文章编号：1009－038X(2003)04－0052－05

羊栖菜中褐藻酸钠的脱色纯化工艺及其结构成分研究

过 菲[1]， 许时婴[1]， 林之川[2]
(1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214036；2. 上海冠生园有限公司技术中心，上海 200000)

摘 要：研究了羊栖菜中褐藻酸钠的脱色纯化工艺并测定了其组成与相对分子质量. 结果表明：褐藻酸钠脱色纯化的最佳工艺条件为：3%(质量分数)甲醛溶液预浸泡，10%(质量分数)HCl 溶液沉淀分离出褐藻胶，1 g/dL 的 Na_2CO_3 溶液中和，10%(体积分数) NaClO 溶液进行脱色. 通过纯化工艺制得的褐藻酸钠的纯度为 95.1%，褐藻酸钠分子中 β-D-甘露糖醛酸与 α-L-古罗糖醛酸的量的比值为 0.75，平均聚合度 DP 为 101，粘均相对分子质量为 21 963.

关键词：褐藻酸钠；纯化；脱色；相对分子质量
中图分类号：S 985.5 **文献标识码**：A

Study on Decoloration, Purification and Structure of Sodium Alginate from *Sargassum fusiforme*

GUO Fei[1], XU Shi-ying[1], LIN Zhi-chuan[2]
(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Research & Development Department, Guan Sheng Yuan Co. Ltd, Shanghai 200000, China)

Abstract: This paper studied the decoloration and purification technology of sodium alginate from *Sargassum fusiforme*. The composition and molecular weight of the sodium alginate were also determined. The optimum conditions for isolation and purification were as follows: Algin was precipitated and isolated from the crude *Sargassum fusiforme* polysaccharide with 10% HCl solution after carrying out 3% formaldehyde treatment. The precipitation was resolved in the 1 g/dL Na_2CO_3 solution for neutralization and then decolorized with 10% (*V*/*V*) NaClO solution. The content of the product was 95.1%, the M/G ratio was 0.75, degree of polymerization was 101, and viscosity-average molecular weight of the product was 21,963.

Key words: sodium alginate; purification; decoloration; molecular weight

羊栖菜多糖是从马尾藻科植物羊栖菜中提取分离得到的多糖. 羊栖菜多糖主要组成是充填在细胞壁间的褐藻胶(algin)和褐藻糖胶(fucoidan)以及存在于细胞质中的极少量的褐藻淀粉(laminaran). 由于褐藻糖胶具有抗凝血、降血糖、降低胆固醇和抑制癌细胞生长等多种生理功能[1,2]，因而从海藻中分离及应用褐藻糖胶越来越受到人们的重视. 从羊栖菜多糖中分离提取褐藻糖胶后的沉淀中含有

收稿日期：2002－10－09； 修回日期：2002－12－09.
作者简介：过菲(1977－)，女，江苏无锡人，工学硕士.

万方数据

大量的褐藻胶,褐藻胶是一种应用广泛的食品添加剂,因此在提取褐藻糖胶的同时,分离提纯褐藻胶对羊栖菜中的综合利用有较大应用价值.作者从羊栖菜粗多糖分离提取褐藻糖胶后,纯化分离了褐藻胶并对其结构成分进行了研究.

1　材料与方法

1.1　材料

羊栖菜于 2001 年 6 月购于浙江省温州洞头县汇源海生物开发有限公司,经 50 ℃强风烘干,粉碎后保存;海藻酸钠(食品级),Danisco 中国昆山公司产品.

1.2　褐藻胶的脱色纯化工艺

1.2.1　工艺路线　采用水提法从羊栖菜中提取羊栖菜粗多糖[3~6],经过超滤脱盐[7],真空浓缩,干燥粉碎得到羊栖菜粗多糖粉.然后利用褐藻酸不溶于水的特性,在羊栖菜粗多糖溶液中加入盐酸,使其中褐藻酸盐形成褐藻酸析出,经过滤与褐藻糖胶分离.分离出的褐藻酸用碱中和后形成可溶性的褐藻酸钠溶液,经 NaClO 溶液脱色,并利用褐藻酸钠不溶于乙醇的特性,使之从乙醇中析出,再经过滤、干燥得到纯度较高的褐藻酸钠.

1.2.2　操作要点

1)酸凝聚　在羊栖菜粗多糖溶液或脱色后的褐藻酸钠溶液中加入质量分数 10%的 HCl 溶液,调节 pH=2,边加边搅拌,逐步出现褐藻酸凝胶块,过滤后用蒸馏水洗涤两次,除去附在凝胶上多余的酸、无机盐、色素等.结果表明,50 ℃条件下有利于褐藻胶的凝聚,从而有利于过滤.

2)碱中和　在过滤后的褐藻酸凝胶中加入 Na_2CO_3 溶液,调节 pH=7,充分搅拌使褐藻酸完全转化成褐藻酸钠溶液.

3)脱色　羊栖菜多糖溶解于水,经酸凝聚、碱中和后加入 NaClO 溶液,控制 pH=10~11,常温下脱色.

4)乙醇溶液沉淀及干燥　在褐藻酸钠溶液中加入 2 倍体积的 95%(体积分数)乙醇,待褐藻酸钠絮状物完全析出,过滤后用无水乙醚洗涤,30 ℃条件下真空干燥.

1.3　粘度的测定

采用 NDJ-79 型旋转粘度计在 20 ℃和剪切率为 3 550 s^{-1}条件下测定 1%(质量分数)的褐藻酸钠溶液的表观粘度.

1.4　褐藻酸钠纯度的测定

褐藻胶的纯度是褐藻胶产品的主要质量指标.对成品褐藻胶中褐藻酸钠含量(即纯度)的分析,以考察产品质量的优劣.褐藻酸钠含量的测定有多种方法:重量法[8],分光光度法[9],比色法等.本文中采用重量法测定褐藻酸钠的纯度,具体方法如下[11]:

准确称取已在 105 ℃干燥至恒重的褐藻酸钠精制品(W)约 1 g,用 100 mL 蒸馏水溶解并经 G-3 玻璃漏斗过滤,在滤液中加 HCl 溶液至 pH=2,待沉淀完全后,用 200 目尼龙筛绢过滤,滤渣用 NaOH 溶液溶解(pH=10),加入 2 倍体积的 95%乙醇溶液沉淀褐藻酸钠,用 200 目筛绢过滤,湿滤渣于105 ℃烘干得干滤渣(W').

$$\text{褐藻酸钠纯度}(\%)=(W'/W+0.1558)\times 100$$

1.5　褐藻酸钠粘均相对分子质量的测定

取褐藻酸钠精制品于 105 ℃干燥至恒重,准确称量,用 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液作溶剂配成 1%(质量分数)的溶液,过滤后,用乌式粘度计测定不同褐藻酸钠溶液的相对粘度(η_r),求得特性粘度[η],引用 Donnan 经验式[DP]/[η]=58,算得平均聚合度(DP),由 $M_w=216\times DP$ 算出粘均相对分子质量(216 为褐藻酸钠单糖加一分子结晶水的相对分子质量)[11,12].

1.6　褐藻酸钠分子中 n(M):n(G)的测定

褐藻酸钠是由 β-D-甘露糖醛酸(M)与 α-L-古罗糖醛酸(G)组成的线性高聚物.测定 n(M):n(G)的方法主要有:圆二色性法[13],^{1}H-NMR 光谱法[14],化学法[15],高效液相色谱法[16],红外吸收光谱法[17]等.作者采用日本 Jasco 公司 J-715 型圆二色仪测定褐藻酸钠溶液中 β-D-甘露糖醛酸与 α-L-古罗糖醛酸的比值(n(M):n(G)).

圆二色性法提供了一个简单快捷测定 n(M):n(G)的方法.Morrs[13]等发现从褐藻酸钠溶液的圆二色谱图中 199.6 nm 与 214.9 nm 处的峰与谷的高度,即分子椭圆度的相对比较可求出 n(M):n(G)的比值.

测定条件:池长度,0.1 cm;溶剂,水;褐藻酸钠浓度,0.025 mol/L;温度,25 ℃;分辨率,0.1 nm;速度,100 nm/min;波长扫描范围,250~190 nm.

2　结果与讨论

羊栖菜藻体新鲜时呈黄褐色,干燥时藻体发黑.色素的存在将会影响产品的外观,降低产品的品质,因此需要对从羊栖菜粗多糖中分离得到的褐藻酸钠进行脱色处理.常用的脱色剂有漂白粉、氯气、二氧化硫、次氯酸钠等.作者采用次氯酸钠溶液

万方数据

作为脱色剂对褐藻酸钠进行脱色处理.脱色剂对褐藻酸钠均有降解作用,脱色剂的用量和处理时间不仅会影响脱色效果,而且对褐藻酸钠产品的性质产生很大的影响,所以需控制脱色剂的用量和脱色处理的时间.

在本实验中,以色泽、粘度、纯度作为衡量褐藻酸钠产品的质量指标,主要讨论了脱色剂 NaClO 溶液的用量与体积分数、脱色时间、Na_2CO_3 溶液的质量浓度对褐藻酸钠产品的影响.

2.1 脱色剂的用量对脱色效果的影响

取 3 g 羊栖菜粗多糖溶解于 45 mL 水中,经酸调、碱中和后加入不同量的 10%(体积分数) NaClO 溶液(NaClO 溶液是将活性氯大于 5.3% 的液体 NaClO 溶液作为 100% 配制),脱色中控制 pH=10~11,脱色效果如表 1 所示.

表 1 不同体积的 10%NaClO 溶液对脱色效果的影响

Tab.1 The effect of the 10% NaClO solution usage on decoloration of sodium alginate

NaClO 溶液用量/mL	色泽
30	黄色
50	黄色
70	淡黄色
90	白色
110	白色

由表 1 看出,NaClO 溶液用量为 90 mL 时,褐藻酸钠产品为白色,已达到很好的脱色效果.当脱色剂 NaClO 溶液(100%)用量与羊栖菜粗多糖粉的比例为 3 mL:1 g 就能达到很好的脱色效果.

2.2 脱色时间对产品质量的影响

取 3 g 羊栖菜粗多糖溶解于 45 mL 水,经酸凝聚、碱中和后加入 10% 的 NaClO 溶液 90 mL,脱色中控制 pH=10~11,结果见表 2.

表 2 脱色时间对产品质量的影响

Tab.2 The effect of decoloration time on the quality of sodium alginate

脱色时间/h	色泽	粘度/(mPa·s)
0.5	奶黄色	4.81
1.0	浅白色	4.60
1.5	白色	4.45
2.0	白色	4.02

由表 2 可知,随着脱色时间的延长,褐藻酸钠的颜色逐渐变淡,同时褐藻酸钠溶液的粘度也随着脱色时间的延长而降低,这是因为使用脱色剂会引起褐藻酸钠分子的降解,因此选择脱色时间为 1 h.

2.3 NaClO 溶液的体积分数对产品质量的影响

取 3 g 羊栖菜粗多糖溶解于 45 mL 水中,经酸凝聚、碱中和后加入不同体积分数的 NaClO 溶液,脱色剂 NaClO 溶液(100%)与羊栖菜粗多糖粉的比例为 3 mL:1 g,脱色 1 h,脱色中控制 pH=10~11.结果见表 3.

表 3 NaClO 溶液的体积分数对产品质量的影响

Tab.3 The effect of concentration of NaClO solution on the quality of sodium alginate

NaClO 溶液体积分数/%	NaClO 溶液用量/mL	粘度/(mPa·s)	色泽	纯度/%
0	0	7.5	黑褐色	97.0
10	90	4.6	浅白色	96.4
15	60	4.2	浅白色	96.8
30	30	4.1	浅白色	95.2
100	9	2.4	白色	95.6

由表 3 可知,在 NaClO 溶液与羊栖菜粗多糖比例相同和脱色时间相同的条件下,不同体积分数的 NaClO 溶液的脱色效果差别不大,但对最终产品的粘度具有一定的影响.NaClO 溶液的体积分数越高,褐藻酸钠产品的色泽越好,即颜色越白.但是 NaClO 溶液的体积分数越高,对产品的粘度影响也较大.故选用体积分数为 10% 的 NaClO 溶液进行脱色.此外,从脱色前后褐藻酸钠溶液的粘度比较发现,脱色后产品的粘度下降较大,这可能是在脱色纯化过程中由于酸碱的影响,特别是脱色过程中,使用的脱色剂(氧化剂)导致褐藻酸钠发生降解的缘故.因此需要进一步优化脱色纯化工艺,减少分离提纯过程中酸碱对褐藻酸钠的影响,降低脱色过程中脱色剂的用量与脱色时间.

2.4 Na_2CO_3 溶液的质量浓度对产品质量的影响

在褐藻酸钠分离纯化过程中,采用 Na_2CO_3 溶液中和褐藻胶,使其转化为可溶性的褐藻酸钠溶液.分别采用为 1 g/dL,3 g/dL 和饱和的 Na_2CO_3 溶液进行碱中和,然后用体积分数为 10% 的 NaClO 溶液脱色 1 h.不同质量浓度的 Na_2CO_3 溶液对褐藻酸钠质量的影响结果见表 4.

由表 4 可知,采用 1 g/dL 的 Na_2CO_3 溶液碱中和所得的褐藻酸钠产品的粘度、色泽及纯度效果都较好.

万方数据

表 4　Na_2CO_3 溶液的质量浓度对产品质量的影响

Tab.4　The effect of concentration of Na_2CO_3 solution on the quality of sodium alginate

Na_2CO_3 溶液质量浓度/(g/dL)	粘度/(mPa·s)	色泽	纯度/%
1	4.60	浅白色	97.4
3	4.53	浅白色	97.1
饱和溶液	4.48	浅白色	95.9

2.5　甲醛浸泡对产品质量的影响

羊栖菜多糖先经 3% 甲醛溶液处理浸泡 24 h.所得的羊栖菜多糖取 3 g 溶解于 45 mL 水中,经酸凝聚、碱中和后加入体积分数为 10% 的 NaClO 溶液 90 mL,脱色 10 min,脱色时控制 pH=10～11.由表 5 可知,经甲醛处理过的羊栖菜多糖中脱色纯化得到的褐藻酸钠的粘度有很大的提高,而且达到较好的脱色效果,所用的脱色时间也可缩短.因此先用 3% 的甲醛溶液浸泡,再用 NaClO 溶液脱色,可以在较短的脱色时间内达到较好的脱色效果,并保持产品具有较高的粘度.

表 5　甲醛浸泡对褐藻酸钠产品质量的影响

Tab.5　The effect of formaldehyde treatment on the quality of sodium alginate

产品	粘度/(mPa·s)	色泽	纯度/%
1*	4.60	白色	96.4
2*	6.48	乳白色	95.1

注:产品 1,未经甲醛处理,脱色 1 h 所得褐藻酸钠产品;产品 2,经甲醛处理,脱色 10 min 所得褐藻酸钠产品

甲醛具有醛基,它和蛋白质有很强的亲和力,因此能固定蛋白质,与蛋白质结合的色素同时也被固定下来,因而在分离提取褐藻胶时色素溶出量大大减少.此外,大多数的的褐藻中都含有一些还原性物质如苯酚化合物,甲醛能与这些苯酚化合物起聚合反应,形成交联的聚合物,从而抑制苯酚化合物在氧化过程中所产生的游离基团对褐藻酸钠起降解作用.已有大量的实验证明[18],提取褐藻胶前用甲醛溶液处理原料褐藻,能对褐藻酸钠产品的色泽以及粘度的稳定性起到较好的效果.

2.6　褐藻酸钠的相对分子质量

测定了羊栖菜粗多糖中分离得到的 1% 褐藻酸钠溶液和市售的食品级的 1% 海藻酸钠溶液(上述溶液均用 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液配置)的特性粘度[η],粘均相对分子质量(Mw)和平均聚合度(DP)并进行了对比,结果如表 6 所示.

表 6　羊栖菜中褐藻酸钠和食品级海藻酸钠的相对分子质量的对比

Tab.6　Molecular weight of sodium alginate extracted from Sargassum fusiforme and commercial food grade sodium alginate

样品	[η]	DP	Mw
1*	1.732	101	21 693
2*	3.380	196	42 336

注:样品 1,羊栖菜中的分离得到的褐藻酸钠;样品 2,市售的食品级的海藻酸钠.

从表 6 可知,从羊栖菜粗多糖中分离得到的褐藻酸钠的粘均相对分子质量大大低于市售的食品级的海藻酸钠,仅为市售的食品级的海藻酸钠粘均相对分子质量的一半.这主要是由于原藻的种类不同和褐藻酸钠提取工艺不同,而且一个很重要的原因可能是所用的羊栖菜是陈藻.羊栖菜在长期的存放过程中,由于内源酶的作用,使羊栖菜中的褐藻胶发生明显的降解导致了其相对分子质量的降低.导致褐藻胶降解的因素很多,化学试剂、热降解、酶降解、机械力以及各种射线等都会引起褐藻胶的降解.

2.7　褐藻酸钠分子中 n(M):n(G)比值

褐藻酸是由 β-D-甘露糖醛酸(M)与 α-L-古罗糖醛酸(G)聚合而成的线形高分子多糖.褐藻酸中两种糖醛酸的结合方式和比值(n(M):n(G))随海藻原料的种类、生态环境、采收的季节有明显的变化.n(M):n(G)比值的不同会影响产品褐藻酸钠与钙形成凝胶的凝胶强度,褐藻酸钠中 α-L-古罗糖醛酸含量越高,与钙离子形成凝胶的强度就越高而且脆性较大.此外,早期研究发现[19]褐藻酸盐类的离子交换性质与褐藻胶的化学组分有关.Haug[20]试验了具不同 n(M):n(G)比值的褐藻胶对 Cd 和 Sr 的离子亲和力,结果表明:富古罗糖醛酸的褐藻胶对 Sr 的离子亲和力较强,而富甘露糖醛酸的褐藻胶对 Cd 的离子亲和力较强.

纪明侯[15]等对中国产海带、马尾藻类所含的褐藻胶的 n(M):n(G)的比值作了测定,发现大多数马尾藻类褐藻胶的 n(M):n(G)的比值为 0.8～1.5,而海带褐藻胶的 n(M):n(G)的比值高达 2.3.褐藻胶 n(M):n(G)的不同比值将对其性质和应用产生很大的影响.

从褐藻酸钠溶液的圆二色谱图可知,在 199.6 nm 与 214.9 nm 处的峰与谷的高度,分别为 574.553 和 761.421,则 n(M):n(G)=574.533:761.421=0.75,这意味着褐藻酸钠分子中 β-D-甘

万方数据

露糖醛酸(M)与 α-L-古罗糖醛酸(G)的量的比值为 0.75∶1,即从羊栖菜中分离提取得到的褐藻酸钠中 α-L-古罗糖醛酸含量高于 β-D-甘露糖醛酸的含量.

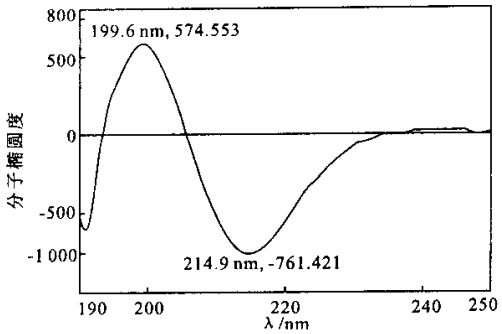


图 1 褐藻酸钠溶液的圆二色性谱图

Fig. 1 Circular dichroism spectroscopy of sodium alginate solution

3 小 结

综上所述,从羊栖菜粗多糖中分离提纯褐藻胶的最佳工艺条件为:先用 3% 的甲醛溶液浸泡羊栖菜粗多糖,然后加入 10% HCl 分离出褐藻胶,再用 1 g/dL Na_2CO_3 溶液中和及用 10% NaClO 溶液脱色 10 min,再经 10% HCl 酸凝聚,1 g/dL Na_2CO_3 碱中和,2 倍量的 95% 溶液乙醇沉淀提纯褐藻胶.

所制的褐藻酸钠的纯度为 95.1%,粘度为 6.48 mPa·s(质量分数为 1%,剪切速率 3 550 s^{-1});褐藻酸钠分子的结构参数如下:n(M)∶n(G)比值为 0.75,褐藻酸钠分子的平均聚合度为 101,其粘均相对分子质量为 21 693.

参考文献:

[1] 西泽一俊.がソ海藻[J].食品と开关,1992,25(3):32-38.
[2] 酒井武,加藤 郁之进.昆布由来フコイダンの特性と食品への利用[J].食品と科学,1998,6:89-93.
[3] 袁秋萍.海藻酸钠提纯工艺研究[J].食品工业,1998,3:77-78.
[4] Green H C. Process for making alginic aid and product[P]. 美国专利:USP 2 036 934,1936.
[5] Black, Woodward. Common British brown marine algae[J]. Advances in Chemistry Series. 1954 (4):83-91.
[6] 过菲,许时婴.羊栖菜粗多糖的提取研究[J].食品工业, 2002,3:11-13.
[7] 过菲,许时婴,林之川.超滤技术在羊栖菜粗多糖提取工艺中的应用[J].食品工业科技, 2002,10:20-21.
[8] 高桥武雄.海藻工业[M].东京:工业图书,1941.
[9] 乔向英,过绍武. 分光光度法测定褐藻酸钠纯度的研究[J].中国水产科学,1997,4(4):93-96.
[10] 蒋新国,奚念朱.褐藻酸钠的含量及分子量的测定[J].上海医科大学学报.1990,17(1):61-64.
[11] 纪明侯,徐祖洪,纪祥礼等.褐藻酸钠对放射性锶的阻吸作用研究[J].水产学报,1982,6(4):321-328.
[12] Donnan F G, R Rose. Osmotic pressure, molecular weight, and viscosity of sodium alginate[J]. Can J Research,1950,28B: 105-113.
[13] Edwin R Morris, David A Rees, David Thom. Characterization of polysaccharide structure and interactions by circular dichroism: order-disorder transition in the calcium alginate system[J]. J Chem Soc Chem Commun, 1973:245-246.
[14] Grasdalen H, B Larsen, O Smidsrød. Study of the composition and sequence of uronate residues in alginates[J]. Carbohyd Res, 1979,68:23-31.
[15] 纪明侯.海藻化学[M].北京:科学出版社,1997.
[16] Nishide E, H Anzi, N Uchida. Extraction of alginic acid from a brazilian brown alga, Laminaria brasiliensis[J]. Hydrobiologia, 1987,151/152:551-555.
[17] Mackie W. Semi-quantitative estimation of the composition of alginates by infra-red spectroscopy[J]. Carbohyd Res, 1971,20: 413-415.
[18] 纪明侯, 史升耀.海带褐藻胶提取条件的研究[J].海洋科学集刊,1962(1):188-195.
[19] Hung A. Ion exchange properties of alginate fractions[J]. Acta Chem Scand,1959, 13:1250.
[20] Hung A. The affinity of some divalent metals to different types of alginates[J]. Acta Chem Scand,1961,15:1794-1795.

(责任编辑:朱 明)

万方数据