

裙带菜孢子叶多糖的超声辅助提取工艺优化及其抗氧化活性研究

Study on polysaccharide ultrasonic-assisted extraction process and antioxidant activity in Sporophyll of *Undaria pinnatifida*

董秀芳^{1,2} 李楠^{1,2} 韩冬¹ 冯丁丁^{1,2}

DONG Xiu-fang^{1,2} LI Nan^{1,2} HAN Dong¹ FENG Ding-ding^{1,2}

傅卉^{1,2} 焦阳¹ 熊欣¹ 启航^{1,2}

FU Hui^{1,2} JIAO Yang¹ XIONG Xin¹ QI Hang^{1,2}

(1. 大连工业大学食品学院, 辽宁 大连 116034; 2. 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034)

(1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian, Liaoning 116034, China;

2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian, Liaoning 116034, China)

摘要:为优化超声波辅助提取裙带菜孢子叶多糖工艺,探究其抗氧化活性。通过单因素试验考察各因素对多糖得率的影响,采用 Box-Behnken 设计方法建立多糖提取的教学模型;同时利用电子自旋共振技术探究裙带菜孢子叶多糖的抗氧化活性。结果表明:超声波辅助提取裙带菜孢子叶多糖的最优条件为液料比 90 : 1 (V : m), 超声时间 6.5 min, 超声功率 440 W, 提取时间 2 h, 该条件下测得多糖得率为 7.71%。孢子叶粗多糖对 DPPH· 和 ·OH 具有较好的清除能力, 其 IC₅₀ 分别为 0.24, 0.28 mg/mL。

关键词:裙带菜; 孢子叶; 多糖; 超声波; 抗氧化活性; 电子自旋共振技术

Abstract: Polysaccharide yield was as index, and optimal ultrasonic-assisted extraction process of polysaccharides from sporophyll of *Undaria pinnatifida* was investigated by Box-Behnken design based on single factor tests. Meanwhile, the antioxidant activity of the polysaccharide was also studied by electron spin resonance (ESR) technology. It turned out that the optimal extraction conditions were as follow: ratio of water to material was 90 : 1 (V : m), ultrasonic time was 6.5 min and ultrasonic power was 440 W, extraction time was 2 h, respectively. Polysaccharide yield achieved 7.71% under

基金项目: 国家高技术研究发展计划(编号:2014AA093602); 辽宁省农业领域青年科技创新人才培养计划(编号:2014001); 国家海洋食品工程技术研究中心立项建设项目(编号:2012FU125X03)

作者简介: 董秀芳(1990—), 女, 大连工业大学在读硕士研究生。

E-mail: dxf900321@126.com

通讯作者: 启航

收稿日期: 2015-03-27

that condition. And the polysaccharide from sporophyll of *Undaria pinnatifida* gave potent scavenging activity against DPPH· and ·OH, the IC₅₀ were 0.24 mg/mL and 0.28 mg/mL, respectively.

Keywords: *Undaria pinnatifida*; sporophyll; polysaccharide; ultrasonic; antioxidant activity; electron spin resonance (ESR) technology

裙带菜(*Undaria pinnatifida*) 归属褐藻门, 褐藻纲, 海带目, 翅藻科, 是一年生大型温带性的海洋藻类, 主要分布在中国、日本和韩国的沿海地带^[1], 是中国重要的经济型藻类之一, 也是中国重要的出口水产品之一。2013 年中国裙带菜的产量达 17.0 万 t(干重)^[2], 主要分布在辽宁、山东两省。孢子叶作为裙带菜根部, 因其纤维含量较高, 相对较硬, 在加工中往往以废料的形式丢弃^[3], 造成了一定的资源浪费和环境污染。孢子叶富含蛋白质、多糖、维生素等营养成分^[4], 其多糖又具有降血糖、降血脂、降血压、抗凝血、抗病毒、抗肿瘤等生理功效^[5]。因此采用合适的提取方法提取裙带菜孢子叶中的多糖具有非常重要的意义。

目前, 天然多糖的提取方法主要有热水浸提法、酶辅助提取法、微波辅助提取法及超声波辅助提取法等^[6]。近几年, 裙带菜孢子叶多糖的提取方法集中在热水浸提法和酶辅助提取法^[7-9]。热水浸提法提取时间长、能耗高; 而酶辅助提取法反应条件比较温和, 但成本较高。而超声波辅助提取法是利用超声波产生的能量使介质的结构发生空间变化, 使有效成分能快速进入溶剂中。同时, 超声波产生的空化效应还可进一步破坏细胞结构, 进而促进细胞内的有效成分直接溶于溶剂并充分混合, 最终实现较高的提取效率^[10, 11]。因

此,本研究拟利用超声波技术来辅助提取裙带菜孢子叶中的多糖,并采用响应面法(response surface method, RSM)设计对提取工艺进行优化,同时利用电子自旋共振技术检测裙带菜孢子叶多糖的抗氧化活性,以期对裙带菜孢子叶的精深加工提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

裙带菜孢子叶:大连水产养殖集团有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):优级纯,美国 Sigma 公司;

二甲基吡咯啉氮氧化物(DMPO):优级纯,阿拉丁试剂(上海)有限公司;

其他试剂:分析纯,市售。

1.2 仪器设备

超声波细胞破碎机:JY92-II DN 型,宁波新芝生物及科技股份有限公司;

电子顺磁共振谱仪:A200 型,德国布鲁克公司;

紫外可见分光光度计:UV-5200 型,北京普析通用仪器有限责任公司。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程

裙带菜孢子叶→干燥(60℃)→粉碎(过60目筛)→加入水浸泡(30 min)→超声波处理→恒温提取→离心(4 000 r/min, 30 min)→醇沉(上清液加入3倍体积的无水乙醇)→静置(4℃静置过夜)→离心(4 000 r/min, 25 min)→粗多糖

1.3.2 多糖含量的测定 参照文献[12]。

1.3.3 孢子叶多糖得率的计算 按式(1)进行。

$$R = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R——孢子叶多糖的提取率,%;

m_1 ——多糖的质量,mg;

m_2 ——孢子叶干粉的质量,mg。

1.3.4 单因素试验 称取裙带菜孢子叶干粉,分别按照不同的提取时间、液料比、超声功率、超声时间进行处理,以多糖得率为评价指标,确定各因素的最佳取值范围。考虑到节省能源、降低成本,并参考文献[13],设计提取在50℃条件下进行。各单因素试验的设计:

(1) 提取时间:固定液料比60:1(V:m),超声功率300 W,超声时间4 min,提取时间分别取1,2,3,4 h。

(2) 液料比:固定超声功率200 W,超声时间4 min,提取时间2 h,液料比分别取60:1,70:1,80:1,90:1,100:1(V:m)。

(3) 超声功率:固定液料比80:1(V:m),超声时间4 min,提取时间2 h,超声功率分别取100,200,300,400,500 W。

(4) 超声时间:固定液料比80:1(V:m),超声功率300 W,提取时间2 h,超声时间分别取2,3,4,6,8 min。

1.3.5 响应面试验 选取影响孢子叶多糖得率显著的因素,以多糖得率为评价指标,采用中心组合试验 Box-Behnken 设计方案,优化超声波辅助提取裙带菜孢子叶多糖的工艺条件。

1.3.6 孢子叶多糖的抗氧化活性研究

(1) 对 DPPH· 的清除作用:200 μmol/L 的 DPPH 200 μL, pH 6.0, 100 mmol/L 的磷酸盐缓冲液 200 μL, 各多糖浓度的样液 100 μL, 迅速混合, 避光保存 30 min 后, 4 600 r/min 离心 10 min^[14]。然后立即将一定量的上清液吸入毛细管, 放入谐振腔, 进行测定。空白组用双蒸水代替样液, 以波谱信号第 3 个峰高值表示信号的相对强度。

(2) 对·OH 的清除作用:按照 Fenton 反应建立·OH 发生体系,包括 10 μL 的 6 mmol/L EDTA-2Na-Fe²⁺, 8 μL 的 6% H₂O₂, 5 μL 的 1 mol/L DMPO, 各多糖浓度的样液 39 μL, 加 150 mmol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲液补至 100 μL, 振荡后 40℃水浴 30 min, 然后立即吸入毛细管, 放入谐振腔, 进行测定。空白组中提取液用双蒸水代替, 以波谱信号第 2 个峰高值表示信号的相对强度^[15,16]。

$$R_1 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

R_1 ——对自由基的清除率,%;

A_0 ——空白组峰高;

A_1 ——加样后峰高。

1.3.7 数据分析 采用 Excel 2007 版软件进行单因素试验分析, Design-Expert 8.05 软件进行响应面设计, SPSS 16.0 软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 提取时间对多糖得率的影响 由图 1 可知,随着提取时间的延长,多糖得率呈现增加趋势,但提取 2 h 后,增加趋于平缓。考虑到提高效率等原则,确定提取时间 2 h 为宜。

2.1.2 液料比对多糖得率的影响 由图 2 可知,随着液料比的增大,多糖得率呈现先增加后减少的趋势,这与李建等^[13]的研究结果相似。当液料比为 90:1(V:m)时,多糖得

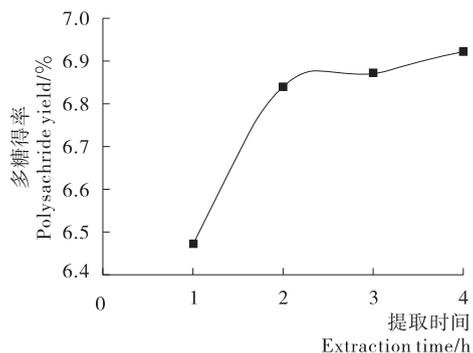


图 1 提取时间对多糖得率的影响

Figure 1 Effect of extraction time on polysaccharide yield

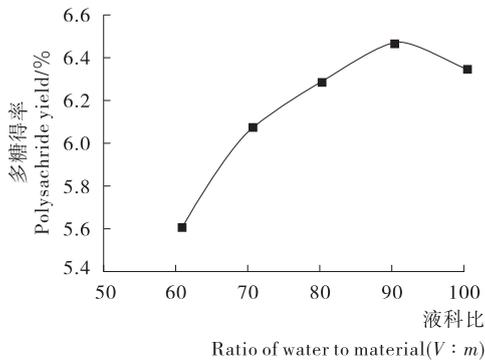


图 2 液料比对多糖得率的影响

Figure 2 Effect of ratio of water to material on polysaccharide yield

率达到峰值。因此,选择 90 : 1 (V : m) 为宜。

2.1.3 超声功率对多糖得率的影响 由图 3 可知,随着超声功率的增大,多糖得率呈现先增加再较少的趋势。当超声功率为 400 W 时,多糖得率达到峰值。因此,超声功率选择 400 W 为宜。

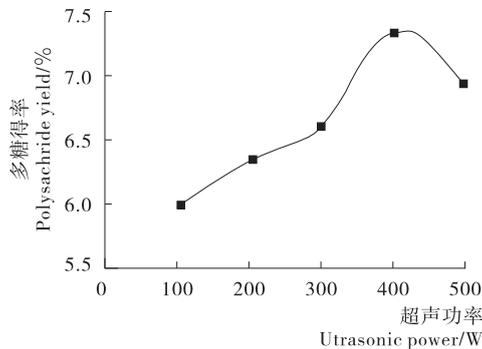


图 3 超声功率对多糖得率的影响

Figure 3 Effect of ultrasonic power on polysaccharide yield

2.1.4 超声时间对多糖得率的影响 由图 4 可知,随着超声时间的延长,多糖得率呈现先增加再减少的趋势。当超声时间为 6 min 时,多糖得率达到峰值。当超声时间超过一定范围时,可能导致生物大分子在超声波为自由基的氧化还原反应提供能量的情况下发生降解^[17]。因此,超声时间选择 6 min 为宜。

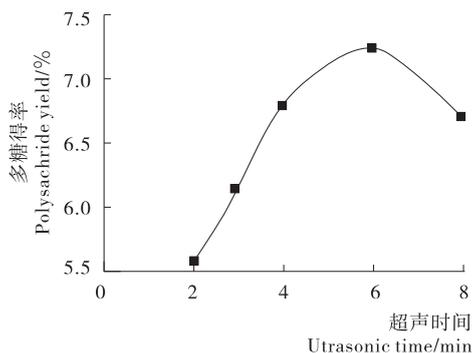


图 4 超声时间对多糖得率的影响

Figure 4 Effect of ultrasonic time on extraction rate of polysaccharides

2.2 响应面分析法对裙带菜孢子叶多糖提取工艺的优化

2.2.1 响应面实验设计 根据单因素试验结果,结合能耗因素,在 50 °C 浸提 2 h 条件下,选择液料比、超声功率和超声时间 3 个因素为自变量,多糖得率为响应值 Y。并根据 Box-Behnken 原理设计了三因素三水平,共计 16 个试验点来确定提取的最佳工艺条件^[18]。具体试验方案与结果见表 1 及表 2。

表 1 响应面的因素与水平

Table 1 Factors and levels of RSM

水平	A 液料比 (V/m)	B 超声时间/min	C 超声功率/W
-1	80	4	300
0	90	6	400
1	100	8	500

表 2 响应面实验设计与结果

Table 2 Experiment design and results of RSM

试验号	A	B	C	多糖得率/%
1	1	0	1	6.65
2	1	1	0	6.82
3	0	1	-1	7.27
4	0	-1	-1	6.86
5	0	1	1	7.49
6	0	0	0	7.74
7	1	-1	0	6.52
8	0	-1	1	7.29
9	1	0	-1	6.53
10	0	0	0	7.76
11	-1	0	-1	6.65
12	0	0	0	7.56
13	-1	-1	0	6.26
14	-1	1	0	6.69
15	0	0	0	7.56
16	-1	0	1	6.89

2.2.2 响应面分析 根据表 2 的试验结果进行方差分析,结果见表 3。由表 3 可知,模型极显著,建模成功;超声时间 B 和超声功率 C 项显著,平方项 A² 极显著、B² 显著;液料比 A、交互项和 C² 不显著。拟失态 P 值为 0.258 4,不显著,表明拟失误差相对于纯误差是不显著的,有益于模型的建立。经回归拟合后,得到式(3):

$$Y = 7.65 + 3.75 \times 10^{-3} A + 0.17B + 0.13C - 0.033AB - 0.03AC - 0.052BC - 0.81A^2 - 0.27B^2 - 0.16C^2 \quad (3)$$

对模型进行可信度分析,结果见表 4。回归方程的复相关系数 $R^2 = 0.966 4$,说明此模型与实际试验拟合较好。信噪比为 11.556 大于 4,也说明了模型的可靠性。

表3 模型的方差分析[†]

Table 3 Variance analysis of the model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	3.42	9	0.38	19.15	0.000 9	**
A	1.13×10^{-4}	1	1.13×10^{-4}	5.68×10^{-3}	0.942 4	
B	0.22	1	0.22	11.32	0.015 1	*
C	0.13	1	0.13	6.43	0.044 3	*
AB	4.23×10^{-3}	1	4.23×10^{-3}	0.21	0.660 6	
AC	3.60×10^{-3}	1	3.60×10^{-3}	0.18	0.684 8	
BC	0.011	1	0.011	0.56	0.484 0	
A ²	2.66	1	2.66	134.05	<0.000 1	**
B ²	0.29	1	0.29	14.44	0.009 0	**
C ²	0.10	1	0.10	5.17	0.063 4	
残差	0.12	6	0.020			
拟失态	0.083	3	0.028	2.28	0.258 4	
纯误差	0.036	3	0.012			
总误差	3.54	15				

[†] **表示 $P < 0.01$, 差异极显著; *表示 $P < 0.05$, 差异显著。

表4 模型的可信度分析

Table 4 The credibility analysis of the model

项目	数值	项目	数值
标准差	7.03	复相关系数 R^2	0.966 4
变异系数	2.00	校正相关系数	0.915 9
PRESS	1.39	信噪比	11.556 0

2.2.3 各因素交互作用对多糖得率的响应面分析 模型中各因素之间相互作用的效应图,见图5~7。3个图均发生了弯曲,可以判断3个单因素与提取率的关系都是非线性的;从等高线的形状可以判断两两交互作用均不显著。

2.2.4 模型验证实验 软件分析后得出的最佳提取条件为液料比 89.91:1 ($V:m$), 超声时间 6.56 min, 超声功率 435.06 W, 多糖提取率预计可达到 7.70%。考虑到实际操作的可行性,将工艺条件调整为液料比 90:1 ($V:m$), 超声时间 6.5 min, 超声功率 440 W, 经过3次平行实验,测定多糖得率为 7.71%, 与理论值相差较小。说明建立的模型能真实地反应液料比、超声时间、超声功率对孢子叶多糖得率的影响,该响应面模型具有可行性。本试验的多糖得率明显高于单纯热水浸提法(4.137%)^[7], 说明超声波辅助法有利于裙带菜孢子叶多糖的提取。主要是因为裙带菜孢子叶的细胞壁纤维含量较高,单纯热水浸提很难将多糖从细胞中释放出来,而超声波对孢子叶细胞的机械破坏作用强烈,利于多糖析出。

2.3 裙带菜孢子叶多糖的抗氧化测定

电子自旋共振(electron spin resonance, ESR)可测定磁场中的未成对电子^[19], 可实现快速有效地检测自由基^[20], 具有上样量少、灵敏度高等特点。在天然化合物的抗氧化研究中,应用较为成熟。

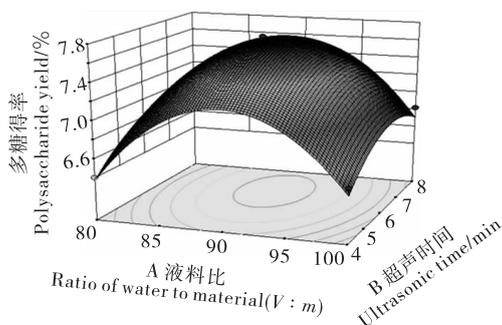


图5 液料比与超声时间的交互作用

Figure 5 Interaction of ratio of water to material and ultrasonic time

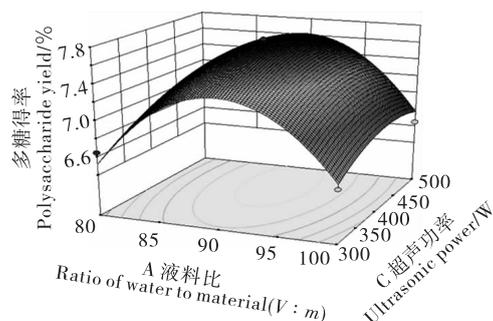


图6 液料比与超声功率的交互作用

Figure 6 Interaction of ratio of water to material and ultrasonic power

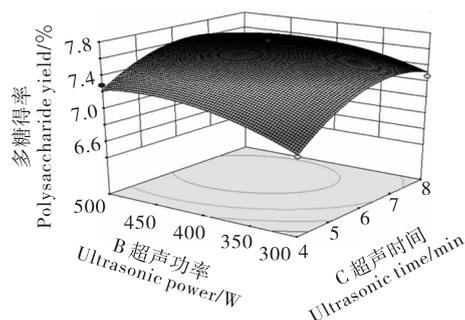


图7 超声功率与超声时间的交互作用

Figure 7 Interaction of ultrasonic power and ultrasonic time

2.3.1 对 DPPH· 的清除作用 DPPH· 作为一种含有不对称价电子的氮族自由基, 自由基清除剂促使其单电子配对, 削弱 ESR 的信号强度(特征峰的峰高), 进而可通过峰高的变化来表示对 DPPH· 的清除作用。本试验通过 ESR 技术来检测不同浓度的裙带菜孢子叶粗多糖溶液对 DPPH· 的清除作用, 结果见图 8。由图 8 可知: 裙带菜孢子叶多糖对 DPPH· 具有一定的清除作用, 并且随着多糖浓度的升高, 清除作用显著增强 ($P < 0.05$)。当多糖浓度为 1 mg/mL 时, 清除率可达 $(71.14 \pm 0.55)\%$ 左右, 其对 DPPH· 的半抑制率 IC_{50} 值为 0.24 mg/mL。该结果与何传波等^[19] 报道的海带多糖抗氧化活性 IC_{50} 相似(0.20 mg/mL)。

2.3.2 对 ·OH 的清除作用 不同浓度的裙带菜孢子叶粗

多糖溶液对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用的 ESR 图谱及清除率见图 9。DMPO 可捕捉 Fenton 反应体系产生的 $\cdot\text{OH}$, 形成比较稳定的加合物 DMPO-OH, 进而提高 ESR 检测的灵敏度^[21]。由图 9 可知, 通过 ESR 检测到了加合物的特征峰型(峰高为 1:2:2:1), 随着多糖浓度的增加, ESR 图谱的峰高逐渐降

低, 清除能力显著增强 ($P < 0.05$)。其对 $\cdot\text{OH}$ 的半抑制率 IC_{50} 为 0.28 mg/mL, 与何传波等^[22] 报道的结果 (IC_{50} 为 0.238 mg/mL) 相近。

3 结论

在单因素试验的基础上, 通过响应面试验确定了超声波辅助提取裙带菜孢子叶多糖在 50 °C 提取 2 h 时的最优工艺, 即液料比 90:1 (V:m), 超声时间 6.5 min, 超声功率 440 W, 此时多糖得率为 7.71%。ESR 试验结果表明裙带菜孢子叶多糖对 DPPH \cdot 和 $\cdot\text{OH}$ 均有较强的清除作用, 有望成为具有抗氧化功能的保健食品。下一步将对多糖进行分离纯化, 以明确其结构, 同时将开展体内试验研究。

参考文献

- Lee J, Hayashi K, Hashimoto M, et al. Novel antiviral fucoidan from sporophyll of *Undaria pinnatifida* (Mekabu)[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2004, 52(9): 1 091~1 094.
- 农业部渔业局. 2014 年中国渔业统计年鉴[Z]. 北京: 中国农业出版社, 2014: 34.
- Katsube T, Yamasaki Y, Iwamoto M, et al. Hyaluronidase-inhibiting polysaccharide isolated and purified from hot water extract of sporophyll of *Undaria pinnatifida* [J]. Food Science and Technology Research, 2003, 9(1): 25~29.
- 苏秀榕, 李太武, 丁明进. 裙带菜孢子叶营养成分分析[J]. 营养学报, 1994, 16(2): 236~238.
- Synytysya A, Kim W, Kim S, et al. Structure and antitumour activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(1): 41~48.
- 洪胜, 潘利华, 罗建平. 生物多糖超声波辅助提取研究进展[J]. 食品工业科技, 2011, 32(8): 481~484.
- 朱良, 张青, 朱钦昌, 等. 正交设计优化裙带菜孢子叶多糖提取工艺[J]. 中国海洋药物杂志, 2006, 25(6): 42~45.
- 余洋定, 启航, 李冬梅, 等. 果胶酶辅助提取裙带菜孢子叶多糖的工艺条件优化[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 175~177.
- 张警予, 李裕博, 余洋定, 等. 纤维素酶辅助提取裙带菜孢子叶多糖工艺条件优化的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(8): 178~181.
- 李宏睿, 范琳琳, 徐明生, 等. 苦瓜多糖超声波辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2010, 26(2): 107~125.
- 胡爱军, 郑捷. 食品工业中的超声提取技术[J]. 食品与机械, 2004, 20(8): 57~60.
- Qi Hang, Yu Yang-ding, Sun Li-ming, et al. Purification and partial bioactivity in vitro of polysaccharides from sporophyll of *Undaria pinnatifida* [J]. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2012, 10(3&4): 197~201.
- 李建, 杨波, 季宇彬, 等. 超声波提取裙带菜多糖的工艺研究[J]. 食品与药品, 2010, 12(11): 404~406.
- 赵雅婷, 刘山, 赵鑫, 等. 黄海水域体壁胶原蛋白肽的制备及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2013, 35(1): 5~8.
- 奚倩, 赵雅婷, 张警予, 等. 利用电子自旋共振技术研究海参提取液体外抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 36~40.
- 李裕博, 纪晓琳, 刘山, 等. 黄海水域体壁酶解物抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 137~140.
- 李宏斌, 李琳, 李冰, 等. 超声降解多糖研究进展[J]. 食品工业科技, 2006, 27(9): 181~184.

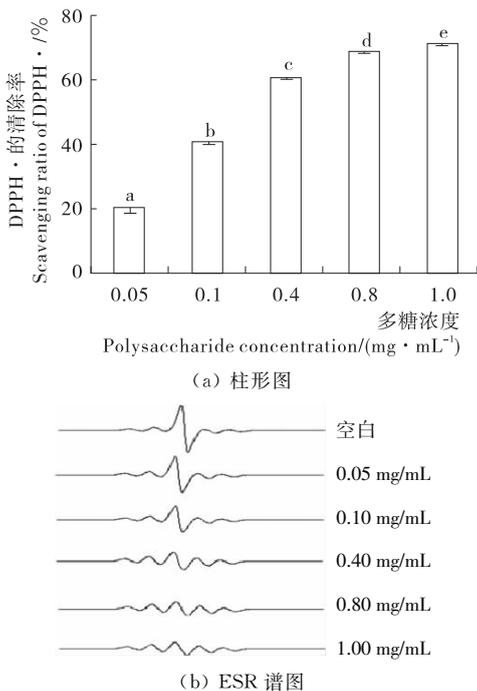


图 8 粗多糖溶液对 DPPH \cdot 的清除作用

Figure 8 The scavenging effect of crude polysaccharide solution on DPPH \cdot

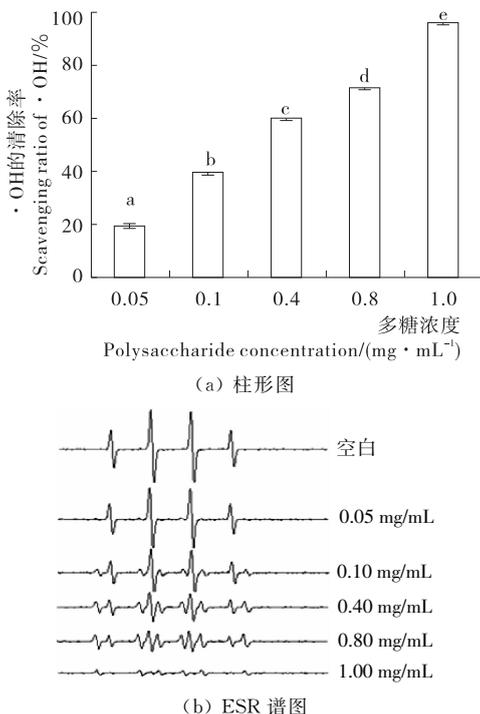


图 9 粗多糖溶液对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用

Figure 9 The scavenging effect of crude polysaccharide solution on $\cdot\text{OH}$

- 171; 272~279.
- 4 刘蓉, 张利蕾, 范亚苇, 等. 茶渣中粗茶皂素的纯化及其抗氧化和抑菌活性[J]. 南昌大学学报(工科版), 2013, 35(1): 17~21.
 - 5 李祥, 曹江绒, 种亚莉. 正丁醇萃取茶皂素的研究[J]. 陕西科技大学学报(自然科学版), 2014, 32(1): 87~90.
 - 6 赵娟, 黄健花, 蔡春明, 等. 沉淀法纯化茶皂素的工艺研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(11): 58~61.
 - 7 Chen Junghui, Wu Hsingyu, Liao Bingchung, et al. Identification and evaluation of antioxidants defatted *Camellia oleifera* seeds by isopropanol salting-out pretreatment[J]. Food Chemistry, 2010, 121(4): 1 246~1 254.
 - 8 涂云飞, 杜先锋, 张雪波. 干柱层析法制备油茶总皂苷对照品初探[J]. 中国农学通报, 2006, 22(10): 343~345.
 - 9 Yang Peng-jie, Zhou Ming-da, Zhou Cheng-yun, et al. Separation and purification of both tea seed polysaccharide and saponin from camellia cake extract using macroporous resin[J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(4): 656~662.
 - 10 程铁群, 赵敬娟, 夏涛, 等. 茶皂素的陶瓷膜纯化工艺优化及脱色研究[J]. 农产品加工(学刊), 2011(11): 11~15.
 - 11 韩晓彤, 库海福, 李霞, 等. 大孔树脂 HPD400 分离茶皂素的研究[J]. 粮油食品科技, 2014, 22(6): 39~43.
 - 12 曹江绒. 茶皂素的提取、纯化及在洗发液中的应用研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014.
 - 13 吴丽, 黄福平. 茶籽中茶皂素的分离纯化及脱色工艺研究进展[J]. 南方林业科学, 2015(1): 32~35.
 - 14 胡婕伦, 聂少平, 龚毅, 等. 响应曲面法优化茶皂素提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 106~109.
 - 15 张海龙. 冷榨茶籽饼中茶皂素的提取纯化及鉴定[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2012.
 - 16 郭辉力, 邓泽元, 彭游, 等. 微波/光波辅助提取茶皂素的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(11): 168~170.
 - 17 张新富. 油茶皂苷分离纯化及生物活性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.
 - 18 赵敬娟. 油茶皂苷的提取及膜分离纯化的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009.
 - 19 贾存勤, 李阳春, 屠鹏飞, 等. HPD 系列大孔吸附树脂预处理方法研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 30(18): 1 425~1 427.
 - 20 Rigano L, Lionetti N, Otero R. Quillaja triterpenic saponins—the natural foamers[J]. SOFW-Journal, 2009, 135(4): 1~9.
 - 21 Buran T J, Sandhu A K, Li Zheng, et al. Adsorption/desorption characteristics and separation of anthocyanins and polyphenols from blueberries using macroporous adsorbent resins[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 128(1): 167~173.
 - 22 孟维, 李湘洲, 吴志平, 等. AB-8 型大孔吸附树脂分离纯化茶皂素工艺[J]. 食品科技, 2013, 38(9): 213~217.

(上接第 161 页)

- 7 Zakaria El Astal. The inhibitory action of aqueous garlic extract on the growth of certain pathogenic bacteria[J]. European Food Research and Technology, 2004, 218(5): 460~464.
- 8 李军, 石任兵, 刘斌. 反相高效液相色谱法测定四逆散抗抑郁有效部位中新橙皮苷的含量[J]. 北京中医药大学学报, 2004, 27(1): 54~56.
- 9 陈玉平, 石任兵, 刘斌. RP—HPLC 法测定清脑宣窍方有效部位中藏红花酸含量[J]. 北京中医药大学学报, 2004, 27(3): 63~65.
- 10 李铮, 石任兵, 刘斌. HPLC 法测定参苓心欣方有效部位中药药苷含量[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2): 47~49.
- 11 王思思. 选择性抑菌中草药筛选及组方研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2012.
- 12 刘梦茵, 刘芳, 周涛, 等. 乌梅乙醇提取物抑菌作用及其抑菌成分分析[J]. 食品科学, 2011, 32(17): 190~193.
- 13 解思友, 逢美芳, 孙艳, 等. 马齿苋的化学成分与药理作用最新研究进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(3): 212~215.
- 14 杨哲, 肖根生, 杨永生. 马齿苋多糖的提取功效及其在畜禽饲料生产中的应用[J]. 湖南饲料, 2012(4): 19~20.
- 15 侯家玉, 方泰惠. 中药药理学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 54~55.
- 16 杨建乔. 复方中草药提取物替代饲用抗生素的应用研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013.
- 17 张黎明, 朱丽, 李雪, 等. 玉屏风总多糖水提醇沉工艺条件优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 26.
- 18 阎雪梅, 李凤丽, 宋洁瑾. 暑热宁合剂水提醇沉工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(8): 703~704.
- 19 肖琼, 沈平婵. 中药醇沉工艺的关键影响因素[J]. 中成药, 2005, 27(2): 143~144.
- 20 高微微, 李展, 林文卫, 等. 中草药提取物对沙门氏菌的抑菌试验[J]. 中兽医医学杂志, 1998(5): 11~13.

(上接第 166 页)

- 18 Zhong Kai, Wang Qiang. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from dried longan pulp using response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(1): 19~25.
- 19 赵保路. 电子自旋共振技术在生物和医学中的应用[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2009: 58~59.
- 20 Falch E, Velasco J, Aursand M, et al. Detection of radical development by ESR spectroscopy techniques for assessment of oxidative susceptibility of fish oils[J]. European Food Research and Technology. A, 2005, 221(5): 667~674.
- 21 Lee S J, Cheong S H, Kim Y S, et al. Antioxidant activity of a novel synthetic hexa-peptide derived from an enzymatic hydrolysate of duck skin by-products[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013(62): 276~280.
- 22 何传波, 魏好程, 熊何健, 等. 酶与微波处理对海带多糖提取及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(18): 51~53.