

不同生长期采收的茯苓品质比较研究

田玉桥¹, 尹火青¹, 陈三春¹, 尹庆铁¹, 岳文阁¹, 曾申磊^{1,2,*}, 邱小燕^{1,2,*}

(1. 湖南省博世康中医药有限公司, 湖南 怀化 418008; 2. 怀化学院 生物与食品工程学院 民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418008)

摘要: 探究不同生长期采收的茯苓有效成分变化规律, 确定适宜的采收期。试验设4个处理组, 取样测定不同生长期茯苓的水分、浸出物、多糖及三萜类化合物含量。结果表明, 4个生长期的茯苓丁及茯苓皮的水分含量均没有显著性差异($P>0.05$), 且符合药典对茯苓水分含量的限度要求。第三生长期的茯苓丁和茯苓皮浸出物含量最高, 分别为4.97%和10.28%, 均显著($P<0.05$)高于第一和第二生长期。第三生长期茯苓的水溶性、碱溶性多糖及总三萜含量最高, 显著($P<0.05$)高于第一、二生长期; 第四生长期采收的茯苓相对第三生长期的有效成分含量均有所下降。前3个生长期随着茯苓生长时间的增加, 其有效成分含量不断增加, 但生长期达到12个月之后, 茯苓的有效成分有所下降, 建议茯苓的生长期在9~12个月时进行采收加工。

关键词: 茯苓; 生长期; 品质; 多糖; 总三萜

Study of the Quality of *Poria cocos* Collected in Different Growth Periods

TIAN Yu-qiao¹, YIN Huo-qing¹, CHEN San-chun¹, YIN Qing-tie¹,
YUE Wen-ge¹, ZENG Shen-lei¹, QIU Xiao-yan^{1,2,*}

(1. Hunan Bestcome Traditional Medicine Co., Ltd., Huaihua 418008, Hunan, China; 2. Key Laboratory of Hunan Province for Study and Utilization of Ethnic Medicinal Plant Resources, College of Biological and Food Engineering, Huaihua University, Huaihua 418008, Hunan, China)

Abstract: To explore the changes of the effective components of *Poria cocos* collected in different growth periods. The contents of water, extract, polysaccharides and triterpenes of *Poria cocos* were detected. The results showed that the four treatment of *Poria cocos* butyl and *Poria cocos* skin moisture content were not significant difference ($P>0.05$), and conform to the requirements of the pharmacopoeia of *Poria cocos* moisture content limits. In the third growth stage, the extract contents of *Poria cocos* and *Poria cocos* skin were the highest, respectively 4.97% and 10.28%, both significantly higher than the first and second growth stages ($P<0.05$). The contents of water-soluble, alkali-soluble polysaccharides and total triterpene in the third growing period were the highest ($P<0.05$), higher than the first and second growing periods. In the fourth growing period, the contents of effective components of *Poria cocos* were decreased. With the increase of the growth time of *Poria cocos*, the content of effective ingredients increased constantly, but after the growth time reached 12 months, the effective ingredients of *Poria cocos* decreased, and it is suggested that the growth period of *Poria cocos* should be harvested at 9–12 months.

Key words: *Poria cocos*; growth period; quality; polysaccharide; total triterpenoid

引文格式:

田玉桥, 尹火青, 陈三春, 等. 不同生长期采收的茯苓品质比较研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(5): 12–16

TIAN Yuqiao, YIN Huoqing, CHEN Sanchun, et al. Study of the Quality of *Poria cocos* Collected in Different Growth Periods[J]. Food Research and Development, 2019, 40(5): 12–16

基金项目: 2016年国家中药标准化项目“茯苓标准化建设”(ZYBZH-Y-HUN-22)

作者简介: 田玉桥(1986—), 男(汉), 工程师, 本科, 研究方向: 中药材种植与加工。

* 通信作者: 邱小燕(1990—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 食品工艺与质量安全。

茯苓,为多孔菌科真菌茯苓(*Poria cocos* (Schw.) Wolf)的干燥菌核,是我国传统名贵、药食两用中药材,具有利水渗湿、健脾安神等功效,主要用于水肿尿少、痰饮眩晕、脾虚食少、便溏泄泻、心神不安、惊悸失眠等症^[1]。茯苓的有效成分主要是茯苓多糖,现代药理学试验研究表明,茯苓多糖具有抗肿瘤、抗菌、抗氧化、提高免疫力等作用,对人体具有较高的保健功能和药用价值,在许多药品配方中都见其身影,中医临床配伍率达70%以上^[2]。

目前对茯苓品质的研究主要集中在不同加工方式对其有效成分的影响,田玉桥等^[3]在对不同天气和季节采收的茯苓加工工艺和品质研究中发现,秋季晴天采收的茯苓比春季雨天采收的浸出物含量高出16.74%;徐雷等^[4]在不同初加工方法对茯苓多糖和三萜类成分的影响研究中发现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%,茯苓饮片三萜类成分平均含量分别为2.318‰和2.334‰。不同采收期对茯苓品质的影响研究鲜见相关报道。

在湘黔鄂及四川、安徽等茯苓传统栽种地区,一般每年的4月~7月下料接种;云南地区由于一年中气温变化不大,四季均可栽种。茯苓的采收期主要根据药农的经验判断,并无明确的最适采收期,且有部分药农为了让药材提前上市,取得更大的经济效益而提前采挖,成为茯苓药材质量不稳定的重要原因之一。本试验研究不同采收期对茯苓品质的影响,确定适宜采收期,为制订茯苓产地初加工工艺标准和规范提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

UV-1800型紫外-可见分光光度计:岛津仪器(苏州)有限公司;AL204型电子天平(万分之一)、MS105型电子天平(十万分之一);梅特勒-托利多(成都)有限公司;TDL-60B型离心机:上海安亭仪器设备有限公司;Milli-Q Advantage A10型一体式超纯水机:美国Milipore公司;HH-4型数显恒温水浴锅:金坛市晶玻实验仪器厂;HL-200A型高速多功能粉碎机:上海耐塞机械有限公司。

葡萄糖对照品:中检院,批号:110833-201605;茯苓酸:上海纯优生物科技有限公司,批号:201703P0734;5%苯酚(称取苯酚5 g于100 mL棕色容量瓶中,加水溶解至刻度);南京化学试剂股份有限公司;浓硫酸:优级纯,国药集团化学试剂有限公司;95%乙醇:分析

纯,天津市富宇精细化工有限公司。

茯苓样品:茯苓样品全部采集于湖南省博世康中医药有限公司在云南省砚山县六召乡建设的茯苓规范化药源生产基地,该茯苓基地在2017年3月下旬已全部接种完成,经过规范化的栽培管理,选取光照、土壤、坡度、海拔、植被环境等因素一致的栽种试验地,于2017年9月和12月及2018年6月下旬分别取样,每批采集试验样品3个重复,每批200 kg左右,随机挑选外表无机械损伤、无腐烂的新鲜茯苓,具体采集信息见表1。将采集的茯苓样品经过净制、蒸制、切制、干燥、筛选等工序加工成0.8 cm×0.8 cm×0.8 cm的中丁,从每批次加工好的成品(茯苓丁和茯苓皮)随机取500 g样品,备用。

表1 不同生长期茯苓样品采集信息表

Table 1 Information of *Poria cocos* samples with different growth periods

试验组	批号	采集时间	生长周期/月	质量/kg
第一生长期	FL170926001	2017年9月26日	6	201.65
	FL170926002	2017年9月26日	6	199.73
	FL170926003	2017年9月26日	6	200.55
第二生长期	FL171228001	2017年12月28日	9	199.84
	FL171228002	2017年12月28日	9	201.63
	FL171228003	2017年12月28日	9	200.87
第三生长期	FL180327001	2018年3月27日	12	200.90
	FL180327002	2018年3月27日	12	201.14
	FL180327003	2018年3月27日	12	199.96
第四生长期	FL180626001	2018年6月26日	15	198.78
	FL180626002	2018年6月26日	15	201.35
	FL180626003	2018年6月26日	15	200.67

1.2 方法

1.2.1 处理

本试验设第一生长期(6个月)、第二生长期(9个月)、第三生长期(12个月)、第四生长期(15个月)4个处理。

1.2.2 水分测定

称取茯苓药材粉末(过三号筛)各3 g左右,按《中国药典》2015年版四部0832水分测定法第二法(烘干法),分别测定24批茯苓样品的含水量。

1.2.3 浸出物的测定

称取茯苓饮片粉末(过四号筛)各4 g左右,用稀乙醇(95%的乙醇加水稀释至1 000 mL)做溶剂,按《中国药典》2015年版四部浸出物测定法测定,醇溶性浸出物测定法(热浸法),依法测定,分别测定24批茯苓样品的浸出物含量。

1.2.4 茯苓多糖测定

1.2.4.1 制备对照品溶液

精密称取减压干燥至恒重的葡萄糖对照品 25.02 mg 至 25 mL 棕色容量瓶中,加水制成浓度为 1 mg/mL 的储备液。精密吸取对照品储备液 0.4 mL 置 10 mL 棕色容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,备用。

1.2.4.2 制备供试品溶液

取茯苓药材粉末(过四号筛)约 5 g,置烧瓶中,精密加入水 100 mL,称定重量,水浴回流 2 h,补足减失的重量,摇匀,过滤,精密量取续滤液 50 mL,浓缩至 5 mL。加入 95 %乙醇 25 mL,醇沉浓度为 80 %。放置过夜,离心(3 500 r/min, 15 min)。弃去上清液,沉淀用蒸馏水溶解并定容至 100 mL,备用,测定水溶性茯苓多糖。取茯苓饮片粉末(过四号筛)约 1 g,置烧瓶中,加石油醚 50 mL 于水浴回流 2 h,冷却,过滤,滤渣干燥后加 1 mol/L NaOH 100 mL,超声处理 1 h(360 W, 50 kHz),离心(3 500 r/min, 15 min),取上清液。上清液加 25 %冰醋酸溶液调 pH5~6,使其成糊状。置冰箱中冷藏过夜,将糊状物离心(3 500 r/min, 10 min),弃去上清液,沉淀加水溶解,转移至 250 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密量取 2 mL 置 50 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,备用,测定碱性茯苓多糖。

1.2.4.3 茯苓多糖的测定

采用苯酚-硫酸法在 490 nm 处测定对照品和供试品溶液的吸光度^[5]。

1.2.5 茯苓总三萜测定

1.2.5.1 制备对照品溶液

精密称定 105 ℃下干燥至恒重的茯苓酸对照品 15 mg 左右。置于 25 mL 容量瓶中,用色谱甲醇溶解并定容至刻度,即得浓度为 0.603 mg/mL 茯苓酸对照品溶液。

1.2.5.2 制备供试品溶液

精密称定茯苓粉末(过四号筛)2.0 g 左右,置于具塞锥形瓶中,加入乙酸乙酯 60 mL,称定重量,超声(功率 300 W,频率 50 MHz)60 min,放冷后,用乙酸乙酯补足减失的重量,过滤,即得。

1.2.5.3 茯苓总三萜测定

精密移取 0.2 mL 茯苓酸对照品溶液,0.10 mL 供试品溶液分别置于 10 mL 试管中,水浴挥干溶剂,再加入 0.4 mL 5 %的香草醛冰醋酸溶液和 1.8 mL 高氯酸,密塞,70 ℃水浴 20 min,放冷后加入 5 mL 冰醋酸,摇匀。采用紫外可见分光光度法^[6],在 535 nm 处测定对照品和供试品溶液的吸光度。

1.3 数据分析

每一批茯苓样品的水分、浸出物、茯苓多糖重复 3 次测定,取其平均值,并采用 SPSS 22 对数据进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 茯苓成品水分及浸出物含量

药材在贮藏过程中,水分含量是影响药材质量的关键因素,因为水分含量是药材质量变化的介质,药材水分过量,极易霉烂变质,使得有效成分被分解,造成药材质量下降^[7]。本试验所采集的样品干燥加工均采用无硫低温烘干技术,工艺成熟,产品均一稳定。不同生长期的茯苓丁水分及浸出物含量测定结果如表 2 所示,不同生长期的茯苓皮水分及浸出物含量测定结果如表 3 所示,4 个不同生长期的茯苓丁及茯苓皮含水量均无显著性差异($P>0.05$),且符合 2015 版药典对茯苓丁和茯苓皮水分含量不得过 18.0 % 和 15.0 % 的最低限度要求,水分在储藏运输较合理的水平区间内。

表 2 不同生长期茯苓丁水分及浸出物含量

Table 2 Contents of water and extract of *Poria cocos* in different growth periods

处理组	水分含量/%	浸出物含量/%
第一生长期	13.21±0.15 ^a	2.24±0.15 ^d
第二生长期	13.59±0.22 ^a	3.18±0.11 ^c
第三生长期	13.06±0.06 ^a	4.79±0.14 ^a
第四生长期	13.43±0.05 ^a	4.27±0.08 ^b

注:同一列不同字母表示不同处理的差异显著($P<0.05$)。

表 3 不同生长期茯苓皮水分及浸出物含量

Table 3 Contents of water and extract of *Poria cocos* skin in different growth periods

处理组	水分含量/%	浸出物含量/%
第一生长期	11.25±0.14 ^a	5.87±0.30 ^c
第二生长期	11.27±0.21 ^a	8.82±0.58 ^b
第三生长期	11.26±0.28 ^a	10.28±0.23 ^a
第四生长期	10.96±0.28 ^a	9.49±0.43 ^{ab}

注:同一列不同字母表示不同处理的差异显著($P<0.05$)。

茯苓质量标准收藏于《中国药典》,浸出物测定是茯苓质量控制的重要指标^[8]。茯苓必须经过干燥后方可入药,且浸出物质量分数不得少于 2.5 %。本试验第三生长期的茯苓丁浸出物含量最高(4.97 %),显著($P<0.05$)高于第一、第二和第四生长期,第一生长期的茯苓丁浸出物含量最低(2.24 %),且低于药典标准。第三

生长期的茯苓皮浸出物含量最高(10.28 %),显著($P<0.05$)高于第二和第一生长期,第一生长期的茯苓皮浸出物含量最低(5.87 %),且低于药典标准。第四生长期的茯苓丁和茯苓皮浸出物含量相对于第三生长期均有所下降,分别为 10.86 %和 7.68 %。

2.2 茯苓多糖含量

茯苓多糖是茯苓最有效的成分之一,具有免疫功能、防治肿瘤、抗炎等生物学活性^[9],该糖具有增强巨噬细胞和 T 淋巴细胞的细胞毒作用,还能增强细胞的免疫反应并激活机体对肿瘤的免疫监视系统^[10]。丰朝霞等^[11]研究表明茯苓多糖大多分布于中药材茯苓的细胞壁组织中,主要分为水溶性多糖和碱溶性多糖。张晓娟等^[12]研究表明茯苓中碱溶性多糖占 85 %左右,碱溶性多糖能够转化为具有较高活性的羧甲基茯苓多糖。袁娟娟等^[13]在研究茯苓中茯苓多糖含量与产地关系的对比探讨时,发现中药材道地产区种植的茯苓如云南,茯苓多糖含量高达 88.2 %,药材品质最好。本试验中茯苓丁的多糖含量测定结果见表 4,第三生长期的茯苓丁水溶性多糖含量最高(0.39 %),显著($P<0.05$)高于第一、二及第四生长期,第一生长期茯苓丁的水溶性多糖含量最低(0.17 %)。第三生长期茯苓丁的碱溶性多糖含量高(86.68 %),显著($P<0.05$)高于第一、二及第四生长期,第一生长期茯苓丁的碱溶性多糖含量最低(67.34 %)。茯苓皮的多糖含量测定结果见表 5,第三生长期茯苓皮的水溶性多糖含量最高

表 4 不同生长期茯苓丁的茯苓多糖含量
Table 4 Contents of *Poria cocos* polysaccharides in different growth stages

处理组	水溶性多糖含量/%	碱溶性多糖含量/%
第一生长期	0.17±0.01 ^d	67.34±0.94 ^c
第二生长期	0.27±0.15 ^c	79.47±1.02 ^b
第三生长期	0.39±0.02 ^a	86.68±0.95 ^a
第四生长期	0.33±0.02 ^b	80.42±0.48 ^b

注:同一列不同字母表示不同处理的差异显著($P<0.05$)。

表 5 不同生长期茯苓皮的茯苓多糖含量
Table 5 Contents of *Poria cocos* skin polysaccharides in different growth stages

处理组	水溶性多糖含量/%	碱溶性多糖含量/%
第一生长期	0.10±0.01 ^c	53.70±2.21 ^c
第二生长期	0.19±0.01 ^b	66.09±2.28 ^b
第三生长期	0.26±0.01 ^a	73.50±1.75 ^a
第四生长期	0.21±0.01 ^b	68.03±2.26 ^{ab}

注:同一列不同字母表示不同处理的差异显著($P<0.05$)。

(0.26 %),显著($P<0.05$)高于第一、二及第四生长期,第一生长期茯苓皮的水溶性多糖含量最低(0.10 %)。第三生长期茯苓皮的碱溶性多糖含量高(73.50 %),显著($P<0.05$)高于第一、二生长期,第一生长期茯苓皮的碱溶性多糖含量最低(53.70 %)。第四生长期茯苓丁和茯苓皮的多糖含量相对于第三生长期均有所下降。结果表明第三生长期采收的茯苓丁及茯苓皮碱溶性多糖含量最高,质量最好。

2.3 茯苓总三萜含量

中外学者对茯苓的化学成分及生物活性研究发现,其所含的大量三萜类物质具有免疫调节、抗肿瘤、拮抗醛固酮^[14]、诱导分化白血病细胞系 HL-60 等药理活性^[15],建立茯苓三萜类的分析测定体系对于茯苓药材内在质量的控制具有重要意义。沈思等^[16]采集了湖北罗田的茯苓皮用香草醛-冰乙酸-高氯酸显色法进行测定,茯苓皮中的三萜百分含量为 1.58 %。易中宏等^[17]用分光光度法测定茯苓中总三萜类成分的含量,结果表明,不同产地茯苓药材中总三萜含量的大概范围为 0.492 %~1.02 %之间。本试验中茯苓丁和茯苓皮的总三萜含量结果见表 6。

表 6 不同生长期茯苓丁和茯苓皮的总三萜含量
Table 6 Contents of total triterpenoid in different growth stages of *poria cocos* and *poria cocos* skin

处理组	茯苓丁的总三萜含量/%	茯苓皮的总三萜含量/%
第一生长期	0.34±0.04 ^c	0.47±0.04 ^c
第二生长期	0.63±0.03 ^b	0.86±0.06 ^b
第三生长期	0.74±0.07 ^a	1.06±0.17 ^a
第四生长期	0.65±0.05 ^b	0.89±0.11 ^b

注:同一列不同字母表示不同处理的差异显著($P<0.05$)。

第三生长期茯苓丁的总三萜含量最高(0.74 %),显著($P<0.05$)高于第一、二和第四生长期。第三生长期茯苓皮的总三萜含量高(1.06 %),显著($P<0.05$)高于第一、二和第四生长期,第一生长期茯苓皮的总三萜含量最低(0.47 %)。前三个生长期茯苓丁和茯苓皮的总三萜含量均有不同程度的增加,但第四生长期相对第三生长期显著($P<0.05$)下降。

中药材有效成分的累积除了受遗传基因的调控和生长环境的影响外,还与采收时间、加工、干燥方法、贮藏和炮制密切相关,其中采收期时间是一个十分重要的环节^[18]。药材的采收时间直接影响药材的品质、产量及收获效率,适期采收对药材的品质、产量和收获效率都有良好作用。现代研究表明,由于每种中药材自身属性、生长环境等因素的差异性采收期也有很大

的不同。甘肃岷县等地的当归最佳采收期为每年的秋末冬初^[19];开花型灰山银花的适宜采收期为大白期,花蕾型山银花的适宜采收期为青白期^[20]。本试验结果表明,第一生长期的茯苓丁和茯苓皮的平均浸出物含量均未达到 2015 版《中国药典》最低限度标准;第二和第三生长期的茯苓丁和茯苓皮的平均浸出物含量均达到了国家药典标准,但第三生长期的茯苓丁和茯苓皮平均浸出物含量更高,分别超出国家药典标准 91.6 % 和 71.33 %。第二生长期和第三生长期的采收的样品相对于第一生长期采收的样品多糖和总三萜含量均有大幅度的增加。但是第四生长期相对于第三生长期采收的样品在浸出物和多糖及总三萜含量上均有所下降。

3 结论

在前 3 个生长期,随着茯苓生长时间的增加,其浸出物、水溶性茯苓多糖、碱溶性多糖及总三萜含量均不断增加,第三生长期的茯苓丁和茯苓皮浸出物含量最高,分别为 4.97 % 和 10.28 %,均显著($P<0.05$)高于第一和第二生长期。第三生长期茯苓的水溶性、碱溶性多糖及总三萜含量最高,显著($P<0.05$)高于第一、二生长期;但生长期达到 12 个月之后,茯苓的有效成分有所下降。为了保证生产加工后的茯苓药材和饮片质量达标,建议茯苓的生长期在 9~12 个月时进行采收加工。

参考文献:

- [1] 王耀登,安靖,聂磊,等.不同产地茯苓饮片的多糖的含量比较研究[J].时珍国医国药,2013,24(2): 321-322
- [2] 李习平,张琴,周逸群,等.不同加工方法对白茯苓及茯苓皮中多糖含量的影响[J].时珍国医国药,2014,25(12): 2902-2903
- [3] 田玉桥,尹火青,袁涛,等.不同季节和天气采收的茯苓加工工艺及品质研究[J].农产品加工,2018(6): 20-27
- [4] 徐雷,刘常丽,张群,等.不同初加工方法对茯苓多糖和三萜类成分的影响[J].北方园艺,2014(10): 148-151
- [5] 段启,庄义修.茯苓中茯苓多糖的含量测定方法及提取工艺优选[J].海峡药学,2010,22(11): 66-68
- [6] 易中宏,郑一敏,胥秀英,等.分光光度法测定茯苓中总三萜类成分的含量[J].时珍国医国药,2005,16(9): 847-848
- [7] 丁银花,毕宇安,曹燕飞,等.AOTF 近红外光谱技术快速测定茯苓中的水分[J].药学与临床研究,2014,22(3): 209-211
- [8] 张卫鹏,肖红伟,高振江,等.中短波红外联合气体射流干燥提高茯苓品质[J].农业工程学报,2015,31(10): 269-276
- [9] 赵玉英,吴志刚,王二兵.基于正交设计及均匀设计的茯苓多糖提取工艺及多糖特性研究[J].食品研究与开发,2014,35(5): 23-26
- [10] 张小莺.功能性食品学[M].北京:科学出版社,2017: 20
- [11] 丰朝霞,张鸿.分光光度法测定茯苓中多糖总糖含量[J].时珍国医国药,2000,11(2): 117-119
- [12] 张晓娟,左东东,范越.茯苓化学成分、质量控制和药理作用研究[J].中医药信息,2014,31(1): 267-269
- [13] 袁娟娟.茯苓中茯苓多糖含量与产地关系的对比探讨[J].中国处方药,2016,14(12): 18-19
- [14] 仲兆金,刘浚.茯苓有效成分三萜的研究进展[J].中成药,2001,23(1): 58-62
- [15] 张先淑,饶志刚,胡先明,等.茯苓总三萜对小鼠肝损伤的预防作用[J].食品科学,2012,33(15): 270-273
- [16] 沈思,李孚杰,梅光明,等.茯苓皮三萜类物质含量的测定及其抑菌活性的研究[J].食品科学,2009,30(1): 95-98
- [17] 易中宏,郑一敏,胥秀英,等.分光光度法测定茯苓中总三萜类成分的含量[J].时珍国医国药,2005,16(9): 848-849
- [18] 徐建中,盛束军,俞旭平,等.中药材采收期研究进展[J].现代中药研究与实践,2001,15(6): 47-49
- [19] 葛月兰,钱大玮,段金璇,等.不同产地不同采收期当归挥发性成分动态积累规律与适宜采收期分析[J].药物分析杂志,2009,29(4): 517-523
- [20] 李隆云,张应,马鹏,等.山银花(灰毡毛忍冬)适宜采收期研究[J].中国中药杂志,2014,39(16): 3060-3064

收稿日期:2018-09-12

**高举中国特色社会主义伟大旗帜，
坚定不移走中国特色社会主义道路。**