

不同来源和不同生长发育时期甘松成分的动态变化

冯海生¹, 张宇霞^{1,2}, 王文义³, 赵丽娟³, 李彩霞¹, 马世震^{1*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所/中国科学院藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 青海省大通县宝库林场, 青海 大通 810102)

摘要 目的: 研究甘松生长发育规律, 测定不同来源和不同生长时期甘松药材有效成分的含量, 为获得优质、高产药材提供理论依据。方法: 定期观测三年生栽培甘松植株主要农艺性状和生物量的变化, 用水蒸气蒸馏法和高效液相色谱法等测定栽培甘松不同生长发育时期和不同来源甘松药材的挥发油、甘松新酮等含量。结果: 不同生长时期甘松中生物量及药材中挥发油、甘松新酮、浸出物、总灰分和酸不溶性灰分含量存在一定的差异, 且成分的峰值不在同一时期; 不同来源甘松药材上述成分的含量也有显著差异。结论: 栽培甘松有效成分总量的最大值出现在 9 月底, 可为确定适宜采收期提供参考; 不同来源甘松药材质量有差异。

关键词 甘松; 生长发育; 成分分析; 质量评价; 采收期

中图分类号: R282.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2015)11-2266-03

DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.11.007

甘松 *Nardostachys jatamansi* DC. 为败酱科甘松属多年生草本植物, 分布于青海、四川、甘肃和西藏等省区, 主要生长在海拔 3 200 ~ 3 800 m 的高山草原和高寒草甸地区, 以其根及根茎入药, 是一种传统的中藏药材。具有理气止痛、开郁醒脾等功效^[1]。笔者在进行甘松规范化种植技术研究的同时, 曾对甘松的挥发油及浸出物进行测定^[2]。为进一步客观、有效地评价不同采收期及不同来源甘松药材的质量, 本研究对其主要成分挥发油、甘松新酮、浸出物、总灰分和酸不溶性灰分含量进行测定, 以期获得优质、高产甘松药材提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料与方法 1~5 批栽培甘松来自青海省大通县宝库药材基地, 为三年生, 海拔为 2 900 m, 引种种源为青海省玉树藏族自治州巴塘乡野生种源, 栽培种源为第二代自繁种源; 第 6 批甘松于 2013 年 9 月购自青海省西宁市八一路药材市场; 第 7 批野生甘松来自青海省玉树藏族自治州巴塘乡, 2013 年 9 月份采集, 海拔为 3 800 m; 第 8 批甘松于 2014 年 6 月购自甘肃省陇西县文峰药材市场。本文所用样品均经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰教授鉴定为甘松 *Nardostachys jatamansi* DC.。主要农艺性状和生物量的测定以 1~5 批三年生栽培甘松为材料, 有效成分的测定以甘松的根和根茎为材料。2014 年 5~9 月每月中旬采集, 每次 50 株, 采回的甘松洗净泥土, 凉干表面水分, 记录其鲜质量及长度数据, 45℃下烘干, 称重, 粉碎待试。

1.2 仪器 美国 Waters 515 型高效液相色谱仪, 包括溶剂管理系统, 二极管阵列检测器, Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司); KQ100 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 挥发油提取器(上海玻璃仪器厂); MH-1000 型调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司); ESJ182-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司); 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Phenomenex Synergi 4μHydro-RP 80A(250 mm × 4.6 mm, 4 μm), HPLC-PCartridge Lichrospher 100 RP-180(5 μm); FZ102 型植物粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.3 药品 甘松新酮对照品(成都曼斯特生物科技有限公司, 批号: MUST-13090901)。甲醇(色谱纯, 山东禹王实业有限公司化工分公司), 超纯水为实验室自制, 乙醇、甲醇、正丁醇均为分析纯(天津市百世化工有限公司)。

1.4 数据处理 本研究采用水蒸气蒸馏法测定挥发油含量, 高效液相色谱法测定甘松新酮含量, 热浸法、50%乙醇作溶剂测定浸出物的含量。采用 SPSS 17.0 软件对有效成分和甘松生物量等进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 三年生栽培甘松主要农艺性状的动态变化 对甘松主要农艺性状进行了观测, 其结果见表 1。5 月 17 日测定地上长度为(6.08 ± 1.17) cm, 随着气温的逐渐升高, 植株迅速生长, 至 9 月 13 日为

收稿日期: 2015-03-30

基金项目: 中国科学院藏药研究重点实验室重点项目(Y342910Z1)

作者简介: 冯海生(1961-), 男, 副研究员, 主要从事药材 GAP 与药材质量标准研究工作; Tel: 13007799360, E-mail: hsfeng@nwipb.cas.cn。

* 通讯作者: 马世震, Tel: 13709763487, E-mail: szma@nwipb.cas.cn。

(12.87 ± 3.74) cm, 增加了 6.79 cm, 差异极显著 ($P < 0.01$); 地下长度 5 月 17 日为 (9.15 ± 2.41) cm, 至 9 月 13 日为 (11.97 ± 2.17) cm, 增加了 2.82 cm, 差异极显著 ($P < 0.05$)。根平均粗度 5 月 17 日为 (2.59 ± 0.91) mm, 至 9 月 13 日为 (6.62 ± 1.80) mm, 增加了 4.03 mm, 差异极显著 ($P < 0.01$); 根冠比由最初的 1.50:1 降至 0.93:1; 甘松的根为直根系, 到后期 (9 月 13 日) 又长出部分侧根, 交结或分

枝, 且须根较多。

甘松植株由数丛组成, 一般为 1~4 丛, 个别的有 6~8 丛, 丛数的变化差异不显著; 每丛由 6~8 片叶组成, 有的 9~12 片叶; 单株叶片最短的 2.1 cm, 最长的 16.5 cm, 最窄的 0.7 cm, 最宽的 1.8 cm, 以中间向外的叶片叶面积最大, 内侧叶面积最小, 叶片窄线状倒披针形或倒长披针形。

表 1 三年生栽培甘松主要农艺性状的动态变化 ($\bar{x} \pm s$)

测定日期	地上长度/cm	地下长度/cm	丛数/个	根粗度/mm	根冠比
5 月 17 日	6.08 ± 1.17 ^{ed}	9.15 ± 2.41 ^{eb}	2.79 ± 1.84	2.59 ± 0.91 ^{ec}	1.50:1
6 月 15 日	8.25 ± 2.24 ^{dc}	9.24 ± 2.00 ^{eb}	2.75 ± 1.86	3.21 ± 0.70 ^{ec}	1.12:1
7 月 17 日	10.08 ± 2.42 ^{eb}	10.46 ± 2.82 ^{bb}	3.20 ± 2.02	4.27 ± 1.01 ^{bb}	1.04:1
8 月 15 日	11.18 ± 2.94 ^{bb}	11.15 ± 3.87 ^{abAB}	3.35 ± 1.57	6.10 ± 1.22 ^{aa}	1:1
9 月 13 日	12.87 ± 3.74 ^{aa}	11.97 ± 2.17 ^{aa}	3.27 ± 1.88	6.62 ± 1.80 ^{aa}	0.93:1
F 值	49.40	9.94	0.47	43.08	

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)

2.2 三年生栽培甘松生物量的动态变化 甘松单株鲜质量最初为 (2.80 ± 2.46) g (5 月 17 日), 随着气温不断升高, 植株快速生长, 尤其在 7 月份以后增长明显, 达 (6.70 ± 5.14) g (7 月 17 日), 增加了 3.9 g, 比 5 月份增加 2.39 倍, 至 9 月 13 日已达 (11.57 ± 7.62) g, 增加 4.13 倍, 呈“慢-快-快”的生长趋势, 且差异极显著 ($P < 0.01$), 单株最大鲜质量是 37.64g。地上鲜质量 (1.27 ± 1.23) g (5 月 17 日) 至 (6.35 ± 4.61) g (9 月 13 日) 增加了 5 倍, 差异极显

著 ($P < 0.01$); 地下鲜质量 (1.01 ± 0.79) g (5 月 17 日) 至 (5.58 ± 3.89) g (9 月 13 日) 增加了 5.52 倍, 差异极显著 ($P < 0.01$); 地上鲜质量平均值高于地下鲜质量, 个别植株高 1~2 倍, 但有的植株地下鲜质量接近或高于地上鲜质量, 个体之间的差异较大。甘松是以根和根茎作为收获对象, 其地下干质量 (0.44 ± 0.35) g (5 月 17 日) 至 (1.99 ± 1.31) g (9 月 13 日) 增加 4.52 倍, 差异极显著 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 三年生栽培甘松生物量的动态变化 ($\bar{x} \pm s$)

测定日期	单株鲜质量/g	地上鲜质量/g	地下鲜质量/g	鲜干比(地上)	地上干质量/g	地下干质量/g	鲜干比(地下)
5 月 17 日	2.80 ± 2.46 ^{ec}	1.27 ± 1.23 ^{ec}	1.01 ± 0.79 ^{ec}	2.89:1	0.44 ± 0.39 ^{ec}	0.44 ± 0.35 ^{ec}	2.30:1
6 月 15 日	3.40 ± 3.10 ^{ec}	2.00 ± 2.03 ^{ec}	1.46 ± 1.17 ^{ec}	3.03:1	0.66 ± 0.74 ^{ec}	0.48 ± 0.37 ^{ec}	3.04:1
7 月 17 日	6.70 ± 5.14 ^{bb}	4.40 ± 3.53 ^{bb}	2.61 ± 2.14 ^{bBC}	3.46:1	1.27 ± 1.08 ^{bb}	0.87 ± 0.73 ^{bBC}	3:1
8 月 15 日	7.38 ± 4.10 ^{bb}	4.71 ± 2.76 ^{abAB}	2.67 ± 1.44 ^{bb}	3.12:1	1.51 ± 0.96 ^{abBC}	0.92 ± 0.64 ^{bb}	2.90:1
9 月 13 日	11.57 ± 7.62 ^{aa}	6.35 ± 4.61 ^{aa}	5.58 ± 3.89 ^{aa}	3.49:1	1.82 ± 1.38 ^{aa}	1.99 ± 1.31 ^{aa}	2.80:1
F 值	26.62	23.39	33.35		17.90	33.39	

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)

2.3 甘松药材有效成分的变化 不同采收期及不同来源的甘松药材各成分指标的测定结果见表 3。称取甘松药材样品粉末约 10 g, 按照 2010 年版中国药典一部附录 X D 甲法测定挥发油含量。结果测得玉树野生甘松含量最高, 为 5.23 mL/g; 三年生甘松一年中挥发油含量波动较大, 5 月份至 7 月份期间挥发油含量逐渐增加, 7 月份达到峰值 4.98 mL/g, 8 月份期间呈下降趋势, 而在 9 月份时挥发油含量又增加, 为 3.64 mL/g。不同采收期和不同来源甘松药材挥发油含量差异显著 ($P < 0.05$)。

为 18.35、16.96、11.20 mg/g, 差异显著 ($P < 0.05$)。栽培甘松药材甘松新酮含量呈“高-低-高”变化。甘松新酮为挥发性成分, 但其含量动态变化趋势却与挥发油差异很大, 三年生栽培甘松药材甘松新酮在 7 月份时含量最低, 而在 9 月份时急剧增加, 含量高达 19.36 mg/g, 高于市售和野生甘松药材的含量, 与市售差异显著 ($P < 0.05$), 与玉树野生差异不显著。

玉树野生及市售甘松药材甘松新酮的含量分别

浸出物含量最高的是三年生栽培甘松药材 6 月份样品, 含量为 33.44 mg/g, 野生及市售样品含量均较低。不同采收期及不同来源甘松药材的浸出物

表 3 甘松药材成分的含量($\bar{x} \pm s$ $n=3$)

药材样品	挥发油/(mL/g)	甘松新酮/(mg/g)	浸出物/(mg/g)	总灰分/%	酸不溶性灰分/%
三年生栽培(5月)	1.99 ± 0.01 ^g	16.74 ± 1.69 ^b	27.38 ± 0.14 ^c	10.57 ± 0.05 ^e	5.4 ± 0.25 ^e
三年生栽培(6月)	3.30 ± 0.06 ^e	16.18 ± 0.02 ^{bc}	33.44 ± 0.42 ^a	12.52 ± 0.08 ^d	6.68 ± 0.02 ^d
三年生栽培(7月)	4.98 ± 0.01 ^b	14.91 ± 0.04 ^c	25.94 ± 0.05 ^d	15.70 ± 0.05 ^b	10.14 ± 0.01 ^b
三年生栽培(8月)	2.98 ± 0.01 ^f	15.22 ± 0.23 ^c	27.35 ± 0.27 ^{cd}	13.41 ± 0.08 ^e	7.01 ± 0.09 ^e
三年生栽培(9月)	3.64 ± 0.01 ^d	19.36 ± 0.30 ^a	30.71 ± 1.16 ^b	8.87 ± 0.13 ^f	5.45 ± 0.04 ^e
西宁市售	3.49 ± 0.01 ^d	11.20 ± 0.14 ^d	21.05 ± 0.05 ^e	17.47 ± 0.11 ^a	12.69 ± 0.35 ^a
玉树野生	5.23 ± 0.25 ^a	18.35 ± 0.36 ^a	21.69 ± 0.46 ^e	6.90 ± 0.86 ^e	2.50 ± 0.08 ^e
陇西市售	4.43 ± 0.06 ^c	16.96 ± 0.83 ^b	27.02 ± 1.88 ^{cd}	8.89 ± 0.26 ^f	5.04 ± 0.12 ^f
F 值	415.52	38.52	76.69	372.43	1164.23

注: 同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

含量变化范围较大,为 21.05 ~ 33.44 mg/g,且栽培的远大于野生和市售的含量,差异显著($P < 0.05$),这可能与不同地理条件、气候、不同采收期等因素有关。总灰分、酸不溶性灰分以西宁市售甘松药材为最高,分别为 17.47% 和 12.69%;不同采收期的三年生栽培甘松药材总灰分和酸不溶性灰分含量变化呈抛物线型,5 月份最低,之后呈上升趋势,7 月份最高,之后又下降,到 9 月份最低,差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 药材的品质与其采收期密切相关,所以在了解 and 掌握药材生物量和活性成分动态变化的基础上,确定药材的适宜采收期非常必要。药材适宜采收期确立的基本原则是质量最优和产量最大化^[3]。生物量以地下干质量计。从不同的采收期三年生栽培甘松中生物量、挥发油、甘松新酮和浸出物测定结果得出,四者的变化趋势相差较大,且峰值不在同一时期。综合分析栽培甘松挥发油、甘松新酮和浸出物总量(有效成分总量 = 地下干质量 × 化学成分含量)动态变化,其最大值都在 9 月底,可为确定适宜采收期提供参考。本文根据甘松有效成分总量得出在青海大通县其适宜采收期为 9 月份,这也符合传统采收时期。但该时期的挥发油含量并不是最高值。对特定产区的道地药材,了解其药用部位的有

效成分含量在不同时期的高低变化,明确其最佳采收时间,这对药材生产是非常必要和有利的。药典中记载甘松的药用部位为根及根茎,但市场上流通的大多为全草,全草是否可以完全代替地下部分入药,或者用地上部分来代替地下部分入药,以便更加充分合理的利用药材资源,还需进一步研究。

3.2 药用植物有效成分多为植物的次生代谢产物,而次生代谢产物的产生与环境有密切关系。外界生态环境条件的不同,会导致相同品种药用植物次生代谢过程的变化,从而影响同一品种药材的内在质量。从本研究可以看出,不同来源的甘松其有效成分存在很大的差异,这种差异可能是由于品种、生长年限、气候因素、生产栽培技术等因素引起。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 79-80.
- [2] 张宇霞, 马世震, 冯海生. 不同产地甘松挥发油及浸出物的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 318-319.
- [3] 段金彪, 严辉, 宿树兰, 等. 药材适宜采收期综合评价模式的建立与实践[J]. 中草药, 2010, 41(11): 1755-1760.