

珠母贝糖蛋白分离提取工艺条件优化

范秀萍, 吴红棉, 胡雪琼, 江国烟

(广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524006)

摘要: 采用单因素实验与正交实验, 研究珠母贝全脏器中糖蛋白的分离提取工艺条件。结果表明: 珠母贝全脏器中糖蛋白的最佳分离提取条件为: 以 1.0 mol/L NaCl 溶液为浸提剂, 料液比为 1:10, 浸提温度为 65 ℃, 浸提时间为 60 min, 提取液经透析浓缩、醇沉后得到珠母贝糖蛋白, 得率为 3.37%, 总糖和总蛋白含量分别为 7.49% 和 25.33%。

关键词: 珠母贝; 糖蛋白; 分离提取

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)10-0053-03

Extraction of Glycoprotein from *Pinctada martensii*

FAN Xiu-ping, WU Hong-mian, HU Xue-qiong, JIANG Guo-yan

(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524006, China)

Abstract: The extraction of glycoprotein from the whole viscera of the *Pinctada martensii* was studied. The results showed that the optimal separation conditions were NaCl concentration of 1.0 mol/L, extraction temperature of 65 ℃ and extraction time of 60 min. The crude extracts were dialyzed with water, concentrated and then precipitated with alcohol, giving pure coarse glycoprotein with the yield of 3.37%. The content of total sugar and total protein in the coarse glycoprotein were 7.49% and 25.33%, respectively.

Key words: *Pinctada martensii*; glycoprotein; isolation and extraction

糖蛋白 (glycoprotein) 是一类由糖类同多肽或蛋白质以共价键连接而形成的结合蛋白^[1]。随着对海洋生物研究的深入, 海洋软体动物中糖蛋白的生物活性引起了广泛的关注。已有研究证实: 从海兔^[2]、栉孔扇贝^[3]、管角螺^[4]等中提取的糖蛋白具有显著的抗肿瘤与增强免疫力的活性。马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*) 是我国南海主要的珍珠贝种, 产量巨大, 本文主要对其糖蛋白的分离提取工艺条件进行优化, 为其加工利用与活性研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*), 购自广东省湛江市徐闻县水产养殖场, 原料去壳得全脏器, 于 -18 ℃ 下冷冻备用。

1.2 方法

1.2.1 糖蛋白分离提取方法

原料→匀浆→加浸提液→浸提→冷却→纱布过滤→滤液浓缩至体积的 1/4→醇沉→离心→沉淀物用乙醇、丙酮交替洗涤 3 次→恒温干燥→糖蛋白粗品

1.2.2 检测方法

收稿日期: 2007-07-02

作者简介: 范秀萍 (1979-), 硕士, 讲师, 研究方向为海洋生物活性物质

总糖含量测定: 苯酚-硫酸法^[5]; 总蛋白含量测定: Folin-酚法。

2 结果与分析

2.1 不同浸提剂对糖蛋白提取效果的影响

分别以蒸馏水、0.5 mol/L NaCl、1.0 mol/L NaCl、1.5 mol/L NaCl 四种溶液作为浸提剂, 料液比为 1:10, 80 ℃ 下浸提 60 min。检测浸提液中的总糖含量与总蛋白含量, 结果如图 1 所示。

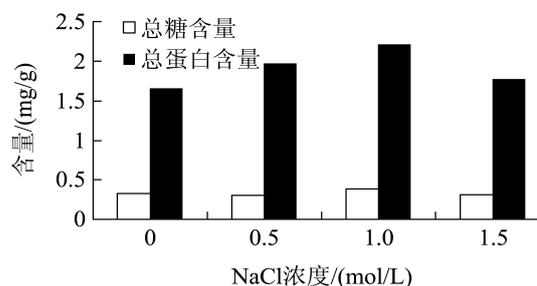


图 1 不同浸提剂对糖蛋白提取效果的影响

由图 1 可知, 珠母贝中总蛋白的含量远远高于总糖含量, 当用 1.0 mol/L NaCl 溶液的浸提时。其中的总糖与总蛋白含量均可达最高, 分别可达到 0.38 mg/g 和 2.21 mg/g。

2.2 不同料液比对糖蛋白提取效果的影响

采用 1.0 mol/L NaCl 溶液为浸提剂, 比较不同的

料液比对其提取效果的影响, 结果见图 2。不同料液比对总糖含量影响不大, 但随浸提液体积的增大, 浸提液中总蛋白含量先升高再下降, 在 10 倍体积时浸提液中总蛋白与总糖含量达到最大, 分别为 2.48 mg/g 和 0.3 mg/g。

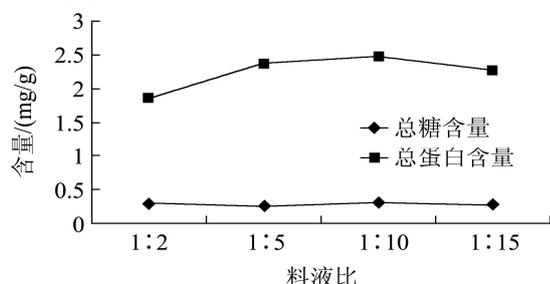


图 2 不同料液比对糖蛋白提取效果的影响

2.3 不同温度对糖蛋白提取效果的影响

以 1:10 (m/v) 加入 1.0 mol/L NaCl 溶液, 分别在 65 °C、75 °C、85 °C、95 °C 条件下浸提, 比较不同温度对糖蛋白提取的影响。结果见图 3。随着温度的上升浸提液中总糖与总蛋白含量均呈现下降趋势, 当温度超过 85 °C 时, 蛋白出现变性, 浸提液中总蛋白含量明显下降。在 65 °C 时浸提液中总蛋白与总糖含量达到 1.82 mg/g 和 0.41 mg/g。

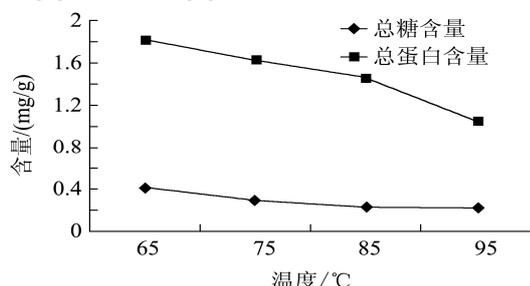


图 3 不同浸提温度对糖蛋白提取效果的影响

2.4 不同浸提时间对糖蛋白提取效果的影响

以 1:10 (m/v) 比例加入 1.0 mol/L NaCl 溶液, 在 65 °C 条件下分别浸提 30 min、60 min、90 min、120 min, 比较不同浸提时间对糖蛋白提取效果的影响, 结果见图 4。

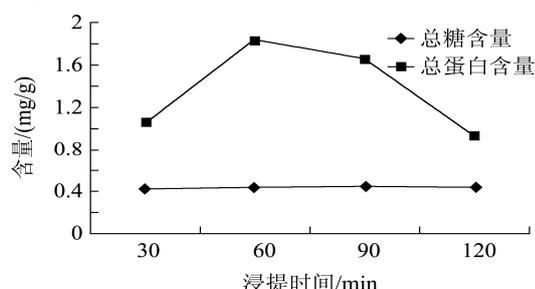


图 4 不同浸提时间对糖蛋白提取效果的影响

浸提时间对糖蛋白中总糖含量影响不明显, 但对总蛋白影响较大, 在 60 min 时浸提液中总蛋白含量达到最高 1.83 mg/g。但在做浸提时间对糖蛋白提取的影响时, 时间 90 min 的总糖含量稍微高于 60 min, 但蛋白含量相对偏低, 考虑到糖链在糖蛋白的活性中作用较大, 故下一步正交设计时没有以 60 min 为中间值, 而选择了 90 min。

2.5 正交实验设计与结果

在单因素实验结果的基础上, 以盐浓度、料液比、浸提温度与时间为四因素, 设计正交实验表(见表 1); 以浸提液中总糖与总蛋白含量为指标检测糖蛋白的提取效果, 结果见表 2。

表 1 正交实验因素水平表

水平	因素			
	A(盐浓度 / (mol/L))	B(料液 比)	C(浸提温度 / °C)	D(浸提时间 / min)
1	0.5	1:8	60	60
2	1.0	1:10	65	90
3	1.5	1:12	70	120

表 2 L₉(3⁴)正交实验设计与结果

组号	因素				总糖含量 (mg/g)	总蛋白含量 (mg/g)
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	0.31	1.46
2	1	2	2	2	0.38	1.93
3	1	3	3	3	0.27	1.68
4	2	1	2	3	0.45	2.03
5	2	2	3	1	0.46	2.50
6	2	3	1	2	0.32	1.74
7	3	1	3	2	0.26	1.95
8	3	2	1	3	0.27	1.84
9	3	3	2	1	0.49	2.19
总糖						
K ₁	0.32	0.34	0.30	0.42		
K ₂	0.41	0.37	0.44	0.32		
K ₃	0.34	0.36	0.33	0.33		
R	0.09	0.03	0.14	0.10		
总蛋白						
K ₁	1.68	1.81	1.68	2.05		
K ₂	2.09	2.09	2.05	1.88		
K ₃	1.99	1.87	2.04	1.85		
R'	0.41	0.28	0.37	0.20		

(下转第 57 页)