

NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC CỦA CARRAGEENAN TỪ RONG BIỂN *EUCHEUMA DENTICULATUM*

¹Thành Thị Thu Thủy, ²Trần Thị Thanh Vân,

²Bùi Minh Lý, ²Phạm Đức Thịnh

¹*Viện Hóa học, Hà Nội*

²*Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ, Nha Trang*

Tóm tắt Thành phần hóa học và cấu trúc của carrageenan tách chiết từ rong *Eucheuma denticulatum*, một loại rong Sụn Gai, thu thập tại biển Nha Trang được xác định chủ yếu bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR và tán xạ ánh sáng LS. Kết quả chỉ ra rằng mẫu carrageenan nghiên cứu là ι -carrageenan, cấu trúc hóa học của một disacarit của nó là $-(1-3)\text{-D-galactose-4-sulfate}$ và $-(1-4)\text{-3,6-anhydro-D-galactose-2-sulfate}$.

STRUCTURE OF CARRAGEENAN FROM *EUCHEUMA DENTICULATUM*

¹Thanh Thị Thu Thủy, ²Trần Thị Thanh Vân,

²Bui Minh Ly, ²Pham Duc Thinh

¹*Institute of Chemistry, 18 Hoang Quoc Viet St., Cau Giay, Hanoi*

²*Institute of Technological Research and Application,
02 Hung Vuong St., Nhatrang city, Vietnam*

Abstract Chemical composition and structure of the carrageenan from *Eucheuma denticulatum* is examined mainly by mean of nuclear magnetic resonance (NMR) and light scattering (LS). The results show that the carrageenan from *Eucheuma denticulatum* is ι -carrageenan with the chemical structure of one disacarit as $-(1-3)\text{-D-galactose-4-sulfate}$ and $-(1-4)\text{-3,6-anhydro-D-galactose-2-sulfate}$.

I. MỞ ĐẦU

Carrageenan là polyssacharide có trong các loài rong biển, trong tự nhiên chúng tồn tại 3 loại chính kappa (κ), iota (ι) và lambda (λ). Do tính không độc và các tính chất vật lý cũng như hóa học đáng chú ý mà carrageenan được sử dụng rất nhiều trong các lĩnh vực khác nhau như công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và hóa mỹ phẩm (Tye, 1989; Zablackis và G.A.Santos, 1986). Các tính chất vật lý, hóa học cũng như các ứng dụng thực tế của 3 loại carrageenan này là khác nhau. Ví dụ, κ - và ι -carrageenan có khả năng tạo gel rất cao nhưng λ -carrageenan lại không tạo gel trong bất kỳ điều kiện nào.

Với mục đích là nghiên cứu cấu trúc của các loại carrageenan có trong các loài rong ở biển Việt Nam nhằm góp phần định hướng cho việc khai thác và sử dụng nguồn rong biển của Việt Nam. Trong các bài báo trước (Thành T.T. Thủy, và cs., 2004; Thành T.T. Thủy và Trần T.T. Thủy, 2006), chúng tôi đã đưa ra qui trình chiết tách, làm sạch và xác định cấu trúc của một loại carrageenan có trong rong biển đỏ *Kappaphycus alvarezii* thu được từ biển Ninh Thuận, kết quả chỉ ra rằng loại carrageenan có trong loài *Kappaphycus alvarezii* là κ -carrageenan. Trong bài báo này cấu trúc hóa học của một loại carrageenan có trong loài rong *Euचेuma denticulatum* thu thập tại biển Nha Trang sẽ được nghiên cứu bằng phổ NMR và LS.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chiết tách, làm sạch

Tất cả các hóa chất được sử dụng thuộc loại tinh khiết phân tích của hãng Merck. Trước tiên, mẫu rong biển được rửa sạch, sấy khô, nghiền nhỏ rồi ngâm vào trong nước cất. Sau khi được khuấy và đun ở 95⁰C trong 3 giờ, dung dịch được lọc dưới áp suất cao. Nước lọc được cô đặc rồi kết tủa bằng cồn thu được mẫu carrageenan thô.

Tiếp theo, mẫu thô được hòa tan trong nước cất với nồng độ khoảng 0,1% ở nhiệt độ 70⁰C kèm theo khuấy mạnh. Dung dịch được lọc bằng máy ly tâm với màng lọc có kích thước lỗ 1,2 μ m. Nước lọc được trộn với dung dịch KCl 3M với tỷ lệ 10:1 về thể tích và được làm lạnh 1 giờ bằng đá vụn. Carrageenan sẽ kết tủa lại trong dung dịch này và muối KCl được loại bằng cách rửa mẫu với cồn 80%. Sau đó mẫu được sấy khô trong máy hút ẩm đến trọng lượng không đổi.

Mẫu carrageenan thu được bằng cách trên được hòa tan trong nước cất và cho đi qua cột trao đổi ion (Amberlite IR 120 H+). Nước rửa được trung hòa ngay lập tức bằng dung dịch NaOH 0,1M và sau đó làm khô lạnh trong chân không thu được carrageenan có độ sạch cao, mẫu này được dùng cho tất cả các phép phân tích.

2. Phân tích thành phần hóa học

Hàm lượng sulfate trong mẫu được xác định theo phương pháp của Terho và Hartiala (1971) thành phần đường xác định theo phương pháp của Stevenson và Furneaux (1991) và phân tích bằng phương pháp sắc ký khí trên máy 17AAFV với detector FID (GC-FID).

3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR

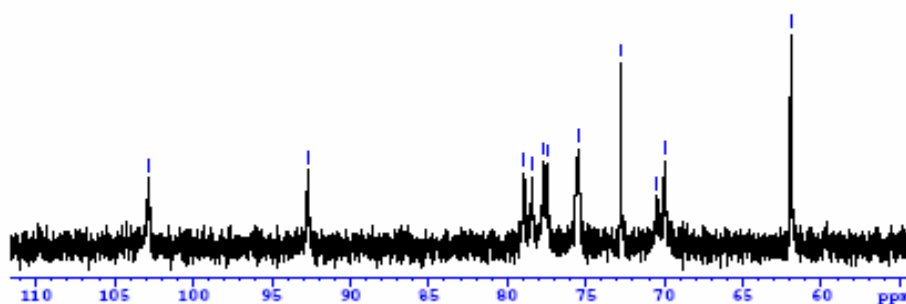
Phổ ^{13}C NMR được đo ở nhiệt độ 80°C với dung môi D_2O trên máy Bruker AVANCE 500MHz của Viện Hóa học. Acetone được sử dụng làm chất chuẩn nội.

4. Tán xạ ánh sáng LS

Phép đo LS tiến hành trên máy ALV 5000 tại Đại học công nghệ Kyoto (Nhật Bản). Nguồn sáng dùng trong phép đo sinh ra từ máy phát laser khí He-Ne với bước sóng ($\lambda = 632,8$ nm). Ống chứa mẫu được nhúng vào trong toluene giữ ở nhiệt độ 20°C - 25°C . Biến đổi chiết suất của dung dịch theo nồng độ dn/dc được đo trên máy Brice-Phoenix cũng tại bước sóng ($\lambda = 632,8$ nm). Phương pháp của Zimm (Burchard, 1994) được sử dụng để xác định bán kính hồi chuyển R_g (radius of gyration), bán kính thủy động học R_h (hydrodynamic radius) và trọng lượng phân tử trung bình M_w . Giá trị (xác định bởi tỷ số R_g/R_h là một thông số cấu trúc, nó cho biết cấu hình của chất trong dung dịch là ở dạng hình cầu, sợi hay que xoắn) (Burchard, 1994).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

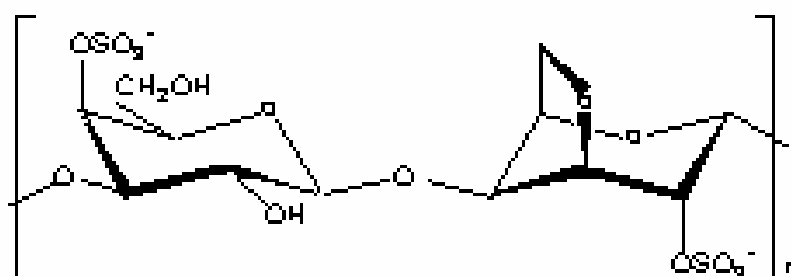
Cấu trúc hóa học của α -carrageenan được khẳng định bằng phương pháp ^{13}C NMR. Phổ được đưa ra trên hình 1, độ chuyển dịch hóa học chỉ ra trong bảng 1. Vạch phổ tại 92,7ppm được gán cho cacbon anomeric và được coi như vùng "vân tay" của α -carrageenan. Mặt khác, trong các mẫu α -carrageenan thường xuất hiện một hàm lượng nhỏ của μ -carrageenan, tuy nhiên trong phổ không thấy xuất hiện vạch đặc trưng tại 95,1ppm của μ -carrageenan (Miller và Blunt, 2000; Thụy Thanh và cs., 2002).. Do vậy có thể kết luận rằng mẫu thu được là α -carrageenan. Cấu trúc hóa học lý tưởng của một đơn vị disaccharide đưa ra trong hình 2.



Hình 1. Phổ ^{13}C -NMR của mẫu carrageenan nghiên cứu

Kết quả phân tích thành phần đường của loại carrageenan này được đưa ra trong bảng 2.

Kết quả phân tích hàm lượng đường cho thấy gal và angal là 2 thành phần đường chủ yếu có trong polysaccharide này. Tuy nhiên tỷ lệ gal: angal = 2,02:1,0 là cao hơn nhiều so với tỷ lệ 1:1 của galactan tạo thành từ các disaccharide có cấu trúc lý tưởng được cho trên hình 1. Điều này chứng tỏ rằng ι -carrageenan đang được nghiên cứu có cấu trúc hóa học phức tạp hơn có thể là luân phiên của 2 gốc galactose và 1 gốc anhydrogalactose.



Hình 2. Cấu trúc hóa học lý tưởng của một disaccharide của ι -carrageenan

Bảng 1. Kết quả phân tích phổ ^{13}C NMR

Vị trí	C1	C2	C3	C4	C5	C6
α -(1-3)-D-galactose-4-sulfate	102,8	70,4	77,7	72,7	75,4	61,9
β -(1-4)-3,6-anhydro-D-galactose-2-sulfate	92,7	75,4	78,4	78,9	77,4	70,0

Bảng 2. Kết quả phân tích thành phần đường

Thành phần đường	(%mol)
Galactose (gal)	65,5
3,6 anhydrogalactose (angal)	30
6-O methyl galactose	0,4
Xylose	3,7
Glucose	0,4

Để xác định trọng lượng phân tử và các thông số cấu trúc R_g , R_h của mẫu carrageenan nhằm khảo sát cấu hình của nó trong dung dịch nước, chúng tôi sử dụng phương pháp tán xạ ánh sáng. Kết quả được đưa ra trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả của phép đo LS

Nồng độ muối /Mol.l ⁻¹	dn/dc /mlg ⁻¹	Mw x 10 ⁻³ /gmol ⁻¹	R _g /nm	R _h /nm	ρ (=R _g /R _h)
0,1M NaCl	0,122	566	76,5	29,1	2,6

Trọng lượng phân tử trung bình của ι -carrageenan tách từ tảo biển *Eucheuma denticulatum* thu thập tại biển Nha Trang là 566x10³, trọng lượng phân tử của ι -carrageenan của hãng Merck được đo trong cùng một điều kiện thực nghiệm là 543x10³ (Thuy Thanh và cs., 2002). Như vậy, ι -carrageenan thu được từ tảo biển ở vùng biển Nha Trang có trọng lượng phân tử xấp xỉ như mẫu của hãng Merck. Thông số cấu trúc (= 2,6 chứng tỏ rằng mẫu ι -carrageenan nghiên cứu có cấu hình dạng que xoắn (Burchard, 1994).

IV. KẾT LUẬN

Loại carrageenan có trong tảo biển đỏ *Eucheuma denticulatum* thu thập tại vùng biển Nha Trang là ι -carrageenan. Cấu trúc hóa học của một disaccharide của nó là (-1-3)-D-galactose-4-sulfate và (-1-4)-3,6-anhydro-D-galactose-2-sulfate, trong dung dịch nước nó có cấu hình dạng que xoắn.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin được cảm ơn Giáo sư Hiroshi Urakawa, Đại học Công nghệ Kyoto, Nhật Bản đã giúp đỡ để thực hiện các phép đo tán xạ ánh sáng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Burchard W., 1994. Physical Techniques for the Study of Food Biopolymers. Blackie Academic, Glasgow, 151.
- Miller I. J. và J.W.Blunt, 2000. Botanical Marina, 43, 239.
- Stevenson T.T. và R.H.Furneaux, 1991. Carbohydrate Research, 10, 277.
- Terho T. và K.Hartiala, 1971. Analytical Biochemistry, 41, 471.
- Tye R.J., 1989. Carbohydrate Polymer. 10, 259.
- Thành T.T. Thủy, Trần T.T.Vân, Qui Tran-Cong-Miyata, Hiroshi Urakawa, 2004. Tạp chí hóa học. T.42, Vol.3, Tr. 379-383.

Thành T.T.Thủy, Trần T.T. Thủy, 2006. Tạp chí hóa học. T.44, Vol.4, Tr. 501-505.

Thuy T. T. Thanh, Y. Yuguchi, M. Mimura, H. Yasunaga, R. Takano, H. Urakawa, K. Kajiwara, 2002. Macromolecular Chemistry and Physics, 203, 15.

Zabackis và G.A.Santos, 1986. Botanical Marina, 29, 319.