

用于固定化载体的褐藻酸钙凝胶条件的研究*

韩丽君 范晓 郑乃余

(中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室, 青岛 266071)

收稿日期 1991年3月8日

关键词 固定化载体, 褐藻酸嵌段结构, 褐藻酸钙凝胶强度

摘要 本文测定了用于固定化载体的几种马尾藻和海带褐藻胶 (Na-Alginate) 同 Ca^{2+} 离子的结合速度、结合量和凝胶强度。同时比较了褐藻酸钠的浓度、粘度对褐藻酸钙凝胶强度的影响及其相互之间的关系。

已有的研究工作表明^[3,4], 褐藻酸凝胶的性质取决于聚合链中 L-古罗糖醛酸片段 (G-嵌段) 相邻嵌段的长度和比例。但是迄今国内有关报告均是使用没有明确理化特性的商业褐藻胶作为固定化载体, 这样就存在一定的盲目性。本文在实验中选用了几种来源丰富、在实验室中提取的已知化学特性的马尾藻褐藻酸钠为凝胶载体原料^[1], 测定了它们同 Ca^{2+} 形成凝胶的速度, 结合 Ca^{2+} 的结合量, 形成褐藻酸钙的凝胶强度并与海带褐藻酸钙凝胶进行了比较, 从而确认了几种影响凝胶强度的因素, 为褐藻酸钙作为固定化载体的有关化学性质及其合理使用提供了某些理论依据。

I. 实验材料与方法

I.1. 实验材料

选用了4种褐藻原料的褐藻酸钠样品。它的制备方法是称取一定重量的干燥的海藻样品剪碎至1cm长, 水洗两次后加入0.3% HCl 浸泡1h, 再水洗后加入1.5% 甲醛浸泡过夜, 水洗。加入一定量1.5% Na_2CO_3 溶液, 在70~75°C下搅拌加热提取1.5h, 然后粗过滤、冲稀、沉降、精过滤, 再加入稀 HCl 酸化, 大约老化1h后用尼龙布过滤, 水洗。最后加入4% NaOH 溶液, 搅拌溶解, 用乙醇脱水, 无水乙醇洗涤, P_2O_5 真空干燥^[1]。

I.1.1. 海黍子 (*Sargassum kjellmanianum*) 褐藻酸钠。1%浓度时的粘度为58CPS。

(样品水份14%)

I.1.2. 海蒿子 [*S. pallidum*, 产地海南岛] 褐藻酸钠。1%浓度时的粘度为67CPS。(样品水份15%)

I.1.3. 鼠尾藻 (*S. thumbergii*, 产地青岛) 褐藻酸钠。1%浓度时的粘度为62CPS。(样品水份15%)

I.1.4. 中国海带 (*Laminaria japonica*) 褐藻酸钠为商用样品。1%浓度时的粘度为65CPS 和1350CPS。(样品水份15%)

II. 实验方法

II.1. 采用络合滴定法测定钙离子浓度使用 EDTA 标准溶液, 三乙醇胺作掩蔽剂及钙红指示剂。

II.2. 褐藻酸钠同 Ca^{2+} 结合速度的测定将30mL一定浓度的褐藻酸钠用滴管在距液面20cm左右高度上以6mL/min速度滴到不同浓度的 CaCl_2 溶液中, 滴入的褐藻酸钠溶液在含有大量 Ca^{2+} 的溶液中迅速反应, 形成比较均匀的直径约为3~4mm的凝胶珠, 然后在5, 35, 95, 155, 215min 时用 EDTA 标准溶液滴定溶液中残余的 Ca^{2+} 的浓度, 以此来测定各种褐藻酸钠结合 Ca^{2+} 的速度。

II.3. 褐藻酸钙凝胶强度的测定 使用中

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1996号。

1) 郑乃余, 1989。褐藻胶的化学结构与吸附二价金属离子功能关系的研究。硕士论文。

国科学院海洋研究所自己研制的凝胶强度测定仪,以 g/珠(平均值)表示。

III. 结果与讨论

III.1. 褐藻酸钠同 Ca^{2+} 的结合速度和结合量

几种褐藻酸钠在不同初始 CaCl_2 溶液浓度中同 Ca^{2+} 离子的结合速度见表 1。由实验结果可知,实验中采用的几种马尾藻和海带的褐藻酸钠在反应进行到 35 min 时基本达到了动态平衡。平衡后的结合量不仅取决于 CaCl_2 的初始浓度,而且还与褐藻酸钠的来源(M/G)有关。(见表 2)

由表 2 可知,在相同条件下海黍子褐藻酸钠的结合量比海带褐藻酸钠大,即不同 M/G 的褐藻酸钠在相同浓度 CaCl_2 溶液中的结合量随褐藻酸钠原料的不同而有较大差异。在实验中还就粘度的影响作了比较,结果发现,褐藻酸钠同 Ca^{2+} 离子的结合速度基本不受褐藻酸钠粘度的影响(见表 3),结合量的差异也甚微。实验还表明,褐藻酸钠浓度的变化对 Ca^{2+} 离子的结合速度无明显影响(见表 4)。

我们认为,马尾藻褐藻酸钠和海带褐藻酸钠对 Ca^{2+} 的结合速度及结合量的差异可能是由于它们本身的化学结构决定的。X-射线图谱分析表明,古罗糖醛酸是容易与金属离子结合的活性部分^[2],该种段块含量越高,G-G 二聚重复单元的比例越大,活性部分越多, Ca^{2+} 离子与不同链上的古罗糖醛酸结合的机会也多。海带褐藻胶的 M/G 比值为 1.80 左右,海蒿子,海黍子和鼠尾藻等马尾藻胶则分别为 1.50, 1.22, 1.27(郑乃余, 1989)。从 M/G 比值看出,马尾藻中古罗糖醛酸的含量要比海带中的多,也就意味着同 Ca^{2+} 离子结合的活性部分也多。文献[6]用 M·G 嵌段长度的比例进行解释,即 G 段长度越长,结合 Ca^{2+} 离子能力也越大。我们计算海带褐藻胶的 G 段平均长度为 2.5 ($\bar{N}_G = 2.5$),海黍子褐藻胶 $\bar{N}_G = 5.0$ 。马尾藻的 G 嵌段平均长度远远大于海带。另外根据 Grant^[3] 等人提出的褐藻胶结合二价金属离

子的“蛋箱模型”来分析, Ca^{2+} 离子处于弯曲的古罗糖醛酸分子链内部,与分子链上的羧基和羟基配位。而 M 嵌段上甘露糖醛酸的分子链不是弯曲状而是直线状的,它与 Ca^{2+} 离子的结合不能协同二聚化,只能用 2 个 $-\text{COOH}$ 配位。因此,G 嵌段 $\bar{N}_G$ 越长协同二聚化越多,与 Ca^{2+} 离子结合的也就多。

III.2. 褐藻酸钙凝胶强度的影响因素

III.2.1. 初始 CaCl_2 浓度 褐藻酸钙凝胶强度实验表明,凝胶珠的机械强度与 CaCl_2 浓度无关。但褐藻酸钠种类之间的差异是不容忽视的。如表 5 所示,在相同粘度条件下海黍子、海蒿子和鼠尾藻 3 种马尾藻褐藻酸钙在 5 种不同浓度的 CaCl_2 溶液中的机械强度均在 110g 珠以上。海带褐藻酸钙凝胶珠的强度只有 76 g/珠,明显低于马尾藻褐藻酸钙。这也与褐藻胶的 M/G 比值有关,马尾藻褐藻酸钠 G 含量高,对 Ca^{2+} 离子的结合能力强,加入 Ca^{2+} 离子后立即形成凝胶,因此其凝胶珠的机械强度大。M 含量高的海带褐藻酸钠加入 Ca^{2+} 离子后,凝胶逐渐形成,褐藻酸钙凝胶珠的强度相应也差。

III.2.2. 褐藻酸钠的粘度 以海带胶为例,浓度 1%,当粘度为 65CPS 时的褐藻酸钠在 3% CaCl_2 溶液中形成的褐藻酸钙凝胶珠的强度为 76g/珠。粘度为 1350CPS 时,在相同 CaCl_2 溶液中其强度则为 110g/珠。在相同条件下,粘度越高,凝胶珠的机械强度越大。这一差异被认为是分子量的不同引起的^[7]。粘度越高相应分子量也大,其褐藻酸钙凝胶珠的机械强度也大。

III.2.3. 褐藻酸钠的浓度 实验表明,褐藻酸钠的浓度对凝胶珠的机械强度有很大影响。褐藻胶浓度(%)为 1, 2, 3 时其凝胶强度(g/珠)分别为 76, 133, 145。从而可知,褐藻酸钠浓度越高,其凝胶珠的机械强度也相应越大。凝胶强度的大小直接受褐藻酸钠浓度的影响。

上述的实验结果与 Martisen^[6] 等人所做结果相吻合,即低浓度的褐藻酸钠形成的褐藻

表 1 5 种褐藻酸钠在不同 Ca^{2+} 浓度中的结合速度

Tab. 1 The binding rate in varied Ca^{2+} conc. for five species of Na-alginate

样 品	CaCl ₂ (%)									
	1		2		3		5		8	
	反应时间 (min)									
	5	35	5	35	5	35	5	35	5	35
	结合 Ca ²⁺ (%)									
海黍子褐藻酸钠	0.13	0.17	0.23	0.28	0.31	0.42	0.42	0.75	0.82	1.04
海蒿子褐藻酸钠	0.12	0.17	0.21	0.32	0.35	0.49	0.54	0.75	1.15	1.20
鼠尾藻褐藻酸钠	0.14	0.18	0.22	0.31	0.39	0.49	0.62	0.86	0.88	1.12
海带褐藻酸钠 1	0.06	0.10	0.14	0.22	0.16	0.31	—	0.52	0.58	0.72
海带褐藻酸钠 2	0.06	0.11	0.13	0.24	0.16	0.24	0.25	0.48	0.42	0.85

表 2 5 种褐藻酸钠在不同 Ca^{2+} 浓度中的结合量

Tab. 2 The binding capacities of five species of Na-alginate with varied Ca^{2+} concentration

样 品	$\text{CaCl}_2(\%)$				
	1	2	3	5	8
	结合量				
海蒿子褐藻酸钠	0.006 7	0.012 5	0.019 2	0.029 4	0.047 1
鼠尾藻褐藻酸钠	0.007 1	0.012 2	0.019 2	0.037 7	0.043 9
海黍子褐藻酸钠	0.006 7	0.011 0	0.016 5	0.029 4	0.040 8
海带褐藻酸钠 1	0.003 9	0.008 6	0.012 2	0.020 4	0.028 2
海带褐藻酸钠 2	0.004 3	0.009 4	0.009 4	0.018 8	0.033 3

表 3 不同粘度褐藻酸钠同 Ca^{2+} 离子的结合速度

Tab. 3 The binding rate of Na-alginate with Ca in different alginate viscosity

粘 度 (CPS)	时 间 (min)			
	5	35	95	155
	结合 $\text{Ca}^{2+}(\%)$			
65	0.88	1.03	1.03	1.03
1 350	0.88	0.96	0.99	0.99

表 4 不同浓度的海带褐藻酸钠同 Ca^{2+} 的结合速度

Tab. 4 The binding rate of Na-alginate with Ca in different Na-alginates concentration

时间(min)	样品浓度(%)		
	1	2	3
	剩余 Ca(%)		
5	0.70	0.73	0.68
35	0.58	0.59	0.57
95	0.59	0.58	0.56
155	0.58	0.59	0.56
215	0.57	0.58	0.56
575	0.57	0.58	0.56

注：样品为海带褐藻胶。

表 5 4 种褐藻酸钠在不同 Ca^{2+} 浓度中的凝胶强度

Tab. 5 The gel strength for four different species of alginates in different Ca concentration

样 品	$\text{CaCl}_2(\%)$				
	1	2	3	5	8
	凝胶强度 (g/珠)				
海黍子褐藻酸钠	111	110	112	110	114
海蒿子褐藻酸钠	121	111	113	119	118
鼠尾藻褐藻酸钠	120	119	121	117	121
海带褐藻酸钠	—	—	76	—	—

酸钙其凝胶强度主要受褐藻酸钠粘度(分子量)的影响。当褐藻酸钠浓度增大至一定程度时,影响褐藻酸钠凝胶强度的主要因素不是粘度,而是褐藻酸钠本身的浓度,它们二者之间有着密切的关系。因此,用褐藻胶作固定载体时应首先对褐藻酸钠的理化性质进行分析研究,才能得到褐藻酸钠凝胶载体理想的实验结果。

参考文献

- [1] 纪明侯、徐祖洪、纪祥礼等, 1982. 褐藻酸钠对放射性锶阻吸作用的研究. 水产学报 6 (4): 321~329.
- [2] 顾柯楠, 1987. 关于褐藻胶作为固定化载体的研究. 海洋科学 4: 71~72.
- [3] 纪明侯、曹文达、韩丽君, 1981. 褐藻酸中糖醛酸组分的测定, 海洋与湖沼 12 (3): 240~247.
- [4] 张克旭、张永志, 1986. 用海藻酸钙固定化赖氨酸菌增殖细胞的初步研究. 海洋工程学报 12 (3): 66~69.
- [5] Grant, G.T., E.R. Morros, D.A. Rees, 1973. Biological Interactions Between Polysaccharides and Divalent Cations: The Egg-box Model. *FEBS Letters* 32 (1): 195-198.
- [6] Martinsen A., G. Skjak-Braik, and O. Smidsrod, 1987. Alginate as Immobilization Materials: 1 Correlation Between chemical and Physical Properties of Alginate Gel Beads. *Biot. and Bioe.* 33: 79-89.
- [7] Peter S. J. Cheetham, Kevin W. Blunt, and Christopher Bucke, 1979. Physical Studies on Cell Immobilization Using Calcium Alginate Gels. *Biotechnology and Bioengineering* 21: 2155-2 168.

STUDY ON THE Ca-ALGINATE GELLING CONDITION AS STABILIZATION CARRIER

Han Lijun, Fan Xiao and Zheng Naiyu

(Experimental Marine Biology Laboratory Institute of Oceanology, Academia sinica, Qingdao 266071)

Received: Mar. 8, 1991

Key Words: Alginate, Gelling strength, Ca-Alginate

Abstract

The combination speed, combination capacity and gelling strength of several *Sargassos* and Na-Alginate with Ca^{2+} ions are measured. The effect and interrelationship of concentration, viscosity of Na-Alginate upon gelling strength of Ca-Alginate are compared.