

张跃群, 闫生荣, 王小红, 等. 不同 pH 值条件下水溶性壳聚糖衍生物对微藻絮凝富集的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 190–191.

不同 pH 值条件下水溶性壳聚糖衍生物对微藻絮凝富集的影响

张跃群, 闫生荣, 王小红, 吕 峰, 陆德祥

(南通农业职业技术学院, 江苏南通 226007)

摘要:在不同 pH 值条件下, 研究壳聚糖衍生物对绿色巴夫藻(*Pavlova viridis* Tseng, Chen et Zhang)、小球藻(*Chlorella* spp.) 絮凝富集的影响。结果表明, 终浓度为 30 mg/L 以上的壳寡糖、水溶性低分子量壳聚糖对 2 种藻类具有显著的促沉降效应, 在 pH 值大于 7 的碱性溶液中沉降效应明显提高。说明水溶性壳聚糖衍生物可以用于微藻的大规模采收。

关键词:壳寡糖; 水溶性低分子量壳聚糖; 微藻; 絮凝富集

中图分类号: S968.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2014)03–0190–02

海洋、江河、湖泊中数量庞大的微藻是重要的生态类群, 参与地球的碳氧循环, 一些微藻富含大量的蛋白质、不饱和脂肪酸以及矿物质, 被广泛应用于水产养殖业、功能食品开发等领域^[1]。微藻个体大小从几微米到几十微米不等, 通过吸收水中的无机盐进行大量繁殖。有研究表明, 微藻的采收成本占其养殖成本的 20%~30%^[2]。电场絮凝、超声波等物理方法以及游离阳离子等化学方法被广泛用于微藻采收的预处理^[3]。受场地及设备条件限制, 研究人员开始把目光转向高分子聚合物。壳聚糖(chitooligosaccharde, COS)作为重要的直链高分子聚合物, 据有电中和絮凝与吸附絮凝的双重作用^[4]。但因其水不(低)溶性, 限制了其在微藻生产中的大规模应用^[5]。本研究在不同 pH 值条件下, 研究壳聚糖衍生物对微藻富集的影响, 旨在为开发利用微藻资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 壳寡糖 参照杨宇民等的方法^[5]制备壳寡糖。壳聚糖脱乙酰度 90.5%, 购自江苏省南通市兴成生化厂。称取 20 g 壳聚糖放入 1 L 三颈瓶中, 加入 400 mL 2% 双氧水溶液, 40~50 ℃ 下搅拌反应 2 h, 反应停止后在布氏漏斗上抽滤; 将滤液在旋转蒸发器上减压蒸馏, 浓缩到一定程度后, 加入 3 倍体积的 95% 乙醇, 析出白色沉淀, 过滤; 将沉淀用尽可能少的水溶解, 再加入 3 倍体积的 95% 乙醇, 过滤。重复操作 3 次, 将沉淀用红外线快速干燥器烘干, 放入真空干燥器中干燥保存。

1.1.2 水溶性低分子量壳聚糖(water soluble low molecular weight chitosan, WSLC) 参照杨宇民等的方法^[5]制备水溶性低分子量壳聚糖。将 10 g 壳聚糖与 60 mL 20% 磷酸放入三

颈瓶中, 控制温度为 80~90 ℃, 搅拌反应 2 h 后, 加入乙醇 50 mL, 搅拌回流 2 h, 过滤。用无水乙醇洗涤滤饼 3 次, 烘干, 得白色粉末, 溶于水。

1.2 方法

1.2.1 微藻培养 绿色巴夫藻(*Pavlova viridis* Tseng, Chen et Zhang)、小球藻(*Chlorella* spp.) 取自江苏省海洋水产研究所。参照陈明耀的方法^[6]配制培养基。

1.2.2 沉降处理 将藻液稀释至适宜浓度, 取 500 mL 藻液置于 800 mL 烧杯中, 置于搅拌器下, 加一定体积的 100 mg/L 壳聚糖衍生物母液, 以 250 r/min 搅拌 1 min, 再加入一定体积的 5 mol/L HCl 或 5 mol/L NaOH 调节溶液 pH 值, 继续搅拌 1 min, 再以 50 r/min 慢速搅拌 10 min, 静置沉淀 0.5 h, 于烧杯底部上方约 1/3 处取样。

2 结果与分析

2.1 不同浓度壳聚糖衍生物对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

控制绿色巴夫藻与小球藻培养液中壳聚糖衍生物 COS、WSLC 浓度分别为 0、10、20、30、40、50 mg/L, 以 50 r/min 慢速搅拌 10 min, 静置沉淀 0.5 h 后, 于烧杯底部上方约 1/3 处取样进行密度测定。当 COS 浓度分别为 0、10、20、30、40、50 mg/L 时, 绿色巴夫藻的密度分别为 2.7×10^5 、 3.6×10^5 、 28.9×10^5 、 58.3×10^5 、 385.2×10^5 、 413.3×10^5 个/mL, 小球藻的密度分别为 3.2×10^5 、 6.3×10^5 、 41.3×10^5 、 278.4×10^5 、 625.5×10^5 、 879.7×10^5 个/mL(图 1)。当 WSLC 浓度分别为 0、10、20、30、40、50 mg/L 时, 绿色巴夫藻密度分别为 4.1×10^5 、 7.2×10^5 、 47.6×10^5 、 63.3×10^5 、 318.1×10^5 、 598.0×10^5 个/mL, 小球藻的密度分别为 6.9×10^5 、 17.2×10^5 、 48.1×10^5 、 189.2×10^5 、 560.4×10^5 、 743.4×10^5 个/mL(图 2)。由此可知, 当 COS、WSLC 浓度大于 30 mg/L 时, 对绿色巴夫藻、小球藻均有明显的促沉降效果, 并呈现出浓度依赖性。

2.2 不同 pH 值条件下 COS 对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

控制培养液中 COS 的浓度为 40 mg/L, 用 5 mol/L HCl 或

收稿日期: 2013–11–01

基金项目: 江苏省“333 工程”科研项目(编号: BRA2012066); 江苏省高校科研成果产业化推进项目(编号: JHB2011–71); 江苏省南通市农业科技创新与产业化项目(编号: HL2012017)。

作者简介: 张跃群(1968—), 女, 硕士, 教授, 从事植物生理学教学与科研工作。Tel: (0513) 81050510; E-mail: zyqntnx@sina.com。

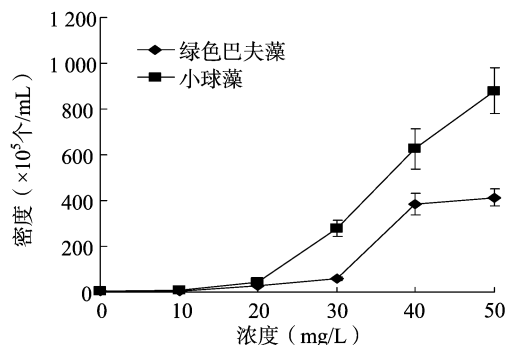


图1 COS对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

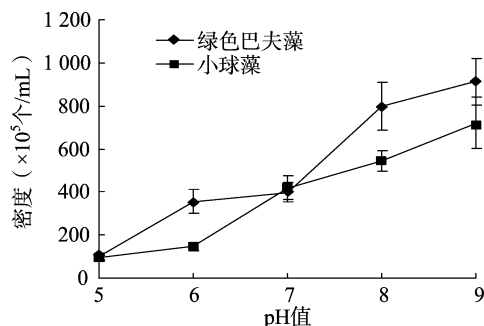


图4 不同pH值的WSLC对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

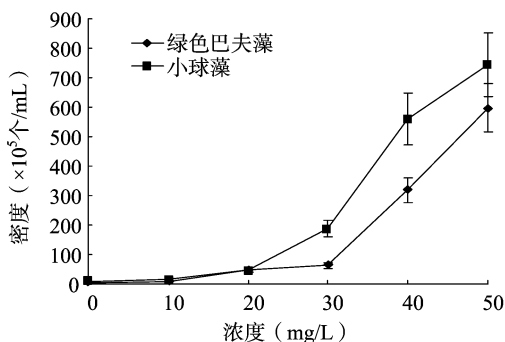


图2 WSLC对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

5 mol/L NaOH 调节培养液使 pH 值分别为 5、6、7、8、9。当培养液 pH 值分别为 5、6、7、8、9 时,绿色巴夫藻的密度分别为 78.9×10^5 、 218.3×10^5 、 412.6×10^5 、 627.4×10^5 、 1125.5×10^5 个/mL,小球藻的密度分别为 155.2×10^5 、 283.8×10^5 、 397.6×10^5 、 750.7×10^5 、 992.2×10^5 个/mL(图 3)。由此可知,pH 值大于 7 的碱性 COS 溶液有利于微藻的沉降。

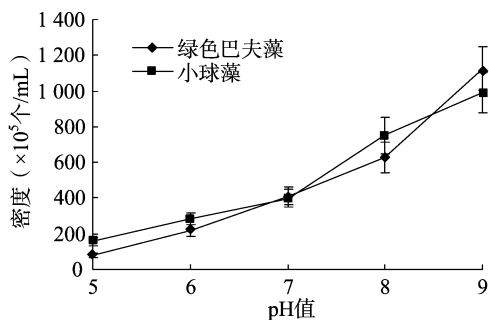


图3 不同pH值COS对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

2.3 不同 pH 值条件下 WSLC 对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响

控制培养液中 WSLC 浓度为 40 mg/L,用 5 mol/L HCl 或 5 mol/L NaOH 调节培养液 pH 值分别为 5、6、7、8、9。结果表明,当培养液 pH 值分别为 5、6、7、8、9 时,绿色巴夫藻的密度分别为 101.3×10^5 、 356.4×10^5 、 398.5×10^5 、 799.5×10^5 、 912.2×10^5 个/mL,小球藻的密度分别为 93.2×10^5 、 145.7×10^5 、 420.0×10^5 、 544.7×10^5 、 721.1×10^5 个/mL(图 4)。由此可知,pH 值大于 7 的碱性 WSLC 溶液促进微藻的絮凝富集。

3 结论与讨论

本研究制备了壳聚糖的 2 种衍生物 COS、WSLC,并且探讨了其在不同 pH 值条件下对绿色巴夫藻、小球藻絮凝富集的影响。结果表明,壳聚糖的水溶性降解产物对微藻具有絮凝富集效果,当浓度超过 30 mg/L 时,絮凝富集效果更为明显。研究表明,壳聚糖通过电中和、吸附和高分子的网捕效应发挥对微藻的絮凝富集作用,COS、WSLC 聚合度不同,但有相似的沉降效果,电中和、吸附可能是微藻絮凝富集的主要原因^[4]。pH 值可以影响壳聚糖的富集效果。有学者认为,酸性条件可以促进壳聚糖对微藻的絮凝^[7]。赵培等认为,碱性条件有利于微藻的絮凝沉降^[8]。这可能是由于碱性条件可以促进大分子构象的改变,或是中和了微藻细胞表面的负电荷。本研究表明,壳聚糖的水溶性降解产物 COS、WSLC 在 pH 值大于 7 的培养液中能够促进微藻的絮凝。壳聚糖的降解产物安全无毒,与传统无机盐类相比,不会对藻类本身及后续产业带来影响,因此被认为是环境友好、安全健康的微藻絮凝剂。壳聚糖及其降解产物来源广泛、生产加工及基因结构改性方便,尤其是水溶性降解产物,还能增强动物机体的免疫功能。因此,作为微藻采收的预处理剂应用前景广阔。

参考文献:

- [1] 张跃群,王勇军. 微藻的营养价值及其应用[J]. 生物学教学, 2002,27(6):42-44.
- [2] Molina G E, Belarbi E H, Acien Fernández F G, et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics [J]. Biotechnology Advances, 2003,20(7/8):491-515.
- [3] 林 喆,匡亚莉,郭 进,等. 微藻采收技术的进展与展望[J]. 过程工程学报,2009,9(6):1242-1248.
- [4] 李若慧,叶 晓,程艳玲. 壳聚糖絮凝微藻富集的研究进展[J]. 安徽农业科学,2012,40(3):1626-1628.
- [5] 杨宇民,马振祥,尹继成,等. 系列水溶性壳聚糖衍生物的抑菌性能研究[J]. 中国公共卫生,2005,21(9):1080-1081.
- [6] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京:中国农业出版社,1995:33-71.
- [7] 翟 玥,杨 哲,安 阳,等. 壳聚糖凝聚去除景观水中微囊藻的研究[J]. 净水技术,2009,28(6):58-60,68.
- [8] 赵 培,王雪青,宋文军,等. Isochrysis Galbana 8701 的壳聚糖复配碱液自絮凝富集条件的选择[J]. 天津师范大学学报:自然科学版,2010,30(4):59-62.