

# 合江金钗石斛在不同采收期时多糖和石斛碱含量的比较<sup>Δ</sup>

颜 寿<sup>1,2\*</sup>, 赵庭梅<sup>1,2</sup>, 张雪琴<sup>1,2</sup>, 邢嘉懿<sup>1</sup>, 胡亚东<sup>1</sup>, 淳 泽<sup>1#</sup> (1. 中国科学院成都生物研究所农业生物技术研究中心, 成都 610041; 2. 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049)

中图分类号 R282.2; R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0073-05  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.19

**摘要** 目的: 对不同采收年限与采收月份时合江金钗石斛的品质指标进行测定, 为合江金钗石斛合理采收期的确定提供科学依据。方法: 采收一年生、二年生和三年生金钗石斛茎, 测定其折干率和多糖(比色法)、石斛碱(气相色谱法)、总生物碱(比色法)含量以及有效成分总量率(石斛碱含量×折干率)等指标; 采收二年生秋冬季(第2年10月至第3年3月, 每月15日采收)金钗石斛茎, 测定其折干率和多糖、石斛碱含量。结果: 二年生金钗石斛茎的折干率、多糖含量与有效成分总量率较一年生与三年生高, 总生物碱、石斛碱含量为一年生(0.52%、0.48%)>二年生(0.48%、0.44%)>三年生(0.32%、0.22%)。从第2年10月至第3年3月, 二年生金钗石斛茎的折干率逐月上升, 多糖、石斛碱含量均呈现先上升后下降的趋势, 其中多糖含量在2月最高(17.32%), 石斛碱含量于12月最高(0.51%)。结论: 综合植物开花特性、折干率、多糖与石斛碱含量等指标, 建议合江金钗石斛最适采收期为二年生的12月和1月(第三年开花前)。

**关键词** 合江; 金钗石斛; 多糖; 石斛碱; 折干率; 气相色谱法; 采收月份; 生长年限

## Comparison of Polysaccharide and Dendrobine Content in Hejiang *Dendrobium nobile* at Different Harvesting Time

YAN Shou<sup>1,2</sup>, ZHAO Tingmei<sup>1,2</sup>, ZHANG Xueqin<sup>1,2</sup>, XING Jiayi<sup>1</sup>, HU Yadong<sup>1</sup>, CHUN Ze<sup>1</sup> (1. Agricultural Biotechnology Research Center, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; 2. College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

- [2] 张伟, 兰奋, 洪小翔. 2015年版《中国药典》编制概况[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(20): 1743-1746.
- [3] 白雪媛, 赵雨, 张惠, 等. 不同年限人参中水溶性蛋白含量的比较[J]. 中国药房, 2013, 24(19): 1779-1781.
- [4] 孙娜, 徐钢, 徐珊, 等. 人参炮制对其化学成分和药理作用的影响[J]. 中国药房, 2016, 27(6): 857-859.
- [5] 毕蕾, 颜晓静, 杨焯, 等. 正交设计优选丹参-人参组分抗肝癌配伍研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(13): 82-86.
- [6] 颜晓静, 杨焯, 毕蕾, 等. 丹参-人参组分配伍对肺癌A549增殖、凋亡和骨架的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4436-4441.
- [7] 王朝亮, 陈光瑞, 史丽. 扶正强心颗粒治疗慢性心力衰竭62例疗效观察[J]. 中医药临床杂志, 2011, 23(10): 877-878.
- [8] 李春娜, 李鹏收, 刘洋洋, 等. 中药复方的化学成分及配伍研究[J]. 辽宁中医药杂志, 2014, 41(11): 2419-2422.
- [9] 王莉民, 曹靖宇. 武威市人民医院门诊儿童感冒中药处方分析[J]. 西部中医药, 2013, 26(7): 60-62.
- [10] 王玉清. 某院门诊中药处方用药调查[J]. 今日药学, 2014, 24(7): 538-540.
- [11] 王慧玉. 从剂型角度谈合理使用中成药[J]. 中国药房, 2010, 21(43): 4127-4128.
- [12] 高红艳. 中药剂型对临床疗效影响观察[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(4): 126-127.
- [13] 汤丽芝, 史亚军, 年娟娟, 等. 中药传统丸剂研究进展[J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(3): 107-109.
- [14] 邵易珊, 赵正荣, 邵可众. 影响中药胶囊剂囊破裂的因素分析[J]. 现代中医药, 2017, 37(1): 79-80.
- [15] 何屹. 中药片剂压片工艺探讨[J]. 中国医药导报, 2009, 6(22): 194-195.
- [16] 谢燕, 马越鸣, 王长虹, 等. 改善中药制剂口服生物利用度的研究概况与思考[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(3): 195-200.
- [17] 林龙飞, 杨培, 闫磊, 等. 人参茎叶水提液中人参皂苷热稳定性研究及其有效期推算[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 137-141.
- [18] 申丹, 唐仕欢, 卢朋, 等. 含人参中成药用药规律分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 2027-2032.
- [19] 王逸, 鲍勇刚, 贾韦国, 等. 人参蛋白研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(19): 2782-2786.
- [20] 柴程芝, 刘志刚, 黄煌, 等. 《伤寒杂论》人参药证研究[J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(10): 1689-1691.

Δ 基金项目: 四川省“十三五”中药材育种攻关项目(No.2016-NY20036-1); 中国科学院科技服务网络计划(STS计划)区域重点项目; 四川省科技计划项目重点研发项目(No.2017SZ0022); 四川省科技计划项目科技支撑计划项目(No.2016JZ0015); 四川省科技基础条件平台项目(No.2017TJPT0022)

\* 硕士研究生. 研究方向: 中药资源的资源收集、评价、利用和分子标记辅助育种. E-mail: yanshou15@mails.ucas.ac.cn

# 通信作者: 研究员, 硕士生导师, 博士. 研究方向: 中药资源收集与评价、药理作用机制. E-mail: chunze@cib.ac.cn

(收稿日期: 2017-03-15 修回日期: 2017-11-29)  
(编辑: 余庆华)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine quality indexes of Hejiang *Dendrobium nobile* at different harvesting time and months, and to provide scientific reference for reasonable harvesting period of Hejiang *D. nobile*. METHODS: The stem of annual, biennial and triennial *D. nobile* were collected. The drying rate, the contents of polysaccharides (colorimetry), dendrobine (GC) and total alkaloids (colorimetry), effective component total rate (dendrobine×drying rate) were measured. Biennial *D. nobile* were collected in autumn and winter (Oct. of the second year-Mar. of the third year, 15th day a month) to determine drying rate, the contents of polysaccharides and dendrobine. RESULTS: The drying rate, the contents of polysaccharides and effective component total rate were higher than annual and triennial *D. nobile*. The content of total alkaloids and dendrobine were in descending order: annual *D. nobile* (0.52%, 0.48%)>biennial *D. nobile*(0.48%, 0.44%)>triennial *D. nobile* (0.32%, 0.22%). From Oct. of the second year to Mar. of the third year, the drying rate of biennial *D. nobile* was increasing month by month; the contents of polysaccharides and dendrobine increased firstly and then decreased; the content of polysaccharide was the highest in Feb. (17.32%), and the content of dendrobine reached the highest level in Dec. (0.51%). CONCLUSIONS: The optimal harvesting period is biennial Hejiang *D. nobile* in Dec. and Jan. (third years before flowering), considering flowering characteristics, drying rate, the contents of polysaccharide and dendrobine.

**KEYWORDS** Hejiang; *Dendrobium nobile*; Polysaccharide; Dendrobine; Drying rate; Gas chromatography; Harvesting month; Growth years

金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl)别名“吊兰花”“扁金钗”“扁草”“扁黄草”,为兰科多年生草本植物,因茎呈微扁形,两头窄、中部宽,加之表面金黄色或绿黄色,具有光泽,形如古代人头上的发钗而得名。金钗石斛是我国传统的名贵中药,在《神农本草经》中列为上品,其性寒,味甘、淡、微咸。现代医学表明,石斛在抑制肿瘤、抗衰老、提高人体免疫力、补五脏虚劳等方面有明显效果<sup>[1]</sup>。合江县是我国著名的金钗石斛道地产区之一,在明代已广泛栽种<sup>[2]</sup>。2015年12月13日合江金钗石斛正式成为地理标志产品。金钗石斛作为多年生植物,究竟应该采收几年生的茎一直尚未达成共识,并且未见关于合江金钗石斛合理采收期方面的文献报道。传统意义上的适宜采收期为秋冬季节,因此,笔者研究了合江金钗石斛不同采收期内其品质指标的变化,希望能够为合江金钗最佳采收期的确定提供科学依据,推动合江金钗石斛产业健康有序地发展。

## 1 材料

### 1.1 仪器

FL9790 气相色谱仪(浙江福立分析仪器有限公司); DB-1 毛细管柱(美国安捷伦科技有限公司); 以100% 二甲基聚硅氧烷为固定相,柱长为30 m,内径为0.25 mm,膜厚度为0.25 μm); Varioskan Flash 全波长扫描式多功能读数仪(美国 Thermo 公司); RT-02B 粉碎机(香港泓荃制药机械公司); 50目分样筛(浙江上虞市华丰五金仪器有限公司); 101-3AB 电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司)。

### 1.2 药材

金钗石斛采自四川省合江县福森种养专业合作社。采收了一年生、二年生和三年生金钗石斛茎(北纬28°44' 11", 东经106°06' 38", 海拔725 m)用于不同采收年限药材的比较,该药材在当地俗称“鱼肚兰”,采于2016年10月15日;于2016年10月至2017年3月中的每个月的15日采收了生长年龄为2年的药材(北纬28°44' 39", 东经106°09' 22", 海拔430 m)用于不同采收月份药

材的比较,该药材当地俗称“大竹叶兰”。采样方式:每隔1 m左右随机选取茎分蘖数大于15的单株,从同一株取茎1枝,总计取样30枝。2种药材均采用仿野生的栽培方式即种植于石头上。上述药材由中国科学院成都生物研究所淳泽研究员鉴定为兰科石斛属植物金钗石斛。采收的新鲜样品切成小段置于105℃恒温鼓风干燥箱中干燥30 min,之后60℃烘干至恒质量,用粉碎机粉碎并过50目分样筛,用自封袋封存,置于阴凉干燥处。

### 1.3 对照品与试剂

石斛碱对照品(成都远诺天成科技有限公司,批号:YNZB0806,纯度:≥98%); D-无水葡萄糖对照品(以下简称葡萄糖,大连美仑生物技术有限公司,批号:MB6951,纯度:≥98%); 萘对照品(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:N110796,纯度:≥99.7%)。所用试剂甲酸、甲醇、苯酚、浓硫酸、乙醇、氯仿、溴甲酚绿、氢氧化钠、邻苯二甲酸氢钾等均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 折干率测定

参考文献[3]方法测定折干率。采收金钗石斛茎后,去掉叶片并洗净,待表面水分蒸发后,测定其鲜质量。茎切成小段于105℃恒温鼓风干燥箱中干燥30 min,之后60℃烘干至恒质量,称量干质量并计算折干率,折干率=(茎干质量/茎鲜质量)×100%。

### 2.2 多糖含量测定

参考文献[4-5]方法测定多糖含量。

2.2.1 标准曲线的制备 取105℃干燥至恒质量的葡萄糖对照品0.025 g溶解于250 mL量瓶中,即得0.1 mg/mL葡萄糖对照品溶液。精密量取葡萄糖对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,置于10 mL具塞试管中,再分别加水补至2 mL,各试管中分别加入5%的苯酚溶液1 mL(临用配制),充分震荡摇匀,迅速精密加入浓硫酸5 mL,摇匀。置于沸水浴中加热20 min,取出,置于冷水中自然冷却5 min,取出后用全波长扫描式多功能读数仪于490 nm波长处测定其吸光度。以测试品中葡萄糖

质量浓度为横坐标( $x$ )、相应的吸光度值为纵坐标( $y$ )绘制标准曲线,得回归方程为 $y=9.3068x+0.0402$ ( $R^2=0.9928$ ),表明葡萄糖检测质量浓度线性范围为 $0.01\sim 0.05\text{ mg/mL}$ 。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称定样品粉末 $0.25\text{ g}$ ,置于 $250\text{ mL}$ 圆底烧瓶中,加入 $80\%$ 乙醇 $100\text{ mL}$ ,加热回流提取 $1\text{ h}$ ,趁热过滤,滤渣与滤器用 $40\text{ }^\circ\text{C}$   $80\%$ 热乙醇 $10\text{ mL}$ 洗涤 $3$ 次,滤渣连同滤纸置于烧瓶中,加水 $100\text{ mL}$ 回流提取 $2\text{ h}$ ,趁热过滤,用少量热水洗涤滤器,重复提取 $1$ 次,合并滤液与洗液,放冷,转移至 $500\text{ mL}$ 量瓶中,加水至刻度,混匀备用。

2.2.3 精密度试验 取葡萄糖对照品溶液 $0.5\text{ mL}$ 置于 $10\text{ mL}$ 具塞试管中,按照“2.2.1”项中“再分别加入水补至 $2\text{ mL}$ ”起,制备测试品溶液。取该测试品溶液,用全波长扫描式多功能读数仪于 $490\text{ nm}$ 波长处测定其吸光度,连续进样测定 $5$ 次。计算吸光度值的RSD为 $0.34\%$ ( $n=5$ ),表明精密度良好。

2.2.4 准确度试验 精密称取同一批已知多糖含量( $9.52\%$ )的金钗石斛样品约 $0.25\text{ g}$ , $9$ 份,分别精密加入低、中、高水平( $80\%$ 、 $100\%$ 、 $120\%$ )的葡萄糖对照品各 $3$ 份,按照“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液,依法测定吸光度并计算平均回收率为 $98.67\%$ ( $RSD=2.13\%$ , $n=9$ ),表明准确度良好。

2.2.5 样品含量测定方法 精密量取供试品溶液 $2\text{ mL}$ ,按照“2.2.1”项下的方法,自“分别加入 $5\%$ 苯酚溶液 $1\text{ mL}$ ”起,依法测定吸光度,并通过标准曲线计算,多糖含量以无水葡萄糖( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ )计。

### 2.3 总生物碱含量测定

参考文献[6]方法测定总生物碱含量。

2.3.1 标准曲线的制备 精密称取石斛碱对照品 $1\text{ mg}$ ,置于 $100\text{ mL}$ 量瓶中,用氯仿定容至 $100\text{ mL}$ ,作为对照品溶液。取对照品溶液 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $3.0$ 、 $4.0$ 、 $5.0\text{ mL}$ ,分别置于分液漏斗中,用氯仿稀释至 $10\text{ mL}$ ,加入 $\text{pH} 4.5$ 的醋酸盐缓冲溶液 $5\text{ mL}$ 和 $0.04\%$ 溴甲酚绿溶液 $1\text{ mL}$ ,剧烈震荡 $5\text{ min}$ ,静置 $30\text{ min}$ 。取滤液 $5\text{ mL}$ 加 $0.01\text{ mol/L}$ 氢氧化钠乙醇溶液 $1\text{ mL}$ ,摇匀,用全波长扫描式多功能读数仪于 $620\text{ nm}$ 波长处测得吸光度值。以测试品中石斛碱质量浓度为横坐标( $x$ ),对应的吸光度值为纵坐标( $y$ )绘制标准曲线,计算回归方程为 $y=0.0445x+0.0705$ ( $R^2=0.9956$ )。表明石斛碱检测质量浓度线性范围为 $1.0\sim 5.0\text{ } \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密称定样品粉末 $0.25\text{ g}$ ,置于 $100\text{ mL}$ 圆底烧瓶中,用适量氨水浸润,密封放置 $30\text{ min}$ 。加入氯仿 $25\text{ mL}$ ,称质量,加热回流 $2\text{ h}$ ,冷却后称质量,用氯仿补足减少的质量,过滤。准确量取续滤液 $1\text{ mL}$ 置于 $100\text{ mL}$ 量瓶中,用氯仿稀释至刻度,混匀备用。

2.3.3 精密度试验 取“2.3.1”项下的对照品溶液 $3.0\text{ mL}$ ,置于分液漏斗中,用氯仿稀释至 $10\text{ mL}$ ,同“2.3.1”项

下方法制备测试品溶液,于 $620\text{ nm}$ 波长处测吸光度,连续进样测定 $5$ 次。计算吸光度值的RSD为 $0.59\%$ ( $n=5$ ),表明精密度良好。

2.3.4 准确度试验 精密称取同一批已知总生物碱含量( $0.48\%$ )的金钗石斛样品约 $0.25\text{ g}$ , $9$ 份,分别精密加入低、中、高水平( $80\%$ 、 $100\%$ 、 $120\%$ )的石斛碱对照品各 $3$ 份,按照“2.3.2”项下的方法制备供试品溶液,测定并计算平均回收率为 $97.83\%$ ( $RSD=2.87\%$ , $n=9$ ),表明准确度良好。

2.3.5 样品含量测定方法 精密量取供试品溶液 $10\text{ mL}$ 置于分液漏斗中,参照“2.3.1”项下的方法,自“加入 $\text{pH} 4.5$ 的醋酸盐缓冲溶液 $5\text{ mL}$ ”起,依法测定吸光度,并通过标准曲线计算即得。

### 2.4 石斛碱含量测定

参考文献[5]方法测定石斛碱含量。

2.4.1 色谱条件 色谱柱:DB-1毛细管柱;程序升温:初始温度为 $80\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 $1\text{ min}$ ,之后以 $10\text{ }^\circ\text{C/min}$ 的速率升温至 $250\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 $5\text{ min}$ ;进样口温度: $250\text{ }^\circ\text{C}$ ;火焰离子化检测器(FID)温度: $250\text{ }^\circ\text{C}$ ;载气: $\text{N}_2$ ;分流比: $5:1$ ;氢气流速: $30\text{ mL/min}$ ;空气流速: $300\text{ mL/min}$ ;尾吹气流速: $30\text{ mL/min}$ 。理论板数按石斛碱峰计不低于 $10000$ 。取供试品(10月中旬“大竹叶兰”样品)和对照品溶液按照上述色谱条件进样分析,色谱图见图1。

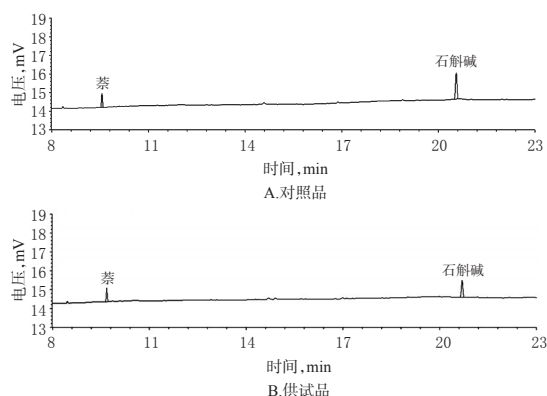


图1 气相色谱图

Fig 1 Gas chromatograms

2.4.2 校正因子测定 取茶对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 $1\text{ mL}$ 含 $25\text{ } \mu\text{g}$ 的溶液,作为内标溶液。取石斛碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 $1\text{ mL}$ 含 $50\text{ } \mu\text{g}$ 的溶液,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液 $2\text{ mL}$ ,置于 $5\text{ mL}$ 量瓶中,精密加入内标溶液 $1\text{ mL}$ ,加甲醇至刻度,摇匀,吸取 $1\text{ } \mu\text{L}$ ,注入气相色谱仪,计算校正因子, $F=2.47$ 。

2.4.3 方法学考察 (1)精密度试验。取同一份对照品溶液,连续进样 $5$ 次,记录色谱峰面积比值(石斛碱峰面积/茶峰面积),计算 $RSD=1.78\%$ ( $n=5$ ),表明仪器精密度良好。(2)重复性试验。取同一批样品,按照“2.4.3”项下的方法制备供试品溶液 $5$ 份,依法测定石斛碱的含量,

计算其RSD=2.1% (n=5),表明重复性良好。(3)稳定性试验。取同一份样品溶液,分别于0、2、4、8、12、24 h进行分析,测得石斛碱与萘的峰面积比值,计算其RSD=2.9%,表明样品溶液在24 h内稳定。(4)准确度试验。精密称取同一批已知石斛碱含量(0.38%)的金钗石斛样品9份,分别精密加入低、中、高水平(80%、100%、120%)的石斛碱对照品各3份,按照“2.4.3”项下的方法测定并计算平均回收率为97.95%(RSD=2.81%,n=9)。

2.4.4 样品含量测定方法 取样品粉末0.25 g,精密称定,置于100 mL圆底烧瓶中,精密加入含0.05%甲酸的甲醇溶液25 mL,称定质量,加热回流3 h,放冷,再称定质量,用含0.05%甲酸的甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液2 mL,置于5 mL量瓶中,精密加入内标溶液1 mL,加甲醇至刻度,摇匀,吸取1 μL,注入气相色谱仪,测定,即得。

## 2.5 不同样品各指标测定结果

2.5.1 不同采收年限 不同采收年限样品的折干率、多糖含量、石斛碱含量、总生物碱含量、有效成分总量率(以石斛碱含量×折干率代表)等指标测定结果见表1。

表1 不同采收年限金钗石斛品质指标比较

Tab 1 Comparison of quality indexes of *D. nobile* at different harvesting time

采收年限,年	折干率,%	多糖含量,%	石斛碱含量,%	总生物碱含量,%	有效成分总量率,%
一年生	8.09±0.36 <sup>a</sup>	2.69±0.28 <sup>b</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>	0.52±0.05 <sup>a</sup>	0.39±0.04 <sup>a</sup>
二年生	9.00±0.41 <sup>a</sup>	3.02±0.31 <sup>b</sup>	0.44±0.04 <sup>a</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>	0.43±0.04 <sup>a</sup>
三年生	8.19±0.38 <sup>a</sup>	1.70±0.24 <sup>c</sup>	0.22±0.03 <sup>b</sup>	0.32±0.04 <sup>a</sup>	0.18±0.03 <sup>b</sup>

注:同一列中的不同小写字母表示各数据间比较差异有统计学意义,P<0.05

Note: Different letters in columns represent the difference between each data were statistical significance, P<0.05

由表1可知,不同生长年限的金钗石斛其品质评价指标变化具有一定的规律性:折干率与多糖含量均呈现为二年生样品>一年生与三年生样品;石斛碱含量与总生物碱含量均呈现为一年生样品>二年生样品>三年生样品。石斛碱是总生物碱中的成分之一,在各样品中总生物碱含量略微高于石斛碱含量,表明在各样品中石斛碱在总生物碱中占有极高的比例。用折干率的大小表征产量,以石斛碱含量与折干率之积代表有效成分总量率。虽然一年生石斛碱含量最高,但折干率偏低,所以,最终有效成分总量率为二年生样品>一年生样品>三年生样品。多糖含量与折干率变化趋势一致,也以二年生最高。综合考虑石斛碱与多糖含量,建议采收生长期为两年的金钗石斛。

2.5.2 不同采收月份 二年生金钗石斛不同采收月份样品的折干率、多糖含量与石斛碱含量变化情况见图2。

由图2可见,从2016年10月—2017年3月,折干率持续上升,其中2016年10月—2017年1月变化趋势比较一致,每个月递增1.5%左右。2017年2、3月份折干率急剧升高,最终折干率达到19%以上,这可能与开花有

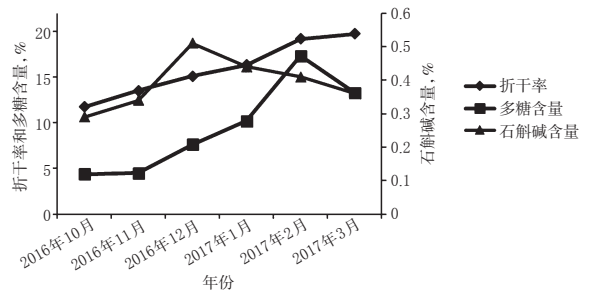


图2 不同采收月份金钗石斛折干率、多糖与石斛碱含量变化

Fig 2 The changes of drying rate, polysaccharides and dendrobine contents in *D. nobile* at different harvesting months

关,2月中旬合江金钗石斛茎上可见绿豆大小的花芽,3月中旬花芽已有黄豆般大。在多糖含量方面,从2016年10月—2017年2月含量呈上升趋势,2月中旬多糖含量达到顶峰,为17.32%,3月多糖含量开始降低。就石斛碱含量而言,从2016年10月—2017年3月,石斛碱含量先上升后下降,12月中旬石斛碱含量最高,达0.51%。其中2016年12月、2017年1、2月石斛碱含量超过0.40%,符合2015年版《中国药典》(一部)相关标准<sup>[6]</sup>。由于2月份金钗石斛已见花芽,内部成分含量发生了极大的变化,故2016年12月与2017年1月样品的折干率、多糖含量与石斛碱含量均较高,故本研究认为第2年的12月与第3年的1月为合江金钗石斛的最适采收月份。

## 3 讨论

蔡伟<sup>[7]</sup>、梁欢等<sup>[8]</sup>研究得出采收年限1~4年中金钗石斛中石斛碱的含量大小为一年生>二年生>四年生>三年生样品,与本文石斛碱含量一年生>二年生>三年生样品的研究结果基本一致。徐云燕等得出一年生金钗石斛总生物碱含量最高,总生物碱含量也为一年生>二年生>三年生样品<sup>[9]</sup>。刘宁<sup>[10]</sup>研究得出二年生金钗石斛多糖含量与折干率均明显高于一年生与三年生样品,与本文研究结果一致。在铁皮石斛方面,也曾得出类似的结论:包英华研究得出二年生铁皮石斛的折干率、多糖含量、石斛碱含量均高于三年生样品,建议采收二年生的药材<sup>[11]</sup>;诸燕关于浙江产区铁皮石斛的研究得出二年生多糖含量高于一年生与三年生样品,建议应在二年生冬季至三年生开花前采收<sup>[12]</sup>;俞巧仙等<sup>[13]</sup>也得出铁皮石斛二年生多糖含量最高;还有研究认为美花石斛也是二年生多糖含量高于三年生<sup>[14]</sup>。

张善宝等<sup>[15]</sup>研究结果表明,云南铁皮石斛折干率从第1年的10月至次年3月持续升高,从4月开始逐渐降低,与本文折干率变化趋势一致。蔡伟等<sup>[7]</sup>得出1月份石斛碱含量最高,而本研究结果认为12月份石斛碱含量最高,分析原因可能与蔡伟等研究并未对12月份的药材进行检测所致,但也可能与金钗石斛产地不同有关。

濒危药用植物的采收应坚持“最大持续产量”原

# 基于CO I基因的羚羊角及其混伪品的DNA条形码鉴定方法的研究

王桂梅\*, 王世伟, 席啸虎, 张小慧\*(山西省中医院药剂科, 太原 030012)

中图分类号 R282.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0077-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.20

**摘要** 目的:考察利用细胞色素C氧化酶亚基I(CO I)基因对羚羊角及其混伪品进行分子鉴定的可行性。方法:收集4个地区的羊角类整角、不完整角样品,共7个。比较样品骨塞部位和角质层部位DNA的提取效果,采用聚合酶链式反应(PCR)技术,以通用引物LCO I 490、HCO2198扩增样品的CO I基因,通过凝胶电泳、纯化(取750 bp条带)、测序后,以CO I基因作为条形码比序列,采用NCBI数据库中的Blast软件在线比对,确定收集样品的具体物种。结果:样品以角质层部位进行DNA提取的效果较好(DNA浓度为15.7~22.6 ng/μL,260 nm/280 nm吸光度值为1.73~4.72);在线比对结果显示,所有样品CO I基因的相似性均达到99%,其主要来源于赛加羚羊、藏羚羊、普氏原羚、山羊、绵羊等羊类的角。结论:基于CO I基因的DNA条形码技术可用于羚羊角及其混伪品的鉴定,该技术为羊角类药材的鉴定提供了一种准确、客观的方法。

**关键词** 细胞色素C氧化酶亚基I基因;羚羊角;混伪品;序列比对;鉴定

## Study on DNA Barcode Identification Method of *Saiga tatarica* and Its Adulterants Based on CO I Gene

WANG Guimei, WANG Shiwei, XI Xiaohu, ZHANG Xiaohui (Dept. of Pharmacy, Shanxi Province Hospital of TCM, Taiyuan 030012, China)

则。有效成分含量与产量高峰不一致时,应以有效成分总量率为指标确定,总量率最大值时即为适宜采收期。从金钗石斛生物学特性来看,一年生石斛茎于3月左右开始进行新芽萌发及新芽的养分供给,每年生长1~3个新芽,且一年生茎越健壮,养分含量越多,新芽长势越好<sup>[16]</sup>。若将一年生石斛茎采收,便不会萌发新芽,不利于可持续采收。一年生石斛茎有效成分总量率低于二年生,同时折干率相对于二、三年生也较低,不利于常温下长时间储存运输。大量已有研究<sup>[7,9]</sup>认为因一年生石斛碱含量高而将其确定为最适采收年限是不合理的。本研究综合折干率、多糖含量、总生物碱含量与石斛碱含量,并考虑到植物的开花特性,得出合江金钗石斛二年生12月和1月(第三年开花前)为最适采收期。

### 参考文献

- [1] 张晓敏,孙志蓉,陈龙,等.金钗石斛的化学成分和药理作用研究进展[J].中国现代应用药学,2014,31(7):895-899.
- [2] 胡加玺.合江金钗石斛[J].食品安全导刊,2015,52(23):80-81.
- [3] 徐良.中药栽培实验技术与方法学[M].北京:人民军医出版社,2009:118-119.
- [4] 罗傲雪,范益军,罗傲霜,等.不同提取方法对石斛多糖含量测定的影响[J].中国药房,2010,21(7):601-602.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:92-93,283.

\* 主管药师。研究方向:中药鉴定。电话:0351-4174328。E-mail:1053807560@qq.com

# 通信作者:主管药师,硕士。研究方向:中药材质量研究。电话:0351-4174328。E-mail:562390325@qq.com

- [6] 黄明进,罗春丽,赵致,等.贵州兴义四种石斛的多糖和总生物碱含量分析[J].时珍国医国药,2014,25(6):1359-1361.
- [7] 蔡伟,林宏英,张宏桂,等.气相色谱法测定不同采收月份和年限金钗石斛中石斛碱[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(11):62-64.
- [8] 梁欢,胡志刚,卢金清,等.不同生长年限和不同部位金钗石斛中石斛碱含量比较与分析[J].世界科学技术:中医药现代化,2014,16(2):335-338.
- [9] 徐云燕,王令仪,黄彬,等.不同生长期金钗石斛和铁皮石斛中总生物碱及多糖的比较[J].华西药学杂志,2014,29(3):288-291.
- [10] 刘宁.金钗石斛质量控制方法研究[D].北京:北京中医药大学,2009.
- [11] 包英华.铁皮石斛种质资源的鉴定与评价研究[D].广州:广州中医药大学,2014.
- [12] 诸燕,斯金平,郭宝林,等.人工栽培铁皮石斛多糖含量变异规律[J].中国中药杂志,2010,35(4):427-430.
- [13] 俞巧仙,郭英英,斯金平,等.铁皮石斛多糖和醇溶性浸出物动态累积规律研究[J].中国中药杂志,2014,39(24):4769-4772.
- [14] 武孔媛,王文全,金家兴,等.产地和采收时间对美花石斛药材中多糖的影响[J].中草药,2008,39(11):1732-1735.
- [15] 张善宝,周可军,张震,等.云南栽培铁皮石斛适宜采收期研究[J].中国中药杂志,2015,40(18):3549-3552.
- [16] 唐德英,杨春勇,段立胜,等.金钗石斛生物学特性研究[J].时珍国医国药,2007,18(10):2586-2587.

(收稿日期:2017-05-23 修回日期:2017-06-28)

(编辑:刘萍)