

文章编号: 1674-5566(2020)01-0153-08

DOI:10.12024/jso.20181002415

舌状蜈蚣藻多糖提取工艺及抗氧化活性分析

陈胜军^{1,2}, 刘欢^{1,3}, 杨少玲¹, 杨贤庆^{1,2}, 戚勃¹, 胡晓¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所 国家水产品加工技术研发中心, 农业农村部水产品加工重点实验室, 广东 广州 510300; 2. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏 连云港 222005; 3. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306)

摘要: 在单因素实验的基础上, 以舌状蜈蚣藻多糖得率为指标, 选择料液比、温度和时间进行响应面实验, 确定最佳工艺条件, 同时测定舌状蜈蚣藻多糖对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基以及羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除能力。结果显示, 舌状蜈蚣藻多糖的最佳提取工艺为料液比 1:37 g/mL, 提取温度 100℃, 提取时间 4 h, 此时的多糖得率为 15.23%。舌状蜈蚣藻多糖清除 DPPH 自由基和羟自由基的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 12.61 mg/mL 和 2.05 mg/mL, 具有较好的体外抗氧化活性。

关键词: 舌状蜈蚣藻; 多糖; 响应面; 抗氧化活性

中图分类号: S 985.4 **文献标志码:** A

蜈蚣藻属 (*Grateloupia*) 隶属于红藻门 (Rhodophyta)、隐丝藻目 (Cryptonemiales)、海膜科 (Halymeniaceae)。目前全世界共报道约 80 种, 中国共报道了 32 种^[1]。蜈蚣藻属植物分布较为广泛, 主要集中在亚洲海域, 在西班牙沿海也有分布^[2-3]。舌状蜈蚣藻 (*Grateloupia livida*) 是常见的蜈蚣藻属植物, 可用于食用、药用和制胶等方面, 其性咸寒, 具有清热解毒驱虫之功效, 可用于治疗喉炎、蛔虫病^[4]。蜈蚣藻 (*Grateloupia filicina*) 多糖, 通常占到海藻干物质的 50% 以上^[5-6], 具有抗病毒、抗凝血、抗肿瘤、调节免疫等多种生物活性^[7-10], 经济价值高。研究表明: 蜈蚣藻多糖具有较好的抗氧化活性。例如: 繁枝蜈蚣藻 (*Grateloupia ramosissima*) 具有较强的还原力, 与浓度呈线性关系, 当浓度为 0.25 mg/mL 时, 还原力强于 BHA (叔丁基-4-羟基茴香醚) 和 PG (没食子酸丙酯)^[11]。蜈蚣藻多糖有良好的清除 $\cdot\text{OH}$ 和 $\cdot\text{O}_2^-$ 的能力, 清除率的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 4.62 mg/mL 和 0.62 mg/mL^[12]。TANG 等^[8]发现纯化后的蜈蚣藻多糖具有更好的抗氧化能力。

目前, 对于舌状蜈蚣藻多糖的提取及抗氧化活性的研究较少, 考虑到热水浸提法成本低, 适用于大规模工业化生产^[13], 故本实验采取热水浸提法提取舌状蜈蚣藻多糖, 同时, 研究舌状蜈蚣藻多糖的抗氧化性, 以期对蜈蚣藻资源的综合开发和利用提供参考和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

舌状蜈蚣藻采自汕头南澳岛, 由汕头大学陈伟洲教授鉴定。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、维生素 C (Vc, 华屿欣试剂有限公司); 无水葡萄糖 (分析纯, 大连美仑生物技术有限公司); 其余试剂均为国产分析纯。

DHG-9145A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海一恒公司); 800Y 多功能粉碎机 (永康市铂欧五金制品有限公司); HWS24 电热恒温水浴锅 (上海一恒公司); AvantiJ26XP 高速离心机 (美国贝克曼库尔特公司); RE-2000A 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); SUNRISE 吸光酶标仪 (瑞士

收稿日期: 2018-10-18 修回日期: 2019-06-28

基金项目: 中国水产科学研究院南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 (2017ZD03); 现代农业产业体系专项资金 (CARS-50); 农业部财政重大专项 (NFZX2013); 广东省海洋与渔业发展专项资金 (2017A0001)

作者简介: 陈胜军 (1973—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为水产品加工与质量安全控制。E-mail: chenshengjun@scsri.ac.cn

TECAN 公司)。

1.2 方法

1.2.1 舌状蜈蚣藻多糖的提取

舌状蜈蚣藻→清洗烘干粉碎→2 倍体积无水乙醇浸泡 12 h→抽滤,烘干→按照预设料液比加入蒸馏水→设置不同的温度和时间进行水浴处理→离心取上清→旋转真空浓缩→醇沉过夜→离心弃上清→依次用丙酮、无水乙醇洗涤→冻干→舌状蜈蚣藻粗多糖(GLP)^[14-16]。

1.2.2 多糖含量的测定

参考张婧婧等^[12]和朱良等^[14]的方法,首先绘制葡萄糖标准曲线,再进行舌状蜈蚣藻多糖含量的测定。

1.2.3 舌状蜈蚣藻多糖提取条件的优化

分析料液比、温度、时间 3 种因素对粗多糖得率的影响^[14-15]。以料液比为 1:30~1:70 g/mL 进行研究;选取 60~100 °C 进行温度的研究;选取 2~6 h 5 个水平进行时间的研究,以多糖得率为评价指标,计算公式:

$$F = \frac{V \times C \times f \times W_2 \times W_1}{W_3} \times 100 \quad (1)$$

式中: F 为多糖得率,%; W_1 为舌状蜈蚣藻的质量,g; W_2 为粗多糖的质量,g; W_3 为从 W_2 中取出的用于分析的粗多糖质量,g; V 为溶解 W_3 粗多糖定容后的体积,L; f 为多糖的校正系数,约为 0.9; C 为多糖浓度,g/L。

1.2.4 响应面优化试验设计

本文根据单因素的实验结果采用 Box-Bohnken 法^[17-18],对热水浸提法提取舌状蜈蚣藻多糖最优工艺条件(料液比、温度、时间)进行响应面优化试验。实验设计见表 1。

表 1 响应面优化试验设计因素与水平

Tab.1 Factors and levels used in response surface analysis

因素 Factor	水平 Level		
	-1	0	1
A 料液比 Material-to-liquid ratio/(g/mL)	1:30	1:40	1:50
B 温度 Temperature/°C	80	90	100
C 时间 Time/h	3	4	5

1.2.5 体外抗氧化性的测定

DPPH 自由基清除率的测定参考 ZHANG 等^[19-21]的方法;羟自由基清除率的测定参考

CHENG 等^[22-24]的方法。

1.2.6 数据处理

利用 Excel 和 SPSS 22.0 软件对数据进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 多糖含量的测定

实验得到葡萄糖标准曲线回归方程:

$$y = 11.486x - 0.0117, R^2 = 0.999$$

式中: x 表示质量浓度,mg/mL; y 表示吸光度。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 料液比对多糖提取的影响

设置不同料液比,70 °C 水浴 2 h,考察料液比对多糖得率的影响。

由图 1 可知,多糖得率随着料液比的增加,呈现先增后减的趋势,当料液比达到 1:40 g/mL 时,得率达到最大值 11.00%。这多是因为当料液比偏小时,多糖提取不充分,多糖得率低;随着料液比的增加,物料与溶剂接触面积增加,使多糖的得率增加^[25-26];当料液比大于 1:40 g/mL 时,多糖得率逐渐降低,可能是由于随着料液比逐渐增加,溶剂渗透到细胞内部的扩散距离增大,导致时间延长,使得多糖得率下降^[27]。同时,考虑到溶剂量大时,不利于后续实验的进行,为了提高效率,降低消耗,选择 1:30 g/mL、1:40 g/mL、1:50 g/mL 进行响应面分析。

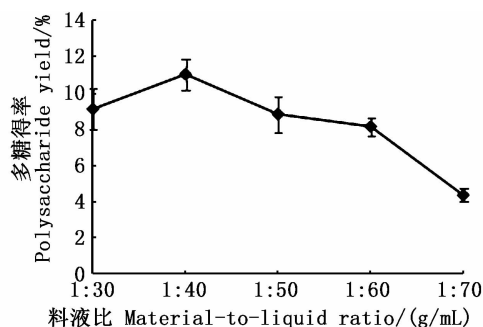


图 1 料液比对舌状蜈蚣藻多糖得率的影响
Fig.1 Effect of different solid-to-solvent ratio on extraction yield of GLP

2.2.2 温度对多糖提取的影响

由图 2 可知:温度为 60~70 °C 时,温度升高,多糖得率增加;温度为 70~90 °C 时,随着温度的升高,多糖得率缓慢增长;当达到 100 °C 时,多糖得率达到最大值 13.38%。在一定程度上,热处

理对于多糖得率起着至关重要的作用^[28],多糖的溶解度会随着温度的升高而增大,得率增加^[29-30]。因此,选择 80、90、100 °C 进行响应面实验。

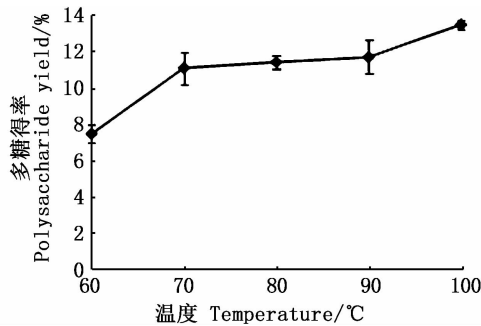


图2 温度对舌状蜈蚣藻多糖得率的影响

Fig. 2 Effect of different temperature on extraction yield of GLP

2.2.3 时间对多糖提取的影响

固定料液比为 1:40 g/mL, 100 °C 水浴处理不同时间, 观察多糖得率的变化。从图 3 可以得出: 多糖得率在 2~4 h 时间内显著增加, 在 4 h 时达到最大 15.11%, 超过 4 h 后, 多糖得率逐渐降低。这可能是随着时间的推移, 多糖逐渐溶出, 得率增加, 提取 4 h 时, 多糖基本溶解出来, 但随着时间的继续增加, 引起了多糖的降解, 从而使多糖得率下降^[31-35]。

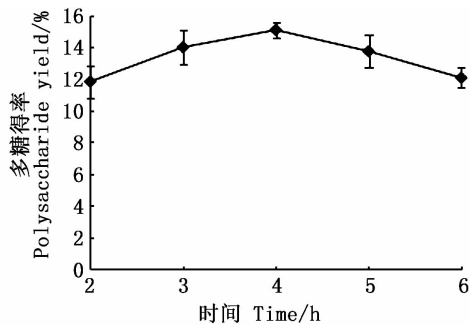


图3 时间对舌状蜈蚣藻多糖得率的影响

Fig. 3 Effect of different time on extraction yield of GLP

2.3 响应面实验结果

2.3.1 回归模型方差分析

本文选取料液比(A)、温度(B)和时间(C)作为3个自变量, 以舌状蜈蚣藻多糖得率(Y)为响应值, 采用 Box-Behnken 设计法对浸提法条件进行

设计, 结果见表 2。

表2 舌状蜈蚣藻多糖得率的响应面实验方案及结果

Tab. 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号 Number	因素 Factor			多糖得率 Polysaccharide yield/%
	A	B	C	
1	-1	-1	0	12.13
2	1	-1	0	13.63
3	-1	1	0	14.91
4	1	1	0	12.57
5	-1	0	-1	13.41
6	1	0	-1	12.09
7	-1	0	1	12.35
8	1	0	1	12.73
9	0	-1	-1	14.92
10	0	1	-1	14.99
11	0	-1	1	14.06
12	0	1	1	15.07
13	0	0	0	15.13
14	0	0	0	15.01
15	0	0	0	14.9
16	0	0	0	14.97
17	0	0	0	15.38

舌状蜈蚣藻多糖得率对料液比(A)、温度(B)以及时间(C)的二次多项式回归模型: $Y = 15.08 - 0.22A + 0.35B - 0.15C - 0.96AB + 0.43AC + 0.23BC - 1.94A^2 + 0.17B^2 - 0.49C^2$ 。

由表 3 可知, 模型的 P 小于 0.0001, 极显著, 失拟项的 P 大于 0.05, 不显著, 说明模型拟合良好, 能较好地拟合料液比、温度、时间对多糖得率的影响。回归模型的决定系数 $R_{adj}^2 = 0.9797$, 表明该模型可以拟合 97.97% 的响应值变化, 因此该模型是可靠可信的, 可以用来分析和预测多糖得率的实验结果。温度(B)、料液比与温度的交互项(AB)、料液比的二次项(A^2)以及时间的二次项(C^2)的 P 值均小于 0.001, 对多糖得率的影响极显著。料液比(A)、料液比与时间的交互项(AC)对多糖得率的影响高度显著 ($P < 0.01$)。时间(C)、温度与时间的交互项(BC)对多糖得率的影响显著 ($P < 0.05$)。但是, 温度的二次项(B^2)对于多糖得率的影响并不显著。在回归方程中, 一次项系数的绝对值越大, 对应因素对多糖得率的影响也越大。因此, 3 个因素对多糖得率的影响由大到小依次为时间、料液比、温度。

表 3 回归模型方差分析

Tab.3 Analysis of variance of the regression model

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F F	P P	显著性 Difference
模型	23.55	9	2.62	87.01	<0.0001	***
A	0.4	1	0.4	13.17	0.0084	**
B	0.98	1	0.98	32.58	0.0007	***
C	0.18	1	0.18	5.98	0.0443	*
AB	3.69	1	3.69	122.57	<0.0001	***
AC	0.72	1	0.72	24.02	0.0018	**
BC	0.22	1	0.22	7.34	0.0302	*
A ²	15.87	1	15.87	527.71	<0.0001	***
B ²	0.13	1	0.13	4.21	0.0792	
C ²	1.02	1	1.02	33.82	0.0007	***
残差 Residual	0.21	7	0.03			
失拟项 Lack of fit	0.069	3	0.023	0.65	0.6256	不显著
绝对误差 Error	0.14	4	0.035			
总误差 Sum	23.76	16				

注: * 表示 $P < 0.05$, 影响显著; ** 表示 $P < 0.01$, 影响高度显著; *** 表示 $P < 0.001$, 影响极显著。

Notes: * indicates there was a significant difference ($P < 0.05$); ** indicates there was a very significant difference ($P < 0.01$); *** indicates there was an extremely significant difference ($P < 0.001$)

2.3.2 因素的交互效应分析

由图 4 可知,料液比与温度相互作用对舌状蜈蚣藻多糖得率的影响极显著,料液比与时间交互作用对舌状蜈蚣藻多糖得率的影响高度显著,而温度与时间的交互影响对于舌状蜈蚣藻多糖得率的影响显著。对以上 3 组图进行分析可知:时间相关的曲线倾斜率大,则时间对响应值多糖得率的影响最明显;其次为料液比,而温度对响应值多糖得率的影响较小。

2.3.3 最佳条件优化及结果验证

通过对实验模型的分析,得出料液比 1:37 g/mL、提取温度 99.25 °C、提取时间 3.94 h 为提取舌状蜈蚣藻多糖的最佳工艺条件,考虑到实际情况,将最佳的实验条件调整为料液比 1:37 g/mL、提取温度 100 °C、提取时间 4 h,此时多糖得率为 15.23%,误差为 0.99%,因此本实验得到的最优条件可靠可行,具有一定的参考价值。

2.4 体外抗氧化活性测定结果

2.4.1 舌状蜈蚣藻多糖清除 DPPH 自由基的能力

DPPH 自由基的清除率是评判抗氧化剂的抗氧化能力的常用指标^[35]。由图 5 可知,舌状蜈蚣藻多糖清除 DPPH 自由基能力呈现剂量依赖性,且具有良好的线性关系($R^2 > 0.93$)。根据回归方程,计算舌状蜈蚣藻多糖对 DPPH 自由基清除能力的 IC_{50} 值为 12.61 mg/mL,低于龙须菜中硫琼

脂对 DPPH 自由基的 IC_{50} (17 mg/mL)^[35],表明舌状蜈蚣藻多糖抗氧化性强于龙须菜中的硫琼脂,具有较好的抗氧化性。但是舌状蜈蚣藻多糖 DPPH 自由基清除能力明显低于 V_c 。

2.4.2 舌状蜈蚣藻多糖清除羟自由基的能力

由图 6 可知,舌状蜈蚣藻多糖对 $\cdot OH$ 清除率呈现剂量依赖性,在 0.25 ~ 2.00 mg/mL 之间线性关系良好。依据清除率曲线 $y = 20.045x + 8.8412$, $R^2 = 0.9442$,计算舌状蜈蚣藻多糖对 $\cdot OH$ 的 IC_{50} 为 2.05 mg/mL,低于蜈蚣藻多糖对 $\cdot OH$ 的 IC_{50} (4.62 mg/mL)^[36],说明舌状蜈蚣藻多糖的抗氧化性优于蜈蚣藻多糖。但由图 6 可知,舌状蜈蚣藻抗氧化性明显低于 V_c 。

3 讨论

海藻多糖的提取方法主要有溶剂提取法、酶解法、物理提取法以及复合法等,方法众多,各有利弊。目前,主要以水浸提法为主。本文采用热水浸提法提取舌状蜈蚣藻多糖,多糖提取的最佳工艺条件为料液比 1:37 (g/mL)、100 °C 沸水浴提取 4 h,此时多糖得率为 15.23%,约为带形蜈蚣藻 (*Grateloupia turuturu*) 多糖得率^[37]的 1.9 倍,但是明显低于蜈蚣藻 (*Grateloupia filicina*)^[38]、赛氏蜈蚣藻 (*Grateloupia setchellii kylin*)、青岛蜈蚣藻 (*Grateloupia qingdaoensis*)^[39]。这可能是由于蜈蚣

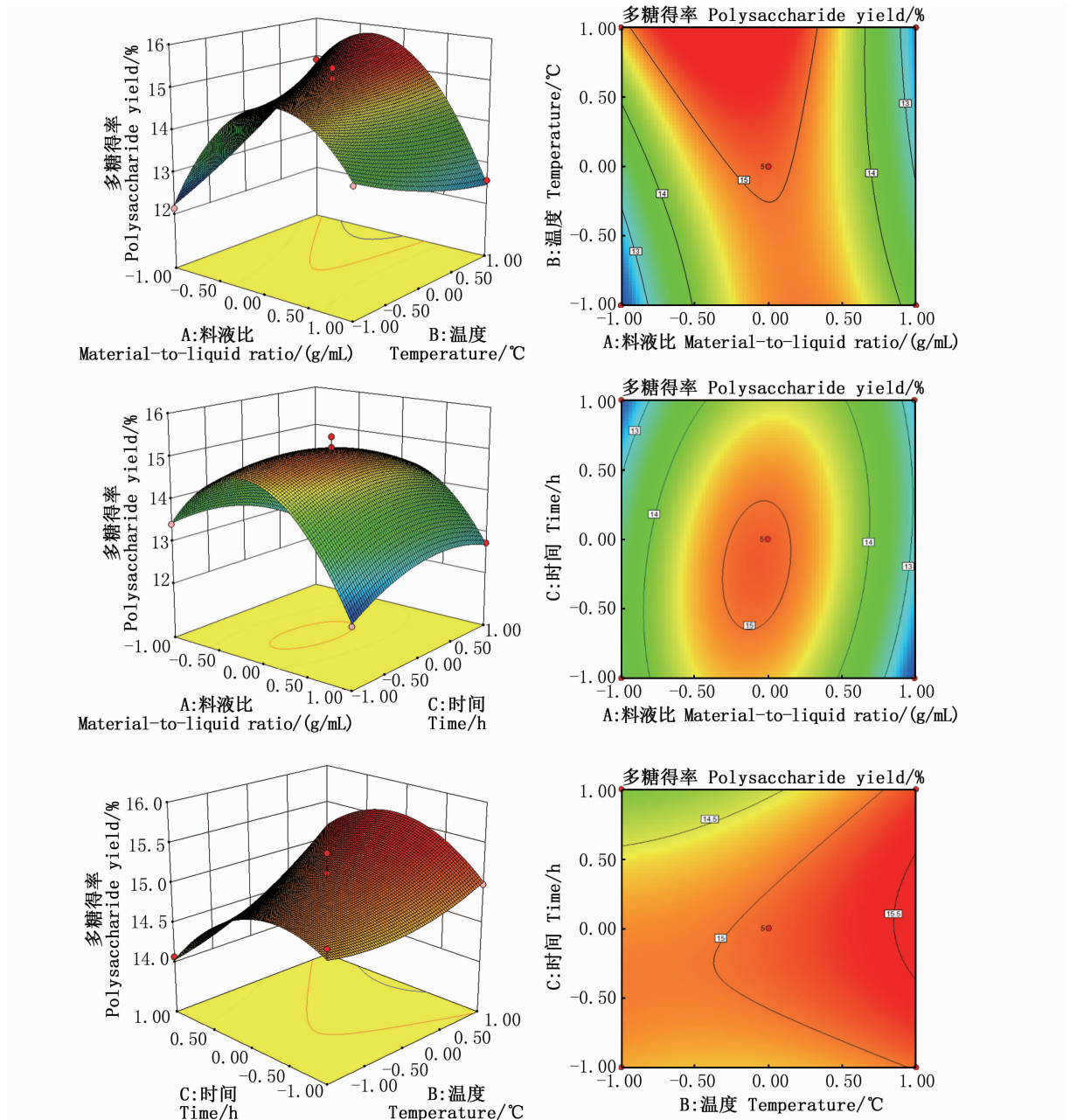


图 4 各因素交互作用对多糖含量影响的响应面图

Fig. 4 Response surface plots showing the interactive effects of various factors on polysaccharide yield

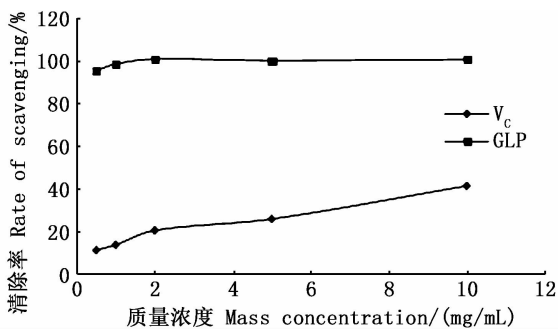


图 5 多糖对 DPPH 自由基清除能力
Fig. 5 Scavenging effect of GLP on DPPH

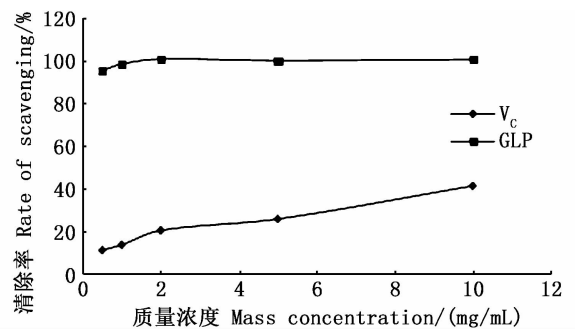


图 6 多糖对 ·OH 自由基清除能力
Fig. 6 Scavenging effect of GLP on ·OH

藻的种类不同,使得多糖得率不同。研究发现,提前浸泡、适当增加多糖提取次数可以提高多糖得率。同时,藻类自身的产地、生长期,以及提取时的醇沉浓度对多糖得率也有一定的影响^[38,40]。

我国是海藻养殖大国,但是海藻的利用率不高,主要用来食用、制胶等。大量研究表明,海藻多糖具有抗氧化、抗病毒、抗凝血、抗肿瘤、免疫调节等多种生物活性,有望应用于医药保健方向,提高海藻利用率以及海藻产业价值。近年来,海藻多糖的抗氧化活性受到越来越多的关注。研究表明,海藻多糖有较强的清除自由基的能力,能减少自由基的氧化反应,降低自由基对于人体细胞的氧化攻击。本文通过测定舌状蜈蚣藻多糖的 DPPH 自由基和羟自由基清除率,评价其体外抗氧化活性。结果表明:舌状蜈蚣藻多糖对 DPPH 自由基和羟自由基的清除能力均呈现剂量依赖性,随着多糖浓度的增加,自由基清除能力增强。舌状蜈蚣藻多糖对 DPPH 自由基和羟自由基的 IC₅₀ 分别为 12.61 mg/mL 和 2.05 mg/mL,体外抗氧化活性较好,有望成为应用于食品、药品和化妆品行业的新型抗氧化剂。

参考文献:

- [1] 夏邦美. 中国海藻志·第二卷·红藻门·第三册[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 118-122.
XIA B M. Chronicle of the sea of China volume II. Red algae gate volume III[M]. Beijing: Science Press, 2004: 118-122.
- [2] MONTES M, RICO J M, GARCÍA-VAZQUEZ E, et al. Molecular barcoding confirms the presence of exotic Asian seaweeds (*Pachymeniopsis gargaui* and *Grateloupia turuturu*) in the Cantabrian Sea, Bay of Biscay[J]. PeerJ, 2017, 5: e3116.
- [3] GARCIA-JIMENEZ P, MONTERO - FERNÁNDEZ M, ROBAINA R R. Molecular mechanisms underlying *Grateloupia imbricata* (Rhodophyta) carposporogenesis induced by methyl jasmonate[J]. Journal of Phycology, 2017, 53(6): 1340-1344.
- [4] 陈伟洲, 宋志民, 黄中坚. 温度、光照强度对舌状蜈蚣藻早期发育的影响[J]. 南方水产科学, 2013, 9(6): 14-19.
CHEN W Z, SONG Z M, HUANG Z J. Effects of temperature and irradiance on early development of *Grateloupia livida*[J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(6): 14-19.
- [5] DENIS C, MORANÇAIS M, LI M, et al. Study of the chemical composition of edible red macroalgae *Grateloupia turuturu* from Brittany (France) [J]. Food Chemistry, 2010, 119(3): 913-917.
- [6] RODRIGUES D, FREITAS A C, PEREIRA L, et al. Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in central west coast of Portugal[J]. Food Chemistry, 2015, 183: 197-207.
- [7] WANG S C, BLIGH S W A, SHI S S, et al. Structural features and anti-HIV-1 activity of novel polysaccharides from red algae *Grateloupia longifolia* and *Grateloupia filicina*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2007, 41(4): 369-375.
- [8] TANG L, CHEN Y C, JIANG Z B, et al. Purification, partial characterization and bioactivity of sulfated polysaccharides from *Grateloupia livida* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94: 642-652.
- [9] 马军, 侯萍, 陈燕, 等. 几种海藻多糖抗氧化活性及体外抗脂质过氧化作用的研究[J]. 南方水产科学, 2017, 13(6): 97-104.
MA J, HOU P, CHEN Y, et al. Study on antioxidant activity and anti-lipid peroxidation effect of several algal polysaccharides[J]. South China Fisheries Science, 2017, 13(6): 97-104.
- [10] YU Y, SHEN M Y, SONG Q Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91-101.
- [11] 朱良, 张杰平, 王一飞. 繁枝蜈蚣藻多糖的抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(3): 453-456.
ZHU L, ZHANG J P, WANG Y F. Study on antioxidant activity of *Grateloupia filicina* polysaccharide [J]. Food Science, 2008, 29(3): 453-456.
- [12] 张婧婧, 刘秋风, 吴成业. 蜈蚣藻多糖提取工艺优化[J]. 福建水产, 2013, 35(4): 290-295.
ZHANG J J, LIU Q F, WU C Y. Extraction technology optimization of polysaccharides from *Grateloupia filicina*[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2013, 35(4): 290-295.
- [13] 刘欢, 陈胜军, 杨贤庆. 海藻多糖的提取、分离纯化与应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(12): 341-346.
LIU H, CHEN S J, YANG X Q. Advances of extraction, purification and application of polysaccharides from seaweeds [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(12): 341-346.
- [14] 朱良, 张青, 王一飞, 等. 正交试验法优选繁枝蜈蚣藻粗多糖的提取工艺[J]. 食品科学, 2006, 27(2): 151-154.
ZHU L, ZHANG Q, WANG Y F, et al. Optimum extraction process of polysaccharides from *Grateloupia filicina* by orthogonal test[J]. Food Science, 2006, 27(2): 151-154.
- [15] 杨永利, 郭守军, 张正平, 等. 带状蜈蚣藻粗多糖的提取工艺优化[J]. 广东农业科学, 2011, 38(24): 74-76.
YANG Y L, GUO S J, ZHANG Z P, et al. Optimizing study for the technics of extracting polysaccharide from the *Gratelou-*

- pia uruturu* Yamada [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2011, 38(24): 74-76.
- [16] 周海洋. 迷迭香多糖的抗疲劳功能及机制研究[J]. 现代预防医学, 2018, 45(1): 43-46.
- ZHOU H Y. Anti-fatigue mechanism of *Rosmarinus officinalis* L polysaccharides [J]. Modern Preventive Medicine, 2018, 45(1): 43-46.
- [17] 宋佳敏, 王鸿飞, 孙滕, 等. 响应面法优化金蝉花多糖提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 275-281.
- SONG J M, WANG H F, SUN M, et al. Optimization of extraction and antioxidant activity of polysaccharides from *Cordyceps cicadae* by response surface methodology [J]. Food Science, 2018, 39(4): 275-281.
- [18] YANG S Y, LI Y, JIA D Y, et al. The synergy of Box-Behnken designs on the optimization of polysaccharide extraction from mulberry leaves [J]. Industrial Crops and Products, 2017, 99: 70-78.
- [19] ZHANG L, HU Y, DUAN X Y, et al. Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from thirteen boletus mushrooms [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 113: 1-7.
- [20] SUN J, ZHOU B, TANG C, et al. Characterization, antioxidant activity and hepatoprotective effect of purple sweetpotato polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 115: 69-76.
- [21] SHEN S G, JIA S R, WU Y K, et al. Effect of culture conditions on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Nostoc flagelliforme* [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 198: 426-433.
- [22] CHENG H, HUANG G L. Extraction, characterisation and antioxidant activity of *Allium sativum* polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 415-419.
- [23] TANG Q L, HUANG G L. Preparation and antioxidant activities of cuaurbit polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 117: 362-365.
- [24] 吴静, 胡晓, 杨贤庆, 等. 鸢乌贼酶解产物的抗氧化稳定性与功能特性[J]. 南方水产科学, 2016, 12(5): 105-111.
- WU J, HU X, YANG X Q, et al. Antioxidant stability and functional properties of enzymatic hydrolysates from purple back flying squid (*Symplectoteuthis oualaniensis*) [J]. South China Fisheries Science, 2016, 12(5): 105-111.
- [25] 申翔宇, 徐玲, 黄雅婷, 等. 响应面法优化绿萝花多糖提取及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2018, 43(1): 203-209.
- SHEN X Y, XU L, HUANG Y T, et al. Response surface methodology for optimization of extraction process and antioxidant activity on *Scindapsus aureus* polysaccharides [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(1): 203-209.
- [26] PASANDIDE B, KHODAIYAN F, MOUSAVI Z E, et al. Optimization of aqueous pectin extraction from *Citrus medica* peel [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 178: 27-33.
- [27] RAZA A, LI F, XU X Q, et al. Optimization of Ultrasonic-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from the stem of *Trapa quadrispinosa* using response surface methodology [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94: 335-344.
- [28] 崔汉钊, 郝蒙蒙, 杨玲. 新疆药桑叶多糖的提取工艺与纯化分离研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(15): 49-52.
- CUI H Z, HAO M M, YANG L. Extraction process and purification of *Morus nigra* leaves polysaccharide in Xinjiang [J]. Food Research and Development, 2018, 39(15): 49-52.
- [29] YE Z P, WANG W, YUAN Q X, et al. Box - Behnken design for extraction optimization, characterization and in vitro antioxidant activity of *Cicer arietinum* L. hull polysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 147: 354-364.
- [30] 林威, 于萍, 李楠, 等. 浒苔多糖的碱法提取工艺研究[J]. 温州大学学报·自然科学版, 2010, 31(5): 39-43.
- LIN W, YU P, LI N, et al. Study on alkali extracting technique of polysaccharide from *Enteromorpha prolifera* [J]. Journal of Wenzhou University · Natural Sciences, 2010, 31(5): 39-43.
- [31] 郭超, 宋慧, 梁凤, 等. 金针菇多糖的提取工艺优化及荧光标记研究[J]. 菌物研究, 2018, 16(1): 43-50.
- GUO C, SONG H, LIANG F, et al. The study on the optimization of extraction technology and fluorescence labeling of *Flammulina velutipes* polysaccharides [J]. Journal of Fungal Research, 2018, 16(1): 43-50.
- [32] 陈培琳, 陈钊杰, 周雨嘉, 等. 响应面分析法优化莲子心多糖的提取工艺[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2017, 46(6): 708-715.
- CHEN P L, CHEN C J, ZHOU Y J, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from lotus plumula by response surface methodology [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2017, 46(6): 708-715.
- [33] 吉聪辉. 枸杞残次果多糖提取工艺优化和抗氧化活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- JI C H. Study on optimization of extraction and antioxidant activity in defective fruit of *Lycium barbarum* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2018.
- [34] 蔡彬新, 周逢芳, 姚玲灵. 海带多糖的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(9): 80-82.
- CAI B X, ZHOU F F, YAO L L. Extraction technology of *Laminaria polysaccharide* [J]. Food Research and Development, 2012, 33(9): 80-82.
- [35] 刘秋凤, 吴成业, 苏永昌. 龙须菜中硫琼脂的体外抗氧化评价及降血糖、降血脂活性的动物试验[J]. 南方水产科学, 2013, 9(3): 57-66.
- LIU Q F, WU C Y, SU Y C. Study on antioxidation, animal

- experiments of hyperglycemia and hyperlipemia of agaropectin from *Gracilaria lemaneiformis* [J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(3): 57-66.
- [36] 张婧婧, 刘秋凤, 吴成业. 蜈蚣藻多糖纯化及抗氧化作用的研究[J]. 福建水产, 2013, 35(5): 362-367.
- ZHANG J J, LIU Q F, WU C Y. Study on purification and antioxidation of polysaccharides from *Grateloupia filicina* [J]. Journal of Fujian Fisheries, 2013, 35(5): 362-367.
- [37] 芮雯. 带形蜈蚣藻 (*Grateloupia turuturu*)、总状蕨藻 (*Caulerpa racemosa*) 的部分化学成分分析及生物活性研究[D]. 广州: 暨南大学, 2006.
- RUI W. Study on the partial chemical constituents and the bioactivities of marine algae *Grateloupia turuturu* and *Caulerpa racemosa* [D]. Guangzhou: Jinan University, 2006.
- [38] 郭守军, 杨永利, 许桂旋, 等. 蜈蚣藻多糖冷水溶和热水溶部分流变性的比较研究[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 98-103.
- GUO S J, YANG Y L, XU G X, et al. Study on rheological properties of *Grateloupia filicina* Polysaccharide extracted in hot water or cold water [J]. Food Science, 2007, 28(6): 98-103.
- [39] 王薇. 三种蜈蚣藻多糖的提取分离及结构研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- WANG W. Research in separation and structure of sulfated polysaccharides from three kinds of *Grateloupia* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [40] 朱艳梅, 王一飞, 张美英, 等. 蜈蚣藻多糖的提取分离及抗病毒活性的研究[J]. 中药材, 2006, 29(3): 256-259.
- ZHU Y M, WANG Y F, ZHANG M Y, et al. The study on the extraction and the antivirus activity of amylose extracted from *Grateloupia filicina* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2006, 29(3): 256-259.

Extraction and antioxidant activity of polysaccharides from *Grateloupia livida*

CHEN Shengjun^{1,2}, LIU Huan^{1,3}, YANG Shaoling¹, YANG Xianqing^{1,2}, QI Bo¹, HU Xiao¹

(1. National Research and Development Center for Aquatic Product Processing, Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, Guangdong, China; 2. Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang 222005, Jiangsu, China; 3. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The extraction of polysaccharides from *Grateloupia livida* (GLP) was optimized using one-factor-at-a-time method and response surface methodology. Solid-to-solvent ratio, temperature and time were used as independent variables while polysaccharide yield was used as response variable. The antioxidant activity of GLP was investigated by measuring scavenging activities against 1, 1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$). The results showed that the optimum extraction conditions were found to be extraction at 100 °C for 4 h with a solid-to-solvent ratio of 1:37 g/mL, while polysaccharide yield was 15.23%. GLP possessed strong antioxidant activity with half inhibitory concentration (IC_{50}) for scavenging of DPPH and hydroxyl radicals. 12.61 mg/mL and 2.05 mg/mL, respectively.

Key words: *Grateloupia livida*; polysaccharides; response surface methodology; antioxidant activity