doi:10.12301/j.issn.2095-6002.2021.01.013　　文章编号:2095-6002(2021)01-0117-09
引用格式:杨贺棋, 何沁峰, 董秀瑜, 等. 可食性褐藻纤维素的分离纯化与结构分析[J]. 食品科学技术学报,2021,39(1):117-125.
YANG Heqi, HE Qinfeng, DONG Xiuyu, et al. Isolation, purification and structural analysis of cellulose from edible brown seaweeds[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021,39(1):117-125.

可食性褐藻纤维素的分离纯化与结构分析

杨贺棋, 何沁峰, 董秀瑜, 周　新, 李欣蔚, 赵梓印,
周　慧, 何云海, 汪秋宽, 武　龙*
(大连海洋大学 食品科学与工程学院, 辽宁 大连　116023)

摘　要: 以我国主要可食性褐藻海带和裙带菜为对象,对其中的纤维素成分进行分离纯化,并分析纤维素的结构属性。海带的纤维素含量明显高于裙带菜,二者纤维素的提取率分别达原料干质量的 5.59% 及 2.61%。通过酸水解-高效液相色谱分析及傅里叶变换红外光谱分析,提取的纤维素的纯度分别达 99.86% 及 98.91%。海带纤维素的平均聚合度为 813,高于裙带菜纤维素的 315。粉末 X 射线衍射分析揭示了 2 种褐藻纤维素均具有天然高度结晶性结构,结晶度指数分别达 72.06% 和 71.48%,与市售高等植物来源微晶纤维素的水平相当。对 X 射线衍射图谱的进一步解析表明:褐藻纤维素的结晶性区域以单链三斜晶系(I_α)为主,显著区别于高等植物纤维素的双链单斜晶系(I_β)为主的结构。研究结果以期为优质膳食纤维资源的开发提供参考。

关键词: 褐藻; 细胞壁; 多糖; 多晶型; 膳食纤维
中图分类号: TS254.2; TQ281　　**文献标志码:** A

大型海藻被认为是一种开发潜力巨大的"碳平衡"可再生生物资源,已受到全球广泛关注[1]。联合国粮农组织统计显示,世界海藻总产量在 2010 ~ 2015 年间增长了 52.1%,其中大型褐藻占到总产量的 36.5%[2]。我国是世界第一大经济海藻及可食性褐藻生产国。与 FAO 统计基准不同[3],2017 年我国大型褐藻海带及裙带菜养殖产量分别达 148.7 万 t 和 16.7 万 t,合计占到当年海藻养殖总产量的 74.2%,且近 5 年二者合计产量的增幅达 39.2%,产业发展势头强劲[4]。

纤维素由 D-葡萄糖单元经 β-(1→4)糖苷键聚合而成,作为细胞壁骨架成分广泛存在于陆生及海洋植物当中。褐藻细胞壁具有双层结构,其外层为褐藻胶与硫酸化岩藻多糖组成的无定形基质;而纤维素作为内层纤维状骨架嵌入其中,赋予细胞壁结构强度[5]。纤维素含量一般占褐藻干质量的 2% ~ 20%,仅次于褐藻胶而居多糖类物质的第二位[6]。除供食用外,海带等大型褐藻还是工业提取褐藻胶等有价值化学品的原料,纤维素在提胶残渣中得到富集,含量可达藻渣的 42%[7]。从生物炼制的角度出发,褐藻纤维素因不受木质素、半纤维素等拮抗性成分的保护,在可及性、功能性及综合利用可行性方面均具有潜在的优势[8]。

纤维素是植物源不溶性膳食纤维的核心成分。最近,微粒化纤维素(微米或纳米尺度)的体外功能特性与体内降低血脂、调节血糖等生理活性已得到

收稿日期: 2019-08-25
基金项目: "蓝色粮仓科技创新"国家重点研发计划项目(2019YFD0901800); 现代农业产业技术体系藻类产业技术体系资助项目(CARS-50); 辽宁省博士科研启动基金计划项目(2019-BS-036); 辽宁省教育厅科学研究经费项目(QL201907)。
第一作者: 杨贺棋,女,硕士研究生,研究方向为海洋生物资源综合利用。
* 通信作者: 武　龙,男,副教授,博士,主要从事海洋生物资源综合利用方面的研究。

报道[9-11]。目前,不溶性膳食纤维相关研究普遍关注其功能评价与应用研发,而纤维素的结构属性对理化性质与功能特性的影响及其调控机制仍有待深入研究。在海洋源健康食品得到产学研各方及消费大众日益关注的背景下,本研究以我国主要食用经济褐藻海带和裙带菜为对象,着眼纤维素的分离纯化与结构分析,以期为优质膳食纤维资源的开发以及褐藻精深加工与资源综合利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

海带(*Saccharina japonica*)、裙带菜(*Undariapinnatifida*),养殖于大连附近海域(旅顺柏岚子养殖场,38°45′22.0″N 121°13′13.5″E),收获于 2017 年 5 月,由养殖企业提供,洗净自然风干后室温密闭贮存备用。

纤维素(Sigmacell Type 101)、微晶纤维素(Avicel PH-101),美国 Sigma-Aldrich 公司;铜乙二胺(1 mol/L 水溶液),美国 Acros Organics 公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

GL-21M 型高速冷冻离心机,长沙湘仪仪器离心机有限公司;Scientz-10N 型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;乌氏黏度计(毛细管孔径 0.5 mm),上海申谊玻璃制品有限公司;3 L 单罐型球磨机,宜兴市丁蜀浩强机械厂;1260 Infinity 型高效液相色谱仪(配备紫外-可见光检测器),美国 Agilent 公司;Venusil XBP-C18 型色谱柱,美国 Phenomenex公司;Nicolet iS50 型傅里叶变换红外光谱仪,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;X'Pert Pro MPD 型粉末 X 射线衍射仪,荷兰 PANalytical 公司;Jade 6.0 版 X 射线衍射数据分析软件,美国 MDI 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 原料预处理

干燥海带与裙带菜原料分别用小型粉碎机粉碎,过 60 目筛,密封保存于干燥器中备用。

1.3.2 基本成分测定

水分测定:直接干燥法[12]。总灰分测定:高温灼烧法[13]。粗蛋白含量测定:凯氏定氮法[14]。粗脂肪含量测定:索氏抽提法[15]。

海带中甘露醇质量分数采用分光光度法进行测定[16];褐藻胶质量分数(以褐藻酸钠计)采用质量法进行测定[17]。

1.3.3 褐藻纤维素提取

海带或裙带菜粉末在室温下以甲醇浸泡 12 h,过滤;滤渣用去离子水洗涤后用乙酸调节 pH 值至 2~3 后,加入适量亚氯酸钠,于通风橱内 60 ℃下搅拌处理 3 h,洗涤、过滤至滤液呈中性。滤渣于 0.5 mol/L氢氧化钠溶液中60 ℃搅拌处理6 h,洗涤、过滤至滤液呈中性。然后滤渣置于 1.5 mol/L 盐酸溶液中煮沸,静置 12 h,洗涤、过滤至滤液呈中性。最后将所得滤渣以叔丁醇离心洗涤 3 次后冷冻干燥,密封贮存备用[18]。

1.3.4 褐藻纤维素理化性质分析

1.3.4.1 基本成分测定

按 **1.3.2** 方法对从 2 种褐藻中提取的纤维素的基本成分进行测定。提取样品的总固形物、总可溶性固形物含量参考美国可再生能源国家实验室(National Renewable Energy Laboratory,NREL)方法进行分析[19]。

1.3.4.2 葡聚糖质量分数测定

采用硫酸分步水解—高效液相色谱法对所提取纤维素样品的葡聚糖质量分数进行分析[20]。

硫酸分步水解:取 100 mg 样品于消化管内,加 1 mL质量分数 72% 硫酸,25 ℃水浴下玻璃棒搅拌反应 1 h,加水稀释至硫酸质量分数为 3%,密闭管盖后置于高温灭菌锅内,121 ℃下反应 60 min,冷却后适当稀释并用碳酸钙中和,离心取上清液(水解液)待测。葡萄糖作为硫酸分步水解对照组用以修正第二步水解过程中单糖的损失。

高效液相色谱分析:配置一定浓度梯度的甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖标准溶液。取 200 μL 标准溶液或水解液样品,以 0.5 mol/L 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)-甲醇溶液于70 ℃衍生处理 90 min,随后去除有机相并取水相样品进行高效液相色谱分析[21]。分析条件为柱温 30 ℃,流速 1 mL/min,检测波长 250 nm;流动相 A 为体积分数 15% 乙腈水溶液(含 50 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液,pH 值6.0),流动相 B 为体积分数40% 乙腈水溶液(含 50 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液,pH 值 6.0);洗脱梯度如表 1。

水解液单糖质量分数根据浓度-色谱峰面积标准曲线求算。样品葡聚糖质量分数按式(1)计算:

$$w(\text{葡聚糖}) = \frac{0.9 \times m(\text{水解液中葡萄糖})}{m(\text{水解前样品干质量})} \times 100\% 。 \quad (1)$$

式(1)中，m(水解液中葡萄糖)、m(水解前样品干质量)，g。

表 1　高效液相色谱分析流动相洗脱梯度

Tab. 1　Elution gradient of mobile phase for HPLC analysis

t/min	0	10	55	56
φ(流动相 A)/%	100	85	50	100
φ(流动相 B)/%	0	15	50	0

1.3.4.3　红外光谱分析

将纤维素样品用球磨机研磨粉碎，过 200 目筛，以 1∶100 质量比与溴化钾混合于玛瑙研钵中研磨均匀，压片，置于傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy，FT-IR)仪样品槽中，在波数 400 ~ 4 000 cm^{-1} 以透射模式进行分析，扫描次数 32 次，分辨率为 0.5 cm^{-1}。

1.3.4.4　聚合度分析

采用铜乙二胺黏度法对所提取纤维素样品的固有黏度进行分析，进而根据式(2)计算样品平均聚合度(degree of polymerization，DP)[22]：

$$DP^{0.85} = 1.1 \times \eta 。 \quad (2)$$

式(2)中，η 为样品固有黏度，Pa·S。

1.3.4.5　粉末 X 射线衍射分析

将纤维素样品均匀填满 X 射线衍射仪样品槽中，以 Cu Kα 射线(λ = 0.154 2 nm，发生于 50 kV、300 mA)进行分析，在散射角度 2° ~ 60° 以 0.02° 分辨率测定衍射强度，扫描速度 2°/min。根据衍射图谱(衍射强度对衍射角绘图)，按式(3)计算样品的结晶度指数(crystallinity index，CrI)[23]。

$$CrI = \frac{(I_c - I_a)}{I_c} \times 100\% 。 \quad (3)$$

式(3)中，I_c 为结晶性区域的衍射强度，在图谱最高峰(衍射角 $2\theta \approx 21.8°$)处取得；I_a 为无定型区域衍射强度，在 2θ 为 18.0° 附近的波谷处取得。

进而在 Jade 6.0 分析软件中使用 pseudo-Voigt 函数对 10 ~ 30° 的衍射图谱进行拟合分析，以获得不同晶面衍射峰的衍射角 2θ、半峰全宽(full width at half maxima，FWHM)等参数[24]。根据拟合所得数据，运用谢乐(Scherrer)公式[式(4)]以及布拉格(Bragg)定律[式(5)]，计算结晶结构的晶粒尺寸与晶面间距[25]。

$$L = 0.9 \times \lambda / (H \times \cos\theta) ； \quad (4)$$

$$d = n \times \lambda / (2 \times \sin\theta) 。 \quad (5)$$

式(4)、式(5)中，L 为垂直于晶面方向的晶粒尺寸，nm；λ 为 X 射线波长，nm；H 为 FWHM，rad；θ 为掠射角，rad；d 为晶面间距，nm；n 为正整数。

1.4　数据处理

数据用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理及显著性分析($P < 0.05$)，并以 3 次平行实验测定的平均值 ± 标准偏差表示。

2　结果与分析

2.1　褐藻纤维素分离纯化结果

海带和裙带菜原料的基本成分如表 2，数据与文献报道结果相符[26-29]。作为我国乃至东亚地区主要食用褐藻种类，二者均含有丰富的碳水化合物、矿物质及蛋白质，属于低能量、高膳食纤维的“健康”食品材料。2 种原料均富含褐藻胶，直接食用可提供丰富的可溶性膳食纤维，海带因其褐藻胶含量更高且产量大也被用作工业提胶原料。二者的矿物质含量均较高，且裙带菜显著高于海带；据报道矿物质主要以藻酸盐的形式存在于细胞壁中，主要包括钾、钠、钙等碱及碱土金属元素[28,30]。裙带菜样品的粗蛋白含量显著高于海带。海带中则含有更多的甘露醇。此外 2 种海藻的脂类物质含量均较低。

表 2　海带及裙带菜样品的基本组成

Tab. 2　Basic composition of kelp and wakame samples　　%

	w(水分)	w(灰分)	w(粗脂肪)	w(粗蛋白)	w(甘露醇)	w(褐藻胶)
海带测量值	5.85 ± 0.08	27.04 ± 0.02	0.46 ± 0.03	7.84 ± 0.01	27.91 ± 0.56	27.55 ± 4.97
海带报道值	–	20.62[26]	0.80[26]	9.78[26]	23.1[27]	25.6[27]
裙带菜测量值	5.14 ± 0.68	38.58 ± 0.18	未检出	15.16 ± 0.74	10.79 ± 0.11	23.66 ± 1.32
裙带菜报道值	–	37.58[26]	1[28]	16.80[28]	10.73[29]	27.06[27]

除水分外，其他成分均为占干质量的百分比；褐藻胶以褐藻酸钠计。

为了有效分离褐藻纤维素,确保其纯度及提取率,本研究针对样品成分特点设计了多步提取及纯化路线。海带及裙带菜原料经过洗涤,脱色,酸、碱处理,冷冻干燥后,均得到具有疏松结构的白色纤维状物质。提取物经硫酸分步水解后,其水解液样品的高效液相色谱洗脱曲线均仅有 1 个特征峰,对照标准品保留时间判定为葡萄糖,见图 1。通过标准曲线计算可知,2 种样品中葡聚糖质量分数分别达(99.86 ± 2.12)% 及(98.91 ± 3.45)% (以干质量计,n = 3)。因提取物的可溶性物质含量极低(小于 0.04%),可见原料中的“杂质”成分得到了有效去除,所提取物质为高纯度不溶性葡聚糖。对 2 种提取样品及市售纤维素试剂进行 FT-IR 分析,如图 2。可见 3 种样品具有高度一致的红外吸收图谱,表明其具有一致的化学组成与基本结构。一定波数处的特征峰及其官能团归纳见表 3,对照文献报道结果[7],可见提取自 2 种褐藻的样品均具有典型纤维素特征吸收。以上定量与定性分析结果表明,所提取物质均为高纯度纤维素。经测定,海带纤维素的灰分质量分数为(0.93 ±0.09)%,裙带菜纤维素灰分质量分数为(1.02 ±0.34)%;海带与裙带菜纤维素的提取率分别为原料干质量的 5.59% 及 2.61%。

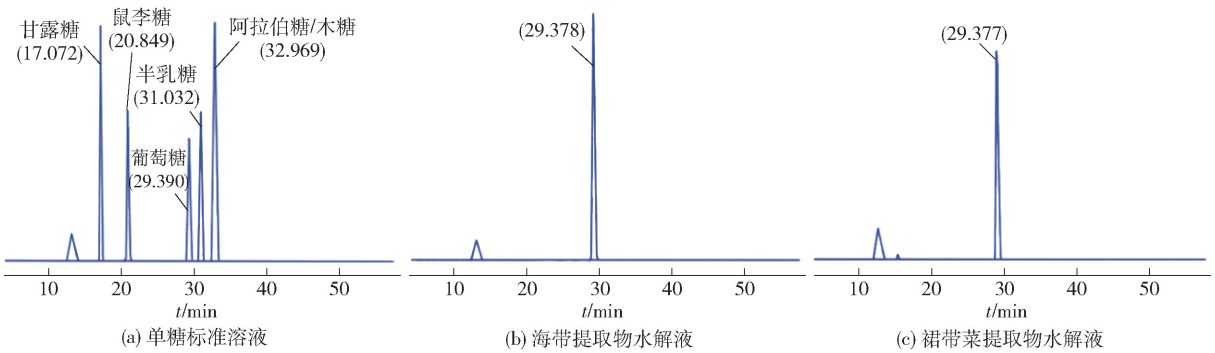

图 1 样品硫酸水解产物高效液相色谱

Fig. 1 HPLC of H_2SO_4 hydrolysates of samples

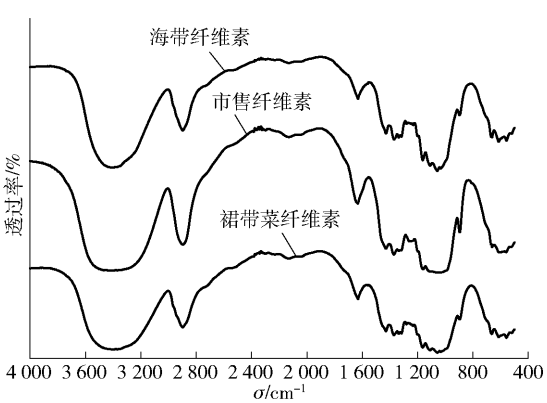

图 2 3 种纤维素样品 FT-IR 分析

Fig. 2 FT-IR analysis of three cellulose samples

作为细胞壁的骨架成分,纤维素赋予其结构强度进而发挥支撑与保护细胞的作用。海带较高的纤维素含量与其相对坚韧的质地相符;而裙带菜的纤维素含量较低,质地更加柔软。据报道用于提取褐藻胶的大型褐藻原料,如巨藻(*Macrocystispyrifera*),其纤维素含量可达 8.14%,已不适于食用[31]。本研究结果也表明:作为我国主要可食性褐藻,海带和裙带菜除含有丰富的可溶性膳食纤维外,还可以提供一定量的不溶性膳食纤维,而海带的不溶性膳食纤维含量相对较高。

表 3 3 种纤维素样品 FT-IR 特征吸收比较

Tab. 3 Comparisons of FT-IR characteristic absorption for three cellulose samples

官能团	σ/cm^{-1}		
	海带纤维素	裙带菜纤维素	市售纤维素
羟基伸缩振动	3 373	3 384	3 398
—CH、—CH_2 伸缩振动	2 894	2 899	2 893
结合水羟基弯曲震动	1 633	1 633	1 635
—CH_2 弯曲振动	1 431	1 434	1 433
糖苷键 C—O—C 伸缩振动	1 166	1 169	1 168
糖苷键异头碳 C—H 摇摆振动	897	897	898

2.2 褐藻纤维素结构分析

2.2.1 分子结构

成分分析表明,提取的褐藻纤维素的纯度较高,其酸水解产物为单一葡萄糖。纤维素的聚合度指分子链中所连接的葡萄糖单元的数目,聚合

度对纤维素理化性质有着重要的影响[9,32]。本研究采用黏度法测定了海带及裙带菜纤维素样品的平均聚合度，结果如表 4。在本实验条件下制备所得海带纤维素的聚合度远高于裙带菜纤维素；而所得 2 种褐藻纤维素的聚合度均显著低于高等植物来源纤维素。有报道指出，纤维素的聚合度对其持水能力（膳食纤维的重要理化指标之一）具有显著影响，但对持水能力变化规律与影响机制的研究尚不充分[9]。另一方面，添加富含纤维素的高等植物不溶性膳食纤维会对食品的感官品质、稳定性及加工特性带来一定的负面影响[33-34]。可见，褐藻所含相对“短链”纤维素值得在不溶性膳食纤维强化食品研发中得到更多关注。

表 4　3 种纤维素样品的聚合度

Tab. 4　Degree of polymerization of three cellulose samples

样品	聚合度
海带纤维素	812.67 ± 14.12
裙带菜纤维素	315.38 ± 9.56
市售纤维素（Sigmacell Type 101）	976.36 ± 11.64

2.2.2　聚集态结构

天然纤维素的直链葡聚糖结构使其易于通过分子内及分子间氢键形成致密有序的结晶结构，从而呈现较清晰的 X 射线衍射图谱。纤维素的聚集态结构是指纤维素分子间的相互排列情况（晶区和非晶区、晶胞大小及形式、分子链在晶胞内的堆砌形式等）。结晶区与无定形区的比例、结晶的完善程度，均随纤维素的种类而异。事实证明，超分子结构是影响纤维素性能的直接因素，既包括其作为高分子材料的使用性能，也涉及其作为膳食纤维的功能特性。

2.2.2.1　结晶程度

本研究中 4 种纤维素样品的 X 射线衍射图谱（衍射强度随衍射角的变化）见图 3，其中微晶纤维素是天然纤维素通过强酸水解去除部分无定形区后的产物。由图 3 可知，海带、裙带菜及微晶纤维素的主要衍射峰峰型较为尖锐，分离度较高，体现出更加有序的结构；而所有样品均呈现出天然纤维素的 I 型结晶结构[18]。结晶性区域占纤维素整体的百分比被定义为结晶度，对于 I 型结晶结构可以通过式（3）求算结晶度指数进行评价。4 种样品的 CrI 值计算结果如表 5。除市售纤维素（Sigmacell Type 101）外，其他 3 种样品的 CrI 值均大于 70%，说明其中结晶性区域占比较高，整体结构更加有序。值得注意的是 2 种褐藻纤维素在未经进一步处理的情况下结晶度指数与市售微晶纤维素接近；这一结果也高于大多数文献报道的高等植物来源纤维素[9,35-36]。纤维素结晶程度对于其悬浮与乳化稳定性、热稳定性与水合能力具有显著影响，但其作用机制还有待进一步研究确认[9]。此外，研究结果也表明：以褐藻纤维素为原料制备微晶或纳米结晶纤维素，有望简化工艺，降低制备过程强度并提高产物得率与产品性状。

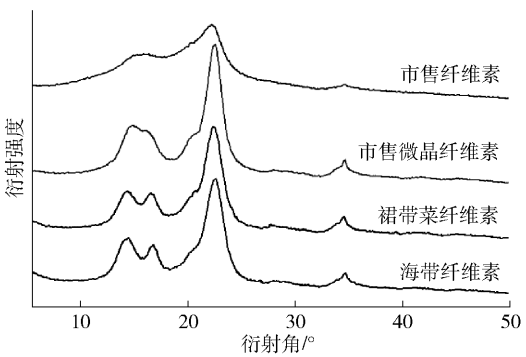

图 3　4 种纤维素样品的 X 射线衍射图谱

Fig. 3　X-ray diffractograms of four cellulose samples

表 5　4 种纤维素样品的结晶指数

Tab. 5　Crystallinity index of four cellulose samples

样品	*CrI*/%
市售纤维素（Sigmacell Type 101）	36.30
市售微晶纤维素（Avicel PH-101）	77.28
裙带菜纤维素	71.48
海带纤维素	72.06

2.2.2.2　多晶型结构

氢键排布的不同使纤维素具有多晶型结构。在天然纤维素 I 型结晶结构中存在 2 种相互伴生的晶型，即 I_α 型（单链三斜晶系）和 I_β 型（双链单斜晶系），二者的比例与纤维素的来源密切相关[37]。通过对 X 射线衍射数据进行深入分析，可以获取其晶体结构的详细信息。本研究首先在数据分析软件中使用 pseudo-Voigt 函数对 10 ~ 30°的衍射图谱进行了峰型拟合分析，获取了 2 种晶型 4 个主要晶面衍射峰的衍射角、半峰全宽等关键参数（见表 6）。拟合结果见图 4 及表 7，拟合误差小于一般要求的 9%[38]。其中市售纤维素（Sigmacell Type 101）因结晶程度较低，衍射峰分离度较差，晶面 c 已无法拟合。

表 6 不同晶面 X 射线衍射峰的峰型拟合分析

Tab. 6 Analysis of X-ray diffraction peaks from different lattice planes

衍射峰	晶面指数			
	a	b	c	d
I_α	(100)	(010)	(−1−12)	(110)
I_β	(1−10)	(110)	(012, 102)	(200)

a、b、c、d 表示 4 种主要晶面。

根据拟合所得参数,运用谢乐公式以及布拉格定律,求得各样品的晶粒尺寸与晶面间距,计算结果如表 8。海带、裙带菜纤维素在晶面 d 垂直方向的晶粒尺寸相当,略小于微晶纤维素,而远大于市售纤维素,也印证了此取向上晶粒尺寸与晶体结构完整度正相关的观点[25]。据报道晶粒尺寸对纤维素的理化性质也具有影响,热稳定性随晶粒尺寸减小而降低[39-40]。晶粒尺寸对纤维素膳食纤维功能特性的影响尚未见报道。2 种褐藻纤维素样品晶面间距计算结果高度一致,且在晶面 a、b 方向上显著区别于高等植物纤维素样品,与文献报道结果相符[40],也体现出晶胞空间结构上的差异。Wada 等[41]提出了判断纤维素多晶型结构的经验公式[式(6)],并已得到广泛应用。

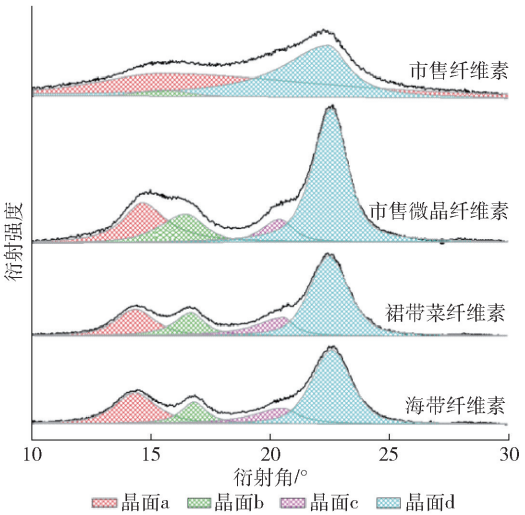

图 4 4 种纤维素样品 X 射线衍射图谱峰型拟合结果

Fig. 4 Profile fitting of X-ray diffractograms of four cellulose samples

表 7 4 种纤维素样品 X 射线衍射图谱峰型拟合所得参数

Tab. 7 Parameters obtained from profile fitting of X-ray diffractograms of four cellulose samples

样品	衍射角/°				半峰全宽/rad			
	晶面 a	晶面 b	晶面 c	晶面 d	晶面 a	晶面 b	晶面 c	晶面 d
市售纤维素(Sigmacell Type 101)	15.402	15.413	–	22.360	11.014	2.388	–	3.402
市售微晶纤维素(Avicel PH-101)	14.555	16.378	20.306	22.477	2.190	2.201	1.556	1.715
裙带菜纤维素	14.258	16.596	20.469	22.364	1.954	1.509	1.901	1.939
海带纤维素	14.232	16.728	20.413	22.497	2.090	1.274	2.215	1.964

$$Z = 1\,693 d_a - 902 d_b - 549。\qquad (6)$$

式(6)中,Z 为晶系判别系数,当 $Z>0$ 时结晶结构以 I_α 型为主,$Z<0$ 时以 I_β 型为主;d_a 及 d_b 分别为计算所得晶面 a 与晶面 b 所对应的晶面间距(nm)。计算结果(表 8)表明海带和裙带菜纤维素的 Z 值均为正值,显示其结晶结构以 I_α 晶型为主,而 2 种市售纤维素的 Z 值均为负,表明其中 I_β 晶系占主导。有研究指出,I_α 构型较 I_β 构型在热力学上更加不稳定[42],更易于参与生化反应[43]。海带和裙带菜所含不溶性膳食纤维的独特结构与其相关功能特性的内在联系有待进一步研究。

表 8 4 种纤维素样品的晶粒尺寸、晶面间距及 Z 值计算结果

Tab. 8 Calculation results of crystallite size, d-spacing and Z values of four cellulose samples

样品	晶粒尺寸/nm				晶面间距/nm				Z 值
	晶面 a	晶面 b	晶面 c	晶面 d	晶面 a	晶面 b	晶面 c	晶面 d	
市售纤维素(Sigmacell Type 101)	0.729	3.360	–	2.383	0.575	0.574	–	0.397	−93.948
市售微晶纤维素(Avicel PH-101)	3.660	3.650	5.192	4.727	0.608	0.541	0.437	0.395	−7.304
裙带菜纤维素	4.101	5.325	4.250	4.180	0.621	0.534	0.434	0.397	20.388
海带纤维素	3.834	6.308	3.648	4.128	0.622	0.530	0.435	0.395	26.087

3 结　论

本研究以我国主要可食性褐藻海带和裙带菜为原料,通过多步分离纯化工艺,在相对温和的处理条件下提取褐藻纤维素。结果表明:提取的纤维素具有较高纯度,而海带的纤维素含量明显高于裙带菜。海带纤维素的聚合度明显高于裙带菜,但二者均显著低于高等植物纤维素。通过粉末 X 射线衍射分析,对褐藻纤维素的超分子结构进行了研究。结果显示:2 种褐藻纤维素均具有天然高度结晶性结构,其结晶度指数达到市售微晶纤维素的水平,明显高于多数陆生高等植物纤维素。所提取褐藻纤维素具有典型 I 型结晶结构,且其基本结构单元以单链三斜晶系为主,显著区别于陆生高等植物。鉴于可食性褐藻所含不溶性膳食纤维的独特结构,其理化性质以及在营养健康与食品加工方面的功能特性值得食品科技领域更多研究关注。本研究结果旨在为优质膳食纤维资源的开发以及我国经济褐藻资源的高效率、高值化、可持续利用提供理论参考。

参考文献:

[1] CHUNG I K, BEARDALL J, MEHTA S, et al. Using marine macroalgae for carbon sequestration: a critical app-raisal[J]. Journal of Applied Phycology, 2011, 23(5): 877 – 886.

[2] FAO Fisheries and Aquaculture Department. Global production statistics 1950 – 2015[R/OL]. [2019 – 01 – 10]. http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/query/en.

[3] 徐忠,赵文武,李利冬. 中国与 FAO 渔业统计对比研究[J]. 世界农业,2017(5):122 – 129.
XU Z, ZHAO W W, LI L D. A comparative study of fishery statistics between China and FAO[J]. World Agriculture,2017(5):122 – 129.

[4] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018: 23.
Fisheries and Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018: 23.

[5] DAVIS T A, VOLESKY B, MUCCI A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae[J]. Water Research, 2003, 37(18): 4311 – 4330.

[6] RAVANAL M C, SHARMA S, GIMPEL J, et al. The role of alginate lyases in the enzymatic saccharification of brown macroalgae, *Macrocystispyrifera* and *Saccharinalatissima*[J]. Algal Research, 2017, 26: 287 – 293.

[7] LIU Z, LI X, WEI X, et al. Extraction, isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from industrial kelp (*Laminaria japonica*) waste[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 173(1):353 – 359.

[8] 何沁峰, 胡建恩, 卢航, 等. 大型海藻纤维素的提取与分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(11): 378 – 382.
HE Q F, HU J E, LU H. Extraction and analysis of cellulose from macroalgae[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(11): 378 – 382.

[9] NSOR-ATINDANA J, CHEN M, GOFF H D, et al. Functionality and nutritional aspects of microcrystalline cellulose in food[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 172: 159 – 174.

[10] 陆红佳. 纳米甘薯渣纤维素降血糖血脂的功效及其分子机理的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015: 29 – 125.
LU H J. Research on hypoglycemic and hypolipidemic effects and mechanism of cellulose nanocrystals from sweet potato residues[D]. Chongqing: Southwest University, 2015: 29 – 125.

[11] 马梦梅. 孜然膳食纤维改性及降血糖活性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016: 31 – 89.
MA M M. Study on modification and anti-hyperglycemic activity of deoiled cumin dietary fiber[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016: 31 – 89.

[12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品中水分的测定: GB 5009.3—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1 – 2.

[13] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品中灰分的测定: GB 5009.4—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1 – 4.

[14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1 – 3.

[15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品中脂肪的测定: GB 5009.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1 – 2.

[16] 刘桂君, 尚宏忠, 李赛飞, 等. 细脚拟青霉甘露醇含量的测定[J]. 食品科学, 2011, 32(22): 226 – 229.
LIU G J, SHANG H Z, LI S F. Determination of mannitol in paecilomyces tenuipes mycelium and its culture

medium[J]. Food Science,2011, 32(22): 226 – 229.

[17] 尚德荣, 宁劲松, 赵艳芳, 等. 海带中褐藻胶含量测定方法的建立[J]. 食品科技, 2011, 36(8): 252 – 254.
SHANG D R, NING J S, ZHAO Y F, et al. Establishment of the determination on kelp alginate[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(8): 252 – 254.

[18] HE Q F, WANG Q K, ZHOU H, et al. Highly crystalline cellulose from brown seaweed *Saccharina japonica*: isolation, characterization and microcrystallization[J]. Cellulose, 2018, 25(10): 5523 – 5533.

[19] National Renewable Energy Laboratory (NREL). Technical report: determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples (NREL/TP-510-42621) [R/OL]. (2008-03-31)[2019 – 01 – 10]. https: // www. nrel. gov/docs/gen/fy08/42621. pdf.

[20] WU L, KUMAGAI A, LEE S H, et al. Synergistic effect of delignification and treatment with the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate on enzymatic digestibility of poplar wood[J]. Bioresource Technology, 2014, 162: 207 – 212.

[21] DAI J, WU Y, CHEN S W, et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliellasalina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(3): 629 – 635.

[22] QUINTANA E, RONCERO M B, VIDAL T, et al. Cellulose oxidation by laccase-TEMPO treatments[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 1488 – 1495.

[23] SEGAL L C, CREELY J, MARTIN A E J, et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer[J]. Textile Research Journal, 1959, 29(10): 786 – 794.

[24] WADA M, OKANO T, SUGIYAMA J. Synchrotron-radiated X-ray and neutron diffraction study of native cellulose[J]. Cellulose, 1997, 4(3): 221 – 232.

[25] POLETTO M, HEITOR L, J'UNIOR O, et al. Native cellulose: structure, characterization and thermal properties[J]. Materials, 2014, 7: 6105 – 6119.

[26] SMITH J L , SUMMERS G, WONG R. Nutrient and heavy metal content of edible seaweeds in New Zealand [J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2010, 38(1): 19 – 28.

[27] 唐丽薇. 海带生物质的预处理及甘露醇组分的乙醇转化研究[D]. 昆明:昆明理工大学,2014.
TANG L W. The study of pretreatment of *Laminaria japonica* biomass and ethanol transformation of mannitol [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology,2014.

[28] TABOADA M C, MILLÁN R, MIGUEZ M I. Nutritional value of the marine algae wakame (*Undariapinnatifida*) and nori (*Porphyra purpurea*) as food supplements[J]. Journal of Applied Phycology, 2013, 25: 1271 – 1276.

[29] 纪明侯,张燕霞. 我国经济褐藻的化学成分研究Ⅰ. 各种经济褐藻的主要化学成分[J]. 海洋与湖沼, 1962(z2):161 – 168.
JI M H, ZHANG Y X. Study on the chemical composition of economic brown algae in my country Ⅰ. The main chemical components of various economic brown algae [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1962 (z2): 161 – 168.

[30] SCHIENER P, BLACK K, STANLEY M, et al. The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminariadigitata*, *Laminariahyperborea*, *Saccharinalatissima* and *Alariaesculenta*[J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27: 363 – 373.

[31] RAVANAL M C, PEZOA-CONTE R, VON SCHOULTZ S, et al. Comparison of different types of pretreatment and enzymatic saccharification of *Macrocystispyrifera* for the production of biofuel[J]. Algal Research, 2016, 13: 141 – 147.

[32] HALLAC B B, RAGAUSKAS A J. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol [J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2011, 5: 215 – 225.

[33] BLANCO CANALIS M S, LEÓN A E, RIBOTTA P D. Incorporation of dietary fiber on the cookie dough. Effects on thermal properties and water availability[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 309 – 317.

[34] BELGHITH-FENDRI L, CHAARI F, KALLEL F. Pea and broad bean pods as a natural source of dietary fiber: the impact on texture and sensory properties of cake[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(10): 2360 – 2366.

[35] MERCI A, URBANO A, GROSSMANN M V E, et al. Properties of microcrystalline cellulose extracted from soybean hulls by reactive extrusion[J]. Food Research International, 2015, 73: 38 – 43.

[36] TRACHE D, DONNOT A, KHIMECHE K, et al. Physico chemical properties and thermal stability of microcrystalline cellulose isolated from alfa fibers[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 104(1):223 – 230.

[37] ATALLA R H, VANDERHART D L. Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms[J]. Sci-

ence, 1984, 223(4633): 283 – 285.

[38] 黄继武, 李周. 多晶材料 X 射线衍射实验原理、方法与应用[M]. 北京: 冶金工业出版社, 2016: 43.
HUANG J W, LI Z. Principle, method and application of X-ray diffraction experiment of polycrystalline materials [M]. Beijing: Metallurgical Industry Press, 2016: 43.

[39] POLETTO M, ZATTERA A J, FORTE M M C, et al. Thermal decomposition of wood: influence of wood components and cellulose crystallite size[J]. Bioresource Technology, 2012, 109(1): 148 – 153.

[40] KIM U J, EOM S H, WADA M. Thermal decomposition of native cellulose: influence on crystallite size[J]. Polymer Degradation & Stability, 2010, 95(5): 778 – 781.

[41] WADA M, OKANO T, SUGIYAMA J. Allomorphs of native crystalline cellulose I evaluated by two equatorial d-spacings [J]. Journal of Wood Science, 2001, 47(2): 124 – 128.

[42] YAMAMOTO H, HORII F. CP/MAS 13C NMR analysis of the crystal transformation induced for *Valonia* cellulose by annealing at high temperatures[J]. Macromolecules, 1993, 26(6): 1313 – 1317.

[43] HAYASHI N, SUGIYAMA J, OKANO T, et al. The enzymatic susceptibility of cellulose microfibrils of the algal-bacterial type and the cotton-ramie type[J]. Carbohydrate Research, 1997, 305(2): 261 – 269.

Isolation, Purification and Structural Analysis of Cellulose from Edible Brown Seaweeds

YANG Heqi, HE Qinfeng, DONG Xiuyu, ZHOU Xin, LI Xinwei, ZHAO Ziyin, ZHOU Hui, HE Yunhai, WANG Qiukuan, WU Long*

(*College of Food Science and Engineering*, *Dalian Ocean University*, *Dalian* 116023, *China*)

Abstract: Cellulose was extracted from kelp and wakame, which were two major edible brown seaweeds in China, and the structural features were analyzed and compared. The kelp had significantly higher cellulose content than that of the wakame, and the cellulose extraction yields were 5.59% and 2.61% of the dry seaweeds. The purity of the cellulose samples reached 99.86% and 98.91% according to the acid hydrolysis-HPLC analysis and FT-IR analysis. The kelp cellulose had a degree of polymerization of 813, which was significantly higher than that of the wakame of 315. X-ray powder diffraction analysis revealed that two kinds of brown seaweed cellulose both had natively highly crystalline structure, with the crystallinity indexes reaching 72.06% and 71.48%, which were comparable to that of the commercial microcrystalline cellulose derived from advanced plant. Further analysis of the X-ray diffractograms suggested that the crystalline region of the brown seaweed cellulose featured I_α (one-chain triclinic) phase-rich structure, evidently different from I_β (two-chain monoclinic) phase-rich structure of cellulose from advanced plant. This study provides a reference for resource development of high quality dietary fiber.

Keywords: brown seaweed; cell wall; polysaccharide; polymorphism; dietary fiber

(责任编辑:张逸群)