

茯苓种植用材代用品

李 萍, 何俊蓉, 万德光, 马云桐, 宋良科, 杜小红

(西南交通大学生物工程系, 四川 成都 610000)

摘 要:比较攀西地区茯苓种植用材代用品(简称新配方 2)生长的茯苓的菌核、菌丝与商品茯苓的显微特征及多糖成分的含量差异。分别提取茯苓水溶性及碱溶性多糖, 酚-硫酸法测定茯苓多糖的含量。结果表明:新配方 2 生长的茯苓的菌核、菌丝与商品茯苓的显微特征相似, 多糖含量相近, 但提取率有较大差异。与商品茯苓比较, 新配方 2 生长的茯苓菌核多糖提取率基本一致, 菌丝的多糖提取率约低 1/4。由于新配方 2 生长的茯苓菌丝培育成本远低于商品茯苓, 提高了栽培茯苓的经济效益。可以考虑将茯苓菌丝作为茯苓替代品入药。

关键词:茯苓;代用品;显微鉴别;多糖

中图分类号:S567.3⁺2

文献标识码:A

中药茯苓种植用材代用品的研究系国家十五攻关项目“攀西地区特色生物资源综合开发与示范(编号 2001BA901A40)”的子项目。该项目利用攀西现有的资源植物研制新的配方, 组合为种植用材代用品以代替传统利用松木方法培育的茯苓(即商品茯苓), 即研究茯苓生产新型材料, 以保护松木等森林资源和生态环境。

茯苓(*Poria cocos*)为常用中药, 始载于《神农本草经》, 被列为上品。是多孔菌科真菌茯苓(*Poria cocos* (schw.) Wolf.) 的干燥菌核, 具有利水渗湿, 健脾宁心的功效, 可用于水肿尿少, 痰饮眩悸, 脾虚食少, 便溏泄泻, 心神不安, 惊悸失眠^[1]。茯苓多糖(pachyman)是茯苓中主要药效成分, 具有抑制肿瘤生长、调节机体免疫功能的作用, 广泛应用于临床。本文主要比较攀西地区茯苓种植用材代用品(简称新配方 2)生长的茯苓的菌核、菌丝与商品茯苓的显微特征及多糖成分的含量差异。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7530 紫外分光光度计(惠普-上分)

1.2 试剂

均为化学纯。

1.3 样品

材料:商品茯苓(购于成都市药材公司), 由茯苓成熟菌核分离得到茯苓菌丝为母种(琼脂、马铃薯等), 由茯苓母种扩繁得到的茯苓菌丝为原种(木屑等), 由茯苓原种扩大培养得到茯苓菌丝为茯苓栽培种(即新配方 2 生长的茯苓菌丝、菌核)。

2 显微鉴别

2.1 商品茯苓的显微特征

商品茯苓的粉末用水装片, 在显微镜下可观察到无色不规则的颗粒状团块和分支状团块;用 5% 的 NaOH 溶液装片, 可见团块溶化, 露出菌丝, 菌丝细长, 稍弯曲, 有分支, 呈无色或淡棕色。

2.2 茯苓菌丝母种的显微特征

茯苓菌丝母种的粉末, 用水装片和 5% 的 NaOH 溶液装片观察到菌丝, 菌丝细长, 稍弯曲, 有分支, 呈无色或淡棕色。

收稿日期(Received date):2003-10-16;改回日期(Accepted):2004-03-10。

基金项目(Foundation item):国家“十五”科技攻关项目(Supported by China's National Key Technologies Research and Development Program in the 10th Five-year Plan):攀西地区特色生物资源综合开发与示范(2001BA901A40)资助。[The Characteristic Bio-resource Comprehensive Exploitation and It's Demonstration in Panxi Area(Code: 2001BA901A40).]

作者简介(Biography):李萍(1962-), 女, 副教授。从事生药学和生物资源开发研究。[Li Ping(1962-), female, vice professor, research area: Pharmacognosie and Bio-resource Development. E-mail: wuping4535@sina.com]

2.3 茯苓原种菌丝的显微特征

茯苓菌丝原种的粉末,用水装片时,可见到分支状团块,也可见到少量的菌丝;用 5% 的 NaOH 溶液装片时,只能见到菌丝,菌丝细长,稍弯曲,有分支,呈无色或淡棕色。

2.4 新配方 2 生长的茯苓菌丝、菌核的显微特征

同上方法装片只能见到菌丝,菌丝细长,稍弯曲,有分支,呈无色或淡棕色。与商品茯苓的显微特征基本一致。

3 茯苓多糖的提取及测定

3.1 工艺的确定

3.1.1 茯苓水溶性多糖的提取

茯苓水溶性多糖近 20 年来研究较多,但其提取率却难以得到很明显的改善,本实验经过反复摸索,分别采用超声提取、高压锅提取、酶水解后提取、有机溶剂预处理后提取等方法,比较提取率,从而选用复合方法提取。即将茯苓粉末(过 40 目筛)适量,用乙酸乙酯、丙酮于索氏提取器分别提取 4 h,药渣加入催化酶酶解,于 60~70 ℃ 浸泡 40 min,再依次用 5 倍量、3 倍量、2 倍量的沸水提取 1 h。合并水提液,滤过,滤液浓缩至 1/10,用 Severage 法除蛋白。上清液加入 3 倍量的乙醇沉淀多糖,冷藏 12 h,离心,收集沉淀,低温干燥,即得。

对此提取工艺进行验证,结果如表 1。

表 1 茯苓水溶性多糖提取工艺验证结果

Table 1 Results of extracting pachyman by boiling water

实验号	1	2	3
提取率(%)	1.97	1.92	2.03

由上可知,该工艺稳定可行。

3.1.2 茯苓碱溶性多糖的提取

茯苓碱溶性多糖含量较高,提取方法相对简单,所得提取率较稳定。即将水提后的药渣用稀 NaOH 溶液提取,碱提液离心,所得上清液以 10% 的醋酸中和,3 倍量乙醇沉淀,再提纯即得。综合考虑了生产可行性及经济性,经反复试验后确定稀 NaOH 溶液用量为 5 倍量,提取 2 次,每次 4 h。并以提取率为评价指标,对碱提温度和稀 NaOH 溶液浓度进行了实验考察,结果如表 2。

表 2 碱提温度和稀 NaOH 溶液浓度对提取率(%)的影响

Table 2 Comparison of parameter of the temperature and density of alkali water on extracting pachyman

碱提温度(℃)		4	20	35
稀 NaOH 溶液	0.50	58.06	48.78	40.20
浓度(mol/l)	0.75	58.03	70.19	71.20
	1.00	80.10	76.48	58.63

由上可知,NaOH 溶液浓度为 1mol/l,碱提温度为 4 ℃ 时,所得的茯苓碱溶性多糖提取率最高。对此最佳提取工艺进行验证,结果如表 3。

表 3 茯苓碱溶性多糖提取工艺验证结果

Table 3 Results of Extracting Pachyman by Alkali Water

实验号	1	2	3
提取率(%)	80.02	79.97	80.08

由上可知,该工艺稳定可行。

3.1.3 茯苓多糖的提取工艺流程图(图 1)

3.2 茯苓多糖的提取定量实验

取低温烘干后的商品茯苓、新配方 2 生长的茯苓菌核、茯苓菌丝栽培种、母种、原种适量,精密称定,按上述方法提取多糖,结果见表 4。

表 4 茯苓多糖提取率

Table 4 Extract rates of pachyman

茯苓样品	提取率(%)		
	水溶性多糖	碱溶性多糖	总多糖
商品茯苓	2.00	80.10	82.10
新配方 2 菌核	2.04	80.72	82.76
新配方 2 菌丝	1.94	80.30	81.22
菌丝母种	1.15	59.64	60.79
菌丝原种	1.20	68.16	69.36

3.3 茯苓多糖含量测定

多糖含量测定用苯酚-硫酸法(2)。测定结果见表 5。

表 5 茯苓多糖含量测定结果

Table 5 Results of determinating content of pachyman

茯苓样品	商品茯苓	新配方 2 菌核	新配方 2 菌丝	菌丝母种	菌丝原种
多糖含量(%)	87.79	87.23	86.02	87.84	86.98

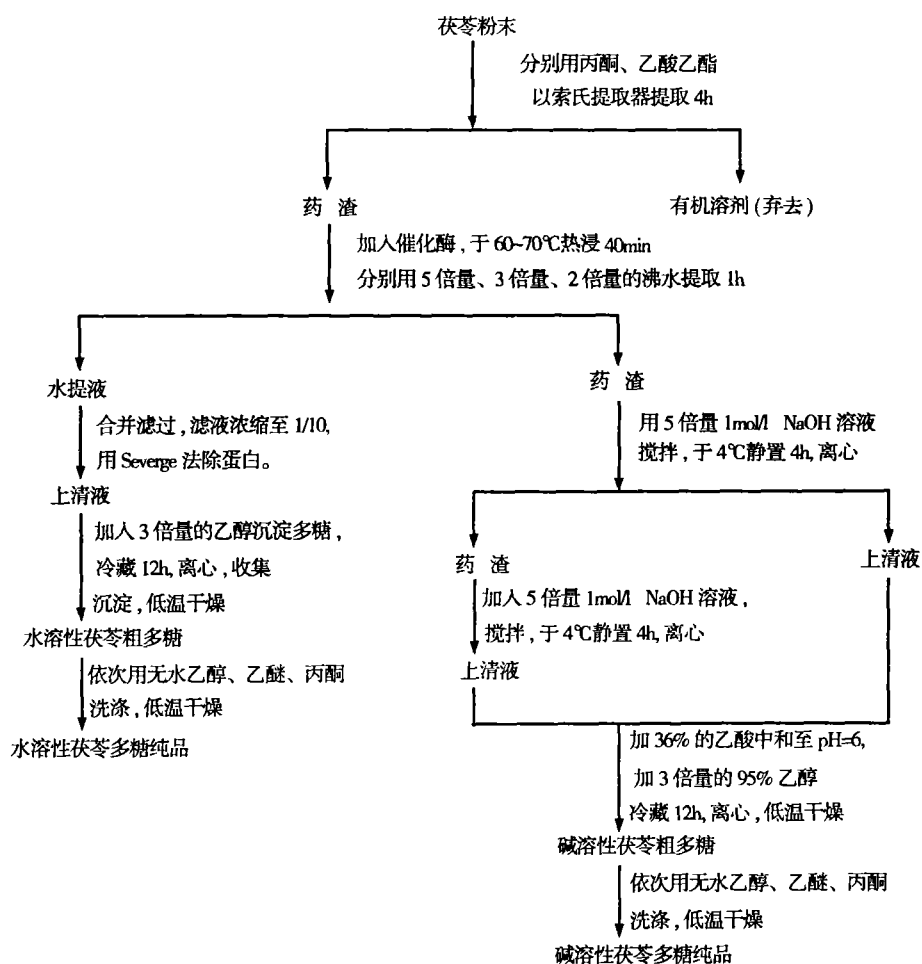


图 1 茯苓多糖的提取工艺流程图

Fig.1 The flow chart of extracting pachyman

4 小结与讨论

1. 新配方 2 生长的茯苓的菌核、菌丝与商品茯苓的显微特征相似。

2. 茯苓多糖被认为是茯苓增强免疫、抗癌、抗肿瘤的主要有效成分。新配方 2 生长茯苓菌丝、菌核、母种、原种中均可提出茯苓多糖, 提取率与商品茯苓比较有较大差异。

新配方 2 生长的茯苓菌丝、菌核与商品茯苓比较, 多糖提取率相近, 可替代商品茯苓入药。新配方 2 生长的茯苓培育成本远低于商品茯苓, 实则提高了栽培茯苓的经济效益。

3. 通过真菌的菌丝体培养生产药物可缩短生

产时间, 降低生产成本, 节省大量的木材。不仅能充分利用农副产品, 促进资源循环而且可以减少化学制药中的环境污染问题, 是环境友好材料和再生资源利用与开发的一个重要发展方向。寻找茯苓菌丝为茯苓菌核的一个替代品, 其前景是广阔的。

参考文献(References):

- [1] Nation Medicine Allusion Committee. The People's Republic of China Medicine Allusion the First Section[S]. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2000, 193. [国家药典委员会. 中华人民共和国药典 1 部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 193.]
- [2] Li Jun, Han Xianghui, Li Zhonghong, et al. Isolation and determination of pachyman in poria cocos (Schw.) wolf[J]. Journal of Chinese Modern application Medicine. 2000, 7(1): 49~50. [李俊, 韩向晖, 李仲洪, 等. 茯苓多糖的提取及含量测定[J]. 中国现代应用药学杂志, 2000, 7(1): 49~50.]

Study on Substitute Material of *Poria Cocos* Planting

LI Ping, HE Junrong, WAN Deguang, MA Yuntong, SHONG Liangke, DU Xiaohong

(Southwest Transportation University Biology Engineering College, Chengdu 610000 China)

Abstract: OBJECTIVE To study the difference on micro-structure and content analysis between *Poria cocos* that grow on New Prescription II (the substitute material used in west area of Panzhiha) and normal ones. METHODS The polysaccharide were extracted by boiling water and alkali water; measured with Phenol-sulfuric acid procedure. RESULTS On micro-structure *Poria cocos* grow on New Prescription II are similar to the normal ones. Analysis shows near content between them. But extract rates differ. The extract rate by New Prescription II is nearly same with normal ones, but of mycelium is 1/4 lower. CONCLUSION Since the cost of cultivating mycelium by New Prescription II is much lower than the normal, we believe it economical to cultivate *Poria cocos* by this method. At last we can think over this mycelium of New Prescription II for clinical prescription instead of normal *Poria cocos* (Schw.) Wolf.

Key words: *Poria cocos*; substitute material; micro-structure identification; polysaccharide