

麒麟菜多糖的研究

I. 琼枝多糖的性质及其红外光谱*

郑淑贞 陈放权 曾丽仙 庞建昌 林瑞洵 林慧贞

(中国科学院广州化学研究所)

提 要

琼枝多糖是琼枝(*Eucheuma gelatinae*)分离得到的一种硫酸酯化半乳聚糖。构成这种多糖的单糖主要是D-半乳糖和3,6-脱水-D-半乳糖。分子量为 1.99×10^5 ,比旋光度为正值。大多数碱金属阳离子和碱土金属阳离子能使此多糖的胶凝能力提高。用碱或石灰处理时,琼枝多糖便部分脱去硫酸酯基团,3,6-脱水-D-半乳糖的含量增加。红外光谱分析证明,琼枝多糖在 1240cm^{-1} 、 930cm^{-1} 和 845cm^{-1} 有吸收峰。用氯化钾分级时,琼枝多糖可分为溶于氯化钾溶液和不溶于氯化钾溶液两个级分;前者的红外光谱除了同后者一样在 1240cm^{-1} 、 930cm^{-1} 和 845cm^{-1} 有吸收峰外,在 820cm^{-1} 处还有吸收峰。根据琼枝多糖的组成,性质和红外光谱,可以推断,溶于氯化钾溶液的级分是类 μ -卡拉胶;不溶于氯化钾溶液的级分是类 κ -卡拉胶。

前 言

卡拉胶是一种由D-半乳糖残基 α -(1 \rightarrow 3)和 β -(1 \rightarrow 4)交替键合而成的假重复结构的多糖硫酸酯^[1]。在国外,已从角叉菜(*Chondrus*)、麒麟菜(*Eucheuma*)、杉藻(*Gigartina*)、沙菜(*Hypnea*)和银杏藻(*Iridaea*)等属红藻中分离得到各种类型的卡拉胶,并将其广泛地用为食品、医药和日用化工品的粘合剂,增稠剂、乳化剂、稳定剂和透明胶层等。

我国麒麟菜资源很丰富,海南岛还大规模人工养殖琼枝(*Eucheuma gelatinae*),供直接食用或提取多糖用。但过去一直把琼枝误认为是琼脂(agar)的主要来源,提取得到的多糖又不能作为琼脂应用,因而得不到广泛的利用。

本工作研究了琼枝多糖的成分、物理性质和化学性质,并通过红外光谱研究其结构,证明琼枝多糖不是琼脂,而是属卡拉胶类。同时,对琼枝多糖作为食品添加剂、医药和化妆品的稳定剂,乳化剂和胶凝剂,以及化工上其它一些有价值的应用都进行了研究,取得了良好的效果。

本文仅就琼枝多糖的性质和红外光谱特征进行讨论。

* 林吟卿、李白莉进行红外光谱测定工作,谨表谢意。

实 验

(1) 材料 琼枝,海南岛琼海养殖场人工养殖,1978年秋收获。

(2) 多糖的分离 将海藻用水洗净,晒干,取一定量干海藻放入50倍(重量)水中加热溶解,过滤,滤液用95%乙醇沉淀,得白色纤维状胶,于60°C下干燥。

(3) 多糖的分级 将粉碎成粉的多糖用2.5%KCl水溶液在室温下处理。然后分别将溶解级分和不溶解级分提纯至无游离氯离子存在。

(4) 碱改性琼枝多糖的制备 用氢氧化钠水溶液加热(60°C)处理海藻,后用热水提取,过滤,滤液用稀盐酸中和,最后用95%乙醇沉淀或冷冻脱水,干燥,得淡黄色纤维状胶或片状胶。

(5) 石灰改性琼枝多糖的制备 用石灰粉取代上述操作中的氢氧化钠,后处理同碱改性法。

(6) 多糖溶胶的胶凝试验 在0.5%多糖水溶胶中加入要试验的各种阳离子,观察胶凝情况。

(7) 粘度、分子量、凝胶强度和比旋光度的测定

粘度的测定:用乌氏粘度计测定一定体积的0.1%多糖溶液在40°C时流过毛细管的时间,然后计算出相对粘度 η_r 。

分子量测定:用乌氏粘度计测定0.1%多糖的尿素和硫氰化钠水溶液(尿素和硫氰化钠的浓度分别为4M和 $10^{-2}M$)的特性粘度 $[\eta]$ 后按下列方程式^[1]求出平均分子量 M_v 。

$$[\eta] = 1.92 \times 10^{-4} M_v^{1.23}$$

凝胶强度的测定:将2%多糖凝胶于5°C放置5小时后,用直径为1.6cm金属柱塞垂直作用于凝胶上,当凝胶破裂时,单位面积的负荷定为凝胶强度。

比旋光度的测定:在国产WXG-4型旋光计上测定多糖稀溶液(C,0.15%)的比旋光度。

(8) 半乳糖和3,6-脱水半乳糖含量的测定 用蒽酮比色法,以半乳糖和果糖为标准^[1,11]。

(9) 硫酸根含量的测定 将多糖样品在105°C下用6NHCl溶液水解(在封管中)后,用硫酸钡重量法测定。

(10) 纸色谱分析 展开剂为正丁醇、吡啶和水的混合剂,三者比例分别为6:4:3。显色剂为对-甲氧基苯胺盐酸盐。多糖样品用盐酸水解。

(11) 红外光谱分析 在Perkin-Elmer 325型红外分光光度计上测定,样品用KBr压片法制备。

结果与讨论

1. 琼枝含多糖量较高,从中可以分离得到60—65%(对于海藻重量而言,干海藻的水分含量为12.8%)的多糖。从纸色谱分析和定量分析得知琼枝多糖不含蛋白质;组成

多糖的单糖主要是 D-半乳糖和 3,6-脱水-D-半乳糖,此外还有少量的木糖等;硫酸酯基团含量较低(SO_3 , 12.1%), 3,6-脱水-D-半乳糖含量为 18.0%;其比旋光度为正值, $[\alpha]_D^{25}$, +55.4°(C, 0.15%), 平均分子量为 1.99×10^5 (见表 1, 表 3)。

用 KCl 分级时,不溶于 KCl 溶液的级分占 89%,其硫酸酯基团, SO_3 含量为 11.3%, 3,6-脱水-D-半乳糖含量为 23.0%, $[\alpha]_D^{25}$, +57.1°, 分子量为 2.25×10^5 ; 溶于氯化钾溶液的级分占 11%, SO_3 含量为 14.8%, 3,6-脱水半乳糖含量为 7.5%, $[\alpha]_D^{25}$, +49.2°, 分子量为 8.4×10^4 (见表 1)。

表 1 琼枝多糖不同级分的分析结果

样 品	SO_3 (重量%)	3,6-脱水半乳糖含量 (重量%)	$[\alpha]_D$	分 子 量
未分级琼枝多糖	12.1	18.0	+55.4°(20℃)	1.99×10^5
不溶于 KCl 级分	11.3	23.0	+57.1°(23℃)	2.25×10^5
溶于 KCl 级分	14.8	7.5	+49.2°(25℃)	8.40×10^4

从比旋光为正值和可用 KCl 分级这两点可说明琼枝多糖不属琼脂类^[7]。而与从麒麟菜属其它种得到的多糖相比,其硫酸酯基团含量低(刺麒麟菜多糖含 SO_3 为 26.3%; 耳突麒麟菜多糖含 SO_3 为 17.6%)。

2. 琼枝多糖溶胶的胶凝能力由于 K^+ , Rb^+ 和 Cs^+ 等碱金属阳离子的存在而明显提高。 Mg^{++} , Ca^{++} , Sr^{++} 和 Ba^{++} 等碱土金属阳离子及 NH_4^+ 离子也能使的胶凝能力提高,但比 K^+ 等碱金属阳离子的影响小些。 Na^+ 和 Li^+ 离子却不能使这种多糖的胶凝能力提高(见表 2)。从这可以看出琼枝多糖对阳离子的选择性。同时也进一步证明琼枝多糖不是琼脂,而是属卡拉胶类^[7]。

表 2 多糖对阳离子的敏感性

多 糖	阳离子	K^+	Rb^+	Cs^+	Mg	Ca^{++}	Sr^{++}	Ba^{++}	NH_4^+	Li^+	Na^+
琼 枝 多 糖		++	++	++	+	+	+	+	+	-	-
琼 脂 哲		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
琼脂(来自江蓠)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3. 琼枝多糖用氢氧化钠或氢氧化钙处理脱硫酸酯基团后,硫酸酯基团含量降低,分子量也降低,而 3,6-脱水半乳糖含量却增加。在物理性质上表现出粘度下降,凝胶强度增高。

这结果说明琼枝多糖用碱或石灰处理时,在分子中部分硫酸酯基团脱掉的同时,分子发生降解。由于分子量降低和硫酸酯基团减少,使在三度空间中分子间的缠结点减少,因而易于流动,直接表现出水溶胶的粘度降低。另一方面,由于脱掉部分硫酸酯基团,且生成更多的 3,6-脱水半乳糖,使多糖分子变得整齐匀称些,因而表现出凝胶强度增高。

表3 不同方法制得的琼枝多糖的分析结果

样 品	SO ₃ (重量%)	3,6-脱水半乳糖 (重量%)	η_r	凝胶强度 (克/厘米 ²)	分子 量
未改性琼枝多糖	12.1	19.1	3.94	35.1	2.41×10^5
碱改性琼枝多糖	8.42	26.9	2.87	284	1.94×10^5
石灰改性琼枝多糖	9.00	27.2	2.47	243	1.48×10^5

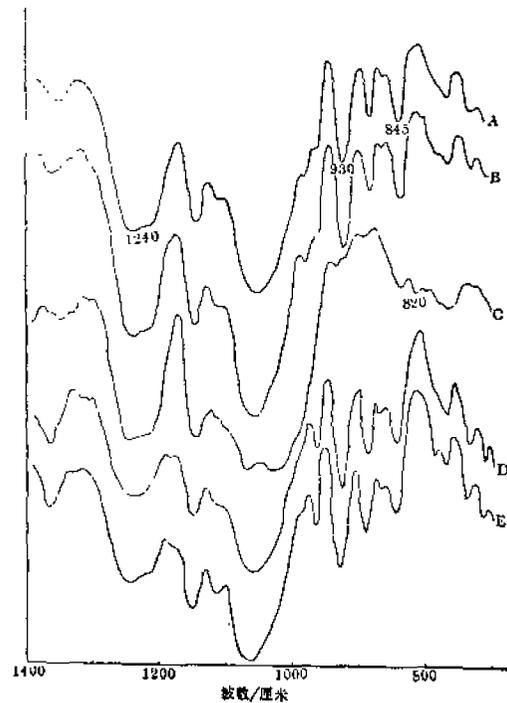
从碱改性或石灰改性后多糖中的 3,6-脱水半乳糖含量增高的结果还可说明琼枝多糖中部分硫酸酯基是在 C₆ 上。

4. 通过红外光谱分析琼枝多糖的结构, 证明琼枝多糖在 1240cm⁻¹, 930cm⁻¹, 845cm⁻¹ 时有强的吸收峰; 不溶于氯化钾溶液的级分, 碱改性琼枝多糖和石灰改性琼枝多糖的红外光谱图与未分级未改性的琼枝多糖相似。在 1240cm⁻¹ 的强吸收峰是 S=O 伸

缩振动特征, 说明琼枝多糖是硫酸酯化多糖; 在 930cm⁻¹ 的强吸收峰是 3, 6-脱水半乳糖的特征峰, 说明多糖中有 3, 6-脱水半乳糖残基; 在 845cm⁻¹ 的强吸收峰是多糖-4-硫酸酯的特征峰, 说明有与吡喃糖环上 C₄ 键合的硫酸酯基团。以上红外光谱特征与 Kappa-卡拉胶相似。[2,3,4,5,10]

溶于氯化钾级分与不溶于氯化钾级分不同之处在于前者在 820cm⁻¹ 有吸收峰, 且在 930cm⁻¹ 和 845cm⁻¹ 的吸收较后者弱, 说明有与吡喃糖环上 C₆ 键合的硫酸酯基团存在, 而 3, 6-脱水半乳糖的含量和 C₄ 键合的硫酸酯基团比较少。由此, 可以认为溶于氯化钾的级分具有 mu-卡拉胶特征。

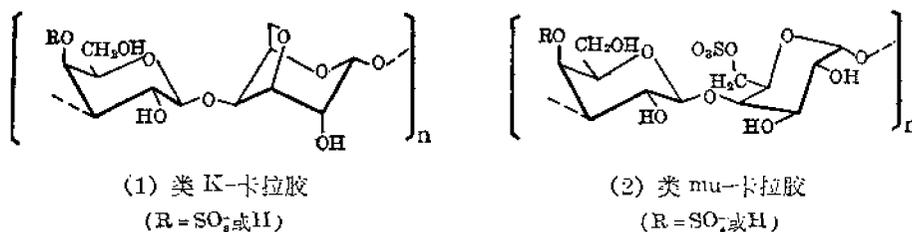
由于琼枝多糖的硫酸酯基团含量较低, 说明多糖分子中未硫酸酯化的半乳糖残基比麒麟菜属其它种类的多糖多, 与帚叉藻多糖差不多[5,6]。因此, 可以认为不溶于氯化钾的级分是类 Kappa-卡拉胶, 溶于氯化钾的级分是类 mu-卡拉胶。同时, 可以推断, 不溶于氯化钾的级分分子主要是由 3, 6-脱水-D-半乳糖残基或者与 D-半乳糖残基或者与 D-半



琼枝多糖红外光谱图

A. 琼枝多糖 B. 不溶于KCl级分 C. 溶于KCl级分 D. 碱改性琼枝多糖 E. 石灰改性琼枝多糖

乳糖-4-硫酸酯残基交替键合而成类 Kappa-卡拉胶; 而溶于氯化钾的级分分子主要是由 D-半乳糖-6-硫酸酯残基或者与 D-半乳糖残基或者与 D-半乳糖-4-硫酸酯交替键合而成类 mu-卡拉胶。其结构如下:



结 论

(1) 从琼枝可分离提取 60—65%多糖。这种多糖主要是由 D-半乳糖和 3,6-脱水-D-半乳糖重复交替键合而成的多糖硫酸酯。其硫酸酯基团含量比麒麟菜属其它种低。

(2) 经碱或石灰处理后,多糖分子发生降解,分子量降低,水溶胶粘度变低,但凝胶强度变高。

(3) 琼枝多糖不是琼脂,是卡拉胶。其不溶于氯化钾溶液的级分是类 Kappa-卡拉胶,溶于氯化钾溶液的级分是类 mu-卡拉胶。

参 考 文 献

- [1] Akahane Tooru, et. al., 1976. Sulfate Group of the mucilage of Red Seaweeds (Rhodophyceae), *Agr. Biol. Chem.*, **40** (2): 285.
- [2] Cerezo, Alberto, S., 1967. The Carrageenan System of *Gigartina skottsbergii* Part I. Studites on a Fraction of K-carrageenan, *J. Chem. Soc. (c)*(10):992.
- [3] Lloyd, A. G., et. al., 1961. Infrared studies on Sulphate esters I. Polysaccharide Sulphates, *Biochem. Biophys. Acta*, **46**: 108.
- [4] Lloyd, A. G., et. al. 1961. Infrared studies on Sulphate esters II. monosaccharide sulphates, *Biochem. Biophys. Acta*, **46**: 116.
- [5] Moirano, A. L., et. al., 1974. Degraded modified Seaweed Extractive and Compositions Containing Same and Their Production. *U. S. P.*, **3**: 395, 849.
- [6] O'Neill, A. N., 1955. 3,6-Anhydro-D-galactose as a Constituent of K-carrageenan, *J. Amer. Soc.* **77**: 2839
- [7] Rees, D. A., 1969. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, **24**: 277, Academic Press, Inc. (London) LTD. New York.
- [8] Rees, D. A., et. al., 1968. Carrageenan. Part V. The masked Repeating structures of λ- and μ-Carrageenans. *Carbohydr. Res.*, (7): 468.
- [9] Turvey, J. R., et. al., 1967. Infrared spectra of Carbohydrate Sulphate, *Chem and Ind.*, **49**: 2081.
- [10] Turvey, J. R., et. al., 1962. Sulphates of monosaccharide and Derivatives. Part IV. Galactose 4-Sulphate. *J. Chem. Soc.*, (6): 2119
- [11] Yaphe, Wilfred, 1960. Colorimetric Determination of 3,6-Anhydrogalactose and Galactose in marine Algae Polysaccharides, *Anal. Chem.*, **32**: 1927.

**STUDIES ON POLYSACCHARIDE FROM *EUCHEUMA* I.
PROPERTIES AND IR SPECTRA OF POLYSACCHARIDE
FROM *EUCHEUMA GELARINAE***

Zheng Shuzhen, Chen Xinquan, Zeng Lixian,
Pang Jianchang, Lin Ruixun and Lin Huizhen

(Guangzhou Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences)

Abstract

Eucheuma gelatinae is a red algae in Hainan of China. A sulphated galactan was isolated from this algae. D-galactose and 3, 6-anhydro-D-galactose are major component of this polysaccharide. The molecular weight was 1.99×10^5 . Its specific rotation was a positive value.

The gelling ability of the polysaccharide increased due to the presence of most of alkali metal ions and alkali-earth metal ions.

When the polysaccharide was treated with alkali or lime, the polysaccharide partly desulphate, and sulphate groups decreased and 3,6-anhydro-D-galactose content increased.

The IR spectra of the polysaccharide showed absorption peaks at 1240 cm^{-1} , 930 cm^{-1} and 845 cm^{-1} .

Fractionation of the polysaccharide with potassium chloride yielded potassium chloride-soluble and insoluble fraction. IR spectra of soluble fraction showed absorption peak at 820 cm^{-1} besides at 1240 cm^{-1} , 930 cm^{-1} and 845 cm^{-1} as insoluble fraction.

According to the composition, properties and IR spectra of the polysaccharide, it was deduced that potassium chloride-soluble fraction is mu-carrageenan-like, and insoluble fraction is kappa-carrageenan-like.