

# 蒽酮- 硫酸法测定芝芪菌质中的多糖含量

阮鸣 韩亚东 ( 南京晓庄学院生命科学系 药用菌物研究所, 江苏南京 211171)

**摘要** [ 目的] 用蒽酮- 硫酸法测定芝芪菌质中的多糖含量。[ 方法] 研究确定蒽酮- 硫酸法测定芝芪菌质中多糖含量的最佳检测条件, 测定3 批芝芪菌质的多糖含量。[ 结果] 当加入6 ml 0.05 % 的硫酸蒽酮溶液, 在水浴中加热20 min, 冷却20 min 时芝芪菌质中多糖含量测定条件最优。[ 结论] 3 批芝芪菌质多糖的平均含量为0.991 3 %。  
**关键词** 芝芪菌质; 多糖; 蒽酮 硫酸法; 含量测定  
中图分类号 S567.3+9 文献标识码 A 文章编号 0517- 6611(2008)27- 11811- 02

**Content Determination of Polysaccharide in Zhi Qi Fungal Substance by Anthrone-sulfate Method**  
**RUAN Ming et al** (Institute of Medicinal Fungi, Department of Life Science of Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171)  
**Abstract** [ Objective] The research aimed to determine the content of polysaccharide in Zhi Qi fungal substance by anthrone-sulfate method. [ Method] The optimum determination conditions of polysaccharide content in Zhi Qi fungal substance by anthrone-sulfate method were confirmed and polysaccharide content in 3 batches of Zhi Qi fungal substance was determined. [ Result] The optimum determination conditions for polysaccharide content in Zhi Qi fungal substance were as follows: adding 6 ml 0.05 % anthrone-sulfate solution, heating for 20 min in water bath and cooling for 20 min. [ Conclusion] The average content of polysaccharide in 3 batches of Zhi Qi fungal substance was 0.991 3 %.  
**Key words** Zhi Qi fungal substance; Polysaccharide; Anthrone-sulfate method; Determination

芝芪菌质是应用药用真菌新型固体发酵工程技术——中药生物技术研制而成的新型饲料添加剂, 是将灵芝接种于由药性基质( 黄芪药渣) 和营养基质( 廉价的农副产品) 组成的“全性基质”中, 在一定条件下进行固体双向发酵得到的产物, 不仅可显著促进鸡体生长, 更具有预防禽流感的显著作用<sup>[1]</sup>。多糖是芝芪菌质的有效成分之一, 检测多糖含量是控制芝芪菌质质量的方法之一。笔者采用蒽酮- 硫酸法测定芝芪菌质中的多糖含量<sup>[2]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 756PC 型紫外可见分光光度计( 上海光谱仪器有限公司生产), RE-52AA 旋转蒸发仪( 上海亚荣生化仪器厂生产), SHZ-D( ) 循环水式真空泵( 巩义市英峪予华仪器厂生产), KQ250B 型超声波清洗器( 昆山市超声仪器有限公司生产), TGL-16G 型台式离心机( 上海安亭离心机厂生产), GZX-9070MBE 电热恒温鼓风干燥箱( 上海博迅实业有限公司医疗设备厂), HANGHONG FA2004N 电子天平( 上海精密仪器有限公司); 所用试剂均为分析纯; 芝芪菌质由南京晓庄学院生命科学系药用菌物研究所张李阳教授提供。

**1.2 多糖溶液的制备和测定** 取芝芪菌质约30 g, 精密称定, 以20 倍、15 倍沸水提取2 次, 每次1.0 h, 合并提取液, 过滤, 滤液经旋转蒸发仪浓缩至一倍体积, 用95 % 的乙醇沉淀溶液浓缩至浓度为85 %, 放置过夜, 离心过滤, 弃取上清液, 所得沉淀相继用乙醇、丙酮、乙醚洗涤, 得多糖粗制品。取多糖粗制品, 超声使溶解, 转移至100 ml 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 离心, 精密量取离心液2.5 ~5.0 ml 至25 ml 容量瓶中, 加水定容, 摇匀。取溶液0.3 ~0.5 ml, 置10 ml 具塞试管中, 加水至2.0 ml, 精密加入硫酸蒽酮溶液, 摇匀, 置水浴中加热, 取出, 放入冰浴中冷却, 以相应的试剂为空白, 在625 nm 波长处测定吸收值。

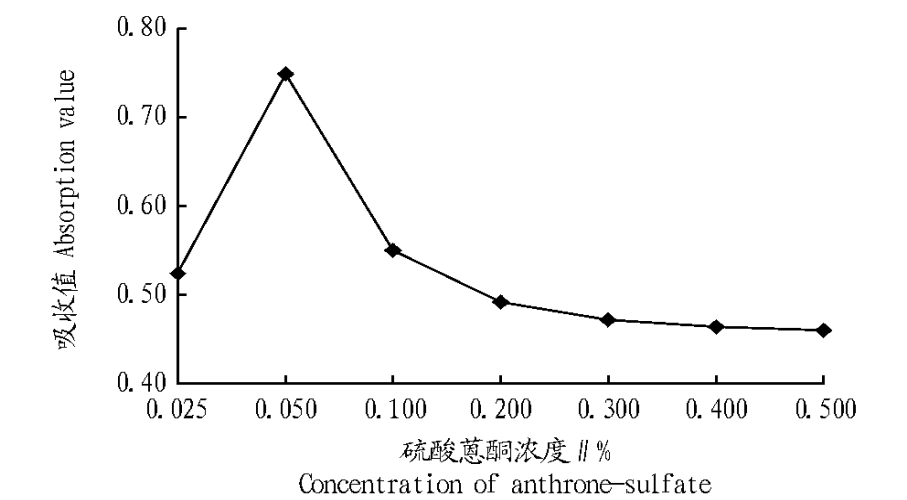
## 2 结果与分析

### 2.1 多糖含量测定条件的优选结果

#### 2.1.1 硫酸蒽酮溶液浓度的优选。硫酸蒽酮溶液浓度优选

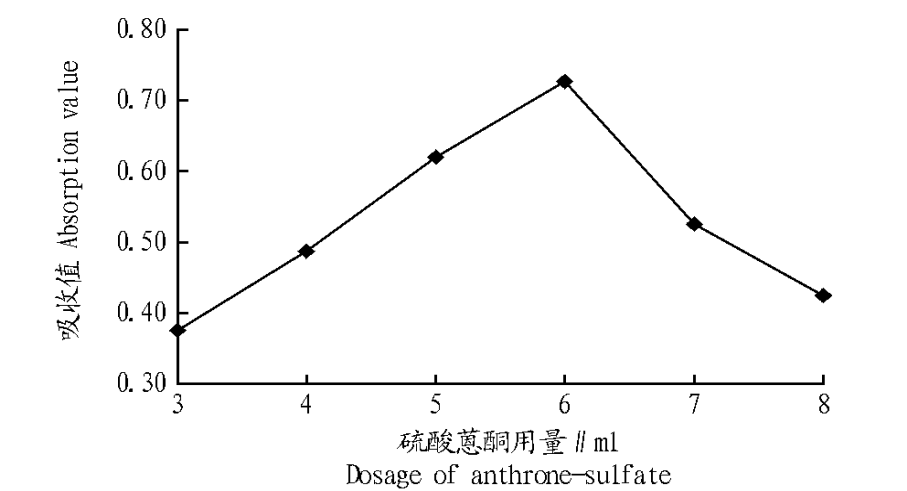
**基金项目** 南京晓庄学院青年专项(2006NXY30)。  
**作者简介** 阮鸣(1979 - ), 女, 安徽六安人, 硕士, 助教, 从事质量标准的研究和中药化学成分提取分离工作。  
**收稿日期** 2008-09-07

试验见图1。由图1 可知, 在其他检测条件相同情况下, 硫酸- 蒽酮溶液浓度为0.05 % 时吸收值最高, 因此选择0.05 % 为硫酸- 蒽酮溶液最佳反应浓度。



注: 硫酸蒽酮加入量为6 ml, 取样量为0.5 ml, 加水量为1.5 ml, 加热时间15 min, 冷却时间为15 min。  
Note: The addition of anthrone-sulfate was 6 ml, sampling amount was 0.5 ml, water addition was 1.5 ml, the heating time was 15 min and the cooling time was 15 min.

图1 硫酸蒽酮浓度的优选结果  
Fig.1 The optimized results of anthrone-sulfate concentration

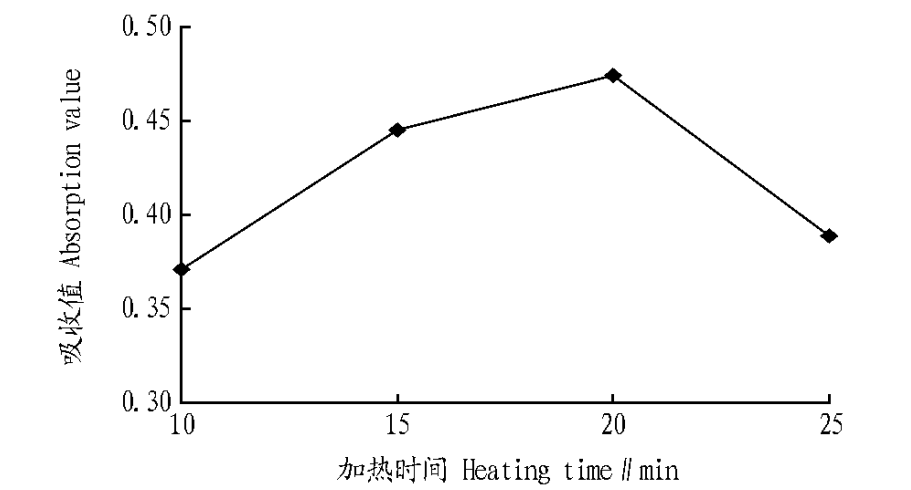


注: 硫取样量为0.4 ml, 加水量为1.6 ml, 加热时间为15 min, 冷却时间为15 min。  
Note: The sampling amount was 0.4 ml, water addition was 1.6 ml, the heating time was 15 min and the cooling time was 15 min.

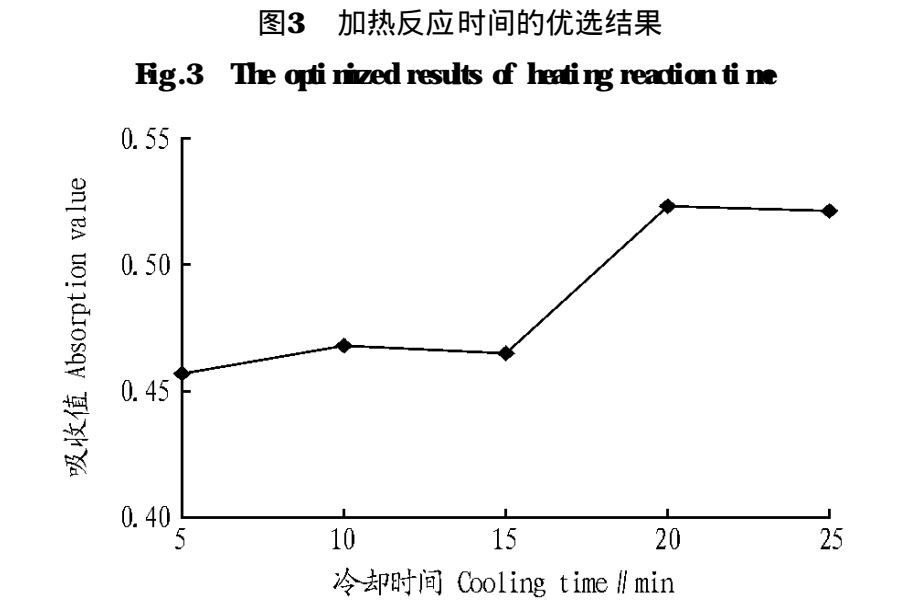
图2 硫酸蒽酮用量的优选结果  
Fig.2 The optimized results of anthrone-sulfate dosage

**2.1.2 硫酸蒽酮溶液用量的优选。**由图2 可知,在硫酸- 蒽酮溶液浓度为0.05 % 和其他检测条件相同时,硫酸- 蒽酮溶液的用量为6 ml 时的吸收值最高。

**2.1.3 加热时间的优选。**由图3 可知,在硫酸- 蒽酮溶液浓度为0.05 % 和其他检测条件相同时,加热时间为20 min 时吸收值最高。



注:硫酸蒽酮加入量为6 ml,取样量为0.3 ml,加水量为1.7 ml,冷却时间为15 min。  
Nte :The addition of anthrone sulfate was 6 ml,the sampling amount was 0.3 ml ,water addition was 1.7 ml and the cooling time was 15 min.



注:硫酸蒽酮加入量为6 ml,取样量为0.3 ml,加水量为1.7 ml,加热时间为20 min。  
Nte :The addition of anthrone sulfate was 6 ml,the sampling amount was 0.3 ml ,water addition was 1.7 ml ,the heating time was 20 min.

**2.1.4 冷却时间的优选。**由图4 可知,在硫酸蒽酮溶液的浓度为0.05 % 和其他检

20 min 时吸收值最高。

**2.2 芝芪菌质中多糖含量测定结果**

**2.2.1 葡萄糖标准曲线绘制。**分别精密吸取0.106 ng/ml 葡萄糖溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml,置10 ml 具塞试管中,加水至2.0 ml,精密加入0.05 % 硫酸蒽酮溶液6 ml,摇匀,置水浴中加热20 min,取出,放入冰浴中冷却20 min。以相应的试剂为空白,在625 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标对照品溶液质量为横坐标,绘制标准曲线,得  $y = 4.2638x + 0.0196$ ,  $r = 0.9996$ 。

**2.2.2 多糖含量测定结果。**取3 批芝芪菌质,每批平行取2 份样品,分别制成多糖粗制品,超声使溶解,转移至100 ml 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,离心,精密量取离心液5 ~25 ml 容量瓶中,加水定容,摇匀。取溶液0.5 ml,置10 ml 具塞试管中,加水至2.0 ml,按标准曲线绘制方法进行测定,并根据标准曲线,计算多糖含量,试验结果见表1。

| 表1 3批芝芪菌质的多糖含量测定  |               |                  |         |                 |
|---|---------------|------------------|---------|-----------------|
| Table 1 The determination of polysaccharide content in 3 batches of Zhi Qi fungal substance |               |                  |         |                 |
| 样品号   | 称样量 ng        | 吸收值 A)           | 含量 %    | 平均含量 %          |
| Sample No.  | Sample weight | Absorption value | Content | Average content |
| -1  | 10 547.5      | 0.451            | 0.959 3 | 0.991 3         |
| -2  | 10 278.5      | 0.443            | 0.966 1 |                 |
| -1  | 10 344.8      | 0.426            | 0.921 4 |                 |
| -2  | 10 666.2      | 0.442            | 0.928 8 |                 |
| -1  | 10 317.2      | 0.496            | 1.083 0 |                 |
| -2  | 10 777.5      | 0.520            | 1.088 9 |                 |

**3 结论与讨论**

(1) 在试验过程中,硫酸- 蒽酮溶液必须现配现用,并放入到棕色瓶中保存,有效期为1 d。

(2) 多糖样品测定时,试管中加入硫酸- 蒽酮溶液后,由于放热反应,试管温度急剧升高,试管要先用自来水冲洗才可以放入到冰水中冷却,以免试管因骤冷而破裂。同理,试管加热20 min 后也要用自来水冷却才可以放入到冰水中。

(3) 检测条件不同,空白溶液的配制亦不同。例如,优选硫酸蒽酮溶液浓度时,需配制与样品溶液相对应的7 种空白溶液。

**参考文献**

[1] 张李阳,周业飞,张敦林. 药用真菌发酵及其产物对AA 肉鸡免疫功能及生长的影响[J]. 畜牧与兽医,2005,37(6) :9- 12.

[2] 王黎明,夏文水. 蒽酮- 硫酸法测定茶多糖含量的研究[J]. 食品科学, 2005,26(7) :185- 188.

(上接第11769 页)

(1) 如何在理论和实践上处理好这样一个跨行业、跨学科的综合问题,有待进一步探讨。

(2) 怎样才能利用好农、林、牧、渔各业的优势,达到既发展经济又改善环境的目的。

(3) 如何因地制宜选择试验品种及试验模式,从中得到具有普遍适应性的原则和规律。

参考文献

[1] 雍文涛. 林业的集约经营与发展农林复合经营[J]. 世界林业研究,

1989,2(4) :1- 7.

[2] 梁玉斯,蒋菊生,曹建华. 农林复合生态系统研究综述[J]. 安徽农业科学,2007,35(2) :567- 569.

[3] 熊文愈,薛建辉. 混农林业: 一条发展林业的有效途径[J]. 世界林业研究,1991,4(2) :27- 31.

[4] 李朝晖,俞冬兴. 农林牧复合生态系统理论与实践[J]. 防护林科技, 2006,75(6) :54.

[5] 刘勇,从多功能林业的兴起看我国林业的发展道路[J]. 北京林业大学学报: 社会科学版,1992(S1) :74- 78.