

# 18 种不同来源灵芝的多糖含量测定\*

□ 徐凌川\*\* 许昌盛 (山东中医药大学 济南 250014)

**摘 要:**目的:比较 18 种不同来源灵芝的多糖含量差异。方法:采用超声法提取,以 0.2% 蒽酮-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 显色,紫外分光光度法测定多糖含量。结果:不同来源灵芝中多糖含量具有明显差异,以东北大袋料培养的灵芝多糖含量最高为 2.74%,以广东野生赤芝含量最低为 1.60%。结论:不同来源的灵芝由于地理环境因素和培养条件的不同,多糖含量存在明显差异,提示不能简单的以灵芝产地和栽培条件评价其质量。本实验为灵芝内在质量评价和为扩展灵芝资源提供参考依据。

**关键词:**灵芝 多糖 含量测定

灵芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr) Karst, 隶属灵芝科灵芝属,在中国古称瑞草,也叫长生草、仙草、灵草等,是一种珍贵药、食两用菌。灵芝性温、味甘、微苦,有益心气、生血、助心安神、益肺气、坚筋骨、利关节、安神补肝等多种功能<sup>[1]</sup>。现代科学研究表明,灵芝含有多糖、多种氨基酸、甾类、三萜类、生物碱、有机酸、甘

露醇等多种生物活性物质,并含有多多种微量元素<sup>[2]</sup>;特别是灵芝多糖因具有抗肿瘤作用<sup>[3~4]</sup>,还能提高机体免疫力<sup>[5]</sup>、耐缺氧能力、消除体内自由基<sup>[6]</sup>、抗辐射、提高肝脏解毒功能、降血糖、降血脂<sup>[7]</sup>等,而被广泛关注,被认为是灵芝扶正固本的主要有效成分<sup>[8]</sup>。但由于野生资源缺乏,近 20 年来许多地区进行了灵芝人工栽培,本实验测定了不同来源的 18 种灵芝中的多糖含量,旨在为中药灵芝的规

范化种植提供品质考察依据,进而为灵芝药材质量标准提供部分依据。

## 一、材料、仪器及试剂

### 1. 材料

灵芝由山东中医药大学徐凌川副教授收集并鉴定,见表 1。

### 2. 仪器

超声波清洗器 KQ-250E(昆山市超声仪器有限公司);双光束紫外可见分光光度计 760CRT(上

收稿日期:2003-09-22

修回日期:2003-11-18

\* 山东中药现代化科技产业基地关键技术研究子课题(2001BA701A23-07):灵芝规范化种植关键技术研究,课题负责人:徐凌川。

\*\* 联系人:徐凌川,副教授,主要从事中药鉴定及资源研究, Tel: 0531-2964928, E-mail: xulingchuan518@sina.com。

[ World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica ] 57

表 1 灵芝品种及来源

编号	样品名	拉丁名	栽培条件	产地	收集时间
1	泰山赤灵芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	段木培养	山东泰安	2002. 9
2	京大 6 号	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	袋料	北京大兴	2002. 9
3	赤灵芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	段木培养	陕西秦岭	2003. 2 购
4	灵芝草	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	袋料	山东泰安	2002. 8
5	赤灵芝(个)	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	菌草培养	福建	2002. 8
6	黑芝	<i>G. atrum</i> Zhao, Xu et Zhang	段木	广西	2002. 12 购
7	灵芝(片)	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	菌草培养	福建	2002. 8
8	华宇灵芝片	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	段木	广西	2002. 11 购
9	紫芝	<i>G. sinense</i> Zhao, Xu et Zhang	野生	广东	2002. 11 购
10	赤芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	野生	广东	2002. 11 购
11	黑芝	<i>G. atrum</i> Zhao, Xu et Zhang	袋料	山东金乡	2003. 1 购
12	灵芝(片)	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	段木	福建	2002. 8
13	大灵芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	东北大袋料	吉林	2002. 12
14	韩芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	袋料	山东金乡	2003. 1 购
15	泰山赤灵芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	袋料	山东泰安	2002. 11 购
16	灵芝(个)	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	段木	福建	2002. 8
17	灵芝	<i>G. lucidum</i> (Leyss. ex Fr) Karst	野生	山东昆崙山	2002. 9
18	紫光灵芝	<i>G. valesiacum</i> Boud	野生	云南	2001. 8

海光学仪器厂);高速中药粉碎机 HX-200 型(浙江省永康市溪岸五金药具厂);旋转蒸发仪 RE-52A(上海亚荣生化仪器厂);恒温水浴锅;索氏提取器;高速离心机。

### 3. 试剂

新配 0.2% 蒽酮乙酸乙酯试剂,无水葡萄糖对照品(105℃干燥恒重)及其他分析纯试剂。

## 二、方法与结果

### 1. 灵芝多糖的提取与精制

称取灵芝粉末 30g, 乙醚 480ml 回流两次,每次 1h;再用甲醇 480ml 回流提取两次,每次 1h。将药渣加水 360ml,沸水浴提

取两次,每次 1.5h,合并两次提取液,高速离心机 2400 转/分,离心 20min。旋转蒸发仪上减压浓缩至 350ml,加少量活性炭脱色,过滤,滤液加 95% 乙醇使其含醇量为 80%,放置过夜,抽滤后的沉淀以 200ml 水溶解重复醇沉一次。沉淀分别以无水乙醇、丙酮、乙醚多次洗涤,60℃干燥,即得灵芝多糖。

### 2. 标准曲线的制备

(1) 0.1% 葡萄糖标准液的配制。

精密称取干燥至恒重的无水葡萄糖 0.1g,配成 100ml 溶液,摇匀,即得 0.1% 葡萄糖标准液。

(2) 0.2% 蒽酮 - 乙酸乙酯显

色剂的配制。

精密称取 0.4g 蒽酮,溶于 200ml 乙酸乙酯,摇匀,置于棕色瓶中保存。

(3) 多糖最大吸收波长的测定。

精密吸取 0.1% 葡萄糖标准液 1.0ml,用蒸馏水定容至 50ml,取 1ml 加入干燥的 10ml 具塞试管中,再加入 4ml 浓  $H_2SO_4$ ,摇匀,5min 后加 1ml 0.2% 蒽酮 - 乙酸乙酯显色剂,100℃水浴加热 10min 取出放至室温。设定扫描条件为狭缝 2.00nm,采样间隔 1.00nm,在 500 ~ 700nm 之间进行扫描,扫描速度慢速。测得灵芝多糖的最大吸收波长为 618nm,吸收度为 0.116,透过率为 76.6%。

(4) 标准曲线的绘制。

分别精密吸取 0.1% 葡萄糖标准液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0ml,用蒸馏水分别定容至 50ml,分别取 1ml 加入干燥的 6 支 10ml 具塞试管中,并编号,再分别加入 4ml 浓  $H_2SO_4$ ,摇匀,5min 后加 1ml 0.2% 蒽酮 - 乙酸乙酯显色剂,100℃水浴 10min,后取出放至室温。取 1ml 蒸馏水,以浓  $H_2SO_4$  为空白对照,618nm 测吸收度,结果见表 2。

以吸收度为纵坐标,以无水葡萄糖浓度为横坐标,运用 The SAS System for Windows V8 数学统计应用软件进行数据分析,标准曲线方程为:  $A = 0.0066 \times C - 0.0739$  ( $r = 0.9992$ ),葡萄糖的浓度在 20 ~ 120ug/ml 范围内与吸收度呈良好的线形关系。

表2 灵芝多糖标准曲线

试管编号	浓度 (ug/ml)	吸收度 (A)
1	20.26	0.066
2	40.52	0.186
3	60.78	0.321
4	81.04	0.451
5	101.3	0.600
6	121.56	0.721

### 3. 换算因素的测定

精密称取灵芝多糖 18.00mg, 置 100ml 容量瓶中, 加少量蒸馏水溶解并定容至刻度, 取 2ml 用蒸馏水定容至 10ml, 得多糖供试液。精密量取 1ml, 按标准曲线项下的方法测定吸收度, 代入标准曲线方程计算出供试液中葡萄糖的浓度 C, 按下式计算出换算因子:  $f = W / CD$ 。式中 W 为多糖重量 (ug), C 为多糖溶液中葡萄糖的浓度, D 为灵芝多糖的稀释因素。测得  $f = 1.7948$ 。

### 4. 灵芝多糖含量比较

精密称取 18 种灵芝各 3g, 按 10 倍量水 50℃ 超声提取两次, 每次 20min, 合并提取液, 过滤并缩至 100ml 容量瓶定容, 摇匀, 作为样品供试液。精密量取 0.15ml, 加水 0.85ml 至干燥的试管中, 按标准曲线项下的方法测定吸收度, 代入标准曲线方程计算出供试液中葡萄糖的浓度 C, 按下式计算多糖含量: 多糖含量 (%) =  $CDf / W \times 100$ 。式中 C 供试液中葡萄糖的浓度 (ug/ml), D 为供试品溶液的稀释因子, f 为换算因子, W 为供试品重量 (ug), 结果见表 3。灵

表3 不同来源灵芝的多糖含量

样品	药材 (g)	水分 (%)	吸收度	浓度 (ug/ml)	多糖含量 (mg)	含量百分数 (%)
1	3.1742	10.62	0.3293	61.0960	73.1034	2.57
2	3.0806	12.90	0.2628	51.0202	61.0474	2.28
3	3.0540	12.63	0.2730	52.5606	62.8905	2.36
4	3.0100	12.76	0.2467	48.5707	58.1165	2.21
5	3.2015	13.51	0.2447	48.2671	57.7539	2.09
6	3.0280	12.90	0.1863	39.4293	47.1785	1.79
7	3.2178	10.88	0.3257	60.5404	72.4386	2.53
8	3.1299	14.32	0.2417	47.8131	57.2100	2.13
9	3.2736	11.92	0.2113	43.2172	51.7108	1.79
10	3.3327	12.26	0.1840	39.0758	46.7554	1.60
11	3.2278	12.76	0.2130	43.4697	52.0129	1.85
12	3.2140	16.37	0.2330	46.5000	55.6388	2.07
13	3.0188	13.56	0.3207	59.7828	71.5321	2.74
14	3.306	12.92	0.2237	45.0859	53.9467	1.87
15	3.2126	12.53	0.2457	48.4192	57.9352	2.06
16	3.3007	16.16	0.2860	54.5303	65.2473	2.36
17	3.3589	11.00	0.3470	63.7727	76.3062	2.55
18	3.6016	172.29	0.3543	64.8838	77.6357	2.46

\* 皆为 3 次平均值。

芝多糖含量平均值为 2.18%, 标准偏差为 0.322%。

## 三、讨 论

### 1. 实验方法

本实验采用的超声提取方法由正交试验所得, 并经方法学考察证明该方法稳定性高、重现性好、精密度高。

### 2. 不同来源灵芝的多糖含量

以灵芝有效成分之一灵芝水溶性多糖作为灵芝质量标准进行了测定和比较, 结果表明不同来源的灵芝由于其人工栽培条件和生长环境的不同等因素, 导致多

糖含量具有明显的差异, 以东北大袋料培养的灵芝多糖含量最高, 为 2.74%, 山东泰安产的泰山赤灵芝多糖含量略低于东北产的大灵芝, 以广东野生赤芝的多糖含量最低, 为 1.60%。

### 3. GAP 种植品种选择

目前市场上灵芝的品种较多, 质量也参差不齐, 也缺乏统一的国家质量标准。本实验为灵芝的内在质量评价和扩展灵芝资源提供了参考依据, 建议药典增补灵芝多糖含量测定方法及标准。

从商品的流通量上看, 大灵芝未形成主流商品, 其成本高、产

量少,一般市场价每公斤 100 元以上,且不多见。而泰山赤灵芝产量大,已形成商品的主流,而且久负盛名,一般市场价每公斤约 40 元,易为商家接受。因此,我们在选择灵芝 GAP 种植品种上应以泰山赤灵芝为首选品种。另外,近年来韩芝也较盛行,因其产量高、易管理,而为药农所青睐,但从该实验来看其多糖含量不算高,选择种植时应综合考虑。福建菌草研究所的菌草培养灵芝获得成功<sup>[9]</sup>,其优越性是以杂草取代段木或棉子皮,降低了生产成本,试验证明其灵芝多糖也在平均值以上,其培养和生产方法是可行的。

#### 参考文献

- 赵根楠. 中国菇类栽培手册. 北京: 科学普及出版社, 1991.
- 陈国良, 陈晓清. 灵芝有效成分研究综述 [J]. 中国食用菌, 1995, 14: (4) 7 ~ 9.
- 方一苇. 具有药理活性多糖的研究现况 [J]. 分析化学, 1994, 22(9) 955 ~ 960.
- Li-zhen Cao, Zhi-bin Lin. Regulation of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides on Cytotoxic T Lymphocytes Induced by Dendritic Cells in Vitro. *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics*. Beijing Medical University Press. 2002: 122 ~ 129.
- 李明春, 梁东升, 许自明等. 灵芝多糖对小鼠巨噬细胞 cAMP 含量的影响 [J]. 中国中药杂志 2000 25(1) 41 ~ 43.
- Lin-sheng Lei, Ming-chun Li, Li-sha Sun. *Ganoderma lucidum* and Its Components On the Functions of Macrophages. *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics*. Beijing Medical University Press. 2002: 20 ~ 23.
- 金春花, 姜秀莲, 王英军等. 灵芝多糖活血化瘀作用实验研究 [J]. 中草药, 1998, 29(7): 470 ~ 472.
- 李容芷. 从灵芝扶正固本有效成分灵芝多糖的发现讨论中药活性研究的方法途径 [J]. 北京医科大学学报, 1987, 119(6): 431.
- Zhan-xi Lin, Hui Lin, Ying-xing Lin, et al. Research on JUNCAO Species and Cultivate Substrate Formulas for *Ganoderma lucidum* Cultivation. *Ganoderma: Genetics, Chemistry, pharmacology and Therapeutics*. Beijing Medical University Press. 2002: 84 ~ 89.

(责任编辑 刘维杰 郭 静)

### 我国食品药品质量监测技术基金设立

2003 年 11 月 1 日, 中国科学技术发展基金会食品药品质量监测技术基金在北京设立。国家食品药品监督管理局局长郑筱萸任基金管理委员会名誉主任, 中国药学会名誉理事长周海钧担任基金管理委员会主任。

据周海钧介绍, 该基金隶属中国科学技术发展基金会, 由民政部、中国科协领导。其宗旨是争取政府、社会团体和个人的支持, 建立以捐赠和自筹资金为来源的科技专项基金, 表彰奖励有突出贡献的药监、药检及其他有关人员, 资助食品、药品质量研究项目及药品质量监测研究, 资助专家学者及优秀中青年科技人员参加继续教育、学术交流和研讨活动, 协助有关部门和单位开展打击假劣药品活动。

国家食品药品监督管理局副局长邵明立, 在成立大会上说, 该基金的设立, 将动员全社会的力量, 打击假劣药品, 提高药品质量, 同时将充分发挥药品科技工作者的积极性和创新精神, 激励他们团结协作, 为保障人民的健康努力工作。

食品药品质量监测技术基金的设立, 得到了国家药典委员会、中国药品生物制品检定所的大力支持, 全国各省、市药品检验所及国内外大中型企业积极参与, 同仁堂集团等 45 家企事业单位捐助。

(文 摘)

### FDA 表示将对中药准入让步

美国 FDA 对中药在政策上的开放, 不仅有助于天然植物药产业的发展, 也有利于促进其他西方国家对中药产品态度的转变。但从长远来看, 中药要想完全打开欧美市场, 除了西方国家需要降低门槛之外, 中药也需要提高质量。

2003 年 9 月底, 刚刚赴美参加美国食品与药品监督管理局 (FDA) “中药开发和质量管理规范化”专项研讨会的中国专家们, 带回来了这一利好消息。FDA 已经口头上做了让步, 对中药准入美国市场降低了门槛。

这一次中药冲击国际市场的契机恰恰是让人闻之色变的“非典”。中药在治疗令西药束手无策的非典型性肺炎时所表现出来的效果, 促使 FDA 在每 10 年一次修改其认证标准的前夕, 向中药伸出了“友谊之手”。

2003 年 9 月底, 由 FDA 召开的“中药开发和质量管理规范化”专项研讨会, 专门邀请了来自中国各地的十余位医药专家。据目前透露的消息, 美方代表在会上表示, 要让中药进入美国市场, 中美双方都需要努力: 美国方面需要降低一点门槛, 中国方面需要提高质量。

业内人士普遍看好这次“吹风会”, 认为这是中药打开国际市场大门的前兆。有人说, 获得了 FDA 的批准或认可, 就相当于拿到了往世界各国的“通行证”, 中药要进入欧美主流市场, 这张通行证是必不可少的。

(文 摘)

effectively active microconstituents of medicines in order to promote technical transcendence in the industry of Chinese medicines and bring the traditional industry of Chinese medicines into a modern one.

**Key Words:** enzyme technology, Chinese medicine, modernization

### Theoretical Identification of Common Peaks in Fingerprint of Chinese Medicines

#### ——A W Testing and Discriminatory Method

Zou Huabin( *School of Chinese Materia Medica, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, 250014*

*and School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100*)

Yuan Jiurong( *School of Chinese Materia Medica, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014*)

Wang Wei ( *Office of Drug Inspection of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010020*)

In this study the changes of the physico-chemical properties of the chemical components of Chinese medicines have been analyzed in accordance with the laws of biological evolution. These Changes generally show in the change of substituents linking up to the groups of absorption bases of electromagnetic waves in molecules, in which the wave-length of absorption peaks of base groups is forced to shift in different degrees and assumes normal distribution. Equally, the change of the wave-length of absorption peaks in the superimposed spectra of the mixture of similar compounds presents normal distribution as well. Some changes would lead to noted variation in the structure of molecules and results in the occurrence of new absorption peaks. In this article a method of theoretical identification of common peaks in fingerprints——W testing method is first introduced according to the analysis of evolutionary laws. The analysis of experimental data shows that the said theory is rigorous and rational in the discrimination of common peaks.

**Key Words:** Chinese medicine, fingerprint, common peak, Theoretically discriminatory method

### Determination of Content of Polysaccharides of 18 Varieties of

#### Ganoderma Lucidum Karst with Different Origins

Xu Lingchuan and Xu Changsheng( *Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014*)

**Objective:** To compare the content of polysaccharides of 18 varieties of Ganoderma Lucidum Karst with different origins. **Method:** To extract their content by ultrasonic method, colour them with anthrone( - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and determine them by ultraviolet spectrophotometry. **Result:** The content of polysaccharides in Ganoderma Lucidum Karst with different origins is remarkably different. The Ganoderma Lucidum Karst cultivated in the Northeast China is the highest in

[ *World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica* ] 85



content, accounting for 2.74% and a wild one growing in Guangdong Province of China, which is called red *Ganoderma Lucidum* Karst, is the lowest in content, representing 1.60%. **Conclusion:** Owing to different geographic environment and conditions of cultivation the content of polysaccharides of *Ganoderma Lucidum* Karst with different origins is greatly different, but one cannot assess the quality of this kind of medicinal plants simply according to their origins and the conditions of their cultivation. This experiment is aimed to offer a reference for the assessment of the intrinsic quality and the development of the resources of *Ganoderma Lucidum* Karst.

**Key Words:** *Ganoderma Lucidum* Karst, polysaccharide, determination of content

### A Study on Determination of Chlorogenic Acid and Caffeine Acid In Buds of

#### *Lonicera Macrathiods* Hands Maazz

*Tong Qiaozhen, Zhou Ribao, He Youshun, Qu Weihong, Gao Jin and Luo Muhe*

*( Faculty of Materia Medica, Hunan Institute of Traditional Chinese Medicine,*

*Changsha 410004, Hunan Province, China)*

**Objective:** To scientifically assess the medicinal value of *Lonicera Macrathiods* Hands – Mazz on the basis of the content of Chlorogenic acid and caffeine acid in it. **Method** To compare the content of Chlorogenic acid and caffeine acid extracted from *Lonicera Macrathiods* Hands – Mazz produced in Hunan Province with that extracted from A – class *Flos Lonicerae* cultivated in Shandong and Henan provinces by the method of high performance liquid chromatography. **Result** The percentage content of chlorogenic acid in *Lonicera Macrathiods* Hands – Mazz from the counties of Lonhui, Xupu and Xinning in Hunan Province and that in *Flos Lonicerae* from Hennan and Shandong provinces of China respectively are as follows:  $3.967 \pm 0.2724$ ,  $2.674 \pm 0.1408$ ,  $4.514 \pm 0.0182$ ,  $2.415 \pm 0.1913$  and  $2.104 \pm 0.1684$  and the percentage content of caffeine acid in them are:  $0.0536 \pm 0.0063$ ,  $0.0424 \pm 0.0086$ ,  $0.0447 \pm 0.0033$ ,  $0.0477 \pm 0.0023$  and  $0.0647 \pm 0.00645$  respectively. **Conclusion** The content of Chlorogenic acid in the buds of *Lonicera Macrathiods* Hands – mazz is far or slightly higher than that in A – class *Flos Lonicerae* and the content of caffeine acid in the former is close to or a little bit higher than that in the latter.

**Key Words:** high performance liquid Chromatography, *Lonicera Macrathiods* hands – mazz, Chlorogenic acid, caffeine acid

### A Tentative Discussion on Making Crude Sitices of Chinese Medicinal Plants Preparations – like

*Liu Jing, Song Guangzhi and Xie Daogang*

86 [ *World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica* ]