

[文章编号] 1007-7405(2016)01-0029-06

离子色谱法测定常见海藻及琼脂中的硫酸根含量

王萍萍¹, 倪辉^{1,2,3}, 姜泽东^{1,2,3}, 杨远帆^{1,2,3}, 朱艳冰^{1,2,3},
肖安风^{1,2,3}, 李利君^{1,2,3}, 杜希萍^{1,2,3}, 陈峰^{1,4}

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室,
福建 厦门 361021; 3. 厦门市食品与生物工程技术研究中心, 福建 厦门 361021;
4. 美国克莱姆森大学食品科学、营养与包装科学系, 美国 南卡罗来纳州 29634)

[摘要] 为测定常见海藻及琼脂中的硫酸根含量, 建立了测定硫酸根含量的离子色谱内标法, 对 6 种琼脂和 5 种海藻中的硫酸根含量进行测定. 结果表明: 选择 KNO_3 作为内标物, 硫酸根的质量浓度在 10 ~ 45 mg/L 范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.999$), 加标回收率为 93.1% ~ 106.4%. 该方法测得的琼脂中硫酸根质量分数在 0.25% ~ 1.21% 之间, 海带、紫菜、麒麟菜、红毛菜和江蓠中硫酸根质量分数分别为 2.58%、3.86%、10.62%、2.42% 和 1.01%, 其中麒麟菜的显著高于其他 4 种海藻的 ($P < 0.05$).

[关键词] 离子色谱; 琼脂; 海藻; 内标法; 硫酸根

[中图分类号] Q 539+.9; O 657.7

Analysis of Sulfate Contents in Common Seaweeds and Agars by Ion Chromatography

WANG Ping-ping¹, NI Hui^{1,2,3}, JIANG Ze-dong^{1,2,3}, YANG Yuan-fan^{1,2,3}, ZHU Yan-bing^{1,2,3},
XIAO An-feng^{1,2,3}, LI Li-jun^{1,2,3}, DU Xi-ping^{1,2,3}, CHEN Feng^{1,4}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;
2. Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering, Xiamen 361021, China;
3. Research Center of Food Biotechnology of Xiamen City, Xiamen 361021, China;
4. Department of Food, Nutrition and Package Science, Clemson University, South Carolina 29634, United States)

Abstract: In order to investigate the sulfate contents in common seaweeds and agars, five seaweeds and six agars were analyzed by using an internal standard with ion chromatography (IC), which was then used to calculate the sulfate content. The result showed that the chosen KNO_3 was more suitable as the internal standard for quantify of SO_4^{2-} . The contents of SO_4^{2-} exhibited well linearity in a range of 10 ~ 45 mg/L ($R^2 > 0.999$), and the recoveries were 93.1% ~ 106.4%. By using the above method, sulfate contents exhibited a range from 0.25% to 1.21% in different agars, besides, the sulfate contents of *kelp*, *nori*, *echeuma*, *bangia* and *gracilaria* were 2.58%, 3.86%, 10.62%, 2.42% and 1.01%, respectively. In addition, the sulfate content of *echeuma* was significantly higher than that of the others ($P < 0.05$).

Keywords: ion chromatography; agar; seaweed food; internal standard method; sulfate

[收稿日期] 2015-08-20

[修回日期] 2015-10-28

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (31501441); 海洋公益性行业科研专项项目 (201505033-2); 厦门市海洋与渔业局项目 (14GZP010NF10)

[作者简介] 王萍萍 (1991—), 女, 硕士生, 从事食品加工与安全研究. 通信作者: 姜泽东 (1982—), 男, 讲师, 博士, 从事食品生物技术研究, E-mail: zdjiang@jmu.edu.cn.

0 引言

海藻是海洋中蕴藏的巨大生物资源之一, 种类多达 15000 种, 其中有经济价值的约为 100 种, 主要分为褐藻、红藻、绿藻和蓝藻 4 大类. 海藻中含有丰富的蛋白质、维生素、多不饱和脂肪酸、多糖和天然色素, 在食品工业、药品和保健品领域具有重要的应用价值^[1-2]. 它是海藻的主要成分之一, 硫酸多糖是在多糖大分子链的单糖残基上带有硫酸根的天然多糖^[3]. 大量研究^[4-5]证明, 硫酸多糖具有抗高血脂、抗凝血活性、降血脂血糖、抗肿瘤等多种生物活性. 硫酸多糖中硫酸根的取代度是影响海藻多糖生物活性和应用性质的重要指标^[6]. 此外, 硫酸根含量还与海藻多糖的物理性质密切相关, 如在利用红藻提取琼脂和卡拉胶时, 去除多糖上的硫酸根能显著提高凝胶强度^[7]. 因此, 了解海藻及其加工产品中硫酸根含量对于海藻及其多糖产品的深加工利用具有重要指导意义.

目前, 测定海藻多糖中硫酸根含量的方法有 BaCl_2 比浊法和离子色谱法 (Ion Chromatography, IC). 离子色谱法是一种测定无机离子含量的高效液相色谱分析方法, 广泛应用于食品、医药和环境等领域. 相对于传统的 BaCl_2 比浊法, 离子色谱法具有高选择性、高灵敏度等优点. 用 BaCl_2 比浊法分析琼脂和卡拉胶中硫酸根的含量的研究较多, Sousa 等^[8]用离子色谱法测定了琼脂硫酸根含量, 但目前有关海藻中硫酸根离子含量的测定研究很少. 本文采用新型离子交换柱和自身再生抑制器 (SRS) 等离子色谱手段, 在 IC 测定过程中加入内标物质 KNO_3 , 建立测定海藻多糖产品中硫酸根的离子色谱方法, 并利用该方法分析海带 (*Laminaria japonica*)、紫菜 (*Porphyra umbilicalis*) 和麒麟菜 (*Echeuma muricatum*) 等常见海藻及琼脂产品中硫酸根的含量, 为海藻及其多糖产品的深加工提供数据参考.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

琼脂粉 A (A1296 - 100G)、B (A6686 - 100G) 和 C (V900500 - 500G) 购于美国 Sigma 公司; 琼脂粉 D (10000582, BR) 购于国药集团化学试剂有限公司; 琼脂粉 E (028990, BR) 购于广东环凯微生物技术有限公司; 琼脂粉 F、麒麟菜和江蓠购于绿新 (福建) 食品有限公司; 海带购于福建省霞浦县永兴水产工贸有限公司; 紫菜购于晋江市安海裕源食品有限公司; 红毛菜由莆田秀屿水产技术推广站提供.

硝酸钾、硫酸钠、磷酸二氢钾、吐温 - 20、 BaCl_2 、 HCl 等试剂购于厦门集霖商贸有限公司, 均为分析纯.

1.2 仪器与设备

ICS - 2100 型离子色谱仪购于美国 Dionex 公司; DIONEX IonPac AS19 (4 mm \times 250 mm) 阴离子分离柱, DIONEX IonPac AG19 (4 mm \times 50 mm) 阴离子保护柱, 软件为 Chromeleon 7.1 色谱工作站; 马弗炉购于济南精密仪器仪表有限公司; 分光光度计购于龙尼柯 (上海) 仪器有限公司.

1.3 实验方法

1.3.1 离子色谱条件 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 淋洗液: 20 mmol/L KOH 溶液等度洗脱, 流速为 1.0 mL/min; 抑制器: DIONEX ASRS 4 - mm 阴离子抑制器, 再生抑制模式, 抑制器电流 50 mA; 检测器: 电导检测器, 检测池温度 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 25 μL , 定量环进样.

1.3.2 标准贮备液的配制 离子色谱法: 称取干燥至恒重的 KH_2PO_4 1.4320 g, 用超纯水溶解并定容至 100 mL, 移取 KH_2PO_4 溶液 2 mL, 超纯水溶解并定容至 500 mL, 此时 PO_4^{3-} 质量浓度为 40 mg/L. 称取干燥至恒重的 KNO_3 1.6302 g, 用超纯水溶解并定容至 100 mL, 移取 KNO_3 溶液 1 mL, 定容至 500 mL 容量瓶中, 此时 NO_3^- 质量浓度为 20 mg/L. 称取 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘至恒重的 Na_2SO_4 0.1480 g, 用配好的 KNO_3 工作液将其溶解后定容至 100 mL, 此溶液中 SO_4^{2-} 的质量浓度为 1 g/L. 称取 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘至恒重的 Na_2SO_4 1.4800 g, 用超纯水溶解后定容至 100 mL, 配成 10 g/L 的 SO_4^{2-} 工作液.

氯化钡比浊法: 196 g 去离子水中加入 2 g 吐温 20 和 BaCl_2 , 慢慢混匀, 配成质量分数 1% 吐温 20 - BaCl_2 溶液. 称取 105 °C 烘至恒重的 K_2SO_4 粉末 0.1088 g (精确至 0.0001 g), 用 1.0 mol/L 的盐酸定容至 500 mL, 配成 0.12 g/L 的 SO_4^{2-} 储备液.

1.3.3 内标物质的选择 称取 105 °C 烘至恒重的 Na_2SO_4 固体 0.1480 g, 分别用 1.3.2 中 KH_2PO_4 和 KNO_3 储备液溶解, 配成质量浓度为 10 mg/L 的 SO_4^{2-} 工作液. 经 0.22 μm 水系滤膜, 注入样品容器中, 待仪器的背景值稳定后, 在设定的色谱条件下, 进样分析内标物和标准品的分离度.

1.3.4 绘制标准工作曲线和计算检出限 离子色谱法: 移取 1.3.2 中 1 g/L 的 Na_2SO_4 标准储备液, 用 KNO_3 储备液溶解并稀释为质量浓度 10、15、20、25、30、40、45 mg/L 系列标准曲线溶液. 按照 1.3.3 的方法测定标准溶液中硫酸根含量. 以 SO_4^{2-} 和 NO_3^- 峰面积的比值为纵坐标、 SO_4^{2-} 和 NO_3^- 质量浓度比值为横坐标绘制标准曲线.

氯化钡比浊法: 移取 1.3.2 中 0.12 g/L 的 SO_4^{2-} 工作液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 6 个试管中, 用 1.0 mol/L 的盐酸补充至 1.0 mL, 分别加入质量分数 1% 吐温 20 - BaCl_2 溶液 3 mL, 混匀后静置 30 min, 超声 10 min, 于 360 nm 处测定吸光度值, 以 SO_4^{2-} 标准液的吸光度值为纵坐标、 SO_4^{2-} 质量浓度为横坐标绘制标准曲线.

检出限试验: 定性检测限按照 3 倍的信噪比 (S/N) 计算, 定量限以 10 倍的 S/N 计算.

1.3.5 加标回收率试验 称取 0.5 g 琼脂样品 A 15 份于 50 mL 坩埚中, 分成 3 组, 并加入 1.3.2 中 10 g/L 的 SO_4^{2-} 工作液, 第 1 组加入 302 μL , 第 2 组加入 604 μL , 第 3 组加入 906 μL . 将坩埚置于电炉上炭化至无烟后, 转移到马弗炉中于 550 °C 下灰化至灰白色或白色, 然后立即放入硅胶干燥器中. 用 1.3.2 配制的 KNO_3 标准工作液溶解灰分并转移至 25 mL 容量瓶中, 定容摇匀. 随后, 根据预实验测定的各琼脂样品中硫酸根含量, 从 25 mL 容量瓶中移取适量体积样品溶液定容至 5 mL 容量瓶中, 将 SO_4^{2-} 的质量浓度稀释至 10 ~ 45 mg/L, 测定硫酸根含量, 并进行相对标准偏差 (RSD) 和显著性分析.

1.3.6 琼脂产品和海藻中硫酸根含量的测定 称取琼脂和海藻样品各 0.5 g, 每个样品做 3 个平行, 样品预处理与稀释同 1.3.5, 采用已建立好的测定方法在相同的条件下测定琼脂中硫酸根的含量.

1.3.7 数据分析方法 试验数据为 3 次平行试验的平均值; 应用 Office Excel 2010 软件计算平均值和标准偏差; 应用 SPSS Statistics 19.0 (IBM) 软件进行显著性分析 ($P < 0.05$).

2 结果与分析

2.1 内标物选取试验

离子色谱法测定 SO_4^{2-} 含量时经常采用 NO_3^- 或 PO_4^{3-} 作为内标物. 实验结果 (见图 1) 表明, SO_4^{2-} 保留时间为 7.99 min, PO_4^{3-} 保留时间为 18.20 min (图 1A), NO_3^- 保留时间为 6.68 min (图 1B). PO_4^{3-} 和 NO_3^- 的色谱峰均能与 SO_4^{2-} 完全分离, 但 NO_3^- 保留时间与 SO_4^{2-} 更加接近, 且保留时间更短, 可节约分析时间, 故选用 KNO_3 作为测定的内标物质.

2.2 标准曲线绘制和检出限分析

选用 KNO_3 作为内标物, 以质量浓度 10、15、20、25、30、40、45 mg/L 的 SO_4^{2-} 与 20 mg/L 的 NO_3^- 的浓度之比为横坐标, SO_4^{2-} 峰面积与 NO_3^- 峰面积的比值为纵坐标建立的标准曲线见图 2 ($R^2 > 0.999$), 表明 SO_4^{2-} 质量浓度在 10 ~ 45 mg/L 范围内呈良好的线性关系. 图 3 为氯化钡比浊法测定硫

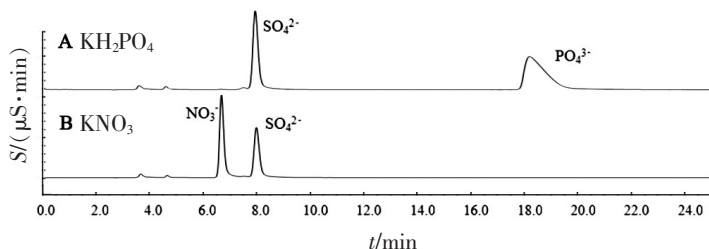


图 1 KH_2PO_4 和 KNO_3 内标物配制的 Na_2SO_4 标准液离子色谱图
Fig.1 Chromatogram of Na_2SO_4 standard solution prepared by KH_2PO_4 solution and KNO_3 solution

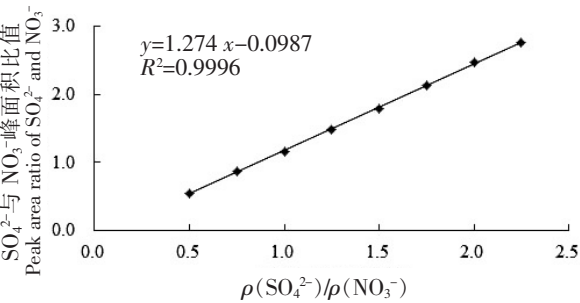


图 2 离子色谱法测定硫酸根含量的标准曲线

Fig. 2 Standard curve of sulfate detected by ion chromatograph

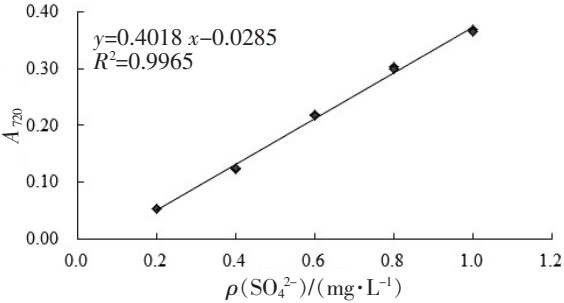


图 3 氯化钡比浊法测定硫酸根含量的标准曲线

Fig. 3 Standard curve of sulfate detected by barium chloride turbidimetry

酸根含量的标准曲线，其回归方程为 $y = 0.4018x - 0.0285$ ($R^2 = 0.9965$)。

按照 3 倍信噪比 ($S/N = 3$) 计算检出限为 0.003 mg/L, 10 倍信噪比 ($S/N = 10$) 计算定量限为 0.011 mg/L. 该结果与相关研究^[9]用离子色谱法测定食用海藻中无机离子的结果相似, 说明本研究的离子色谱方法与前人的方法具有相似的检测灵敏性.

2.3 加标回收率试验

在相同的色谱条件下, 对琼脂 A 样品采用标准加入法测定 SO_4^{2-} 含量的回收率和精密度, 结果 (见表 1) 显示, 5 组平行试验浓度测定的相对标准偏差小于 2.4%, 回收率在 93.1% ~ 106.4% 之间, 回收率测定的相对标准偏差 ($n = 5$) 在 3.5% ~ 5.4% 之间. 表明方法准确性高、重现性好.

表 1 硫酸根离子的加标回收率及相对标准偏差

Tab.1 Recovery and relative standard derivation of sulfate group

本底值 Background value/mg	加标量 Plus scalar /mg	测量值 Measurement value/mg					测量均值 Measured mean value/mg	测量值 RSD RSD of measurement value/%	回收率 Recovery /%	回收率 RSD RSD of recovery /%
6.04	3.02	8.91	8.65	8.69	9.00	9.00	8.85	1.9	93.1	5.4
	6.04	12.22	12.86	12.57	12.27	12.41	12.47	2.1	106.4	3.6
	9.06	15.81	15.26	14.95	15.55	15.80	15.47	2.4	104.1	3.5

2.4 样品测定结果

用离子色谱法测定有机物中的元素, 常采用湿法消化和干法灰化的方法处理样品, 将固体样品中的非金属元素转化为阴离子, 再进行分离测定^[10]. 由于湿法分解有机化合物时需要添加氯酸、硝酸等, 这些离子为离子色谱的高灵敏组分, 会因加速色谱柱的饱和和速度影响 SO_4^{2-} 分离效果^[11]. 硫酸根离子具有正四面体结构, 对称性高, 灰化过程中硫酸根的热稳定性高, 且硫酸和硫酸盐常作为样品的灰化助剂, 防止样品挥发和发生滞留作用, 以降低待测元素的损失^[12-13]. 因此, 本方法采用干法灰化的前处理方式, 样品处理过程不引入其他试剂, 避免杂质干扰. 5 种海藻的硫酸根含量测定的离子色谱图见图 4, 离子色谱仪测定 6 种琼脂产品和 5 中海藻的硫酸根含量结果如表 2 和表 3 所示.

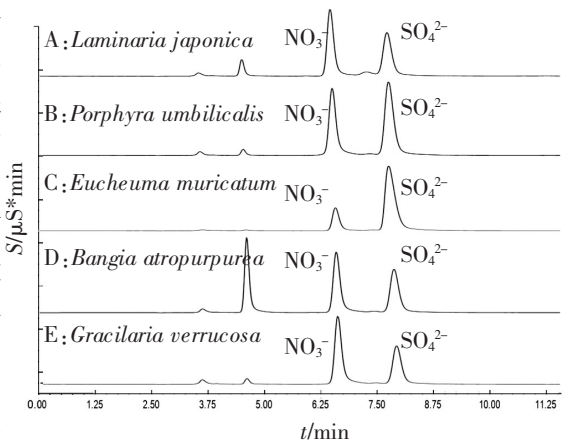


图 4 5 种海藻中硫酸根含量的离子色谱图

Fig. 4 Chromatograms of sulfate contents in five seaweeds

表 2 琼脂产品中硫酸根的质量分数

Tab. 2 Mass fraction of sulfate of agars

%				
样品 Sample	$w(\text{SO}_4^{2-})$ (IC method)	RSD	$w(\text{SO}_4^{2-})$ (BaCl ₂ method)	样品 来源 Sample source
琼脂粉 A Agar A	1.21 ^a	1.5	1.52 ^a	Sigma
琼脂粉 B Agar B	1.01 ^b	2.1	1.37 ^b	Sigma
琼脂粉 C Agar C	0.45 ^c	1.0	0.58 ^c	Sigma
琼脂粉 D Agar D	0.36 ^{cd}	0.6	0.51 ^{cd}	环凯 Huankai
琼脂粉 E Agar E	0.47 ^c	1.7	0.60 ^c	国药 Guoyao
琼脂粉 F Agar F	0.25 ^d	0.8	0.39 ^d	绿新 Luxin

说明: 显著性分析采用 Scheffe 法, 上标 a, b, c, d 代表不同琼脂产品硫酸根含量具有显著性差异 ($P < 0.05$) .
Notes: Scheffe method was used to analyze the significance, a, b, c, d within the same column indicated the significant difference of sulfate content.

从表 2 可知, 6 种琼脂产品的 SO_4^{2-} 质量分数在 0.25% ~ 1.21% 之间, 其中 Sigma 公司的琼脂粉 A 硫酸根的含量显著高于其他公司的琼脂产品, 绿新集团琼脂粉 F 硫酸根含量显著低于 Sigma 公司和环凯的琼脂粉产品, 与国药集团琼脂粉 D 硫酸根含量无显著性差异 ($P < 0.05$) . 氯化钡比浊法测定硫酸根含量的结果略高于离子色谱法, 可能是采用氯化钡比浊法测定时, 溶液中存在 PO_4^{3-} 、 Cl^- 等微量离子, 使得测定过程中的吸光度值偏大. 而采用离子色谱法测定时, PO_4^{3-} 、 Cl^- 经过离子交换柱时能够与 SO_4^{2-} 良好分离, 消除微量离子对 SO_4^{2-} 含量测定的干扰^[10]. 琼脂产品的硫酸根含量的差异与琼脂原藻品种、采集季节、琼脂提取工艺和制备方法等有关, 纪明候^[14]¹⁵用我国青岛生长的真江蓠提取琼胶时发现, 琼胶中硫酸根的含量与季节变化有关, Carter 等^[15]对两世代琼胶产品的研究具有同样结果, 发现由于采收季节不同, 所提琼胶中硫酸根的含量也不同.

由表 3 可知, 5 种海藻中 SO_4^{2-} 质量分数在 1.01% ~ 10.62% 之间, 均在 Ross^[16]测定若干种红藻中硫酸根的质量分数 0.5% ~ 18.3% 之间, 也在夏静芬^[17]测定褐藻中硫酸根质量分数 1.88% ~ 4.03% 的范围内. 其中, 麒麟菜硫酸根含量显著高于其他 4 种海藻的, 江蓠硫酸根含量显著低于其他 4 种海藻的, 紫菜、麒麟菜和红毛菜硫酸根含量均显著高于海带的 ($P < 0.05$) , 这与相关学者研究报道红藻中硫酸根含量一般高于褐藻^[18]的结论相符, 原因可能与海藻中硫酸酯多糖的分子结构以及硫酸根在多糖中取代位置不同有关, 如褐藻多糖硫酸酯主要是由岩藻糖和硫酸基组成, 为高度 3 - 支链化的 (1 - 2) 或 (1 - 3) 连接的 α - L - 岩藻糖 - 4 - 硫酸酯, 而红藻中硫酸根多以 6 - 硫酸基 - D 半乳糖和 6 - 硫酸基 - L 半乳糖的结构存在, 硫酸根大多位于 D - 半乳糖的 C2、C4 和 C6 位置上^[19]. 红藻 (紫菜、麒麟菜、红毛菜和江蓠) 硫酸根含量的差异与红藻品种、生长海域和采集季节等因素密切相关^[14]¹¹. 硫酸根的含量是决定海藻多糖生物活性 (如抗肿瘤、提高免疫力、抗病毒等) 的重要因素^[4-5], 麒麟菜中的硫酸根含量远高于其他海藻的, 可能说明该海藻具有某种特别强的生物活性, 为海藻多糖在生物医药产业中的应用提供了数据参考.

3 结论

选择 KNO_3 作为内标物, 用离子色谱法测定 SO_4^{2-} 含量, 硫酸根质量浓度在 10 ~ 45 mg/L 范围内线性关系良好 ($R^2 = 0.9996$) , 加标回收率为 93.1% ~ 106.4% , 琼脂中硫酸根的质量分数在 0.25% ~

表 3 5 种海藻中硫酸根的质量分数

Tab. 3 Mass fraction of sulfate of five seaweeds

%		
样品名称 Sample name	$w(\text{SO}_4^{2-})$	RSD
海带 <i>Laminaria japonica</i>	2.58 ^e	0.5
紫菜 <i>Porphyra umbilicalis</i>	3.86 ^b	2.7
麒麟菜 <i>Eucheuma muricatum</i>	10.62 ^a	1.6
红毛菜 <i>Bangia atropurpurea</i>	2.42 ^c	0.7
江蓠 <i>Gracilaria verrucosa</i>	1.01 ^d	2.6

说明: 显著性分析采用 Scheffe 法, 上标 a, b, c, d 代表不同海藻硫酸根含量具有显著性差异 ($P < 0.05$) .
Notes: Scheffe method was used to analyze the significance, a, b, c, d within the same column indicated the significant difference of sulfate content.

1.21%之间,海带、紫菜、麒麟菜、红毛菜和江蓠中硫酸根质量分数分别为 2.58%、3.86%、10.62%、2.42%和 1.01%。

[参 考 文 献]

- [1] 吕惠敏,张侃.海藻的利用与开发.食品科技,1998(6):25-30. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.1998.06.012.
- [2] GOMEZ-ORDONEZ E, JIMENEZ-ESCRING A, RUPEREZ P. Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. Food Research International, 2010, 43(9): 2289-2294. DOI:10.1016/j.foodres.2010.08.005.
- [3] 刘秋凤,吴成业.硫酸酯多糖的生物活性及其提取方法.福建水产,2012,30(2):240-244. DOI:10.3969/j.jssn.1006-5601.2012.03.013.
- [4] 王晶.海带褐藻多糖硫酸酯的结构、化学修饰与生物活性研究.青岛:中国科学院研究生院海洋研究所,2010:116-117.
- [5] KOYANAGI S, TANIGAWA N, NAKAGAWA H, et al. Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and anti-tumor activities. Biochemical Pharmacology, 2003, 65(2): 173-179. DOI:10.1016/s0006-2952(02)01478-8.
- [6] HAROUN-BOUHEDJA F, ELLOUALI M, SINQUIN C, et al. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. Thrombosis Research, 2000, 100(5): 453-459. DOI:10.1016/s0049-3848(00)00338-8.
- [7] 柯庆勇,黄雅燕,叶静,等. DEAE-纤维素法从琼脂中分离制备琼脂糖工艺研究.离子交换与吸附,2015,31(1):21-31. DOI:10.16026/j.cnki.iea.2015010021.
- [8] SOUSA M M, ALVES V D, MORAIS S, et al. Agar extraction from integrated multitrophic aquacultured *Gracilaria vermiculophylla*: evaluation of a microwave-assisted process using response surface methodology. Bioresource Technology, 2010, 101(9): 3258-3267. DOI:1016/j.biortech.2009.12.061.
- [9] GÓMEZ-ORDÓÑEZ E, ALONSO E, RUPÉREZ P. A simple ion chromatography method for inorganic anion analysis in edible seaweeds. Talanta, 2010, 82(4): 1313-1317. DOI:10.1016/j.talanta.2010.06.062.
- [10] 杨贤庆,赵永强,戚勃,等.离子色谱法与硫酸钡比浊法测定琼胶糖中硫酸基含量的比较研究.食品科学,2009,30(18):340-343. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2009.18.079.
- [11] SOLÓ RZANO L, SHARP J H. Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters. Limnol Oceanog, 1980, 25(4): 754-758. DOI:10.4319/10.1980.25.4.0754.
- [12] HEISKANEN A S, HAAPHLA J, GUNDERSENK. Sedimentation and pelagic retention of particulate C, N and P in the Coastal Northern Baltic Sea. Estuarine Coastal and Shelf Science, 1998, 46(5): 703-712. DOI:10.1006/ecss.1997.0320.
- [13] 刘亚轩,李晓静,白金峰,等.植物样品中无机元素分析的样品前处理方法和测定技术.岩矿测试,2013,35(5):681-693. DOI:10.15898/j.cnki.11-2131/td.2013.05.001.
- [14] 纪明侯.海藻化学.北京:科学出版社,1997:8-16.
- [15] CARTER A R, ANDERSEN R J. Seasonal growth and agar contents in *Gelidium pristoides* (*Gelidiales*, *Rhodophyta*) from Port Alfred, South Africa: Botanica Marina. Botanica Marina, 1986, 29(2): 117-124. DOI:10.1515/botm.1986.29.2.117.
- [16] ROSS A G. Some typical analyses of red seaweeds. Journal of the Science of Food & Agriculture, 1953, 4(7): 333-335. DOI:10.1002/jsfa.2740040706.
- [17] 夏静芬,章俊,叶靛.褐藻硫酸根含量的离子色谱法分析.光谱实验室,2009,26(2):312-315. DOI:10.3969/j.j.issn.1004-8138.2009.02.036.
- [18] JIMÉNEZ-ESCRIG A, GÓMEZ-ORDÓÑEZ E, RUPÓREZ P. Brown and red seaweeds as potential sources of antioxidant nutraceuticals. Journal of Applied Phycology, 2011, 24(5): 1123-1132. DOI:10.1007/s10811-011-9742-8.
- [19] 秦晓娟. D-半乳糖-6-硫酸化酶的分离纯化及κ-卡拉胶改性机理研究.无锡:江南大学,2014:1-2.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)