

柿蒂及其未成熟品的鉴别研究

汪少华, 宓文佳, 汪洋* (浙江英特医药药材有限公司, 杭州 310004)

摘要: 目的 对柿蒂及其未成熟品进行鉴别研究, 为柿蒂的鉴别提供实验依据。方法 采用性状、显微鉴别, 薄层鉴别及液相色谱法进行含量测定, 对二者进行鉴别研究。结果 两者性状区别明显; 显微鉴别石细胞存在明显差异; 薄层鉴别中以没食子酸为对照品, 未成熟柿蒂中没食子酸丰度明显高于柿蒂; 未成熟柿蒂中所含没食子酸含量高于柿蒂。结论 性状鉴别、石细胞显微特征以及没食子酸含量可以为两者的鉴别提供参考依据。

关键词: 柿蒂; 未成熟品; 性状鉴别; 显微鉴定; 没食子酸

中图分类号: R285.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)12-1855-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.020

引用本文: 汪少华, 宓文佳, 汪洋. 柿蒂及其未成熟品的鉴别研究 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1855-1858.

Comparative Study on the *Calyx Kaki* and Its Immature Products

WANG Shaohua, MI Wenjia, WANG Yang* (Zhejiang Int'l Herbal Medicine Co., Ltd., Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To provide experimental basis for the comparative study of *Calyx Kaki* and its immature products.

METHODS The morphological identification, microscopic identification, TLC and HPLC identification were adopted to distinguish these two materials. **RESULTS** There were obvious differences in morphological identification and microscopic identification of stone cells between the two, TLC identification revealed that the content of Gallic Acid in immature products was higher than that in *Calyx Kaki* by using Gallic acid as reference. HPLC identification also indicated the same result.

CONCLUSION The morphological identification, microscopic characteristics of stone cells, combining with the determination of Gallic Acid can be the feasible methods that used to distinguish two materials.

KEY WORDS: *Calyx Kaki*; immature products; morphological identification; microscopic identification; gallic acid

柿蒂为柿树科植物柿 *Diospyros kaki* Thunb. 的干燥宿萼。冬季果实成熟时采摘, 食用时收集, 洗净, 晒干。其性味苦、涩, 平, 归胃经, 有降气止呃之效^[1]。笔者在中药材验收过程中, 发现一种外观隆起呈帽状、与中国药典 2015 年版柿蒂性状差异较大的柿蒂, 经杭州市食品药品检验研究院诸葛陇副主任中药师鉴定为未成熟柿蒂。因此, 以中国药典 2015 年版为依据, 对二者进行性状、显微、薄层鉴定, 希望可以为两者的鉴别提供依据; 同时以薄层鉴别对照品没食子酸为检测指标进行含量测定, 希望可以为药典柿蒂质量标准提供含量测定的参考依据。

1 仪器与试剂

E100 生物显微镜(日本 Nikon); Goodsee-20E 型薄层色谱成像系统(上海科哲生化科技有限公司); 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent); ME204E 型万分之一分析天平、MS105DU 型十万分之一分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公

司]; KQ-700DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 帆船牌载玻片、盖玻片均来自江苏飞舟塑料有限公司; 硅胶 G 板(青岛海洋化工有限公司)。

没食子酸对照品(含量为 89.9%, 批号为 110831-201204, 中国药品生物制品检定所); 甲醇(分析级, 无锡市展望化工试剂有限公司); 乙醇、甲苯均为分析级, 来自杭州双林化工试剂厂; 甲醇(色谱级, TEDIA); 甲酸乙酯(分析级, 上海展云化工有限公司); 甲酸(分析级, 国药集团化学试剂有限公司); 娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 性状鉴别

取柿蒂及未成熟柿蒂样品, 从形状、大小、颜色、表面、气味等特征进行药材性状鉴别。

柿蒂: 呈扁圆形, 直径 1.5~2.5 cm。中央较厚, 微隆起, 有果实脱落后的圆形疤痕, 边缘较薄, 4 裂, 裂片多反卷, 易碎; 基部有果梗或圆孔状的

作者简介: 汪少华, 男, 硕士, 主管中药师 Tel: 13306815378
主任中药师 Tel: 18905815103 E-mail: 23095939@qq.com

E-mail: 1035043018@qq.com

*通信作者: 汪洋, 女, 博士, 副

果梗痕。外表面黄褐色或红棕色，内表面黄棕色，密被细绒毛。质硬而脆。气微，味涩。见图 1。

未成熟柿蒂：扁圆形，直径 1.5~5.0 cm。中央厚，隆起呈帽状，有果实脱落后的圆形疤痕，边缘较薄，4 裂，裂片多上收，大，易碎；基部有圆孔状的果梗痕。外表面灰绿色，内表面黄棕色，萼筒圆形，绒毛稀生。质硬而脆。见图 1。

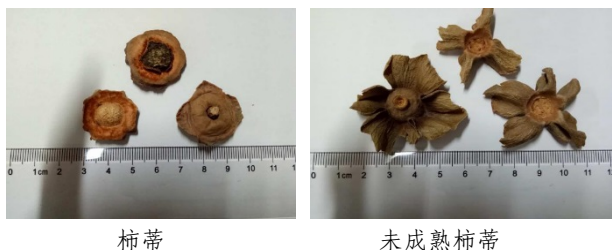


图 1 性状鉴别图

Fig. 1 Morphological identification chromatogram

2.2 薄层鉴别

按中国药典 2015 年版柿蒂薄层鉴别项下的提取方法，吸取对照品与供试品各 5 μ L，对柿蒂和未成熟柿蒂进行薄层鉴别研究。

供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上有相同颜色的斑点，但未成熟柿蒂斑点颜色较柿蒂斑点颜色更深。结果见图 2。



图 2 薄层图

A-未成熟柿蒂；B-柿蒂；C-没食子酸。

Fig. 2 TLC chromatogram

A-immature *Calyx Kaki*; B-*Calyx Kaki*; C-gallic acid.

2.3 显微鉴别

取柿蒂及未成熟柿蒂粉末适量，按粉末常规制片法装片，在显微镜下观察粉末显微特征。

柿蒂：本品粉末棕色。非腺毛单细胞，胞腔

内含棕色物。石细胞长条形、类方形、类三角形或不规则形，壁厚，孔沟极细密，胞腔较小。外表皮细胞多角形，气孔不定式，副卫细胞 5~7 个。柿蒂显微图见图 3。

未成熟柿蒂：本品粉末棕绿色至棕色。非腺毛单细胞，胞腔内含棕色物。石细胞长条形或不规则形，壁薄，孔沟细密，胞腔较大，纹孔可见。外表皮细胞类方形或多角形。柿蒂显微图见图 4。

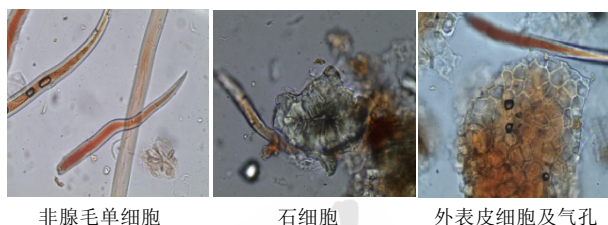


图 3 柿蒂显微图(400 $\times$)

Fig. 3 Micrographs of *Calyx Kaki*(400 $\times$)

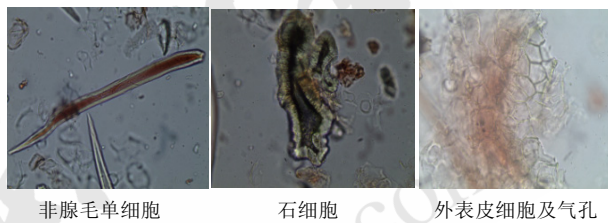


图 4 未成熟柿蒂显微图(400 $\times$)

Fig. 4 Micrographs of immature *Calyx Kaki*(400 $\times$)

2.4 没食子酸的含量测定

2.4.1 色谱条件^[2] Diamonsil Plus C_{18} 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)，以甲醇-0.5%磷酸溶液 (5 : 95)为流动相，检测波长为 273 nm，柱温 25 $^{\circ}$ C。

2.4.2 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品适量，精密称定，用 50%甲醇制成每 1 mL 含 0.010 66 mg 的溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 取柿蒂粉末约 1.0 g 及未成熟柿蒂粉末约 0.4 g，均过 3 号筛，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%甲醇 50 mL，精密称定质量，超声 20 min，冷却，用 50%甲醇补足减失质量，摇匀，静置，取上清液过 0.45 μ m 微孔滤膜后，即得供试品溶液。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取没食子酸对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20, 25 μ L 注入液相色谱仪，以峰面积(Y)为纵坐标，进样量(X)为横坐标进行线性回归，得回归方程为 $Y=3\ 333.2X+0.048\ 4$, $r=0.999$ ($n=6$), 表明没食子酸在 0.009 58~0.239 58 μ g 内呈良好的线性关系。

2.4.5 仪器精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL , 连续进样 6 次, 测得峰面积 RSD 为 0.21%, 表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 按“2.4.3”项下方法制备柿蒂(批号: Y1712022)和未成熟柿蒂(批号: YP1708003)的供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 测得峰面积 RSD 分别为 1.07%, 1.18%, 结果显示两者均在 8 h 内稳定。

2.4.7 重复性试验 按“2.4.3”项下方法制备柿蒂、未成熟柿蒂供试品溶液各 6 份, 注入液相色谱仪, 没食子酸含量 RSD 分别为 1.54%, 1.17%, 表明该方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 按“2.4.3”项下方法制备柿蒂、未成熟柿蒂供试品溶液各 6 份, 置具塞锥形瓶中, 按含有 80%, 100%, 120% 的量加入没食子酸对照品, 计算加样回收率。结果表明没食子酸在柿蒂和未成熟样品中的回收率分别为 95.6%, 103.2%, RSD 分别为 1.93%, 0.66%。结果见表 1~2。

表 1 柿蒂加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 1 Results of recovery test for *Calyx Kaki*($n=6$)

样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
0.077 9	0.064 0	0.137 8	93.6		
0.077 8	0.064 0	0.138 1	94.3		
0.076 7	0.074 6	0.149 2	97.1	95.6	1.93
0.076 7	0.074 6	0.150 2	98.5		
0.076 7	0.095 9	0.167 8	94.9		
0.078 4	0.095 9	0.169 6	95.1		

表 2 未成熟柿蒂加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 2 Results of recovery test for immature *Calyx Kaki* ($n=6$)

样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
0.050 4	0.042 6	0.094 8	104.1		
0.050 0	0.042 6	0.093 7	102.1		
0.050 9	0.054 4	0.107 1	103.4	103.2	0.66
0.050 5	0.054 4	0.106 8	103.6		
0.051 9	0.065 0	0.119 1	103.3		
0.051 6	0.066 1	0.119 2	102.3		

2.4.9 样品的含量测定 取“2.4.3”项下方法制备的供试品溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件分别进样测定, 结果见图 5。根据回归方程计算质量分数, 结果见表 3, 柿蒂和未成熟柿蒂样品中没食子酸含量分别为 0.07, 0.12 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

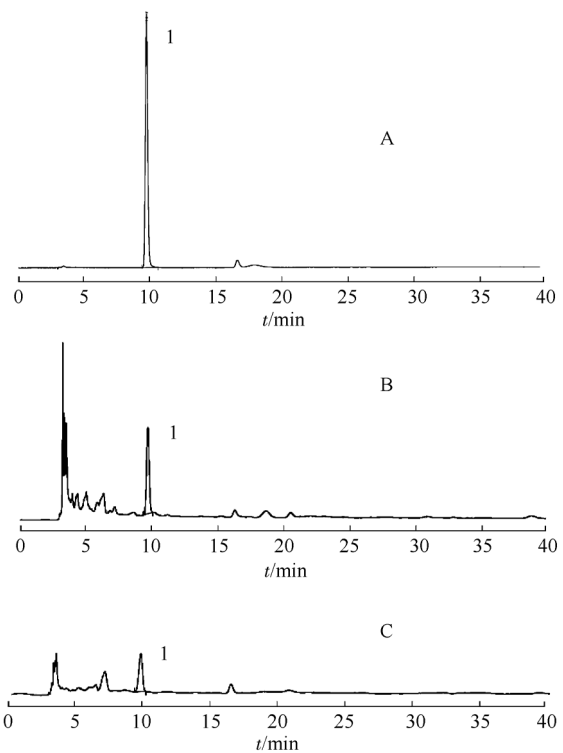


图 5 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-未成熟柿蒂溶液; C-柿蒂溶液; 1-没食子酸。

Fig. 5 HPLC chromatograms

A-solution of standard; B-solution of immature *Calyx Kaki*; C-solution of *Calyx Kaki*; 1-gallic acid.

表 3 样品含量测定结果($n=3$)

Tab. 3 Results of content determination for *Calyx Kaki* and immature *Calyx Kaki* ($n=3$)

药材	批号	含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	平均值/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
柿蒂	Y1712022	0.073	
	Y1712023	0.074	0.07
	Y1712024	0.076	
未成熟	YP1708003	0.115	
	YP1708004	0.115	0.12
	YP1708005	0.119	

3 讨论

中国药典 2015 年版中规定柿蒂应为柿树科植物柿的干燥宿萼。冬季果实成熟时采摘, 食用时收集, 洗净, 晒干。但是目前市场上销售的柿蒂中, 较多柿蒂形状上花萼隆起呈帽状, 裂片多上收, 为不成熟柿的萼片。两者采收季节不同, 成熟度不同, 性状差别较大, 但是部分地区使用却经常不加以区分。

本研究主要从药典鉴别项入手, 从基本的显微、薄层对两者进行鉴别。结果表明, 两者粉末中组织结构大体一致, 其中石细胞区别大, 具体

表现：柿蒂石细胞长条形、类方形、类三角形或不规则形，壁厚，孔沟极细密，胞腔较小；不成熟柿蒂石细胞长条形或不规则形，壁薄，孔沟细密，胞腔较大，纹孔可见。可见两者的粉末显微鉴别中，石细胞的形状、孔沟及胞腔特征区别较为明显，因此石细胞显微特征可作为鉴别柿蒂是否成熟的依据，同时这在其他柿蒂伪品中也可作为鉴别依据^[3]。薄层鉴别表明，以没食子酸为对照品，未成熟柿蒂药材在与对照品相同位置所显示的斑点较柿蒂更为清晰，提示未成熟柿蒂中没食子酸的含量高于柿蒂，因此考虑进一步用液相色谱法加以鉴别。参考相关文献测定柿蒂中没食子酸含量^[2]，实验过程中发现，柿蒂药材 0.4 g 称样量所呈现的峰面积离标准曲线最低峰面积较近，因此在本实验中通过增加称样量来提高数据的准确性，结果表明该方法重复性良好，回收率符合要求，数据准确可靠。在样品含量测定中，未成熟柿蒂中的没食子酸含量高于柿蒂，与本实验薄层鉴别结果一致。且与 2005 年文献^[4]报道的结果[平柿蒂(符合药典规定)中没食子酸含量明显低于帽柿蒂(不成熟柿蒂)]一致。同样与最新的研究报道(青柿蒂乙酸乙酯提取物中没食子酸含量要高于成熟干柿蒂提取物)^[5]相同，且乙酸乙酯提取物中的主要成分为芦丁、槲皮素、没食子酸、儿茶素等。

柿蒂药用历史悠久，主要分布在四川、广西、广东、山西、福建等地。研究表明，柿蒂富含多种活性物质和营养成分，具有降气止呃、抗氧化的功能^[6]，临床上用于治疗顽固性和手术后呃逆、反流性胃炎等病症^[7]。但是其药用价值与活性成分之间的关系至今研究还不够深入，周本宏等^[8]通过对所采集的 10 批柿蒂药材进行测定，建立了柿蒂的指纹图谱，共找出 15 个共有峰，通过与对照品比较，初步推断柿蒂指纹图谱中有没食子酸、金

丝桃苷、山柰酚、槲皮素和木犀草素等。因此没食子酸作为柿蒂的主要活性成分之一，与其药效存在一定联系。本研究发现，柿蒂在成熟过程中，没食子酸的含量在发生相应的变化，其他活性成分是否也同样发生变化，还需要进一步实验证明。

由于柿蒂药用历史悠久，而市场上又多有掺伪和混用现象，因此本研究将柿蒂及其未成熟品从性状、显微、薄层和液相色谱法上加以鉴别，发现其性状、显微石细胞特征、薄层鉴别没食子酸的色谱特征以及液相鉴别没食子酸的含量差异等，在一定程度上可作为两者的有效鉴别依据，但两者是否真有药用差别，尚待进一步系统的药理学研究。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 250.
- [2] HUANG W P, HUANG L Q, SONG Y G, et al. Comparing the determination of gallic acid in *Diospyros kaki* Thunb. from different areas [J]. J Jiangxi Univ TCM(江西中医药大学学报), 2014, 26(3): 58-59, 62.
- [3] 邢协望. 柿蒂及其伪品油柿蒂的鉴定[J]. 湖南中医学院学报, 2001, 21(1): 29.
- [4] 王初, 胡晓炜, 宋旭峰, 等. 反相高效液相色谱法测定柿蒂中没食子酸的含量[J]. 医药导报, 2005, 24(8): 728-729.
- [5] DONG H S, LING M, LV S, et al. Antioxidant and antibacterial activity of green persimmon pedicle and ripe persimmon pedicle extractive [J]. Food Sci Technol(食品科技), 2017, 42(3): 232-237.
- [6] ZHOU B H, WEI Y, ZHANG C X, et al. Study on antioxidant activity of total tannins from Persimmon calyx [J]. J Guangdong Pharm Coll(广东药学院学报), 2010, 26(6): 599-601.
- [7] 乔玉萍, 柯新, 张会证. 大剂量柿蒂煎汤口服治疗顽固性呃逆疗效观察[J]. 中医药学报, 1999, 27(5): 27.
- [8] ZHOU B H, SHEN H, WEI Y, et al. Study on chromatographic fingerprint in Persimmon Calyx by HPLC [J]. J Guangdong Pharm Coll(广东药学院学报), 2011, 27(2): 147-150.

收稿日期: 2018-01-16

(本文责编: 李艳芳)