

不同生长期坛紫菜多糖中组分含量的变化*

高洪峰 纪明侯 曹文达

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 于 1990—1991 年, 运用 ^{13}C -NMR 和化学分析方法研究中国南方产和移植北方养殖的不同生长发育阶段坛紫菜多糖的组分变化。结果表明, 随着藻体生长发育, 坛紫菜琼胶中 3,6-内醚-L-半乳糖和 6-OCH₃-D-半乳糖的含量逐渐增加, 而硫酸基的含量呈现先增加后减少的规律; 北移坛紫菜琼胶中 3,6-内醚-L-半乳糖的含量高于南方坛紫菜, 而硫酸基和 6-OCH₃-D-半乳糖的含量低于南方坛紫菜。

关键词 坛紫菜 硫酸基 3,6-内醚-L-半乳糖 6-OCH₃-D-半乳糖

坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*) 为我国独有的经济红藻。纪明侯等(1986)首先对坛紫菜热水提取物及碱处理后提取物做了 ^{13}C -NMR 光谱分析。高洪峰等(1992)比较了南北方坛紫菜多糖的结构差异, 提出了环境因子对琼胶的生物合成有直接影响。本文对移植北方养殖的三期坛紫菜(初期、盛期和末期)的热水提取多糖进行了化学分析和 ^{13}C -NMR 谱分析, 并与南方产坛紫菜作了比较研究。对坛紫菜琼胶糖的生物合成途径作了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 坛紫菜样品 三期不同生长发育阶段的坛紫菜于 1990 年采自青岛胶南养殖场(初期: 9 月 29 日采, 盛期: 10 月 30 日采, 末期: 12 月 4 日采)。南方坛紫菜(盛期)于 1990 年 11 月 20 日采自浙江省舟山养殖场。各期坛紫菜样品采后用海水洗净、阴干。

1.2 坛紫菜多糖的提取 分别称取阴干的各期坛紫菜 20.0g, 剪碎后加蒸馏水 1 000 ml, 于 $95 \pm 2^\circ\text{C}$ 搅拌提取 1.5h; 用尼龙布过滤, 藻渣再加蒸馏水 400ml, 同温提取 1h, 过滤。将两次提取液合并, 离心 (5 000r/min, 15min) 除去碎屑, 上清液在 40°C 减压浓缩至约 200ml, 分别经普通滤纸、GF/C 以及 $1.2\mu\text{m}$ 、 $0.8\mu\text{m}$ 和 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜压滤。滤液中加入 5ml 1mol/L NaCl 溶液, 1 000ml 95% 乙醇, 使多糖脱水沉淀, 过滤; 沉淀用 95% 乙醇洗 3 次, 放 CaCl_2 干燥器中抽真空干燥。

1.3 化学分析 总糖、3,6-内醚-L-半乳糖(简称 3,6-AG)和硫酸基的含量分别用苯

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2104 号。中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室论文报告第 64 号。

收稿日期: 1992 年 3 月 30 日, 接受日期: 1994 年 2 月 28 日。

酚-硫酸比色法、间苯二酚比色法和山梨醇比浊法进行测定(高洪峰等,1992)。

氮的含量用 Kjeldahl 定氮法测定。

1.4 ^{13}C -NMR 谱分析 用 JNMG \times 400 型核磁共振仪按高洪峰等(1992)方法记录各期坛紫菜提取多糖中各碳原子的 ^{13}C -NMR 化学位移 (δ , ppm)。

2 结果与讨论

2.1 化学分析结果 各期坛紫菜提取多糖的重量得率、比色得率以及 3,6-AG、硫酸基和氮含量的化学分析结果见表 1。

表 1 各期坛紫菜提取多糖的得率和化学分析结果

Tab. 1 The yields and chemical analysis of extracted from *Porphyra haitanensis* in different growing periods

| 坛紫菜 样品 | | 重量得率(%) (对干坛紫菜) | 碳水化合物比 色含量(%) (对提取多糖) | 3,6-内醚-L-半乳 糖含量(%) | | SO ₄ ²⁻ 含量(%) | | N含量(%) (对提取 多糖) | 蛋白质含量 (%) ¹⁾ (对提取多糖) |
|---------------|----|--------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------|-------------------------------------|-------------|-----------------------|---------------------------------------|
| | | | | (对提取 多糖) | (对比色 总糖) | (对提取 多糖) | (对比色 总糖) | | |
| 北移 坛紫 菜 | 初期 | 17.95 | 96.20 | 9.0 | 9.36 | 7.55 | 7.85 | 1.92 | 12.00 |
| | 盛期 | 21.98 | 92.84 | 12.6 | 13.57 | 7.60 | 8.19 | 1.89 | 11.81 |
| | 末期 | 22.14 | 86.69 | 13.2 | 15.23 | 6.43 | 7.42 | 0.94 | 5.88 |
| 南方 坛紫 菜 | 盛期 | 18.74 | 88.37 | 9.6 | 10.86 | 8.20 | 9.28 | 1.63 | 10.19 |

1) 蛋白质含量由N含量 \times 6.25 计算的。

北移坛紫菜多糖的碳水化合物比色含量,由初期到末期顺序减少,说明坛紫菜在生长发育过程中,其他中性化合物(如红藻淀粉等)的含量增加,导致碳水化合物的比色含量偏低。

北移坛紫菜由初期至末期,多糖中 3,6-AG 的含量逐渐增加,对比色总糖的百分含量由 9.36% 上升到 15.23%。Craigie 等(1984)研究表明,组织年龄老化有利于 3,6-AG 的合成。各期坛紫菜多糖中硫酸基的含量(对比色总糖)在 7.42%—9.28% 之间,比 Rees, (1961)的分析结果(SO₄%, 9.8%)略低。北移坛紫菜多糖中 SO₄ 的含量顺序为:盛期 > 初期 > 末期,呈现先升高后下降的规律。

2.2 ^{13}C -NMR 分析结果 对三期北移坛紫菜和南方坛紫菜(盛期)提取多糖进行 ^{13}C -NMR 光谱分析结果见图 1。由于各期坛紫菜多糖的 ^{13}C -NMR 谱图基本相似,本文只列举具有代表意义的北移坛紫菜(盛期)的谱图。

南北方两种坛紫菜提取多糖的 ^{13}C -NMR 谱图都表明含有琼二糖和琼二糖的生物前体(高洪峰,1992)。通过 A*1 和 A1 两个信号的相对强度估算,琼二糖的生物前体在北移坛紫菜提取多糖中,初期占 58.59%,盛期占 52.66%,末期占 40.78%;在南方坛紫菜(盛期)提取多糖中占 69.33%。北移坛紫菜由初期经盛期至末期生物前体的含量逐渐减少,这同化学分析结果中 3,6-AG 含量逐渐增加是一致的。另外,南方坛紫菜(盛期)中生物前体的含量比北移坛紫菜(盛期)高。

在各期坛紫菜多糖的 ^{13}C -NMR 谱图上都显示出 G'5 和 G'6 两个信号,表明含有 6-

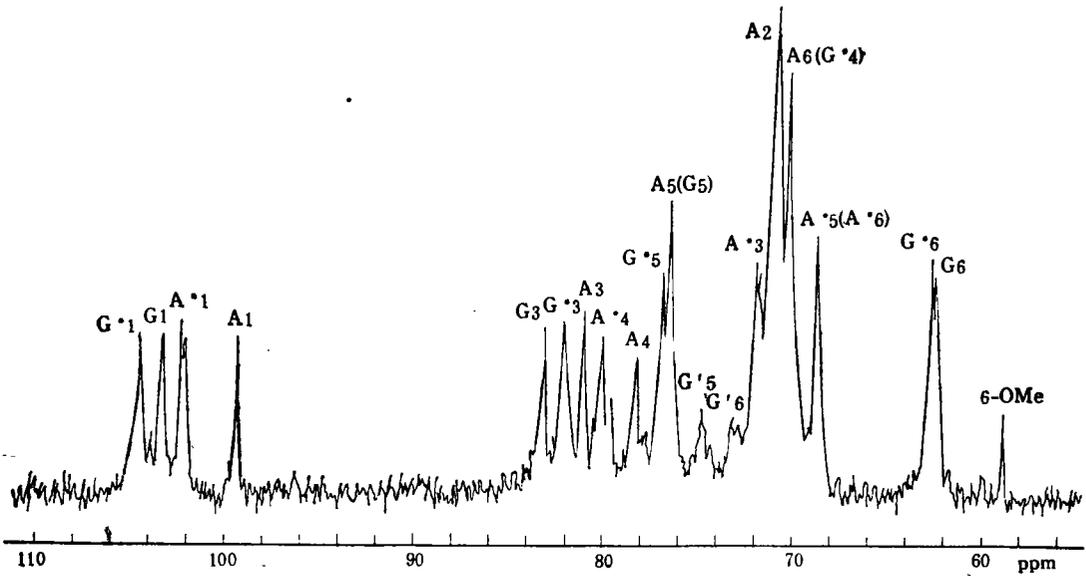


图 1 北移坛紫菜(盛期)提取多糖的 ^{13}C -NMR 谱图

Fig. 1 ^{13}C -NMR spectrum of agar extracted from *Porphyra haitanensis* (fast-growing period) transplanted from south China to the north

OCH_3 -D-半乳糖。南方坛紫菜(盛期)提取多糖的 ^{13}C -NMR 谱图上有明显的甲基碳信号(59.0ppm); 北移坛紫菜(盛期和末期)提取多糖的 ^{13}C -NMR 谱图上也给出了甲基碳信号,但强度较弱,在其初期提取多糖的 ^{13}C -NMR 谱图上没有检出该信号。这表明,甲基化琼胶糖在南方坛紫菜中的含量比北移坛紫菜高。在北移坛紫菜中,随着生长期限的延长,甲基化琼胶糖的含量有所增加,这说明坛紫菜在幼体期与成熟和老化期所合成的琼胶多糖在精细结构上存在差异。

琼胶的物理性质与其结构中硫酸基和甲基等含量有关(Guiseley,1970)。随着生长发育,坛紫菜内硫酸基的含量出现先增加后减少的趋势,而甲基化琼胶糖的含量不断增加。合成琼胶的琼胶原料在从孢子萌发至生长发育到成体的过程中,这些单糖及各种取代基在细胞壁中是如何导入、转移和积累的以及它的功能如何等问题,是生理生物化学家所关注的问题。可以推测,在生物体内这些组分的合成,必然与许多酶系统特别是与硫酸基以及与糖代谢有关的酶等有密切关系。Cote 等(1986)研究了琼胶组分随藻体生长的变化过程,即在幼藻体内先形成半乳聚糖,然后经硫酸化酶在 L-半乳糖单位的 C_6 上部分进行硫酸基取代,同时在 D-半乳糖单位的 C_6 上经甲氧基转换酶部分取代进 OCH_3 。随着藻体组织老化,则生成高度改性的琼胶糖。Grets 等(1983)用化学法和 ^{13}C -NMR 波谱法分析了白点紫菜(*Porphyra leucosticta*)和红毛菜(*Bangia atropurpurea*)在萌发后的丝状体阶段所含硫酸基半乳糖胶的化学组成,发现 D-半乳糖与 6-硫酸基-L-半乳糖的摩尔比大致为 1:1。这就证明,在丝状体内多糖几乎全由琼胶糖的生物前体组成,而且在 ^{13}C -NMR 谱图中没有检出 59.0ppm 信号,表明没有 6- OCH_3 -D-半乳糖,这再次证明紫菜幼体主要先合成含硫酸基的半乳聚糖,随着藻体生长发育,在 L-半乳糖上 3, 6-内醚化,

并在 *D*-半乳糖的 C₆ 上甲基化,直到成熟期,除了仍含有部分琼胶糖的生物前体外,藻体合成了相当数量的 3,6-内醚-*L*-半乳糖,并且合成了较多的 6-OCH₃-*D*-半乳糖 (Lahaye et al., 1986)。

综上所述,我们推断了坛紫菜琼胶糖的生物合成的途径,见图 2。

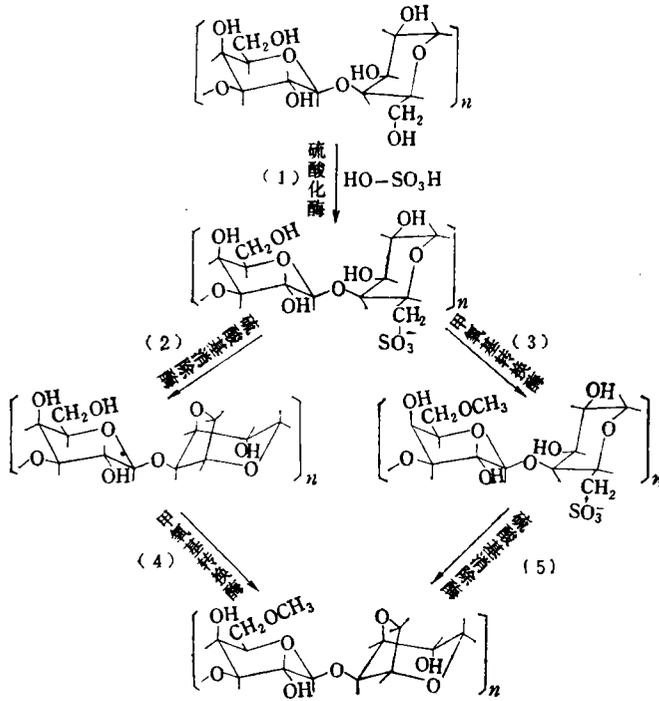


图 2 琼胶糖分子的生物合成途径

Fig. 2. The biosynthesis of agarose from *Porphyra haitanensis*

南方坛紫菜多糖中 6-OCH₃-*D*-半乳糖和硫酸基的含量都高于北移坛紫菜。按照对琼胶糖生物合成途径的推断,可以设想南方坛紫菜中甲氧基转换酶的活性较高,使反应(3)和(4)进行较多;而北移坛紫菜中硫酸基消除酶的活性较高,反应(2)和(5)进行的较多。由于南北方藻体生长条件的最大差异是水温不同,是否可以推测,在南方水温的升高激活了甲氧基转换酶的活性,或使硫酸基消除酶的活性受到抑制。

参 考 文 献

- 纪明侯等, 1986, 对三种红藻琼胶的化学与 ¹³C-NMR 分析, 海洋与湖沼, 17(3): 185—195。
 高洪峰等, 1992, 南、北方坛紫菜多糖结构特征的比较研究, 海洋与湖沼, 23(5): 541—549。
 Cote, G.L. et al., 1986, Production and properties of native agars from *Gracilaria tikvahiae* and other red algae, *Bot. Mar.*, 29(4): 359—366。
 Craigie, J.S. et al., 1984, Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae), *Can. J. Bot.*, 62:1 665—1 670。
 Grets, M.R. et al., 1983, The galactan sulphates of the conchocelis phases of *Porphyra leucosticta* and *Bangia atropurpurea* (Rhodophyta), *J. Exp. Bot.*, 34(143): 705—711。
 Guiseley, K.B., 1970, The relationship between methoxyl content and gelling temperature of agar,

Carbohydr. Res., **13**: 247—256.

Lahaye, M. et al., 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.

Rees, D.A., 1961, Estimation of the relative amount of isomeric sulfate esters in some sulfated polysaccharides, *J. Chem. Soc.*, **1961**: 5168—5171.

VARIATION IN COMPONENTS OF AGAR POLYSACCHARIDES FROM *PORPHYRA HAITANENSIS* COLLECTED IN DIFFERENT GROWING PERIODS*

Gao Hongfeng, Ji Minghou, Cao Wenda

(*Institute of Oceanology Academia Sinica, Qingdao 266071*)

ABSTRACT

The variation in components of agar polysaccharides from *Porphyra haitanensis* grown in south China (Zhejiang Province) and transplanted to the north was investigated by chemical analysis and ¹³C-NMR spectroscopy from 1990 to 1991. The content of 3,6-anhydro-L-galactopyranose and 6-methoxyl-D-galactopyranose increased with the growth ages, while the content of sulfate increased at first and then decreased. The content of 3,6-anhydro-L-galactopyranose in the agar polysaccharides from *P. haitanensis* in the north was higher than that from the south, and the contents of sulfate and 6-methoxyl-D-galactopyranose were lower than those from the south.

Key words Sulfate *Porphyra haitanensis* 3,6-anhydro-L-galactopyranose 6-methoxy 1-D-galactopyranose

*Contribution No. 2104 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.

Contribution No. 64 from the Experimental Marine Biology Laboratory, Institute of Oceanology, Academia Sinica.