

三角帆蚌多糖的微波辅助提取及脱蛋白工艺

乔德亮^{1,2*}, 孙传伯¹, 何晓梅¹, 韦传宝¹, 朱旺生^{1,2}

¹皖西学院生物与制药工程学院; ²皖西学院农业工程设计与技术服务中心, 六安 237012

摘要: 运用微波辅助处理、热水浸提、乙醇沉淀、Sevag 法脱蛋白的方法提取制备三角帆蚌多糖。在单因素实验基础上, 运用正交实验对三角帆蚌多糖微波辅助提取及 Sevag 法脱蛋白的工艺参数进行优化。结果显示: 三角帆蚌多糖微波辅助提取的最优条件为: 水料比 15 mL/g、提取温度 50 °C、微波处理时间 150 s、微波功率 1080 W。在此条件下, 多糖的提取得率为 4.06%。三角帆蚌多糖 Sevag 法脱蛋白的最优参数组合为: 正丁醇与氯仿体积比 0.20、正丁醇-氯仿混合液用量占多糖溶液的体积百分比 20%、脱蛋白振荡时间 10 min、脱蛋白次数 8 次。在此条件下, 多糖的蛋白去除率、多糖保留率分别是 52.24% 和 65.13%。

关键词: 三角帆蚌; 多糖; 微波; 提取; 脱蛋白

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

Microwave-assisted Extraction and Deproteinization of Polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*

QIAO De-liang^{1,2*}, SUN Chuan-bo¹, HE Xiao-mei¹, WEI Chuan-bao¹, ZHU Wang-sheng^{1,2}

¹College of Biological and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University; ²Agricultural Center of Engineering Design and Technical Service, West Anhui University, Lu'an 237012, China

Abstract: Polysaccharides from *Hyriopsis cumingii* was extracted using methods of microwave-assisted hot water lixivation, ethanol precipitation and Sevag's deproteinization. On the basis of single-factor tests, parameters combination for the microwave-assisted extraction and Sevag's deproteinization of *H. cumingii* polysaccharides was optimized using orthogonal experiment. Results showed that optimal conditions for the microwave-assisted extraction of *H. cumingii* polysaccharides were: ratio of water to raw material of 15 mL/g, extraction temperature of 50 °C, microwave time of 150 s and microwave power of 1080 W. The extraction yield of polysaccharides from *H. cumingii* was 4.06% under the optimal extraction conditions. The optimal conditions for the Sevag's deproteinization of *H. cumingii* polysaccharides were: volume ratio of n-butyl alcohol to chloroform of 0.2, volume percentage of mixture (n-butyl alcohol-chloroform) to polysaccharides solution of 20%, deproteinization duration of 10 min and times of deproteinization of 8. Under this optimal condition, protein removal percentage and polysaccharide remaining percentage of polysaccharides from *H. cumingii* was 52.24% and 65.13% respectively.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; polysaccharides; microwave; extraction; deproteinization

多糖乃生物体内重要的生理活性物质之一。多糖提取时采用常规的“水提醇沉”法, 所需提取温度较高、提取时间较长, 而且提取得率也较低。微波辅助提取可以提高多糖的提取得率, 此法是高效提取多糖的技术措施之一, 已被广泛应用于多糖的提取中^[1,2]。多糖提取过程中一般需要进行脱蛋白处理, 脱蛋白的方法主要有 Sevag 法、三氯乙酸法以及

蛋白酶法等, Sevag 法因其具有反应条件温和、几乎不破坏多糖结构等优点而被广泛采用^[3,4]。

三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii* Lea) 俗称三角蚌、珍珠蚌等, 为我国特有的淡水贝类, 也是我国最主要的珍珠养殖母蚌之一, 其养殖业已分布浙江、安徽、湖北、湖南、江苏、江西、福建等多个省份。三角帆蚌目前主要用于培育珍珠, 但其软体组织还富含蛋白类、多糖类物质等营养成分, 具有多种重要用途。已有研究显示, 三角帆蚌多糖具有增强免疫力、抗氧化、抗肿瘤等作用^[5-7], 但三角帆蚌多糖的微波辅助提取及脱蛋白工艺未见报道。本文利用微波辅助提

收稿日期: 2014-01-10 接受日期: 2014-04-09

基金项目: 安徽省自然科学基金项目 (1308085MC33); 国家自然科学基金项目 (31271853)

* 通讯作者 E-mail: qiaodl@wxc.edu.cn

取技术和 Sevag 法脱蛋白技术,在单因素实验基础上,通过正交实验对三角帆蚌多糖的提取参数和蛋白脱除参数进行优化,为三角帆蚌多糖的进一步研究和开发利用积累一些资料。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器

三角帆蚌购于安徽省无为县珍珠养殖场,洗净取其内脏组织用乙醇(体积分数为 75%)浸泡备用。

微波消解仪(WMX-III-A 型,广东韶关科力实验仪器有限公司);数显恒温水浴锅(HH-4 型,常州国华电器有限公司);紫外可见分光光度计(Alpha-1500 型,上海谱元仪器有限公司);气浴恒温振荡器(CHA-SA 型,金坛市杰瑞尔电器有限公司)等。

葡萄糖标准品购于 Sigma 公司,其它试剂均为常规分析纯试剂。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖的微波辅助提取

参照 Zhong 等^[1]、黎庆涛等^[2]报道的方法稍作修改。取保存备用的材料加适量去离子水进行微波处理(水料比 5~20 mL/g,微波时间 30~150 s,微波功率 270~1350 W),然后再用 20~80 °C 热水浸提 2 h。将浸提液离心(5000 rpm, 15 min)取上清液,沉淀物用相同方法再提取 2 次,离心(5000 rpm, 15 min)取上清液。合并 3 次上清液,置旋转蒸发器 50 °C 减压浓缩至适量,浓缩液加 3 倍体积无水乙醇(乙醇终浓度为 75%)沉淀过夜,离心(5000 rpm, 15 min)取沉淀物,得到水溶性粗提物。粗提物采用 Sevag 法脱除游离蛋白,得粗多糖。粗多糖中多糖含量的测定参照张惟杰^[8]报道的苯酚-硫酸比色法稍作修改,以葡萄糖标准品为标样制作标准曲线。

多糖提取率(%) = [粗多糖中多糖质量(g)/原材料质量(g)] × 100

在单因素实验(水料比、提取温度、微波时间、微波功率)基础上进行正交实验,每组设 3 个平行,因素水平的确定以多糖提取率为判断指标。

1.2.2 多糖粗提物中蛋白质的 Sevag 法脱除

参照朱劼等^[3]报道的方法经适当修改。取多糖粗提物溶液(约 1.0 mg/mL) 50 mL,加入一定体积的氯仿-正丁醇混合液(混合液中正丁醇与氯仿体积比例 0.15~0.35、混合液用量占多糖溶液的体积百分比 15%~35%),摇床剧烈振荡 10~50 min,分液漏斗静置 30 min 使其分层,去除下层有机溶剂-

蛋白相。上清液用相同方法反复脱蛋白 6~10 次。将上清液定容至 50 mL,测量多糖溶液的蛋白质去除率和多糖保留率。

蛋白去除率的测定采用紫外吸收法,即利用蛋白质在 280 nm 处有强吸收的特点,测量多糖溶液的 280 nm 吸光值。多糖保留率的测定运用苯酚-硫酸比色法^[8],测量反应体系的 490 nm 吸光值。然后比较脱蛋白前后的吸光值,计算出蛋白去除率和多糖保留率。

蛋白去除率(%) = (1-脱蛋白后蛋白吸光值/脱蛋白前蛋白吸光值) × 100

多糖保留率(%) = (脱蛋白后多糖吸光值/脱蛋白前多糖吸光值) × 100

在单因素实验(正丁醇与氯仿比例、混合液用量、脱蛋白时间、脱蛋白次数)基础上进行正交实验,每组设 3 个平行,因素水平的确定以蛋白去除率、多糖保留率为判断指标。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验对微波辅助提取三角帆蚌多糖提取率的影响

2.1.1 水料比对三角帆蚌多糖提取率的影响

水料比设置 5、10、15 和 20 mL/g 四个梯度,提取温度、微波时间及微波功率分别是 65 °C、120 s 和 1080 W,此时水料比对三角帆蚌多糖得率的影响见图 1(A)所示。当水料比在 5~15 mL/g 范围内,随着水料比的增加,多糖得率显著增加($P < 0.05$); 15~20 mL/g 范围内,水料比增加多糖得率差异不显著($P > 0.05$)。张民等^[9]报道水体积的增加有利于多糖物质的溶出和运输,从而可以提高多糖的提取率,但超过一定比例后影响并不显著。本研究结果与此类似。当水料比小于 15 mL/g 时,水料比对三角帆蚌多糖得率的影响呈正向显著性;当水料比大于 15 mL/g 时,水料比对三角帆蚌多糖得率的影响不显著。考虑到加水过多不利于后期的浓缩,所以 15 mL/g 被选作后续正交实验水料比的中心点。

2.1.2 提取温度对三角帆蚌多糖提取率的影响

提取温度设置 20、35、50、65 和 80 °C 五个梯度,水料比、微波时间及微波功率分别为 15 mL/g、120 s 和 1080 W,此时提取温度对三角帆蚌多糖得率的影响见图 1(B)。当提取温度在 20~50 °C 范围内,随着温度的升高,多糖得率显著增加($P < 0.05$); 50~

80 ℃ 范围内,温度升高多糖得率差异不显著($P > 0.05$)。有研究报道,温度升高可增加多糖的扩散系数和溶解性,有利于多糖从材料中进入提取溶剂内,从而可提高多糖的提取得率^[10]。但温度升高一定以后,多糖进出材料已接近平衡,多糖的提取得率达到最大值。继续增加温度,可能引起多糖链的水解,提取得率反而下降^[11]。本研究结果,当温度小于 50 ℃ 时,提取温度对三角帆蚌多糖得率的影响呈正向显著性;当温度大于 50 ℃ 时,提取温度对三角帆蚌多糖得率的影响不显著。所以为了节约能源和成本,50 ℃ 被选作后续正交实验提取温度的中心点。

2.1.3 微波时间对三角帆蚌多糖提取得率的影响

研究显示,一定范围内提取时间与多糖得率呈正相关,即时间的延长可提高多糖的得率^[12]。但时间过长,可能引起多糖结构的改变,导致多糖得率减少^[13]。本研究微波时间设置 30、60、90、120 和 150

s 五个梯度,水料比、提取温度及超声功率数分别是 15 mL/g、65 ℃ 和 1080 W,此时微波时间对三角帆蚌多糖得率的影响如图 1(C)所示。微波时间在 30 ~ 120 s 范围内,随着时间的延长,多糖得率呈逐渐增加趋势;120 ~ 150 s 范围内,时间延长多糖得率呈下降趋势。所以,120 s 被选作后续正交实验微波时间的中心点。

2.1.4 微波功率对三角帆蚌多糖提取得率的影响

微波功率设置 270、540、810、1080 和 1350 W 五个梯度,水料比、提取温度及微波时间分别是 15 mL/g、65 ℃ 和 120 s,此时微波功率对三角帆蚌多糖得率的影响见图 1(D)。当微波功率在 270 ~ 1080 W 范围内,随着功率的增加,多糖提取得率呈逐渐增加趋势;1080 ~ 1350 W 范围内,功率的增加多糖得率呈下降趋势。所以,1080 W 被选作后续正交实验微波功率的中心点。

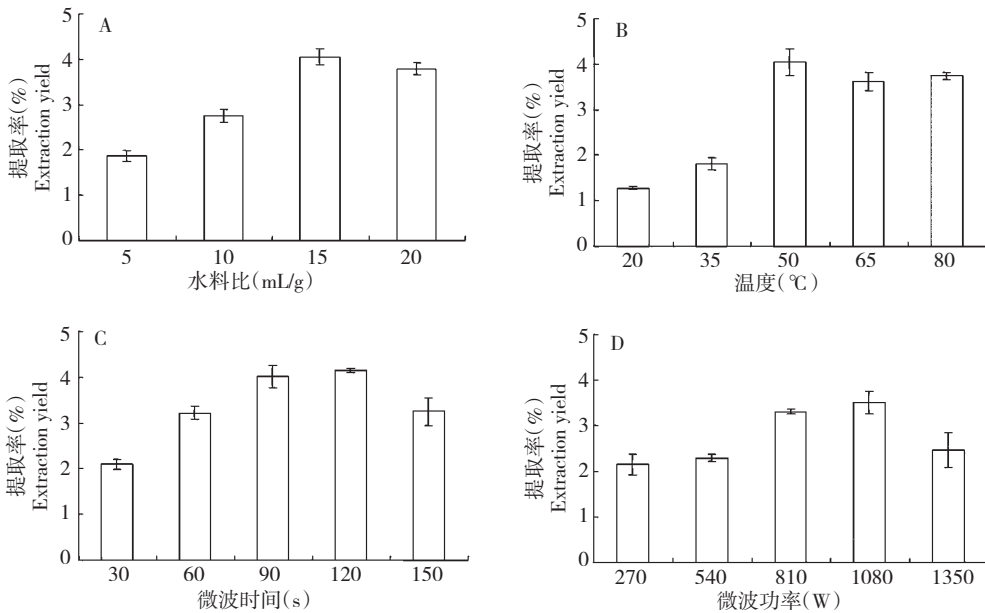


图 1 水料比(A)、温度(B)、微波时间(C)及微波功率(D)对三角帆蚌多糖提取得率的影响

Fig. 1 Effect of ratio of water to raw material (A), extraction temperature (B), microwave duration (C) and microwave power (D) on the yield of *H. cumingii* polysaccharides

2.2 正交实验优化三角帆蚌多糖的提取参数

在单因素实验的基础上,进行 4 因素 3 水平的正交实验,以多糖提取得率为指标,对三角帆蚌多糖的微波辅助提取条件进行优化。正交实验设计及结果列于表 1。由表中极差值大小可知,提取温度对三角帆蚌多糖的提取得率影响最大,其次分别为微波时间、水料比和微波功率,即各因素影响的大小顺

序为 $B > C > A > D$ 。从表中均值大小可以看出,提取条件的最佳组合为 $A_2B_2C_3D_2$ 。

取 3 份三角帆蚌样品,以最佳条件组合 ($A_2B_2C_3D_2$) 进行多糖微波辅助提取的验证实验,结果多糖的提取得率为 4.06%,略高于表中最优组合 ($A_2B_2C_3D_1$) 的实验结果 (3.99%)。正交实验结果的方差分析列于表 2。由表 2 可知,四个因素(水料

比、提取温度、微波时间、微波功率)对多糖提取得率的影响都是显著的。所以,最终确定三角帆蚌多糖微波辅助提取条件的最优组合为 $A_2B_2C_3D_2$,即水

料比 15 mL/g、提取温度 50 °C、微波时间 150 s、微波功率 1080 W。

表 1 三角帆蚌多糖微波辅助提取的正交实验设计及结果 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Design matrix and results of orthogonal experiment for the microwave-assisted extraction of *H. cumingii* polysaccharides ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

实验号 No.	A 水料比 Ratio of water to raw material (mL/g)	B 提取温度 Extraction temperature (°C)	C 微波时间 Microwave duration (s)	D 微波功率 Microwave power (W)	多糖提取得率 Extraction yield of polysaccharides (%)
1	10 (A ₁)	35 (B ₁)	90 (C ₁)	810 (D ₁)	1.33 ± 0.24
2	10	50 (B ₂)	120 (C ₂)	1080 (D ₂)	3.70 ± 0.46
3	10	65 (B ₃)	150 (C ₃)	1350 (D ₃)	2.72 ± 0.32
4	15 (A ₂)	35	120	1350	2.48 ± 0.21
5	15	50	150	810	3.99 ± 0.37
6	15	65	90	1080	2.58 ± 0.29
7	20 (A ₃)	35	150	1080	2.46 ± 0.35
8	20	50	90	1350	2.18 ± 0.24
9	20	65	120	810	2.55 ± 0.19
K ₁	2.583	2.090	2.030	2.623	-
K ₂	3.017	3.290	2.910	2.913	-
K ₃	2.397	2.617	3.057	2.460	-
R	0.620	1.200	1.027	0.453	-

表 2 三角帆蚌多糖微波辅助提取正交实验结果的方差分析

Table 2 Variance analysis of orthogonal experiment results for the microwave-assisted extraction of *H. cumingii* polysaccharides

来源 Source	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significance
模型 Model	14.832	8	1.854	19.564	0.000	***
截距 Intercept	191.840	1	191.840	2024.341	0.000	***
水料比 Ratio of water to raw material	1.821	2	0.911	9.608	0.001	**
提取温度 Temperature	6.512	2	3.256	34.359	0.000	***
微波时间 Microwave Time	5.550	2	2.775	29.282	0.000	***
微波功率 Microwave power	0.949	2	0.474	5.006	0.019	*
误差 Error	1.706	18	0.095	-	-	-
总变异 Total variation	16.538	26	-	-	-	-

$F_{0.05}(2,18) = 3.55, F_{0.01}(2,18) = 6.01$ 。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

2.3 三角帆蚌多糖 Sevag 法脱蛋白单因素实验结果

2.3.1 正丁醇与氯仿比例对三角帆蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响

正丁醇与氯仿体积比设置 0.15、0.20、0.25、0.30 和 0.35 五个梯度,混合液用量、脱蛋白时间及

脱蛋白次数分别是 30%、40 min 和 8 次,此时正丁醇与氯仿比例对三角帆蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响如图 2(A) 所示。正丁醇与氯仿比例为 0.35 时,蛋白去除率最高,但多糖损失严重,多糖保留率很低;正丁醇与氯仿比例为 0.20 时,蛋白去除率和多糖保留率均较高。所以,0.20 被选作后续正

交实验正丁醇与氯仿比例的中心点。

2.3.2 混合液用量对三角帆蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响

正丁醇-氯仿混合液用量占多糖溶液的体积百分比设置 15%、20%、25%、30% 和 35% 五个梯度,正丁醇与氯仿比例、脱蛋白时间及脱蛋白次数分别是 0.25、40 min 和 8 次,此时混合液用量对三角帆

蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响如图 2(B) 所示。混合液用量为 30% 时,蛋白去除率最高,但多糖损失严重,多糖保留率低;混合液用量为 35% 时,多糖保留率最高,但蛋白质保留的也多,蛋白去除率低;混合液用量为 15% 时,蛋白去除率、多糖保留率均较高。所以,15% 被选作后续正交实验混合液用量的中心点。

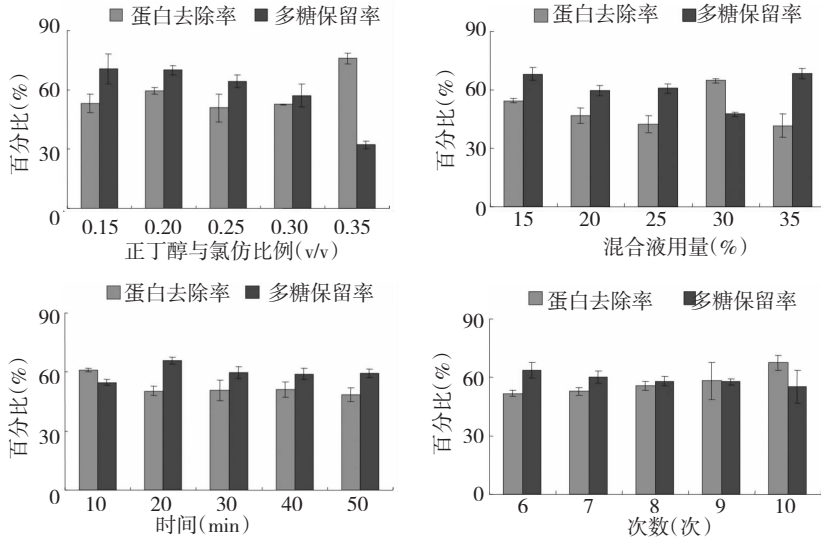


图 2 正丁醇与氯仿比例(A)、混合液用量(B)、脱蛋白时间(C)、脱蛋白次数(D)对三角帆蚌多糖蛋白去除率和多糖保留率的影响

Fig. 2 Effect of ratio of n-butyl alcohol to chloroform (A), dosage of mixture (B), deproteinization duration (C) and times of deproteinization (D) on the protein removal percentage and polysaccharide remaining percentage of *H. cumingii* polysaccharides

2.3.3 脱蛋白时间对三角帆蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响

脱蛋白时间设置 10、20、30、40 和 50 min 五个梯度,正丁醇与氯仿比例、混合液用量及脱蛋白次数分别是 0.25、30% 和 8 次,此时脱蛋白时间对三角帆蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响如图 2(C) 所示。脱蛋白时间为 10 min 时,蛋白去除率最高,但多糖保留率也是最低;脱蛋白时间为 20 min 时,蛋白去除率、多糖保留率均较高。所以,20 min 被选作后续正交实验脱蛋白时间的中心点。

2.3.4 脱蛋白次数对三角帆蚌多糖蛋白去除率、多糖保留率的影响

脱蛋白次数设置 6、7、8、9 和 10 次五个梯度,正丁醇与氯仿比例、混合液用量及脱蛋白时间分别是 0.25、30% 和 40 min,此时脱蛋白次数对三角帆蚌多

糖蛋白去除率、多糖保留率的影响如图 2(D) 所示。脱蛋白次数在 6~10 次范围内,随着次数的增加,蛋白去除率呈逐渐增加趋势、多糖保留率呈逐渐减少趋势。脱蛋白次数为 9 次时,蛋白去除率、多糖保留率均较高。所以,9 次被选作后续正交实验脱蛋白次数的中心点。

2.4 正交实验优化三角帆蚌多糖的脱蛋白参数

根据单因素实验结果,进行 4 因素 3 水平的正交实验,以蛋白去除率、多糖保留率为指标,对三角帆蚌多糖的 Sevag 法脱蛋白条件进行优化。正交实验设计及结果列于表 3。由表中极差值大小可知:影响蛋白去除率的主要因素为正丁醇与氯仿比例,其次是脱蛋白次数、混合液用量和脱蛋白时间;影响多糖保留率的主要因素为脱蛋白次数,其次是正丁醇与氯仿比例、混合液用量和脱蛋白时间。

表3 三角帆蚌多糖脱蛋白的正交实验设计及结果($n = 3, \bar{x} \pm s$)Table 3 Design matrix and results of orthogonal experiment for the deproteinization of *H. cumingii* polysaccharides ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

实验号 No.	A 正丁醇与氯仿比例 Ratio of n-butyl alcohol to chloroform (v/v)	B 混合液用量 Dosage of mixture (%)	C 时间 Deproteinization duration (min)	D 次数 Times of deproteinization (次)	蛋白去除率 Protein removal percentage (%)	多糖保留率 Polysaccharide remaining percentage (%)
1	0.15 (A ₁)	10 (B ₁)	10 (C ₁)	8 (D ₁)	52.97 ± 4.32	63.84 ± 3.56
2	0.15	15 (B ₂)	20 (C ₂)	9 (D ₂)	55.97 ± 2.16	50.67 ± 2.13
3	0.15	20 (B ₃)	30 (C ₃)	10 (D ₃)	63.18 ± 5.84	48.77 ± 3.24
4	0.20 (A ₂)	10	20	10	58.13 ± 4.61	54.10 ± 4.85
5	0.20	15	30	8	66.17 ± 6.25	52.81 ± 3.59
6	0.20	20	10	9	51.65 ± 4.98	60.47 ± 2.93
7	0.25 (A ₃)	10	30	9	45.91 ± 2.64	62.18 ± 6.75
8	0.25	15	10	10	57.29 ± 5.28	57.19 ± 2.67
9	0.25	20	20	8	44.14 ± 3.82	67.74 ± 2.73
蛋白去除率分析 Analysis of protein removal percentage						
K ₁	57.373	52.337	53.970	54.427	-	-
K ₂	58.650	59.810	52.747	51.177	-	-
K ₃	49.113	52.990	58.420	59.533	-	-
R	9.537	7.473	5.673	8.356	-	-
多糖保留率分析 Analysis of polysaccharide remaining percentage						
K ₁	54.427	60.040	60.500	61.463	-	-
K ₂	55.793	53.557	57.503	57.773	-	-
K ₃	62.370	58.993	54.587	53.353	-	-
R	7.943	6.483	5.913	8.110	-	-

有研究报道, Sevag 法脱蛋白时重复处理, 随着蛋白去除率的逐渐增加, 多糖保留率会逐渐下降。分析可能原因: Sevag 试剂处理形成的凝胶物中夹带有多糖物质; 有些多糖与蛋白结合形成的糖蛋白也会发生凝聚沉淀。这样导致多糖保留率的下降^[14]。本研究结果显示与此类似。从表 3 中均值大小可以看出, 蛋白去除率的最佳组合为 A₂B₂C₃D₃, 多糖保留率的最佳组合为 A₃B₁C₁D₁。对蛋白去除率和多糖保留率进行综合分析: A 因素取水平 1 时, 得到中等的蛋白去除率、低等的多糖保留率; 取水平 2 时, 得到高等的蛋白去除率、中等的多糖保留率; 取水平 3 时, 得到低等的蛋白去除率、高等的多糖保留率; 所以因素 A 取水平 2 最适宜。B 因素取水平 1 时, 得到低等的蛋白去除率、高等的多糖保留率; 取水平 2 时, 得到高等的蛋白去除率、低等的多糖保留率; 取水平 3 时, 得到中等的蛋白去除率、中等的多糖保留率; 所以因素 B 取水平 3 最适宜。C 因素取水平 1 时, 得到中等的蛋白去除率、高等的多糖保留率;

取水平 2 时, 得到低等的蛋白去除率、中等的多糖保留率; 取水平 3 时, 得到高等的蛋白去除率、低等的多糖保留率; 所以因素 C 取水平 1 最适宜。D 因素取水平 1 时, 得到中等的蛋白去除率、高等的多糖保留率; 取水平 2 时, 得到低等的蛋白去除率、中等的多糖保留率; 取水平 3 时, 得到高等的蛋白去除率、低等的多糖保留率; 所以因素 D 取水平 1 最适宜。这样, 综合考虑蛋白去除率和多糖保留率, 确定 A₂B₃C₁D₁ 为最佳脱蛋白工艺条件。

正交实验结果的方差分析列于表 4。由表 4 可知, 四个因素(正丁醇与氯仿比例、混合液用量、脱蛋白时间、脱蛋白次数)对蛋白去除率、多糖保留率的影响都是显著的。所以, 确定三角帆蚌多糖 Sevag 法脱蛋白条件的最优组合为 A₂B₃C₁D₁, 即正丁醇与氯仿比例为 0.20, 混合液用量为 20%, 脱蛋白时间为 10 min, 脱蛋白次数为 8 次。取 3 份三角帆蚌多糖粗提物溶液, 以最优条件组合(A₂B₃C₁D₁)进行 Sevag 法脱蛋白的验证实验, 结果多糖的蛋白去除率

为 52.24%、多糖保留率为 65.13%。

表 4 三角帆蚌多糖脱蛋白正交实验结果的方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal experiment results for the deproteinization of *H. cumingii* polysaccharides

蛋白去除率方差分析 Variance analysis of protein removal percentage						
来源 Source	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significance
模型 Model	1270.667	8	158.833	7.602	0.000	***
截距 Intercept	81810.356	1	81810.356	3915.568	0.000	***
正丁醇与氯仿比例 Ratio of n-butyl alcohol to chloroform	482.416	2	241.208	11.545	0.001	**
混合液用量 Dosage of mixture	308.370	2	154.185	7.380	0.005	**
时间 Time	160.457	2	80.229	3.840	0.041	*
次数 Times	319.423	2	159.712	7.644	0.004	**
误差 Error	376.085	18	20.894	-	-	-
总变异 Total variation	1646.752	26	-	-	-	-
多糖保留率方差分析 Variance analysis of polysaccharide remaining percentage						
来源 Source	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significance
模型 Model	996.847(a)	8	124.606	7.611	0.000	***
截距 Intercept	89361.924	1	89361.924	5458.220	0.000	***
正丁醇与氯仿比例 Ratio of n-butyl alcohol to chloroform	324.651	2	162.325	9.915	0.001	**
混合液用量 Dosage of mixture	218.059	2	109.030	6.660	0.007	**
时间 Time	157.363	2	78.682	4.806	0.021	*
次数 Times	296.774	2	148.387	9.063	0.002	**
误差 Error	294.696	18	16.372	-	-	-
总变异 Total variation	1291.543	26	-	-	-	-

$F_{0.05}(2,18) = 3.55, F_{0.01}(2,18) = 6.01$ 。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3 结论

通过正交实验优化了微波辅助提取三角帆蚌多糖的工艺条件,最优参数组合为:水料比 15 mL/g、提取温度 50 ℃、微波处理时间 150 s、微波功率 1080 W。在此条件下,三角帆蚌多糖的提取得率为 4.06%。同时也优化了三角帆蚌多糖 Sevag 法脱蛋白的工艺参数,最优脱蛋白条件为:正丁醇与氯仿体积比 0.20、正丁醇-氯仿混合液用量占多糖溶液的体积百分比 20%、脱蛋白振荡时间 10 min、脱蛋白次数 8 次。在此条件下,三角帆蚌多糖的蛋白去除率为 52.24%、多糖保留率为 65.13%。

参考文献

1 Zhong K, Lin WJ, Wang Q, *et al.* Extraction and radicals scavenging activity of polysaccharides with microwave extraction from mung bean hulls. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51:

612-617.

- 2 Li QT(黎庆涛), Pan LL(潘路路), Huang KN(黄康宁), *et al.* Microwave-assisted extraction of polysaccharide from *Sargassum thunbergii*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2011, 23:1160-1162.
- 3 Zhu J(朱劼), Ren SZ(任淑振), Peng JC(彭江晨). Optimization of polysaccharide extraction from *Spirulina platensis* by cell freeze-thaw cooperated with hot water extraction and deproteinization. *Food Sci*(食品科学), 2012, 33:111-116
- 4 Wang JP(王金鹏), Chen HQ(陈寒青), Deng L(邓力), *et al.* Comparison of different methods for removal of protein from extracted polysaccharide of *Acanthopanax senticosus*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2009, 21:55-158.
- 5 Dai Z, Zhang H, Zhang Y, *et al.* Chemical properties and immunostimulatory activity of a water-soluble polysaccharide from the calm of *Hyriopsis cumingii* Lea. *Carbohydr Polym*, 2009, 77:365-369.

(下转第 925 页)