

文章编号: 1000-0615(2018)09-1489-08

DOI: 10.11964/jfc.20171010999

基于酶技术生产低黏度及超低黏度褐藻胶的工艺

穆惠敏¹, 沈照鹏^{2,3}, 林月¹, 崔欣¹, 孟蕾⁴, 江晓路^{1,3,4*}

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003;

2. 中国海洋大学医药学院, 山东青岛 266003;

3. 青岛海洋生物医药研究院, 山东青岛 266071;

4. 青岛明月海藻集团有限公司, 海藻活性物质国家重点实验室, 山东青岛 266400)

摘要:为解决当前低黏度及超低黏度褐藻胶生产工艺中存在的不足,本实验以海带为原料,利用褐藻胶裂解酶降解制备低黏度及超低黏度褐藻胶,研究了分子量、pH、温度对黏度的影响,确定了碱消化的最佳条件,探究了酶解工艺中加酶量、酶解时间及原料的初始黏度对褐藻胶产品的影响。结果显示,通过控制加酶量(100~500 U/g),酶解30 min即可得到低黏度及超低黏度褐藻胶,其中加酶量为100~330 U/g时可得到低黏度褐藻胶,加酶量增加至330~500 U/g时,可得到超低黏度褐藻胶,且酶解法得到的褐藻胶样品分子量均一度高,工艺节水率高达10%~50%;同时研究发现酶解样品黏度与原料初始黏度相关性不大,只在较短时间内表现出相关性,该工艺具有较高的原料适用性。

关键词:海带; 酶解工艺; 褐藻胶裂解酶; 低黏度及超低黏度褐藻胶

中图分类号: S 68.42⁺1; Q 14

文献标志码: A

褐藻胶是褐藻酸、褐藻酸与某些金属离子或有机碱类反应的生成物以及褐藻酸的一些有机衍生物的统称,是由 α -L-古罗糖醛酸(G)与 β -D-甘露糖醛酸(M)组成的线性高分子化合物^[1-2]。褐藻胶按其黏度大小可分为超低黏度(10~100 mPa·s)、低黏度(100~200 mPa·s)、中黏度(200~500 mPa·s)、高黏度(500~1 000 mPa·s)和超高黏度(>1 000 mPa·s)五个等级,其中低黏度及超低黏度褐藻胶稳定性好、分子量小、水溶性好、易被人体吸收^[3],因具有抗肿瘤、抗氧化、抗病毒和抗炎等活性而被广泛应用于食品、印染、医药和化妆品等领域^[4-8]。目前,工业生产的褐藻胶主要以中黏度褐藻胶为主,约占褐藻胶产品的90%以上,低黏度及超低黏度褐藻胶所占比例极少。此外,由于低黏度及超低黏度褐藻胶生产工艺繁杂、耗水量大、耗时长、生产成本低^[9],严重制约了低黏度及超低黏度褐藻胶的应用与发展。

目前,已有研究者将酶解法应用到低黏度

及超低黏度生产中,如黄建军等^[10]利用纤维素酶、蛋白酶、果胶酶对海带原料进行酶解前处理,并在此基础上通过高温、强酸、长时间降解得到超低黏度的褐藻胶产品,该种提取工艺使用复合酶分解褐藻细胞壁,加快褐藻胶的溶出,从而提高出胶率^[11],但其对褐藻胶无分解作用。封秀丽等^[12]以高黏度褐藻胶产品为原料,通过控制温度、pH值以及反应时间等制备超低黏度褐藻胶,但其以市售高黏度褐藻胶为原料,大大增加了超低黏度褐藻胶的生产成本。

本研究对低黏度及超低黏度褐藻胶的提取工艺进行了研究探索,以中国褐藻胶提取的主要藻类海带(*Laminaria japonica*)为原料,将褐藻胶裂解酶应用到低黏度及超低黏度褐藻胶提取的碱消化后环节,极大地减少了工业耗水量,为低黏度及超低黏度褐藻胶的工业生产提供一定的参考。

收稿日期: 2017-10-14 修回日期: 2018-02-26

资助项目: “十三五”海洋经济创新发展示范产业链协同创新类项目

通信作者: 江晓路, E-mail: jiangxl@ouc.edu.cn

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

山东青岛市淡干海带；褐藻胶裂解酶由本实验室保存的琼式不动杆菌(*Pseudomonas fluorescens* HZJ216)发酵得到(酶活性950 U/mL)；褐藻酸钠(货号71238、A0682、A201502、A2033)购自Sigma公司；甲醛、碳酸钠、浓盐酸、氯化钙、碳酸氢钠均为化学分析纯试剂；标准系列葡聚糖(分子量分别为5、12、50、80、150 ku)购自美国Sigma aldrich公司。

1.2 影响褐藻胶溶液黏度因素的分析

分子量与黏度的关系 分别测定了4种中、低黏度褐藻胶标准品的黏度与重均分子量大小，探究了中、低黏度范围内褐藻胶溶液分子量与黏度之间关系。

pH与黏度的关系 研究了褐藻胶在不同pH(4、5、6、7、8、9、10)下的黏度变化趋势，从而确定pH与黏度之间关系。

温度与黏度的关系 研究了褐藻胶在不同温度(10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 °C)下的黏度变化趋势，进而分析温度与黏度之间关系。

1.3 低黏度及超低黏度褐藻胶酶解工艺

称取干海带10 g，切块后于0.5%甲醛溶液中

固色4 h，清水冲洗表面甲醛备用；将固色后的海带加入400 mL质量分数为4%的NaHCO₃溶液，在搅拌条件下于70 °C水浴锅中保温4 h；之后向经过碱处理的消化液加入0.5~1倍体积的水进行初步稀释，冷却至室温后加入10%的盐酸调节pH至中性，于30 °C预热5 min后加入一定量褐藻胶裂解酶，搅拌条件下反应一定时间；待反应结束后将酶解液于沸水中煮沸5 min灭活，酶解液经过滤分离后获得清胶液。边缓慢搅拌边向清胶液中加入10%的CaCl₂溶液；之后将其加入到一定量3%盐酸中酸化20 min，水洗至中性后加入10% Na₂CO₃溶液中和，乙醇沉淀后烘干、粉碎即获得褐藻胶产品。低黏度及超低黏度褐藻胶酶解法提取工艺见图1。

加酶量对褐藻胶产品的影响 控制酶解时间为30 min，海带的初始黏度约为300 mPa·s，比较分析不同加酶量(100~500 U/g)对褐藻胶产品黏度、节水率和分子量的影响，其他工艺流程同上。

酶解时间对褐藻胶产品的影响 控制加酶量为400 U/g(酶活单位/原料质量)，海带的初始黏度约为300 mPa·s，探究不同酶解时间下(0~75 min)，褐藻胶产品的黏度变化，其他工艺流程同上。

不同初始黏度的海带原料对产品的影响 为了了解不同初始黏度的海带原料对褐藻胶黏度的影响，本文分析了来自同一产地的4种不同产

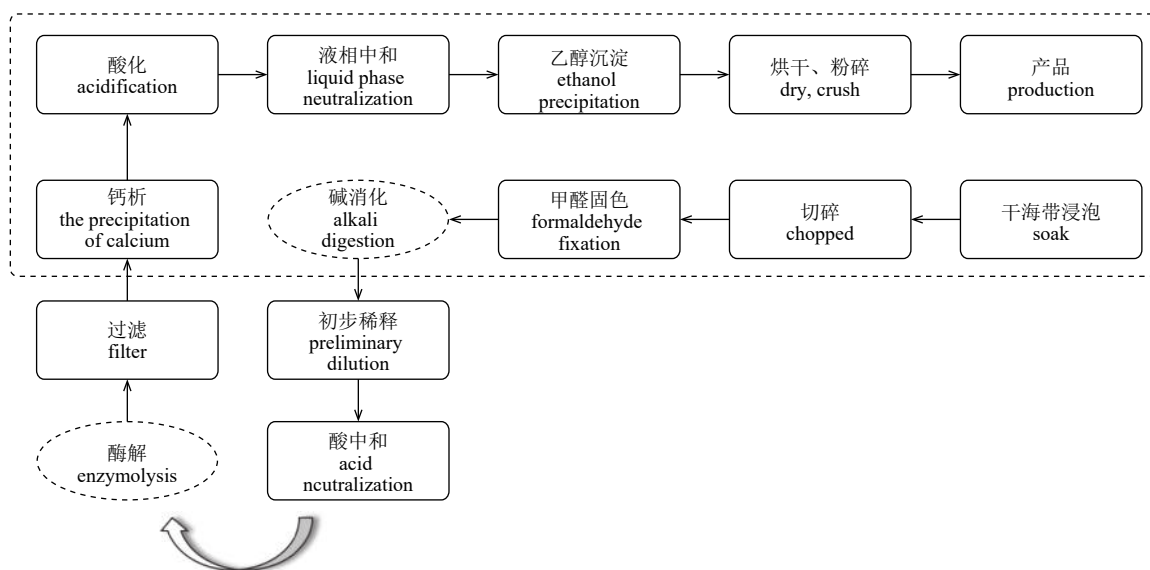


图1 低黏度及超低黏度褐藻胶提取工艺流程图

Fig. 1 Process flow chart of low viscosity and ultra-low viscosity alginate extraction

物黏度的海带原料: A (350 mPa·s)、B (375 mPa·s)、C (590 mPa·s)和D (620 mPa·s), 在同一加酶量 (400 U/g)条件下, 30 min内褐藻胶黏度的变化趋势, 其他工艺流程同上。

1.4 酶活性的测定

褐藻胶裂解酶活性的测定采用DNS法^[13], 即1个酶活单位定义为30 °C条件下每分钟产生1 μg的还原糖所需要的酶量。

1.5 黏度的测定

采用国家标准方法进行测定^[14]。称取5~6 g试样, 在搅拌状态下慢慢加入水中, 配成10 g/L试样溶液500~600 mL, 持续搅拌, 直至呈均匀的溶液, 放置至气泡脱尽后备用。先调整溶液温度为(20±0.5) °C, 再按黏度计操作规程, 即先将黏度计转子浸入试样溶液, 再启动黏度计开关, 旋转约0.5 min, 待显示值稳定后读数。

1.6 分子量的测定

采用高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)^[15]。色谱条件: Agilent1260高效液相色谱; 示差折光检测器; TSK-gel G4000PW_{XL}色谱柱; 0.2 mol/L NaNO₃溶液、0.01 mol/L NaH₂PO₄溶液为流动相; 柱温35 °C; 流速0.5 mL/min; 进样量20 μL。采用Agilent GPC软件, 计算样品的相对分子量(Mw)。

1.7 节水率的计算

节水率(%)=(S-S_E)/S×100, 其中S为未加酶工艺的用水量, S_E为加酶工艺的用水量。

1.8 褐藻胶得率的计算

褐藻胶得率(%)=W/W₀×100, 其中W为乙醇沉淀后褐藻胶烘干样品质量, W₀为海带初始质量。

2 结果

2.1 影响褐藻胶溶液黏度的因素

分子量与黏度的关系 通过对购自Sigma公司的4种不同黏度范围的中、低黏度褐藻胶样品A0628、A201502、71238、A2033进行分子量与黏度的测定, 结果显示, 在中、低黏度范围内, 随着黏度的增加褐藻样品的分子量也随之增加, 且呈幂函数关系, 即 $y=21.798x^{1.4039}$ (图2)。

pH对黏度的影响 当pH<4时, 褐藻胶形成褐藻酸凝胶沉淀; pH在4~6与7~10范围内, 溶

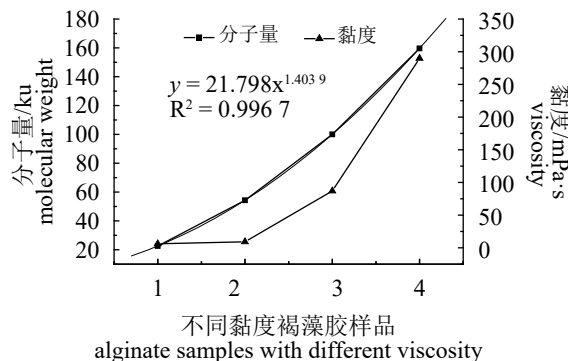


图2 褐藻胶分子量与黏度的关系

1. A0682; 2. A201502; 3. 71238; 4. A2033

Fig. 2 Relationship between molecular weight and viscosity of alginate

液的黏度随pH的增高加而减小, 在pH 6~7之间溶液的黏度随着pH的增高加而增大, 其中pH 6为曲线最低点, pH 7为曲线最高点(图3)。

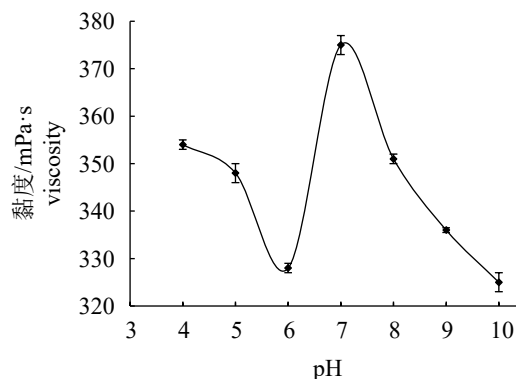


图3 pH与黏度的关系

Fig. 3 Relationship between pH and viscosity of alginate

温度对黏度的影响 褐藻胶溶液黏度随着温度的增加不断地降低。随着温度的升高褐藻胶溶液分子间运动不断加剧, 分子作用力减小, 从而使得溶液流动阻力下降, 溶液黏度降低, 但如果不是长时间加热, 这种黏度的下降是可逆的^[15](图4)。

2.2 低黏度及超低黏度褐藻胶的酶解工艺

加酶量对褐藻胶得率、黏度与节水率的影响 随着加酶量的增加褐藻胶的得率无显著性差异, 故加酶量对褐藻胶得率无显著影响(图5)。褐藻胶的黏度随着加酶量的增大而下降, 此时, 大分子的褐藻胶被逐渐降解为小分子, 从

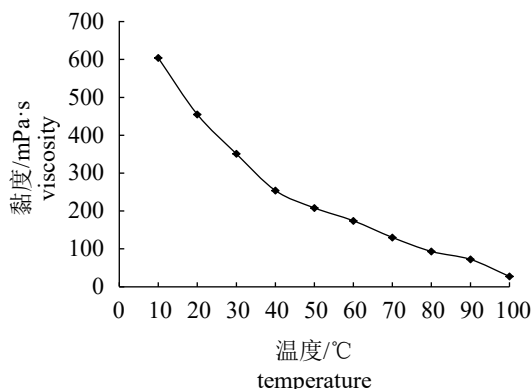


图 4 温度与黏度的关系

Fig. 4 Relationship between temperature and viscosity of alginate

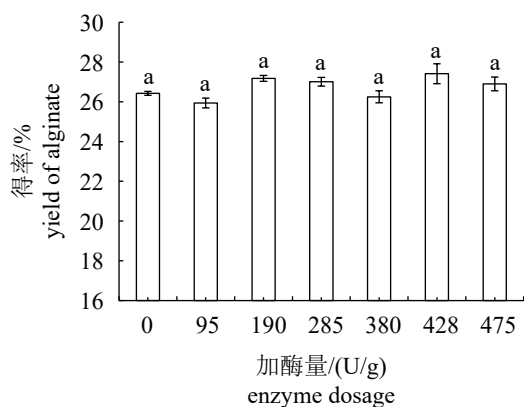


图 5 加酶量对褐藻胶得率的影响

相同字母表示无显著性差异($P>0.05$)

Fig. 5 Effect of amounts of enzyme on the yield of alginate

The same superscripts mean there is no significant differences($P>0.05$)

而导致产品黏度下降。当加酶量为95 U/g时, 即可获得黏度为140 mPa·s的低黏度褐藻胶, 此时节水率为20%左右; 当加酶量增加至380 U/g时, 获得黏度为55 mPa·s的超低黏度褐藻胶; 当加酶量继续增至428 U/g时得到的褐藻胶黏度仅为9.5 mPa·s, 此时节水率可达50%左右(图6)。

加酶量对褐藻胶分子量的影响 本研究对不同加酶量条件下褐藻胶样品及Sigma公司样品(实测黏度: 87 mPa·s)进行HPGPC分析(图7)。比较分析Sigma公司样品、未酶解样品和酶解样品发现, 未酶解褐藻胶样品已出现小分子的峰($M_w<10$ ku), 但以大分子(100 ku)为主, 且大分子的色谱峰峰宽较大、峰形前伸、对称性较差, 分子量均一度较差; 而酶解样品分子量较

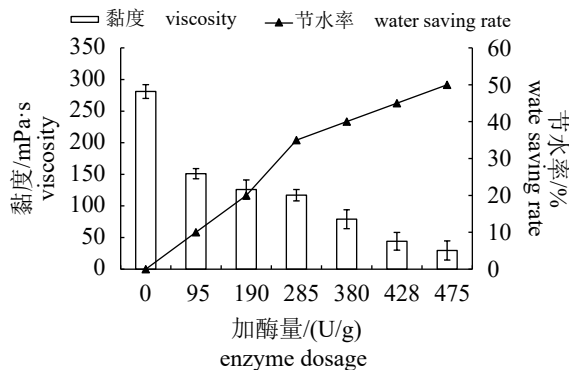


图 6 加酶量对黏度、节水率的影响

Fig. 6 Effect of amounts of enzyme on the viscosity and water saving rate

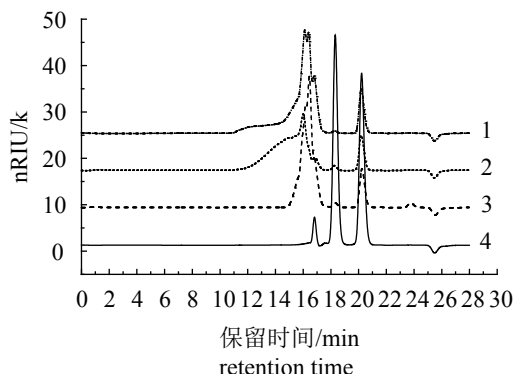


图 7 加酶量对分子量的影响

1. Sigma公司低黏度褐藻胶; 2. 未加酶褐藻胶; 3. 酶解-低黏度褐藻胶; 4. 酶解-超低黏度褐藻胶

Fig. 7 Effect of enzyme addition on molecular weight

1. low viscosity alginate of Sigma; 2. alginate of enzyme free; 3. enzymolysis-low viscosity alginate; 4. enzymolysis-ultra low viscosity alginate

小($M_w<10$ ku), 峰形窄且对称, 说明酶解法得到的低黏度及超低黏度褐藻胶各组分纯度较高, 分子量分布较为均一, 几乎不存在未降解的大分子。

酶解时间对褐藻胶产品的影响 当加酶量为400 U/g时, 0~10 min内褐藻胶黏度急剧下降, 黏度从310 mPa·s降至118 mPa·s, 已降解为低黏度褐藻胶; 当酶解时间为13 min时, 褐藻胶黏度为98 mPa·s, 为超低黏度褐藻胶。在酶解时间达到20~30 min时, 褐藻胶黏度下降幅度趋于平缓, 故将酶解时间控制在30 min内(图8), 即可通过控制酶解时间得到低黏度及超低黏度褐藻胶。

不同初始黏度的海带原料对褐藻胶产品的影响 在相同的加酶条件下(400 U/g), 4种不同黏度的海带原料(A、B、C、D)在0~10 min内黏

度均迅速下降, 且初始黏度越大, 黏度下降幅度越大; 当酶解时间超过10 min后, 样品黏度变化幅度变小, 且样品间黏度差异逐渐缩小, 并趋于一致; 当酶解时间达至30 min时, 4种样品的黏度均降至超低黏度范围(图9)。

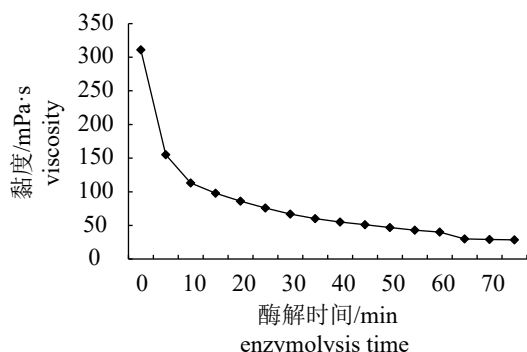


图8 酶解时间对黏度的影响

Fig. 8 Effect of enzyme time on viscosity of alginate

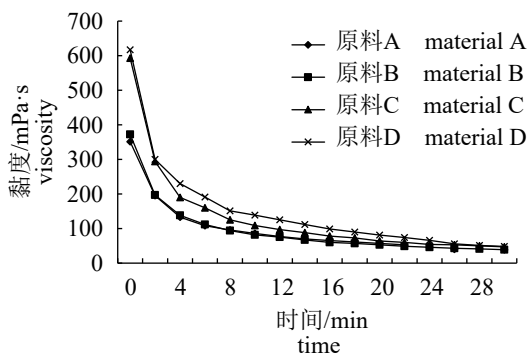


图9 不同原料黏度随酶解时间的变化

Fig. 9 The viscosity of different raw materials varies with the time of enzymolysis

3 讨论

3.1 影响褐藻胶溶液黏度因素的分析

Bueche等^[16]从分子理论的角度出发, 利用高分子化合物间缠结时的摩擦系数与引入参数等处理方法预测了黏度与高分子化合物 M^{3-5} 的正相关性。唐四叶等^[17]研究了高分子化合物氯化聚丙烯甲苯溶液黏度与分子量的关系, 发现黏度随分子量呈幂函数关系, 与本研究高分子化合物褐藻胶与黏度的关系相似, 进一步证明该关系的准确性。

当 $pH < 4$ 时, 褐藻胶溶液在较低的 pH 值下, 分子间相互作用较强, 分子缔合度的增加使褐

藻胶形成不溶于水的褐藻酸沉淀; 在 $pH 4\sim 6$ 范围内, 随着溶液 pH 值的增加, 分子间相互作用减弱, 从而导致分子间的缔合度减小, 褐藻胶溶于水形成溶液黏度降低^[18]; 在 $pH 6\sim 7$ 范围内, 随着溶液 pH 值的继续增加, 褐藻胶分子的构象发生变化, 分子进一步伸展, 褐藻酸钠溶液的黏度增加; 而当 $pH > 7$ 时, 随着 pH 的增加褐藻胶分子逐渐被降解, 从而导致溶液黏度的降低。

综上所述, 褐藻胶分子量的大小直接影响溶液黏度的高低, 而分子量的大小受提取过程中 pH 与温度的影响, 故在碱消化过程中通过控制消化环境的 $pH(9)$ 与温度($70\text{ }^{\circ}\text{C}$), 实现褐藻胶从藻类细胞的提取与其黏度的初步降解, 为低黏度及超低黏度褐藻胶的酶解工艺提供基础。

3.2 低黏度及超低黏度褐藻胶的酶解工艺

褐藻胶作为一种天然高分子多糖聚合物, 聚合度大小决定胶体黏度高, 即分子量越小黏度越低^[1]。现有的低黏度及超低黏度褐藻胶制备方法多以高黏度褐藻胶产品为原料, 利用高温、强酸、长时间加热等方法生产低黏度及超低黏度褐藻胶^[9, 12], 该生产工艺能耗大、成本高, 严重制约了低黏度及超低黏度褐藻胶的应用与发展。本研究通过在褐藻胶提取过程中碱消化环节后加入褐藻胶裂解酶, 控制加酶量与酶解时间即可得到不同分子量的低黏度及超低黏度褐藻胶。

本实验所用干海带的初始黏度约为 $300\text{ mPa}\cdot\text{s}$, 通过将加酶量控制在 $100\sim 330\text{ U/g}$ (酶活单位/原料)范围内, 可得到低黏度褐藻胶, 与传统未加酶工艺相比节水率达到 $10\%\sim 30\%$; 当加酶量控制在 $330\sim 500\text{ U/g}$ 范围内, 可得到超低黏度褐藻胶, 节水率可达 $35\%\sim 50\%$ 。酶解过程对褐藻胶得率无显著影响, 主要是因为褐藻胶的得率主要取决于碱消化环节中褐藻胶的溶出程度^[1]。通过比较分析Sigma样品与酶解样品发现, 酶解样品得到的各组分色谱峰峰型对称性更好、纯度更高, 说明本研究通过酶解法得到的低黏度及超低黏度褐藻胶分子量具有较好的均一度。

综上所述, 当海带原料的初始黏度为 $300\sim 620\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 、加酶量为 400 U/g 、酶解 30 min 时, 即可基本满足制备超低黏度褐藻胶产品的需要。其中本研究所用的褐藻胶裂解酶为内切酶^[13], 其对褐藻胶的降解过程分为2个阶段: 首先内切酶

的水解导致褐藻胶黏度迅速降低及还原产物的迅速提高;之后随着酶解反应的进行,褐藻胶黏度下降幅度趋于平缓,该阶段褐藻胶在酶的作用下,非还原端大量生成,但黏度仅有微小的下降^[19],说明在相同的酶解条件下,褐藻胶产品的黏度仅与加酶量与酶解时间有关,与原料的初始黏度相关性不大,进一步说明该酶解工艺可利用不同初始黏度的原料进行低黏度及超低黏度褐藻胶的制备。

4 结论

本研究通过控制酶解时间、加酶量与海带原料的初始黏度,生产制备了不同黏度的低黏度及超低黏度褐藻胶,一方面酶解法制备低黏度及超低黏度褐藻胶酶解条件温和、可控性高^[20],同时打破了目前褐藻胶市场品种和黏度规格较为单一的局面;另一方面极大的减少了稀释用水量与工业废水的排放量,对褐藻胶裂解酶在低黏度及超低黏度褐藻胶的工业生产应用方面具有重要的理论和实践意义。

参考文献:

- [1] 陈正霖,高金诚,王学良.褐藻胶[M].青岛:青岛海洋大学出版社,1989:1-5.
Chen Z L, Gao J C, Wang X L. Alginate[M]. Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 1989: 1-5(in Chinese).
- [2] Nagasawa N, Mitomo H, Yoshii F, *et al.* Radiation-induced degradation of sodium alginate[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2000, 69(3): 279-285.
- [3] 赵峡,周鲁宁,仲娜,等.海篙子海带混合提取褐藻胶的研究[J].中国海洋药物,1995,14(4):37-41.
Zhao X, Zhou L N, Zhong N, *et al.* Studies on the extraction of mixed-algin from *Laminaria japonica* and *Sargassum pallidum*[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 1995, 14(4): 37-41(in Chinese).
- [4] 郭鹏敏,王真森,裴振红.褐藻酸一步法脱水技术[J].渔业现代化,2000(4):6-7.
Guo P M, Wang Z S, Pei Z H. Technique of one step dewatering for alginic acid[J]. *Fishery Modernization*, 2000(4): 6-7(in Chinese).
- [5] 杨志清.海藻酸钠在经纱上浆中的应用[J].现代纺织技术,2002,10(4):21-22.
Yang Z Q. Application of the alginate natrium in warp sizing[J]. *Advanced Textile Technology*, 2002, 10(4): 21-22(in Chinese).
- [6] 纪明侯.海藻化学[M].北京:科学出版社,2004:33-37.
Ji M H. Seaweed Chemistry[M]. Beijing: Science Press, 2004: 33-37(in Chinese).
- [7] 王孝华.海藻酸钠的提取及应用研究[D].重庆:重庆大学,2004.
Wang X H. Study on extraction and application of sodium alginate[D]. Chongqing: Chongqing University, 2004.
- [8] Torres M R, Sousa A P A, Silva Filho E A T, *et al.* Extraction and physicochemical characterization of *Sargassum vulgare* alginate from Brazil[J]. *Carbohydrate Research*, 2007, 342(14): 2067-2074.
- [9] 寇伟姣,刘军海.海藻酸钠提取工艺的研究进展[J].化工科技市场,2009,32(3):14-16.
Kou W J, Liu J H. Progress in extraction technology of sodium alginate[J]. *Chemical Technology Market*, 2009, 32(3): 14-16(in Chinese).
- [10] 黄建军,刘旭,封秀丽,等.一种超低黏度海藻酸钠的制备方法:中国,CN201410392265.0[P].2016-03-02.
Huang J J, Liu X, Feng X L, *et al.* Ultra-low viscosity sodium alginate preparation method: CN, CN201410392265.0[P]. 2016-03-02(in Chinese).
- [11] 赵前程,滕钊,汪秋宽,等.复合酶法提取海带多糖的研究[J].沈阳农业大学学报,2007,38(2):220-223.
Zhao Q C, Teng Z, Wang Q K, *et al.* Laminaria polysaccharides extraction by compound enzymes[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2007, 38(2): 220-223(in Chinese).
- [12] 封秀丽,王哲,陈思齐,等.超低黏度海藻酸钠制备工艺研究[J].内蒙古农业科技,2014(6):23-24,45.
Feng X L, Wang Z, Chen S Q, *et al.* Research on the preparation process of low viscosity sodium alginate[J]. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 2014(6): 23-24, 45(in Chinese).
- [13] 李丽妍.褐藻胶裂解酶系的酶化学、产物分析及应用研究[D].青岛:中国海洋大学,2011:149.
Li L Y. Studies on enzymatic chemistry, product analysis and applications of alginate lyase system[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011: 149(in Chinese).
- [14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 1886.243-2016食品安全国家标准食品添加剂海藻酸钠(又名褐藻酸钠)[S].北京:中国标准出版社,2017.

- National Health and Family Planning Commission of People's Republic of China. GB 1886.243-2016 Food safety national standard food additives odium alginate (also known as sodium alginate)[S]. Beijing: China Standard Press, 2017(in Chinese).
- [15] 赵峡, 苗辉, 范慧红, 等. 用GPC法测定硫酸多糖911的分子量和分子量分布[J]. 青岛海洋大学学报, 2001, 30(4): 623-626.
- Zhao X, Miao H, Fan H H, *et al.* Determination of molecular weight and molecular weight distribution of sulfated polysaccharide 911 by GPC[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2001, 30(4): 623-626(in Chinese).
- [16] 赫尔J W S. 聚合物及其性质第一卷: 结构与力学基础[M]. 吴奏谦, 阳道允, 周一心, 等译. 成都: 成都科技大学出版社, 1988.
- Hull J W S. Polymers and Their Properties, Volume 1: Structural and Mechanics[M]. Wu Z Q, Yang D Y, Zhou Y X, *et al*, trans. Chengdu: Chengdu University of Science and Technology Press, 1988(in Chinese).
- [17] 唐四叶, 张凌, 刘大壮. 氯化聚丙烯甲苯溶液的黏度与分子量、浓度的关系[J]. 桂林工学院学报, 2008, 28(4): 542-544.
- Tang S Y, Zhang L, Liu D Z. Relation of chlorinated polypropylene viscosity in toluene solution with concentration and molecular weight[J]. Journal of Guilin University of Technology, 2008, 28(4): 542-544(in Chinese).
- [18] 潘雁, 黄玉惠, 陈鸣才, 等. 离聚物共混体系在溶液中分子间缔合的黏度研究[J]. 高分子学报, 1997(6): 664-671.
- Pan Y, Huang Y H, Chen M C, *et al.* Viscosity studies on interpolymer association in solution of ionomer blends[J]. Acta Polymerica Sinica, 1997(6): 664-671(in Chinese).
- [19] Gacesa P, Leaves G S, Weightman A J. Genetic analysis of *Klebsiella pneumoniae* alginate lyase by transposon Tn10 mutagenesis[J]. Hydrobiologia, 1987, 151(1): 571-575.
- [20] 李德茂, 陈利梅, 赵玉山, 等. 褐藻胶的酶法提取研究[J]. 中国酿造, 2010(1): 88-90.
- Li D M, Chen L M, Zhao Y S, *et al.* Extraction of alginates by enzymatic hydrolysis[J]. China Brewing, 2010(1): 88-90(in Chinese).

Technology of producing low-viscosity and ultra-low-viscosity alginate by enzymatic method

MU Huimin¹, SHEN Zhaopeng^{2,3}, LIN Yue¹, CUI Xin¹, MENG Lei⁴, JIANG Xiaolu^{1,3,4*}

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. College of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

3. Qingdao Marine Biomedical Research Institute, Qingdao 266071, China;

4. State Key Laboratory of Bioactive Seaweed Substances, Qingdao Brightmoon Seaweed Group Co. Ltd, Qingdao 266400, China)

Abstract: In order to solve the problems in the alginate production process of low-viscosity and ultra-low-viscosity, in this study, we degraded *Laminaria japonica* (cultivated in Qingdao, Shandong) with align lyase to produce low-viscosity and ultra-low-viscosity algininate and investigated the effects of molecular weight, pH and temperature on viscosity, then the optimum conditions for alkali digestion were determined. On this basis, we studied the effects of enzyme dosage, enzymolysis time and initial viscosity of raw materials on alginate products. The results showed that the low-viscosity and ultra-low-viscosity alginate can be obtained within 30 min. of enzymatic hydrolysis when the amount of enzyme was controlled within the range of 100~500 U/g, which the low-viscosity alginate can be obtained when the amount of enzyme was 100~330 U/g and the ultra-low-viscosity alginate can be obtained when the amount of enzyme was increased to 330~500 U/g. Meanwhile we found that the enzymatic hydrolysis of alginate samples was with high uniformity of molecular weight, and the water saving rate was as high as 10%~50% during the technology process. At the same time, it was found that the viscosity of the hydrolyzed sample was not correlated with the initial viscosity of the raw material, so the process had extensive applicability of the raw materials.

Key words: *Laminaria japonica*; enzymatic hydrolysis; alginate lyase; low viscosity and ultra-low viscosity alginate

Corresponding author: JIANG Xiaolu. E-mail: jiangxl@ouc.edu.cn

Funding projects: The Project of Innovation, Collaborative Innovation and Development of Marine Economy Demonstration in “13th Five-Year” Industrial Chain