

刺麒麟菜基本成分分析和 ι-卡拉胶的提取工艺参数优化

朱敏¹, 张立新¹, 史大永²

(1. 青岛大学 化学化工与环境学院, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 以印尼海域刺麒麟菜(*Euचेuma spinosum*)为原料, 分别采用烘箱法、高温灼烧法、凯式定氮法、索氏提取法对其水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪含量进行测定, 通过正交试验确定最佳提取工艺参数。结果表明, 该刺麒麟菜中水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪含量分别为 12.93%, 22.68%, 4.19%和 0.58%。最佳提取工艺参数由正交试验确定为: 常温下, 9% KOH 处理 5 h, 90 °C 提取 4 h。得到凝胶强度为 59 g/cm², 产率为 47.6%的 ι-卡拉胶产品。

关键词: 刺麒麟菜(*Euचेuma spinosum*); 基本成分; ι-卡拉胶; 提取工艺; 正交实验

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)12-0063-05

卡拉胶 Carrageenan 又叫作鹿角菜胶或鹿角藻胶, 是从麒麟菜属、杉藻属或角叉菜属等红藻中提取的极有经济价值的红藻多糖, 是由 D-半乳糖和 3,6-内醚半乳糖残基所组成的线性多糖, 残基中带有酯式硫酸盐基团^[1]。常见的卡拉胶根据含有硫酸酯的位置和数量的多少分为 κ-(Kappa)型、ι-(Iota)型和 λ-(Lamda)型等几种类型。κ-卡拉胶是 D-半乳糖-4-硫酸盐和 3,6-内醚-D-半乳糖的交互聚合物。ι-卡拉胶类似, 特殊处在于 3,6-内醚半乳糖是在 2 位碳形成硫酸盐^[2-3]。常见的商品化卡拉胶主要有 κ-、ι-和 λ-三种类型, 前两种的应用较广泛。目前, 卡拉胶被广泛应用于食品、化工、医药等诸多工业领域。其中, 最新医药应用方面, 卡拉胶降解产物的活性研究已得到充分开展, 如抗凝血、抗病毒、抗肿瘤等^[4-5]。此外, 卡拉胶还具有较强的生物活性^[6]。而且, 随着医药工业中植物性胶囊壳产业的迅猛兴起, 大有植物性原料替代动物性原料的趋势, 而植物性胶囊壳的生产原料之一就是卡拉胶, 这将使其需求量成倍增加^[7]。据统计, 2000 年卡拉胶年产量已突破 2.5 万 t, 但市场需求量每年仍以 5%~10% 的速度递增^[8]。多年来, 国际、国内市场均以 κ-卡拉胶为主, 约占市场份额的 80% 以上。事实上, ι-卡拉胶在很多方面比 κ-卡拉胶更具优势。首先, ι-卡拉胶形成的凝胶柔软且富于弹性、触变性及抗溶稳定性, 同时具有更好的保水性, 这些优良性质, 使得其在食品、化妆品、医药等行业中有着更广泛的应用价值和潜力^[9]。而 κ-卡拉胶形成的凝胶硬而脆, 容易泌水, 导致其应用范围受到一

定限制。其次, ι-卡拉胶的提取原料是大量生长于印尼等广阔海域的刺麒麟菜 *Euचेuma spinosum*, 这种海藻易于养殖且生长速度快, 价格低廉, 大约是 κ-卡拉胶的提取原料耳突麒麟菜 *Euचेuma cottonii* 价格的三分之二。但是, 国际市场每吨 ι-卡拉胶成品的价格却比 κ-卡拉胶高 2.5 倍左右, 这是由于 ι-卡拉胶的生产工艺复杂, 成本居高不下造成的。另外, 卡拉胶产品的质量随着所用原料和生产工艺的不同而存在显著性差异^[10]。目前, 国内外文献、专利中涉及最多的还是 κ-卡拉胶方面的研究, 对 ι-卡拉胶尚缺乏整体系统的研究。因此, 优化其提取工艺, 降低成本, 是目前此领域科学研究的热门课题。本研究通过正交试验优选出 ι-卡拉胶最佳提取工艺参数, 为其产业化提供数据基础, 其次还报道了刺麒麟菜的基本化学成分分析结果。

1 材料与方法

1.1 材料

刺麒麟菜(*Euचेuma spinosum*) 2009 年 7 月取自印尼海域, 3 mol/L 盐酸、浓硝酸、无水硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸、甲基红指示剂、邻苯二甲酸氢钾、氢氧化钠、无水乙醚、氢氧化钾、95%乙醇, 以上试

收稿日期: 2010-10-15; 修回日期: 2011-03-08

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2009RM018)

作者简介: 朱敏(1984-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物的分离与分析, E-mail: zhumin020262@126.com; 张立新, 通信作者, 副教授, 博士, E-mail: lxzhanghot@hotmail.com

剂除邻苯二甲酸氢钾为优级纯外,其他均为分析纯试剂。

1.2 刺麒麟菜的基本化学成分分析

1.2.1 水分测定^[11]

将采来的刺麒麟菜洗净、除杂、晾干后,用 105 烘箱法测定水分含量。

1.2.2 灰分测定^[11]

将晾干备用的刺麒麟菜粉碎,用高温灼烧法测定其灰分含量。

1.2.3 粗蛋白测定^[11]

将晾干备用的刺麒麟菜样品研细、过筛、恒重后,取一定量以微量凯氏定氮法测定粗蛋白含量。

1.2.4 粗脂肪测定^[11]

将晾干备用的刺麒麟菜样品研细、过筛、恒重,用索氏抽提法测定粗脂肪含量。

1.3 卡拉胶提取工艺

准确称取洗净晒干的刺麒麟菜 20 g,用不同浓度的 KOH 溶液浸泡,以藻体完全浸没为准。浸泡一定时间后,滤去碱液,用大量清水洗净藻体至 pH 为 7~8。将洗净沥干后的藻体剪成 1 cm 左右的小段,投入 25~30 倍的去离子水中,并在 80~90 下使之煮沸。用 200 目尼龙纱布滤去藻渣,将得到的胶液冷却至 40~50 进行脱水处理后,再用尼龙纱布挤压过滤,滤饼在鼓风干燥箱中干燥即得到成品 ι -卡拉胶。

工艺过程:刺麒麟菜 洗净晾干 碱液浸泡
浸洗 提胶 精滤 沉淀 干燥 卡拉胶
产品

1.4 正交实验设计

1.4.1 单因素实验

选取 KOH 浓度、碱处理时间、提胶时间、提胶温度,4 个因素分别在一定范围内取值。浓度实验固定碱处理时间为 5 h、提胶时间 3 h、提胶温度 80 °C,碱处理时间实验固定碱浓度为 6%、提胶时间 3 h、提胶温度 80 °C,提胶时间实验固定碱浓度 6%、碱处理时间 5 h、提胶温度 80 °C、提胶温度实验固定碱浓度 6%、碱处理时间 5 h、提胶时间 3 h,同时考查凝胶强度(G)和产率(Y)两个指标。

1.4.2 正交试验

根据各单因素初筛实验结果,分别确定碱浓度(A)、时间(B)、温度(C)、提取时间(D)作为考察因素,每个因素拟定 3 个水平,选 (L_93^4) 正交表。

1.4.3 卡拉胶产率的测定^[12]

ι -卡拉胶产品中的水分采用 105 °C 烘箱法测定。

$$\text{产率 } Y(\%) = \frac{\text{产品重量} \times (1 - \text{产品水分}\%)}{\text{原料重量} \times (1 - \text{原料水分}\%)} \times 100$$

1.4.4 凝胶强度的测定

在已知重量的烧杯中加入 98 mL 去离子水,其中分散 2.00 g ι -卡拉胶(ι -卡拉胶中应含有足够的钙离子以形成良好的凝胶,若提取物中缺 Ca^{2+} ,则除了加入 KCl 之外,还要加入 0.4 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),移入沸水浴中加热搅拌。内容物温度升至 80 °C 左右时,取出称重,用去离子水调整净重为 100 g,则卡拉胶浓度为 2%。将杯内溶液倾入 3 个结晶皿中,将结晶皿放入 10 °C 水浴中保温 2 h,然后取出结晶皿,用凝胶强度测定仪测定凝胶强度,求 3 次测量平均值^[13]。

2 结果

2.1 刺麒麟菜的基本化学成分分析

对刺麒麟菜进行基本化学成分分析,结果见下表 1。

表 1 刺麒麟菜的基本营养成分

Tab. 1 Contents of general components of *Eucheuma spinosum*

营养成分	含量(%)
水分	12.93
灰分*	22.68
蛋白质*	4.19
脂肪*	0.58

注: *以干基计

由刺麒麟菜的基本营养成分表可以看出刺麒麟菜矿物质含量较丰富,但蛋白质、脂肪类含量较低。

2.2 单因素实验

由于影响 ι -卡拉胶整个提取过程的品质和产率的 4 个重要因素为:碱处理浓度、碱处理时间、提胶温度、提胶时间,首先通过单因素试验确定各自的敏感范围。实验结果见表 2。

综合 ι -卡拉胶的凝胶强度和产率两个指标,分析表 2 中实验数据得出:4 个因素的最佳取值范围分别是:碱浓度 7%~9%、处理时间 5~7 h、提取时间 3~4 h、提取温度 80~90 °C。

2.3 正交试验

根据各单因素初筛实验结果,分别确定碱浓度

(A)、碱处理时间(B)、提取温度(C)、提取时间(D)作为考察因素, 每个因素拟定 3 个水平, 见表 3, 选用(L₉3⁴)正交表, 实验安排见表 4。

表中列出了 k_1 、 k_2 、 k_3 其中 k_1 表示每一列的第一水平所对应的数据之和的平均值; k_2 表示每一列的第二水平所对应的数据之和的平均值; k_3 表示每一列

表 2 单因素实验表

Tab. 2 Single-factor experiment

序号	碱液浓度 (%)	凝胶强度 (G) (g/cm ²)	产率 (Y) (%)	处理时间 (h)	凝胶强度 (G) (g/cm ²)	产率 (Y) (%)	提取时间 (h)	凝胶强度 (G) (g/cm ²)	产率 (Y) (%)	提取温度 (°C)	凝胶强度 (G) (g/cm ²)	产率 (Y) (%)
1	4	43	39.2	3	40	42.0	2.0	40	38.7	60	40	39.6
2	6	45	43.4	4	43	42.9	2.5	43	39.1	65	40	40.7
3	8	50	45.3	5	45	43.4	3.0	45	43.4	70	40	41.2
4	10	54	42.9	6	50	44.7	3.5	46	43.8	75	43	42.3
5	12	59	39.7	7	57	45.1	4.0	49	44.9	80	45	43.4
6	14	63	38.6	8	60	43.6	4.5	50	43.6	85	49	44.0
7	16	65	37.1	9	63	41.0	5.0	51	43.1	90	50	44.9
8	18	75	36.7	10	66	39.2	5.5	51	43.1	95	50	42.5

表 3 正交实验因素水平表

Tab. 3 Orthogonal factor level table

水平	A 碱浓度 (%)	B 处理时间 (h)	C 提取温度 (°C)	D 提取时间 (h)
1	7	5	80	3.0
2	8	6	85	3.5
3	9	7	90	4.0

表 4 L₉ (3⁴) 试验表

Tab. 4 L₉ (3⁴) orthogonal table

实验号	因素				凝胶强度 (G) (g/cm ²)	评分	产率 (Y) (%)	评分	综合评分 (Q)
	A	B	C	D					
1	1	1	3	2	46	0.00	45.6	7.83	7.83
2	1	2	1	1	50	1.67	42.7	3.00	4.67
3	1	3	2	3	57	4.59	42.3	2.33	6.92
4	2	1	2	1	52	2.50	44.5	6.00	8.50
5	2	2	3	3	67	8.75	42.9	3.33	12.08
6	2	3	1	2	59	5.42	41.7	1.33	6.75
7	3	1	1	3	60	5.83	46.9	10.00	15.83
8	3	2	2	2	62	6.67	41.3	0.67	7.34
9	3	3	3	1	70	10.00	40.9	0.00	10.00
$K_1(G)$	51	53	56	57	$K_1(Y)$	43.5	45.7	43.8	42.7
$K_2(G)$	59	60	57	56	$K_2(Y)$	43.0	42.3	42.6	42.9
$K_3(G)$	64	62	61	62	$K_3(Y)$	43.1	41.6	43.2	44.0
R	13	9	5	6	R	0.5	4.1	1.2	1.3
$K_1(Q)$	6.47	10.74	9.08	7.72					
$K_2(Q)$	9.11	8.03	7.59	7.31					
$K_3(Q)$	11.06	7.89	9.97	11.61					
R	4.59	2.85	2.38	4.30					

的第三水平所对应的数据之和的平均值。 R 表示极差即每一列中 k 的最小值和最大值之差。评分标准: 每列的最小值和最大值分别评为0.00分和10.00分, 每行对应的评分=(该行的 G 或 Y 值- G 或 Y 的最小值)/(该列 G 或 Y 的最大值与该列 G 或 Y 的最小值之差), 综合评分中 k_1 、 k_2 、 k_3 的算法同上。

由表4中的极差大小可以看出: 影响凝胶强度的程度为 $A>B>D>C$; 影响产率的程度为 $B>D>C>A$; 影响综合指标的程度为 $A>D>B>C$, 即碱液浓度对凝胶强度和卡拉胶产率综合影响最大, 其次为提取时间, 然后是处理时间, 影响最小的因素是提取温度。直观分析表明从刺麒麟菜中提取 ι -卡拉胶的最佳工艺参数为 $A_3B_1C_3D_3$, 即碱浓度为9%, 碱处理时间为5 h, 提胶温度为90℃, 提取时间为4 h。按照上述最佳工艺提取卡拉胶, 得到凝胶强度为59 g/cm², 产率为47.6%, 综合评分为16.59的 ι -卡拉胶产品。

3 结论

从刺麒麟菜基本营养成分分析结果得到, 其水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪含量分别为12.93%、22.68%、4.19%和0.58%, 是一种矿物质含量较丰富, 蛋白质和脂肪类物质含量较少的海洋红藻。

由单因素实验结果分析得出, 实验条件在碱浓度7%~9%、处理时间5~7 h、提取时间3~4 h、提取温度80~90℃范围波动时, 提取得到的 ι -卡拉胶产品在凝胶强度和产率上均占有优势。在确定各单因素影响敏感范围的基础上, 进行了三水平四因素的正交试验。最终得出最佳工艺参数为: 9% KOH 常温下(25~30℃)处理5 h, 90℃温度下提取4 h。结果表明, 按本文提供的最佳工艺参数, 提取到的 ι -卡拉胶凝胶强度可达到59 g/cm², 产率达到47.6%。本工艺参数不仅使产品的质量和产量大大提高, 而且降低了生产成本, 为生产实践提供数据基础。

总之, 医用和食用特性 ι -卡拉胶的研制, 不仅开拓了海藻化工行业领域, 而且大大降低了 ι -卡拉胶的生产成本, 提高了产品附加值, 具有非常乐观的市场前景。

参考文献:

- [1] 宁发子, 何新益, 殷七荣, 等. 卡拉胶的特性与应用[J]. 食品工业, 2002, 3: 30-32.
- [2] Srinivas J, Rengaswami C. Heterogeneity in iota-carrageenan molecular structure: insights for polymorph transition in the presence of calcium ions[J]. Carbohydr Res, 2008, 343: 364-373.
- [3] 胡亚芹, 竺美. 卡拉胶及其结构研究进展[J]. 海洋湖沼通报, 2005, 1: 94-102.
- [4] Zhou Gefei, Yao Wenhong, Wang Changhai, et al. Kinetics of microwave degradation of lambda-carrageenan from *Chondrus ocellatus* [J]. Carbohydr Polym, 2006, 64(1): 73-77.
- [5] Luescher-Mattli M. Algae, a possible source for new drugs in the treatment of HIV and other viral diseases[J]. Curr Med Chem Anti-Infect Agents, 2003, 2: 219-225.
- [6] 周革非, 魏元臣, 孔娜娜, 等. ι -卡拉胶降解组分的分离纯化、抗氧化及免疫活性研究[J]. 海洋科学, 2009, 33(8): 58-62.
- [7] 郑琴, 陈青阳, 杨明, 等. 空胶囊的研究现状及解决中药胶囊吸潮问题的思考[J]. 2007, 19 (6): 74-77.
- [8] 刘芳, 赵谋明, 彭志英. 卡拉胶与其他多糖类协同作用机理的研究进展[J]. 食品科学, 2000, 4: 8-12.
- [9] 韩国华, 李海霞, 吴杨桦. 菲律宾刺生麒麟菜提取 ι -卡拉胶的工艺探讨[J]. 食品与机械, 2001, 83(3): 31-32.
- [10] Fred V, Anna S A, Harry S R, et al. The structure of j/i-hybrid carrageenans II. Coil-helix transition as a function of chain composition[J]. Carbohydr Res, 2005, 340: 1113-1129.
- [11] 范晓, 严小军, 韩丽君. 海藻化学分析方法[M]. 青岛: 学苑出版社, 1995: 44-115.
- [12] 国家技术监督局. GB 15044 - 1994 食品添加剂-卡拉胶[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.
- [13] 王铭和. 琼胶和卡拉胶的生产和应用[M]. 广东: 海洋出版社, 2001: 98-119.

Analysis of compositions of *Eucheuma spinosum* and studies on the technological parameters in ι-carrageenan extraction from this alga

ZHU Min¹, ZHANG Li-xin¹, SHI Da-yong²

(1. Institute of Chemistry, Chemical Engineering and Environment, Qingdao University, Qingdao 266071, China;
2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Oct., 15, 2010

Key words: *Eucheuma spinosum*; compositions; ι-carrageenan; technological parameters; orthogonal experiments

Abstract: In order to provide plenty data for ι-carrageenan production, the chemical compositions of *Eucheuma spinosum* were analyzed and technological parameters for ι-carrageenan extraction from this alga were studied. By oven drying method, ignition, Kjeldahl method and Soxhlet extraction, the contents of water, ash, crude protein and crude fat in *Eucheuma spinosum* were determined to be 12.93%, 22.68%, 4.19%, and 0.58%, respectively. The optimal parameters were established by orthogonal design to be treated with 9% potassium hydroxide for 5 hours under room temperature and extracted for 4 hours at 90 °C. The yield of extraction was 47.6% and the gel strength of ι-carrageenan product was 59 g/cm².

(本文编辑: 康亦兼)

《海洋科学》2012年征订启事

《海洋科学》是由中国科学院海洋研究所主办、科学出版社出版的学术性期刊,是中国自然科学核心期刊、华东地区优秀期刊、山东省优秀期刊。本刊以密切联系生产实际、服务于我国现代化建设为宗旨,及时、快速报道海洋学及其分支学科的新成果、新理论、新观点、新工艺及新进展等,对重大科研和应用性研究成果特别予以优先报道。主要刊载内容有:海洋生物、海洋水产生产、海洋活性物质提取、海洋环境保护、海洋物理、物理海洋、海洋地质、海洋化学、海洋工程、海洋仪器研制等方面的学术论文、研究报告、研究简报、专题综述、学术讨论和争鸣、学术动态以及新产品介绍(有偿刊登)等。

本刊为月刊,每月15日出版,大16开本,96页,每期定价30元,全年定价360元。本刊国内外公开发行(国际刊号:ISSN1000-3096;国内刊号:CN37-1151/P;国内邮发代码:2-655;国外发行代号:M6666)。全国各地邮局均可订阅。欢迎各科研机构、高等院校、生产厂家和从事该领域研究的科技人员踊跃订阅。邮局订阅不便者可直接向本刊编辑部订购。本刊发行量在同类期刊中名列前茅,订户遍及全国20多个省、市、自治区,影响面广,宣传力大,欢迎广大的广告客户在本刊刊登广告,价格优惠。

欢迎订阅《海洋科学》 欢迎广告惠顾

《海洋科学》编辑部地址:山东省青岛市南海路7号,266071

电话及传真:0532-82898755

E-mail: pxzhang@qdio.ac.cn