

## XÁC ĐỊNH TRỌNG LƯỢNG PHÂN TỬ VÀ HẰNG SỐ POLYMER CỦA CARRAGEENANS – POLYSACCHARIDE TỪ RONG BIỂN VIỆT NAM

*Trần Đình Toại, Nguyễn Xuân Nguyên, Phạm Hồng Hải,  
Trần Thị Hồng, Nguyễn Bích Thủy, Ngô Thị Hải Yến*  
Viện Hóa

**TÓM TẮT** Polysaccharide từ rong biển được sử dụng rộng rãi trong nhiều ngành kinh tế ví dụ trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm, y tế. Carrageenans chiếm ưu thế trong sử dụng. Nhưng việc nghiên cứu về Carrageenans vẫn chưa được nhiều.

Bài báo trình bày nghiên cứu việc chiết xuất Carrageenans từ rong biển *Eucheuma gelatinae* (Rhodophyta) đã được xử lý kiềm bằng nước nóng với ethanol. Việc chiết xuất này thực hiện chỉ với Carrageenans có trọng lượng phân tử thấp (97.900 g/mol – 180.700 g/mol).

## DETERMINING MOLECULAR WEIGHT AND POLYMER CONSTANT OF CARRAGEENANS - POLYSACCHARIDE FROM VIETNAMESE SEAWEEDS

*Tran Dinh Toai, Nguyen Xuan Nguyen, Pham Hong Hai,  
Tran Thi Hong, Nguyen Bich Thuy, Ngo Thi Hai Yen*  
Institute of Chemistry

**ABSTRACT** Polysaccharide from seaweeds has been widely used in food industry, pharmacology and medicine. Carrageenans are predominately used for this purpose. But, the study on Carrageenans has not been exhausted in Vietnam.

In this study, Carrageenans were extracted with hot water from the alkali-treated seaweed *Eucheuma gelatinae* (Rhodophyta) with ethanol. This extract contains mainly low molecular weight Carrageenans (97,900 g/mol – 180,700 g/mol).

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam có hệ động, thực vật vô cùng phong phú, có nhiều nguồn gen quý hiếm đặc trưng cho khí hậu nhiệt đới nóng ẩm. Một trong những điều kiện tạo nên sự phong phú và giàu có ấy chính là Việt Nam có vùng biển nhiệt đới rộng với bờ dài hơn 3.000 km bao bọc hết phía Đông và

Nam đất nước. Một trong những nguồn tài nguyên phong phú và giàu có mà vùng biển tặng cho chúng ta chính là rong biển. Có thể nói, tại vùng biển Việt Nam có hàng trăm loài rong biển thuộc tất cả các bộ của các ngành rong đã được công bố trên thế giới. Theo điều tra mới đây, sản lượng có loài tới hàng trăm tấn/năm. Một tính chất đặc biệt của rong biển là thành tế bào của

chúng đều được tạo nên bởi các polysaccharides như: carrageenan, alginic acid, agar, agarose, cellulose, mannan, xylans, furcelleran, porphyran, aeodan...

Các polysaccharides tự nhiên này là những nguồn đường dự trữ vô tận của rong biển, chúng có cấu trúc mạng lưới. Ngoài chức năng làm vật liệu tạo nên thành tế bào, các polysaccharides giữ nhiều chức năng khác quan trọng đối với tế bào như trao đổi chất và bảo vệ tế bào nên chúng có độ bền cơ học cao. Vì bản chất nêu trên, kết hợp với một số tính chất đặc biệt của chúng như tạo gel ở nồng độ rất thấp (~1%), độ nhớt cao rất dễ tạo màng, mà các polysaccharides này đã được sử dụng rộng rãi trong nhiều ngành của kinh tế quốc dân như: chế biến thịt, sữa, làm bánh kẹo, làm thuốc đánh răng, dùng trong mỹ phẩm..., ngoài ra chúng còn là nguồn nguyên liệu quý để làm dược phẩm, chế thuốc.

Đối với nước ta, carrageenans còn trong phạm vi phòng thí nghiệm ở vài nơi như: Viện Hải Dương Học Nha Trang, Phân viện Hải Dương Học Hải Phòng... và mới được coi như chỉ tiêu để đánh giá chất lượng rong biển, chưa sản xuất công nghiệp các polysaccharides này.

Trên thế giới, carrageenan được ứng dụng trong công nghiệp đầu tiên vào năm 1940 như là chất làm bền nhũ tương cho chế biến kẹo sữa chocolate. Nhưng vì nhanh chóng được sử dụng rộng rãi trong nhiều ngành, nên sản lượng hàng năm của carrageenans trên thế giới tăng lên rõ rệt: năm 1992 – 10.000 tấn; năm 1996 – 20.000 tấn; năm 1997 – 26.000 tấn.

Trong năm 2000, riêng Châu Á sản xuất 33.000 tấn. Trong đó Philippin là nước có thị phần xuất khẩu cao nhất, chiếm 80%. Các nước nhập carrageenans nhiều nhất là Mỹ và các nước Tây Âu. So với các polysaccharides khác, carrageenans có giá trị thương phẩm lớn nhất (triệu USD): carrageenans: 263; agar: 200; pectin: 147; alginat: 130; guar: 77 (10 USD/1kg carrageenan).

Với những lý do nêu trên, đối với nước ta, việc nghiên cứu thu nhận, sản xuất các polysaccharides từ rong biển có nhiều ý nghĩa:

- Về mặt khoa học: mở ra hướng nghiên cứu sử dụng nguồn nguyên liệu vô tận đặc trưng cho nguồn gen quý của vùng biển nhiệt đới Việt Nam.

- Về mặt thực tiễn: tạo các sản phẩm mới cho ngành thực phẩm, nông nghiệp, y, dược và công nghệ xử lý môi trường...

Để bắt đầu hướng nghiên cứu thu nhận, sản xuất các polysaccharides từ rong biển, đã tiến hành nghiên cứu chiết, tách carrageenans và nghiên cứu một số tính chất của chúng.

## II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu cho chiết, tách polysaccharides

Đã sử dụng loài rong Hồng Vân *Euclima gelatina* thuộc bộ Gigartinales, ngành Rhodophyta (Rong Đỏ). Loài rong này được nhân dân rất ưa chuộng và khai thác. Chi *Euclima* mọc khá phổ biến ở một số nơi như huyện Ninh Hải (Ninh Thuận), đảo Hải Vân (Quảng Nam - Đà Nẵng), đảo

Phú Quý (mỗi loài thuộc chi này cho sản lượng khoảng 10 tấn tươi một năm).

## 2. Phương pháp nghiên cứu

-Dùng dụng cụ Dotkina đo áp suất thẩm thấu.

- Dùng nhớt kế Ubelôt đo độ nhớt.

## 3. Xác định trọng lượng phân tử và hệ số polymer "b" của carrageenans bằng phương pháp đo áp suất thẩm thấu

Áp suất thẩm thấu ( $\pi$ ) của dung dịch đủ loãng của các chất có phân tử lượng nhỏ được mô tả bằng phương trình Vant - Hoff:

$$\pi = (c/M)RT$$

Trong công thức trên:

- $\pi$ : áp suất thẩm thấu, có thứ nguyên atmosphere (atm).
- R: hằng số khí = 0,082 lit.atm/T.mol.
- T: nhiệt độ tuyệt đối  $^{\circ}\text{K}$ .
- C: nồng độ của dung dịch polymer, được tính bằng g/lit.
- M: trọng lượng phân tử, có thứ nguyên g/mol.

Đối với dung dịch polymer có trọng lượng phân tử lớn thì công thức phương trình Vant - Hoff không chính xác. Điều đó được giải thích là khi phân tử lớn trong dung dịch, do có độ linh động, nên từng phần của nó có thể coi là 1 phân tử nhỏ. Như vậy, 1 phân tử lớn có thể coi là nhiều phân tử nhỏ. Cuối cùng, áp suất thẩm thấu của dung dịch polymer có trọng lượng phân tử lớn tăng nhanh hơn so với sự tăng nồng độ của nó. Dựa vào giả thiết như vậy, Galler đã đưa ra biểu thức sau:

$$\pi = (c/M)RT + bc^2$$

Trong công thức trên:

-b là hằng số biểu thị sự sai lệch với phương trình Vant-Hoff.

-Hằng số b đặc trưng cho từng polymer.

Khi nồng độ dung dịch rất nhỏ thì đại lượng  $bc^2$  tiến gần tới 0, biểu thức Galler có dạng phương trình Vant - Hoff, và có thể viết lại như sau:

$$\pi/c = RT/M + bc$$

Trong dạng này, đại lượng " $\pi/c$ " là hàm số tuyến tính với nồng độ "c" và hệ số b. Như vậy, nếu đo được áp suất thẩm thấu của dung dịch polymer với nhiều nồng độ khác nhau, sau đó lập đồ thị sự phụ thuộc tuyến tính của đại lượng " $\pi/c$ " vào dung dịch polymer "c":  $\pi/c = f(c)$  thì có thể xác định được trọng lượng phân tử và hằng số b đặc trưng cho polymer.

## 4. Xác định các hằng số đặc trưng K và $\alpha$ bằng phương pháp đo độ nhớt

Độ nhớt đặc trưng vào phân tử lượng chất polymer liên quan với trọng lượng phân tử của nó theo hệ thức Mak-Euvin:

$$[\eta] = KM^{\alpha}$$

Từ công thức trên có thể viết:

$$\lg[\eta] = \lg K + \alpha \lg M$$

Với: K và  $\alpha$  là hằng số đặc trưng cho từng polymer, phụ thuộc vào dung môi và nhiệt độ.

Như vậy, nếu có một polymer với n mẫu có trọng lượng phân tử khác nhau, xác định độ nhớt đặc trưng tương ứng của các mẫu đó, thì có thể xác định được các hằng số đặc trưng K và  $\alpha$  của polymer đó.

Để tiến hành xác định K và  $\alpha$ , trước hết xác lập các biểu thức tương ứng giữa  $\lg M$  và  $\lg[\eta]$ , sau đó lập đồ thị  $\lg[\eta] = f(\lg M)$ :

$$\lg[\eta]_1 = \lg K + \alpha \lg M_1$$

$$\lg[\eta]_2 = \lg K + \alpha \lg M_2$$

$$\lg[\eta]_3 = \lg K + \alpha \lg M_3$$

-----

$$\lg[\eta]_n = \lg K + \alpha \lg M_n$$

Từ đồ thị có thể xác định được K và  $\alpha$ .

Để xác định các hằng số đặc trưng K và  $\alpha$  của carrageenan chúng tôi tiến hành như sau:

-Xác định độ nhớt đặc trưng của các mẫu Carrageenan:  $[\eta]_1, [\eta]_2, [\eta]_3$ ;

-Xác định độ nhớt đặc trưng của mẫu M1 (Hình 2);

Để xác định độ nhớt đặc trưng của mẫu M1, trước hết xác định sự phụ thuộc độ nhớt riêng của nó phụ thuộc vào nồng độ.

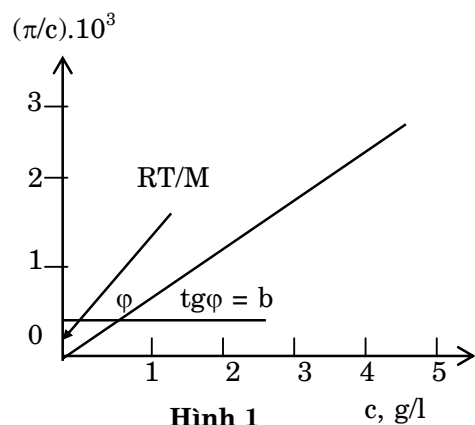
### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Kết quả đo áp suất thẩm thấu của dung dịch carrageenan với nhiều nồng độ khác nhau được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1: Áp suất thẩm thấu ( $\pi$ ) của dung dịch carrageenan (mẫu M1) với nhiều nồng độ khác nhau

C, g/lit	1	2	3	5
$\pi \cdot 10^3, \text{atm}$	0,9	2,8	7	16
$(\pi/c) \cdot 10^3, \text{atm.lit/g}$	0,9	1,4	2,3	3,2

Từ kết quả trong bảng 1, lập đồ thị  $\pi/c = f(c)$  (hình 1).



Từ đồ thị (hình 1), xác định được:

$$RT/M = 0,15 \cdot 10^{-3} \text{ atm.lit/g};$$

$$M = 168.100 \text{ g/mol};$$

$$\text{tg} \varphi = b = 0,25 \cdot 10^{-3}, \text{ atm.lit}^2/\text{g}^2;$$

Tương tự như xác định trọng lượng phân tử của M1, các kết quả xác định trọng lượng phân tử các mẫu còn lại như sau:

$$M_2 = 180.700$$

$$M_3 = 97.900$$

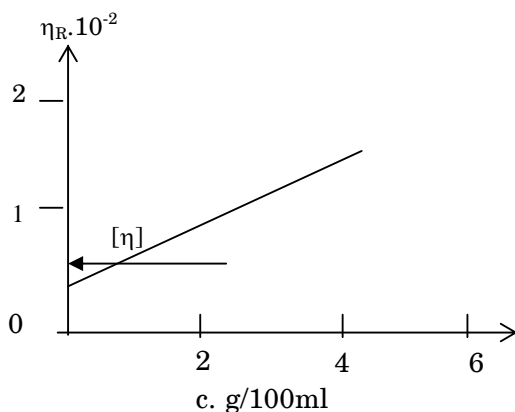
Qua các số liệu thu được về trọng lượng phân tử của các mẫu carrageenan cho chúng ta thấy rằng, phương pháp tách với các nồng độ

khác nhau của muối KCl ảnh hưởng rất lớn tới trọng lượng phân tử của carrageenan. Nồng độ lớn của muối KCl có thể bẻ gãy mạch polymer.

Kết quả được trình bày trong bảng 2 cho thấy sự phụ thuộc của độ nhớt vào nồng độ của mẫu M1.

Bảng 2: Sự phụ thuộc độ nhớt riêng  $\eta_R$  vào nồng độ của mẫu M1

C, g/100ml	1	2	3	4	5	6
$\eta_R \cdot 10^{-2}$	1,05	1,24	1,43	1,63	1,81	1,95



Từ đồ thị hình 2, xác định được:  
 $[\eta]_1 = 87 \text{ cm}^3/\text{g}$

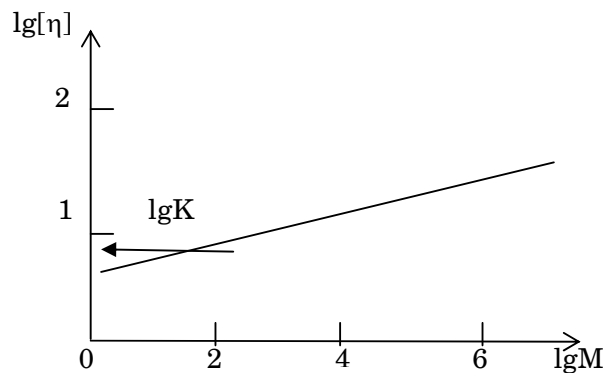
Hình 2

Xác định độ nhớt đặc trưng của các mẫu 2, 3: tiến hành tương tự như xác định độ nhớt đặc trưng của mẫu 1, cho các kết quả trong bảng 3.

Bảng 3: Trọng lượng phân tử và độ nhớt đặc trưng tương ứng của các mẫu Carrageenan

Mẫu	M, g/mol	lgM	$[\eta], \text{cm}^3/\text{g}$	lg $[\eta]$
No1	168.100	5.150	87	1,94
No2	180.700	5.225	101	2,00
No3	97.900	4.901	55	1,74

Từ kết quả trong bảng 3, lập đồ thị  $\lg[\eta] = f(\lg M)$  (hình 3). Từ đồ thị (hình 3), xác định được K và  $\alpha$ :



lgK = 1,1  
 $\text{tg}\varphi = \alpha = 0,21$   
 $\alpha = 0,21$   
 K = 12,6

Hình 3

#### IV. KẾT LUẬN

-Carrageenans do chúng tôi chiết ra từ Rong Hồng Vân có trọng lượng phân tử từ 97.900 g/mol đến 180.700 g/mol.

-Các hằng số polymer của carrageenan được xác định, có giá trị như sau:

$$b = 0,25 \cdot 10^{-3}$$

$$K = 12,6$$

$$\alpha = 0,21$$

#### LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Nguyễn Hữu Đại, phòng Thực Vật Biển - Viện Hải Dương Học (Nha Trang) đã đóng góp cho chúng tôi nhiều ý kiến khoa học có giá trị trong công việc nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ermak I. M., Khotimchenko Yu. S., 1997. Physical and chemical properties, applications, and biological activities of carrageenan, a polysaccharide of red algae. *Biologiya Morya*. Vol. 23(3): 129 - 142 (Russian).
2. Fred van de Velde: Helên A. Peppelman, 2001. On the structure of Kapa/ Iota hybrids carrageenans. *Carbohydrate Research*, 331: 271 - 283.
3. José M. Estevez, Marina Ciancia, Alberto S. Cerezo, 2000. The system of low molecular weight carrageenans and agaroids from the room - temperature - extracted fraction of *Kappaphycus alvarezii*. *Carbohydrate Research*, 325: 287 - 299.
4. José M. Estevez, Marina Ciancia, Alberto S. Cerezo, 2001. DL - Galactan hybrids and agaran from gametophytes of the red seaweed *Gymnogongrus torulosus*. *Carbohydrate Research*, 331: 27-41.
5. Nguyễn Hữu Dinh, Huỳnh Quang Năng, Trần Ngọc Bút, Nguyễn Văn Tiến, 1994. Rong Biển Việt Nam (Phần phía Bắc). NXB. Khoa Học Kỹ Thuật, Hà Nội.
6. Nguyễn Hữu Đại, 1997. Rong Mơ Sargassaceae Việt Nam - Nguồn lợi và sử dụng. NXB. Nông Nghiệp, TP. Hồ Chí Minh.
7. Nguyễn Văn Tiến, Nguyễn Hữu Đại, Lê Thị Thanh, Nguyễn Thị Minh Huyền, 1998. Rong biển carrageenophytes phía Bắc Việt Nam. Báo cáo toàn văn Hội Nghị Khoa Học Công Nghệ Biển toàn quốc lần thứ IV, 980 - 987.
8. Pablo J. Cáceres, Maria J. Carlucci, Elsa B. Damonte, 2000. Carrageenans from chilean samples of *Stenogramme interrupta* (Phylloporaceae): structural analysis and biological activity. *Phytochemistry*, 53: 81 - 86.
9. Sách Đỏ Việt Nam. Phần Thực vật, 1996. Nhà XB. Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
10. Svein H. Knutsen, Marit Sletmoen, Trond Kristensen, 2000. A rapid method for the separation and analysis of carrageenans oligosaccharides released by *Iota* and *Kapa* carrageenans. *Carbohydrate Research*, 331: 101 - 106.