

中国常见褐藻的多酚含量测定*

严 小 军

(中国科学院海洋研究所)

褐藻多酚是从褐藻中提取出的新型海洋天然物质,具有生物活性和医药价值,因而对开发海洋药物具有重要意义。它与陆生植物单宁质的化学反应性能基本相同 (Ogino, 1962), 因此可采用单宁质的测量分析技术对其进行分析。Temple (1982) 认为单宁质的测量技术可分为容量分析、重量分析、比色分析和色谱分析,由于容量分析、重量分析方法缺乏化合物结构选择性,而色谱分析更适用于组分的分离,且操作条件复杂;因而目前国内外大多数国家采用美国分析化学协会 (Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 1970) 的比色分析方法,即使钨钼酸盐氧化酚类化合物形成有色的钼蓝复合物,然后作比色分析。本文采用此法对我国几种常见褐藻进行了多酚含量分析。

一、材料和方法

1. 试剂 (1) 间苯三酚; (2) Folin-Denis 试剂为磷酸钨钼复合物,将 20 g 钨酸钠、80 g 磷钼酸钠、50 mL (85%) 磷酸及 750 mL 水混合,加热回流 2 h,冷却后加水定容至 1L。

2. 材料 (1) 新鲜海藻: 海黍子 (*Sargassum kjellmanianum*)、鼠尾藻 (*Sargassum thunbergii*)、海带 (*Laminaria japonica*)、裙带菜 (*Undaria pinnatifida*) 于 1993 年 5 月 17 日采自青岛市太平角及青岛第二海水养殖场之间潮间带,羊栖菜 (*Sargassum fusiforme*) 于 1993 年 5 月 20 日采自山东省荣成石岛; (2) 褐藻干品: 鼠尾藻干粉 (1989 年 7 月 1 日制)、裙带菜干粉 (1982 年 5 月 4 日制)、海蒿子 (*Sargassum pallidum*) 干粉 (1989 年 7 月 1 日制)、海黍子干粉 (1991 年 4 月 15 日制)、裂叶马尾藻 (*Sargassum siliquastrum*) 干粉 (1991 年 11 月 5 日制)、两种马尾藻 (*S. spp*) 干粉 (1993 年夏制)。

3. 含量分析方法 (1) 标准工作曲线绘制: 取间苯三酚标准溶液 1 mL 置于 15 mL 试管中,加水稀释至 7 mL,混合均匀,加入 0.5 mL Folin-Denis 试剂摇匀,3 min 后加入 2 mL 饱和碳酸钠溶液,定容至 10 mL,混合充分。对形成之有色复合物用 721 型分光光度计测其不同波长的吸光值 (O. D)、有色复合物吸光度随时间的变化以及不同浓度标准溶液的吸光度。(2) 新鲜海藻样品前处理: 新鲜海藻样品以聚乙烯塑料袋采集,送

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2582 号。
收稿日期: 1995 年 4 月 11 日。

至实验室后迅速除去附生植物,淡水洗净,滤纸拭干待用。(3)褐藻样品的干重测定:用TN型托盘式扭力天平准确称取1g褐藻样品,在105℃烘箱内烘至恒重,称量即为干重。(4)褐藻多酚提取:准确称取1g新鲜海藻,用研钵磨碎放入50 mL溶剂转移至组织捣碎器中提取1 h,以低速离心机(约2000 r/min, 30 min)离心、过滤、减压,蒸去有机溶剂后加蒸馏水定容至50 mL待测,提取两次。所用溶剂有乙醇(80%)、丙酮(70%)、甲醇(85%)、硫酸(0.1 mol/L)、碳酸钠(0.5%)。褐藻干粉也以上法处理。(5)褐藻多酚的比色分析:操作同标准工作曲线绘制。

二、结果与讨论

1. 标准工作曲线制作 酚类物质与Folin-Denis试剂在碱性条件下发生氧化还原反应,形成蓝色的钨钼蓝复合物(Cotton & Wilkinson, 1962)。从图1中可见这一反应物溶液有较宽的吸收区域,选取吸光值最大的吸收波长710nm作为工作波长。图2反映了络合物的成色稳定性,这一络合物能够迅速生成,成色也相对稳定。图3为绘制的标准

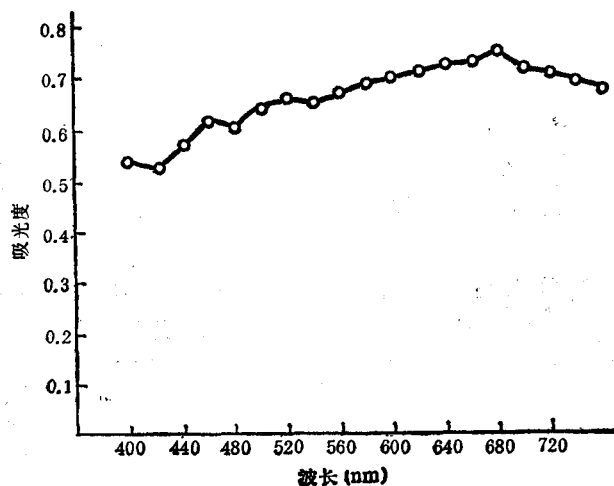


图1 间苯三酚反应物的吸光曲线

表1 不同溶媒对海黍子褐藻多酚的提取效率

溶 媒	新鲜样品吸光度		干燥样品吸光度	
	第一次	第二次	第一次	第二次
85% 甲醇	0.36	0.05	0.40	0.17
80% 乙醇	0.31	0.03	0.37	0.18
70% 丙酮	0.31	0.08	0.28	0.14
0.1mol/L 硫酸	0.34	0.06	0.45	0.09
0.5% 碳酸钠	0.40	0.08	0.47	0.10

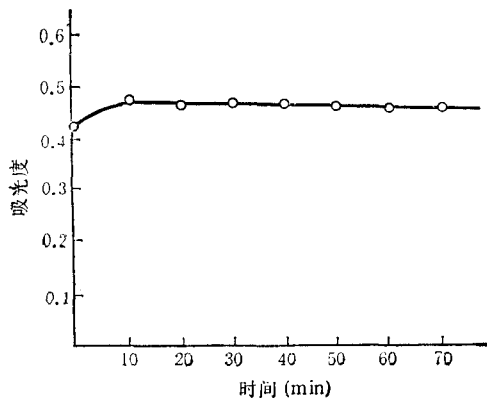


图 2 间苯三酚反应物吸光值随时间的稳定性

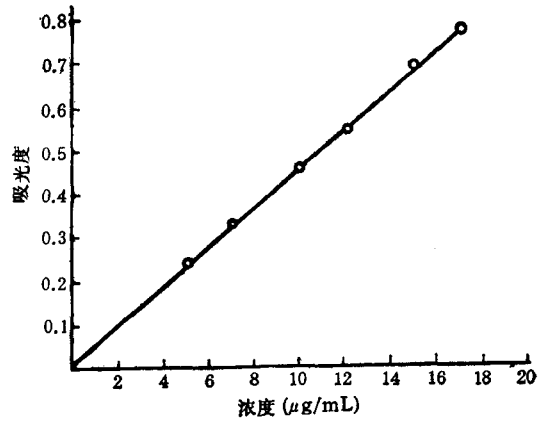


图 3 间苯三酚反应的标准工作曲线

表 2 中国沿海常见褐藻的多酚含量

新 鲜 海 藻*	干重(%)	多酚(%)
海带 <i>L. japonica</i>	17.1	0.3
裙带菜 <i>U. pinnatifida</i>	15.5	0.1
海黍子 <i>S. kjellmanianum</i>	14.3	2.8
茎部 stipe	19.6	2.9
气囊 airbladder	8.7	2.9
鼠尾藻 <i>S. thunbergii</i>	12.4	0.9
羊栖菜 <i>S. fusiforme</i>	15.3	2.0
褐 藻 干 粉	干重(%)	多酚(%)
裙带菜 <i>U. pinnatifida</i>	83.3	—
鼠尾藻 <i>S. thunbergii</i>	85.5	0.2
海蒿子 <i>S. pallidum</i>	87.1	0.7
海黍子 <i>S. kjellmanianum</i>	85.0	0.7
裂叶马尾藻 <i>S. Siliquastrum</i>	83.5	0.5
马尾藻 <i>S. sp.</i>	82.5	0.1
马尾藻 <i>S. sp.</i>	84.5	0.4

* 新鲜实验材料从海藻藻体顶端选取

工作曲线图,吸光度 = 0.046x + 0.01 (x 为浓度), 相关系数为 0.99 参比物为 C₆H₆O₃ · 2H₂O。

2. 褐藻的溶媒提取效率 从表 1 可以看出,褐藻新鲜样品的溶媒提取以甲醇提取率为最高,少量样品细磨之后,一次提取甚佳。但由于甲醇具有较大毒性,尤其对人视神经有害,不宜作大规模提取之溶媒。丙酮价格高,碳酸钠提取溶液粘性较大,稳定性较差,这两种方法亦不宜采用。因此,作者认为以乙醇和稀硫酸提取效果较好。

对于干粉样品来说,褐藻多酚的有机提取率普通较低,而以 0.5% 碳酸钠提取效果最好,硫酸提取效果居中。一次提取有效率比新鲜海藻差。

3. 褐藻多酚的含量比较 表 2 的测定结果表明,中国常见褐藻中(包括海带、裙带菜、海黍子、鼠尾藻、羊栖菜等)均含有数量不等的多酚,尤以海黍子含量最高,达干重的 2.8%;羊栖菜次之,为 2.0% (干重);其次是鼠尾藻为 0.9% (干重)、海带 0.3% (干重)和裙带菜 0.1% (干重)。

褐藻干品的多酚含量较新鲜品为低,但仍较其他藻类高。由于褐藻干粉的一次提取有效率较新鲜海藻差,因此通过简单的处理方法不能将其迅速提取出来。褐藻酚类物质对褐藻胶的粘度和纯度影响很大 (Smidsrod, 1963)。在中国海藻工业中,马尾藻褐藻胶提取的前处理效率不如海带好,褐藻多酚含量高,且不易去除是一个重要因素。

青岛沿海有大量的海黍子和鼠尾藻资源,它们大多分布于岩石海岸潮间带,落潮时十分易于采集,是实验用的良好材料。

参 考 文 献

- Association of Official Analytical Chemists, 1970, Tannin (17)-Official Methods of Analysis of the AOAC, 11th edn, (Horwitz ed.), AOAC, Washington, D. C., 154.
- Cotton, F. A. & G. Wilkinson, 1962, Advanced Inorganic Chemistry, A Comprehensive Text, Interscience (Wiely), New York, 956.
- Ogino, C., 1962, Tannins and Vacuolar Pigments, in Physiology and Biochemistry of Algae (Lewin, R. A. ed.), Academic Press, New York and London, 437—443.
- Ragan, M. A. & A. Jensen, 1977, Quantitative studies on brown phenols. I. Estimation of absolute polyphenols content of *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **34**: 245—258.
- Smidsrod, O. *et al.*, 1963, Degradation of alginate in the presence of reducing compounds, *Acta Chem. Scand.*, **17**:2628—2637.
- Temple, A., 1982, Tanninmeasuring techniques:a review, *J. Chem. Ecol.*, **8**:1289—1298.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHLOROTANNINS FROM SOME CHINESE COMMON BROWN SEAWEEDS*

Yan Xiaojun

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences*)

ABSTRACT

Phlorotannins are polymers of phloroglucinol known only from brown algae with various bioactivities. Folin-Denis method was used to determine the contents of phlorotannins from some Chinese common brown seaweeds. The results showed that *Sargassum* was rich in phlorotannins, e.g. 2.8% (dry weight) for *Sargassum kjellmanianum*, 2.0% (dry weight) for *Sargassum fusiforme* and can be good resource for phlorotannins extraction.

* Contribution No. 2582 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.