

NMR 法研究我国主要植物胶资源的多糖化学结构



蒋建新¹, 朱莉伟¹, 安鑫南², 张卫明³

(1. 北京林业大学 材料科学与技术学院, 北京 100083; 2. 南京林业大学 化学工程学院,
江苏 南京 210037; 3. 南京野生植物研究院, 江苏 南京 210042)

摘 要: 植物种子多糖 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 分析表明, 胡芦巴、皂荚、野皂荚和塔拉多糖与瓜尔多糖化学结构基本相同, 同属半乳糖聚糖, 即主链由 β-(1→4)-苷键连接的 D-吡喃甘露糖组成, D-半乳糖以侧链形式通过 α-(1→6)-苷键连接到主链甘露糖分子上; 不同植物种子多糖, 其半乳糖与甘露糖比值不同, 其中胡芦巴 1 : 1.2、皂荚 1 : 2.5、野皂荚 1 : 3.2、塔拉 1 : 2.4 (瓜尔 1 : 1.6); 种子多糖均为中性粘多糖, 熔点在 263 ~ 272 °C 之间, 粘均相对分子质量 (M_v) 为 206 000 ~ 343 900 (瓜尔胶 M_v 为 430 600)。

关键词: 胡芦巴; 皂荚; 野皂荚; 塔拉; 种子多糖

中图分类号: TQ432.9; Q539.6

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2417(2006)01 - 0041 - 04

NMR Studies on Chemical Structures of Polysaccharides of the Main Plant-gum Resources in China

JIANG Jian-xin¹, ZHU Li-wei¹, AN Xin-nan², ZHANG Wei-ming³

(1. College of Material Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. College of Chemical Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;

3. Nanjing Wild Plant Research Institute, Nanjing 210042, China)

Abstract: Polysaccharides isolated from seeds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*), China honeylocust (*Gleditsia sinensis*), smalleaf honeylocust (*G. microphylla*) and tara (*Caesalpinia spinosa*) are composed of D-galactose and D-mannose, which are similar to galactomannan from guar gum. Structural studies are performed by GC, ¹H NMR and ¹³C NMR. All galactomannans possess molecules having main chains consisted of (1→4)-linked β-D-mannose residues, with different proportions of side chains consisted of single α-D-galactose residue linked to the main chain by (1→6)-bond. Ratios of galactose to mannose of the above polysaccharides are 1 : 1.2, 1 : 2.5, 1 : 3.2 and 1 : 2.4, respectively (guar gum 1 : 1.6). Molecular weights (M_v) are found to vary from 206 000 (smalleaf honeylocust) to 343 900 (tara). Melting points are situated between 263 - 272 °C (M_v of guar gum is 430 600).

Key words: fenugreek; China honeylocust; smalleaf honeylocust; tara; seed polysaccharide

植物胶是由甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、木糖等单糖及其相应的糖醛酸(其中的一种或几种)按一定比例组成的多糖, 具有较好的粘性, 能与水结合成胶体溶液^[1]。根据植物胶的胶液性能分为低浓度高粘度胶、高浓度低粘度胶和凝胶多糖胶 3 种。近年来世界商品植物胶中低浓度高粘度胶用量最大, 用途最广。我国低浓度高粘度的植物胶资源品种多、分布广, 其中产量较大的有田菁、槐树、胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉等。胡芦巴属豆科蝶型花亚科, 其种子是传统的中药材, 近年来, 我国安徽、江苏、宁夏、内蒙古等地都发展了胡芦巴种植基地^[2-3]; 皂荚, 落叶乔木或小乔木, 根系发达, 耐旱节水, 生长快速, 结实好, 具有固氮性能, 是营造农田防护林和水土保持林的理想生态树种^[4]。陕西、河南、河北、四川有野生皂荚林, 目前这些地区又发展了人工皂荚林, 种植面积达 30 万 hm²; 野皂荚, 灌木

收稿日期: 2004 - 08 - 11

基金项目: 国家“十五”科技攻关资助项目(2001BA502B03)

作者简介: 蒋建新(1969 -), 男, 江苏南通人, 副教授, 博士, 从事树木提取物化学与工程及生物质能源方面的研究和教学工作。

或小乔木,具有抗干旱、耐瘠薄、适应性强等特点,是太行山石质山地阳坡的当家树种,在太行山区分布广泛,资源丰富^[5-6];塔拉,豆科苏木属,是我国作为单宁植物资源从南美洲引种栽培的经济植物^[7-8];"九五"期间我国西南部已大量引种栽培,塔拉种子是理想的植物胶资源之一。国内外关于多糖的研究目前很活跃,但关于植物多糖胶的研究报道不多,尤其是关于他们的多糖化学结构的研究更少。作者从胡芦巴、皂荚、野皂荚和塔拉种子中分离提纯多聚糖,以瓜尔多糖为参照物进行多糖¹H NMR、¹³C NMR和多糖性质分析研究。

1 材料和方法

1.1 主要原料、试剂及仪器

原料:瓜尔豆(新疆莎车产,中国科学院北京植物所鉴定),胡芦巴种子(安徽灵璧县产),皂荚豆(北京地区产,中国林业科学研究院林业研究所鉴定),野皂荚豆(河北涉县产),塔拉豆(云南元江产,中国林业科学研究院资源昆虫研究所提供)。**试剂:***D*-葡萄糖、*D*-甘露糖、*D*-半乳糖、*D*-木糖、*D*-阿拉伯糖及相对分子质量 $(1 \sim 10) \times 10^5$ 的葡聚糖等标准品购于美国 Sigma 公司,其它试剂均为市售分析纯试剂。**仪器:**超级恒温水浴、电子天平、烘箱、离心机、真空干燥箱、红外光谱仪(Nicolt FI-IR410)、超导核磁共振仪(DRX300MHz Bruker)、乌氏粘度计、显微熔点仪。

1.2 多糖的制备

将种子在 40 °C 温水中泡胀,手工剥离取出种子胚乳,烘干,粉碎,筛分使其过 120 目筛制成胚乳胶粉。分别称取胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉和瓜尔种子胚乳胶粉各 5 g,分别溶于 700 mL 蒸馏水中搅拌、水化 3 h,离心沉降分离,沉淀部分用蒸馏水洗涤两次,每次用水 200 mL,搅拌水化 1 h 后离心分离。将 3 次清液合并,再次离心,保留清液,将清液边搅拌边慢慢加入 6.5 mL 斐林试剂析出铜络合物,静置 1 h,倾出上清液,用水洗涤 3 次,离心分离得络合物,向络合物中加入 75 mL 4 °C 蒸馏水,然后滴加 0.5 mol/L 的盐酸使之全部溶解。加入 700 mL 乙醇使多糖絮凝,将过滤所得絮状物分别用 70% 乙醇、丙酮、无水乙醚洗涤,真空干燥,制得胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉和瓜尔多糖粉。

1.3 多糖核磁共振测定

重水(D₂O)溶剂,并加入同体积 DCl,30 °C 溶解 1 h。DSS 内标,采样时间 1.03 s,脉冲延迟 8 s,共振频率 75.47 MHz,脉冲角 65°。

1.4 多糖均匀性、相对分子质量、分解点测定

胡芦巴、皂荚、野皂荚和塔拉多糖经 Sephadex G-75 凝胶过滤,酚硫酸法测定光密度,根据体积-光密度流出曲线判断多糖的均匀性。

采用粘度法测定各种多糖的粘均相对分子质量(M_v),用显微熔点测定仪测定各多糖的熔点。

2 结果与讨论

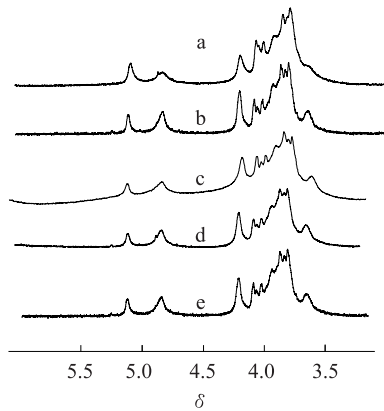
2.1 多糖组成

纯多糖经酸水解再经三甲基硅烷醚衍生化后气相色谱分析表明,胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉多糖都是由 *D*-半乳糖和 *D*-甘露糖两种单糖组成。甲基化多糖水解液纸上层析表明,胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉和瓜尔多糖的甲基化单糖各自出现上、中、下 3 个斑点,比移值基本相同。这 3 个比移值与文献报道的基本相同。在同一展开剂中(上)应为 2,3,4,6-四甲基-*O*-*D*-半乳糖,(中)为 2,3,6-三甲基-*O*-*D*-甘露糖,(下)为 2,3-二甲基-*O*-*D*-甘露糖^[9-11]。初步确定这 4 种多糖中单糖之间连接方式与瓜尔多糖基本相同。

2.2 多糖的¹H NMR

图 1 是胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉和瓜尔多糖的¹H NMR 谱图,异头碳氢核峰分离得很好,谱图中存在一个甘露糖残基异头碳氢核峰,化学位移 δ 4.8(耦合常数 $J_{1,2}$ 接近 0.9 Hz),因此一定是 β -*D* 构型,糖环的构象为 ⁴C₁。谱图中 δ 5.1 是半乳糖单元的 H-1 峰, $J_{1,2}$ 约 3.2 Hz,因此半乳糖一定是 α -*D* 构型,糖

环构象为 4C_1 。半乳糖与甘露糖摩尔比近似等于峰面积比,比值分别见表 2。通过峰面积计算得到的半乳糖与甘露糖摩尔比值与气相色谱分析值很接近。



a. 胡芦巴 fenugreek; b. 皂荚 China honeylocust; c. 野皂荚 smalleaf honeylocust; d. 塔拉 tara; e. 瓜尔 guar

图 1 种子多糖的 1H NMR 谱图

Fig. 1 1H NMR spectra of some seed-polysaccharides

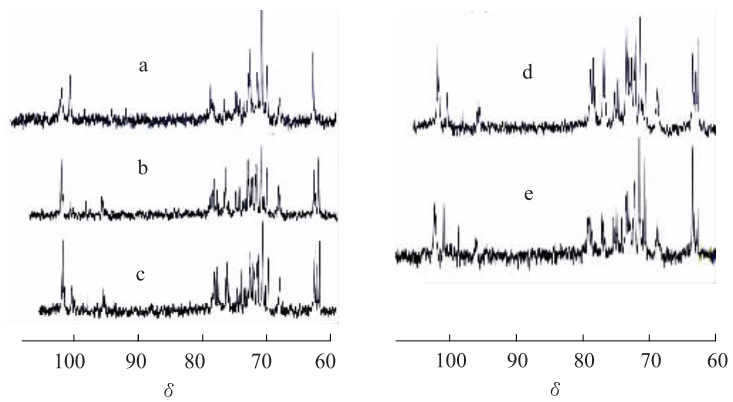


图 2 种子多糖的 ${}^{13}C$ NMR 谱图

Fig. 2 ${}^{13}C$ NMR spectra of some seed-polysaccharides

2.3 多糖的 ${}^{13}C$ NMR

图 2 列出了胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉和瓜尔多糖的 ${}^{13}C$ NMR 谱图。瓜尔多糖的光谱图与文献报道的一致^[12],其余 4 种多糖光谱图与瓜尔多糖相近,其 δ 值见表 1。

表 1 种子多糖的 ${}^{13}C$ NMR 数据

Table 1 ${}^{13}C$ NMR data of some seed-polysaccharides

糖基类型 types of units	δ_{C-1}	δ_{C-2}	δ_{C-3}	δ_{C-4}	δ_{C-5}	δ_{C-6}
α -D-半乳糖 α -D-galactopyranosyl	100.8	72.3	71.4	72.4	74.1	64.1
β -D-甘露糖(无支链) β -D-mannopyranosyl (unbranched)	102.0	72.9	74.4	79.1, 79.3	78.0	63.6
β -D-甘露糖(有支链) β -D-mannopyranosyl (branched)	102.0	72.9	74.4	79.3, 79.4	76.3	69.6

表中可以区别以下 3 种类型的结构单体:非还原端基的 α -D-半乳吡喃糖、甘露聚糖主链上未被取代的(1 \rightarrow 4)- β -D-甘露吡喃糖、甘露聚糖主链上有 HO-6 取代度的(1 \rightarrow 4)- β -D-甘露吡喃糖。半乳糖 C-1 和甘露糖 C-1(异头碳原子)在 δ 100.8 和 102 处,甘露糖 C-6 和半乳糖 C-6(次甲基碳原子)在 δ 63.4 和 63.7 处。在 β -D-甘露吡喃糖 C-4 上有 3 个峰,分别为 δ 79.4、79.3 和 79.1,这与甘露糖紧邻非还原端的甘露残基 HO-6 是否被半乳糖取代有关。两个连续被取代的 D-甘露糖在低场 δ 79.4 处形成共振峰,两个连续未被取代的甘露糖在高场 δ 79.1 处形成共振峰。由于 D-甘露糖在 HO-6 上被取代,所以 C-6 δ 69.6 向低场漂移 6, C-5 δ 76.3 向高场方向漂移 1.7。谱图中有 3 种类型结构单体的特征峰: α -D-半乳糖、未被取代的 β -D-甘露糖和被半乳糖取代的 β -D-甘露糖。

表 2 种子半乳甘露聚糖的基本数据

Table 2 Basic data of some seed-galactomannans

通过对多糖衍生化气相色谱、纸上层析和核磁共振谱图的分析,并与已知结构的瓜尔多糖进行对比表明,胡芦巴、皂荚、野皂荚和塔拉多糖与瓜尔多糖同属半乳甘露聚糖大分子,其主链是由 β -(1 \rightarrow 4)-苷键连接的 D-吡喃甘露糖组成, D-半乳糖以侧链形式通过

种子 seeds	半乳糖/甘露糖 ¹⁾ galactose/mannose	半乳糖/甘露糖 ²⁾ galactose/mannose	M_v	熔点/ ${}^\circ C$ melting point
胡芦巴 fenugreek	1 : 1.23	1 : 1.18	340400	270
皂荚 China honeylocust	1 : 2.55	1 : 2.46	242300	272
野皂荚 smalleaf honeylocust	1 : 3.31	1 : 3.18	206000	263
塔拉 tara	1 : 2.34	1 : 2.40	343900	272
瓜尔 guar	1 : 1.55	1 : 1.62	430600	280

1) 气相色谱测定数据 data from GC; 2) 1H NMR 测定数据 data from 1H NMR

α -(1 \rightarrow 6)-苷键连接到主链上的甘露糖上。D-半乳糖的比例因植物品种而异,见表 2。胡芦巴半乳甘

露聚糖中半乳糖比例最高,野皂荚半乳甘露聚糖中半乳糖比例最低,瓜尔半乳甘露聚糖中半乳糖比例与文献报道值基本一致。

2.4 多糖性质

胡芦巴、皂荚、野皂荚、塔拉多糖样品的凝胶渗透色谱图均为一单峰曲线,也就是说这4种多糖都是均匀中性粘多糖。多糖熔点和粘均相对分子质量(M_v)测定结果见表2,多糖的 M_v 是由斯陶丁格-马克-豪温方程 $[\eta] = KM^\alpha$ 计算得到^[13],式中 $[\eta]$ 为特性粘度, $K = 3.8 \times 10^{-4}$, M 为 M_v , $\alpha = 0.723$ 。4种植物多糖中塔拉多糖的 M_v 最高,为343 900,胡芦巴和皂荚多糖 M_v 其次,野皂荚多糖 M_v 最小。4种植物多糖分子的熔点都比瓜尔多糖(280 °C)稍低。

3 结论

3.1 多糖水解液气相色谱分析表明,本研究的4种多糖都由D-半乳糖和D-甘露糖两种单糖组成,甲基化多糖水解液纸上层析结果与瓜尔多糖相同。

3.2 多糖¹H NMR分析表明,多糖分子中存在 β -D-构型甘露糖(糖环构象为⁴C₁)和 α -D-构型半乳糖(糖环构象亦为⁴C₁);多糖¹³C NMR谱分析表明,胡芦巴、皂荚、野皂荚及塔拉多糖的特征峰与瓜尔多糖特征峰基本相同,而瓜尔多糖的谱图又与文献报道一致。

3.3 胡芦巴、皂荚、野皂荚和塔拉多糖同属半乳甘露聚糖大分子,其主链是由 β -(1→4)-苷键连接的D-吡喃甘露糖组成,D-半乳糖以侧链通过 α -(1→6)-苷键连接到主链甘露糖分子上。不同植物种子,其半乳糖与甘露糖比值不同,胡芦巴1:1.2、皂荚1:2.5、野皂荚1:3.2、塔拉1:2.4,瓜尔多糖的比值与文献相同。

3.4 凝胶色谱和胶液pH值测定表明,4种多糖均为均匀中性粘多糖,其熔点和粘均相对分子质量(M_v)因植物品种而异,熔点在263~272 °C之间, M_v 在206 000~343 900之间(瓜尔多糖 M_v 430 600)。

参考文献:

- [1]王宗训.中国资源植物利用手册[M].北京:中国科学技术出版社,1989.
- [2]卢拥军,赵忠扬.香豆胶压裂液在超深井中的应用研究[J].石油与天然气化工,1995,24(1):4-11.
- [3]蒋建新.经济植物胡芦巴的发展现状与前景[J].中国野生植物资源,1999,18(4):19-20.
- [4]顾万春,孙翠玲,李斌.皂荚优良产地和优良异种质推荐[J].林业科技通讯,2001,(4):10-13.
- [5]肖彦荣,王喜成.野皂荚的开发价值及栽培技术[J].河北林业科技,2000,(1):24-25.
- [6]范玉田,陈振江,赵树庭.野皂荚的生物学特性及播种造林[J].河北林果研究,1999,14(2):113-115.
- [7]华青,陈善信,何广新.云南引种塔拉生药学研究[J].时珍国医国药,2000,11(3):223-224.
- [8]陈筋鸿,吴在嵩,毕良武,等.塔拉提取物化学利用的研究进展[J].林产化学与工业,1996,16(3):79-85.
- [9]蒋建新,安鑫南,朱莉伟,等.皂荚豆及其皂荚胶的研究[J].南京林业大学学报,2003,27(1):11-15.
- [10]蒋建新,朱莉伟,徐嘉生.野皂荚豆胶的研究[J].林产化学与工业,2000,20(4):59-62.
- [11]蒋建新,朱莉伟,张卫明,等.塔拉多糖胶的研究[J].西南林学院学报,2003,22(4):12-16.
- [12]GRASDALEN H, PAINTER T. NMR studies of composition and sequence in legume-seed galactomannans [J]. Carbohydrate Research, 1980,81: 59-66.
- [13]ROBINSON G, ROSS-MURPHY S B, MORRIS E R. Viscosity-molecular weight relationships, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan [J]. Carbohydrate Research, 1982,107:17-32.