

红藻多糖的化学

I. 五种琼胶海藻的研究*

李智恩 史升耀 黄家刚 徐祖洪

刘万庆 郭玉彩 张星君

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 分析了鸡毛菜、易曲凹顶藻热带变种、三叉仙菜、海萝和多管藻(1979—1989分别采自广东山东和海南省)未碱处理与碱处理的多糖产率、凝胶强度、粘度、凝固点、融点、硫酸酯和3,6-内醚-半乳糖含量,同时用红外光谱和¹³C-核磁共振波谱测定了它们的组成和结构。结果表明它们都具有琼胶的基本结构,鸡毛菜是制造琼胶的很好原料,易曲凹顶藻热带变种也可用于制造琼胶,三叉仙菜是制造低凝固点琼胶的原料。此外还发现海萝和多管藻也有一些凝固性。

关键词 红藻 多糖 琼胶

为了满足琼胶工业不断发展的需要,除石花菜外,我国学者和生产单位前后又研究成功了用江蓐(史升耀等,1982)和后期紫菜制造琼胶的工艺,使琼胶产量成倍的增长。同时,对我国产的江蓐所含多糖进行了比较全面的分析研究(史升耀等,1980;1984;1983;1986;1988;1982;纪明侯等,1965;李智恩等,1984;Shi, S.Y. et al.; 1984)。

对琼胶海藻的研究,以往主要集中在江蓐等极少数种类上。为了开发利用我国的海藻资源,作者研究了鸡毛菜、易曲凹顶藻热带变种、三叉仙菜、海萝和多管藻5种红藻所含多糖的数量、化学组成、结构和物理性质,以及组成结构与物理性质之间的关系,为开发利用这些海藻提供科学依据。

1 实验材料

鸡毛菜 (*Pterocladia tenuis*), 1985年2月采自广东省珠海市。易曲凹顶藻热带变种 (*Laurencia flexilis* Setchell var. *tropica*), 1979年7月采自海南省文昌县。三叉仙菜 (*Ceramium kondoii*), 1989年4月10日采自山东省青岛市。海萝 (*Gloio-pelvis furcata*), 1988年5月17日采自山东省青岛市。多管藻 (*Polysiphonia urceolata*), 1988年5月18日采自山东省青岛市。

2 实验方法

2.1 海藻不经碱处理直接提取多糖 分别称取20.00g三叉仙菜、海萝和多管藻样品,

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第2020号。国家自然科学基金资助项目,3870492号。
收稿日期:1991年6月25日;接受日期:1992年1月17日。

用水洗净,第一次提取加 600ml 水,放压力锅中, 110℃ 提取 1h,先用筛绢粗滤,再用脱脂棉抽滤,渣子加 300ml 水提取第二次, 110℃ 半小时,同样过滤,两次滤液合并,放搪瓷盘上,冷却后再放入低温冰箱中冻结。待完全冻透后取出,放入烧杯中,加入 2000ml 95% 酒精,使冰融化脱水,过滤,再用 300ml 酒精浸洗一次,过滤,挤干。然后放红外线灯下烘干,称重。

鸡毛菜 20.00g,洗净。第一次提取加 600ml 0.1% 六偏磷酸钠,在 110℃ 提取 1h,过滤同上,渣子加 250ml 水提取第二次,其余同上。

易曲凹顶藻热带变种 20.00g,洗净,放在 400ml pH = 1 的稀硫酸溶液中浸 30min,滤去酸液,水洗 2 次。第一次提取加 600ml 0.2% 醋酸,在 110℃ 提取 1h,过滤。第二次提取加 300ml 水,其余同前。

2.2 海藻经碱处理后提取多糖 鸡毛菜、三叉仙菜、海萝和多管藻各称取 20.00g,浸入 300ml 32% NaOH 中,在 30℃ 处理 5 天,水洗至中性,各加 600ml 0.1% 六偏磷酸钠,在 110℃ 提取 1h,同前一样过滤。渣子各加 250ml 水提取第二次,其余同前。

易曲凹顶藻热带变种的碱处理同上。第一次提取时加 600ml 0.15% 醋酸,在 110℃ 提取 1h,第二次提取加入 300ml 水,其余同前。

2.3 凝胶强度、粘度、凝固点、熔点、硫酸基含量 (Verma, B. C., 1977)、3,6-内醚-半乳糖含量 (Yaphe, W., et al., 1965)、红外光谱和 ^{13}C -核磁共振波谱的测定 实验方法请参阅作者以前的报告 (史升耀等, 1987; 1983; 1986)。但测红外光谱用的是岛津 IR-440 型,测 ^{13}C -核磁共振波谱用的是 Jeol FX-90Q 型,用的仪器与以前的不同。

3 结果与讨论

3.1 多糖产率、物理性和化学组成 海藻样品由于藻体组织上的不同,所含多糖有的很容易被提取出来,有的相当困难。容易提取的如三叉仙菜、海萝和多管藻未经碱处理者单纯用水提取即可。难提取的海藻只用水提取时多糖产率很低,相当数量的多糖仍存在于藻体中。为了尽可能完全地把多糖从海藻中提取出来,根据 Matsushashi (1971) 和纪明侯等(1965)以前的实验,在水中加入少量磷酸盐能显著提高多糖的产率,故鸡毛菜改用 0.1% 六偏磷酸钠提取。但易曲凹顶藻热带变种用磷酸盐提取的产率仍很低,不得不采用加酸提取的方法。一般在提取多糖时总是尽可能地避免用酸,以防多糖降解,但对少数很难提取的海藻不得不用。碱处理对多糖的提取也有影响,有的海藻碱处理后增加了提取的难度。

5 种海藻未经碱处理直接提取和经碱处理后提取的多糖产率见表 1。碱处理后的多糖产率除三叉仙菜外,都比未碱处理的低。碱处理后,鸡毛菜多糖和易曲凹顶藻热带变种凝胶强度均提高,三叉仙菜多糖由不凝固提高到 55g/cm²,而海萝和多管藻多糖的 1% 溶液仍不凝固。但将这两种多糖的溶液浓度提高到 3% 时,二者都能形成软弱的凝胶(见表 2),而且加入氯化钾后有明显提高凝胶强度的作用。

5 种海藻多糖的粘度见表 1,粘度都很低。

海萝和多管藻的未碱处理和碱处理后提取的多糖及三叉仙菜的未碱处理提取的多糖都不能凝固,故不能测凝固点和熔点。易曲凹顶藻热带变种多糖的凝固点最高,鸡毛菜次之,三叉仙菜碱处理的最低,低于 30℃,是一种低凝固点的多糖。在熔点方面则是鸡毛菜

表 1 红藻多糖产率、物理性质和化学组成

Tab. 1 The yield and properties of red seaweed polysaccharide

编号	海藻名称	碱处理 ^{a)}	产率 (%)	凝胶强度 (g/cm ²)	粘度 (Pa·S)	凝固点 ^{b)} (°C)	熔点 ^{c)} (°C)	SO ₄ (%)	3,6-AG (%)
1	鸡毛菜	-	35.4	373	0.0061	30.6	97.4	3.46	32.94
2		+	27.1	697	0.0045	31.8	95.8	0.81	36.40
3	易曲凹顶藻 热带变种	-	43.9	107	0.0016	40.9	88.0	2.69	31.72
4		+	37.0	424	0.0019	43.0	89.6	1.05	35.14
5	三叉仙菜	-	15.9	0	0.0089	0	0	8.87	20.70
6		+	19.6	55	0.0101	22.4	59.8	1.14	34.43
7	海 萝	-	43.9	0	0.0082	0	0	19.28	28.89
8		+	40.7	0	0.0087	0	0	9.21	31.13
9	多管藻	-	21.1	0	0.0032	0	0	16.28	23.46
10		+	20.4	0	0.0037	0	0	13.29	30.32

a) -代表未碱处理,+代表碱处理的; b),c) 凝固点和熔点的“0”表示不凝固不能测。

表 2 3% 多糖溶液的凝胶强度

Tab. 2 Gel strength of 3% polysaccharide solution

多糖溶液浓度	凝胶强度 (g/cm ²)			
	海 萝		多 管 藻	
	未碱处理	碱 处 理	未碱处理	碱 处 理
3% 多糖	8	15	8	15
3% 多糖加 1%KCl	40	142	32	65

的最高,易曲凹顶藻热带变种次之,三叉仙菜碱处理的最低。

5 种海藻多糖中硫酸酯(SO₄)含量在 5% 以下者有未碱处理和碱处理的鸡毛菜多糖、未碱处理和碱处理的易曲凹顶藻热带变种和碱处理的三叉仙菜多糖,见表 1。含量在 5—10% 之间者有未碱处理的三叉仙菜和碱处理的海萝。含量在 10% 以上者有未碱处理的海萝,未碱处理和碱处理的多管藻。碱处理能不同程度的除去多糖中的硫酸酯。

未碱处理多糖的 3,6-内醚-半乳糖(3,6-AG)含量在 30% 以上者只有鸡毛菜和易曲凹顶藻热带变种两种,见表 1。碱处理后 3,6-AG 含量都增加。这时,三叉仙菜、海萝和多管藻的 3,6-AG 含量也都达到 30% 以上。

3.2 红外光谱 近来测定红藻多糖的红外光谱为认识红藻多糖的结构提供了一种重要手段。Lloyd (1961), Anderson (1968), Stancioff (1969) 和 Rochas (1986) 等提出了一些与红藻多糖有关的红外光谱。

鸡毛菜和易曲凹顶藻热带变种多糖的红外光谱在 930cm⁻¹ 处有明显的 3,6-AG 吸收峰,整个谱图和琼胶的一样,见图 1a。

三叉仙菜未碱处理多糖与琼胶的谱图明显不同。在 820—860cm⁻¹ 附近有一很宽的吸收带,见图 1b,表示在半乳糖的不同位置上连有硫酸基;在 930cm⁻¹ 处有一小吸收峰;

在 1230cm^{-1} 附近有一较宽的吸收峰。碱处理后, $820\text{--}860\text{cm}^{-1}$ 的吸收带消失, 930cm^{-1} 的吸收峰增强, 1230cm^{-1} 的吸收峰变小, 此时的谱图便与琼胶的相似。

海萝未碱处理和碱处理的多糖都有 820cm^{-1} 吸收峰, 见图 1c, 表明其半乳糖的 C-6 上连有硫酸基, 碱处理后该峰仍然存在, 表示有部分硫酸基连在 3-连半乳糖的 C-6 上, 此硫酸基对碱稳定, 故不能被碱除去 (Rees, 1969)。碱处理后 930cm^{-1} 处的吸收峰比未碱处理的强, 显示 4-连-半乳糖 6-硫酸酯在碱处理过程中转变成 3,6-AG, 因而增加了该峰的强度。未碱处理和碱处理的海萝多糖在 1230cm^{-1} 附近有一宽而强的吸收带, 说明碱处理前后都含有较多的硫酸酯。

多管藻未碱处理和碱处理多糖均在 820cm^{-1} 处有峰, 证明该多糖的硫酸基主要连在半乳糖的 6 上。在 930 和 1220cm^{-1} 附近分别有 3,6-AG 和硫酸酯的吸收峰, 见图 1c。

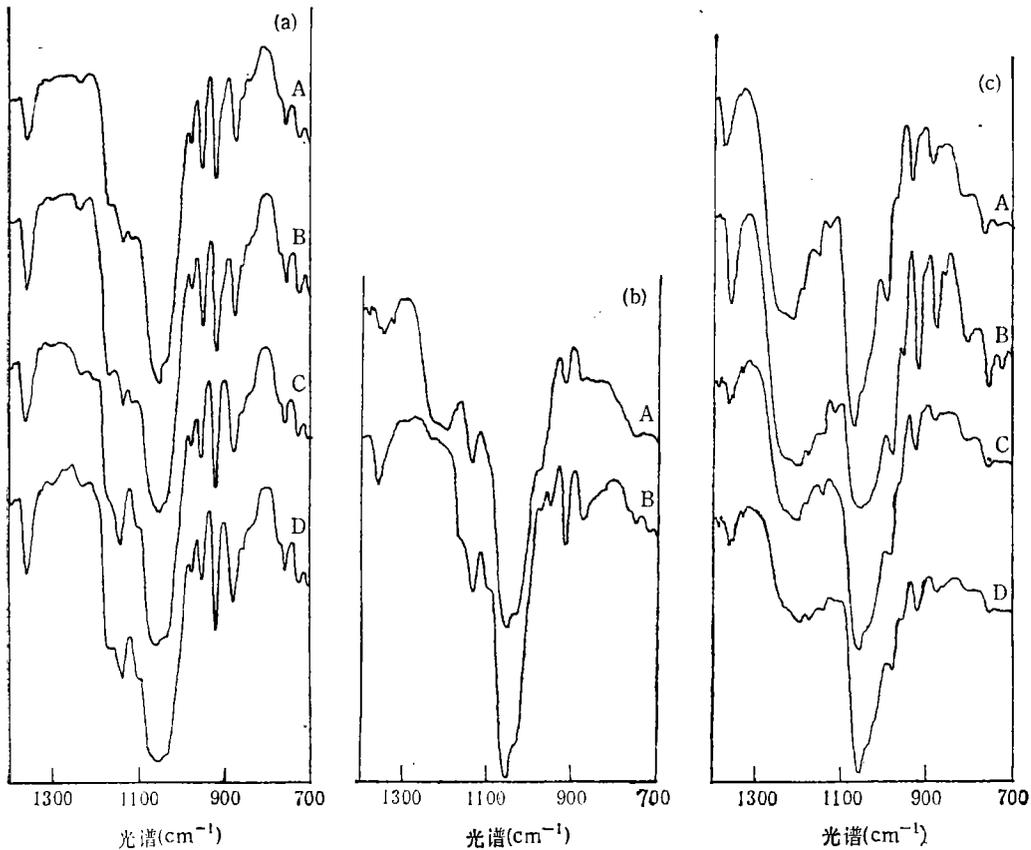


图 1 多糖的红外光谱

Fig. 1 The infrared spectra of polysaccharides

(a) 易曲凹顶藻热带变种 (A,B), 鸡毛菜 (C,D); (b) 三叉仙菜 (A,B); (c) 海萝 (A,B), 多管藻(C,D)。A 和 C 为未碱处理的, B 和 D 为碱处理的。

3.3 ^{13}C -核磁共振波谱 (^{13}C -NMR) Hamer (1977) 和 Yarotsky (1977) 等首先将 ^{13}C -NMR 应用到红藻多糖的结构分析方面来, 其后 Brasch (1981), Furneaux (1986), Greer (1984), Lahaye (1986) 和 Miller (1982) 等用该法研究了一些红藻多糖的结构。

作者也曾将该法用于测定江蓐琼胶(史升耀等,1984)和麒麟菜卡拉胶(史升耀等,1987)的分子结构,取得良好结果。

鸡毛菜未碱处理和碱处理多糖的 ^{13}C -NMR波谱基本一样,有琼胶二糖的化学位移信号,以G代表3-连接半乳糖及其衍生物残基,以A代表4-连接半乳糖及其衍生物残基,它的12个信号如下:G1, 102.9; G2, 70.9; G3, 82.8; G4, 69.3; G5, 76.0; G6, 61.9; A1, 98.9; A2, 70.4; A3, 77.8; A4, 80.5; A5, 76.0; A6, 69.7ppm。碱处理后鸡毛菜多糖的谱图见图2a。

易曲凹顶藻热带变种未碱处理和碱处理多糖的谱图相同,碱处理后的谱图出现:G1, 102.8; G3, 82.5; G4, 69.4; G5, 74.1; G6, 72.2; A1, 98.6; A2, 70.4; A3, 77.8; A4, 80.5; A5, 76.0; A6, 69.7ppm和59.5ppm,见图2b。其中的59.5ppm和72.2ppm的信号很强,表示该多糖是含甲氧基较多的琼胶。

三叉仙菜的未碱处理和碱处理多糖都出现琼胶二糖的12个信号。碱处理多糖还有59.5ppm的信号,证明该多糖是带甲氧基的琼胶。

海萝碱处理多糖的 ^{13}C -NMR谱图上有琼胶二糖的9个信号,此外还有59.3, 67.6, 73.4和85.3ppm等信号,见图2c。59.3ppm显示有甲氧基,67.6ppm表示在3-连-D-半乳糖或4-连-L-半乳糖的第6碳上连有硫酸基。该硫酸基若是在4-连的半乳糖上时,能被碱处理除去,若是在3-连的半乳糖上时,便不能被碱处理除去,故碱处理后的67.6ppm属3-连-D-半乳糖碳6上的硫酸基。73.4和

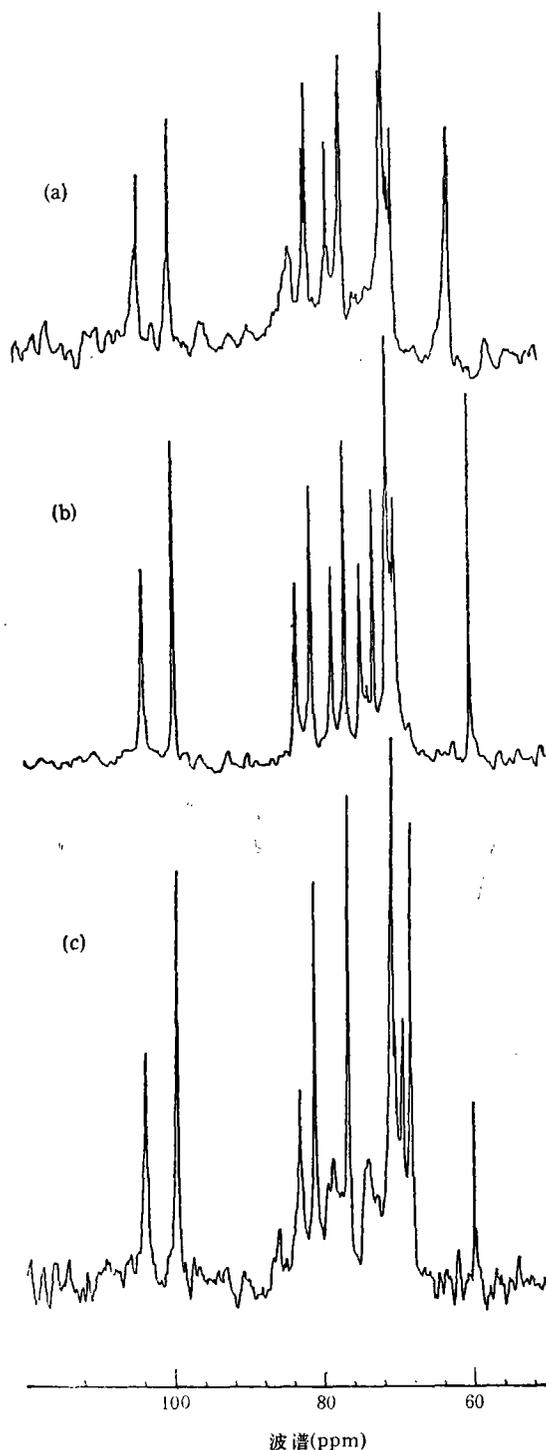


图2 多糖的 ^{13}C -NMR波谱

Fig. 2 ^{13}C -NMR spectra of polysaccharides
(a) 鸡毛菜; (b) 易曲凹顶藻热带变种; (c) 海萝。

85.3ppm 两信号尚不知其归属。这些结果表明碱处理海萝多糖 3-连-D-半乳糖的碳上有的带甲氧基,有的带硫酸基,而 4-连接的残基主要由 4-连-3,6-内醚-L-半乳糖构成。

多管藻碱处理多糖的 ^{13}C -NMR 波谱出现甲氧基琼胶和 67.6ppm 的信号,这后一信号表示 3-连-D-半乳糖的 C-6 上连有硫酸基。证明该多糖的 3-连-D-半乳糖的碳 6 上有的连有甲氧基,有的连有硫酸基。此外,还有 63.2,67.5,68.7,73.0 和 78.4ppm 等几个尚难确定其归属的信号。

4 小结

上述结果表明不同种类海藻所含多糖的组成结构与性质差别很大。

4.1 鸡毛菜 鸡毛菜的多糖产率较高,未碱处理的凝胶强度便达商品水平;碱处理后,1%浓度接近 700g/cm²,达到高强度琼胶水平。证明鸡毛菜是一种很好的制造琼胶原料。

4.2 易曲凹顶藻热带变种 此海藻所含的多糖难以用温和的方法提取出来,最后不得不用稀酸提取,这时产率高达 43.9%。未碱处理多糖的凝胶强度不高,碱处理后较好。表示这种海藻经适当碱处理便可作为琼胶的原料。它的凝固点比鸡毛菜的高,而熔点比鸡毛菜的低。它的红外光谱与琼胶的相同, ^{13}C -NMR 谱图表示该多糖是带有甲氧基的琼胶。

4.3 三叉仙菜 未碱处理的三叉仙菜多糖不凝固。碱处理后凝胶强度提高到 55g/cm²,凝固点只有 22.4℃,低于其它海藻。一些需要低凝固点琼胶者可用三叉仙菜制造。

4.4 海萝 不论碱处理与否海萝多糖的 1% 溶液都不凝固,浓度增加到 3% 以后能形成很弱凝胶。当再加入 1% KCl 时,其凝固性提高。过去曾认为海萝胶无凝固性,现在看来应该修正。从化学分析、红外和 ^{13}C -NMR 分析的结果看,碱处理后的海萝多糖主要由 3-连-D-半乳糖、3-连-6-0-甲基-D-半乳糖、4-连-3,6-内醚-L-半乳糖和 3-连-D-半乳糖 6-硫酸酯组成。不难看出后一组分的存在影响了海萝多糖的凝固性。碱处理后的海萝多糖除了 3-连-D-半乳糖 6-硫酸酯外,其它与琼胶的相同,属琼胶型。

4.5 多管藻 多管藻多糖的凝固性与海萝的接近。加入 KCl 也能提高其凝胶强度。

参 考 文 献

- 史升耀等,1987,用 ^{13}C -NMR 分析几种中国麒麟菜卡拉胶,海洋与湖沼,18: 265—271。
 史升耀,纪明侯,1980,江蓠琼胶的研究 III. 琼胶产率与凝胶强度的季节变化,海洋湖沼通报,1: 35—38。
 史升耀等,1984,用 ^{13}C -NMR 研究几种中国江蓠琼胶,海洋药物,3(4): 20—24。
 史升耀等,1983,江蓠琼胶产率与物理性质和化学组成的季节变化,海洋与湖沼,14: 272—278。
 史升耀等,1986,中国江蓠属海藻所含琼胶的产率与物理化学性质的比较研究,海洋科学集刊,26: 57—64。
 史升耀等,1988,碱处理对中国江蓠属海藻所含琼胶的作用,水产学报,12: 145—156。
 史升耀,唐湛祥,1982,江蓠琼胶的研究 II. 碱处理对琼胶质与量的影响,水产学报,6: 51—58。
 纪明侯等,1965,江蓠琼胶的研究 I. 琼胶的提取与处理,水产学报,2(2): 1—12。
 李智恩等,1984,不同碱处理法制造江蓠琼胶的比较,海洋科学,5: 32—34。
 Anderson, N. S. et al., 1968, Carrageenans. Part IV. Variations in the structure and gel properties of κ -carrageenan and the characterisation of sulphate esters by infrared spectroscopy, J. Chem. Soc. (c), 5: 602—606。
 Brasch, D. J. et al., 1981, A ^{13}C -NMR study of some agar—related polysaccharides from New Zealand seaweeds, Austral. J. Chem., 34: 1095—1105。
 Furneaux, R. H. and Miller, I. J., 1986, Isolation and ^{13}C -NMR spectral study of the water soluble polysaccharides from four south African red algae, Bot. Mar., 29: 3—10。
 Greer, C. W. and Yaphe, W., 1984, Characterization of hybrid carrageenan from *Euchcuma gelatinae* J. Agardh using carrageenases, infrared and ^{13}C -NMR spectroscopy. Bot. Mar., 27: 473—478。
 Hamer, G. K. et al., 1977, Analysis of the enzymic hydrolysis products of agarose by ^{13}C -NMR spectroscopy, Carbohydr. Res., 54: C7—10。

- Lahaye, M. et al., 1986, A new procedure for determining the heterogeneity of agar polymers in the cell wall of *Gracilaria* spp., *Can. J. Bot.*, **64**: 579—585.
- Lloyd, A. G. et al., 1961, Infrared studies on sulphate esters I. Polysaccharide sulphates, *Biochem. Biophys. Acta*, **46**: 108—115.
- Matsuhashi, T., 1971, Effects of polyphosphates on extractability of agar in the cooking process of seaweeds, *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, **37**: 441—448.
- Miller, I. J. and Furneaux, R. H., 1982, Agars from New Zealand red algae in the family *Gelidiaceae*: a structural study, *New Zealand J. Sci.*, **25**: 15—18.
- Rees, D. A., 1969, Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks, *Advan. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **24**: 267—332.
- Rochas, C. et al., 1986, Sulfate content of carrageenan and agar determined by infrared spectroscopy, *Bot. Mar.*, **29**: 335—340.
- Shi, S. Y. et al., 1984, The yield and properties of agar extracted from different life stages of *Gracilaria verrucosa*, *Hydrobiologia*, **116/117**: 551—553.
- Stancioff, D. J. and Stanley, N. F., 1969, Infrared and chemical studies on algal polysaccharides, *Proc. Int. Seaweed Symp.*, **6**: 595—609.
- Verma, B. C., 1977, Improved turbidimetric procedure for the determination of sulphate in plant and soils, *Talanta*, **24**: 49—50.
- Yaphe, W. and Arsenault, G. P., 1965, Improved resorcinol reagent for the determination of fructose and 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides, *Analyt. Biochem.*, **13**: 143—148.
- Yaiotsky, S. V. et al., 1977, Analysis of ^{13}C -NMR spectra of some red seaweed galactans, *Bioorg. Chem.*, **3**: 1135—1137.

THE CHEMISTRY OF RED SEAWEED POLYSACCHARIDE

I. A STUDY OF FIVE AGAROPHYTES*

Li Zhien, Shi Shengyao, Huang Jiagang, Xu Zuhong, Liu Wanqing,
Guo Yucai and Zhang Xingjun

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071)

ABSTRACT

The polysaccharide extracts from *Pterocladia tenuis*, *Laurencia flexilis* Setchell var. *tropica*, *Ceramium kondoi*, *Gloiopeltis furcata* and *Polysiphonia urceolata* were investigated. The yield, gel strength, viscosity, gelation and melting temperature, and contents of sulfate and 3,6-anhydro-galactose of polysaccharide were analysed. Infrared and ^{13}C -NMR spectroscopy were used to identify their structures.

The results indicated that the polysaccharides from the five red algae species had repeating disaccharide units of agar or masked agar structure. The polysaccharide gel strength from alkali treated (32% NaOH, 30°C, 5 days) *L. flexilis* var. *tropica* was high (1%, 424g/cm²), and that from alkali treated *P. tenuis* was very high (1%, 697 g/cm²), so these two red algae can be used as raw materials for agar production. The gelation temperature of the polysaccharide from alkali treated *C. kondoi* was very low (22.4°C) so *C. kondoi* can be used to produce agar of low gelation temperature. Polysaccharides extracted from alkali treated *G. furcata* and *P. urceolata* showed little gelation ability.

Key words Red seaweed Polysaccharide Agarophytes

* Contribution No. 2020 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.