

用¹³C-核磁共振和红外光谱法对三种卡拉胶原藻分步提取的卡拉胶级分的结构分析*

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)

摘要 用¹³C-核磁共振(¹³C-NMR)和红外(IR)光谱分析了从三种卡拉胶原藻(鹿角沙菜、角叉菜、异枝麒麟菜)分步提取的主要卡拉胶级分的化学结构。¹³C-NMR谱图表明,所有主要级分由κ-卡拉胶组成,除此之外,沙菜的冷水级分和角叉菜的40%乙醇级分中还含有少量ι-卡拉胶。IR谱图也表明,在1250, 850和805cm⁻¹有κ-和ι-卡拉胶所特有的吸收谱带。以1250, 850和805cm⁻¹对2920cm⁻¹的吸收面积比值估算了硫酸基的相对含量。

红藻细胞壁中的主要成分是由半乳糖构成的多糖,称为半乳糖胶(galactan)。其中一类是琼胶类型(agar-type),另一类为卡拉胶类型(carrageenan-type)。前者在化学上是由(1→3)-β-D-半乳糖和(1→4)-α-L-半乳糖单位及其衍生物交替连接而成的高分子聚合物;后者则全由D-半乳糖及其衍生物以α(1→3)和β(1→4)键交替地连接而成的聚合物。两类多糖虽在某些物理性质上有些类似,但在化学结构上是全然不同的。如图1所示,卡拉胶依据其在重复二糖的(1→3)-β-D-半乳糖单位上的硫酸基所在位置不同而又分类为β族-卡拉胶(无SO₄)、κ族-卡拉胶(C₄-SO₄)和λ族-卡拉胶(C2-SO₄)。又根据重复二糖的(1→4)-α-D-半乳糖单位上硫酸基的有无及其所在位置不同,β族-卡拉胶可分为γ-, β-, δ-和α-卡拉胶;κ族-卡拉胶又可分为κ, ι-, μ-和ν-卡拉胶;λ族-卡拉胶可分为λ-, ξ-和π-卡拉胶^[7,13,20]。近来,从红藻中还分离出不属于前三个族的重复二糖ω-卡拉胶^[14]。有些卡拉胶重复二糖单位如γ-, δ-, μ-, ν-卡拉胶在活藻体内经酶作用,或者人为地用碱处理藻体或提取的卡拉胶,它们可分别转变成相应的β-, α-, κ-和ι-卡拉胶。

上述各种重复二糖在细胞壁中有时以嵌段(block)存在,有时则与其他重复二糖不规则地连接在一起形成线型多糖。在藻体中不存在理想的一种重复二糖连接的卡拉胶。近

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1495号。

本工作得到加拿大国家科学和工程研究委员会(NSERC)的资助;蒙特利尔大学Phan Viet博士协助作¹³C-NMR光谱分析,在此表示感谢。

收稿日期: 1986年12月10日。

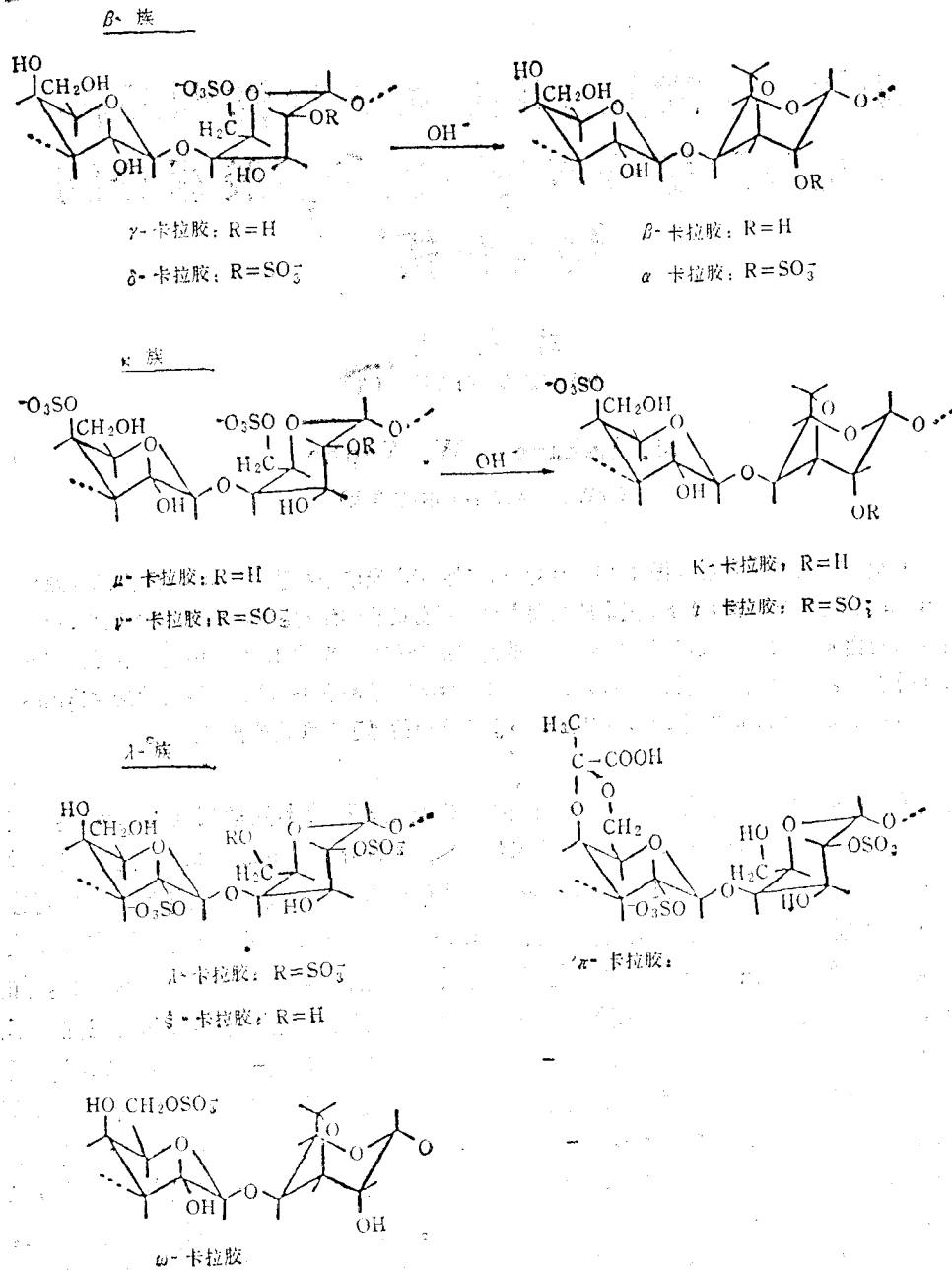


图1 各种类型卡拉胶的重复二糖结构(理想的)

Fig. 1 Repeating disaccharide structures (idealized) of carrageenans

γ-卡拉胶: (1→3)-β-D-半乳糖基-(1→4)-α-D-半乳糖 6-硫酸酯为重复二糖单位; κ-卡拉胶: (1→3)-β-D-半乳糖基 4-硫酸酯-(1→4)-3,6-内醚-α-D-半乳糖为重复二糖单位; λ-卡拉胶: (1→3)-β-D-半乳糖基 2-硫酸酯-(1→4)-α-D-半乳糖 2,6-二硫酸酯为重复二糖单位; π-卡拉胶: (1→3)-4,6-O-(1-羧亚乙基)-β-D-半乳糖基 2-硫酸酯-(1→4)-α-D-半乳糖 2-硫酸酯为重复二糖单位。其他卡拉胶的重复二糖单位可按上列类推。

来,人们用酸解、酶解等方法从多糖中分离出不同聚合度的寡糖,运用核磁共振光谱法进行检定,从而证实上述形形色色的构成卡拉胶分子的重复二糖单位。有的重复二糖是从

理论上或从 NMR 谱图上出现的共振信号推断得知的(如 γ -、 μ -、 ν -卡拉胶等)。由于重复二糖上的硫酸基位置和含量不同以及糖单位的立体构象的差异,使得卡拉胶多糖具有不同的物理性质。这些不同的性质在食品工业中用于不同的用途。

中国海南岛拥有丰富的琼枝 (*Eucheuma gelatinae*) 和沙菜 (*Hypnea*) 等红藻资源,是生产卡拉胶的重要原料。琼枝所含卡拉胶已证明主要由 β -和 κ -卡拉胶组成^[1,6]。北方的青岛沿海生长有角叉菜 (*Chondrus*), 近年来自然繁殖很快,不久可望用作卡拉胶生产原料。

本文对南方生长的沙菜和北方产的角叉菜以及菲律宾生长的麒麟菜用分步提取法分离到的各个级分,用 ^{13}C -核磁共振(^{13}C -NMR)光谱仪和红外 (IR) 吸收光谱仪研究了它们的化学结构特征。

一、实验材料和方法

1. 海藻

鹿角沙菜 (*Hypnea cervicornis* J. Ag.), 1985 年 4 月采自广东省湛江; 角叉菜 (*Chondrus ocellatus* Holm.), 1982 年 8 月采自山东省青岛; 异枝麒麟菜 (*Eucheuma striatum* Schmitz) 系美国 Marine Colloids Division 提供, 采自菲律宾 Sulu 群岛海藻养殖场。

2. 分步提取^[10]

称取 10g 以 MICRO-MILLTM 磨细的海藻细块(长约 1mm) 以下列步骤提取。(1) 先加 2L 水于室温 (22°C) 搅动提取 12 小时, 同样对藻渣再提取一次。(2) 依序以 95% (约 77°C), 80% (约 78°C), 60% (约 80°C) 和 40% (约 84°C) 乙醇煮沸回流提取。每种浓度提取三次, 每次加 300ml 乙醇, 第一次 2 小时, 第二、三次各 1 小时。(3) 加水煮沸三次, 每次加 300ml 水, 时间同上。(4) 于 121°C 蒸气压力下提取二次, 每次加 300ml 水, 第一次 2 小时, 第二次 1 小时。(5) 加 100ml 1mol/L NaOH 溶液, 室温搅动一夜, 同样再提取一次。(6) 加 100ml 稀盐酸溶液 (pH5.0), 于 80°C 水浴中提取 2 小时, 同样再提取一次。以上各次提取液都用离心机 (10000 r/min.) 分离。将各步的提取液合并, 减压浓缩, 经过透析后加入少量 Celite 545 助滤, 以 1.2 μm 和 0.45 μm 滤膜依次以不锈钢压滤管 (Millipore 厂生产) 压滤。滤液再经减压浓缩至适当体积, 用冻干机冻干。

3. ^{13}C -NMR 光谱和 IR 光谱分析

取 70—90mg 冻干的多糖样品加 2ml D_2O , 于热水浴中加热使其溶解, 用 Bruker WH 400 光谱仪于 100.62MHz (谱宽 11 000—15 150, 累加次数为 1 100—5 076) 和 80°C (个别样品在 60°C) 描记质子去偶 ^{13}C -NMR 谱图, 以四甲基硅烷 (TMS) 作外标记各碳原子的化学位移值 (δ), 以 ppm 表示。IR 吸收光谱的测定是取 5—10mg 冻干多糖加 2ml 水, 于水浴中加热溶解, 取 1ml 注入约 ϕ 2.5cm 的塑料皿中, 于 37°C 干燥成膜。用 Perkin-Elmer 297 型红外光谱仪记录红外吸收曲线。

4. 碱处理^[10]

称取 130mg 冻干多糖放 100ml 三角烧瓶中, 加入 30ml 水。加温溶解后, 加入 30mg NaBH_4 , 于 80°C 水浴中加热 15 分钟。加入 15ml 3mol/L NaOH 溶液, 混合后于 80°C 加

热 3 小时,时而摇动。经充分透析后冻干。

二、实验结果

1. 各级分得率的分布

图 2 为鹿角沙菜、角叉菜和异枝麒麟菜经分步提取所得多糖的得率分布。

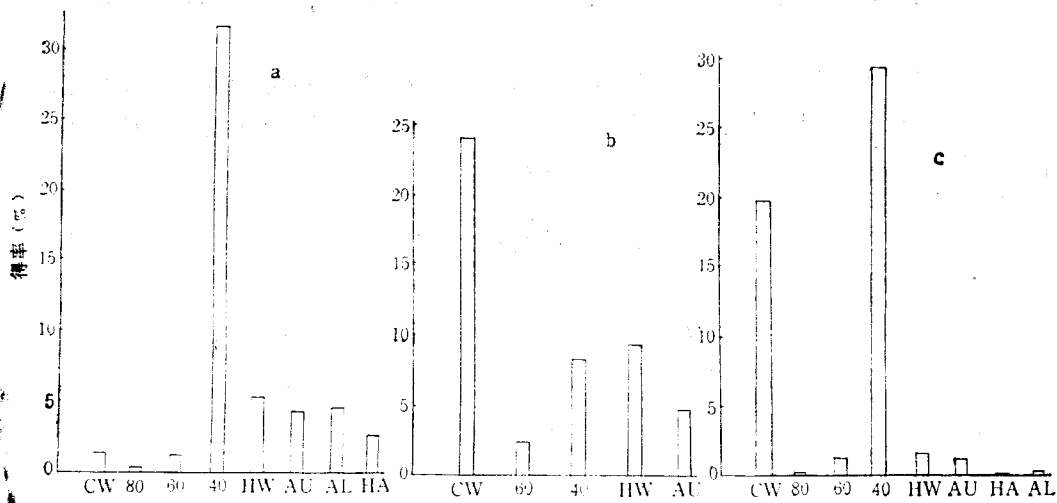


图 2 鹿角沙菜(a)、角叉菜(b)和异枝麒麟菜(c)的提取各级分得率分布

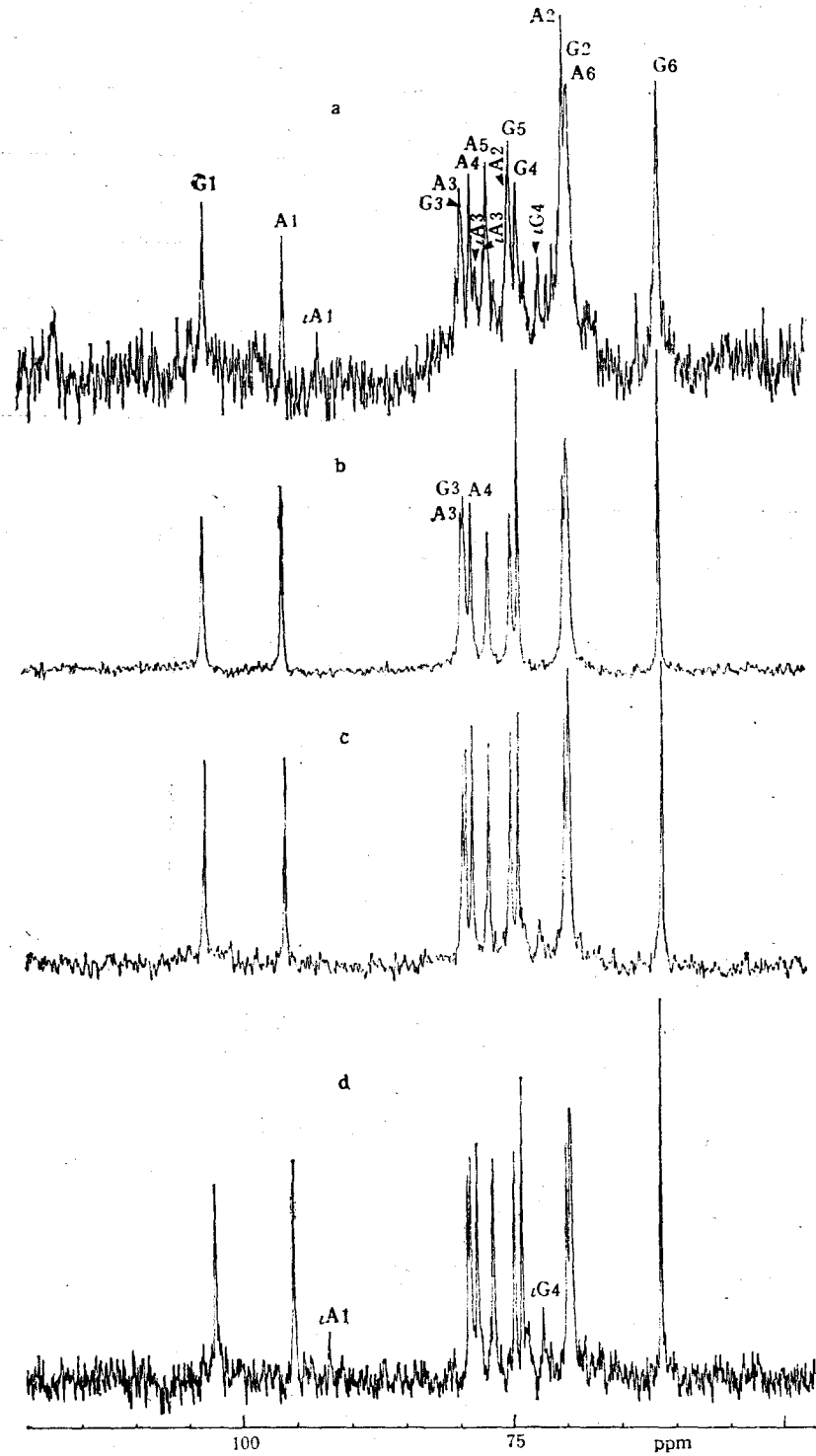
Fig. 2 Distribution of the yield of polysaccharide fractions extracted from *Hypnea cervicornis* (a), *Chondrus ocellatus* (b) and *Eucheuma striatum* (c)

CW: 冷水级分; 80, 60, 40: 80%, 60% 和 40% 乙醇级分; HW: 热水级分; AU: 加压级分; AL: 碱提取级分; HA: 热稀酸级分。

鹿角沙菜的 40% 乙醇提取级分的得率最高,为干藻重量的 31.5%; 其次为热水和碱提取级分,分别为 5.4% 和 4.7%; 加压和热酸级分分别为 4.2% 和 2.8%; 其余如冷水、60% 和 80% 乙醇提取级分都低于 2%。各级分得率总和为干藻的 50.6%。角叉菜的冷水提取级分得率最高,为 24.0%; 其次为热水、40% 乙醇和加压提取级分,分别为 9.4%, 8.4% 和 4.9%; 60% 乙醇级分最低。各级分得率的总和为干藻的 49.2%。异枝麒麟菜的 40% 乙醇提取级分得率为最高,达 28.9%; 其次为冷水级分, 19.5%; 其余各级分都低于 2%。各级分得率的总和为干藻的 52.6%。

2. ^{13}C -NMR 光谱分析

鹿角沙菜: 图 3a 为鹿角沙菜的冷水提取级分的 ^{13}C -NMR 谱图。可以清楚地看到 κ -卡拉胶特有的 12 个碳原子的化学位移值: G1 102.5, G2 69.9, G3 78.9, G4 74.1, G5 74.9, G6 61.3; A1 95.2, A2 70.3, A3 79.2, A4 78.2, A5 76.8, A6 69.6ppm。并且还显示出 ι -卡拉胶所特有的几个信号: ι G3 77.1, ι G4 72.2; ι A1 92.4, ι A2 75.0, ι A3 77.9ppm (与表 1 文献值对照)。此外, 还出现几个未知的微弱信号: 70.4, 70.9, 73.4, 74.5, 76.5ppm。60% 乙醇级分的谱图(省略)与 40% 乙醇和热水级分(图 3b, c) 相同, 只显示出上述 κ -卡拉胶的典型 12 个碳原子信号。热水级分经碱处理后, 可看到除

图3 鹿角沙菜卡拉胶各级分的 ^{13}C -NMR谱图Fig. 3 ^{13}C -NMR spectra of carrageenan fractions from *Hypnea cervicornis*

a. 冷水级分; b. 40%乙醇级分; c. 热水级分; d. 热水级分(经碱处理)。

表 1 不同类型卡拉胶重复二糖各碳原子的¹³C-NMR 化学位移 (ppm, 相对于 TMS)

Tab. 1 ¹³C-NMR chemical shifts of carbons of repeating disaccharides of various carrageenans (ppm, relative to TMS)

卡拉胶	糖单位 ¹⁾	1	2	3	4	5	6	文 献
κ-卡拉胶	G	102.5	69.6	78.9	74.1	74.8	61.3	[19]
	A	95.3	69.9	79.2	78.3	76.8	69.5	
ι-卡拉胶	ιG	102.2	69.3	76.8	72.2	74.8	61.3	[19]
	ιA	92.1	75.0	77.8	78.3	77.0	69.8	
γ-卡拉胶	γG	104.8			65.6			[6, 7]
	γA	96.3					68.4	
β-卡拉胶	βG	102.5	69.5	80.4	66.4	75.3	61.3	[6]
	βA	94.7	70.2	79.4	78.0	76.8	69.5	

1) G, A 分别表示 κ-卡拉胶的 (1→3)-β-D-半乳糖单位和 (1→4)-α-D-半乳糖单位; 其他卡拉胶则在糖单位前冠以卡拉胶类型, 如 ιG, ιA 代表 ι-卡拉胶的两糖单位(见图 1); 余类推。

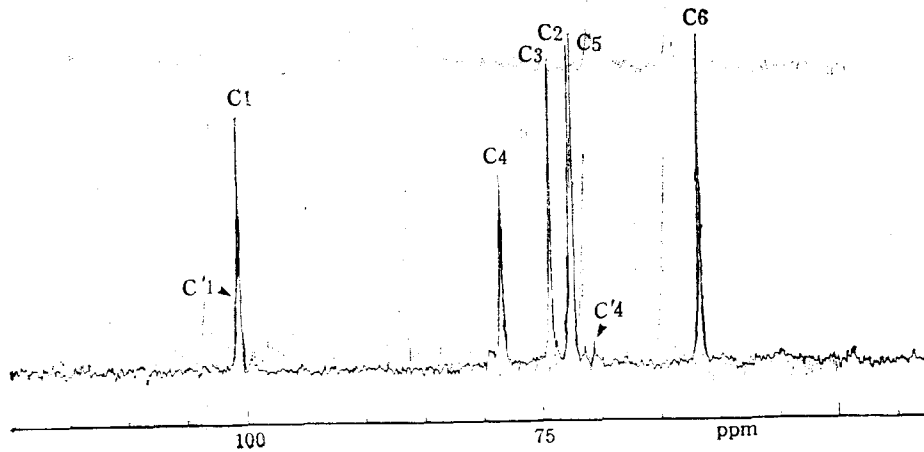


图 4 鹿角沙菜的碱提取级分(红藻淀粉)的¹³C-NMR 谱图

Fig. 4 ¹³C-NMR spectrum of alkali fraction (floridean starch) from *Hypnea cervicornis*

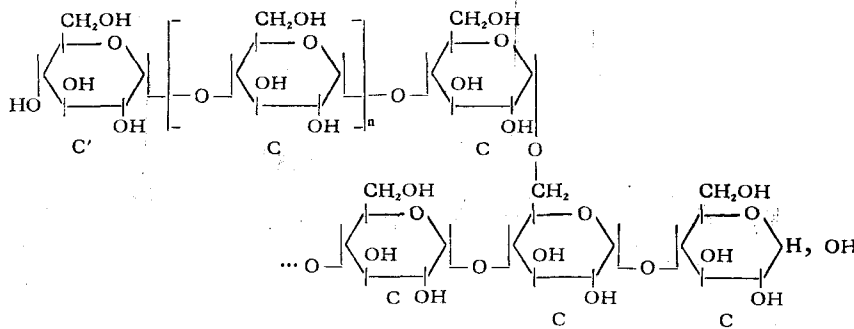


图 5 红藻淀粉

Fig. 5 Floridean starch

主要的 κ -卡拉胶信号外,尚有 ι -卡拉胶的两个特征信号峰: $\iota\text{A}1$ 92.0, $\iota\text{G}4$ 72.1ppm (图 3d)。碱提取级分的谱图 (图 4) 表示出支链淀粉类型的红藻淀粉 (floridean starch) 所特有的信号: C1 100.3, C2 72.2, C3 73.9, C4 78.1, C5 72.0, C6 61.3ppm; 并且还有微弱的信号: C'1 100.5 和 C'4 70.1ppm, 是由于 (1 \rightarrow 6) 分枝点和未取代的 C4 的存在^[2] (图 5)。此红藻淀粉的粗得率为 4.7% (图 2a)。鹿角沙菜的 40% 乙醇级分的 2% 溶液加热溶解、放冷后,只呈较弱的凝固力,但当加入 0.2% KCl, 则具有很强的凝固力。

角叉菜: 角叉菜冷水提取级分 (图 6a) 的谱图基本上为 κ -卡拉胶所特有的信号, 同时也出现微弱的 ι -卡拉胶的信号: $\iota\text{A}1$, $\iota\text{A}3$ 和 $\iota\text{G}4$, 但不比鹿角沙菜冷水级分中的明显。60% 乙醇级分 (图 6b) 也如此。40% 乙醇级分 (图 6c) 中除 κ -卡拉胶的信号外, 有较明显的 ι -卡拉胶信号: $\iota\text{A}1$ 92.1, $\iota\text{G}4$ 72.0, $\iota\text{A}3$ 77.8ppm。热水提取级分因所含组

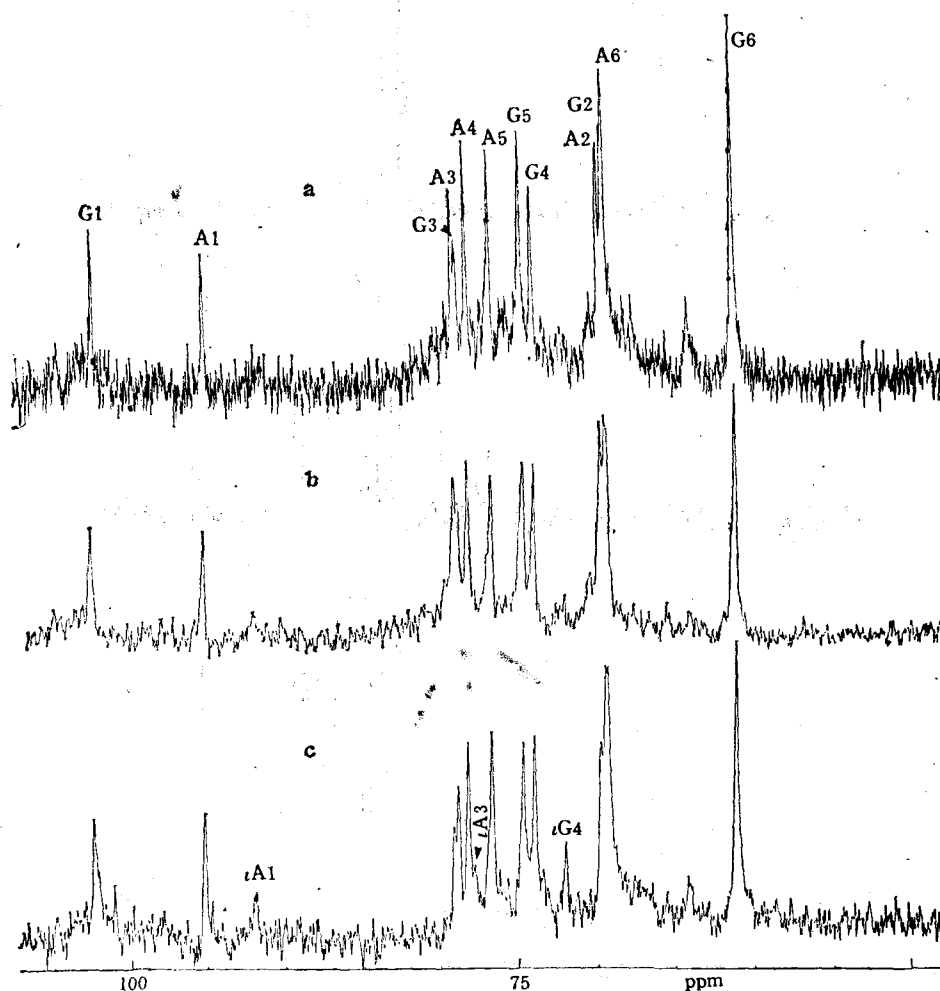


图 6 角叉菜卡拉胶各级分的 ^{13}C -NMR 谱图

Fig. 6 ^{13}C -NMR spectra of carrageenan fractions from *Chondrus ocellatus*

a. 冷水级分; b. 60% 乙醇级分; c. 40% 乙醇级分。

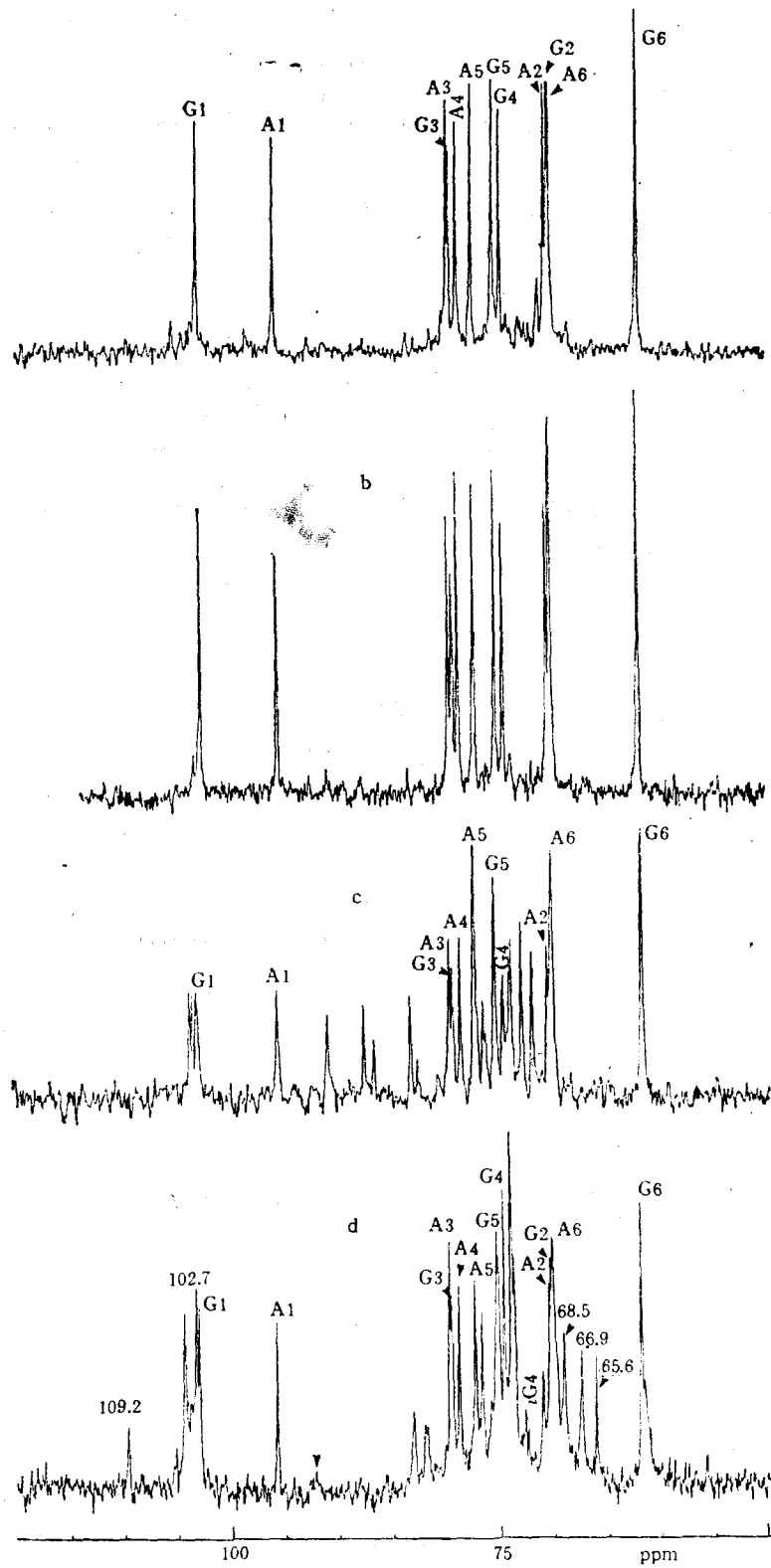


图7 异枝麒麟菜卡拉胶各级分的¹³C-NMR谱图

Fig. 7 ¹³C-NMR spectra of carrageenan fractions from *Eucheuma striatum*

a. 冷水级分, b. 40%乙醇级分(60°C 描谱), c. 40%乙醇级分(80°C 描谱), d. 热水级分.

分复杂, 噪音信号多, 碳信号互相重迭, 很不清晰, 只隐约地可看到 κ -卡拉胶的几个信号: G2 69.6, G5 74.8, G6 61.2; A6 69.6ppm。角叉菜 60% 乙醇提取级分的 2% 水溶液加热溶解、放冷后, 不凝固; 当加入 0.2% KCl 时, 则呈较强的凝固力。

异枝麒麟菜: 图 7 为异枝麒麟菜各级分的 ^{13}C -NMR 谱图。冷水级分(图 7a) 的谱图清楚地显示出 κ -卡拉胶的 12 个信号, 未检出 ι -卡拉胶的信号。还出现几个未知的信号: 70.6, 70.7, 79.7ppm。60% 乙醇级分(略)与冷水级分完全类似。40% 乙醇级分(图 7c) 按正常条件于 80 $^{\circ}\text{C}$ 描谱时, 谱图上除出现主要的 κ -卡拉胶的信号外, 还显示出一些特殊的信号: 103.1, 102.7, 90.6, 87.3, 83.0, 76.0, 73.4, 72.5, 71.5ppm 等。可能是加热生成的水解产物(包括 κ -卡拉二糖等)的信号^[12]。另取样品于 60 $^{\circ}\text{C}$ 描谱, 则明显地全是 κ -卡拉胶的碳原子化学位移(图 7b)。由此可知, 异枝麒麟菜的 40% 乙醇提取级分在 80 $^{\circ}\text{C}$ 描谱是很不稳定的。经过重复提取, 于 80 $^{\circ}\text{C}$ 重复描谱, 结果仍相同。热水提取级分(得率仅 1.6%) 在 80 $^{\circ}\text{C}$ 测得的谱图(图 7d) 中出现了 κ -卡拉胶的 ^{13}C 信号(G1 102.3, G2 69.8, G3 78.9, G4 74.1, G5 74.8, G6 61.3; A1 95.1, A2 69.9, A3 79.2, A4 78.3, A5 76.8, A6 69.5ppm) 以外的多种信号, 即 102.7, 66.9ppm (β -卡拉胶?); 104.8, 65.6, 68.5ppm (γ -卡拉胶?); 92.1, 72.2ppm (ι -卡拉胶?); 103.8, 76.2, 75.2ppm (λ -卡拉胶?); 以及 109.2, 82.6, 81.5, 74.6, 73.4, 73.1, 70.5ppm 等一系列不能确定的化学位移。考虑到异枝麒麟菜 40% 乙醇级分对高温的敏感, 热水(即沸水)提取时可能产生部分水解, 因而生成这些未知的中间产物信号^[12]。异枝麒麟菜的 40% 乙醇提取物的 2% 溶液和加入 0.2% KCl 后的溶液都没有凝固能力。

3. IR 光谱分析

IR 光谱是一种简易、样品用量少、不损害样品的分析技术, 近来多用于海藻多糖的研究中。该分析方法能较快地获得关于总硫酸基、C4-硫酸基或 C2-硫酸基的存在, 及其对总硫酸基的相对比值的资料, 并可定性地判断出所测海藻多糖是琼胶还是卡拉胶及其所属类型等, 特别与 ^{13}C -NMR 光谱分析互相配合使用, 则更为有用。作者已报道了几种海藻所含琼胶各级分的 IR 吸收带及其比值。

图 8A 表示从鹿角沙菜、角叉菜和异枝麒麟菜分步提取的卡拉胶级分的 IR 吸收谱图。可看出各级分中在 1250, 930 和 850 cm^{-1} 波数处都有明显的吸收谱带, 分别代表总 SO_4 ^[11]、3,6-内醚半乳糖^[17]及(1 \rightarrow 3)- β -D-半乳糖 C4 上的 SO_4 (直立键)。这说明这些多糖的主要组分为 κ -卡拉胶。个别级分还在 805—810 cm^{-1} 处有吸收峰, 表示 3,6-内醚-D-半乳糖 C2 上有 SO_4 存在^[16], 也即多糖中结合有 ι -卡拉胶。鹿角沙菜卡拉胶的 60% 乙醇级分(图 8Aa)、角叉菜 60% 乙醇级分(图 8Ae) 和异枝麒麟菜 60% 乙醇级分(图 8Aj) 中于 1540 cm^{-1} 有较强的吸收峰, 表明含有较多的蛋白质^[18]。角叉菜的热水提取级分(图 8Ah) 由于组分复杂, 3,6-AG 的吸收峰被迭盖而未显示出来。其 60% 乙醇级分经碱处理后(图 8Ag) 和异枝麒麟菜热水提取级分(图 8Al) 的谱图中都显示出 805 cm^{-1} 吸收峰, 表明 ι -卡拉胶有少量存在, 这与 ^{13}C -NMR 谱上出现的 ι -卡拉胶信号相符合。

图 8B 为 Sigma 厂生产的 κ -、 ι -和 λ -卡拉胶的 IR 吸收曲线。 λ -卡拉胶因 SO_4 含量最多, 在 1250 cm^{-1} 的吸收最强; ι -和 λ -卡拉胶有 805 cm^{-1} 吸收带; κ -和 ι -卡拉胶在 850 cm^{-1} 有吸收, 但 λ -卡拉胶却没有。

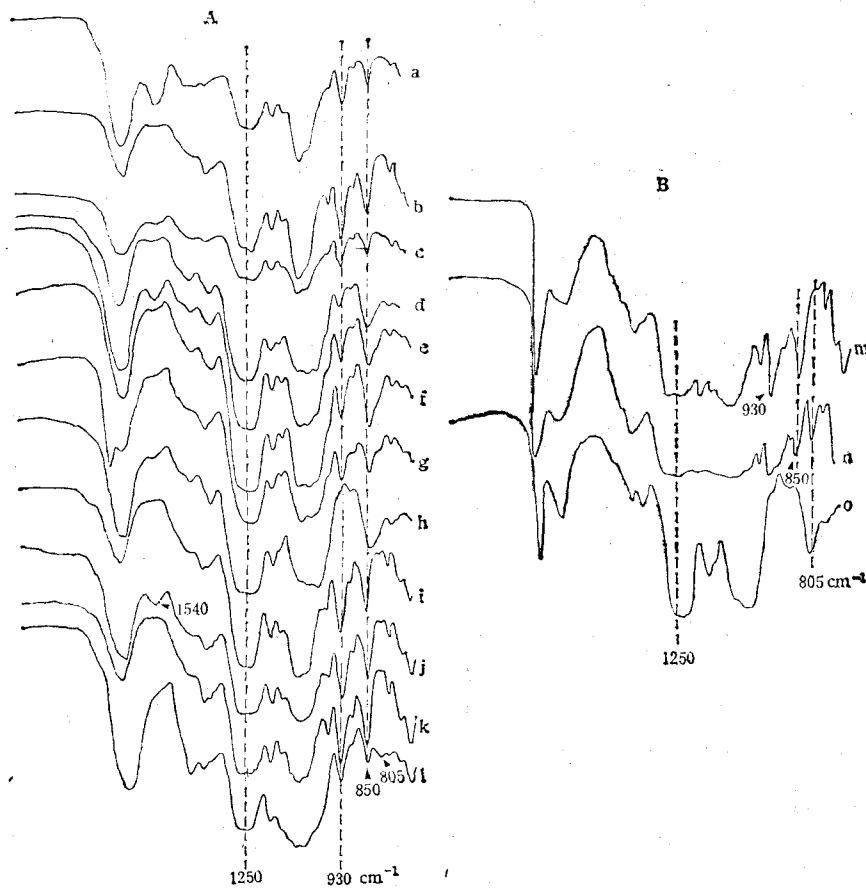


图8 卡拉胶的红外吸收光谱图

Fig. 8 Infrared absorption spectra of carrageenans

A. 三种红藻提取的卡拉胶级分

A. carrageenan fractions from three carrageenophytes

- a. 60%乙醇级分, b. 40%乙醇级分, c. 热水级分, 以上自鹿角沙菜提取;
 d. 冷水级分, e. 60%乙醇级分, f. 40%乙醇级分, g. 60%乙醇级分(经碱处理), h. 热水级分, 以上自角叉菜提取;
 i. 冷水级分, j. 60%乙醇级分, k. 40%乙醇级分, l. 热水级分, 以上自异枝麒麟菜提取。

B. Sigma 厂产 κ -、 ι -和 λ -卡拉胶B. κ -、 ι - and λ - carrageenans manufactured by Sigma Co.

- m. κ -卡拉胶, Type III, 从耳突麒麟菜 (*E. cottonii*) 制备; n. ι -卡拉胶, Type V, 从刺麒麟菜 (*E. spinosum*) 制备; o. λ -卡拉胶, Type IV, 从杉藻 (*Gigartina aciculata*) 制备。

各卡拉胶级分都在 2920cm^{-1} 有强的吸收带, 是因 C—H 的存在。它可作为总糖含量的参比。C—H 组的数较恒定, 其不因半乳糖胶中半乳糖对 3, 6-内醚半乳糖和硫酸基含量的比值变化而不同^[15]。本文据此计算了 $1250, 930, 850$ 和 805cm^{-1} 对 2920cm^{-1} 的吸收面积比值^[14], 结果如表 2。

由表 2 可见, 总硫酸基比值以角叉菜的热水级分最高; 三种卡拉胶的 40% 乙醇级分, 也较高。850/2920 (C4-SO₄) 比值基本上也与总硫酸基比值相适应。930/2920 比值

表 2 三种红藻所含卡拉胶各级分的红外吸收比值

Tab. 2 IR absorption ratios of carrageenan fractions from three carrageenophytes

海藻种类	卡拉胶级分	红 外 吸 收 比 值					
		930/2 920 (3, 6-AG)	1 250/2 920 (总 SO ₄)	850/2 920 (C4-SO ₄)	805/2 920 (C2-SO ₄)		
鹿角沙菜	60%乙醇	1.07	1.58	0.76			
	40%乙醇	4.17	5.95	3.68			
	热 水	2.57	3.58	2.28			
		— 碱 处 理 ¹⁾ —					
		—	+	—	+		
角叉菜	冷 水	0.88	2.26	7.27	8.60	1.87	2.11
	60%乙醇	1.26	1.64	8.38	6.78	1.64	
	40%乙醇	1.67	3.91	10.53	10.66	2.44	
	热 水	0.20		14.54		3.33	
异枝麒麟菜	冷 水	2.57		6.12		2.38	
	60%乙醇	2.04		3.93		2.00	
	40%乙醇	3.78		6.13		3.60	
	热 水	4.06		3.59		0.71	0.18
κ-卡拉胶	(Sigma 厂产品)	4.24	5.03	3.21			
ι-卡拉胶	(Sigma 厂产品)	2.05	3.95	1.62		1.46	
λ-卡拉胶	(Sigma 厂产品)	0.26	12.56				3.02

1) - : 未碱处理; + : 碱处理。

一般在 2—4 左右, 比琼胶者高, 这是因卡拉胶中 C4-SO₄ 在 930cm⁻¹ 处也有吸收^[15], 故此值仅供参考和比较。角叉菜各级分经碱处理后, 总 SO₄, 3,6-AG 和 C4-SO₄ 的比值都有所增高。异枝麒麟菜的热水平级分中测出 805/2 920 比值, 但很微弱, 表明 ι-卡拉胶只有微量存在。Sigma 厂生产的 ι-和 λ-卡拉胶因含有大量的 C2-SO₄, 故 805/2 920 比值都较高, 以 λ-者为最高。λ-卡拉胶的总硫酸基含量也为最高, 但 3,6-AG 量为最低, 并且测不出 C4-SO₄。ι-卡拉胶中 850/2 920 与 805/2 920 比值大致相接近, 表明 C4-SO₄ 和 C2-SO₄ 交替地分布在分子长链中(见图 1)。

三、讨 论

用分级提取法对三种卡拉胶原藻提取, 得到三种不同类型的级分得率分布图。鹿角沙菜是以 40% 乙醇级分的得率为最高; 角叉菜和异枝麒麟菜都以冷水和 40% 乙醇级分的得率比较高。鹿角沙菜和角叉菜的冷水级分从 NMR 谱图可看出, 虽以 κ-卡拉胶为主要组分, 但所含杂质很多, 从 IR 比值也可看出 930/2 920 很低, 850/2 920 比值也不高。NMR 谱表明, 鹿角沙菜的热水平级分中还含有少量 ι-卡拉胶, 但在 IR 谱中只在异枝麒麟菜的热水平级分(图 8A1) 中较明显地出现表示 ι-卡拉胶存在的 805cm⁻¹ 吸收峰, 其他级分都很不明显, 说明 ι-卡拉胶的含量微少。鹿角沙菜的热水平级分经碱处理后出现 ι-卡拉胶, 表明在一些级分中当 ι-卡拉胶含量很低时(如 10% 以下)^[4], 则在 ¹³C-NMR 谱图中被其他信号迭盖, 显示不出来; 但当以碱处理时, 一些杂质被除去的同时, 可能存在的 ι-卡拉胶前体 ν-卡拉胶则转变成 ι-卡拉胶, 其相对含量提高, 从而显示出其共振信号。另外, 如角叉菜 40% 乙醇级分的 NMR 谱图(图 6c) 中出现 ι-卡拉胶的信号, 但在 IR 谱(图 8Af)

中 805cm^{-1} 吸收峰 ($\text{C}2\text{-SO}_4$) 却被 850cm^{-1} 的宽吸收迭盖而显示不出来。总之,所研究的三种红藻除主要含 κ -卡拉胶外,都还含有少量或微量 ι -卡拉胶。

角叉菜所含卡拉胶大部分为冷水可溶型的,即主要是 κ -卡拉胶的钠盐^[13],也可能还含有低分子量的 κ -卡拉胶。鹿角沙菜的 40% 乙醇级分可能为 κ -卡拉胶的钾、钙盐^[13]。这两类 κ -卡拉胶当加入 0.2% KCl 都可形成具有一定强度的凝胶。异枝麒麟菜的卡拉胶对热很敏感,其 40% 乙醇级分中虽加入 KCl 也不凝固,可能经过热乙醇提取,其多糖发生降解,形成分子量较低的卡拉胶之故。Bellion 等^[3]从耳突麒麟菜 (*Eucheuma cottonii*) 的温水提取物中用 ^{13}C -NMR 法测出 6-OCH_3 的化学位移,但在异枝麒麟菜的各级分中均未测出。而 6-OCH_3 在江蓼属所含琼胶中的存在是较普遍的^[2,9]。沙菜的碱提取级分中的红藻淀粉(图 5)在结构上与江蓼各种的碱提取级分是相同的,这表明红藻淀粉是红藻共有的细胞内贮存物质,但含量有所不同。

异枝麒麟菜的 40% 乙醇、角叉菜的 60% 乙醇和鹿角沙菜的 60% 乙醇级分的 IR 吸收谱中,都在 1540cm^{-1} 有表明蛋白质肽键存在的吸收带。角叉菜 60% 乙醇级分(图 8Ae)经碱处理后(图 8Ag)蛋白质吸收峰消失;而溢江蓼^[9]的 40% 乙醇级分虽经碱处理,仍保留较强的 1540cm^{-1} 吸收峰。这可能因为:有的蛋白质分子量较低,经碱处理降解到小分子,在透析中被除去;有的蛋白质分子量较大,或与多糖相结合^[9],虽经碱处理,也未能降解到能被透析掉的分子量,因而仍混杂在冻干多糖中。

本工作和前报进一步证实 ^{13}C -NMR 光谱法能较简易而较快地分辨出红藻多糖琼胶和卡拉胶及它们的结构类型、结构不均匀性等。红外吸收光谱法也是一种有用的工具,可较快地检出卡拉胶和琼胶中的 3, 6-AG、总硫酸基及不同位置的硫酸基,并从红外吸收面积的比值可定性地估计它们的相对含量及其变化趋势。

参 考 文 献

- [1] 纪明侯、顾柯楠, 1987. 琼枝卡拉胶与海萝胶结构的 ^{13}C -NMR 分析. 海洋科学 2: 50—52.
- [2] 纪明侯、M. Lahaye、W. Yaphe, 1986. 中国江蓼属红藻所含琼胶的结构特征. 海洋与湖沼 17(1): 72—83.
- [3] Bellion, C., G. Brigand, J. -C. Prome and D. W. S. Bociek, 1983. Identification et caractérisation des précurseurs, biologiques des carraghénanes par spectroscopie de R. M. N. ^{13}C . Carbohydr. Res. 119: 31—48.
- [4] Bodeau-Bellion, C., 1983. Analysis of carrageenan structure. Physiol. Vég., 21: 785—793.
- [5] Dais, P. and A. S. Perlin 1982. High field, ^{13}C -NMR spectroscopy of β -D-glucans, amylopectin, and glycogen. Carbohydr. Res. 100: 103—126.
- [6] Greer, C. W. and W. Yaphe, 1984. Characterization of hybrid (beta-kappa-gamma) carrageenan from *Eucheuma gelatinae* J. Agardh (Rhodophyta, Solieriaceae) using carrageenases, infrared and ^{13}C -nuclear magnetic resonance spectroscopy. Bot. Mar. 27(10): 473—478.
- [7] Greer, C. W., 1984. A study of carrageenases from marine bacteria. Ph. D. thesis. Dept. of Microbiology and Immunology, McGill University, Montreal, Canada.
- [8] Ji Minghou, M. Lahaye and W. Yaphe, 1985. Structure of agar from *Gracilaria* spp. (Rhodophyta) collected in the People's Republic of China. Bot. Mar. 28: 521—528.
- [9] King, G. M. and G. E. Lauterbach, 1987. Characterization of carrageenan nitrogen content and its susceptibility to enzymatic hydrolysis. Bot. Mar. 30(1): 33—39.
- [10] Lahaye, M., C. Rochas and W. Yaphe, 1986. A new procedure for determining the heterogeneity of agar polymers in the cell walls of *Gracilaria* spp. (Gracilariaceae, Rhodophyta). Can. J. Bot. 64: 579—585.
- [11] Lloyd, A. G., K. S. Dodgson, R. G. Price and F. A. Rose, 1961. Infrared studies on sulphate esters I. Po-

- lysaccharide sulphate. *Biochim. Biophys. Acta* 46: 108—115.
- [12] Miller, J. J., H. Wong and R. H. Newman, 1982, A. ¹³C-N. M. R. study of some disaccharides from algal polysaccharides. *Aust. J. Chem.* 35: 853—856.
- [13] Moirano, A. L., 1977. Sulfated Seaweed Polysaccharides. In "Food Colloids", ed. by Graham, H. D. The Avi Publishing Company, Inc., pp. 347—381.
- [14] Mollion, J., S. Moreau and D. Christiaen, 1986. Isolation of a new type of carrageenan from *Rissoella verruculosa* (Bert.) J. Ag. (Rhodophyta, Gigartinales). *Bot. Mar.* 29(6) 549—552.
- [15] Rochas, C., M. Lahaye and W. Yaphe, 1986. Sulfate content of carrageenan and agar determined by infrared spectroscopy. *Bot. Mar.* 29: 335—340.
- [16] Stancioff, D. J., and N. F. Stanley, 1969. Infrared and chemical studies on algal polysaccharides, *Proc. Int. Seaweed Symp.* 6: 595—609.
- [17] Stanley, N. F., 1963. Process for treating a polysaccharide of seaweed of Gigartinales and Solieriaceae families. U. S. Patent, 3, 094, 517.
- [18] Tipson, R. S., 1968. Infrared spectroscopy of carbohydrates. A review of the literature. National Bureau of Standard Monograph 110.
- [19] Usov, A. I. and A. S. Shashkov, 1985. Polysaccharides of algae. XXXIV: Detection of iota-carrageenan in *Phyllophora brodiaei* (Turn.) J. Ag. (Rhodophyta) using ¹³C-NMR spectroscopy. *Bot. Mar.* 28: 367—373.
- [20] Zablackis, E. and G. A. Santos, 1986. The carrageenan of *Catenella nipae* Zanard, a marine red alga. *Bot. Mar.* 29(4): 319—322.

STRUCTURAL ANALYSIS OF CARRAGEENAN FRACTIONS EXTRACTED SEQUENTIALLY FROM THREE CARRAGEENOPHYTES USING ¹³C-NMR AND IR SPECTROSCOPY*

Ji Minghou

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

M. Lahaye W. Yaphe

(of McGill University, Montreal, Canada)

ABSTRACT

The chemical structure was studied of main fractions recovered by sequential extraction from three carrageenophytes: *Hypnea cervicornis*, *Chondrus ocellatus* and *Euclima striatum* using ¹³C-NMR and IR spectroscopy. It was confirmed that the main fraction of carrageenan recovered from *Hypnea* was 40% ethanol extract, and those from *Chondrus* and *Euclima* were cold water and 40% ethanol extracts. The ¹³C-NMR spectra indicated that all these main fractions were composed of κ-carrageenan, alternating with (1→3)-β-D-galactopyranosyl 4-sulfate-(1→4)-3,6-anhydro-α-D-galactopyranose as the repeating disaccharide unit, except the cold water extract from *Hypnea* and 40% ethanol extract from *Chondrus*, which in addition also contained small amount of ι-carrageenan alternating with (1→3)-3,6-anhydro-β-D-galactopyranosyl 4-sulfate-(1→4)-α-D-galactopyranose 2-sulfate as the repeating disaccharide unit. IR spectrum also showed the presence of absorption bands characteristic for κ- and ι-carrageenans at 1 250 (total SO₄), 850 (C4-SO₄), 805 (C2-SO₄) cm⁻¹, and their relative contents were qualitatively estimated by the ratios of 1 250, 850 and 805 cm⁻¹, respectively.

* Contribution No. 1495 from Institute of Oceanology, Academia Sinica.