

° 药剂与工艺 °

 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 对猴头菌多糖产生的影响[△]

中南民族学院化学系 (武汉 430074) 何冬兰* 雷国梁

摘 要 在猴头菌 (*Hericium erinaceus*) 菌丝发酵培养液中,加入不同浓度的 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$,接种培养 7 d后,测定菌体和上清液的多糖含量,发现 0.5 mmol/L的 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 可促进菌丝分泌胞外多糖,发酵液中多糖含量较对照高 126.69%; 0.75 mmol/L的 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 可刺激菌丝多糖的合成,水提多糖含量比对照高 19.4%,碱提多糖含量比对照高 4.7%。

关键词 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 猴头菌 多糖

Effects of $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ on Polysaccharide Production of Bearded Tooth (*Hericium erinaceus*)

Department of Chemistry, South-Central College for Nationalities (Wuhan 430074) He Donglan and Lei Guoliang

Abstract Rare earth elements, such as Lanthanum, at certain concentration may exhibit its specific activity to promote the growth of plants and microbes. But studies on its application to increase the yield of polysaccharide of cultured *Hericium erinaceus* (Fr.) Pers. has not been reported in literatures. Different concentrations of $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ were added to the culture medium of *H. erinaceus* mycelium. Inoculate a Φ 0.5 cm size, 10 d cell age colony into the fermentation medium containing different concentrations of $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ and culture for 7 d. Collect the supernatant liquid and determine the polysaccharide content after centrifugings extraction and hydrolysis. It was found that $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ at a concentration of 0.5 mmol/L can increase the extracellular polysaccharide content to 126.69% of the control, while at a concentration of 0.75 mmol/L, the water soluble polysaccharide content of the mycelium is raised by 19.4%, and increased the sodium hydroxide soluble polysaccharide content by 4.7%. It could be concluded that $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ at concentrations of 0.5~ 0.75 mmol/L can promote the yield of polysaccharides in *H. erinaceus* cultural medium.

Key words $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ *Hericium erinaceus* (Fr.) Pers. polysaccharide

猴头菌是一种兼有食用和药用价值的名贵食用菌。猴头菌丝及子实体含有丰富的蛋白质、维生素、多糖及微量元素。其多糖、多肽、脂肪族的酰胺类物质对消化道肿瘤有良好的防治效果,对治疗神经衰弱、消化不良、胃及十二指肠溃疡等症有较好的疗效^[1]。我国稀土矿物丰富,由于稀土元素具有独特的理化特性,在一定的浓度范围内能促进植物及微生物的生长^[2]。稀土对猴头菌多糖合成的影响尚未见报道。因此,探索高效、经济的猴头菌多糖合成条件具有现实意义。

1 材料与方法

1.1 菌种:猴头菌 99 菌株 *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.,由华中农业大学菌种中心提供

1.2 培养条件及方法

1.2.1 固体培养基配制 (g/L): 麦麸 50,葡萄糖 20,蛋白胨 3, KH_2PO_4 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,琼脂 20, Vit B₁ 0.01,自然 pH 分装后,0.1~ 0.15 MPa压力下灭菌 30 min 备用。

1.2.2 发酵培养液的配制 (g/L): 豆饼粉 15,蔗糖 30,蛋白胨 1, KH_2PO_4 3, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1。于培养液中加入 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 使之成为含有不同 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 浓度的发酵培养液,以不加 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 者为对照,自然 pH。

1.2.3 接种及培养: 在 150 mL 三角瓶中分别加入 50 mL 发酵培养液,灭菌后接种经斜面、平板活化、10 d 菌龄、直径为 0.5 cm 的菌种块,每瓶 10 块,重

* Address: He Donglan, Department of Chemistry, South China National College, Wuhan

何冬兰,女,1987年毕业于华中农业大学,农学硕士,现为中南民族学院化学系生化教研室主任,副教授,主要从事微生物学方面的教学和科研,目前主要致力于稀土对微生物的生物学效应及机制研究,已发表科研论文 18 篇。

△国家民委资助项目

复 3 次。在 25℃、200 r/min 条件下振荡培养 7 d

1.3 多糖的提取及测定

1.3.1 菌体胞外多糖的提取: 从培养 7 d 后的菌丝发酵液中挑取菌丝球, 培养液于 4℃、5 000 r/min 离心 15 min, 分别收集上清液和菌体, 菌丝球于 100℃加热 10 min 使琼脂融化, 离心收集菌体, 合并 2 次所得菌体, 用蒸馏水清洗 3 次, 菌体烘干, 合并上清液备用。分别取不同浓度的 La(NO₃)₃ 发酵上清液 100 mL 于常压下蒸发浓缩至原体积的 1/5 左右, 在浓缩液中加入等体积的 95% 乙醇醇析 24 h 可观察到上清浓缩液为棕黄色, 加入 95% 乙醇后析出的沉淀为乳白色纤维状。醇析后于 4℃、5 000 r/min 离心 15 min, 沉淀用 85% 的乙醇洗涤至无还原糖为止 (用费林试剂检验)^[3], 沉淀烘干后即得胞外粗多糖。

1.3.2 菌体多糖的提取

水提法: 猴头菌丝体加入 10 倍量的水, 沸水浴中浸提 3 h, 过滤收集滤液, 滤渣中再加 10 倍量的水, 沸水浴浸提 2.5 h, 过滤收集滤液, 弃沉淀。合并 2 次上清液, 按上述方法醇析、醇洗、离心收集沉淀, 烘干即得水溶性多糖^[4]。

碱提法: 另取猴头菌丝体, 加入 1 mol/L NaOH 于 60℃水浴中浸提 3 h, 过滤收集滤液, 滤渣中加入 1 mol/L NaOH 再浸提 2.5 h, 过滤收集上清液, 同上法醇析、醇洗, 收集沉淀, 烘干得碱溶性多糖。

1.3.3 多糖的水解及测定: 提取的多糖加热水溶解后, 4℃、7 000 r/min 离心 15 min 去除不溶物, 定容。各取 5 mL 多糖液, 加入 5 倍体积的 2 mol/L 的 HCl, 分装于安瓿瓶中, 充氮气封管, 沸水中水解 8 h, 所得水解液用 2 mol/L 的 NaOH 中和后, 再用蒽酮法测定糖含量^[5]。

2 结果与讨论

La(NO₃)₃ 影响菌丝胞外多糖的产生 (表 1)。当 La(NO₃)₃ 浓度为 0.5 mmol/L 时, 胞外多糖含量均高于对照, 且以 0.5 mmol/L 的 La(NO₃)₃ 对胞外多糖的分泌促进作用最为明显, 发酵液中多糖含量达 12.06%, 比对照高 126.69%, 当 La(NO₃)₃ 高于 1.0 mmol/L 时, 发酵液中的胞外多糖含量明显低于对照, 且随 La(NO₃)₃ 浓度的增加而急剧下降。说明低浓度的 La(NO₃)₃ 可促进菌丝分泌胞外多糖, 而浓度较高时 (> 0.75 mmol/L) 则抑制胞外多糖的分泌。

表 1 La(NO₃)₃ 对猴头多糖产生的影响 (含量, %)

La(NO ₃) ₃ (mmol/L)	参比	0.05	0.5	0.75	1.0	1.5
胞外多糖	5.32	5.43	12.06	4.96	3.73	2.85
水提多糖	0.85	0.70	0.73	1.02	0.77	0.65
碱提多糖	1.70	1.16	1.22	1.78	1.53	1.28

不同浓度的 La(NO₃)₃ 对猴头多糖合成有不同影响 (表 1)。La³⁺ 较低时 (< 0.5 mmol/L), 菌丝多糖含量比对照低, 当 La³⁺ 浓度为 0.75 mmol/L 时, 菌体多糖含量达到最高, 水提、碱提分别比对照高 19.44% 和 4.7%, 在高于 0.75 mol/L 时多糖含量又急剧下降, 且随浓度增加而下降, 说明菌丝多糖积累的最适 La³⁺ 浓度为 0.75 mmol/L, 且对于猴头菌体多糖而言, 碱提法多糖得率高于水提法, 这与灵芝多糖的提取效果一致^[4]。

参考文献

1 黎九贤, 等. 食用菌袋料培植新法. 北京: 科学普及出版社, 1993: 149
2 袁伏中, 等. 稀有金属, 1995, 19(6): 4437
3 刘作喜, 等. 食用菌, 1996, 7: 6
4 李兆兰, 等. 中草药, 1994, 25(1): 17
5 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1979: 30

(1999-07-16 收稿)

津医广证字 (99) 第 0441 号

山西运城市医药科学研究所

诊疗科目

眼科: 视网膜、黄斑病变、玻璃体混浊、视神经萎缩。

诊疗方法

针对病因、病症用中药、针刺手段, 结合西医治疗。

从业医师

薛军宏主任医师

诊疗时间

全天应诊

诊疗地点和通信方式

山西运城市 (市二招东侧) 红旗西街 53 号 (044000) 医药科学研究所专家医院门诊大楼 电话 (0359) 2028840 2026506

(14. 8), 134(6. 6) NOE实验,照射 3. 71, 3. 91峰, 7. 92-H均产生增益,结合二者不同的化学位移,确定 3. 71为 1位 OCH₃, 3. 91峰 10位 OCH₃ 照射 6. 81-H,仅 2. 94-2. 97-H产生增益,确定 6. 81-H在 8位, OH位 9位 对照文献^[14]鉴定化合物IV为 thalisopyrine

化合物V: 黄色粉末 (MeOH), mp 205℃~ 206℃, UV, ¹H, ¹³CNMR数据与文献^[5]对照鉴定化合物V为异槲皮苷。

化合物VI: 淡黄色针晶 (丙酮), mp 73℃~ 75℃, ¹HNM R (CDCl₃) δ 2. 04 (3H, s, -CH₃), 2. 78 (2H, t, J= 7. 1 Hz, CH₂-), 4. 22(2H, t, J= 7. 1 Hz, CH₂-O), 6. 28(2H, br. s, D₂O交换消失, -OH), 6. 60 (1H, d, J= 7. 9 Hz, Ar-5'-H), 6. 72(1H, d, J= 2. 0

Hz, Ar-2'-H), 6. 79(1H, dd, J= 7. 9, 2. 0 Hz, Ar-4'-H); ¹³CNMR (CDCl₃) δ 21. 0(-CH₃), 34. 3(-CH₂-), 65. 6(CH₂-O), 111. 5(C-2'), 115. 9(C-5'), 121. 2(C-6'), 130. 3(C-1'), 142. 5(C-4'), 143. 0(C-3'), 172. 4(-C=O); EI-MS m/z(%): 196(M⁺, 3. 0), 137(10. 3), 136(100), 123(41. 9), 77(8. 3), 51(6. 7), 43(38. 0),鉴定化合物VI为 3, 4-dihydroxy phenylethyl acetate

参考文献

- 1 Shobha T, *et al.* Phytochemistry, 1972, 11: 1149
- 2 Hm U, *et al.* Phytochemistry, 1972, 11: 3057
- 3 Helene G, *et al.* J Nat Prod, 1975, 38(4): 285
- 4 Helene G, *et al.* J Nat Prod, 1983, 46(6): 791
- 5 于德泉,等. 分析化学手册 (第五册). 北京: 化学工业出版社, 1989 758

(1999-04-02收稿)

螺旋藻酸性杂多糖的分离纯化和分析[△]

广西师范大学化学化工系 (桂林 541004) 张文雄* 梁 宏 覃海错 黄文榜

摘 要 螺旋藻藻粉经热水抽提,乙醇沉淀,Sevag法去蛋白质,十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB)沉淀得酸性杂多糖,再经 DEAE纤维素柱层析分级纯化两次得多糖 PSP₁和 PSP₂。PSP₁和 PSP₂经 HPLC的 Carbohydrate Analysis柱层析为单一对称峰,证明为均一多糖。纸层析和硫酸-呋唑反应分析表明: PSP₁主要由 D-半乳糖、D-甘露糖、葡萄糖醛酸及 D-葡萄糖四种残基组成,比例为 2. 1: 3. 0: 1. 9: 2. 8; PSP₂主要由 D-甘露糖和葡萄糖醛酸两种残基组成,比例为 6. 2: 3. 8。由粘度法测得其分子量分别为 12 400和 16 800。IR、¹HNM R和 ¹³CNM R证明: SP₁主要含 α型糖苷键及部分 β型糖苷键, PSP₂主要含 α型糖苷键。

关键词 螺旋藻 酸性杂多糖 PSP₁ PSP₂

Separation, Purification and Structural Analysis of Acidic Heteropolysaccharides from *Spirulina platensis*

Department of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University (Guilin 541004) Zhang Wenxiong, Liang Hong, Qin Haicuo and Huang Wenbang

Abstract Crude polysaccharides were prepared by ethanol precipitation of the hot water extract of powdered *Spirulina platensis* and deproteinized by Sevag method. Complex acidic heteropolysaccharides of *S. platensis* (PSP₁) and (PSP₂) were then obtained by further treatment with cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) and chromatographed on DEAE-cellulose column. Their homogeneity was proved by HPLC carbohydrate analysis. Their mean molecular weights were estimated to be 12 400 and 16 800, respectively. According to paper partition chromatography (PPC) and Dische analysis, PSP₁ proved to be composed of D-galactose, D-mannose, glucuronic acid and D-glucose in a molar ratio of about 2. 1: 3. 0: 1. 9: 2. 8 and PSP₂ was composed of D-mannose and glucuronic acid in a molar ratio of about 6. 2: 3. 8. IR, ¹HNM R and ¹³CNM R indicated that PSP₁ had α and β configurations, and PSP₂ had α configuration.

Key words *Spirulina platensis*, *S. platensis* polysaccharide (PSR) *S. platensis* polysaccharide (PSB)

螺旋藻的主要成分是蛋白质,占干重的 60%~ 70%,且包含人体所需的 8种氨基酸及多种生物活

* Address Zhang Wenxiong, Department of Chemistry and Chemical Industry, Guangxi Normal University, Guilin

张文雄 1973年生, 1996年毕业于湖南师范大学化学系, 当年入广西师范大学攻读有机化学硕士研究生, 从事螺旋藻的研究与开发工作, 已发表相关文章 3篇。1999年入南开大学化学系攻读有机专业博士研究生。

[△]广西高校自然科学基金资助项目 (桂教高科 [1995]408号)