

谢幸媛, 李娜, 汪鹏翼, 等. 海带活性物质对秀丽隐杆线虫的降脂作用 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(9): 389-400. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120196

XIE Xingyuan, LI Na, WANG Pengyi, et al. Hypolipidemic Effects of Active Substances from *Laminaria japonica* on *Caenorhabditis elegans* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(9): 389-400. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120196

· 营养与保健 ·

海带活性物质对秀丽隐杆线虫的降脂作用

谢幸媛^{1,2,3}, 李娜^{1,2}, 汪鹏翼^{1,2}, 刘斌^{1,2,3,*}, 曾峰^{1,2,3,*}

(1. 闽台特色海洋食品加工与营养健康教育部工程研究中心, 福建福州 350002;

2. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002;

3. 福州海洋研究院, 福建福州 350108)

摘要:为制备海带 (*Laminaria japonica*, *L. japonica*) 活性物质并分析其物质组成和降脂活性。利用不同极性的溶剂结合超声辅助醇提取、水提取、复合蛋白酶酶解以及碳酸钠提取分别制备海带醇溶性物质 (alcohol extract of *Laminaria japonica*, LJA)、海带水溶性物质 (water extract of *Laminaria japonica*, LJW)、海带酶解物质 (enzymes hydrolyzed of *Laminaria japonica*, LJE) 和海带可溶性膳食纤维 (dietary fiber of *Laminaria japonica*, LJDF), 并对其成分进行分析, 将以上四种活性物质组合得到海带活性物质组合物 (mixture of active substances of *Laminaria japonica*, LJM), 然后以秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*) 为模型, 探究海带活性物质对其脂质代谢相关生化指标及 mRNA 转录水平的影响。结果发现, LJA 的成分主要包括胆碱、磷脂、嘌呤、萜类、类花生酸、类固醇、多酚和二糖; LJW 主要包括分子量为 368.0 kDa 和 1.0 kDa 的两个多糖组分, 其单糖组成为葡萄糖、半乳糖、岩藻糖、甘露糖和阿拉伯糖; LJE 的主要成分是蛋白活性肽, 包含 6 种蛋白 (YP_006639117.1、AIW62928.1、WDS74817.1、WDS74887.1、QBF51285.1 和 ABB80121.1) 和 43 种肽段; LJDF 的主要成分是分子量为 717.073 kDa 和 11.502 kDa 的两个多糖组分, 单糖组成为甘露糖醛酸、古罗糖醛酸、半乳糖和岩藻糖。秀丽隐杆线虫实验结果表明, 海带活性物质能够极显著降低线虫体内甘油三酯和丙二醛水平 ($P < 0.01$), 提高总超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶水平 ($P < 0.01$); 在 mRNA 转录水平上, 极显著上调 *NHR-49*、*FAT-5*、*FAT-6*、*FAT-7*、*DAF-2* 和 *DAF-16* 基因 ($P < 0.01$), 极显著下调 *MOD-1*、*ACS-2* 和 *AGE-1* 基因 ($P < 0.01$)。海带活性物质可能是通过调节脂肪酸 β 氧化 (*NHR-49*、*MOD-1* 和 *ACS-2*)、脂肪酸合成 (*FAT-5*、*FAT-6* 和 *FAT-7*) 及胰岛素 (*DAF-2*、*AGE-1* 和 *DAF-16*) 信号通路改善线虫脂质过氧化及降低线虫体内脂质累积。

关键词: 海带活性物质, 成分分析, 秀丽隐杆线虫, 脂质代谢, mRNA 转录

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2026)09-0389-12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120196



本文网刊:

Hypolipidemic Effects of Active Substances from *Laminaria japonica* on *Caenorhabditis elegans*

XIE Xingyuan^{1,2,3}, LI Na^{1,2}, WANG Pengyi^{1,2}, LIU Bin^{1,2,3,*}, ZENG Feng^{1,2,3,*}

(1. Engineering Research Centre of Fujian-Taiwan Special Marine Food Processing and Nutrition, Ministry of Education, Fuzhou 350002, China;

2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

3. Fuzhou Institute of Oceanography, Fuzhou 350108, China)

Abstract: This study aimed to extract the active substance from *Laminaria japonica* (*L. japonica*) and evaluate their

收稿日期: 2024-12-17

基金项目: 福建省科技重大专项 (2020NZ012010); 福州海洋研究院“揭榜挂帅”科技项目 (2024F11)。

作者简介: 谢幸媛 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性食品与分子营养学, E-mail: 1538368468@qq.com。

* 通信作者: 曾峰 (1984-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能性食品与分子营养学, E-mail: fengzengfz@163.com。

刘斌 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术、分子营养学, E-mail: liubin618@hotmail.com。

composition and hypolipidemic activity. The alcohol extract of *L. japonica* (LJA), water extract of *L. japonica* (LJW), enzymic hydrolysates of *L. japonica* (LJE) and dietary fiber extract of *L. japonica* (LJDF) were prepared by using different polar solvents combined with ultrasound-assisted alcohol extraction, water extraction, complex proteolytic enzymes and sodium carbonate acid, and their composition was analyzed. The above four active substances were mixed to obtain the total active substances of *L. japonica* (LJM). This study adopted *C. elegans* as a model organism to investigate the effects of bioactive compounds derived from *L. japonica* on lipid metabolism-related biochemical parameters and Messenger RNA (mRNA) transcription levels. The result revealed that the main components of LJA included choline, phospholipids, pyrimidines, terpenoids, arachidonic acid, steroids, polyphenols and disaccharides; LJW mainly consisted of two polysaccharides with molecular weights of 368.0 kDa and 1.0 kDa, with monosaccharide composition of glucose, galactose, fucose, mannose and arabinose; LJE mainly consisted of protein active peptides, containing six proteins (YP_006639117.1, AIW62928.1, WDS74817.1, WDS74887.1, QBF51285.1 and ABB80121.1), 43 peptides; LJDF mainly consisted of two polysaccharides with molecular weights of 717.073 kDa and 11.502 kDa, with monosaccharide composition of mannose aldehyde, gulonose aldehyde, galactose and fucose. The result of *C. elegans* experiments demonstrated that the *L. japonica* active substances significantly reduced triglyceride (TG) and malondialdehyde (MDA) levels ($P < 0.01$). Meanwhile, these substances also increased total superoxide dismutase (T-SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels ($P < 0.01$). At the mRNA transcription level, the *L. japonica* active substances significantly upregulated genes *NHR-49*, *FAT-5*, *FAT-6*, *FAT-7*, *DAF-2*, and *DAF-16* ($P < 0.01$). Conversely, the substances significantly downregulated genes *MOD-1*, *ACS-2*, and *AGE-1* ($P < 0.01$). This suggested that the *L. japonica* active substances improved *C. elegans* lipid peroxidation and reducing lipid accumulation in *C. elegans* through regulating fatty acid β -oxidation (*NHR-49*, *MOD-1* and *ACS-2*), fatty acid synthesis (*FAT-5*, *FAT-6* and *FAT-7*) and insulin (*DAF-2*, *AGE-1*, *DAF-16*) signaling pathways.

Key words: active substances of *Laminaria japonica*; composition analysis; *Caenorhabditis elegans*; lipid metabolism; mRNA transcription

海带(*Laminaria japonica*, *L. japonica*)是全球海藻养殖中产量最高的品种之一,属褐藻门^[1]。海带除了含蛋白质、脂肪、膳食纤维和碳水化合物等多种营养素外,其胡萝卜素、尼克酸、褐藻酸、氨基酸、甘露醇、不饱和脂肪酸、藻胶酸等多种活性物质被证实具有降血糖、提高免疫力、降血脂、抗癌、抗氧化、预防血栓形成、预防动脉硬化和预防肥胖等多种活性功能,被称为“海上之蔬”“长寿菜”^[2-5]。当前中国在海带养殖方面的产量占据了全球海带总量的 89.4%^[6]。根据《2022 国家渔业统计年鉴》,2021 年全国海带产量为 174 万吨,其中福建省产出 84.73 万吨,占全国海带总产量 48.63%,其产量位居全国第一^[7]。海带产量高,然而目前海带的高附加值利用水平仍然不高,精深加工和功能性食品的开发也相对薄弱。因此,有必要针对海带产量高开发利用程度低的现状,开展海带的精深加工。

当前高糖高脂饮食导致的脂质代谢紊乱已成为全球性健康问题。从海带中寻找具有调节糖脂代谢等功效的生物活性物质备受关注。廖建民等^[8]在酸性环境下提取海带多糖粗提物,并经分离得到 3 个多糖组分饮食干预小鼠,结果显示,小鼠血清总胆固醇(total cholesterol, TC)显著降低,高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)与 TC 的比值提高,表明了海带多糖降脂的有效性。Sharama 等^[9]以小鼠实验研究证实,海带多糖通过灭活 PI3K/MAPK 信号调控脂肪生成与产热过程,海带多糖与岩藻聚糖通过抑制脂肪细胞分化,改善脂质代谢紊乱。Tang 等^[10]从海带中提取高结晶纤维

素微粒(highly crystalline cellulose micro particles, HCCM),HCCM 的干预显著降低模型小鼠 TC、甘油三酯(triglyceride, TG)及低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平,表明 HCCM 可以缓解高糖高脂饮食诱导的小鼠脂质代谢紊乱。综上,海带提取物中的活性成分(如多糖、岩藻聚糖及膳食纤维)在调节脂代谢方面具有显著潜力。上述研究对海带中单一的功效组分进行了功能研究,关于海带中多种组分的分级制备及其降脂功能的研究鲜有报道。因此,需进一步研究海带不同极性活性成分的制备及各组分的降脂作用,并加强临床转化研究以验证其长期安全性及适用性^[11-12]。

研究显示秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*)60%~80%的基因是人类基因的同源物^[13],其同源基因已被证实在脂质合成与代谢中的调控机制与人体存在显著关联,因此秀丽隐杆线虫目前被广泛用作研究调节脂质代谢的模型^[14-15]。本文通过多种提取方法制备不同极性和化学组成的海带活性物质并对其成分进行分析,进一步以秀丽隐杆线虫为模型,探究海带活性物质对其脂质代谢相关生化指标及 mRNA 转录水平的影响。研究结果可为海带的精深加工提供新思路,为海带功能性食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

海带 福建亿达食品有限公司;野生 N2 型秀丽隐杆线虫 福建上源生物科技有限公司;无水乙醇、碳酸钠、三氟乙酸、甲苯、氯仿 分析纯,国药集团

化学试剂公司; 复合蛋白酶(120 U/mg)、油红 O 染色液 北京索莱宝科技有限公司; 甲酸、甲醇、乙腈分析纯, 美国 Fisher Chemical 有限公司; 质谱级胰蛋白酶(19134 U/mg) 美国 Promega 有限公司; Western 及细胞 IP 裂解液、BCA 蛋白浓度试剂盒 上海碧云天生物技术公司; TG 试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA) 试剂盒、过氧化氢酶(catalase, CAT) 酶活试剂盒、总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD) 酶活试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px) 酶活试剂盒 南京建成生物工程公司; 通用型总 RNA 提取试剂盒 河北百泉生物科技有限公司; NovoScript Plus 反转录试剂盒、NovoStaart SYBR qPCR super 试剂盒 苏州近岸蛋白科技有限公司。

QE-800 型手提中药粉碎机 无锡中恒元机械制造有限公司; KDC-40 型低速离心机 合肥科大创新股份有限公司中佳分公司; J-25I 型高速离心机 美国 BECKMAN 公司; FD-3 型冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; ACQUITY UPLC HSS T3 型色谱柱 美国 Waters 仪器有限公司; C₁₈ Zip-Tip 型除盐柱 美国 Agilent 科技有限公司; 101-1BS 电热恒温鼓风干燥箱 上海力辰科技有限公司; KD-02 超纯水机 长沙科尔顿水务有限公司; Q Exactive 型高分辨质谱、Ultimate 3000 型液相系统、ABI 7300 型实时荧光定量 PCR 仪 美国 Thermo 科技公司; MGC-350HP 人工气候箱 上海一恒科学仪器有限公司; Axioscope 5 荧光显微镜 德国 ZEISS 股份公司; A2481 型多功能 PCR 仪 日本 ASTEC 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 海带活性物质制备 参照徐玫瑰^[16]的方法稍加修改, 实验原料海带经 50 °C 烘干, 超微粉碎机粉碎, 过 60 目筛, 粗粉备用。参考文献 [17-18] 的方法稍加修改, 取 100 g 海带粉, 按重量体积比 1:15 g/mL 加入体积分数 70% 乙醇溶液作为提取溶剂, 功率为 300 W, 温度为 55 °C, 超声辅助提取 1 h, 然后于 4000 r/min 离心 15 min, 抽滤分离滤液和滤渣, 滤液于 60 °C 旋转蒸发中减压浓缩, 浓缩物经真空干燥后得海带乙醇提取物(alcohol extract of *Laminaria japonica*, LJA), 滤渣置于 65 °C 烘干备用。

取上一步提取 LJA 烘干后的滤渣, 按重量体积比 1:40 g/mL 加入纯水, 进行超声辅助浸提 2 h, 温度保持恒定为 80 °C, 于 4000 r/min 离心 20 min, 抽滤分离滤液和滤渣, 滤液于 60 °C 旋转蒸发减压浓缩, 浓缩物经真空干燥后得海带水提取物(water extract of *Laminaria japonica*, LJW), 滤渣置于 50 °C 烘干备用。

取上一步提取 LJW 烘干后的滤渣, 加入原料质量 3% 的复合蛋白酶, 按重量体积比 1:40 g/mL 加入纯水, 在 37 °C 恒温水浴锅中酶解 2 h, 再于 90 °C 灭酶 10 min, 冷却后于 4000 r/min 离心 20 min, 分离

滤液与滤渣, 滤液于 60 °C 旋转蒸发减压浓缩, 浓缩物经真空干燥后得海带酶解物(enzymes hydrolyzed of *Laminaria japonica*, LJE)。

取上一步制备 LJE 烘干后的滤渣, 按重量体积比 1:40 g/mL 加入 1% 碳酸钠作为制备溶剂, 在 65 °C 下水浴提取 2 h, 于 4000 r/min 离心 10 min, 抽滤分离滤液和滤渣, 按 1:3 体积比加入 95% 乙醇于 4 °C 冰箱醇沉 24 h, 再于 4000 r/min 离心 10 min 所得沉淀烘干后即得海带可溶膳食纤维(dietary fiber of *Laminaria japonica*, LJDF)。

根据前期实验方法, 将上述获得的 LJA、LJW、LJE、LJDF 提取物直接混合均匀得到海带活性物质组合物(mixture of active substances of *Laminaria japonica*, LJM)。

1.2.2 海带醇提物的成分测定 样品预处理: 参照文献 [19] 的方法稍作修改。取 1.2.1 制得的 LJA 样品 10 mg, 加入含内标预冷溶液(甲醇:乙腈:超纯水按 2:2:1 的比例混合), 并振荡 30 s, 随后超声 10 min, -20 °C 静置 1 h 后于 4 °C, 13000 r/min 离心 15 min, 取上清液冷冻干燥。将乙腈和超纯水按 1:1 的比例混合, 加入冷冻干燥后的样品复溶, 振荡 30 s 并超声 10 min, 于 4 °C, 13000 r/min 离心 15 min 后, 吸取上清液并经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后加入进样瓶中。然后采用液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)对海带醇提物的组成成分进行分析。定性分析基于数据库进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理, 然后使用 MS2 数据库(Allwegene.DB)进行代谢物注释; 定量分析采用峰面积相对定量法, 进行数据标准化处理。

色谱条件: 按照文献 [20] 的方法并稍作修改。使用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为乙腈(含 0.1% 甲酸), 上样量为 2 μL, 进样口气体流速为 0.3 mL/min, 色谱柱流速为 300 mL/min, 柱温为 50 °C, 梯度洗脱(洗脱程序: 0~2 min, 5%B; 2~42 min, 5%~95%B; 42~47 min, 95%B; 47~47.1 min, 95%~5%B; 47.1~50 min, 5%B), 检测波长为 210 nm (紫外检测)。

质谱条件: 从色谱柱流出的样本代谢分析物经高分辨率质谱 Triple TOF 5600+进行正离子模式和负离子模式各采集一次。离子源气体 1(氮气): 50 psi, 离子源气体 2(氮气): 50 psi, Ion Source Gas1: 50 psi, Ion Source Gas2: 50 psi, 源温度: 500 °C, 离子喷雾电压浮动: 5500 V 和 -4500 V(正负极); 去簇电位(DP): ±80 V(正负极); 飞行时间质谱扫描 m/z 范围: 60~1200 Da, 产物离子扫描 m/z 范围: 25~1200 Da, 飞行时间质谱扫描累积时间 0.25 s, 产物离子扫描累积时间 0.03 s。二级质谱采用信息依赖性采集(IDA)模式, 并使用高灵敏度模式, CE: 30±15 V。

1.2.3 海带水提物的成分测定

1.2.3.1 相对分子质量测定 按照文献[21]的方法并稍作修改。通过高效凝胶色谱法测定海带水提物(LJW)的相对分子质量。定性通过比对标准品保留时间和质谱特征离子,定量采用标准曲线法计算各单糖含量。样品预处理:取LJW样品2 mg,用流动相0.2 mol/L的氯化钠水溶液配制成2 mg/mL的溶液,4000 r/min离心20 min后取上清液,进样20 μ L,进行测试。标准品为葡聚糖(分子质量分别为1152、5000、11600、23800、48600、80900、148000、273000、409800、667800 Da),配制质量浓度为5 mg/mL的溶液,经0.22 μ m微孔滤膜过滤后备用。

色谱条件:使用BRT104-102串联凝胶柱(8 mm \times 300 mm)的色谱柱;0.2 mol/L NaCl溶液作为流动相;设置流速为0.8 mL/min,柱温为40 $^{\circ}$ C;进样量为20 μ L;检测器为RI-502示差检测器(温度40 $^{\circ}$ C)。

1.2.3.2 单糖组成分析 按照文献[22]的方法并稍作修改。取16种单糖标准品(岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、果糖、核糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、氨基半乳糖盐酸盐、盐酸氨基葡萄糖、N-乙酰-D氨基葡萄糖、古罗糖醛酸、甘露糖醛酸)配成标准母液溶液。采用多糖水解、还原、乙酰化的方法制备乙酰化衍生物,待气相色谱-质谱联用仪分析。具体步骤如下:

取LJW样品2 mg溶于1 mL三氟乙酸中,并在120 $^{\circ}$ C条件下水解90 min,随后通过旋转蒸发器进行干燥。残渣加入2 mL双蒸水,100 mg硼氢化钠还原,加入冰醋酸中和后再次通过旋转蒸发器进行干燥。然后加入1 mL乙酸酐,在100 $^{\circ}$ C的条件下进行乙酰化反应1 h,冷却后加入3 mL甲苯,减压浓缩蒸干,重复4~5次,以除去多余的乙酸酐。将乙酰化后的产物用3 mL氯仿溶解后转移至分液漏斗,加入少量蒸馏水充分均匀后除去上层水溶液,如此重复5次。氯仿层以适量的无水硫酸钠干燥,定容至10 mL。采用GC-MS测定乙酰化产物的单糖组成。

色谱条件:使用TR-5MS色谱柱(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);程序升温条件为:起始温度140 $^{\circ}$ C,以2 $^{\circ}$ C/min升温至198 $^{\circ}$ C,保持4 min;再以4 $^{\circ}$ C/min升温至214 $^{\circ}$ C;然后以1 $^{\circ}$ C/min升温至217 $^{\circ}$ C,保持4 min;最后以3 $^{\circ}$ C/min升温至250 $^{\circ}$ C,保持5 min;进样口温度为250 $^{\circ}$ C;He作载气;设置流速为1 mL/min,柱温为40 $^{\circ}$ C;进样量为20 μ L。质谱条件:电子轰击离子源(EI,70 eV),离子源温度230 $^{\circ}$ C,GC-MS接口温度280 $^{\circ}$ C,全扫描模式(45~450 m/z)。

1.2.3.3 多糖含量测定 通过苯酚-硫酸法^[23]测定LJW中的多糖含量。

1.2.4 海带酶解物成分的测定

1.2.4.1 采用LC-MS/MS分析多肽序列 通过信息依赖的采集工作模式获取多肽二级质谱数据,结合

PEAKS Studio软件比对海带蛋白数据库进行定性分析(鉴定多肽序列),通过离子强度定量。按照文献[24]的方法并稍作修改。样品预处理:将LJW提取后滤渣制备的海带酶解物(LJE)按质量体积比1:40 g/mL加入超纯水溶解后,13000 r/min离心10 min,吸取上清转移至10 kDa超滤管中过滤,超滤后的溶液用C₁₈除盐柱进行除盐,随后将样品经过浓缩干燥,存于-20 $^{\circ}$ C冰箱待上机检测。

色谱及质谱条件:流动相A为0.1%甲酸和水,流动相B为80%乙腈和0.1%甲酸,LC-MS采用Thermo Fisher Q Exactive系统结合纳升喷雾Nano Flex离子源分析,离子传输管加热温度为275 $^{\circ}$ C,喷雾电压为1.9 kV。质谱扫描方式为信息依赖的采集工作模式,一级质谱扫描分辨率为70000,扫描范围100~1500 m/z,最大注入时间100 ms。每次DDA循环下最多采集20个电荷为1+到3+的二级图谱,二级质谱离子最大注入时间为50 ms。碰撞室能量(高能碰撞诱导解离,HCD)设定为28 eV,适用于所有前体离子,动态排除设置为6 s。

1.2.4.2 蛋白含量测定 参照BCA蛋白试剂盒测定LJE蛋白含量。

1.2.5 海带可溶性膳食纤维的成分测定

1.2.5.1 相对分子质量测定和单糖组成分析 同1.2.3。

1.2.5.2 得率的计算 参照张丽萍^[25]的方法。

1.2.6 秀丽隐杆线虫的培养及同期化

1.2.6.1 培养基的制备 参照万林^[26]的方法稍加修改。采用固体NGM培养基培养秀丽隐杆线虫。分别取0.5 g胰蛋白胨、0.6 g氯化钠、3.4 g琼脂和1.44 g葡萄糖,混合后加水至195 mL配制体系为200 mL的NGM培养基,并对培养基进行高压灭菌。随后加入5 mL K₂HPO₄-KH₂PO₄缓冲液、0.2 mL MgSO₄、CaCl₂及胆固醇-乙醇溶液,在超净工作台分装至平皿中备用。

1.2.6.2 大肠杆菌的培养 于紫外杀菌的超净工作台,用尿嘧啶缺陷的OP50型的大肠杆菌涂布于秀丽隐杆线虫的培养基上,其作为秀丽隐杆线虫的食物,并确保OP50菌株的纯度不被杂菌污染。

1.2.6.3 线虫的同步化及培养 将含有虫卵及OP50的培养皿放入20 $^{\circ}$ C人工气候箱中培养48 h,待虫卵发育成L4期成虫,即完成线虫的同步化。

1.2.7 海带活性物质对秀丽线虫降脂作用的研究

1.2.7.1 秀丽隐杆线虫脂质过氧化水平的测定 为诱导建立秀丽隐杆线虫高脂模型,在NGM培养基中添加胆固醇,并将秀丽隐杆线虫暴露于高浓度葡萄糖环境下。参照万林^[26]的方法稍加修改,设置空白组(Normal)作为对照,并设置不同剂量的海带活性物质处理组进行比较。通过比较各组线虫的TG、MDA、CAT、T-SOD和GSH-Px水平,并使用油红O染色法观察线虫体内脂滴的积累情况进而说明海

带活性物质的降脂作用。收集同期化的线虫随机分为 18 组, 每组设置 3 个平行, 每组 30 只。每日分别给予各组 100 μL 的 OP50 溶液, 空白组(Normal)给予 OP50, 海带活性物质组(LJA、LJW、LJE、LJDF、LJM)分别给予含 0.25 mg/mL(低剂量)、0.5 mg/mL(中剂量)和 1 mg/mL(高剂量)海带活性物质的培养液, 培养 72 h 后收集虫体用于后续实验。参照试剂盒的说明测定线虫体内 TG、MDA、CAT、T-SOD 和 GSH-Px 的水平。

1.2.7.2 秀丽隐杆线虫的油红 O 染色 参照文献 [27] 的方法稍加修改。取 1.2.7.1 中的线虫, 加入 1 mL M9 缓冲液, 3000 r/min 离心 10 min 后弃掉上清液。随后加入 200 μL 油红 O 染色液, 静置染色 2 h, 3000 r/min 离心 5 min 后弃掉上清液, 用 M9 缓冲液洗去多余的染色液, 将线虫挑取至载玻片上, 于荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.8 海带活性物质对秀丽线虫脂质代谢相关基因转录水平的影响

1.2.8.1 秀丽隐杆线虫总 RNA 的提取 取上述同期化后的的线虫, 将线虫按照 1.2.7.1 方法培养 72 h 后, 收集线虫, 参照试剂盒方法, 加入 20 μL M9 缓冲液, 在 12000 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 5 min, 取上清液置于新的 EP 管中并加入 200 μL 氯仿, 充分混匀后再置于 12000 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 5 min。取 200 μL 上清液再加入 200 μL 异丙醇, 振荡混匀后静置 10 min。相同条件离心 10 min, 弃上清液加入 1 mL 浓度为 75% 的乙醇溶液进行洗涤沉淀, 重复操作此步骤一次。待乙醇挥发干净后, 加入 60 μL RNase free H_2O , 充分溶解沉淀。用微量核酸浓度测定仪对提取到的 RNA 纯度和浓度进行测定。纯度测定: 保留范围在 1.8~2.2 之间的 A260/A280 值; 浓度测定: 用 RNase free H_2O 将 RNA 的浓度稀释至统一。将可用的 RNA 于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.2.8.2 反转录 cDNA 参照试剂盒的方法制备反转录体系, 涡旋混匀体系后离心, 通过 PCR 仪孵育, 设置孵育条件为 42 $^{\circ}\text{C}$, 5 min; 50 $^{\circ}\text{C}$, 15 min; 后 75 $^{\circ}\text{C}$, 5 min; 最后降温至 4 $^{\circ}\text{C}$, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.8.3 荧光定量 PCR 检测 参照 SYBR 染料的方法制备溶液体系, 加入八联管中, 设置荧光定量 PCR 的扩增程序, 条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$, 1 min, 1 个循环, 变性; 95 $^{\circ}\text{C}$, 20 s, 1 个循环; 60 $^{\circ}\text{C}$, 20 s, 40 个循环, 扩增; 72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s, 1 个循环, 延伸。

1.2.8.4 设计引物序列 在 NCBI 中设计线虫脂质代谢相关的 mRNA 序列, 以 *Actin-1* 为内参基因, 相关引物的具体序列信息见表 1。通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因的相对转录水平。

表 1 RT-qPCR 引物序列
Table 1 Primers for RT-qPCR

基因	正向引物序列	反向引物序列
DAF-2	CGGTGTGTTGTCGTTCCGG	CCGTTGTTGTTGCTCACTGC
DAF-16	TACATTGCTCGAAGTGCCGA	TCAGATGGTAGCGGCAATC
MOD-1	ACCCCTGATTGAAGAGATGCG	AGTGCCACCAGTAGACAAGA
ACS-2	TCGCTGATGCTCATGTCTGTC	GCCTTCTTAATGTGCTCCGC
NHR-49	ATGGACTACTTCTTGATGCTTCT	CGCGGAAGAATCCCTTACA
FAT-5	GCCTCTTCCGTTACTGCTTAC	CTTCTCCGACTCCGCAATAGATG
FAT-6	TCGGAGAGGGAGGTCAACTTC	CGGTCTGACACAAGTCCAAGAGC
FAT-7	ATCGTTGCCATCACAAGTGGACTG	TTACGCACAAGAAGCCATCCCATG
AGE-1	GCTCTCCACGAGTCAAAC	GGTGAAAGATACGGCGGGTT

1.3 数据处理

所有实验组均进行三次平行实验。采用 Excel 软件处理和分析数据, 结果用平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示。 $P < 0.05$ 表示显著差异; $P < 0.01$ 表示极显著差异。采用 Image J 8.0 软件对染色线虫的光密度值进行计算分析。采用 GraphPad Prism 10.5 绘图。

2 结果与分析

2.1 海带醇提物的成分分析

表 2 列出了海带醇提物的物质组成分析结果。

表 2 海带醇提物物质成分(相对含量前 20)

Table 2 Constituents of alcohol extract of *L. japonica* (top 20 in qualitative markers)

序号	RT(min)	成分名称	所属分类	分子式	质荷比(m/z)	相对含量(%)
1	4.65	LysoPC (20:4)溶血磷脂酰胆碱(20:4)	胆碱	$\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{NO}_7\text{P}$	544.34	8.34
2	4.89	Bafetinib巴氟替尼	嘧啶	$\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}$	575.25	5.88
3	5.60	LPG (18:3)溶血磷脂酰甘油(18:3)	磷脂	$\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{O}_9\text{P}$	505.26	4.44
4	5.11	LPC (18:1)油酸酰溶血磷脂酰胆碱(18:1)	胆碱	$\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{NO}_7\text{P}$	522.35	3.74
5	6.69	LPG (18:2) 溶血磷脂酰甘油(18:2)	磷脂	$\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{O}_9\text{P}$	507.27	3.17
6	5.32	ent-6R,16bOH,17-Trihydroxy-7-oxo-6,7-seco-19,6-kauranolide 6-O-glucosideent-6R,16 β -羟基,17-三羟基-7-氧代-6,7-开环-19,6-贝壳杉烯内酯 6-O-葡萄糖苷	二萜糖苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_{11}$	527.25	2.12
7	5.33	11,12-EET11,12-环氧二十碳三烯酸	类花生酸	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$	319.23	1.61
8	10.61	LPG (18:1) 溶血磷脂酰甘油(18:1)	磷脂	$\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{O}_9\text{P}$	509.29	1.53
9	6.93	Metholone 美雄酮	类固醇	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	303.23	1.41
10	8.91	Ursodiol熊去氧胆酸	脱氧胆酸	$\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4$	393.30	1.39
11	2.57	9-Fluoro-16alpha-hydroxyandrost-4-ene-3,11,17-trione9-氟-16 α -羟基雄甾-4-烯-3,11,17-三酮	类固醇	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{FO}_4$	335.17	1.34
12	5.32	Mesterolone美睾酮	类固醇	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	305.25	1.31
13	4.95	Albafuran A阿尔巴呋喃A	多酚	$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_4$	379.19	1.29

续表 2

序号	RT(min)	成分名称	所属分类	分子式	质荷比(m/z)	相对含量(%)
14	2.48	Methyltestosterone 甲基睾酮	类固醇	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	303.23	1.28
15	4.01	LysoPC (20:3)溶血磷脂酰胆碱(20:3)	胆碱	C ₂₈ H ₅₂ NO ₇ P	546.35	1.05
16	4.28	Prostaglandin G2 前列腺素G2	类花生酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₆	351.21	0.99
17	3.96	LPG (16:1)溶血磷脂酰甘油(16:1)	磷脂	C ₂₂ H ₄₃ O ₉ P	481.26	0.94
18	6.34	LysoPC (14:0/0:0)溶血磷脂酰胆碱(14:0/0:0)	胆碱	C ₂₂ H ₄₆ NO ₇ P	512.30	0.89
19	5.32	Aceroside VIII 槭甘VIII	二糖	C ₃₀ H ₄₂ O ₁₂	593.26	0.87
20	5.32	Abietic acid 松香酸	二萜	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	303.23	0.81

根据峰面积计算海带醇提物的相对含量:首先对单个峰进行过滤,只保留缺失值在实际样本中<50%的峰值;然后对原始数据中的缺失值进行模拟,最后利用每个样本特征总和进行归一化。由表2可知,海带醇提物中优势成分包括胆碱类(如LysoPC(20:4)相对含量为8.34%、LPC(18:1)为3.74%)和磷脂类(如LPG(18:3)为4.44%、LPG(18:2)为3.17%)。其中,属于胆碱类的溶血磷脂酰胆碱(LysoPC类)是人血浆的丰富成分^[28],溶血甘油磷脂(LPG类)作为信号脂质对动脉粥样硬化具有潜在疗效^[29]。其次,海带醇提物中嘧啶类化合物Bafetinib相对含量为5.88%,其单一高含量值得关注。此外,类固醇(如Metholone、Mesterolone)和类花生酸(如11,12-EET、Prostaglandin G2)单个成分相对含量在1.61%~0.99%之间,高丰度活性成分,可能通过调节炎症和脂质代谢参与生理功能^[13,30]。其他成分如多酚(Albafuran A, 1.29%)和二糖(Aceroside VIII, 0.87%)虽相对含量不高,但丰富了提取物的生物活性多样性。上述结果表明海带醇提物富含胆碱、磷脂等调节脂质的功能成分,为从海带中提取降脂成分提供依据。

2.2 海带水提物的成分分析

热水浸提法是提取多糖的传统方法,该方法简单、容易操作且成本低,但耗时长、高能耗、效率低且污染环境^[31]。超声波提取时间短,提取率、热稳定性高,可以通过空化作用产生机械波,撕裂细胞壁,促进多糖的释放、扩散和溶解^[32]。相比于传统热水浸提法,超声波辅助提取过程有助于高效提取多糖^[33-34]。本研究用超声辅助浸提的方法提取LJW多糖,在LJW中,测得多糖含量为119.42 g/kg。

随后利用高效凝胶色谱对LJW的相对分子量进行测定。由图1可知,海带水提物主要包括2个多糖组分,分子量分别为368.0 kDa和1.0 kDa。这一结果表明醇提后超声辅助浸提可能破坏LJW中糖苷键之间的紧密联系,生成小分子多糖片段。

利用离子色谱对LJW的单糖进行测定。海带水提物的单糖组成离子色谱如图2所示。由图2可知海带水提物主要由岩藻糖(Fuc)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)和半乳糖(Gal)组成,其中葡萄糖的占比最大为36.82%,其次分别是半乳糖20.61%、岩藻糖16.75%、甘露糖15.23%、木糖5.40%和阿拉伯糖5.19%。

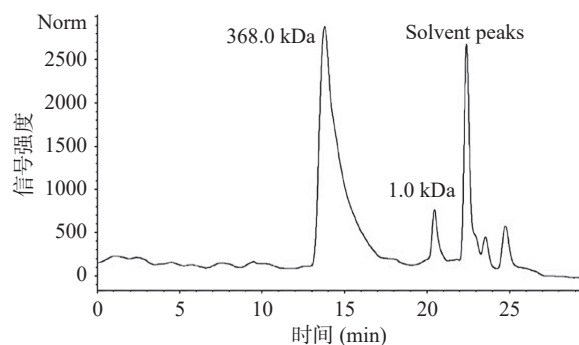


图1 海带水提物的高效凝胶色谱图

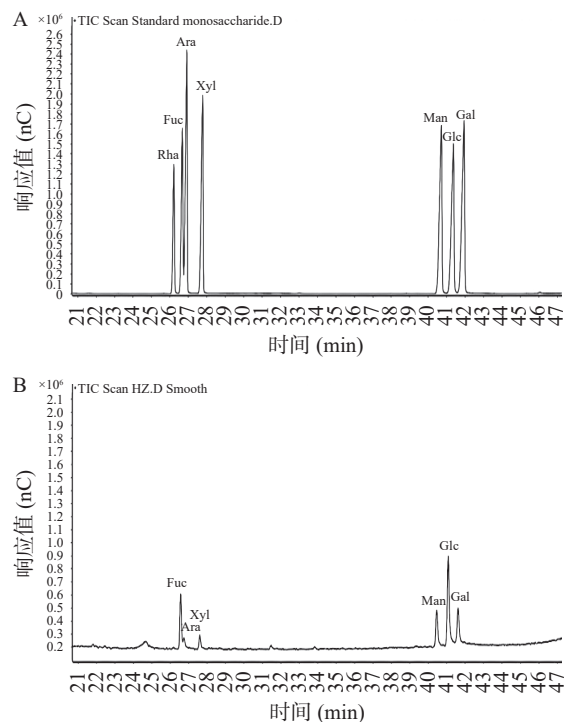
Fig.1 HPGPC of water extract from *L. japonica*

图2 海带水提物的单糖组成离子色谱图

Fig.2 Ion chromatogram of monosaccharide composition of water extract from *L. japonica*

注:A为标准品离子色谱图,B为海带水提物离子色谱图。

2.3 海带酶解物的多肽序列分析

采用LC-MS/MS分析海带酶解物的多肽序列,使用Laminariaceae蛋白数据库和Saccharina japonica蛋白数据库对质谱数据进行检索。对得分Unused≥1.3的蛋白进行筛选,在该范围内检索到海带酶解物中存在43种多肽,且分别来自6种不同的蛋白,包括YP_006639117.1、AIW62928.1、

WDS74817.1、WDS74887.1、QBF51285.1 和 ABB80121.1, 6 种蛋白分别为 4 肽、6 肽、11 肽、6 肽、1 肽和 15 肽。海带酶解物的蛋白及肽段具体信息见表 3。据报道, 肽段的生物活性与其氨基酸序列和个数、质荷比、分子量密切相关。具有活性的生物肽通常含有 2~20 个氨基酸残基, 分子量小于 6000 Da, 该范围内的活性肽可以在肠道中直接被吸收进入血液, 提高多肽的生物利用率^[35]。本研究测得 LJE 中蛋白含量为 231.67 g/kg。海带酶解物活性肽氨基酸个数均在 2~20 内、分子量均小于 6000 Da, 说明海带酶解物极可能具备肠道吸收性质和生物活性, 为降血脂和抗氧化功能提供物质基础。

2.4 海带可溶性膳食纤维的成分分析

膳食纤维是指在人体小肠中难以消化吸收并在人体大肠中完全或部分发酵的植物可食用部分或者与碳水化合物相似的物质, 被称为第七大营养素^[36]。按其溶解性可将膳食纤维分为可溶性膳食纤维和不溶性膳食纤维^[37], 其中前者可以吸收胆固醇, 这显示了其在功能性食品中降低或稳定血糖和血脂水平的应用潜力^[38]。本研究主要分析 LJDF 的成分及其降脂作用。

以热水提取得到水溶性多糖, 有利于保持多糖的结构和活性^[39]。本研究测得 LJDF 得率为 19.58%; 苯酚-硫酸法测定 LJDF 中的多糖含量为 194.25 g/

表 3 海带酶解物的多肽序列
Table 3 Polypeptide sequence of enzymatic hydrolysates of *L. japonica*

序号	肽段序列	LJE质荷比(m/z)	分子量(M _w)	氨基酸个数	蛋白名称	肽段数
1	KSYELPDGNVIVIGNE	873.9487	1745.8835	16		
2	KSYELPDGNVIVIGN	809.4285	1616.8409	15		
3	ELPDGNVIVIGNER	762.9047	1523.7943	14		
4	KSYELPDGNVIVIG	752.4093	1502.798	14		
5	IWHHTFYNELR	505.9215	1514.7418	11		
6	LEKSYELPDGNVIVIGNE	995.0098	1988.0101	18		
7	VAPEEHPVLL	552.3088	1102.6022	10		
8	VAPEEHPV	439.224	876.4341	8	ABB80121.1	15
9	VVAPPERK	448.2722	894.5287	8		
10	VVAPPERKYS	382.5486	1144.624	10		
11	KSYELPDGN	511.7447	1021.4716	9		
12	VAPEEHPVL	495.7663	989.5182	9		
13	KAEYDESGPS	541.7365	1081.4563	10		
14	GFAGDDAPRA	488.7282	975.441	10		
15	VAPPERKYS	349.5263	1045.5555	9		
16	LARDIPFSQF	597.3196	1192.624	10	QBF51285.1	1
17	WTDDPHPR	512.2361	1022.457	8		
18	IVQRPSNEPG	548.7914	1095.5673	10		
19	FLPDLNDEQIKQQ	794.4055	1586.7939	13		
20	WTDDPHPRN	569.2581	1136.4999	9		
21	FLPDLNDEQIKQ(+.98)Q	794.8954	1587.778	13		
22	WTDDPHPRN(+.98)	569.7492	1137.4839	9	WDS74817.1	11
23	TDDPHPRN	476.2183	950.4206	8		
24	SFLPDLNDEQIKQQ	837.921	1673.826	14		
25	WTDDPHPRNS	612.7738	1223.532	10		
26	LNDEQIKQQ	558.2898	1114.5618	9		
27	IVQ(+.98)RPSNEPG	549.2822	1096.5513	10		
28	FSDPILNPM(+15.99)	525.2528	1048.4899	9		
29	VVLNDPGR	435.2457	868.4766	8		
30	IFRDREGRE	589.3082	1176.5999	9		
31	IAGERSEP	429.7192	857.4243	8	WDS74887.1	6
32	IIRADIPF	472.7819	943.5491	8		
33	IFRDREGR	350.1931	1047.5574	8		
34	IGEDVILVR	507.3072	1012.5917	9		
35	LNPVNPTDPREQ	690.3516	1378.6841	12		
36	IIDSTGNER	502.7544	1003.4934	9		
37	LDKEPFEEVITE	724.8593	1447.7081	12	AIW62928.1	6
38	IIDSTGNERF	576.2876	1150.5618	10		
39	LNPVNPTDPREQ(+.98)	690.8406	1379.6681	12		
40	VDSYIPTPIRD	638.3329	1274.6506	11		
41	IDAAPEERARG	395.5387	1183.5945	11		
42	IDAAPEER	450.7234	899.4348	8	YP_006639117.1	4
43	LNKEDQVDDLELVEL	886.4455	1770.8887	15		

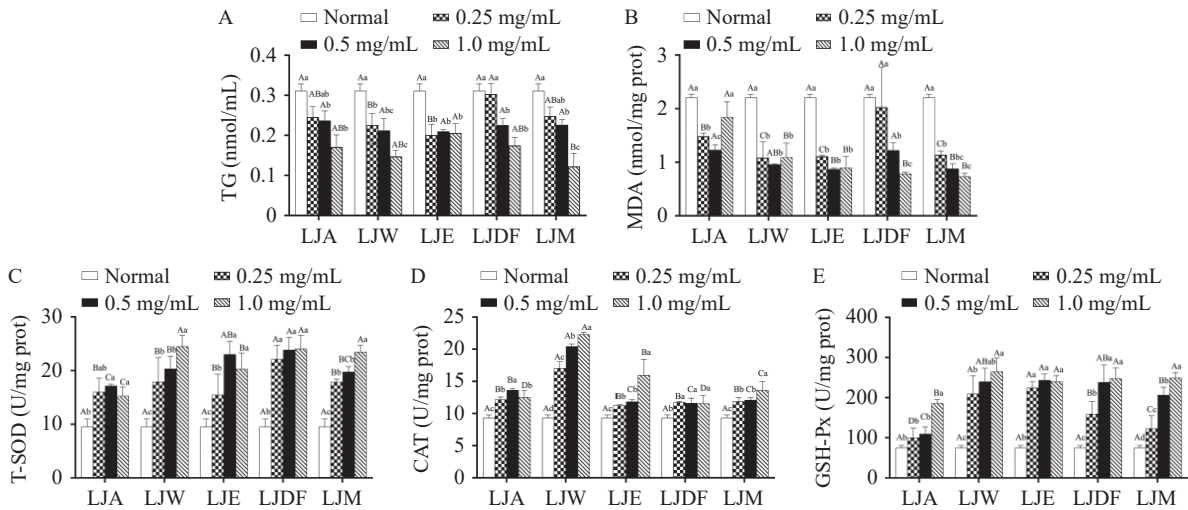


图 5 海带活性物质对秀丽隐杆线虫脂质过氧化的影响

Fig.5 Effects of different active substances of *L. japonica* on lipid peroxidation in *C. elegans*

注: 不同大写字母表示不同海带活性物质的同一剂量样品组之间存在极显著差异($P<0.01$); 不同小写字母表示相同海带活性物质的不同剂量样品组之间存在极显著差异($P<0.01$); 图 6~图 7 同。

和抗衰老活性的研究结果一致。另外, 严静等^[46]发现发酵米荞通过提高线虫体内的抗氧化酶活性来清除自由基, 从而抵抗高脂肪对线虫的损伤。这表明海带活性物质可能通过提高抗氧化酶的表达和减少氧化应激, 以此实现降低线虫脂质过氧化和线虫体内脂质累积并能提高线虫的抗氧化酶活力。同时, 不同的海带提取物在相同浓度下对脂质的调控有差异。本研究发现高剂量 LJM 组降低线虫的 TG、MDA 水平效果最为显著, 高剂量 LJW 组提高 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 水平效果最显著。这可能与其高分子量多糖在低浓度难以被线虫消化吸收有关, 而高浓度时通过物理吸附作用结合脂质并促进排泄^[13]。综上所述, 脂质沉积伴随着脂肪 β 氧化过程减缓, 影响线虫的寿命, 海带活性物质可能通过降低线虫体内自由基的释放, 减少线虫的氧化应激损伤, 进而降低线虫中脂质过氧化的水平。以上结果表明海带活性物质具有改善线虫脂质过氧化及降低线虫体内脂质累积的作用。

2.5.2 秀丽隐杆线虫的油红 O 染色 油红 O 染色液能够溶于线虫体内的 TG, 固定于线虫体内的细胞脂质中, 可以反映线虫中脂质积累的状况^[47]。图 6A 为

各组线虫的油红 O 染色情况, 采用 Image J 对染色线虫的相对光密度值进行定量分析(图 6B)。由图可知, Normal 组线虫的整体颜色较深, 各剂量组虫体的染色随海带活性物质质量浓度增大而逐渐变浅。其中 LJW 组三个剂量组的染色程度均极显著下降($P<0.01$), 与 TG 的测定结果一致; LJA 组、LJE 组及 LJM 组的中剂量组和高剂量组的染色程度极显著下降($P<0.01$), LJDF 组中剂量组的染色程度极显著下降($P<0.01$), 低剂量组的染色程度显著升高, 高剂量组与 Normal 组相比无显著差异。结果表明, 海带活性物质的干预能够显著降低线虫体内的 TG 含量。

2.6 海带活性物质对秀丽线虫脂质代谢相关基因转录水平的影响

从 mRNA 水平研究海带活性物质对秀丽隐杆线虫在脂肪酸 β 氧化信号通路、脂肪酸合成信号通路和胰岛素信号通路中关键因子的影响(图 7)。由图可知, 相比于 Normal 组, 在脂肪酸 β 氧化信号通路中, 海带活性物质均上调了 *NHR-49*, 下调了 *MOD-1* 和 *ACS-2* 的转录水平, 其中, LJA、LJDF 和 LJW 极显著提高 *NHR-49* 的转录水平($P<0.01$), 高剂量海带活性物质均极显著下调了 *MOD-1* 的转录水平

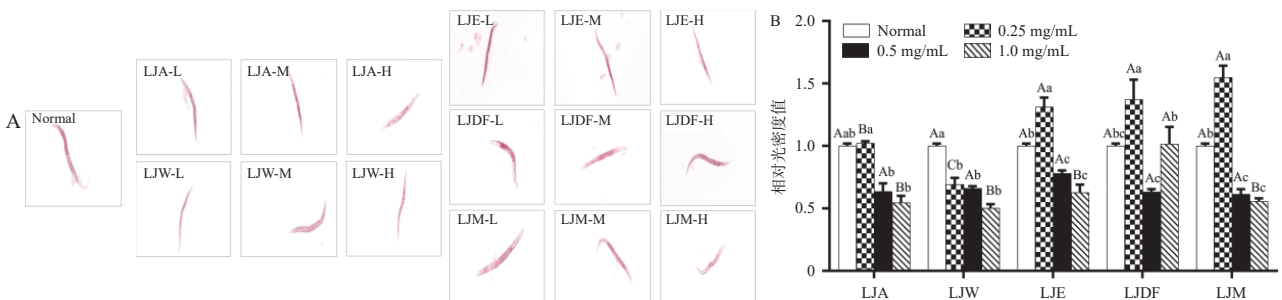


图 6 线虫油红 O 染色及染色后相对光密度值

Fig.6 Oil red O staining of *C. elegans* and post-staining relative optical density values

注: A 为 Normal 组及海带活性物质组的油红 O 染色, B 为相对光密度值。

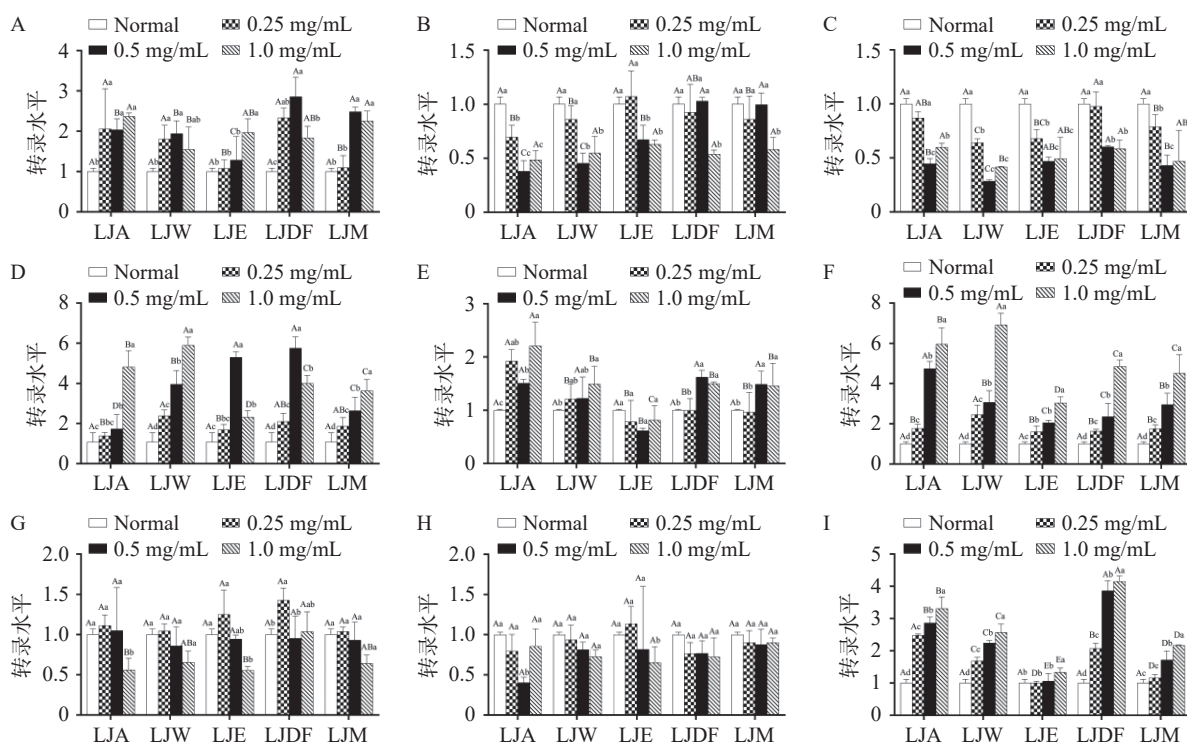


图7 海带活性物质对线虫脂质代谢相关基因转录水平的影响

Fig.7 Effects of different active substances of *L. japonica* on the transcript level of the mRNA in *C. elegans*

注: A: *NHR-49*; B: *MOD-1*; C: *ACS-2*; D: *FAT-5*; E: *FAT-6*; F: *FAT-7*; G: *DAF-2*; H: *AGE-1*; I: *DAF-16*。

($P < 0.01$), 中剂量和高剂量的海带活性物质均极显著下调 *ACS-2* 的转录水平($P < 0.01$)。在脂肪酸合成信号通路中, 海带活性物质组的 *FAT-5* 和 *FAT-7* 的转录水平上调, 高剂量组的 *FAT-5* 转录水平极显著提高($P < 0.01$), 中剂量组和高剂量组的 *FAT-7* 转录水平极显著提高($P < 0.01$), 高剂量的 LJA 和 LJDF 提高 *FAT-6* 的效果较好($P < 0.01$)。在胰岛素信号通路中, 高剂量的 LJA、LJE 和 LJM 可以极显著降低 *DAF-2* 的转录水平($P < 0.01$), 在降低 *AGE-1* 水平上, LJA 组、LJW 组、LJE 组和 LJDF 组较优($P < 0.01$), 在提高 *DAF-16* 水平上, 除 LJE 组与 Normal 组无显著差异外, 其余组的中剂量组和高剂量组的 *DAF-16* 转录水平极显著提高($P < 0.01$)。以上结果表明, 海带活性物质可能通过调节线虫体内脂肪酸 β 氧化信号通路、脂肪酸合成信号通路和胰岛素信号通路中关键因子的转录水平发挥降脂作用。

基于海带活性物质在线虫体内的降脂活性及油红 O 的染色结果, 通过研究海带活性物质对脂肪酸 β 氧化信号通路、脂肪酸合成信号通路和胰岛素信号通路中的关键因子的转录水平的影响, 分析海带活性物质调节脂质代谢的机制。在脂肪酸 β 氧化信号通路中, *NHR-49* 广泛参与脂肪酸的调控, 包括脂蛋白的转运、脂肪酸的摄取及过氧化物酶的 β 氧化, *ACS-2* 负责将脂肪酸转化为酰基辅酶 A, 用于 β 氧化以消耗脂肪, *MOD-1* 作为调控 *ACS-2* 的上游基因, 对调节脂质代谢平衡具有积极的影响^[48]。在脂肪酸合成信号通路中, *FAT-5*、*FAT-6* 和 *FAT-7* 是三种不同的

去饱和酶基因, 直接影响 TG 的合成, *FAT-5* 可以将棕榈酸转为棕榈油酸, 脂肪酸延长酶 *FAT-6* 和硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 *FAT-7* 主要将硬脂酸转化为油酸^[49], 三者共同维持机体的饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的占比平衡, 这提示海带活性物质干预后的线虫体内 TG 含量降低, 是由于上调了 *FAT* 家族基因的转录水平。在胰岛素信号通路中 *DAF-2* 通过下调 *AGE-1* 因子, 使得丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶磷酸化, 进而抑制 *DAF-16* 的转录水平。这表明海带活性物质可能通过调节脂肪酸 β 氧化(*NHR-49*、*MOD-1* 和 *ACS-2*)、脂肪酸合成(*FAT-5*、*FAT-6* 和 *FAT-7*)及胰岛素(*DAF-2*、*AGE-1* 和 *DAF-16*)信号通路改善秀丽隐杆线虫脂质过氧化及降低线虫体内脂质累积。

3 结论

本研究通过不同极性的溶剂提取与制备, 制备了 LJA、LJW、LJE、LJDF 和 LJM, 并进一步分析了这些活性物质的成分及其对秀丽隐杆线虫脂质代谢的影响。研究表明, LJA 主要成分为胆碱、磷脂、嘌呤、萜类、类花生酸、类固醇、多酚和二糖; LJW 主要包括分子量为 368.0 kDa 和 1.0 kDa 的两个多糖组分; LJE 鉴定出 43 种肽段, 且分别来自 6 种不同的蛋白, 包括 YP_006639117.1、AIW62928.1、WDS74817.1、WDS74887.1、QBF51285.1 和 ABB80121.1; LJDF 的主要成分是分子量为 717.073 kDa 和 11.502 kDa 的两个多糖组分。这些成分为海带降脂作用提供了物质基础。各组海带活性物质能够显著降低线虫体内的 TG 和 MDA 水平, 提高 T-SOD、

CAT 和 GSH-Px 的活性, 其中高剂量 LJM 降低线虫体内的 TG 和 MDA 水平效果优于其他单一海带活性物质, 说明组合物 LJM 降脂作用优于单一组分。此外, 海带活性物质还通过调节脂肪酸 β 氧化 (*NHR-49*、*MOD-1* 和 *ACS-2*)、脂肪酸合成 (*FAT-5*、*FAT-6* 和 *FAT-7*) 及胰岛素 (*DAF-2*、*AGE-1* 和 *DAF-16*) 信号通路中的关键基因转录水平, 改善了线虫的脂质代谢。研究结果可为海带的精深加工与功能性食品的开发提供理论依据, 未来研究需进一步探讨海带活性物质在机体中的消化吸收及其与其他膳食成分的协同效应, 以推动其在功能性食品领域的应用。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] YANG Z, LI X, YU M, et al. Effects of different processing methods on the quality and physicochemical characteristics of *Laminaria japonica*[J]. *Foods*, 2023, 12(8): 1619.
- [2] 祝闻阳. 海带腥味物质分析与生物法脱腥研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022. [ZHU Wenyang. Analysis of kelp fishy-odor compounds and research on deodorization by biological method[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.]
- [3] GAO Yanan, GUO Mingkun, ZHENG Peng, et al. Effects of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica* on regularating the gut microbiota and alleviating intestinal inflammation in obese mice[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2022, 168: 113401.
- [4] LUAN Fei, ZOU Junbo, RAO Zhili, et al. Polysaccharides from *Laminaria japonica*: An insight into the current research on structural features and biological properties[J]. *Food & Function*, 2021, 12(10): 4254–4283.
- [5] CERMEÑO M, KLEEKAYAI T, AMIGO-BENAVENT M, et al. Current knowledge on the extraction, purification, identification, and validation of bioactive peptides from seaweed[J]. *Electrophoresis*, 2020, 41(20): 1694–1717.
- [6] 王佳仪. 海带产业串起生态链、致富链[N]. 中国食品报, 2024-01-09(006). [WANG J Y. The *Laminaria japonica* industry has interwoven an ecological chain with a prosperity chain[N]. *China Food Newspaper*, 2024-01-09(006).]
- [7] 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. 2022 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2022: 23,28,54. [China Fisheries Law Enforcement, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2022 China fisheries statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2022: 23,28,54.]
- [8] 廖建民, 沈子龙, 张瑾. 海带多糖中不同组分降血脂及抗肿瘤作用的研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(1): 55–57. [LIAO Jianmin, SHEN Zilong, ZHANG Jin. Anti-tumor and hypolipid effects of different polysaccharide fractions of laminaran[J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 2002, 33(1): 55–57.]
- [9] SHARMA P P, BASKARAN V. Polysaccharide (laminaran and fucoxanthin) and lipids as functional components from brown algae (*Padina tetrastratica*) modulates adipogenesis and thermogenesis in diet-induced obesity in C57BL6 mice[J]. *Algal Research*, 2021, 54: 102187.
- [10] TANG Shiyang, DONG Xiuyu, MA Yueyun, et al. Highly crystalline cellulose microparticles from dealginated seaweed waste ameliorate high fat-sugar diet-induced hyperlipidemia in mice by modulating gut microbiota[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 263: 130485.
- [11] SHIMAZU T, KURIYAMA S, HOZAWA A, et al. Dietary patterns and cardiovascular disease mortality in Japan: A prospective cohort study[J]. *International Journal of Epidemiology*, 2007, 36(3): 600–609.
- [12] KIM S K, BHATNAGAR I. Physical, chemical, and biological properties of wonder kelp: *Laminaria*[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2011, 64: 85–96.
- [13] KALETTA T, HENGARTNER M O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, 5(5): 387–399.
- [14] WITTING M, SCHMITT-KOPPLIN P. The *Caenorhabditis elegans* lipidome: A primer for lipid analysis in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2016, 589: 27–37.
- [15] ZENG Feng, LAI Meiyang, LI Quancen, et al. Anti-oxidative and anti-aging effects of mannoprotein-rich yeast cell wall enzymatic hydrolysate by modulating gut microbiota and metabolites in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food Research International*, 2023, 170: 112753.
- [16] 徐玫瑰. 海带多糖的制备及抗衰老作用的机制研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2023. [XU Meigui. Study on preparation of polysaccharide from *Laminaria japonica* and its antiaging effects [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2023.]
- [17] 任壮. 酶解提取海带多糖及应用研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2017. [REN Zhuang. Polysaccharide extraction from *Laminaria japonica* by multi-enzyme and application [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2017.]
- [18] 吕钟钟. 海藻复合膳食纤维的制备及其生物活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009. [LÜ Zhongzhong. Studies on the preparation and functions of seaweed dietary fiber complex [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.]
- [19] 赖美英, 许欢怡, 李泉岑, 等. 灰树花醇提物对秀丽隐杆线虫的抗氧化及降脂作用[J]. 现代食品科技, 2025, 41(7): 117–124. [LAI Meiyang, XU Huanyi, LI Quancen, et al. Antioxidant and lipid-lowering effects of the alcohol extract of *Grifola frondosa* in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2025, 41(7): 117–124.]
- [20] ZENG Yongfu, LI Qian, ZHANG Ruoyu, et al. Development and application of a sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitative analysis of 11 free fatty acids in human serum using a derivatisation strategy[J]. *Journal of Chromatography. A*, 2024, 1728: 465019.
- [21] 肖媚方, 陈欣彤, 蔡雯雯, 等. 竹荪水提物抗氧化及改善秀丽隐杆线虫脂质代谢作用[J]. 食品科学, 2022, 43(19): 191–199. [XIAO Meifang, CHEN Xintong, CAI Wenwen, et al. Antioxidant activity of water extract from *Dictyophora indusiate* and its potential to improve lipid metabolism in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food Science*, 2022, 43(19): 191–199.]
- [22] LI Quancen, LI Na, CAI Wenwen, et al. Antioxidative and anti-ageing effects of nucleotide-rich yeast hydrolysate by modulating metabolites in *Caenorhabditis elegans* based on metabonomic analysis[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2023, 58(6): 3392–3401.
- [23] 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.
- [24] ZHANG Xiaoyu, JIANG Di, LI Dongmei, et al. Characterization of a seafood-flavoring enzymatic hydrolysate from brown alga *Laminaria japonica*[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2019, 13(2): 1185–1194.
- [25] 张丽萍. 海带膳食纤维降脂减肥功效及作用机制研究[D].

- 青岛: 青岛科技大学, 2020. [ZHANG Liping. Study on the effect and mechanism of kelp dietary fiber in reducing fat and losing-weight[D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2020.]
- [26] 万林. 首乌藤活性成分的提取及减肥降脂活性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [WAN Lin. Study on extraction of active ingredients from *Caulis Polygoni Multiflori* and their weight loss and lipid-lowering activity[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.]
- [27] TAO Jun, MA Yicheng, YANG Zhongshan, et al. Octopamine connects nutrient cues to lipid metabolism upon nutrient deprivation[J]. *Science Advances*, 2016, 2(5): e1501372.
- [28] ROSS T, JAKUBZIG B, GRUNDMANN M, et al. The molecular mechanism by which saturated lysophosphatidylcholine attenuates the metastatic capacity of melanoma cells[J]. *FEBS Open Bio*, 2016, 6(12): 1297-1309.
- [29] LI Haonan, HAN Yiqun, WANG Teng, et al. Development and validation of a simple and rapid HILIC-MS/MS method for the quantification of low-abundant lysoglycerophospholipids in human plasma[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2023, 415(3): 411-425.
- [30] 倪华, 方田, 陈向凡. 海带多糖对高脂饮食性大鼠主动脉一氧化氮合酶和细胞外基质的调节作用[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(6): 97-101. [NI Hua, FANG Tian, CHEN Xiangfan. *Laminaria japonica* polysaccharides rebalances the expressions of ENOS, iNOS, MMP-2 and MMP-9 in aorta of rats with hyperlipidemia induced by high fat diet[J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2016, 32(6): 97-101.]
- [31] ZHANG Zhongshan, WANG Xiaomei, ZHAO Mingxing, et al. Optimization of polysaccharides extraction from *Clematis hutchouensis* Tamura and its antioxidant activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111: 762-767.
- [32] KIMBARIS A C, SIATIS N G, DAFERERA D J, et al. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*) [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2006, 13(1): 54-60.
- [33] ZHANG Dongyang, WAN Yi, XU Jianyi, et al. Ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry leaves and their effect on enhancing antioxidant activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 137: 473-479.
- [34] CHEN C, YOU L J, ABBASI A M, et al. Optimization for ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry fruits with antioxidant and hyperglycemic activity *in vitro* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 130: 122-132.
- [35] KARAMI Z, AKBARI-ADERGANI B. Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 56(2): 535-547.
- [36] 李桂荣. 第七营养素[J]. *食品研究与开发*, 2005, 26(2): 98-101. [LI Guirong. The seventh nutriment[J]. *Food Research and Development*, 2005, 26(2): 98-101.]
- [37] 曹煜, 周茜, 张家琦, 等. 大白菜外叶可溶性膳食纤维结构表征及体外活性[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(21): 91-103. [CAO Yu, ZHOU Qian, ZHANG Jiaqi, et al. Structure and *in vitro* activity characterization of soluble dietary fiber from the outer leaves of Chinese cabbage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2025, 46(21): 91-103.]
- [38] ZOU Xiaoqiang, XU Xiuli, CHAO Zhonghao, et al. Properties of plant-derived soluble dietary fibers for fiber-enriched foods: A comparative evaluation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 223(Pt A): 1196-1207.
- [39] WU Qiannian, LUO Mei, YAO Xiaodong, et al. Purification, structural characterization, and antioxidant activity of the COP-W1 polysaccharide from *Codonopsis tangshen* Oliv [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 236: 116020.
- [40] 李潇. 褐藻酸寡糖的分离分析及其抗氧化活性的研究[D]. 西安: 西北大学, 2011. [LI Xiao. Studies on separation, preparation and antioxidant activity assay of active oligo-uronic acids from alginate [D]. Xi'an: Northwest University, 2011.]
- [41] 阮柳丁, 谷奇, 付玉杰. 根皮苷对秀丽隐杆线虫的抗氧化和降脂作用[J]. *吉林农业大学学报*, 2025, 47(3): 454-464. [RUAN Liuding, GU Qi, FU Yujie. Lipid-lowering and antioxidant activities of phlorizin on *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2025, 47(3): 454-464.]
- [42] TANG Zizhong, QIN Yihan, WANG Yueyu, et al. The endophytic fungus *Penicillium oxalicum* isolated from *Ligusticum chuanxiong* Hort possesses DNA damage-protecting potential and increases stress resistance properties in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 983716.
- [43] KALITA P, AHMED A B, SEN S, et al. A comprehensive review on polysaccharides with hypolipidemic activity: Occurrence, chemistry and molecular mechanism[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 206: 681-698.
- [44] 徐新颖, 于竹芹, 帅莉, 等. 海带对实验性高脂血症大鼠血脂水平的调节作用机制[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(2): 384-387. [XU Xinying, YU Zhuqin, SHUAI Li, et al. Regulating effects and mechanism of *Laminaria japonica* on serum lipid of experimental hyperlipemia rats[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2011, 26(2): 384-387.]
- [45] LI Na, LI Quancen, HE Xiaoyu, et al. Antioxidant and anti-aging activities of *Laminaria japonica* polysaccharide in *Caenorhabditis elegans* based on metabolomic analysis[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 221: 346-354.
- [46] 严静, 薛秋艳, 王旸, 等. 发酵米荞对高脂肪秀丽隐杆线虫的降脂及抗氧化作用[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(6): 8-15. [YAN Jing, XUE Qiuyan, WANG Yang, et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of fermented rice buckwheat on high-fat *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(6): 8-15.]
- [47] 许欢怡, 赖美英, 刘斌, 等. 猴头菇多糖提取及抗氧化和降脂活性研究[J]. *食品科技*, 2023, 48(12): 205-213. [XU Huanyi, LAI Meiyong, LIU Bin, et al. Research on extraction, antioxidant and lipid-lowering activities of *Hericium erinaceus* polysaccharides [J]. *Food Science and Technology*, 2023, 48(12): 205-213.]
- [48] FARIAS-PEREIRA R, SAVARESE J, YUE Y R, et al. Fat-lowering effects of isorhamnetin are via NHR-49-dependent pathway in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Current Research in Food Science*, 2019, 2: 70-76.
- [49] 杨慧玲. 土茯苓多糖对秀丽隐杆线虫的降脂作用及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2020. [YANG Huiling. Study on the lipid-lowering effect and mechanism of polysaccharide from *Smilax glabra* Roxb. on *Caenorhabditis elegans* [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2020.]