

分步酶解联合酸处理从卡拉胶工业废渣中同时回收卡拉胶寡糖和珍珠岩

蓝萌萌¹, 张曦文¹, 李志朋^{1,2}, 姜泽东^{1,2}, 倪辉^{1,2}, 李清彪^{1,2}, 朱艳冰^{1,2*}

(1. 集美大学海洋食品与生物工程学院, 福建厦门 361021)

(2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 厦门市食品生物工程技术研究中心, 福建厦门 361021)

摘要: 卡拉胶工业废渣通过垃圾填埋的方式处理, 不仅导致废渣中的卡拉胶寡糖和珍珠岩等资源浪费, 更造成了环境污染。为实现从卡拉胶工业废渣中回收卡拉胶寡糖和珍珠岩, 本研究采用响应面法优化 κ -卡拉胶酶水解 2 g 工业废渣的最佳酶解条件为: 液料比 57 mL·g⁻¹, 搅拌速度 500 r·min⁻¹, κ -卡拉胶酶添加量 20 U, 反应温度 41 °C, pH 值为 8.0 下反应 30 min。回收的酶解产物经液相色谱-质谱 (LC-MS) 鉴定为卡拉胶二糖和四糖。其次, 通过单因素试验优化纤维素酶水解 4 g 工业废渣的最佳酶解条件为: 液料比 40 mL·g⁻¹, 搅拌速度 500 r·min⁻¹, 纤维素酶添加量 200 U, 反应温度 50 °C, pH 值为 4.0 下反应 2 h。在此基础上, 利用单因素试验优化盐酸处理回收珍珠岩的最佳工艺条件为: 反应温度 90 °C, 0.2 mol·L⁻¹ 盐酸反应 2 h。上述条件下回收珍珠岩的渗透率为 7.36 Darcy, 堆积密度为 0.207 g·cm⁻³, 符合珍珠岩助滤剂的国家标准。综上所述, 分步酶解联合酸处理后回收的珍珠岩具有循环利用的潜力, 为基于酶技术综合利用海藻工业废渣提供理论支持和技术参考。

关键词: 卡拉胶工业废渣; 响应面法; 珍珠岩; 卡拉胶寡糖; 绿色回收

文章编号: 1673-9078(2026)06-75-85

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.1227

Stepwise Enzymatic Hydrolysis Combined with Acid Treatment for Simultaneous Carrageenan Oligosaccharide and Perlite Recovery from Carrageenan Industrial Waste Residues

LAN Mengmeng¹, ZHANG Xiwen¹, LI Zhipeng^{1,2}, JIANG Zedong^{1,2}, NI Hui^{1,2}, LI Qingbiao^{1,2}, ZHU Yanbing^{1,2*}

(1.College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

(2.Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering, Research Center of Food Biotechnology of Xiamen City, Xiamen 361021, China)

Abstract: The disposal of carrageenan industrial waste residues at landfill sites not only causes environmental pollution but also wastes valuable resources, such as the carrageenan oligosaccharides and perlite contained within the waste. To realize the recovery of carrageenan oligosaccharides and perlite from carrageenan industrial waste residues, response surface methodology was

引文格式:

蓝萌萌,张曦文,李志朋,等.分步酶解联合酸处理从卡拉胶工业废渣中同时回收卡拉胶寡糖和珍珠岩[J].现代食品科技, 2026,42(6):75-85.

LAN Mengmeng, ZHANG Xiwen, LI Zhipeng, et al. Stepwise enzymatic hydrolysis combined with acid treatment for simultaneous carrageenan oligosaccharide and perlite recovery from carrageenan industrial waste residues [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 75-85.

收稿日期: 2025-08-27; 修回日期: 2025-12-07; 接受日期: 2025-12-15

基金项目: 福建省科技计划高校产学研合作项目 (2024Y4008); 国家自然科学基金项目 (22178142)

作者简介: 蓝萌萌 (2001-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 生物化学与分子生物学, E-mail: 2237173489@qq.com

通讯作者: 朱艳冰 (1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 生物化学与分子生物学, E-mail: yanbingzhu@jmu.edu.cn

used to optimize the conditions for the enzymatic hydrolysis of 2 g of industrial waste residues using κ -carrageenase. The optimal conditions were determined to be as follows: liquid-to-solid ratio, $57 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$; stirring speed, $500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$; κ -carrageenase amount, 20 U; reaction temperature, 41°C ; pH, 8.0; and reaction time, 30 min. Using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), the recovered enzymatic products were identified as carrageenan disaccharides and tetrasaccharides. Additionally, single-factor experiments were performed to ascertain the optimal conditions for the cellulase hydrolysis of 4 g of industrial waste residues. These conditions were determined to be as follows: liquid-to-solid ratio, $40 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$; stirring speed, $500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$; cellulase amount, 200 U; reaction temperature, 50°C ; pH, 4.0; and reaction time, 2 h. On the basis of these findings, additional single-factor experiments were performed to determine the optimal process conditions for recovering perlite through hydrochloric acid treatment. These conditions were determined to be as follows: reaction temperature, 90°C ; hydrochloric acid concentration, $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; and reaction time, 2 h. Under these conditions, the recovered perlite exhibited a permeability of 7.36 Darcy and a bulk density of $0.207 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, meeting the national standard for perlite filter aids. In conclusion, the successful recovery of perlite via stepwise enzymatic hydrolysis combined with acid treatment demonstrates the potential for the recycling of carrageenan industrial waste. These findings provide theoretical support and a technical reference for realizing the comprehensive utilization of seaweed industrial waste residues by leveraging enzymatic technology.

Key words: carrageenan industrial waste residues; response surface methodology; perlite; carrageenan oligosaccharides; green recycling

卡拉胶 (Carrageenan) 是从红藻细胞壁中提取的一种由 1,3- β -D-吡喃半乳糖苷和 1,4- α -D-半乳糖苷交替连接的线性硫酸酯多糖^[1]。依据硫酸酯基团的数目和位置不同, 卡拉胶可分为 κ -, ι -和 λ -等不同类型^[2]。卡拉胶由于其优异的胶凝和化学稳定性, 被广泛应用于食品^[3]、生物制药^[4]和化妆品^[5]等行业。工业化生产 κ -卡拉胶通常采用碱提法^[6], 此过程中需要加入大量珍珠岩助滤剂帮助从海藻中提取卡拉胶, 而经板框压滤后产生了大量卡拉胶工业废渣。这些废渣除了珍珠岩助滤剂外, 主要由卡拉胶和纤维素组成^[7]。超过 70% 卡拉胶工业废渣通过垃圾填埋的方式处理, 少部分被用作植物栽培基质和肥料^[8]。工业废渣的填埋造成了严重的环境污染和资源浪费, 引起了人们对土壤侵蚀、渗滤液污染等问题的关注^[9]。因此, 利用绿色环保的方法处理卡拉胶工业废渣成为新的需求。

研究表明, 利用化学、发酵和微波方法可以将工业废渣中的红藻残渣转化为碳水化合物、生物燃料基质以及植物生长所需营养素和激素。其中, 化学法依赖大量化学试剂, 面临高水耗与能耗问题, 并可能引起二次污染^[10]。发酵法过程复杂, 能耗高, 需特定设施且耗水量大, 经济性差^[11]。微波法能效低, 设备成本高, 难以适配大规模工业废渣的连续处理, 且未涉及珍珠岩助滤剂的回收^[12]。珍珠岩作为一种惰性无机材料, 表面被硅氧烷基团覆盖, 具有多孔结构和高比表面积, 常被用作吸附剂与助滤剂。此外, 珍珠岩可在不影响其过滤性能的前提下被回收并加工再利

用^[13]。目前, 热处理助滤剂残渣仍是工业中回收珍珠岩的主要方法。Shih 等^[14]利用 200°C 热处理工艺有效去除了硅藻土废料中的纤维素组分。然而, 热处理卡拉胶工业废渣导致严重的空气污染, 不断推动研究人员寻找绿色环保的替代技术。卡拉胶寡糖是卡拉胶的降解产物, 具有抗氧化^[15]、降血脂^[16]、抗肿瘤^[17]、免疫调节^[18]等多种生物活性功能, 被广泛应用于医药、化妆品、农业食品等领域。因此, 从卡拉胶工业废渣中回收具有生物活性的卡拉胶寡糖和可重复利用的珍珠岩, 可实现资源高附加利用。

与传统的化学法相比, 酶解法具有能够特异性断裂多糖糖苷键、反应条件温和、生态友好等特点, 因此具有更好的应用可行性^[19]。Zhang 等^[20]通过构建 κ -卡拉胶酶截短体, 显著提高了卡拉胶寡糖的产量和制备效率。为实现从卡拉胶工业废渣中回收卡拉胶寡糖和珍珠岩, 本研究提出了一种基于分步酶解联合酸处理卡拉胶工业废渣的环保策略。相较于单一酶解法, 该策略可以有效去除珍珠岩助滤剂中的多糖组分。首先, 采用响应面法优化 κ -卡拉胶酶水解废渣的工艺参数, 以从中回收具有生物活性卡拉胶寡糖。在此基础上, 通过单因素试验进一步优化纤维素酶水解废渣中纤维素的工艺条件。两步酶解处理后, 利用单因素试验优化酸处理废渣的工艺参数, 以回收可重复使用的珍珠岩, 从而实现卡拉胶工业废渣的资源化利用, 为利用酶工程技术对海藻工业加工废弃物进行高值化转化提供理论依据与技术支撑。

1 材料与方法

1.1 原料

本实验室前期构建并保存了携带 κ -卡拉胶酶重组质粒 (pET-28a-car) 的 *Escherichia coli* BL21 (DE3) 工程菌株。纤维素酶 R-10 ($10\text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$), 购自日本东京 Yakult 公司。 κ -卡拉胶工业废渣, 取自福建绿麒食品胶体有限公司。珍珠岩, 购自河南中南过滤助剂有限公司。盐酸、Tris、十二水磷酸氢二钠、二水磷酸二氢钠等均为国产分析纯产品。

1.2 主要仪器

RE-52AA 型旋转蒸发仪, 上海申科仪器有限公司; TSQ Quantum LC-MS, 美国 Thermo Fisher 公司; Hitachi S-4800 场发射扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, SEM), 日本 HITACHI 公司; FTIR-8400S 傅立叶红外变换光谱仪 (Fourier-transform Infrared Spectroscopy, FT-IR), 日本 Shimadzu Scientific 公司; Axios mAX X 射线荧光光谱仪 (X-ray Fluorescence Spectrometer, XRF), 荷兰 Malvern Panalytical 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 κ -卡拉胶酶粗酶的制备

将含有假交替单胞菌 JMUZ2 κ -卡拉胶酶重组质粒的 *E.coli* BL21 工程菌株^[21]接种于含 $0.05\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 卡那霉素的 50 mL LB 液体培养基中, 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 震荡培养过夜, 制备种子液。将种子液按 1% (体积分数) 接种量转接至含相同浓度卡那霉素的 300 mL LB 液体培养基中, 在相同条件下继续培养至 OD_{600} 达到 $0.6\sim 0.8$ 时, 添加 IPTG 至终浓度 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并于 $16\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 诱导条件下培养 20 h 。发酵结束后, $8\text{ }000\times g$ 离心发酵液 10 min 收集菌体, 用 10 mL 缓冲液 ($50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaH}_2\text{PO}_4$ 、 $300\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 、 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 咪唑, pH 值为 8.0) 重悬菌体。菌悬液经冰浴超声破碎后, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\text{ }000\times g$ 离心 20 min , 收集上清液即得 κ -卡拉胶酶粗酶液。

1.3.2 κ -卡拉胶酶的活力测定

参照 Hong 等^[22]的方法测定 κ -卡拉胶酶的活力。还原糖含量利用 3,5-二硝基水杨酸法测定。 κ -卡拉胶酶活力单位 (U) 定义为在特定条件下每分钟生成 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 半乳糖所需的酶量。

1.3.3 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的单因素试验

以还原糖生成量为指标, 探究工业废渣中 κ -卡拉胶的消化情况。将 κ -卡拉胶工业废渣粉碎并过 80

目筛网后, 称取 2 g 溶解于 100 mL 磷酸钠缓冲液 ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 采用单因素试验在搅拌速度 $300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 加酶量 10 U , 反应温度 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 值 7.0 下水解 90 min , 优化酶水解过程中的液料比 (30 、 40 、 50 、 60 和 $70\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$); 在液料比 $60\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 加酶量 10 U , 反应温度 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 值 7.0 下水解 90 min , 优化酶水解过程中的搅拌速度 (300 、 400 、 500 、 600 和 $700\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$); 在搅拌速度 $500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 液料比 $60\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 反应温度 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 值 7.0 下水解 90 min , 优化酶水解过程中的加酶量 (0 、 10 、 20 、 30 和 40 U); 在搅拌速度 $500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 液料比 $60\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 加酶量 20 U , pH 值 7.0 下水解 90 min , 优化酶水解过程中的反应温度 (30 、 35 、 40 、 45 和 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$); 在搅拌速度 $500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 液料比 $60\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 加酶量 20 U , 反应温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下水解 90 min , 优化酶水解过程中的 pH 值 (7.0 、 7.5 、 8.0 、 8.5 和 9.0); 在搅拌速度 $500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 液料比 $60\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 加酶量 20 U , 反应温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 反应 pH 值 8.0 下, 优化酶水解过程中的反应时间 (30 、 60 、 90 、 120 和 150 min), 确定 κ -卡拉胶酶水解废渣的最佳工艺条件。

1.3.4 Box-Behnken响应面优化 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣试验

利用 Design Expert 10.0.7 软件, 以还原糖生成量为响应值, 采用 Box-Behnken 实验设计对反应温度、搅拌速度、液料比进行响应面三因素三水平优化试验, 具体的实验因素和水平参数设置见表 1。通过响应面分析获取酶水解最优工艺参数组合。

表 1 Box-Behnken响应面试验因素水平设计
Table 1 Factor level design for the Box-Behnken response surface methodology

水平	A 反应温度/ $^{\circ}\text{C}$	B 搅拌速度/ $(\text{r}\cdot\text{min}^{-1})$	C 液料比 ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)
-1	35	400	50
0	40	500	60
1	45	600	70

1.3.5 回收 κ -卡拉胶低聚糖的制备与分析

在最佳工艺条件下, 利用 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣。 κ -卡拉胶寡糖的制备与分析参考 Du 等^[23]的方法。反应结束 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭活后冷却至室温, 于 $6\text{ }000\times g$ 离心 5 min , 并取上清液于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 旋蒸浓缩至原体积的 $1/4$, 再经真空冷冻干燥即可得到回收 κ -卡拉胶低聚糖产物。酶解处理后的废渣放入烘箱烘干 24 h , 放入密封袋常温放置备用。将冻干后的 κ -卡拉胶低聚糖产物溶于超纯水中 ($1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔膜过滤后, 利用 LC-MS 分析产物的组成。LC 参数: 95% 流动相 A (超纯水) 和 5% 流动相 B (乙腈), 进样量 $5\text{ }\mu\text{L}$,

柱温 30 ℃, 梯度洗脱 20 min。MS 条件: 电喷雾离子源, 负离子电离模式, 质量扫描范围: 50~1 000 u。

1.3.6 纤维素酶水解卡拉胶工业废渣的单因素试验

经 κ -卡拉胶酶处理后, 利用纤维素酶水解工业废渣。以还原糖生成量为指标, 探究工业废渣中纤维素的消化情况。精确称取 4 g 经 κ -卡拉胶酶水解后的工业废渣, 溶解于 100 mL 50 mmol·L⁻¹ 柠檬酸缓冲液 (pH 值为 4.0), 采用单因素试验在搅拌速度 300 r·min⁻¹, 加酶量 150 U, 反应温度 40 ℃, pH 值 3.0 下水解 90 min, 优化酶水解过程中的液料比 (30、40、50、60 和 70 mL·g⁻¹); 在液料比 40 mL·g⁻¹, 加酶量 150 U, 反应温度 30 ℃, pH 值 7.0 下水解 90 min, 优化酶水解过程中的搅拌速度 (300、400、500、600 和 700 r·min⁻¹); 在搅拌速度 500 r·min⁻¹, 液料比 40 mL·g⁻¹, 反应温度 30 ℃, pH 值 7.0 下水解 90 min, 优化酶水解过程中的加酶量 (50、100、150、300 和 250 U); 在搅拌速度 500 r·min⁻¹, 液料比 40 mL·g⁻¹, 加酶量 200 U, pH 值 7.0 下水解 90 min, 优化酶水解过程中的反应温度 (35、40、45、50 和 55 ℃); 在搅拌速度 500 r·min⁻¹, 液料比 40 mL·g⁻¹, 加酶量 200 U, 反应温度 50 ℃下水解 90 min, 优化酶水解过程中的反应 pH 值 (3.0、3.5、4.0、4.5 和 5.0); 在搅拌速度 500 r·min⁻¹, 液料比 40 mL·g⁻¹, 加酶量 200 U, 反应温度 50 ℃, 反应 pH 值 4.0 下, 优化酶水解过程中的反应时间 (30、60、90、120 和 150 min), 确定纤维素酶水解废渣的最佳工艺条件。

1.3.7 盐酸处理卡拉胶工业废渣回收珍珠岩的单因素试验

经 κ -卡拉胶酶和纤维素酶在各自最优条件下依次酶解处理后的废渣, 以还原糖生成量为指标, 进一步利用盐酸处理以回收珍珠岩。精确称取 4 g 酶解后的工业废渣, 加入 100 mL 盐酸溶液, 利用单因素试验优化盐酸浓度 (0.1、0.2、0.3、0.4 和 0.5 mol·L⁻¹)、反应温度 (70、75、80、85、90 和 95 ℃)、反应时间 (0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 h), 获得盐酸处理回收珍珠岩的最佳工艺条件。参照 Hsu 等^[24]的方法测定回收珍珠岩的 pH 值。参照 Giuffrida 等^[25]的方法测定珍珠岩的渗透率和堆积密度。

1.3.8 卡拉胶工业废渣和回收珍珠岩的表征

将卡拉胶工业废渣、经 κ -卡拉胶酶处理后的工业废渣以及回收的珍珠岩放入烘箱干燥至恒重, 利用 SEM 观察样品形态。样品用 KBr 压片法制样, 在 4 000~400 cm⁻¹ 测试范围内进行 FT-IR 分析。利用 XRF 对样品进行表征, 测试元素范围为 11Na~92U, 测试深度为毫米级。

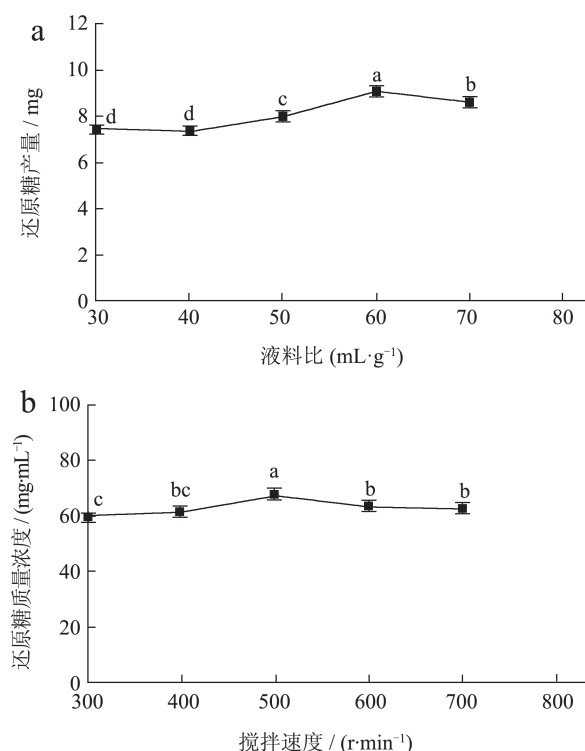
1.3.9 数据处理与统计分析

每个实验均设置三个平行, 利用 Microsoft Excel 2019 进行数据整理, 使用 Design Expert 10.0.7 软件对响应面优化试验进行回归分析, 采用 SPSS 软件进行描述性统计分析。

2 结果与讨论

2.1 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的单因素优化

通过检测还原糖生成量来获得 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的最佳工艺参数。单因素试验结果显示, 反应的最佳液料比为 60 mL·g⁻¹ (图 1a)。液料比的增加会稀释酶液, 从而降低还原糖生成量, 而随着底物浓度的增高, 导致搅拌困难和水相活动减少, 会阻止产物从底物中完全释放^[26]。搅拌速度为 500 r·min⁻¹ 时还原糖的生成量最大 (图 1b)。还原糖的释放量与反应中的酶浓度呈正相关, 还原糖生成量在 κ -卡拉胶酶添加量达到 20 U 后趋于平缓 (图 1c), 说明酶与底物结合已达饱和, 因此反应速度不再增加。较高的酶浓度可能会增加水解产物的粘度, 限制反应速率与产物转化^[27]。酶解工艺的最适反应温度为 40 ℃ (图 1d), 最适反应 pH 值为 8.0 (图 1e), 与张成昊等^[21]报道的 *Pseudoalteromonas* sp. JMUZ2 来源 κ -卡拉胶酶以 κ -卡拉胶多糖为底物时的最适反应 pH 值相同。此外, 还原糖生成量随反应时间增加呈先上升后保持不变的趋势, 在反应 30 min 时即达到高值 (图 1f)。



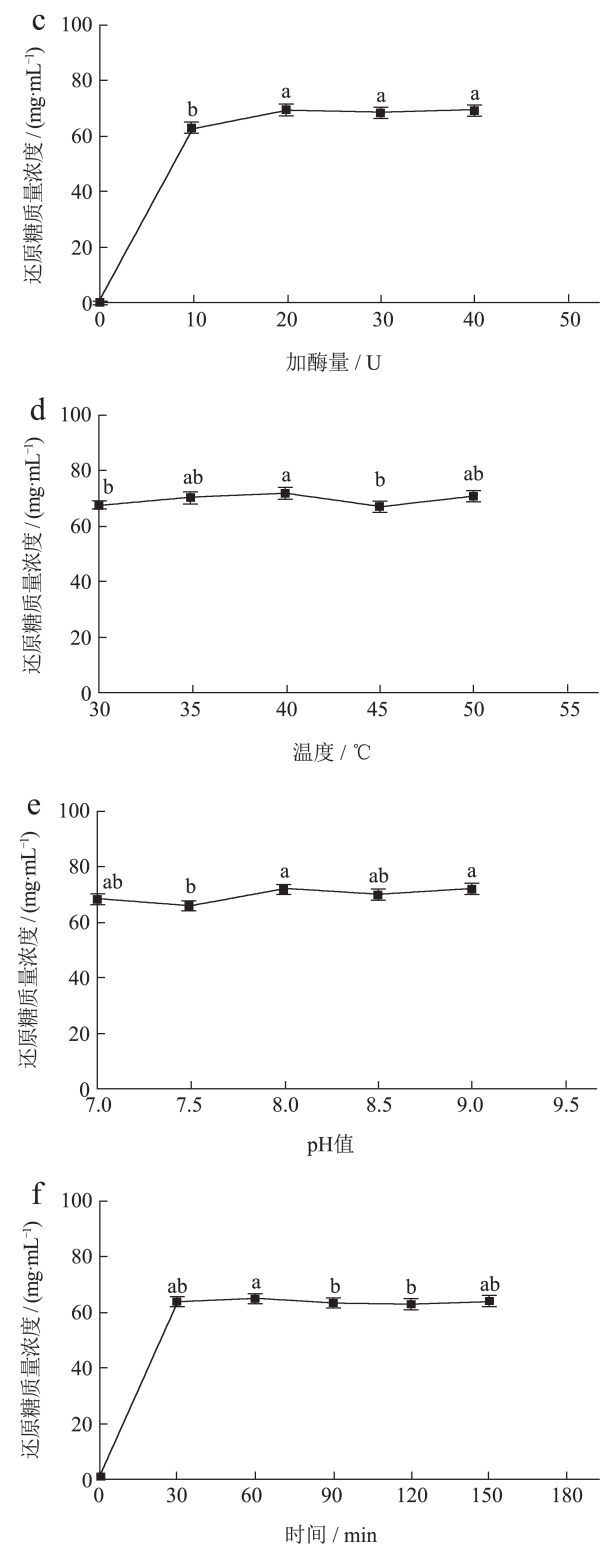


图 1 不同条件对κ-卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的影响

Fig.1 Effects of different conditions on κ-carrageenase hydrolysis of carrageenan industrial waste residues

注：不同小写字母表示差异性显著 ($P<0.05$)。(a) 液料比; (b) 搅拌速度; (c) 加酶量; (d) 温度; (e) pH 值; (f) 时间。

2.2 κ-卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的响应面优化

根据上述单因素实验结果，最后选择了κ-卡拉胶酶对卡拉胶工业废渣水解的影响具有显著性梯度差异的单因素为反应温度、搅拌速度和液料比。设计了 $n=15$ 的 Box-Behnken 响应面优化试验，结果如表 2 所示。利用 Design Expert 10.0.7 软件分析表 2 的结果，建立了响应值 (Y) 与反应温度 (A)、搅拌速度 (B) 和液料比 (C) 的二次多项回归方程为：

$$Y=96.70+4.05A-0.147\ 4B-2.56C-0.917\ 7AB-2.13AC-0.137\ 8BC-10.38A^2-9.64B^2-4.84C^2$$

表 2 Box-Behnken试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results of Box-Behnken ($n=15$)				
序号	A 反应温度/℃	B 搅拌速度/(r·min ⁻¹)	C 液料比(mL·g ⁻¹)	Y 响应值/分
1	40	500	60	96.932 4
2	40	500	60	94.916
3	45	400	60	83.793
4	35	400	60	72.455 5
5	40	500	60	98.255 5
6	35	500	70	79.799 4
7	40	600	70	78.571 3
8	45	600	60	79.053 2
9	40	400	50	85.578 3
10	40	400	70	76.532 4
11	35	600	60	71.386 7
12	35	500	50	76.444 8
13	40	600	50	88.168 5
14	45	500	70	82.242 1
15	45	500	50	87.416 9

注：响应值=(还原糖质量浓度/最高质量浓度)×50+(还原糖生成总量/最高总量)×50。

对上述二元回归方程进行方差分析，结果如表 3 所示。分析表明，该回归模型达到显著水平 ($P=0.013\ 4<0.05$)，具有统计学意义；而失拟项未呈现显著性 ($P=0.141\ 2>0.05$)，说明模型与数据拟合良好，误差较小。变异系数 (C.V.) 为 4.10%，小于 10%，表明回归模型的实验值准确可靠。二次模型的多元相关系数 R^2 为 0.941 2，调整系数 R_{adj}^2 为 0.835 4，进一步证明了实验值和预测值之间的微小差异，表明模型对响应值的预测准确，回归方程模型适合κ-卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的工艺优化。影响还原糖生成量的各项因素中，二次项 A^2 、 B^2 均呈现极显著影响

($P<0.01$)，一次项 A 和二次项 C^2 的影响也达到显著水平 ($P<0.05$)。相较之下，各交互项 AB、AC 和 BC 对结果均未产生显著影响 ($P>0.05$)。一次项系数 A 为正值，B 和 C 为负值，表明在考察范围内温度和响应值存在正相关，而搅拌速度和液料比与响应值存在负相关。由反应温度 (A)、搅拌速度 (B) 和液料比 (C) 三个因素的 F 值可知，对 κ -卡拉胶酶水酶卡拉胶工业废渣工艺影响的程度为： $A>C>B$ ，这可能是因为搅拌速度仅影响酶促反应的传质速率，而反应温度能够直接影响酶促反应的速率和 κ -卡拉胶酶的催化活性。

表 3 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣工艺响应面试验
方差分析结果

Table 3 Response surface test variance analysis results for κ -carrageenase hydrolysis of carrageenan industrial waste residues					
来源	平方和	自由度	均方值	F 值	P 值
模型	937.35	9	104.15	8.89	0.013 4
A	1 331.37	1	131.37	11.22	0.020 3
B	0.173 9	1	0.173 9	0.014 9	0.907 8
C	52.34	1	52.34	4.47	0.088 1
AB	3.37	1	3.37	0.287 7	0.614 7
AC	18.19	1	18.19	1.55	0.267 9
BC	0.076 0	1	0.076 0	0.006 5	0.938 9
A^2	397.38	1	397.85	33.98	0.002 1
B^2	343.37	1	29.32	29.32	0.002 9
C^2	86.49	1	86.49	7.39	0.041 9
残差	58.55	5	11.71		
失拟差	52.90	3	17.63	6.24	0.141 2
纯误差	5.65	2	2.82		
总和	995.90	14			
R^2	0.941 2				
R^2_{adj}	0.835 4				
C.V.%	4.10				

注： $P<0.05$ 表示影响显著， $P<0.01$ 表示影响极显著。

利用 Design Expert 10.0.7 软件绘制反应温度 (A)、搅拌速度 (B) 和液料比 (C) 的交互作用对 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣工艺响应值评分影响的 3D 响应面图和等高线图。结果如图 2 所示，A 与 B、A 与 C 和 B 与 C 交互作用均不显著。经软件分析该模型存在最大值，其所对应的 A、B、C 三个因素最佳参数分别为反应温度 (A) 41.139 $^{\circ}\text{C}$ 、搅拌速度 (B)

498.376 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、液料比 (C) 56.860 ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)，响应值为 97.561。根据模型预测的结果，实际条件按照 41 $^{\circ}\text{C}$ 、500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、57 ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$) 进行验证试验。结果表明，在此工艺条件下的响应值评分为 97.652，与预测值极为接近，说明该模型分析结果可信。

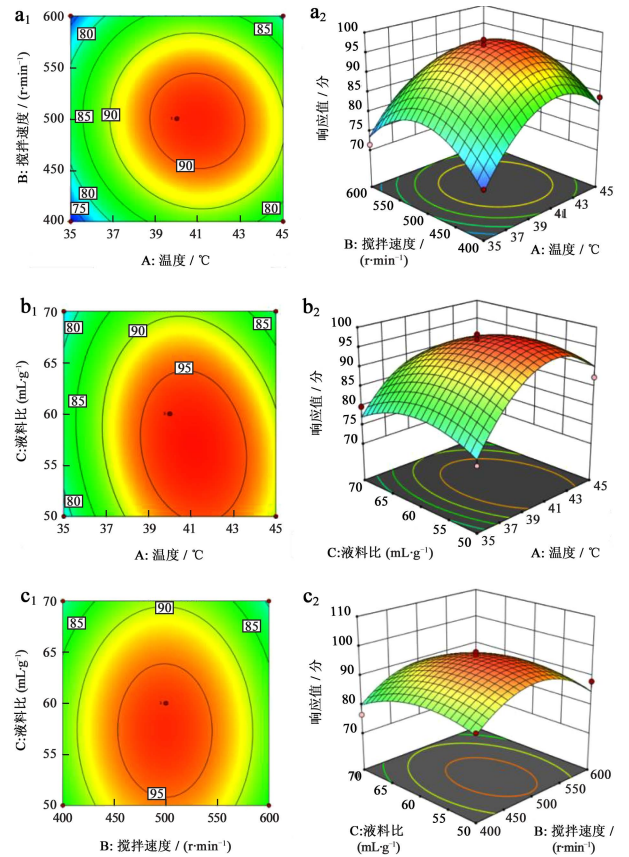


图 2 各因素对 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的交互作用等高线图和三维图

Fig.2 Contour plots and 3D graphs of interaction effects between variables on κ -carrageenase hydrolysis of carrageenan industrial waste residues

2.3 回收卡拉胶低聚糖的分析

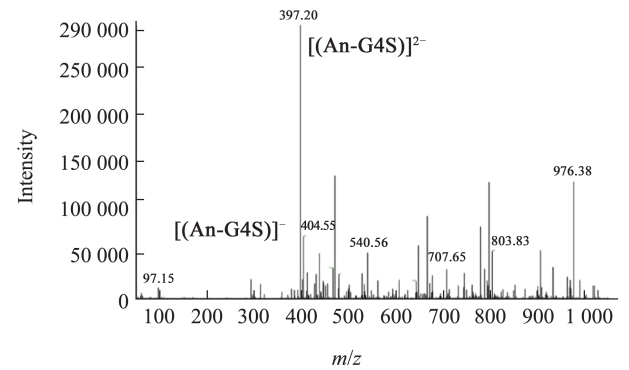


图 3 回收卡拉胶低聚糖的 LC-MS 分析

Fig.3 LC-MS analysis of recovered carrageenan oligosaccharides

对 κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的上清液产物进行 LC-MS 质谱分析, 由图 3 所示, 酶水解后得到的偶数低聚糖的非还原端为 β -D-半乳糖-4-硫酸盐 (G4S), 还原端为 3,6-脱水- α -D-半乳糖 (An)^[28]。酶解产物在质荷比 404.55 和 397.20 分别出现显著的信号峰, m/z 404.55 对应在 β -D-半乳糖端带有一个硫酸基团的 κ -卡拉胶二糖 $[(\text{An-G4S})]^-$; m/z 397.20 对应携带两个硫酸基团的 κ -卡拉胶四糖 $[(\text{An-G4S})]^{2-}$ 。上述结果表明, κ -卡拉胶酶水解卡拉胶工业废渣的上清液产物中含有 κ -卡拉胶二糖和四糖。

2.4 纤维素酶水解卡拉胶工业废渣单因素优化

通过检测还原糖生成量来获得纤维素酶水解卡拉胶工业废渣的最佳工艺参数。进行纤维素酶水解时, 还原糖生成量在液料比为 40 ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$) 时达到最高 (图 4a)。最佳的搅拌速度为 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ (图 4b), 当纤维素酶添加量达到 200 U 时, 酶反应变得平稳 (图 4c)。当反应温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ (图 4d) 以及 pH 值为 4.0 (图 4e) 时, 还原糖生成量最高, 在 2 h 时还原糖产量基本保持平稳 (图 4f), Duan 等^[29]曾报道纤维素酶水解红藻的最佳反应时间为 2 h。本研究中, 纤维素酶水解卡拉胶工业废渣的温度和搅拌速度与 Li 等^[30]利用纤维素酶水解琼脂工业废渣的最佳工艺条件相同, 但本研究的结果实现了更少的纤维素酶添加量、更低的 pH 值和更短的反应时间。

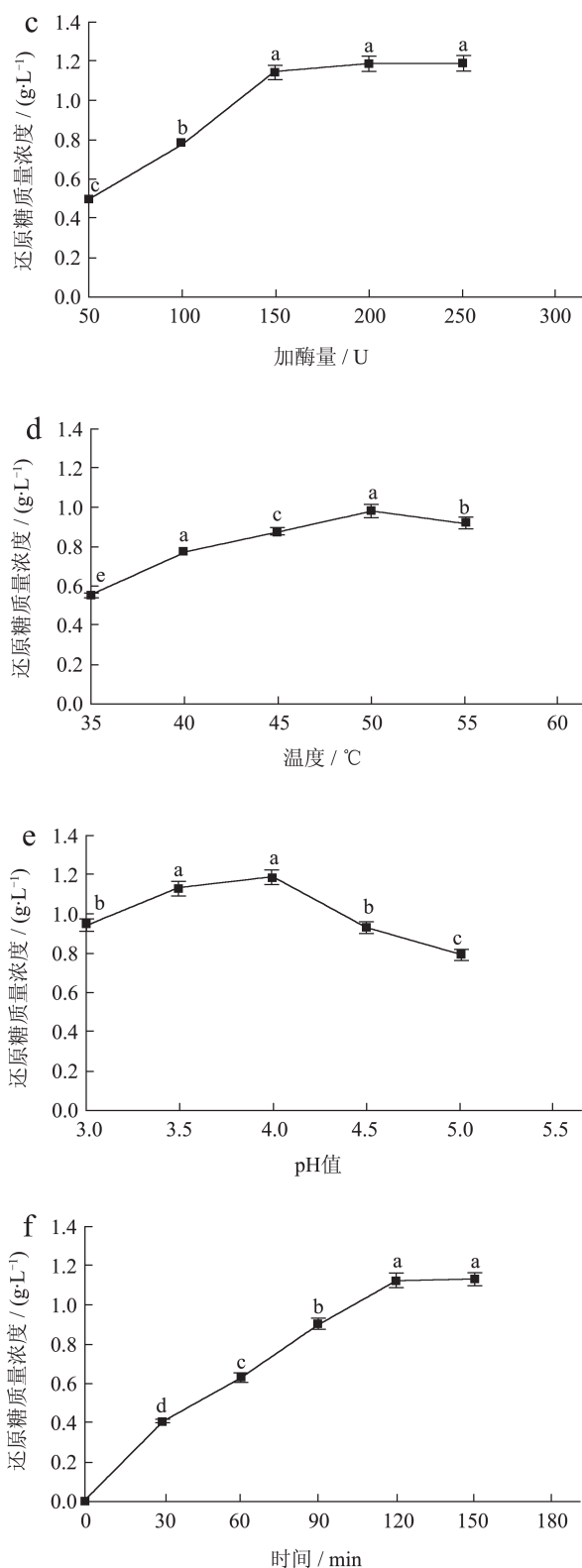
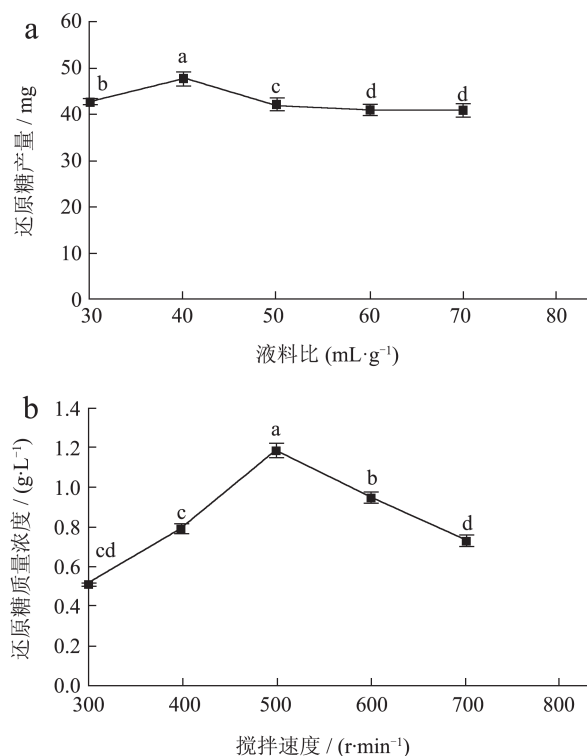


图 4 不同条件对纤维素酶水解卡拉胶工业废渣的影响

Fig.4 Effects of different conditions on cellulase hydrolysis of carrageenan industrial waste residues

注: 不同小写字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)。(a) 液料比;(b) 搅拌速度;(c) 加酶量;(d) 温度;(e) pH 值;(f) 时间。

2.5 盐酸处理回收珍珠岩单因素优化

利用κ-卡拉胶酶和纤维素酶依次处理后的废渣，进一步利用盐酸处理回收珍珠岩。通过检测还原糖的生成量，获得盐酸处理卡拉胶工业废渣的最佳工艺条件为盐酸处理浓度0.2 mol·L⁻¹（图5a），反应温度90℃（图5b），反应时间2 h（图5c）。经酶水解和HCl处理后，测定卡拉胶工业废渣中回收珍珠岩的理化参数。回收珍珠岩的pH值为6.68（表4），符合中华人民共和国珍珠岩食品添加剂食品安全标准（GB 31634-2014）中pH值5.0~11.0的要求。珍珠岩的中含有K₂O和Na₂O等碱性金属氧化物，因此商品化珍珠岩通常呈碱性。回收珍珠岩的pH偏弱酸性，可能是因为经过盐酸处理后洗涤不够彻底，仍有部分盐酸残留。对商品化珍珠岩、卡拉胶工业废渣、回收珍珠岩进行渗透率和堆积密度的测定，结果如表4所示。回收珍珠岩的渗透率为7.36 Darcy，相较卡拉胶工业废渣显著提高，符合中华人民共和国珍珠岩助滤剂标准（JC/T 849-2024）中对快速渗透率珍珠岩的2.0~10.0渗透率的要求。回收珍珠岩的堆积密度为0.207 g·cm⁻³，较大于商品化珍珠岩，符合中华人民共和国珍珠岩助滤剂标准（JC/T 849-2024）中珍珠岩堆积密度小于0.25 g·cm⁻³的要求。综上，回收珍珠岩的pH值、渗透率和堆积密度均符合珍珠岩食品添加剂和助滤剂的国家标准，可将所回收的珍珠岩与商品化珍珠岩混合使用，实现回收珍珠岩的循环利用。

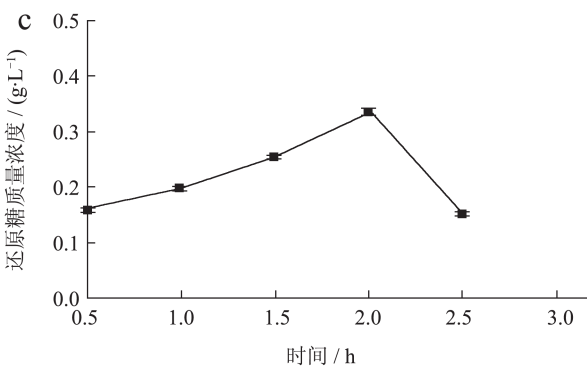
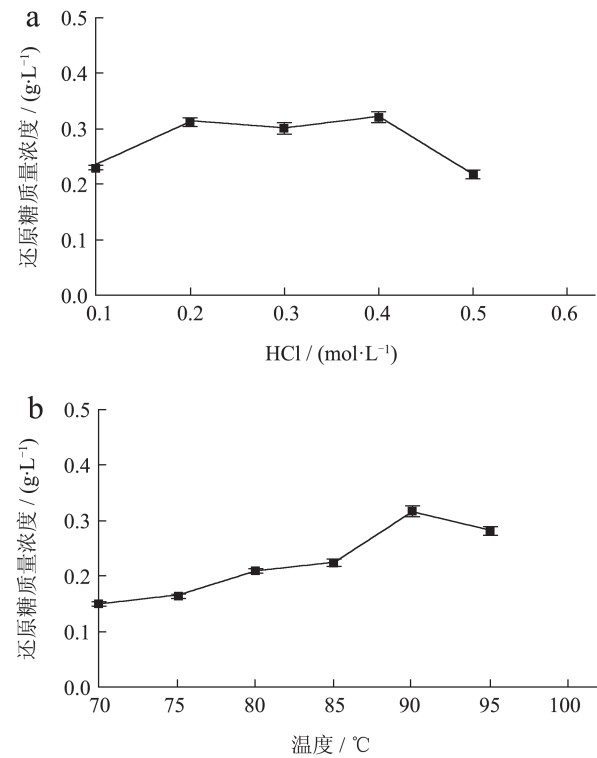


图5 不同条件对盐酸处理卡拉胶工业废渣的影响
Fig.5 Effects of different conditions on acid hydrolysis of carrageenan industrial waste residues

注：(a) 酸浓度；(b) 温度；(c) 时间。

表4 回收珍珠岩的理化性质

项目	商品化珍珠岩	回收珍珠岩	卡拉胶工业废渣
pH 值	10.53 ± 0.04 ^a	6.68 ± 0.17 ^c	7.85 ± 0.13 ^b
渗透率 (Darcy)	6.52 ± 0.38 ^b	7.36 ± 0.54 ^a	2.97 ± 0.35 ^c
堆积密度 (g·cm ⁻³)	0.151 ± 0.005 ^a	0.207 ± 0.014 ^b	0.512 ± 0.018 ^c

注：差异性显著使用同一行值后的不同小写字母表示（*P* < 0.05）。

2.6 回收珍珠岩和卡拉胶工业废渣的表征

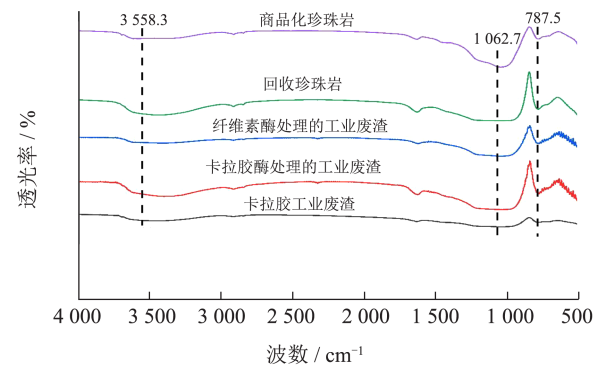


图6 回收珍珠岩和卡拉胶工业废渣的 FT-IR 分析
Fig.6 FT-IR analysis of the recycled perlite and carrageenan industrial waste residues

利用傅里叶变换红外光谱仪分析商品化珍珠岩、卡拉胶工业废渣及不同处理废渣的红外吸收峰情况。如图6所示，商品化珍珠岩、未处理及不同处理卡拉胶工业废渣均在3558、1062和787 cm⁻¹处有较强的特征吸收峰。商品化珍珠岩和回收珍珠岩的主要吸收峰的宽度和深度接近吻合，说明珍珠岩是回收珍珠岩中的主要成分。其中，3558 cm⁻¹处的吸收峰是由氢键和游离的Si-OH缔合的羟基^[31]，1061和788 cm⁻¹处

的吸收峰分别是由 Si-O-Si 和 Si-O 键的非对称伸缩振动和弯曲振动引起的^[32]。788 cm⁻¹ 处商品化珍珠岩和回收珍珠岩的相似吸收峰表明回收珍珠岩中的 Si-O 键高度保守。综上所述，珍珠岩是回收珍珠岩中的主要成分，回收珍珠岩的结构与商业珍珠岩相似。

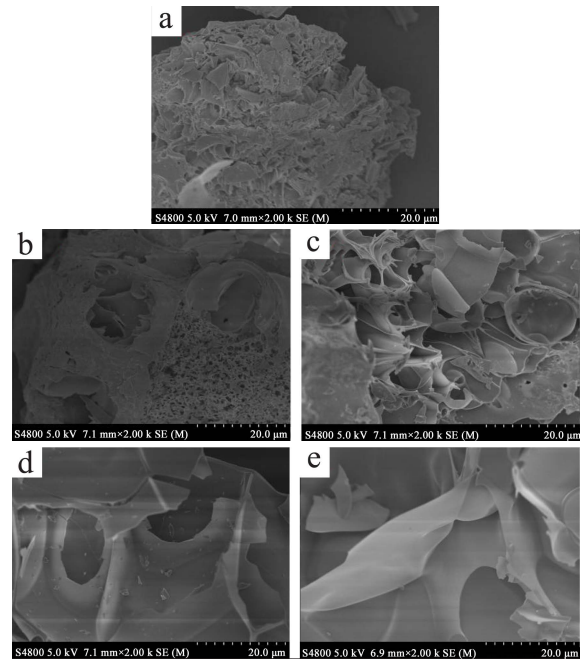


图 7 回收珍珠岩和卡拉胶工业废渣的 SEM 分析

Fig.7 SEM analysis of the recycled perlite and carrageenan industrial waste residues

注：a：卡拉胶工业废渣。b：κ-卡拉胶酶处理废渣。c：κ-卡拉胶酶和纤维素酶依次处理废渣。d：酶处理和酸处理废渣。e：商品化珍珠岩。

利用场发射扫描电镜对商品化珍珠岩、卡拉胶工业废渣及不同处理废渣进行分析，结果如图 7 所示。商品化珍珠岩表面平滑，具有大量疏松的孔径（图 7e），空洞的孔径具有过滤作用，并使卡拉胶液通过板框^[33]。卡拉胶工业废渣样品基本上看不到有空洞，孔隙中充满不规则的碎片（图 7a），造成内部空洞被堵住的原因可能是一些未提取完全的胶液和纤维素等。卡拉胶工业废渣经 κ-卡拉胶酶处理后，大部分卡拉胶被酶降解为卡拉胶寡糖，从珍珠岩中脱离出来，部分孔洞被打开（图 7b）。经 κ-卡拉胶酶和纤维素酶依次处理后，堵塞在珍珠岩内部的卡拉胶和纤维素降解，珍珠岩内部孔洞被打开，呈现出更大的孔隙（图 7c）。再经酸处理后得到回收珍珠岩，其孔径和商品化珍珠岩相比并无明显差别（图 7d），回收珍珠岩具有循环利用的价值。

利用 X 射线荧光光谱分析样品的元素含量，卡拉胶工业废渣的主要元素组成有 Si、Al、K、Ca、Na、Mg、S 和 Fe，商品化珍珠岩的主要元素组成有 Si、Al、K、Na、Ca 和 Fe（表 5）。S 元素是构成卡拉胶线性多糖硫酸盐基团的重要元素之一^[34]，回收珍珠岩与商品化珍珠岩的主要成分不含元素 S，而卡拉胶废渣和卡拉胶中含有大量 S，说明工业废渣中存在大量卡拉胶。经 κ-卡拉胶酶水解后，回收珍珠岩的中 S 元素的含量显著降低，仅为 0.09%（表 5），表明所回收的珍珠岩达到了将卡拉胶与珍珠岩分离的目的。回收珍珠岩与商品化珍珠岩的元素成分及含量相接近，表明从卡拉胶工业废渣中回收的珍珠岩具有可重复利用的价值。

表 5 回收珍珠岩的X-射线荧光光谱分析

Table 5 X-ray fluorescence spectrometric analysis of recovered coarse perlite

元素/%	Na	Mg	Al	Si	Cl	K	Ca	Fe	S
商品化珍珠岩	3.881	0.315	13.856	75.273	0.057	4.305	1.151	0.779	0
回收珍珠岩	3.556	0.384	13.234	73.996	0.068	4.647	1.316	1.214	0.09
卡拉胶	0.545	0.019	0.002	0.071	1.165	12.243	0.136	0.013	7.109
卡拉胶工业废渣	3.301	1.516	12.619	70.098	0.125	5.12	3.721	1.355	1.452

3 结论

本研究证实了分步酶解联合酸处理从卡拉胶工业废渣中同时回收卡拉胶寡糖和珍珠岩的潜力。采用单因素及响应面法获得了酶法处理实现卡拉胶寡糖最大回收率的最佳工艺参数，酸辅助酶法能够极大清理卡拉胶废渣的内部孔隙并回收珍珠岩。回收的卡拉胶寡糖经质谱分析证实为卡拉胶二糖和四糖，回收的珍珠岩经红外光谱、扫描电镜和 X 射线荧光光谱表征及理

化性质分析，得到具有与商品化珍珠岩相似的品质，表明从卡拉胶工业废渣中回收的珍珠岩具有可重复利用的价值，实现资源再循环。

目前，过高的液料比仍是制约工艺实现产业化的核心瓶颈。高液料比直接导致用水、能耗及下游处理成本急剧增加，还因需要巨大的反应器容积而提高固定资产的投入。因此，后续研究应聚焦于探索大幅降低液料比与工艺水循环利用的技术路径，并基于优化的工艺参数进行详尽的技术经济评估，以切实推动该

绿色策略的工业化应用。本研究为卡拉胶工业废渣的资源化处理提供了一种绿色高效的新策略,未来有望在产业化应用中进一步验证其经济性和环境效益。

参考文献

- [1] JIANG J L, ZHANG W Z, NI W X, et al. Insight on structure-property relationships of carrageenan from marine red algal: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 257: 117642.
- [2] DAS I J, BAL T. Exploring carrageenan: from seaweed to biomedicine-a comprehensive review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 268: 131822.
- [3] UDO T, MUMMALETI G, MOHAN A, et al. Current and emerging applications of carrageenan in the food industry [J]. Food Research International, 2023, 173: 113369.
- [4] YEGAPPAN R, SELVAPRITHIVIRAJ V, AMIRTHALINGAM S, et al. Carrageenan based hydrogels for drug delivery, tissue engineering and wound healing [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 198: 385-400.
- [5] LU S Y, ZHOU T, SHABBIR I, et al. Marine algal polysaccharides: Multifunctional bioactive ingredients for cosmetic formulations [J]. Carbohydrate Polymers, 2025, 353: 123276.
- [6] DAS A K, SEQUEIRA R A, MAITY T K, et al. Bio-ionic liquid promoted selective coagulation of κ -carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* extract [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 111: 106382.
- [7] LI Z, WANG J, CHEN J, et al. Characteristics and mechanisms of sustainable recovery of perlite from carrageenan residue by green technology and its application in carrageenan extraction [J]. Journal of Cleaner Production, 2024, 434: 140131.
- [8] WU T, DU Z, LI H, et al. A disulfide bond mutant of *Pseudoalteromonas porphyrae* κ -carrageenase conferred improved thermostability and catalytic activity and facilitated its utilization in κ -carrageenan industrial waste residues recycling [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 280: 135573.
- [9] VAVERKOVÁ M D. Landfill impacts on the environment-review [J]. Geosciences, 2019, 9(10): 431.
- [10] KARUNARATHNE S A, VAN WALSUM G P. Integrating the carboxylate platform into a red seaweed biorefinery [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2022, 194(3): 1235-1258.
- [11] DUAN B, LING C, WANG X, et al. Anaerobic fermentation of carrageenan waste residue to obtain antifungal activity [J]. Process Biochemistry, 2024, 136: 128-135.
- [12] BIANCHI A, SANZ V, DOMÍNGUEZ H, et al. Valorisation of the industrial hybrid carrageenan extraction wastes using eco-friendly treatments [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 122: 107070.
- [13] WANG J, ZHU Y, JIANG Z, et al. Characteristics and mechanism of Ni^{2+} and Cd^{2+} adsorption by recovered perlite from agar extraction residue [J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2024, 72: 141-152.
- [14] SHIH Y F, TSAI W L, HAMDANI S. An environmentally friendly recycled-polyethylene composite reinforced by diatomaceous earth and wood fiber [J]. Key Engineering Materials, 2021, 889: 15-20.
- [15] ZHANG B, FANG C DONG, HAO G JUAN, et al. Effect of kappa-carrageenan oligosaccharides on myofibrillar protein oxidation in peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during long-term frozen storage [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 254-261.
- [16] ZHU C, MOU M, YANG L, et al. Enzymatic hydrolysates of κ -carrageenan by κ -carrageenase-CLEA immobilized on amine-modified ZIF-8 confer hypolipidemic activity in HepG2 cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 252: 126401.
- [17] CALVO G H, COSENZA V A, SÁENZ D A, et al. Disaccharides obtained from carrageenans as potential antitumor agents [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 6654.
- [18] AI L, CHUNG Y C, LIN S Y, et al. Carrageenan polysaccharides and oligosaccharides with distinct immunomodulatory activities in murine microglia BV-2 cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 633-640.
- [19] WEI Y, ZHU B, YAO Z, et al. Biochemical characterization and elucidation of the action mode of a GH16 family κ -carrageenase for efficient preparation of carrageenan oligosaccharides [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2023, 39(8): 222.
- [20] ZHANG Y, LANG B, ZENG D, et al. Truncation of κ -carrageenase for higher κ -carrageenan oligosaccharides yield with improved enzymatic characteristics [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 130: 958-968.
- [21] 张成昊,朱艳冰,陈艳红,等.假交替单胞菌JMUZ2重组 κ -卡拉胶酶的异源表达和酶学性质[J].化工学报,2021,72(7):3738-3746.
- [22] HONG T, LONG L, SANG Y, et al. Simultaneous enhancement of thermostability and catalytic activity of κ -carrageenase from *Pseudoalteromonas tetraodonis* by rational design [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2023, 167: 110241.
- [23] DU Z, HUANG X, LI H, et al. Improvement of thermostability by increasing rigidity in the finger regions and flexibility in the catalytic pocket area of pseudoalteromonas porphyrae κ -carrageenase [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2024, 40(7): 216.
- [24] HSU S L, HUNG J, WALLACE A. Soil pH variation within a soil. I. pH variation in soil pores observed in a column-leaching method [J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2004, 35(3-4): 319-329.
- [25] GIUFFRIDA F, CONSOLI S. Reusing perlite substrates in soilless cultivation: analysis of particle size, hydraulic properties, and solarization effects [J]. Journal of Irrigation and Drainage Engineering, 2016, 142(2): 4015047.
- [26] WANG C, SHEN Z, CUI X, et al. Response surface optimization of enzyme-assisted extraction of R-phycoerythrin from dry pyropia yezoensis [J]. Journal of Applied Phycology, 2020, 32(2): 1429-1440.
- [27] MEINITA M D N, MARHAENI B, JEONG G T, et al. Sequential acid and enzymatic hydrolysis of carrageenan solid waste for bioethanol production: a biorefinery approach [J]. Journal of Applied Phycology, 2019, 31(4): 2507-2515.
- [28] SUN Y, LIU Y, JIANG K, et al. Electrospray ionization mass spectrometric analysis of κ -carrageenan oligosaccharides

- obtained by degradation with κ -carrageenase from *pedobacter hainanensis* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(11): 2398-2405.
- [29] DUAN F, YU Y, LIU Z, et al. An effective method for the preparation of carrageenan oligosaccharides directly from *Eucheuma cottonii* using cellulase and recombinant κ -carrageenase [J]. Algal Research, 2016, 15: 93-99.
- [30] LI Z PENG, HU Q SONG, CHEN J FANG, et al. Optimized strategy for simultaneous recovering bioactive oligosaccharides and reusable perlite from agar industrial waste residues [J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 378: 134631.
- [31] XU Q, HUANG H, YAN J, et al. Preparation, characterization and performance analysis of fosthiazate/expanded perlite sustained-release pesticides [J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2023, 33: 101116.
- [32] LIU T. A facile strategy to simultaneously increase surface roughness and reduce surface energy for the preparation of water-repellent, recyclable and self-cleaning expanded perlite [J]. Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 655: 130253.
- [33] REKA A A, PAVLOVSKI B, LISICHKOV K, et al. Chemical, mineralogical and structural features of native and expanded perlite from macedonia [J]. Geologia Croatica, 2019, 72(3): 215-221.
- [34] PRADHAN B, KI J S. Biological activity of algal derived carrageenan: a comprehensive review in light of human health and disease [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 238: 124085.