

养殖五灵脂和野生五灵脂等鞣质含量比较研究

程明¹, 杨连菊^{1*}, 冯学锋¹, 孟召全², 杨立新¹, 格小光¹, 胡世林¹

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078)

[摘要] 目的: 通过测定鞣质含量, 对野生五灵脂及不同食料人工养殖鼯鼠所产五灵脂的品质进行初步评价。方法: 采用分光光度法, 测定野生五灵脂及不同来源五灵脂中总鞣质含量, 并考察野生五灵脂及鼯鼠以侧柏叶为和在侧柏叶基础上添加黄栌和青肤苦腊树叶子等多种食料的五灵脂中总鞣质含量差异。结果: 鼯鼠在侧柏叶基础上添加黄栌、青肤杨、苦腊树叶子等多种食料其总鞣质含量最高, 以侧柏叶为主食料样的五灵脂总鞣质含量稍低, 野生品含量最低。结论: 该方法可作为野生五灵脂、人工五灵脂品质评价的以及鼯鼠规范化养殖鼯鼠研究饲料配方提供技术方法。

[关键词] 野生五灵脂; 养殖五灵脂; 总鞣质; 分光光度法

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0090-03

Total Tannin Content Determination of Excrement of Breeding and Natural State *Trogopterus xanthipes* Milne-Edwards

CHENG Ming¹, YANG Lian-ju^{1*}, FENG Xue-feng¹, MENG Zhao-quan²,
YANG Li-xin¹, GE Xiao-guang¹, HU Shi-lin¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Dongfang hospital, Beijing University of Chinese medicine, Beijing 100078, China)

[Abstract] Objective: By determination of total tannin content to evaluation the quality of excrement of the wild and breeding of *Trogopterus xanthipes*. **Method:** Using spectrophotometry to determination total tannin content of different sources excrement of *T. xanthipes*. **Result:** The total tannins of excrement of Animals feed *Cacumen Platycladi* were higher than the simple of natural state, feed *Folium Rhusii*, *F. Fraxini* and *C. Platycladi* the tannin content is higher than only feed *Cacumen Platycladi* simple and natural state simple. **Conclusion:** This method can be used the quality evaluation of excrement of *T. xanthipes* and provided scientific basis for prepare breeding materials.

[Key words] excrement of natural state *Trogopterus xanthipes*, excrement of breeding *Trogopterus xanthipes*, total tannin; spectrophotometry

五灵脂为鼯鼠科动物橙足鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* Milne-Edwards 的干燥粪便。五灵脂始载于《开宝本草》, 具有活血散瘀之功, 用于治疗心腹瘀

血作痛、痛经、产后瘀血腹痛等症; 外用治跌打损伤, 蛇、虫咬伤等, 是比较常用的中药。复齿鼯鼠生活在深山中, 在悬崖峭壁的岩石缝中筑巢产便既是五灵脂, 因此采集野生五灵脂比较困难, 加之野生资源极其短缺, 为解决五灵脂药材的市场需求, 在陕西商洛地区形成了规模性养殖鼯鼠基地生产五灵脂, 所以人工饲养鼯鼠生产五灵脂是目前五灵脂药材的主要来源。人工饲养环境、饲养所需食料、采集方法、采集时间对五灵脂药材质量是否有影响, 能否保证五灵脂药材质量和临床疗效以至于替代五灵脂药材,

[收稿日期] 2010-01-02

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30873382)

[第一作者] 程明, 助理研究员, 中药资源, Tel: (010) 64014411-2983, E-mail: goodoctor@163.com

[通讯作者] * 杨连菊, 副研究员, 硕士研究生导师 中药资源与质量标准, Tel: (010) 64014411-2983, E-mail: ylj0705@yahoo.com.cn

目前鲜有研究。

五灵脂药材是由鼯鼠食植物后经消化道排除粪便而成,鼯鼠的食料品种与五灵脂药材的质量和疗效密切相关。食料的不同,所得药材化学成分和药理作用也有不同,粪便中残留植物碎片也不同。所以五灵脂的质量关键是鼯鼠的食料。作者野外调查发现野生五灵脂药材其鼯鼠的主要食物是侧柏叶、黄栌叶、盐肤木叶(五倍叶)、苦腊叶、山杏叶、荆条叶、苔藓地衣类等。在陕西商洛鼯鼠基地调查发现人工饲养鼯鼠主要食料除侧柏叶外,也人为的参杂其他树叶,甚至喂养馒头、奶粉等其他饲料。此外,我们又对药材市场进行调查,市场上流通五灵脂药材多是人工饲养鼯鼠生产所得,是五灵脂药材的主流品,而且该产品基本来自陕西商洛地区,野生药材罕见。如何配置提高药材质量的饲料配方正在研究中,目前还没有发现指标性成分可以确定药材饲料的构成。侧柏叶^[1]中含有鞣质等成分侧柏是鼯鼠的主要食料,其他食料也是含有鞣质成分的树叶等植物,所以测定鞣质可以反应动物的进食情况。通过鞣质含量测定可以为配置饲料配方提供理论依据。同时也发现五灵脂伪品较多,比较混乱,造假手段也各自不同,有用纯泥土制作的伪品、也有用侧柏的树枝和叶子粉碎然后加其他黏合着色材料压制而成五灵脂,还有用其他动物粪便充当五灵脂的。由于制假手段采用鼯鼠的食料为原料,所以测定伪品的鞣质含量提示我们在药品生产过程中不可以单独用指标成分测定作为原料药材的标准,必须结合性状、显微等其他手段确定五灵脂的真假。

本研究以五灵脂总鞣质为测定指标,采用 2005 年版《中华人民共和国药典》鞣质测定方法^[2],对养殖五灵脂、野生五灵脂、市场流通五灵脂药材其中包括部分伪品的鞣质含量进行测定。

1 材料

1.1 仪器与试剂 紫外-可见光分光光度仪(北京普析通用仪器有限公司)钨酸钠、铝酸钠、硫酸锂、无水碳酸钠、磷酸、盐酸均分析纯;干酪素生化试剂(北京化学试剂公司,批号 9005-46-3);没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110831-200302);其他试剂均为分析纯。

1.2 药材 陕西商洛饲养品食料主要为侧柏叶;

陕西商洛饲养品食料主要为侧柏叶以及添加青肤杨等其他树叶;野生药材采集于河北涑水山区;

安国药市市售品;北京市售;河南省售亳州药市(经鉴定为侧柏叶粉末压制伪品);安国药市(经鉴定为侧柏叶粉末压制伪品);亳州药市(经鉴定为侧柏叶粉末压制伪品);梅河口市售(经鉴定为伪品)以上样品均经本所副研究员冯学峰鉴定。

2 方法与结果

2.1 方法 按照《中华人民共和国药典》采用水冷浸过夜超声提取,磷钼钨酸溶液显色,测定波长为 760 nm,用 600 mg 的干酪素吸附不饱和酚。

2.2 对照品的制备 精密称取没食子酸 50.00 mg,置 100 mL 的棕色量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,用水稀释至刻度,摇匀,即得每 1 mL 含没食子酸 0.05 mg。

2.3 标准曲线的制备 精密量取对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,各加入磷钼钨酸溶液 1 mL,再分别加水 11.5, 11.0, 10.0, 9.0, 8.0 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置 30 min,以相应的试剂为空白,照紫外可见分光光度法在 760 nm 处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为 $Abs=0.0436C+0.0809$, $r=0.9977$ 。

2.4 精密度试验 取对照品显色后连续测定 6 次, RSD 0.03% ($n=6$)。

2.5 稳定性试验 取样品溶液显色,按 2.3 项下方法,自用碳酸钠溶液定容至刻度开始,每隔 0.5 h 测定 1 次,至 5 h,共测定 10 次,结果表明,没食子酸对照品显色后溶液在 5 h 内稳定。RSD 为 0.02% ($n=10$)

2.6 重复性试验 取样品 6 份,按 2.8 项下测定。计算供试品中鞣制含量,结果 RSD 0.22% ($n=6$)。

2.7 加样回收率测定 取已知鞣质含量的样品精密称定,共 6 份,分别加入没食子酸溶液($3.00\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 10mL 对照品依 2.8 项下方法制备并测定,计算鞣质含量除以加入没食子酸量计算回收率,结果平均回收率为 99.23%, RSD 0.08% ($n=6$) 结果见表 1。

2.8 样品含量测定

2.8.1 供试样品的制备 取药材粗粉 5 g,精密称定,置 250 mL 棕色量瓶中,加水 150 mL 放置过夜,超声处理(40 kW 50 kHz) 10 min,放冷,用水稀释至刻度,摇匀,静置(使固体物沉淀),滤过,弃去初滤液 50 mL,精密量取续滤液 20 mL,置 100 mL 棕色量

瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,静置,即得。

表 1 加样回收率测定

药材质量 /g	样品量 /mg	加标量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
2.0011	9.38	30.00	39.22	99.46		
2.0015	9.38	30.00	39.22	99.46		
2.0020	9.38	30.00	39.08	98.99		
2.0015	9.38	30.00	40.23	99.94	99.23	0.08
2.0010	9.38	30.00	38.94	98.51		
2.0016	9.38	30.00	39.08	98.99		

2.8.2 总酚 精密量取供试品溶液 2 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,按 2.3 项的方法,自“加入磷钼钨酸试液 1 mL 起”加水 10 mL,依法测定吸光度。按照标准曲线计算即得。

2.8.3 不被吸附的多酚 精密量取供试品溶液 25 mL,加至已盛有干酪素 0.6 g 的 100 mL 具塞锥形瓶中,密塞,置 30℃ 水浴中保温 1 h,时时振摇,取出,放冷,摇匀,滤过,弃去初滤液。精密量取续滤液 2 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,按 2.3 项下方法,自“加入磷钼钨酸试液 1 mL 起”加水 10 mL,同法移取 25 mL 水盛有干酪素 0.6 g 的 100 mL 具塞锥形瓶中制备空白然后依法测定吸光度。按照标准曲线计算即得。

2.8.4 样品含量计算,样品中鞣质含量 = (总酚量 - 不被吸附的不饱和酚量) / 药材质量 × 100%,每份样品测定 2 份,取平均值,结果见表 2。

3 讨论

通过测定鞣制发现,鼯鼠以侧柏叶为主食料的五灵脂高于野生品,在侧柏叶基础上添加五倍叶、苦

表 2 样品鞣质含量测定结果

No.	样品	鞣质含量	RSD
1	陕西商洛侧柏叶饲料养殖	0.46	0.16
2	陕西商洛杂食饲料养殖	0.67	1.46
3	河北涿水野生	0.43	0.49
4	河北安国药市市售	0.42	0.65
5	北京市市售	0.54	0.32
6	河南郑州市售	0.45	0.65
7	河北安国药市市售(伪品)	0.33	0.32
8	安徽亳州药市市售(伪品)	0.28	0.49
9	吉林梅河口市售(伪品)	0.00	0.00

腊树叶子等杂食其鞣质高于单纯侧柏叶和野生品。药材中鞣质含量和鼯鼠食用不同的饲料有直接关系,此方法可为制定饲料标准提供科学依据。

文献^[2]表明侧柏树枝和侧柏叶中含鞣质等成分,不能单独用指标性成分控制药材真伪和质量,应该同时结合传统鉴别判断药材品质好坏。

《中国药典》测定鞣制含量准确简单易行,值得注意的是不饱和酚测定的空白必须为同时制备的干酪素水吸附液体,同一批干酪素要研匀后使用可以有效减少测定误差,因为干酪素水溶液经显色后在 760 nm 波长有吸收,而且随操作环境有变化。同时该方法需要供试样品量大操作周期长等缺点。

[参考文献]

- [1] 曹祥丽,丁安伟,单秋鸣.侧柏叶炮制前后鞣质含量的测定[J].中国中医药信息杂志,2008,4:45.
- [2] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:149.

[责任编辑 顾雪竹]