

饮片柿霜的质量标准研究

温晓舟*

(江苏省中医院, 南京 210036)

摘要: **目的** 完善柿霜饮片的质量标准。**方法** 选取全国五种重要柿饼产区的柿霜样品, 利用薄层色谱法鉴别单糖并探索出指标性成分——多糖; 比色法测定样品总糖、还原糖、多糖、甘露醇的含量。**结果** 收集江苏、安徽、山东、福建、陕西五种产地的柿霜; 薄层色谱法显示江苏、安徽含有葡萄糖、蔗糖, 其余三个产区的柿霜只显示含有葡萄糖; 确定了多糖为指标性成分; 比色法测出总糖含量均占 80%~100%, 还原糖含量占 55%~80%, 多糖含量占 1.8%~2.8%, 甘露醇含量占 3.2%~4.5%。**结论** 上述方法均经过方法学验证, 线性关系、精密度、重现性良好, 可用于中药柿霜的质量控制; 柿霜主要含有糖类物质, 多糖及甘露醇可以成为指标性成分。

关键词: 柿霜; 薄层色谱法; 多糖; 甘露醇

0 引言

柿霜是柿科植物柿 (*Diospyros kaki* L.f) 的果实制成“柿饼”时所析出的白色粉霜。文献报道柿霜主要成分是糖类物质及甘露醇等^[1]。《本草纲目》中记载柿霜“甘平、涩、无毒”, 其中的“甘”就是因为含有大量糖类物质。柿霜糖是附着于柿饼表面的白色结晶状粉末, 味甘, 性凉, 归心, 肺经, 具有清热、润燥、化痰之功效。用于肺热燥咳, 咽干喉痛, 口舌生疮, 劳嗽吐血, 消渴^[2-6], 尤其是甘露醇, 在柿霜成分中起主要药用作用, 如扩张血管、作为脱水药治疗水肿^[7]、降低颅内压、治疗便秘、促进钙吸收等^[8]。

本品为《江苏省中药材标准》(1989年版) 收录品种, 原有的标准检验项目较少, 不能科学评价和全面控制柿霜的质量。为了加强对柿霜的质量控制, 本研究采用了紫外分光光度法及薄层色谱法, 对柿霜中糖类成分进行了检测, 以建立方法简单、快速可靠、重复性好的鉴别检测方法, 为加强柿霜的质量控制提供支持。

1 材料与方法

1.1 材料

WD-凝胶成像仪(北京市六一仪器厂); Cary 50 紫外分光光度计(美国瓦里安公司); Eppendorf Centrifuge5430R 冷冻高速离心机(Eppendorf Co.GER); RJM-28-10 型茂福炉(沈阳市电炉厂); BP-211D 型十万分之一天平(德国赛多利斯公司); 薄层层

析硅胶 G 板(20×20 cm)(青岛海洋化工有限公司)。

江苏产地、安徽产地、山东产地、福建产地、陕西产地柿霜均购自市场。葡萄糖、果糖、蔗糖等糖标准品均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 柿霜中单糖的鉴别

称取柿霜 20 mg, 溶于 5 mL 30% 的乙醇, 高速离心 10 min, 取上清液得供试品。称取各单糖标准品各 2 mg, 分别加入 1 mL 蒸馏水溶解, 制得各单糖标准品溶液。取以上溶液各 3 μ L, 点于同一硅胶 G 板上, 以氯仿-冰醋酸-水(30:35:5) 为展开剂, 展开至展开剂距板上端 2 cm 处停止, 取出晾干。再以氯仿-甲醇-水(65:35:10) 为展开剂进行二次展开, 展开至前沿 2 cm 处停止, 取出晾干。均匀喷洒显色剂苯胺-二苯胺磷酸, 于烘箱中 85°C 显色 10 min。

1.2.2 柿霜中多糖的鉴别

称取 0.5 g 柿霜, 溶于 2 mL 蒸馏水, 超声使溶解完全, 高速离心后取上清液 0.5 mL, 加入 5 倍量无水乙醇, 振摇使沉淀完全, 高速离心后弃去上清, 沉淀加热水分次使溶出, 合并滤过, 滤液移至 25 mL 量瓶中, 加 6 mL 三氟乙酸, 封管, 于 100°C 水浴锅中水解 10 h, 取出, 蒸干, 残渣加少量甲醇荡洗, 再蒸干, 反复 4-5 次, 以除尽三氟乙酸, 加 1 mL 30% 的乙醇使溶解, 滤过, 续滤液即多糖供试品溶液。分别称取葡萄糖、蔗糖各 2 mg, 分别加入 1 mL 蒸馏水将其溶解, 制得单糖标准品溶液。取以上溶液各 5 μ L, 点于同一硅胶 G 板上, 以氯仿-冰醋酸-水(6:7:1) 为展开剂进行展开, 取出, 晾干, 喷苯

基金项目: 江苏省中药饮片炮制规范修订专项

* 通信作者: 温晓舟, 硕士, 主管药师, 研究方向为中药制剂研发。E-mail: 13585206621@139.com

胺-二苯胺磷酸于烘箱中 85℃ 显色 10 min。

1.2.3 样品总糖含量的测定

取 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 0~0.8 mL 于 10 mL 比色管中，加水至 2 mL，再加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL、浓硫酸 5.0 mL，室温放置 25 min 后，以第一份溶液为空白，于 490 nm 波长，用 1 cm 比色皿测定样品的吸光度(A)值。精密称取柿霜 20 mg，溶于 5 mL 蒸馏水中，再稀释 20 倍，配制成 0.2 mg/mL 的样品溶液，取 0.6 mL 于 10 mL 比色管中，加水至 2 mL，测定，计算总糖含量^[9]。

1.2.4 样品还原糖含量测定

称取葡萄糖 50 mg，用蒸馏水配成 1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液。分别取 0~1 mL 的葡萄糖标准溶液于试管中，加水至 1 mL，加入 3,5-二硝基水杨酸试剂 1 mL，在沸水浴中加热 5 min，取出用流水冷却，再加入蒸馏水 8 mL，混匀，在波长 550 nm 下测定吸光度^[10]。取供试品溶液 1 mL 至具塞试管中，加入 3 mL DNS 试剂，沸水水浴 15 min，迅速冷却至室温后，测定，计算还原糖含量。

1.2.5 柿霜多糖的含量测定

取 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 0~0.8 mL 于 10 mL 比色管中，加水至 2 mL，然后加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL、浓硫酸 5.0 mL，室温放置 25 min 后，以第一份溶液为空白，于 490 nm 波长，用 1 cm 比色皿测定样品的吸光度(A)值。精密称取柿霜各 0.06 g，加入 1 mL 蒸馏水，超声后离心取上清液，加入 5 体积的无水乙醇，离心，弃去上清液。用热水将沉淀分次溶解，水相滤头过滤，合并滤液并稀释至 10 mL，测定，计算多糖含量。

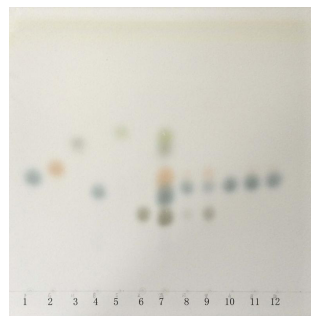
1.2.6 柿霜甘露醇的含量测定

取 1 mg/mL 的甘露醇标准液，将其配制成浓度为 10~150 μg/mL 的甘露醇标准溶液，各取 1 mL，分别加 1 mL 高碘酸钠溶液混匀，室温放置 10 min。加入 0.1% L-鼠李糖 2.0 mL，除去过多的高碘酸盐，混合后再加 4.0 mL 新配 Nash 试剂，混匀，53℃ 恒温水浴中加热 15 min 使其呈色，之后迅速冷却至室温。以蒸馏水为空白，在 415 nm 下测出标准品甘露醇的吸光度 A。以标准品甘露醇吸光度 A 值为纵坐标，浓度为横坐标，绘制甘露醇标准曲线图^[11]。

2 结果与分析

2.1 柿霜中单糖的鉴别

由图 1 可知，江苏、安徽产样品均含有葡萄糖、果糖、蔗糖，可能含有半乳糖，其余三种柿霜均只显色葡萄糖，可能含有半乳糖。该实验结果与文献报道通过 HPLC 法分析柿霜成分的结果相符^[12]，能简单、快速地鉴别柿霜单糖。

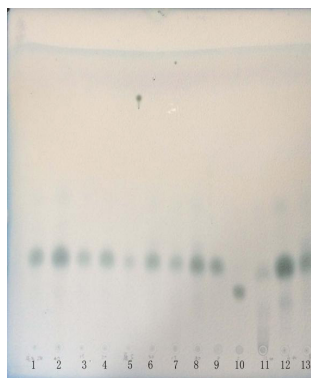


注：1. 葡萄糖；2. 果糖；3. 核糖；4. 半乳糖；5. 鼠李糖；6. 蔗糖；7. 六种糖的混合标准溶液；8. 江苏；9. 安徽；10. 山东；11. 福建厦门；12. 陕西

图 1 柿霜中的单糖薄层鉴别

2.2 柿霜中多糖的鉴别

由图 2 可知，五种柿霜均在相同位置出现了 3 个斑点，具有特征性，且多糖不易人工添加，可用于建立一个简便、灵敏、快速的柿霜鉴别鉴定方法。



注：1~4. 安徽(10~40 μL)；5~8. 福建(10~40 μL)；9. 葡萄糖(5 μL)；10. 蔗糖(5 μL)；11. 江苏(40 μL)；12. 山东(40 μL)；13. 陕西(40 μL)

图 2 柿霜中的水解多糖薄层鉴别

2.3 样品总糖含量的测定

测定各产地样品总糖含量见表 1，结果可见除安徽外，各产地含量相差不大。江苏、安徽产地柿霜总糖含量较高，山东产地柿霜总糖含量最低，为 84.3%。总糖回归方程为 $y=5.1315x+0.0031$ ， $r^2=0.9981$ ，线性范围为 0.02~0.08 mg/mL。精密度、重复性、稳定性 RSD 分别为 0.06%、4.53%、3.97%，平均回收率为 83.2%，RSD 为 2.84%。

表 1 五种产地柿霜总糖含量的测定

产地	江苏	安徽	山东	福建	陕西
含量(%)	93.5	119.1	84.3	90.2	85.0

2.4 样品还原糖含量测定

测定各产地样品还原糖含量见表 2，结果可见安徽产地样品还原糖含量极低，与其他产地的柿霜含量测定结果有显著差异。所得回归方程为 $y=0.6595x-0.0278$ ， $r^2=0.9931$ ，线性

范围为 0.2~1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。精密度、重复性、稳定性 RSD 分别为 0.13%、2.78%、3.86%，平均回收率为 78.2%，RSD 为 2.13%。

表 2 五种产地柿霜还原糖含量的测定

产地	江苏	安徽	山东	福建	陕西
含量(%)	57.0	7.5	78.6	80.4	81.5

2.5 柿霜多糖的含量测定

测定各产地样品多糖含量见表 3。各产地柿霜均有含量较低的多糖，江苏省含量最高，而安徽省最低。所得回归方程为： $y=5.1315x+0.0031$ ， $r^2=0.9981$ ，线性范围为 0.02~0.08 mg/mL 。精密度、重复性、稳定性 RSD 分别为 0.60%、2.78%、3.24%，平均回收率为 83.6%，RSD 为 3.52%，本研究方法在测定多糖含量时的准确性较好。

表 3 五种产地柿霜多糖含量的测定

产地	江苏	安徽	山东	福建	陕西
含量(%)	2.84	1.76	2.16	2.60	2.15

2.6 样品甘露醇含量测定

测定各产地样品甘露醇含量见表 4，可见安徽省柿霜甘露醇含量最高，其余各产地含量相差不大。所得回归方程为： $y=0.0006x-0.0038$ ， $r^2=0.991$ ，线性范围为 0.01~0.15 mg/mL 。精密度、重复性、稳定性 RSD 分别为 1.12%、2.55%、4.88%，平均回收率为 76.2%，RSD 为 2.06%。

表 4 五种产地柿霜甘露醇含量的测定

产地	江苏	安徽	山东	福建	陕西
含量(%)	3.79	4.51	3.65	3.24	3.39

3 讨论与结论

我国的柿资源极为丰富，但是却缺乏一个完整的质量标准，对柿霜中糖类成分的研究文献均以气相色谱法和液相色谱法居多，存在需要衍生化，方法复杂，仪器昂贵，不利于基层应用的缺点^[1-4]。这给柿霜饮片的广泛应用及质量控制带来了较大困难，各种糖类成分尤其是葡萄糖，容易掺假，且成本低廉。

本研究通过大量的薄层色谱法研究，对比发现纸色谱法并不能高效地分离开单糖成分，且耗时长。微晶纤维素薄层色谱法相比来说更省时省力，但并不能高效地分离开葡萄糖、半乳糖和蔗糖。硅胶 G 薄层色谱法可以比较准确、快捷地鉴别柿霜中的单糖成分，但是无法有效分离葡萄糖和半乳糖，因这两种糖的结构十分相似，难以分离。展开剂优先考虑苯胺-二苯胺磷酸显色剂，此显色剂对于单糖，可以显示出不同的颜色反应，是一个十分方便灵敏的显色剂。而多糖通过水提醇沉粗提取，再利用三氟乙酸进一步水解，得到水解单糖，通过薄层色

谱法，所有产地均有发现，这一指标现实可靠，并且多糖不易造假，可以成为柿霜定性鉴别的指标性成分。

柿霜主要成分为糖类物质。通过比色法的测定，柿霜总糖含量均很高，其中还原糖占了绝大比例，多糖含量虽低，但是为每个产地共有的成分，结合上面的定性指标研究，可以选为指标性成分。值得一提的是，本研究在五种产地柿霜的含量检测中发现安徽产地的柿霜样品总糖含量高于 100%，还原糖含量又极低，与其他产地的柿霜含量测定结果有显著差异，推测是添加了淀粉类成分^[13]。这一结果可对今后鉴别柿霜真伪有参考意义。

本研究建立了方法简单、快速可靠、重复性好柿霜鉴别和含量测定的方法，可用于中药柿霜的真伪鉴别、质量控制，也为制订合理的质控方法，建立完整的中药柿霜质量标准提供了科学依据。

参考文献

- [1] 王灏然,钟晓红,陆英,等.中药柿霜中糖组分的气相色谱法分析[J].湖南农业科学,2012,(05):91-93,98.
- [2] 卜文红.柿霜粉治疗复发性口腔溃疡 30 例[J].中国民间疗法,2004,12(05):24-24.
- [3] 赵法新.含化柿霜糖治疗急性咽炎 40 例临床观察——附草珊瑚含片治疗 20 例对照[J].浙江中医杂志,1995,(05):211.
- [4] 周長海,婁成俊.柿霜的成分与利用[J].科学通报,1951,(03):61-62.
- [5] 黄贵华.柿霜PPA粉治疗放射性口腔溃疡 42 例[J].山东中医杂志,2004,23(03):143-143.
- [6] 宗鸣,李森,牛运祺,等.柿霜吡派酸粉双层缓释口腔贴膜的制备及评价[J].中国医药导报,2014,(27):83-85.
- [7] 詹天荣,宋金明.甘露醇的药用研究进展[J].中国海洋药物,2003,(03):57-59.
- [8] 胡运霞,谭彩霞,武延生,等.柿霜化学成分及功能的研究进展[J].现代农村科技,2013,(05):61-62.
- [9] 张政,黄雪松.柿霜中还原糖种类的鉴别与测定[J].食品工业科技,2009,30(08):321-323.
- [10] 井乐刚.大豆乳清中大豆异黄酮的提取纯化及其生物活性的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2003.
- [11] 王祖华,王安亭.冬虫夏草虫草甘露醇含量测定的研究[J].食品工业分析检测,2012,33(12):186-188.
- [12] 李春梅.柿霜与柿多糖功能特性的初步研究[D].泰安:山东农业大学,2010.
- [13] 李莹,李映志,叶春海.不同种质菠萝蜜成熟果实中可溶性总糖与淀粉含量的关系[J].安徽农业科学,2016,44(36):10-12.