

小球藻多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究

王 华 张鹏娟 薛晓东 刘子钰

(河北环境工程学院, 河北 秦皇岛 066102)

摘要: [目的] 利用响应面优化小球藻多糖的提取工艺并对其抗氧化活性进行研究。[方法] 以小球藻多糖提取率为指标, 利用单因素试验筛选出对多糖提取率影响最大的因素, 通过 Box-Behnken 中心组合设计优化小球藻多糖的提取工艺; 通过测定 DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率和总还原力评价小球藻多糖的抗氧化能力。[结果] 最佳提取工艺条件为氢氧化钠质量浓度 1.70 g/100 mL、提取温度 72 °C、提取时间 3.25 h, 该条件下小球藻多糖提取率达 4.771%。小球藻多糖对 DPPH 自由基与羟自由基均有显著的清除作用, 其半抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 470, 850 $\mu\text{g/mL}$; 小球藻多糖的总还原力随着样本质量浓度增大而逐渐提高, 质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时小球藻多糖的总还原能力为 0.508。[结论] 采用响应面分析法优化得到的小球藻多糖提取最佳条件具有实际可操作性。小球藻多糖具有一定的抗氧化能力, 可应用于食品、药品、美妆品等领域。

关键词: 小球藻; 多糖; 碱提醇沉; 抗氧化活性

Optimization of polysaccharide extraction process from *Chlorella vulgaris* and their antioxidant activity

WANG Hua ZHANG Pengjuan XUE Xiaodong LIU Ziyu

(Hebei Institute of Environmental Engineering, Qinhuangdao, Hebei 066102, China)

Abstract: [Objective] To optimize the extraction process of *Chlorella vulgaris* polysaccharides using response surface methodology and analyze their antioxidant activity. [Methods] The extraction rate of *C. vulgaris* polysaccharides is used as an evaluation index, and the single factor method is used to select the three factors with the greatest impact on the polysaccharide extraction rate. Box-Behnken design is used to optimize the extraction process. The antioxidant capacity of *C. vulgaris* polysaccharides is evaluated by DPPH scavenging rate, hydroxyl radical scavenging rate and total reducing power. [Results] The optimal extraction conditions are determined as follows: sodium hydroxide mass concentration of 1.70 g/100 mL, extraction temperature of 72 °C, and extraction time of 3.25 h. Under these conditions, the extraction rate of polysaccharides reaches 4.771%. The polysaccharides exhibited significant scavenging effects on both DPPH radicals and hydroxyl radicals, with their half maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) being 470 and 850 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Additionally, the total reducing power gradually increases with rising sample concentration, reaching 0.508 when the mass concentration was 100 $\mu\text{g/mL}$. [Conclusion] The optimal conditions for extracting polysaccharides from *C. vulgaris*, optimized by response surface analysis, have practical operability. *C. vulgaris* polysaccharides have certain antioxidant capacity and hold potential applications in various fields such as food, medicine, and cosmetics.

Keywords: *Chlorella vulgaris*; polysaccharide; alkali extraction and alcohol precipitation; antioxidant capacity

小球藻 (*Chlorella vulgaris*), 是一种球形单细胞原生 适生长温度为 25 °C 左右、最适生长 pH 为 6~8^[1-2]。小球藻淡水微藻, 隶属于绿藻门绿球藻目小球藻科小球藻属, 最 藻营养丰富, 符合大食物观全方位多途径开发食物资源

基金项目: 河北省高等学校科学技术研究项目 (编号: ZC2024139); 河北省高等学校青年拔尖人才计划项目 (编号: BJK2023042)

通信作者: 王华 (1978—), 男, 河北环境工程学院副教授, 博士。E-mail: wanghua@hebeue.edu.cn

收稿日期: 2025-03-01 **改回日期:** 2025-12-22

引用格式: 王华, 张鹏娟, 薛晓东, 等. 小球藻多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(5): 206-212.

Citation: WANG Hua, ZHANG Pengjuan, XUE Xiaodong, et al. Optimization of polysaccharide extraction process from *Chlorella vulgaris* and their antioxidant activity[J]. Food & Machinery, 2026, 42(5): 206-212.

的要求^[2],目前其在食品行业中的应用有多种形式,但以初级的藻粉和藻片为主,未来仍需要探索开发利用其功能性成分^[3-6]。

小球藻含有多种微量元素与活性物质^[7-8],多糖就是其中之一^[9-10]。小球藻多糖种类众多,结构复杂,功能广泛,具有抗氧化性、抑菌性、免疫调节等功能^[11-12]。研究^[6,10,13]表明,生物体内的大分子会受到活性氧的攻击破坏,导致体内的组织细胞损伤、老化,甚至神经性疾病、癌症等病症发生。减缓或消除活性氧对生物机体的损伤,需要选择可以有效清除活性氧等自由基的抗氧化剂。研究证明,微藻多糖在 DPPH 自由基^[14-15]、羟自由基^[14,16]、ABTS 自由基^[15-16]和过氧化物^[17]的清除试验中展现出较好的抗氧化活性。多糖研究是热门话题,但国内外相关研究中关于小球藻多糖的研究较少,其中关于小球藻多糖的提取方法多以传统热水浸提为主^[3,9-11],该方法耗时较长,且胞内多糖难以充分析出^[18-21]。研究拟采用 Box-Behnken 中心组合设计优化小球藻多糖提取工艺条件,并分析小球藻多糖的体外抗氧化活性,旨在为下一步检测其功能和开发相关的功能性食品提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

小球藻粉:实验室培养及制备;

浓硫酸、苯酚、氢氧化钠:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

邻菲罗啉:分析纯,丹东昇源化工有限责任公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):分析纯,福州飞净生物科技有限公司;

铁氰化钾、硫酸亚铁、三氯化铁:分析纯,天津金汇太亚化学试剂有限公司;

抗坏血酸、葡萄糖、乙醇:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

酶标检测仪:Biotech Synergy HTX 型,美国伯腾仪器有限公司;

电子分析天平:FA2204 型,普睿斯特(安徽)测控技术有限公司;

精密酸度计:PHS-3C 型,杭州齐威仪器有限公司;

低温冷冻离心机:TGL27A 型,上海高致精密仪器有限公司;

恒温水浴锅:HH-6G 型,上海佑科仪器仪表有限公司;

分光光度计:HD-UV90 型,上海佑科仪器仪表有限公司。

1.3 方法

1.3.1 小球藻多糖制备及多糖含量测定

精确称量一定

量的小球藻粉,与一定质量浓度的氢氧化钠溶液按照设定的料液比混合,在不同温度的水浴条件下进行定时提取,10 000 r/min 离心 8 min,在上清液中加入 3 倍体积体积分数 95% 的乙醇,置于 4 ℃ 环境下过夜,过滤后滤渣干燥,取沉淀称量记录数值。

小球藻多糖利用 Sevage 法脱蛋白处理后,采用苯酚硫酸法测定多糖含量^[22-23],在浓硫酸作用下小球藻多糖水解并脱水,苯酚与其生成的糖醛衍生物作用,生成橙黄色化合物,在 490 nm 处具有特定吸光性。配制不同质量浓度(0, 20, 40, 60, 80, 100 μg/mL)的葡萄糖溶液,加入 5 mL 浓硫酸,静置 30 min 后在 490 nm 处测定吸光度值,以葡萄糖质量浓度为横坐标、吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=0.007x-0.0365$ ($R^2=0.991$)。根据回归方程计算小球藻多糖含量。

1.3.2 单因素试验 固定条件:提取温度 80 ℃、氢氧化钠质量浓度 1.5 g/100 mL、料液比 1:20 (g/mL)、提取时间 3 h、醇沉比($V_{\text{上清液}}:V_{\text{乙醇}}$)1:3 (mL/mL)。单因素设计:提取温度 50, 60, 70, 80, 90, 100 ℃;氢氧化钠质量浓度 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 g/100 mL;料液比 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35 (g/mL);提取时间 1, 2, 3, 4, 5, 6 h;醇沉比 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 (mL/mL)。研究提取温度、氢氧化钠质量浓度、料液比、提取时间以及醇沉比对小球藻多糖提取率(小球藻多糖与原料的质量比值)的影响。每个处理重复 3 次,取其平均值。

1.3.3 响应面试验 在单因素试验基础上,根据 Box-Behnken 中心组合设计原则,选取氢氧化钠质量浓度、提取温度、提取时间为自变量,小球藻多糖提取率为响应值,进行响应面分析。

1.3.4 小球藻多糖抗氧化活性

(1) DPPH 自由基清除能力:根据 Espin 等^[24]的方法修改如下,称取 0.004 g DPPH 粉末溶于 100 mL 无水乙醇中制备 1.0 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液,再取 10.0 μL 加入到 1.0 mL 无水乙醇溶液混匀。取 2.0 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 无水乙醇溶液和不同质量浓度的小球藻多糖溶液于具有胶塞的比色管中,于避光阴暗处静置 30 min,测定 517 nm 处吸光值。以抗坏血酸(V_c)溶液作为阳性对照,蒸馏水作为空白对照。按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$c = \left(1 - \frac{X_1 - X_2}{X_0} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C ——DPPH 自由基清除率, %;

X_0 ——2 mL 蒸馏水与无水乙醇混合液的吸光度值;

X_1 ——2.0 mL DPPH 和 2.0 mL 试样溶液混合液的吸光度值;

X_2 ——2.0 mL 试样溶液与 2.0 mL 无水乙醇的混合溶

液的吸光度值。

(2) 羟自由基清除能力:根据 Smirnov 等^[25]的方法修改如下,取 1 mL 1.5 mmol/L 邻菲罗啉乙醇溶液,加入 1.0 mL 50.0 mmol/L 磷酸缓冲液,1.0 mL 1.5 mmol/L 硫酸亚铁溶液,以及 1.0 mL 不同质量浓度的多糖溶液,1.0 mL 体积分数 0.1% 双氧水溶液,用去离子水定容至 10.0 mL,充分混合,于 37 ℃ 水浴 30 min 后,测定 593 nm 处吸光度值。以抗坏血酸(V_c)溶液作为阳性对照,蒸馏水作为空白对照。按式(2)计算羟自由基清除率。

$$c = \frac{X_1 - X_0}{X_2 - X_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

c ——羟自由基清除率,%;

X_0 ——不含有试样的空白对照组的吸光度值;

X_1 ——含有 1.0 mL 样品溶液的试验组的吸光度值;

X_2 ——含有样品溶液但不添加双氧水的对照组的吸光度值。

(3) 总还原能力:采用铁氰化钾还原法。称取 1.0 mL 不同质量浓度的小球藻多糖溶液,加入 2.5 mL 磷酸缓冲液,2.5 mL 铁氰化钾溶液,充分搅拌,置于 50 ℃ 水浴锅中加热 30 min,静止冷却后,加入 1.0 mL 三氯乙酸溶液终止反应,静置 10 min 后取上清液 2.5 mL 加入等量去离子水,再加入 0.5 mL 三氯化铁溶液充分混合,静置 10 min,用分光光度计于 700 nm 处测定吸光值。以抗坏血酸(V_c)溶液

作为对照组。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 提取温度对小球藻多糖提取率的影响 如图 1(a)所示,提取温度为 50~70 ℃ 时,随着提取温度的提高小球藻多糖提取率逐渐提高;提取温度为 70~90 ℃ 时,随着提取温度的提高小球藻多糖提取率逐渐降低,是由于提取温度过高导致小球藻多糖在 pH 较高的环境下被分解导致提取率低;提取温度为 90~100 ℃ 时,提取率又折返提高,可能是由于提取温度过高致使细胞壁、细胞膜破裂完全,部分耐高温的小球藻多糖完全析出所致。因此,选取提取温度 70 ℃。

2.1.2 氢氧化钠质量浓度对小球藻多糖提取率的影响

如图 1(b)所示,小球藻多糖提取率随着氢氧化钠质量浓度逐渐升高而提高,当氢氧化钠质量浓度为 2.00 g/100 mL 时小球藻多糖提取率达到最高点;之后,随着氢氧化钠质量浓度逐渐提高小球藻多糖提取率逐渐降低,可能是碱液浓度过高,pH 过大,使小球藻多糖不稳定所致^[4]。综合考量,选取氢氧化钠质量浓度最高点 2.00 g/100 mL。

2.1.3 料液比对小球藻多糖提取率的影响 如图 1(c)所示,随着溶剂量增加小球藻多糖提取率逐渐提高,当料液比达到 1:25 (g/mL) 之后趋于稳定状态。因此,料液比固定在 1:25 (g/mL)。

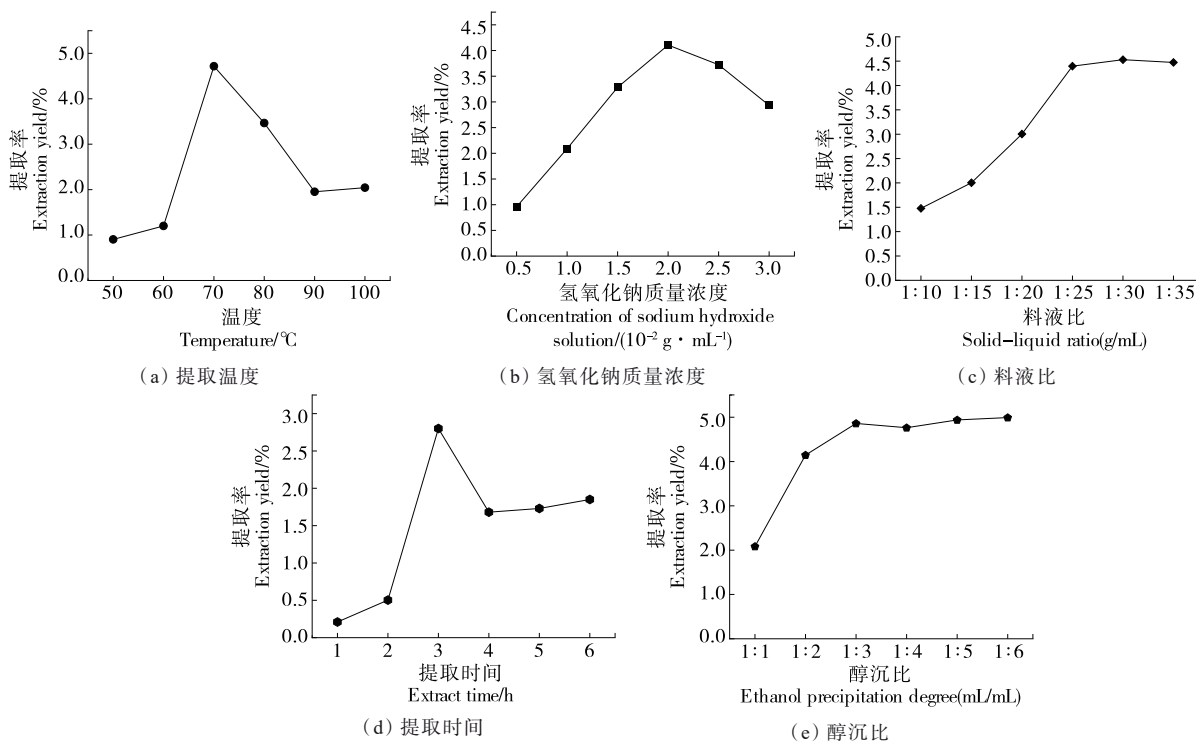


图 1 单因素对小球藻多糖提取率的影响

Figure 1 Effects of single factor on extraction rate of *C. vulgaris* polysaccharides

2.1.4 提取时间对小球藻多糖提取率的影响 如图 1(d)所示,提取时间为 1~3 h 时,随着提取时间的延长小球藻多糖提取率逐渐提高,其中 2~3 h 时的提升趋势尤为显著;提取时间为 3~5 h 时,随着提取时间的延长小球藻多糖提取率逐渐下降,可能是较长时间的提取导致多糖有效成分被分解,致使提取率降低^[17]。提取时间为 5~6 h 时提取效率有所回升,可能是提取时间过长导致细胞壁完全破裂,细胞质基质内耐高温多糖析出。因此,提取时间选择不低于 3 h。

2.1.5 醇沉比对小球藻多糖提取率的影响 如图 1(e)所示,醇沉比为 1:1~1:3 (mL/mL)时,随着乙醇所占比率的提高小球藻多糖提取率逐渐提高,醇沉比达到 1:3 (mL/mL)后趋于稳定。因此,醇沉比固定在 1:3 (mL/mL)。

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面多元回归方程建立 根据单因素试验结果,以提取温度、氢氧化钠质量浓度、提取时间为自变量设计响应面试验。试验因素水平见表 1,试验结果见表 2。

表 1 响应面试验因素与水平			
Table 1 Factors and levels of response surface test			
水平	A 氢氧化钠质量浓度/ (10 ⁻² g·mL ⁻¹)	B 提取温 度/℃	C 提取时 间/h
—1	1.0	65	3.0
0	1.5	70	3.5
1	2.0	75	4.0

利用 Design Expert 12 对表 2 中的数据进行处理得到回归方程:

$$Y=4.62+0.40A+0.86B-9.375E-003C-0.23AB-0.32AC-0.87BC-0.89A^2-1.42B^2-0.69C^2。$$
 (3)

表 3 结果显示,模型极显著且失拟项不显著($P>0.05$),该模型可以充分体现小球藻多糖提取工艺的试验情况。模型的相关系数 $R^2=0.975\ 9$ 、 $R^2_{Adj}=0.944\ 9$,表明小球藻多糖提取工艺的试验结果与模型预测理论结果具有良好的相关性,试验误差小,并且可以重复^[26]。基于以上结果分析,该模型能够用于预测在一定提取工艺条件下提取小球藻多糖的试验结果。模型中 A、B、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 对其具有极显著影响,各因素对小球藻多糖提取率的影响从大到小排序依次为氢氧化钠质量浓度、提取温度、提取时间。

2.2.2 各因素间的交互作用 由图 2 可知,氢氧化钠质量浓度和提取温度、提取温度和提取时间之间交互作用的响应曲面较陡峭,说明其交互作用对小球藻多糖提取率的影响显著;氢氧化钠质量浓度和提取时间的响应曲面较平缓,说明其交互作用对小球藻多糖提取率的影响不显著,其中提取温度对多糖提取率的影响较大。这与表 3

表 2 响应面试验设计与结果

Table 2 Experimental design and results of response surface test

试验编号	A	B	C	小球藻多糖提取率/%
1	—1	—1	0	0.921
2	1	—1	0	1.903
3	—1	1	0	3.184
4	1	1	0	3.258
5	—1	0	—1	1.987
6	1	0	—1	3.701
7	—1	0	1	3.042
8	1	0	1	3.458
9	0	—1	—1	1.042
10	0	1	—1	4.436
11	0	—1	1	2.346
12	0	1	1	2.245
13	0	0	0	4.724
14	0	0	0	4.731
15	0	0	0	4.761
16	0	0	0	4.342
17	0	0	0	4.542

表 3 回归模拟方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance for regression simulation

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	26.08	9	2.90	31.47	<0.000 1**
A	1.27	1	1.27	13.78	0.007 5**
B	5.79	1	5.97	64.83	<0.000 1**
C	0.00	1	0.00	0.01	0.932 8
AB	0.21	1	0.21	2.24	0.178 3
AC	0.42	1	0.42	4.57	0.069 8
BC	3.05	1	3.05	33.16	0.000 7**
A ²	3.31	1	3.31	35.96	0.000 5**
B ²	8.45	1	8.45	91.76	<0.000 1**
C ²	1.98	1	1.98	21.53	0.002 4**
残差	0.64	7	0.09		
失拟项	0.52	3	0.17	5.47	0.070 0
纯误差	0.13	4	0.03		
总和	26.73	16			

[†] *表示差异显著($P<0.05$);**表示差异极显著($P<0.01$);
 $R^2=0.975\ 9$; $R^2_{Adj}=0.944\ 9$ 。

回归模型方差分析结果一致。

2.2.3 最佳工艺条件验证实验 经 Design Expert 12 分析得出,最佳提取工艺条件:氢氧化钠质量浓度 1.71 g/100 mL,提取温度 72.25 ℃,提取时间 3.25 h,小球藻多糖提取率达

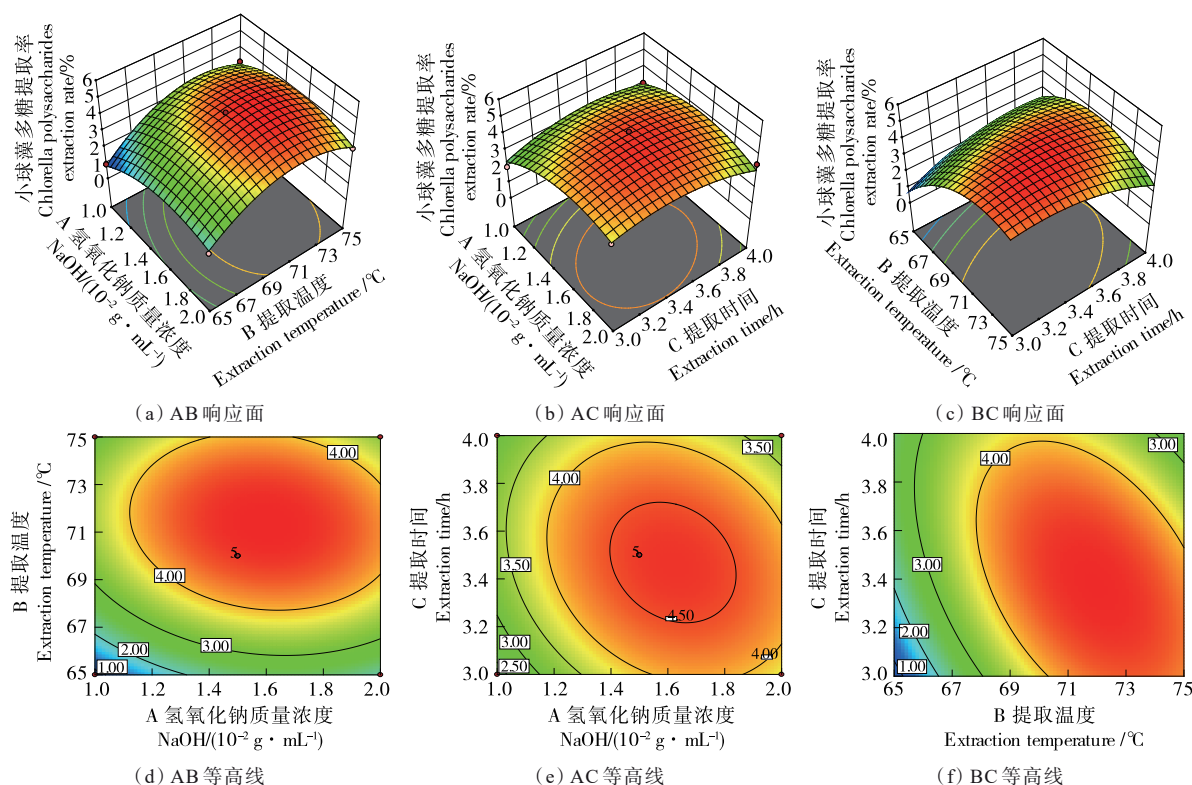


图2 各交互因素对小球藻多糖提取率影响的响应面图和等高线图

Figure 2 Response surface and contour for the influence of interaction factors on *C. vulgaris* polysaccharide extraction rate

到 4.787 18%。为方便操作,将最佳提取工艺条件调整为:氧化钠质量浓度 1.70 g/100 mL,提取温度 72 °C,提取时间 3.25 h,按该条件进行 3 组平行验证实验,实测小球藻多糖提取率为 (4.771 ± 0.002)%,与理论值的标准偏差为 0.001%,表明优化小球藻多糖的提取工艺条件较为可信,具有实际应用价值。

2.3 小球藻多糖抗氧化活性

氧化应激可能导致细胞和组织损伤,而抗氧化剂在保护身体免受氧化应激方面起着至关重要的作用^[6-8,22]。如图 3(a)所示,对照组(抗坏血酸)和试验组(小球藻多

糖)随着样品质量浓度的变大,对 DPPH 自由基清除能力变强。小球藻多糖质量浓度为 200~400 μg/mL 时,DPPH 自由基清除率增长明显;质量浓度 > 400 μg/mL 时,DPPH 自由基清除率增长较为显著。小球藻多糖半抑制质量浓度 (IC₅₀) 为 470 μg/mL。抗坏血酸质量浓度为 200~300 μg/mL 时 DPPH 自由基清除率增长显著,质量浓度 > 300 μg/mL 时增长趋于平缓,其 IC₅₀ 值为 251.18 μg/mL。如图 3(b)所示,羟自由基清除作用与样品质量浓度呈正相关,试验组(小球藻多糖)与对照组(抗坏血酸)的增长趋势大体同步,随着样品质量浓度的增大而提高。但是对照组整体

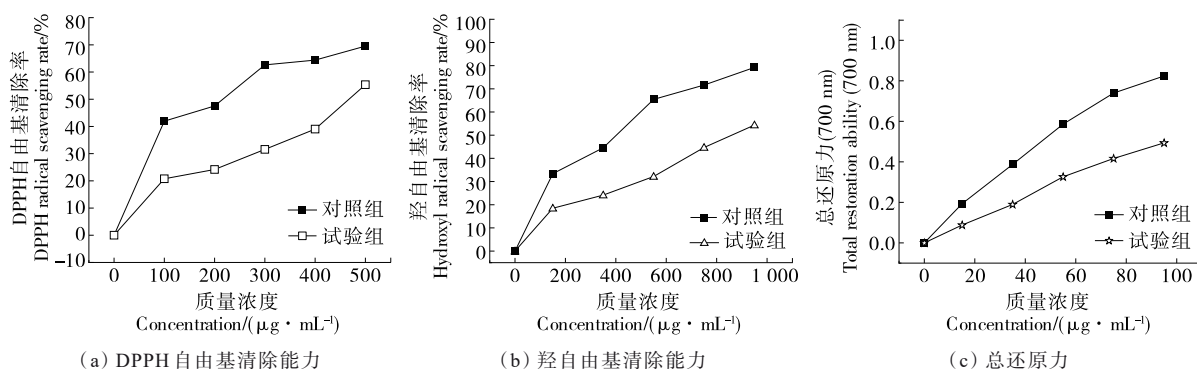


图3 小球藻多糖的抗氧化能力

Figure 3 Antioxidant capacity of *C. vulgaris* polysaccharides

的羟自由基清除率高于试验组。抗坏血酸质量浓度为350~550 $\mu\text{g/mL}$ 时,羟自由基清除率增长跨度尤为明显,其 IC_{50} 值为532.57 $\mu\text{g/mL}$ 。小球藻多糖质量浓度 $<550 \mu\text{g/mL}$ 时,羟自由基清除率增长平稳,质量浓度为550~750 $\mu\text{g/mL}$ 时增长加快,之后又趋于平缓,其 IC_{50} 值为850 $\mu\text{g/mL}$ 。如图3(c)所示,试验组(小球藻多糖)与对照组(抗坏血酸)的增长趋势大体相同,对照组整体的总还原力高于试验组,100 $\mu\text{g/mL}$ 抗坏血酸的总还原力为0.984,小球藻多糖的总还原力为0.508。随着小球藻多糖质量浓度的增高,其总还原力随之提高,即总还原能力与样品质量浓度呈正相关。

3 结论

采用响应面分析法优化小球藻多糖提取的最佳条件,得到最佳条件为:氢氧化钠质量浓度1.70 g/100 mL,提取温度72 $^{\circ}\text{C}$,提取时间3.25 h。在此条件下得小球藻多糖具有较好的抗氧化活性,且呈现出一定的量效关系,其对DPPH自由基和羟自由基的半抑制质量浓度分别为470, 850 $\mu\text{g/mL}$;小球藻多糖质量浓度为100 $\mu\text{g/mL}$ 时总还原力为0.508。小球藻多糖的抗氧化能力虽弱于抗坏血酸,但作为天然产物的活性多糖,其毒副作用极小。由此可知,采用响应面分析法优化得到的小球藻多糖提取工艺最佳条件参数准确,具有实际可操作性。小球藻多糖具有一定的清除DPPH自由基、羟自由基能力和一定的总还原力,可见小球藻多糖可以作为天然抗氧化剂应用到食品、药品、美妆品等诸多领域。

参考文献

- [1] 张建民, 刘新宁. 可利用微藻的种类及其应用前景[J]. 资源开发与市场, 2005, 21(1): 65-66, 80.
ZHANG J M, LIU X N. Varieties and application foreground of available microalgae[J]. Resource Development & Market, 2005, 21(1): 65-66, 80.
- [2] 冯庆玲, 叶招权, 林艺群, 等. 盐胁迫对小球藻胞外多糖积累及抗氧化性的影响[J]. 工业微生物, 2024, 54(3): 185-188.
FENG Q L, YE Z Q, LIN Y Q, et al. Effects of salt stress on extracellular polysaccharide accumulation and antioxidant activity of *Chlorella*[J]. Industrial Microbiology, 2024, 54(3): 185-188.
- [3] 李思雨. 小球藻多糖提取纯化及其改性研究[D]. 南宁: 广西民族大学, 2022: 5.
LI S Y. Study on extraction, purification and modification of *Chlorella polysaccharide*[D]. Nanning: Guangxi University for Nationalities, 2022: 5.
- [4] LIU F, CHEN H J, QIN L, et al. Effect and characterization of polysaccharides extracted from *Chlorella* sp. by hot-water and alkali extraction methods[J]. Algal Research, 2023, 70: 102970.
- [5] 郝俊光, 潘喜芳, 莫维, 等. 小球藻作为食品利用的国外报道研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(10): 18-24.
- [6] HAO J G, PAN X F, MO W, et al. Research progress of foreign reports on *Chlorella* as food utilization[J]. China Brewing, 2022, 41(10): 18-24.
- [7] YUAN Q X, LI H, WEI Z Y, et al. Isolation, structures and biological activities of polysaccharides from *Chlorella*: a review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163: 2 199-2 209.
- [8] ZHAO W H, DUAN M R, ZHANG X, et al. A mild extraction and separation procedure of polysaccharide, lipid, chlorophyll and protein from *Chlorella* spp[J]. Renewable Energy, 2018, 118: 701-708.
- [9] CHEN Y X, LIU X Y, WU L X, et al. Physicochemical characterization of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* and its anti-ageing effects in *Drosophila melanogaster*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 185: 120-126.
- [10] MA Y L, WANG J, FEI P, et al. Extraction, characterization and antioxidant activity evaluation of polysaccharides from *Chlorella* sp[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2024, 18(12): 10 080-10 092.
- [11] 雷铮宇. 小球藻胞外多糖的分离纯化及其抗氧化和抗炎活性研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2021: 8-11.
LEI Z Y. Isolation, purification and its antioxidant, anti-inflammatory of exopolysaccharides from *Chlorella protothecoides*[D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2021: 8-11.
- [12] FENG S T, YOU C T, PAN Z K, et al. The anti-aging effects of *Chlorella* polysaccharide extract in *Caenorhabditis elegans*[J]. Natural Product Research, 2025, 39(22): 6 390-6 395.
- [13] YU M G, CHEN M J, GUI J L, et al. Preparation of *Chlorella vulgaris* polysaccharides and their antioxidant activity in vitro and in vivo[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 137: 139-150.
- [14] 王华. 黄秋葵水提物的组分及体外抗氧化活性分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(7): 198-201.
WANG H. Study on component analysis and antioxidant activity in vitro of water extracts from okra (*Abelmoschus esculentus*) [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(7): 198-201.
- [15] CAO M, KANG J M, GAO Y M, et al. Optimization of cultivation conditions for enhancing biomass, polysaccharide and protein yields of *Chlorella sorokiniana* by response surface methodology[J]. Aquaculture Research, 2020, 51(6): 2 456-2 471.
- [16] 曹猛. 小球藻(*Chlorella sorokiniana* C74)多糖及蛋白质等活性物质研究[D]. 海口: 海南大学, 2020: 70.
CAO M. Study on the active substance polysaccharides and proteins of *Chlorella sorokiniana* C74[D]. Haikou: Hainan University, 2020: 70.
- [17] 刘妍. 两种微藻多糖的提取及其在可食性膜中的应用[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2015: 4.

- LIU Y. Extraction of polysaccharide from two microalgae and its application in edible film[D]. Xi'an: Northwest A & F University, 2015: 4.
- [17] PENG H, XU X, CUI X W, et al. Physicochemical characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Chlorella* sp. by microwave-assisted enzymatic extraction [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1264641
- [18] 张杨, 苏东洋, 张拥军, 等. 基于抑制 α -淀粉酶酶活的小球藻多糖提取工艺优化[J]. *食品与机械*, 2013, 29(4): 128-132.
- ZHANG Y, SU D Y, ZHANG Y J, et al. Optimization of *Chlorella* polysaccharides extraction technology based on inhibition of α -amylase enzyme activity[J]. *Food & Machinery*, 2013, 29(4): 128-132.
- [19] 史瑞琴, 李大伟, 梁静静, 等. 响应面法优化小球藻多糖提取工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(3): 18-23.
- SHI R Q, LI D W, LIANG J J, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from *Chlorella* by response surface methodology[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(3): 18-23.
- [20] 孙建瑞, 赵君峰, 符丹丹, 等. 响应面法优化 *Chlorella vulgaris* 224 胞外多糖积累及其抑菌和抗氧化活性[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(3): 489-497.
- SUN J R, ZHAO J F, FU D D, et al. Optimization of extracellular polysaccharide accumulation from *Chlorella vulgaris* 224 and its antibacterial and antioxidant activity[J]. *Natural Product Research and Development*, 2020, 32(3): 489-497.
- [21] 何启煜, 安子哲, 陈安进, 等. 小球藻多糖的结构与生物活性研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(23): 322-331.
- HE Q Y, AN Z Z, CHEN A J, et al. Progress in research on the structure and activity of polysaccharides from *Chlorella*[J]. *Food Science*, 2023, 44(23): 322-331.
- [22] 孙国强, 董金颖, 董建生. 苯酚—硫酸法测定灵芝菌丝多糖含量的研究[J]. *山西化工*, 2024, 44(4): 50-52, 72.
- SUN G Q, DONG J Y, DONG J S. Content determination of polysaccharides of ganoderma by phenol-sulfuric acid method [J]. *Shanxi Chemical Industry*, 2024, 44(4): 50-52, 72.
- [23] 李娜, 王晶, 苏玲, 等. 遗传算法优化超声辅助双水相提取小球藻多糖工艺研究[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(12): 43-52.
- LI N, WANG J, SU L, et al. Optimization of ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction of *Chlorella* polysaccharide by genetic algorithm[J]. *China Food Additives*, 2021, 32(12): 43-52.
- [24] ESPÍN J C, SOLER-RIVAS C, WICHES H J. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(3): 648-656.
- [25] SMIRNOFF N, CUMBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(4): 1 057-1 060.
- [26] 王华, 赵兵. 响应面优化超声处理黄秋葵嫩果及对干燥速率影响[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(7): 181-185.
- WANG H, ZHAO B. Optimization of ultrasonic pretreatment of okra used as hot-drying tea by response surface analysis and its effect on drying rate[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(7): 181-185.