

应用超声波技术强化提取余甘多糖

李永裕^{a,b}, 陈建烟^{a,b}, 温凤英^{a,b}, 关夏玉^a, 王曾金^a, 吴少华^{a,b*}

(福建农林大学, a. 园艺学院; b. 园艺植物天然产物研究所, 福州 350002)

摘要: 通过单因素和正交实验研究了超声波时间、超声波功率、超声波提取温度和料液比对余甘(*Phyllanthus emblica* L.)多糖收率的影响。结果表明,多糖收率的主要影响因素为超声波功率、超声波时间、料液比、超声波提取温度。余甘多糖的最佳提取工艺条件为:超声波功率 475 W、超声波时间 70 min、料液比 1:20、超声波提取温度 80℃,余甘多糖收率为 95.86 mg g⁻¹DW。紫外和红外光谱分析表明,余甘多糖是含有糖醛酸的 α 型吡喃酸性杂多糖,超声波处理没有改变多糖结构。

关键词: 余甘; 多糖; 超声波; 提取; 红外光谱

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2010)05-0552-07

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2010.05.013

Ultrasound-assisted Extract of Water-soluble Polysaccharides from *Phyllanthus emblica*

LI Yong-yu^{a,b}, CHEN Jian-yan^{a,b}, WEN Feng-ying^{a,b}, GUAN Xia-yu^a,
WANG Zeng-jin^a, WU Shao-hua^{a,b*}

(a. College of Horticulture; b. Institute of Natural Products of Horticultural Plants, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Emblica polysaccharides (EPS) have biological activities on free radical scavenging, anti-oxidation and anti-tumor. The effect factors on yield of emblica polysaccharides from *Phyllanthus emblica* extracted by ultrasound were studied. The results showed that the factors included ultrasonic power, ultrasonic time, solid-liquid ratio, ultrasonic extraction temperature. The optimal extraction condition were ultrasonic power of 475 W with solid (g) to liquid (mL) ratio of 1:20 at 80℃ for 70 min, with the yield of 95.86 mg g⁻¹DW. Ultraviolet spectrum and FT-IR (fourier transform infrared spectroscopy) analysis showed that EPS was a α type acidic heteropolysaccharide containing pyran and glycuronic acid. The structural modification of EPS by ultrasonic radiation was not observed.

Key words: *Phyllanthus emblica*; Polysaccharides; Ultrasonic; Extraction; FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy)

多糖和蛋白质、核酸是最重要的 3 种生物大分子,参与细胞的各种活动,具有增强免疫、抗肿瘤、抗氧化、降血糖等生物活性,成为食品科学、天然药物、生物化学和生命科学的研究热点^[1-3]。近年来,从生物体内提取研究了多种具生物活性的多糖,如

人参多糖^[4]、香菇多糖^[5]、龙眼多糖^[1]等,是一很有潜力的研究领域。

余甘(*Phyllanthus emblica* L.)是大戟科(Euphorbiaceae)叶下珠属植物,药用价值高,是世界卫生组织推广种植的 3 种保健植物之一^[6],1998 年

收稿日期: 2009-11-20

接受日期: 2010-04-14

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD07B01); 福建省自然科学基金项目(2009J01065); 国家大学生创新性实验计划项目(081038902)资助

作者简介: 李永裕(1981~),男,福建永春人,研究方向为园艺植物天然产物纯化与利用, email: lilin3182@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, email: wsh6677@yahoo.com.cn

被我国卫生部确定为药食两用植物。现代药理学研究表明,余甘具有抗肿瘤、抗衰老、抗突变、降血脂、降血压、保肝、抑菌、抗炎等功效,全世界约 17 个国家的传统药物体系用余甘果实进行配伍,中国约有 16 个民族使用该药。有研究表明,余甘多糖具有清除自由基^[7]、抗氧化和抗肿瘤的生物学活性,可抑制癌细胞生长^[8],值得深入研究和开发应用^[9]。余甘起源于印度和缅甸,主要分布在中国、印度、缅甸、马来西亚、巴基斯坦等南亚热带地区,以中国的产量最大^[10],在福建已成规模化栽培。

郑宝东等^[11]用热水浸提法研究了余甘多糖的提取工艺,但费时、溶剂用量大、提取效率低^[1,12]。最近,超声波强化提取受到了广泛的关注和应用^[13]。把超声波技术应用于植物有效成分提取的研究始于上世纪 50 年代^[14],已被广泛应用于杀菌、乳化、提取、结晶、速冻、脱气、过滤、干燥等食品工业,具有巨大的应用潜力^[13,15-16]。超声波提取多糖的过程是一种物理破碎过程,它利用空化和机械振动作用瞬间使细胞壁结构破裂,提高多糖提取率,同时产生乳化、热效应等,加速植物有效成分的扩散。超声波技术可以在更低的提取温度和更短的提取时间下显著提高多糖得率^[17-18],但超声波辐射是否会对多糖结构及生物活性造成影响一直存在争议^[19],这将直接影响到超声波技术在工业化提取多糖中的应用。

本研究以余甘主栽品种“粉甘”果实为材料,采用超声波法强化提取余甘多糖,探索低成本、高收率的余甘多糖提取工艺,并用红外光谱技术研究超声波处理对多糖结构的影响,为余甘多糖工业化提取及结构、活性研究提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

新鲜余甘(*Phyllanthus emblica* L.)果实采自福建省惠安县紫山镇蓝田村。选择无病虫害、无畸形的

余甘果实,进行清洗、去核、40℃ 烘干等前处理(干燥时间约 48 h),干燥果肉用多功能粉碎机磨成粉末,过 40 目筛。参照 Sun 等^[20]的方法,用 80% 乙醇 70℃ 热处理原料 30 min,过滤,重复 2 次,除去单糖、低聚糖、色素和多肽等物质,同时灭酶活防止酶在提取过程中对多糖的降解,然后抽滤,真空干燥,得到余甘果肉干粉,置于-40℃ 冰箱中备用。

1.2 试剂及仪器

试剂 葡萄糖、苯酚、浓硫酸、无水乙醇、活性碳、三氯甲烷、正丁醇、溴化钾等均为国产分析纯;MWCO 10K 透析袋 MD44 为美国 Amresco 公司产品;水均为双蒸水。

仪器 包括 Libra S22 紫外可见分光光度计(英国 Biochrom 公司);Allegra™ 64R Centrifuge 台式高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter 公司);DK-S28 型电热恒温水浴锅(上海精宏公司);FDU-1200 冷冻干燥机及旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司);AVATAR 360 型傅立叶变换红外光谱仪(美国 NICOLET 公司),SCIENTZ-II D 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技有限公司)。

1.3 多糖的提取和纯化

准确称取 1.00 g 余甘果肉干粉,加入一定比例去离子水,匀浆后置于超声波细胞粉碎机中进行超声波处理,离心取上清液,得余甘粗多糖超声波提取浸提液。

因素选择:在前期初步试验的基础上,考察超声波时间、超声波功率、超声波提取温度、料液比 4 个因素对余甘多糖提取得率的影响,单因素试验时其它因素水平不变。以传统的热水浸提方法^[11](料液比 1: 20,100℃ 水浴 5 h)为对照。每组试验重复 3~5 次,取其平均值。

根据单因素试验结果,设计 4 因素 3 水平正交实验,确定超声波法的最佳工艺条件。根据 $L_9(3^4)$ 安排试验,因素水平见表 1。

表 1 正交实验的因素水平
Table 1 Factors in orthogonal experiment

水平 Level	温度 Temperature (℃) (A)	时间 Time (min) (B)	功率 Power (W) (C)	料液比 Solid (g) to liquid (mL) ratio (D)
1	90	70	522.5	1: 25
2	85	60	475	1: 20
3	80	50	427.5	1: 15

分离纯化的工艺流程:浸提液→真空浓缩→加 4 倍无水乙醇沉淀→离心→无水乙醇洗涤沉淀 4 次→沉淀用适量水溶解→活性炭吸附除色素→Sevage 法(氯仿: 正丁醇 = 4: 1)去蛋白→透析→乙醇沉淀→沉淀真空干燥→淡黄色余甘多糖(EPS)。

用苯酚-硫酸法^[21]测定多糖含量。以不同浓度葡萄糖为标准品,测定其在 490 nm 下的吸光值,绘制糖含量标准曲线。将待测粗多糖样品加水溶解并稀释适当倍数后,进行与标准曲线制作相同的操作,并对照标准曲线求得其多糖含量,单位质量余甘果肉(干重)所获多糖质量即为余甘多糖的收率($\text{mg g}^{-1}\text{DW}$)。

1.4 蛋白质含量测定

参照 Lowry 法^[22]测定,以牛血清蛋白为标准。

1.5 多糖的定性分析

紫外光谱分析:将余甘粗多糖配制成 0.5 mg mL^{-1} 溶液,检测其在波长 190 ~ 400 nm 范围内的吸光度值。

红外光谱分析:分别取常规热水浸提^[11]和超声波强化提取并精制的粗多糖, KBr 压片,在 $4000\sim400\text{ cm}^{-1}$ 范围内进行红外光谱检测,光谱分辨率为 4 cm^{-1} 。

2 结果和分析

2.1 超声波时间的影响

超声波提取温度为 90°C 、超声波功率 475 W、料液比 1: 20,考察超声波时间对多糖收率的影响(图 1)。可见,余甘多糖收率随提取时间的延长急剧增加,提取时间 60 min 时多糖收率达最大值,然而,过长的超声波时间对多糖有降解作用,使大分子多糖的糖苷键断裂^[23],从而导致多糖含量下降。因此超声波法提取余甘多糖的时间以 60 min 为宜,远低于热水浸提法的 6 h^[11]。

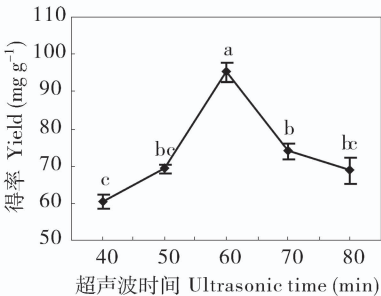


图 1 超声波时间对多糖收率的影响

Fig. 1 Effect of ultrasonic time on polysaccharide yield

2.2 超声波功率的影响

超声波可加快水的循环速度,强化介质,同时加速细胞的破碎,从而有利于多糖提取^[24]。在超声波时间 60 min、超声波提取温度 90°C 、料液比 1: 20 的条件下,超声波功率对多糖收率的影响呈先提高后回落,超声波功率为 475 W 时,余甘多糖收率最高(图 2)。过高的超声功率,加速了提取液流动,使物料停留在超声场中的时间减少,破壁作用随之减弱,胞内多糖溶出速率减缓;同时,功率过大也会引起多糖的降解^[25]。

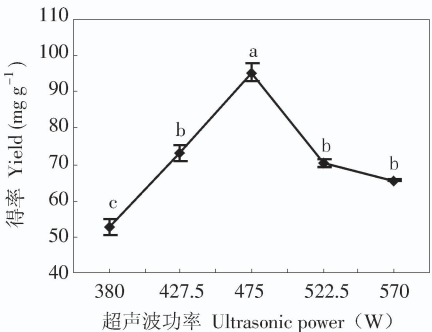


图 2 超声波功率对多糖收率的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic power on polysaccharide yield

2.3 超声波提取温度的影响

超声波时间 60 min、超声波功率 475 W、料液比 1: 20,研究超声波提取温度对多糖收率的影响。结果表明,随提取温度升高,多糖收率增大,但长时间的高温提取会造成多糖分解,影响多糖生物活性,因此超声波法提取余甘多糖以 90°C 为宜(图 3)。

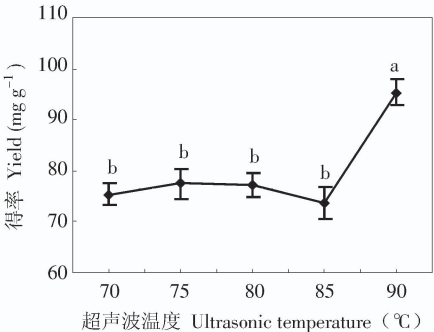


图 3 超声波提取温度对多糖收率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic extraction temperature on polysaccharide yield

2.4 料液比的影响

料液比对多糖提取效果有重要影响。在超声波时间 60 min、超声波功率 475 W、超声波提取温度 90°C 的条件下,超声波法提取余甘多糖的料液比以 1: 20 最佳(图 4)。溶剂太少,作为超声波介质的液体偏少,导致超声波在液相中的吸收大于在固

相中的吸收。随溶剂体积增大,细胞中的多糖等物质开始向外扩散,多糖收率随之增大。

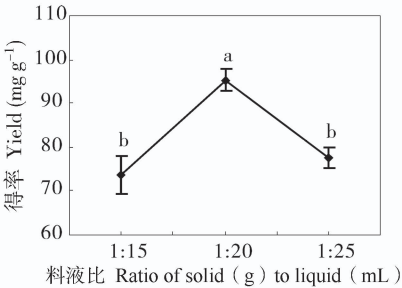


图 4 料液比对多糖收率的影响

Fig. 4 Effect of solid-liquid ratio on polysaccharide yield

2.5 正交实验结果

由于超声波提取的 4 个因素间能够互相影响,因此本文设计了 4 因素 3 水平正交实验,确定超声波法的最佳工艺条件。正交实验和极差分析结果表明:

(1)不同因素对多糖提取收率皆有影响。从表 2 看出,2 号试验的多糖收率最大,达 95.31 mg g⁻¹,相应的水平组合 A₁B₂C₂D₂是当前最好的水平搭配,即超声波提取温度 90℃、超声波时间 60 min、超声波功率 475 W、料液比 1: 20。

(2)4 个因素对多糖收率的影响程度不同。从表 2 的极差 R 值看出,4 个因素对多糖收率的影响为超声波功率>超声波时间>料液比>超声波提取温度,超声波功率极差值最大是余甘多糖超声波强化提取工艺的关键控制因素。

(3)以多糖收率为目标,从 4 因素的水平趋势(图 5)看出,超声波提取工艺的可能最佳水平组合为 A₃B₁C₂D₂,即超声波提取温度 80℃、超声波时间 70 min、超声波功率 475 W、料液比 1: 20,在此条件下进行余甘多糖的提取,得率为 95.86 mg g⁻¹。

2.6 余甘多糖的紫外光谱分析

配制 0.5 mg mL⁻¹余甘精制多糖溶液,检测其在波长 190~400 nm 内的紫外吸收光谱(图 6)。可见,超声波强化提取得到的余甘多糖在 195 nm 和 215 nm 处有吸收峰,具多糖特征。同时,经 Sevage 法反复处理去除游离蛋白的多糖液在 280 nm 处仍有蛋白质的特征吸收峰,Lowry 法测定由热水浸提和超声波强化提取得到的 EPS 蛋白含量分别为 1.96% 和 1.97%,表明余甘多糖结合有蛋白质。

表 2 正交实验结果

Table 2 Results of orthogonal test

序号 No.	因素水平 Factors				收率 Yield (mg g ⁻¹)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	61.48
2	1	2	2	2	95.31
3	1	3	3	3	59.55
4	2	1	2	3	89.29
5	2	2	3	1	63.40
6	2	3	1	2	54.92
7	3	1	3	2	81.11
8	3	2	1	3	72.22
9	3	3	2	1	70.86
K ₁	216.33	231.87	188.61	195.74	
K ₂	207.61	230.93	255.46	231.33	
K ₃	224.18	185.32	204.06	221.05	
k ₁	72.11	77.29	62.87	65.25	
k ₂	69.20	76.98	85.15	77.11	
k ₃	74.73	61.77	68.02	73.68	
R	5.53	15.52	22.28	11.86	

K₁、K₂和 K₃分别表示各因素水平 1、2 和 3 的多糖收率总和,而 k₁、k₂和 k₃为多糖收率平均值。K₁、K₂ and K₃ present the sum, while k₁、k₂ and k₃ for the average of yield at level 1, 2 and 3, respectively; R: 极差 Range.

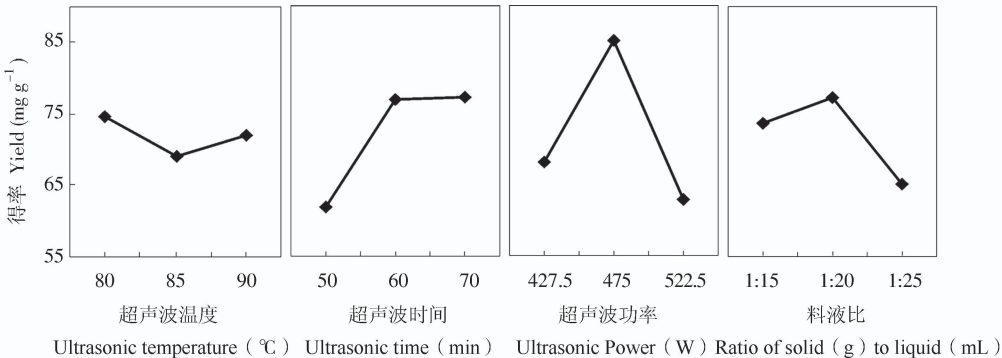


图 5 超声波提取 4 个因素对多糖收率的影响
Fig. 5 Effect of 4 factors on polysaccharide yield

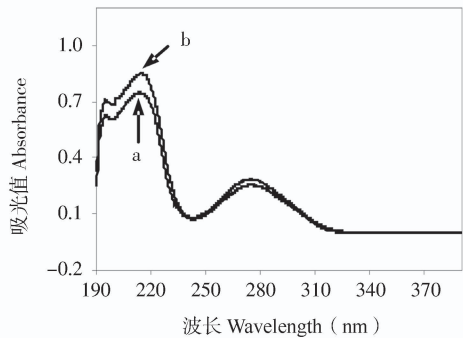


图 6 余甘多糖的紫外光谱
Fig. 6 UV spectrum of EPS
a: 热水浸提 Hot water extract;
b: 超声波提取 Ultrasonic extract.

2.7 红外光谱分析

红外光谱是研究多糖类物质有机结构的有效

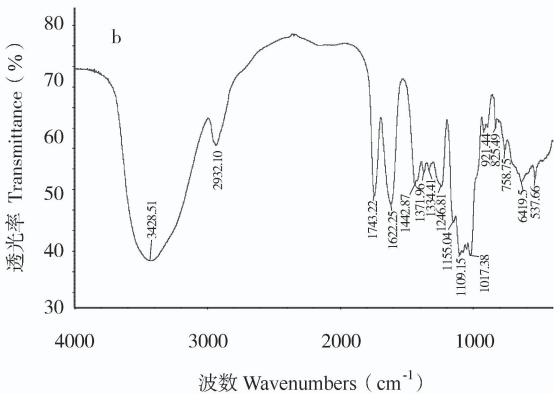
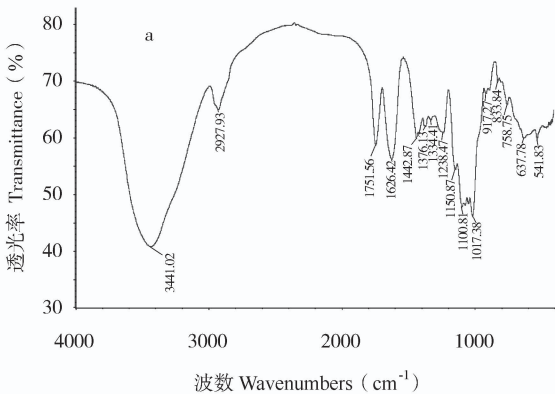


图 7 余甘多糖的红外光谱
Fig. 7 FT-IR spectrum of EPS
a: 热水浸提 Hot water extract; b: 超声波提取 Ultrasonic extract.

称的吸收峰对应于羧基基团的伸缩振动^[18],羧基基团的伸缩振动^[18],羧基基团产生 3 个吸收峰,可用来鉴别糖醛酸,1750 cm^{-1} 附近的吸收峰是由质子化羧酸的C=O键引起的,1620 cm^{-1} 附近的两个吸收峰对应于去质子化的羧基基团 COO^- 的伸缩振动^[27],图 7 中 1751 和 1626 cm^{-1} 两个特征峰预示了样品糖醛酸的存在。1155 cm^{-1} 的特征吸收峰应归属于半乳糖的吸收峰,1100 和 1017 cm^{-1} 是果胶的特征吸收峰^[26]。834 cm^{-1} 处的特征吸收峰对应于 α 型吡喃醛糖环的 C-H 直立键^[18,26]。根据红外光谱分析初步鉴定余甘多糖是含有糖醛酸的 α 型吡喃醛糖环,进一步的结构分析正在进行中。

3 讨论

用超声波强化提取余甘多糖的方法简单、快速、高效、成本低,能在较短的时间内达到比传统提

工具^[1],多糖的红外光谱形状由主链组分决定,并受侧链组分的影响,可根据吸收峰位置推测多糖的特征基团和糖苷键连接类型^[26],因此对余甘多糖进行红外光谱分析可为确定多糖结构提供信息。常规热水浸提^[11]和超声波强化提取所得多糖在 4000 ~ 400 cm^{-1} 内的红外光谱分析结果见图 7。

红外光谱中 3600 ~ 3200 cm^{-1} 处的吸收峰为 O-H 和 N-H 的伸缩振动吸收峰,3000 ~ 2800 cm^{-1} 处为 C-H 的伸缩振动吸收峰^[1],1650 ~ 1600 cm^{-1} 的吸收峰可归属于C=O键的吸收峰,1200 ~ 950 cm^{-1} 的吸收峰显示了 C-O-C 和 C-O-H 键的存在^[26]。由图 7 可见,样品在 3428 cm^{-1} 附近有一强烈的 O-H 伸缩振动吸收峰,2930 cm^{-1} 处的吸收峰为 C-H 伸缩振动吸收峰,具多糖特征。1376 ~ 1334 cm^{-1} 附近对

取方法高的多糖得率。本研究采用超声波工艺强化提取余甘多糖,比传统热水浸提法^[11]的多糖得率 ($61.77 \pm 0.94 \text{ mg g}^{-1}$) 提高了 55.19%,而且大大缩短了提取时间和减少能耗,节省成本。超声波处理能够促使余甘果肉细胞破裂和多糖物质浸出,从而提高多糖提取率,主要原因有^[16,28-29]:(1)超声波在液体介质中传播引起的空化作用产生极大压力,造成生物细胞壁及整个生物体破裂,利于多糖等物质溶出,而且整个破碎过程在瞬间完成,可保持多糖在破壁瞬间生物活性不变;(2)介质吸收超声波,分子产生剧烈振动产生热效应,使余甘果肉细胞内部温度瞬间升高,形成温度差,加速有效成分的溶出,避免长时间高温浸提改变多糖性质;(3)超声波产生的机械作用在液体中形成有效的搅动与流动,破坏介质结构,粉碎液体颗粒,可形成有效的浓度差,加速胞内多糖的释放、扩散及溶解,同时提高破碎速

度和提取率;(4)超声空化作用产生的湍动效应、微扰效应、界面效应和聚能效应等附加效应,从整体上强化了多糖萃取分离过程的传质速率和效果,另外,超声波的许多次级效应如溶化、扩散、击碎、化学效应、生物效应、凝聚效应等也能加速多糖在水中的扩散释放,提高提取率。超声强化提取效果和超声作用时间、强度、频率有关,还应与所用溶剂、样品新鲜程度、样品含水量、被提取物的结构等有一定关系,超声波参数除频率、强度外还包括占/空比,本文考察了超声波功率、作用时间、提取温度和料液比等参数对余甘多糖提取效果的影响,未对其他参数进行考察,今后可在研究基础上把各种参数加以考察,建立更为实用的模型,为超声波工业化提取余甘多糖提供可靠的依据。

由于空化作用,超声波可能会改变多糖的结构和特性^[19],这和超声波功率、溶剂类型和超声波时间有关^[25]。超声波会降低多糖样品的粘度^[13],对多糖产生降解作用^[30],而且高分子量多糖易被空化能量攻击,比低分子量多糖更易被超声波降解^[31],超声波辐射可致细胞壁难以脱落的多糖溶解下来,因此超声波法得到的多糖平均分子量比热水浸提法大,多糖结构和分子量会影响多糖的生物活性^[32]。比较常规热水浸提和超声波法提取所得多糖的中红外光谱表明,两个样品的红外光谱图一致(图 7),说明所采用的超声波处理没有改变余甘多糖的结构,但超声波处理是否影响余甘多糖分子量及生物活性有待于进一步的深入研究。

为优化超声波强化提取工艺,本文考察了超声波功率、超声波时间、超声波提取温度和料液比等 4 个因素对余甘多糖提取率的影响。正交实验的方差分析结果表明,4 个因素对余甘多糖提取率的影响均达到显著水平。通过单因素和正交实验,确定了余甘多糖超声波最佳提取工艺条件为:超声波提取温度 80℃、超声波时间 70 min、超声波功率 475 W、料液比 1:20,余甘多糖收率达 95.86 mg g⁻¹。其中,超声波功率是工艺的关键控制因素。余甘多糖的紫外和红外光谱初步分析表明,它是含有糖醛酸的 α 型吡喃酸性杂多糖,超声波处理不会改变余甘多糖的结构。有关超声作用原理、多糖结构与生物活性和超声作用的关系有待进一步研究。本研究对余甘多糖的产业化开发具有重要的参考价值。

参考文献

[1] Yang C X(杨翠娴), Li Q B(李清彪), Ling X P(凌雪萍), et al. Hot

water extraction of longan polysaccharide assisted by microwave pretreatment [J]. CIESC J(化工学报), 2007, 58(8): 2004–2009.(in Chinese)

[2] Ge Y, Duan Y, Fang G, et al. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. *francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities [J]. Carbohydr Polym, 2009, 77 (2): 188–193.

[3] Hrom dkov Z, Ebringerov A, Valachovi P. Ultrasound-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian (*Valeriana officinalis* L.) [J]. Ultrason Sonochem, 2002, 9 (1): 37–44.

[4] Luo D, Fang B. Structural identification of ginseng polysaccharides and testing of their antioxidant activities [J]. Carbohydr Polym, 2008, 72(3): 376–381.

[5] Yu Z H, Yin L, Yang Q, et al. Effect of *Lentinus edodes* polysaccharide on oxidative stress, immunity activity and oral ulceration of rats stimulated by phenol [J]. Carbohydr Polym, 2009, 75(1): 115–118.

[6] Anilakumar K R, Nagaraj N S, Santhanam K. Reduction of hexachlorocyclohexane-induced oxidative stress and cytotoxicity in rat liver by *Embllica officinalis* gaertn [J]. Ind J Exp Biol, 2007, 45 (5): 450–454.

[7] Xiao X(肖湘), Yu L J(俞丽君), Qiu Y Y(邱玉莹), et al. The extraction of *Phyllanthus emblica* polysaccharides and its effect of cleaning oxygen radical [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 1998, 33(5): 279–281.(in Chinese)

[8] Zheng B D(郑宝东), Zeng S X(曾绍校). Antioxidation of polysaccharide from *Phyllanthus emblica* L. to mice [J]. J Fujian Agri For Univ (Nat Sci)(福建农林大学学报: 自然科学版), 2004, 33(1): 110–112.(in Chinese)

[9] Li Y Y(李永裕), Wu S H(吴少华), Wen F Y(温凤英), et al. Advances of studies on the biological function and mechanism of action of *Phyllanthus emblica* [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 2009, 30(3): 402–408.(in Chinese)

[10] Perianayagam J B, Sharma S K, Joseph A, et al. Evaluation of anti-pyretic and analgesic activity of *Embllica officinalis* Gaertn [J]. J Ethnopharmacol, 2004, 95(1): 83–85.

[11] Zheng B D(郑宝东), Zeng S X(曾绍校), Zheng G C(郑桂成). Studies on extraction technology of soluble polysaccharide in fujian *Phyllanthus emblica* L. [J]. J Chin Instit Food Sci Techn(中国食品学报), 2003, 3(1): 37–40.(in Chinese)

[12] Yang B, Zhao M, Jiang Y. Anti-glycated activity of polysaccharides of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp treated by ultrasonic wave [J]. Food Chem, 2009, 114(2): 629–633.

[13] Iida Y, Tuziuti T, Yasui K, et al. Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization [J]. Innov Food Sci Emerg Techn, 2008, 9(2): 140–146.

[14] Vinatoru M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs [J]. Ultrason Sonochem, 2001, 8 (3): 303–313.

[15] Song G S(宋国胜), Hu S Q(胡松青), Li L(李琳). Effects of

- ultrasound-assisted freezing on total water content and ice crystals size distribution in frozen wet gluten [J]. CIESC J(化工学报), 2009, 60(4): 978–983.(in Chinese)
- [16] Huang K L(黄可龙), Li J F(李进飞), Liu S Q(刘素琴). Kinetic model for ultrasonic enhancement of extraction process of Chinese traditional medicine [J]. CIESC J(化工学报), 2004, 55(4): 646–648.(in Chinese)
- [17] Li J, Ding S, Ding X. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. Jinsixiaozao [J]. J Food Engin, 2007, 80(1): 176–183.
- [18] Shi Y, Sheng J, Yang F, et al. Purification and identification of polysaccharide derived from *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Food Chem, 2007, 103(1): 101–105.
- [19] Mislovicov D, Mas rov J, Bend lov K, et al. Sonication of chitin-glucan, preparation of water-soluble fractions and characterization by HPLC [J]. Ultrasoni Sonochem, 2000, 7(2): 63–68.
- [20] Sun Y, Tang J, Gu X, et al. Water-soluble polysaccharides from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels: Preparation, characterization and bioactivity [J]. Inter J Biol Macromol, 2005, 36(5): 283–289.
- [21] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Anal Chem, 1956, 28(3): 350–356.
- [22] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. J Biol Chem, 1951, 193(1): 265–275.
- [23] Ma H L(马海乐), Zhou C S(周存山), Zheng Y(郑悦), et al. Kinetics of ultrasonic degradation of polysaccharide from *Porphyra yezoensis* [J]. CIESC J(化工学报), 2007, 58(3): 660–664. (in Chinese)
- [24] Zheng S Q(郑少泉), Jiang F(姜帆), Gao H Y(高慧颖), et al. Studies on ultrasonic extraction technology of polysaccharides in longan (*Dimocarpus longan* Lour.) [J]. J Chin Instit Food Sci Techn(中国食品学报), 2008, 8(2): 76–79.(in Chinese)
- [25] Zhou C, Ma H. Ultrasonic degradation of polysaccharide from a red algae (*Porphyra yezoensis*) [J]. J Agri Food Chem, 2006, 54(6): 2223–2228.
- [26] Kačuraková M, Capek P, Sasinková V, et al. FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses [J]. Carbohydr Polym, 2000, 43(2): 195–203.
- [27] Yang B, Jiang Y, Zhao M, et al. Structural characterization of polysaccharides purified from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp [J]. Food Chem, 2009, 115(2): 609–614.
- [28] Vilku K, Mawson R, Simons L, et al. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry —A review [J]. Innov Food Sci Emerg Techn, 2008, 9(2): 161–169.
- [29] Zeng L(曾里), Xia Z N(夏之宁). The improvement and influence of ultrasonic and microwave irradiation on the extraction of traditional Chinese medicine [J]. Chem Res Appl(化学研究与应用), 2002, 14(3): 245–249.(in Chinese)
- [30] Huang Y C(黄永春), Ma Y F(马月飞), Xie Q R(谢清若), et al. Study on effects of ultrasonic on extracion of tea polysaccharide and changes of molecular weight [J]. Food Sci(食品科学), 2007, 28(7): 170–173.(in Chinese)
- [31] Camino N A, Pérez O E, Pilosof A M R. Molecular and functional modification of hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound [J]. Food Hydrocoll, 2009, 23(4): 1089–1095.
- [32] Zhang M, Zhang L, Cheung P C K, et al. Molecular weight and anti-tumor activity of the water-soluble polysaccharides isolated by hot water and ultrasonic treatment from the sclerotia and mycelia of *Pleurotus tuber-regium* [J]. Carbohydr Polym, 2004, 56(2): 123–128.