

海带中各种形态氨基酸含量的季节变异^{* **}

纪明侯 蒲淑珠 曹文达 张敬芝

(中国科学院海洋研究所)

海带在我国作为食品和药用已有悠久的历史。解放后开始有计划地进行了人工养殖,特别从 1958 年以来,海带产量逐年大幅度增长,现在我国从北方的辽宁省到南方的福建省都有养殖,年产已达相当数量。目前只一部分用作工业原料,而大部分用作食品。海带除含有大量碳水化合物、无机盐外,还含有较多的蛋白质和各种维生素等,为广大人民所喜用的、营养价值较高的副食品。

伟大导师恩格斯指出:“生命是蛋白体的存在方式,……”。海带同陆地植物以及其他藻类一样,蛋白质的代谢对其生长、发育具有决定性的意义。人们对淡水单胞藻已做了大量生物化学研究工作,对于其氮代谢的途径有了较多的了解^[19]。对各种海藻的含氮化合物的研究也做了若干工作^[12,22,25,27,29],但对海带属这样大型藻类的含氮化合物的研究做的还不多。国外过去多从阐明营养价值的角度,对海带属的一般含氮量和氨基酸进行过分析。例如 Mazur 等^[23]用化学分析法测定了海带属中的几种氨基酸含量;Ericson 等^[18]对糖海带(*Laminaria saccharina*)的水解物做过纸上层析定性;Coulson^[17]则对克氏海带(*L. cloustonii*)的水解物用纸上层析法进行了氨基酸定量;Ogino^[24]用纸上层析法粗略地估计了日本产海带的 70% 乙醇提取物中的氨基酸含量;高木^[9-11]用化学分析法分析了海带水解物中的个别氨基酸含量;Takagi 等^[27]用柱层析法测定了海带的 75% 乙醇提取物中的游离氨基酸含量。近来,大石等^[6-8]着重研究了日本产海带中的含氮量和 70% 乙醇可溶游离氨基酸的分布对海带质量的关系。

过去,我们初步测定过我国一年生海带的含氮量季节变化^[2]。随着我国海带养殖事业的蓬勃发展,有必要对我国海带的化学成份,特别是游离状态的和构成蛋白质的氨基酸的种类和含量变异进行深入研究,可能有助于生产部门在探讨海带生长和品质时作参考。为此,我们较系统地研究了我国培育的海带中所含各种形态氨基酸的季节变异。

一、实验材料

实验用材料有 1962 年和 1963 年的普通海带(以下简称“海带”)和“海青一号”(以下简称“海一”)两个品种。均系我所植物生态组提供的人工培育的幼苗,放在海中定点系绳垂养的。

“海一”系国内科学工作者经过多年选种、育种,培育出的一个海带新品种^[1]。它与“海

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 364 号。

** 本所植物生态组提供海带幼苗,并协助海上管理;水化学组同志们协助分析水样;曾呈奎教授对本文提出了宝贵意见,作者深表感谢。

带”相比较,具有生长较快、生长时期较长、叶片较长较重、柄部较长、较能耐高温的特征。

1962年的材料是春季在青岛栈桥附近海域中培养的,从4月开始每隔半个月采集一次,前后共采集过8次。至7月底海面温度上升至 26°C ,部分叶片烂掉时,停止采样。

1963年的材料是在青岛贵州路前海养殖的,从2月开始每隔半个月采集一次,采至11月,共采20次;“海一”采至12月,共采21次。8月初因海面温度上升,将两品种都移到青岛太平角,下沉到水面下3—5米处培养。

二、实验方法

1. 取样

每次采“海带”和“海一”各2—4棵,采上后滴去水份,将假根剪去,称取湿重。从叶片尖端到基部切为三等分:上部、中部和基部,立即晒干;若遇阴天,则晾干到一定程度后放烘箱内,在 60°C 以下烘干。干后再称重量,算出干物质百分比。再分别用研钵磨成粉末,过100目筛孔,取筛下的粉末备分析用。

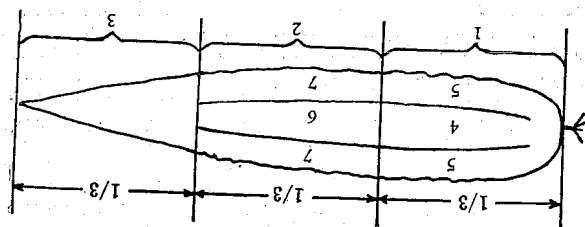


图1 海带叶片的取样

1.基部; 2.中部; 3.上部; 4.基中; 5.基边; 6.中中; 7.中边; 8+9.边缘; 4+6.中带部。

分析不同部位含氮量和氨基酸含量差异的样品(见图1),即是将中部和基部再纵切三部分,分为中边、中中、基边和基中;上部因叶片薄而窄,故未再分。

1962年材料中,4月份第一次样品因藻体小,未分部位,整个叶片混合分析,其后都分为不同部位。都分析了含氮量和各种形态氨基酸含量。

1963年材料中,2月份两次样品和3月份第一次样品因叶片小,未分部位,混合分析总氮量;其后都剪取基中部,只分析了总氮量;还分析了8月份叶片的不同部位的总氮量,均未做氨基酸分析。

每次采样时(都是上午),同时测量海水温度,并采水样由本研究所水化组协助分析其中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的含量。

2. 试液的制备

(1) 游离氨基酸: 称取2克磨细的干海带样品,放入具磨口塞的锥形瓶中,加入200毫升75%乙醇溶液,以电磁搅拌器间歇搅动提取24小时,用G4烧结玻璃漏斗过滤,滤液于水浴上蒸发至25毫升以下,加蒸馏水冲稀至25毫升。

(2) 结合氨基酸: 将提取游离氨基酸后的残渣置烘箱内,在 105°C 条件下烘干。称取0.6克装入 $\phi 1$ 厘米的玻璃试管内,加入3毫升6N HCl,稍热以驱除气体,封闭管口,放入 105°C 烘箱内连续加热水解48小时。放冷后取出,打开管口,将水解物转移至蒸发皿中,蒸干,加入约5—6毫升水,再蒸干,重复三次以除去酸气,加入少许水混合均匀,过滤,冲稀至25毫升。

(3) 总氨基酸: 称取0.2克海藻样品,装入 $\phi 1$ 厘米的玻璃试管内,加入0.6毫升

6NHCl, 以下与(2)同样封管, 水解, 蒸发, 冲稀至 25 毫升。

3. 氨基酸的纸上层析法

①层析步骤:

先于 23×19 厘米杭州新华造纸厂产滤纸上点样, 点样用量为 0.02—0.05 毫升。然后, 以上行法做双向层析。层析溶剂系统^[4]: 第一向沿 19 厘米方向, 溶剂为正丁醇: 甲酸: 水 (15:3:2); 第二向沿 23 厘米方向, 溶剂为正丁醇: 12% 氨水 (13:3)。

先于第一向层析缸中放一培养皿, 中间置一盛 15 毫升第一向溶剂的小烧杯, 将层析滤纸卷成圆筒用尼龙线系好, 竖于培养皿中, 层析缸加盖使饱和 2 小时。然后打开缸顶的橡皮塞, 通过插入的长颈分液漏斗注入 40 毫升第一向溶剂至培养皿中, 迅速加塞。将缸放至 30℃ 恒温箱内进行层析, 至溶剂上升至离纸顶端 0.5 厘米时取出, 晾干。再同样重复层析一次。

然后于第二向层析缸内先放一只盛 15 毫升 12% 氨水的小烧杯和一只盛 15 毫升第二向溶剂的小烧杯。然后将滤纸圆筒放入, 注入第二向层析溶剂, 与第一向层析同样, 层析两次, 晾干, 备做定性和定量。

②氨基酸的定性^[5]:

将层析完毕并经晾干后的滤纸放入盛有显色剂 (1 克吲哚醌溶于 100 毫升乙醇和 10 毫升冰醋酸) 的玻璃舟中浸渍一下, 取出, 晾干至醋酸味不太刺鼻时, 放到 95℃ 烘箱内烘 10—15 分钟, 取出, 浸于底色褪色剂 [100 毫升 20% Na₂CO₃ 溶液中加入 60 克硅酸钠 (Na₂SiO₃·9H₂O), 在水浴上加热搅拌至全溶解] 中待黄色背景褪尽, 此时注意观察各斑点的位置和所显示的颜色, 与标准氨基酸图谱对照, 以确定氨基酸的种类。

③氨基酸定量^[3]:

将层析完毕并经晾干后的滤纸在定量显色前再放入 45℃ 恒温箱内处理 15 分钟, 取出, 于盛有 0.5% 茚三酮的丙酮 (95%) 溶液的玻璃舟中湿润一下, 取出, 待大部分丙酮挥发后, 放入 65℃ 烘箱内烘半小时, 促进显色。取出, 将呈紫红色的各氨基酸斑点剪下, 同时从同一纸空白处剪下同样面积圆纸作为比色的空白。

然后将各斑点剪成小块, 分别放于试管中, 各加入 4 毫升硫酸铜酒精溶液 [0.1% CuSO₄·5H₂O: 75% 乙醇 (2:38)], 摇动, 洗脱液呈粉红色。70 分钟后用 72 型分光光度计于 510 毫微米波长测定光密度, 由标准曲线查出各氨基酸的相应含量。方法的准确度为 ±5%。

④脯氨酸定量:

因用双向层析时脯氨酸与酪氨酸易重叠, 分不开来, 我们试用下述单向层析法, 效果良好。

取 23×28.5 厘米新华滤纸, 沿 23 厘米方向在 2 厘米处划一直线, 每隔 3.5 厘米处点一样品, 可点 6 个样品。沿 28.5 厘米方向先以正丁醇: 甲酸: 水 (15:3:2) 的混合溶剂上行单向层析, 当溶剂前沿到达 17 厘米处时, 取出, 晾干。将滤纸从底部剪去 6.5 厘米, 然后仍按同方向以正丁醇: 12% 氨水 (13:3) 的混合溶剂层析, 至顶端时取出, 晾干。

因为脯氨酸用茚三酮法不显色, 我们改用 Hrabětová 和 Tupý 提出的方法^[20]显色。即将晾干的滤纸于盛有吲哚醌试剂 (1 克吲哚醌, 1.5 克醋酸锌, 1 毫升醋酸, 95 毫升异丙醇, 加 5 毫升水混合) 的玻璃舟中湿润显色, 取出, 挂于 80—85℃ 烘箱内烘 30 分钟, 脯氨酸显蓝色, 以约 30℃ 的温水洗去多余的试剂, 纸背景呈白色。剪下脯氨酸斑点, 放入试管中, 加入 3 毫升以水饱和的苯酚, 置黑暗中洗脱, 间歇摇动。15 分钟后用 72 型分光光度计于 610 毫微米波长测定光密度, 由标准曲线查出脯氨酸含量。方法的准确度为 ±2.5%。

4. 总氮量

用半微量 Kjeldahl 定氮法测定。

三、实验结果与讨论

1. 含氮量季节变化

对 1962 年和 1963 年分别在青岛栈桥与贵州路前沿海养殖的“海带”和“海一”的基中部测得的含氮量季节变化的结果如表 3 和图 2、3 所示。图 4、5 分别表示 1962 年在栈桥前海面上以及 1963 年在贵州路前沿海的水化学因子季节变化。

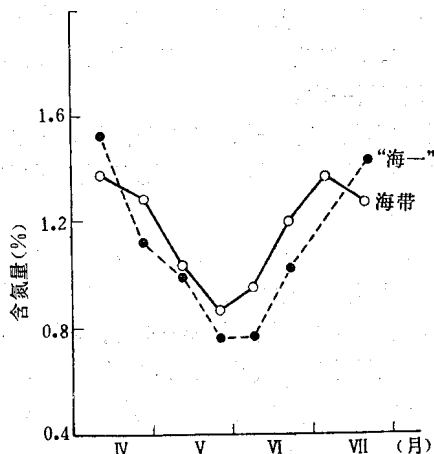


图 2 1962 年青岛栈桥前沿海养殖的海带和“海一”的含氮量季节变化

1963 年的两品种是在贵州路前沿海养殖的, 该处因是海带养殖区, 经常进行人工施肥, 为营养盐类较丰富的“肥区”。图 5 所示该海区的含氮盐类的分析数值表明, $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量一般地特别是春季较高(与图 4 相比)。春季 2、3 月 $\text{NO}_3\text{-N}$ 维持高值 20 毫克/立方米, 至 5 月中旬渐趋于零; $\text{NH}_4\text{-N}$ 在 100 毫克/立方米上下(因靠海岸, 变化幅度较大); $\text{NO}_2\text{-N}$ 近 4 毫克/立方米。海带叶片含氮量也比较高, 从图 3 看, 在 2、3 月生长快速期, 含氮量高达 2.8—3.0%。此时叶片大量吸收海水中的氮以合成细胞原生质的主要组分蛋白质等含氮化合物, 加之此时藻体叶片很薄, 含氮量相对地大增。至 5 月底以后含氮量降至 1.3% 左右时, 海水中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 为零, $\text{NH}_4\text{-N}$ 仍在 100 毫克/立方米左右, 藻体迅速地积累褐藻胶、甘露醇、纤维素等碳水化合物^[2], 从图 7 的结果可看到, 随着水温上升, 藻体中干物质含量(主要是碳水化合物)迅速增高, 因而含氮量相对地下降。7 月以后, 干物质含量基本稳定, 含氮量在 1.2% 左右, 呈锯齿

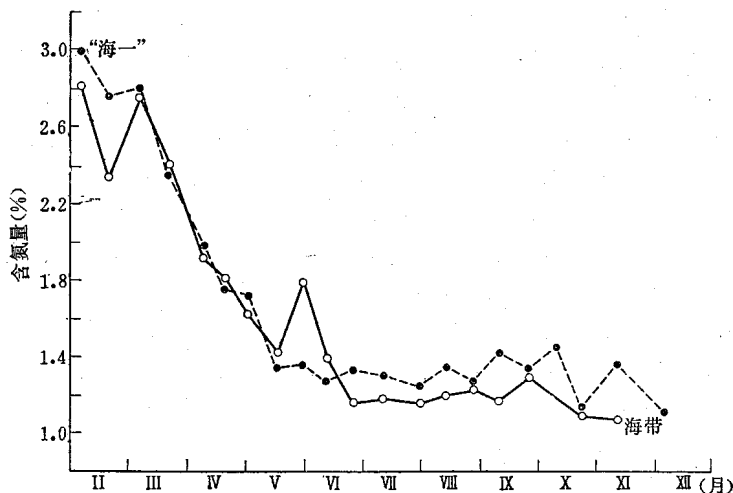


图 3 1963 年青岛贵州路前沿海养殖的海带和“海一”的含氮量季节变化

状上下变动。8月以后至10、11月，两品种的干物质含量都有逐渐减低的趋势。这些变化状况与以前对青岛产海带的分析结果^[2]基本上相似。从8月海面水温上升至20℃以上时，藻体很快就会烂掉。因此，我们将两品种移到青岛外海区的太平角海区，下沉到靠海底温度较低处培养，继续观察含氮量变化。因藻体衰老，有的尖部腐烂丢失。

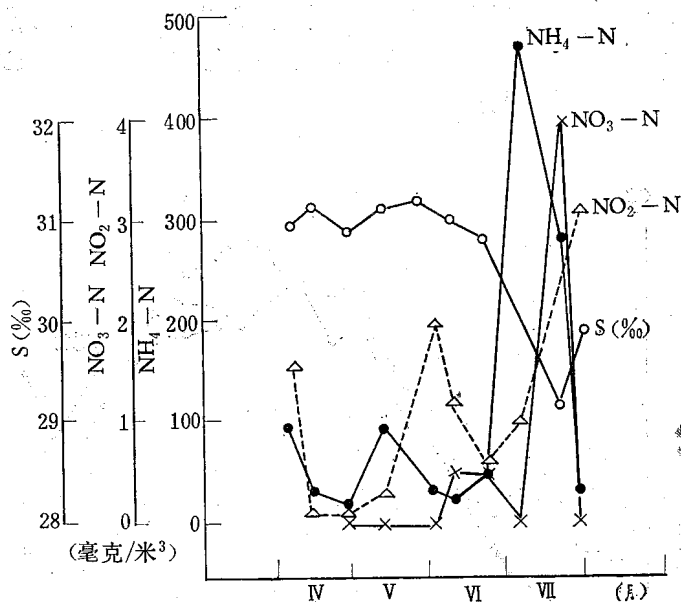


图4 1962年青岛栈桥前沿海的水化学因子的季节变化

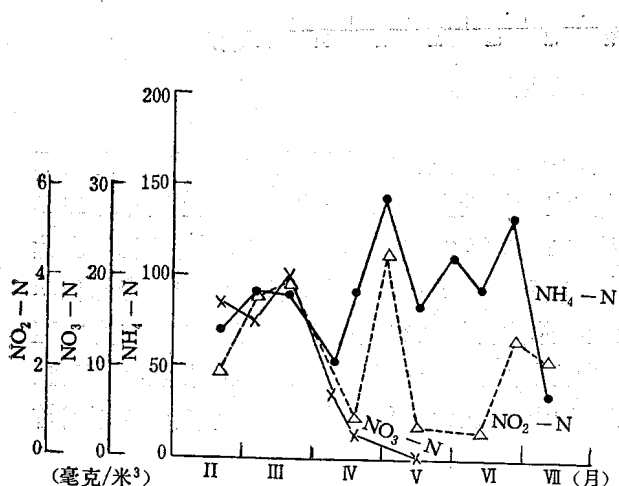


图5 1963年青岛贵州路前沿海的水化学因子的季节变化

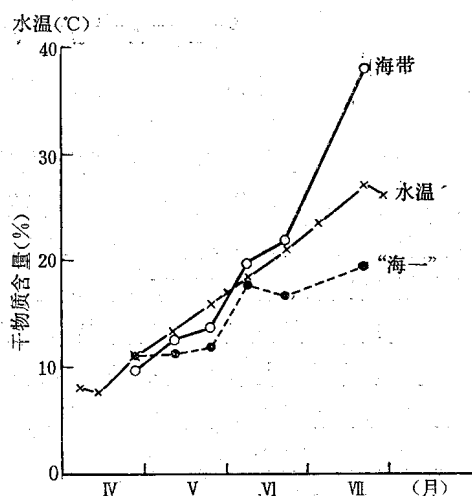


图6 1962年海带和“海一”的干物质含量(%)与水温的季节变化

1962年“海带”和“海一”是在青岛栈桥前沿海养殖的，该处为营养氮盐含量较低的地区，如图4所示，在春季4、5月 $\text{NO}_3\text{-N}$ 为零， $\text{NH}_4\text{-N}$ 除个别点外，大多小于50， $\text{NO}_2\text{-N}$ 小于1.5毫克/立方米。从图2所示，两品种叶片含氮量4月中旬至5月中旬为1—1.5%（从1963年资料看，4月以前更高），5月底至6月初时降至约0.8%低值，这也同样与积累碳

水化合物等干物质有关,含氮量相对降低(参看图 6, 随着水温上升,两品种的干物质含量逐渐上升)。至 6 月底后叶片的含氮量又逐渐上升至 1.4% 左右,这种现象在 1963 年资料中未出现。从图 4 的水化学资料看,6 月底以后 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量骤然增加,同时 $\text{S}\%$ 也下降,这表明当时降雨量较多,有一排污水道遥遥倾向该养殖地点,因此海水中氮量增多。水温继续上升(至 20°C 以上),海带叶片已成熟,可见在这种环境条件下仍能继续吸收大量氮,但只形成和积累游离氨基酸(见图 10、11),未进入蛋白质合成,这是因环境急速变化而带来的特殊情况。

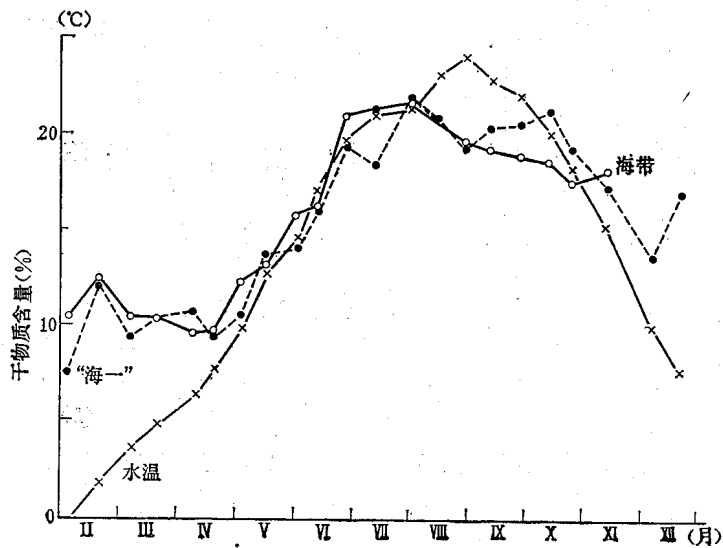


图 7 1963 年海带和“海一”的干物质含量(%)与水温的季节变化

毛主席教导我们:“唯物辩证法认为外因是变化的条件,内因是变化的根据,外因通过内因而起作用。”由于 1962 年养殖区的海水含氮量少,因此藻体中含氮量普遍比 1963 年者为低,1962 年 4 月最高值 1.5%,大约与 1963 年 7 月以后最低值 1.2% 相当。由此可见海水中的含氮量与藻体含氮量确有直接联系。Black^[14] 等在研究英国产海带的化学成份季节变异时也曾指出,海水中氮盐含量与藻体含氮量有直接联系。但 1962 年 4 月中至 5 月中,虽然海水中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 很少,藻体含氮量却仍根据生理需要表现为高值。这表明内因是海藻含氮量变化的根据。Jacobi^[21] 也认为海藻中含氮量的年变化的原因首先是决定于发育生理因素。

从 1962 年 4—7 月资料看,“海带”的含氮量似比“海一”稍高;1963 年则 5 月以前两品种大致相似,5 月以后“海带”似比“海一”稍低。总的看来,两品种的含氮量变化趋势是一致的。

2. 叶片不同部位含氮量分布

靠近海带基部的叶片(即基部)为藻体生长点,叶片较厚,越往尖端,叶片越薄。对 1962 年 5—7 月的“海带”和“海一”的不同部位(按图 1 表示方法取样)的含氮量,以及 1963 年 8 月 28 日采集的两品种的不同部位的含氮量所得分析结果如表 1 所示。

表 1 1962 年和 1963 年海带和“海一”不同部位中的含氮量分布(%, 对干藻)

采集日期	含 氮 量									
	海 带					“海 青 一 号”				
	基 中	基 边	中 中	中 边	上 部	基 中	基 边	中 中	中 边	上 部
1962. 5. 25	0.86	0.98	0.98	1.15	1.07	0.75	0.78	1.17	1.70	1.67
6. 8	0.96	1.02	0.82	1.22	0.93	0.76	0.83	0.66	0.82	0.88
6. 22	1.19	1.53	0.94	1.41	1.00	1.03	1.15	1.08	1.28	1.30
7. 21	1.17	1.43	1.10	1.82	1.28	1.44	1.51	1.11	1.89	1.35
1963. 8. 28	1.26	1.19	1.27	1.45	1.45	1.25	1.18	1.25	1.22	1.34

1962 年在栈桥前沿海养殖的“海带”和“海一”的含氮量在生长初期(5 月, 可能还在以前)上部>中部>基部;在基部和中部,都是边缘>中带部。到成熟期即从 6 月以后,“海带”的基部含氮量逐渐接近或略高于上部;而“海一”则因成熟较“海带”为晚,故至 7 月下旬,基部才开始比上部增多。

1963 年在贵州路前沿海养殖的“海带”和“海一”的含氮量到 8 月底仍然是上部>基部,边缘>中带部。“海一”的中带部含氮量比较均匀。

Jacobi^[21] 测定了糖海带的不同部位含氮量变化,结果是:由藻体基部向上部减少;从中带部向边缘降低。奥村等^[13]测定过日本产海带不同部位的含氮量,也得到类似 Jacobi 的结论,并且认为藻体尖端呈浅茶色部位的含氮量特别少,而一般说来,海带藻体厚的部位含氮量较多。这同我们的分析结果相反。

可能是因为国外用的海带类是多年生的,藻体上部和基部的碳水化合物含量较均匀,因而当基部即生长部位含氮量增多时,所得测定值亦高;而我们用的一年生海带在 3—5 月时藻体上部很薄,碳水化合物积累尚少,故含氮量相对地较基部为多。到 6、7 月时,如表 2 结果所示,上部的干物质含量有增多(如海带),但仍比其他部位为少;如表 1 所示,上部的含氮量还是不少,有的接近于基部,有的仍比其他部位为多。

表 2 1962 年海带和“海一”不同部位中的干物质含量(%, 对干藻)

部 位	1962. 6. 22		1962. 7. 21	
	海 带	“海 一”	海 带	“海 一”
基 中	16.4	20.5	26.4	14.9
基 边	16.8	22.6	29.4	24.2
中 中	12.8	12.5	28.2	29.8
中 边	15.6	20.0	28.1	18.5
上 部	10.5	14.5	22.6	14.1

3. 氨基酸定性

游离氨基酸 用上述定性方法对 1962 年产“海带”和“海一”的游离氨基酸进行定性,只测出 4 种氨基酸:谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸和脯氨酸。

Takagi^[26] 用纸上层析法从海带的乙醇提取液中除测出上述四种氨基酸外,还测出甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸等。大石等^[7,8]最近用氨基酸分析仪从海带中分析出的游离氨基酸有

近 20 种,其中含量较多的也是谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸、脯氨酸等 4 种,自 0.02% 至 2.7%。纸上层析法灵敏度较差,从我们所用的条件和结果看,一般氨基酸含量低于 0.01% (对干藻)时则测不出,而氨基酸分析仪可测出大约 0.001%^[7]。从含量较多的 4 种主要氨基酸看,我国产和日本产海带是相似的。一年生和二年生海带的游离氨基酸中是否在微量氨基酸的种类和含量上有差异,因受分析方法的限制不能确定。

结合氨基酸 结合状态的氨基酸,也即构成蛋白质的氨基酸,从两品种海带中都分别测出 13 种: 谷氨酸、天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、脯氨酸、丙氨酸、酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸 + 组氨酸等。Takagi^[26] 用纸上层析法从日本产海带的结合氨基酸中除测出上述种类氨基酸外,尚测出精氨酸、色氨酸和胱氨酸。

总氨基酸 海藻经酸水解,测出的总氨基酸包括游离氨基酸、肽类氨基酸以及蛋白质氨基酸。共测出 13 种,种类与结合氨基酸相同。

从以上定性结果看,1962 年产“海带”与“海一”在所测出的游离、结合和总氨基酸的种类上没有什么差别。

4. 氨基酸含量的季节变化

游离氨基酸 对于“海带”和“海一”基中部定性测出的谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸和脯氨酸进行了定量测定,所得结果如表 3 和图 8、9。

表 3 1962 年海带与“海一”中游离氨基酸含量的季节变化(%,对干藻)

氨基酸	4 月 13 日*		4 月 27 日**		5 月 12 日		5 月 25 日	
	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”
谷 氨 酸 (Glu)	0.225	0.523	0.165	0.136	0.431	0.100	0.341	0.064
天门冬氨酸 (Asp)	0.385	0.192	0.198	0.231	0.473	0.182	0.239	0.039
丙 氨 酸 (Ala)	0.094	0.146	0.110	0.134	0.096	0.094	0.100	0.064
脯 氨 酸 (Pro)	0.032	0.094	0.035	0.046	0.024	0.028	0.053	0.020
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.077	0.093	0.054	0.058	0.106	0.044	0.073	0.020
叶片中含 N 量	1.36	1.53	1.28	1.12	1.02	1.03	0.86	0.75

氨基酸	6 月 8 日		6 月 22 日		6 月 5 日		7 月 21 日	
	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”
谷 氨 酸 (Glu)	1.45	0.705	0.292	1.66	2.43	1.98	2.35	2.44
天门冬氨酸 (Asp)	0.709	0.488	1.52	1.16	2.05	1.54	1.40	2.10
丙 氨 酸 (Ala)	0.049	0.081	0.093	0.133	0.124	0.123	0.204	0.248
脯 氨 酸 (Pro)	0.023	0.052	—	0.083	—	0.121	—	0.050
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.220	0.131	0.202	0.302	0.467	0.370	0.404	0.493
叶片中含 N 量	0.96	0.76	1.19	1.03	1.37	—	1.17	1.44

* 用藻体全部

** 用基部全部

5 月后全用基中部

谷氨酸和天门冬氨酸含量的变化范围很大,海带从 4 月的 0.2% 和 0.4% 分别上升到 7 月的 2.4% 和 1.4%;“海一”从 4 月的 0.5% 和 0.2% 分别上升到 7 月的 2.4% 和 2.1%。游

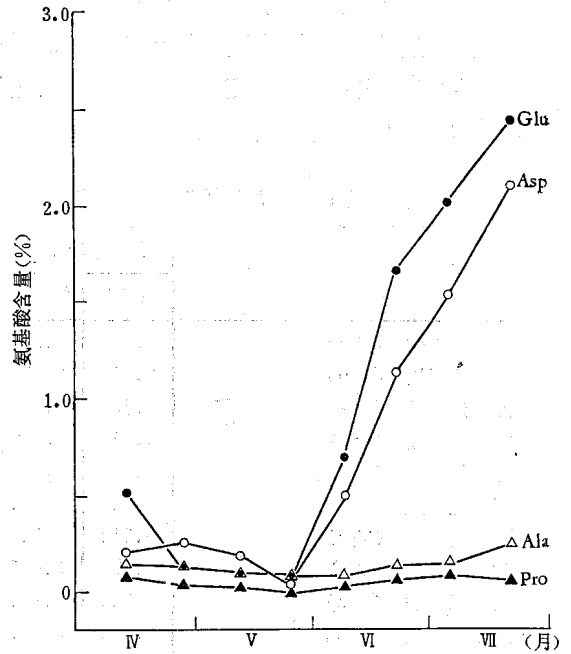
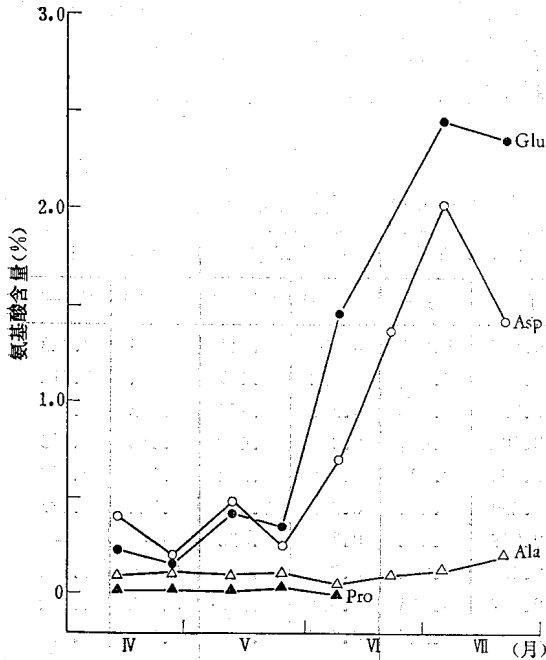


图 8 1962 年海带中的游离氨基酸含量的季节变化 图 9 1962 年“海一”中的游离氨基酸含量的季节变化

离氨基酸含量主要由这两种氨基酸决定的*。5 月底以后两品种的谷氨酸都比天门冬氨酸含量为高。

丙氨酸和脯氨酸含量的变化幅度很小。

已有证据表明,藻类中的其他氨基酸,都是从谷氨酸和天门冬氨酸经过如同在其他生物中发生的氨基移转作用形成的^[19]。谷酰胺在植物蛋白质合成和代谢中是很活跃的重要化合物;天门冬酰胺是重要的代谢贮存产物^[28]。

“海带”与“海一”中谷氨酸和天门冬氨酸从 6 月份突增,可能是:因为海水温度上升,藻体开始成熟形成孢子囊,在大量积累碳水化合物的同时,蛋白质含量相对地减少,而且海水温度不断上升(至约 20℃ 或以上),对藻体的生长逐渐显示不利,但此时海水中因从陆地排入较多的氮(参看“含氮量的季节变化”一节),因而仍继续吸收氮,形成并大量积累游离状态的谷氨酸和天门冬氨酸,未参入蛋白质合成;或者也可能同时伴随着蛋白质的分解而积累天门冬酰胺和谷酰胺。“海带”与“海一”的变化趋势基本相似。

在 75% 乙醇提取液中除游离氨基酸外还含有肽类。Coulson^[16]从泡叶藻(*Ascophyllum nodosum*)和墨角藻(*Fucus vesiculosus*)的乙醇提取物水解液中分离出由谷氨酸和天门冬氨酸组成的肽类。Lewis 等^[22]从绿藻浒苔(*Enteromorpha linza*)和红藻沙菜(*Hypnea musciformis*)的 80% 乙醇提取液的水解液中,分别测出十余种氨基酸(包括游离的和肽类的)。其中含量大于 0.01% 的,前者有 γ -氨基丁酸、缬氨酸、精氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、组氨酸等,后者有鸟氨酸、胱氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸等。

* 6、7 月份两品种的谷氨酸、天门冬氨酸含量增高时,两者的个别数值大于在总氨基酸中的含量,这是因为含量高,层析斑点颜色很深,未进一步稀释而带来的测定误差。

本实验对乙醇提取液未进一步水解,故测不出肽氨基酸。在比较和研究海藻进化特征时,对游离氨基酸和肽类的研究具有重要意义,今后应着重在这方面进行工作。

结合氨基酸 测定了 12 种结合氨基酸即蛋白质氨基酸含量的季节变化,结果如表 4 所示。

表 4 1962 年海带与“海一”中结合氨基酸含量的季节变化(%,对干藻)

氨 基 酸	4 月 13 日*		4 月 27 日**		5 月 12 日		5 月 25 日	
	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”
谷 氨 酸 (Glu)	0.559	0.715	0.567	0.571	0.530	0.513	0.343	0.323
天门冬氨酸 (Asp)	0.519	0.630	0.508	0.524	0.514	0.479	0.294	0.312
丙 氨 酸 (Ala)	0.329	0.365	0.372	0.298	0.328	0.359	0.363	0.226
赖 氨 酸 (Lys)	0.427	0.518	0.502	0.403	0.438	0.463	0.060	0.213
甘 氨 酸 (Gly)	0.529	0.561	0.691	0.523	0.635	0.752	0.336	0.523
苏 氨 酸 (Thr)	0.246	0.264	0.237	0.204	0.253	0.247	0.124	0.137
酪 氨 酸 (Tyr)	0.112	0.125	0.027	0.062	0.148	0.078	—	—
缬 氨 酸 (Val)	0.376	0.407	0.360	0.292	0.364	0.378	0.256	0.198
亮 氨 酸 (Leu)	0.386	0.424	0.337	0.303	0.315	0.317	0.068	0.202
异亮氨酸 (Ileu)	0.238	0.248	0.260	0.245	0.227	0.209	0.102	0.103
苯 丙 氨 酸 (Phe)	0.183	0.186	0.203	0.124	0.174	0.097	0.020	0.040
脯 氨 酸 (Pro)	0.246	0.286	0.202	0.174	0.179	0.181	—	0.116
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.464	0.523	0.497	0.425	0.474	0.486	0.254	0.293

氨 基 酸	6 月 8 日		6 月 22 日		7 月 5 日		7 月 21 日	
	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”
谷 氨 酸 (Glu)	0.495	0.310	0.434	0.299	0.457	0.277	0.470	0.412
天门冬氨酸 (Asp)	0.563	0.300	0.385	0.328	0.557	0.401	0.843	0.494
丙 氨 酸 (Ala)	0.235	0.191	0.243	0.198	0.195	0.160	0.235	0.199
赖 氨 酸 (Lys)	0.239	0.220	0.138	0.210	0.093	0.130	0.149	0.188
甘 氨 酸 (Gly)	0.446	0.385	0.389	0.321	0.347	0.359	0.275	0.546
苏 氨 酸 (Thr)	0.135	0.113	0.161	0.113	0.164	0.098	0.127	0.145
酪 氨 酸 (Tyr)	0.033	—	0.080	0.034	—	—	—	0.019
缬 氨 酸 (Val)	0.214	0.181	0.213	0.188	0.157	0.149	0.170	0.180
亮 氨 酸 (Leu)	0.136	0.164	0.114	0.176	0.078	0.125	0.072	0.150
异亮氨酸 (Ileu)	0.148	0.121	0.098	0.103	0.046	0.078	0.061	0.100
苯 丙 氨 酸 (Phe)	0.250	0.023	—	0.034	0.115	—	0.050	0.010
脯 氨 酸 (Pro)	—	0.100	—	0.098	—	0.083	—	0.095
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.345	0.242	0.279	0.245	0.267	0.234	0.290	0.310

结合氨基酸中的多数氨基酸含量在 4、5 月时比较高,但总的看来,变化幅度不大。这并不意味着蛋白质代谢不活跃,可以认为,在藻体生长至成熟时期即 7、8 月份,因碳水化合物大增,蛋白质也相应地增加,只是相对含量变化不大而已。由结果看,谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、苏氨酸等为构成海带蛋白质的主要组分。

总氨基酸 测定了 13 种氨基酸含量的季节变化,结果见表 5 和图 10、11。

总氨基酸中谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸、丙氨酸为主要氨基酸,含量都是在春季时较

表 5 1962 年海带与“海一”中总氨基酸含量的季节变化(%,对干藻)

氨 基 酸	4 月 13 日*		4 月 27 日**		5 月 12 日		5 月 25 日	
	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”
谷 氨 酸 (Glu)	1.25	1.55	0.990	0.792	1.05	0.754	0.864	0.439
天门冬氨酸 (Asp)	1.24	1.21	1.09	0.926	0.818	0.774	0.652	0.421
丙 氨 酸 (Ala)	0.603	0.686	0.577	0.511	0.423	0.457	0.429	0.301
赖 氨 酸 (Lys)	0.377	0.487	0.377	0.316	0.323	0.285	0.252	0.208
丝 氨 酸 (Ser)	0.136	0.204	0.158	0.103	0.100	0.098	0.097	0.079
甘 氨 酸 (Gly)	0.835	0.810	0.695	0.623	0.500	0.556	0.407	0.273
苏 氨 酸 (Thr)	0.450	0.505	0.345	0.249	0.218	0.243	0.232	0.153
酪 氨 酸 (Tyr)	0.178	0.221	—	—	0.096	0.070	—	0.019
缬 氨 酸 (Val)	0.440	0.523	0.388	0.365	0.309	0.327	0.289	0.185
亮 氨 酸 (Leu)	0.418	0.456	0.337	0.409	0.273	0.285	0.329	0.213
异亮氨酸 (Ileu)	0.395	0.527	0.388	0.334	0.314	0.332	0.216	0.176
苯丙氨酸 (Phe)	0.236	0.270	0.337	0.214	0.218	0.187	0.193	0.157
脯 氨 酸 (Pro)	—	—	0.328	0.356	0.250	0.367	0.250	0.189
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.780	0.875	0.680	0.584	0.541	0.524	0.468	0.311

氨 基 酸	6 月 8 日		6 月 22 日		7 月 5 日		7 月 21 日	
	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”	海 带	“海一”
谷 氨 酸 (Glu)	1.52	0.650	2.23	1.26	2.93	1.27	1.39	1.86
天门冬氨酸 (Asp)	1.03	0.800	1.84	1.01	2.64	1.34	2.97	2.30
丙 氨 酸 (Ala)	0.291	0.260	0.428	0.269	0.364	0.233	0.328	0.296
赖 氨 酸 (Lys)	0.193	0.233	0.261	0.167	0.261	0.178	0.242	0.152
丝 氨 酸 (Ser)	0.069	0.062	0.106	0.017	0.104	—	0.067	0.017
甘 氨 酸 (Gly)	0.340	0.260	0.346	0.252	0.333	0.301	0.285	0.232
苏 氨 酸 (Thr)	0.180	0.132	0.214	0.103	0.201	0.119	0.173	0.083
酪 氨 酸 (Tyr)	—	0.035	—	—	—	0.017	—	—
缬 氨 酸 (Val)	0.232	0.172	0.281	0.158	0.265	0.148	0.247	0.144
亮 氨 酸 (Leu)	0.238	0.194	0.286	0.158	0.236	0.114	0.235	0.131
异亮氨酸 (Ileu)	0.183	0.132	0.199	0.098	0.196	0.114	0.196	0.101
苯丙氨酸 (Phe)	0.124	0.194	0.123	0.257	0.189	0.038	0.141	—
脯 氨 酸 (Pro)	0.155	0.174	0.156	0.188	0.145	0.189	0.144	0.118
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.485	0.356	0.717	0.418	0.832	0.433	0.690	0.577

高,只有谷氨酸和天门冬氨酸从 6 月份起猛增至 2—3%,这主要由游离氨基酸中的谷氨酸和天门冬氨酸含量所决定的。总氨基酸含量中包含有乙醇可溶的肽类氨基酸。

将图 10、11 同图 12、13 的总氮量相对照,总氮量在 4 月、7 月时比较高,5 月底和 6 月初呈现低值。而从总氨基酸含量看,谷氨酸和天门冬氨酸含量在 4、5 月份虽比较高,但远比 7 月初时的高值要低,但由于其他各种氨基酸的含量在 4、5 月份时普遍较高,因此,总氨基酸计算的总 $\text{NH}_2\text{-N}$ 的季节变化趋势与总氮量的变化仍很吻合。

总氨基酸中碱性氨基酸只测定了赖氨酸(可能包括组氨酸)含量,估计大部分碱性和含硫氨基酸由于海藻中含有大量碳水化合物在水解时形成腐植质而被部分或全部破坏^[16]。

高木^[10]用化学法测定了海带水解物中的苏氨酸和丝氨酸含量,前者为 0.42%,后者

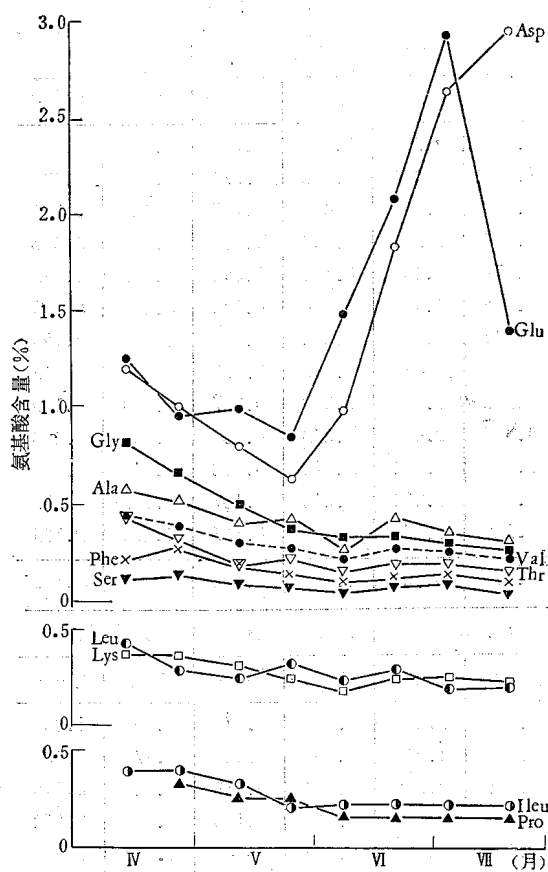


图10 1962年海带中的总氨基酸含量的季节变化

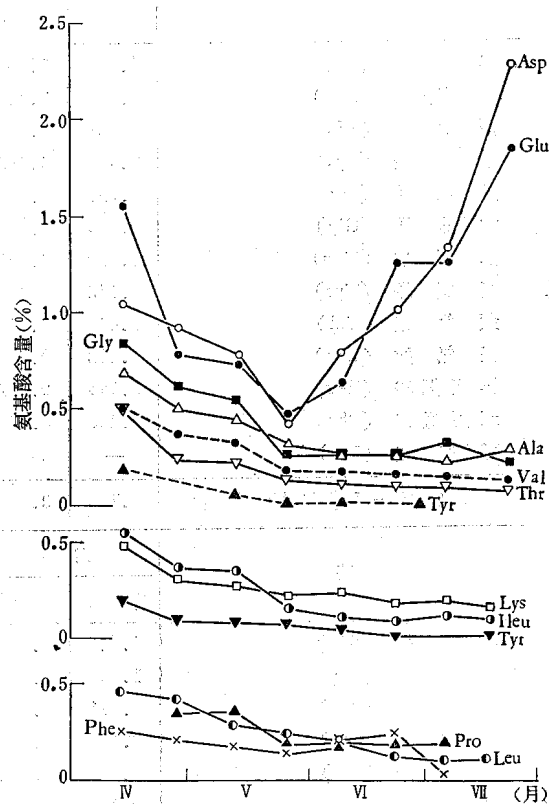


图11 1962年“海一”中的总氨基酸含量的季节变化

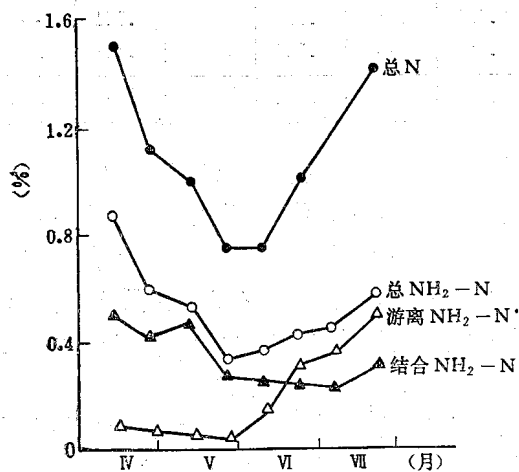


图12 1962年海带中各种形态N的季节变化

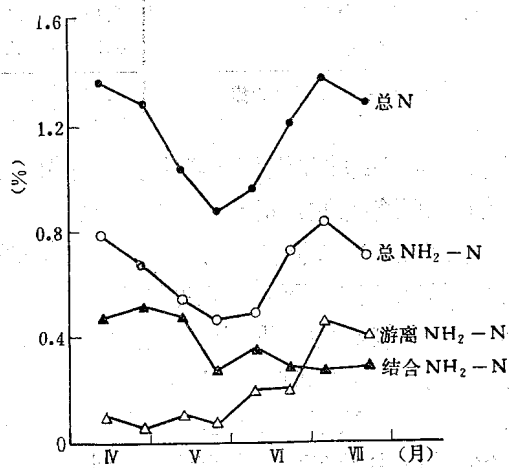


图13 1962年“海一”中各种形态N的季节变化

为 1.14%。后者比我们测定的最高值高 5 倍。他^[9]还研究了 4—6 月的海带水解物中的酪氨酸和色氨酸含量的变化,两者成相反趋势。酪氨酸由 4 月的 0.32% 含量降至 6 月含量为 0.16%。我们测定的酪氨酸含量也是随季节逐减,如“海一”由 4 月的 0.22% 含量降至 7 月的 0.017%。高木^[11]从海带水解物中测出碱性氨基酸的含量为:组氨酸 0.99%,精氨酸 3.10%,赖氨酸 0.64%。我们只测出赖氨酸(可能还包含组氨酸)为 0.48%。

将上述游离氨基酸、结合氨基酸和总氨基酸含量都换算成 $\text{NH}_2\text{-N}$,同叶片含氮量(表 3)的变化相比较,如图 12、13 所示,总 N 与总 $\text{NH}_2\text{-N}$ 的变化趋势是一致的,即 5 月中旬至 6 月上旬下降,6 月底起又上升。结合 $\text{NH}_2\text{-N}$ 同游离 $\text{NH}_2\text{-N}$ 的变化恰成相反趋势,即游离 $\text{NH}_2\text{-N}$ 春季低,7 月高;结合 $\text{NH}_2\text{-N}$ 则春季高,其后低。可以进一步看出,春季海带从海水中吸收氮盐,迅速合成原生质所需的蛋白质,而到 6 月中旬以后则大量积累游离氨基酸(见图 8、9)。

如果以游离 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{总 N}$ 或结合 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{总 N}$ 图示(见图 14、15),则更可清楚地看出,两个比值成相反的变化形式。“海带”与“海一”的游离 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{总 N}$ 都在春季最低,成熟期最高,范围为 4—34%;结合 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{总 N}$ 都在春季最高,成熟期最低,范围为 20—47%。

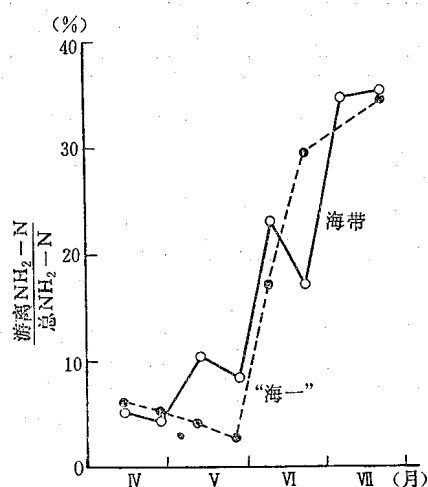


图 14 1962 年海带与“海一”中的游离 $\text{NH}_2\text{-N}$ 对总 N 之比的季节变化

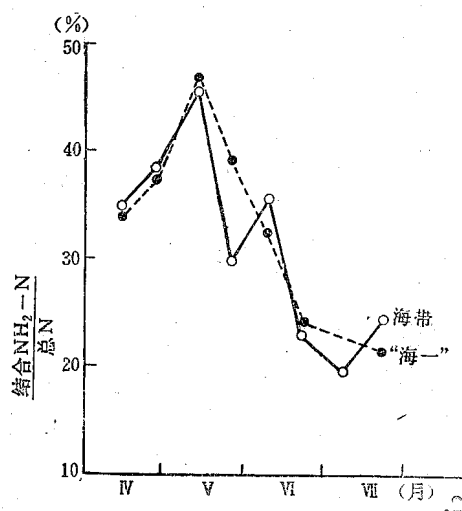


图 15 1962 年海带与“海一”中的结合 $\text{NH}_2\text{-N}$ 对总 N 之比的季节变化

5. 不同部位总氨基酸含量的分布

对 1962 年 5 月 25 日采集的“海带”和“海一”的不同部位所含总氨基酸进行了定量分析,所得结果如表 6 所示。

结果表明,同是 5 月 25 日采的“海带”和“海一”,从含量较多的谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸、甘氨酸的含量看,除“海带”中的谷氨酸外,大多是上部>中部>基部。“海一”中的大多数氨基酸在上部和中部比海带的同部位为多。

将各部位中各氨基酸换算成 $\text{NH}_2\text{-N}$,其总和也表明上部>中部>基部(“海带”的中部除外),与表 1 总氮量的分布是一致的。惟总 $\text{NH}_2\text{-N}$ 量仅为总氮量的大约 50%,尚

有不少微量氨基酸和其他含氮化合物未测出。

表 6 1962 年 5 月 25 日海带与“海一”不同部位中总氨基酸含量的分布(%, 对干藻)

氨 基 酸	海 带					“海 一”				
	基 中	基 边	中 中	中 边	上 部	基 中	基 边	中 中	中 边	上 部
谷 氨 酸 (Glu)	0.864	0.624	0.658	0.568	0.657	0.439	0.238	0.803	0.872	0.925
天门冬氨酸 (Asp)	0.652	0.515	0.628	0.614	0.702	0.421	0.271	0.559	0.920	1.08
丙 氨 酸 (Ala)	0.429	0.417	0.441	0.473	0.470	0.301	0.259	0.412	0.518	0.639
赖 氨 酸 (Lys)	0.252	0.307	0.211	0.408	0.270	0.208	0.242	0.151	0.615	0.333
丝 氨 酸 (Ser)	0.097	0.107	0.062	0.143	0.082					
甘 氨 酸 (Gly)	0.407	0.337	0.353	0.390	0.385	0.273	0.623	0.748	0.982	1.19
苏 氨 酸 (Thr)	0.232	0.208	0.198	0.255	0.240	0.153	0.181	0.240	0.353	0.470
酪 氨 酸 (Tyr)						0.019			0.228	0.193
缬 氨 酸 (Val)	0.289	0.354	0.309	0.444	0.335	0.185	0.242	0.341	0.442	0.582
亮 氨 酸 (Leu)	0.329	0.341	0.339	0.533	0.367	0.213	0.258	0.328	0.553	0.594
异亮氨酸 (Ileu)	0.216	0.282	0.235	0.362	0.278	0.176	0.160	0.231	0.435	0.442
苯丙氨酸 (Phe)	0.193	0.160	0.142	0.161	0.173	0.157	0.062	0.042	0.242	0.165
脯 氨 酸 (Pro)	0.306	0.242	0.285	0.294	0.299					
计算总 $\text{NH}_2\text{-N}$ (不包括脯氨酸)	0.529	0.495	0.481	0.591	0.533	0.321	0.354	0.506	0.800	0.852
叶片中含N量	0.86	0.98	0.98	1.15	1.07	0.75	0.78	1.17	1.70	1.67

四、总 结

我们对海带(包括普通海带及其新品种“海青一号”)的含氮量和氨基酸含量的季节变化进行了研究。

1. 测定了1962年和1963年产两品种中的含氮量季节变化。1962年两品种都是春季4月含量高,1.5%左右;6月低,0.8%左右;7月又升高至1.4%。1963年两品种春季2、3月高,达2.8—3%,其后下降,6月以后降至1.3%左右。普遍比1962年含氮量高,这与两年的养殖地区海水中的含氮量有直接关系。

2. 两品种不同部位中含氮量的分布是: 1962年都是上部>中部>基部。就基中部看,边缘>中带部;至成熟期即6月以后,基部含氮量接近上部。1963年的含氮量至8月底仍是上部>基部;基本上是边缘>中带部。

3. 用纸上层析法定性地从1962年两品种中测出游离氨基酸有4种: 谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸、脯氨酸;结合氨基酸和总氨基酸各有13种: 谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸+组氨酸等。

4. 用纸上层析法测定了1962年两品种的游离氨基酸、结合氨基酸、总氨基酸含量的季节变化。游离氨基酸含量变化范围很大,主要决定于谷氨酸和天门冬氨酸。“海带”中这两种酸的含量分别由4月的0.2%、0.4%升至7月的2.4%、1.4%;“海一”则分别由4月的0.5%、0.2%升至7月的2.4%、2.1%。结合氨基酸变化幅度不大。总氨基酸含量

受游离氨基酸谷氨酸和天门冬氨酸含量的支配,变化很大,从6月份猛增至2—3%。

5. 两品种不同部位的总氨基酸含量的分布,从含量较多的谷氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸、甘氨酸来看,基本是:上部>中部>基部。

6. 各种形态氨基酸含量经换算成 $\text{NH}_2\text{-N}$,同测定的含氮量比较,总N与总 $\text{NH}_2\text{-N}$ 的变化趋势一致;结合 $\text{NH}_2\text{-N}$ 同游离 $\text{NH}_2\text{-N}$ 的变化成相反趋势。

7. 从所得结果看,“海带”与“海一”在各种形态氨基酸的种类上无差异,在氮和氨基酸的含量季节变化上也基本上相似。

参 考 文 献

- [1] 方宗熙、吴超元、蒋本禹、李家俊、任国忠, 1962。海带“海青一号”的培育及其初步的遗传分析。植物学报 10(3):197—209。
- [2] 纪明侯, 1963。我国经济褐藻的化学成分研究 II. 北方产海带、海蒿子和海黍子的主要化学成分季节变化。海洋与湖沼 5(1):1—10。
- [3] 陈丽筠、王忠炎、沈昭文, 1957。氨基酸的定量滤纸层析法 I. 纯氨基酸。生理学报 21:317—323。
- [4] 陈丽筠, 1958。氨基酸的定量滤纸层析法 III. 一对新的溶剂系统。生化学报 1(1):19—22。
- [5] 潘家秀、任梅轩、徐俊杰、戚正武, 1962。蛋白质化学研究技术。科学出版社, viii+249 页。
- [6] 大石圭一、田村祐子、亲松厚、金井英治、奥村彩子、村田喜一, 1961。昆布的品质 III. エキス全窒素およびアミノ態窒素との关系。日本水产学会志 27(6):598—600。
- [7] 大石圭一、高木光造、奥村彩子, 1967。昆布的品质 IX. マコンブのエキスアミノ酸組成。日本水产学会志 33(1):41—46。
- [8] 大石圭一、高木光造、国崎直通、奥村彩子, 1967。昆布的品质 X. 昆布叶体のエキスアミノ酸の分布。日本水产学会志 33(11):1038—1043。
- [9] 高木光造, 1953。海藻に関する化学的研究(第7报)各种海藻中のチロシン及びトリプトファン含有量に就て。北海道大学水产学部汇报 4(1):86—91。
- [10] 高木光造, 1953。海藻に関する化学的研究(第8报)各种海藻中のスレオニン及びセリン含量に就て。北海道大学水产学部汇报 4(1):92—95。
- [11] 高木光造, 1954。海藻に関する化学的研究(第9报)各种海藻中の盐基性アミノ酸含量に就て。北海道大学水产学部汇报 5(2):167—172。
- [12] 高木光造、大石圭一、奥村彩子, 1967。数种海藻の游离アミノ酸組成について。日本水产学会志 33(7):669—673。
- [13] 奥村彩子、田村祐子、大石圭一、村田喜一, 1963。昆布的品质 V. 昆布叶体の厚みと全窒素との分布。日本水产学会志 28(11):1123—1127。
- [14] Black, W. A. P. and E. T. Dewar, 1949. Correlation of some of the physical and chemical properties of the sea with the chemical constitution of the algae. Part II. Correlation of the composition of sea water with the chemical constitution of the algae. *J. Mar. Biol. Assoc. Unit. King.* 28:687—699.
- [15] Channing, D. M. and G. T. Young, 1953. Amino acids and peptides. Part X. The nitrogenous constituents of some marine algae. *J. Chem. Soc.* 1953(503): 2481—2491.
- [16] Coulson, C. B., 1953. Amino acids of marine algae. *Chem. Ind.* 1953:971—972.
- [17] Coulson, C. B., 1955. Plant proteins. V. Proteins and amino-acids of marine algae. *J. Sci. Food. Agr.* 1955(11):674—682.
- [18] Eriksen, L. E. and A. G. M. Sjöström, 1952. Aminosäure in Meeresalgen. *Acta Chem. Scand.* 6:805—807.
- [19] Fogg, G. E., 1953. The Metabolism of Algae. Methuen & Co. Ltd. (纪明侯等译, 1962。藻类的新陈代谢, 科学出版社)
- [20] Hrabětová, E. and J. Tupý, 1960. Quantitative determination of proline by paper chromatography. *J. Chromatography* 1960(3):199—201.
- [21] Jacobi, G., 1954. Die Verteilung des Stickstoffs in *Fucus vesiculosus* und *Laminaria saccharina* und deren Abhängigkeit vom Jahresrhythmus. *Kiel Meeresch.* 10(1):37—57.
- [22] Lewis, E. J. and E. A. Gonzalves, 1962. The protein, peptide, and free amino-acid contents of some species of marine algae from Bombay. *Ann. Bot., N.S.* 26(103):301—316.
- [23] Mazur, A. and H. T. Clarke, 1938. The amino acids of certain marine algae. *J. Biol. Chem.*

- 123(3):729—740.
- [24] Ogino, C., 1955. Biochemical studies on the nitrogen compounds of algae. *J. Tokyo Univ. Fish.* 41(2):107—152.
- [25] Smith, D. G. and G. Young, 1955. The combined amino acids in several species of marine algae. *J. Biol. Chem.* 217:845—853.
- [26] Takagi, M., 1956. Chemical studies on marine algae. X. Free and combined amino acids in marine algae. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 7(2):119—129.
- [27] Takagi, M., and M. Kuriyama, 1959. Chemical studies on marine algae. XII. The free amino acids in several species of marine algae. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 10(1):72—76.
- [28] Webster, G. C., 1959. Nitrogen metabolism in plants. Row, Peterson & Co. (王岳定等译, 1965. 植物的氮代谢, 上海科学技术出版社)
- [29] Young, E. G. and D. G. Smith, 1958. Amino acids, peptides and proteins of Irish Moss, *Chondrus crispus*. *J. Biol. Chem.* 233:406—410.

SEASONAL VARIATIONS IN THE CONTENTS OF VARIOUS STATES OF AMINO ACIDS IN *LAMINARIA JAPONICA* ARESCH.*

Chi Ming-hou, Pu Shuzhu, Cao Wenda and Zhang Jinzhi

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

ABSTRACT

Seasonal variations in the N contents in two breeds of *Laminaria japonica* Aresch., the common cultivated breed and the Haiqing No. 1** collected in 1962 and 1963 were studied, and the results were discussed in connection with the hydrochemical factors.

Total N contents in both breeds in 1963 were high in April, reaching 1.5%, and low in July, decreasing to 0.8%, and in 1963, high in February to March, amounting to 2.8—3%, decreasing to 1.2—1.4% after June. The higher values were obviously due to the richer contents of nitrogen salts in cultivating region in 1963 than in 1962. (Fig. 2—5)

The results relating to the distribution of N contents in different parts of blades of the two breeds were as follows: In 1962 the N content was highest in the upper part, lower in the middle, and lowest in the basal part of the blade. In the central portion of the basal part, the N content in the marginal portion was higher than that in the central portion, and after June, the N content in the basal part gradually approached that in the upper part. In 1963 the results were somewhat different, even in the end of August the N content in the upper part was still higher than that in the basal part, and that in the marginal portion was higher than that in the

* Contribution No. 364 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.

** Haiqing No. 1 is a new breed of *Laminaria japonica* Aresch. cultivated by T. C. Fang et al.^[1] in this institute, having longer and broader blade with a longer stipe and being heavier in weight than the original *L. japonica*.

central portion. (Table 1)

The free, combined and total amino acids in the two breeds cultivated in 1962 have been qualitatively determined by paper chromatography, four amino acids including Glu, Asp, Ala, and Pro in the free state, and thirteen ones including Glu, Asp, Ser, Thr, Gly, Pro, Ala, Tyr, Val, Leu, Ileu, Phe, and Lys + His both in the combined amino acids and in the total amino acids being found.

Seasonal variations in the contents of the free, combined and total amino acids found were quantitatively determined by paper chromatography.

The contents of Glu and Asp in the free state fluctuated considerably, in common breed from 0.2% and 0.4% in April increasing to 2.4% and 1.4% in July, and in Haqing No. 1 from 0.5% and 0.2% in April to 2.4% and 2.1% in July, respectively. (Table 3 and Fig. 8, 9)

The contents of most of the amino acids in the combined state were relatively high in April—May, but the fluctuation was not conspicuous. (Table 4)

Glu, Asp, Gly, Phe were the main components in the total amino acids, their contents being comparatively high in spring. Among them Glu and Asp fluctuated very considerably, mainly depending upon the fluctuation of their contents in the free state. (Table 5 and Fig. 10, 11)

By comparing the contents of Glu, Asp, Ala and Gly more abundant in the total amino acids in different parts of the two breeds, in most cases, their contents were highest in the upper part, lower in the middle, and lowest in the basal part. (Table 6)

On comparing the total N content with the total $\text{NH}_2\text{-N}$, calculated from the content of various states of amino acids, it has been shown that the tendency of fluctuation of the total N was in agreement with that of the total $\text{NH}_2\text{-N}$, while the variation of the combined $\text{NH}_2\text{-N}$ was in contradiction to that of the free $\text{NH}_2\text{-N}$. (Fig. 12, 13)

The results showed that there are practically no essential differences in the total N content, the sort of amino acids and the trend of variation in the content of amino acids of the two breeds of *Laminaria japonica*.