

几种褐藻中褐藻多糖硫酸酯的分离及分析

张全斌 徐祖洪

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 分别从3种马尾藻及3份不同产地的海带中提取出褐藻多糖硫酸酯,并比较了它们的得率和化学组分。得率最高的是大连产海带,为5.5%。3份海带褐藻多糖硫酸酯的化学组分基本一致,它们的中性糖都由岩藻糖和半乳糖组成,红外光谱分析显示青岛和福建海带褐藻多糖硫酸酯中硫酸根主要连接于岩藻糖C4位,而大连产海带样品中硫酸根主要连接于糖的C2或C3位。马尾藻褐藻多糖硫酸酯组成都很复杂,硫酸根含量都较低。

关键词 褐藻,褐藻多糖硫酸酯,得率,化学组分

褐藻多糖硫酸酯(Fucoidan)是褐藻具有的一类硫酸化多糖,是褐藻的细胞间产物。褐藻多糖硫酸酯组成很复杂,在不同褐藻中变化很大,既存在简单的岩藻多糖硫酸酯,也有由多种单糖组成的结构复杂的杂多糖^[2]。褐藻多糖硫酸酯已经发现具有抗凝血、降血脂、抗肿瘤、抗病毒、增强机体免疫机能等多种生物学活性,许多生物学效应都与它的化学组分特别是硫酸根含量密切相关^[3]。我国褐藻资源十分丰富,但除海带外,其他褐藻特别是马尾藻资源还远未得到充分利用。本文调查了我国沿海几种常见褐藻中褐藻多糖硫酸酯的含量及化学组成,以便为以后褐藻资源的充分利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)1992年5月采于青岛太平角,海黍子(*Sargassum kjellmanianum*)1991年6月采于青岛太平角,冬青叶马尾藻(*Sargassum ilicifolium*)1990年10月采于海口,海带(*Laminaria japonica*)分别采于青岛(1991年6月)、福建连江(1991年6月)和大连海州(1991年)。其中大连产海带样

品主要是叶片上部,其余海藻均为整个藻体。海藻采集后于阳光下晒干后保存备用。

1.2 方法

1.2.1 分离和纯化 海藻切成细片后,以3.7%甲醛溶液浸泡过夜,然后添加蒸馏水沸水提取,以硅藻土过滤,滤液先后以自来水和蒸馏水透析,浓缩,75%乙醇沉淀,红外灯烘干得粗褐藻多糖硫酸酯。将粗品重溶于水,在0.05 mol·L⁻¹ MgCl₂存在下20%乙醇沉淀除去水溶性褐藻胶,滤液透析、浓缩后75%乙醇沉淀,干燥后即得到提纯的褐藻多糖硫酸酯。产品保存在干燥器中。

1.2.2 化学分析 以岩藻糖为标准采用盐酸半胱氨酸—硫酸法测定样品中岩藻糖含量^[4],以K₂SO₄为标准采用BaCl₂-明胶比浊法测定硫酸根含量;将样品在马福炉中550~600℃灰化至恒重测定灰分含量。

1.2.3 单糖组成分析 将多糖水解液采用Waters-244液相色谱仪进行分析。色谱柱为Sugar-pak-1柱,以水为流动相,示差检测器检测。各种标准单糖都是分析纯。

1.2.4 元素分析 采用PE240C元素分

收稿日期:1996年4月22日

析仪测定样品中 C, H, N 3 种元素的含量。

1.2.5 红外光谱分析 采用 Nicolet 750 型红外光谱仪, 以 KBr 压片在 $400 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 区间扫描。

2 结果与讨论

2.1 褐藻多糖硫酸酯的分离

不同褐藻中褐藻多糖硫酸酯和水溶性褐藻胶的含量见表 1。所得到的褐藻多糖硫酸酯除冬青叶马尾藻为浅褐色, 其余都是灰白色粉末状固体。在调查的几份褐藻中以大连产海带中褐藻多糖硫酸酯得率最高, 为 5.5%, 青岛和福建产海带的得率分别为 2.6% 和 2.8%。纪明侯、徐祖洪等对中国人工养殖的海带叶片中褐藻多糖硫酸酯分布研究表明, 海带叶片中岩藻糖分布边缘比中部多, 并从基部向叶片尖部逐渐增加。由于实验用大连产海带以叶片尖部为主, 不同于另两地海带是完整叶片, 而且青岛和福建之间在气候条件和环境上的差异比青岛和大连之间大得多, 而青岛和福建产海带在得率及随后测定的化学组成上

非常接近, 表明大连产海带在得率及组分结构上的差异主要是由于实验中所采用的叶片部位不同。在 3 种马尾藻中, 冬青叶马尾藻中褐藻多糖硫酸酯得率为 2.1%。鼠尾藻和海黍子得率分别为 3.3% 和 5.1%。在实验中还测定了水溶性褐藻胶的得率, 它的得率在不同褐藻及同一褐藻的不同次提取间变化较大, 未发现有规律性。

表 1 不同褐藻中水溶性褐藻胶和褐藻多糖硫酸酯的得率

Tab. 1 Yield of water soluble alginates and fucoidans from various brown algae

褐藻种类	水溶性褐藻胶 (%)	褐藻多糖硫酸酯 (%)
海黍子	8.0	5.1
鼠尾藻	2.3	3.3
冬青叶马尾藻	0.9	2.1
海带(大连产)	1.9	5.5
海带(福建产)	1.3	2.8
海带(青岛产)	5.8	2.6

2.2 褐藻多糖硫酸酯的化学组分

褐藻多糖硫酸酯的化学组分见表 2。

表 2 不同来源的褐藻多糖硫酸酯的化学组分

Tab. 2 Chemical components of fucoidans from various algae

来源	岩藻糖	硫酸根	氮	灰分	摩尔比率			
	(%)	(%)	(%)	(%)	岩藻糖	半乳糖	木糖	葡萄糖
海黍子	26.5	14.8	0.6	20.8	1.00	0.24	0.05	0.04
鼠尾藻	25.4	17.0	1.0	22.6	1.00	0.24	-	0.03
冬青叶马尾藻	13.3	12.6	1.3	20.8	1.00	0.36	0.16	0.08
海带(大连产)	24.0	30.0	0.9	27.3	1.00	0.15	-	-
海带(福建产)	29.3	30.8	1.2	29.8	1.00	0.09	-	-
海带(青岛产)	28.8	30.2	1.4	31.2	1.00	0.36	-	-

注“-”为未检出。

岩藻糖是大多数褐藻多糖硫酸酯所含的主要中性单糖。它的含量除在冬青叶马尾藻褐藻多糖硫酸酯中较低(13.6%)外, 在其他样品中的含量比较接近, 均在 24% ~ 30% 之间。根据高效液相色谱分析结果, 除岩藻糖外, 其他中性单糖含量在不同样品中差异很大。3 份海带褐藻多糖硫酸酯都只含有岩藻糖和半乳糖, 其中青岛产海带褐藻多糖硫酸酯中半乳糖含

量较高, 相当于岩藻糖含量的 36%, 福建和大连产海带样品中半乳糖含量较低。3 种马尾藻褐藻多糖硫酸酯的组分都很复杂, 它们的半乳糖含量都比较高, 海黍子样品中还含有少量的木糖和葡萄糖, 鼠尾藻样品中含有少量葡萄糖, 冬青叶马尾藻样品中半乳糖、木糖、葡萄糖的相对含量都最高, 岩藻糖含量在所有样品中最低, 表明它的化学组成最为复杂。

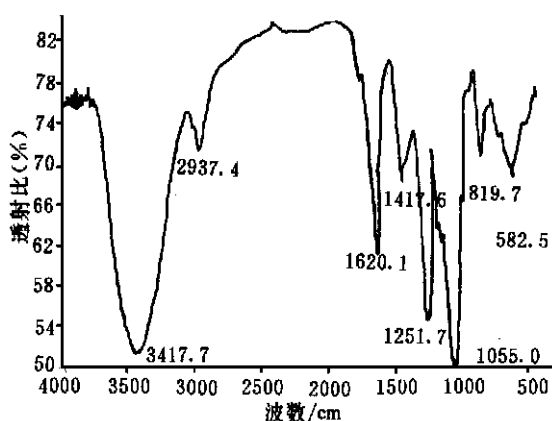


图1 海黍子褐藻多糖硫酸酯的红外光谱
Fig. 1 Infrared spectrum of fucoidan from *Sargassum kjelmannianum*

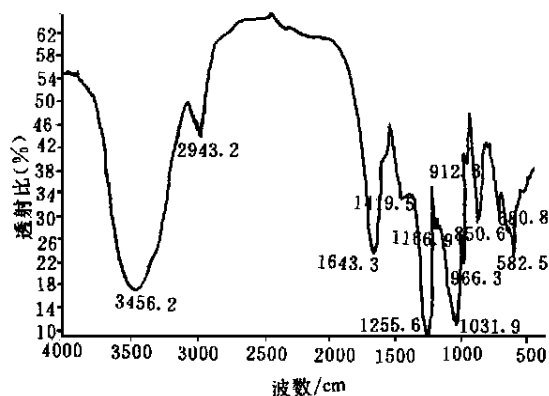


图2 青岛产海带褐藻多糖硫酸酯的红外光谱
Fig. 1 Infrared spectrum of fucoidan from *Laminaria japonica* grown in Qingdao

硫酸根含量在海带和马尾藻褐藻多糖硫酸酯中的差异很明显。3种海带褐藻多糖硫酸酯的硫酸根含量很接近,均在30%~31%之间。3种马尾藻褐藻多糖硫酸酯中硫酸根含量都较低,都小于20%。

元素分析结果显示在所有样品中都有氮元素存在。迄今研究过的褐藻多糖硫酸酯中,只有Sigma公司从墨角藻提取的褐藻多糖硫酸酯中发现含有0.4%氨基己糖,可以肯定,氮主要是以蛋白质的形式存在的。根据蛋白质

中氮的平均含量,可推算出样品中蛋白质含量在3.7%~8.7%间。由于实验中未采取专门步骤除去蛋白质,所以很难确定蛋白质与多糖的结合方式。有人在经蛋白酶消化后发现在分离的样品中仍含有蛋白质,因此推测蛋白质在褐藻多糖硫酸酯中可能以蛋白聚糖的形式与多糖连接在一起^[7]。

2.3 红外光谱对硫酸根连接位置的确定

6份褐藻多糖硫酸酯的主要红外吸收峰都包括3420~3500 cm⁻¹(O-H伸缩振动)、1250~1260 cm⁻¹(S=O伸缩振动)和1030~1167 cm⁻¹(C-O伸缩振动及O-H变形振动)。由于除810~850 cm⁻¹的C-O-S伸缩振动吸收峰外,3份海带褐藻多糖硫酸酯和3份马尾藻褐藻多糖硫酸酯的红外光谱图分别很接近,这里只给出青岛海带和海黍子褐藻多糖硫酸酯的谱图(图1、图2)。

810~850 cm⁻¹吸收峰是C-O-S伸缩振动,该峰强度中等,它的位置与硫酸根在糖上的连接位置有关,连接在岩藻糖的C4位处于直立键位置的硫酸根,在850 cm⁻¹有吸收,连接在岩藻糖的C2或C3位处于平伏键位置的硫酸根,它的吸收峰在820 cm⁻¹左右。冬青叶马尾藻和海黍子褐藻多糖硫酸酯的该吸收峰分别位于813 cm⁻¹和820 cm⁻¹,表明它们的硫酸根连接于糖的C2或C3位,鼠尾藻褐藻多糖硫酸酯在841 cm⁻¹有吸收,说明它的硫酸根主要连接在糖的C4位。在3份海带样品中,青岛和福建产海带褐藻多糖硫酸酯的该吸收峰都出现在850.6 cm⁻¹,并在820 cm⁻¹处有小肩状,显示它们的硫酸根主要连接在岩藻糖C4位,并有少量连接在C2或C3位。大连产海带褐藻多糖硫酸酯的吸收峰分别出现在822 cm⁻¹和850 cm⁻¹,822 cm⁻¹处强度略大于850 cm⁻¹峰,显示大连海带褐藻多糖硫酸酯中连接于糖C2或C3位的硫酸根略多于连接于C4位的硫酸根。

在3份海带褐藻多糖硫酸酯中最强吸收峰均为1250~1260 cm⁻¹的S=O伸缩振动峰,而在马尾藻样品中该吸收峰只有中等强

度,反映了硫酸根在海带样品中含量较高,在马尾藻样品中则较低。

综合化学分析和红外学谱分析结果,3种海带褐藻多糖硫酸酯化学组成基本一致,但大连产海带褐藻多糖硫酸酯得率很高,而且硫酸根、岩藻糖含量都较低,硫酸根的连接位置与其他海带样品不同,这种差异主要是由于所采用的海带叶片部位的不同造成的。褐藻多糖硫酸酯在叶片不同位置的含量及组分结构的差异可能与它们在不同部位的功能不同有关。

Nishino 等研究发现,褐藻多糖硫酸酯的抗凝血活性依赖于其硫酸根含量^[8],它的降血脂、抗血栓形成等效应也与硫酸根含量密切相关。三地产海带褐藻多糖硫酸酯中硫酸根含量较高,有可能用作心血管疾病的治疗。马尾藻褐藻多糖硫酸酯中硫酸根含量较低,化学组分

复杂,对它们的生物学活性尚待今后作进一步的研究。

参考文献

- [1] 纪明候,徐祖洪,郭玉彩,1980.水产学报 4(1):9~16.
- [2] Percival E, 1979. *Br. Phycol. J.* 14(2): 103-117.
- [3] Patankar Ms *et al.*, 1993. *J. Biol. Chem.* 268(29): 21 770-21 776.
- [4] Dische Z., 1955. *Methods Biochem. Anal.* 2: 313-358.
- [5] Kawai Y, Seno N, 1969. *Anno K. Anal. Biochem.* 32: 314-321.
- [6] Nishino T, *et al.*, 1994. *Carbohydr. Res.* 255: 213-224.
- [7] Percival E E, *et al.*, 1983. *Phytochemistry.* 22(6): 1 429-1 432.
- [8] Nishino T and Nagumo T., 1991. *Carbohydr. Res.* 214: 193-197.

ISOLATION AND ANALYSIS OF FUCOIDANS FROM VARIOUS BROWN ALGAE

Zhang Quanbin and Xu Zuhong

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Received: Apr. 22, 1996

Key Words: Brown algae, Fucoidan, Yield, Chemical component

Abstract

The yield and chemical components of fucoidans from three *Sargassum* species and three types of *Laminaria japonica* grown in different places were investigated. The highest yield was obtained from *L. japonica* grown in Dalian. Fucoidans from three types of *L. japonica* had similar components, but sulfate groups were attached to different positions of the fucose residues in them. Fucoidans from *Sargassum* had complex components and low sulfate content.