

响应面法优化酶辅助提取羊栖菜多酚工艺及其抗氧化性研究

刘楠¹, 曾帅¹, 孙永¹, 牟伟丽², 周德庆^{1*}

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071; 2. 山东汇洋集团, 蓬莱 265600)

摘要: **目的** 采用响应面法优化酶辅助提取羊栖菜多酚, 以提高多酚的提取量。**方法** 选取酶解温度、酶解 pH、酶解时间和复合酶比例(中性蛋白酶量:纤维素酶量)作为影响因子, 在单因素实验的基础上应用 Box-Behnken 中心组合试验设计原理进行 4 因素 3 水平的响应面分析, 以羊栖菜多酚的提取量为响应值, 优化酶辅助提取羊栖菜多酚的工艺参数, 并对提取的羊栖菜多酚进行抗氧化测定。**结果** 最佳酶解条件为: 温度 46 °C, pH 5.5, 时间 46 min, 复合酶比例为 15:1(其中纤维素酶添加量为 6 mg/g), 在此条件下, 羊栖菜多酚的提取量为 9.31 mg/g, 与预测值 9.3189 mg/g 基本一致, 表明该模型与实际情况拟合较好。羊栖菜多酚的总还原力与维生素 C 相当, 且可以清除 80%以上的 DPPH。**结论** 通过响应面法优化提高了羊栖菜多酚的提取率, 提取的羊栖菜多酚具有较强的抗氧化能力。

关键词: 羊栖菜; 多酚; 酶辅助提取; 响应面法; 抗氧化性

Optimization of enzyme assisted extraction of polyphenols from *Sargassum fusiforme* by response surface methodology and its antioxidant capacity

LIU Nan¹, ZENG Shuai¹, SUN Yong¹, MU Wei-Li², ZHOU De-Qing^{1*}

(1. Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China;
2. Shandong Huiyang Group, Penglai 265600, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the enzyme assisted extraction of polyphenols from *Sargassum fusiforme* by response surface methodology (RSM), so as to improve the extraction amount of polyphenols. **Methods** The enzymolysis temperature, pH, time and composite enzyme ratio (neutral protein enzyme amount: cellulose enzyme amount) were selected as influencing factors, the Box-Behnken design center combination method of 4 factors with 3 levels experimental design was applied to optimize enzyme assisted extraction conditions of *Sargassum fusiforme* polyphenols based on the results of single factor experiments using the extraction yield as response value, and then the antioxidant activities of polyphenols were evaluated. **Results** The optimum conditions of enzyme assisted extraction method were as follows: enzymolysis temperature was 46 °C, enzymolysis pH was 5.5, enzymolysis time

基金项目: 中国水产科学研究院黄海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(20603022015001)、青岛市市南区科技发展资金项目(2014-14-008-SW)、烟台市高端人才引进“双百计划”(XY-04-18-01)

Fund: Supported by Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS(No. 20603022015001), Qingdao City South District Science and Technology Development Fund Projects (2014-14-008-SW) and Yantai High-End Talent Introduction Plan "Double Hundred" (XY-04-18-01)

*通讯作者: 周德庆, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为水产加工与产物资源利用。E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn

*Corresponding author: ZHOU De-Qing, Researcher, Doctoral Supervisor, Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, No. 106, Nanjing Road, Qingdao 266071, China. E-mail: zhouqd@ysfri.ac.cn

was 46 min, and composite enzyme ratio was 15:1 (cellulose enzyme amount was 6 mg/g). Under these conditions, the extraction amount of polyphenols from *Sargassum fusiforme* was up to 9.31 mg/g, which was highly consistent with the predictive value of 9.3189 mg/g, so the model fitted well with actual situation. The reducing power of the polyphenols of *Sargassum fusiforme* was almost same as vitamin C, and more than 80% of the DPPH radical could be scavenged. **Conclusion** The extraction yield of polyphenols from *Sargassum fusiforme* has been optimized and improved, and the polyphenols has strong antioxidant capacity.

KEY WORDS: *Sargassum fusiforme*; polyphenols; enzyme assisted extraction; response surface methodology; antioxidant capacity

1 引言

羊栖菜(*Sargassum fusiforme*), 属褐藻门, 俗称玉海草、鹿角尖等。羊栖菜在我国分布广泛, 其中以浙江沿海最多。羊栖菜中含有褐藻酸、多酚类化合物、甘露醇、褐藻多糖硫酸酯、维生素、碘、 β -胡萝卜素和牛磺酸等活性物质, 具有多种功能^[1-4], 在日本被称为“长寿菜”。

由于多酚广泛的生物学功能受到人们的重视^[5-9], 且随着人类对海洋生物资源开发利用的提高, 人们的注意力开始从葡萄多酚、茶多酚等陆地多酚逐渐延伸到海洋中的褐藻多酚^[10-13]。羊栖菜多酚是一类重要的褐藻多酚, 具有显著的抗氧化^[14-17]、抗衰老^[18]和抗肿瘤作用^[19], 作为天然的抗氧化剂广泛应用于医药、化妆品和保健食品等领域。

羊栖菜多酚是泡内的次级代谢产物, 主要的结构为间苯三酚衍生物及部分连苯三酚衍生物。由于提取方法的差异, 提取得到的羊栖菜多酚约占藻体干重的 1%~10%^[20]。目前应用较多的提取方法是酶、超声波、微波等辅助提取法^[21-26], 较单一的有机溶剂提取极大提高了多酚的提取率。其中, 酶辅助提取法由于其反应条件温和、快速、专一性强, 可有效提取多酚且保持多酚的活性, 受到了人们的广泛关注。

羊栖菜中含有 3.0%~23.9%的粗纤维、5.5%~15.4%的粗蛋白, 因此在本研究中选用纤维素酶和中性蛋白酶对羊栖菜多酚进行辅助提取。本研究采用响应面法设计 4 因素 3 水平的试验, 优化酶辅助提取羊栖菜的多酚工艺, 对提取得到的羊栖菜多酚通过总还原力和 DPPH 自由基清除能力评价其抗氧化性, 以期对羊栖菜多酚的提取和应用提供数据参考。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

羊栖菜(*Sargassum fusiforme*), 购于浙江省温州市; Folin-Ciocalteu 试剂(上海蓝季科技发展有限公司); 乙醇、没食子酸、碳酸钠(国药集团化学试剂有限公司, 分析纯); 中性蛋白酶、纤维素酶(宁夏和氏璧生物技术有限公司)。

2.2 仪器与设备

HW-SY21-K 恒温水浴锅(北京长风仪器仪表公司); KQ-300VDE 电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); T6 新悦-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); TYS-200 高速多功能粉碎机(浙江省永康市红太阳机电有限公司); STARTER 3100 PH 计(奥豪斯仪器有限公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 羊栖菜多酚提取条件的优化

将新鲜羊栖菜洗净后, 在自然条件下风干, 然后经粉碎机粉碎再过 40 目筛, 获得的粉末存放于 4 °C 冰箱备用。准确称取 1.000 g 羊栖菜粉于带塞三角瓶中, 在 50 mL 的磷酸缓冲液体系中加入一定量的复合酶(纤维素酶和蛋白酶), 调节复合酶的质量比(1:1、5:1、10:1、15:1、20:1 和 25:1), 在一定的温度下(40、45、50、55 和 60 °C), 调节 pH(5.0、5.5、6.0、6.5、7.0 和 7.5)酶解一定的时间(30、45、60、75 和 90 min)。酶解结束后用浓度为 40%的乙醇溶液以 1:55 g/mL 料液比($m:V$)在 70 °C 下水浴 4.0 h, 浸提 2 次, 合并 2 次浸提液, 旋蒸后定容至 200 mL, 摇匀后测定羊栖菜多酚的含量^[27]。根据单因素试验结果, 采用 Design-Expert 8.0.6 软件中的 Box-Behnken 方法设计试验, 选取酶解温度(A)、酶解 pH (B)、酶解时间(C)和复合酶比例(D)4 个因素, 以羊栖菜多酚的提取量为响应值, 设计 4 因素 3 水平响应面试验, 响应面各分析因素和水平见表 1。

2.3.2 羊栖菜多酚含量的测定

采用福林酚比色法测定羊栖菜多酚的含量^[28], 根据标准曲线方程计算样品中羊栖菜多酚的浓度。按式(1)计算羊栖菜多酚的提取量:

$$X = (c \times V) / (1000 \times M) \quad (1)$$

式中: X 为羊栖菜多酚的提取量(mg/g); c 为提取液中羊栖菜多酚浓度($\mu\text{g/mL}$); V 为提取液定容体积(mL); M 为羊栖菜质量(g)。

2.3.3 总还原能力的测定

将提取得到的羊栖菜多酚和维生素 C 配成系列浓度

为 20、40、60、80 $\mu\text{g/mL}$ 的样品溶液, 取各浓度样品溶液 1 mL 分别加入试管中, 然后依次加入 1 mL 浓度为 0.2 mol/L pH 6.6 的 PBS、1 mL 1% 铁氰化钾, 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 20 min, 迅速冷却后, 加入 1 mL 浓度为 10% 的三氯乙酸, 0.2 mL 0.1% 氯化铁, 轻微震荡混匀 10 min 后在 700 nm 波长处测吸光值。吸光值越大, 表示总还原能力越强。

表 1 羊栖菜多酚提取条件的响应面设计因素水平
Table 1 Variables and levels of response surface design of *Sargassum fusiforme*

因素	水平		
	-1	0	1
A 酶解温度/ $^{\circ}\text{C}$	40	45	50
B 酶解 pH	5.0	5.5	6.0
C 酶解时间/min	30	45	60
D 复合酶比例	10:1	15:1	20:1

2.3.4 DPPH 自由基清除能力的测定

将提取得到的羊栖菜多酚和维生素 C 配成系列浓度为 5、10、20、30、40 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 的样品溶液, 取各浓度样品溶液 2 mL 分别置于试管中, 加入 0.1 mmol/L 无水乙醇配制的 DPPH 溶液 2 mL, 轻微震荡混匀, 在室温下暗处静置 30 min。在 517 nm 波长处测吸光值。空白组为 2 mL 样品液加入 2 mL 无水乙醇, 对照组为 2 mL 蒸馏水加入 2 mL DPPH 溶液, 根据公式(2)计算自由基清除率。

$$\text{自由基清除率}(\%) = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}})/A_{\text{对照}}] \times 100\% \quad (2)$$

2.4 数据分析

应用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析, $P < 0.05$ 则表示差异具有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 酶辅助提取羊栖菜总多酚单因素试验结果与分析

羊栖菜中含有 3.0%~23.9% 的粗纤维、5.5%~15.4% 的粗蛋白, 因此在多酚的提取中采用纤维素酶和中性蛋白酶进行辅助提取, 以提高羊栖菜中多酚的提取量。首先确定提取过程中纤维素酶的加入量, 然后调节复合酶比例。如图 1a 所示, 随着在纤维素酶添加量的增加, 羊栖菜多酚的提取量逐渐升高, 在添加 6 mg 后再增加纤维素酶的加入量多酚的提取量开始下降, 因此确定羊栖菜多酚提取中加入的纤维素酶的添加量为 6 mg, 并在此基础上调节复合酶比例。从图 1b 中可知, 随着复合酶中中性蛋白酶添加量的增加, 羊栖菜多酚提取量同样呈现先增多后减少的趋势。当复合酶比例在 10:1~20:1 时, 即中性蛋白酶添加量为

60~120 mg 时, 多酚的提取量较高, 可作为响应面设计中进一步探讨的条件。

控制复合酶比例为 15:1(中性蛋白酶 90 mg/g, 纤维素酶 6 mg/g)、pH 5.0、反应时间 30 min 的条件下, 考察提取温度 40~60 $^{\circ}\text{C}$ 对羊栖菜多酚提取量的影响。由图 1c 可知, 随着提取温度的升高羊栖菜多酚的提取量增加, 但是当酶解温度超过 45 $^{\circ}\text{C}$ 时羊栖菜多酚量开始下降, 可能随着温度的进一步升高酶活下降和变性的情况。因此在其他条件固定的情况下, 确定最佳提取温度为 45 $^{\circ}\text{C}$ 。

在其他条件不变, 提取温度 45 $^{\circ}\text{C}$ 时考察 pH 5.0~7.5 对羊栖菜多酚酶辅助提取的影响。结果如图 1d 可知, pH 在 5.0~6.0 时, 羊栖菜多酚的提取量较高, 而且此范围也是中性蛋白酶和纤维素酶的适宜温度重合区, 因此在响应面的实验设计中进一步探讨。

固定其他条件不变, 考察酶解时间 30~105 min 对羊栖菜多酚提取量的影响。由图 1e 可知, 随着酶解时间的延长羊栖菜多酚的提取量逐渐增加, 在酶解时间达到 45 min 时, 提取率达到最高, 且随着酶解反应时间的延长多酚的提取量不再升高, 考虑经济方面的因素, 确定最佳的提取时间为 45 min。

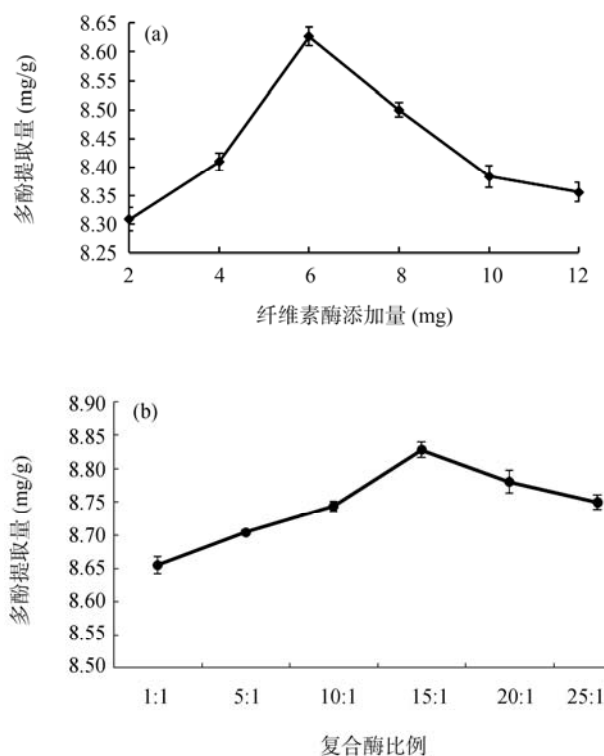
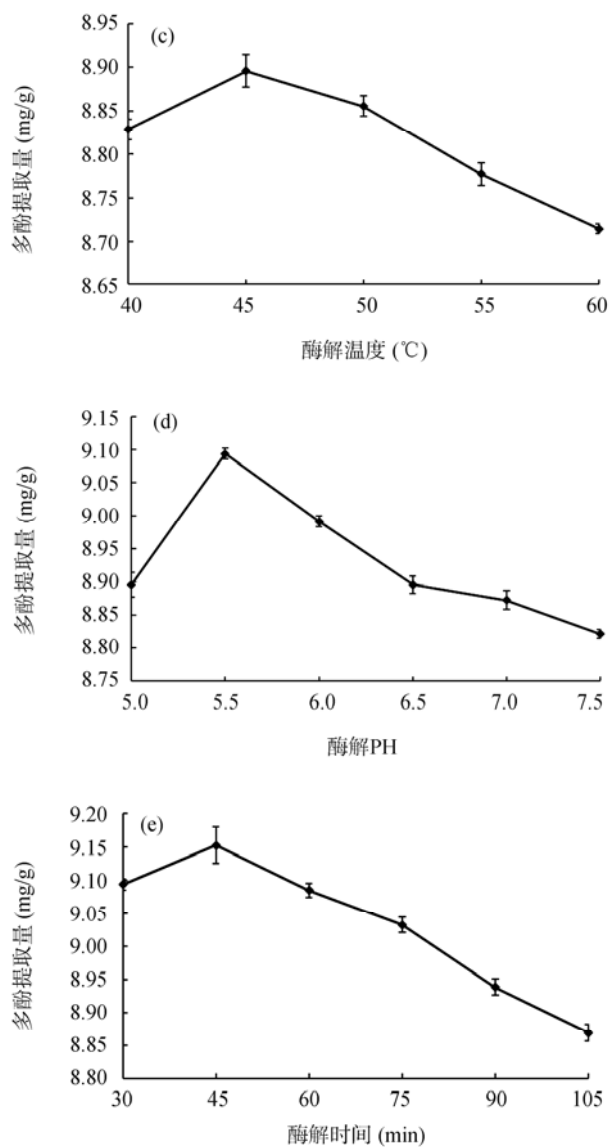


图 1 纤维素酶添加量(a)、复合酶比例(b)、酶解温度(c)、酶解 pH(d)和酶解时间(e)对羊栖菜多酚提取量的影响($n=5$)

Fig. 1 Effects of cellulose enzyme addition amount (a), composite enzyme ratio (b), enzymolysis temperature (c), enzymolysis pH (d) and enzymolysis time (e) on the extraction content of *Sargassum fusiforme* polyphenols ($n=5$)



续图 1 纤维素酶添加量(a)、复合酶比例(b)、酶解温度(c)、酶解 pH(d)和酶解时间(e)对羊栖菜多酚提取量的影响($n=5$)
Fig. 1 Effects of cellulase enzyme addition amount (a), composite enzyme ratio (b), enzymolysis temperature (c), enzymolysis pH (d) and enzymolysis time (e) on the extraction content of *Sargassum fusiforme* polyphenols ($n=5$)

3.2 酶辅助提取羊栖菜多酚响应面试验结果与分析

在单因素试验的基础上,以羊栖菜多酚为响应值,根据 Box-Behnken 响应面原理,设计响应面试验。响应面试验设计及结果见表 2。

运用 Design Expert 8.0.6 软件对表 2 实验结果进行多元回归拟合,得到羊栖菜多酚提取量(Y)对自变量酶解温度(A)、酶解 pH(B)、酶解时间(C)和复合酶比例(D)二次多项回归方程为: $Y=+9.31+0.069A-0.040B+5.833\times10^{-3}C-0.013D+0.052AB+0.017AC+0.098AD-0.16BC+0.078BD-0.050CD-0.25A^2-0.23B^2-0.15C^2-0.30D^2$ 。

表 2 响应面试验设计及结果					
Table 2 Design and results of response surface test					
试验号	$A/^{\circ}\text{C}$	B	C/min	D	$Y/(\text{mg/g})$
1	50	5.5	30	15	8.89
2	45	6.0	60	15	8.80
3	45	5.5	45	15	9.33
4	45	5.5	45	15	9.27
5	40	5.0	45	15	8.94
6	40	5.5	45	20	8.65
7	45	5.5	45	15	9.33
8	45	5.5	60	20	8.74
9	45	6.0	45	20	8.69
10	40	6.0	45	15	8.77
11	45	5.5	60	10	9.12
12	45	5.5	45	15	9.33
13	45	5.0	45	20	8.69
14	45	5.0	45	10	8.92
15	45	6.0	45	10	8.61
16	45	5.5	30	10	8.97
17	45	5.0	60	15	9.14
18	50	5.5	45	10	8.69
19	40	5.5	30	15	8.87
20	50	5.50	45	15	8.88
21	45	6.0	30	15	9.08
22	45	5.5	30	20	8.79
23	45	5.0	30	15	8.78
24	40	5.5	60	15	8.78
25	45	5.5	45	15	9.30
26	50	6.0	60	15	8.87
27	50	6.0	45	15	8.92
28	50	5.5	45	20	9.16
29	40	5.5	45	10	8.57

注: “ A ”表示酶解温度; “ B ”表示酶解 pH; “ C ”表示酶解时间; “ D ”表示复合酶比例; “ Y ”表示羊栖菜多酚提取量

根据响应面分析建立的数学模型,得到酶辅助法提取羊栖菜多酚的最佳工艺条件是:酶解温度 45.62 $^{\circ}\text{C}$,酶解 pH 5.44,酶解时间 46.36 min,复合酶比例 14.88:1,此时

表 3 回归模型方差分析表
Table 3 Variance analysis table of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.26	14	0.090	4.74	0.0031
A-酶解					
B-温度	0.057	1	0.057	3.02	0.1042
B-酶解 pH	0.019	1	0.019	1.01	0.3320
C-酶解时间	4.083×10^{-4}	1	4.083×10^{-4}	0.021	0.8856
D-复合酶比例	2.133×10^{-3}	1	2.133×10^{-3}	0.11	0.7426
AB	0.011	1	0.011	0.58	0.4590
AC	1.225×10^{-3}	1	1.225×10^{-3}	0.064	0.8033
AD	0.038	1	0.038	2.00	0.1792
BC	0.10	1	0.10	5.39	0.0359
BD	0.024	1	0.024	1.26	0.2799
CD	1.000×10^{-2}	1	1.000×10^{-2}	0.53	0.4803
A ²	0.42	1	0.42	22.00	0.0003
B ²	0.33	1	0.33	17.30	0.0010
C ²	0.14	1	0.14	7.57	0.0156
D ²	0.59	1	0.59	31.25	< 0.0001
残差	0.27	14	0.019		
失拟项	0.26	10	0.026	35.57	0.0017
纯误差	2.880×10^{-3}	4	7.200×10^{-4}		
总误差	1.53	28			

提取量为 9.3189 mg/g。经验证试验表明,当酶解温度为 46 ℃,酶解 pH 5.5,酶解时间 46 min,复合酶比例 15:1 时,得到羊栖菜多酚提取量为 9.31 mg/g,与预测值非常接近,表明所建模型拟合较好,可较准确预测多酚的提取量。

由表 3 和图 2 可知,回归模型相关系数 $r^2=0.8257$,表明该模型拟合度较好。该模型的 P 值小于 0.05,表明回归模型显著,在所选取的各因素水平范围内,根据表 3 中 F 值的大小可以判断各因素对酶辅助提取羊栖菜总多酚影响的强弱顺序为:酶解时间>复合酶比例>酶解 pH>酶解温度。

3.3 羊栖菜多酚的抗氧化能力

提取得到的羊栖菜多酚的抗氧化能力由总还原力和清除 DPPH 自由基的能力进行测定。由图 3 可知,羊栖菜多酚的总还原力与质量浓度呈正比例增长关系,随着其质量浓度的增加总还原力逐渐上升,且与提取得到的羊栖菜多酚总还原力与维生素 C 的相当($P>0.05$)。由图 4 可知,羊栖菜多酚清除 DPPH 自由基的能力同样也与质量浓度呈正比关系,随着浓度的升高其清除 DPPH 自由基的能力逐渐增加,且其清除 DPPH 自由基的能力与维生素 C 没有显著差别($P>0.05$)。当羊栖菜多酚浓度达到 50 mg/L 时,其自由基的清除率可达可达到 80%以上,较溶剂提取法有效地提高了其抗氧化能力^[29]。

4 结 论

随着我国对海洋资源开发的深入开展,海洋活性物质尤其是海洋多酚的开发与利用成为研究的热点。通过响应面法对酶辅助提取羊栖菜总多酚的工艺参数进行优化,结果表明回归模型具有显著性,方程对试验拟合较好,可以对羊栖菜总多酚提取量进行很好的分析和预测。影响酶辅助提取羊栖菜多酚的各因素强弱排序为:酶解时间、复合酶比例、酶解 pH 和酶解温度。最佳酶解工艺条件为:复合酶比例 15:1,酶解温度 46 ℃,酶解 pH 5.5,酶解时间 46 min,在此条件下,得到羊栖菜多酚提取量为 9.31 mg/g,与

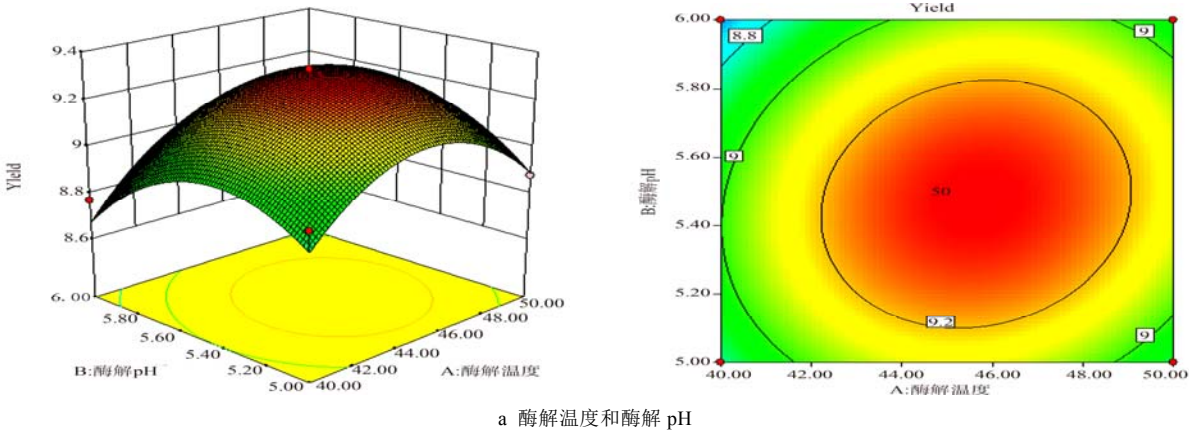
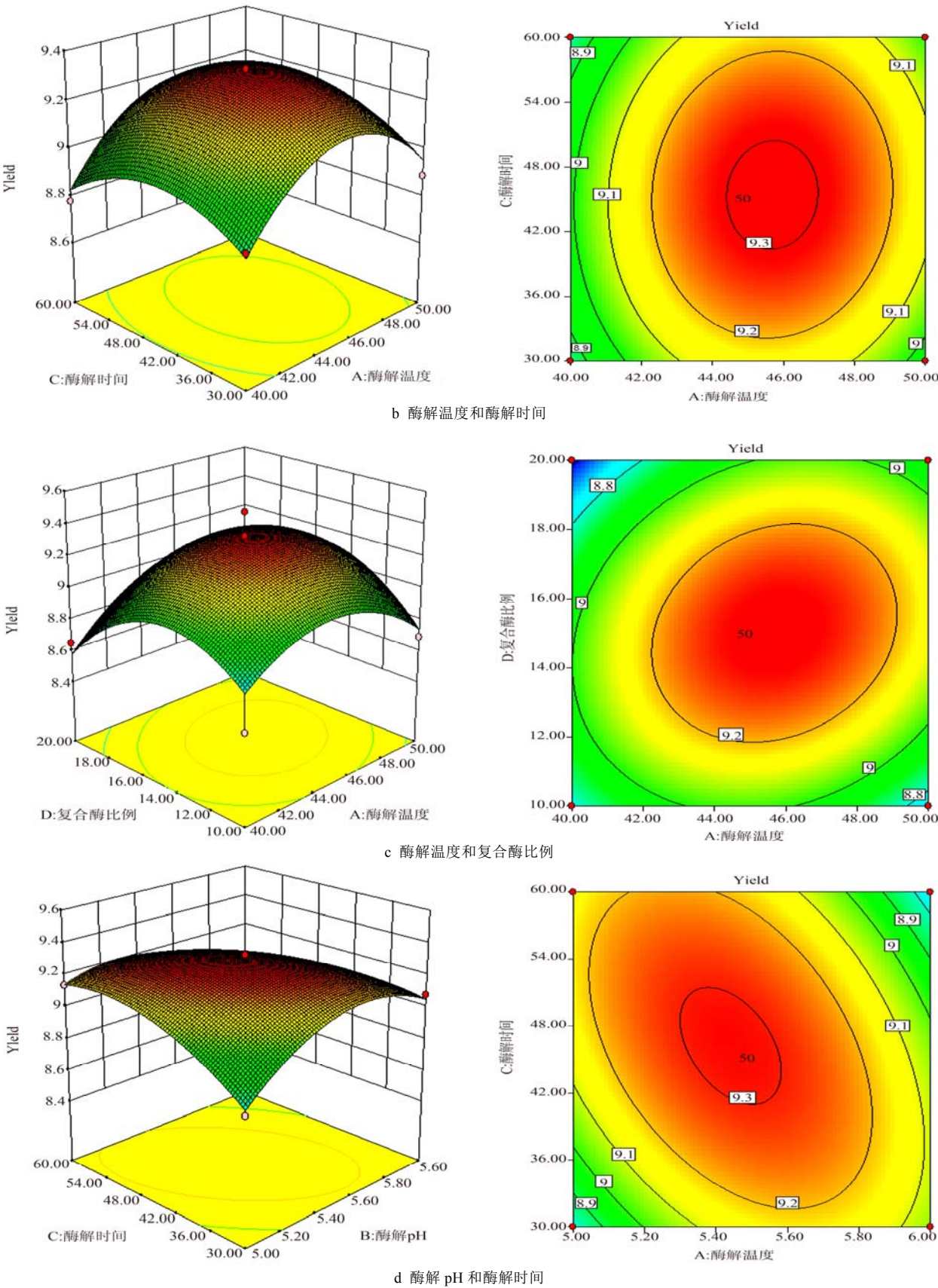


图 2 各因素交互作用对羊栖菜多酚提取量的影响
Fig. 2 Effects of various factors interaction on the extraction yield of *Sargassum fusiforme* polyphenols



续图 2 各因素交互作用对羊栖菜多酚提取量的影响

Fig. 2 Effects of various factors interaction on the extraction yield of *Sargassum fusiforme* polyphenols

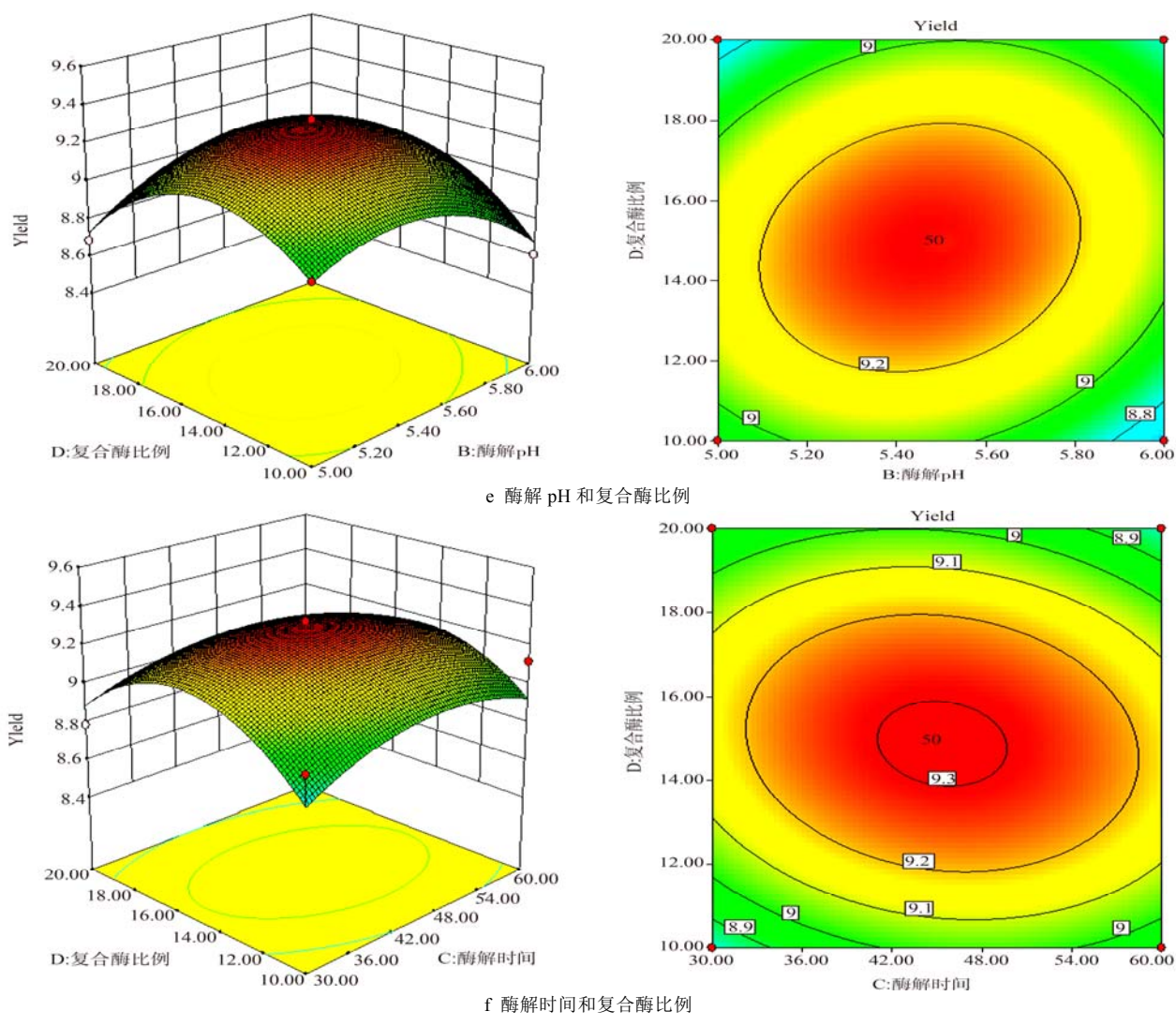


Fig. 2 Effects of various factors interaction on the extraction yield of *Sargassum fusiforme* polyphenols

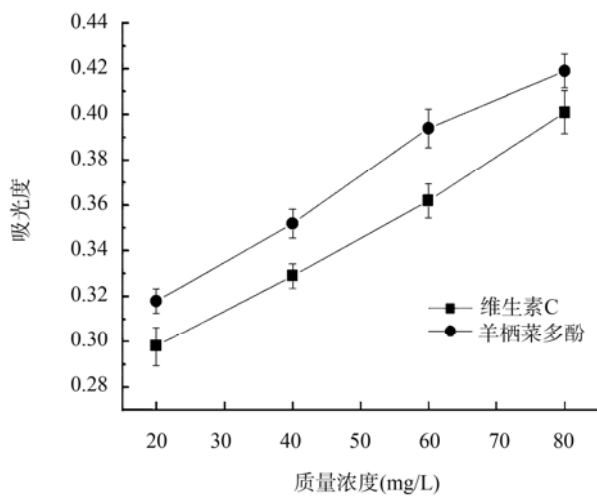


图 3 羊栖菜多酚和维生素 C 的总还原力比较(n=5)
Fig. 3 Comparison of the total reducing power of *Sargassum fusiforme* polyphenols and vitamin C (n=5)

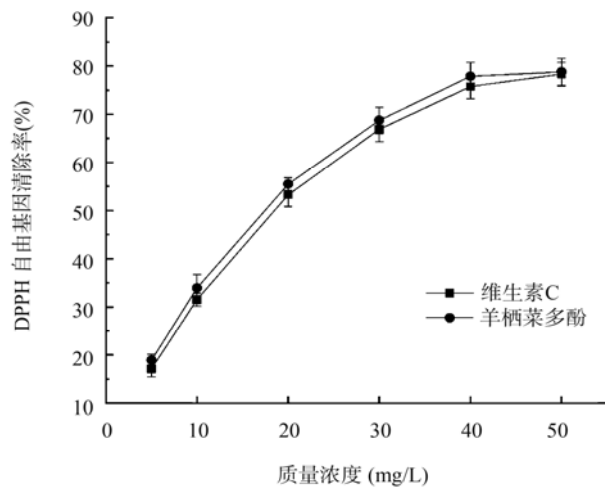


图 4 羊栖菜多酚和维生素 C 清除 DPPH 自由基的能力比较(n=5)
Fig. 4 Comparison of the DPPH radical scavenging capacity of *Sargassum fusiforme* polyphenols and vitamin C (n=5)

预测值 9.3189 mg/g 一致, 且得到的羊栖菜多酚具有较强的抗氧化能力, 其总还原力和 DPPH 自由基的清除能力与维生素 C 相当。酶辅助提取法有效地提高了羊栖菜多酚的提取量和提取产物的抗氧化能力, 具有提取率高、操作简单和有机溶剂残留等优点, 具有广泛的应用前景, 有效地解决了传统工艺的弊端, 具有良好的发展前景。

参考文献

- [1] Hu P, Li Z, Chen M, *et al.* Structural elucidation and protective role of a polysaccharide from *Sargassum fusiforme* on ameliorating learning and memory deficiencies in mice [J]. Carbohydr Polymers, 2016, 139: 150–158.
- [2] Cong Q, Chen H, Liao W, *et al.* Structural characterization and effect on anti-angiogenic activity of a fucoidan from *Sargassum fusiforme* [J]. Carbohydr Polymers, 2016, 136: 899–907.
- [3] Cong Q, Xiao F, Liao W, *et al.* Structure and biological activities of an alginate from *Sargassum fusiforme*, and its sulfated derivative [J]. Int J Biol Macromol, 2014, 69: 252–259.
- [4] 吴越. 羊栖菜生物活性成分研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2014.
- [5] Wu Y. The bioactive compounds from *Hizikia fusiformis* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2014.
- [5] Sun L, Chen W, Meng Y, *et al.* Interactions between polyphenols in thinned young apples and porcine pancreatic α -amylase: Inhibition, detailed kinetics and fluorescence quenching [J]. Food Chem, 2016, 208: 51–60.
- [6] Taleb H, Morris RK, Withycombe CE, *et al.* Date syrup-derived polyphenols attenuate angiogenic responses and exhibits anti-inflammatory activity mediated by vascular endothelial growth factor and cyclooxygenase-2 expression in endothelial cells [J]. Nutr Res, 2016, 36(7): 636–647.
- [7] De AMCA, Dupuy FG, Morero RD, *et al.* Cholesterol induces surface localization of polyphenols in model membranes thus enhancing vesicle stability against lysozyme, but reduces protection of distant double bonds from reactive-oxygen species [J]. Biochim et Biophys Acta (BBA)-Biomemb, 2016, 1858(7, Part A): 1479–1487.
- [8] China R, Mukherjee S, Sen S, *et al.* Antimicrobial activity of *Sesbania grandiflora* flower polyphenol extracts on some pathogenic bacteria and growth stimulatory effect on the probiotic organism *Lactobacillus acidophilus* [J]. Microbiol Res, 2012, 167(8): 500–506.
- [9] Singh JP, Kaur A, Singh N, *et al.* In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols [J]. LWT-Food Sci Technol, 2016, 65: 1025–1030.
- [10] Luo L, Cui Y, Zhang S, *et al.* Preparative separation of grape skin polyphenols by high-speed counter-current chromatography [J]. Food Chem, 2016, 212: 712–721.
- [11] Zhang L, Li S, Dong Y, *et al.* Tea polyphenols incorporated into alginate-based edible coating for quality maintenance of Chinese winter jujube under ambient temperature [J]. LWT-Food Sci Technol, 2016, 70: 155–161.
- [12] Wang J, Li H, Chen Z, *et al.* Characterization and storage properties of a new microencapsulation of tea polyphenols [J]. Ind Crops Prod, 2016, 89: 152–156.
- [13] Chen G, Tan M, Li K, *et al.* Green tea polyphenols decreases uric acid level through xanthine oxidase and renal urate transporters in hyperuricemic mice [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 175: 14–20.
- [14] 顾丽霞, 潘成燕, 赵水莲, 等. 海藻羊栖菜不同分子质量多酚抗抑郁活性研究[J]. 时珍国医国药, 2015, (02): 272–274.
- [14] Gu LX, Pan CY, Zhao SL, *et al.* Study on antidepressant effect of phlorotannins with different molecular weight extracted from *Sargassum fusiforme* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2015, (02): 272–274.
- [15] 许亚如. 褐藻多酚的抗氧化活性研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2014.
- [15] Xu YR. Studies on antioxidant activities of phlorotannins [D]. Ningbo: Ningbo University, 2014.
- [16] 杨小青, 卢虹玉, 李延平, 等. 羊栖菜不同分子质量褐藻多酚抗氧化活性研究[J]. 海洋科学, 2013, (04): 47–51.
- [16] Yang XQ, Liu HY, Li YP, *et al.* Antioxidative activities of phlorotannins with different molecular weight extracted from *Sargassum fusiforme* [J]. Marine Sci, 2013, (04): 47–51.
- [17] 张丽斌, 熊何健, 吴靖娜, 等. 羊栖菜中多酚的提取制备及体外抗氧化活性研究[J]. 中国农学通报, 2015, (32): 40–47.
- [17] Zhang LB, Xiong HJ, Wu JN, *et al.* Extraction process of polyphenols from *Sargassum fusiforme* and its antioxidant activity in vitro [J]. Chin Agric Sci Bull, 2015, (04): 40–47.
- [18] 旷明丽, 张骏. 羊栖菜褐藻多酚对 D-半乳糖致小鼠老年痴呆模型的干预作用[J]. 广东医学, 2014, (13): 1984–1986.
- [18] Kuang ML, Zhang J. Effect of *Sargassum fusiforme* phlorotannin on the senile dementia mouse model induced by D-galactose [J]. Guangdong Med J, 2014, (13): 1984–1986.
- [19] 王长秀, 刘义, 林满华. 羊栖菜褐藻多酚对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠抗肿瘤作用的实验研究[J]. 广东医学院学报, 2014, (05): 614–616.
- [19] Wang CX, Liu Y, Lin MH. Antitumor effect of phlorotannins from *Sargassum fusiforme* in S₁₈₀ sarcoma-bearing mice [J]. J Guangdong Med Coll, 2014, (05): 614–616.
- [20] 周贞兵. 马尾藻多糖与多酚的提取及其活性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2002.
- [20] Zhou ZB. Studies on the extraction of polysaccharides and polyphenols from *Sargassum* and its bioactivity test [D]. Nanning: Guangxi University, 2002.
- [21] Périno S, Pierson J T, Ruiz K, *et al.* Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce [J]. Food Chem, 2016, 204: 108–114.
- [22] Pradal D, Vauchel P, Decossin S, *et al.* Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization [J]. Ultrason Sonochem, 2016, 32: 137–146.
- [23] Zielinska M, Michalska A. Microwave-assisted drying of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture [J]. Food Chem, 2016, 212: 671–680.
- [24] Wijesinghe WAJP, Jeon Y. Enzyme-assisted extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review [J]. Fitoterapia, 2012, 83(1): 6–12.
- [25] Katsampa P, Valsamedou E, Grigorakis S, *et al.* A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box–Behnken experimental design and kinetics [J]. Ind Crops Prod, 2015, 77: 535–543.

- [26] 方丽, 赖蓓蕾, 金寒冰, 等. 二次正交旋转法优化超声辅助提取羊栖菜多酚及其抗氧化[J]. 食品工业, 2014, (10): 168–173.
Fang L, Lai BL, Jin HB, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Sargassum fusiforme* polyphenols using quadratic regression orthogonal rotation design and its antioxidant activity [J]. Food Ind, 2014, (10): 168–173.
- [27] 苏晓雨. 红松种壳组成及多酚提取分离与抗氧化抗肿瘤功能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2010
Su XY. Research on the composition and polyphenols isolation of *Pinus* [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2010
- [28] 张军, 李江遐, 陆翠珍, 等. Folin-ciocalteu 比色法测桑叶中多酚含量[J]. 激光生物学报, 2012, (02): 131–135.
Zhang J, Li JX, Lu CZ, *et al.* Determination of the total content of polyphenols in the leaf of mulberry by Folin-ciocalteu colorimetry [J]. J Laser Biol, 2012, (02): 131–135.
- [29] López A, Rico M, Rivero A, *et al.* The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *stypocaulon scoparium* algae extracts

[J]. Food Chem, 2011, 125(3): 1104–1109.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



刘楠, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为海洋功能食品与生物制品。
E-mail: liunan@ysfri.ac.cn



周德庆, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为水产品加工与质量安全。
E-mail: zhouqd@ysfri.ac.cn