

## 石珊瑚层藻多糖的提取及其体外抗氧化活性研究

孙妍<sup>1,2,3</sup>, 蒋芳<sup>3</sup>, 侯域<sup>3</sup>, 俞伟<sup>1</sup>, 潘道东<sup>2\*</sup>, 周海滨<sup>1\*</sup><sup>1</sup>宁波立华制药有限公司, 宁波 315174; <sup>2</sup>宁波大学浙江省动物蛋白食品精深加工技术重点实验室, 宁波 315211;<sup>3</sup>浙江医药高等专科学校, 宁波 315100

**摘要:**为实现进口石珊瑚层藻多糖的高效提取, 本文分别采用热水法、超声波辅助法提取粗多糖, 并对其方法学进行了系统的评价。同时对所得粗多糖的体外抗氧化活性进行了分析。结果表明, 传统热水法的粗多糖得率(9.83%)较超声法(8.47%)高, 但其含有较多的蛋白和多酚, 致使其多糖含量(64.71%)较超声法(65.55%)低。体外抗氧化实验结果表明, 超声提取法所得的粗多糖对 DPPH 自由基具有较高的清除效率。本研究明确了超声法相较于热水法更适合提取石层珊瑚藻多糖, 为石层藻多糖的高效提取及多糖质量评价提供方法学支撑和数据支持。

**关键词:**石珊瑚层藻; 多糖; 提取; 抗氧化

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020) Suppl-0109-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.S.018

## Study on the extraction of polysaccharide from *Lithothamnion superpositum* and its antioxidant activity *in vitro*

SUN Yan<sup>1,2,3</sup>, JIANG Fang<sup>3</sup>, HOU Yu<sup>3</sup>, YU Wei<sup>1</sup>, PAN Dao-dong<sup>2\*</sup>, ZHOU Hai-bin<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Ningbo Lihua Pharmaceutical Co., Ltd., Ningbo 315174, China;<sup>2</sup>Key Laboratory of Animal Protein Food Deep Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo University, Ningbo 315211, China;<sup>3</sup>Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China

**Abstract:** In order to achieve the high-efficient extraction of polysaccharide from *Lithothamnion superpositum*, the hot water method and ultrasonic assisted method were used to extract the polysaccharide, and the methodology was systematically evaluated. Meanwhile the antioxidant activity of the crude polysaccharide *in vitro* was analyzed. The results showed that the yield of crude polysaccharide (9.83%) of traditional hot water method was higher than that of ultrasonic method (8.47%), but it contained more protein and polyphenol, resulting in the content of polysaccharide (64.71%) lower than that of ultrasonic method (65.55%). The results of antioxidant experiments *in vitro* showed that the polysaccharide extracted by ultrasound had a high scavenging efficiency on DPPH free radicals. To sum up, this study confirmed that ultrasonic method is more suitable to extract polysaccharide from coralline than hot water method, which provides methodological support and data support for the efficient extraction and quality evaluation of Polysaccharide from coralline.

**Key words:** *Lithothamnion superpositum*; polysaccharide; extraction; antioxidation

石珊瑚叠层藻(*Lithothamnion superpositum*, 石层藻)是南美洲海岸发现的一种红色珊瑚藻。它是一种石层藻, 归属于轮藻门, 珊瑚目, 石藻属。石层藻广泛分布于热带和亚热带的海岸附近, 它含有丰富的钙和多种元素, 也被称为藻类钙质<sup>[1]</sup>。它是一种重要的进口型经济海藻, 并在化妆品、纺织, 特别是食品行业有广泛的应用, 已经被制成多种类型的食

品和保健品, 具有较好的市场开发前景<sup>[2-4]</sup>。

现代技术研究表明, 石层藻不仅含有钙, 还含有铁、硅、钒等对人体有益的微量元素, 目前针对石层藻的开发也主要基于其丰富的钙含量<sup>[5]</sup>。随着近年来, 对于海藻研究的进一步发展, 发现多糖也是藻类的重要活性物质之一, 可以调节免疫系统, 具有抗菌功效, 同时具有一定的降脂减肥功效。如 Jiang 等<sup>[6]</sup>对石层藻中的多糖硫酸酯的活性进行了分析研究, 结果表明, 其对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -半乳糖苷酶具有一定的抑制作用。Hamias 等<sup>[7]</sup>的研究证实石层

藻多糖能减轻血管紧张素 II 诱导的冠状动脉内皮细胞炎症。Wang 等<sup>[8]</sup>研究了石层藻多糖中的一种硫酸化半乳糖的生物活性,通过对其进行化学修饰,加入了 5-F 基团,得到了一种多糖偶联物,该偶联物能增强 5-F 的抗肿瘤活性。总体而言,多糖已经成为海藻类活性物质先导化合物及开发新食品药品添加剂的重要源泉。

与此同时,针对藻类多糖的提取,分离分析等方面的研究,就成为了研究人员的关注热点<sup>[9,10]</sup>,研究和优化海藻中多糖的提取方法和多糖含量测定方法对综合利用海藻资源及评价开发海藻的内在品质均具有重要意义。我国石层藻的来源多为进口,对于其研究的报道相对较少,如何高效的提取和分离石层藻,提高其综合利用程度和经济开发价值就显得尤为重要。目前在海藻多糖研究中,多采用水提法、超声提取法、微波提取法,以及酶法等提取方法<sup>[11,12]</sup>。其中,水提法和超声法在工业提取中的常用方法,而微波提取法和酶法因经济成本较高而使用较少。

本文中,分别采用热水提取法和超声波辅助提取法,对石层藻多糖的得率、总糖含量、杂质含量和体外抗氧化活性进行了研究和分析。评价了以上两种方法所得石层藻多糖的效率和抗氧化活性。本研究结果以期作为石层藻功能性产品的开发和应用提供数据支持,为石层藻多糖的内在质量评价提供科学依据,进而为我国今后进口石层藻制定统一的质量标准与资源的综合利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

石珊瑚叠层藻粉末(*Lithothamnion superpositum*)来源于 Marigot Group(青岛森品源国际贸易有限公司);水为蒸馏水,乙醇、苯酚、浓硫酸(国药集团);半乳糖标准品(南京森贝伽生物公司);BCA 试剂盒(碧云天);植物总酚含量检测试剂盒(北京雷根生物技术有限公司);DPPH 试剂、维生素 C(国药)。

天平(XSR105/AC,梅特勒);离心机(Sorvall ST8,Thermo Scientific);水浴锅(J-HH,冠森生物科技上海公司);超声(ST型,固特);酶标仪(SAF-680T,上海精胜)。

### 1.2 不同方法制备石层藻多糖

#### 1.2.1 热水法

精密称量石层藻粉末 10.50 g,加 20 倍体积热水并加热至 85 °C 搅拌提取 100 min,抽滤,滤渣再加

10 倍水再重复提取一次。合并两次的提取液,浓缩至 20 mL,冷却至室温后,加 10 倍体积冰乙醇,4 °C 冰箱中静置 12 h。4 000 rpm 离心 15 min,所得的沉淀加水复溶后冷冻干燥,即得石层藻粗多糖(HLSP)。

#### 1.2.2 超声法

精密称量石层藻粉末 10.50 g,加 20 倍水超声提取 100 min,超声功率为 120 W,抽滤后滤渣再加 10 倍水再重复提取一次,合并两次的提取液,浓缩至 20 mL,冷却至室温后,加 10 倍体积冰乙醇,4 °C 冰箱中静置 12 h。4 000 rpm 离心 15 min,所得的沉淀加水复溶后冷冻干燥,即得石层藻粗多糖(ULSP)。

## 1.3 石层藻粗多糖含量测定

### 1.3.1 总糖含量测定

采用蒽酮-硫酸法测定 HLSP 和 ULSP 的总糖含量。具体为:采用半乳糖为标准品在紫外 630 nm 下测定系列半乳糖溶液吸光度,并绘制标准曲线,由此计算总糖含量。

### 1.3.2 还原糖含量测定

采用 DNS 法测定 HLSP 和 ULSP 的还原糖含量。同样以半乳糖作为标准品在紫外 520 nm 下测定系列半乳糖溶液吸光度,并绘制标准曲线,由此计算粗多糖样品中的还原糖含量,计算还原糖占总糖的比例。

## 1.4 石层藻粗多糖粘度测定

配制两种粗多糖 PBS 溶液,浓度为 5 mg/mL,分别将其加入到乌氏粘度计中,测定其流过毛细血管所用的时间,同时以 PBS 溶液作为对照溶液,平行测定 5 次。按以下公式计算粘度:

$$\eta_{sp} = (t - t_0) / t_0 \eta_{re} = \eta_{sp} / c$$

$\eta_{sp}$  代表比粘度,  $\eta_{re}$  代表粘度,  $t$  代表多糖溶液所用时间,  $t_0$  代表 PBS 溶液所以时间,单位为 s;  $c$  代表浓度。

## 1.5 石层藻多糖红外表征

将 HLSP 和 ULSP 分别与 KBr 混合压片,在傅立叶红外光谱 4 000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$  下扫描。

## 1.6 石层藻多糖硫酸根含量的测定

采用硫酸-氯化钡方法测定 HLSP 和 ULSP 中的硫酸根的含量。硫酸钾作为标准品,在紫外 360 nm 下测定添加 5% 氯化钡和 5% 明胶与仅添加 5% 明胶时的紫外吸光度差值与硫酸钾系列浓度值绘制标准曲线,计算 HLSP 和 ULSP 的硫酸根含量。

## 1.7 方法学考察

### 1.7.1 重复性试验

分别采用热水法和超声辅助法平行提取5次,计算两种方法粗多糖的提取效率,计算RSD值。制备两种方法提取的样品溶液各3份,按照“1.3.1”方法平行测定3次,计算总糖含量,计算RSD值。

### 1.7.2 精密度试验

精密量取两种粗多糖样品溶液,按照“1.3.1”方法平行测定6次,计算各样品中总糖的含量,计算RSD值。

### 1.7.3 稳定性试验

精密量取两种粗多糖样品溶液,按照“1.3.1”方法分别于0、1、2、4、6、8、10、12对每份粗多糖样品重复测定吸光度,计算RSD值。

### 1.7.4 加样回收率实验

制备的两种粗多糖样品溶液,取高浓度和低浓度各2份,每份加入定量的已知浓度的半乳糖标准品溶液,按照“1.3.1”法平行测定3次,计算平均加样回收率及RSD值。

## 1.8 石层藻粗多糖杂质分析

### 1.8.1 粗多糖杂蛋白含量检测

采用BCA试剂盒测定粗多糖样品中蛋白质的浓度,依照试剂盒说明书操作。

### 1.8.2 粗多糖总酚含量检测

采用比色法的植物总酚含量检测试剂盒。取两种提取的粗多糖,加入预冷的TP Assay buffer,充分匀浆后转入离心管中。避光静置,期间轻轻摇动数次,后过滤至离心管中即得总酚粗提液。根据试剂盒中的总酚标准液,配制标准曲线,并根据说明书中设定空白管、对照管、测定管并按要求在325 nm处测定其吸光度。

## 1.9 粗多糖抗氧化性检测

### 1.9.1 DPPH 自由基清除能力测定

采用酶标法测试粗多糖对氮自由基(DPPH)的清除能力。具体如下:试剂A:DPPH试剂100  $\mu\text{L}$ ,使用时37  $^{\circ}\text{C}$ 平衡后,加入10 mL无水乙醇;试剂B 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 维生素C标准溶液1 mL,使用时按试剂盒说明配制成0~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的维生素C溶液。按试剂盒说明要求分别在空白孔、测定孔、对照孔和质控孔内加入相应的试剂及样品,充分混匀后室温避光静置30 min,571 nm处测定其吸光度,空白孔为5个平行。按下式计算DPPH自由基清除能力。

$$\text{DPPH 自由基清除能力} = \frac{[\text{空白孔吸光值} - (\text{测定孔吸光值} - \text{对照孔吸光值})]}{\text{空白孔吸光值}} \times 100\%$$

### 1.9.2 羟基自由基清除能力测定

配制不同浓度的粗多糖溶液,以同浓度的维生素C溶液为对照品,在反应体系中分别加入1 mL  $\text{FeSO}_4$ 溶液,1 mL水杨酸-乙醇溶液(两种溶液浓度均为 $4.5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ),及1 mL不同浓度的多糖样品溶液与对照品溶液,最终加入2 mL  $6 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应30 min,在510 nm下测定各浓度样品的吸光度。空白组为等体积蒸馏水。羟基自由基清除率按如下计算。

$$\text{羟基自由基清除率} = \frac{[\text{样品溶液吸光度} - (\text{抗氧化剂本底吸光度} - \text{空白对照吸光度})]}{\text{样品溶液的吸光度}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 石层藻粗多糖的提取得率分析

表1中是两种方法所得的石层藻粗多糖的提取效率。结果显示,热水提取法的HLSP提取效率(9.83%)较超声辅助提取法的ULSP(8.47%)高,两种方法提取的粗多糖的得率有一定差异,热水法较超声辅助法所提取的石层藻粗多糖的效率较高。

### 2.2 石层藻粗多糖中总糖含量分析

HLSP和ULSP的总糖含量是采用蒽酮-硫酸法,以半乳糖为标准品在紫外630 nm下绘制的标准曲线,如图1所示,由此计算出HLSP和PHSP粗多糖中总糖含量分别为96.74%和98.26%。说明两种方法所提取的石层藻粗多糖中总糖含量较高。

### 2.3 石层藻粗多糖中还原糖含量分析

HLSP和ULSP中还原糖含量的测定是采用DNS法,以半乳糖为标准品在紫外520 nm下绘制的标准曲线,由此计算出HLSP和ULSP中还原糖在其总糖中的比例分别为35.29%和34.45%。

### 2.4 石层藻粗多糖粘度测定

采用乌氏粘度计测定的HLSP和ULSP的粘度,平行测定5次后,经计算得到HLSP和ULSP的粘度为0.08和0.076 dL/g。

### 2.5 石层藻粗多糖红外光谱分析

采用傅立叶红外光谱检测HLSP和ULSP的官能团结构,如图1所示:HLSP和ULSP的红外光谱大致相同,也说明了两种方法富集的多糖的官能团结构一致。在3455、2967  $\text{cm}^{-1}$ 处有特征峰,为羟基O-H氢键及分子间的伸缩振动峰;2368  $\text{cm}^{-1}$ 处为氨基酸 $\text{NH}_3^+$ 的伸缩振动;1727  $\text{cm}^{-1}$ 处为C=O双

表1 两种提取方法石层藻粗多糖的得率( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 1 Extraction yields of polysaccharide( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

提取方法 Extraction method	石层藻粉末 Total Lithothamnion superpositum(g)	粗多糖得率 Yield of crude polysaccharide(%)	粗多糖含量 Crude polysaccharide content(mg/g)
热水提取法 Hot Water Extraction	10.51 ± 0.01	9.83 ± 0.002	98.4 ± 2.3
超声波提取法 Ultrasonic extraction	10.55 ± 0.01	8.47 ± 0.001	84.4 ± 1.8

表2 多糖含量、硫酸根、蛋白及总酚标准曲线回归方程

Table 2 Calibration equation of polysaccharide, sulfate, bovine albumin and total phenol

测定指标 Determination Index	标准方程 Standard equation	$R^2$
总还原糖 Total reducing sugar	$y = 0.9685x + 0.0867$	0.9986
还原糖 Reducing sugar	$y = 0.8060x + 0.1406$	0.9924
硫酸根 Sulfate radical	$y = 0.0649x - 0.0026$	0.9863
蛋白含量(BCA) Protein content	$y = 0.1633x + 0.0047$	0.9974
总酚含量 Total phenol content	$y = 1.7617x + 0.0218$	0.9971

键特征峰; 1 162  $\text{cm}^{-1}$  处为  $-\text{SO}_2-$  的伸缩振动, 1 025  $\text{cm}^{-1}$  处为 C-O 伸缩振动。

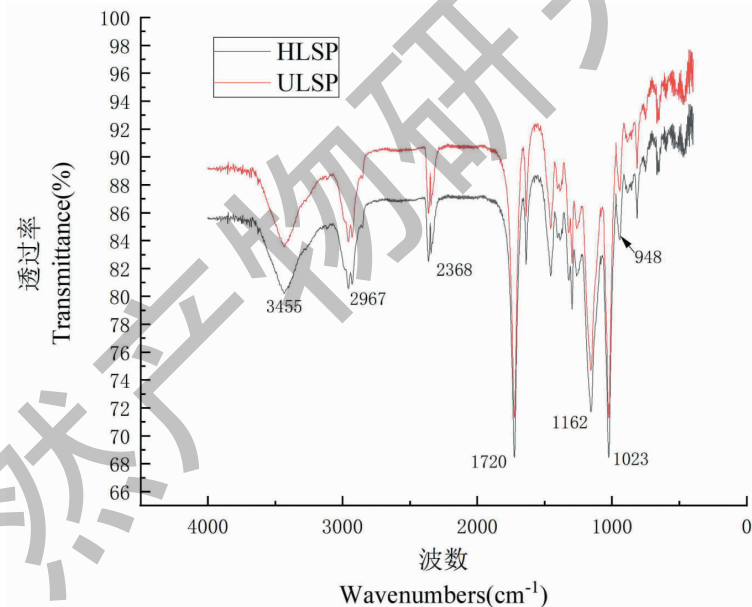


图1 HLSP 和 ULSP 的红外光谱图

Fig. 1 FTIR spectrum of HLSP and ULSP

## 2.6 石层藻粗多糖硫酸根含量测定

采用明胶-氯化钡法测定 HLSP 和 ULPS 中硫酸根含量, 结果为, HLSP 和 ULSP 的硫酸根含量分别为 9.64% 和 10.47%。

## 2.7 方法学考察

### 2.7.1 重复性考察

热水提取法和超声辅助提取法所提取的石层藻

粗多糖的总糖含量为 26.25、20.63 mg/g。RSD 值分别为 1.65% 和 2.57%。表明苯酚硫酸显色法测定石层藻粗多糖总糖含量的重复性良好。

### 2.7.2 精密度考察

热水提取法和超声辅助提取法所得的粗多糖的总糖含量的平均值为 24.34、20.76 mg/g, RSD 分别为 0.05% 和 0.08%。结果表明, 本文采用的苯酚-

浓硫酸显色法测定石层藻粗多糖总糖含量的精密度良好。

### 2.7.3 稳定性考察

热水提取法和超声辅助法提取的粗多糖溶液在

24 h 内吸光度的平均值分别是 0.564 和 0.473;RSD 分别为 1.05% 和 1.38%。表明苯酚-浓硫酸显色法测定三种粗多糖总糖含量的试样溶液在 24 h 内稳定。

### 2.7.4 加样回收率

表 3 加样回收实验结果 ( $n = 3$ )

Table 3 Experimental results of standard addition recovery rate ( $n = 3$ )

提取方法 Extraction method	总糖含量 Total sugar content ( $\mu\text{g}$ )	加样后总含量 Total content after sample addition ( $\mu\text{g}$ )	加标量 Added standard ( $\mu\text{g}$ )	加样回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
热水提取法 Hot water extraction	69.58	93.25	25.01	98.68%	0.10%
	69.47	93.34			
	69.5	93.26			
	56.42	80.12		98.35%	0.28%
	55.96	79.4			
	56.18	80.06			
超声波提取法 Ultrasonic extraction	55.02	79.15	25.01	98.79%	0.41%
	56.25	79.92			
	54.21	78.54			
	42.21	64.24		97.91%	0.27%
	43.16	66.34			
	42.25	67.84			

## 2.8 石层藻粗多糖的杂质分析

HLSP 和 ULSP 的总蛋白和总酚含量检测结果如表 4 所示。结果显示 HLSP 中总酚含量为 6.32 mg/g,总蛋白含量为 25.36 mg/g。ULSP 中总酚含

量为 5.89 mg/g,总蛋白含量为 20.15 mg/g。两种方法提取的石层藻粗多糖中杂质总酚和总蛋白的含量均有一定的差异。

表 4 不同提取方法所得的石层藻粗多糖的杂质分析 ( $n = 3$ )

Table 4 Total protein and phenolic of polysaccharide extracted by different methods ( $n = 3$ )

提取方法 Extraction method	总蛋白含量 Total protein content (mg/g)	总多酚含量 Total polyphenol content (mg/g)
热水法 Hot Water Extraction	25.36 $\pm$ 0.08	6.32 $\pm$ 0.06
超声法 Ultrasonic extraction	20.15 $\pm$ 0.02	5.89 $\pm$ 0.15

## 2.9 抗氧化活性分析

### 2.9.1 DPPH 自由基清除能力分析

HLSP 和 ULSP 的羟基自由基清除能力结果如图 2 所示,在 0 ~ 1.0 mg/mL 浓度范围内,HLSP 和 ULSP 的对 DPPH 自由基的清除作用随浓度的增加而显著增强,在浓度为 1.0 mg/mL 时 HLSP 和 ULSP 的清除效率已达到 74.08% 和 74.42%。当浓度大于 1.0 mg/mL 时清除效率保持在 74% 而不再增强,但均低于 Vc 对 DPPH 自由基的清除效率。

### 2.9.2 羟基自由基清除能力分析

HLSP 和 ULSP 对羟基自由基的清除作用呈现出浓度依赖性,随浓度的增高而逐渐增强。在实验浓度范围内,Vc 对羟基的清除效率高于 HLSP 和 ULSP 表明,HLSP 和 ULSP 对羟基的清除效率在实验浓度范围内相近。当浓度在 0 ~ 1.0 mg/mL 范围内时,HLSP 和 ULSP 的抑制率显著升高,当浓度大于 1.0 mg/mL 时抑制率逐步缓慢升高。说明热水提取法和超声提取法所得的石层藻多糖具有较好的抗氧化能力,且对羟基自由基的清除能力相近。

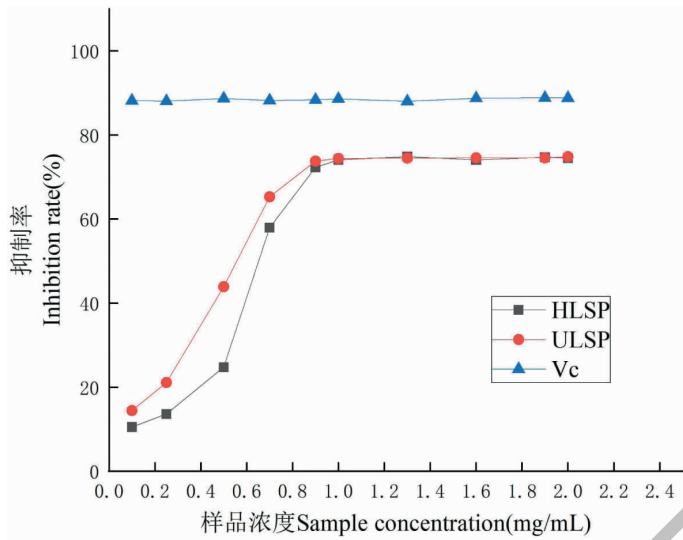


图2 不同提取方法所得粗多糖的DPPH自由基清除能力

Fig. 2 DPPH free radical scavenging capacity of HLSP and ULSP

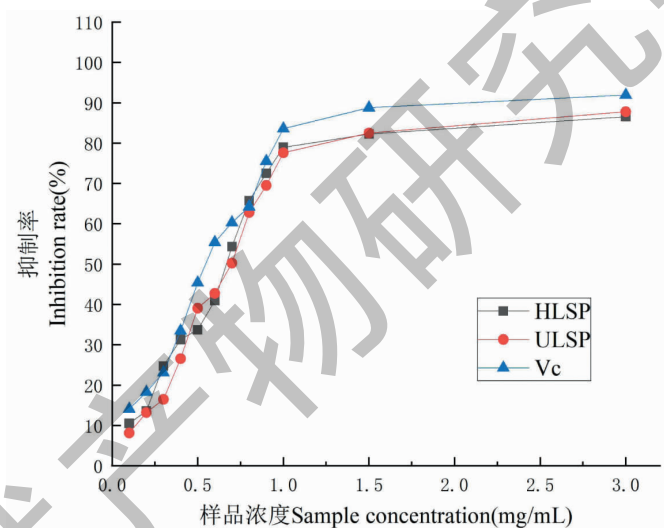


图3 不同提取方法所得粗多糖的羟基自由基清除能力

Fig. 3 Hydroxyl free radical scavenging capacity of HLSP and ULSP

### 3 结论

石层珊瑚藻是一种重要的经济型海藻,因其钙含量较高又称为天然藻类钙质,在食品和保健品方面有广泛的应用<sup>[13]</sup>。近期发现其含有的多糖成分也具有较好的保健作用<sup>[14,15]</sup>,而我国的石层珊瑚藻多来源于进口,对于石层藻的进口标准和质量要求的研究尚处于初级阶段。本文在此大背景下,研究了工业上常用的热水提取法和超声提取法对爱尔兰来源的石层珊瑚藻粗多糖的提取效率、总糖、还原糖含量,及其抗氧化活性的影响。研究结果表明,两种方法的粗多糖提取效率有一定差异,热水提取法

(9.83%)高于超声波提取法(8.47%),但超声提取法中总糖的含量高(98.26%)要高于热水提取法(96.74%)。粘度分析的结果显示,热水提取法的粗多糖粘度(0.08 dL/g)略高于超声提取法(0.076 dL/g)。

同时杂质分析中也显示,热水提取法所得的粗多糖中所含的蛋白和多酚均高于超声提取法。硫酸根含量测定实验结果显示,热水法提取的粗多糖中硫酸根的含量(9.64%)略低于超声提取法(10.47%)。由此说明热水提取法虽然有很高的粗多糖得率但所得的粗多糖中杂质较多,这是由于热

水提取法的温度相对较高,会使一些在高温下易溶于水的蛋白随着多糖组分一起被溶出,并被后续的乙醇变性沉淀,致使热水法的粗多糖得率较高,粘度更大。但热水提取法中还原糖占总糖的比例(35.29%)要微高于超声提取(34.45%)这是由于热水法的温度高,分子量较高的多糖会发生部分水解,变成还原性糖,因而还原糖的比例略高于超声法。抗氧化实验结果表明,在本文的实验浓度范围内,热水法和超声提取法的石层藻粗多糖溶液的羟基自由基和 DPPH 清除能力相近。

综上所述,超声法相较热水法的提取效率略低,但多糖的纯度较高,杂质含量较小,抗氧化能力接近一致,且其不需要高温,能更有效的保持海藻多糖的生物活性,展现出了更多的工业化生产优势,同时也为制定石层藻质量评价标准提供了方法学支撑和数据支持。

#### 参考文献

- Zenk JL, Frestedt JL, Kuskowski MA. Effect of Calcium derived from *Lithothamnion* sp. on markers of Calcium metabolism in premenopausal women [J]. *J Med Food*, 2018, 21 (2):154-158.
- Aslam MN, Bergin I, Jepsen K, et al. Preservation of bone structure and function by *Lithothamnion* sp. derived minerals [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2013, 156(1-3):210-220.
- Rezende BM, Bernardes PT, Resende CB, et al. *Lithothamnion muelleri* controls inflammatory responses, target organ injury and lethality associated with graft-versus-host disease in mice [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11:2595-2615.
- Van Wyk AW, Zuck KM, McKee TC. *Lithothamnion* A, the first bastadin-like metabolite from the red alga *Lithothamnion fragilissimum* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 27;74:1275-1280.
- Krayesky-Self S, Richards JL, Rahmatian M, et al. Aragonite infill in overgrown conceptacles of coralline *Lithothamnion* spp. (Hapalidiaceae, Hapalidiales, Rhodophyta): new insights in biomineralization and phylomineralogy [J]. *J Phycol*, 2016, 52(2):161-173.
- Jiang Z, Yu G, Liang Y, et al. Inhibitory effects of a sulfated polysaccharide isolated from edible red alga *Bangia fuscopurpurea* on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2019, 27:1-10.
- Hamias R, Wolak T, Huleihel M, et al. Red alga polysaccharides attenuate angiotensin II-induced inflammation in coronary endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500:944-951.
- Wang X, Zhang Z. The antitumor activity of a red alga polysaccharide complexes carrying 5-fluorouracil [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 69:542-545.
- Yu. H. Studies on the preparation and application of Seaweed Polysaccharides [J]. *J Agr Tech (农业与技术)*, 2018, 38 (20):255-257.
- Hou P, Ma J, Chen Y, et al. Analysis of physical and chemical properties and structural characteristics of polysaccharides from several Seaweed [J]. *J Trop Oceanog (热带海洋学报)*, 2018, 37(2):55-62.
- Liu H, Chen SJ, Yang XQ. Research progress on extraction, purification and application of seaweed polysaccharides [J]. *J Sci Tech Food Int (食品工业科技)*, 2018, 39(12):341-346.
- Ye YX, Zhang PZ, Wang L, et al. Effects of different extraction methods on polysaccharide and antioxidant activity of *Hedyotis DIFFUSA* produced by Henan [J]. *J Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2019, 31:1138-1146.
- Costa VV, Amaral FA, Coelho FM, et al. *Lithothamnion muelleri* treatment ameliorates inflammatory and hypernociceptive responses in antigen-induced arthritis in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0118356.
- Xu SY, Huang X, Cheong KL. Recent advances in marine algae polysaccharides: isolation, structure, and activities [J]. *Mar Drugs*, 2017, 15(12):E388.
- Seedevi P, Moovendhan M, Viramani S, et al. Bioactive potential and structural characterization of sulfated polysaccharide from seaweed (*Gracilaria corticata*) [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 155:516-524.