

比較生化学的にみた褐藻イソブドウとシオミドロの炭水化物

富士川龍郎・中島克子

Carbohydrates of two brown algae *Sorocarpus micromorus* and *Ectocarpus* sp. in view of comparative biochemistry

Tatsuo FUJIKAWA and Katsuko NAKASHIMA

FUJIKAWA, T. and K. NAKASHIMA 1978. Carbohydrates of two brown algae *Sorocarpus micromorus* and *Ectocarpus* sp. in view of comparative biochemistry. Jap. J. Phycol. 26 : 27-30.

In order to investigate a chemical feature of Ectocarpales (brown algae), carbohydrates were extracted fractionally and analyzed which are contained in *Sorocarpus micromorus* and *Ectocarpus* sp.. Mannite, fucoidan, and algin were demonstrated from ethanol extracts, hot water extracts, and 1% Na₂CO₃ extracts of the each algae, respectively. Again, fucose, xylose, galactose, and glucose were detected from hydrolyzates of final residues of the each algae by gas chromatography.

These results suggested that the feature of carbohydrates of Ectocarpales is in principle the same as that of Heterogeneratae or Cycrosporaee of the brown algae.

Tatsuo Fujikawa and Katsuko Nakashima, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, 812 Japan.

生物は系統分類上のある門、綱、目あるいは科に特徴的な化合物を有していることがある。褐藻の炭水化物に関していえば、マンニット、ラミナラン、アルギン、フコイダン（あるいはL-フコース含有の硫酸多糖）が特徴的な化合物と考えられている（植田他1953）。しかし、褐藻のこのような特徴が、体制の進んでいない目、あるいは褐藻と系統的に近縁の生物にどこまで当てはめ得るかということは、興味ある問題であろう。

著者らはたまたまイソブドウ *Sorocarpus micromorus* (Bory) Silva を比較的大量に入手する機会を得たので、シオミドロ *Ectocarpus* sp. と併せて上記のような観点から両海藻の炭水化物の分析を試みた。

なお海藻は九州大学農学部奥田武男助教授に同定していただいたことを付記し、厚く感謝の意を表します。

実験および結果

材料：イソブドウは1970年3月27日、シオミドロは1977年3月19日、福岡県津屋崎町海岸で採取し、エタノールに浸漬し、実験まで保存した。

一般方法：ペーパークロマトグラフィーには東洋濾紙 No. 50, 展開剤にブタノール：ピリジン：水（6：4：3, v/v/v), 発色には a) アニリンハイドロゲンフタレートの2.4%水飽和ブタノール溶液, b) KIO₄-塩酸ペンチジン法 (CIFONELLI & SMITH 1954) の2種を用いた。

ガスクロマトグラフィーには柳本ガスクロマトグラフ GCG 550F を用いた。分析条件；カラム, 3 mm × 2.15 m ステンレススチールカラム；担体, クロモソルブ W-AW；液相（3%）, シリコン SE 52；カラム温度 140°C；キャリアー, 窒素ガス 13 cm³/min., 分析試料はトリメチルシリル化後分析に供した。この条件で得られるピーク面積比はほぼ糖のモル比に等しい。

フコース定量にはチオグリコール酸法 (GIBBONS

1955), ウロン酸定量にはカルバズール硫酸法(BITTER & MUIR 1962), エステル硫酸基定量にはコロイド滴定法(千手 1969)を適用した。

多糖の加水分解物調製法; 試料約 30 mg に 1N 硫酸 5 ml を加え, 100°C, 2 hr 加熱し, BaCO₃ で中和濾過後, Dowex 1 (CO₃²⁻) と Dowex 50 (H⁺) とで脱イオンし, 濃縮乾固して試料とした。

藻体の分画: 分画手順および得られた画分番号は

Fig. 1 にまとめた。シオミドロでは藻体の量が少なかったため, 沸騰水抽出液からのエタノール沈澱は得られず, またエタノール抽出液からも, イソブドウの場合のような結晶は得られなかった。この手順中エタノール抽出以外の画分は, 最終的にはエタノール, 次いでアセトンで洗滌後風乾し, 分析の試料として保存した。得られた画分の分析結果は Table 1-3 およびそれらの Note にまとめた。

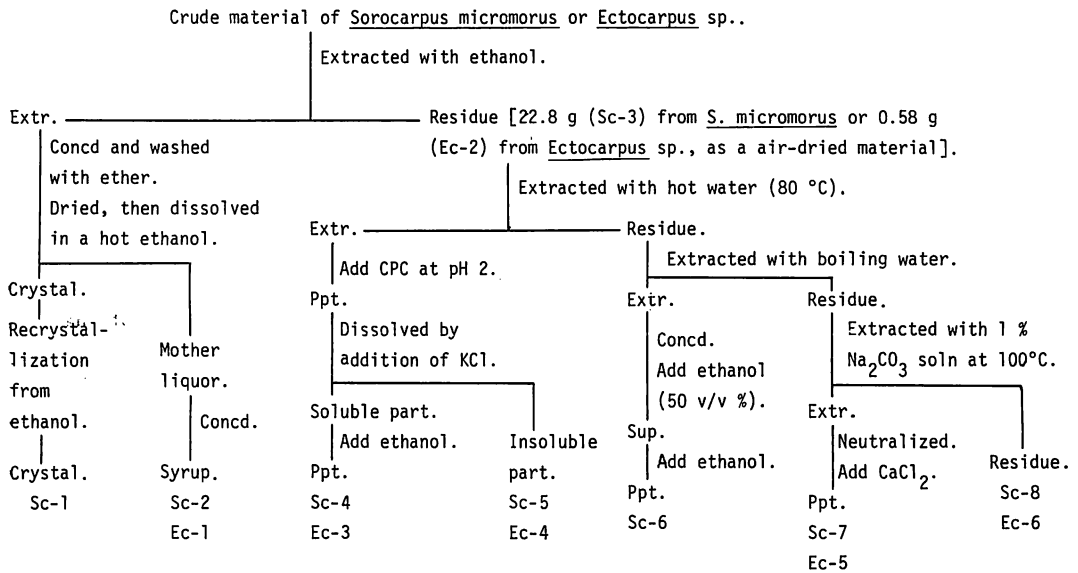


Fig. 1. Fractionation of algae. Abbreviations: CPC, cetylpyridinium chloride; concd, concentrated; extr, extract; soln, solution; Sc-, fraction from *S. micromorus*; Ec-, fraction from *Ectocarpus* sp..

Table 1. Carbohydrates in the ethanol extract. Sugars in the column of Note were detected by gas chromatography and numbers in parentheses are areal ratios of peaks. *R_f of authentic substances: Glc, 0.33; Mant, 0.34. **No lowering of mp on the mixed examination with authentic Mant. Abbreviations: See Table 2.

Fraction	Yield	Paper chromatography (R _f) [*]		Note
		Aniline hydrogen phthalate	Periodate-Benzidine	
Sc-1	87 mg	No colouring	0.35	Mant. White needle, mp 166-167°C.**
Sc-2	Trace	0.35	0.33	Mant (1), Man (0.11), Glc (0.07). Syrup.
Ec-1	Trace	-	-	Mant (1), Man (0.0003), Glc (0.007). Crystal was not obtained.

Table 2. Analysis of the fractions from *S. micromorus*. Note I: Aqueous solution of this fraction formed a gel by addition of acid or CaCl₂ solution and the gel was soluble in alkali. Naphthoresorcinol reaction: strong positive. *Percentage based on Sc-3. **As glucuronic acid. # Value estimated with not hydrolyzed material. Abbreviations: Fuc, fuçose; Xyl, xylose; Gal, galactose; Man, mannose; Glc, glucose; Mant, mannite; UA, uronic acid.

Fraction	Yield (%) [*]	Content (%)			Note
		Fuc	SO ₄	UA ^{**}	
Sc-4	4.6	30.7	20.6	7.40	Fuc (1), Xyl (0.08), Man (0.006), Gal (0.006).
Sc-5	5.7	7.50	9.85	4.98	Fuc (1), Xyl (0.08), Gal (trace).
Sc-6	1.5	13.3	14.2	5.90	Fuc (1), Xyl (0.03), Gal (0.23), Glc (0.23), Mant (0.005).
Sc-7	14.8	2.03	11.4	34.8 [#]	Fuc (only). Note I.
Sc-8	31.0	0.70	-	0.95	Fuc (1), Xyl (0.12), Gal (0.78), Glc (2.86), Mant (0.43).

Table 3. Analysis of the fractions from *Ectocarpus* sp. *Percentage based on Ec-2. **Value estimated with not hydrolyzed material.

Fraction	Yield (%) [*]	Content (%)		Note
		Fuc	UA	
Ec-2	100.0 (580 mg)	-	-	Fuc (1), Xyl (0.18), Man (0.07), Gal (0.36), Glc (0.56), Mant (0.003).
Ec-3	1.9	9.63	2.18	Metachromatism: positive.
Ec-4	1.7	4.85	1.70	-
Ec-5	33.3	0.20	4.72	A extract of Ec-5 with alkakine Na-oxalate solution formed a gel by addition of acid or CaCl ₂ solution. Ec-5-1: Gel with CaCl ₂ .
Ec-5-1	9.1 % of Ec-5	-	24.9 ^{**}	
Ec-6	16.3	-	-	Fuc (1), Xyl (trace), Gal (trace), Glc (2.29).

考察

マンニット; 画分 Sc-1 は **Table 1** よりマンニットと同定される。エタノール抽出物中にはこの他にグルコース, マンノース, アミノ酸 (未同定) も少量含まれていた (Sc-2)。イソブドウのマンニット含量は, Sc-1 に最初のエタノール抽出液を入れなかったので, **Table 1** の値よりかなり大きいものと考えられる。

シオミドロではマンニットの結晶は得られなかったが, これがエタノール抽出液中に存在することは Ec-1 のガスクロマトグラフィーによって明らかである。マンニットの他, マンノースとグルコースも少量含まれることもイソブドウの場合と同様である。

フコイダン; 画分 Sc-4 は組成から考えるとイソブドウのフコイダンである。しかしこの画分ではフコースに対するウロン酸のモル比が 1:0.20 であり, フコースに対してウロン酸もかなり含まれている。画分 Ec-3 は Sc-4 に相当し, かつ顕著なメタクロマジーを示したので, フコース含量が前者に比べて小さいがシオミドロのフコイダンである。しかしフコースとウロン酸のモル比は 1:0.19 で Sc-4 とほぼ同じである。したがってイソブドウ, シオミドロともにフコイダンを持っているが, フコースのみを構成糖とする典型的なフコイダン (PERCIVAL & McDOWELL 1967) からは多少異なってウロン酸を含むタイプのものとも考えられる。

また両藻の熱水抽出物より得られるセチルピリジニウム複合体には KCl を用いては溶かし得ない画分 Sc-5 と Ec-4 があり、それぞれ Sc-4, Ec-3 に対して無視し得ない量である。このことは両藻の熱水抽出物がアラメあるいはオオバモクのそれに近いことを示唆するようにも思われる (富士川・中島 1975)。

アルギン; 画分 Sc-7 と、Ec-5 をアルカリ性の蓚酸ナトリウムで抽出して得た Ec-5-1 は Ca^{2+} または酸で沈澱し、この沈澱はアルカリに溶けるというアルギン酸に特有な性質を示し、かつウロン酸含量が大きいので、これらがそれぞれイソブドウとシオミドロのアルギンである。

ラミナラン; ラミナランが含まれているとすれば、その大部分は沸騰水抽出画分までに現われるはずである。イソブドウでは Sc-6 にグルコースが存在しているので、ラミナランを生産していることが推定される。

シオミドロでは藻体が少なかったため、Sc-6 に相当する画分はエタノール沈澱としては得られなかった。しかし藻体自身はグルコースをもっている (Ec-2) ので、シオミドロもラミナランをもつことは考えられる。

藻体に含まれる中性糖; 画分 Sc-8, Ec-6 から共通してグルコースと、グルコースの 1/2~1/3 量のフコースが主な中性糖成分として検出された。この結果は、MORI ら (1977) の報告と類似している。それゆえ、イソブドウとシオミドロもアスコフィラン型の糖を持つと考えられるが、一方本実験の加水分解ははるかに穏やかであるので、Sc-8 と Ec-6 とのグルコースがセルロースでなくてフコグルカン鎖をもつ多糖から由来することも可能であろう。

Sc-6 の加水分解物中には **Table 2** に示した中性糖の他に未同定のピーク (保持時間 8.6, 5.4, 6.1, 16.5, 32.9 分の 5 個, α -L-フコースは 9.4 分) が認められた。

いずれもフコースのピークに比べて、1/10 以下である。これらを別にすると中性糖の種類には他の褐藻に比べて特に異なったものは見当たらない (MORI *et al.* 1977)。

以上の考察から、明らかな結果を得られなかったラミナランを別にすると、イソブドウとシオミドロの炭水化物の間には特に目立つような差異は認められず、また両者とも異形世代網あるいは円胞子網の褐藻の炭水化物と基本的には同様な特徴、すなわちマンニット、フコイダン、アルギンおよびフコースを含む多糖をもっていると考えられる。この特徴は恐らくシオミドロ目全体に当てはめてよいであろう。

引用文献

- BITTER, J. and H. M. MUIR 1962. A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Biochem.* 4: 330-334.
- CIFONELLI, J. A. and F. SMITH 1954. Detection of glycosides and other carbohydrate compounds on paper chromatograms. *Anal. Chem.* 26: 1132-1134.
- 富士川龍郎, 中島克子 1975. 褐藻におけるフコイダン様多糖の分布. *農化.* 49: 455-461.
- GIBBONS, M. N. 1955. The determination of methylpentoses. *Analyst* 80: 268-276.
- MORI, H., S. F. SASAKI, and K. NISIZAWA 1977. Analysis of sugar constituents of brown algal polysaccharides in view of comparative biochemistry. *Bull. Jap. Soc. Phycol.* 25 Suppl. (Mem. Iss. YAMADA): 169-187.
- PERCIVAL, E. and R. H. McDOWELL 1967. *Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides.* p. 176-178. Academic Press, London and New York.
- 千手諒一 1969. コロイド滴定法, p. 56-59. 南江堂, 東京.
- 植田三郎, 岩本康三, 三浦昭雄 1953. *水産植物学* p. 246-248. 恒星社厚生閣, 東京.