

不同初加工方法对茯苓多糖和三萜类成分的影响

徐 雷, 刘 常 丽, 张 群, 陈 科 力

(湖北中医药大学 药学院, 湖北 武汉 430065)

摘 要:以茯苓为试材,采用分光光度法测定茯苓多糖和三萜类化合物含量,并以此作为其品质的定量评价指标,研究了传统发汗切制和趁鲜切制2种初加工方法对其品质的影响。结果表明:茯苓多糖在10~100 μg 线性关系良好($R^2=0.9992$),趁鲜切制与发汗切制的茯苓饮片多糖平均含量分别为87.77%和91.44%,方差分析显示 $F=15.30>F_{0.01}$;三萜类成分在10~70 μg 线性关系良好($R^2=0.9999$),趁鲜切制与发汗切制的茯苓饮片三萜类成分平均含量分别为2.318‰和2.334‰,方差分析显示 $F=0.1880<F_{0.05}$ 。表明茯苓采用不同初加工方法对多糖含量有极显著影响,发汗切制法高于趁鲜切制法,对三萜类成分无显著影响。

关键词:趁鲜切制;发汗切制;茯苓;多糖;三萜类化合物

中图分类号:S 567.3⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0148-04

茯苓(*Poria*)为多孔菌科真菌茯苓(*Poria cocos* (Schw.) Wolf)的干燥菌核,具有利水渗湿、健脾、宁心的功效^[1]。其主要化学成分为多糖和三萜类化合物,尚含甾体类、蛋白质等成分^[2]。现代研究表明茯苓多糖具有抗肿瘤、增强免疫力、保肝与催眠作用、抗衰老、抗炎、抗单纯疱疹病毒、防石消石等药理作用^[3]。茯苓三萜类化合物具有抗肿瘤、抗炎、抗惊厥、免疫调节等药理作用^[4]。

茯苓传统加工方法是在秋冬季采收后,将菌核经过反复发汗趁湿或浸润后切制,亦可趁鲜将菌核按不同部位切制、阴干,分别制成白茯苓、赤茯苓和茯苓皮。该研究拟采用分光光度法测定茯苓主要药效成分茯苓多糖和三萜类化合物含量,并以此作为定量评价指标,对传统发汗切制方法和趁鲜切制方法加工的饮片进行比较,

考察不同切制法对茯苓饮片中多糖和三萜类成分的影响,以期对茯苓加工炮制方法提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试新鲜茯苓菌核采自湖北省罗田县九资河镇,由湖北中医药大学陈科力教授鉴定为茯苓(*Poria cocos* (Schw.) Wolf)的菌核。

仪器与试剂:SK2200H型分光光度计;WG-136型电热鼓风干燥器;DK-98-1型电热恒温水浴锅;电子分析天平等。对照品购自中国药品生物制品检定所,其余试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 茯苓饮片的制备 趁鲜切制法:取采收的新鲜茯苓菌核刷去表面泥土,剥去外皮,趁鲜将茯苓切制成茯苓块,进行阴干,干燥后备用,不可炕晒或过于干燥,以免失去粘性或发生裂隙。传统发汗切制法:将采收的新鲜茯苓菌核刷去表面泥土,置于不通风的容器内,分层排好,底层先铺松毛或稻草1层,然后将茯苓与稻草逐层铺迭,高度可达1 m,最上盖以厚麻袋,四周封严,使其发汗。第1周每日翻动1次,取出摊放于阴凉处,待其表

第一作者简介:徐雷(1982-),男,博士研究生,讲师,现主要从事中药资源及其品质研究等工作。E-mail:wuhanxulei@163.com.

责任作者:陈科力(1947-),男,教授,博士生导师,现主要从事中药资源及其品质研究等工作。E-mail:kelichen@126.com.

基金项目:国家科技重大专项子课题资助项目(2012ZX09304006);湖北中医药大学2013年科研课题青年资助项目。

收稿日期:2014-01-16

Abstract: Taking Changbai mountain *Glycyrrhiza pallidiflora* root as raw material, the crude fat, protein, vitamin C, flavonoids extraction of *Glycyrrhiza pallidiflora* and *Glycyrrhiza uralensis* by using chemical analysis method were analyzed. The results showed that crude fat was 2.310%, protein was 6.125%, vitamin C was 1.750 mg/100g, flavonoids was 2.544% in *Glycyrrhiza pallidiflora*; crude fat was 7.590%, protein was 17.800%, vitamin C was 4.170 mg/100g, flavonoids was 2.547% in *Glycyrrhiza uralensis*. *Glycyrrhiza pallidiflora* and *Glycyrrhiza uralensis* crude fat, protein, vitamin C content were significant differences, but the content of flavonoid no significant differences.

Key words: *Glycyrrhiza pallidiflora*; *Glycyrrhiza uralensis*; chemical constituents

面干燥后,再堆置发汗。第2周后,每2~3天翻动1次。如此反复发汗3~4次,当表面生出白色绒毛状菌丝时,刷净,至表皮皱缩褐色时阴干,即成茯苓干。发汗后趁湿切制成茯苓块,将切制好的饮片进行晾晒,干燥后备用^[5]。

1.2.2 茯苓多糖含量测定方法 对照品溶液的制备:精密称取105℃干燥至恒重的葡萄糖50 mg于50 mL容量瓶中,溶解并定容,摇匀。精密吸取5 mL,于50 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得100 μg/mL的对照品溶液。供试品溶液的制备:分别将趁鲜切制和发汗切制的茯苓饮片打粉后过60目筛,精密称取药材粉末1.0 g于具塞三角瓶中,加入1 mol/L NaOH溶液50 mL,于80℃水中超声提取50 min,过滤,精密吸取续滤液1 mL于50 mL容量瓶中,加水定容,即得茯苓多糖供试品溶液^[6]。标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置具塞试管中,各加水至1.0 mL,精密加入5%苯酚溶液1.0 mL,摇匀,再精

密加入浓硫酸5 mL,摇匀,100℃水浴20 min,取出,置冷水浴中迅速冷却至室温,在490 nm的波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,多糖含量(μg)为横坐标,回归方程为 $Y=0.0084X-0.0009$, $R^2=0.9992$,线性范围10~100 μg^[7]。精密密度试验:分别精密吸取对照品溶液0.4 mL,后续按标准曲线制备步骤,测定吸光度6次,RSD值为0.56%,表明仪器精密密度良好。重复性试验:取趁鲜切制茯苓饮片6份,制备多糖供试液,分别精密移取0.2 mL,后续按标准曲线制备步骤,测定吸光度,结果RSD为1.52%,表明该方法重复性良好。稳定性试验:取重复性试验的测试液,于6 h内每0.5 h测定1次吸光度,显示在6 h内稳定,结果RSD为1.25%,表明此法测定较长时间显色稳定。加样回收率测定:精密称取趁鲜切制粉末1.0 g 5份,制成供试品溶液取0.1 mL,分别加入0.3 mL葡萄糖对照品溶液,后续按标准曲线制备步骤,测定吸光度,根据回归方程计算糖含量,统计回收率,结果表明此法回收率良好,详见表1。

表 1

多糖加样回收率试验结果

Table 1

The results of polysaccharides recovery test

样品含量	测得量	加入量	回收率	平均回收率	标准差	RSD
Sample content/μg	Measured amount/μg	Adding amount/μg	Recovery/%	Average recovery	Standard deviation	/%
30.23	59.89		98.87			
29.75	60.72		103.23			
29.27	60.18	30	103.03	101.87	1.85	1.82
28.68	59.56		102.93			
30.70	61.09		101.30			

1.2.3 茯苓三萜类成分含量测定方法 对照品溶液的制备:精密称取齐墩果酸对照品20 mg,置100 mL容量瓶中,加无水乙醇溶解,定容,摇匀,吸取10 mL到100 mL容量瓶中,定容即得20 μg/mL对照品溶液。供试品溶液的制备:分别将趁鲜切制和发汗切制的茯苓饮片打粉后过40目筛,精密称取药材粉末600 mg,置50 mL烧杯中,加无水乙醇30 mL,超声提取30 min,2 000 r/min离心5 min,取上清置50 mL容量瓶中,再用无水乙醇定容即得茯苓三萜类成分供试品溶液^[8]。标准曲线的制备:精密吸取上述对照品溶液0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL,分别置具塞试管中,水浴挥去溶剂,冷却,精确加入0.2 mL 5%香草醛-冰乙酸溶液,1.0 mL高氯酸,混匀,70℃恒温水浴20 min,取出,置冷水浴中迅速冷却至室温,加5 mL无水乙醇,摇匀,10~25 min内,在560 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,以三萜类成分(μg)为横坐标制作标准曲线,回归方程为 $Y=0.0114X-0.0067$, $R^2=0.9999$,线性范围10~70 μg^[7]。精密密度试验:分别精密吸取对照品溶液2 mL,后续按标准曲线制备步骤,测定吸光度6次,RSD值为0.58%,表明仪器精

密度良好。重复性试验:取趁鲜切制茯苓饮片6份,制备三萜类成分供试液,分别精密移取2 mL,后续按标准曲线制备步骤,测定吸光度,结果RSD为1.78%,表明该方法重复性良好。稳定性试验:取重复性试验测试液,于60 min内每5 min测定1次吸光度,显示在10~25 min内稳定,RSD为1.62%,25 min后稳定性开始下降。表明此法测定需在显色后10~25 min内完成。加样回收率测定:精密称取趁鲜切制茯苓粉末600 mg 5份,制成供试品溶液,取1.0 mL,再分别加入1.0 mL对照品溶液,后续按标准曲线制备步骤,依次测定吸光度,根据回归方程计算三萜类成分含量,统计回收率,结果表明此法回收率良好,详见表2。

1.2.4 饮片含水量测定 取供试品2~5 g,平铺于干燥至恒重的扁形称瓶中,厚度不超过5 mm,精密称定,打开瓶盖在100~105℃干燥5 h,将瓶盖盖好,移至干燥器中,冷却30 min,精密称定,再在上述温度干燥1 h,冷却,称重,至连续2次称重的差异不超过5 mg为止。根据减失的重量,计算供试品中含水量(%),3次重复,取平均值,结果见表3。

表 2 三萜类成分加样回收率试验结果

Table 2 The results of triterpenes recovery test

样品含量 Sample content/ μg	测得量 Measured amount/ μg	加入量 Adding amount/ μg	回收率 Recovery/ $\%$	平均回收率 Average recovery	标准差 Standard deviation	RSD / $\%$
23.66	44.18	20	102.60	100.5	2.10	2.09
24.18	43.87		98.45			
24.27	44.06		98.95			
23.31	43.89		102.90			
24.71	44.63		99.60			

表 3 不同初加工方法制备茯苓饮片的含水量

Table 3 Water content of *Poria* prepared by different initial processing methods

初加工方法 Initial processing methods	含水量 Water content/ $\%$	RSD/ $\%$	平均值 Average value/ $\%$
趁鲜切制 Fresh cutting	15.29	15.19	15.22
发汗切制 Sweating cutting	20.57	20.32	20.45

1.2.5 样品含量测定 制备茯苓多糖和三萜类成分的供试品溶液,4次重复,分别吸取0.2 mL和2 mL,按照相应标准曲线制备步骤测定吸光度(Y),通过回归方程计算相应成分的含量,再与样品干重 $[M=\text{取样量}\times(1-\text{含水量})]$ 换算出百分含量(ω)。多糖百分含量的计算公式为 $\omega = X \times 50 \times 50 \times 10^6 / 0.2M \times 100\% = 2.5 \times (Y + 0.0009) / 1.68M \times 100\%$ 。三萜类成分百分含量的计算公式为 $\omega = X \times 50 \times 10^6 / 2M \times 100\% = 5 \times 10^3 \times (Y + 0.0067) / 2.28M \times 100\%$ 。

2 结果与分析

由表4可知,趁鲜切制法制备的茯苓饮片中多糖和三萜类成分含量分别为87.77%和2.318%,发汗切制法制备的茯苓饮片二者含量分别为91.44%和2.334%,为对其含量差异性进行比较,对其进行方差分析(表5、6),结果显示,多糖含量方差分析的 $F = 15.30 > F_{0.01} = 13.75$,差异极显著,说明传统发汗切制法多糖含量极显著高于趁鲜切制法;三萜类成分含量方差分析的 $F = 0.1880 < F_{0.05} = 5.9874$,无显著差异,说明2种切制方法对三萜类成分含量无显著影响。

表 4 不同初加工方法制备茯苓中多糖和三萜类成分的含量

Table 4 Polysaccharides and triterpenes content of *Poria* prepared by different initial processing methods

初加工方法 Initial processing methods	多糖含量 Polysaccharides content/ $\%$				RSD / $\%$	平均值 Average value/ $\%$	三萜类成分含量 Triterpenes content/ $\%$				RSD / $\%$	平均值 Average value/ $\%$
趁鲜切制 Fresh cutting	88.94	87.56	88.24	86.32	1.27	87.77	2.300	2.344	2.361	2.266	1.86	2.318
发汗切制 Sweating cutting	90.88	89.58	92.36	92.93	1.65	91.44	2.396	2.373	2.304	2.263	2.63	2.334

表 5 不同初加工方法制备茯苓中多糖含量的方差分析

Table 5 Variance analysis for polysaccharides content of *Poria* prepared by different initial processing methods

差异源 Variation source	SS	Df	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
组间 Between groups	26.97	1	26.97	15.30	5.99	13.75
组内 Within group	10.58	6	1.76			
总计 Total	37.55	7				

表 6 不同初加工方法制备茯苓中三萜类成分含量的方差分析

Table 6 Variance analysis for triterpenes content of *Poria* prepared by different initial processing methods

差异源 Variation source	SS	Df	MS	F	$F_{0.05}$
组间 Between groups	0.0005	1	0.0005	0.1880	5.9874
组内 Within group	0.0169	6	0.0028		
总计 Total	0.0174	7			

3 结论与讨论

中药材趁鲜切制有利于保存中药材的生物碱类、苷类、有机酸类、树脂类等有效成分,避免发霉变质,减少有效成分的水解、酶解和节省人力、物力等优点^[9],亦使

饮片规格整齐,厚薄均匀,色泽美观,有效改善中药饮片质量,通常富含水分的全草类,质地坚硬的根和地下茎类以及容易霉变的果实种子类药材适宜趁鲜切制。对于这些中药材品种,除有效成分外,还应在药理学、药效

学、后期贮藏等方面开展深入细致的研究,以确定趁鲜切制的可行性。同时,对于不适宜趁鲜切制的中药材品种,如富含挥发油类成分的当归^[10]、菖蒲^[11]等,加工过程中要注意保留传统切制工艺,以最大限度地保证其药用价值,提高饮片的质量。

发汗是一种独特的中药材初加工方法,对于部分根类、皮类及菌核类药材发汗是其加工的重要环节,很大程度影响着药材的性状与品质。2010 版《中华人民共和国药典》中收录的玄参、杜仲、茯苓、厚朴、续断等药材,规定其产地加工方法为“发汗”^[1]。药材发汗过程中启动或加速了初生/次生代谢产物的生物转化与化学转化过程,因此往往伴随着化学成分含量和种类的变化,主要是由多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、水解酶(hydrolase)等催化的酶促反应引起的化学成分转化,而影响着药材品质的形成。该研究中,趁鲜切制法与传统发汗切制法茯苓多糖和三萜类化合物含量的测定结果显示,发汗切制法多糖含量较趁鲜切制法高 3.67%,达极显著水平,说明发汗过程中茯苓多糖并未因为多糖水解酶的作用而减少,导致此结果的原因可能与该酶的活性受发汗时间、温度、水分及翻堆次数等诸多因素影响而发生着动态变化,以及在发汗过程中有可能存在酶促反应以外的影响多糖成分变化的因素。因此,当前开展发汗机制的研究,非常必要,可通过选择代表性药材品种为研究对象,重点围绕发汗过程与药材品质形成的关键科学问题进行系统研究,以求发现和揭示发汗的共有

机制和共性规律,在此基础上形成共性关键技术,规范中药材加工过程,以稳定可靠、安全有效的保障中药材品质^[12]。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 1 部. 北京:中国医药科技出版社, 2010:108,154,224,235,309.
- [2] 沈玉萍,李军,贾晓斌. 中药茯苓化学成分的研究进展[J]. 南京中医药大学学报,2012,28(3):297.
- [3] 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.
- [4] 张先淑,胡先明. 茯苓三萜化合物的药理作用及临床应用研究进展[J]. 重庆工贸职业技术学院学报,2011(4):46.
- [5] 胡珂. 茯苓的采收及产地加工方法[J]. 基层中药杂志,2000,14(1):41.
- [6] 蔡光先,谢昭明,黄丹,等. 不同产地茯苓中茯苓多糖的比较研究[J]. 湖南中医杂志,2012,28(1):102,126.
- [7] 刘常丽,解小霞,刘合刚,等. 分光光度法测定茯苓有效成分最优条件研究[J]. 亚太传统医药,2014,10(2):17.
- [8] 丁诚实. 分光光度法测定茯苓活性成分的含量[J]. 食品工程,2008,33(4):26.
- [9] 郭双庚,周超凡. 中药材趁鲜切制的探讨[J]. 中国中药杂志,1990,15(5):3.
- [10] 唐力英,王祝举,宋秉生,等. 当归饮片趁鲜切制的可行性探讨[J]. 中国中药杂志,2010,35(23):3147.
- [11] 秦泽平,李燕峰,黄振宇. 菖蒲趁鲜切制与常规切制饮片中挥发油含量比较[J]. 基层中药杂志,1997,11(1):18.
- [12] 段金殿,宿树兰,严辉,等. 药材初加工“发汗”过程及其酶促反应与化学转化机制探讨[J]. 中草药,2013,44(10):1219.

Effect of Different Processing Methods on Polysaccharides and Triterpenes of *Poria*

XU Lei, LIU Chang-li, ZHANG Qun, CHEN Ke-li

(Pharmacy College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430065)

Abstract: Taking *Poria* as test material, using spectrophotometry to determine the content of polysaccharide and triterpenes, and as these indexes to evaluate the quality of *Poria*, the effect of fresh cutting and sweating cutting methods on the quality were studied. The results showed that *Poria* polysaccharides in 10~100 μg had good linear relationship ($R^2 = 0.9992$), the polysaccharides average content of *Poria* which processed by fresh cutting and sweating cutting were respectively 87.77% and 91.44%. Variance analysis showed $F = 15.30 > F_{0.01}$; *Poria* triterpenes in 10~70 μg had good linear relationship ($R^2 = 0.9999$), the triterpenes average content of *Poria* which processed by fresh cutting and sweating cutting were respectively 2.318% and 2.334%. Variance analysis showed $F = 0.1880 < F_{0.05}$. Above results indicated that *Poria* prepared by initial processing methods had significant effect on the polysaccharides content, by sweating cutting method was higher than by fresh cutting method, and it had no significant effect on triterpenes of *Poria*.

Key words: fresh cutting; sweating cutting; *Poria*; polysaccharides; triterpenes