

正交实验优化脉红螺多糖的提取

林海, 韩凯宁, 杨红丽

(浙江海洋学院食品与药学院, 浙江舟山 316004)

摘要: 通过苯酚-硫酸法显色测定多糖的浓度, 采用正交实验优化了脉红螺多糖的提取方法, 为脉红螺的精深加工提供依据。在单因素分析的基础上进行正交试验, 脉红螺多糖最佳提取条件为: 提取温度 50 ℃、料液比 1:80 (m/V)、提取时间 30 min, 此条件下, 脉红螺多糖的得率为 21.8%。

关键词: 脉红螺; 多糖; 苯酚-硫酸法; 提取

文章编号: 1673-9078(2012)4-438-440

Extraction of Polysaccharide from *Rapana venosa* by Orthogonal Test

LIN Hai, HAN Kai-ning, YANG Hong-li

(Food and Pharmaceutical Science College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China)

Abstract: Extraction conditions for polysaccharide from *Rapana venosa* were optimized by orthogonal test. The effects of factors, including extraction time, solid to solvent ratio and extraction temperature were investigated using single factor analysis and orthogonal analysis. The results showed that the best conditions for extraction of polysaccharide from *Rapana venosa* were: extraction temperature 50 ℃; solid to solvent ratio 1:80 (m/V) and extraction time 30 min, under which the polysaccharide yield reached 21.8%.

Key words: *Rapana venosa*; polysaccharide; phenol-sulfuric acid colorimetry; extraction

脉红螺 (*Rapana vanosa* Valenciennes) 又名角泊螺, 是一种大型经济螺类, 成体壳高 110~120 mm, 足部肥大、味美, 除鲜食外, 可制罐、冷冻或加工成干制品, 深受国内外市场欢迎^[1]。脉红螺营养丰富, 富含多糖, 有关研究表明软体动物多糖具有抗肿瘤、抗病毒、降血脂、降血糖^[2]等多种生物学活性, 具有开发成为保健食品、药物、载体材料^[3]等应用在医药卫生领域的潜力。近年来人们对动、植物和少部分海洋类生物多糖的提取和功能开展了大量的研究, 如桑叶^[4]、知母^[5]、无梗五加果实^[6]、龙眼^[7]、龙井茶^[8]和海带^[9]等。目前, 从脉红螺中提取多糖的研究尚未见报道, 本文以脉红螺为原料, 探讨脉红螺多糖提取的工艺, 以苯酚硫酸法测定总糖含量, 为脉红螺的精深加工提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

脉红螺, 购自舟山南珍菜市场; 浓硫酸 (AR), 苯酚 (AR), 丙酮 (AR), 95%乙醇 (AR), 碳酸钠 (AR), 氢氧化钠料液, 活性炭。

高速组织捣碎机, 山海标本磨具厂; UV-1100 紫

外分光光度计, 上海美谱达仪器有限公司; DGG-9240A 干燥箱; DTF-250 手提式高速万能粉碎机, 温岭市林达机械厂; TDL-408 飞鸽牌离心机, 上海安亭科学仪器厂; 电子天平, 赛多利斯科学仪器有限公司; HH-4 数显恒温水浴锅, 常州澳华仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 脉红螺干粉的制备

活体脉红螺→洗净→去壳→控干水分→捣碎→在丙酮溶液中浸泡 12 h→过滤→在 95%的乙醇中浸泡 2 h→过滤→烘干 (40 ℃)→粉碎→60 目过筛→脉红螺干粉

1.2.2 脉红螺多糖的提取及测定

称取脉红螺干粉 1 g, 加 1%氢氧化钠溶液 100 mL, 60 ℃水浴 1 h, 离心 15 min, 取上清液 10 mL 稀释至 100 mL, 取稀释后的溶液按照参考文献的方法及测量波长^[10]测定总糖含量。

1.3 脉红螺多糖溶液去色与未去色的波谱对比

称取两份脉红螺干粉各 1 g, 按照 1.2.2 的方法提取多糖, 取多糖提取液一份加入一定量的活性炭去色, 另一份做对照, 取去色和未去色的脉红螺多糖溶液各 1.2 mL、1.6 mL 用蒸馏水定容到 8 mL 后测吸光度, 分析色素对脉红螺多糖溶液测定的影响。

1.4 单因素试验

按照 1.2.2 的方法提取多糖, 分别以提取时间、提取温度、料液比进行单因素试验, 考查它们对多糖得

收稿日期: 2012-01-10

作者简介: 林海 (1989-), 女, 研究方向为食品加工与安全

通讯作者: 杨红丽

率的影响。

1.5 正交试验设计

在单因素试验的基础上,选取3个水平,依据 $L_9(3^3)$ 正交试验表进行设计,以多糖得率为响应值,根据极差大小和方差分析确定脉红螺多糖提取的最优工艺。

2 结果与分析

2.1 脉红螺去色素与未去色素的对比结果

脉红螺多糖溶液呈现一定得颜色,按照1.3的方法做了脉红螺多糖溶液脱色与未脱色的波谱对比,实验结果见图1。

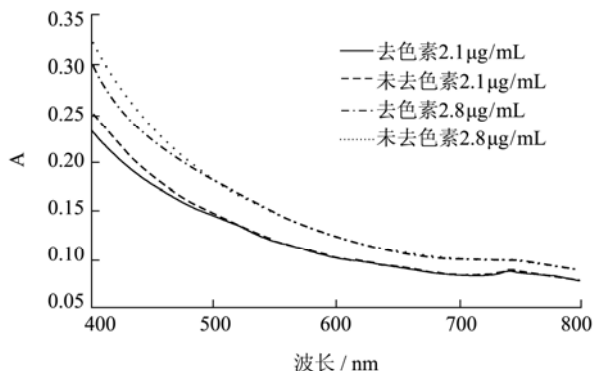


图1 脉红螺多糖溶液脱色与未脱色对比图谱

Fig.1 The absorption spectrum of polysaccharide before and after the decolorization

由图1可知,不同浓度的脉红螺多糖溶液在活性炭处理前后,在可见光区的吸收谱图形状并没有太大改变,在多糖的测量波长490 nm,吸光度几乎重叠,可以认为多糖溶液的颜色对多糖显色后吸光度的测量无影响。

2.2 单因素试验优化

2.2.1 料液比对多糖得率的影响

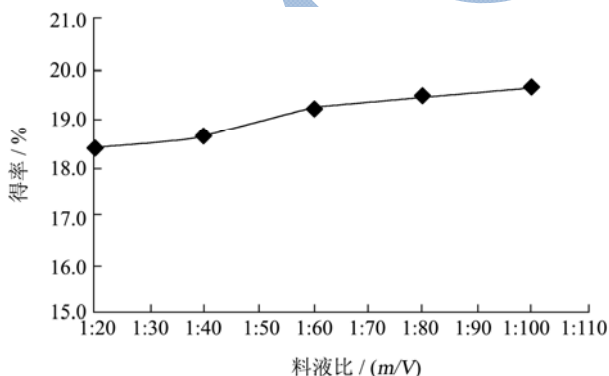


图2 料液比对多糖提取的影响

Fig.2 Effect of solid to solvent ratio on polysaccharide extraction

固定提取时间为2 h,提取温度为70 °C,以料液比对脉红螺多糖得率做单因素实验。称取脉红螺干粉五分各1 g,液料比分别为1:20、1:40、1:60、1:80和1:100,按苯酚硫酸法测定脉红螺多糖的浓度,分析料

液比对脉红螺多糖得率的影响,实验结果见图2。由图可知,料液比的增大对提高脉红螺多糖得率的效果较为明显,脉红螺多糖的提取量随着料液比的增大而相应的有一个递增的过程,选择料液比为1:60、1:80、1:100为实验水平。

2.2.2 提取温度的影响

固定料液比(m/V)1:80,提取时间2 h,称取脉红螺干粉五份各1 g,温度分别为40 °C、50 °C、60 °C、70 °C、80 °C,结果见图3。

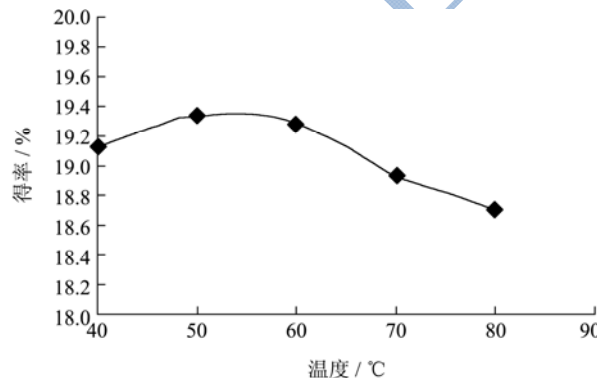


图3 提取温度对多糖提取的影响

Fig.3 Effect of temperature on polysaccharide extraction

由图3可知,温度对脉红螺多糖的提取影响较大,温度过高时,易引起多糖的降解,而温度过低,则需很长的提取时间。提取温度对买红螺多糖的提取量有比较明显的影响,脉红螺多糖得率随着温度的升高有一定的上升。60 °C之前,提取率随着温度的升高而增大,超过60 °C后提取率反而下降,因此本实验选择提取温度40 °C、50 °C、60 °C为实验水平。

2.2.3 提取时间对脉红螺多糖得率的影响

固定料液比为(m/V)1:80,提取温度为70 °C,称取脉红螺干粉五分各1 g设计提取时间分别为15 min、30 min、60 min、90 min,和120 min,按苯酚硫酸法测定脉红螺多糖的浓度,以提取时间对脉红螺多糖溶液的吸光度做单因素实验,实验结果见图4。

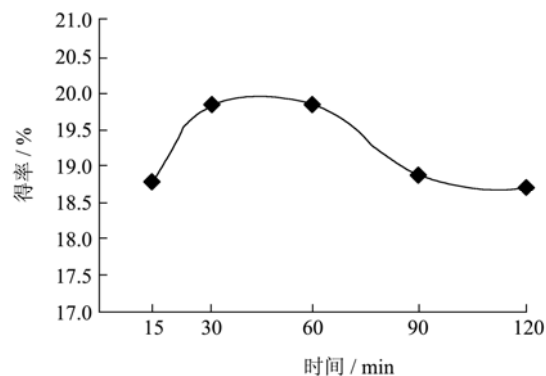


图4 提取时间对多糖提取量的影响

Fig.4 Effect of time on extraction volume

由图4可知,多糖的得率随提取时间的延长先

增加后降低, 提取时间超过 60 min, 有比较明显的下降, 30~60 min 段有较大得率, 选择 30 min、60 min、90 min 为实验水平进行正交实验。

2.3 正交试验结果

表 1 正交试验的因素及水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal test

水平	因素		
	A(提取时间/min)	B(提取温度/℃)	C(料液比)
1	30	50	60
2	60	60	80
3	90	70	100

表 2 脉红螺多糖提取的正交试验结果

Table 2 The orthogonal test results for the extraction of polysaccharide in *Rapana venosa*

试验编号	A	B	C	多糖得率/(mg/g)
1	1	1	1	198.84
2	1	2	2	198.04
3	1	3	3	200.65
4	2	1	2	204.76
5	2	2	3	198.26
6	2	3	1	188.38
7	3	1	3	197.82
8	3	2	1	194.02
9	3	3	2	197.53
X1	199.18	200.47	193.75	
X2	197.13	196.78	200.11	
X3	196.46	195.52	198.91	
R	2.72	4.96	6.36	

根据单因素实验, 确定因素水平表见表 1, 进行正交试验, 正交试验结果见表 2。通过对表 2 采用直观分析法可知各因素影响脉红螺多糖提取量的排序为: 料液比>提取温度>提取时间。最佳提取工艺为: C2B1A1, 最佳提取条件为: 提取温度 50 ℃、料液比 1:80 (m/V)、提取时间 30 min,

2.4 验证试验

在最佳提取条件下进行验证实验, 测得3个平行样

品的多糖提取率分别为21.2%、22.4%、21.9%, 平均值为21.8%, RSD为2.8%, 可见, 优化条件下的工艺稳定可行。脉红螺多糖含量较高, 高于黄泥螺内脏总多糖的16.22%的提取率^[11], 具有较高的开发前景。

3 结果

通过单因素试验和正交优化试验, 优化了脉红螺多糖的提取工艺, 影响脉红螺多糖提取量的因素排序为: 料液比>提取温度>提取时间, 最佳提取条件为: 提取温度 50 ℃、料液比 1:80(m/V)、提取时间 30 min。最佳条件下, 脉红螺多糖得率可达 21.8%。

参考文献

- [1] 魏利平, 邱盛尧. 脉红螺繁殖生物学的研究[J]. 水产学报, 1999, 6: 151
- [2] 赵东贤, 王克霞. 福寿螺多糖提取工艺优选. 安徽医药[J]. 2010, 14(5): 529-530
- [3] Ichiinose K, Yamamoto M, Khoji T, et al. Antitumor effect of polysaccharide coated liposomal adriamycin on AH66 hepatoma nude mice [J]. Anticancer Research, 1998, 18: 401
- [4] 刘树兴, 王维, 魏丽娜. 桑叶多糖提取工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 154-155
- [5] 李炳辉, 陈玲, 李晓玺, 等. 超声强化响应面法优化知母多糖的提取工艺[J]. 现代食品科技, 2011, 27(4): 432-436
- [6] 王晶晶, 冯颖, 孟宪军, 等. 无梗五加果实多糖的提取工艺研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 156-157
- [7] 贺寅, 王强, 钟葵. 响应面优化酶法提取龙眼多糖工艺. 食品科学[J]. 2011, 32(2): 79-83
- [8] 于淑池, 林静. 龙井茶多糖的提取工艺研究. 安徽农业科学 [J]. 2011, 39(8): 4776-4778
- [9] 郑超, 刘剑敏, 倪小芬, 等. 海带多糖的提取工艺研究[J]. 中国医学工程, 2009, 4(17): 241-246
- [10] 高丽君, 王汉忠, 崔建华, 等. 苯酚-硫酸法测定白首乌中多糖含量[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2004, 35(4): 295-297
- [11] 夏照明, 谢静莉, 黄怿达, 等. 黄泥螺内脏活性多糖的提取、分离与纯化[J]. 食品科技, 2010, 35(9): 227-232