

以模擬移動床(SMB)連續純化蕨藻中蕨藻紅素(caulerpin) 技術可行性研究

賴昱劭^a、林淑芬^a、梁克源^a、黃柏文^b、張簡國平^{a,c*}

^a 正修科技大學超微量研究科技中心

^b 正修科技大學機械工程系

^c 正修科技大學化妝品與時尚彩妝系

*通訊作者 E-mail: guoping@gcloud.csu.edu.tw, Tel: +886-7735-8800

摘要

蕨藻(caulerpa)，例如：海葡萄或總狀蕨藻，內含豐富蕨藻紅素(caulerpin)，文獻指出此種物質有抗發炎、抗腫瘤、抗結核、及植物生長調節功能。本研究擬建立自幾種蕨藻經冷凍乾燥成品以超音波萃取物一套可以自動純化蕨藻紅素技術。由於目前標準品廠商皆無販售可供分析之蕨藻紅素標準品，若想發展蕨藻紅素勢必要開發出一套能夠信賴的定量分析系統，才能建立後續操作各種參數。

本研究主要分為兩大部分，第一部分著重於發展一套自動化提取蕨藻紅素標準品的方法，以取代傳統的矽膠管柱純化方式以提取出天然物單一成分之方法，純化之蕨藻紅素以傅立葉紅外線光譜儀(FT-IR)、核磁共振光譜儀(NMR)、液相串聯質譜儀(LC/MS/MS)分別確認純化成品之化學構造、分子量、及純度，此方法可節省空間、人力、溶劑等耗材，既環保且相當彈性方法，本方法將來亦可用於其它天然物中單一成分無法取得標準品方法。第二部分嘗試以模擬移動床進行蕨藻紅素純化的操作參數探討，例如：管柱充填材料(C8、C18、矽膠)，移動相溶劑之種類、組成、流量，天然物萃出物之濃度、進料流量，萃取相及萃餘相流量，管柱切換時間等操作參數進行探討。以建立自動化、連續進料、及連續出料商業化生產模式。

關鍵詞：總狀蕨藻、海葡萄、蕨藻紅素、純化、模擬移動床



The study of purification the caulerpin from the sea grape (caulerpa) by using the Simulated moving bed (SMB) system

Yu-Shao Lai¹, Su-Fan Lin¹, Ko-Yuan Liang¹, Bo-Wun Huang²,
Guo-Ping Chang-Chien^{1,3*}

¹ Super Micro Mass Research and Technology Center, Cheng Shiu University

² Department of Mechanical Engineering, Cheng Shiu University

³ Department of Cosmetics and Fashion Styling, Cheng Shiu University

*Corresponding author. E-mail: guoping@gcloud.csu.edu.tw, Tel: +886-7735-8800

Abstract

Caulerpa, such as *Coccoloba uvifera* and *Caulerpa racemosa*, is reported to be rich in caulerpin. They have several benefits to human and plant, including anti-inflammatory, antitumor, anti-tuberculosis, and regulation of growth. The major goal of this study is to setup an autotechnical procedure of ultrasonic extraction and purification for effectively collecting the active ingredients (caulerpin) in several kinds of freeze dried *Caulerpa* powders. Additionally, there are no commercial standard solution for caulerpin analysis, and it have to be produced by a reliable process, as well as an analytical quantitation technique.

This research will be accomplished by two stages. The main purpose in the first stage is to develop an auto-technical procedure for extracting the standard solution of caulerpin, and further replace the traditional extraction-purification processes for extracting a single natural ingredient by a prepacked silica gel column elution. The purified caulerpin solution were identified by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), Nuclear magnetic resonance (NMR), Liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS-MS) for its chemical structure, molecular weight, and purity. The above method is expected to significantly save working space, man-hour, and solvent consumption. This environmentally friendly and highly flexible procedure could become a novel method to extract the other single natural ingredient with high purity. The second part of this research try to use a simulated moving bed (SMB) system to modify and optimize the operation parameter for caulerpin extraction and purification. For example, the packing materials (C8, C18, and silica gel), solutions, their composition, and mass flowrate for mobile phase, concentration of natural extract, flowrate of feed stock, extraction, and raffinate phases, and the timing of column switching in extraction processes. Finally, an automatically continuously feeding and producing commercialized production model will be demonstrated in the end of this project.

Keywords : *Caulerpa racemose*, *Caulerpa lentillifera*, caulerpin, marine drugs, simulated moving bed



一、緒論

地球的總面積中，海洋就佔了 70%，海洋中擁有最豐富的資源，台灣四面環海，在先天的條件優勢下，台灣所能使用的海洋資源相當龐大，無論是魚蝦貝類等食物或是石油天然氣等礦產，能開發的來源相當充足；在海洋中龐大的食物鏈裡底層的藻類就成為了魚蝦的食物，為了因應巨量魚蝦的進食，這些藻類發展出一些機制，讓自身體內會生成激素讓自己快速繁殖而不會被吞蝕殆盡，因此海藻的生長速度相較於陸生植物為快。

海藻的利用上不僅止於實用的加值，也能用於土壤肥料、家畜飼料添加物、化妝品、功能性食品或是藥物，文獻指出海藻具有提高免疫力、預防高血壓、降血脂、抗老化、抗癌及抗發炎等功效[1-3]。因此若是能自海藻提取並純化某些具有特定功效之成分，作為保健食品或是藥物，可進一步提高海藻的利用及國人健康。

二、文獻探討

2.1 蕨藻紅素

蕨藻(caulerpa)，例如：海葡萄或總狀蕨藻，內含豐富蕨藻紅素(caulerpin)，文獻指出此種物質有抗發炎、抗腫瘤、抗結核、及植物生長調節功能。瑞士 MDPI 機構所成立的期刊 *Marine Drugs* 為專門發表海洋天然物治療藥物研究，Güven 對於生物鹼(alkaloid)做了詳細的描述[4]，生物鹼由 Meissner 於 1819 年提出，用來描述在植物中發現的鹼性化合物[5]，將生物鹼分離後，所得到的純化物質能用於醫療用途上，但現今已知的生物鹼中，大部分存在於陸生植物中，很少出現在海藻裡；Hordenine 則是第一個從海藻中提取出的生物鹼[6,7]，可用於緩解支氣管炎和支氣管哮喘，及增強子宮的緊張合運動。Güven 將海藻生物鹼主要分為三類：1. 苯乙胺(Phenylethylamine)生物鹼、2. 吲哚和鹵代吲哚(Indole and halogenated indole)生物鹼、3. 其他生物鹼，苯乙胺生物鹼是許多天然或合成化合物的前驅物，包含苯胺(phenylamine)：酪胺(tyramine)、Hordenine，兒茶酚胺(catecholamine)：多巴胺(dopamine)，但兒茶酚胺是在陸生植物及動物中被發現；吲哚生物鹼包含蕨藻紅素(caulerpin)、caulersin、fragilamide、martensine、martefragine、denticine 和 almazolone；鹵代吲哚生物鹼僅存在於海藻或海洋生物中，且大部分是由紅藻中提取出來，只有一種是從綠藻中取得；而研究中主要探討的是蕨藻紅素屬於吲哚生物鹼，其存在於蕨藻屬的海藻中。

Marine Drugs 中有幾項研究指出蕨藻紅素能夠有效的抗發炎[8]及抗結核[9]；研究文獻中指出蕨藻紅素能有效降低疼痛及發炎反應，能有效減少百分之四十八的發炎細胞；另外蕨藻紅素也展現出抑制結核病的生長，文中指出蕨藻紅素能有效抑制結核病菌達百分之七十以上，但其機制仍需再研究。

2.2 傳統分離純化技術與模擬移動床分離技術

一般傳統的純化方法是利用大型矽膠管柱執行，所以需要較大的擺放空間及人員操作的地方；而在執行的過程中需要人力去一步步進行操作，消耗大量的人力成本；另外在溶劑的選擇方面會使用到大量的有機溶劑，如果殘留於產品中對於人體可能會有危害，所產生的廢液也會汙染到環境不易處理；更重要的是所純化的產品還不一定純度相當高。

另外現今亦有利用高速逆流色譜分離技術[10]，此方法藉由兩互不相溶之溶劑不斷混合，因



標的物在兩溶劑中溶解度、分配度不同，使的標的物得以分離；上述方式雖然能夠將產品的純度大幅度的提高，但需要較多種類溶劑並且需要配合執行純化的標的物去選擇溶劑，會有選擇不易、溶劑毒性汙染及溶劑回收的問題。

國外化學工業界或製藥產業有在使用模擬移動床的多年經驗，UOP 在 1960 年代首先成功開發模擬移動床技術，並將之應用於石油煉製業從事 C8 等的分離。1970 年代，Calgon Carbon 公司將模擬移動床應用在葡萄糖與果糖的分離上。直到 1993 年，法國 Separex 公司採用多孔閥，克服了尺寸縮小後所遭遇的死角體積問題順利將模擬移動床的生產規模縮小，並應用在醫藥分離上。早期模擬移動床在醫藥的應用為異構物分離以及光學分割等，而研究的重點則是製程模擬與自動化技術，最近兩年的研究則是如何將模擬移動床技術應用於蛋白質的純化。模擬移動床在醫藥業的設備規模，一般在 100~10,000 kg/y 之間。依據文獻指出，2005 年時全球 API 產業估計每年大約有 1500 噸的產品或中間原料使用了模擬移動床技術進行分離或純化[11]。

模擬移動床主要基於下述原理，當注入含有 A B 兩種成分的進料，於一個模擬向左流動的固體吸附劑後，兩物質被由左往右流動的移動相沖提，其中滯留性強的 B 將會被固體吸附劑往左帶，而滯留性弱的 A 將會隨流動相往右移動；藉由此特性能夠最有效率的利用每一區塊的固體吸附劑，達到連續進樣的目的，如圖 1。

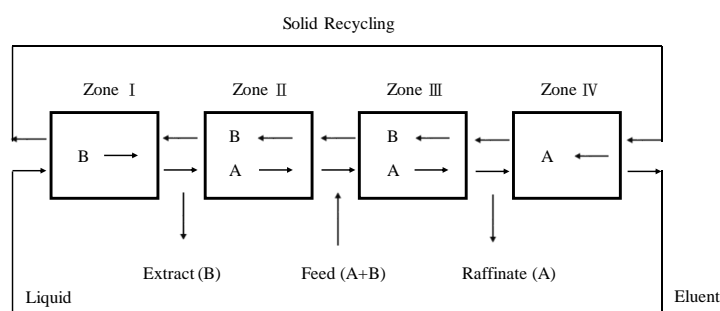


圖 1 模擬移動床分離純化雙成分物質示意圖

因此，如何讓固體的吸附劑能與液體移動相互相逆流，是模擬移動床關鍵的技術所在。模擬移動床將固體吸附劑分成 4 個區塊，各區塊的功能依序為：第一區利用乾淨的移動相清洗固定相、第二區攜帶滯留性強的 B 之固定相、第三區攜帶滯留性弱的 A 之固定相、第四區利用乾淨的固定相清洗移動相。模擬移動床就是利用許多的切換閥件，於各區塊間進行切換控制，藉此達到模擬固體吸附劑與移動相逆流的效果，導致不同滯留強度的溶質產生分離。所以想將 A 和 B 進行分離，模擬移動床的關鍵理論「三角形理論」就非常重要。三角形理論是 TMB 數學模型中重要的一個理論，可以用於模擬移動床的流速設定以及管柱切換時間的估算，要完成三角理論的數學模型，就要先完成模擬移動床中，管柱的孔隙度 ϵ 以及物質 A 及 B 在固定相中等溫吸附亨利常數 K_A 及 K_B [12-18]，如式(1)及式(2)



$$\varepsilon = \frac{t_0 Q}{V} \quad (1)$$

$$K_i = \frac{t_i^R - t_0}{t_0} \frac{\varepsilon}{(1-\varepsilon)} \quad (i = A, B) \quad (2)$$

在三角理論中 K_A 及 K_B 必須滿足下列關係式[19,20]:

$$K_A \leq m_1 \quad (3)$$

$$K_B < m_2 \leq K_A \quad (4)$$

$$K_B \leq m_3 \leq K_A \quad (5)$$

$$m_4 \leq K_B \quad (6)$$

其中 $m_1 \sim m_4$ 為四區塊的流速比，其定義如下:

$$m_j = \frac{Q_j^{SMB} t^* - V\varepsilon}{V(1-\varepsilon)} \quad (j = 1, \dots, 4) \quad (7)$$

其中 Q 為各區塊移動相流速， t 為切換時間， V 為固定相體積。由式(3)~(6)可繪製出三角理論中可操作的範圍，如圖 2 所示。最後只要將閥件切換時間、移動相流速及 Feed 流速進行數值擬合，即可確認最終的操作條件，將物質 A 及 B 分離純化。

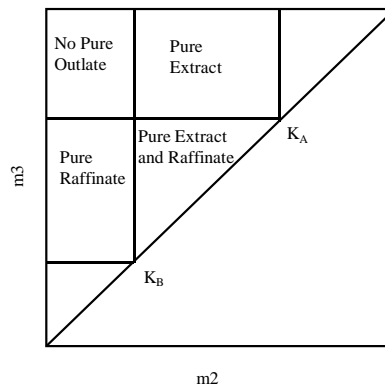


圖 2 三角理論可操作條件範圍

三、研究目的與方法

3.1 研究目的

本研究第一階段目標是利用一套層析系統及分液收集器，將藻類萃取混合物，以少量批次式的方式分離，最終獲得高純度的蕨藻紅素。由於該批次是分離設備具有 1.所需執行空間小、2.產品乾淨零汙染可用於食品上、3.降低操作人員的工作量及 4.能讓一般中小型企業方便取得之設備等優點，很適合用來製作少量的蕨藻紅素標準品。在純化完成後，進行 NMR、FT-IR 及質譜質量鑑定，確認此方法所提取出的化合物為蕨藻紅素。

第二階段則是以模擬移動床連續分離純化的方式，讓高純度之蕨藻紅素工業化量產，相較於第一階段批次式的分離方式，產量可以提高許多，由於模擬移動床的操作相對複雜，因此仍需第



一階段所分離出來的蕨藻紅素，用於各條件參數的計算及擬合，以利後續模擬移動床操作設定。

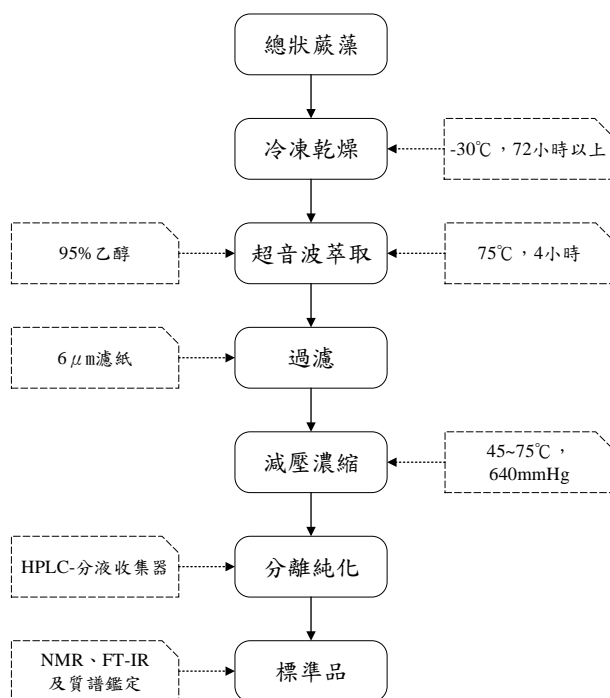


圖 3 總狀蕨藻萃取及蕨藻紅素標準品研究流程圖

表 1 總狀蕨藻粗萃物於 HPLC 梯度分析條件

時間 min	流速(mL/min)	移動相濃度參數	
		乙醇 A(%)	水 B(%)
0.0	0.75	10	90
15.0	0.75	90	10
15.1	0.75	10	90
22.0	0.75	10	90

分析管柱：phenomenex luna C18, 5 μ m, 4.6mm \times 250mm
 恆溫溫度：25 $^{\circ}$ C
 檢測波長：315nm

3.2 研究方法

3.2.1 第一階段

本研究第一階段的研究流程如圖 3 所示，其流程分述如下：

1. 將總狀蕨藻平鋪於冷凍乾燥盤，置於冷凍櫃中預冷至-30 $^{\circ}$ C。
2. 取出預冷至-30 $^{\circ}$ C之總狀蕨藻，放置於冷凍乾燥機內，於-30 $^{\circ}$ C冷凍乾燥 72 小時以上。
3. 將冷凍乾燥之總狀蕨藻，加入 95%乙醇 30L，以 75 $^{\circ}$ C震盪 4 小時。
4. 以 ADVANTEC No.1(6 μ m)濾紙過濾殘渣，獲得總狀蕨藻乙醇粗萃液。
5. 將總狀蕨藻乙醇粗萃液，置入旋轉蒸發儀進行減壓濃縮，以去除乙醇及水分，真空度為 640mmHg，溫度由最初 45 $^{\circ}$ C 去除大部分乙醇後，再逐步調整至 75 $^{\circ}$ C 以去除水分。
6. 將減壓濃縮完成後的總狀蕨藻粗萃物，取 0.5g 加入 95%乙醇 5mL，經離心過濾後，取 100 μ L



注入 HPLC 梯度分析，分析條件如表 1，並以分液收集器收集各主要波峰之物質。

7. 以 HPLC-MS 分析分液收集器所收集各波峰之成分，以確認蕨藻紅素滯留時間。
8. 確認蕨藻紅素於 HPLC 滯留時間，以分液收集器大量收集蕨藻紅素，製作標準品。
9. 大量收集的蕨藻紅素標準品，再次以 NMR、FTIR 及質譜鑑定其中成分。
10. 將蕨藻紅素標準品，以不同濃度，注入 HPLC，製作檢量線。

3.2.2 第二階段

本研究第二階段的研究流程如圖 4 所示，其流程分述如下：

1. 將總狀蕨藻粗萃物 7.5g 溶解在 500mL 乙醇水溶液(95%乙醇(V)：去離子水(V)=80：20)。
2. 將溶解後之溶液過濾後，取 1 mL 注入連接模擬移動床管柱之 HPLC 進行分析，得到蕨藻紅素濃度及層析圖譜，確認蕨藻紅素在模擬移動床管柱的滯留時間，計算亨利常數 K_A 及 K_B 。
3. 取 1g 硝酸鈉以水定量至 1L，配製 1000mg/L 之硝酸鈉水溶液，注入連接模擬移動床管柱之 HPLC，並以 0.5、1、1.5、2、3、5 及 7 mL/min，分析管柱之孔隙度 ϵ 。
4. 以步驟 3 及 4 所獲得之孔隙度及亨利常數，進行模擬移動床三角理論的數值擬合，以求得模擬移動床管柱切換時間及各出入口流量。
5. 根據步驟 4 所求得的數值，將步驟 1 所配製之總狀蕨藻粗萃物溶液泵入模擬移動床試做。
6. 將步驟 5 模擬移動床試做所收集到萃取端(Extract)及萃於端(Raffinate)之分離溶液進行 HPLC 分析。
7. 根據試做及擬合的結果，評估放大產量的數值。

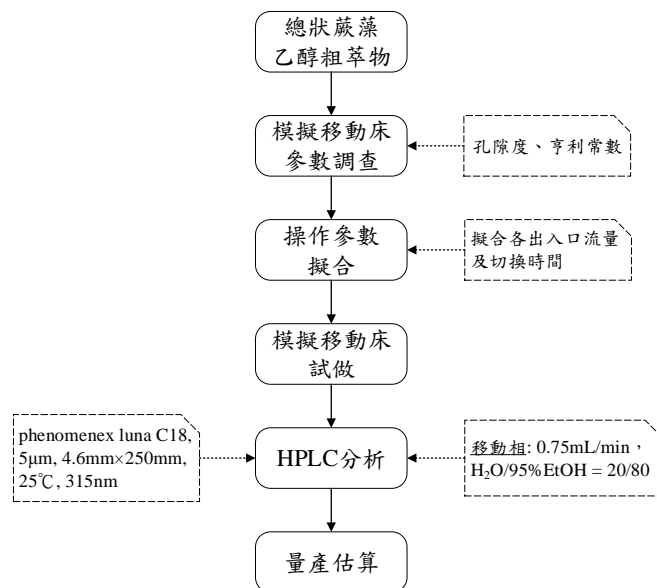


圖 4 模擬移動床純化蕨藻紅素研究流程圖



四、結果與討論

4.1 總狀蕨藻萃取

研究中用來提純蕨藻紅素的原料總狀蕨藻共 4900g，經-30℃及 72 小時冷凍乾燥後，再以 95% 乙醇做為萃取溶劑經超音波萃取、過濾及減壓濃縮後獲得總狀蕨藻粗萃物共 116g，萃出率約為 0.317，如表 2 所示。

表 2 總狀蕨藻含水率及萃出率

項目	總狀蕨藻
樣品濕重(g)	4900
樣品乾重(g)	366
含水率 ^a	0.925
萃出重(g)	116
萃出率 ^b	0.317
^a 含水率=(樣品濕重-樣品乾重)/樣品濕重	
^b 萃出率=萃出重/樣品乾重	

4.2 標準品鑑定及蕨藻紅素檢量線

總狀蕨藻粗萃物溶液經 HPLC-分液收集器分離，所收集到的溶液，大約在 HPLC 滯留時間 17.5min，如圖 5。在質譜儀分析扣除正電荷離子後，其分子量為 398，如圖 6，符合蕨藻紅素的分子量[21]。為了進一步該確認蕨藻紅素標準品結構是否符合蕨藻紅素的分子構型，如圖 7(a)，也同步進了 FTIR 及 NMR 分析。在圖 7(c)，FTIR 分析上，可以確認出 1600cm⁻¹ 至 1700cm⁻¹ 有芳香族系統結合羰基官能團的存在，符合圖 7(a)中結構式。在圖 7(b)，NMR 分析上也可以同步確認，在 δ7 至 9 PPM 處，有芳香烴及異芳香烴的存在，符合圖 7(a)中結構式。因此，確認在 HPLC 滯留時間 17.5min 時，所收集的液體，為蕨藻紅素。

本研究為了後續模擬移動床試做之濃度分析及檢測，將 HPCL 純化出之標準品，依不同濃度及 HPLC 波峰面積製作成檢量線，並求得換算公式，如圖 8 所示。

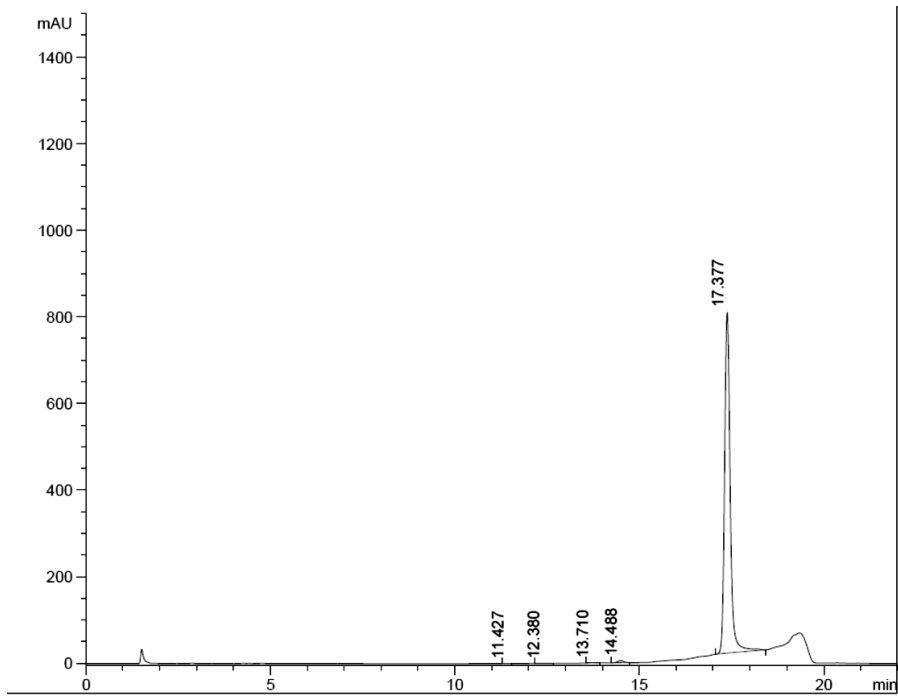
4.3 模擬移動床參數調查及試做結果

4.3.1 單一管柱測試

進行單一管柱測試時，選用 Welch Ultimate AQ - C18 作為固定相，同時選擇乙醇(EtOH)與水(H₂O)的混合溶液作為移動相，調查不同體積比例的 95% 乙醇與水對層析分離海葡萄樣品的影響。研究採用的層析管柱規格為 1.0 x 25 cm 的不銹鋼管柱，並以 UV 315 nm 波長作為層析的檢測儀器，流速設定為 3.0 mL/min。圖 9 為不同比例的 95% 乙醇/水作為移動相時，海葡萄樣品的層析流出圖譜，圖 10 為海葡萄樣品與 Caulerpin 在移動相 95%EtOH/H₂O=80/20 比對之層析圖譜。

從圖 9 中可以發現乙醇與水的體積比例為 80/20 時，已具備分離效果，乙醇與水的體積比例為 70/30 與 60/40 時，分離效果有顯著提高，但是在模擬移動床設計上切換時間過長。因此後續的模擬移動床分離確定採用 95% 乙醇/水的體積比為 80/20 的混合溶液，比較符合實驗效益。





=====
Customized Report: (None)
=====

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Thu, 25. May. 2017,03:21:38 pm
Multiplier : 1.000000
Dilution : 1.000000
Uncalibrated Peaks : not reported

Signal 1: DAD1 A, Sig=315,16 Ref=360,100

Amount [ug/ml]	Peak #	RT [min]	Type	Width [min]	Area	Area %	Name
0.000	1	11.427	MM	0.110	1.181	0.014	
0.000	2	12.380	MM	0.264	4.143	0.049	
0.000	3	13.710	MM	0.196	11.355	0.134	
0.000	4	14.488	MM	0.195	57.530	0.681	
0.000	5	17.377	MM	0.177	8374.900	99.122	

圖 5 蕨藻紅素標準品 HPLC 圖譜



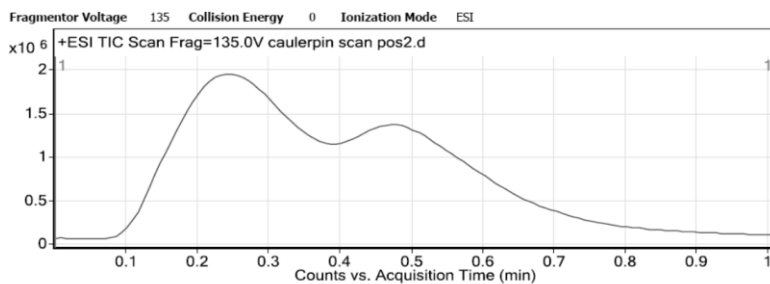
Qualitative Analysis Report

(a)

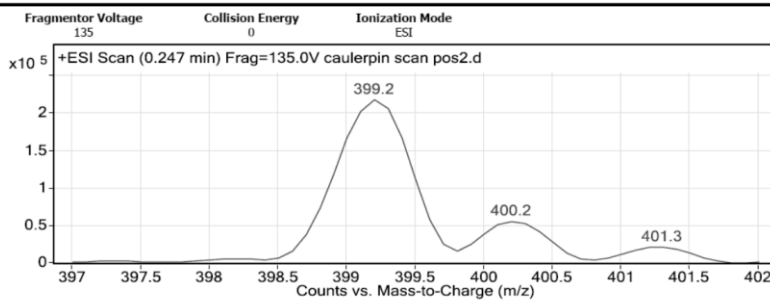
Data Filename	caulerpin scan pos2.d	Sample Name	caulerpin scan pos
Sample Type	Sample	Position	Vial 11
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS scan pos.m	Acquired Time	7/18/2017 4:16:46 PM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	Default.m
Comment			

Sample Group **Info.**

User Chromatograms



User Spectra



Peak List

m/z	z	Abund
399.2	1	219289
400.2	1	56768.7
401.3	1	22166.6

(b)

Project Name: 20170804
Instrument Name: Instrument 1
Instrument Model: G6410B

Compound Name	Formula	Mass	Sample Position
Caulerpin		398	Vial 1

Method Name	Polarity	Ion Source
D:\MassHunter\Methods\Find condition.m	Positive	ESI

Precursor Ion	Fragmentor	Product Ion	Collision Energy	Abundance
399.01	¹ 145	367.1	¹³	³ 35643
399.01	¹ 145	280.1	⁴¹	¹ 12403
399.01	¹ 145	279.1	⁴⁹	¹ 15023
399.01	¹ 145	293	³⁷	¹ 13089

圖 6 (a)純化物質質譜分析; (b)純化物質特徵離子碎片



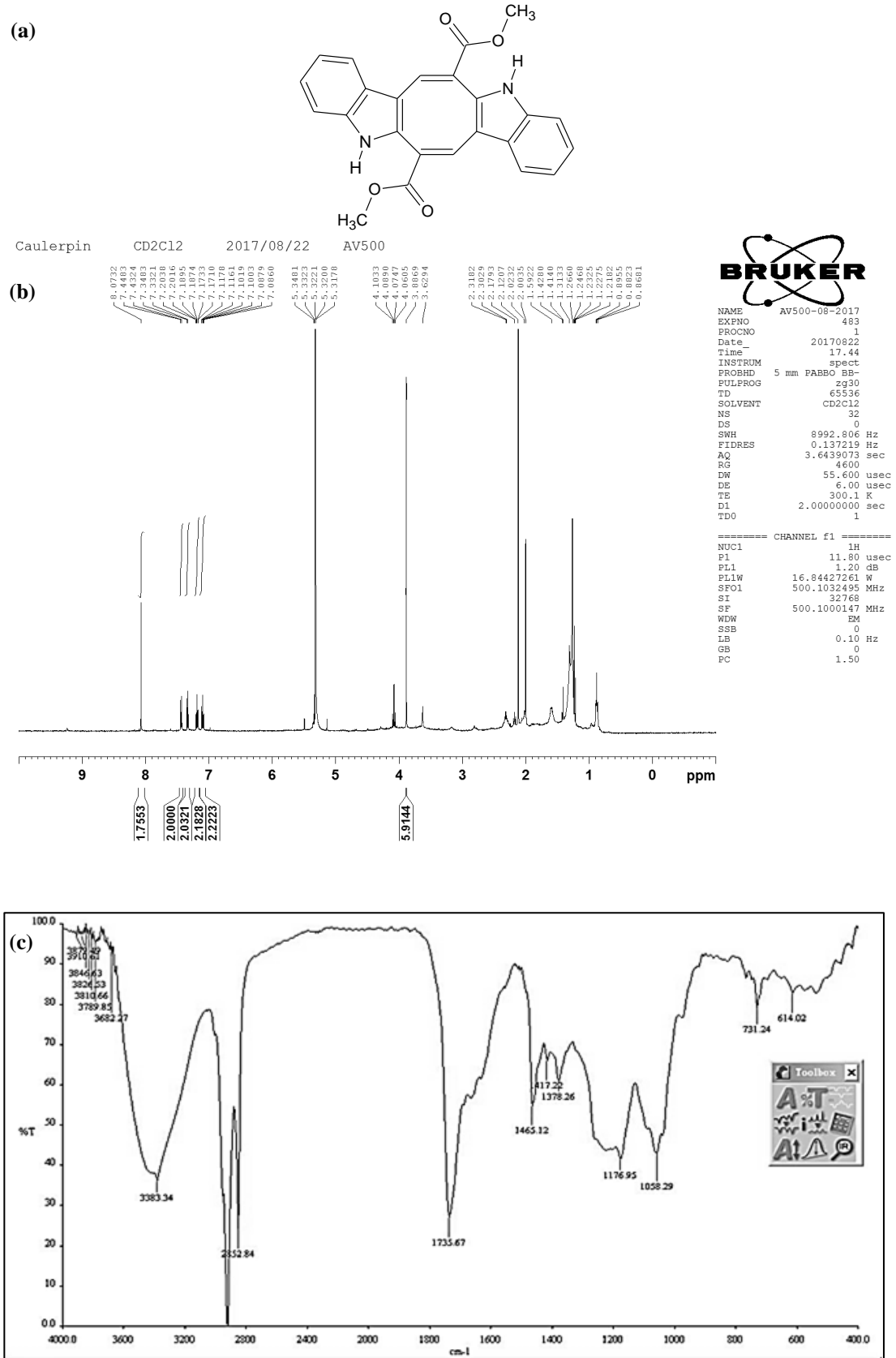


圖 7 蕨藻紅素(Caulerpin)標準品之 (a)結構式；(b)NMR 分析；(c)FTIR 分析



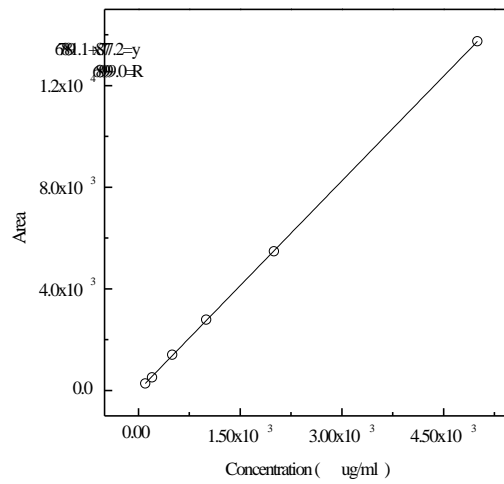


圖 8 蕨藻紅素檢量線

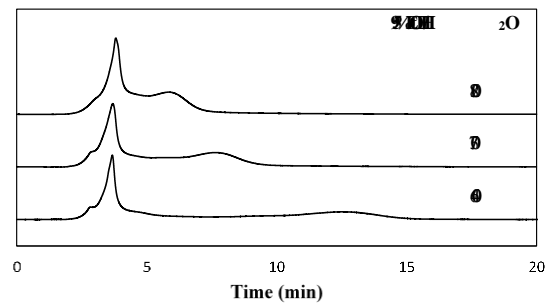
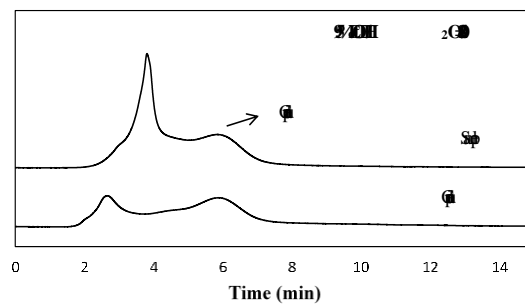


圖 9 單一管柱層析圖譜

圖 10 海葡萄樣品與 Caulerpin 在移動相 95%EtOH/H₂O=80/20 比對之層析譜圖

4.3.2 模擬移動床組態設計

模擬移動床層析技術 (SMB) 是通過定期改變進料和洗脫液進口以及各產品出口的位置，以模擬固定相相對於移動相的逆向接觸。本研究所使用的模擬移動床為三區段的開放式迴路設計，並簡寫其組態為 2/2/2，如圖 11 所示，圖示中共有兩個入料口，進料 (Feed) 與移動相 (Desorbent)，



以及兩個出料口，萃出液(Extract)與萃餘液(Raffinate)。

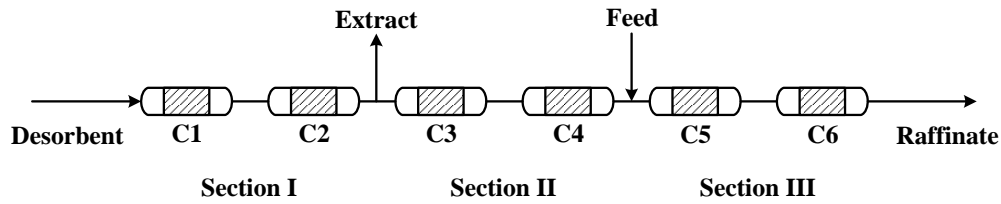


圖 11 模擬移動床組態設計圖

4.3.3 模擬移動床實驗與結果

模擬移動床試做，需先調查使用管柱之參數，再配合三角理論獲得流速設定以及模擬移動床切換時間。研究中所使用的管柱尺寸為 I.D.10 mm x 250 mm，填料為 Welch Ultimate AQ - C18。根據單一管柱的實驗結果，可以獲得管柱的孔隙度為 0.296， K_A 及 K_B 分別為 0.545 及 0.860。根據孔隙度及亨利常數的數值，可利用三角形理論擬合模擬移動床實驗操作條件，如圖 12。所設定的流速條件分別為：移動相(Desorbent) 7.5 mL/min；進料(Feed) 0.3 mL/min；萃出液(Extract) 4.4 mL/min；萃餘液(Raffinate) 3.4 mL/min，切換時間分別為 3.5、4、4.5、5 及 5.5 分鐘。為了確認擬合的數值，研究中在固定各出入口的流速條件下，進行不同切換時間的實驗，然後觀察模擬移動床兩個出口端的 HPLC 圖譜變化如圖 13。

根據不同時間的切換結果可知，切換時間由 3 分 15 秒逐漸改變為 4 分 30 秒時，萃出端的雜質逐漸降低，但當切換時間分別為 4 分鐘 30 秒時開始有部分蕨藻紅素被帶到了萃出端，萃餘端蕨藻紅素的波峰開始縮小。若縮短切換時間至 4 分 15 秒時，蕨藻紅素大部分從萃出端中脫附，而且海葡萄中其他雜質也開始從萃餘端洗脫而出，萃出端的溶液經分析蕨藻紅素純度達 96%，因此 4 分 15 秒為模擬移動床最佳的切換時間。

4.3.4 產量放大估算

在利用模擬移動床分離純化天然物時，假如有放大製程的需求，可以利用三角理論很輕易的將製程設備條件放大，若是每日需處理 0.5kg 總狀蕨藻粗萃物，則進料(Feed)需調整為 23 mL/min；移動相(Desorbent) 250 mL/min；萃出液(Extract) 160 mL/min；萃餘液(Raffinat) 113 mL/min，切換時間約為 4.5min，管柱改為 50mm x 300mm 的管柱，此時蕨藻紅素年產約 10kg，放大估算之三角理論數值擬合如圖 14(a)。若是蕨藻紅素年產量要提高為 50kg，需將條件改為移動相(Desorbent) 1350 mL/min；進料(Feed) 115 mL/min；萃出液(Extract) 800 mL/min；萃餘液(Raffinat) 665 mL/min，切換時間約為 4.5min，管柱改為 10mm x 450mm 的管柱，放大估算之三角理論數值擬合如圖 14(b)。



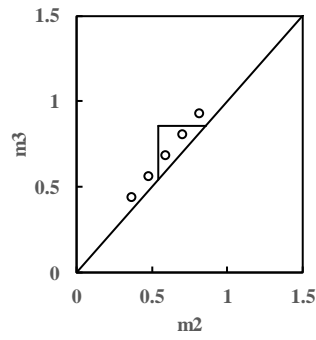


圖 12 模擬移動床三角理論擬合圖

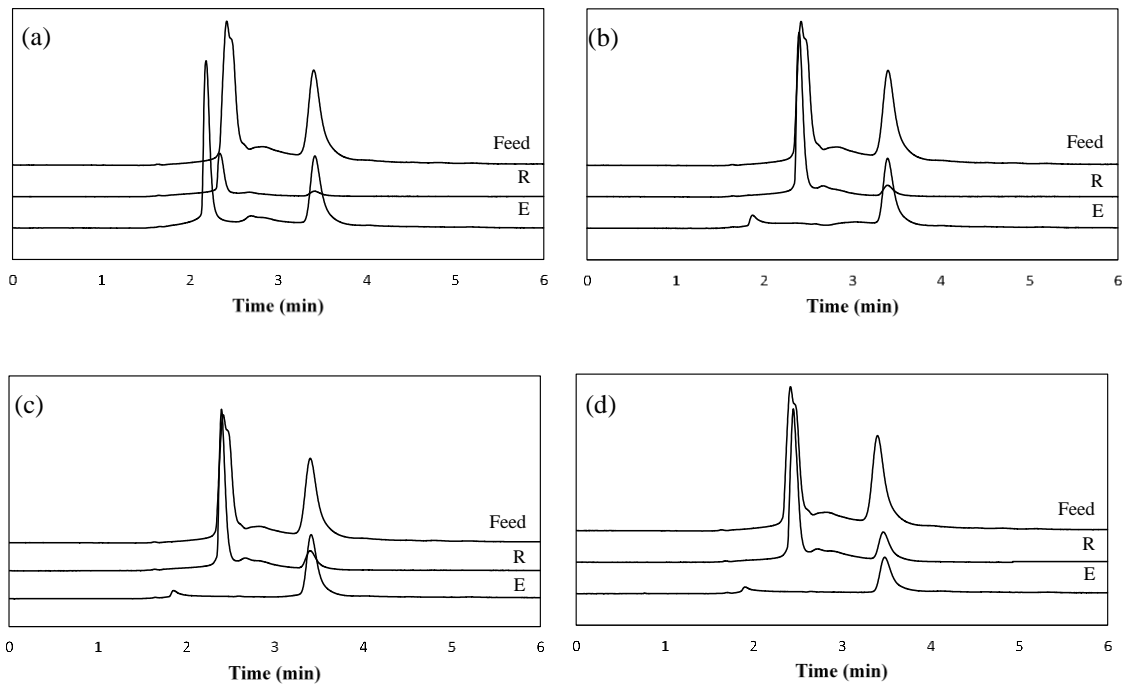


圖 13 模擬移動床於切換時間為(a) 3 分鐘 15 秒；(b) 3 分鐘 45 秒；(c) 4 分鐘 15 秒；(d) 4 分鐘 30 秒之結果(訊號皆放大 10 倍)。

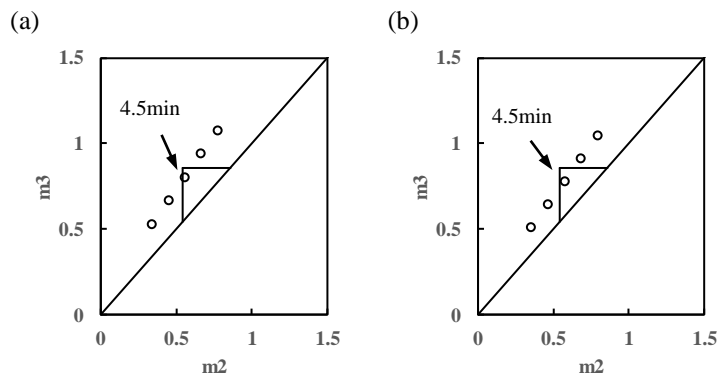


圖 14 放大估算三角理論圖(a)每日處理 0.5kg 總狀蕨藻粗萃物；(b)蕨藻紅素年產量 50kg



五、結論

本研究主要以模擬移動床連續純化蕨藻中蕨藻紅素並進行放大估算，可獲致以下結論

1. 總狀蕨藻經冷凍乾燥處理後，再以超音波乙醇萃取，萃出率可達 0.317。
2. 蕨藻紅素之標準品，可以透過 HPLC 及分液收集器自總狀蕨藻粗萃物分離出來，純度可達 99%。
3. 蕨藻紅素標準品經質譜分析分子量為 398，經 FTIR 及 NMR 分析，確定具有蕨藻紅素之環狀芳香烴及異芳香烴的結構存在。
4. 使用 I.D.10 mm x 250 mm，填料為 Welch Ultimate AQ - C18，作為模擬移動床分離管柱時，流速分別為移動相(Desorbent) 7.5 mL/min；進料(Feed) 0.3 mL/min；萃出液(Extract) 4.4 mL/min；萃餘液(Raffinate) 3.4 mL/min，切換時間為 4 分 15 秒，為最適操作條件，蕨藻紅素純度可達約 96%。
5. 無論是日處理量或是年產量的放大估算，皆可以透過三角理論進行數值擬合估算所需要的設備規模大小。

致謝

感謝正修學校財團法人正修科技大學補助教師專題研究計畫(A 類)研究經費補助(計畫編號：180CA06)。

參考文獻

- [1] 姜橋、周德慶、孟憲軍、宮春波、姜文利、劉永紅，「我國食用海藻加工利用的現狀及問題」，食品與發酵工業，第31卷，第5期，pp. 68-72，2005。
- [2] 楊宜婷、岑穎洲、肇靜嫻、狄靜芳，「麒麟菜中蕨藻紅素抗腫瘤活性研究」，中國病理生理雜誌，第18卷，第7期，pp. 851-852，2002。
- [3] 吳倫秀、何庭玉、谷文祥、王金祥，「蕨藻紅素促進大豆插條不定根的形成」，植物生理學通訊，第46卷，第9期，pp. 895-901，2010。
- [4] Güven, K.C., Percot, A., and Sezik, E.J.M.D., "Alkaloids in marine algae," Mar. Drugs, Vol.8, No. 2, pp. 269-284, 2010.
- [5] Pelletier, S.W., "Chemistry of the Alkaloids," Van Nostrand Reinhold, 1970.
- [6] Güven, K.C., Bora, A., and Sunam, G., "Alkaloid content of marine algae. I," Hordenine from *Phyllophora nervosa*. Eczacılık Bul., Vol.11, pp. 177-184, 1969.
- [7] Güven, K.C., Bora, A., and Sunam, G., "Hordenine from the alga *Phyllophora nervosa*," Phytochemistry, Vol. 9, pp.1893, 1970.
- [8] Souza, E.T., Lira, D.P., Queiroz, A.C., Silva, D.J.C., Aquino, A.B., Campessato Nella, E.A., Lorenzo, V.P., Miranda, G.E.C., Araújo-Júnior, J.X., Oliveira Chavez, M.C., Barbosa-Filho, J.M., Athayde-Filho, P.F., Oliveira Santos, B.V., and Alexandre-Moreira, M.S., "The antinociceptive and anti-inflammatory activities of caulerpin, a bisindole alkaloid isolated from seaweeds of the genus *Caulerpa*," Mar. Drugs, Vol. 7, No. 4, pp. 689-704, 2009.



- [9] Chay, C., Cansino, R., Pinzón, C., Torres-Ochoa, R., and Martínez, R., "Synthesis and anti-tuberculosis activity of the marine natural product caulerpin and its analogues," *Mar. Drugs*, Vol.12, No.4, pp. 1757-1772, 2014.
- [10] 字敏、袁黎明、劉頻、艾萍、陳業高,「高速逆流色譜分離青葉膽中的生物鹼」, *林產化學與工業*, 第22卷, 第1期, pp. 74-76, 2002。
- [11] 梁明在,「模擬移動床在純化天然活性成份的應用」, *化工*, 第58卷, 第1期, pp.71-82, 2011。
- [12] 吳獻東、金曉明、蘇宏業,「基於 NSGA-II 的模擬移動床色譜分離過程多目標操作優化」, *化工學報*, 第58卷, 第8期, pp. 2038-2044, 2007。
- [13] 蔡宇傑、丁彥蕊、張大兵、戴軍、石貴陽、須文波,「模擬移動床色譜技術及其應用」, *色譜*, 第22卷, 第2期, pp. 111~115, 2004。
- [14] 李凌、井元偉、袁德成,「模擬移動床吸附分離技術及其應用」, *電腦與應用化學*, 第24卷, 第4期, pp. 441-444, 2007。
- [15] 萬紅貴、方煜宇、葉慧,「模擬移動床技術分離纈氨酸和丙氨酸」, *食品與發酵工業*, 第31卷, 第12期, pp. 50-53, 2005。
- [16] Liang, M.T., Liang, R.C., Huang, L.R., Liang, K.Y., Chien, Y.L., and Liao, J.Y., "Supercritical fluids as the desorbent for simulated moving bed—Application to the concentration of triterpenoids from *Taiwanofugus camphorate*," *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, Vol. 45, No. 4, pp. 1225-1232, 2014.
- [17] Denet, F., Hauck, W., Nicoud, R.M., Di Giovanni, O., Mazzotti, M., Jaubert, J.N., and Morbidelli, M., "Enantioseparation through Supercritical Fluid Simulated Moving Bed (SF-SMB) Chromatography," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol.40, No.21, pp. 4603-4609, 2001.
- [18] Rajendran, A., Paredes, G., and Mazzotti, M., "Simulated moving bed chromatography for the separation of enantiomers," *Journal of Chromatography A*, Vol.1216, No.4, pp. 709-738, 2009.
- [19] Pedferri, M., Zenoni, G., Mazzotti, M., and Morbidelli, M., "Experimental analysis of a chiral separation through simulated moving bed chromatography," *Chemical engineering science*, Vol.54, No.17, pp. 3735-3748, 1999.
- [20] Santos, M., Veredas, V., Silva Jr, I., Correia, C., Furlan, L., and Santana, C., "Simulated moving-bed adsorption for separation of racemic mixtures," *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol.21, No.1, pp.127-136, 2004.
- [21] Bhakuni, D.S., and Rawat, D.S., "Bioactive Marine Natural Products," *Springer Science & Business Media*, 2006.

