

Gesualdo Siniscalco Gigliano(\*)

**Analisi gascromatografica  
dei monosaccaridi delle mucillagini  
di *Encephalartos longifolius* Lehm. (Zamiaceae)**

Le Cycadales rappresentano un gruppo di spermatofite primitive, a distribuzione pantropicale, con aspetti biologici molto ben tipizzati. Sono caratterizzate, tra l'altro, dalla presenza di radici coralloidi (LAMONT & RYAN, 1977; DE LUCA & SABATO, 1980), di spermi ciliati (DE LUCA & SABATO, 1979) nonché di un sistema di canali mucipari diffusi essenzialmente nel fusto, nel rachide e nelle nervature principali delle foliole (CHAMBERLAIN, 1935).

Per quanto riguarda i canali mucipari, essi sono costituiti da cavità schizo-lisigene delimitate da uno strato di cellule secretrici. Probabilmente le mucillagini vengono prodotte nel protoplasma delle cellule epiteliali da cui defluiscono nel lume dei canali (PANT, 1973).

Non è stata determinata la funzione di queste mucillagini, ma la loro capacità di imbibirsi e di trattenere l'acqua ha fatto pensare ad un meccanismo di difesa messo in atto dalla pianta per prevenire un'eccessiva traspirazione nei periodi di siccità. Va ricordato, inoltre, che da lesioni provocate sul fusto o sul rachide queste mucillagini defluiscono all'esterno ed in seguito solidificano assumendo l'aspetto di gomme che svolgono una funzione protettiva per la pianta dagli agenti esterni.

Relativamente alla composizione chimica di queste mucillagini lo studio più completo (STEPHEN & DE BRUYN, 1967) ha ri-

---

(\*) Orto Botanico, Facoltà di Scienze, Università di Napoli, Via Foria 223, Napoli (Italy).

guardato l'analisi cromatografica su colonna di una gomma di un esemplare femminile di *E. longifolius*, specie endemica della zona orientale della Provincia del Capo in Sud Africa (GIDDY, 1974). Da questo lavoro è risultato che la gomma è un polisaccaride, la cui composizione in monosaccaridi è la seguente: 3-0-metil-L-ramnosio; L-ramnosio; L-fucosio; D-xilosio; D-mannosio; L-arabinosio e D-galattosio.

A causa della scarsità di dati sulla composizione chimica di questi composti, molti morfologi continuano ad indicare queste mucillagini col termine di resine. Un esempio è dato da BIERHORST (1971) il quale conserva questo termine, pur ricordando che altri Autori parlano di mucillagini trattandosi di composti solubili in acqua e non contenenti terpeni.

Nel presente lavoro viene analizzata, con tecnica gascromatografica, la composizione in monosaccaridi delle gomme di *E. longifolius*, al fine di verificare se essa presenti o meno variabilità in individui diversi per sesso, età e condizioni di crescita.

Tale lavoro costituisce una ricerca preliminare per ulteriori studi da effettuarsi sui vari generi di Cycadales.

#### MATERIALE E METODI

Sono state analizzate gomme raccolte, in periodi diversi dell'anno, da 7 esemplari di *E. longifolius* distinti per età, sesso e viventi all'aperto od in serre nell'Orto Botanico di Napoli.

Le mucillagini venivano fatte fuoriuscire da rachidi incisi trasversalmente e raccolte come gomme alcune settimane dopo il taglio, quando erano completamente solidificate.

*Estrazione.* 0,5 g di gomma erano disciolti a caldo (40°C) in 20 ml di acqua e tenuti su agitatore magnetico fino a completa solubilizzazione. Lo sciroppo ottenuto veniva filtrato su setto poroso (R4) per eliminare le particelle di rachide eventualmente

inglobate dalla gomma durante l'indurimento o durante l'operazione di prelievo. Allo sciroppo filtrato veniva aggiunto gradualmente etanolo 95% fino a completa precipitazione del polisaccaride. Il precipitato, dopo centrifugazione a 2000 rpm per 10 minuti, veniva lavato 5 volte con una miscela di etanolo 95% - acqua, preparata nello stesso rapporto che aveva determinato la precipitazione.

Il polisaccaride veniva quindi portato a secco a 40°C sotto vuoto.

*Idrolisi.* 10 mg di polisaccaride erano idrolizzati a 100°C per 30 minuti, in fiala di vetro, con HCl 1N (1 ml) contenente sorbitolo come standard interno (1 mg/ml).

*Preparazione dei silil derivati.* L'estratto idrolizzato era portato a secco, sotto vuoto a 40°C, quindi ripreso con 200 µl di trimetilclorosilano-esametildisilazano-piridina nel rapporto 1:3:9 (SIGMA SIL-A). Dopo 10 minuti veniva centrifugato a 2000 rpm per 10 minuti ed 1 µl veniva iniettato al gascromatografo.

*Analisi dei monosaccaridi.* Per i dosaggi è stato utilizzato un gascromatografo PYE Unicam con rivelatore ad ionizzazione di fiamma. La colonna (PHILIPS), in vetro, da 2 m X 4 mm, era riempita con OV 1 3% 100-120 mesh. Le condizioni operative, secondo la metodica di WELLS, YANG, BOLZER & MICKELSEN (1968) da noi parzialmente modificata, erano le seguenti: temperatura della colonna 180°C; temperatura injector e detector 230°C; gas di trasporto azoto 40 ml/min.

I monosaccaridi furono identificati e quantizzati mediante i seguenti standard puri forniti dalla SIGMA CHEM. Co. (USA): D(—)lixosio; D—eritrosio; β—D(+)-glucosio; D(+)-xilosio; L(—) fucosio; D(—)ribosio; α—L—ramnosio; D—sedoeptulosio; L(+)-arabinosio; D(+)-mannosio; D(+)-galattosio; β—D(—)fruttosio.

Gli standard, prima della loro utilizzazione, venivano idrolizzati secondo la procedura sopra descritta.

Come standard di 3-O-metil-ramnosio è stato utilizzato un campione di questo composto, da noi isolato da una gomma idro-

lizzata di *E. longifolius* mediante cromatografia su colonna di cellulosa; l'eluente era costituito da una miscela di etere di petrolio 100-120° e n-butanolo (7:40) satura d'acqua (STEPHEN & DE BRUYN, 1967). Le frazioni contenenti il 3-0-metil-ramnosio, primo componente eluito dalla colonna (STEPHEN & DE BRUYN, 1967), venivano riunite, portate a secco, trattate con SIGMA SIL-A ed infine iniettate al gascromatografo. In tal modo fu possibile conoscere il tempo di ritenzione di questo monosaccaride.

A conferma che questo zucchero fosse il 3-0-metil-ramnosio, un campione così ottenuto, dopo essere stato demetilato con acido bromidrico (HOUGH, JONES & WADMAN, 1950), fu iniettato al gascromatografo: il tempo di ritenzione risultò coincidere con quello dello standard di ramnosio.

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

I monosaccaridi da noi isolati e determinati come componenti le mucillagini di *E. longifolius* sono: 3-0-metil-ramnosio, ramnosio, fucosio, arabinosio, mannosio e galattosio.

I valori quantitativi di questi zuccheri sono riportati nella Tabella I.

Nella tabella non figura il 3-0-metil-ramnosio, del quale non è stato possibile determinare le quantità, mancando il relativo standard puro. La sua presenza è stata comunque accertata da una specifica analisi qualitativa.

In base ai nostri dati risulta che la composizione in monosaccaridi delle mucillagini di diversi individui di *E. longifolius* è costante da un punto di vista sia qualitativo che quantitativo ed è indipendente dall'età della pianta, dal sesso, dalle condizioni di crescita e dall'epoca del prelievo.

È interessante notare che, tra i vari individui esaminati, un'analogia corrispondenza di composizione è risultata anche per il 3-0-metil-ramnosio e per i monosaccaridi non identificati. I quantitativi di questi ultimi zuccheri, infatti, pur se non deter-

Tabella I - Monosaccaridi delle mucillagini di diversi esemplari di *Encephalartos longifolius* Lehm.\*

	117	118	126	128	129	273	278	MEDIA
	♂	♂	♀					
RAMNOSIO	mg/g 0,5845	96,63 0,5825	96,00 0,5847	95,63 0,5825	95,94 0,5844	95,91 0,5842	95,94 0,5844	96,00 ± 0,28 0,5839 ± 0,0009
FUCOSIO	mg/g 0,3002	48,88 0,2977	49,35 0,3006	49,30 0,3003	49,91 0,2979	49,28 0,3002	49,30 0,3003	49,33 ± 0,28 0,2996 ± 0,0011
ARABINOSIO	mg/g 1,3061	195,80 1,3042	196,00 1,3055	194,51 1,2956	195,88 1,3047	196,54 1,3091	195,52 1,3023	195,76 ± 0,58 1,3039 ± 0,0039
MANNOSIO	mg/g 0,0461	8,40 0,0466	8,26 0,0458	8,39 0,0466	8,30 0,0461	8,40 0,0466	8,33 0,0462	8,34 ± 0,05 0,0463 ± 0,0003
GALATTOSIO	mg/g 1,4170	254,74 1,4140	256,71 1,4249	257,24 1,4278	256,86 1,4257	256,10 1,4215	256,96 1,4263	256,27 ± 0,86 1,4224 ± 0,0048

\* Gli esemplari sono indicati dal numero di catalogo. I campioni 117 e 118 appartengono alla Collezione Califano dell'Orto Botanico di Napoli. Degli esemplari 128, 129, 273 e 278 non è noto il sesso.

minati, sui cromatogrammi sono rappresentati da aree uguali per i vari individui.

Dalla Tabella I risulta, inoltre, che l'arabinosio ed il galattosio sono i monosaccaridi più abbondanti, rappresentando da soli oltre i  $2/3$  in peso dei monosaccaridi determinati; la parte rimanente è costituita in gran parte dal ramnosio e dal fucosio ed in percentuale nettamente più bassa dal mannosio.

Gli zuccheri da noi ritrovati sono gli stessi riportati da STEPHEN & DE BRUYN (1967), con l'unica eccezione dello xilosio.

Questo zucchero tuttavia è stato da noi riscontrato nell'idrolizzato del liquido di lavaggio del polisaccaride; ciò fa ritenere che lo xilosio faccia parte di un oligosaccaride, misto al polisaccaride della gomma, da cui si separa durante la procedura di estrazione.

L'assoluta corrispondenza qualitativa e quantitativa, da noi riscontrata nella composizione in monosaccaridi delle mucillagini di diversi individui di *E. longifolius*, fa ritenere che anche la composizione dei polisaccaridi delle mucillagini sia costante in questa specie.

Sulla base dei risultati ottenuti in questo lavoro, ci si propone di estendere la ricerca a tutti i rappresentanti del genere, per verificare se la composizione delle mucillagini sia costante a livello dell'intero genere o invece costituisca un carattere specifico e pertanto utilizzabile a fini chemiotassonomici.

#### RINGRAZIAMENTI

L'Autore ringrazia per l'assistenza tecnica il Sig. Gioacchino Vallariello dell'Orto Botanico di Napoli.

## RIASSUNTO

L'Autore ha studiato, con tecnica gascromatografica, la composizione in monosaccaridi della mucillagine di diversi individui di *Encephalartos longifolius* Lehm. Sono stati identificati i seguenti monosaccaridi: ramnosio, fucosio, arabinosio, mannosio, galattosio e 3-0-metil-ramnosio.

È risultato, inoltre, che la composizione qualitativa e quantitativa dei monosaccaridi è costante in tutti gli individui esaminati e non viene influenzata dall'età della pianta, dal sesso, dalle condizioni di crescita e dall'epoca di raccolta.

## SUMMARY

The Authors has studied with gaschromatographic methods monosaccharide composition of the mucilage in a numer of individuals belonging to the species *Encephalartos longifolius* Lehm.

The following monosaccharides were identified: rhamnose, fucose, arabinose, mannose, galactose and 3-O-methyl-rhamnose.

Furthermore the research has pointed out that qualitative and quantitative monosaccharide composition is constant in all the specimens investigated and is not influenced by age, sex and growth condition of the plants.

BIBLIOGRAFIA

- BIERHORST D. W., 1971. *Morphology of vascular plants*. The McMillan Company, New York, 369-389.
- CHAMBERLAIN C. J., 1935. *Gymnosperms, structure and evolution*. The University of Chicago Press, 60-164.
- DE LUCA P. and SABATO S., 1979. *In vitro spermatogenesis of Encephalartos Lehm.* Caryologia, 32 (2): 241-245.
- DE LUCA P. and SABATO S., 1980. *Regeneration of coralloid roots on cycad megagametophytes*. Plant Sc. Letters, 18: 27-31.
- GIDDY C., 1974. *Cycads of South Africa*. Purnell Cape Town, 91-92.
- HOUGH L., JONES J. K. N. and WADMAN W. H., 1950. *Part V. Improved methods for the separation and detection of the sugars and their methylated derivatives on the paper chromatogram*. J. Chem. Soc., 2: 1702-1706.
- LAMONT B. B. and RYAN R. A., 1977. *Formation of coralloid roots by cycads under sterile conditions*. Phytomorphology, 27 (4): 426-429.
- PANT D. D., 1973. *Cycas and Cycadales*. Central Book Dept, Allahabad.
- STEPHEN A. M. and DE BRUYN D. C., 1967. *The gum exudate of Encephalartos longifolius Lehm. (Female) (Family Cycadaceae)*. Carbohydr. Res., 5: 256-265.
- WELLS W. W., YANG M. G., BOLZER W. and MICKELSEN O., 1968. *Gas-liquid chromatographic analysis of cycasin in cycad fleur*. Analyt. Biochem., 25: 325-329.