

正交法优化海带岩藻多糖提取工艺

侯庆爱¹, 张燕², 祝晓风²

(1. 山东技师学院, 山东 济南 250014; 2. 山东泉港药业有限公司, 山东 济南 250002)

摘要: 目的 研究岩藻多糖的提取工艺。方法采用正交优化法, 以海带为原料, 最佳组合为料液比(1g:20mL), 温度80℃, 提取3次, 提取时间10h。结果 岩藻多糖得率25%, 经柱层析纯化, 纯度达93%。结论 此工艺操作简便, 成本较低。

关键词: 岩藻多糖; 海带; 提取工艺; 正交优化法

中图分类号: Q538 文献标识码: A 文章编号: 1672-979X(2010)05-0165-03

Extraction Technology of Fucoidin from Kelp with Orthogonal Optimization Method

HOU Qing-ai¹, ZHANG Yan², ZHU Xiao-feng²

(1. Shandong Technician Institute, Jinan 250014, China; 2. Shandong Quangang Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan 250002, China)

Abstract: Objective To study the extraction technology of fucoidin. **Methods** With kelp as the material, the optimum extraction conditions with orthogonal optimization method were as follows: solid-liquid ration(1 g:20 mL), extracting for 3 times at 80 °C, each for 10 h. **Results** The yield rate of fucoidin was 25 %. The purity could reach 93% after being refined by column chromatography. **Conclusion** This extraction technology is easily controlled and cost-saving.

Key Words: fucoidin; kelp; extraction technology; orthogonal optimization method

在很多海藻中均能获得岩藻多糖。海带为海带目海带科的一种大型褐藻, 富含岩藻多糖, 具有易采集、成本低等特点。岩藻多糖的主要成分是L-岩藻糖, 线性主链是岩藻吡喃环以 α -1,3-糖苷键连接而成^[1-3]。研究表明, 岩藻多糖具有抗氧化、清除自由基(清除自由基的能力高于维生素C溶液清除羟自由基的能力)及抑制致癌因子的功能, 长期服用无副作用, 因此有望开发为抗肿瘤新药。日本学者还研究发现一种名为“MC 26”的新型岩藻多糖类物质, 具有良好的抗流感病毒、抑制高致病性禽流感病毒株复制的效果, 有望直接开发成为抗各种流感及禽流感的新药^[4,5]。

为达到节约成本、提高效率, 并实现岩藻多糖大规模生产的目的, 现以市售海带为原料研究岩藻多糖的提取工艺, 为岩藻多糖生产提供参考数据。

1 材料

1.1 材料与试剂

海带(散装干海带, 购自济南大润发超市)。

海藻糖(上海恒信化学试剂公司); 蕙酮(国药集团化学试剂公司); 无水乙醇(上海南翔试剂公司); 阿利新蓝(南通林港化工公司)。

1.2 仪器

组织捣碎机(HGB550, 美国WARING); 恒温水浴锅(DK-8D型, 上海精宏公司); 离心机(CR20B2, 日立); 紫外分光光度计(Photolab 6600, 德国WTW); 真空冷冻干燥机(FD-1A-50, 北京博医康公司); 超滤设备(MSC300超滤杯/杯式超滤器, 上海摩速公司)。

2 方法

2.1 提取海带中岩藻多糖的工艺流程设计

海带捣碎—海带粉恒温水浴—过滤—浸提物—加稀盐酸调pH 2.5—离心—上清液—加氢氧化钠溶

收稿日期: 2009-12-23

作者简介: 侯庆爱(1974-), 女, 山东费县人, 工程师, 从事生物生化制药专业教学工作

液调pH 7.0—浓度60 %乙醇醇析—沉淀—无水乙醇洗涤数次—冷冻干燥—粗岩藻多糖—柱层析纯化—精制品

2.2 考察影响岩藻多糖提取的因素

用正交设计法考察料液比、提取温度、提取次数、提取时间对岩藻多糖产量的影响。4项因素各取3个水平，正交表 $L_9(3^4)$ ，各因素、水平见表1。

2.3 葡聚糖凝胶柱层析纯化^[2]

Sephadex G-100在0.1 mol/L NaCl洗脱液中溶胀

表1 水平因素表

水平	料液比/ g·mL ⁻¹ (A)	温度/°C (B)	次数 (C)	时间/h (D)
1	1:40	40	1	6
2	1:20	60	2	8
3	1:30	80	3	10

平衡，湿法装柱(2.6 cm×56 cm)。洗脱液平衡，上样，流速10 mL/h，每20 min收集1管，硫酸-苯酚法监测至无糖检出为止。

2.4 岩藻多糖的纯度测定^[2,6]

醋酸纤维薄膜电泳：电压10~20 V，巴比妥-巴比妥钠缓冲液(pH 8.6，浓度0.07 mol/L)，电泳80 min，阿利新蓝染色。

2.5 粗岩藻多糖中岩藻多糖的含量测定^[7]

蒽酮比色法测定岩藻多糖含量。

2.5.1 制作标准曲线 取7支干燥洁净试管，编号后每管分别加入100 mg/mL海藻糖标准液0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 mL，再分别加水至总体积1.0 mL，立即混匀，迅速置于冰浴中，待各管均加入蒽酮试剂10 mL后，同时置于沸水浴中，准确加热7 min，立即取出置于冰浴中，迅速冷却。待各管溶液达到室温后，用1 cm厚度的比色皿，以第1管为空白，迅速测其余各管的吸光度值(A_{620nm})。然后以第2~7管溶液含糖量(μg)为横坐标，吸光度为纵坐标，制作含糖量与 A_{620nm} 值相关的标准曲线。

2.5.2 测定岩藻多糖含量 取4支试管按表4操作。具体操作与制作标准曲线相同。根据2~4管 A_{620nm} 平均值从标准曲线上查相应的含糖量，再换算成100 mg样品中总糖的含量。

3 结果与讨论

3.1 最佳提取工艺的筛选结果

结果见表2。

表2 不同因素对岩藻多糖产量的影响

试验 编号	A	B	C	D	岩藻多糖/g
1	1	1	2	3	0.486 3
2	1	2	3	2	0.708 2
3	1	3	1	1	0.550 6
4	2	3	1	3	1.065 2
5	2	2	3	2	0.891 8
6	2	1	2	1	0.490 8
7	3	1	2	1	0.551 5
8	3	2	1	2	0.250 6
9	3	3	3	3	1.546 7
K_1	1.742 4	1.525 9	1.866 4	1.592 9	
K_2	2.447 8	1.850 6	1.525 9	1.850 6	
K_3	2.348 8	3.162 5	3.146 7	3.095 5	
k_1	0.580 8	0.580 6	0.622 1	0.531 0	
k_2	0.815 9	0.616 9	0.508 6	0.616 9	
k_3	0.782 9	1.054 1	1.048 9	1.031 8	
R	0.235 1	0.545 5	0.540 3	0.500 8	

由表2可见，温度的极差最大，其它依次是提取次数、提取时间、料液比，各因素的主次关系： $B>C>D>A$ 。提取因素的最佳组合为：料液比1 g:20 mL，温度80 °C，提取3次，提取时间10 h。

3.2 岩藻多糖纯度测定结果

用醋酸纤维薄膜电泳法测定岩藻多糖纯度，电泳结果为单一的斑点。用薄膜扫描法定量测得岩藻多糖纯度为93 %。

3.3 含量测定结果

以海藻糖标准液(100 mg/mL)为标准作标准曲线，得回归方程 $Y=0.172 X+0.003$ ($r=0.988$)。

样品溶液吸光度的平均值约0.045 7，通过标准曲线趋势线得多糖含量为25 %。

最终筛选出的最佳工艺条件为：料液比1 g:20 mL，温度80 °C，提取3次，提取时间10 h。此工艺操作简便，成本较低。

参考文献

[1] 徐铮奎. 前景广阔的海洋药物——岩藻多糖[J]. 中国医药报

一株碱性 α -淀粉酶产生菌的筛选及产酶条件优化

宋燕, 李津

(山东博士伦福瑞达制药有限公司, 山东 济南 250101)

摘要: **目的** 获取工业生产上有潜在应用价值的碱性淀粉酶产生菌。**方法** 土壤中筛选出5株产淀粉酶的菌株; 经正交试验确定培养基的最优组成; 通过摇瓶发酵初步确定了发酵条件。**结果** 产淀粉酶活性最高的为来源于草地土壤的菌株 *SII-6*, 它在发酵8 h时产酶能力最强; 优化后的培养基为玉米粉3%, 蛋白胨0.8%, 磷酸氢二钠0.6%, 硫酸铵0.2%, 氯化铵0.15%, pH 9.0。于40 °C, 180 r/min条件下培养, 菌株 *SII-6* 酶活性可达到2 114 U/mL。**结论** 筛选出5株产淀粉酶的菌株, 其中菌株 *SII-6* 是1株耐碱性 α -淀粉酶产生菌。

关键词: 碱性淀粉酶; 菌株筛选; 正交试验; 优化

中图分类号: Q556.2⁺ **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-979X(2010)05-0167-04

Screening of Alkaline α -Amylase-producing Strain and Condition Optimization

SONG Yan, LI Jin

(Shandong Bausch&Lomb Freda Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan 250101, China)

Abstract: Objective To obtain alkaline amylase-producing strains which have potential values in the industry.

Methods Five amylase-producing strains were selected from soils. The optimal composition of the medium was determined by the orthogonal test. The fermentation conditions were also initially identified in the shake flask fermentation. **Results** The strain named *SII-6*, which was isolated from the grasslands soils, had the highest amylase-producing activity when it was cultured for 8 h. The optimal fermentation medium with pH 9.0 was composed of 3% corn flour, 0.8% peptone, 0.6% disodium hydrogen phosphate, 0.2% ammonium sulfate and 0.15% ammonium chloride. After cultivated for 8 h in shaker at 40 °C with 180 r/min, the amylase-producing activity of *SII-6* reached 2114 U/mL. **Conclusion** Five amylase-producing strains can be screened out, in which the strain *SII-6* is a alkaline-resistant α -amylase-producing strain.

Key Words: alkaline α -amylase; strain screening; orthogonal test; optimization

收稿日期: 2010-01-07

作者简介: 宋燕(1977-), 女, 河南新乡人, 主管药师, 从事产品的微生物检验

Tel:0531-86510012 E-mail: songyanzhz@163.com

- 报, 2004, 10(1): 35-36.
- [2] 杨会琴, 李敬, 戴翠萍. 海带中岩藻多糖提取工艺的研究[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2005, 29(4): 409-411.
- [3] 纪明侯, 徐祖洪, 郭玉彩. 海带岩藻多糖的研究[J]. 水产学报, 1980, 4(1): 516-519.
- [4] 陈秋, 钱凯先. 褐藻中岩藻聚糖和岩藻多糖的结构与功能的研究[J]. 东海海洋, 2001, 19(2): 10-13
- [5] 邢杰, 刘宇清, 高君. 海带岩藻多糖的提取及组分的分离与鉴定[J]. 抚顺石油学院学报, 1998, 18(8): 8.
- [6] 张樵杰. 复合多糖生化技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 67-68.
- [7] 郝晓敏, 谷长生, 宋文东, 等. 酸法江蓠菜岩藻多糖提取工艺及其性质研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(30): 9704-9705, 9735.