

CHIẾT XUẤT ALGINATE TỪ RONG NÂU (*SARGASSUM POLICYSTUM*) BẰNG MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP KHÁC NHAU

LÊ ĐỨC GIANG*, LÊ THỊ THỦY**

TÓM TẮT

Sodium alginate được chiết xuất và tinh chế từ rong nâu (*Sargassum polycystum*) thu hái ở vùng biển Thanh Hóa theo 6 phương pháp khác nhau. Kết quả so sánh cho thấy hiệu suất chiết xuất tốt nhất với phương pháp sử dụng $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$. Cấu trúc hóa học của sodium alginate đã được xác định bằng phổ hồng ngoại (FTIR) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^1H - và ^{13}C -NMR). Độ bền nhiệt của sodium alginate được khảo sát bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng lượng (TGA). Kết quả cho thấy sự phân hủy của sodium alginate xảy ra trong khoảng nhiệt độ từ 200–550 °C.

Từ khóa: sodium alginate, rong nâu, *Sargassum polycystum*, chiết xuất alginate.

ABSTRACT

Extraction of alginate from brown seaweeds (Sargassum polycystum) by different methods

Sodium alginate was extracted by six different methods from brown seaweeds (*Sargassum polycystum*) that were collected from Thanh Hoa seacoast. The comparison of the yield of extraction obtained from the six processes showed that the extraction using $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$ was the best result. The chemical structure of sodium alginate was determined by FTIR and ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopic analysis. The thermal stability was investigated by thermal gravimetric analysis (TGA). The results showed that the decomposition of the sample took place in the temperature range of 200–550 °C.

Keywords: sodium alginate, brown seaweeds, *Sargassum polycystum*, extraction of alginate.

1. Mở đầu

Alginate là một copolimer khối được cấu tạo từ các gốc β -D-mannuronate và α -L-guluronate bằng liên kết 1,4 glucoside. Alginate có khả năng phân hủy sinh học và hoàn toàn an toàn trong các thử nghiệm trên người cũng như động vật. Mặt khác, sodium alginate là polymer tan trong nước tạo dung dịch có độ nhớt cao và có khả năng tạo gel với các cation của kim loại hóa trị 2 như Ca^{2+} , do đó, alginate được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như công nghiệp dệt nhuộm, thực phẩm, dược

* PGS TS, Trường Đại học Vinh; Email: leducgiang@gmail.com

** ThS, Trường Cao đẳng Y tế Thanh Hóa

phẩm [3,4]. Sodium alginate được sử dụng làm hợp chất chữa trị cho người bị nhiễm phóng xạ, làm tăng hiệu quả kháng sinh của penicillin vì sodium alginate giúp cho penicillin tồn tại lâu hơn trong máu. Trong công nghệ bào chế thuốc, alginate được sử dụng làm chất ổn định, nhũ tương hóa hay chất tạo đặc cho dung dịch, làm vỏ bọc thuốc...[6,7]

Rong nâu là một trong 3 loại rong biển (rong lục, rong nâu và rong đỏ) phân bố nhiều ở Việt Nam và có giá trị kinh tế cao. Rong nâu chứa các thành phần có giá trị cao về mặt dinh dưỡng cũng như dược liệu bao gồm amino acid, acid béo nhiều nối đôi, vitamin và khoáng chất, poliphenol, các hợp chất chứa iodine, laminarane, fucoidane, alginate...[5]. Có nhiều phương pháp chiết xuất và tinh chế alginate từ nhiều loài rong nâu đã được công bố [1,2,4]; tuy nhiên, chưa có công trình nào nghiên cứu chiết xuất alginate từ loài *Sargassum polycystum* ở Việt Nam. Thông thường việc chiết xuất và tinh chế alginate dựa trên cơ sở chuyển hóa từ dạng tan trong thành tế bào thành muối sodium tan trong nước; trong đó, phổ biến nhất là các phương pháp sử dụng dung dịch HCl, ethanol và H₂SO₄ [1,2]. Trong công trình này chúng tôi đã chiết xuất và tinh chế alginate từ rong nâu (*Sargassum polycystum*) theo 6 phương pháp: sử dụng CaCl₂, CaCl₂/EDTA, dung dịch HCl, dung dịch HCl/EDTA, dung dịch H₂SO₄ và dung dịch H₂SO₄/EDTA.

2. Phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Rong nâu (*Sargassum polycystum*) được thu hái tại vùng biển Sầm Sơn, Thanh Hóa.

Dung dịch CaCl₂ 2%, dung dịch HCHO 40%, dung dịch Na₂CO₃ 1 M, dung dịch HCl 0,1 N, dung dịch H₂SO₄ 1%, tinh thể EDTA, dung dịch NaOH, ethanol, acetone.

2.2. Chiết xuất và tinh chế alginate từ rong nâu

Mẫu tươi sau khi lấy về được rửa sạch, phơi khô và nghiền nhỏ cho vào bao polyethylene (PE), gói kín và bảo quản trong tủ lạnh.

Mỗi loại thí nghiệm được thực hành trên 2,0 g rong nâu (Mẫu được kí hiệu M₀). Mẫu được ngâm trong dung dịch HCHO 40% trong 2 giờ rồi rửa sạch bằng nước cất. Sau đó, mẫu được xử lí theo một trong các phương pháp sau:

+ *Phương pháp sử dụng CaCl₂*

Thêm dung dịch CaCl₂ 2% vào mẫu M₀, ngâm tiếp trong 24 giờ. Mẫu được rửa 3 lần bằng nước cất. Sau đó ngâm mẫu 48 giờ trong dung dịch Na₂CO₃ 1 M. Lọc và lấy dịch lọc, cho kết tủa trong ethanol. Kết tủa được tách ra bằng cách li tâm, rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy khô ở 60 °C trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

+ *Phương pháp sử dụng CaCl₂/EDTA*

Thêm dung dịch CaCl₂ 2% vào mẫu M₀, ngâm tiếp trong 24 giờ. Mẫu được rửa 3

lần bằng nước cất. Sau đó ngâm trong dung dịch Na_2CO_3 1 M, thêm tiếp 0,5 gam EDTA (điều chỉnh pH = 11) trong 48 giờ. Lọc và lấy dịch lọc, cho kết tủa trong ethanol. Kết tủa được tách ra bằng cách li tâm, rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy khô ở 60 °C trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

+ *Phương pháp sử dụng HCl*

Thêm dung dịch HCl 0,1 N vào mẫu M_0 , ngâm tiếp trong 24 giờ. Rửa sạch bằng nước cất. Sau đó ngâm mẫu 48 giờ trong dung dịch Na_2CO_3 1 M. Lọc và lấy dịch lọc, cho kết tủa trong ethanol. Kết tủa được tách ra bằng cách li tâm, rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy khô ở 60 °C trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

+ *Phương pháp sử dụng HCl/EDTA*

Thêm dung dịch HCl 0,1 N vào mẫu M_0 , ngâm tiếp trong 24 giờ. Rửa sạch bằng nước cất. Sau đó ngâm mẫu trong dung dịch Na_2CO_3 1 M, thêm tiếp 0,5 gam EDTA (điều chỉnh pH = 11) trong 48 giờ. Lọc và lấy dịch lọc, cho kết tủa trong ethanol. Kết tủa được tách ra bằng cách li tâm, rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy khô ở 60 °C trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

+ *Phương pháp sử dụng H_2SO_4*

Thêm dung dịch H_2SO_4 1% vào mẫu M_0 , ngâm tiếp trong 24 giờ. Rửa sạch bằng nước cất. Sau đó ngâm mẫu trong dung dịch Na_2CO_3 1 M trong 48 giờ. Lọc và lấy dịch lọc, cho kết tủa trong ethanol. Kết tủa được tách ra bằng cách li tâm, rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy khô ở 60°C trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

+ *Phương pháp sử dụng H_2SO_4 /EDTA*

Thêm dung dịch H_2SO_4 1% vào mẫu M_0 , ngâm tiếp trong 24 giờ. Rửa sạch bằng nước cất. Sau đó ngâm mẫu trong dung dịch Na_2CO_3 1 M, thêm tiếp 0,5 gam EDTA (điều chỉnh pH = 11) trong 48 giờ. Lọc và lấy dịch lọc, cho kết tủa trong ethanol. Kết tủa được tách ra bằng cách li tâm, rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy khô ở 60 °C trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

Tinh chế sodium alginate: Thêm ethanol vào dung dịch sodium alginate vừa thu được với tỉ lệ 1:1 (v:v), khuấy đều. Tách phần không tan và chiết bằng kỹ thuật Soxhlet với acetone trong 48 giờ. Sản phẩm được sấy khô trong tủ sấy chân không đến khối lượng không đổi.

Hiệu suất chiết xuất alginate được xác định theo công thức sau:

$$H = \frac{m}{m_0} \times 100 \%$$

Trong đó: m là khối lượng sodium alginate thu được;

m_0 là khối lượng rong khô ban đầu ($m_0 = 2,0$ g).

2.3. Phương pháp khảo sát cấu trúc hóa học và độ bền nhiệt

Phổ hồng ngoại được đo trên máy Shimadzu Irprestige-21 (Nhật Bản) bằng phương pháp ép viên KBr tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

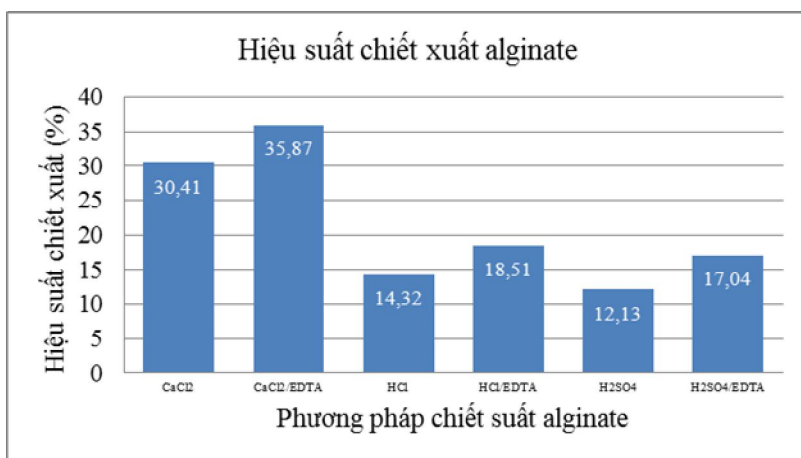
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H - và ^{13}C -NMR được đo trong dung môi D_2O trên máy ADVANCE 125 MHz và ADVANCE 500 MHz (Bruker, Đức) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Độ bền nhiệt của sodium alginate được khảo sát bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) trên máy Shimadzu DTG 60H (Nhật Bản) tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. So sánh hiệu suất của các phương pháp chiết xuất

Hiệu suất chiết xuất alginate từ rong nâu được thu hái ở vùng biển Thanh Hóa theo 6 phương pháp khác nhau được thể hiện trên Hình 1. Kết quả cho rằng hiệu suất đạt giá trị cao hơn ở các phương pháp sử dụng CaCl_2 và đạt giá trị thấp hơn ở các phương pháp sử dụng acid. Hiệu suất chiết xuất dao động từ khoảng 12–19% đối với các phương pháp acid và khoảng 30–36% đối với phương pháp CaCl_2 . Kết quả này cao hơn 5,8% so với kết quả nghiên cứu chiết xuất alginate từ loài *Sargassum* sp. của Ali Mohammad Latifi và cộng sự [1].



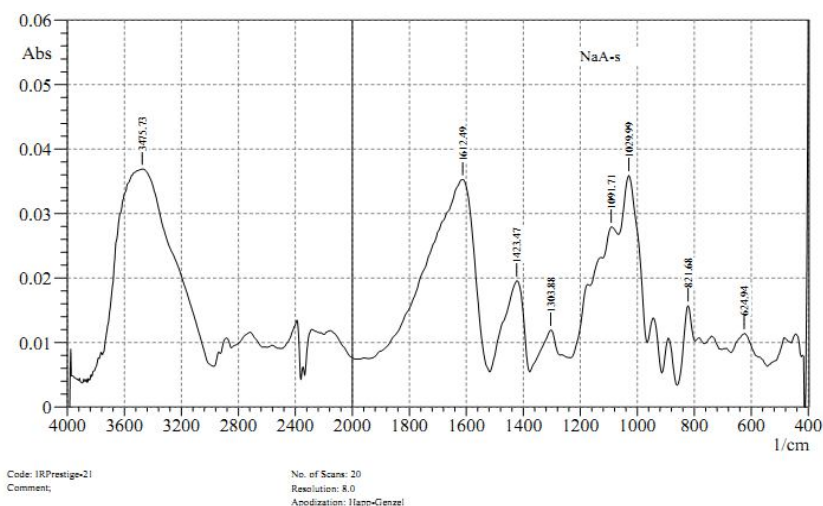
Hình 1. Hiệu suất chiết xuất alginate theo 6 phương pháp khác nhau

Các phương pháp sử dụng acid có hiệu suất thấp hơn vì khi sử dụng acid thì quá trình khử khoáng Ca^{2+} , Mg^{2+} nhanh và hiệu quả hơn. Tuy nhiên, quá trình khử khoáng dễ làm vỡ thành tế bào của rong nâu, hệ quả là một lượng alginic acid bị chuyển ra ngoài và hao hụt trong quá trình rửa. Mặt khác, khi sử dụng CaCl_2 thì khả năng khử khoáng nhẹ nhàng hơn và bảo vệ keo rong tốt hơn.

Ngoài ra, trong các phương pháp sử dụng thêm EDTA, hiệu suất tăng khoảng từ 4–5%. Trong cả 3 phương pháp, EDTA đều cho hiệu suất chiết xuất cao hơn so với phương pháp không sử dụng EDTA (phương pháp CaCl_2 cao hơn 5,46%, phương pháp HCl cao hơn 4,19% và phương pháp H_2SO_4 cao hơn 4,91%). Sự tăng về hiệu suất khi sử dụng thêm EDTA có thể vì EDTA có khả năng tạo phức với các ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , làm giảm lượng muối Ca^{2+} và Mg^{2+} tạo thành trong quá trình tách chiết, tăng khả năng khử khoáng, từ đó tăng khả năng tạo muối sodium alginate.

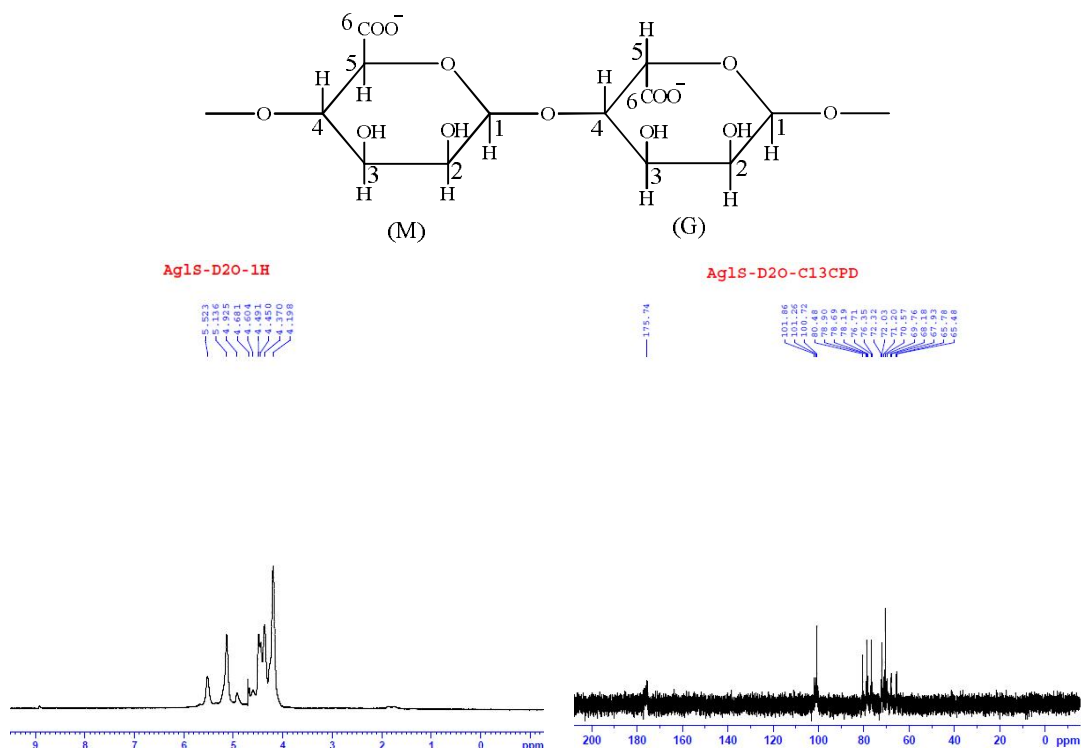
3.2. Khảo sát cấu trúc hóa học của alginate

Phổ FTIR của sodium alginate (Hình 2) cho thấy, các đỉnh đặc trưng của alginate xuất hiện tại 3475 cm^{-1} ; 1612 cm^{-1} và 1423 cm^{-1} , tương ứng với dao động của các nối hóa trị (O–H), carbonyl (C=O) và carboxylate (COO^-). Một trong các đỉnh đặc trưng xuất hiện trong vùng $1029\text{--}1091\text{ cm}^{-1}$ là của nhóm chức ether C–O–C trong liên kết glucoside.



Hình 2. Phổ FTIR của sodium alginate chiết xuất từ rong nâu

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của sodium alginate (Hình 3) cho thấy các tín hiệu cộng hưởng ở δ_{H} 5,52 và 5,14 lần lượt là của proton ở C-1 của đơn vị guluronate (H-1-G) và manuronate (H-1-M); tín hiệu cộng hưởng ở δ_{H} 4,93 và 4,20 tương ứng lần lượt với proton ở C-5 của đơn vị guluronate (H-5-G) và manuronate (H-5-M). Trong khi H-5 của các đơn vị guluronate trong khối GG (H-5-GG) cho tín hiệu cộng hưởng ở δ_{H} 4,37 và các tín hiệu cộng hưởng ở δ_{H} 4,45 và 4,68 là của H-1 của đơn vị manuronate và H-5 của đơn vị guluronate trong các đơn vị thuộc khối GM (H-1-M+ H-5-GM). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với công trình đã được công bố [1,2].

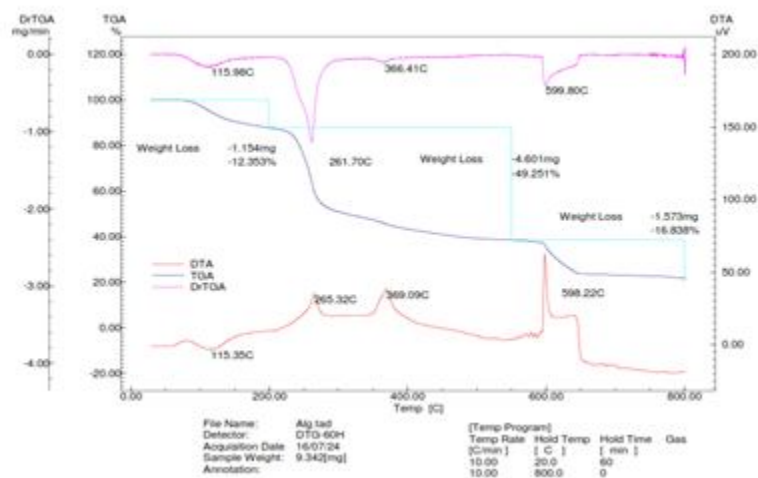


Hình 3. Phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của sodium alginate chiết xuất từ rong nâu

Phổ ^{13}C -NMR của sodium alginate (Hình 3) cho các tín hiệu cộng hưởng ở δ_{C} 175,7 và ở khoảng 100–102 lần lượt là của C_6 (nhóm carboxylate) và C_1 . Còn tín hiệu cộng hưởng ở δ_{C} 76–81 là của C_4 và C_5 , và ở δ_{C} 65–73 là của C_2 và C_3 .

3.3. Khảo sát độ bền nhiệt

Giản đồ TGA của sodium alginate (Hình 4) cho thấy trong vùng nhiệt độ khảo sát có xảy ra 3 quá trình giảm khối lượng liên tiếp nhau trong các khoảng 100–200 °C, 200–550 °C và 550–650 °C tương ứng với độ giảm khối lượng lần lượt là 12,35%; 49,25% và 16,84%.



Hình 4. Giảm đồ TGA của sodium alginate

Trong khoảng từ 100–200 °C xảy ra quá trình giảm nhẹ về khối lượng kèm theo quá trình thu nhiệt ở 115 °C có thể do quá trình mất nước có trong mẫu với tốc độ 0,00258 mg/giây. Trong khoảng từ 200–550 °C xảy ra quá trình giảm mạnh về khối lượng kèm theo quá trình tỏa nhiệt nhiệt độ 261,7 °C với tốc độ 0,018710 mg/giây, đây là giai đoạn phân hủy sodium alginate. Khoảng từ 550–650 °C cũng là quá trình giảm khối lượng với tỉ lệ hụt khối lượng khoảng 16,84%. Giai đoạn này cũng là giai đoạn alginate bị phân hủy nhanh nhất, với tốc độ phân hủy là 0,006701 mg/giây ở 599,8 °C.

4. Kết luận

Đã tiến hành thử nghiệm quy trình chiết xuất và tinh chế sodium alginate từ rong nâu (*Sargassum polycystum*) thu hái ở vùng biển Thanh Hóa theo 6 phương pháp khác nhau. Kết quả cho thấy phương pháp sử dụng CaCl₂/EDTA là phương pháp có hiệu suất chiết xuất cao nhất (35,87%) và cao hơn khoảng 5,8% so với kết quả nghiên cứu chiết xuất alginate từ loài *Sargassum* sp. của Ali Mohammad Latifi và cộng sự [1]. Cấu trúc hóa học của sodium alginate đã được xác định bằng phổ hồng ngoại (FTIR) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H- và ¹³C-NMR). Độ bền nhiệt của sodium alginate được khảo sát bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng lượng (TGA). Kết quả cho thấy sự phân hủy của sodium alginate xảy ra trong khoảng nhiệt độ 200–550 °C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ali, M. L., Ehsan, S. N., Hamid, B. (2015), “Comparison of extraction different methods of sodium alginate from brown alga *Sargassum sp.* localized in the Southern of Iran”, *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2(2), 251–255.
2. Cesar, G. G., Maria, V., Perez, L., Jorge, E. L., Marguerite, R., Marcelo, A. V. (2009), “Influence of the extraction–purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystis pyrifera*)”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 44(4), 365–371.
3. Dawczynski, C., Schubert, R., Jahreis, G. (2007), “Amino acids, fatty acids, a dietary fibre in edible seaweed products”, *Food Chemistry*, 103(3), 891–899.
4. Gustavo, H. C., Dennis, J. M., Dora, L. A., Elizabeth, R. M. (1998), “Pilot plant scale extraction of alginate from *Macrocystis pyrifera*. 1. Effect of pre-extraction treatments on yield and quality of alginate”, *Journal of Applied Phycology*, 10(6), 507–513.
5. Brownlee, I. A., Allen A., Pearson, J. P., Dettmar, P. W., Havler, M. E., Atherton, M. R., Onsoyen, E. (2005), “Alginate as a source of dietary fiber”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(6), 497–510.
6. Shyamala, V. and Thangaraju, N. (2014), “Extraction of sodium alginate from selected seaweeds and their physiochemical and biochemical properties”, *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 3(2), 10998–11003.
7. Sirlei, J. K., Frederico, G., Caroline, B., Meuris, G. C. S. (2013), “Extraction of alginate biopolimer present in marine alga *Sargassum filipendula* and bioadsorption of metallic ions”, *Materials Research*, 16(2), 481–488.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 01-10-2016; ngày phản biện đánh giá: 14-10-2016;
ngày chấp nhận đăng: 16-12-2016)