

扇贝加工废液中多糖提取条件优化及其生物活性的研究

马晓婧, 顾盼, 姜淼, 李智博, 赵前程, 王海波*

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁省水产品分析检验及加工技术科技服务中心, 大连 116023)

摘要: **目的** 优化扇贝加工废液多糖的提取条件, 并研究其生物活性。**方法** 以多糖纯度为指标, 对比胃蛋白酶、复合蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶及碱性蛋白酶对扇贝加工废液中多糖酶解的效果。在单因素试验的基础上, 采用正交试验法对扇贝加工废液多糖提取工艺进行优化。**结果** 木瓜蛋白酶为最佳反应酶, 最佳酶解条件为酶解时间 4 h, 酶解 pH 6, 酶解温度 60 °C, 加酶量为 2.5%, 此条件下提取物多糖纯度为 62.23%。采用膜分离技术, 对所提取多糖进一步纯化, 得到纯度为 84.75%的扇贝废弃液多糖。在多糖浓度为 8 mg/mL 时, 废弃液多糖对-OH 的清除能力达到 87.53%, 对 DPPH 自由基的清除能力达到 53.36%; 在废弃液多糖浓度为 800 μmol/L 时, 巨噬细胞 NO 生成量达到了 13.05 μmol/L。**结论** 扇贝蒸煮液可提取得到较高纯度多糖, 并具有较强的抗氧化作用及良好的免疫调节作用。

关键词: 扇贝加工废液; 多糖; 提取优化; 生物活性

Optimization of extraction conditions and study on biological activity of polysaccharides in scallop processing waste liquor

MA Xiao-Jing, GU Pan, JIANG Miao, LI Zhi-Bo, ZHAO Qian-Cheng, WANG Hai-Bo*

(College of Food Science and Technology, Dalian Ocean University, Liaoning Provincial Aquatic Products Analysis and Processing Technology Scientific Service Center, Dalian 116023, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the extraction conditions of scallop processing waste liquid polysaccharide and study its biological activity. **Methods** The polysaccharide purity was used as an indicator to compare the effects of pepsin, complex protease, neutral protease, papain and alkaline protease on the enzymatic hydrolysis of polysaccharides in scallop processing waste. On the basis of single factor experiment, orthogonal extraction method was used to optimize the extraction process of scallop processing waste liquid polysaccharide. **Results** Papain was the best reaction enzyme. The optimal enzymatic hydrolysis conditions were enzymatic hydrolysis time 4 h, enzymatic hydrolysis pH 6, enzymatic hydrolysis temperature 60 °C, and enzyme dosage 2.5%. Under these conditions, the purity of extract polysaccharide was 62.23%. The extracted polysaccharide was further purified by a membrane separation technique to obtain a scallop waste liquid polysaccharide having a purity of 84.75%. When the polysaccharide concentration was 8 mg/mL, the removal ability of the waste liquid polysaccharide to -OH reached

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(201505029-3)

Fund: Supported by National Marine Welfare Industry Research Project (201505029-3)

*通讯作者: 王海波, 博士, 主要研究方向为海洋生物活性物质。E-mail: wanghaibo@dlou.edu.cn

*Corresponding author: WANG Hai-Bo, Ph.D., College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China. E-mail: wanghaibo@dlou.edu.cn

87.53%, and the DPPH free radical scavenging ability reached 53.36%. When the concentration of waste polysaccharide was 800 $\mu\text{mol/L}$, the amount of NO produced by macrophages reached 13.05 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Higher purity polysaccharide can be extracted from the scallop cooking liquor, and the polysaccharide has strong anti-oxidation effect and good immune regulation.

KEY WORDS: scallop processing waste liquid; polysaccharide; extraction optimization; biological activity

1 引言

近 30 年来,我国扇贝产业发展十分迅速,在世界扇贝生产中的地位迅速上升。扇贝产品是中国水产品的重要组成部分^[1]。大连作为扇贝的主产区,有着丰富的扇贝资源,每年扇贝产量超过 20 万吨,目前扇贝的主要加工方式仍然以传统食用方式为主。扇贝加工时常对扇贝柱进行煮制,余下的扇贝柱蒸煮液往往被弃去而造成浪费,因此扇贝蒸煮液的功能亟待开发。

近些年来,研究者们已经对贝类多糖的功效进行了相对深入的研究:邹艳君等^[2]利用传统热水浸提法提取出紫贻贝粗多糖,检测了多糖的还原能力和对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除能力,结果表明紫贻贝多糖具有良好的抗氧化活性。从皱纹盘鲍分离得到的多糖具有较强的刺激细胞生长的能力,可以促进 HepG₂ 细胞的增殖^[3]。卢卫红等^[4]研究酶解法提取得到的翡翠贻贝多糖和牡蛎多糖,证明其均具有一定的抗氧化活性。王莅莎等^[5]研究了鲍鱼内脏多糖能够增强淋巴细胞增殖、腹腔巨噬细胞吞噬功能和 NK 细胞的杀伤能力,具有抗肿瘤和免疫调节功能。蒋长兴等^[6]研究了青蛤多糖的抗氧化活性,其结果表明青蛤多糖对 CC1₄ 诱导的肝损伤小鼠具有一定的保护作用。但关于工业化生产中产生的扇贝蒸煮液中多糖的抗氧化活性鲜有报导。

多糖的提取方法有许多种,如热水浸提法^[7]、超声萃取法^[8]、酶解法^[9]和酸碱浸提法^[10]。扇贝中含丰富蛋白质,为得到纯度较高的多糖,多采用酶解法对蛋白进行分解去除^[11]。本研究以工厂加工扇贝柱产生的加工废弃液为原材料,探索利用酶解法获得较高纯度多糖产物的最佳条件,并探讨所得到多糖的体外抗氧化活性和刺激巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 的能力,以期扇贝加工废液的高值、全效利用奠定理论基础。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

CR21N 高速冷冻离心机(日本日立工机株式会社); HH-ZK4 恒温水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司); 真空冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司); BS224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);

STARTER2100 实验室 pH 计(奥豪斯仪器(上海)有限公司); 多功能微孔检测仪(美国伯腾仪器有限公司); 微量台式高速离心机(湖南湘仪实验仪器开发有限公司); 二氧化碳培养箱(日本松下健康医疗器械株式会社); TS100 显微镜(日本尼康公司)。

海湾扇贝柱(大连玉洋集团股份有限公司提供); 木瓜蛋白酶(200000 U/g)、复合蛋白酶(200000 U/g)、中性蛋白酶(200000 U/g)、碱性蛋白酶(200000 U/g)(天津诺奥科技发展有限公司); 一氧化氮(NO)测试盒 A013-2(南京建成生物科技有限公司); 胃蛋白酶(250 U/mg)、RPMI Medium 1640 培养基、青链霉素混合液、脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)、磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)、胰蛋白酶-EDTA 消化液(北京索来宝科技有限公司); 胎牛血清(杭州天杭生物科技股份有限公司); 3,5-二硝基水杨酸(化学纯,国药集团化学试剂有限公司); 磷酸二氢钾、浓硫酸(分析纯,天津市大茂化学试剂厂)。

2.2 实验方法

2.2.1 扇贝加工废液多糖的提取工艺

参考梁姗姗等^[12]得出的结论,将海湾扇贝柱按照企业加工流程操作,得到扇贝加工废弃液→调节等电点至 5.0,静置过夜→离心(9000 r/min, 20min)→上清液加酶,酶解→90℃灭酶 10min→3 倍体积 95%乙醇醇沉过夜→离心(9000 r/min, 20min)→冷冻干燥,获得废弃液多糖。

2.2.2 酶解工艺优化

1) 酶种类的筛选

量取经等电点除蛋白后的扇贝加工废液各 200 mL,采用胃蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、复合蛋白酶、碱性蛋白酶酶解。固定酶解条件:酶解时间 4 h,加酶量为 2%。所考察蛋白酶种类及其作用条件如表 1 所示。酶解后,经醇沉冻干得到扇贝加工废液多糖,采用刘宁彰等^[13]的方法,测定所得多糖的质量以及多糖纯度,选出最佳蛋白酶。

2) 单因素试验

本研究以经等电点除蛋白后的扇贝加工废液为原料,采用木瓜蛋白酶作为考察酶,在酶解温度为 60℃,pH 7.0,加酶量 2%的条件下考察酶解时间(1、2、3、4、5h)对多糖纯度的影响;在酶解温度为 60℃,酶解时间为 4 h,加酶量为 2%的条件下考察 pH(6.0、6.5、7.0、7.5、8.0)对多糖纯度的影响;在 pH 7.0,酶解时间为 4 h,加酶量为 2%的条件

下考察酶解温度(45、50、55、60、65℃)对多糖纯度的影响;在酶解温度为60℃,pH 7.0,酶解时间为4 h的条件下考察加酶量(以废弃液中固形物计1%、1.5%、2%、2.5%、3%)对醇沉淀干后的多糖纯度的影响。

3)正交试验优化扇贝废弃液多糖提取工艺

在单因素试验结果的基础上,选定酶解时间、酶解pH、加酶量与酶解温度4个因素,设计四因素三水平正交试验,如表2所示。

2.2.3 扇贝加工废液多糖的纯化

扇贝加工废液经等电点除蛋白后,根据正交优化试验所得结果,选取最优条件对废液进行酶解,酶解完成后90℃灭酶10 min,冷却后过截留分子量为3W的超滤膜,收集截留液,向截留液中加入3倍体积95%乙醇醇沉过夜,离心收集沉淀,冻干后得到纯化的多糖。

2.2.4 多糖纯度的计算

总糖含量测定采用苯酚—硫酸法,还原糖含量测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法^[14]。

多糖含量=总糖含量-还原糖含量

$$\text{多糖纯度}\% = \frac{\text{冻干样品中多糖的质量}}{\text{冻干样品的质量}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.5 扇贝加工废液多糖抗氧化活性的测定

1) 羟基自由基(-OH)清除能力的测定

参考程世伟等^[15]的方法,略做改动。取浓度分别为2、4、6、8、10 mg/mL的多糖样品溶液1 mL于具塞试管,加入3 mL 2 mmol/L FeSO₄溶液与3 mL 1 mmol/L H₂O₂溶液充分摇匀,加入3 mL 6 mmol/L水杨酸溶液。充分摇匀后,于37℃水浴锅中水浴1 h,取出后室温静置1 h,对照组用H₂O代替H₂O₂,空白组取95%乙醇代替多糖溶液,在510 nm测量吸光值。羟基自由基清除率计算见公式(2)。

$$\text{羟基自由基清除率}\% = \frac{A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}})}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (2)$$

注:A_{空白}、A_{样品}、A_{对照}分别为空白组、样品组和对照组在510 nm下吸光值。

2) DPPH 自由基清除能力测定

采取DPPH反应法^[16]。取2 mL不同浓度的样品溶液,依次加入2 mL、0.1 mmol/L的DPPH溶液,充分混匀,避光静置30 min,于517 nm处测定吸光度。对照组以95%乙醇替代DPPH溶液,空白组以H₂O替代多糖样品溶液。DPPH自由基清除率计算见公式(3)。

$$\text{DPPH 自由基清除率}\% = \frac{A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}})}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (3)$$

注:A_{空白}、A_{样品}、A_{对照}分别为空白组、样品组和对照组在517 nm下吸光值

2.2.6 扇贝加工废液多糖作用巨噬细胞产生NO量的测定

参照云少君等^[17]的方法,将巨噬细胞RAW264.7以5×10⁵ cell/mL的浓度接种到24孔培养板中,每孔500 μL,24 h后更换细胞培养液。将废弃液多糖(800、400、200、100、50、25 μg/mL)、20 μg/mL LPS的细胞培养液和空白对照各加3孔,作用巨噬细胞RAW264.7 24 h后收集各孔中的细胞培养液,利用试剂盒测定NO产生量。

3 结果与分析

3.1 酶解工艺优化结果

3.1.1 单酶筛选结果

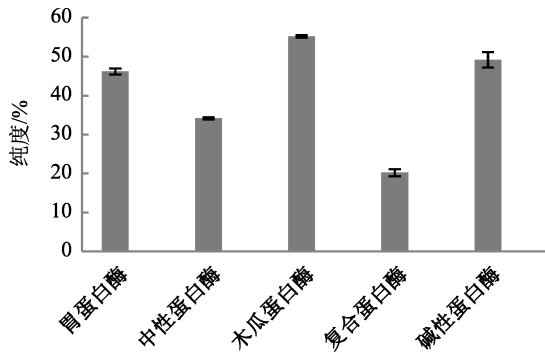
取相同量经等电点处理后的扇贝加工废液为原料,以所得多糖纯度为指标,考察不同蛋白酶酶解效果,选出最適蛋白酶。由图1可知,扇贝加工废液经木瓜蛋白酶酶解后,所得多糖纯度最高为55.24%,其次为碱性蛋白酶及胃蛋白酶,多糖纯度分别为49.21%及46.21%。考虑到实际生产中使用安全性及便捷性,故选择木瓜蛋白酶进行后续酶解试验。

表1 5种蛋白酶的酶解条件
Table 1 Enzymolysis conditions of 5 kinds of proteases

| | 胃蛋白酶 | 中性蛋白酶 | 木瓜蛋白酶 | 复合蛋白酶 | 碱性蛋白酶 |
|------|------|-------|-------|-------|-------|
| pH | 3.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 9.0 |
| 温度/℃ | 37 | 50 | 60 | 55 | 55 |

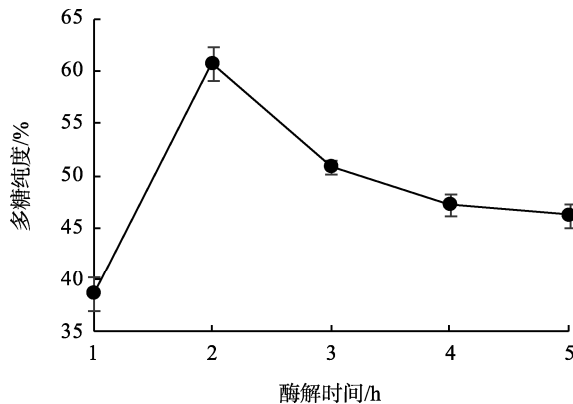
表2 正交试验设计因素与水平
Table 2 Factors and levels in orthogonal experiment design

| 水平 | 因素 | | | |
|----|----------|---------|---------|----------|
| | A 酶解时间/h | B 酶解 pH | C 加酶量/% | D 酶解温度/℃ |
| 1 | 2 | 6.0 | 1.5 | 55 |
| 2 | 3 | 6.5 | 2.0 | 60 |
| 3 | 4 | 7.0 | 2.5 | 65 |

图1 不同蛋白酶对多糖纯度的影响($n=2$)Fig.1 Effect of different enzymes on the purity of polysaccharide ($n=2$)

3.1.2 酶解时间对多糖纯度的影响

在加酶量 2%，酶解 pH 7.0，酶解温度 50 °C 的条件下，考察不同酶解时间(1、2、3、4、5 h)对酶解产物多糖纯度的影响。结果如图 2 所示，酶解时间为 2 h 时获得的样品中多糖纯度最高，酶解 1 h 时样品多糖纯度最低。酶解时间多于 2 h 后，样品多糖纯度随着酶解时间的延长先呈现逐渐下降的趋势，4 h 后变化不显著。因此选择酶解时间最佳范围为 2、3、4 h。

图2 酶解时间对产物多糖纯度的影响($n=2$)Fig.2 Effect of enzymatic hydrolysis time on the purity of polysaccharide ($n=2$)

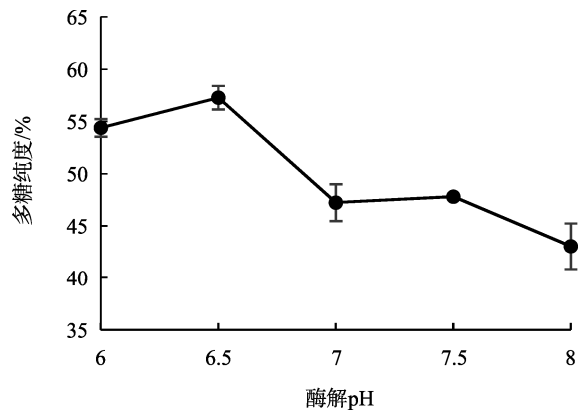
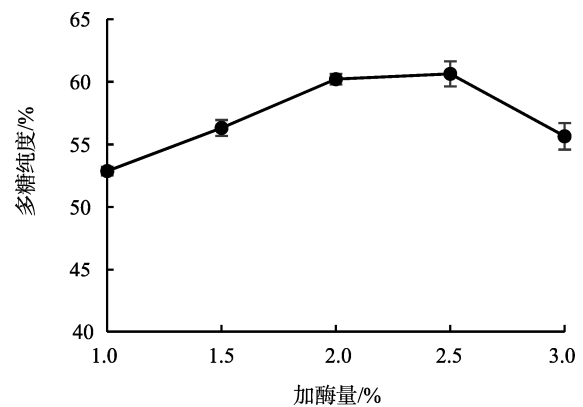
3.1.3 pH 对多糖纯度的影响

在加酶量 2%，酶解温度 50 °C，酶解时间 4 h 的条件下，考察不同酶解 pH(6.0、6.5、7.0、7.5、8.0)对酶解产物多糖纯度影响，结果如图 3 所示。随着酶解液 pH 的逐渐升高，酶解产物多糖纯度先提高后下降，在 pH 6.5 时产物多糖纯度最高，之后随 pH 升高呈下降趋势。因此选择酶解 pH 最佳范围为 6、6.5 和 7。

3.1.4 加酶量对多糖纯度的影响

在酶解 pH 7.0，酶解温度 50 °C，酶解时间 4 h 的条件下，考察加酶量(以固形物计 1%、1.5%、2%、2.5%、3%)对多糖纯度影响，结果如图 4 所示。随着加酶量的逐渐增

加，酶解产物多糖纯度先逐渐升高，在加酶量为 2.5%达到最高值，加酶量高于 2.5%后，酶解产物中多糖纯度开始下降。考虑到酶促反应动力学中酶浓度过高也会抑制自身酶解能力，因此选择最佳加酶量范围是 1.5%、2%和 2.5%(以固形物计)。

图3 酶解 pH 对产物多糖纯度的影响($n=2$)Fig.3 Effect of enzymatic hydrolysis pH on the purity of polysaccharide ($n=2$)图4 加酶量对产物多糖纯度的影响($n=2$)Fig.4 Effect of enzyme dosage on the purity of polysaccharide ($n=2$)

3.1.5 酶解温度对多糖纯度的影响

在加酶量 2%，酶解 pH 7.0，酶解时间 4 h 的条件下，考察不同酶解温度(45、50、55、60、65 °C)对酶解产物多糖纯度的影响。结果如图 5 所示。所得样品中多糖的含量随着酶解温度的提高呈逐渐升高的趋势，当酶解温度为 65 °C 时多糖纯度最高。因此选择酶解温度最佳范围为 55、60、65 °C。

3.1.6 正交试验对多糖提取条件的优化

如表 3 所示，各因素对扇贝加工废液提取所得的多糖纯度影响大小次序为酶解 pH > 酶解时间 > 加酶量 > 酶解温度。在给定的条件改变范围内，最佳条件为 $A_3B_1C_3D_2$ ，即酶解时间为 4 h，酶解 pH 6，加酶量 2.5%(以固形物计)，

酶解温度 60 °C, 在此条件下, 进行验证, 酶解得到产物多糖纯度最高, 为 62.23%。

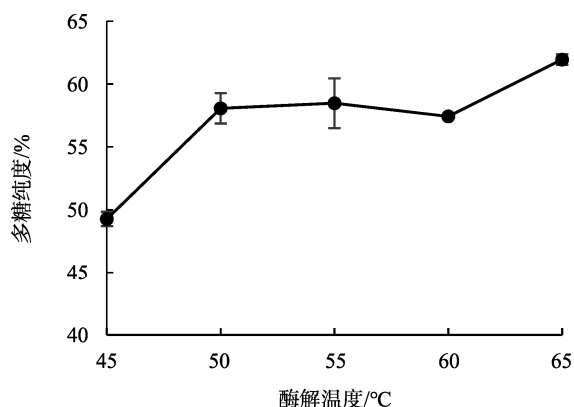


图 5 酶解温度对产物多糖纯度的影响(n=2)
Fig.5 Effect of enzymatic hydrolysis temperature on the purity of polysaccharide(n=2)

3.2 扇贝加工废液多糖的纯化

扇贝加工废液经等电点除蛋白后, 根据正交优化试验所得结果, 选取最优条件: 酶解时间为 4h, 酶解 pH 6, 加酶量 2.5%(以固体物计), 酶解温度 60 °C, 对废液进行酶解, 过 3 W 超滤膜, 收集截留液, 醇沉后得到纯化多糖样品, 纯度为 84.75%, 采用此样品为后续活性实验原料。

3.3 扇贝加工废液多糖抗氧化活性测定结果

3.3.1 羟基自由基(-OH)清除能力测定结果

如图 6 所示, 扇贝废弃液多糖对-OH 清除的能力随着其浓度的提高而逐渐增强, 当浓度达到 4 mg/mL 时, 其清除率可达到阳性对照 VC 的清除率的 50%。说明扇贝柱蒸煮液多糖在一定浓度下便对-OH 有着较强的清除能力, 说明其在一定浓度下具有较好的抗氧化性。在多糖浓度为 8 mg/mL 时, 废弃液多糖对-OH 的清除能力达到 87.53%。在多糖浓度超过 8 mg/mL 后, 对-OH 清除能力有下降趋势, 可能与样品在较高浓度时的溶解性及样品中的杂质成分有关^[18]。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiments

| 试验号 | A 酶解时间/h | B 酶解 pH | C 加酶量/% | D 酶解温度/°C | Y 多糖纯度/% |
|-------|----------|---------|---------|-----------|----------|
| 1 | 2 | 6 | 1.5 | 55 | 50.79 |
| 2 | 2 | 6.5 | 2 | 60 | 39.96 |
| 3 | 2 | 7 | 2.5 | 65 | 44.50 |
| 4 | 3 | 7 | 2 | 55 | 31.95 |
| 5 | 3 | 6 | 2.5 | 60 | 61.90 |
| 6 | 3 | 6.5 | 1.5 | 65 | 35.58 |
| 7 | 4 | 6.5 | 2.5 | 55 | 50.86 |
| 8 | 4 | 7 | 1.5 | 60 | 48.46 |
| 9 | 4 | 6 | 2 | 65 | 58.74 |
| K_1 | 135.25 | 171.43 | 134.83 | 133.60 | |
| K_2 | 129.43 | 126.40 | 130.65 | 150.32 | |
| K_3 | 158.06 | 124.91 | 157.26 | 138.82 | |
| R | 9.54 | 15.51 | 8.81 | 5.57 | |

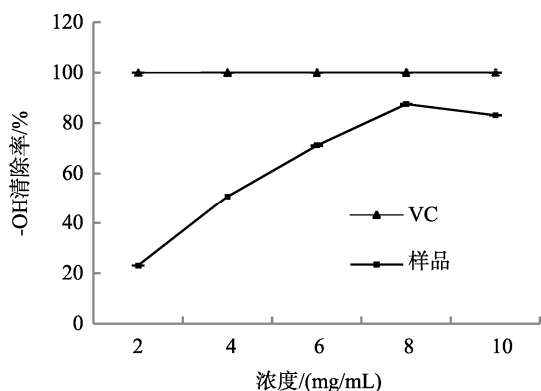


图 6 多糖清除-OH 能力的测定(n=2)
Fig.6 Determination of hydroxyl radical scavenging ability of polysaccharide (n=2)

3.3.2 DPPH 自由基清除能力测定结果

由图 7 所示, 在多糖溶液浓度在 2~12 mg/mL 时, 随着多糖溶液浓度的升高, 其对 DPPH 的清除能力以近乎正比的方式逐渐增强, 在多糖浓度为 8 mg/mL 时, 对 DPPH 自由基的清除能力达到 53.36%。在溶液为最高浓度 12 mg/mL 时, 清除率可达到 80%, 且多糖对 DPPH 的清除呈剂量的依赖性, 说明扇贝柱酶解液多糖可能是一种很好的抗氧化剂^[19]。

3.3.3 扇贝加工废液多糖作用巨噬细胞产生 NO 量的测定结果

不同浓度下扇贝蒸煮液多糖及 LPS 作用于巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 量如图 8。在多糖浓度为 800 μg/mL 时, 巨噬细胞产生的 NO 量达到了 13.05 μmol/L, 与添加 LPS

的阳性对照组效果接近。随着多糖溶液浓度的下降, NO 产生量逐渐降低。扇贝加工废液多糖在较低的浓度下(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)便具有促进巨噬细胞产生 NO 的能力, 说明其在体外具有一定的提高免疫能力的作用。

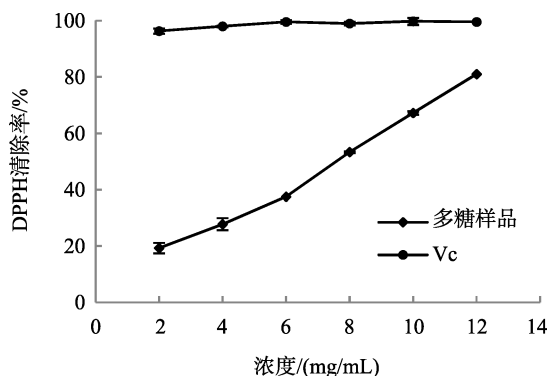


图7 多糖对DPPH清除能力的测定($n=2$)

Fig.7 Determination of DPPH scavenging ability of polysaccharide($n=2$)

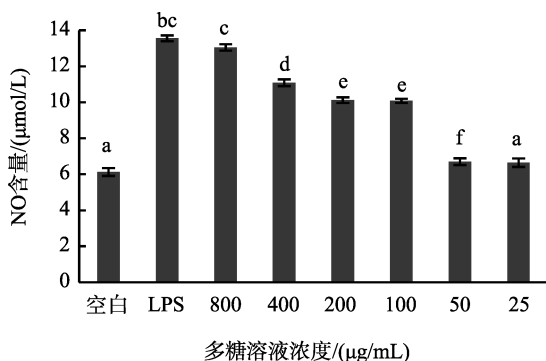


图8 多糖作用下巨噬细胞NO生成量

Fig.8 The NO production of RAW264.7 under the influence of polysaccharide

注: 不同字母代表有显著性差异($P<0.05$), 相同字母代表没有显著性差异($P>0.05$)

4 结论与讨论

扇贝柱经高温水煮后, 大量水溶性多糖及蛋白进入加工废液, 通过调节等电点去掉一部分蛋白质, 成本较低, 操作较为简单。通过单酶筛选, 选出产出多糖纯度最高的木瓜蛋白酶为最适反应酶, 将大分子蛋白水解为肽段, 将酶解液与3倍体积95%乙醇混合, 可以令疏水性较强的肽段、单糖和寡糖等物质溶于上层乙醇, 多糖沉于下层, 通过离心分离获得多糖纯度更高的提取物。酶解的最佳工艺: 酶解时间4h, 酶解pH6, 酶解温度60 $^{\circ}\text{C}$, 加酶量为2.5%。此条件下多糖纯度为62.23%。采用膜分离技术, 进一步纯化, 得到纯度为84.75%的扇贝废弃液多糖。

将纯化后的多糖进行体外抗氧化测试, 在-OH清除与

DPPH清除试验中, 多糖溶液的清除能力在一定浓度范围内随着浓度的升高而增强, 呈现出较好的量效关系, 扇贝柱蒸煮液多糖在作用浓度高于8 mg/mL 时, 对两者均能达到超过50%的清除能力, 说明其在一定浓度下具有体外抗氧化活性。利用扇贝蒸煮液多糖溶液作用于巨噬细胞RAW264.7, 在较高浓度(800 $\mu\text{g}/\text{mL}$)下, 巨噬细胞产生NO量与LPS无显著差异, 说明其具有一定的促进巨噬细胞NO释放的能力。以此为基础, 可以帮助企业高效利用扇贝加工废弃液, 开发高值产物, 提高经济效益, 避免资源浪费。

参考文献

- [1] 孙瑜, 慕永通. 中国扇贝产量、产值在世界所处的地位[J]. 中国渔业经济, 2014, 32(4): 100-106.
- [2] 孙瑜, 慕永通. 中国扇贝产量、产值在世界所处的地位[J]. 中国渔业经济, 2014, 32(4): 100-106.
- [3] 邹艳君, 雷荣剑. 紫贻贝粗多糖的提取及其体外抗氧化的研究[J]. 药学, 2014, (7): 41-43.
- [4] Zou YJ, Lei RJ. Study on extraction of polysaccharides from *Mytilusedulis* and their antioxidant activity *in vitro* [J]. Strait PharmJ, 2014, (7): 41-43.
- [5] Wag YM, Wu FJ, Du L, et al. Effects of polysaccharides from abalone (*Haliotis discus hannai*) on HepG₂ cell proliferation [J]. Int J Bio Micromol, 2014, (66): 354-361.
- [6] 卢卫红, 陈忻, 朱峰. 两种海洋贝类多糖的提取及其生物活性评价[J]. 南方农业学报, 2014, 45(10): 1846-1850.
- [7] Lu WH, Chen X, Zhu F. Extraction and biological evaluation of polysaccharides in two marine shellfishes [J]. J Southern Agric, 2014, 45(10): 1846-1850.
- [8] 王莅莎, 朱蓓薇, 孙黎明, 等. 鲍鱼内脏多糖的体外抗肿瘤和免疫调节活性研究[J]. 大连工业大学学报, 2008, 27(4): 289-293.
- [9] Wang LS, Zhu BW, Sun LM, et al. Antitumor and immunomodulating activity *in vitro* of the polysaccharide from *Haliotis Discus Hannai* [J]. J Dalian Polytechnic Univ, 2008, 27(4): 289-293.
- [10] 蒋长兴. 青蛤多糖分离鉴定、硫酸酯化及其生物活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [11] Jiang CX. Isolation, structural elucidation, sulfated modification and biological activities of polysaccharides from *Cyclina sinensis* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [12] 杨新生, 刘明, 谭斌, 等. 枸杞多糖水提工艺优化及体外抗氧化活性研究[C]. 中国食品科学技术学会中美食品业高层论坛, 2015.
- [13] Yang XS, Liu M, Tan B, et al. Optimization of water extraction process of *Lycium barbarum* polysaccharide and its antioxidant activity *in vitro* [C]. China Food Science and Technology Society Sino-US Food Industry High-Level Forum, 2015.
- [14] 张海容, 白娟, 魏增云, 等. 超声萃取-响应面法优化淡竹叶多糖提取方法研究[J]. 化学研究与应用, 2013, 25(3): 303-310.
- [15] Zhang HR, Bai J, Wei ZY, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Lophantherum gracile brongn* by response surface methodology [J]. Chem Res Appl, 2013, 25(3): 303-310.
- [16] 徐遂, 叶立斌, 于平, 等. 东海海参多糖酶解提取工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 61-66.
- [17] Xu L, Ye LB, Yu P, et al. Optimization of enzymatic polysaccharide

- extraction from *Acaudinamolpadioides Semper* by response surface methodology [J]. Food Sci, 2010, 31(20): 61–66.
- [10] 王元秀, 张桂香, 李峰, 等. 酵母多糖的提取及其对雏鸡免疫器官发育的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 256–259.
Wang YX, Zhang GX, Li F, *et al.* Optimization of extraction conditions of beer yeast polysaccharides and its effects on the development of chick immune organs [J]. Food Sci, 2011, 32(2): 256–259.
- [11] 佟海菊, 张志胜, 王鸥, 等. 海湾扇贝多糖水提工艺研究[J]. 河北农业大学学报, 2011, 34(3): 85–87.
Tong HJ, Zhang ZS, Wang O, *et al.* Study on the water extraction process of polysaccharides from *Argopecten irradians* [J]. J Agric Univ Hebei, 2011, 34(3): 85–87.
- [12] 梁姗姗, 刘俊荣, 马永生, 等. 虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 外套膜蛋白的分离提取及功能特性[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 12–16.
Liang SS, Liu JR, Ma YS, *et al.* Isolation and functional properties of proteins from *Patinopecten yessoensis* mantle [J]. Food Sci, 2014, 35(7): 12–16.
- [13] 刘宁彰, 黄广民, 吴蕊. 分光光度法测定竹芋粉中总还原糖含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(3): 806–812.
Liu NZ, Huang GM, Wu R. Determination of total content of reducing saccharide in dry powder of *Maranta arundinacea* L. by spectrophotometer [J]. J Food Saf Qual, 2013, 4(3): 806–812.
- [14] 高岳. 不同产地刺参多糖的分离纯化及其组分含量的研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2015.
Gao Y. Purification of polysaccharides and analysis of their contents and compositions in sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*) from four origins [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2015.
- [15] 程仕伟, 于晓明, 张玉香. 紫贻贝多糖提取及其体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2010, (9): 132–134.
Cheng SW, Yu XM, Zhang YX. Study on extraction of polysaccharides from *Mytilus edulis* and their antioxidant activity *in vitro* [J]. Sci Technol Food Ind, 2010, (9): 132–134.
- [16] Liu JK, Hu L, Dong ZJ, *et al.* DPPH radical scavenging activity of ten natural p-terphenyl derivatives obtained from three edible mushrooms indigenous to China [J]. Chem Biodiver, 2004, (1): 601–605.
- [17] 云少君, 李晨光, 冯翠萍, 等. 巴氏蘑菇多糖对巨噬细胞 RAW264.7 免疫活性的影响[J]. 中国食品学报, 2015, 15(8): 32–36.
Yun SJ, Li CG, Feng CP, *et al.* The influence of different concentrations of *Agaricus blazei Murill* polysaccharides on the immune activity of macrophage RAW264.7 [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2015, 15(8): 32–36.
- [18] 梁冠豪, 范秀萍, 江敏婷. 菲律宾蛤仔提取物提取条件优化及其体外清除自由基的作用[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(10): 5937–5939.
Liang GH, Fan XP, Jiang MT. Research on the role of the extract of the *Ruditapes philippinarum* in the free radical-scavenging [J]. J Anhui Agric Sci, 2011, 39(10): 5937–5939.
- [19] 陈骏洪. 蜜蜂多糖提取纯化及其活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.
Chen JH. The extraction, purification and biological activity of Lamarck polysaccharides [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2009.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



马晓婧, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋多糖提取与生物活性研究。
E-mail: 1508730621@qq.com



王海波, 博士, 主要研究方向为海洋生物活性物质。
E-mail: wanghaibo@dlou.edu.cn