

基于性状特征结合泡沫试验快速鉴别川牛膝及其伪品、掺伪品

施崇精¹, 程中琴¹, 刘小妹¹, 王姗姗¹, 袁强华², 刘莉², 宋英^{2*}
(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610075)

[摘要] 目的:对川牛膝和伪品头花杯苋、杂牛膝及其掺伪品进行快速鉴别。方法:采用性状特征结合泡沫试验对川牛膝、伪品、掺伪品进行鉴别,其中性状特征方面,对形状、大小、质地、色泽、气、味 6 个方面进行观察及鼻嗅口尝,泡沫试验方面,以产生的泡沫体积为判断指标,对取样量、加水量、振摇时间、粉末粒度、水温、重复性、掺伪比例及其稳定性 8 个方面进行考察和验证。结果:性状特征方面,川牛膝及其伪品头花杯苋、杂牛膝在形状、大小、色泽、质地、气、味上均表现出较为明显的差异,尤其是伪品存有色红、味苦麻的专属性鉴别要点。泡沫试验方面,优选的泡沫试验参数为,称取待测样品粉末(过 3 号筛) 0.3 g,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,所得方法能鉴别出川牛膝、伪品和掺伪 5% 以上的掺伪品。川牛膝、伪品和不同比例的掺伪品产生的泡沫体积在 5~30 min 内无变化,9 h 内略有下降,但幅度很小,且掺伪比例越高,产生泡沫的体积越大且稳定性越好。对 8 批川牛膝和 8 批伪品验证得出,川牛膝产生泡沫体积均 <2 mL,伪品均 >13 mL,5% 掺伪品均 >5 mL,表现出统计学差异。综合性状特征结合泡沫试验,得出川牛膝真伪及掺伪的 5 个专属性鉴别要点。结论:通过 5 个专属性鉴别要点,性状特征结合泡沫试验能有效的将川牛膝和伪品头花杯苋、杂牛膝及其掺伪品鉴别区分,且具有准确、简易、耗时短、可行性强等特点,为川牛膝真伪及掺伪鉴别提供新的方法和参考依据。

[关键词] 川牛膝; 头花杯苋; 杂牛膝; 性状特征; 泡沫试验; 快速鉴别

[中图分类号] R284.1;R282.5;R289;R22 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)05-0173-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182121

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180823.1756.008.html>

[网络出版时间] 2018-08-25 09:40

Fast Identification of *Cyathula officinalis* and Its Adulterant and Doped Adulterant Based on Properties and Foam Test

SHI Chong-jing¹, CHENG Zhong-qin¹, LIU Xiao-mei¹, WANG Shan-shan¹,
YUAN Qiang-hua², LIU Li², SONG Ying^{2*}
(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China;
2. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

[Abstract] **Objective:** To rapidly identify *Cyathula officinalis* and its adulterant *C. capitata* and *C. officinalis* * *C. capitata* and doped adulterant. **Method:** Properties combined with foam test method were used for identifying *C. officinalis*, its adulterant and doped adulterant. In the aspect of properties, 6 aspects including shape, size, texture, color, smell and taste, were observed, smelled and tasted. In the aspect of foam test, the volume of foam produced was used as the determination index to investigate the sample amount, water amount, shaking time, particle size, water temperature, repeatability, adulteration ratio and its stability. **Result:** In the aspect of properties, *C. officinalis* and its adulterant showed obvious difference in the shape, size, color, texture, smell and taste, especially the red color and bitter taste of its adulterant. In the aspect of foam test, the optimum parameters were as follows: sample particle (screened with 3 sieves) 0.3 g, a test tube with plug and

[收稿日期] 20180506(008)
[基金项目] 国家中医药管理局国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-SC-41);四川省中医药管理局项目(2017ZY001)
[第一作者] 施崇精,在读硕士,从事中药制剂与炮制研究,Tel:028-87783735,E-mail:1124758663@qq.com
[通信作者] *宋英,主任药师,教授,硕士研究生导师,从事中药制剂与炮制研究,Tel:028-87783735,E-mail:songying624@163.com

scale, water 10 mL and airtight, forced shaking up and down for 1 min, settling for 5 min. Such method can be used to identify *C. officinalis*, its adulterant and doped adulterant. The volume of foams produced by *C. officinalis* and its adulterant and different ratio of doped adulterant showed no change within 5-30 min, slightly decreases after 9 h; the higher adulteration ratio; the larger volume of foam and better stability. The 8 batches of *C. officinalis* and 8 batch of adulterants proved that the volume of the foams produced was all less than 2 mL in the *C. officinalis*, more than 13 mL in the adulterant is, and more than 5 mL in 5% doped adulterant, showing statistical difference. From the properties combined with foam test, 5 specific identification elements were obtained for identifying *C. officinalis*, its adulterant and doped adulterant. **Conclusion:** Through the 5 specific identification elements, the properties combined with foam test can be used to distinguish the *C. officinalis* from its adulterant *C. officinalis* and *C. officinalis* * *C. capitata* and doped adulterant, characterized by accuracy, simpleness, short time, low cost and feasibility. It can provide a new method and reference for identifying *C. officinalis* from its adulterant and doped adulterant.

[**Key words**] *Cyathula officinalis*; *C. capitata*; *C. officinalis* * *C. capitata*; properties; foam test; fast identification

川牛膝为苋科植物川牛膝的干燥根,主产于四川的金口河区、宝兴县、天全县,湖北的恩施市板桥镇、宣恩县椿木营乡,重庆的巫山县、奉节县等地,多栽培于海拔 1 500 m 以上山区^[1-2]。川牛膝为著名川产道地药材,用药历史悠久,最早记载可追溯到唐代《仙授理伤续断秘方》一书^[3],其具有逐瘀通经,通利关节,利尿通淋之功,常用于治疗经闭癥瘕,胞衣不下,跌扑损伤,风湿痹痛,足痿筋挛,尿血血淋等证^[4]。因历史引种原因,目前市场上川牛膝常见伪品主要来源为苋科植物头花杯苋 *Cyathula capitata* 及两者的自然杂交品种杂牛膝 *C. officinalis* * *C. capitata*。现代研究报道川牛膝和头花杯苋、杂牛膝在性状特征、化学成分、药理作用上均表现出明显的差异,头花杯苋和杂牛膝不得代替川牛膝入药^[5-6],但因头花杯苋和杂牛膝外观形态上与川牛膝十分相似,同时流通市场上多以掺混形式出售,给川牛膝的临床用药安全和道地药材资源开发带来很大影响^[7]。在药材真伪鉴别的文献报道中,孟祥松等^[8]采用微性状鉴别对三七及其混淆品进行鉴别,王凤云等^[9],采用基于 ND2 基因序列技术对燕窝进行 DNA 条形码鉴别,黎洁文等^[10]采用基于条形码内部转录间隔区(ITS)2 序列技术对何首乌及其近缘种和混淆品进行鉴别,其中报道中鉴别川牛膝真伪方法有性状差异,显微特征,HPLC 指纹图谱,同工酶电泳,ITS 序列分析,基于 RAPD 和 AFLP 技术的 DAN 鉴别,这些方法为川牛膝真伪鉴别提供了一定的参考依据^[11-15]。川牛膝性状鉴别中通过外观形态和口尝滋味能快速准确地鉴别川牛膝真伪,但存有一定的主观差异性,尤其是在大批量流通时,实际

可行性较差,而其他鉴别手段虽能准确的鉴别川牛膝真伪,但存在操作复杂、耗时长、成本高等缺陷,同时均未报道掺伪品的鉴别要点,并未对川牛膝市场掺伪现象提供切实可行的办法。本实验通过实践探索和化学分析,一方面对川牛膝、头花杯苋、杂牛膝进行详细的特征性状鉴别描述,另一方面报道了头花杯苋、杂牛膝及其掺伪品具有显著的起泡特性差异,性状特征结合泡沫试验具有准确可靠、操作简易、耗时短、成本低等优点,以期为川牛膝真伪及掺伪鉴别提供一种新的手段。

1 材料

LE-204E 型 1/1 万电子天平(梅特勒托利多仪器公司);PW135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);16 批样品均购自川牛膝主产地,详细信息见表 1。经成都中医药大学附属医院药剂科主任中药师盛蓉鉴定,编号为 A01 ~ A08 的样品均为苋科植物川牛膝 *C. officinalis* 的根,符合 2015 年版《中国药典》的要求,编号为 B01 ~ B04 的样品均为头花杯苋 *C. capitata* 的根,编号 B04 ~ B08 的样品均为杂牛膝 *C. officinalis* * *C. capitata* 的根。鲜药材经性状特征鉴定后于 50 ~ 60 ℃ 烘箱中干燥,密封保存备用。

2 方法和结果

2.1 性状特征鉴别 川牛膝真伪的性状鉴别主要通过形状、大小、色泽、质地、气、味 6 个方面进行考察,通过对表 1 中的川牛膝、头花杯苋、杂牛膝样品按以上方面进行性状特性描述,得出表中 8 个鉴别点,主要表现在根形态、颜色、气味 3 个方面,具体鉴定内容见表 2。由表可知,当川牛膝呈鲜药材

表 1 川牛膝、头花杯苋、杂牛膝样品信息

Table 1 Sample information of *Cyathula officinalis*, *C. capitata*, *C. officinalis* * *C. capitata*

编号	名称	规格	来源	采集时间
A01	川牛膝	药材	金口河区永胜乡花茨村	2017-01
A02	川牛膝	药材	金口河区永胜乡五池村	2017-01
A03	川牛膝	鲜药材	恩施市板桥镇穿洞村	2017-10
A04	川牛膝	鲜药材	宣恩县椿木营乡干竹坪村	2017-10
A05	川牛膝	鲜药材	宝兴县蜂桶寨乡新康村一组	2017-10
A06	川牛膝	鲜药材	宝兴县蜂桶寨乡新康村三组	2017-10
A07	川牛膝	鲜药材	金口河区永胜乡和平村	2017-12
A08	川牛膝	鲜药材	金口河区永胜乡大坪村	2017-12
B01	头花杯苋	药材	乐山市峨边县	2017-10
B02	头花杯苋	药材	乐山市峨边县	2017-10
B03	头花杯苋	药材	宝兴县永富乡中岗村一组	2017-10
B04	头花杯苋	药材	宝兴县永富乡中岗村三组	2017-10
B05	杂牛膝	药材	雅安市汉源县	2017-12
B06	杂牛膝	药材	雅安市汉源县	2017-12
B07	杂牛膝	鲜药材	宝兴县永富乡中岗村一组	2017-10
B08	杂牛膝	鲜药材	宝兴县永富乡中岗村四组	2017-10

表 2 川牛膝、头花杯苋、杂牛膝性状特征鉴别要点

Table 2 Identify points of *C. officinalis*, *C. capitata*, *C. officinalis* * *C. capitata*

鉴别指标	川牛膝	杂牛膝	头花杯苋
药材根形态	有明显主根,枝根较少	无明显主根,枝根多而细	有明显主根,根头部枝根多
药材主根形态	呈近长圆柱形,向下略细,根头不大	呈近长圆柱形,向下略细,根头不大	呈圆锥形,根条较川牛膝、杂牛膝短小,向下钝细,根头膨大尾尖
药材质地	质地滋润柔韧,易弯曲,不易折断	质地滋润柔韧,易弯曲,不易折断	质地较硬,多木质化,不易弯曲,易折断,断面纤维性强
外表颜色	鲜品呈黄棕色,药材呈黄棕色或灰褐色	鲜品呈淡红色,药材呈黄棕色或灰褐色	鲜品呈淡红色,药材呈黄棕色或棕褐色,
刮去外表皮颜色	鲜品呈黄白色,药材呈棕黄色	鲜品呈鲜红色,药材呈棕黄色	鲜品呈鲜红色,药材呈棕黄色
横断面颜色	鲜品呈浅黄色或棕黄色,药材呈棕黄色	鲜品皮部呈红色,药材呈棕黄色,	鲜品散布有红色,药材呈棕褐色,少部分新货仍散布有红色
气	气微	气略浓	气浓
味	味甜	味苦,有微甜,稍有麻舌感	味极苦,有麻舌感

2.2 泡沫试验鉴别 笔者在对川牛膝及其伪品头花杯苋、杂牛膝进行水溶性浸出物测定时发现,川牛膝加水振摇后无明显泡沫产生,而头花杯苋、杂牛膝加水振摇后均能产生大量持久性蜂窝状乳白色泡沫,表现出显著的差异,表明头花杯苋、杂牛膝的起泡特性可作为快速鉴别川牛膝和头花杯苋、杂牛膝

形态时,除药材质地外,其他 7 个鉴别点均可作为鉴别要点。当川牛膝鲜药材初加工成药材后,一方面,主根和侧根均剪成单支,根的原始形态消失,难以根据主根形态进行有效区分;另一方面,鲜药材干燥后,绝大多数的头花杯苋、杂牛膝鲜药材中“表皮呈淡红色”“刮去表皮后呈鲜红色”“横断面呈红色”3 个鉴别特征消失,极少部分的新货头花杯苋仍存有“横断面呈红色”现象。当川牛膝药材加工成饮片后,仅可通过气浓、味苦麻作为鉴别要点。

以上特征性状分析结果表明,川牛膝、头花杯苋、杂牛膝在根的形态、颜色、气味 3 个方面均表现出较为显著的差异,性状特征鉴别能将川牛膝真伪进行有效区分,且具有准确、简易、时耗短等优势。但川牛膝从鲜药材到药材再到饮片,随着加工过程的推进,性状特征鉴别要点逐渐减少,虽“气浓”“味苦麻”2 个鉴别要点可作为川牛膝真伪鉴别的专属性鉴别要点,但针对市场上的掺伪现象,尤其是在大批量流通交易时,仅仅通过性状特征进行鉴别的实际可行性较差,还有一定的主观性,难以解决掺伪的实际问题,亟需一种新的快速的鉴别方法对性状特征鉴别给予补充和完善。

的潜在可能。通过对大量川牛膝及伪品样品进行预试验,可知川牛膝加水振摇后仅有少量泡沫产生,且泡沫不持久易消失,而头花杯苋、杂牛膝加水振摇后能产生大量持久性泡沫,其起泡特性的显著差异可用以快速鉴定川牛膝真伪及掺伪。本试验通过加一定量的川牛膝、头花杯苋、杂牛膝和 5% 掺伪品粉末

置具塞刻度试管中,加一定量水后用力上下振摇,以试管内产生的泡沫体积为判断指标,分别对取样量、加水量、振摇时间、粉末粒度、水温、重复性、掺伪比例及其稳定性 8 个方面进行考察和验证。其中 5% 掺伪品是指占比重为 5% 的 B01 ~ B08 号伪品依次与川牛膝 A01 ~ A08 的模拟掺伪样品,依次编号为 C01 ~ C08。

2.2.1 取样量考察 分别称取川牛膝 A01,头花杯苳 B01,杂牛膝 B05,5% 掺伪品 C01 粉末(过 3 号筛)各 0.05,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 g,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,读取各取样量下泡沫体积,川牛膝 A01 依次为 0,0.5,1.0,1.0,1.5,1.5 mL,头花杯苳 B01 依次为 15.0,16.0,16.0,16.0,15.0,15.0 mL,杂牛膝 B05 依次为 15.0,15.0,16.5,15.5,16.0,16.0 mL,5% 掺伪品 C01 依次为 1.0,2.0,3.5,5.0,6.0,7.0 mL。结果表明,川牛膝、头花杯苳、杂牛膝起泡特性受取样量影响较小,5% 掺伪品起泡特性受取样量影响较大,为能较好的达到将真伪和掺伪完全区分的效果,优选取样量为 0.3 g。

2.2.2 加水量考察 分别称取川牛膝 A01,头花杯苳 B01,杂牛膝 B05,5% 掺伪品 C01 粉末(过 3 号筛)0.3 g 各 3 份,置具塞刻度试管中,分别依次加水 5,10,15 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,读取各加水量下泡沫体积,川牛膝 A01 依次为 1.0,1.0,1.0 mL,头花杯苳 B01 依次为 12.0,16.0,13.0 mL,杂牛膝 B05 依次为 11.0,15.5,13.5 mL,5% 掺伪品 C01 依次为 4.0,5.0,5.0 mL。结果表明,川牛膝、头花杯苳、杂牛膝、掺伪 5% 川牛膝起泡特性受加水量影响均较小,结合实际操作,优选加水量为 10 mL。

2.2.3 振摇时间考察 称取川牛膝 A01,头花杯苳 B01,杂牛膝 B05,5% 掺伪品 C01 粉末(过 3 号筛)0.3 g 各 6 份,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,分别依次用力上下振摇 5,15,30,60,90,120 s,静置 5 min,读取各振摇时间下泡沫体积,川牛膝 A01 依次为 0.5,0.5,1.0,1.0,1.0,1.5 mL,头花杯苳 B01 依次为 6.5,9.0,10.0,14.0,14.0,17.0 mL,杂牛膝 B05 依次为 7.0,9.0,9.5,14.5,13.5,18.0 mL,5% 掺伪品 C01 依次为 6.5,9.0,10.0,14.0,14.0,17.0 mL。结果表明,川牛膝起泡特性受振摇时间影响较小,头花杯苳、杂牛膝、5% 掺伪品起泡特性与振摇时间呈正相关,但在 60 s 后无明显变化,为能较好达到将真伪及掺伪完全区分的效果,并

考虑检验效率,优选振摇时间为 60 s。

2.2.4 粉末粒度考察 取川牛膝 A01,头花杯苳 B01,杂牛膝 B05,5% 掺伪品 C01 适量,依次粉碎得过 1 号筛粉末、过 2 号筛粉末、过 3 号筛粉末、过 4 号筛粉末,各称取 0.3 g,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,读取各粉末粒度下泡沫体积,川牛膝 A01 依次为 0.5,0.5,0.5,1.0 mL,头花杯苳 B01 依次为 14.0,15.0,15.5,17.0 mL,杂牛膝 B05 依次为 14.5,15.0,15.0,16.5 mL,5% 掺伪品 C01 依次为 1.0,1.5,5.0,6.0 mL。结果表明,川牛膝、头花杯苳、杂牛膝起泡特性受粉末粒度影响较小,5% 掺伪品起泡特性受粉末粒度较大,为能较好达到将真伪及掺伪完全区分的效果,并考虑检验效率,优选粉末粒度为过 3 号筛。

2.2.5 水温考察 分别称取川牛膝 A01,头花杯苳 B01,杂牛膝 B05,5% 掺伪品 C01 粉末(过 3 号筛)0.3 g 各 6 份,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,水温依次为 10,15,20,25,30,35 ℃,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,读取各水温下泡沫体积,川牛膝 A01 依次为 1.0,1.0,1.0,1.0,1.0,1.0 mL,头花杯苳 B01 依次为 14.0,14.0,15.0,15.0,15.0,15.5 mL,掺伪 5% 川牛膝 C01 依次为 14.5,14.5,15.0,15.5,15.5,16.0 mL,5% 掺伪品依次为 4.5,4.5,4.5,4.5,4.5,4.5 mL。结果表明,川牛膝、头花杯苳和 5% 掺伪品起泡特性受水温影响均较小,故所用水为室温下均可。

2.2.6 重复性考察 分别称取川牛膝 A01,头花杯苳 B01,杂牛膝 B05,5% 掺伪品 C01 粉末(过 3 号筛)0.3 g 各 6 份,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,读取泡沫体积,川牛膝 A01 依次为 1.0,1.0,1.0,1.0,1.0,1.0 mL,RSD 0.0%;头花杯苳 B01 依次为 14.0,14.0,15.5,15.0,14.0,15.0 mL,RSD 为 4.6%;杂牛膝 B05 依次为 14.5,14.0,15.0,15.5,14.5,15.0 mL,RSD 为 3.6%;5% 掺伪品 C01 依次为 4.5,4.5,4.5,4.5,5.0,4.5 mL,RSD 4.5%。结果表明,川牛膝、头花杯苳,5% 掺伪品产生泡沫体积的 RSD 均 <5%,表明该方法重复性较好。

2.2.7 掺伪比例及其泡沫稳定性考察 分别按比重掺入 0%,1%,2%,5%,10%,20%,30%,50%,75%,100% 的头花杯苳 B01 和杂牛膝 B05 于川牛膝 A01 中,粉碎,取各掺伪比例样品粉末(过 3 号筛)0.3 g,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用

力上下振摇 1 min,静置,分别于 5,10,20,30 min,1,2,3,6,9 h 后读取泡沫体积,结果见表 3,4。由结果可知,随时间变化,各样品泡沫体积在静置 5 ~ 30 min内无变化,表明振摇 5 min 后泡沫趋于稳定,即可读取泡沫体积,各样品在 9 h 内泡沫体积略有下降,但幅度很小,且掺伪比例越高,泡沫稳定性越

好。以掺伪比例为横坐标,静置 5 min 后读取的泡沫体积为纵坐标,绘制头花杯苋和杂牛膝的掺伪比例-泡沫体积曲线图,结果见图 1,由图可知,随着掺伪比例的增加,泡沫体积随之增加,在掺伪比例达 30% 后,增长较缓,同时曲线图表明头花杯苋和杂牛膝在起泡特性上无明显差异,具有一定的相似性。

表 3 不同比例的头花杯苋掺伪品在不同时间产生的泡沫体积

Table 3 Foam volume of adulterate in different ratio of <i>C. capitata</i>										mL
掺入比例/%	5 min	10 min	20 min	30 min	1 h	2 h	3 h	6 h	9 h	
0(川牛膝)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	
1	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.0	1.0	
2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	1.0	
5	5.0	5.0	5.0	5.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	
10	7.0	7.0	7.0	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	
20	11.0	11.0	11.0	11.0	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5	
30	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	10.5	
50	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.0	
75	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	140	14.0	13.5	
100(头花杯苋)	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	13.0	

表 4 不同比例杂牛膝掺伪品不同时间产生泡沫体积

Table 4 Foam volume of adulterate in different ratio of <i>C. officinalis</i> * <i>C. capitata</i>										mL
掺混比例/%	5 min	10 min	20 min	30 min	1 h	2 h	3 h	6 h	9 h	
0(川牛膝)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	
1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	
2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	1.0	
5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	
10	6.5	6.5	6.5	6.5	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	
20	10.5	10.5	10.5	10.5	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
30	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	10.5	
50	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	12.0	
75	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	14.5	
100(杂牛膝)	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	14.5	

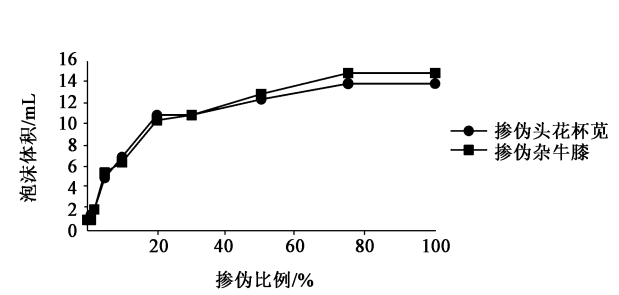


图 1 掺伪比例-泡沫体积趋势

Fig.1 Trend map of adulterate ratio-foam volume

2.2.8 验证试验 称取川牛膝 A01 ~ A08,头花杯苋 B01 ~ B04,杂牛膝 B05 ~ B08,5% 掺伪品 C01 ~ C08 粉末(过 3 号筛)0.3 g,置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,静置 5 min,读取各试管内泡沫体积,结果见表 5。由表 5 可知,川牛膝产生的泡沫体积均 < 2 mL,伪品头花杯苋、杂牛膝均 < 13 mL,5% 掺伪品在 5 ~ 7 mL,表明川牛膝、伪品、掺伪品在起泡特性上表现出很大的差异,同时伪品头花杯苋和杂牛膝表现出一定的相似性。

对 3 组样品 (A01 ~ A08,B01 ~ B08,C01 ~ C08) 泡沫体积进行方差分析,得出 $F = 678.07$, $P = 0.00 < 0.05$,表现出极大的显著性,统计结果表明川牛膝、伪品、掺伪品之间具有显著差异。

表 5 川牛膝、头花杯苋、杂牛膝和 5% 掺伪品泡沫验证试验
Table 5 Verification test of foam test of *C. officinalis* and *C. capitata* and *C. officinalis* * *C. capitata* and 5% doped adulterant

样品 编号	泡沫体积 /mL	样品 编号	泡沫体积 /mL	样品 编号	泡沫体积 /mL
A01	1.5	B01	13.0	C01	5.0
A02	1.5	B02	13.0	C02	6.0
A03	1.0	B03	14.0	C03	7.0
A04	1.0	B04	13.5	C04	5.5
A05	1.0	B05	15.0	C05	6.0
A06	2.0	B06	14.0	C06	7.0
A07	1.0	B07	14.0	C07	7.0
A08	1.5	B08	13.0	C08	5.0

2.3 川牛膝真伪及掺伪快速鉴别要点 对性状特征和泡沫试验鉴别内容进行综合分析,得出川牛膝真伪及掺伪鉴别主要有以下 5 个鉴别要点:(1)表皮颜色,样品表皮颜色是否呈现红色,红色的为阳性结果;(2)刮去外表皮颜色,样品刮去外表皮是否呈红色,红色的为阳性结果;(3)横断面颜色,样品横断面颜色是否呈红色,呈红色的为阳性;(4)口尝滋味,样品口尝是否有苦麻味,有苦麻味的为阳性;(5)泡沫试验,将样品粉碎过 3 号筛,取 0.3 g 置具塞刻度试管中,加水 10 mL,密闭,用力上下振摇 1 min,观察泡沫情况,能产生大量持久性泡沫的为阳性。

若以上 5 项结果均不为阳性,则为正品川牛膝,若以上 5 项结果有 1 项及以上为阳性,则表明样品为伪品头花杯苋或杂牛膝或其掺伪品。其中鉴别要点(1),(2),(3)的颜色,其红色包括淡红色至暗红色。鉴别要点的(4)的口尝滋味,因杂牛膝受杂交程度不同,可能会出现微甜而后苦的现象,且味觉因人而异,但凡只要存有苦麻味,则为阳性结果。鉴别要点(5)的泡沫试验,泡沫体积在 2 mL 以下则为川牛膝,泡沫体积 > 13 mL 则为伪品头花杯苋或麻牛膝,泡沫高度若 > 5 mL 以上则有掺伪 5% 以上的潜在可能,且泡沫体积和掺伪比例呈正相关性,具体掺混比例可参照 2.2.7 项下掺伪比例试验的结果进行推测估计。

3 讨论

在植物分类中,一般多根据植物形态特征进行科属分类,本文所述川牛膝、头花杯苋、杂牛膝均为为苋科杯苋属植物,植物形态上表现出一定的相似性,但不同植物间一定会在外观形态和理化性质上表现出一定的差异性^[16]。基于头花杯苋、杂牛膝较川牛膝在形态、颜色、气味、起泡特性 4 个方面均表现出的显著差异,一方面,提示了头花杯苋和杂牛膝较川牛膝在化学组分上存有很大的差异,另一方面也表明头花杯苋和杂牛膝在组分上存有一定的相似性。本实验中性状特征鉴别主要通过药材的形态、颜色、气味 3 个方面进行判断,而鲜药材加工成药材、饮片或酒炙饮片后,根的原始形态和外观颜色特征大多消失,难以达到检验效果,另一方面,性状特征鉴别主要通过感官判断,具有一定的主观差异性,尤其在大批量流通时,性状特征鉴别的实际可行性较差。虽然性状特征鉴别具有一定的缺陷,但仍具有快速、准确、简便、低耗等优点,能有效的鉴别川牛膝真伪及掺伪,可在精密分析鉴定川牛膝真伪前对其进行初步的判断。

而本实验中首次报道的泡沫试验,揭示了头花杯苋和杂牛膝具有起泡特性的显著差异,泡沫试验能有效的鉴别川牛膝及其伪品和掺伪品,且具有快速、准确、简便、低耗、可行性强、精密度高等优势。头花杯苋和杂牛膝均具有较强且相似的起泡特性,这可能是与杂牛膝为头花杯苋和川牛膝的自然杂交品种有关,同时也表明头花杯苋和杂牛膝均含有皂苷类成分的潜在可能,且皂苷类成分呈苦涩味与头花杯苋、杂牛膝口尝为苦味具有一定的一致性。笔者通过 HPLC 特征指纹图谱对川牛膝及其伪品头花杯苋、杂牛膝进行组分分析,得出头花杯苋、杂牛膝在 220 nm 波长下均能检出一系列专属性高响应特征峰,较川牛膝表现出显著的差异。该类特征峰的 DAD 光谱吸收曲线大多类似于皂苷类成分的末端吸收曲线,表明该类特征峰组分很可能为皂苷类成分,该类成分可能也是导致头花杯苋和杂牛膝在泡沫试验中表现出显著差异的主要原因,后续将通过分离纯化、质谱、核磁等分析鉴定手段对头花杯苋、杂牛膝的特征组分进行分离鉴定,以期得出找出川牛膝伪品的差异特征组分。

现代仪器检验手段的多样化,给药材的鉴别提供了更多的技术支持^[17-18],在文献报道中的同工酶电泳,ITS 序列分析和 DAN 鉴别等现代分析方法虽能准确的判断川牛膝真伪,但存在操作复杂、耗时

长、成本高等缺陷,无法进行一般推广。而本实验即保留了川牛膝特征性状鉴别中快速、准确、简便、低耗等优势,可作为鉴别的初步判断,又通过结合泡沫试验来弥补特征性状鉴别的主观性差异性,泡沫试验实际可行性强、精密度较高,同时也具有快速、准确、简便、低耗等优势,能解决川牛膝掺伪的实际问题。性状特征鉴别结合泡沫试验能用以快速鉴别川牛膝及其伪品、掺伪品,为川牛膝真伪鉴别提供了新的方法和参考依据。

[参考文献]

[1] 施崇精,王姗姗,刘小妹,等. 川产道地药材川牛膝现状探讨[J]. 亚太传统医药,2017,13(22):55-58.

[2] 巫明焱,何兰,陈佳丽,等. 基于 3S 技术和 MaxEnt 的川牛膝在中国的潜在分布及种植空缺分析[J]. 中国中药杂志,2017,42(22):4395-4401.

[3] 李成,马新建. 道地药材之怀牛膝、川牛膝的本草考证[J]. 中医学报,2011,26(11):1336-1337.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:38.

[5] 童凯,李昭玲,闫桑,等. 基于 HPLC 指纹图谱比较分析川牛膝及其混淆品的化学成分特征[J]. 时珍国医国药,2015,26(10):2424-2427.

[6] 何光星,舒光明,宾雪英,等. 川牛膝及其混淆品活血化瘀作用比较[J]. 时珍国医国药,2015,26(10):2336-2339.

[7] 赵华杰,舒光明,周先健,等. 我国川牛膝资源分布及生产状况调查[J]. 资源开发与市场,2012,28(5):414-415,471.

[8] 孟祥松,蒋磊,于元元,等. 三七花及其易混淆品的微

性状鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(11):39-43.

[9] 王风云,蒋颖诗,赖小平. 基于 ND2 基因序列的燕窝 DNA 条形码鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(13):36-40.

[10] 黎洁文,赵树进. 基于条形码 ITS2 序列的何首乌及其近缘种和混淆品的分子鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(9):80-84.

[11] 赵磊. 川牛膝及其常见混用品鉴别研究[J]. 亚太传统医药,2017,13(16):32-34.

[12] 陈诗晴,蒲沁琳,陈小军,等. 基于 ITS 序列分析技术鉴定川牛膝与常见伪品麻牛膝[J]. 中药与临床,2014,5(4):4-6.

[13] 赵永亮,傅体华,范巧佳,等. 川牛膝 (*Cyathula officinalis* Kuan) RAPD 和 AFLP 标记的多态性聚类分析[J]. 安徽农业科学,2008(16):6682-6686.

[14] 范巧佳,李方安,李杰勤,等. 川牛膝与其伪品头花杯苋及其杂交后代同工酶的研究[J]. 中药研究与信息,2004(4):24-26.

[15] 田孟良,官宇,刘帆,等. 基于 RAPD 标记的 SCAR 分子标记技术鉴定川牛膝及其混淆品[J]. 中国中药杂志,2010,35(8):953-956.

[16] 廖彭莹,王东,杨崇仁,等. 苋科牛膝资源植物的化学成分研究进展[J]. 中草药,2013,44(14):2019-2026.

[17] 战皓,柳梦婷,方婧,等. 近红外分析技术在中药鉴定和含量测定中的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(12):231-235.

[18] 黎量,杨诗龙,胥敏,等. 基于电子鼻、电子舌技术的山楂气、味鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(5):99-102.

[责任编辑 顾雪竹]