超声波-酶解法和超声波法提取裙带菜多糖的比较研究

张胜帮，于　萍，曾小明
(温州大学生命与环境科学学院，浙江 温州　325035)

摘　要：比较研究超声波-酶解法和超声波法提取裙带菜多糖，并采用Fenton体系研究裙带菜中多糖对羟自由基清除活性作用。选取浸提时间、酶用量、固液比及温度4因素采用$L_{16}(4^5)$和$L_9(3^4)$两个方案分别对超声-酶解提取裙带菜多糖和超声波法提取进行正交试验。得到最佳的提取条件为：超声-酶解提取的裙带菜多糖得率与抗羟自由基优化组合为超声-酶解时间15min、纤维素酶用量2.8×10^4U/g(酶与藻粉比值)、温度70℃、固液比1:80为最佳条件，在此条件下，裙带菜多糖提取率为(4.522±0.028)%，3.60g/L的裙带菜多糖对羟自由基清除率为(51.70±0.47)%。超声-酶解结合方法提取试验条件对裙带菜多糖提取率影响显著($P<0.01$)。试验条件对提取得到的裙带菜多糖羟自由基清除率结果影响不显著($P>0.05$)。超声-酶解法的裙带菜多糖提取效果和及其羟自由基清除率能力明显优于超声波法，其结果具有显著性差异($P<0.01$)。超声波-酶解结合方法提取裙带菜多糖，提取效率高，多糖清除自由基效果好。

关键词：超声波-酶解法；超声提取；裙带菜；多糖；羟自由基

A Comparative Study of Ultrasonic Treatment Alone and in Combination with Cellulase Hydrolysis for Extraction of *Undaria pinnatifida* Polysaccharides

ZHANG Sheng-bang，YU Ping，ZENG Xiao-ming
(School of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou　325035, China)

Abstract：In the present study, the extraction of *Undaria pinnatifida* polysaccharides by ultrasonic treatment alone and in combination with cellulase hydrolysis was optimized by orthogonal array designs $L_{16}(4^5)$ and $L_9(3^4)$, respectively. The optimal ultrasonic-cellulase treatment conditions for simultaneously improved polysaccharide yield and scavenging activity of polysaccharide extracts against hydroxyl radicals generated in Fenton system were treatment time of 15 min, cellulase amount of 2.8×10^4 U/g algae power, treatment temperature of 70 ℃ and solid-to-liquid ratio of 1:80. Under the optimal extraction conditions, the extraction rate of Undaria pinnatifida polysaccharides was (4.522 ± 0.028)%. The hydroxyl radical scavenging rate of the obtained extract was up to (51.70 ±0.47)%. In addition, each of the four process conditions showed a significant effect on the extraction rate of *Undaria pinnatifida* polysaccharides ($P<0.01$) and no significant effect on the scavenging activity of polysaccharide extracts against hydroxyl radicals ($P>0.05$). The combination of ultrasonic and cellulase could significantly increase the extraction rate of *Undaria pinnatifida* polysaccharides and the scavenging activity of polysaccharide extracts against hydroxyl radicals as compared with ultrasonic alone ($P<0.01$).

Key words：ultrasonic-enzymatic extraction；ultrasonic extraction；*Undaria pinnatifida*；polysaccharide；hydroxyl radical
中图分类号：TS201.1　　文献标识码：A　　文章编号：1002-6630(2011)16-0141-05

随着对海洋生物活性物质的深入研究[1]，科学家发现藻多糖可能具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗氧化、抗凝血、降血糖、降血脂、免疫调节等[2-6]生物活性功能和对细胞保护功能[7]，海洋多糖研究越发得到重视。

裙带菜(*Undaria pinnatifida*)属海带目翅藻科，裙带菜属，主要产于中国、日本、朝鲜半岛等沿海清洁海域。裙带菜是一种温带性多年生大型褐藻，主要包括褐藻胶、硫酸多糖和褐藻淀粉等。含有19种氨基酸，

收稿日期：2011-04-07
作者简介：张胜帮(1964—)，男，副教授，硕士，主要从事食品资源开发、分析化学研究。
E-mail：sbzhang@wzu.edu.cn

其中包括人体所需要的8种必需氨基酸。孢子叶中还含有一定量的蛋白质和人体必需的脂肪酸，其中，二十碳五烯酸占脂肪酸的15%～20%。裙带菜的叶状体不但可食用，还可作为中药使用，裙带菜与昆布化学成分相似，将其作为中药昆布入药，具有消痰软坚利水退肿的功效[8]。

多糖提取纯化方法和结构分析已经有较多报道[9-10]，文献[11-14]报道了酶法和超声波法等多糖提取纯化方法，而超声-酶解法提取裙带菜多糖鲜见报道。•OH是活性氧中最活泼的自由基之一，也是毒性最大的自由基，可直接损伤各种生物膜，导致多种疾病的发生，从而危及生物体。多糖清除·OH活性已有较多研究[15-17]，而对裙带菜多糖的抗氧化作用研究相对较少[18]。

本实验以裙带菜多糖为原料，在超声波法提取研究基础上，采用Fenton体系研究裙带菜中多糖的提取工艺及其对羟自由基的清除活性作用。选取浸提时间、酶用量、固液比及温度4因素，采用$L_{16}(4^5)$和$L_9(3^4)$两个方案分别研究超声-酶结合法提取和超声法提取的最佳工艺条件。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

干燥裙带菜　大连凌井水产食品有限公司。

丙酮、硫酸亚铁、盐酸　衢州巨化试剂有限公司；氢氧化钠、氯化钡、硫酸　浙江中星化工试剂有限公司；苯酚　浙江省兰溪市屹达化工试剂有限公司；30%双氧水　宜兴市第二化学试剂厂；葡萄糖　广东汕头市陇化工厂；水杨酸　汕头市西陇化工有限公司；无水乙醇　杭州萧山化学试剂厂；三氯乙酸(以上均为AR)　江苏永华精细化学试剂有限公司；纤维素酶(140万U/g)　甘肃华羚生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

RE-200型旋转蒸发器　上海亚荣生化仪器厂；HH-S型数显式电热恒温水浴锅　郑州长城科工贸有限公司；KQ-300VDV型三频数控超声波清洗器　昆山市超声仪器有限公司；FW100型高速万能粉碎机　天津市泰斯特仪器有限公司；TDL-5-A台式离心机　上海安婷科学仪器厂；微电脑控制冷藏柜　河南冰熊制冷工业集团立式冷柜厂；T6新世纪紫外-可见分光光度计　北京普析通用仪器有限责任公司；BS224S电子天平　北京赛多利斯仪器系统有限公司；真空干燥箱　上海森信实验仪器有限公司；DHG-9023A电热恒温鼓风干燥箱　上海精宏实验设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

裙带菜在清水中浸泡10min洗净，沥干，放入烘箱内于70℃干燥至质量恒定。取出用粉碎机粉碎得到裙带菜粉，过100目筛，备用。

1.3.2 裙带菜多糖的提取工艺

1.3.2.1 提取工艺

称取裙带菜干粉2.000g于三角瓶中，加入不同体积蒸馏水，用各自方法提取处理后，冷却，4500r/min离心20min，取上清液，再取其中的1.0mL，采用硫酸-苯酚比色分析测定，其余加入3倍体积乙醇沉淀，放置过夜，4500r/min离心20min后取沉淀，最后用无水乙醇洗涤两次，放入小烧杯中，干燥得裙带菜粗多糖。

1.3.2.2 超声波法提取裙带菜多糖

超声裙带菜多糖的提取，参考文献[19-20]，结合单因素预试验结果，选择确定超声波功率100W基础上，设计5因素4水平$L_{16}(4^5)$正交表，设计超声波法裙带菜多糖提取的水平因素见表1。

表1　超声裙带菜多糖提取正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels in orthogonal array design for optimizing ultrasonic extraction of *Undaria pinnatifida* polysaccharides

水平	因素			
	*A*超声时间/min	*B*水浴温度/℃	*C*水浴时间/h	*D*固液比(g/mL)
1	15	70	3	1:50
2	20	80	4	1:60
3	25	90	5	1:70
4	30	100	6	1:80

称取超声裙带菜干粉2.000g于三角瓶中，制成固液比为1:50、1:60、1:70、1:80的裙带菜浆液，在超声波功率100W条件下进行裙带菜多糖的提取试验，冷却、离心、浓缩、乙醇沉淀、干燥，具体见1.3.2.1节。

1.3.2.3 超声波-酶解提取裙带菜多糖

根据超声波、水浴、酶解、酸提等方法提取裙带菜多糖初步实验结果。选择超声波辅助结合酶解法对裙带菜多糖提取进行研究。

参考文献[21-22]等，结合单因素预试验结果，选择确定超声波功率300W基础上，超声波-酶解提取裙带菜多糖的因素水平表见表2，设计4因素3水平$L_9(3^4)$正交表，分别以多糖提取率、羟自由基清除率为指标，进行正交试验。

称取裙带菜干粉2.000g于三角瓶中，加蒸馏水，按照要求配制成固液比为1:40、1:60、1:80的裙带菜浆液。调pH 6.0，分别加入1.4×10^4、2.8×10^4、4.2×10^4U/g纤维素酶(酶与藻粉比)，即1%、2%、3%的用量(酶与藻粉质量比)，超声波-酶解提取处理，取出迅速升温至80℃使酶钝化1h，冷却，离心，浓缩，乙醇沉淀，干燥，具体见1.3.2.1节。

表 2 超声波 - 酶解提取裙带菜多糖正交试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal array design for optimizing ultrasonic-enzymatic extraction of *Undaria pinnatifida* polysaccharides

水平	因素			
	A 时间 /min	*B* 酶用量 /(10^4U/g)	*C* 固液比	*D* 温度 /℃
1	15	1.4	1:80	70
2	30	2.8	1:60	55
3	60	4.2	1:40	40

1.3.3 裙带菜多糖的脱色

参照文献[16]，采用 H_2O_2 进行脱色实验。

1.3.4 裙带菜多糖的脱蛋白

采用三氯乙酸法除去裙带菜多糖中的蛋白，在多糖提取液中滴加 3% 三氯乙酸，直到不再有混浊为止，5℃放置过夜，离心除去胶状沉淀，即可除去蛋白。

1.3.5 裙带菜多糖含量的测定

采用苯酚 - 硫酸法测定裙带菜多糖含量。取 1.0mL 多糖提取液，加入 6% 苯酚溶液 1.0mL，摇匀，然后加入浓硫酸 5.0mL，充分摇匀，室温放置 30min，同时以蒸馏水做空白对照，紫外分光光度法测定吸光度。

1.3.6 多糖对羟自由基清除功能

本实验采用 Fenton 模型裙带菜多糖对・OH 的清除作用，采用水杨酸参与的・OH 反应体系。利用 $FeSO_4$、乙醇、水杨酸、过氧化氢的混合溶液，分别对不同浓度的裙带菜粗多糖溶液和脱蛋白多糖溶液进行研究，37℃水浴 90min 后，冷却，510nm 波长处测定吸光度。

1.3.7 裙带菜多糖的硫酸根含量测定

取 0.100g 裙带菜多糖，加 10mL 1.0mol/L HCl 溶液，100℃水解 3h。冷却后加 HCl 溶液补至刻度线，过滤除去不溶物，即得样品溶液。吸取样品液 3.0mL，加 4.0mL 0.2mol/L HCl 溶液，1.0mL 10g/L 明胶氯化钡溶液 A，充分摇匀，放置 30min 后，于 500nm 波长处测其吸光度，根据标准曲线计算硫酸根含量[23]。

2 结果与分析

2.1 标准曲线方程的确定

2.1.1 葡萄糖标准曲线

精确量取葡萄糖标准溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0mL 用蒸馏水分别补至 1.0mL 再按苯酚 - 硫酸法比色测定吸光度，以标准葡萄糖质量浓度(x，g/L)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标，得到标准曲线，其回归方程为 $y = 9.8509x + 0.0216$，$R^2 = 0.9962$。葡萄糖质量浓度在 0.00～0.10g/L 范围内线性关系良好。

2.1.2 硫酸根标准曲线

分别取 0.35g/L 标准硫酸钾溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0mL，分别加蒸馏水至 3.0mL，加 4.0mL 0.2mol/L HCl 溶液，1.0mL 10.0g/L 明胶氯化钡溶液 A，充分摇匀，放置 30min 后，于 500nm 波长处测其吸光度。以标准硫酸钾质量浓度(x，g/L)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标，得到硫酸根含量标准曲线，其回归方程为 $y = 0.7053x - 0.002$，$R^2 = 0.9956$。硫酸根质量浓度在 0.00～0.35g/L 范围内线性关系良好。

2.2 超声提取裙带菜多糖工艺的研究

表 3 超声波法提取裙带菜多糖的正交试验设计及结果

Table 3 Orthogonal array design for optimizing ultrasonic extraction of *Undaria pinnatifida* polysaccharides and corresponding experimental results

试验号	*A*	*B*	*C*	*D*	提取率 /%
1	1	1	1	1	1.504
2	1	2	2	2	1.842
3	1	3	3	3	2.155
4	1	4	4	4	2.461
5	2	1	2	3	2.088
6	2	2	1	4	2.398
7	2	3	4	1	1.538
8	2	4	3	2	1.850
9	3	1	3	4	2.417
10	3	2	4	3	2.153
11	3	3	1	2	1.812
12	3	4	2	1	1.530
13	4	1	4	2	1.817
14	4	2	3	1	1.536
15	4	3	2	4	2.466
16	4	4	1	3	2.137
K_1	7.962	7.826	7.851	6.108	T=31.704
K_2	7.874	7.929	7.926	7.321	
K_3	7.912	7.971	7.958	8.533	
K_4	7.956	7.978	7.969	9.742	
k_1	1.991	1.957	1.963	1.527	
k_2	1.969	1.982	1.982	1.830	
k_3	1.978	1.993	1.990	2.133	
k_4	1.989	1.995	1.992	2.436	
R	0.020	0.038	0.029	0.913	
优化	A_1	B_4	C_4	D_4	

根据表 1 进行超声波法提取裙带菜多糖正交试验，结果见表 3，方差分析见表 4。

表 4 超声波法提取结果方差分析

Table 4 Variance analysis of extraction rate of *Undaria pinnatifida* polysaccharides with various ultrasonic extraction conditions

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	*F* 值	F_α	显著性
A	1.274×10^{-3}	3	4.247×10^{-4}			
B	3.685×10^{-3}	3	1.228×10^{-3}	2.894	$F_{0.05(3,3)}$=9.28	
C	2.125×10^{-3}	3	7.082×10^{-4}	1.667		
D	1.8344	3	6.115×10^{-1}	144.0	$F_{0.01(3,3)}$=29.5	**

注：*.$P < 0.05$，差异显著；**.$P < 0.01$，差异极显著。下同。

由表 4 可见，固液比对提取结果的影响差异极显著($P < 0.01$)。超声时间、水浴温度、水浴时间对提取结

果影响差异不显著。根据表3极差分析可知，以裙带菜多糖的提取率为指标，对裙带菜多糖的提取率影响为固液比最大，其次依次为时间、温度、超声波处理时间，而且结果变动不大，与方差分析一致。结合方差分析结果，超声波提取的最优组合为$A_1B_4C_4D_4$，从经济角度可以选择$A_1B_1C_1D_4$，考虑到作为方法对比实验，仍然选择超声波提取的最优组合为$A_1B_4C_4D_4$。即超声波时间15min水浴温度100℃水浴时间6h以及固液比1:80为裙带菜多糖的最佳提取工艺。

2.3 超声-酶解提取裙带菜多糖最佳工艺条件的确定

根据表2设计的4因素3水平$L_9(3^4)$正交表，分别以多糖提取率(%)、羟自由基清除率(%)为指标，进行正交试验，结果见表5，结果的方差分析表6。

表5 超声－酶解提取裙带菜多糖的正交试验设计及结果

Table 5 Orthogonal array design for optimizing ultrasonic-enzymatic extraction of *Undaria pinnatifida* polysaccharides and corresponding experimental results

	试验号	A	B	C	D	多糖提取率/%	羟自由基清除率/%
	1	1	1	1	1	2.264	49.35
	2	1	2	2	2	3.344	51.41
	3	1	3	3	3	4.014	48.37
	4	2	1	2	3	2.935	40.80
	5	2	2	3	1	4.494	50.65
	6	2	3	1	2	2.189	47.85
	7	3	1	3	2	4.212	48.74
	8	3	2	1	3	2.017	46.38
	9	3	3	2	1	3.385	48.77
提取率	K_1	9.622	9.411	6.470	10.143		
	K_2	9.618	9.855	9.664	9.745		
	K_3	9.614	9.678	12.720	8.966		
	k_1	3.207	3.137	2.157	3.381		
	k_2	3.206	3.285	3.221	3.248		
	k_3	3.205	3.226	4.240	2.989		
	R	0.002	0.148	2.083	0.392		
	优化	A_1	B_2	C_3	D_1		
羟自由基清除率	K_1	149.13	138.89	143.58	148.77		
	K_2	139.30	148.44	140.98	148.00		
	K_3	143.89	144.99	147.76	135.55		
	k_1	49.71	46.30	47.86	49.59		
	k_2	46.43	49.48	46.99	49.33		
	k_3	47.96	48.33	49.25	45.18		
	R	3.28	3.18	2.26	4.41		
	优化	A_1	B_2	C_3	D_1		

由表6可见，在本试验条件下，A、B、C、D对裙带菜多糖提取率的影响差异极显著($P<0.01$)，根据表5极差分析可知，以提取率为指标时，因素主次顺序为$C>D>B>A$，因素A的水平改变，对结果几乎没有影响，从经济角度可以选择A_1。所以，按照表5结果，确定超声-酶解提取的最优组合为$A_1B_2C_3D_1$。

由表6可见，各因素对裙带菜多糖羟自由基清除率影响差异不显著($P>0.05$)。而根据表5极差分析可知，以裙带菜多糖对羟自由基的清除率为指标时，因素影响次序和多糖抗羟自由基优化组合均与以提取率为指标时一致，同样，因素A的水平改变，对试验结果几乎没有影响，从经济角度可以选择A_1。因此，确定超声-酶解提取的最优组合为$A_1B_2C_3D_1$。

表6 超声-酶解提取结果方差分析

Table 6 Variance analysis of extraction rate of *Undaria pinnatifida* polysaccharides with various ultrasonic-enzymatic extraction conditions

	方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	F_α	显著性
提取率	A	1.067×10^{-5}	2	5.333×10^{-6}			
	B	3.331×10^{-2}	2	1.6653×10^{-2}	3122	$F_{0.01(2,2)}=99.0$	**
	C	6.5115	2	3.2558	6.105×10^{5}		**
	D	2.390×10^{-1}	2	1.195×10^{-1}	2.240×10^{4}		**
羟自由基清除率	A	24.192	2	12.096	2.068	$F_{0.05(2,2)}=19.0$	
	B	23.386	2	11.693	1.998		
	C	11.700	2	5.8501			
	D	55.061	2	27.530	4.967		

结合裙带菜多糖提取率的影响和提取得到的裙带菜多糖羟自由基清除率影响程度的一致性，根据上述结合正交试验和方差分析得出的最佳结果综合分析，确定超声-酶解提取的最优组合为$A_1B_2C_3D_1$。即时间15min、酶用量2.8×10^4U/g (酶与藻粉比值)、固液比1:80、温度70℃为超声-酶解提取裙带菜多糖的最佳提取工艺。

2.4 验证实验

2.4.1 超声提取裙带菜多糖工艺的研究

称取2.00g的裙带菜干粉3份，在超声波时间15min、水浴温度100℃、水浴时间6h及固液比1:80的最佳提取条件下，进行验证实验，裙带菜多糖的提取率为(2.474 ± 0.220)%，高于正交试验中的最高多糖提取率2.466%。说明实验效果良好，也验证了最佳条件合理。同时测定粗多糖的硫酸根质量分数平均为10.81%，蛋白平均含量为0.718%。在多糖质量浓度3.60g/L时，超声波法得到的多糖自由基清除率为(48.65 ± 0.565)%。

2.4.2 超声-酶解提取裙带菜多糖最佳工艺条件的确定

称取2.000g的裙带菜干粉3份，在超声-酶解时间15min、酶用量2.8×10^4U/g(酶与藻粉比值)、温度70℃以及固液比1:80的最佳条件下，进行验证实验，裙带菜多糖的提取率为(4.522 ± 0.028)%，高于正交试验中的最高多糖提取率4.494%。在多糖质量浓度为3.60g/L时，羟自由基的清除率实验结果为(51.70 ± 0.47)%，高于正交试验中的最高值51.41%。

2.5 超声-酶解法与超声波法的提取裙带菜多糖比较

在两种最佳提取实验条件下，超声-酶解法与超声波法的提取裙带菜多糖结果见表7。

表7表明，超声-酶解法与超声波法的提取裙带菜多糖的提取率和羟自由基清除率结果具有极显著差异性

(P < 0.01)，因此，超声-酶解法的提取裙带菜多糖效果明显优于超声波法(P < 0.01)，得到裙带菜多糖的羟自由基清除率能力强于超声波法(P < 0.01)。

表7 两种最佳提取实验结果的比较(n=3)

Table 7 Comparisons of extraction rate and hydroxyl radical scavenging activity of *Undaria pinnatifida* polysaccharides by ultrasonic extraction and ultrasonic-enzymatic extraction (n=3)

	方法	平均值%	RSD%	t 值	$t_{0.01(4)}$值	显著性
提取率	超声波法	2.474	0.220	13.05	4.60	**
	超声-酶解法	4.522	0. 028			
羟自由基清除率	超声波法	48.65	0.565	5.86	4.60	**
	超声-酶解法	51.70	0.471			

3 结 论

本实验在进行超声波法提取裙带菜多糖研究的基础上，比较研究了超声-酶解结合方法提取裙带菜多糖。选取浸提时间、酶用量、固液比及温度4因素采用$L_{16}(4^5)$和$L_9(3^4)$两个方案分别对超声-酶解提取和超声提取进行正交试验。得到最佳的提取条件为：超声-酶解提取的裙带菜多糖得率与抗羟自由基优化组合为超声-酶解时间15min、纤维素酶用量2.8×10^4U/g(酶与藻粉比值)、温度70℃、固液比1:80为最佳条件，在此条件下，裙带菜多糖提取率为(4.522 ± 0.028)%，3.60g/L的裙带菜多糖对羟自由基清除率为(51.70 ± 0.47)%。超声-酶解结合方法提取试验条件对裙带菜多糖提取率影响显著(P < 0.01)。试验条件对提取得到的裙带菜多糖羟自由基清除率结果影响不显著(P > 0.05)。与超声提取相比，超声-酶解法的裙带菜多糖提取效果和及其羟自由基清除率能力提高，其结果具有显著性差异(P < 0.01)。原因可能是酶解细胞表面结构及胞间连接物，有助于裙带菜多糖的提取，使超声-酶解结合方法的提取率高于超声波法提取的结果。

所用的辅助提取手段都是为了破碎裙带菜细胞，同时保持多糖有效成分的原有结构和活性。超声波作为一种新的提取手段，破碎效果好。而研究以超声波为基础的结合提取法，提高裙带菜多糖的提取率已成为新的课题。结果表明与超声波法提取相比，超声波-酶解结合方法提取裙带菜多糖，提取效率高，多糖清除自由基效果好，具有一定的实际价值。

参考文献：

[1] ALEJANDRO M S M, ABIMAEL D R, ROBERTO G S B, et al. Marine pharmacology in 2007－8: Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous system, and other miscellaneous mechanisms of action[J]. Comparative Biochemistry and Physiology: Part C, 2011, 153(2): 191-222.

[2] COSTA L S, FIDELIS G P, CORDEIRO S L, et al. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2010, 64(1): 21-28.

[3] MATANJUN P, MOHAMED S, MUSTAPHA N M, et al. Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo[J]. J Appl Phycol, 2008, 20(4): 367-373.

[4] AHN M J, YOON K D, KIM C Y, et al. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and HIV-1 integrase and antiviral activity of Korean seaweed extracts[J]. Journal of Applied Phycology, 2002, 14(5): 325-329.

[5] YOU S G, YANG C, LEE H Y, et al. Molecular characteristics of partially hydrolyzed fucoidans from sporophyll of *Undaria Pinnatifida* and their *in vitro* anticancer activity[J]. Food Chemistry, 2010, 119(2): 554-559.

[6] EMMA A H, RUTH F, SUSAN M, et al. Virucidal activity of polysaccharide extracts from four algal species against herpes simplex virus[J]. Antiviral Research, 2009, 83(3): 282-289.

[7] HEO S J, KO S C, KANG S M, et al. Cytoprotective effect of fucoxanthin isolated from brown algae *Sargassum siliquastrum* against H_2O_2-induced cell damage[J]. Eur Food Res Technol, 2008, 228(1): 145-151.

[8] 张文竹, 刘红兵, 管华诗. 裙带菜的化学成分及其生物活性研究进展[J]. 海洋科学, 2009, 33(4): 72-75.

[9] LAURIE E R, SYLVIE L T, MARTIN B. Structural characterization of laminaran and galactofucan extracted from the brown seaweed *Saccharina longicruris*[J]. Phytochemistry, 2010, 71(13): 1586-1595.

[10] YANG C, CHUNG D H, YOU S G. Determination of physicochemical properties of sulphated fucans from sporophyll of *Undaria pinnatifida* using light scattering technique[J]. Food Chemistry, 2008, 111(2): 503-507.

[11] LAI Furao, WEN Qibiao, LI Lin, et al. Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted from mung bean (*Vigna radiata* L.) hull with ultrasonic assisted treatment[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(11): 323-329.

[12] ZOU Yuanfeng, CHEN Xingfu, YANG Wenyu, et al. Response Surface Methodology for optimization of the ultrasonic extraction of polysaccharides from *Codonopsis pilosula* Nannf.var. *modesta*[J].Carbohydrate Polymers, 2011, 84(1): 503-508.

[13] 谭洁怡, 王一飞, 钱垂. 超声波法提取裙带菜中褐藻多糖硫酸酯的工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(1): 115-117.

[14] 何云海, 汪秋宽, 苏唱. 用复合酶酶解-热水浸提法提取裙带菜孢子叶粉岩藻聚糖硫酸酯的工艺研究[J]. 大连水产学院学报, 2007, l22(1): 53-57.

[15] 薛丁萍, 魏玉西, 刘淇, 等. 浒苔多糖对羟自由基的清除作用研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(1): 44-47.

[16] 张胜帮, 麻卫锋, 于萍. 羊栖菜多糖提取分离及其清除自由基的活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 192-195.

[17] HEO S J, JEON Y J. Radical scavenging capacity and cytoprotective effect of enzymatic digests of *Ishige okamurae*[J]. Appl Phycol, 2008, 20(6): 1087-1095.

[18] JE J Y, PARK P J, KIM E K, et al. Antioxidant activity of enzymatic extracts from the brown seaweed *Undaria pinnatifida* by electron spin resonance spectroscopy[J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(4): 874-878.

[19] 吕明生, 王淑, 房耀维, 等. 超声波提取雪莲薯多糖工艺优化及其对羟自由基的清除[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 24-27.

[20] 李建, 杨波, 季宇彬. 超声波法提取裙带菜多糖的工艺研究[J]. 食品与药品, 2010, 12(11): 404-407.

[21] 阚国仕, 崔亮亮, 陈红. 纤维素酶超声波法萃取胡萝卜多糖工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2009(7): 252-254.

[22] 王以斌, 梁强, 何碧娟, 等. 螺旋藻多糖酶解辅助超声波提取工艺的优化[J]. 现代农业科技, 2009(8): 234-234.

[23] 周裔彬, 汪东风, 杜先锋, 等. 酸化法提取海带多糖及其纯化的研究[J]. 南京农业大学学报, 2006, 29(3): 103-107.