

# 酶法提取龙须菜多糖

## 工艺条件的研究

竺巧玲, 杨文鸽\*, 孙翠玲, 楼乔明

(宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江宁波 315211)

**摘要:**以龙须菜为原料,用纤维素酶法提取多糖,通过单因素实验和正交实验,对龙须菜多糖的提取工艺进行优化。结果显示最佳提取工艺为:提取时间 2h,温度 40℃,pH 为 5.0,酶用量为 1.5%,龙须菜多糖的提取率为 34.79%。

**关键词:**纤维素酶,龙须菜,多糖,提取

**Abstract:**The polysaccharides from *Gracilaria lamaneiformis* have been extracted with cellulose. By single factor and orthogonal tests, the technological parameter of the extraction was determined. The results showed that the extraction process was as follows: adding 1.5% of cellulose, the extraction time for 2h with temperature at 40℃ and pH5.0. In this condition the extraction rate of polysaccharides is 34.79%.

**Key words:**cellulase, *Gracilaria lamaneiformis*, polysaccharide, extraction

中图分类号: TS254.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2007)06-0150-03

龙须菜(*Gracilaria lamaneiformis*)又名海发菜,属红藻门、真红藻纲、杉藻目、江蓠科,主要分布在热带和温带海域,是一种重要的经济海藻,它既可以作为鲍鱼养殖的优质饲料,同时也是一种高膳食纤维、高蛋白、低脂肪、低热能,且富含矿物质和维生素的天然优质海洋蔬菜,因而具有较高的食用、药用和经济价值。明代李时珍的《本草纲目》记载,龙须菜具有清热、排毒、化痰、润便等功效,经常食用龙须菜,可以把人体内的有毒有机质转化为无毒物质,起到净化血液、预防癌症的功能。龙须菜是我国继海带、紫菜和裙带菜之后的第四种人工栽培海藻。近年来我国沿海龙须菜养殖业发展迅速,产量不断上升<sup>[1]</sup>,如何充分利用和开发龙须菜资源是急需解决的问题。研究证实,龙须菜多糖具有抗氧化<sup>[2]</sup>、抗小白鼠肉瘤

Sarcoma180 的效果<sup>[3]</sup>,龙须菜藻红蛋白具有抗突变与抗肿瘤作用<sup>[4]</sup>,可望作为进一步探索与开发的海藻药物资源及食品添加剂。本文用纤维素酶对龙须菜多糖的提取工艺条件进行研究,以期龙须菜的进一步开发利用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

龙须菜 2006年7月采自宁波市象山港某养殖基地,藻体较粗,呈圆柱状,紫褐色,自然干燥后贮存;纤维素酶 国药集团有限公司,活力为 145u/mg;其他试剂 均为分析纯。

### 1.2 测定方法

纤维素酶活力测定:采用 3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[5]</sup>;多糖含量测定:采用蒽酮-硫酸法<sup>[6]</sup>。

### 1.3 纤维素酶法提取龙须菜多糖工艺流程

龙须菜干品 粉碎过筛 加水浸泡 0.5h 调 pH 加入一定的纤维素酶搅匀 提取 离心过滤 测多糖提取率  
多糖提取率=多糖含量/龙须菜干样重量×100%  
测定时取三个平行样,结果数据为平行样的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 多糖含量测定的标准曲线

根据蒽酮-硫酸比色测得葡萄糖浓度与吸光值的关系,绘制标准曲线如图 1,得出回归方程为  $C=0.2464A_{620nm}-0.0008$ ,  $R^2=0.9996$ 。

### 2.2 单因素实验

2.2.1 提取时间对龙须菜多糖提取率的影响 在固液比 1:100、纤维素酶添加量是龙须菜干样的 1%、pH5.0、提取温度为 50℃ 的条件下,在 15~180min 范围内浸提,比较不同提取时间对多糖浸出量的影响,以选择最佳浸提时间,结果如图 2。

由图 2 可知,随着浸提时间的延长,多糖含量逐渐增加,但在 1h 以后,多糖含量却开始下降。从理论

收稿日期: 2006-11-01 \* 通讯联系人

作者简介: 竺巧玲(1982-),女,在读硕士研究生,主要从事食品化学方面的研究。

基金项目:宁波市科技局攻关项目。

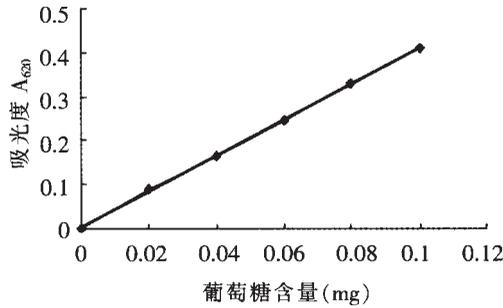


图1 多糖含量测定标准曲线

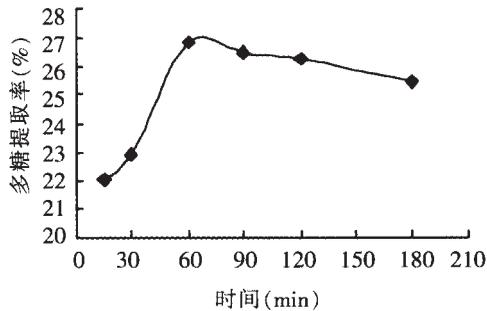


图2 提取时间对多糖提取率的影响

上讲,反应时间越长,酶解越充分,多糖含量越大,而当酶浓度达一定值时,酶促反应时间的延长并不能使提取率增加,甚至会使提取率下降,这可能是由于提取时间太长会引起糖结构变化甚至使碳环裂解,导致多糖含量降低。所以选取 1h 为最佳提取时间。

**2.2.2 pH 对多糖提取率的影响** 在固液比 1:100、酶用量 1%、时间 1h、温度 50 的条件下,在不同 pH 下浸提,比较不同 pH 对多糖浸出量的影响,以选择最佳浸提 pH。结果如图 3。

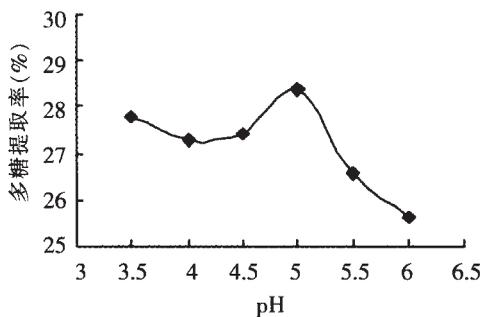


图3 pH 对多糖提取率的影响

由图 3 可知, pH 从 3.5~5.0 时,多糖提取率迅速增加;然后 pH5.0~6.0 时,多糖提取率迅速下降,说明酶的作用存在一个最适 pH,在 pH5.0 弱酸性条件下具有较好的酶解效果。这是由于在过酸或过碱的条件下,酶的空间结构受到了破坏,影响了与底物的结合,从而使得多糖的提取效果下降<sup>[7]</sup>。

**2.2.3 提取温度对多糖提取率的影响** 在固液比 1:100、pH5.0、时间 1h、酶用量 1% 的条件下,在不同温度下浸提,根据多糖浸出量来选择最佳温度。结果

如图 4 所示。

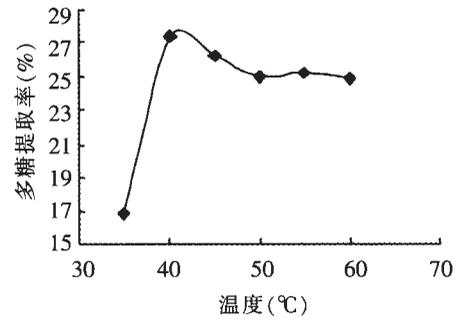


图4 温度对多糖提取率的影响

由图 4 可知,在 35~40 间随着温度的升高,曲线上升很快,多糖含量有很大的提高;但在 40 以后,随着温度的升高,多糖含量反而减少。因此,选用 40 为最佳提取温度。

**2.2.4 酶用量对多糖提取的影响** 在固液比 1:100、pH5.0、40、时间 1h 的条件下,在不同酶用量下浸提,比较不同酶用量对多糖浸出量的影响,以选择最佳浸提所需的酶用量。结果见图 5。

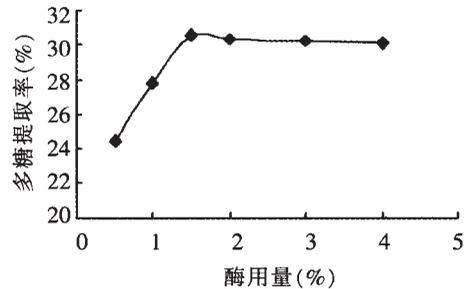


图5 加酶量对多糖提取率的影响

由图 5 可知,当加酶量为 0.5%~1.5% 时,多糖含量随着加酶量的增加而增加,而加酶量达到 1.5% 以后,多糖提取率基本趋于平缓,原因在于酶浓度已逐渐被底物饱和<sup>[7]</sup>,考虑到生产成本,选择酶用量为 1.5%。

### 2.3 正交实验

在上述单因素实验的基础上,考虑到各因素之间的相互关系,选用四因素三水平进行  $L_9(3^4)$  正交表作正交实验,以进一步确定适宜的多糖提取条件,选取因素水平见表 1,实验结果及分析见表 2。

表1 正交实验因素水平表

水平	因素			
	A pH	B 酶用量 (%)	C 温度 ( )	D 时间 (h)
1	4.0	1.0	40	1.0
2	4.5	1.5	45	1.5
3	5.0	2.0	50	2

由表 2 可以看出,这四个因素对酶法提取多糖的影响程度为:  $B > A > C > D$ , 正交优化条件为  $B_2A_3C_1D_3$ , 即: 酶用量为 1.5%, 温度为 40, pH 为 5.0, 时间为 2h, 最终在这个条件下的多糖提取率为

表2 正交实验结果

实验号	因素				多糖提取率(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	19.90
2	1	2	2	2	23.08
3	1	3	3	3	22.68
4	2	1	2	3	12.90
5	2	2	3	1	20.31
6	2	3	1	2	27.07
7	3	1	3	2	18.67
8	3	2	1	3	34.79
9	3	3	2	1	28.34
k <sub>1</sub>	21.89	17.16	27.25	22.85	
k <sub>2</sub>	20.09	26.06	21.44	22.94	
k <sub>3</sub>	27.27	26.03	20.55	23.46	
极差	7.18	8.90	6.70	0.60	

34.79%。将正交实验结果进行方差分析,结果见表3。

表3 正交实验方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
pH	8377.04	2	130.63	19.000	*
酶用量	15805.84	2	246.48	19.000	*
温度	7950.74	2	123.99	19.000	*
时间	64.13	2	1.00	19.000	
误差	64.13	8			

注:\*为具有显著性。

从方差分析来看,酶用量有较大的显著性差异,温度与pH也有显著性差异,而提取时间无显著性差异。因此,从实际情况出发,考虑效率、成本因素,我们可以适当减少提取时间。

### 3 结论

3.1 通过单因素实验和四因素三水平正交实验,我们确定了纤维素酶法提取龙须菜多糖的最佳工艺条

件为:酶用量为2%,温度为40℃,pH为5.0,时间为2h。在此条件下龙须菜多糖的提取率为34.79%。

3.2 采用酶法与文献[2]报道的采用水提法提取龙须菜多糖比较,提取率有了较大的提高,由原来的28.9%提高到了34.79%;提取时间大大减少;温度也大大降低。这可能是由于龙须菜多糖存在于细胞内,纤维素酶的加入可以促进藻体细胞壁的分解,有利于加速细胞内多糖的溶出,从而相比之下提取的时间短,并且条件温和,因此可以使多糖结构在不被破坏的情况下充分释放出来<sup>[9]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Yu-Feng Yang, Xiu-Geng Fei, Jin-Ming Song, Hai-Yan Hu, Guang-Ce Wang, Ik Kyo Chung. Growth of *Gracilaria lemaneiformis* under different cultivation conditions and its effects on nutrient removal in Chinese coastal waters [J]. *Aquaculture*, 2006, 254: 248-255.
- [2] 陈美珍,王欣,余杰.龙须菜多糖的提取、分离及抗氧化活性的研究[J]. *汕头大学学报(自然科学版)*, 2005, 20(2): 37-42.
- [3] 邓志峰,纪明侯.龙须菜和扁江篱多糖的组成及其抗肿瘤效果[J]. *海洋与湖沼*, 1995, 26(6): 575-580.
- [4] 陈美珍,张永雨,余杰,谢雄彬.龙须菜藻胆蛋白的分离及其清除自由基作用的初步研究[J]. *食品科学*, 2004, 25(3): 159-162.
- [5] 凌关庭.食品添加剂手册[M].北京:化学工业出版社,1997.
- [6] 大连轻工业学院,等.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,1994.178-180.
- [7] 马春,董秀萍,朱蓓薇.复合酶法提取姬松茸胞内多糖[J]. *大连轻工业学院学报*, 2005, 24(3): 147-150.
- [8] 王元凤,金征宇.酶法提取茶多糖工艺的研究[J]. *江南农业科学*, 2005(3): 122-124.

(上接第149页)

表4 不同均质压力下产品的感官质量

评价指标	均质压力(MPa)				
	对照	10	15	20	25
口感	粗糙	较粗糙	有点粗糙	细腻	细腻
沉淀	有	少量	无沉淀	无沉淀	无沉淀

### 3 结论

3.1 经过驯化的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌,能够在添加10%牛乳的西瓜皮汁中良好生长,且繁殖快、产酸迅速。

3.2 生产西瓜皮汁乳酸发酵饮料的最佳工艺条件为:西瓜皮汁90%,牛乳10%,白砂糖6%,发酵剂5%,发酵液pH6.5,温度42℃,发酵36h。

3.3 用西瓜皮榨汁生产乳酸发酵饮料,不仅产品风味独特、营养丰富,而且口感、色泽和组织状态都受消费者欢迎。同时,也是充分利用资源,开发新产品,进一步提高产品利用率的一条有效途径和方法。

#### 参考文献:

- [1] 王向阳.烹饪原料学[M].北京:高等教育出版社,2003.104.
- [2] 周建新,等.黄瓜汁乳酸发酵饮料的研制[J]. *粮油加工与食品机械*, 2004(6): 68-72.
- [3] 孙平.食品分析[M].北京:化学工业出版社,2005.398-410.
- [4] 杨胜敖,等.金针菇核桃乳饮料工艺的研究[J]. *食品工业科技*, 2005(8): 122-125.