

南海海洋红树林内生真菌胞外多糖的研究^{*}

胡谷平, 余志刚, 吴耀文, 林永成, 吴雄宇

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 从南海红树林内生真菌菌体中提取到胞外多糖 W_{21} , 甲醇解研究表明 W_{21} 由葡萄糖, 半乳糖和少量木糖组成。

关键词: 红树林内生真菌; 胞外多糖; 甲醇解

中图分类号: O629.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 01-0121-02

真菌胞外多糖已有很多种被成功的应用在人们的生产生活中。例如食品工业中的细菌聚糖, 石油工业中的黄原胶, 医药工业中的香菇多糖^[1]。然而随着世界陆生生物资源日益短缺, 人们越来越多的将目光投向海洋。海洋真菌也日渐成为国际上研究的一个热点。本课题组多年研究南海红树林真菌, 从中分离了很多有生理活性的物质^[2]。红树林是生长在沿海浅滩中的一种特殊植物, 寄生其中的真菌因其独特的生长环境, 引起了各国学者浓厚的兴趣。主要的研究目标还局限于小分子的代谢产物, 对多糖等大分子研究的很少。近来我们在南海红树林内生真菌(endophyte fungus) 1356 号的菌体中分离提取得到一种新的多糖 W_{21} , 并通甲醇解初步研究了该多糖的组成。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂 美国 Finigen 公司 Vayager 气-质联用仪, 上海 DZF6020 恒温真空干燥箱, 德国 Heidolph 旋转蒸发仪, 氯化三甲基硅烷为 Merk 公司产品, HCl 甲醇溶液按文献^[3]方法制备, 1356 号菌种由香港城市大学 L. L. P. Vrigmoed 和 E. B. G. Jones 教授提供, 经培养, 脱脂, 干燥得干菌体。其它试剂均为国产分析纯, N_2 为高纯度。

1.2 分离提取 加 1 L 热水浸提 6 h, 过滤, 浸提 5 次, 滤液合并浓缩至 550 mL, 加 1 倍体积的乙醇, 4 °C 过夜, 离心收集沉淀, 溶于 500 mL 去离子水中, 调 pH 至 1~2, 加胃蛋白酶, 保温 37 °C, 酶解 24 h。Sevag 法脱蛋白 7 次。加 1 倍体积的乙醇, 4 °C 过夜, 离心收集沉淀, 干燥得淡黄色粗多糖。过凝胶色谱柱得白色多糖 W_{21} 。

1.3 甲醇^[3] 准确称取 1 mg 多糖 W_{21} 于安瓿中, 加 5 mL 1 mol/L 的 HCl 甲醇溶液, 充干燥 N_2 封管, 置于恒温干燥 24 h。加入 0.5 mL 吡啶溶解, 再注入 0.2 mL 六甲基硅胺烷和 0.12 mL 三甲基氯硅烷, 室温下放置 0.5 h。

1.4 GC MS 分析 取上清液 1~5 μ L 进样。GC 条件: 石英毛细管柱 (0.25 mm $\times$ 30 m), 固定液 SE-54。进样口温度 270 °C, 程序升温: 150 °C 保持 10 min, 以 10 °C/min 升至 230 °C, 保持 4 min。

MS 条件: 接口 230 °C, 离子源 El^+ , Energy: 70 eV, 检测电压: 280 eV, 质谱扫描 43.00 ~ 650.00。

2 结果和讨论

粗多糖为淡黄色, 经凝胶色谱过滤后得到白色粉末 W_{21} 。该多糖经醋酸薄膜电泳为单一色带。表明 W_{21} 有较好的均一性。和多糖的水解分析相比, 甲醇解有不少优点, 单糖的回收率较高, 甲醇解时释放的还原基因受到保护, 生成甲基糖苷, 是一种较好的分析多糖组分的方法。 W_{21} 甲醇解后的产物三甲基硅醚衍生化, 经气相色谱得到很好的分离。因为在甲醇解过中的异构现象^[4], 所以同一种单糖都出现了多组经 MS 分析和计算机检索, 分别确定了它们的组成。结果见表 1。

从 GC MS 的结果分析, 南海红树林内生真菌 1356 号胞外多糖 W_{21} 主要由葡萄糖组成, $w = 90.7\%$ 。另外还含有半乳糖, $w = 7.3\%$, 还含有少量木糖, $w = 2\%$ 。

^{*} 收稿日期: 2001-11-06;

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29672053 和 20072058); 广东省自然科学基金资助项目 (980371)

作者简介: 胡谷平 (1974—), 助理工程师, 硕士研究生; 通讯联系人: 林永成; E-mail: ceslyc@zsu.edu.cn

表 1 甲醇解的 GC/MS 结果
Tab 1 GC/MS results of methanolysis

保留时间/min	组分	w/%
6.41	glucose	90.7
7.40	glucose	
7.55	glucose	
8.31	glucose	
6.74	galactose	7.3
6.81	galactose	
7.12	galactose	
8.07	galactose	
7.74	xylose	2

参考文献:

[1] 吴东儒. 糖类的生物化学[M] . 北京: 高等教育出版社, 1987.
[2] 吴雄宇, 林永成, 冯爽, 等. 南海海洋红树林内生真菌 1356 #代谢产物研究[J] . 热带海洋, 2001, 20(4) : 21.
[3] ZANETTA J P, TIMMERMAN P, LERO Y. Detemination of constituents of sulphated proteoglycand using a methanolysis procedure and gas chromatography/mass spectrometry of heptafluoroborate derivatives[J] . Glycoconjugate J, 1999, 16: 617 — 627.
[4] BIERMANN C J, MCGINNIS G D. Analysis of carbohydrates by GLC and MS[M] . Boca Raton, Florida: CRC Press Inc, 1989.

Study of Isolation and Composition of the Extracellular Polysaccharide of Marine Endophytic Fungus No. 1356 from the South China Sea

HU Gu-ping, SHE Zhi-gang, WU Yao-wen, LIN Yong-cheng, WU Xiong-yu

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A fungus extracellular polysaccharide W₂₁ was extracted from marine mangrove endophytic fungus (No. 1356) from the South China Sea. Its composition was investigated by methanolysis and trimethylsilylation followed by GC/MS andsis.

Key words: mangrove endophytic fungus; extracellular polysaccharide; methanolysis

(接第 120 页)

Preparation of Tb-Ni Alloy Film in Acetamide-urea-NaBr Melt

WANG Jian-chao, XU Chang-wei, TONG Ye-xiang, LIU Guan-kun

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Electroreduction of Ni (II) to Ni in acetamide-urea-NaBr melt at 353 K is irreversible in one step. The α and D were determined as 0.18 and $1.44 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Tb (III) is not reduced to Tb alone, but can be inductively codepositly with Ni (II). The content of terbium increases with the shifting the cathode potential to negative direction and the increasing of molar ratio Tb (III) / Ni (II). The mass fraction of terbium in deposit reaches 84.32%. The Tb-Ni film alloys electrodeposit is amorphous.

Key words: acetamide-urea-NaBr; electroreduction; inductive codeposition; Tb-Ni; amorphous alloy