

猪苓药材质量影响因素及质量评价的研究进展

鲁文静¹,周密²,梁宗锁^{1*}

(1. 西北农林科技大学生命科学院,陕西 杨凌 712100;

2. 陕西省汉中市留坝县留侯镇人民政府,陕西 汉中 724100)

[摘要] 通过对近年来相关文献进行整理,介绍了目前对猪苓化学成分的相关研究,包括对猪苓多糖、甾体类成分及其他成分的研究,系统地介绍了影响猪苓药材质量的有关因素,如品种、产地、栽培、采收与加工,同时比较、分析了评价猪苓质量的提取、鉴别和含量测定方法等。作为一种常用中药材,猪苓药材的质量影响着其在临床使用的疗效,通过对质量影响因素以及质量评价方法的整理,为保证猪苓药材质量提供合理的依据。

[关键词] 猪苓; 影响因素; 质量评价

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0366-05

[doi] 10.11653/syfyj2013170366

Quality Evaluation Standards and Factors Affecting Quality of *Polyporus umbellatus*

LU Wen-jing¹, ZHOU Mi², LIANG Zong-suo^{1*}

(1. College of Life Science, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China;

2. Liuhou Town Government, Liuba County, Hanzhong City, Hanzhong 724100, China)

[Abstract] Through reviewing literature in recent years, we summarized research state about the chemical compositions of *Polyporus umbellatus*, including polysaccharide, steroidal ingredients and other ingredients. And we systemized the factors which impact the quality, such as species, habitats, cultivation, harvest and processing. Then we compared and analyzed the extraction, identification and content determination methods which were used to evaluate the quality of *P. umbellatus*. As a kind of commonly used traditional Chinese medicines, the quality can affect the efficacy in clinical use. By reviewing the affecting factors and evaluation methods, a reasonable basis is provided to ensure the quality of *P. umbellatus*.

[Key words] *Polyporus umbellatus*; affecting factors; quality evaluation

猪苓 *Polyporus umbellatus*(Pers.) Fries. 是一种药用真菌,又名野猪苓、猪屎苓、猪灵芝、猪茯苓等。在分类学上属于无隔担子菌亚纲(Holobasidiomycetidae)、无褶菌目(Aphylophorales)、多孔菌科(Polyporaceae)、多孔菌属(*Polyporus*)^[1]。猪苓的生

长发育需经历担孢子、菌丝体、菌核和子实体4个阶段^[2]。其菌核入药在我国已有2 000多年的历史,具有利水渗湿之功效,主治小便不利、水肿、泄泻、淋浊等症。猪苓属好气性真菌,喜阴凉湿润、疏松透气、排水良好、富含腐殖质的微酸性山地黑沙壤土或沙质黄棕壤土,在我国猪苓主要分布在河北、陕西、四川、云南^[3]。

近年来,猪苓的药用价值越来越受到人们的重视。为了更好的开发和利用该资源,以下对影响其质量标准因素方面的研究成果进行归纳、整理。

1 猪苓化学成分的研究

已报道的猪苓化学成分主要有多糖类、甾体类、

[收稿日期] 20121112(017)

[基金项目] 陕西省“13115”重大科技专项(2010ZDKG-109)

[第一作者] 鲁文静,在读硕士,从事药用植物质量标准的研究, Tel:15877342870, E-mail:lwjcici@hotmail.com

[通讯作者] *梁宗锁,博士,教授,博士生导师,从事中草药规范化栽培的理论与技术研究, E-mail:liangzs@ms.iswc.ac.cn

氨基酸类、维生素类及微量无机元素等。

1.1 猪苓多糖 猪苓多糖是从猪苓药材的菌核中提取分离得到的一种水溶性葡聚糖,也是前期研究较多的内容。其主链是由 β -(1 \rightarrow 3)-糖苷键连接的葡萄糖,在主链上每3~4个残基间出现1个与 β -(1 \rightarrow 6)-糖苷键连接的 β -D-吡喃葡萄糖基作为侧链的结构。猪苓多糖以杂多糖为主,主要有以下单糖:D-岩藻糖、D-木糖、D-甘露糖、D-葡萄糖、D-半乳糖、L-阿拉伯糖、L-鼠李糖^[4]。猪苓多糖具有抗肿瘤活性,是一种非特异性细胞免疫刺激剂,具有较高的免疫促进活性^[5],能够保护肝脏细胞、抗肿瘤、增强机体免疫力、抗辐射、抗诱变、抗化疗毒性、抗衰老及抗炎抗菌抗病毒等^[6]。临床上用猪苓多糖作为卵巢癌^[7]、原发性肺癌、肝癌、子宫颈癌、鼻咽癌、食管癌和白血病^[6]等放化疗的辅助治疗,可提高患者的抗病能力。

1.2 甾体类化学成分 从猪苓中分离到的甾体化合物有麦角甾醇、麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇^[8]、麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮^[9]、麦角甾-7,22-二烯-3-酮^[10]、(22E,24R)-麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇,5 α ,8 α -环二氧-(22E,24R)-麦角甾-6,22-二烯-3 β -醇^[11]、猪苓酮 A, B, C, D, E, F, G^[12]、polyporusterones I, II^[13]、(23R,24R,25R)-23,26-环氧-3 β ,14 α ,21 α ,22 α -四羟基麦角甾-7-烯-6-酮、(20S,22R,24R)-16,22-环氧-3 β ,14 α ,23 β ,25-四羟基麦角甾-7-烯-6-酮^[14]、polyporoid A, B, C^[15]、扶桑甾-乙酸酯^[16]等。药理研究表明,猪苓的利尿功效主要体现在这些甾体类化合物的作用,特别是麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮,Ying-yong Zhao等采用生物活性导向分离鉴定的方法证实了其利尿作用强于麦角甾醇的成分^[17]。

1.3 其他化学成分 从猪苓中分离到的化合物有 α -羟基二十四酸^[8]、对羟基苯甲醛、二十八碳酸^[16]、 α -羟基二十四烷酸乙酯、N-(2'-羟基二十四烷酰)-1,3,4-二羟基-2-十八鞘氨、5-羟基甲基糠醛、D-甘露醇、腺嘌呤核苷、尿嘧啶核苷、L-阿糖醇、尿嘧啶、烟酸、木栓酮、大黄素甲醚和大黄酚^[18],以及 Asp, Thr, Ser, Glu, Gly, Pro, Ala, Cys, Val, Leu, Tyr, Phe, Lys, Arg 等氨基酸, V_A, V_{B1}, V_{B2}, V_{B12}, V_C, V_E 等维生素以及钙、镁、锌、铁、锰、锶、硒、镍、锆、钼、铅和铬等微量元素成分^[19]。

2 猪苓质量影响因素的研究

2.1 品种及产地的影响 猪苓多生长在海拔100~200 m以壳斗科、桦木科为主的阔叶林、针

阔混交林下。坡度多为30~60度。土壤疏松透气,富含腐殖质,pH 4.2~6.6,含水量30%~50%,年平均气温5~12℃,降水400~800 mm,气候温暖湿润半湿润。邢咏梅等^[20]考察了不同的pH、温度、光照条件对猪苓菌丝体生长、多糖含量的影响以及是否能够诱导菌核形成,得出初始pH为8时最适于猪苓菌丝生长,该条件下也有利于猪苓菌核形成,25℃是猪苓生长的最适温度,而光照不利于猪苓菌丝生长。

猪苓一般分为野生及栽培2种,市售以野生猪苓药材为主,形态学上可将其分为灰苓、黑苓和桔苓,品质以黑苓和桔苓较佳,民间也以猪苓的大小将其分为“猪屎苓”、“鸡屎苓”和“铁蛋屎苓”。猪苓在我国分布很广,北至黑龙江,南达福建,西可到青海省。主产于陕西、云南、山西、河南、甘肃、吉林等省。不同的产地猪苓药材的品质也具有一定的差异,传统上认为云南产量最大,陕西出产的质量最佳^[21]。王弘等^[22]的研究结果表明,不同产地、不同栽培方式、不同采收期的猪苓多糖和麦角甾醇含量都具有一定的差异,部分药材的猪苓多糖含量很高,但麦角甾醇含量偏低。赵英永等^[23]对21批猪苓药材中的麦角甾醇进行含量测定,发现陕西宁强的麦角甾醇含量最高(0.27%),山西太原的含量最低(0.03%)。

2.2 栽培、采收及加工的影响 猪苓的栽培方式很多,主要分为人工栽培和野生抚育。人工栽培为在果园或耕地上进行,以有树荫的地块为佳。野生抚育在天然林下展开,在猪苓的自然生态环境下,充分利用天然的腐殖土、腐烂的木材、树叶等为猪苓与其共生的密环菌生长提供丰富的营养。

许永华等^[24]研究认为采用固定菌床栽培与活动菌材伴栽,这两种方法较好,接菌率高,春栽当年即可生长新苓。秦岭高海拔地区多采用阔叶乔木树根菌材伴栽法、灌木林地菌材伴栽法和地坑菌材伴栽法^[25]。许广波^[26]对长白山区猪苓的半人工栽培技术体系进行了研究,确定了当地人工栽培季节及栽培关键技术。

猪苓栽后1~2年内,菌核与蜜环菌建立共生关系,因此生长缓慢,栽后3~4年内才是旺盛生长期^[26]。春季或秋季收获,采收天气宜选择无雨、无曝日、无大风、无霜雪雹,较干燥时。挖出栽培穴中全部菌材和菌核,选灰褐色或黄色、核体松软的菌核,留作种苓。质地坚硬、色泽黑亮的老核,应除去泥沙,晒干、自然晾干或烘干入药。在笔者的研究过

程中发现,市售药材多以直接干燥的猪苓以及炒制的猪苓为主,不同的干燥温度以及炮制方法会对猪苓里的有效成分含量产生一定的影响,对猪苓药材的加工方法优化还有待进一步研究。

3 猪苓质量评价方法的研究

3.1 有效成分的提取分离

3.1.1 猪苓多糖

3.1.1.1 热水浸提法 雷萍等^[27]采用热水浸提法对猪苓多糖进行提取研究,利用单因素水平对照试验,得出猪苓液体发酵干菌粉提取多糖的最佳粒度是 200 目;浸提加水倍数为 30;浸提时间为 2.5 h;浸提温度为 85 ℃;pH 为 7.0;浸提次数 2 次;浓缩比例不影响多糖得率;乙醇沉淀剂比例为 3:1。

3.1.1.2 超声提取法 何思煌^[28]比较了超声法和热水提取法,得出超声法的提取效率更高,其最优提取工艺为 14 倍量的水超声提取 3 次,每次 20 min,浓缩液的醇沉浓度为 85%。陈文强等^[29]优化了超声提取的最佳方法,结果表明,在超声功率为 100 W 时,其最佳提取条件为 60 ℃,料液比为 1 g:30 mL, pH 7.0,提取时间为 40 min,猪苓多糖的量为 20.3 mg·g⁻¹。与常规的沸水浴提取法比较,超声提取能显著提高猪苓多糖含量、缩短提取时间、减小料液比和降低提取温度。

3.1.1.3 索氏提取法 曲小姝等^[30]采用以浸膏得率及多糖质量分数为考察指标,对索式提取法提取猪苓多糖进行了优化研究。猪苓多糖提取的最佳工艺条件为:猪苓目数 30 目,加 8 倍量水,提取 8 h,最高水提取率 97.99%;醇沉生药:水提液体积比 1:3,加 4 倍量 80% 乙醇,最高醇沉率 99.63%。

目前植物多糖的提取方法很多,包括传统热水浸提法、发酵醇沉法、稀碱浸提法^[31]、超声辅助法、微波辅助法、纤维素酶法^[32]等,猪苓多糖的提取未见使用微波提取法,但文献报道说微波提取基本不会破坏多糖的结构^[33],且这种方法快速简便,有待应用于猪苓多糖的提取。

3.1.2 麦角甾醇 2010 年版《中国药典》将麦角甾醇作为评价猪苓品质的标准^[34],因此对麦角甾醇的提取工艺也会影响对猪苓品质的评价。赵英永等^[23]考察了甲醇冷浸(12, 24 h)和超声辅助提取(10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 min)猪苓药材中麦角甾醇的提取率。结果冷浸 12, 24 h 没有超声提取的提取率高;超声提取过程中,10, 60 min 提取量增加,60, 120 min 提取量仅仅有微小的增加。再增加时间没有大的意义,另外在 60 min 时麦角甾醇峰面积占

总峰面积最大,且麦角甾醇容易氧化,在温度较高的环境下易发生变化,与热水回流提取发相比较,宜选用超声提取法^[35]。

3.2 鉴别方法

3.2.1 紫外吸收光谱鉴别 麦角甾醇在 283 nm 处有特征吸收峰,可以用于猪苓药材的鉴别。但此法因专属性不强而未被《中国药典》标准采用。

3.2.2 薄层色谱鉴别^[34] 采用麦角甾醇对照薄层色谱法,以石油醚-乙酸乙酯(3:1)为展开剂,喷以 2% 香草醛硫酸溶液显色,猪苓中的麦角甾醇成分可被检出。

3.2.3 HPLC 指纹图谱鉴别 指纹图谱技术广泛应用于中药材的质量评价,目前主要采用 HPLC 指纹图谱技术进行分析,以色谱峰相似度对药材质量进行控制^[36]。周微微^[37]采用猪苓中的甾酮成分作为对照品,采用 HPLC-DAD 技术对此类成分进行了指纹图谱分析。在考察了分析方法并比较了 35 批不同产地猪苓菌核样品的色谱图后,建立了猪苓菌核的指纹图谱,可用于区别不同产区的猪苓药材。

3.2.4 HPCE 指纹图谱鉴别 徐燕娟等^[38]采用毛细管电泳法(HPCE)建立猪苓糖肽的指纹图谱,HPCE 工作条件为电解质溶液 50 mmol·L⁻¹ 硼砂缓冲溶液(pH 10.0),毛细管熔融石英毛细管柱(75 μm×75 cm,有效长度 66.5 cm),电压 20 kV,温度 25 ℃,波长 200 nm。猪苓糖肽的 HPCE 图谱有 8 个共有峰,研究表明该法具有较好的分离效果,可为猪苓的鉴别提供有效手段。

3.3 含量测定方法

3.3.1 猪苓多糖的含量测定 多糖的含量测定常用方法为水提醇沉法提取,以 Seavage 法除蛋白,苯酚-硫酸法处理多糖样品,分光光度法进行测定^[39]。田广文等^[40]对猪苓多糖苯酚-硫酸法测定条件进行了优选,得出 1.0 mL 样液,加 5% 苯酚液 0.8 mL、硫酸 5.0 mL,100 ℃ 水浴保温 15 min 时结果最佳,据此以葡萄糖含量为指标,采用紫外分光光度法测定猪苓多糖的含量。张国伟等^[41]采用水提醇沉、Seavage 法除蛋白、透析和冷冻干燥制备相对纯化的猪苓多糖,采用高效液相法和硫酸-萘酚法对猪苓多糖的含量进行研究,结果表明高效液相法较佳。另外,还可采用气相色谱法、离子交换色谱法、毛细管电泳法等对其进行含量测定^[42]。

3.3.2 甾体类成分的含量测定 麦角甾醇作为猪苓利尿作用的有效成分,目前已有较多的含量测定研究。赵英永等^[23-43]采用 HPLC 分别测定了猪苓中

麦角甾酮、麦角甾醇的含量,袁丹等^[44]的研究表明麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮可作为猪苓标准化指标成分,王弘等^[22]采用高效液相色谱法进行麦角甾醇、麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮的定量测定,结合多糖的紫外分光光度法的测定,建立了以猪苓3种化学成分为指标的质量评价标准。Zhao等^[45]采用HPLC-APCI-MS对猪苓中的8种甾体成分进行了分离和分析。

3.3.3 其他 研究表明,中药所含氨基酸成分含量与药物的寒热药性具有一定的相关性^[46]。陈文强等^[47-48]采用凯氏定氮法对秦巴山区猪苓营养菌丝、野生及栽培猪苓的蛋白质进行了含量测定,营养菌丝及野生猪苓的蛋白质含量都高于栽培品种,他们还采用柱前衍生HPLC对其中的氨基酸进行了含量测定,得出野生与栽培猪苓菌核中各类氨基酸质量中性氨基酸>酸性氨基酸>碱性氨基酸。人体必需氨基酸,野生菌核的质量比栽培菌核高80.6%。薛长一等^[49]采用电感耦合等离子发射质谱法(ICP-MS)对猪苓中的Fe,Mg,Zn,Cu,K,Mn,Se,Co,As等9种无机元素含量进行了测定分析,结果表明微量元素与猪苓的药性具有一定的相关性。

4 建议

随着物种进化,品种繁多,环境改变,野生资源过度开发,药材的外在形态及内在质量或多或少地有所改变,而其质量的优劣直接影响治疗效果,为加强猪苓药材质量管理,笔者认为,有必要从以下几个方面深入研究和认真实践。

4.1 加强猪苓的规范化种植研究。目前猪苓的人工栽培技术种类繁多,生长年限较长,受到不同地理环境条件的影响,由于保护不力导致的野生资源严重减少,以及野生家种多于大规模规范化种植,忽视猪苓栽培的生产管理,生产过程缺乏技术含量等因素,严重影响了猪苓药材的产量、品质及临床的使用,因此需要改变现有的种植模式,保护野生资源,建立规范化生产基地,加强猪苓的种质研究,提高猪苓质量。

4.2 加强猪苓药材加工炮制过程的质量控制研究。市售猪苓有干燥后直接出售的,也有经过炮制加工的,经过笔者的初步研究,发现不同的加工方法对猪苓药材有效成分含量及品质质量有着一定的影响。因此,对猪苓药材炮制加工方面的研究还有待深入。

4.3 深入研究猪苓多糖的专属性质量评价办法。大孔树脂技术近年来成为中药有效成分分离的重要手段之一,除了可以用于分离纯化植物多糖之外,还

可以用于脱除重金属杂质和农药残留物^[50],其在猪苓多糖提取纯化方面的应用有待深入,以有效保证猪苓多糖提取物的纯度和品质。

作为猪苓用途最广泛的有效成分,猪苓多糖的提取方法并不统一,衡量提取效率的方法也存在一定的误差,很难优选最佳提取方法;含量测定多采用苯酚-硫酸法,以葡萄糖为对照品进行测定,并不一定能够有效衡量药材中的多糖含量,且猪苓多糖的所有单糖组分还未完全鉴定出来。因此,有必要通过现代分析方法鉴别其所有单糖组分及糖链结构,为进一步制定有关猪苓多糖的专属性质量控制指标提供依据。

[参考文献]

- [1] 徐锦堂. 中国药用真菌学[M]. 北京:中国医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1997:518.
- [2] 樊莎. 猪苓种质资源的评价及菌核形成机理的探究[D]. 陕西:西北农林科技大学,2010.
- [3] 刘汉卿,郭勇全,肖萍,等. 猪苓的研究与应用[J]. 广州化工,2010,38(10):40.
- [4] 金征宇,顾正彪,童群义,等. 碳水化合物化学——原理与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2007:297.
- [5] 马德莲,郭玲. 中草药的免疫作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(5):63.
- [6] 王林丽,吴寒寅,罗桂芳. 猪苓的药理作用及临床应用[J]. 中国药业,2000,9(10):58.
- [7] 许云霞,刘晓健,屈飞. 中药多糖与过继免疫联合治疗卵巢癌[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):231.
- [8] Yosiokal, Yamamoto T. The constituents of chuling. 2-hydroxytetracosanoic acid[J]. Yakugaku Zasshi, 1964, 84:742.
- [9] Ohta K, Yaoita Y, Matsuda N, et al. Sterol constituents from the sclerotium of *Polyporus umbellatus* Fries[J]. Nat Med, 1996, 50(2):179.
- [10] Lee W Y, Park Y, Ahn J K, et al. Cytotoxic activity of ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one from the sclerotia of *Polyporus umbellatus*[J]. Bull Kor Chem Soci, 2005, 26:1464.
- [11] Lu W, Adachi I, Kano K, et al. Platelet aggregation potentiators from Cho-Re[J]. Chem Pharm Bulletin, 1985, 33(11):5083.
- [12] Ohsawa T, Yukawa M, Takao C, et al. Studies on constituents of fruit body of *Polyporus umbellatus* and their cytotoxic activity[J]. Chem Pharm Bulletin, 1992, 40:143.
- [13] Zheng S Z, Yang H P, Ma X M, et al. Two new polyporosterones from *Polyporus umbellatus* [J]. Nat

- Prod Res, 2004, 18: 403.
- [14] Zhou W W, Lin W H, Guo S X. Two new polyporosterones isolated from the sclerotia of *Polyporus umbellatus* [J]. Chem Pharm Bulletin, 2007, 55 (8): 1148.
- [15] Sun Y, Yasukawa K. New anti-inflammatory ergostane-type ecdysteroids from the sclerotium of *Polyporus umbellatus* [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18: 3417.
- [16] 杨红澎. 猪苓和小红柳化学成分的研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2003.
- [17] Ying-yong Zhao, Ren-ming Xie. Bioactivity-directed isolation, identification of diuretic compounds from *Polyporus umbellatus* [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 126: 184.
- [18] 周微微, 郭顺星. 猪苓菌核化学成分的研究[J]. 药学学报, 2007, 42(增刊): 312.
- [19] 杨革. 担子菌纲 8 种真菌的营养成分[J]. 无锡工业大学学报, 2000, 19(2): 173.
- [20] 邢咏梅, 郭顺星. 环境因子对猪苓菌丝体生长发育的影响[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(7): 493.
- [21] 金若忠, 范俊岗, 栾庆书, 等. 猪苓生物学特性及菌种培养[J]. 辽宁林业科技, 2010(3): 35.
- [22] 王弘, 晁建平, 陈文举, 等. 猪苓药材的质量评价标准研究[J]. 中草药, 2009, 40(6): 971.
- [23] 赵英永, 赵晔, 林瑞超, 等. RP-HPLC 法测定猪苓中麦角甾醇的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 898.
- [24] 许永华, 陈晓林. 北方栽培猪苓技术[J]. 人参研究, 2009(3): 33.
- [25] 张世荣. 秦岭高海拔地区猪苓人工栽培技术[J]. 食用菌, 2003(6): 33.
- [26] 许广波, 傅伟杰, 李如亮, 等. 长白山区猪等半人工栽培技术体系的研究[J]. 延边大学农学学报, 2004, 26(4): 241.
- [27] 雷萍, 孙悦迎, 张鑫, 等. 猪苓发酵菌丝多糖分离提取工艺研究[J]. 中国食用菌, 2011, 25(35): 45.
- [28] 何思煌. 超声法提取猪苓总多糖的工艺研究[J]. 中国医药导报, 2008, 5(11): 51.
- [29] 陈文强, 邓百万, 刘开辉, 等. 猪苓多糖超声提取工艺条件优化[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(4): 53.
- [30] 曲小姝, 李蕊, 王亚红, 等. 索式提取法提取猪苓总多糖工艺研究[J]. 吉林化工学院学报, 2009, 26(3): 15.
- [31] 张璐, 刘强. 茯苓多糖制备工艺及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(4): 61.
- [32] 刘石泉, 赵运林, 徐玲, 等. 疏花石斛中石斛多糖的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 5.
- [33] 王秀文, 王颖莉, 裴晓丽, 等. 均匀设计法优选党参茯苓水溶性多糖的微波提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 24.
- [34] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 299.
- [35] 陈勇, 曾萍, 温庆伟, 等. 灵芝配方颗粒中麦角甾醇的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 53.
- [36] 詹雪艳, 史新元, 段天璇, 等. 色谱指纹图谱相似度方法的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 248.
- [37] 周微微. 猪苓菌核及发酵菌丝体化学成分研究及质量分析[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008.
- [38] 徐燕娟, 钱燕娟, 蒋小丰, 等. 猪苓糖肽的 HPCE 指纹图谱分析[J]. 食用菌学报, 2007, 14(4): 47.
- [39] 张晓莉, 李玉婷, 王亚贤, 等. 红花多糖的提取与含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 19.
- [40] 田广文, 陈德育, 李学俊, 等. 猪苓多糖苯酚-硫酸法测定条件的优选[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 75.
- [41] 张国伟, 李彩霞, 王艳峰, 等. 高效液相法与硫酸-萘酚法测定猪苓多糖含量比较[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(6): 1099.
- [42] 徐晓飞, 陈健. 多糖含量测定的研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 443.
- [43] 赵英永, 程显隆, 张萍, 等. HPLC 法测定猪苓中麦角甾醇的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1579.
- [44] 袁丹. 生薬「猪苓」標準化のための指標成分の探索[J]. Yakugaku Zasshi, 2003, 123(2): 53.
- [45] Ying-yong Zhao. Simultaneous determination of eight major steroids from *Polyporus umbellatus* by high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detections [J]. Biomedical Chromatography, 2009, 6: 222.
- [46] 冯帅, 李峰, 周正礼, 等. 氨基酸含量与寒热药性相关性的研究与统计分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 91.
- [47] 陈文强, 邓百万. 秦巴山区野生与栽培猪苓菌核主要成分的测定[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(6): 96.
- [48] 陈文强, 邓百万, 胥成浩, 等. 猪苓营养菌丝与野生菌核蛋白质成分分析[J]. 食用菌学报, 2004, 11(2): 16.
- [49] 薛长一, 陈明岩, 徐立明, 等. 猪苓中微量元素的测定及分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(7): 1654.
- [50] 张旭, 王锦玉, 全燕, 等. 大孔树脂技术在中药提取纯化中的应用及展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 286.

[责任编辑 邹晓翠]