

齿瓣石斛多糖及醇溶性浸出物含量积累规律研究

姚志军, 白燕冰, 罗仁山, 史文斌, 李泽生 (云南省德宏热带农业科学研究所, 云南瑞丽 678600)

摘要 [目的]研究不同海拔、不同采收时间齿瓣石斛鲜条内的多糖含量以及醇溶性浸出物含量变化规律。[方法]采用循环水浴加热法提取齿瓣石斛中的多糖、醇溶性浸出物,并进一步运用化学试剂反应显色以及形成络合物;采用紫外分光光度法对石斛样品中的多糖含量进行测定,用差量法对石斛样品中的醇溶性浸出物含量进行测定。[结果]齿瓣石斛受海拔、采收时间的影响较大,不同海拔、不同采收时间所测齿瓣石斛所含多糖含量及醇溶性浸出物含量变化较大。在适宜种植齿瓣石斛的滇西地区,海拔越高,齿瓣石斛所含多糖及醇溶性浸出物含量越高;采收时间越长,齿瓣石斛所含多糖含量呈减少的趋势,但变化不明显,相反醇溶性浸出物含量却逐渐增加。[结论]该研究为齿瓣石斛种植和采收提供参考。

关键词 齿瓣石斛;多糖;醇溶性浸出物;积累规律

中图分类号 S567.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)03-0001-02

Study on the Accumulation of Polysaccharides and Alcohol-soluble Extracts from *Dendrobium devonianum* Paxt.

YAO Zhi-jun, BAI Yan-bing, LUO Ren-shan et al (Yunnan Dehong Institute of Tropical Agricultural Sciences, Ruili, Yunnan 678600)

Abstract [Objective] The research aimed to study the changes of polysaccharide content and content of alcohol-soluble extract in fresh *Dendrobium devonianum* at different altitudes and different harvesting time. [Method] The polysaccharides content and alcohol-soluble extracts contents from *Dendrobium devonianum* were extracted by the method of circulating water bath heating. The chemical reaction was used to develop the color reaction and form the complexes. The content of polysaccharides in *Dendrobium* samples was determined by ultraviolet spectrophotometry. The contents of alcohol-soluble extracts in *Dendrobium* samples were determined by the difference method. [Result] *Dendrobium devonianum* was influenced by altitude and harvesting time. The content of polysaccharides and alcohol-soluble extracts from *Dendrobium devonianum* were significantly different at different altitudes and harvesting time. In the west of Yunnan suitable for planting *Dendrobium devonianum*, the higher the elevation, the higher the content of polysaccharides and alcohol-soluble extracts contained from *Dendrobium devonianum*; The longer the harvesting time, the polysaccharide content from *Dendrobium devonianum* showed a decreasing tendency, but the change was not obvious; on the contrary, the content of alcohol-soluble extract gradually increased. [Conclusion] The study provides a reference for the cultivation and harvesting of *Dendrobium devonianum*.

Key words *Dendrobium devonianum* Paxt.; Polysaccharides; Alcohol-soluble extracts; Accumulation law

齿瓣石斛(*Dendrobium devonianum* Paxt.)又名紫皮石斛,因其茎的表面多为紫色,故名紫皮石斛,为兰科石斛属植物,是我国亚热带地区重要的林下药用植物资源,作为传统的药材和保健品有着悠久的利用历史,具有很高的药用价值,有报道称其药用效果不亚于铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo),其功能主要是养胃生津、滋阴除热,用于热病伤津或胃阴不足之舌干口渴、阴虚津亏之虚热不退等症^[2]。近年来齿瓣石斛被推为药用保健佳品,在云南省各地州有广泛的分布,尤以滇西地区种植较多,据报道,滇西地区齿瓣石斛的产量已占全国石斛产量的70%以上,齿瓣石斛种植已成为当地农民的主要收入来源。为了更好地指导种植户种植齿瓣石斛,促进石斛产业的健康发展,该研究选取滇西地区齿瓣石斛主产地的龙陵、芒市、瑞丽、梁河4个地区的石斛鲜条进行检测研究,分析滇西地区齿瓣石斛种植规律,为相关研究和广大种植户提供参考。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂 旋转蒸发器(N-1100型,上海爱朗仪器有限公司);低温冷却液循环泵(DLSB-5/20型,郑州长城科工贸有限公司);真空隔膜泵[ILMVAC GmbH 115043型,伊尔姆真空设备贸易(上海)有限公司];超声波清洗器(KQ-500E型,昆山市超声仪器有限公司);制冰机(XB70-FZ型,

宁波格兰特制冰设备制造有限公司);台式高速冷冻离心机(H-1850R型,长沙湘仪离心机仪器有限公司);水浴锅(XMTD-6000型,余姚市肖东仪表厂);电子天平(20002型,杭州友恒称重设备有限公司);分析天平(FA1104B,上海越平科学仪器有限公司);紫外可见分光光度计(UV-3100型,上海美谱达仪器有限公司);伊莱克斯冰箱(BCD-252K型,伊莱克电子集团有限公司);循环水式多用真空泵(SHK-III型,郑州科泰实验设备有限公司);电热恒温古风干燥箱(DHG-9070A,北京陆希科技有限公司);苯酚(分析纯,西陇化工有限公司);浓硫酸、乙醇,均为分析纯(北京化工厂)。

1.2 样品来源 选取瑞丽市(海拔960 m)、芒市(海拔1 020 m)、梁河县(海拔1 179 m)、龙陵县(海拔1 980 m)4个齿瓣石斛主产区的石斛鲜条作为试验样品(鲜条为2015年10月至2016年6月一年生成熟鲜条)。切碎之后在温度55℃烤箱内烘干送检。

1.3 多糖含量测定 参照2015版《中国药典》一部石斛多糖含量测定方法^[3]。采用循环水浴加热法提取石斛中的多糖,并进一步运用化学试剂反应显色以及形成络合物,采用紫外分光光度法对石斛样品中的多糖含量进行测定。

1.3.1 对照品溶液的制备。精密称取无水葡萄糖对照品9.56 mg,加水溶解稀释成90 μg/mL的溶液。

1.3.2 标准曲线的绘制。精密量取对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置10 mL具塞试管中,各加水补至1.0 mL,混匀,精密加入5%苯酚溶液1 mL,硫酸溶液5 mL,混匀,置沸水浴中加热20 min,取出,置冰浴中冷却8 min,取

基金项目 中华人民共和国农业部专项(16RZZY-07-07)。

作者简介 姚志军(1989—),男,云南富源人,研究实习员,从事药用植物资源收集与种苗培育、栽培技术研究。

收稿日期 2017-11-29

出,以相应试剂为空白。按照紫外分光光度法,在488 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标、浓度($X, \mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制标准曲线。

1.3.3 供试品溶液的制备。精密称取样品粉末(过三号筛)0.3 g,每批称取3份,置圆底烧瓶中,加入水200 mL,90℃水浴回流2 h,放冷,转移至250 mL量瓶中,用少量水分次洗涤容器,洗液并入同一量瓶中,加水至刻度,摇匀,过滤,精密量取续滤液2 mL,置15 mL离心管中,精密加入无水乙醇10 mL,摇匀,冷藏1 h,取出,离心20 min(转速4 000 r/min),弃去上清液,沉淀加80%乙醇洗涤2次,每次8 mL,离心,弃去上清液,沉淀加热水溶解至25 mL量瓶中,放冷,加水至刻度,摇匀即得供试品溶液。

1.3.4 含量测定。精密量取1 mL,置10 mL具塞试管中,按照“1.3.2”中方法,自“精密加入5%苯酚溶液1 mL起”,依法测定吸光度,计算。多糖含量取平行3次平均值。

1.4 醇溶性浸出物含量测定 参照2010年版《中国药典》(一部)附录VA项下热浸法测定^[4],以95%无水乙醇作溶剂。精密称定供试样品2 g,置100 mL具塞圆底烧瓶中,精密加乙醇50 mL,密塞,称重,静置1 h,85℃水浴回流,保持微沸1 h,放冷后取下,密塞,用95%乙醇补足差重,摇匀,过滤,精密量取滤液25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于105℃烘箱中干燥3 h,取出,置干燥器中冷却30 min,迅速精密称重,以干燥品计算供试品中醇溶性浸出物的含量。重复3次。

1.5 数据处理 采用Excel对试验数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同采收期对石斛多糖及醇溶性浸出物含量的影响 从图1可看出,齿瓣石斛成熟鲜条中,11—12月份采收的石斛鲜条所含石斛多糖含量较高,12月一次年2月份石斛鲜条所含多糖含量变化不大,其后随着时间的延长石斛鲜条所含多糖含量逐渐下降,到次年3月份石斛多糖含量降到最低值。

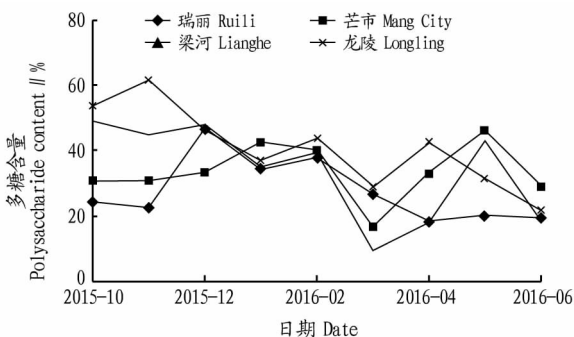


图1 不同海拔及不同采收时间的齿瓣石斛多糖含量变化

Fig.1 Changes of polysaccharide content of *Dendrobium devonianum* at different altitudes and harvesting time

从图2可看出,随着采收时间的延长,齿瓣石斛成熟鲜条中所含醇溶性浸出物含量呈上升趋势。

2.2 不同海拔对石斛多糖及醇溶性浸出物含量的影响 从图3可看出,不同海拔地区石斛鲜条所含多糖含量变化较

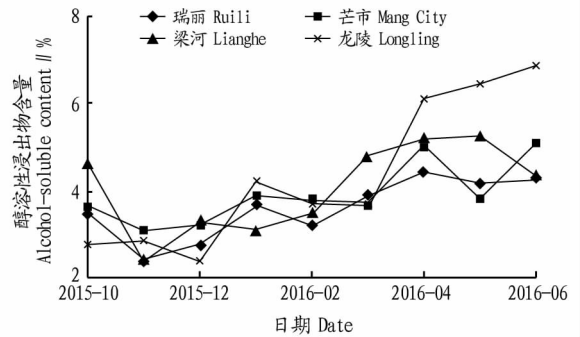


图2 不同海拔及不同采收时间的齿瓣石斛醇溶性浸出物含量变化

Fig.2 Changes of alcohol-soluble extract content of *Dendrobium devonianum* at different altitudes and harvesting time

大,在适宜齿瓣石斛生长的海拔间,海拔越高,石斛鲜条所含多糖含量越高,石斛鲜条所含醇溶性浸出物含量也越高。

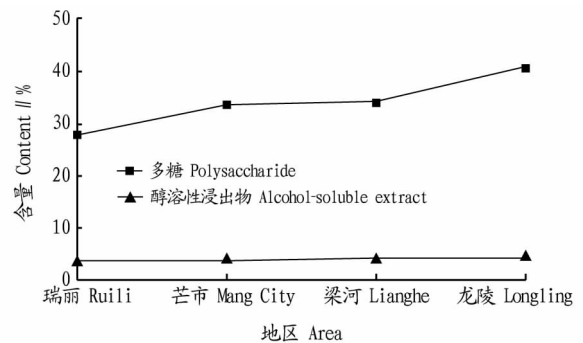


图3 各地区齿瓣石斛多糖及醇溶性浸出物含量变化

Fig.3 Changes of polysaccharide and alcohol-soluble extract of *Dendrobium devonianum* in different regions

3 讨论

齿瓣石斛所含多糖以及其所含醇溶性浸出物含量是齿瓣石斛植物资源开发利用的重要指标,研究其含量变化的规律,对定向种植齿瓣石斛及栽培管理方式具有重要意义。该试验中,齿瓣石斛在不同采收期以及不同海拔地区种植,其内多糖和醇溶性浸出物含量变化较大,成熟鲜条随着采收时间的延长,其多糖含量整体呈下降的趋势;醇溶性浸出物含量随着采收时间的延长呈增加趋势;海拔越高齿瓣石斛所含多糖含量越高,所含醇溶性浸出物含量也越高。该试验由于试验成本及时间限制,成熟鲜条只选取了9个月份的样品,不足以完全证明随着采收时间的延长,其所含多糖含量及醇溶性浸出物含量的变化规律与该试验结果始终保持一致。另外,由于所选地址不一样,其植物激素使用情况^[5]、栽培方式^[6]、光照强度、昼夜温差^[7]、开花时间等外界因素也会影响齿瓣石斛体内成分的含量变化,因此,该试验存在一定的局限性。

参考文献

- [1] 李彩霞,竹剑平. 不同采收期铁皮石斛中多糖含量比较[J]. 药物分析杂志,2010,30(6):1138-1139.
- [2] 胡永亮,李泽生,赵云翔,等. 齿瓣石斛仿野生栽培技术研究[J]. 湖南农业科学,2013(3):38-40.
- [3] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典:2015年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.

2.4 滴制温度选择 由表 4 可看出,60、70 ℃ 时,不能达到熔融温度,很快出现堵塞滴头的现象,而且产生的滴丸形状不规则;80 ℃ 时,产生的滴丸形状有一定改善;100 ℃,滴丸硬度较低,斑鸠菊提取物包封不完全,而且斑鸠菊提取物中含有挥发性成分,容易损失,滴丸机冷却负担加大,冷却液温度上升,冷却效果变差,圆整度下降。90 ℃ 时,外观指标评分最优,选择滴制温度为 90 ℃。

表 4 斑鸠菊固体分散体滴丸滴制温度筛选结果

Table 4 Screening results of dropping temperature for the solid dispersion drop pills of *Vernonia esculenta*

滴制温度 Dropping temperature ℃	外观质量 Appearance quality	容散时限 Dissolution time limit	质量差异 Weight difference	综合评分 Comprehensive score
60	7.3	8.3	9.8	8.60
70	5.2	7.9	7.3	6.91
80	7.6	10.0	8.8	8.84
90	9.1	9.8	10.0	9.73
100	7.6	10.0	8.8	8.88

2.5 滴制速度选择 在滴速为 10、20、40、60 滴/min 条件下进行滴制速度筛选,结果表明,60 滴/min 条件下,滴速过快,斑鸠菊提取物与基质的熔融液黏度较大,滴与滴之间来不及分离,因此形成拖尾,质量差异大;20 和 40 滴/min 时,滴丸制备顺利,综合生产效率和质量因素,选择滴制速度为 40 滴/min。

2.6 正交试验 从表 5 可以看出,各因素对滴丸成型影响主次顺序依次为 B、A、D、C,即提取物与基质的比例对滴丸

表 5 正交试验结果

Table 5 Orthogonal test results

试验号 No.	A	B	C	D	综合评分 Comprehensive score
1	1	1	1	1	2.69
2	1	2	2	2	5.71
3	1	3	3	3	5.63
4	2	1	2	3	5.85
5	2	2	3	1	8.62
6	2	3	1	2	9.11
7	3	1	3	2	5.21
8	3	2	1	3	6.94
9	3	3	2	1	9.16
k_1	4.677	4.583	6.247	6.823	
k_2	7.860	7.090	6.907	6.677	
k_3	7.103	7.967	6.487	6.140	
R	3.183	3.383	0.660	0.683	

(上接第 2 页)

[4] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.

[5] 林秋霞,李敏,周海玉,等. 植物生长调节剂对川麦冬总皂苷和总多糖

含量的影响研究[J]. 中国现代中药,2014,16(5):399-401,409.

成型的影响最大,其次是 PEG4000 与 PEG6000 的比例、滴制速度,滴制温度对滴丸成型的影响最小;优选出斑鸠菊固体分散体滴丸的最佳工艺条件为 $A_2B_3C_2D_1$,即 PEG4000 与 PEG6000 比例为 3:1,提取物与基质比例为 1:7,滴制温度为 80 ℃,滴制速度为 20 滴/min。

2.7 验证试验 按照上述确定的最佳工艺参数,进行 3 批滴丸制备,所得滴丸为黑色、色泽均匀、表面光滑、无气泡,说明优选工艺合理可行,稳定性好(表 6)。

表 6 斑鸠菊固体分散体滴丸验证试验结果

Table 6 Verification test results of the solid dispersion drop pills of *Vernonia esculenta*

批次 Batch	外观质量 Appearance quality	容散时限 Dissolution time limit min	平均丸重 Average weight of pills//mg	质量差异 Weight difference %
1	色泽均匀、表面光滑、无气泡	7.9	40.8	4.9
2	色泽均匀、表面光滑、无气泡	8.0	40.3	4.7
3	色泽均匀、表面光滑、无气泡	8.2	39.9	4.9

3 结论

该研究通过对斑鸠菊固体分散体滴丸制备影响因素进行系统比较,确定了斑鸠菊固体分散体滴丸的制备工艺,基质为 PEG4000:PEG6000(3:1),冷却剂为二甲硅油-100,冷却温度为 20 ℃,斑鸠菊固体分散体滴丸的最佳成型工艺参数为斑鸠菊提取物与基质比例为 1:7,滴制温度为 80 ℃,滴制速度为 20 滴/min。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1985:74,47.
- [2] 刘清华,杨峻山,索茂荣. 斑鸠菊属的倍半萜内酯类及甾体皂苷类化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2007,32(1):10-17.
- [3] 孙力,巴玉兰,于鲁海,等. 斑鸠菊属植物药理活性研究进展[J]. 新疆中医药,2009,27(6):82-85.
- [4] 何丹,杨林. 隐丹参酮固体分散体制备工艺研究[J]. 中国药业,2009,18(14):45-46.
- [5] 陈琼,李恒. 中药制剂技术[M]. 北京:中国农业大学出版社,2014:160,211.
- [6] 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:附录XII A,71.
- [7] 罗杰英,王玉蓉,张自然,等. 现代物理药剂学理论与实践[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2005:236.
- [8] 刘琳娜,张琰,徐媛,等. 正交试验法优选小柴胡汤滴丸制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):44-47.
- [9] 杜文伟. 中药滴丸剂的研究开发进展[J]. 中国药业,2013,22(5):1-3.
- [10] 俞金,崔佰吉,张秀荣. 五味子滴丸成型工艺的研究[J]. 中国现代应用药学,2010,27(4):326-329.

含量的影响研究[J]. 中国现代中药,2014,16(5):399-401,409.

[6] 毛灵芝. 不同栽培条件下铁皮石斛(*Dendrobium candidum*)光合特性和主要药用成分的变化[D]. 金华:浙江师范大学,2008.

[7] 张春柳. 昼夜温差对铁皮石斛原球茎多糖含量的影响及机理研究[D]. 福州:福建农林大学,2015.