

# 对三种红藻琼胶的化学与 $^{13}\text{C}$ -NMR 分析\*

纪明侯

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

M. Lahaye W. Yaphe

(麦吉尔大学, 蒙特利尔, 加拿大)

**提要** 用 DEAE-Sephadex 分级和  $^{13}\text{C}$ -NMR 方法研究了我国南方产凝花菜、易曲凹顶藻热带变种和坛紫菜三种经济红藻所含琼胶的结构特点。前两种红藻的琼胶主要由琼胶糖和 6-OMe-琼胶糖组成, 是优质的琼胶。坛紫菜多糖主要由琼胶糖和含高电荷的紫菜胶组成, 还含有微量 6-OMe-琼胶糖, 但坛紫菜经碱处理后的琼胶则是全由琼胶糖组成的真正琼胶。

凝花菜属 (*Gelidiella*)、凹顶藻属 (*Laurencia*) 和紫菜属 (*Porphyra*) 分别隶属于红藻门的石花菜科 (*Gelidiaceae*)、松节藻科 (*Rhodomelaceae*) 和红毛菜科 (*Bangiaceae*)。五十年代末以来, 人们对这些红藻所含多糖的化学组成进行了若干研究。如 Young 等<sup>[29]</sup>曾对夏威夷产凝花菜琼胶用柱层析法进行过分级, 分析了 3, 6-内醚-L-半乳糖(以下简称“3, 6-AG”)和  $\text{SO}_4$  含量。O'Colla 等<sup>[18]</sup>对于羽状凹顶藻 (*Laurencia pinnatifida*) 的多糖经酸水解分析了糖组分。Mshigeni 等<sup>[16]</sup>报道了坦桑尼亚产乳头凹顶藻 (*L. papillosa*) 的多糖中  $\text{SO}_4$  含量, 红外光谱分析证明有 3, 6-AG, 但未能确定此多糖是琼胶型或卡拉胶型。最近 Hirase<sup>[11]</sup>对波形凹顶藻 (*L. undulata*) 的含硫酸多糖确定含有 2-, 4-, 6-甲基化的 D-和 L-半乳糖。Batey 等<sup>[4]</sup>报道, 羽状凹顶藻多糖除有 D-半乳糖 6- $\text{SO}_4$ -L-半乳糖之外, 还含有 2-OMe-3, 6-AG。很久以来, 紫菜类即为亚洲沿海居民所喜爱的副食品, 但关于其多糖化学的研究还只是从五十年代末才开始。Nunn 等<sup>[17]</sup>和 Turvey 等<sup>[22]</sup>先后从非洲紫菜 (*Porphyra capensis*) 和脐形紫菜 (*P. umbilicalis*) 提取的多糖中测出 D-和 L-半乳糖、6-OMe-D-半乳糖、3, 6-AG、 $\text{SO}_4$  等组分。Turvey<sup>[23]</sup>和 Batey 等<sup>[4]</sup>从脐形紫菜中检出 6- $\text{SO}_4$ -L-半乳糖。其后, Turvey 等<sup>[24]</sup>对脐形紫菜所含紫菜胶的结构确定为 (1 → 3)- $\beta$ -连接的 D-半乳糖和 (1 → 4)- $\alpha$ -连接的 L-半乳糖单位交替相联的长链。其中有些 D-半乳糖被 6-甲基化, 有的 L-半乳糖以 6-硫酸酯或酞状态存在。Gretz 等<sup>[9]</sup>将紫菜 *P. leucastrica* 的热水提取物以 CPC 沉淀, 沉淀物的  $^{13}\text{C}$ -NMR 谱图表明为紫菜胶结构(表 2)。Morrice 等<sup>[15]</sup>对脐形紫菜多糖以  $\beta$ -琼胶酶水解后的寡糖做了  $^{13}\text{C}$ -NMR 分析, 表明中性寡糖中有 6<sup>3</sup>-OMe-新琼四糖和 6<sup>3</sup>-, 6<sup>5</sup>-OMe-新琼六糖; 带电荷寡糖为单硫酸四糖。

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 1304 号。收稿日期: 1984 年 2 月 7 日。

本文对从中国南方沿海采集的凝花菜、易曲凹顶藻热带变种和坛紫菜三种红藻热水提取的琼胶用 DEAE-Sephadex A50 凝胶柱分级,对各级分进行了化学分析,并对个别级分做了  $^{13}\text{C}$ -NMR 光谱表征和  $\beta$ -琼胶酶降解产物检定,比较了它们的化学结构特征。

## 实验材料和方法

### 1. 海藻

(1) 凝花菜 [*Gelidiella acerosa* (Forssk.) Feldm. et Hamel]: 1981 年 3 月采自广东省海南岛。

(2) 易曲凹顶藻热带变种 [*Laurencia flexilis* var. *tropica* (Yamada) stat. nov.] 以下简称“易曲凹顶藻”, *L. flexilis*: 1978 年 7 月采自海南岛。

(3) 坛紫菜 (*Porphyra haitanensis* T. J. Chang et B. F. Zheng): 1982 年 1 月采于福建省。

### 2. 海藻多糖的提取

海藻的前处理与多糖的提取,按照文献[2]进行,分别得到凝花菜和易曲凹顶藻琼胶。紫菜多糖是在  $111^{\circ}\text{C}$  ( $0.5\text{kg}/\text{cm}^2$  气压) 提取 1 小时得到的。所用坛紫菜碱处理的琼胶是工厂将坛紫菜用浓  $\text{NaOH}$  处理和水洗后加热水提取的产品。

### 3. 多糖的分级

基本上根据 Duckworth 等<sup>[7]</sup>的分级方法,将样品通过 DEAE-Sephadex A50 柱,然后以水和  $\text{NaCl}$  溶液 ( $0.5, 1.0, 2.5\text{mol}/\text{L}$ ) 依次洗脱,最后凝胶以  $6.0\text{mol}/\text{L}$  尿素煮沸。将各洗脱液经过浓缩、透析、冻干即得各级分。

### 4. 化学分析

总糖量、3, 6-内醚-半乳糖和硫酸基的测定分别用苯酚-硫酸比色法、间苯二酚比色法和比浊法进行(见文献[2])。

### 5. $^{13}\text{C}$ -NMR 光谱分析

用 Bruker BZH-400/50 光谱仪按照文献[2]方法描记各琼胶级分中各碳原子的  $^{13}\text{C}$ -NMR 化学位移 ( $\delta$ , ppm)。

### 6. $\beta$ -琼胶酶降解及其产物的 TLC 分析

基本上根据 Yaphe<sup>[28]</sup>, Duckworth 等<sup>[6,8]</sup>的方法进行(见文献[2])。

## 实验结果

### 1. 琼胶的分级及各级分的化学分析

琼胶溶液经过 DEAE-Sephadex A50 柱后,依次以水和  $0.5, 1.0, 2.5\text{mol}/\text{L}$   $\text{NaCl}$  溶液洗脱,最后用  $6.0\text{mol}/\text{L}$  尿素液煮沸,得到的各级分的得率及其化学成分的含量如图 1 和表 1 所示。

凝花菜琼胶的水洗脱级分的重量得率高于 50%,从图 1a 可看出它是最主要的级分。3, 6-AG 含量也高,达 39.5%,比所测的江蓠琼胶<sup>[2]</sup>都高得多。水和  $0.5\text{mol}/\text{L}$   $\text{NaCl}$  级分的总得率高达 74%,而  $1.0\text{mol}/\text{L}$  和  $2.5\text{mol}/\text{L}$   $\text{NaCl}$  级分则只占百分之几。凝花菜琼胶的硫酸基含量较低,仅占 1.07%。这表明凝花菜琼胶是以中性琼胶糖为主的多糖。

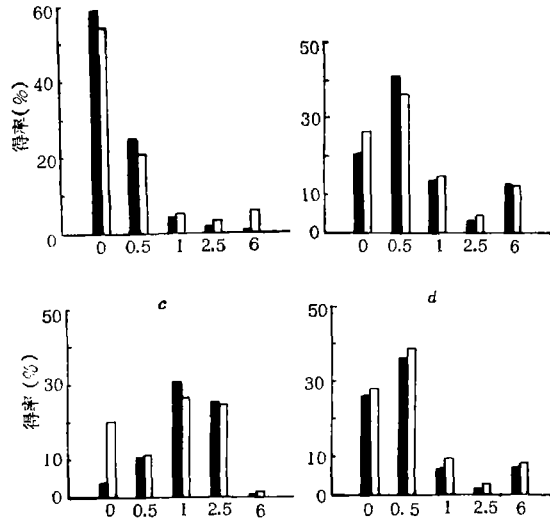


图1 几种琼胶由 DEAE-Sephadex A50 柱上洗脱下来的各级分的得率分布图

a. 凝花菜琼胶; b. 易曲凹顶藻热带变种琼胶; c. 坛紫菜多糖;  
d. 坛紫菜琼胶(碱处理的)。

洗脱液: 水(0), 0.5mol/L NaCl(0.5), 1.0mol/L NaCl(1), 2.5mol/L NaCl(2.5), 6.0mol/L 尿素(6)。

■: 以苯酚-硫酸、比色法测得的碳水化合物得率; □: 实际重量得率。

图1b表明,易曲凹顶藻琼胶的0.5mol/L NaCl级分得率比水级分高,这不同于凝花菜琼胶。水和0.5mol/L NaCl级分总得率为62%,3,6-AG含量分别为31.3%和41.0%,比江蓠的此两级分中的含量<sup>[2]</sup>都高。其琼胶与水级分中 $\text{SO}_4$ 含量比较低,分别为1.34%和0.59%。由化学成分可以认为易曲凹顶藻多糖是琼胶类型,并且是优质琼胶。Mshigeni等<sup>[46]</sup>对乳头凹顶藻多糖分析的 $\text{SO}_4$ 含量为16.8%,从红外光谱证明有3,6-AG存在,他们却认为类似于 $\lambda$ -卡拉胶;但他们从多糖的负旋光值看,又认为与琼胶类似<sup>[13]</sup>。

坛紫菜多糖是含高电荷的半乳糖胶(galactan), $\text{SO}_4$ 含量达10.4%,3,6-AG含量只有10%。与Rees等<sup>[21]</sup>对脐形紫菜多糖分析的3,6-AG含量5—19%及 $\text{SO}_4$ 6—11%相接近。坛紫菜琼胶的水级分中3,6-AG含量仅2.5%,0.5mol/L NaCl级分为12.6%。1.0和2.5mol/L NaCl级分的得率较高,都在26%左右,但3,6-AG含量仍为10%左右。随着分级洗脱液的离子强度增加, $\text{SO}_4$ 含量也增加,2.5mol/L NaCl级分 $\text{SO}_4$ 的含量竟高达14.7%。水级分的重量得率为20%,比色得率仅为4%,两者差别较悬殊,可能因有较多的非琼胶化合物等物质混杂在此级分中所致。

坛紫菜经浓碱处理后所得琼胶的 $\text{SO}_4$ 含量由大约10%降至2.8%,3,6-AG含量由10.6%增加到34.7%。各级分的得率如水级分和0.5mol/L NaCl级分显著增加,水级分中3,6-AG含量达42%,而1.0和2.5mol/L级分的得率大幅度下降。

## 2. $^{13}\text{C}$ -NMR 光谱分析

对凝花菜、易曲凹顶藻和坛紫菜琼胶个别级分进行了 $^{13}\text{C}$ -NMR分析,结果如图2所示。各级分中各碳原子的化学位移( $\delta$ , ppm)见表3。

表 1 从 DEAE-Sephadex A50 柱上洗脱下的各琼胶级分的得率与化学分析

海 藻	级 分	级分的得率** (对琼胶%)	3, 6-内醚-L- 半乳糖 (对级分%)	SO <sub>4</sub> * (对级分%)
凝花菜 ( <i>Gelidiella acerosa</i> )	琼胶		35.5	1.07
	蒸馏水	59.6	39.5	0.40
	0.5mol/L NaCl	24.7	35.1	1.59
	1.0mol/L NaCl	4.2	12.5	7.27
	2.5mol/L NaCl	1.6	7.6	—
	6.0mol/L 尿素	0.6	37.6	—
	易曲凹顶藻热带变种 ( <i>Laurencia flexilis</i> var. <i>tropica</i> )	琼胶		32.6
蒸馏水		21.0	31.3	0.59
0.5mol/L NaCl		41.2	41.0	—
1.0mol/L NaCl		13.6	32.7	4.02
2.5mol/L NaCl		3.0	25.9	—
6.0mol/L 尿素		12.5	45.4	—
坛紫菜 ( <i>Porphyra haitanensis</i> )		多糖		10.6
	蒸馏水	3.6	2.5	—
	0.5mol/L NaCl	10.1	12.6	—
	1.0mol/L NaCl	30.8	11.6	—
	2.5mol/L NaCl	25.1	8.0	14.71
	6.0mol/L 尿素	0.8	6.8	—
	坛紫菜 ( <i>Porphyra haitanensis</i> ) (碱处理)	琼胶		34.7
蒸馏水		25.2	42.0	—
0.5mol/L NaCl		36.2	41.3	1.58
1.0mol/L NaCl		7.0	26.9	5.88
2.5mol/L NaCl		1.6	27.8	—
6.0mol/L 尿素		7.0	46.1	1.65

\* 某些级分因得率不高,或因分析别项,故未能全作 SO<sub>4</sub> 分析。

\*\* 苯酚-硫酸比色法测得。

凝花菜、易曲凹顶藻和坛紫菜琼胶的各级分的 <sup>13</sup>C-NMR 谱图与 Usov 等<sup>[25,26]</sup>的各碳原子共振信号相对照(表 2),都表明含有明显的琼胶糖,即琼二糖的 12 个信号(表 3)。此外,凝花菜琼胶的水级分还有清晰的 6-OCH<sub>3</sub> 琼胶糖的共振信号 68.9(G'4), 73.5(G'5), 71.7(G'6) 和 59.0(OMe)ppm。同时 G4, G5 和 G6 信号明显地受影响而降低(图 2a, 表 3),表明其含量很高。如联系前述各级分的得率和化学分析,可以断定凝花菜琼胶主要由中性琼胶糖和 6-OMe-琼胶糖组成。

易曲凹顶藻琼胶的水级分与 0.5mol/L NaCl 级分的核磁共振信号基本上都与凝花菜者相似,(水级分的谱图略),即既有琼胶糖信号,也有明显的 6-OMe-琼胶糖的共振信号,而且受影响的 G4, G5 和 G6 信号显著地减弱(图 2b, 表 3),尤其 0.5mol/L 级分的 G5 信号非常弱,表明 6-OMe-琼胶糖尤其多。此外,0.5mol/L NaCl 级分中尚显示出微弱的 2-OMe-3, 6-内醚-L-半乳糖的信号<sup>[23]</sup>: 102.6 (G''1), 75.7(G''5), 79.0(A''2), 78.6 (A''3), 77.7(A''4) 和 59.1 (OMe) ppm, 以及 6-OSO<sub>3</sub>-D-半乳糖的信号<sup>[26]</sup>: 102.6(G''''1), 68.4 (G''''4), 73.2 (G''''5) 和 67.4(G''''6)。

表 2 几种琼胶糖和紫菜胶的各碳原子的 <sup>13</sup>C-NMR 化学位移 (ppm, 相对于 TMS)

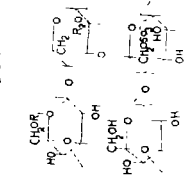
琼胶糖与紫菜胶	G(D-半乳糖)						A (3,6-内醚-L-半乳糖)								
	I		2		OMe		1		2		OMe				
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6			
二糖重复单位 	G	102.3	70.1	82.2	68.6	75.2	61.3	A	98.2	69.7	80.0	77.2	75.5	69.7	
	G'	102.4	70.1	82.2	68.6	73.6	71.8	59.1	A	98.4	69.8	80.1	77.4	75.6	69.3
	G''	102.6	70.2	82.7	68.7	75.6	61.4		A''	98.7	78.8	78.4	77.7	67.5	69.8
	G'''	102.6	70.1	82.2	68.6	73.6	71.8		A	98.4	69.8	80.1	77.4	75.6	69.3
(porphyran, 紫菜胶) <sup>[26]</sup>	G'''	103.7	70.5	81.1	69.1	75.9	61.8	A'''	101.2	69.8	71.0	79.1	67.7	67.5	

表 3 不同琼胶级分中各碳原子的 <sup>13</sup>C-NMR 化学位移 (ppm, 相对于 TMS)

琼胶级分	G(D-半乳糖)						A (3,6-内醚-L-半乳糖)							
	I		2		OMe		1		2		OMe			
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		
凝花菜 ( <i>Gelidium acerosu</i> ) 琼胶 水级分	G	102.3	70.2	82.2	68.7	75.3	61.4	A	98.1	69.9	80.1	77.2	75.6	69.3
	G'				68.9	73.5	71.7	59.0						
易曲凹顶藻 ( <i>Laurencia flexilis</i> ) 琼胶 水级分	G	102.3	70.1	82.0	68.7	—	61.4	A	98.0	69.9	80.1	77.2	75.6	69.7
	G'				68.9	73.5	71.6	59.0						
易曲凹顶藻 ( <i>Laurencia flexilis</i> ) 琼胶 0.5mol/L NaCl 级分	G	102.4	70.2	82.2	68.8	75.4	61.5	A	98.3	69.9	80.2	77.4	75.7	69.7
	G'				69.0	73.6	71.8	59.1						
	G''	102.6				75.7			79.0	78.6	77.7			59.1
	G'''				68.4	73.2	67.4							
坛紫菜 ( <i>Porphyra haitanensis</i> ) 多糖 1mol/L NaCl 级分	G	102.4	70.2	82.2	68.8	75.4	61.4	A	98.2	69.8	80.1	77.3	75.7	69.3
	G'				68.9	73.6	71.8							
	G''	103.7	70.6	81.3	69.1	75.9	61.7	A'''	101.3	69.9	71.0	79.1	67.7	67.5
坛紫菜 ( <i>Porphyra haitanensis</i> ) 琼胶 (碱处理) 0.5mol/L NaCl 级分	G	102.5	70.3	82.3	68.8	75.4	61.5	A	98.3	70.0	80.2	77.4	75.7	69.4

坛紫菜多糖的 1.0mol/L NaCl 级分的共振信号表明,除有相当于琼胶糖的信号外,尚有 103.7(G''1), 70.6(G''2), 81.3(G''3), 69.1(G''4), 75.9(G''5) 和 61.5(G''6)ppm, 以及 101.3(A''1), 69.9(A''2), 71.0(A''3), 79.1(A''4), 67.7(A''5) 和 67.5(A''6)ppm 的相当于紫菜胶(表 2, 图 2c) 的特有信号,以及微弱的相当于 6-OMe-D-半乳糖(但没有出现 OMe) 的信号。由此可知,坛紫菜多糖的重要组分 1.0mol/L NaCl 级分主要由琼胶糖 [ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-半乳糖与  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-3, 6-内醚-L-半乳糖连接的琼二糖重复单位]和

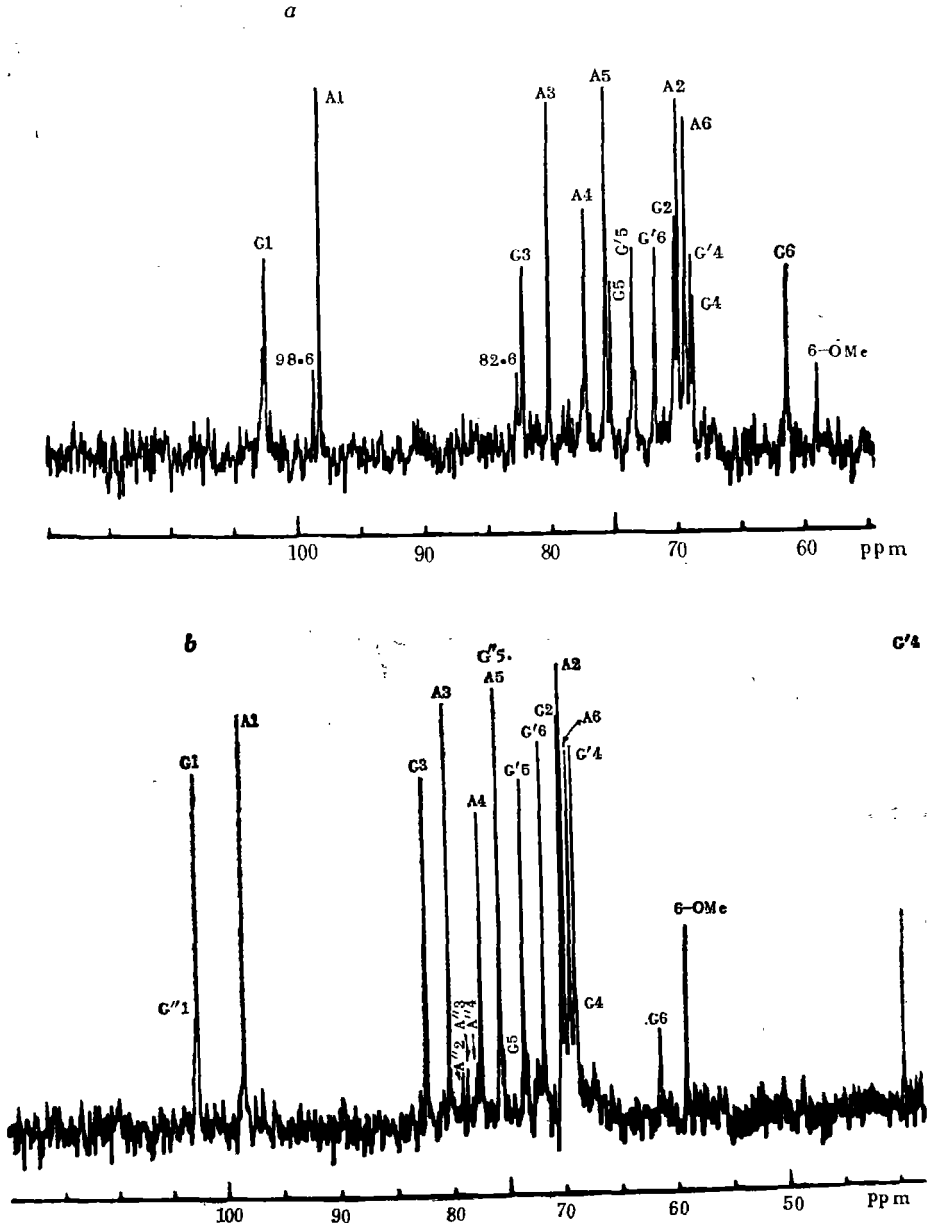
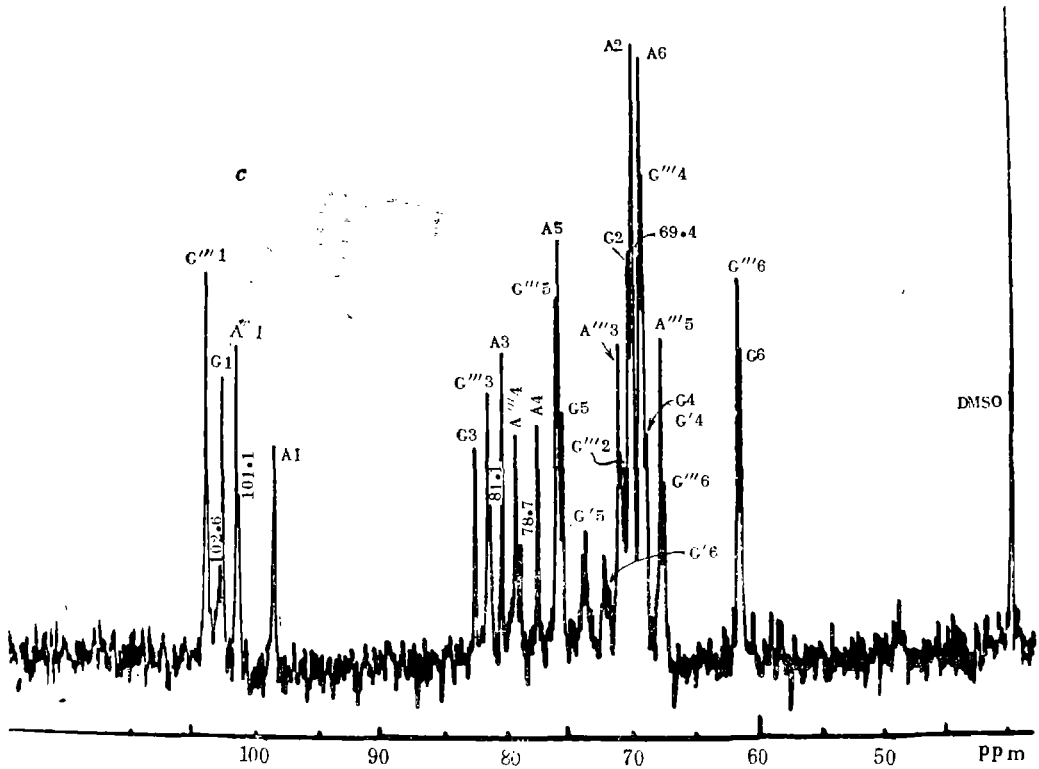
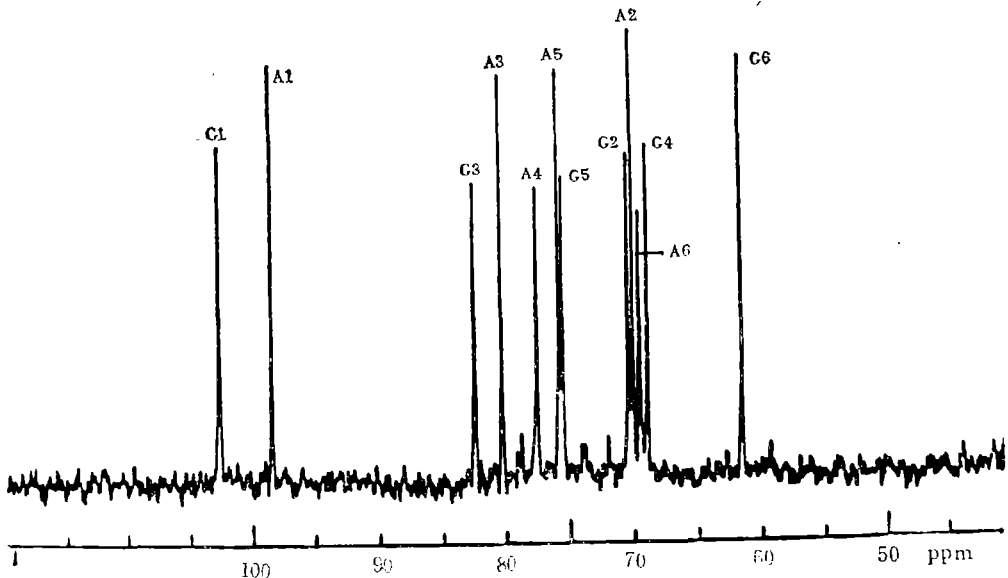


图 2 凝花菜、易曲凹顶藻和坛紫菜  
a.凝花菜琼胶水级分; b.易曲凹顶藻琼胶 0.5mol/LNaCl 级分;



d



菜琼胶各级分的 <sup>13</sup>C-NMR 谱图

c. 坛紫菜多糖 1.0mol/L NaCl 级分; d. 坛紫菜琼胶碱处理的 0.5mol/L NaCl 级分。

紫菜胶[即  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-半乳糖- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-6-OSO<sub>3</sub>-L-半乳糖连接的二糖重复单位]组成。从化学结构上看,紫菜胶是琼胶糖的生物前体,既存在于紫菜多糖中,也存在于其他红藻多糖(如江蓠琼胶)中。

经碱处理后的坛紫菜多糖,其 0.5mol/L NaCl 级分的 <sup>13</sup>C-NMR 谱图表明是典型的琼胶糖 12 个碳的共振信号(图 2d,表 2),这与化学分析的结果相一致。没有出现 Brasch 等<sup>[5]</sup>对紫菜 *Porphyra columbia* 碱处理过的琼胶所报道的 6-OMe-D-半乳糖的有关信号数值,虽然在谱图上可隐约地看出 G'5, G'6 和 OMe 的信号。

### 3. 琼胶的酶降解

对凝花菜和易曲凹顶藻琼胶的个别级分分别用  $\beta$ -琼胶酶进行了降解,以 TLC 检查了酶解产物寡糖<sup>[2]</sup>。在凝花菜琼胶的水级分和易曲凹顶藻 0.5mol/L NaCl 级分中检出新琼二糖、6-OMe-新琼四糖和新琼四糖。与 <sup>13</sup>C-NMR 谱图相对照,确证琼胶糖和 6-OMe-琼胶糖为凝花菜和易曲凹顶藻的主要组分。

## 讨 论

从凝花菜和易曲凹顶藻的级分分布、化学分析和 <sup>13</sup>C-NMR 谱分析中可看出,凝花菜和易曲凹顶藻琼胶都是琼胶糖含量很高的优良琼胶,但都含有较多量的甲基化琼胶糖。中国南方江蓠也含有比北方江蓠较多的 6-OMe-琼胶糖。由此可以推想,南方海藻的生长环境,特别是较高的水温可能有利于-OCH<sub>3</sub> 在红藻琼胶中的形成和积累。OCH<sub>3</sub> 含量高的琼胶的凝固点较高<sup>[10]</sup>,这与石花菜琼胶不同。有趣的是,易曲凹顶藻琼胶中还含有微量的 2-OMe-L-半乳糖和 6-SO<sub>4</sub>-D-半乳糖。前者是凤尾菜所特有的主要组分<sup>[2]</sup>; 后者的硫酸基在碱处理时不能被除去<sup>[26]</sup>。

坛紫菜经碱处理后 SO<sub>4</sub> 含量降低, 3, 6-AG 含量增加,这一方面是因为碱处理可除去大量水溶性物质,另一方面主要是因为坛紫菜中的紫菜胶 (porphyran) 转变成琼胶糖。1936 年柳川<sup>[3]</sup>就提出红藻多糖经碱处理可提高凝胶强度,但机理不清。至 1961 年 Rees<sup>[20]</sup>证明此转变机理,指出 6-SO<sub>4</sub>-L-半乳糖是 3, 6-内醚-L-半乳糖的生物前体 (biological precursor)。由图 3 可见,紫菜胶的 6-SO<sub>4</sub>-L-半乳糖在碱的作用下, C6 上的 SO<sub>4</sub> 消除, C6 上的 C 与 C3 上的 O 构成内醚桥,同时半乳糖的构象由 1C4 转变成 4C1, 形成 3, 6-内醚-L-半乳糖,这样,紫菜胶转变成具有高凝胶强度 (1% 可高于 600g/cm<sup>2</sup>)<sup>1)</sup> 的琼胶糖。因此,坛紫菜经碱处理后所得琼胶从 <sup>13</sup>C-NMR 谱也可看出是标准的琼胶糖谱。

除凝花菜琼胶外,多数琼胶的 0.5mol/L NaCl 级分中 3, 6-AG 含量比水级分高。这可能因使用冻结-乙醇脱水法<sup>[1]</sup>,会使一些非琼胶物质如水溶性藻胆素<sup>[19]</sup>、红藻糖苷<sup>[14]</sup>、红藻淀粉<sup>[27]</sup>等吸附沉淀在琼胶凝胶中,以致干扰了对 3,6-AG 的测定<sup>[2]</sup>。

凝花菜、易曲凹顶藻和经碱处理的坛紫菜琼胶的 6.0mol/L 尿素级分中 3,6-AG 含量一般都比较,达 40% 左右。如文献<sup>[2]</sup>指出的,可能因 DEAE-Sephadex 在高离子强度时膨胀,少量琼胶糖分子被包住,或者高分子琼胶糖部分地滞留在凝胶中,当用尿素溶液加热煮沸时才溶出。

1) 据本文作者 1986 年待发表资料。



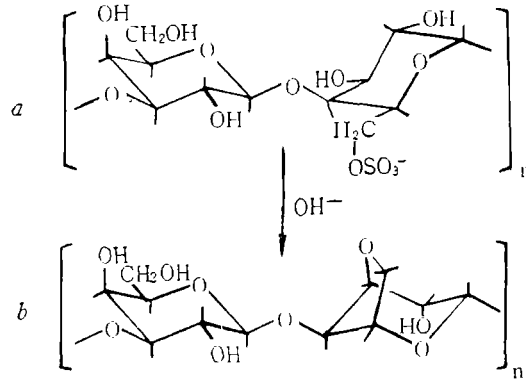


图3 紫菜胶在碱作用下转变成琼胶糖

a. 紫菜胶:  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-半乳糖与  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-6-OSO<sub>3</sub>-L-半乳糖连接的二糖重复单位; b. 琼胶糖:  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-半乳糖与  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-3, 6-内醚-L-半乳糖连接的琼二糖重复单位。

## 小 结

凝花菜琼胶的水级分得率和 3, 6-内醚-L-半乳糖 (3, 6-AG) 含量都很高。此水级分的  $^{13}\text{C}$ -NMR 谱图和酶解产物明显地显示, 它主要由琼胶糖和 6-OMe-琼胶糖组成。

易曲凹顶藻琼胶的水级分和 0.5mol/L NaCl 级分的得率和 3, 6-AG 含量也较高。两者的  $^{13}\text{C}$ -NMR 谱图表明, 除含有琼胶糖外, 其 6-OMe-琼胶糖的信号尤为显著。另外, 0.5mol/L NaCl 级分中尚有微弱的 2-OMe-L-半乳糖和 6-SO<sub>4</sub>-D-半乳糖的共振信号 (表 3)。水级分的酶解产物也表明有来源于琼胶糖和 6-OMe-琼胶糖的寡糖。

坛紫菜多糖是含高电荷的半乳糖胶, SO<sub>4</sub> 含量高。水和 0.5mol/L NaCl 级分的得率和 3, 6-AG 含量都较低。其 1mol/L NaCl 级分的  $^{13}\text{C}$ -NMR 谱图表明, 除含有琼胶糖外, 尚有紫菜胶 [ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-半乳糖- $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4)-6-SO<sub>4</sub>-L-半乳糖为其重复单位]。经碱处理后的紫菜琼胶 SO<sub>4</sub> 含量下降, 3, 6-AG 含量增加, 是紫菜胶转变成琼胶糖的结果。

各琼胶的 6.0mol/L 尿素级分并非含硫酸的半乳糖胶, 其 3, 6-AG 含量较高, 估计是分子量较大的琼胶糖分子<sup>[2]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] 纪明侯、史升耀、刘万庆, 1965. 江蓠琼胶的研究 I. 提取与处理. 水产学报. **2**(2): 1—12.
- [2] 纪明侯、M. Lahaye, W. Yaphe, 1986. 中国江蓠属红藻所含琼胶的结构特征. 海洋与湖沼 **17**(1):
- [3] 柳川铁之助, 1938. 红藻类的粘质物に対する苛性曹達の作用. 日本水产学会誌 **6**(5): 274—276.
- [4] Batey, J. F., J. R. Turvey and E. L. Williams, 1981. Variation in Structure Among Galactan Sulphates Related to Agar. Proc. Int. Seaweed Symp. **8**: 535—542.
- [5] Brasch, D. J., C. T. Chuah and L. D. Melton, 1984. Formolysis studies on some polysaccharides from red seaweeds. Aust. J. Chem. **37**: 1539—1544.
- [6] Duckworth, M. and W. Yaphe, 1970. Thin-layer chromatographic analysis of enzymic hydrolysates of agar. J. Chromatog. **49**: 482—487.
- [7] Duckworth, M. and W. Yaphe, 1971. The structure of agar. Part I. Fractionation of a complex

- mixture of polysaccharides. *Carbohydr. Res.* 16: 189—197.
- [ 8 ] Duckworth, M. and W. Yaphe, 1971. The structure of agar. Part II. The use of bacterial agarase to elucidate structural features of the charged polysaccharides in agar. *Carbohydr. Res.* 16: 435—445.
- [ 9 ] Gretz, M. R. and E. L. McCandless, 1983. The galactan sulphates of the conchocelis phases of *Porphyra leucastricta* and *Bangia atropurpurea* (Rhodophyta). *J. Exp. Bot.* 34(143).
- [10] Guiseley, K. B., 1970. The relationship between methoxyl content and gelling temperatures of agarose. *Carbohydr. Res.* 13: 247—256.
- [11] Hirase, S., 1982. Structural features of the sulfated polysaccharide isolated from the red seaweed *Laurencia undulata*. Abst. 11th Intl. Carbohydr. Symp. Vancouver, Canada, p. III-12.
- [12] Izumi, K., 1973. Structural analysis of agar-type polysaccharides by NMR spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta*, 320: 311—317.
- [13] Lawson, C. J., D. A. Rees and D. J. Stancioff and N. F. Stanley, 1973. Carrageenans. Part VIII. Repeating structures of galactan sulphates from *Furcellaria fastigiata*, *Gigartina canaliculata*, *Gigartina chamissoi*, *Gigartina atropurpurea*, *Ahnfeltia durvillaei*, *Gymnogongrus furcellatus*, *Euचेuma cottonii*, *Euचेuma spinosum*, *Euचेuma isiforme*, *Euचेuma uncinatum*, *Aghardhiella tenera*, *Pachymenia hymantophora*, and *Gloiopeltis cervicornis*. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1973(1): 2177—2182.
- [14] Lindberg, B., 1955. Low-molecular carbohydrates in algae. X. Investigation of *Porphyra umbilicalis*. *Acta Chem. Scand.* 9: 1097—1099.
- [15] Morrice, L. M., M. W. McLean, W. F. Long, F. B. Williamsen, 1984. Porphyran primary structure. *Hydrobiologia* 116/117: 572—575.
- [16] Mshigeni, K. E. and E. V. Nzalalila, 1977. Contributions on the content and nature of the phycolloid from *Laurencia papillosa*. *Bot. Mar.*, 20(7): 443—447.
- [17] Nunn, J. R. and Von Holdt, M. M., 1957. Red-seaweed polysaccharides. Part II. *Porphyra capensis* and the separation of D- and L-galactose by crystallization. *J. Chem. Soc.* 1957: 1094—1097.
- [18] O'Colla, P. S., D. MacCraith and R. M. NiOlaín, 1958. The Mucilage of *Laurencia pinnatifida*. Abstr. 3rd Int. Seaweed Symp. p. 77.
- [19] OhEocha, C., 1962. Phycobilins. In: *Physiology and Biochemistry of Algae* (Ed. by R. A. Lewin) Academic Press Inc., 421—435.
- [20] Rees, D. A., 1961. Estimation of the relative amount of isomeric sulfate esters in some sulfated polysaccharides. *J. Chem. Soc.* 1961: 5168—5171.
- [21] Rees, D. A. and E. Conway, 1962. The structure and biosynthesis of porphyran: a comparison of some samples. *Biochem. J.* 84(2): 411—416.
- [22] Turvey, J. R. and D. A. Rees, 1958. The Carbohydrates of Red Algae: *Porphyra Umbilicalis*. Proc. Int. Seaweed Symp. 3: 74—75.
- [23] Turvey, J. R., 1960. Carbohydrates of *Porphyra umbilicalis*. *Colloq. Intern. Centre Nat. Resh. Sci.* (Paris) 103: 29—37.
- [24] Turvey, J. R. and T. P. Williams. 1961. Sugar Sulphates from the Mucilage of *Porphyra umbilicalis*. Proc. Int. Seaweed Symp. 4: 370—373.
- [25] Usov, A. I., S. V. Yarotsky and A. Shashkov, 1980. <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy of red algal galactans. *Biopolymers.* 19: 977—990.
- [26] Usov, A. I., E. G. Ivanova and A. S. Shashkov, 1983. Polysaccharides of algae XXXIII. Isolation and <sup>13</sup>C-NMR spectral study of some new gel-forming polysaccharides from Japan Sea red seaweeds. *Bot. Mar.* 26: 285—294.
- [27] Whyte, J. N. C., 1971. Polysaccharides of the red seaweed *Rhodymenia pertusa*. I. Water soluble glucan. *Carbohydr. Res.* 16: 220—224.
- [28] Yaphe, W., 1966. The Purification and Properties of an Agarose from a Marine Bacterium *Pseudomonas atlantica*. Proc. Int. Seaweed Symp. 5: 333—335.
- [29] Young, K. S., 1972. An enzymatic and chemical study of agar. (Ph. D. thesis, Dept. of Microbiology and Immunology, McGill University.)
- [30] Усов, А. И. и Е. Г. Иванова, 1981. Полисахариды водорослей XXXI. Фермативное расщепление агароподобного полисахарида из красной водоросли *Rhodomela larix* (Turn.)С. Ад. Биоорг. Хим. 7(7): 1060—1068.

## CHEMICAL AND $^{13}\text{C}$ -NMR SPECTROSCOPIC ANALYSIS OF AGARS FROM THREE RHODOPHYTES\*

Ji Minghou

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao*)

M. Lahaye and W. Yaphe

(*McGill University, Montreal, Canada*)

### ABSTRACT

The structure of agars extracted from three rhodophytes, namely, *Gelidium acerosa*, *Laurencia flexilis* var. *tropica* and *Porphyra haitanensis* was analysed by fractionation on DEAE-Sephadex, chemical analysis and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. The agars from *G. acerosa* and *L. flexilis* consisted of neutral and charged polymers. The latter were eluted from DEAE-Sephadex mainly with 0.5 mol/L NaCl. In contrast, the hot water soluble polysaccharides extracted from *P. haitanensis* (10.4% sulfate), contained charged polymers that were eluted from DEAE-Sephadex with 0.5 mol/L, 0.1 mol/L and 2.5 mol/L NaCl.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy showed that agarobiose and 6-OMe-agarobiose were the major disaccharide repeat units in the neutral fraction from *G. acerosa* and 0.5 mol/L fraction from *L. flexilis*. The spectrum of the latter also had weak signals attributed to 2-OMe-L-galactose and 6-OSO<sub>3</sub>-D-galactose. These agars were hydrolyzed with a  $\beta$ -agarase and shown by thin layer chromatography to have oligosaccharides containing 6-OMe-D-galactose. The  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of the *P. haitanensis* polysaccharide (1.0 mol/L NaCl fraction) had a porphyran type structure with repeating disaccharide units of agarobiose (3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4)-O-3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranose) and the biological precursor of agarobiose (3-O- $\beta$ -D-galactopyranose (1 $\rightarrow$ 4)-O- $\alpha$ -L-galactopyranose-6-sulfate) with minor resonance signals for 6-O-methyl-D-galactose. The *P. haitanensis* polysaccharide was converted after alkali treatment to agarose.

\* Contribution No. 1304 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.