

鲍鱼脏器碱提多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究

林志超, 潘晓明, 吴启赐, 薛钰, 黄家福, 潘裕添

Isolation, Purification, Structure Characterization and Antioxidant Activity of Alkali-extracted Polysaccharide from Abalone Viscera

LIN Zhichao, PAN Xiaoming, WU Qici, XUE Yu, HUANG Jiafu, and PAN Yutian

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030266>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

碱提砂仁多糖的结构表征及其抗氧化活性研究

Structure Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Amomum villosum* Extracted with Alkaline Solution
食品工业科技. 2021, 42(24): 87-93 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040255>

鲍鱼内脏蛋白的提取及水解肽的抗氧化活性研究

Extraction of Visceral Protein and Antioxidant activity of Hydrolytic Peptides of the Abalone
食品工业科技. 2019, 40(8): 136-144 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.08.024>

响应面法优化固相酸水解鲍鱼脏器多糖工艺

Optimization of Solid Phase Acid Hydrolysis of Polysaccharide from Abalone Viscera by Response Surface Methodology
食品工业科技. 2020, 41(11): 171-176 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.11.026>

诺丽多糖的单糖组成分析及体外抗氧化活性研究

Study on monosaccharide compositions analysis and antioxidant activity in vitro of polysaccharides from Noni
食品工业科技. 2017(17): 56-60 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.17.011>

碱提桑黄菌丝体多糖的抗氧化活性

Antioxidant Activities of Polysaccharides from *Phellinus linteus* Mycelia by Alkaline Extraction
食品工业科技. 2020, 41(1): 289-294 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.01.047>

不同栽培方式银耳多糖单糖组成分析及体外抗氧化活性比较

Monosaccharide Composition Analysis and Antioxidant Activity Comparison of Polysaccharides from *Tremella fuciformis* Cultivated in Different Methods
食品工业科技. 2019, 40(8): 54-60 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.08.010>



林志超, 潘晓明, 吴启赐, 等. 鲍鱼脏器碱提多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 53-60.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030266

LIN Zhichao, PAN Xiaoming, WU Qici, et al. Isolation, Purification, Structure Characterization and Antioxidant Activity of Alkali-extracted Polysaccharide from Abalone Viscera[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 53-60. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030266

· 研究与探讨 ·

鲍鱼脏器碱提多糖的分离纯化、结构表征及 抗氧化活性研究

林志超¹, 潘晓明^{2,+}, 吴启赐¹, 薛钰¹, 黄家福¹, 潘裕添^{1,*}
(1. 闽南师范大学菌物产业工程技术中心, 福建漳州 363000;
2. 萌得尔(厦门)生物科技有限公司, 福建厦门 361000)

摘要:目的: 分离纯化鲍鱼脏器碱提多糖(alkali-extracted abalone viscera polysaccharides, Aavp), 并研究其结构和抗氧化活性, 以为鲍鱼脏器碱提多糖的开发及应用提供参考。方法: 通过热碱提醇沉获得鲍鱼脏器碱提粗多糖, 经 DEAE Sepharose Fast Flow 和 Sephacryl S-400 HR 纯化得到高纯度多糖, 并利用气相色谱、高效液相色谱、红外光谱和热重分析仪等工具分析其结构及抗氧化活性。结果: 粗多糖纯化后得到四个组分, 包括 Aavp Ia、Aavp Ib、Aavp IIa 和 Aavp IIb, 其中 Aavp IIa 得率较高, 选择其进一步进行结构分析。分析发现, Aavp IIa 由木糖和半乳糖组成, 分子量为 166513 Da; 糖苷键构型为 α 型, 组成如下: 半乳糖 1 \rightarrow 4 糖苷键摩尔百分比为 11.81%, 半乳糖 1 \rightarrow 3 糖苷键为 34.14%, 半乳糖 1 \rightarrow 2 糖苷键为 10.14%; 木糖 1 \rightarrow 3 糖苷键摩尔百分比为 33.85%, 1 \rightarrow 2 和 1 \rightarrow 4 糖苷键共占 10.06%。热重分析显示, Aavp IIa 在 226.4-332.6 $^{\circ}$ C 下断裂分解, 热失重率为 43.65%。抗氧化实验显示 Aavp IIa 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除率为 85.89%, 对 DPPH \cdot 的清除率为 62.17%, 具有一定的抗氧化活性。结论: 提取的鲍鱼脏器碱提多糖是一类杂多糖, 并具有一定的抗氧化活性。

关键词: 鲍鱼脏器, 碱提多糖, 单糖组成, 热重分析, 抗氧化活性

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)04-0053-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030266



本文网刊:

Isolation, Purification, Structure Characterization and Antioxidant Activity of Alkali-extracted Polysaccharide from Abalone Viscera

LIN Zhichao¹, PAN Xiaoming^{2,+}, WU Qici¹, XUE Yu¹, HUANG Jiafu¹, PAN Yutian^{1,*}

(1. Engineering Technological Center of Mushroom Industry, Minnan Normal University, Zhangzhou 363000, China;

2. Mendel (Xiamen) Biotechnology Co., Ltd., Xiamen 361000, China)

Abstract: Objective: Alkali-extracted polysaccharides from Abalone viscera (Aavp) were isolated and purified. The structure and antioxidant activity of Aavp were studied, which would provide a reference for developing and applying polysaccharides. Methods: The crude alkali-extracted polysaccharide was prepared by hot alkali extraction and alcohol precipitation. After the purification of DEAE sepharose fast flow and sephacryl S-400 HR, the purified polysaccharide was obtained and subjected to the structural analysis and antioxidant activity assay, such as Gas chromatography (GC), high-performance liquid chromatography (HPLC), infrared spectroscopy (IR), and thermogravimetric analyzer (TGA), etc. Result: Four kinds of components (Aavp Ia, Aavp Ib, Aavp IIa, and Aavp IIb) were obtained from the crude polysaccharide. Because of the highest yield, Aavp IIa was selected for further structural analysis. Aavp IIa was composed of xylose and

收稿日期: 2023-03-27 +并列第一作者

基金项目: 福建省科技厅对外合作项目(202210022); 福建省自然科学基金面上项目(2020J01822, 2020J01823, 2020J01809); 国家科技项目备案(2021L3027); 闽南师范大学培育项目(MSPY2022002, MSPY202101)。

作者简介: 林志超(1978-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 天然产物化学生物学, E-mail: mlin19781122@126.com。

潘晓明(1988-), 男, 本科, 研究方向: 天然产物化学生物学, E-mail: 279731072@qq.com。

* 通信作者: 潘裕添(1969-), 男, 本科, 教授, 研究方向: 天然产物化学生物学, E-mail: pyt1106@mnnu.edu.cn。

galactose, with a relative molecular weight of 166513 Da. IR characterized the α -glycosidic bond configuration. The composition of Aavp IIa was possible as follows: The molar percentage of the galactose 1 \rightarrow 4 glycosidic bond was 11.81%, the galactose 1 \rightarrow 3 glycosidic bond was 34.14%, and the galactose 1 \rightarrow 2 glycosidic bond was 10.14%. The molar percentage of the xylose 1 \rightarrow 3 glycosidic bond was 33.85%, and the 1 \rightarrow 2 and 1 \rightarrow 4 glycosidic bond was 10.06%. Thermogravimetric analysis showed that Aavp IIa was broken and decomposed at 226.4~332.6 °C, and the thermal weight loss rate was 43.65%. Antioxidant experiments showed that Aavp IIa had a scavenging rate of 85.89% for superoxide anion radicals and 62.17% for DPPH radicals, respectively, presenting a certain antioxidant activity. Conclusion: Aavp is a heteropolysaccharide with specific antioxidant activity.

Key words: abalone viscera; alkali extraction polysaccharide; monosaccharide composition; thermogravimetric analysis; antioxidant activity

鲍鱼是一种海洋单壳软体贝类,具有重要的营养价值^[1],富含蛋白质^[2]、脂肪^[3]、糖类^[4-5]、氨基酸、维生素、微量元素等营养成分,具有重要的生物功能和很高的生物活性^[6-7],在生命科学和医药上具有巨大的研究和应用价值^[8]。而在鲍鱼的深加工过程中,占鲍鱼体重的 20%~30% 的脏器通常被废弃^[9-11],造成经济损失和环境污染。研究表明,鲍鱼脏器多糖有广泛的生物学活性,如抗氧化^[12]、抗肿瘤^[13]、免疫调节、降血糖、降血脂^[14]、抗病毒等^[15-16]。

鲍鱼脏器多糖提取方法有水提、碱提和酶法提取等^[17]。这些方法各有优缺点:水提法成本低,对多糖结构影响小,但提取率低且耗时;酶法提取效率高,条件温和,但成本高,对多糖结构影响较大;碱提法成本低,效率高,但要注意控制提取条件,pH 应迅速调中性,以防止多糖降解^[18]。碱提法适用于酸性多糖的提取^[19],而海洋生物多糖大都为酸性多糖^[20]。但鲍鱼脏器碱提多糖鲜有报道,因此,对比鲍鱼脏器碱提多糖与其他方法提取的鲍鱼脏器多糖在单糖组成、分子量大小等结构及组成上的异同,具有一定的研究价值和意义。

本文采用热碱水浸提法和层析法制备高纯度 Aavp,并利用红外光谱法、高效液相色谱、气相色谱和化学方法等分析纯化 Aavp 的初级结构,最后检测其体外抗氧化活性。本文着眼于海洋生物资源的高效开发,旨在提高鲍鱼的经济附加值,充分利用废弃的鲍鱼脏器资源,为鲍鱼产业的可持续发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

杂色鲍(*Haliotis diversicolor*) 福建省东山县长盛食品有限公司;单糖标准品(D-木糖、D-半乳糖、D-葡萄糖、D-甘露糖、D-阿拉伯糖和 D-鼠李糖)、葡聚糖(Dextran T-10、T-40、T-70、T-110 和 T-500) 优级纯,美国 Sigma 公司;Tris、硫酸、苯酚、乙醇、盐酸、溴化钾、乙酸酐、高碘酸钠、盐酸羟胺、吡啶、氢氧化钡、乙二醇、抗坏血酸、邻苯三酚、DPPH 等分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

UV-2102PC 型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;Senco R1002B 旋转蒸发器 上海

申生科技有限公司;SBS-100 数控计滴自动部分收集器 上海沪西分析仪器有限公司;Pellicon XL 超滤膜包 Biomax 5 kDa 0.005 m² 美国 Millipore 公司;7890B 气相色谱、Agilent 1200 HPLC 系统、1260 Infinity II 示差检测器 美国 Agilent 公司;ÄKTA pure 蛋白纯化系统 美国 GE 公司;NICOLET iS10 傅里叶红外光谱仪 德国赛默飞世尔公司;TG209-F1 热重分析仪 德国耐驰公司;UV-3200PC 紫外可见光谱仪 上海美谱达仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 Aavp 粗多糖提取 参考戴宏杰等^[21]的方法加以改进。具体方法如下:从杂色鲍中剥离鲍鱼脏器,并去除鲍鱼脏器的结缔组织及脂肪组织,洗净消化道中的食物残渣,匀浆后冻干,研磨后过 30 目筛备用。取 10 g 冻干粉,用 4 倍质量 95% 乙醇 60 °C 下回流 6 h 进行脱脂^[22],重复两次,干燥,用 8 倍质量超纯水在 95 °C 下提取 3 h,重复三次,过滤。滤渣加入 100 mL 0.5 mol/L NaOH 溶液中,95 °C 水浴搅拌 3 h,离心(10000 r/min, 10 min)。滤渣提取 2 次,合并上清液。调节上清液至 pH7,经旋转蒸发浓缩得浓缩液。将 4 倍质量 95% 乙醇与浓缩液混合过夜,离心(12000 r/min, 20 °C, 15 min),沉淀用超纯水溶解,并用旋转蒸发器脱去残余乙醇(60 °C)。再用超滤(5000 Da)除盐浓缩,Sevage 法去除蛋白质^[23],旋蒸去除有机溶剂,冻干备用。

1.2.2 多糖含量及多糖得率计算 用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[24],其标准曲线回归方程为 $y=0.0125x+0.0625$, $R^2=0.9983$ 。分别按公式(1)和(2)计算多糖含量及多糖得率。

$$D(\%) = \frac{c \times v \times n \times 0.9}{m_1} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: D, 纯化后冻干粉多糖含量, %; c, 样品溶液多糖浓度, mg/mL; v, 溶液总体积, mL; n, 稀释倍数; m₁, 鲍鱼脏器多糖冻干粉质量, g。

$$G(\%) = \frac{c \times v \times n \times 0.9}{m_2} \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: G, 鲍鱼脏器冻干粉多糖得率, %; c, 样品溶液多糖浓度, mg/mL; v, 溶液总体积, mL; n, 稀释倍数; m₂, 鲍鱼脏器冻干粉质量, g。

1.2.3 Aavp 纯化

1.2.3.1 DEAE Sepharose Fast Flow (DFF) 柱层析 参考林志超等^[25]方法加以改进,确定层析方法如下:称取 5 g 粗多糖 Aavp,充分溶解于 40 mL Tris-HCl (pH7.2, 50 mmol/L) 溶液,0.2 μm 微孔滤膜过滤,上样至 DFF 阴离子交换柱(柱体积为 Φ 5.0 cm×25 cm),用 0.5 mol/L NaCl 溶液梯度洗脱,流速为 2 mL/min,收集洗脱液,检测多糖含量。以管数为横坐标,多糖含量为纵坐标,绘制洗脱曲线。根据洗脱曲线收集主峰,减压旋转蒸发浓缩,真空冷冻干燥备用。

1.2.3.2 Sephacryl S-400 HR 柱层析 经过预实验,确定层析方法如下:采用 0.2 mol/L NH₄HCO₃ 溶液在流速 30 mL/h 下平衡 Sephacryl S-400 HR 柱(柱体积为 Φ 2.6 cm×90 cm)24 h 后,40 mg 通过上述 DFF 柱层析获得的多糖组分溶解于 1 mL 0.2 mol/L NH₄HCO₃ 溶液后上样,收集洗脱液并检测多糖含量,绘制洗脱曲线,收集洗脱曲线主峰,减压旋转蒸发,超纯水透析(4 ℃),至超纯水中检测不出 Cl⁻(AgNO₃ 沉淀法^[26]),真空冷冻干燥备用。

1.2.4 Aavp 初级结构分析

1.2.4.1 Aavp 纯度检测及分子量测定 利用 HPLC 检测 Aavp 组分纯度及分子量^[27]。多糖标准溶液: Dextran T-10、T-40、T-70、T-110 和 T-500,浓度为 10 mg/mL。HPLC 色谱条件: Agilent ZORBAX GF-250 分析柱,流速 0.3 mL/min,柱温 65 ℃,流动相为超纯水,采用示差检测器检测,温度 65 ℃,进样体积 20 μL。以标准样品色谱峰的保留时间对 Mw 的对数进行回归,得回归方程。将 Aavp 样品的保留时间代入回归方程,得 Mw。

1.2.4.2 紫外光谱分析 将多糖样品配制成 0.5 mg/mL 的水溶液,在 200~500 nm 波长范围内进行紫外波长扫描^[28]。

1.2.4.3 红外光谱分析 将 1 mg 干燥的纯化多糖样品和 100 mg 溴化钾研磨均匀,压成透明薄片后,上傅里叶红外光谱仪分析,扫描波数为 400~4000 cm⁻¹^[29]。

1.2.4.4 单糖组成分析 称取 200 mg 纯化 Aavp 样品,溶于 4 mL 1 mol/L 的 H₂SO₄ 溶液,封管,100 ℃ 水浴反应 8 h 后,用饱和 Ba(OH)₂ 溶液中和,离心(3000 r/min, 10 min),上清液浓缩至 4 mL,再离心(12000 r/min, 10 min)去除沉淀物,上清液真空冷冻干燥,备用。称取 10 mg 上述冻干样品和系列单糖标准品,加入 10 mg 盐酸羟胺和 0.5 mL 吡啶,90 ℃ 水浴 30 min,冷却至室温,再加 0.5 mL 乙酸酐,90 ℃ 水浴 30 min,样品经 0.45 μm 有机膜过滤后进行 GC 分析。

气相色谱条件: A.T.农残 1 号毛细管柱(Φ 0.53 mm×30 m);氢火焰离子化检测器(FID);气化室温度 270 ℃;柱温恒温 220 ℃;检测器温度 300 ℃;气体流速:载气 N₂ 为 20 mL/min;H₂ 为

30 mL/min;空气为 200 mL/min;进样量 1 μL。

1.2.4.5 糖苷键测定 采用张惟杰^[30]的方法加以修改。

标准曲线绘制:分别吸取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、4.0 mL 浓度为 15 mmol/L NaIO₄ 标准溶液于试管中,加纯水至 4 mL。从上述各管中分别吸取 20 μL 溶液,加水定容至 5 mL,在 223 nm 下测定吸光度。以 NaIO₄ 溶液浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

高碘酸氧化:称取样品 205 mg,加入 150 mL NaIO₄ 溶液,避光反应。于 4、24、48 h 等间隔时间取样稀释 250 倍后,223 nm 测定吸光度值。待其稳定后,加入过量乙二醇并搅拌 30 min。吸取 2 mL 样液,以酚酞为指示剂,用 0.01 mol/L NaOH 溶液标定,以 NaIO₄ 溶液为空白对照测定 HCOOH 产生量。剩余样液加入过量 KBH₄,避光反应 18~24 h。将经上述处理后的样液用 5000 Da 超滤膜超滤去除过量 KBH₄,冻干得多糖醇干品。

Smith 降解:取多糖醇 10 mg 加入 5 mL 2 mol/L 硫酸溶液,酒精喷灯封管,100 ℃ 水浴 8 h。结束后,加入 Ba(OH)₂ 粉末中和,过滤,滤渣用少量水洗涤,合并滤液与洗液,冻干。

气相分析:方法同 1.2.4.4。

1.2.4.6 热重分析 通过热失重分析仪测定 Aavp 的热稳定性。条件为: N₂ 流速: 50 mL/min; 温度范围: 28~900 ℃; 升温速率: 10 ℃/min。

1.2.5 抗氧化活性测定

1.2.5.1 多糖体外清除 O₂⁻ 能力测定 根据王丽娟等^[31]的方法进行适当改进。用超纯水配制不同浓度的抗坏血酸,分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL;同时分别配制 0.2、0.8、1.6、3.2、6.4 mg/mL 的 Aavp 粗多糖溶液和 Aavp IIa 溶液。取 2.55 mL Tris-HCl 溶液(pH8.2, 0.05 mol/L),25 ℃ 恒温预热 20 min,加入 0.4 mL 上述不同浓度的抗坏血酸溶液、Aavp 粗多糖溶液和 Aavp IIa 溶液,再加入 10 mmol/L 邻苯三酚 0.05 mL,振荡摇匀,反应 4 min 后立即加入 50 μL 10 mol/L HCl 终止反应,325 nm 处测定其吸光度。按公式(3)计算清除率。

$$B(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: B, O₂⁻ 清除率, %; A₀, 空白组在波长 325 nm 处的吸光值; A₁, 试样组在波长 325 nm 处的吸光值。

1.2.5.2 多糖体外清除 DPPH· 能力测定 抗坏血酸和 Aavp IIa 分别用 1.2.5.1 方法配制成溶液。将 2 mL 0.2 mmol/L DPPH· 溶液(无水乙醇溶解)加入 2 mL 不同浓度上述的抗坏血酸和 Aavp IIa 溶液中,混匀,室温避光反应 30 min,在 517 nm 下测定吸光度。按公式(4)计算 DPPH· 清除率。

$$C(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: C, DPPH·清除率, %; A_0 , 空白组在波长 517 nm 处的吸光值; A_1 , 试样组在波长 517 nm 处的吸光值。

1.3 数据处理

试验重复三次, 利用 Design Expert 8.0.6 进行数据统计分析, 采用 Origin 2017 软件绘图, SPSS 26.0 软件进行显著性分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 Aavp 的分离纯化

2.1.1 DEAE Sepharose Fast Flow 纯化 经过方法 1.2.3.1 处理, Aavp 得率为 11.21%。Aavp 经 DFF 层析柱分离后, 分别得 Aavp I 和 Aavp II (图 1), 得率分别为 3.08% 和 61.63%。经真空冷冻干燥后, 获得 Aavp I 和 Aavp II 为质地较硬的白色晶体, 可能是洗脱液中盐分未除去, 进一步采用尺寸排阻层析分离。

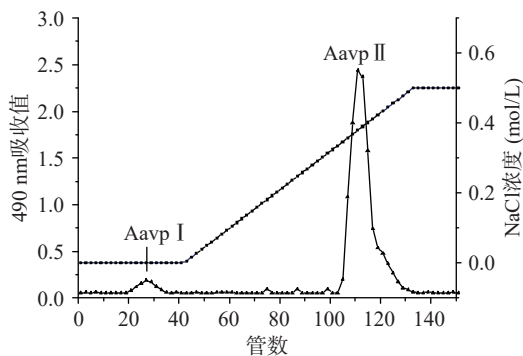


图 1 Aavp 的 DEAE Sepharose Fast Flow 柱层析洗脱曲线
Fig.1 Elution curve of Aavp on a DEAE Sepharose Fast Flow column

2.1.2 Sephacryl S-400 HR 纯化 Aavp I 和 Aavp II 分别进行 Sephacryl S-400 HR 层析, 结果如图 2 所示。Aavp Ia 得率及多糖含量分别为 78.62% 和 90.99%, 呈白色絮状固体, 可能是因为小分子盐大部分被洗脱, 剩下主要是大分子多糖, 不易结晶, 从而呈

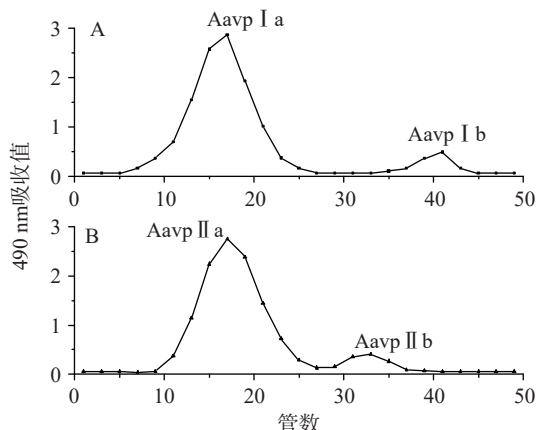


图 2 Aavp 的 Sephacryl S-400 HR 柱洗脱曲线图
Fig.2 Elution curve of Aavp on a Sephacryl S-400 HR column
注: A: Aavp I; B: Aavp II。

絮状。Aavp IIa 得率及多糖含量分别为 90.34% 和 98.66%, 也呈白色絮状固体。Aavp Ia 保留时间和 Aavp IIa 相差不大, 说明两者分子量可能较为接近。结合图 1 和图 2 可看出, Aavp II 组分得率较高, 而组分 Aavp IIa 得率也高于组分 Aavp IIb。因此, 选择 Aavp IIa 进行结构初步分析。

2.1.3 Aavp IIa 纯度和分子量 由图 3A 可得回归方程: $\lg M_w = 32.254 - 4.4177 t_R$, $R^2 = 0.9902$ 。如图 3B 所示, Aavp IIa 在 9.1872 min 时具有一个对称尖锐单峰, 说明该组分纯度高。将 Aavp IIa 保留时间代入方程, 得 Aavp IIa M_w 为 166513 Da。与程婷婷等^[32]的结果相比, 其鲍鱼脏器多糖分子量约为 3×10^5 Da, 显著高于 Aavp IIa, 这可能是因为程婷婷采用的酶解法与本文的提取方法不同。

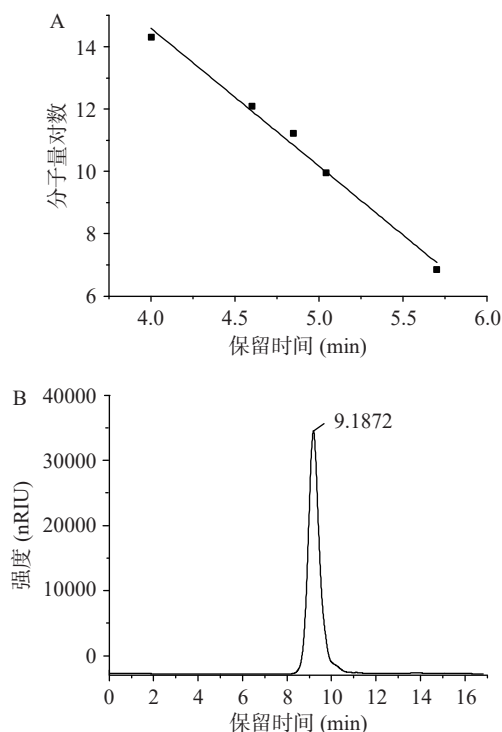


图 3 分子量标准曲线(A)和 Aavp IIa HPLC 图谱(B)
Fig.3 Standard curve of molecular weight (A) and HPLC spectrum of Aavp IIa (B)

2.2 Aavp IIa 的初级结构分析

2.2.1 紫外光谱分析 由图 4 可知, Aavp IIa 在 260 和 280 nm 处没有紫外吸收, 而粗多糖有紫外吸收, 说明经过纯化后的 Aavp IIa 基本不含核酸和蛋白质。

2.2.2 红外光谱分析 Aavp IIa 与溴化钾混匀压片后进行红外光谱分析, 如图 5 所示, Aavp IIa 具有典型的多糖光谱信号^[33], 3367.1 cm^{-1} 峰是 O-H 伸缩振动造成的; 2892.7 cm^{-1} 峰是 C-H 伸缩振动造成的; 1643.05 cm^{-1} 峰是 -CHO 的 C=O 伸缩振动造成; Aavp IIa 在 $1730 \sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ 不产生吸收峰, 表明其不含糖醛酸或者是含量极少^[34]; 1369.21 与 1419.35 cm^{-1} 是 C-H 变角振动造成的; 1029.73 、 1076.08 和 1155.115 cm^{-1} 处的吸收峰说明有吡喃糖单元结构片

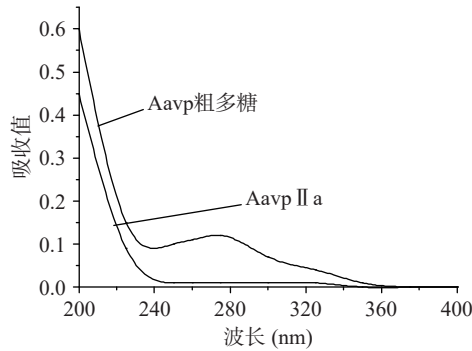


图 4 鲍鱼脏器碱性多糖紫外图谱
Fig.4 Ultraviolet spectra of Aavp

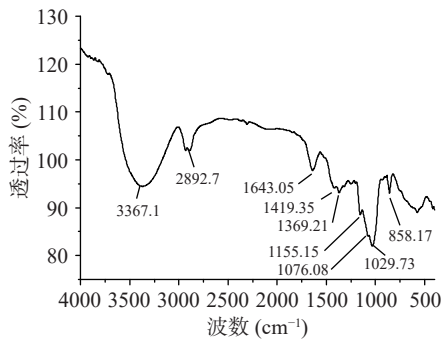


图 5 Aavp IIa 傅里叶红外图谱
Fig.5 Infrared spectra of Aavp IIa

段^[28]; 858.17 cm^{-1} 处存在吸收峰, 说明 Aavp IIa 含有 α -型吡喃多糖^[35]。本红外图谱与李冬梅等^[36]的红外图谱相比, 都具有典型多糖信号, 但是没有硫酸基吸收峰, 说明两种多糖还是存在一定的差别。

2.2.3 单糖组成分析 单糖标样的保留时间如下: 木糖(xyl)1.529 min、葡萄糖(glu)2.253 min、半乳糖(gal)2.361 min 和阿拉伯糖(ara)1.506 min。由表 1 可知, 组分 Aavp IIa 有两个峰, 保留时间分别为 1.53 和 2.359 min, 可推知 Aavp IIa 单糖组分分别为木糖和半乳糖。根据峰面积推算, 两者摩尔百分比分别为 43.91% 和 56.09%。李冬梅等^[36]的研究结果显示, 皱纹盘鲍脏器多糖的单糖组成为岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和鼠李糖, 与本文有所差异。这可能是因为李冬梅是用碱性蛋白酶解法获得皱纹盘鲍脏器多糖, 而本文则用碱处理水煮的滤渣制备得碱提多糖, 从而造成 Aavp IIa 的单糖组分较少的情况。

表 1 多糖组分 Aavp IIa 单糖组分分析

Table 1 Analysis of monosaccharide component of Aavp IIa

组分名	保留时间(min)	峰面积(PA·S)	质量比(%)	摩尔百分比(%)
木糖	1.53	31.25	39.52	43.91
半乳糖	2.36	47.82	60.48	56.09

2.2.4 糖苷键测定结果 Aavp IIa 经高碘酸氧化处理, 每摩尔己糖残基消耗 2.694 9 mol 高碘酸, 没有甲酸产生。对图 6 分析, 产物中各个组分摩尔百分比为: 甘油 20.20%, 赤藓醇 11.81%, 木糖 33.85%, 半乳糖 34.14%。根据高碘酸氧化-Smith 降解原理, 半乳

糖残基 1 \rightarrow 4 糖苷键生成赤藓醇, 1 \rightarrow 3 糖苷键生成半乳糖, 半乳糖 1 \rightarrow 2、1 \rightarrow 6 糖苷键生成甘油; 木糖残基 1 \rightarrow 2、1 \rightarrow 4 糖苷键生成甘油, 1 \rightarrow 3 糖苷键生成木糖。根据上述数据可计算出, Aavp IIa 中半乳糖 1 \rightarrow 4 糖苷键摩尔百分比为 11.81%, 半乳糖 1 \rightarrow 3 糖苷键为 34.14%, 由于甲酸没有产生, 所以 Aavp IIa 中没有半乳糖 1 \rightarrow 6 糖苷键, 同时可推知, 半乳糖 1 \rightarrow 2 糖苷键为 10.14%。Aavp IIa 中木糖 1 \rightarrow 3 糖苷键摩尔百分比为 33.85%, 由于木糖 1 \rightarrow 2、1 \rightarrow 4 糖苷键的最终产物都为甘油, 通过高碘酸氧化和 Smith 降解无法分辨出两种糖苷键的比例, 只能得到以下结论: 可能性 1, 当只含木糖 1 \rightarrow 4 和木糖 1 \rightarrow 3 时, 木糖 1 \rightarrow 4 摩尔百分比为 10.06%; 可能性 2, 当只含木糖 1 \rightarrow 2 和木糖 1 \rightarrow 3 时, 木糖 1 \rightarrow 2 摩尔百分比为 10.06%; 可能性 3, 当含有木糖 1 \rightarrow 4、1 \rightarrow 2 和木糖 1 \rightarrow 3 时, 木糖 1 \rightarrow 4 和木糖 1 \rightarrow 2 总的摩尔百分比为 10.06%。

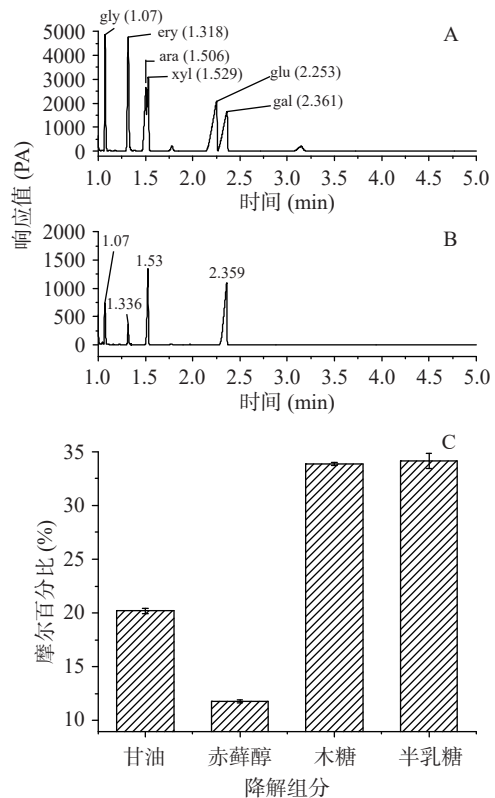


图 6 单糖标样及 Aavp IIa 的 Smith 降解产物 GC 图谱
Fig.6 Gas chromatogram spectrum of monosaccharide standard samples and Smith degradation products of Aavp IIa
注: A: 标样 GC 图; B: Aavp IIa GC 图; C: 降解产物摩尔百分比。

2.2.5 热重分析 从图 7 可知, Aavp IIa 的热失重有三个阶段: 第一阶段是在室温到 102.4 $^{\circ}\text{C}$ 之间, 这一阶段的热失重主要是水分的丢失引起的, 热失重率约为 11.59%; 第二阶段为 Aavp IIa 的急速热分解, 在 302.4 $^{\circ}\text{C}$ 热失重达到最大, 拐点在 226.4 $^{\circ}\text{C}$, 这阶段的热失重率为 43.65%, 说明此时多糖分子的化学键被破坏, 多糖正在被分解; 第三阶段为 Aavp IIa 的缓慢热分解, 拐点在 332.6 $^{\circ}\text{C}$, 这阶段的热失重率为

30.89%。热重结果显示 Aavp IIa 多糖分子在 226.4~332.6 °C 剧烈分解,说明 Aavp IIa 可在 226 °C 以下保持较好的稳定性。

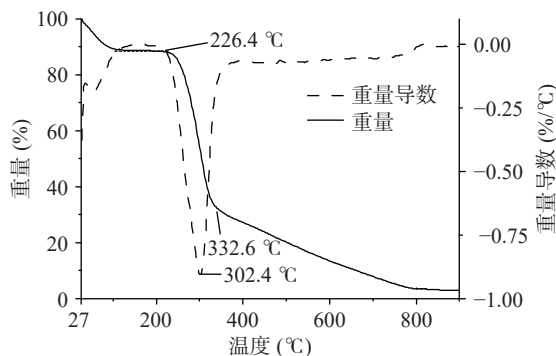


图7 Aavp IIa 热重图
Fig.7 TGA curves of Aavp IIa

2.3 Aavp IIa 的抗氧化活性分析

2.3.1 体外清除 $O_2^{\cdot-}$ 能力 如图 8 所示, Aavp IIa 有较强的清除能力,但要弱于抗坏血酸(V_C)。当浓度从 0~6.5 mg/mL 时, Aavp IIa 的浓度与其清除能力成正相关。当 Aavp IIa 的浓度为 6.5 mg/mL 时,其对 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力最强,达到 85.89%。相对地, Aavp 粗多糖的消除能力要比 Aavp IIa 低,只有 30.51%。罗晓航等^[37] 酶法提取的鲍鱼脏器粗多糖浓度低于 10 mg/mL 时,几乎无自由基清除能力;浓度为 20 mg/mL 时,清除率也仅为 25.4%。这说明碱提多糖对于 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力要好于酶法提取的鲍鱼脏器多糖。Aavp IIa 多糖分子具有还原性的半缩醛羟基,当其接触到 $O_2^{\cdot-}$ 之后,就会发生氧化还原反应^[38]。

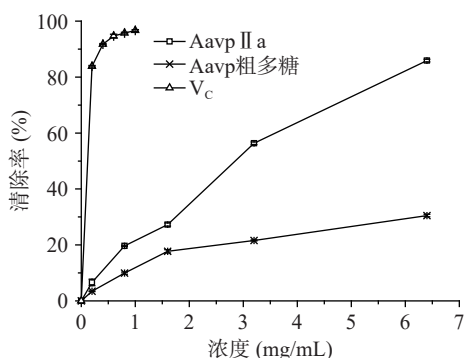


图8 Aavp IIa 和 Aavp 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除能力
Fig.8 Scavenging ability of Aavp IIa and Aavp on superoxide anion free radical

2.3.2 体外清除 DPPH· 能力 多糖作为大分子化合物可以为 DPPH· 提供质子,从而生成稳定的化合物。因此,多糖具有清除 DPPH· 的可能,可在 517 nm 波长处出现吸收减弱,吸收程度与清除活性有关^[39]。如图 9 所示,当浓度从 0~6.5 mg/mL 时, Aavp IIa 的浓度与其对 DPPH· 清除能力成正相关。当 Aavp IIa 的浓度为 6.5 mg/mL 时,其对 DPPH· 清除能力最高,为 62.17%。这说明 Aavp IIa 有一定的 DPPH· 自由基清除能力,但要弱于抗坏血酸(V_C),而 Aavp 粗

多糖的清除率为 25.39%。陈胜军等^[40] 提取的 10 mg/mL 鲍鱼内脏多糖的 DPPH· 的清除率可达 97.39%,其清除能力要高于 Aavp IIa。这可能是由于 Aavp IIa 提供电子的能力弱于陈胜军提取的鲍鱼脏器多糖^[41]。

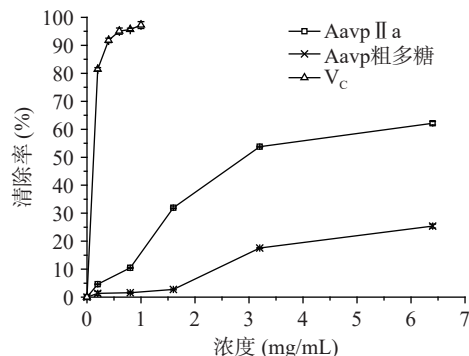


图9 Aavp IIa 和 Aavp 对 DPPH· 的清除能力
Fig.9 DPPH· scavenging ability of Aavp IIa and Aavp

3 结论

本研究采用热碱水浸提法和柱层析法分离制备 Aavp,并利用 HPLC、GC、红外光谱、热重分析及高碘酸氧化-Smith 降解等方法对其进行结构表征。结果显示,粗多糖经 DEAE Sepharose Fast Flow 和 Sephacryl S-400 HR 层析,可得 Aavp Ia、Aavp Ib、Aavp IIa 和 Aavp IIb 等 4 种组分,其中 Aavp IIa 得率最高,为 90.34%,多糖含量为 98.66%。对得率最高的 Aavp IIa 组分进行表征,分子量为 166513 Da,由木糖和半乳糖组成,其摩尔比 43.91 : 56.09,为 α -型吡喃多糖,在 226.4~332.6 °C 范围内剧烈分解,热失重率为 43.65%。糖苷键类型可能为:a.半乳糖 1→4 糖苷键摩尔百分比为 11.81%,半乳糖 1→3 糖苷键为 34.14%,半乳糖 1→6 糖苷键为 0,半乳糖 1→2 糖苷键为 10.14%;b.木糖 1→3 糖苷键摩尔百分比为 33.85%,木糖 1→4 和木糖 1→2 总的摩尔百分比为 10.06%。Aavp IIa 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除率为 85.89%,对 DPPH· 的清除率为 62.17%,体现了良好的抗氧化能力。本研究采用热碱提取法制备鲍鱼脏器碱提多糖,并分析其抗氧化活性,为开发利用鲍鱼脏器等产品提供理论依据,也为鲍鱼脏器碱提多糖的生物活性研究提供初步证据,后续研究将聚焦于鲍鱼脏器碱提多糖其他的生物学活性进行研究。

参考文献

- [1] 何致霖,张亚秀,曾介玉,等. 鲍鱼的营养组成、功能活性及加工现状研究进展[J/OL]. 食品工业科技; 1-16[2023-03-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100057. [HE Z L, ZHANG Y X, ZENG J Y, et al. Research progress in nutritional composition, functional activity, and processing status of abalone [J/OL]. Science and Technology of Food Industry; 1-16[2023-03-22]. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2022100057.]
- [2] KUMAGAI Y, SATOH T, INOUE A, et al. Enzymatic properties and primary structures of two α -amylase isozymes from the pacific abalone *Haliotis discus hannai*[J]. *Comparative Biochemistry*

- and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 164(2): 80–88.
- [3] 廖玉琴,任中阳,石林凡,等.干制过程中鲍鱼肌肉理化性质和挥发性风味的变化[J/OL].食品科学:1–24[2023-03-22].https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220916.1336.018.html. [LIAO Y Q, REN Z Y, SHI L F, et al. Changes in physicochemical properties and volatile flavor of abalone muscle during drying [J/OL]. Food Science: 1–24[2023-03-22]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220916.1336.018.html.]
- [4] 王军玲,魏配晓,邱绪建,等.鲍鱼肌肉多糖的性质及抗肿瘤活性的初步研究[J].食品科学,2018,39(12):1–9. [WANG J L, WEI P X, QIU X J, et al. Physicochemical properties and antitumor activity of polysaccharides from abalone muscle[J]. Food Science, 2018, 39(12): 1–9.]
- [5] ZHU B W, LI D M, ZHOU D Y, et al. Structural analysis and CCK-releasing activity of a sulphated polysaccharide from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) viscera[J]. Food Chemistry, 2011, 125(4): 1273–1278.
- [6] YANG J F, LI Y H, ZHAO J, et al. Isolation, structural characterization and lymphopoiesis stimulant activity of a polysaccharide from the abalone gonad[J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24(1): 23–30.
- [7] ZHU B W, ZHOU D Y, LI T, et al. Chemical composition and free radical scavenging activities of a sulphated polysaccharide extracted from abalone gonad (*Haliotis discus hannai* Ino)[J]. Food Chemistry, 2010, 121(3): 712–718.
- [8] LI G Y, CHEN S G, WANG Y M, et al. A novel glycosaminoglycan-like polysaccharide from abalone *Haliotis discus hannai* Ino: Purification, structure identification and anticoagulant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 49(5): 1160–1166.
- [9] 陈敏,高广春,田新朋,等.皱纹盘鲍内脏抗氧化肽的制备及活性分析[J].食品科技,2022,47(6):159–166. [CHEN M, GAO G C, TIAN X P, et al. Preparation and activity analysis of antioxidant peptides from the viscera of *Haliotis discus hannai*[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(6): 159–166.]
- [10] 何晓彤,王晨,孙力军,等.鲍鱼内脏酶解物可调节肠道菌群及短链脂肪酸缓解小鼠系统低度炎症[J].微生物学杂志,2022,42(6):94–102. [HE X T, WANG C, SUN L J, et al. Enzymatic hydrolysates from abalone viscera can regulate intestinal flora and short chain fatty acids to alleviate low level inflammation in mouse systems[J]. Journal of Microbiology, 2022, 42(6): 94–102.]
- [11] 刘斌雄,孙冲,方婷.过氧化氢抗坏血酸法制备小分子量鲍鱼脏器多糖工艺研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(17):5563–5569. [LIU B X, SUN C, FANG T. Study on the preparation of small molecular weight abalone visceral polysaccharides by hydrogen peroxide ascorbic acid method[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(17): 5563–5569.]
- [12] ZHU B W, WANG L S, ZHOU D Y, et al. Antioxidant activity of sulphated polysaccharide conjugates from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino)[J]. European Food Research and Technology, 2008, 227(6): 1663–1668.
- [13] SUN L M, ZHU B W, LI D M, et al. Purification and bioactivity of a sulphated polysaccharide conjugate from viscera of abalone *Haliotis discus hannai* Ino[J]. Food and Agricultural Immunology, 2010, 21(1): 15–26.
- [14] LI J L, TONG T, KO D O, et al. Antithrombotic potential of extracts from abalone, *Haliotis discus hannai* Ino: *In vitro* and animal studies[J]. Food Science and Biotechnology, 2013, 22(2): 471–476.
- [15] 孙冲,杜阿珠,姚昱锲,等.响应面法优化固相酸水解鲍鱼脏器多糖工艺[J].食品工业科技,2020,41(11):171–177. [SUN C, DU A Z, YAO Y K, et al. Optimization of solid phase acid hydrolysis of abalone visceral polysaccharides using response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(11): 171–177.]
- [16] 陈思远,萧建斌,苏经迁.鲍鱼内脏多糖提取物免疫功能的初步研究[J].福建轻纺,2023,30(2):7–12. [CHEN S Y, XIAO J B, SU J Q. Preliminary study on immune function of abalone visceral polysaccharide extract[J]. The Light & Textile Industries of Fujian, 2023, 30(2): 7–12.]
- [17] 卓小月,刘卫红,杨志勇.动物源活性多糖提取、纯化和结构鉴定技术的最新进展[J].当代化工研究,2020,18(3):44–47. [ZHUO X Y, LIU W H, YANG Z Y. Advances of the animal-original polysaccharides: Extraction, purification and structure identification[J]. Modern Chemical Research, 2020, 18(3): 44–47.]
- [18] 杨茂会,周欣,谯政文,等.黄精多糖提取、分离纯化及生物活性研究进展[J].食品工业科技,2022,43(12):407–416. [YANG M H, ZHOU X, QIAO Z W, et al. Recent advances in *polygonatum* polysaccharides: Extraction, isolation, purification and bioactivities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(12): 407–416.]
- [19] 董伟,马生健,郭俊先,等.凉粉草多糖提取、结构特征和生物活性研究[J].食品与机械,2022,38(11):168–175. [DONG W, MA S J, GUO J X, et al. Extraction process, structural characteristics and biological activity of *Mesa chinensis* polysaccharide[J]. Food and Machinery, 2022, 38(11): 168–175.]
- [20] 张磊,王锦旭,杨贤庆,等.海洋动物多糖的研究进展[J].食品工业,2018,39(1):211–215. [ZHANG L, WANG J X, YANG X Q, et al. Research progress of marine animal polysaccharides[J]. The Food Industry, 2018, 39(1): 211–215.]
- [21] 戴宏杰,孙玉林,杨梅语,等.拟目乌贼生殖腺碱提多糖的抗氧化及吸湿保湿特性[J].食品科学,2016,37(2):31–38. [DAI H J, SUN Y L, YANG M Y, et al. Antioxidant activity, moisture absorption and retention capacities of alkali-soluble polysaccharides extracted from gonad of *Sepia lycidas*[J]. Food Science, 2016, 37(2): 31–38.]
- [22] 莫翠园,盛丽,刘若凡,等.虎奶菇多糖提取工艺优化、结构鉴定及抗氧化活性研究[J].食品科技,2022,47(9):156–163. [MO C Y, SHENG L, LIU R F, et al. Extraction process optimization, structure identification and antioxidant activity of *Pleurotus tuberregium* polysaccharide[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(9): 156–163.]
- [23] 徐天,左遯勳,林伟泽,等.胶网藻多糖分离纯化、化学组成及其抗氧化活性[J].食品研究与开发,2023,44(2):57–65. [XU T, ZUO A X, LIN W Z, et al. Isolation, purification, chemical composition and antioxidant activities of polysaccharides from *Dictyosphaerium* sp. 1A10[J]. Food Research and Development, 2023, 44(2): 57–65.]
- [24] 魏磊,王伟,谢晓阳,等.响应面优化博爱赤松茸多糖提取工艺及其抑菌和抗氧化活性研究[J/OL].食品工业科技:1–12[2023-03-22].DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022090174. [WEI L, WANG W, XIE X Y, et al. Optimization of extraction process of polysaccharides from *Stropharia rugosoannulata* in Bo'ai county by response surface method and evaluation of their antibacterial and antioxidant activity[J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1–12[2023-03-22]. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022090174.]
- [25] 林志超,余金富,潘裕添.香蕉皮多糖提取分离纯化及分子

- 质量测定[J]. 食品科学, 2013, 34(8): 104-106. [LIN Z C, YU J F, PAN Y T. Purification and molecular weight detection of polysaccharides from banana peel[J]. Food Science, 2013, 34(8): 104-106.]
- [26] 刘龙江, 黄遥, 唐芳, 等. 室温化学沉淀法合成纳米氯化银及其表征[J]. 材料导报, 2013, 27(2): 28-30. [LIU L J, HUANG Y, TANG F, et al. Synthesis of nano-AgCl through direct precipitation method at room temperature and its characterization[J]. Materials Reports, 2013, 27(2): 28-30.]
- [27] 段语嫣, 冯杰, 刘艳芳, 等. 灵芝液态发酵胞内外多糖结构特征及其活性研究进展[J/OL]. 微生物学通报: 1-25[2023-03-22]. doi: 10.13344/j.microbiol.china.220879. [DUAN Y Y, FENG J, LIU Y F, et al. Structural characteristics and biological activity of polysaccharides produced by liquid fermentation of *Ganoderma*: A review[J/OL]. Microbiology China: 1-25[2023-03-22]. doi:10.13344/j.microbiol.china.220879.]
- [28] 高佳慧, 杨馨悦, 韩雨曦, 等. pH对酸法提取甘草多糖结构的影响[J/OL]. 食品工业科技: 1-10[2023-03-21]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022110051. [GAO J H, YANG X Y, HAN Y M, etc. Effect of extraction pH on the structure of *Glycyrrhiza* polysaccharide[J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1-10[2023-03-21]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022110051.]
- [29] 张瑞平, 任昭辉, 张皓楠, 等. 香加皮多糖的分离纯化、单糖组成及其抗氧化活性研究[J/OL]. 食品工业科技: 1-13[2023-03-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080349. [ZHANG R P, REN Z H, ZHANG H N, et al. Isolation, purification, monosaccharide composition and antioxidant activity of polysaccharides from *Cortex periplocae*[J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1-13[2023-03-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080349.]
- [30] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术(第二版)[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999: 540. [ZHANG W J. Biochemical technology of glycoconjugate (2nd edition) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1999: 540.]
- [31] 王丽娟, 陶文沂. 大豆肽体外抗氧化活性研究[J]. 生物加工过程, 2008, 6(4): 70-72. [WANG L J, TAO W Y. Antioxidative effect of soybean peptides *in vitro*[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2008, 6(4): 70-72.]
- [32] 程婷婷, 李冬梅, 刘娜, 等. 一种鲍鱼脏器多糖的鉴定及活性研究[J]. 中国海洋药物, 2008, 27(2): 9-13. [CHENG T T, LI D M, LIU N, et al. Identification and activity assay of a polysaccharide from *abalone harslet*[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2008, 27(2): 9-13.]
- [33] 王占一, 李卓瓦, 毕海丹, 等. 石榴籽多糖硒酸酯合成工艺优化及其抗油脂氧化能力[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 149-155, 162. [WANG Z Y, LI Z W, BI H D, et al. Optimization of synthesis technology of selenium polysaccharide ester from pomegranate seeds and its anti-lipid oxidation ability[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(12): 149-155, 162.]
- [34] CHEN J L, PANG W S, KAN Y J, et al. Structure of a pectic polysaccharide from *Pseudostellaria heterophylla* and stimulating insulin secretion of INS-1 cell and distributing in rats by oral[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106(1): 456-463.
- [35] KACURÁKOVÁ M, CAPEK P, SASINKOVÁ V, et al. FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses[J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 43(2): 195-203.
- [36] 李冬梅, 谭凤芝, 杨静峰, 等. 皱纹盘鲍脏器多糖的分离纯化及鉴定[J]. 水产科学, 2007, 26(9): 485-488. [LI D M, TAN F Z, YANG J F, et al. Isolation, purification and identification of polysaccharides from abalone viscera[J]. Fisheries Science, 2007, 26(9): 485-488.]
- [37] 罗晓航, 余鑫, 卢晓燕, 等. 鲍鱼脏器粗多糖体外抗氧化活性研究[J]. 中国海洋药物, 2012, 31(6): 10-16. [LUO X H, YU X, LU X Y, et al. Study on the antioxidant activity of abalone viscera crude polysaccharide (AVCP) on the level of cell *in vitro*[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2012, 31(6): 10-16.]
- [38] ZHANG L X, FAN C, LIU S C, et al. Chemical composition and antitumor activity of alkali-extracted polysaccharide from *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2011, 5(7): 1251-1260.
- [39] SUN T, XIE W M, XU P X. Superoxide anion scavenging activity of graft chitosan derivatives[J]. Carbohydrate Polymers, 2004, 58(4): 379-382.
- [40] 陈胜军, 刘先进, 杨贤庆, 等. 鲍鱼内脏多糖分离纯化与抗氧化活性评价[J]. 南方农业学报, 2019, 50(2): 372-377. [CHEN S J, LIU X J, YANG X Q, et al. Isolation and purification of visceral polysaccharides from abalone and its antioxidant activity[J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(2): 372-377.]
- [41] 熊双丽, 卢飞, 史敏娟, 等. DPPH自由基清除活性评价方法在抗氧化剂筛选中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 380-383. [XIONG S L, LU F, SHI M J, et al. Advancement of evaluation methods about DPPH radical scavenging activity in Screening Antioxidant[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(8): 380-383.]