

气升式反应器超声破碎海带提取硫酸酯多糖

王谦, 黄猛, 赵兵, 王玉春, 欧阳藩, 伍志春

(中国科学院化工冶金研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080)

摘要: 在内径 8 cm、有效容积为 1 L 的气升式循环超声破碎浸提装置中, 进行了超声波强化海带硫酸酯多糖浸提实验。在 pH 5.0、提取温度 40°C、液固比 45、提取时间 25 min、通气量 75 L/h、超声功率 120 W、超声作用时间百分比为 100% 的工艺条件下, 硫酸酯多糖的提取率可达 1.86%, 比传统水提法高, 且极大地缩短了提取时间, 比相同条件下不用超声时的提取率(1.11%)高得多。此法所得多糖的 SO_4^{2-} 含量(26.5%)比水法浸提(20.8%)和相同条件下不用超声时(21.3%)都要高, 显示出超声波在强化海带硫酸酯多糖浸提方面的良好应用前景。

关键词: 气升式反应器; 超声破碎; 浸提; 海带; 硫酸酯多糖

中图分类号: TQ028.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2001)01-0058-04

1 前言

海带(*Laminaria japonica*)属于褐藻类巨藻, 我国干海带年产量在 20 万吨以上。海带内含大量的褐藻糖胶、褐藻胶、海带淀粉、甘露醇等成份, 在食品、医药、纺织等工业领域均有广泛应用。硫酸酯多糖是褐藻糖胶中的一类, 具有抗病毒、抗凝血、降血脂等功效, 作为新的抗肿瘤药物具有广阔的应用前景^[1]。因产地、种类、收获季节的不同, 海带中硫酸酯多糖的含量有较大差异, 一般为 1%~3%, SO_4^{2-} 的含量也在 24%~28% 之间变化^[2]。均聚的硫酸酯多糖主要存在于细胞壁, 而由木糖、半乳糖等组成的杂聚硫酸酯多糖主要存在于细胞间隙^[2], 所以硫酸酯多糖的提取需要同时兼顾胞内和胞外多糖。

传统的多糖提取一般是原料经预处理后以稀酸、稀碱或有机溶剂在 80~100°C 浸提, 然后进行苯肼结晶、乙醇沉淀等分离纯化操作, 浸提时间一般在 4 h 以上, 操作周期长, 过程复杂, 成本高。由于超声波在溶液中具有空化、促进传质等作用^[3], 在天然产物的提取中显示出越来越多的优势^[4-6]。本工作在自行设计的内循环气升式超声破碎浸提装置中^[7], 对超声波用于强化海带硫酸酯多糖浸提时的关键影响因素进行了研究, 找出了这一过程的较佳工艺条件, 为工程放大提供了依据。

2 实验材料及设备

海带由福建罗源闽港水产公司生产。

实验试剂: 0.2 g/L 标准岩藻糖溶液; 6 mol/L HCl; 70% 山梨醇溶液; H_2SO_4 试液: 6 份浓硫酸缓缓加入 1 份水中(体积比); 半胱氨酸-苯酚试液: 含 1.0% 盐酸半胱氨酸和 0.075% 苯酚的水溶液; 95% 工业酒精; $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 其它常规试剂。

主要仪器设备: GD65-1 型恒温烘箱, 惠能 SS280-D 型粉碎机, 450 μm 标准检验筛, 自制气升式内循环超声破碎浸提装置(内径 8 cm, 有效容积 1 L)^[7] 超声波细胞破碎仪(Ultrasonic & Cell Corp.), WV0.15/7 型空气压缩机, XMT-122 型恒温控制仪, BECKMAN J6-MC 型离心机, BECKMAN pH 计, 722 光栅分光光度计, 其它常规分析仪器。

收稿日期: 2000-01-05, 修回日期: 2000-06-13

基金项目: 海洋 863 青年基金资助项目(编号: 819-Q-15)

作者简介: 王谦(1975-), 男, 山东莱阳人, 硕士研究生, 生物化工专业。

3 实验方法

原料预处理：海带洗净后于 50℃ 烘干，粉碎，过 450 μm 标准筛。

3.1 浸提

(1) 循环超声浸提：由前期实验^[6]得知，在该浸提装置中超声波用于强化海带硫酸酯多糖浸提时的关键影响因素为：pH 值，温度(T)，液固质量比(L/S)，提取时间(t)，通气量(Q)，超声功率(P)、超声作用时间占全部浸取时间的百分比(x)。实验所用超声波频率为 20 MHz。

(2) 传统 100℃ 浸提：取 20 g 海带粉悬浮于 1 L 水中，加热至沸腾浸提，每隔 1 h 取样，共 7 次。

3.2 多糖含量的测定^[8]

取所得样液在 3 500 r/min 转速下离心 15 min，然后进行适当倍数稀释，测定 OD 值，计算溶液糖浓度及提取率(100 g 干海带中的多糖含量)。

3.3 粗多糖的制备

取浸提液加乙醇至其质量分数为 20%，离心除去沉淀褐藻胶，取清液加乙醇至 60%，离心得沉淀为粗硫酸酯多糖；将粗硫酸酯多糖重新溶于水，加乙醇至 30%，离心除去不溶物，继续提高乙醇质量分数至 70%，加入少许 NaCl 使沉淀完全，最后用乙醇洗涤沉淀。

3.4 SO_4^{2-} 含量的测定^[9]

分别取循环超声浸提和传统 100℃ 浸提所得的多糖配成适当浓度的溶液，测定 OD 值，计算 SO_4^{2-} 浓度，并测定溶液中多糖浓度。

4 结果与讨论

4.1 pH 值对提取率的影响

pH 值对提取率的影响见图 1。由图可以看出，当 pH 值为 5.0 时，提取率达最高值 1.72%；pH 值介于 4.5~5.5 时，有利于海带纤维组织的破坏，多糖释放比较容易。

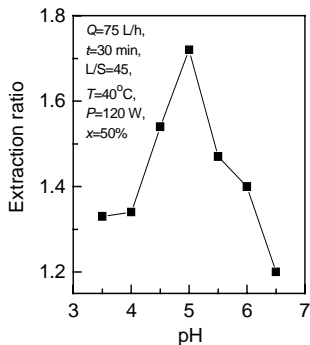


图 1 pH 值对提取率的影响

Fig.1 Extraction ratio vs. pH

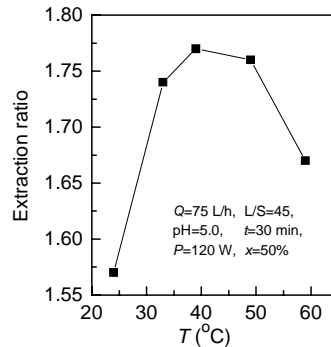


图 2 温度对提取率的影响

Fig.2 Extraction ratio vs. temperature

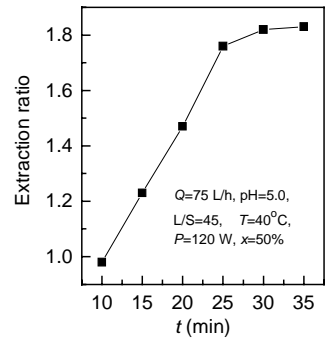


图 3 提取时间对提取率的影响

Fig.3 Extraction ratio vs. time

4.2 温度对提取率的影响

由图 2 可以看出，当温度介于 40~50℃ 时，提取率可达 1.76%。当温度过低时，空化阈值较高^[3]，超声波空化作用不明显。随着温度的升高，空化阈值降低，空化作用加强，对海

带微粒造成较强的破碎作用,加快了多糖的释放进程;同时,温度的升高也可提高海带纤维组织的柔性,这也有利于多糖的传质扩散.当温度过高(高于 60°C)时,液相水分子运动加剧,造成以通入的微小气泡为核心的气泡生长,此时过量的气泡加大了介质的非均一性,造成超声波在液相的声散射损失加剧^[3],使破碎效率下降,多糖提取率降低.

4.3 液固比对提取率的影响

随着液固比(L/S)的增加,提取率逐渐增大.液固比的增大有利于传质扩散.在实际操作中,应采用低L/S;但L/S过低液相的粘度会大大增强,不利于其循环,适宜的L/S为45.

4.4 提取时间对提取率的影响

由图3可以看出,随着提取时间的延长,提取率逐渐增大,在提取时间超过25 min后提取率上升的幅度不大.在本实验条件下较适宜的提取时间为25 min,此时提取率可达1.76%,提取完毕后仍需继续通气20 min,以使多糖完全释放.

4.5 通气量对提取率的影响

从图4可以看出,当通气量为75 L/h时,提取率达到最高值1.82%.当通气量过小时,液相循环缓慢,不能有效地利用超声波能量;当通气量过大时,大量的气泡增强了液相的非均一性,使超声波在介质中的声散射损失增多,引起破碎效率下降,多糖提取率降低.

4.6 超声功率对提取率的影响

由图5可以看出,随着超声功率的增大,提取率由不用超声时的1.11%提高到了超声功率为120 W时的1.77%,相对提高了59.46%.当使用超声时,超声波起到了破碎海带的作用,从而强化了硫酸酯多糖的浸提.超声功率越大,强化的效果越明显.由于实验条件所限,目前暂时只能做到功率为120 W.

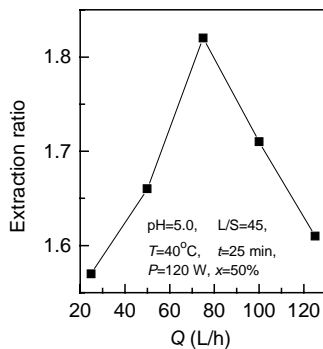


图4 通气量对提取率的影响

Fig.4 Extraction ratio vs. Q

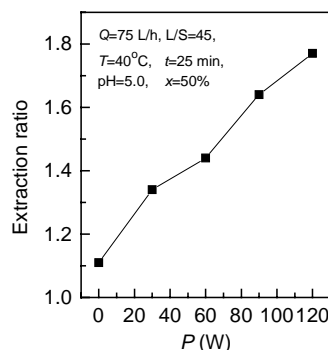


图5 超声功率对提取率的影响

Fig.5 Extraction ratio vs. P

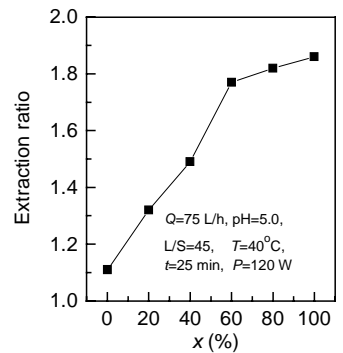


图6 超声时间比例对提取率的影响

Fig.6 Extraction ratio vs. x

4.7 超声间歇时间对提取率的影响

由图6可以看出,随着单位时间内超声作用时间比例的延长,提取率由作用时间比例为0时的1.11%提高到了作用时间比例为100%时的1.86%,相对提高了67.57%.但在实际应用中,当超声作用时间比例大于60%时,就需综合权衡较小的提取率提高幅度带来的效益和其成本投入,找到二者的最佳结合点,达到高的投入产出比.

4.8 3种提取方法硫酸酯多糖提取率和多糖中 SO_4^{2-} 含量的比较

由表1可以看出,在3种提取方法的pH均为5.0、L/S均为45时,超声波法的硫酸酯多糖提取率(1.86%)比 100°C 水提法的提取率(1.81%)略高,但超声波法的温度(40°C)要比水提

法的温度(100°C)低得多,可以降低能源消耗;并且超声波法的提取时间(25 min)比水提法的提取时间(3 h)短得多,极大地缩短了提取时间,操作周期缩短.在不使用超声而其它条件相同时,提取率仅为 1.11%,比用超声强化法所得的提取率低得多.因此,超声在破碎海带强化硫酸酯多糖提取方面具有很大的优势.超声波法所得硫酸酯多糖中的 SO_4^{2-} 含量可以达到 26.5%,在不用超声强化而其它条件与超声法相同时的 SO_4^{2-} 含量为 21.3%,传统 100 浸提所得硫酸酯多糖中的 SO_4^{2-} 含量仅为 20.8%.

表 1 各种提取方法硫酸酯多糖提取率和多糖中 SO_4^{2-} 含量的比较
Table 1 Comparison of extraction ratio with content of SO_4^{2-} by different procedures

Procedure	Enhanced by ultrasonic wave	Extracting in water at 100°C	Extracting without ultrasonic wave
Conditions	$T=40^\circ\text{C}$, $t=25$ min, $Q=75$ L/h, $p=120$ W	$t=3$ h	$T=40^\circ\text{C}$, $t=25$ min, $Q=75$ L/h
Extraction ratio (%)	1.86	1.81	1.11
Content of SO_4^{2-} (%)	26.5	20.8	21.3

5 结论

在实验所用的气升式内循环超声破碎浸提装置中,海带硫酸酯多糖浸提的较佳操作工艺条件是:pH 值 5.0,提取温度 40 ,液固比 45,提取时间 25 min,通气量 75 L/h,超声功率 120 W,超声作用时间比例为 100%,硫酸酯多糖的提取率可达 1.86%,多糖的 SO_4^{2-} 含量(26.5%)高,具有提取时间短、提取温度低等优点,显现出良好的应用前景.

参考文献:

- [1] 卢睿春,刘婉乔,侯振建,等.酶法提取马尾藻硫酸多糖的研究[J].中国海洋药物,1997,2:10-13.
- [2] 纪明侯.海藻化学[M].北京:科学出版社,1997.361-364.
- [3] 应崇福.超声学[M].北京:科学出版社,1990.330-333.
- [4] 赵兵,王玉春,欧阳藩,等.超声波在植物提取中的应用[J].中草药,1999,30(9):A1-3.
- [5] 赵兵,王玉春,欧阳藩,等.超声强化法从鼠尾藻中提取硫酸酯多糖[J].无锡轻工大学学报,1999,18(6):47-49.
- [6] 赵兵,王玉春,欧阳藩,等.循环气升式超声破碎鼠尾藻提取海藻多糖[J].中国海洋药物,1999,18(4):19-23.
- [7] 赵兵,王玉春,欧阳藩,等.适用于非挥发性提取介质的气升式循环超声破碎浸提装置[P].中国专利:99248061.2,1999-09-29.
- [8] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,1994.20-21.
- [9] Balbir C Verma, Swaminathan K, Sad K C. An Improved Turbidimetric Procedure for the Determination of Sulphate in Plants and Soils[J]. Talanta, 1977, 24: 49-50.

Extraction of Sulfate Radical Polysaccharide from *Laminaria Japonica* Enhanced by Ultrasonic Wave in an Air-lift Reactor

WANG Qian, HUANG Meng, ZHAO Bing, WANG Yu-chun, OUYANG Fan, WU Zhi-chun

(State Key Lab. Biochem. Eng., Inst. Chem. Metall., CAS, Beijing 100080, China)

Abstract: The extraction of sulfate radical polysaccharide from *Laminaria Japonica* enhanced by ultrasonic wave in an air-lift reactor was reported. The optimal experimental conditions in this reactor (diameter 8 cm, working volume 1 liter) were pH 5.0, operation temperature 40°C, mass ratio of liquid to solid 45, extraction time 25 min, air flow rate 75 L/h, ultrasonic power 120 W, ultrasonic duty cycle 100%. Under the above conditions, the extraction ratio of sulfate radical polysaccharide reached 1.86%, higher than that by treatment for 3 h in water at 100°C and that under the same conditions without ultrasonic wave applied. The content of SO_4^{2-} in sulfate radical polysaccharide of the former was 5.7% higher due to application of ultrasonic wave. The experimental results showed that this novel extraction process is prospective in the extraction of polysaccharide from seaweed.

Key words: air-lift reactor; ultrasonic wave; extraction; *Laminaria japonica*; sulfate radical polysaccharide