

文章编号:1001-7380(2018)01-0032-04

梵净山石斛与铁皮石斛矿质元素及有效成分比较

余水生¹,刘菊莲¹,王怡娟²,李成惠¹,康华靖^{2*}

(1.浙江九龙山国家级自然保护区管理局,浙江 遂昌 323300; 2.温州科技职业学院,浙江 温州 325006)

摘要:为全面了解梵净山石斛的药用价值,选取了2个铁皮石斛品种(森山和福建软脚)作为对照,采用瓦里安 AA-240 型火焰原子吸收光谱仪测定各元素含量,运用分光光度计法和液相色谱仪测量了有效成分。结果表明,梵净山石斛中铜、钙、镁、钾和硒5种元素的含量显著高于2个对照的铁皮石斛;醇溶性浸出物和石斛碱含量也以梵净山石斛为最高;梵净山石斛中的总生物碱含量与森山铁皮石斛没有差异,但显著高于福建软脚铁皮石斛;而粗多糖的含量则以梵净山石斛最低。综合试验结果认为,梵净山石斛具有较高的开发利用价值。

关键词:梵净山石斛;铁皮石斛;矿质元素;石斛碱;多糖;有效成分

中图分类号:Q946.91;R282.71;S567.2

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2018.01.008

Comparison of mineral elements and active ingredients of *Dendrobium fanjingshanense* and *Dendrobium officinale*

YU Shui-sheng¹, LIU Ju-lian¹, WANG Yi-juan², LI Cheng-hui¹, KANG Hua-jing^{2*}

(1. The Administration Bureau of Jiulongshan National Natural Reserve, Suichang 323300, China;

2. Wenzhou Vocational College of Science and Technology, Wenzhou 325006, China)

Abstract: To understand fully the medicinal value of *Dendrobium fanjingshanense*, 2 varieties of *Dendrobium officinale* ("Senshan" and "Fujian soft feet") were used as control, and their mineral elements and effective ingredients were compared. The results showed that the contents of copper, calcium, magnesium, potassium and selenium in *D. fanjingshanense* were significantly higher ($P < 0.05$). The contents of alcohol soluble extract and Dendrobium alkaloid were also the highest in *D. fanjingshanense*. The total alkaloid content in *D. fanjingshanense*, was although not significantly different from that in "Senshan", significantly higher than that in "Fujian soft feet". And the content of polysaccharides was the lowest in *D. fanjingshanense*. Comprehensive test results show that *D. fanjingshanense* has a high developmental and available value.

Key words: *Dendrobium fanjingshanense*; *Dendrobium officinale*; Mineral elements; Dendrobium alkaloid; Polysaccharide; Active ingredient

石斛属(*Dendrobium*)是兰科的第2大属。由于该属植物具有重要的开发价值和经济价值(药用、观赏),是重要的种质资源。近些年,市场对石斛原料的需求逐年增加,常常供不应求;再加上石斛野生资源本身稀缺,石斛已处于濒危状态。因此,石斛属乃至兰科近年来逐渐受到国家的重视和保护。

1998年8月颁布的《中国植物红皮书》将70种以上的石斛属植物列入保护植物^[1]。

梵净山石斛(*Dendrobium fanjingshanense*)为石斛属附生植物,是2001年在贵州省梵净山黑湾河海拔800—1500m处发现的新种^[2]。自发现之时起,一直被认为是贵州特有药用植物之一^[3]。2010年

收稿日期:2017-10-16;修回日期:2017-11-06

基金项目:浙江省林业极小种群保护项目“遂昌县极小物种梵净山石斛资源保护技术研究”(浙财农[2014]143号);遂昌县科技重点项目“浙江九龙山珍稀植物-梵净山石斛种群的恢复和重建”(遂科发[2016]5号)

作者简介:余水生(1974-),男,浙江遂昌人,工程师,学士。从事自然资源保护和研究推广工作。E-mail: sehhe@sina.com。

*通信作者:康华靖(1982-),男,湖北襄阳人,副教授,博士。主要从事植物生理生态的研究。E-mail: kanghuajing@126.com。

叶喜阳等^[4]在浙江九龙山国家级自然保护区内也发现了梵净山石斛的分布。浙江九龙山国家级自然保护区是目前本省唯一一处记载梵净山石斛分布的区域。由于种群数量稀少,目前尚未进行大范围的开发利用。梵净山石斛性味甘淡微咸,主要用于治疗口干、烦渴、热病伤津、肺热干咳、腰膝软弱、阴伤目暗等病症^[5]。另外,其花黄褐色或橙黄色,也可作观赏植物。为深入了解这一物种,本文通过测定野生梵净山石斛和人工栽培的铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)的矿质元素和有效成分,并进行比较分析,得出结果,以期为开发和利用梵净山石斛药用资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

分别在浙江九龙山国家级自然保护区泗州庙和金华磐安 2 地,采集梵净山石斛、铁皮石斛 1 号和铁皮石斛 2 号 3 个不同品种的石斛药材,每个品种采取 3 次重复随机采样,样品列表见表 1。将样品去除叶片,留取茎段,置于 85 °C 鼓风干燥箱中烘 20 min,然后降温至 60 °C,烘至恒重,经粉碎机碾成粗粉,过 60 目筛后备用。

表 1 样品列表

编号	来源	采集时间	采集地	栽培方式	品种名
1	梵净山石斛	2015-05-20	泗州庙	野生	-
2	铁皮石斛 1 号	2015-05-27	磐安	常规栽培	森山
3	铁皮石斛 2 号	2015-05-27	磐安	常规栽培	福建软脚

1.2 测定方法

1.2.1 矿质元素含量测定 采用瓦里安 AA-240 型火焰原子吸收光谱仪测定各元素含量。首先分别精密量取铜、铁、锌、镁、钾、钙、锰、硒标准储备液适量,用 0.5% 稀硝酸配制相应质量浓度的工作溶液,以质量浓度为横坐标(x),吸收度为纵坐标(y),制作标准曲线方程(见表 2);然后称取粗粉状样品 0.5 g 左右,处理和测量方法见文献^[6],试验重复 6 次。

1.2.2 有效成分的含量测定 醇溶性浸出物测定参照马小双等^[7]方法;用碱性氯仿超声提取生物碱,比色法在波长为 620 nm 测定其总生物碱含量^[8]。粗多糖和石斛碱的含量测定参照葛颖华等^[9]方法。每样品平行处理 6 份,求平均值。使用

的仪器分别为 Cary 100 紫外-可见分光光度计(Varian, 美国);Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)等,石斛碱对照品(批号 MUST-15060810)由成都曼斯特生物科技有限公司出品。

表 2 各微量元素回归方程和线性范围

元素	回归方程	r	线性范围/(ng/mL)
Cu	$y=0.0073x-0.0071$	0.9995	0—40
Fe	$y=0.0127x+0.0009$	0.9991	0—40
Zn	$y=0.0125x+0.0055$	0.9992	0—40
Mg	$y=0.0050x-0.0107$	0.9991	0—200
K	$y=0.0349x-0.0050$	0.9996	0—80
Ca	$y=0.0073x+0.0275$	0.9991	0—100
Mn	$y=0.0143x+0.0079$	0.9997	0—100
Se	$y=0.0116x+0.0028$	0.9996	0—40

其中,生物碱标准曲线的制备见表 3。由表 3 可知,在 1.12—5.60 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,吸光度与生物碱质量浓度呈良好的线性关系($R^2=0.9985$)。粗多糖标准曲线的制备见表 4。结果表明,在 22.6—113.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,吸光度与质量浓度之间呈良好的线性关系($R^2=0.9990$)。

表 3 生物碱标准曲线的制备

质量浓度(x)/ ($\mu\text{g/mL}$)	吸收度 (y)	回归方程	相关系数 (R^2)
1.12	0.1578	$y=0.1227x+0.0168$	0.9985
2.24	0.2879		
3.36	0.4290		
4.48	0.5796		
5.60	0.6989		

表 4 粗多糖标准曲线的制备

质量浓度(x)/ ($\mu\text{g/mL}$)	吸光度 (y)	回归方程	相关系数 (R^2)
22.6	0.2175	$y=0.0124x-0.0587$	0.9990
45.2	0.5204		
67.8	0.7616		
90.4	1.0688		
113.0	1.3458		

1.3 数据分析

以上测试均在浙江中药研究院实验室完成。梵净山石斛、铁皮石斛 1 号和铁皮石斛 2 号均采集样品 3 份,结果取其平均值。不同供试材料之间的

比较采用 SPSS 19.0 进行方差差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 部分矿质元素含量测定结果

2.1.1 样品含量测定结果 3 种不同来源的石斛中,各矿质元素含量的测定结果见表 5,所测的 8 种矿质元素在梵净山石斛、铁皮石斛 1 号和铁皮石斛

2 号 3 种样品中均有检出,其中钾元素含量最高,其次为钙元素。不同来源的石斛中矿质元素的含量存在一定差异,梵净山石斛中铜、钙、镁、钾和硒 5 种元素的含量均显著高出对照 2 个石斛品种,仅铁、锰 2 种元素含量略低于铁皮石斛 1 号。在矿质元素含量方面,梵净山石斛优于铁皮石斛。由此可见,梵净山石斛中含有更为丰富的矿质元素。

表 5 不同来源石斛中矿质元素含量比较

样品	铜	铁	锌	锰	钙	镁	钾	硒
梵净山石斛	4.5±0.4 a	65±7.6 b	23.5±4.1 a	27.8±3.1 b	654±48.1 a	354±43.2 a	1 858±110.3 a	3.5±0.4 a
铁皮石斛 1 号	3.9±0.3 b	84±6.5 a	26.8±4.6 a	34.3±3.8 a	438±47.3 c	245±39.8 b	1 620±103.4 b	2.9±0.3 b
铁皮石斛 2 号	2.5±0.3 c	42±3.7 c	15.4±2.9 b	20.4±2.6 c	564±50.2 b	163±30.7 c	1 335±101.7 c	2.1±0.3 c

表中数据为平均值±标准误;同列数据后不同小写字母表示其间存在显著性差异($P<0.05$)

2.2 有效成分的含量

2.2.1 醇溶性浸出物含量 由表 6 可以看出,3 种石斛的醇溶性浸出物含量差异明显,其中以梵净山石斛最高($P<0.05$),铁皮石斛 2 号次之,铁皮石斛 1 号最低。梵净山石斛的醇溶性浸出物含量分别比铁皮石斛 1 号和 2 号高出了 101.60% 和 36.31%。

醇溶性浸出物与石斛的药理作用有着密切的关联。2010 年版《中国药典》在“浸出物”项中规定干品铁皮石斛醇溶性浸出物不得低于 6.5%,梵净山石斛的醇溶性浸出物含量为 13.89%,远远超出了该规定含量,说明梵净山石斛体内醇溶性浸出物含量丰富。

表 6 有效成分测定结果

样品	醇溶性浸出物含量/%	生物碱含量/(mg/g)	石斛碱含量/(mg/g)	粗多糖含量/(mg/g)
梵净山石斛	13.89±2.31 a	0.131 9±0.009 9 a	0.074 9±0.003 0 a	197.952 4±5.444 2 b
铁皮石斛 1 号	6.89±1.57 c	0.153 3±0.007 6 a	0.031 4±0.001 4 b	279.467 2±19.082 9 a
铁皮石斛 2 号	10.19±1.84 b	0.084 1±0.005 6 b	未检测到	265.878 7±3.528 6 a

表中数据为平均值±标准误;同列数据后不同小写字母表示其间存在显著性差异($P<0.05$)

2.2.2 生物碱的含量 生物碱是一类含氮有机化合物,也是最早从石斛属植物中分离得到的化合物,含量较低,药理作用较为广泛^[10]。对总生物碱含量的方差分析显示,梵净山石斛与铁皮石斛 1 号之间无显著差异($P>0.05$),而均显著高于铁皮石斛 2 号($P<0.05$) (见表 6)。

2.2.3 石斛碱的含量 石斛碱含量测定结果见表 6。3 种不同来源石斛的石斛碱含量以梵净山石斛最高,其值为 0.074 9 mg/g,铁皮石斛 1 号次之,而在铁皮石斛 2 号中未检测到石斛碱。与铁皮石斛 1 号相比,梵净山石斛中的石斛碱含量则高出 138.54%,其间差异达到显著水平($P<0.05$)。

2.2.4 粗多糖的含量 研究表明,石斛的水溶性多糖能够有效地增强免疫反应,有抗肿瘤、抗衰老、抗氧化、抗辐射、抗凝血的作用,且对机体毒副作用

小^[11-14]。粗多糖含量以铁皮石斛 1 号和铁皮石斛 2 号的粗多糖含量较高,分别为 279.467 2, 265.878 7 mg/g,而梵净山石斛中粗多糖的含量只有 197.952 mg/g,显著低于铁皮石斛 1 号和铁皮石斛 2 号($P<0.05$) (见表 6)。

3 讨论

铜、铁、锌、镁、钾、钙、锰等元素既是植物必需元素,也是人体必需元素^[15]。研究结果表明,梵净山石斛中铜、钙、镁、钾和硒 5 种元素的含量均高出对照品种。这给梵净山石斛的药用提供了一定的试验依据。

醇溶性浸出物指用乙醇对药材和饮片中可溶性物质进行测定。以药材浸出物的含量作为其质量标准的测定。一般用于该药材的活性成分或指

标性成分不清或含量很低或尚无精确的定量方法时采用^[16]。该方法在铁皮石斛品质的比较中较为常用。本试验结果表明,梵净山石斛醇溶性浸出物的含量最高,为 13.89%,显著高于铁皮石斛的含量($P<0.05$)。董伟等^[17]认为,铁皮石斛的药用价值并非体现在醇溶性成分含量,而是多糖含量。多糖类成分是药用石斛发挥免疫活性作用的重要物质基础,铁皮石斛多糖能显著提高外周白细胞数,促进淋巴细胞产生移动抑制因子,可有效提高机体免疫力^[18]。然而,本试验结果表明,梵净山石斛中粗多糖的含量显著低于铁皮石斛 1 号和铁皮石斛 2 号($P<0.05$)。

生物碱是石斛药材中最重要的活性成分之一。葛颖华等^[9]研究认为,铁皮石斛中生物碱类成分药理活性强,含量稳定,也应作为评价铁皮石斛质量的重要指标。诸燕等^[19]研究了 17 个种质 41 个样品的铁皮石斛总生物碱含量为 0.019%—0.043%。本试验样品的生物碱含量稍低,如铁皮石斛 1 号为 0.015%。而也有学者认为,铁皮石斛的总生物碱含量较低,一般在 0.008 3%—0.024 1% 之间^[20]。分析认为,这也许与试验条件设置有关。从本试验的样品来看,梵净山石斛的生物碱含量与铁皮石斛 1 号相比,并无显著差异。石斛碱为金钗石斛中首次分离获得的一种生物碱,是石斛中重要的活性成分^[21]。石斛碱的药理作用主要表现在抗肿瘤,对心血管、胃肠道抑制作用及止痛退热等方面^[22-23]。本试验结果显示,梵净山石斛的石斛碱含量最高,且显著高于铁皮石斛的含量($P<0.05$)。

总之,梵净山石斛中铜、钙、镁、钾和硒 5 种元素的含量均高出对照石斛品种。在有效成分方面,除了粗多糖含量较低($P<0.05$)外,梵净山石斛的醇溶性浸出物含量和石斛碱含量均最高($P<0.05$)。综合认为梵净山石斛同样具有较高的开发利用价值。

参考文献:

- [1] 李振坚,缪 昆.濒危石斛兰野生原种的迁地保护与引种驯化[J].中国野生植物资源, 2009, 28(6): 67-69.
- [2] 金效华,张玉武,肖丽萍.中国石斛属一新种[J].植物分类学报, 2001, 39(3): 269-271.
- [3] 孙济平,何顺志.贵州特有药用植物的种类及分布[J].中国中药杂志, 2005, 30(10): 735-738.
- [4] 叶喜阳,吴棣飞,李根友,等.浙江 2 种种子植物新记录[J].浙江林学院学报, 2010, 27(3): 478-479.
- [5] 徐文芬,黄 敏,何顺志.贵州兰科药用植物新资源调查[J].贵州农业科学, 2012, 40(8): 18-21.
- [6] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社, 1999.
- [7] 马小双,李程程.广南不同种类不同方法铁皮石斛浸出物的含量比较[J].保山学院学报, 2015, 34(5): 13-14.
- [8] 陈 蕤,崔 盛,陶宗娅.三种川产石斛有效成分的测量及其分布规律研究[J].西南农业学报, 2010, 23(3): 986-988.
- [9] 葛颖华,王 杰,周 萃,等.铁皮石斛中石斛碱、多糖的含量测定[J].中国中医药科技, 2015, 22(5): 527-529.
- [10] 王亚芸,任建武.石斛碱的研究进展[J].山东农业大学学报, 2015, 46(1): 152-158.
- [11] 叶庆华,赵维民,秦国伟.石斛属植物化学成分及生物活性研究进展[M]//彭司勋.药物化学进展.北京:化学工业出版社, 2002: 113-143.
- [12] 陈照荣,来平凡,林 巧,等.不同炮制方法对石斛中石斛碱和多糖溶出率的影响[J].浙江中医学院学报, 2002, 26(4): 79-81.
- [13] 季宇彬.中药多糖的化学与药理[M].北京:人民卫生出版社, 2005.
- [14] 汪志好.植物多糖的研究进展[J].安徽卫生职业技术学院学报, 2007, 6(2): 86-88.
- [15] 张建新,乔正道,贡小清.人体必需微量元素与营养状况评价[J].中国卫生检验杂志, 1992, 2(4): 225-227.
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(二部)[M].北京:化学工业出版社, 2005.
- [17] 董 伟,何春梅,俞振明,等.铁皮石斛醇溶性浸出物和六类物质的动态变化研究[J].热带亚热带植物学报, 2017, 25(4): 370-378.
- [18] 蒋玉兰,罗建平.药用石斛多糖药理活性及化学结构研究进展[J].时珍国医国药, 2011, 22(12): 2986.
- [19] 诸 燕,张爱莲,何伯伟,等.铁皮石斛总生物碱含量变异规律[J].中国中药杂志, 2010, 35(18): 2388-2391.
- [20] 丁亚平,杨道麒,吴庆生,等.安徽霍山三种石斛总生物碱的测定及其分布规律研究[J].安徽农业大学学报, 1994, 21(4): 503-506.
- [21] 铃木秀干.金石斛生物碱的研究[J].药学杂志(日).1932, 52(12): 1049-1060.
- [22] 石丽敏,胡贤女,金英燕,等.铁皮石斛的研究现状[J].浙江农业科学, 2013, 1(10): 1270-1272.
- [23] 王伟英,邹 晖,陈永快,等.铁皮石斛的综合利用与展望[J].中国园艺文摘, 2011, 27(1): 189-192.