

超声辅助海藻多糖提取

诸爱士,葛宁,张栋

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘要: 研究了超声波辅助海藻多糖的提取工艺,考察了超声功率、超声时间、提取温度、液固质量比等因素对多糖收率的影响,并在单因素实验基础上,采用四因素三水平正交实验,进行提取条件优化。实验结果表明,海藻多糖提取的较优条件是:超声功率 75 W,超声时间 45 min,提取温度 80 ℃,液固质量比 40 : 1。在此组合条件下海藻多糖的平均收率为 13.31 mg/g。

关键词: 海藻;多糖;超声波;提取工艺;正交实验

中图分类号: TS201.2;R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2016)03-0211-05

Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from *Otteliaacuminata* (Gagnep.) Dandy

ZHU Aishi, GE Ning, ZHANG Dong

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology,
Hangzhou 310023, China)

Abstract: The experiment of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from *Otteliaacuminata* (Gagnep.) Dandy was investigated. In the experiment, the effects of ultrasonic power, ultrasonic time, extraction temperature and liquid-solid ratio on the polysaccharide yield were studied. Based on the single factor experiments, the extraction condition were optimized with orthogonal test of four factors three levels. The results showed that the optimum extraction parameters were as follows: ultrasonic power 75 W, ultrasonic time 45 minutes, liquid-solid mass ratio 40 : 1, extraction temperature 80 ℃. In this combination conditions, the polysaccharide theoretical yield can reach 13.31 mg/g.

Keywords: *Otteliaacuminata* (Gagnep.) Dandy; polysaccharide; ultrasonic waves; extraction technology; orthogonal test

海藻是一种富含蛋白质和多种维生素及微量元素的天然野生水菜。多糖具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗衰老、降血糖、抗凝血、抗放射等作用^[1]。多糖的提取传统上采用水提法^[1-3],但也有许多辅助方

收稿日期: 2016-01-12

作者简介: 诸爱士(1966—),男,浙江省湖州人,副教授,主要从事化工单元操作的教学与应用研究。

法供选用^[4-11],如酶解辅助、超声辅助、微波辅助、高压脉冲电场辅助、酸提及碱提等。由于超声波具有空化效应,能提高提取效果,目前被广泛应用于有效物质提取研究,如多酚、皂甙、花青素、黄酮、多糖、精油及萜类物质,等等^[12-18]。关于海藻多糖的提取目前未见报道,本实验研究了海藻多糖的超声辅助提取,考察了超声功率、超声时间、提取温度及液固(去离子水与海藻干粉)质量比等因素对多糖收率的影响。在单因素考察基础上进一步采用四因素三水平正交实验考察提取条件的优化,以期获得更高的收率,能为实际应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

实验材料:野生海藻,威海旭日海产品有限公司生产。

实验试剂:葡萄糖(分析纯,上海德榜化工有限公司),硫酸(分析纯,江苏扬州华富化工有限公司),苯酚(分析纯,山东济宁佰一化工有限公司),其余试剂均为 AR。

实验仪器:KQ2200E 型超声波清洗器(广州沪瑞明仪器有限公司),FA/JA1004 型电子分析天平(江苏常州市宏衡电子仪器厂),800B 离心机(江苏金坛市万华实验仪器厂),RE-5299 旋转蒸发仪(上海耀裕仪器设备有限公司),DHG-9123A 型电热鼓风干燥箱(上海捷呈实验仪器有限公司),722 型可见分光光度计(上海光学仪器一厂),CR-260A 型粉碎机(浙江永康市超然电器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 海藻的预处理

恒温 50 ℃ 烘干 4 h,粉碎,过 50 目筛,干燥待用。

1.2.2 海藻多糖的提取

取一定量海藻粉装入烧瓶,按设定液固质量比配入去离子水,将烧瓶装入设定温度的超声波清洗器中进行超声提取一定时间,提取结束后取出烧瓶,倒出料液进行过滤,清洗烧瓶后的洗液一并过滤,清洗滤饼,将得到的滤液进行旋蒸浓缩,冷却浓缩液后再取一定量经离心,取上层清液用分光光度法测定多糖质量浓度。

1.2.3 测定多糖质量浓度方法及计算收率公式

采用苯酚-硫酸法^[1]测定提取液中的多糖质量浓度,该方法以葡萄糖质量浓度表示多糖质量浓度。先作标准曲线,拟合吸光度与质量浓度的关系,得到如式(1)的两者关系

$$X=0.025\ 5A-0.000\ 06。 \quad (1)$$

式(1)中: X 为溶液中的葡萄糖质量浓度,mg/mL; A 为在 485 nm 处测定得到的吸光度。

则计算提取到的海藻多糖收率按式(2)进行

$$Y=\frac{X \cdot V}{M}。 \quad (2)$$

式(2)中: Y 为所提取的海藻多糖收率,mg/g; V 为提取液总体积,mL; X 为测得的海藻多糖质量浓度,mg/mL; M 为原料海藻用量,g。

2 结果与讨论

2.1 单因素考察

2.1.1 超声功率对收率的影响

设置提取条件如下:液固质量比 40 : 1、温度 70 ℃、超声时间 45 min、提取 1 次,对比超声辅助提取的效果与超声功率的影响,结果见图 1。图 1 中的结果显示,在超声辅助下提取多糖,其收率均有提高,并随着超声功率的增加,多糖收率有明显增大,但当超声功率超过 75 W 后,多糖收率反而有所下降。其原因是超声波具有强烈振动、空化效应的作用,可使物质分子运动的频率和速度增大,使提取剂的穿透力增强及加快细胞破壁,这些作用可使液固相之间的质量传递得到加强,从而提高了收率;但超声波功率过

大,反而会使糖键断裂,降低了多糖收率^{[6]60,[19-20]}。以下实验采用 75 W 超声。

2.1.2 超声时间对收率的影响

在超声功率为 75 W、液固质量比为 40 : 1、提取温度为 70 ℃、1 次提取的条件下,考察了超声时间 15、30、45、60、75 min 提取对多糖收率的影响,结果见图 2。图 2 中的结果表明,超声时间的长短会明显影响多糖收率,45 min 是分界点,之前随着超声时间的增长多糖收率明显增加,但超声时间超过 45 min 后,则多糖收率反而下降。这是因为当超声时间少于 45 min 时,提取不够彻底,超声时间超过 45 min 时反而会使提出的多糖处在超声波作用下造成断键,使多糖收率下降^{[6]61,[19-20]}。故超声时间以 45 min 为宜。

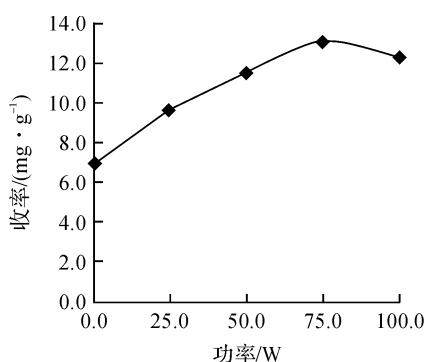


图 1 超声功率对收率的影响

Fig. 1 Effects of ultrasonic power on extraction yield

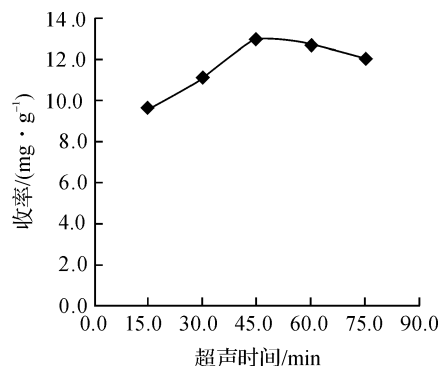


图 2 超声时间对收率的影响

Fig. 2 Effects of ultrasonic time on extraction yield

2.1.3 提取温度对收率的影响

液固质量比 40 : 1、超声功率 75 W、超声 45 min、提取 1 次,用不同的提取温度进行提取,图 3 表示出了实验结果。图 3 表明,提取温度升高则多糖收率增大,70 ℃ 之后升高提取温度对提高收率的影响变小,其原因是溶液体系的黏度随温度升高而降低,而物质的扩散能力却随温度的提高反而加快,使得在相同的提取时间下高温时提取收率较高。70 ℃ 后收率增幅变小说明该温度下提取速度已经足够快,大部分多糖已经被提出,80 ℃ 时比 70 ℃ 时的收率增加 2.51%。但温度过高会使多糖降解,也使能耗增加,故提取温度以 70 ℃ 为宜。

2.1.4 液固质量比对收率的影响

超声功率 75 W、超声 45 min、温度 70 ℃、提取 1 次,考察液固质量比为 20、30、40、50、60 时多糖的收率,结果见图 4。图 4 说明多糖收率先随着液固质量比的增加而增大,这是提取过程中的传质推动力影响所致,增加液固质量比会使液相多糖质量浓度降低而增加了液固间多糖的质量浓度差——传质推动力,增大了传质速率;但在液固质量比大于 40 时,多糖收率反而有所下降,这可能是稀液旋蒸浓缩操作造成多糖分解损失所致;另外,增大液固质量比会加大设备需求及后续操作负荷。故 40 : 1 的液固质量比较合适。

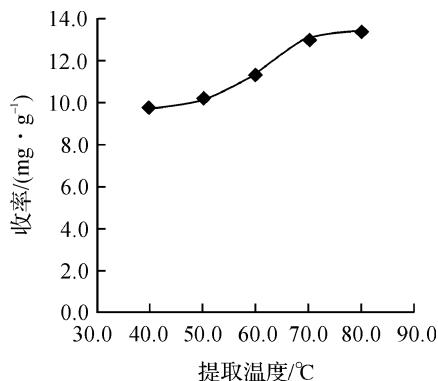


图 3 提取温度对收率的影响

Fig. 3 Effects of extraction temperature on extraction yield

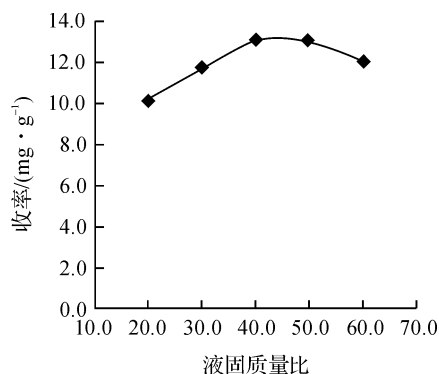


图 4 液固质量比对收率的影响

Fig. 4 Effects of liquid-solid mass ratio on extraction yield

2.2 正交实验

单因素实验结果表明,超声功率、超声时间、提取温度与液固质量比对提取影响较大,因此采用四因素三水平正交实验进一步对提取条件的组合进行优化。实验安排的因素、水平方案列于表 1。

表 1 正交实验安排因素与水平

Table 1 Orthogonal experiment factors and levels

水平	超声功率/ W X_1	超声时间/min X_2	提取温度/℃ X_3	液固质量比 X_4
1	50	30	60	30
2	75	45	70	40
3	100	60	80	50

各实验的因素水平安排方案、实验所得的结果及分析列于表 2。由表 2 中各因素的极差 R 值大小可以得出:在考察的范围内,影响海菜多糖收率因素的强弱顺序为:超声时间>提取温度>超声功率>液固质量比。则较佳提取条件为 $(X_2)_2(X_3)_3(X_1)_2(X_4)_2$,即海菜多糖提取的较佳条件为:超声功率 75 W,超声时间 45 min,提取温度 80 ℃,液固质量比 40 : 1。在以上较佳条件下进行 3 次重复实验,得到海菜多糖的平均收率为 13.31 mg/g,相对标准偏差 $RSD=6.8\%(n=3)$ 。

表 2 正交实验安排与结果

Table 2 Orthogonal experimental establishment and results

序号	X_1	X_2	X_3	X_4	收率/(mg · g ⁻¹)
1	1	1	1	1	9.42
2	1	2	2	2	11.41
3	1	3	3	3	11.19
4	2	1	2	3	10.74
5	2	2	3	1	11.76
6	2	3	1	2	11.02
7	3	1	3	2	10.48
8	3	2	1	3	10.33
9	3	3	2	1	11.16
T_{1j}	32.02	30.64	30.77	32.34	
T_{2j}	33.52	33.50	33.31	32.91	
T_{3j}	31.97	33.37	33.43	32.26	
K_{1j}	10.67	10.21	10.26	10.78	
K_{2j}	11.17	11.17	11.10	10.97	
K_{3j}	10.66	11.12	11.14	10.75	
R_j	1.55	2.86	2.66	0.65	

3 结 语

超声辅助提取多糖,可以较大幅度增加多糖的收率,超声时间、提取温度、超声功率及液固质量比均会对海菜多糖的提取有一定影响。实验结果表明,海菜多糖超声辅助提取的较优条件为:超声功率 75 W,超声时间 45 min,温度 80 ℃,液固质量比 40 : 1,可得海菜多糖的平均收率为 13.31 mg/g。

参考文献:

- [1] 钱丹丹,李新华,杨强,等. 响应面分析法优化水飞蓟多糖提取工艺[J]. 食品工业,2015,36(6):117-118.
- [2] 王莹,王华,丁宁,等. 响应曲面法优化水溶性银杏叶多糖提取工艺[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):268.
- [3] LUO D H. Optimization of total polysaccharide extraction from *Dioscorea nipponica* Makino using response surface methodology and uniform design [J]. Carbohydrate Polymers,2012,90(1):284.

- [4] 乔宇,游江,汪兰,等. 纤维素酶法提取山药多糖的工艺优化[J]. 湖北农业科学,2014,53(20):4926.
- [5] 易阳,张名位,廖森泰,等. 超声波协同酶法提取刺玫果渣多糖工艺研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2014,35(6):76.
- [6] 徐传远,王丽萍,高文燕. 响应面法优化超声提取宽叶独行菜多糖工艺研究[J]. 粮食与油脂,2015,28(2):59.
- [7] CHEN R Z, LI Y, DONG H, et al. Optimization of ultrasonic extraction process of polysaccharides from *ornithogalum caudatum* ait and evaluation of its biological activities [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2012,19 (6):1160.
- [8] 王娅玲,李维峰,郭芬,等. 微波辅助提取菱红菇多糖及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2015,36(9):251.
- [9] 王文渊,张航航,周振华,等. 从竹叶中同步提取多糖、茶多酚和黄酮的研究[J]. 应用化工,2014,43(5):835.
- [10] 刘永,杨颖怡,韦寿莲. 超声辅助提取水蜜桃核多酚的研究[J]. 食品科技,2015,40 (6):246.
- [11] 袁清霞,赵龙岩,李子娇,等. 酸法提取仙人掌多糖工艺[J]. 食品研究与开发,2012,33 (3):42.
- [12] 诸爱士,沈晓强. 正交设计碱提小米多糖[J]. 浙江科技学院学报,2013,25(3):205.
- [13] 但汉龙,李娜,叶红莲,等. 响应面优化无患子皂苷超声辅助提取工艺[J]. 中南林业科技大学学报,2015,35(6):107.
- [14] 杨敏,孔青,陈丽媛,等. 超声波辅助提取紫玉米花青素[J]. 食品科技,2015,40(6):269.
- [15] 曹清明,邬靖宇,钟海雁,等. 油茶叶中黄酮的超声辅助提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械,2015(3):162.
- [16] PRAKASH MARAN J, MANIKANDANB S, THIRUGNANASAMBANDHAMA K, et al. Box-Behnken design based statistical modeling for ultrasound-assisted extraction of corn silk polysaccharide[J]. Carbohydrate Polymers, 2013,92(1):604.
- [17] 李超. 超声辅助提取迷迭香挥发油的工艺优化[J]. 中国调味品,2015,40(6):62.
- [18] 周晓,王成忠,李双,等. 响应面法优化超声辅助提取灵芝三萜的工艺研究[J]. 食品工业,2015,36(6):136.
- [19] 张奥,何文辉,李鲜鲜,等. 超声波辅助提取海膜多糖的工艺优化[J]. 上海海洋大学学报,2014,23(4):638.
- [20] 郭艳茹,王玲丽. 超声辅助冬枣水溶性多糖提取工艺优化[J]. 浙江农业科学,2014(11):1744-1745.