燥 48 h, 利用高速离心粉碎机将刺参粉碎, 过 80 目筛, 然后置于聚乙烯袋中, 封口, 于 -18 °C 保存备用。

2.2.2 刺参粗多糖的提取

采用 Ricardo 的方法^[11]并稍作改动, 提取刺参粗多糖。具体方法如下:称取刺参干粉, 加入丙酮溶液, 于 4 °C 浸泡 24 h, 取出置于通风橱内烘干。然后, 向

挥干的刺参干粉中加入木瓜蛋白酶和 0.1 mol/L 的乙酸钠缓冲溶液(pH 6.0, 含半胱氨酸盐酸盐和 EDTA 的浓度均为 5 mmol/L), 于 60 °C 水浴 24 h。取出冷却, 6000 r/min 离心 20 min, 收集上清液。向上清液中加入 10% CPC 溶液, 充分搅拌后室温静置 24 h。分层后 6000 r/min 离心 20 min, 收集沉淀。用 NaCl 乙醇溶液(3 mol/L NaCl 溶液:乙醇=100:15, V:V)将沉淀完全溶解。向溶解液中加入 95%乙醇溶液, 充分搅拌后 4 °C 静置过夜。溶液分层后即可取出 6000 r/min 离心 20 min。用 80%和 95%乙醇溶液洗涤沉淀 2~3 次后, 60 °C 烘干, 约 2 h。烘干样品溶解于适量蒸馏水, 采用透析袋(截流分子量为 14 kD)透析除盐。粗多糖用冷冻真空干燥机冷冻干燥 48 h, 置于聚乙烯袋中, 封口, 于 -18 °C 保存备用。

2.2.3 刺参粗多糖成分的测定

采用苯酚-硫酸法^[12], 测定刺参粗多糖的总糖含量; 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[13], 测定刺参粗多糖的还原糖含量; 多糖含量为总糖含量减去还原糖含量。

采用考马斯亮蓝 G250 法^[14], 测定刺参粗多糖蛋白质含量。

2.2.4 刺参粗多糖的分离纯化

采用 DEAE-Sepharose Fast Flow 阴离子交换树脂对刺参粗多糖进行分离纯化。层析柱规格为 3 cm×30 cm; 上样量为 50 mg, 用 0~1.5 mol/L 的 NaCl 盐溶液进行梯度洗脱, 收集条件: 流速为 1.0 mL/min, 每管收集 6 mL。样品溶液每隔 5 管用苯酚-硫酸比色法测定总糖含量, 以试管数目为横坐标, 以吸光度为主纵坐标、NaCl 盐溶液浓度为次纵坐标做洗脱曲线图。收集各峰组分, 将多次收集得到的各洗脱峰的洗脱液经过透析、旋转蒸发后, 冷冻干燥, 得到初步纯化的刺参多糖样品。通过计算各组分峰质量与上样总质量的比得到刺参多糖各组分的质量比。

2.2.5 刺参多糖单糖组成及含量的测定

采用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)柱前衍生高效液相色谱法^[15]测定刺参多糖的单糖组成及其含量。

2.2.6 刺参多糖的结构分析

取干燥的经分离纯化所得的刺参多糖组分峰 1~2 mg, 与干燥 KBr 粉末压成透明薄片, 在傅里叶变换红外光谱仪上扫描红外光谱吸收值(400~4000 cm⁻¹), 初步分析分离纯化的刺参多糖结构。

2.3 数据处理

本试验所有检测指标均测定 3 次, 结果用平均值±标准差表示。数据分析采用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析, 利用 Tukey HSD 两两比较, 以 $P<0.05$ 为具有统计学意义上的差异。

3 结果与讨论

3.1 刺参粗多糖成分的分析

对刺参粗多糖的多糖和蛋白质含量进行测定, 其中刺参粗多糖的多糖含量为 62.30%, 蛋白质含量为 14.27%, 总糖含量为 75.34%, 高于盛文静^[15]测得的中国产日本刺参(*Apostichopus japonicus*)。采用酶法提取的刺参粗多糖纯度较高, 有利于进一步的分离纯化。

3.2 刺参粗多糖分离纯化

如图 1 所示, 经过 DEAE-Sepharose Fast Flow 阴离子交换树脂洗脱后, 得到 3 个组分峰, 分别命名为峰 1、峰 2 和峰 3。峰 1 是被 Tris-HCl 溶液洗脱下来的, 说明其为中性多糖, 几乎不含阴离子; 峰 2 和峰 3 分别由不同浓度的 NaCl 溶液洗脱得到, 说明其含有不同含量的阴离子即硫酸基取代基^[16], 而且峰 3 在 NaCl 溶液浓度较高的条件下被洗脱下来, 说明其硫酸基的含量较高^[16]。

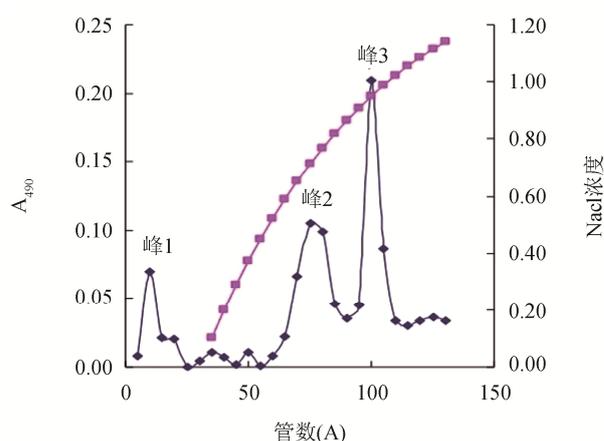


图 1 大连圈养刺参粗多糖阴离子交换树脂洗脱曲线图
Fig. 1 Elution curve of sea cucumber of Dalian by DEAE fast flow chromatography

比较刺参粗多糖每个组分峰的质量与上样总量的质量比, 可以得出刺参粗多糖的 3 个组分峰中峰

2、峰 3 的质量比为 8.08%和 36.45%，其中峰 3 的质量比最高，说明刺参多糖中有较多硫酸基取代的多糖含量最多。刺参多糖峰 1 的质量比仅为 2.05%，说明其中性多糖含量很少。由于刺参多糖的许多生物活性都取决于硫酸基的含量和取代位置^[17]，所以下主要对峰 2 和峰 3 的单糖组成进行比较研究。

3.3 刺参多糖单糖组成及含量分析

3.3.1 单糖标准品保留时间的确定

对 8 种单糖标准品进行高效液相色谱分析，分离效果良好，得到了单糖标准品的保留时间，结果如图 2 所示。

3.3.2 线性关系的考察

各标准单糖的标准曲线线性良好，线性范围如

表 1 所示。

3.3.3 刺参多糖的单糖组成分析

图 3 给出了刺参多糖组分峰 2 和组分峰 3 经 PMP 衍生后的 HPLC 色谱图，从图 3 可以看出，甘露糖 (Man)、氨基葡萄糖 (GlcN)、葡萄糖醛酸 (GlcUA)、氨基半乳糖 (GalN)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal) 和岩藻糖 (Fuc)，分离效果良好，且峰形标准对称。其中，组分峰 2 检测到 6 种单糖，未检测到氨基半乳糖；组分峰 3 检测到全部的 7 种单糖，且在甘露糖和氨基葡萄糖之间出现了一个未知峰，经参考文献证实此为葡萄糖醛酸异构峰 (IsoGlcUA)^[15]。组分峰 2 和组分峰 3 所含单糖种类相似，但是各种单糖比例差别很大，这与杨洁^[18]的实验结论相同。

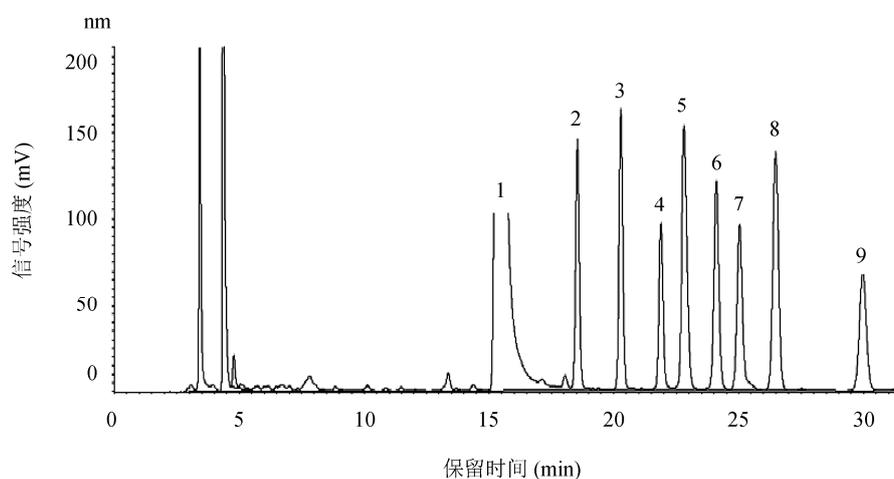


图 2 单糖标准品 PMP 衍生物液相洗脱图

Fig. 2 Chromatography of PMP derivatives of monosaccharide standards

注: 1: 试剂; 2: 甘露糖; 3: 氨基葡萄糖; 4: 葡萄糖醛酸; 5: 半乳糖醛酸; 6: 氨基半乳糖; 7: 葡萄糖; 8: 半乳糖; 9: 岩藻糖

Note: 1: Regent; 2: Man; 3: GlcN; 4: GlcUA; 5: GalUA; 6: GalN; 7: Glc; 8: Gal; 9: Fuc

表 1 不同单糖的线性回归方程

Table 1 Regression equations and their correlation coefficients (r^2) of different monosaccharide

单糖	标准曲线	回归系数平方值/ r^2	线性范围($\mu\text{g/mL}$)
甘露糖 Man	$Y=6839.9X+81493$	0.9998	25~250
氨基葡萄糖 GlcN	$Y=6203.8X+32002$	0.9990	25~250
葡萄糖醛酸 GlcUA	$Y=6360.1X+212.2$	0.9998	25~250
半乳糖醛酸 GalUA	$Y=12434X+29368$	0.9997	25~250
氨基半乳糖 GalN	$Y=6304.9X+68617$	0.9996	25~250
葡萄糖 Glc	$Y=6216.5X+106742$	0.9997	25~250
半乳糖 Gal	$Y=9747.7X+46183$	0.9991	25~250
岩藻糖 Fuc	$Y=6798.5X+9570.7$	0.9996	50~500

将组分峰2和组分峰3中检测到的各种单糖的峰面积代入标准曲线后计算所得的单糖含量,结果如表2所示。刺参粗多糖组分峰2和组分峰3中的各单糖含量,除甘露糖外,均存在显著性差异($P<0.05$)。其中,组分峰2的葡萄糖含量显著高于峰3($P<0.05$),其他单糖的含量均为组分峰3高于组分峰2($P<0.05$)。

以表2中组分峰2和组分峰3的质量比为加权,计算刺参纯化多糖(组分峰2和组分峰3)的单糖含量,结果如表3所示。从表3可以看出,刺参初步纯化多糖不同种类的单糖含量均存在显著性差异($P<0.05$)。其中,单糖含量最高的3种单糖均依次为岩藻糖、氨

基半乳糖和葡萄糖醛酸,这与樊绘曾所得结果一致^[19]。有研究表明^[20],海参多糖中硫酸酯化的岩藻糖含量在很大程度上决定其抗凝血和抗血栓活性,岩藻糖含量越高,活性越好。由此推断刺参多糖具有一定的抗凝血和抗血栓活性,具体活性大小还需进一步的研究。

3.4 刺参多糖的结构分析

图4是刺参多糖组分峰2和组分峰3的红外光谱图,表4和表5为糖类部分官能团和几种吡喃糖环的特征吸收波数。

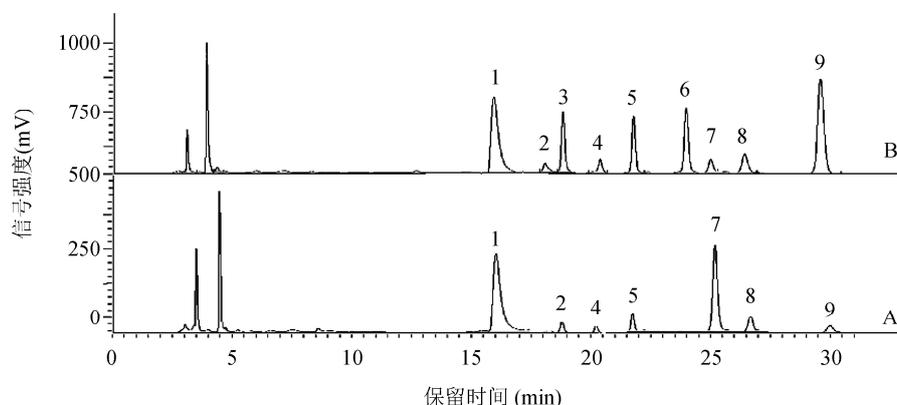


图3 峰2(A)、峰3(B)衍生物液相洗脱图

Fig. 3 Chromatography of PMP derivatives of peak 2 (A) and peak 3 (B)

注: 1: 试剂; 2: 甘露糖; 3: 葡萄糖醛酸异构体; 4: 氨基葡萄糖; 5: 葡萄糖醛酸; 6: 氨基半乳糖; 7: 葡萄糖; 8: 半乳糖; 9: 岩藻糖

Note: 1: Regent; 2: Man; 3: IsoGlcUA; 4: GlcN; 5: GlcUA; 6: GalN; 7: Glc; 8: Gal; 9: Fuc

表2 刺参多糖纯化峰2和峰3单糖含量(%)

Table 2 The monosaccharide composition of peak 2 and peak 3 (%)

单糖	甘露糖	氨基葡萄糖	葡萄糖醛酸	氨基半乳糖	葡萄糖	半乳糖	岩藻糖
峰2	0.75±0.07 ^a	0.54±0.05 ^a	0.98±0.10 ^a	/	6.62±0.57 ^b	0.74±0.07 ^a	0.89±0.10 ^a
峰3	0.73±0.05 ^a	1.16±0.05 ^b	3.33±0.19 ^b	4.60±0.45 ^a	1.30±0.16 ^a	1.38±0.02 ^b	7.73±0.15 ^b

注: /: 未检测出; 同列中标有不同小写字母者表示组间有显著性差异($P<0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异($P>0.05$)。

Note: /: Not detected; The means with different letters within the same column are significant differences at the 0.05 probability level, and the means with the same letters within the same column are not significant differences.

表3 刺参多糖的单糖组成

Table 3 The monosaccharide composition of pure polysaccharides

单糖	甘露糖	氨基葡萄糖	葡萄糖醛酸	氨基半乳糖	葡萄糖	半乳糖	岩藻糖	总和
含量/%	0.73±0.05 ^a	1.05±0.05 ^b	2.90±0.15 ^c	3.77±0.37 ^f	2.27±0.23 ^d	1.26±0.03 ^e	6.49±0.14 ^e	18.47±0.85

注: 同行中标有不同小写字母者表示组间有显著性差异($P<0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异($P>0.05$)。

Note: The means with different letters within the same line are significant differences at the 0.05 probability level, and the means with the same letters within the same line are not significant differences.

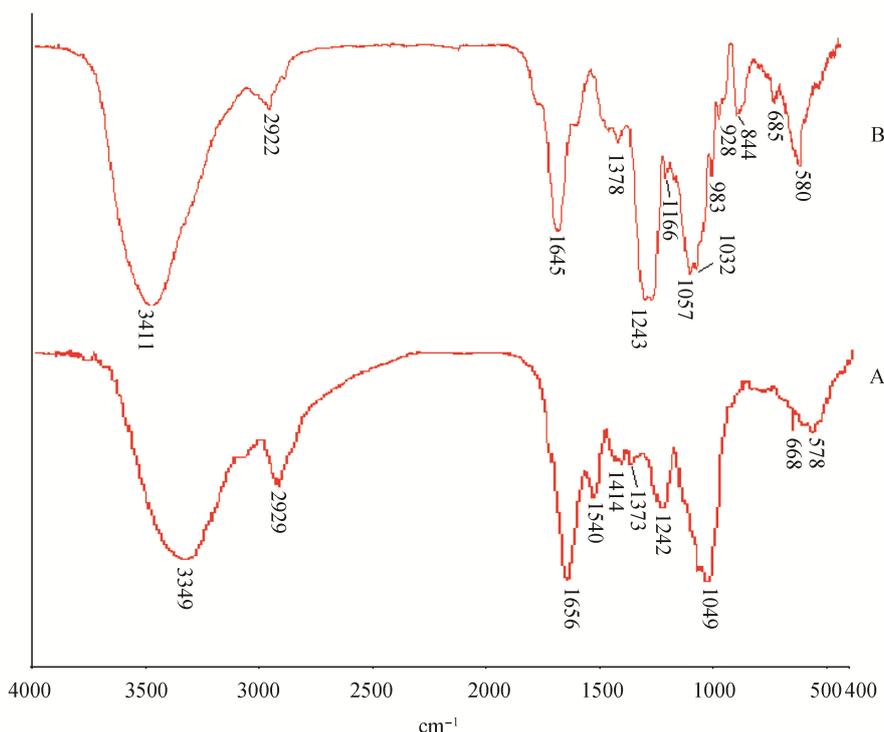


图 4 峰 2 (A)、峰 3 (B) 红外光谱图

Fig. 4 The infrared spectra of peak 2 (A) and peak 3 (B)

表 4 糖类部分官能团的特征吸收^[20]

Table 4 The characteristic absorption of some carbohydrate groups

振动方式	红外吸收波数/cm ⁻¹	
O-H 伸缩振动(-OH)	3700~3200	
N-H 伸缩振动(-NH)		
C-H 伸缩振动(-CH ₂ -)	3000~2800	
C=O 伸缩振动	(-CHO)	1740~1600
	(-CONH ₂)	1650
C=O 非对称伸缩振动(-COOH)	1600~1550	
O-H 变角振动(-COOH)	1500~1300	
S=O 伸缩振动	1250~1240	
C-O 伸缩振动(C-O-H、C-O-C)	1200~1000	
C-O-S 伸缩振动(轴向配位)	845	
C-O-S 伸缩振动(赤道配位)	820	

表 5 几种吡喃糖环的特征吸收^[20]

Table 5 The characteristic absorption of some pyranose

糖环	红外吸收波数/cm ⁻¹
α -端基差向异构 C-H 变角振动	844±8
β -端基差向异构 C-H 变角振动	891±7
α -D-葡萄糖吡喃糖	855~833
β -D-葡萄糖吡喃糖	905~876
α -D-半乳糖吡喃糖	839~810
β -D-半乳糖吡喃糖	914~886

结合表 4 和表 5 可以看出, 组分峰 2 和组分峰 3 具有几个相同的特征吸收峰: 在 3200-3700 cm⁻¹ 处都出现了一个很大的吸收峰, 这是由 O-H 伸缩振动和 N-H 伸缩振动产生的。羟基是糖类共有的特征, 而氨基是糖胺聚糖所特有的特征; 在 2930 cm⁻¹ 附近都出

现了甲基的 C-H 伸缩振动峰吸收峰, 是由岩藻糖甲基引起的^[21]; 在 1650 cm⁻¹ 附近都出现了一个由乙酰氨基-CONH₂ 的 C=O 伸缩振动引起的吸收峰, 是乙酰氨基的特征吸收峰^[20]; 1545 cm⁻¹ 和 1375~1450cm⁻¹ 附近的吸收峰是由羧基-COOH(C=O 非对称伸缩振

动和 O-H 变角振动)引起的; 在 1240~1250 cm^{-1} 附近均出现了一个 S=O 伸缩振动吸收峰, 进一步表明了刺参多糖富含硫酸基取代。而且, 峰 3 在此处有强烈吸收, 说明其硫酸基取代相对较多, 也符合其在高浓度盐洗脱出的结果。1000~1200 cm^{-1} 的波长范围通常被称为分子的指纹识别, 因为通过它可以鉴定多糖里的主要化学基团, 吸收峰的位置和强弱是每个多糖所特有的^[22]。这个区域主要是由环振动和伸缩振动(C-OH)侧基和(C-O-C)振动糖苷带重叠。

在组分峰 3 的红外光谱图中(844±8) cm^{-1} 处出现了一个吸收峰, 说明其存在 α -端基差向异构 C-H 变角振动的糖环。同时, 在 840~850 cm^{-1} 附近的吸收峰也可能是由 C-O-S 的轴向配位的伸缩振动引起的, 这是 C-4 位硫酸基取代的氨基半乳糖和岩藻糖的特征吸收峰, 说明组分峰 3 中的氨基半乳糖和岩藻糖的硫酸基取代位点可能在 C-4 位, 而组分峰 2 在此处无吸收峰。

4 结 论

刺参粗多糖经凝胶纯化后得到的 3 个组分峰中, 峰 3 的质量比最高; 峰 2 和峰 3 的各单糖含量间均存在显著性差异, 除了葡糖糖外, 峰 3 中的其他单糖含量均明显高于峰 2; 刺参多糖的单糖组成中, 岩藻糖含量最高, 其次是氨基半乳糖和葡萄糖醛酸; 纯化峰 3 结构较复杂。此研究结果为海参多糖开发和利用提供技术支撑。

参考文献

- [1] Wen J, Hu CQ, Fan SG. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers [J]. *J Sci Food Agric*, 2010, 90: 2469–2474.
- [2] Bechtel PJ, Oliveira ACM, Demir N. Chemical composition of the giant red sea cucumber, *Parastichopus californicus*, commercially harvested in Alaska [J]. *Food Sci Nutr* 2013, 1(1): 63–73.
- [3] Aydın M, Sevgili H, Tufan B, *et al.* Proximate composition and fatty acid profile of three different fresh and dried commercial sea cucumbers from Turkey [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2011, 46: 500–508.
- [4] 王斌, 袁甜, 张译文, 等. 仿刺参肠多糖提取物对小鼠实体瘤的抑制作用[J]. *大连海洋大学学报*, 2012, 3(27): 195–199.
Wang B, Yuan T, Zhang YW, *et al.* The antitumor effect of intestinal polysaccharides in sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. *J Dalian Ocean Univ*, 2012, 3(27): 195–199.
- [5] Paulo AS, Moura O, Mariana S, *et al.* Structure and anticoagulant activity of a fucosylated chondroitin sulfate from echinoderm sulfated fucose branches anticoagulant action [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(39): 23973–23984.
- [6] Ning H, Ming YW, Chang BZ, *et al.* The depolymerized fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber potently inhibits HIV replication Via interfering with virus entry [J]. *Carbohydr Res*, 2013, (380): 64–69.
- [7] 郭莲英, 王璐, 邹向阳, 等. 仿刺参多糖抗肿瘤及对荷瘤小鼠免疫调节作用[J]. *中国微生态学杂志*, 2009, 21(9): 806–808.
Guo L, Wang L, Zhou XY, *et al.* Antitumor and immunomodulating effects of *Apostichopus japonicus* polysaccharides (AJPS) in tumor-bearing mice [J]. *Chin J Microecol*, 2009, 21(9): 806–808.
- [8] 李圣明, 孙天文, 姜勤枫. 海参生物活性成分功能性研究[J]. *中国保健食品*, 2004, (9): 6–7.
Li SM, Sun TW, Jang QF. Study on bioactive constituents of sea cucumber [J]. *Chin Health Food*, 2004, (9): 6–7.
- [9] Chen J. Present status and prospects of sea cucumber industry in China [Z]. *Advance in sea cucumber aquaculture and management*, 2004: 25–38.
- [10] Gao Y, Li ZB, Qi YX, *et al.* Proximate composition and nutritional quality of deep sea growth sea cucumbers (*Stichopus japonicus*) from different origins [J]. *J Sci Food Agric*, doi: 10.1002/jsfa.7353.
- [11] Ricardo PV, Paulo ASM. Occurrence of a unique fucose-branched chondroitin sulfate in the body wall of a sea cucumber [J]. *Biol Chem*, 1988, 263(34): 18176–18183.
- [12] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Anal Chem*, 1956, (28): 350–356.
- [13] 赵凯, 许鹏举, 谷广焯. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. *食品科学*, 2008, 28(8): 534–536.
Zhao K, Xu PJ, Gu GY. Study on determination of reducing sugar content using 3,5-Dinitrosalicylic acid method [J]. *Food Sci*, 2008, 28(8): 534–536.
- [14] 陈钧辉. 生物化学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
Chen JY. *Biochemical experiments* [M]. Beijing: Science Press, 2008.
- [15] 盛文静. 不同海参多糖提取分离及化学组成分析比较[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
Sheng JW. *Extraction and chemical component analysis of polysaccharides from different sea cucumbers* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007.
- [16] 尹利昂. 不同海参多糖的分离纯化及生化性质分析[D]. 青岛:

- 中国海洋大学, 2009.
- Yin LA. Isolation, purification and characterization of different kinds of sea cucumber polysaccharides [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [17] Harazono A, Kobayashi T, Kawasaki N, *et al.* A comparative study of monosaccharide composition analysis as a carbohydrate test for biopharmaceuticals [J]. *Biologicals*, 2011, 39(3): 171–180.
- [18] 杨洁. 仿刺参多糖的提取分离及初步结构分析[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Yang J. Isolation, fractionation, and preliminary characterization of a polysaccharide from *Apostichopus japonicas* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [19] 陈菊娣, 樊绘曾, 邢芯凝, 等. 花刺参酸性粘多糖的分离研究 [J]. *中国海洋药物*, 1994, 13(1): 24–26.
- Chen JD, Fan HZ, Xing RN, *et al.* Studies on the isolation of the acidic polysaccharides in *stichopus variegates* [J]. *Chin J Marine Drugs*, 1994, 13(1): 24–26.
- [20] Paulo AS, Moura O, Mariana S, *et al.* Structure and anticoagulant activity of a fucosylated chondroitin sulfate from echinoderm sulfated fucose branches anticoagulant action [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(39): 23973–23984.
- [21] 孟令芝, 龚淑玲, 倪永炳. 有机波谱分析(第二版) [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2005.
- Meng LZ, Gong SL, Ning YB. *Organic spectroscopy (Second Edition)* [M]. Wuhan: Wuhan University Press, 2005.
- [22] Fellah A, Anjukandi P, Waterland MR, *et al.* Determining the degree of methylesterification of pectin by atr/ft-ir: methodology optimisation and comparison with theoretical calculations [J]. *Carbohydr Poly*, 2009, (78): 847–853.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



穆 琳, 硕士研究生, 主要研究方向为食品营养与安全。

E-mail: 756784884@qq.com



赵前程, 教授, 主要研究方向为食品营养与安全。

E-mail: qczhao@dlou.edu.cn