微波辅助法提取蓝莓多糖BBP0-2的分离纯化及组分分析

孟宪军，常　瑜，孙希云*，刘晓晶，沈昳潇
(沈阳农业大学食品学院，辽宁 沈阳　110866)

摘　要：采用微波辅助法从蓝莓中提取多糖，比较传统的双氧水法脱色和三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白与聚酰胺柱层析法脱色脱蛋白的效果，蓝莓粗多糖经DEAE-52纤维素离子交换柱和Sephadex G-100凝胶柱分离纯化，应用高效液相色谱法鉴定纯度，气相色谱法分析单糖组成。结果表明：通过响应面优化设计确定最佳工艺条件为料液比1:8(g/mL)、微波功率600W、微波提取时间30min，此条件下提取量达到3.32%，聚酰胺柱层析法脱色脱蛋白效果明显优于传统方法。蓝莓多糖经DEAE-52纤维素离子交换柱分离得到3个级分BBP0、BBP1、BBP2，BBP0经Sephadex G-100凝胶柱进一步纯化得到蓝莓多糖BBP0-2组分，主要由阿拉伯糖、半乳糖、木糖和葡萄糖4种单糖组成，其物质的量比为2:5:3:4。

关键词：蓝莓；多糖；微波提取；分离纯化

Microwave-Assisted Extraction, Purification and Identification of Polysaccharide BBP0-2 from Blueberry Fruit

MENG Xian-jun，CHANG Yu，SUN Xi-yun*，LIU Xiao-jing，SHEN Yi-xiao
(College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang　110866, China)

Abstract：The microwave-assisted extraction of polysaccharide from blueberry fruit was optimized by respons surface methdology in this work. Hydrogen peroxide, trichloroacetic acid-*n*-butanol and polyamide column chromatography were compared for their efficiencies in removing pigment and protein from crude polysaccharide from blueberry fruit. After further purification by DEAE-cellulose 52 column and Sephadex G-100 column chromagraphy, we analyzed the purity by HPLC and monosaccharide composition of purifed polysaccharide by GC. The optimal conditions for polysaccharide extraction were found to be 1:8 (g/mL), 600 W and 30 min for solid/solvent ratio, microwave power and extraction time, respectively. The extraction efficiency of ploysaccharide under the optimized conditions was 3.32%. Polyamide column chromatography was considerably more effective than the traditional methods with hydrogen peroxide and trichloroacetic acid-n-butanol. Three polysaccharides were separated from DEAE-cellulose 52 column chromatography, namely BBP0, BBP1 and BBP2. BBP0 were further separated by Sephadex G-100 column chromagraphy to obtain BBP0-2, which was composed of arabinose, galactose, xylose and glucose with a molar ratio of 2:5:3:4.

Key words：blueberry；polysaccharide；microwave-assisted extraction；isolation and purification
中图分类号：TS255.1　　文献标志码：A　　文章编号：1002-6630(2013)12-0119-06
doi:10.7506/spkx1002-6630-201312025

蓝莓(blueberry)又名越橘、蓝浆果，为杜鹃花科越橘属植物[1]，原产于美国弗罗里达州北部，现广泛分布于北半球。蓝莓中含有非常丰富的营养成分，被誉为“浆果之王”，其果实中含有的物质具有抗衰老、缓解视疲劳、改善记忆力、抗氧化、抗癌症等功效[2-7]，被联合国粮农组织列为人类五大健康食品之一[8]。多糖作为大分子生物在自然界中广泛分布，研究表明，多糖具有抗病毒、抗肿瘤、抗炎症、抗衰老以及降血糖等功能[9-11]，这些生理活性与结构紧密相关，应用现代科技多种手段联合分析鉴定多糖结构的研究已经实现[12]，但目前对蓝莓多糖分离纯化及鉴定的研究相对较少。

本实验对微波辅助法提取的蓝莓多糖进行研究，经过DEAE-52纤维素离子交换柱和Sephadex G-100凝胶柱分离纯化，得到均一多糖组分，通过高效液相色谱鉴定其

收稿日期：2013-01-20
基金项目：“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD31B05)；辽宁省科技厅农业攻关项目(2011205001)
作者简介：孟宪军(1960—)，男，教授，博士，研究方向为果蔬加工与贮藏。E-mail：mengxjsy@126.com
*通信作者：孙希云(1976—)，女，讲师，博士，研究方向为果蔬深加工及功能性成分。E-mail：sun_xiyun@163.com

纯度，并应用气相色谱法对其单糖组成进行分析，为进一步研究蓝莓多糖的生理活性及其开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝莓品种为‘蓝丰’，购于辽宁省蓝金实业有限公司。

DEAE-cellulose 52、Sephadex G-100 美国Whatman公司；牛血清蛋白、考马斯亮蓝G-250 北京奥博星公司；30%双氧水、三氯乙酸、正丁醇、氯化钠、聚酰胺、无水乙醇、丙酮、乙醚、葡萄糖、苯酚、浓硫酸(均为分析纯) 沈阳国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

LC-10A高效液相色谱仪、GC-16A气相色谱仪 日本岛津公司；分析天平 西德Sartrius公司；MARS5型微波消解仪 美国CEM公司；RE-52型旋转蒸发器 上海医疗器械厂；SHZ-IIIB型循环水真空泵 上海华琦科学仪器有限公司；UV-1100紫外-可见分光光度计 上海分析仪器厂；TDL-5000B型离心机 上海安亭仪器厂；BSZ-100自动部分收集器、HL-2恒流泵 上海沪西分析仪器厂；电热恒温水浴锅 常州国华电器有限公司；LZG-02型冷冻真空干燥器 抚顺康源保鲜技术发展公司；透析袋(截流分子质量为14000D) 北京鼎国昌盛生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 微波辅助法提取蓝莓多糖

1.3.1.1 提取工艺

称取蓝莓50g，将速冻果实融化后打浆，溶于蒸馏水中，微波消解仪辅助提取。取出后用纱布过滤，滤液在5000r/min条件下离心10min。加水，重复上述步骤提取。将2次提取的上清液合并，通过旋转蒸发使其体积浓缩至最小。加入乙醇，使乙醇体积分数达80%，静置8h。再次在5000r/min离心10min，收集沉淀。依次用丙酮、乙醚和无水乙醇进行3次洗涤脱脂，将沉淀真空干燥24h，得到蓝莓粗多糖。

1.3.1.2 微波辅助法提取蓝莓多糖的单因素试验

在多糖提取的单因素试验中，两两固定料液比(1:7，g/mL)、微波功率(500W)、微波提取时间(25min)，分别考察料液比、微波功率、微波提取时间对蓝莓多糖提取量的影响。单因素试验设计见表1。

表1 微波辅助法提取蓝莓多糖单因素试验因素水平表

Table 1 Experimental design of single factor experiments for microwave-assisted extraction

因素	水平
料液比(g/mL)	1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10
微波功率/W	200、300、400、500、600、700、800
微波提取时间/min	10、15、20、25、30、35、40

1.3.1.3 微波辅助法提取蓝莓多糖的响应面优化设计试验

为确定微波辅助法提取蓝莓多糖的最佳工艺条件，提高蓝莓多糖得率，根据响应面法设计原理，结合单因素试验结果，选取料液比、微波功率、微波提取时间3个因素，设计三因素三水平的响应面分析试验。各因素编码值见表2。

表2 响应面试验因素水平编码表

Table 2 Coded levels for independent variable used in response surface analysis

水平	X_1料液比(g/mL)	X_2微波功率/W	X_3微波提取时间/min
−1	1:6	400	20
0	1:7	500	25
1	1:8	600	30

1.3.1.4 多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法[13]。按下式计算多糖提取量。

$$\text{多糖提取量}/\% = \frac{\text{提取液中多糖质量浓度}/(\text{mg/mL}) \times \text{体积}/\text{mL}}{\text{速冻草莓果质量}/\text{g} \times 1000}$$

1.3.2 脱色脱蛋白

1.3.2.1 双氧水法脱色

将提取的蓝莓粗多糖溶于水中，使料液比为1:2(g/mL)，在pH8.5的条件下，加入双氧水使体积分数达到40%，在50℃条件下恒温水浴4h。流水透析8h，蒸馏水再透析8h，蒸馏水每隔1h更换1次。计算色素脱除率、多糖保留率。

1.3.2.2 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白

将脱色后的蓝莓多糖溶液与三氯乙酸-正丁醇等体积混合，振荡10min，静置1h后，弃去上层有机层和中层蛋白层，保留下层多糖溶液。重复操作3次。流水透析8h，蒸馏水再透析8h，蒸馏水每隔1h更换1次。计算蛋白质脱除率、多糖保留率。

1.3.2.3 聚酰胺柱层析分离处理

柱规格为2.5cm×76.5cm，采用湿法装柱，用2倍柱体积蒸馏水进行平衡。将蓝莓粗多糖配成10mg/mL的水溶液，上样500mL于平衡好的聚酰胺层析柱，使用500mL蒸馏水进行洗脱，控制流速为1.7mL/min。计算色素脱除率、蛋白质脱除率、多糖保留率。

1.3.3 指标测定

1.3.3.1 色素含量测定

花色苷是蓝莓果实中色素的主要成分。据报道[14]，通过全波长扫描确定蓝莓花色苷在可见区的最大吸收波长为520nm。因此考虑选择在520nm波长处测定其吸光度。

1.3.3.2 蛋白质含量测定

采用考马斯亮蓝G-250法测定[15]。

1.3.3.3 糖醛酸含量测定

采用硫酸-咔唑法[16]。

1.3.4 DEAE-52纤维素离子交换柱层析[17]

蓝莓多糖经聚酰胺柱层析分离处理后，配成质量浓度为25mg/mL的水溶液，上样10mL于平衡好的DEAE-52纤维素离子交换层析柱，柱规格为2.5cm×20.4cm。依次用蒸馏水、0.1、0.2mol/mL NaCl溶液、NaOH溶液进行梯度洗脱，控制洗脱流速为1.0mL/min，每支试管收集10mL洗脱液。采用苯酚-硫酸法检测洗脱液中糖含量，硫酸-咔唑法检测洗脱液中糖醛酸含量。分别收集不同的洗脱峰，透析除盐后冻干备用。以管数为横坐标，蓝莓多糖洗脱液的吸光度为纵坐标，绘制洗脱曲线。

1.3.5 Sephadex G-100凝胶柱层析[18]

将DEAE-52纤维素离子交换柱层析洗脱级分BBP0经过透析除盐冷冻干燥后配成25mg/mL的水溶液，上样1mL于平衡好的Sephadex G-100凝胶柱，柱规格为1.5cm×90.0cm。洗脱液为蒸馏水，洗脱流速为0.5mL/min，每管收集4mL，采用苯酚-硫酸法检测洗脱液中糖含量，硫酸-咔唑法检测洗脱液中糖醛酸含量。分别收集不同的洗脱峰，冷冻干燥后，获得3个洗脱级分：BBP0-1、BBP0-2和BBP0-3。以管数为横坐标，蓝莓多糖洗脱液的吸光度为纵坐标，绘制洗脱曲线。

1.3.6 纯度鉴定

应用高效液相色谱(HPLC)法对蓝莓多糖BBP0-2进行纯度鉴定，样品纯度由峰型判断。仪器：LC-10A的高效液相色谱仪，RID-10A视差折射鉴定器，CLASS-VP工作站，色谱柱：TSK-GEL G3000PWXL(0.78cm×30.0cm)；柱温：40℃；柱操作压力：1.6MPa；流动相：纯H_2O；流速：0.5mL/min；进样量：50μL。

1.3.7 单糖组成分析

1.3.7.1 BBP0-2的水解及衍生[19]

在水解管中加入蓝莓多糖BBP0-2样品20mg，加入2mol/L的三氟乙酸1mL，在120℃条件下水解3h；在60～80℃水气条件下，滴加乙醇，除去剩余的三氟乙酸，用pH值试纸检测，达到中性后抽干；加入0.12mol/L的碳酸钠1mL，肌醇1mg，在30℃条件下处理50min，再加入硼氰化钾50mg，在室温条件下处理1.5h；滴加25%乙酸中和至pH值为6不产生气泡为止，再加入阳性离子交换树脂，除盐2h，用5～6mL蒸馏水冲洗过滤，滴加甲醇至中性除酸；在真空85℃条件下除去水分；加入正丙胺1mL和无水吡啶1mL，在55℃条件下处理30min，抽干后加入无水吡啶0.5mL和乙酸酐0.5mL，在90℃条件下处理1h，抽干后加入1mL无水二氯甲烷，离心后取上清液应用气相色谱法分析检测。

1.3.7.2 气相色谱分析

仪器：GC-16A气相色谱仪，FID检测器，GC solution工作站；色谱柱：DM-2330，30m×0.32mm；柱温：195℃；检测器温度：250℃；气化室温度：280℃；气体流速：氮气40mL/min，氢气45mL/min；进样量：0.8μL。

2 结果与分析

2.1 苯酚-硫酸法测定多糖含量的标准曲线

应用苯酚-硫酸法测定多糖的含量，葡萄糖为标准品，以葡萄糖质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，得回归方程为：$y = 0.0091x－0.0116$，$R^2 = 0.9916$。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 料液比对蓝莓多糖提取量的影响

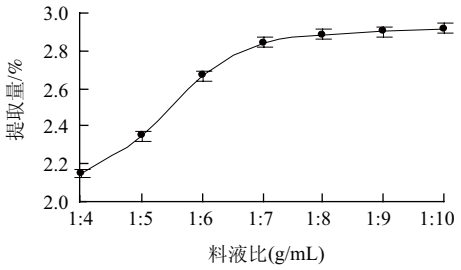


图1 料液比对蓝莓多糖提取量的影响

Fig.1 Effect of material/solvent ratio on the extraction efficiency of polysaccharides

由图1可以看出，随着提取剂用量的提高，蓝莓多糖提取量也随之呈现出逐步上升趋势；当料液比在1:4～1:7(g/mL)之间时，随着提取剂用量的提高，多糖提取量显著提高，当料液比达到1:7(g/mL)后，多糖提取量随着提取剂用量的提高呈现不明显的上升趋势，故采用的最佳料液比1:7(g/mL)。

2.2.2 微波功率对蓝莓多糖提取量的影响

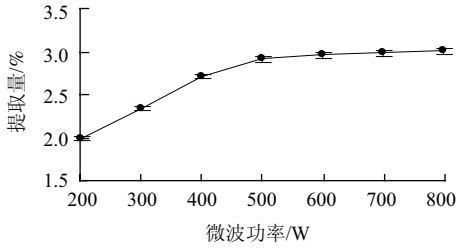


图2 微波功率对蓝莓多糖提取量的影响

Fig.2 Effect of microwave power on the extraction efficiency of polysaccharides

由图2可以看出，随着微波功率的增加，蓝莓多糖的提取量也随之呈现上升趋势；当微波功率在200～500W之间时，随着微波功率的增大，多糖提取量显著提高，当微波功率达到500W后，随着微波功率继续增加时，多糖提取量上升变化不明显，故采用最佳微波功率为500W。

2.2.3 微波提取时间对蓝莓多糖提取量的影响

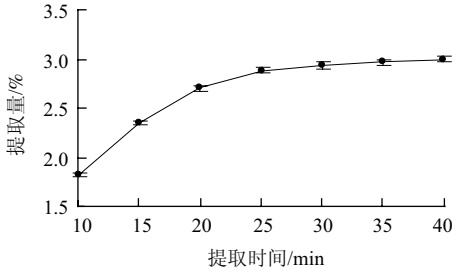


图3 微波提取时间对蓝莓多糖提取量的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the extraction efficiency of polysaccharides

由图3可以看出，在相同的料液比和微波功率的条件下，随着微波提取时间的延长，蓝莓多糖提取量也随之呈现出不断增大的趋势。当提取时间在10～25min之间时，随着提取时间的延长，多糖提取量显著提高，但当提取时间超过25min后，多糖的提取量变化不大，故采用最佳提取时间为20min。

2.3 响应面试验

2.3.1 回归方程的确立

响应面试验结果见表3。对表3中的数据进行响应面回归拟合分析[20]得到微波辅助法提取蓝莓多糖的主要3个因素料液比、微波功率和微波提取时间与响应值多糖提取量的关系，回归方程如下：

$$Y=2.33087+0.178712X_1+0.421575X_2+0.229562X_3-0.0531833X_1^2+0.196642X_2^2+0.0915167X_3^2-0.0925250X_1X_2+0.0736500X_1X_3+0.036825X_2X_3$$

表3 响应面试验设计及结果

Table 3 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	X_1	X_2	X_3	Y/%	预测值/%
1	0	0	0	2.33	2.33
2	−1	1	0	2.83	2.81
3	0	1	−1	2.79	2.77
4	−1	0	−1	2.00	2.03
5	−1	0	1	2.29	2.35
6	1	1	0	2.91	2.98
7	0	1	1	3.34	3.31
8	0	−1	1	2.38	2.39
9	1	−1	0	2.30	2.32
10	1	0	−1	2.30	2.24
11	−1	−1	0	1.85	1.78
12	0	−1	−1	1.97	2.00
13	0	0	0	2.31	1.78
14	1	0	1	2.88	2.33
15	0	0	0	2.35	2.33

2.3.2 回归方程回归系数估计与方差分析

由表4回归方程的回归系数估计得到，各因素中的一次项X_1、X_2、X_3均显著，二次项中曲面作用X_2X_2、X_3X_3和交互作用X_1X_2显著，而曲面作用X_1X_1和交互作用X_1X_3和X_2X_3不显著。

表4 估计回归系数

Table 4 Regression coefficient estimates

项	系数	标准误差	T值	P值
常量	2.33087	0.03910	59.619	＜0.001
X_1	0.17871	0.02394	7.465	0.001
X_2	0.42157	0.02394	17.609	＜0.001
X_3	0.22956	0.02394	9.589	＜0.001
X_1X_1	−0.05318	0.03524	−1.509	0.192
X_2X_2	0.19664	0.03524	5.580	0.003
X_3X_3	0.09152	0.03524	2.597	0.048
X_1X_2	−0.09252	0.03386	−2.733	0.041
X_1X_3	0.07365	0.03386	2.175	0.082
X_2X_3	0.03682	0.03386	1.088	0.326

表5 回归模型方差分析

Table 5 Analysis of variance for the fitted regression model

来源	自由度	平方和	均方	F值	P值
回归	9	2.09890	0.260559	56.82	＜0.001
线性	3	0.18476	0.699634	152.58	＜0.001
平方	3	0.06137	0.061588	13.43	0.008
交互作用	3	0.02293	0.020455	4.46	0.071
残差误差	5	0.02211	0.004585		
失拟	3	0.00081	0.007372	18.14	0.053
纯误差	2	2.36796	0.000406		
合计	14				

由表5可知，回归$P＜0.001$，说明此模型高度显著，可以预测相应数值，表明方案设计正确。调整R^2=97.29%，表明约有97.29%的提取量变异分布在研究的3个相关因素中，总变异度仅有3%不能由该模型解释；R^2=99.03%，表明提取量的预测值和实际值之间有很好的拟合度。

2.3.3 最佳提取工艺优化

应用响应优化器来优化蓝莓多糖提取工艺参数，得到最优组合条件为料液比1:8(g/mL)、微波功率600W、微波提取时间30min，预测提取量为3.34%。按照优化后的组合条件来提取蓝莓多糖，进行验证实验。实测多糖提取量为(3.32±0.02)%，与预测值3.34%较接近，证明了响应面优化设计与分析方法在微波辅助法提取蓝莓多糖应用中的可靠性和准确性。

微波辅助法与蒸馏水浸提法的比较分析发现，微波辅助法多糖提取量(3.32±0.02)%，优于蒸馏水浸提法(2.56±0.02)%，多糖提取量高出0.76%。

2.4 3种分离处理方法的比较

2.4.1 考马斯亮蓝G-250法测定蛋白质含量标准曲线

应用考马斯亮蓝G-250法测定蛋白质含量，以牛血清蛋白为标准品，牛血清蛋白的质量浓度为横坐标，吸光

度为纵坐标，绘制标准曲线，回归方程为：$y = 0.005x - 0.005$，$R^2 = 0.9979$。

2.4.2 硫酸-咔唑法测定糖醛酸含量标准曲线

应用硫酸-咔唑法测定糖醛酸的含量，以半乳糖醛酸为标准品，半乳糖醛酸的质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，回归方程为：$y = 0.3485x - 0.0057$，$R^2 = 0.9966$。

2.4.3 3种分离处理方法各指标的比较

蓝莓粗多糖中糖含量为20.56%，蛋白质含量为11.96%。比较分离处理中双氧水法、三氯乙酸-正丁醇法和聚酰胺柱层析法这3种方法对脱除色素、脱除蛋白和多糖保留效果的分析，见表6。

表 6 3种分离处理方法的比较

Table 6 Comparison of the efficiencies of three methods for removal of pigment and protein

方法	色素脱除率/%	蛋白脱除率/%	多糖保留率/%
双氧水法	93.11	—	79.24
三氯乙酸-正丁醇法	—	85.31	70.05
聚酰胺柱层析法	85.37	85.07	98.72

注：—. 未测到。

由表6可知，聚酰胺柱层析法对于脱除蓝莓粗多糖中的色素、蛋白质以及多糖保留率都有较好的效果，尤其是对于多糖的保留率，效果显著优于双氧水法和三氯乙酸-正丁醇法。聚酰胺柱层析法对多糖色素的脱除率较双氧水法略低，但对多糖的保留率较高，其原因可能是双氧水对糖发生了降解作用，导致多糖含量减少。聚酰胺柱层析法对多糖的蛋白脱除率较三氯乙酸-正丁醇法相差不大，基本相当，但对多糖的保留率明显高于三氯乙酸-正丁醇法。其原因可能是三氯乙酸的加入使溶液的pH值降低，导致多糖的分解，造成对多糖的保留率降低。

2.5 DEAE-52纤维素离子交换柱层析

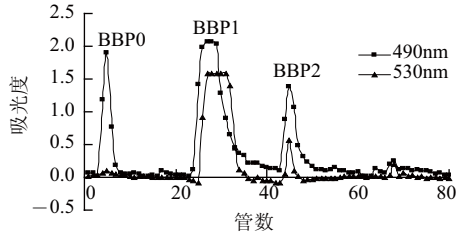


图 4 蓝莓多糖BBP的DEAE-52纤维素柱层析色谱

Fig.4 Chromamtographic fractionation of blueberry polysaccharide BBP by DEAE52-cellulose

由图4可知，蓝莓多糖BBP经DEAE-52纤维素离子交换柱层析洗脱，分别得到了3个峰，证明蓝莓多糖至少含有3种多糖组分，按出峰顺序分别命名为BBP0、BBP1和BBP2，分别占BBP含量的17.84%、53.13%和21.67%。其中第1个峰总糖对称性较好，总糖含量较高，糖醛酸含量极低，而第2个峰总糖和糖醛酸的分布都较宽，且二者分布趋势不完全一致，说明此级分在与离子交换柱吸附能力方面较不均一。其余组分含量极低，很难收集足够的量进行后续研究，故选取BBP0继续下一步的分离纯化处理。

2.6 Sephadex G-100凝胶柱层析

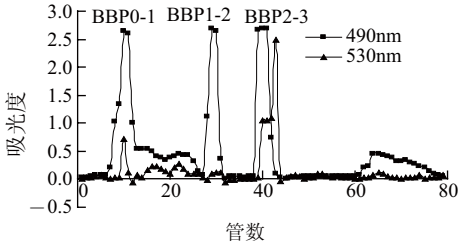


图 5 蓝莓多糖BBP0的Sephadex G-100柱层析色谱

Fig.5 Chromamtographic ractionation of blueberry polysaccharide BBP0 by Sephadex G-100

如图5所示，DEAE-52纤维素离子交换柱层析的蒸馏水级分BBP0，经Sephadex G-100凝胶柱层析，继续蒸馏水洗脱，依次得到3个峰：BBP0-1、BBP0-2和 BBP0-3，分别占BBP0含量的25.19%、18.42%和23.92%。其中BBP0-2的峰只含有中性糖且峰形对称，说明分子质量均一，为了得到分子质量比较均一的多糖，故选取BBP0-2进行结构初探。

2.7 纯度鉴定

通过高效液相色谱分析得到了一个单一较对称峰，如图6所示，说明通过分离纯化的蓝莓多糖BBP0-2为较均一组分。多糖BBP0-2最佳峰面积为100%且无其他杂峰，这说明多糖BBP0-2为纯度较高的多糖，可以对其进行结构研究。

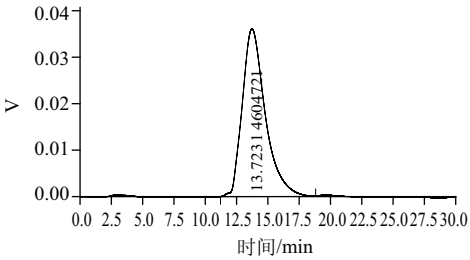


图 6 蓝莓多糖BBP0-2的HPLC图谱

Fig.6 HPLC chromatogram of blueberry polysaccharide BBP0-2

2.8 单糖组成分析

气相色谱分析结果见图7，蓝莓多糖BBP0-2的衍生物存在4个色谱峰，将水解多糖样品的气相色谱图与标准单糖进行对比分析，结果表明蓝莓多糖BBP0-2主要由阿拉伯糖(Ara)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)和葡萄糖(Glu)4种单糖组成，计算得其物质的量比为2:5:3:4。

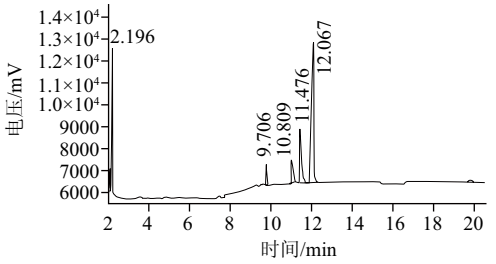


图 7 蓝莓多糖BBP0-2水解液的气相色谱图谱

Fig.7 GC chromatogram of blueberry polysaccharide BBP0-2 hydrolysate

3 结 论

微波辅助法提取蓝莓多糖的最佳工艺条件为料液比1:8(g/mL)、微波功率600W、微波提取时间30min，预测提取量为3.34%，按照优化后的组合条件实测提取量为(3.32±0.02)%。

脱色和脱蛋白是多糖分离纯化的两个重要步骤，本实验将传统的双氧水法脱色和三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白与聚酰胺柱层析法脱色脱蛋白进行了比较，聚酰胺柱层析法的效果明显优于传统方法。

蓝莓多糖经DEAE-52纤维素柱层析分离得到3种级分：BBP0、BBP1、BBP2。BBP0再经Sephadex G-100凝胶柱层析进一步分离纯化后，得到3个级分：BBP0-1、BBP0-2、BBP0-3。其中峰型对称的多糖BBP0-2通过高效液相色谱进行纯度鉴定，得到单一较对称峰，说明BBP0-2为较均一组分多糖。通过气相色谱分析，确定BBP0-2由阿拉伯糖、半乳糖、木糖和葡萄糖组成，计算得出其物质的量比为2:5:3:4。

参考文献：

[1] 史海芝, 刘慧民. 国内外蓝莓研究现状[J]. 江苏林业科技, 2009, 36(4): 48-51.

[2] WANG Yun, CHANG Chenfu, CHOU J, et al. Dietary supplementation with blueberries, spinach, or spirulina reduces ischemic brain damage[J]. Experimental Neurology, 2005, 193(1): 75-84.

[3] WU Xianli, RAHAL O, KANG Jie, et al. In utero and lactational exposure to blueberry via maternal diet promotes mammary epithelial differentiation in prepubescent female rats[J]. Nutrition Research, 2009, 29(11): 802-811.

[4] PAPANDREOU M A, DIMAKOPOULOU A, LINARDAKI Z I, et al. Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity[J]. Behavioural Brain Research, 2009, 198(2): 352-358.

[5] 王秀菊. 蓝莓干酒及蓝莓酒渣花色苷提取工艺的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010.

[6] 孟宪军, 孙希云, 朱金艳, 等. 蓝莓多糖的优化提取及抗氧化性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1): 56-60.

[7] 王谷媛. 蓝莓有效成分的提取条件研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2010.

[8] MOO-YOUNG M, STEWART G G, RUSSELL I. Modern brewing technology[M]//Comprehensive Biotechnology. Oxford: Oxford Pergamon Press, 1985: 336-379.

[9] LIU Zonghua, JIAO Yanpeng, WANG Yifei, et al. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems review article[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60(15): 1650-1662.

[10] 刘春红, 马宇, 何忠梅, 等. 平贝母多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 29-33.

[11] 刘微微, 刘旭, 曹学丽. 白背三七多糖的分离纯化[J]. 食品科学, 2011, 32(23): 58-63.

[12] 何余堂, 潘孝明. 植物多糖的结构与活性研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 493-496.

[13] 张文清, 左萍萍, 徐辰, 等. 海带中岩藻多糖的分离纯化与结构分析[J]. 食品科学, 2012, 33(1): 68-71.

[14] 李颖畅. 蓝莓花色苷的提取纯化及生理功能研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2008.

[15] 蒋立科, 杨婉身. 现代生物化学试验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.

[16] 刘国凌, 宁正祥, 郭红辉. 苦瓜果实中多糖的分离纯化及性质分析[J]. 食品科学, 2010, 31(3): 30-34.

[17] 王强, 李盛钰, 杨帆, 等. 玉竹中性多糖的分离纯化及单糖组成分析[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 100-102.

[18] 赵永芳. 生物化学技术原理及其应用[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1999: 113-146.

[19] 孙希云, 刘宁, 孟宪军, 等. 蓝莓多糖BBP3-1的分离及结构分析[J]. 天然产物研究与开发, 2011(23): 1080-1084.

[20] 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002.