

海带褐藻糖胶的研究*

纪明侯 徐祖洪 郭玉彩

(中国科学院海洋研究所)

提 要

本工作研究了我国人工养殖的海带叶片中褐藻糖的分布,及海带综合利用工业的废料碱凝沉物中褐藻糖胶的存在量和分离条件。

海带叶片中的褐藻糖含量分布边缘比中部多,并从基部向尖部增加,即由0.3%增至1%以上。

试验了用十六烷基氯化吡啶法(CPC法)和乙醇沉淀法从碱凝沉物中分离褐藻糖胶的条件。两种方法的褐藻糖胶获得率分别为5.6%和4.4%(对于碱凝沉物),其中的褐藻糖含量分别与21.7%和28.7%。碱凝沉物中的褐藻糖含量为1.1~3.5%。

还研究了从褐藻糖胶以酸水解制取褐藻糖的条件,并分离出纸层析纯的褐藻糖结晶。

褐藻糖胶(Fucoidan)系1913年Kylin^[1]首次从褐藻掌状海带(*Laminaria digitata*)中发现的一种多糖。已证明褐藻糖胶存在于褐藻的细胞间,特别在细胞壁外层占优势^[20];分泌到新鲜褐藻叶片上的粘液主要是褐藻糖胶。

近年来对各种褐藻所含褐藻糖胶的化学组成与结构进行的许多研究结果表明,该胶主要是以 $C_{1,2}$,少数是以 $C_{1,3}$ 和 $C_{1,4}$ 键合的含硫酸基的 α -L-褐藻糖多聚物^[9],并且还含有不同比例的半乳糖、木糖、葡萄糖醛酸和少量蛋白质^[12]。

最近人们研究了褐藻糖胶的性质以及金属离子铅等的结合能力,提出有去污剂的效果^[15];并还确认该胶具有清脂血剂^[4]和抗凝血剂^[4,18]的效果。

我国过去在这方面未进行研究。随着海带综合利用工业的蓬勃发展,对于海带所含褐藻胶以外的多糖及其他化学成分的含量和分离条件的研究,日感需要。

据此,我们对我国人工养殖的一年生的海带中褐藻糖含量、海带浸泡水的加碱生成的凝沉物(简称碱凝沉物)中的褐藻糖胶含量和分离条件,以及从所得褐藻糖胶分离褐藻糖的条件进行了研究。

实验材料与分析方法

(1) 实验用海带 1974年6月3日采集的青岛团岛湾人工养殖的海带。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第461号。承张燕霞、曹文羽、潘乃群等同志协助收集碱凝沉物样品,光谱组协助光谱分析,均此致谢。

(2) 碱凝沉物 定时从青岛某海带综合利用工厂收集。即海带浸泡水中加 NaOH 至 pH10 时,生成絮状凝沉物,沉于凝沉池的底部,放出后用尼龙袋过滤。湿碱凝沉物含干物质约为 11%。

(3) 褐藻糖的测定 按 Cameron 等的方法^[9],将褐藻糖胶加酸水解成褐藻糖(甲基戊糖),加入 HIO_4 使其氧化成乙醛气体,通入 $NaHSO_3$ 溶液,生成醛-亚磺酸化合物,然后加入 $NaHCO_3$ 分解出 $NaNSO_3$,以 I_2 液滴定,计算出褐藻糖的含量。

(4) 纸层析 上行层析。层析液为吡啶:乙酸乙酯:醋酸:水 = 5:5:1:3(V/V);饱和液为吡啶:乙酸:水 = 11:40:6(V/V)^[10]。用苯胺和邻苯二甲酸的水饱和正丁酸溶液喷雾,烘干,显色^[14]。

(5) 硫酸根 褐藻糖胶以 1N HCl 沸水浴中水解 4 小时,加入适量 5% $BaCl_2$ 溶液,生成的 $BaSO_4$ 沉淀用 4 号烧结漏斗抽滤,烘干,以重量法计算 SO_4 量,为水解 SO_4 ;褐藻糖胶于 600°C 灰化一小时,同样以重量法计算 SO_4 量,为灰分 SO_4 。

(6) 粘度 用 Hoeppler 粘度计于 20°C 时测定。

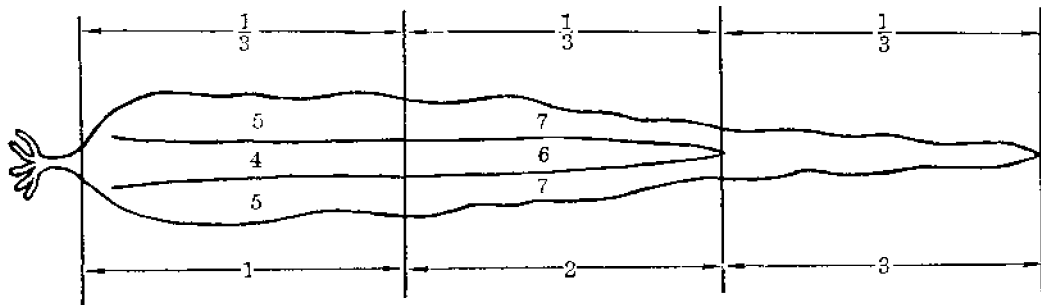
实验结果与讨论

1. 海带中褐藻糖的含量分布

将海带叶片如图所示三等分为基部、中部和尖部;基部和中部又分为基中、基边部;中部又分为中中部和中边部。测定各部分的褐藻糖含量,每部分取二至三个分析值的平均值。结果如表 1。

表 1 海带各部位中的褐藻糖含量

海带部位	全 部	基中部	基边部	中中部	中边部	尖 部
褐藻糖(%)	0.31	0.14	0.33	0.37	0.81	1.34



海带叶片的取样

1.基部 2.中部 3.尖部 4.基中部 5.基边部 6.中中部 7.中边部

从表 1 结果看,海带叶片的褐藻糖胶含量自基部向尖部逐渐增高,从 0.14% 增至 1.34%;并且边缘比中间部位的含量多。这同海带叶片不同部位中含氮量的分布趋势^[1]基本相似。据 Black 的报导^[7],英国产褐藻,其褐藻糖的含量,以墨角藻目的较多,海带目

中的较少。如潮间带的沟鹿角菜(*Pelevetia canaliculata*)中的含量,在7—12月份可达13%;而靠近水线的齿缘鹿角菜(*P. serratus*)中含量为7%左右。深水生长的克劳氏海带(*Laminaria cloustonii*)中含量仅为3—4%左右。Steward等^[10]对澳洲产鹅掌菜(*Ecklonia radiata*)中褐藻糖含量的测定结果为0.4—1.4%,季节变异不明显。我国产的海带在生长成熟期,褐藻糖含量仅在1%或以下,近似于澳洲产鹅掌菜,比英国产多年生的褐藻种类的含量要低得多,比我国产马尾藻的褐藻糖含量也较低,如1978年采自广东省碓洲岛的半叶马尾藻(*Sargassum hemiphyllum*)和亨氏马尾藻(*S. henslovianum*)中的含量分别为1.55%和1.76%(1)。这可能是因为多年生的褐藻中比一年生的海带中的褐藻糖含量为高,也可能还反映在褐藻糖胶的化学组成中的某种差异上,有待进行深入的研究。

2. 碱凝沉物中的褐藻糖含量

目前我国的海带综合利用工业中,海带用水浸泡后的水提取液中除含有甘露醇、氯化钾和碘外,尚含有各种有机物。加NaOH至pH10,可产生大量碱凝沉物。经沉降澄清后,上澄液用于制取副产品甘露醇、氯化钾和碘,而碱凝沉物作为废料弃掉。

这些碱凝沉物经灰分与光谱半定量测定,得知大部分为无机物(见表2)。灰分占70%左右。灰分中的无机元素以Na、Mg、Fe、Ca为主。当水提取液加NaOH时生成大量两价金属离子的氢氧化钠,夹杂有大量Na⁺离子,同时也吸附着包括褐藻糖胶在内的各种有机物沉淀下来。

表2 碱凝沉物的无机分析

碱凝沉物 取样日期	灰分% (对干基)	对 灰 分 的 % (光谱半定量)							
		Na	Mg	Ca	Fe	Al	Cu	As	Pb
76.3.9	83.37	>1	0.1—0.3	0.001—0.01	0.03—0.1	痕量	无	无	无
76.3.22	70.13	>1	1—3	0.1—0.3	0.3—1	痕量	痕量	无	0.003
76.3.24	72.03	>1	0.3	0.03	0.3—1	痕量	痕量	无	0.03
76.3.31	70.16	>1	0.03—0.1	0.1—0.3	0.3—1	痕量	无	无	无

对不同时期从工厂收集的海带水浸泡液的碱凝沉物中的褐藻糖进行了测定,结果如表3。

表3 不同时期收集的碱凝沉物中褐藻糖含量

收 集 日 期	褐藻糖含量%(对干基计)	收 集 日 期	褐藻糖含量%(对干基计)
76.6.1	3.88	5.7	3.52
6.9	2.33	9.26	1.09
11.8	1.42	10.29	1.79
12.11	1.45	12.5	1.62
77.1.28	2.81	78.1.11	1.67
3.8	2.67	1.19	1.88
77.4.11	3.42		

(1) 作者未发表的资料。

从表3结果看,碱凝沉物中含有2—3%的褐藻糖。如按海带中褐藻糖含量0.31%计,则碱凝沉物中的褐藻糖含量对于海带仅为0.03—0.05%。为海带中含量的10%。估计碱凝沉物中的褐藻糖胶是以吸附状态或络合状态同碱不溶性无机物共沉淀下来,而大部分褐藻糖胶尚留在海带叶片中和加碱沉后的上澄液中。

3. 从碱凝沉物中分离粗褐藻糖胶

我们试验了从碱凝沉物中分离褐藻糖胶。褐藻糖胶的分离方法有氢氧化铝络合物沉淀法^[14]、氢氧化铝络合物沉淀法^[8]、乙醇沉淀法^[5]、十六烷氯化吡啶沉淀法^[4]等。我们试验了后两种沉淀法。

(1) 乙醇沉淀法 先试验用60%乙醇沉淀法从碱凝沉物分离褐藻糖胶。所用基本流程如图2所示。

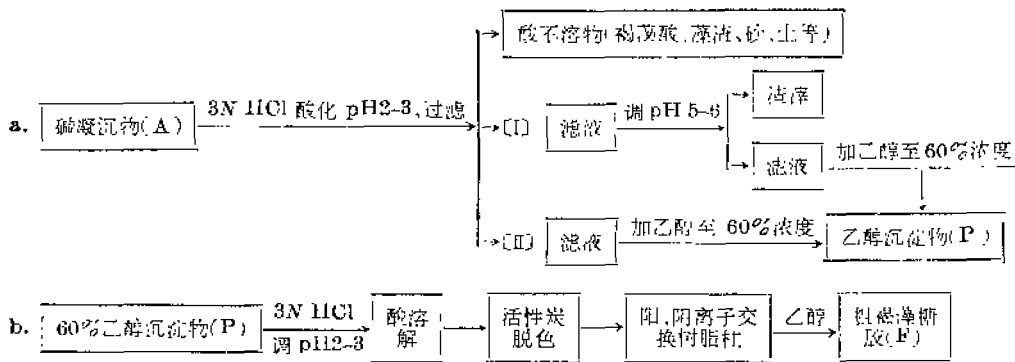


图2 60%乙醇沉淀法从碱凝沉物分离褐藻糖胶基本流程

a. 分离乙醇沉淀物 b. 分离粗褐藻糖胶

a. 乙醇沉淀物的制备: 取海带综合利用工厂的碱凝沉物(水分约89%), 加入其重量1/4的水和1/3的3N HCl, 搅拌, 调整至pH2~3, 使其溶解, 过夜, 次日用尼龙布过滤, 除去泥沙、褐藻酸等杂质。滤液再经沉降, 离心(2000转/分), 然后以双层滤纸抽滤。滤液中加乙醇至最后浓度达60%, 生成的沉淀以滤纸抽滤。加少量乙醇洗涤两次, 抽滤, 烘干, 即为乙醇沉淀物(P)(见图2, a[II])。同时还试验了在加乙醇之前先调节pH至5—6, 滤去生成的沉淀后再加乙醇至浓度60%, 则也得乙醇沉淀物(P)(见图2, a[I])。

b. 粗褐藻糖胶的分离: 将上述乙醇沉淀物(P)加10倍水和适量3N HCl, 使pH至2—3, 加热搅拌至50—60°C, 沉降, 倒去上清液, 再加两倍水, 搅拌煮沸, 倒去上清液, 如此重复煮沸提取3—4次。合并提取液, 离心除去不溶物, 再以滤纸抽滤。滤液加活性炭(相当于乙醇沉淀物的1—15倍)加热脱色, 抽滤。滤液通过732号阳离子交换树脂柱和717号阴离子交换树脂柱(流出液无Cl⁻和SO₄⁼反应, pH2—3), 流出液以1N NaOH溶液中和, 加热浓缩至小体积, 加入四倍体积的95%乙醇, 同时加入一定量电解质, 如NaCl或CaCl₂, 生成粗褐藻糖胶沉淀(P'), 然后以95%乙醇洗涤两次, 80°C烘干, 研细。

试验结果如表4、5所示。按图2, a[I]或[II]调节至pH5—6, 或pH2—3者, 所得乙醇沉淀物(P)的褐藻糖含量不同; 前者为6.2—8.1%; 后者为15—18%, 褐藻糖含量

高。如将 pH 调至 1 时,则生成的沉淀很少。

表 4 从碱凝沉物用乙醇沉淀法(图 2a[I]流程)分离粗褐藻糖胶的得率及褐藻糖含量

碱凝沉物收 集日期	碱凝沉物 (A)			乙醇沉淀物 (P)			粗褐藻糖胶 (F)		
	湿重 (克)	干物质含 量(%)	褐藻糖含量 (%,干基)	干重 (克)	得率(% 对 A 计)	褐藻糖含 量(%)	干重 (克)	得率(% 对 A 计)	褐藻糖含 量(%)
76.4.12	2,000	10.0		13.5	6.80		2.2	1.10	29.48
11.8	4,800	11.6	1.42	25.0	8.96	6.20	3.2	1.25	30.10
77.1.24	6,000	9.6					13.6	2.19	31.90
5.7	7,000	11.7	3.52	83.0	10.13		9.4	1.15	23.50

表 5 从碱凝沉物用乙醇沉淀法(图 2a[II]流程)分离粗褐藻糖胶的得率及褐藻糖含量

碱凝沉物收 集日期	碱凝沉物 (A)			乙醇沉淀物 (P)			粗褐藻糖胶 (F)		
	湿重 (克)	干物质含 量(%)	褐藻糖含量 (%,干基)	干重 (克)	得率(% 对 A 计)	褐藻糖含 量(%)	干重 (克)	得率(% 对 A 计)	褐藻糖含 量(%)
77.10.25	9,700	11.4	1.79	92	11.65	12.75	27.0	3.42	28.15
12.5	10,825	11.8	1.62	150	11.72	13.15	55.2	4.43	28.70
78.1.11	11,100	10.7	1.67	124	10.40	17.55	52.6	4.41	28.70
1.19	11,500	11.6	1.98	157	11.77	16.80			
1.26	14,300	11.0		205	13.03	15.11			

从乙醇沉淀物(P)按图 2b 流程分离粗褐藻糖胶(F), 对于碱凝沉物的得率, 调至 pH5—6 者为 1—2%; 调至 pH2—3 者为 4%。褐藻糖含量分别为约 30%和约 29%。F 对干海带计为 0.074%。

(2) 十六烷基氯化吡啶(CPC)沉淀法 CPC 沉淀法,基本流程如图 3 所示。

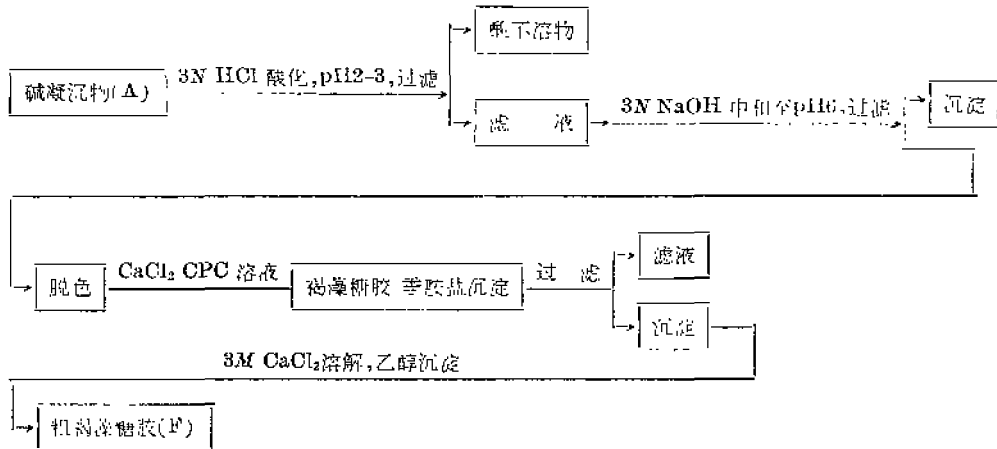


图 3 CPC 沉淀法分离粗褐藻糖胶

取碱凝沉物,加入其重量 1/4 的水和 1/3 的 3 N HCl, 搅拌使溶解, pH 为 2—3。用尼龙布过滤两次,除去褐藻胶等酸不溶物渣滓。滤液加适量 3 N NaOH 溶液,中和至 pH6, 滤去沉淀。滤液加活性炭加热脱色,滤纸过滤。滤液加凝沉物重量约 1/10(V/W)的 5%

CaCl₂ 和 1/3 的 2.5% CPC 溶液,生成褐藻糖胶——季胺盐沉淀,过滤。沉淀中加入适量 3 M CaCl₂ 溶液^[2],加温搅拌,呈乳白状。加入乙醇生成沉淀,丙酮洗,真空抽干。所得结果如表 6 所示。

表 6 从碱凝沉物用 CPC 沉淀法分离粗褐藻糖胶的得率及褐藻糖含量

碱凝沉物 收集日期	碱凝沉物 (A)			粗褐藻糖胶 (F)		
	湿重(克)	干物质含量 (%)	褐藻糖含量 (%,干基)	干重(克)	得率(% 对干重计)	褐藻糖含量 (%)
76.6.29	1,000	12.0	2.33	6.68	5.57	24.70

用 CPC 沉淀法制取的褐藻糖胶获得率对碱凝沉物为 5.57% (其中褐藻糖含量为 24.7%);对干海带为 0.094%。CPC 沉淀法的得率比用乙醇沉淀法者为高。

4. 褐藻糖胶的性质

(1) 粘度(1%溶胶, 20°C) 8.5 厘泊(乙醇沉淀法), 9.7 厘泊(CPC 沉淀法)。乙醇脱水出来的褐藻糖胶呈白色橡皮状,用玻棒能挑起 1 米高。

(2) 沉淀反应 1%溶胶中加酸、碱、CaCl₂、CuCl₂、PbCl₂ 稀溶液,不生成沉淀;加入 FeCl₃ 和 AlCl₃ 稀溶液,则分别生成黄色和白色沉淀。

(3) 化学分析 CPC 沉淀法——褐藻糖 24.7%,水解 SO₄ 45.5%,灰分 39.2%,灰分 SO₄ 21.0%。乙醇沉淀法——褐藻糖 31.9%,水解 SO₄ 41.4%。

水解 SO₄ 包括所有结合形式的 SO₄ 基,而灰分中 SO₄ 只测出与金属离子相结合的 SO₄,如 R·SO₄·Ca_{0.5} (R 为褐藻糖);而以 R-SO₄H 态存在的 SO₄ 在灰化时逸失,故低于水解 SO₄。

5. 褐藻糖的分离与提纯

(1) 褐藻糖的分离 我们基本上参考了 Black^[6] 的方法,将乙醇沉淀法制得的粗褐藻糖胶(F)加酸水解,经过精制、结晶,得到褐藻糖结晶。

取 10 克粗褐藻糖胶(褐藻糖含量 25—28%)加 800 毫升 0.5N H₂SO₄,溶解,于甘油浴中轻沸回流 4 小时(水解液温度约 105°C),滤纸过滤。滤液通过 732 号阳离子交换树脂柱(4×45 厘米),流出液在搅拌条件下慢慢加入约 400 毫升 704 号阴离子交换树脂中和。中和后用尼龙布滤出树脂,再以滤纸过滤。滤液加热浓缩至约 20 毫升,加入 300 毫升 95% 乙醇,滤去沉淀。滤液于水浴上浓缩至糖浆状,加入 100 毫升无水乙醇溶解,如有沉淀,滤去,浓缩至糖浆,加 100 毫升蒸馏水溶解,并加入 4 克活性炭煮沸半小时,过滤,加热浓缩至小体积,转移到具磨口塞的称瓶中,水浴上浓缩至糖浆。加入 10 毫升无水乙醇使糖浆溶解,加入 4 毫升丙酮,如生成白色絮状物,用玻棒挑出。然后加入数粒褐藻糖结晶接种,放入冰箱(约 5°C)二、三天后析出结晶,过滤,无水乙醇洗两次,真空干燥,即得褐藻糖结晶。滤液经放冰箱数天后还有少量结晶析出,三次共得 1.16—1.84 克(见表 7)。褐藻糖得率对粗褐藻糖胶(F)为 12—18%。褐藻糖纯度为 53—72%。纸析检查主要为褐藻糖甙

点(Rf 0.62),尚有少量半乳糖(Rf 0.48)。

表7 自粗褐藻糖胶(F)分离褐藻糖

褐藻糖胶(F)编号	水解用量(克)	褐藻糖结晶(克)
9f	5	0.58
14f	10	1.31
12,14f	10	1.73
15fA	10	1.67
15fB	10	1.36
15fC	10	1.62
15fD	10	1.58
15fE	10	1.84

(2) 树脂对褐藻糖的吸附问题 褐藻糖胶经酸水解后,经过732号阳交换树脂柱(4×45厘米),继而通过717号(强碱)或704号(弱碱)阳离子交换树脂柱(4×48厘米)后,流出液经浓缩、乙醇结晶时,得率很低,或几乎不析出,推想是因为褐藻糖在树脂柱中被吸附。

我们用鼠李糖(鼠李糖与褐藻糖同为甲基戊糖,为节省纯褐藻糖,以此糖代用)加入一定量酸和NaCl(与样品水解后的条件近似),通过阳树脂柱,以观察树脂对褐藻糖是否有吸附现象。将树脂流出液和洗涤液合并,蒸发,稀释至一定体积,取样测定鼠李糖(与测定褐藻糖的方法相同),算出回收率。结果如表8。

表8 离子交换树脂对鼠李糖的吸附

编号	所用离子交换树脂与处理法	鼠李糖回收率%
1	鼠李糖标准液	61.6 (100)
2	通过732号强酸阳离子交换树脂柱	56.0 (90.8)
3	通过717号强碱阴离子交换树脂柱	2.8 (4.7)
4	通过704号弱碱阴离子交换树脂柱	14.9 (24.6)
5	加704号弱碱阴离子交换树脂,搅拌中和	90.3 (90.3)
6	加717号强碱阴离子交换树脂,搅拌中和	51.7 (84.0)
7	通过717号强碱阴离子交换树脂柱	2.8 (4.7)
	第1次以4%NaOH洗脱	25.3 (44.0)
	第2次以4%NaOH洗脱	1.5 (2.6)

从表8结果可看出,鼠李糖通过阳树脂柱基本上无吸附现象,而通过阴树脂则有明显的吸附(3和4号试验);717号强碱型最突出,仅回收4.7%(加以标准液的回收率61.6%作100%计);如果不用柱,而是在搅拌下加入恰好中和酸液的弱碱或强碱阴树脂量,则基本上不发生吸附,如表7的5号和6号试验,其中以弱碱树脂704号为最好,可回收90.3%。Black等^[6]也报导过,强碱树脂有吸附褐藻糖的特性,但他们认为弱碱树脂不吸附。我们的试验表明,不论强碱或弱碱树脂,凡用树脂柱,即使用比交换量过多的树脂,则都发生明显的吸附;弱碱者比强碱者稍好些(3号与4号)。这说明无机阴离子先同阴离子树脂交换,交换完毕,过剩的阴离子树脂则立即与糖结合。因此不能用于中和无机阴离

子的阴离子交换树脂量。

我们还试用 4% NaOH 溶液洗脱被 717 号强碱阴树脂吸附后的柱,虽洗脱两次,仅洗下 46% (见 7 号试验)。

(3) 褐藻糖的提纯 经上述方法制取的褐藻糖尚含有少量半乳糖,初步试验了进一步提纯的方法。

取定量褐藻糖,加 55 倍甲醇——丙酮(9:5)混合液于 5°C 左右溶解 5—8 小时,时而摇动,使褐藻糖较多地溶出,过滤。滤液蒸发至糖浆,加入无水乙醇溶解,接种,放冰箱数天后即得纯褐藻糖结晶,滤出,真空干燥。对粗褐藻糖的得率为 16% 左右,得率较低。熔点为 137—141°C。纸层析定性表明,只有褐藻糖一个斑点, Rf 0.61。

较多的褐藻糖尚残留在结晶母液中,可以合并作进一步结晶。

结 语

褐藻工业在我国已建立多年,对褐藻中的多糖除褐藻胶外基本上还没有进行系统研究。我们对我国一年生海带所含褐藻糖及海带综合利用工业中的碱凝沉物所含褐藻糖胶进行了定量分析和分离条件研究。

海带叶片中的褐藻糖胶含量分布是:边缘部分比中带部分多,并且从基部向尖部递增,即由 0.3% 增至 1% 以上(以褐藻糖计)。

对工厂的碱凝沉物中褐藻糖含量进行了多次分析,一般在 1.4—3.5% 之间。试验了用十六烷氯化吡啶(CPC)沉淀法和乙醇沉淀法从碱凝沉物中分离褐藻糖胶的条件。两种方法取得的褐藻糖胶的得率分别为 5.6% 和 4.4%, 两者的褐藻糖含量分别为 24.7% 和 28.7%。乙醇沉淀法简易可行,可考虑用于海带综合利用工业中,作为分离副产品褐藻糖胶方法。

还研究了从褐藻糖胶分离褐藻糖的各种条件。褐藻糖得率对粗藻糖胶汁为 13—18%。用甲醇——丙酮混合液溶解,进一步提纯,得到了纸层析纯的褐藻糖结晶,惟得率偏低,有待进一步研究提高的方法。

参 考 文 献

- [1] 纪明侯、蒲淑珍、曹文达、张敬芝, 1976。海带中各种形态氨基酸含量的季节变异。海洋科学集刊, 11:7—23。
- [2] 阿武喜美子, 1971。フコイジンの精制法。日本特许公報, 昭 46—2248。
- [3] 笠原文雄, 1975。フコイジンの製造法。日本特许公報, 昭 50—5199。
- [4] Anno, K., H. Terahata, Y. Hayashi, and N. Seno, 1936. Isolation and purification of fucoidin from brown seaweed *Pilvetia wrightii*. *Agr. Biol. Chem.*, 30(5): 495—499.
- [5] Black, W. A. P., E. T. Dewar, and F. N. Woodward, 1952. Manufacture of algal chemicals. IV. Laboratory-scale isolation of fucoidin from Brown marine algae. *J. Sci. Food Agr.*, 3: 122—129.
- [6] Black, W. A. P., W. J. Cornhill, E. T. Dewar, and F. N. Woodward, 1953. Manufacture of algal chemicals. VI. Laboratory-scale isolation of L-fucose from brown marine algae. *J. Sci. Food Agr.*, 2: 85—91.
- [7] Black, W. A. P., 1954. The seasonal variation in the combined L-fucose content of the common British *Laminariaceae* and *Fucaceae*. *J. Sci. Food Agr.*, 9: 445—448.
- [8] Cameron, M. C., A. G. Ross, and E. G. V. Percival, 1948. Methods for the routine estimation of

- mannitol, alginic acid, and combined fucose in seaweeds. *J. Soc. Chem. Ind.*, **67** (4): 161—164.
- [9] Conchie, J., and E. G. V. Percival, 1950. Fucoidin. Part II. The hydrolysis of a methylated fucoidin prepared from *Fucus vesiculosus*. *J. Chem. Soc.*, **1950**: 827—832.
- [10] Fischer, F. G., und H. Dörfel, 1955. Die papierchromatographische Trennung und Bestimmung der Uronsäuren. *Z. physiol. Chem.*, **301**: 224—234.
- [11] Kylin, H., 1913. Zur Biochemie der Meeresalgen. *Z. physiol. Chem.*, **83**: 171—197.
- [12] Larsen, B., A. Haug, and R. L. Painter, 1966. Sulphated polysaccharides in brown algae. Part I. Isolation and preliminary characterisation of three sulphated polysaccharides from *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. *Acta Chem. Scand.*, **20**: 219—230.
- [13] O'Neill, A. N., 1951. Degradative studies on fucoidin. *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**: 5074—5076.
- [14] Partridge, S. M., 1919. Aniline hydrogen phthalate as a spraying reagent for chromatography of sugars. *Nature*, **164**(4167): 443.
- [15] Paskins-Hulburt, A. J., Y. Tanaka, and S. C. Skoryna, 1976. Fucoidin: Isolation and metal binding properties. *Bot. Mar.*, **19**(5): 327—328.
- [16] Percival, E. G. V., and A. G. Ross, 1950. Fucoidin. I. The isolation and purification of fucoidin from brown seaweeds. *J. Chem. Soc.*, **1950**: 717—721.
- [17] Schweiger, R. G., 1962. Methanolysis of fucoidan. II. The presence of sugars other than L-fucose. *J. Org. Chem.*, **27**(12): 4267—4269.
- [18] Springer, G. F., H. A. Wurzel, G. M. McNeal, Jr., N. J. Ansell, and M. F. Doughty, 1957. Isolation of anticoagulant fractions from crude fucoidin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **94**: 401—409.
- [19] Steward, C. M., H. G. Higgins, and S. Austin, 1961. Seasonal variation of alginic acid, mannitol, laminarin and fucoidin in the brown alga, *Kecklonia radiata*. *Nature*, **192**(4806): 1208.
- [20] Vreeland, V., 1974. Alginates and sulphated fucans in brown algal walls. *Proc. 8th Intern. Seaweed Symp.*

A STUDY ON THE FUCOIDAN OF *LAMINARIA JAPONICA*

Ji Minhou, Xu Zuhong and Guo Yucui

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

Abstract

That paper deals with the studies on the distribution of fucose in the frond of cultivated *Laminaria japonica* on the methods for isolating fucoidan from the alkali-coagulants—the waste residue from the comprehensive utilization of *Laminaria*.

The content of fucose in *Laminaria* frond is higher in the marginal portion than in the middle portion, and longitudinally it increases from 0.3% in the basal part to more than 1% in the distal part. (Fig. 1 and Table 1)

Two methods of isolating fucoidan from the alkali-coagulants were tested, i. e., the cetyl pyrimidium chlorid (CPC) precipitation method and the alcohol arecipitation method. (Fig. 2. b) The yields of fucoidan obtained by the two methods are 5.6% and 4.4% (to the alkalicoagulants at dry state), and the fucose content are 24.7% and 28.7% respectively. (Table 4, 5, 6) The content of fucose in alkali-coagulants amounts

to 1.4—3.5%. (Table, 3)

On acid hydrolysis of the crude fucoidan and subsequent treatment including deionization, evaporation, etc. were applied, the fucose crystals settled out in absolute alcohol after several days with a trace amount of galactose detected by paper chromatograph and were further purified by dissolving with methanol-acetone mixture and thus recrystallization occurred with only a single spot of fucose shown on paper chromatograph.