

西红花主要活性成分含量变异规律

施林妹¹, 徐象华², 朱波^{2*}, 潘永年²

(1. 丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000; 2. 丽水市农业科学研究院, 浙江 丽水 323000)

[摘要] **目的:**提示西红花中主要活性成分的变异规律。**方法:**采用高效液相色谱法测定西红花苷含量,并分析了产地、施肥方式、采收时间、遮覆方式、叶形态特征、产量性状与西红花苷含量的关系。**结果:**不同产地种源、施肥方式、遮覆方式的西红花中西红花苷含量存在显著差异($P < 0.05$),西红花苷含量与柱头重、种球重、叶片数、叶长呈负相关性,与采收时间没有显著的关系。**结论:**西红花主要活性成分含量存在一定的变异规律,覆草不遮阴、配合施用有机肥与无机肥有利于西红花苷含量积累,针对产量筛选优良品系时,应优先考虑在叶较长、叶片少的品系中选择,本文的研究为西红花优质栽培与优良品系筛选提供了依据。

[关键词] 西红花; 西红花苷; 变异规律

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0113-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130113

Variation of Main Active Ingredient Contents in *Crocus sativus*

SHI Lin-mei¹, XU Xiang-hua², ZHU Bo^{2*}, PAN Yong-nian²

(1. Lishui Vocational & Technical College, Lishui 323000, China;

2. Lishui Academy of Agricultural Sciences, Lishui 323000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the variation of the main active ingredient contents in *Crocus sativus*. **Method:** The crocin contents in *C. sativus* were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), after which the relationships between contents and origins, fertilization mode, picking time, covering methods, morphological character of leaves, yield character were studied. **Result:** It showed that there was an obviously difference between contents in *C. sativus* from different origins, fertilization mode and covering methods. Besides, there was a negative correlation between contents and weight of stigma and seed, number and length of leaves. The picking time had no obvious correlation with contents. Thus it was found that covering grass with no shade and cooperation application of organic and inorganic fertilizer could improve the crocin contents. Thus, to select high yield line in *C. sativus*, priority should be given to the line with longer and less leaves. **Conclusion:** The study has laid a foundation for high quality cultivation and superior line selection in *C. sativus*.

[Key words] *Crocus sativus*; crocin contents; variation

西红花又名藏红花、番红花,具有养血、通经活血、生新化瘀等功效,是治疗心、脑血管及妇科疾病的良药^[1-2]。西红花苷 I 和西红花苷 II 是西红花药

材的主要活性成分,具有凉血解毒,解郁安神,提高免疫力,抗动脉硬化,降低血液黏稠度,降血脂等功效^[3-6]。目前,国内外报道西红花研究主要在栽培技术^[7-8]、活性成分含量测定^[9-10]与药理研究^[11-13]等方面,少量报道^[14-15]涉及了单因素指标与活性成分含量关系。但上述报道均只停留在单一变量上,综合评价形态特征、产量性状、栽培方式等多因素与西红花苷含量积累关系并揭示其规律的文献尚未见报道。本文研究不同产地种源、施肥方式、采收时间、遮覆方式、叶形态特征与西红花主要活性成分含量

[收稿日期] 20130704(007)

[基金项目] 浙江省公益性技术应用项目(2011C22089)

[第一作者] 施林妹,教授,从事中药材化学成分分析研究,
E-mail:shilinmei2004@126.com

[通讯作者] *朱波,博士,从事中药材育种、化学分析研究,
E-mail:aurora0119@163.com

的关系,揭示西红花苷含量的变异规律,为西红花优质栽培与优良品系筛选提供依据。

1 材料

2011 年 6 月收集浙江建德、青田、江苏海门、上海南汇 4 个产地西红花资源,其中,产地试验组种球为原产地直接取样,其他试验组种球统一购买于丽水市中药材交易市场,经浙江农林大学斯金平教授鉴定为西红花 *Crocus sativus* L.,同年 11 月全部种植于丽水职业技术学院中药材基地。

1525 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),SWB5200 型超声清洗机(上海必能信超声有限公司),Milli-QAcademic 型超纯水仪(美国 MilliPore 公司),FA1104 型分析天平(上海天平仪器厂),冲压成型电子台秤(无锡鼎恒计量衡器有限公司),AR-813A 型照度计(上海申雨洋实业有限公司),DHG-9240 型电热鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),TPJ-21 型土壤温度记录仪(北京合众博普公司)。西红花苷 I 和西红花苷 II 对照品(批号分别为 Must-11071108, Must-11091002,成都曼斯特生物科技有限公司),水为去离子水,其他试剂为分析纯。

2 方法

2.1 施肥方式设计 按照纯氮肥总量 $750 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 设计,基肥施用量为总量的 60%,追肥为总量的 40%,追肥共 3 次,分别于 2012 年 1 月 5 日、2 月 5 日与 3 月 5 日进行。各处理组中,有机肥基肥为油菜饼肥,追肥为人尿,无机肥基肥与追肥均为尿素,CK 为 45% 硫酸钾复合肥(N-P-K 15% : 15% : 15%),详见表 1。

表 1 不同施肥方式肥料配比设计 $\text{kg} \cdot \text{km}^{-2}$

施肥方式	基肥(60%)	追肥(40%)		
		第 1 次	第 2 次	第 3 次
无机肥	450	105	90	105
有机肥 p	450	105	90	105
无机肥 + 有机肥	225 + 225	52.5 + 52.5	45 + 45	52.5 + 52.5
CK	450	105	90	105

2.2 遮覆方式、产量性状、叶形态特征与采收时间 遮覆试验分 4 个处理,分别为遮阴、覆草、遮阴 + 覆草、CK,遮阴采用双层遮阳网,覆草为干燥稻草。选取 3 月份为温度测量月,随机选取 5 个天气良好日,从早上 7 点到晚上 7 点每隔 2 h 测量土层温度与光照强度。

统计海门、南汇、建德、青田 4 个产地种球叶片

数,用直尺测量叶长,电子台称称量种球鲜质量,电子分析天平称量花柱上部与柱头干质量。采收时间分别为 2012 年 4 月 18 日,4 月 26 日,5 月 4 日。各试验组采收后置于室内,待花开后采花柱上部与柱头^[3],烘干待测。

2.3 西红花苷含量测定

2.3.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(45:55),流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 440 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL,采用等梯度洗脱程序,时间 35 min。

2.3.2 对照品溶液的配制 精密称取对照品西红花苷 I 和西红花苷 II,置于 25 mL 棕色量瓶中,用 50% 乙醇溶解并稀释至刻度,得 $0.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 西红花苷 I 和 $0.70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 西红花苷 II 对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的配制 取本品粉末约 10 mg,置 25 mL 棕色量瓶中,加 50% 乙醇适量,30 °C 超声处理 30 min,放至室温,加 50% 乙醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔膜滤过,即得。

2.3.4 标准曲线与线性关系的考察 分别取对照品西红花苷 I ($0.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 与西红花苷 II ($0.70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),移取 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 置于 10 mL 棕色量瓶中,加 50% 乙醇稀释,在 2.3.1 色谱条件下测定。以西红花苷 I 和西红花苷 II 对照品溶液的质量浓度为纵坐标 Y,峰面积为横坐标 X 绘制标准曲线。计算得西红花苷 I 和西红花苷 II 线性范围分别为 $9.6 \sim 96, 2.8 \sim 28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,回归方程及相关系数分别为 $Y = 63.22X + 56.13 (r = 0.9999)$, $Y = 74.73X + 13.57 (r = 0.9999)$ 。

2.3.5 精密度试验 取同一对照品,在 2.3.1 色谱条件下连续进样 5 次,测得西红花苷 I 的色谱峰面积 RSD 0.23%,西红花苷 II 的色谱峰面积 RSD 1.06%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取同一样品 5 份,按 2.3.3 供试品溶液的制备操作,2.3.1 的色谱条件测定含量。西红花苷 I 的平均含量为 13.38%,平均 RSD 1.89%,西红花苷 II 的平均含量为 4.58%,平均 RSD 3.61%,试验重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取某样品制备供试品溶液,置于室温避光保存,分别置于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 进样,测定峰面积,计算得西红花苷 I 和西红花苷 II 峰面积的 RSD 分别为 0.74%, 2.06%,表明供试品溶液室温保存 24 h 内稳定。

2.3.8 加样回收率试验 取某已知含量样品 9 份,

各 5.00 mg,精密称定,分高、中、低 3 组,每组 3 个,分别加入西红花苷 I ($0.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 对照品溶液 0.85, 0.71, 0.57 mL, 质量浓度分别为 0.032 6, 0.027 3, 0.021 9 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 加入西红花苷 II ($0.70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 对照品溶液 0.49, 0.41, 0.33 mL, 质量浓度分别为 0.013 7, 0.011 5, 0.009 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 按照 2.3.3 供试品溶液的制备操作, 制成所需溶液, 依照 2.3.1 的色谱条件, 进样测定, 计算回收率。结果西红花苷 I 的平均回收率为 103.0%, RSD 2.47%, 西红花苷 II 的平均回收率为 103.6%, RSD 2.19%。

3 结果与分析

3.1 不同产地种源西红花主要活性成分含量差异

4 个产地供试西红花总苷平均质量分数为 18.42%, 达到 2010 年版《中国药典》不得低于 10% 的要求^[3]。不同产地种源间比较发现西红花总苷含量存在显著差异, 其中青田产西红花总苷质量分数最高, 达 19.47%, 建德产西红花总苷质量分数最低, 为 17.30%, 西红花苷 I 与西红花苷 II 含量各产地间无显著差异, 详见表 2。

表 2 不同产地种源西红花主要活性成分质量分数比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

产地	西红花苷 I	西红花苷 II	总苷
海门	13.90 ± 0.78	4.80 ± 0.36	18.70 ± 0.56ab
南汇	13.53 ± 1.01	4.67 ± 0.31	18.20 ± 1.11ab
建德	12.97 ± 0.40	4.33 ± 0.23	17.30 ± 0.56b
青田	14.50 ± 0.10	4.97 ± 0.06	19.47 ± 0.06a
平均值	13.73	4.69	18.42

注: 同列不同字母表示存在显著差异 $P < 0.05$ (表 3~4, 6 同)。

3.2 施肥方式、采收时间与西红花主要活性成分含量的关系 不同施肥方式处理下, 西红花苷 I、西红花苷 II 与总苷质量分数均存在显著差异, 其中无机肥 + 有机肥处理组西红花苷 I、西红花苷 II 与总苷质量分数最高, 分别为 13.07%, 4.53%, 17.60%, 均显著高于对照。有机肥处理组西红花苷 I、西红花苷 II 与总苷质量分数最低, 仅为 11.40%, 3.77%, 15.17%, 详见表 3。结果表明施肥方式显著影响供试西红花主要活性成分含量积累, 单一施用有机肥或无机肥难以满足西红花高活性成分含量栽培要求, 配合施用无机肥与有机肥有利于西红花主要活性成分积累。

西红花采收时间应视试验地具体气候条件而定。本试验地海拔 80 m, 属典型亚热带季风气候, 年平均气温 17.8 °C, 采收时间与西红花苷含量不存在显著相关性(表 4), 从西红花苷含量看, 试验地所

在地区西红花采收在 4 月中下旬至 5 月上旬均可。

3.3 不同遮覆方式下西红花主要活性成分含量变化 中药材有效成分的生物合成、积累及保持易受到光照强度、水、温度等栽培条件的影响^[16-17]。不同遮覆处理组土层温度与光照强度存在差异(表 5), 不遮阴处理平均光照强度为 $376.1 \times 100 \text{ Lux}$, 遮阴处理平均光照强度为 $188.9 \times 100 \text{ Lux}$, 覆草与遮阴处理降温效果明显, -10 cm 土层最低温仅为 14.9 °C。温度与光照强度显著影响西红花主要活性成分积累, 试验组西红花苷质量分数均高于 CK 组, 覆草处理组西红花总苷质量分数最高, 达 16.54%, CK 组最低, 仅为 15.60%, 详见表 6。从遮覆试验看, 覆草但不遮阴处理能较好满足西红花高活性成分含量栽培需求。

表 3 施肥方式对西红花主要活性成分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

施肥方式	西红花苷 I	西红花苷 II	总苷
无机肥	12.63 ± 0.71ab	4.10 ± 0.26ab	16.73 ± 0.97ab
有机肥	11.40 ± 0.98b	3.77 ± 0.38b	15.17 ± 1.36b
无机肥 + 有机肥	13.07 ± 0.31a	4.53 ± 0.15a	17.60 ± 0.46a
CK	12.30 ± 0.17ab	4.33 ± 0.06ab	16.63 ± 0.23ab
平均值	12.35	4.18	16.53

表 4 采收时间与西红花苷含量的关系 ($\bar{x} \pm s, n=5$) %

采收时间	西红花苷 I	西红花苷 II	总苷
4 月 18 日	12.03 ± 0.15	4.07 ± 0.06	16.10 ± 0.10
4 月 26 日	12.30 ± 0.20	3.97 ± 0.06	16.27 ± 0.15
5 月 4 日	11.83 ± 0.47	4.03 ± 0.21	15.87 ± 0.67
平均值	12.05	4.02	16.08

表 5 各遮覆处理组土层温度与光照强度对比

遮覆方式	温度/°C						光照 ×100/Lux
	地表	-2 cm	-4 cm	-6 cm	-8 cm	-10 cm	
覆草	19.4	18.8	18.4	17.7	16.8	16.3	376.1
遮阴	19.0	18.6	18.1	17.3	16.8	16.5	188.9
覆草 + 遮阴	18.0	17.2	16.4	15.9	15.3	14.9	188.9
CK	21.8	21.4	20.8	19.9	19.0	18.2	376.1

表 6 不同遮覆条件下西红花主要活性成分含量变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=4$) %

遮覆方式	西红花苷 I	西红花苷 II	总苷
覆草	12.40 ± 0.26	4.13 ± 0.15	16.54 ± 0.12a
遮阴	12.23 ± 0.50	4.27 ± 0.15	16.50 ± 0.44ab
覆草 + 遮阴	12.20 ± 0.10	4.20 ± 0.01	16.40 ± 0.10ab
CK	11.75 ± 0.45	3.84 ± 0.22	15.60 ± 0.54b
平均值	12.15	4.11	16.26

3.4 叶形态特征、产量性状与西红花苷含量的关系

西红花叶形态特征、产量性状与西红花苷含量存在一定相关性,柱头质量、种球质量、叶片数、叶长与西红花苷含量呈负相关性,叶长与柱头重呈显著正相关,西红花苷 I 含量与总苷含量呈极显著正相关,详见表 7。供试 4 个产地西红花总苷含量均较高(表 2),种球与柱头产量是影响供试产地西红花发展的主要瓶颈,叶片数与种球重呈负相关,由此可见,在上述产地选择优良西红花品系时,可优先在叶较长、叶片少的品系中挑选。

表 7 叶形态特征、产量性状与西红花苷含量相关性分析

指标	柱头质量	种球质量	叶片数	叶长	西红花苷 I	西红花苷 II	总苷
柱头质量	1						
种球质量	0.47	1					
叶片数	0.28	-0.62	1				
叶长	0.91 ¹⁾	0.35	0.16	1			
西红花苷 I	-0.85	-0.64	-0.2	-0.58	1		
西红花苷 II	-0.53	0	-0.75	-0.2	0.73	1	
总苷	-0.82	-0.6	-0.26	-0.53	1.00 ¹⁾	0.78	1

注:极显著相关¹⁾ $P < 0.01$ 。

4 结论与讨论

本研究表明,不同产地种源西红花主要活性成分含量存在显著差异,并存在一定遗传变异规律。西红花苷含量与遮覆方式、施肥方式显著相关,覆草不遮阴处理,配合施用有机肥与无机肥有利于西红花苷含量积累;与采收时间无显著相关性;与叶形态特征、种球与柱头产量存在一定相关性,与柱头质量、种球质量、叶片数、叶长呈负相关关系。因此,针对高西红花苷含量栽培,应采取覆草不遮阴处理,且配合施用有机肥与无机肥。在满足西红花苷含量要求的基础上,针对高产量西红花品系筛选,应优先考虑在叶较长、叶片少的品系中选择。

比较前人研究成果,本试验供试西红花总苷含量高于兰卫等^[10]的试验结果,主要原因可能是生长地气候特点、贮藏条件、加工方式等的差异。4 个产地西红花总苷含量均远高于药典规定标准,性状优良,可以产生优良西红花品系,这与赵淑娟等^[14]研究结果一致。本试验首次探讨了栽培方式对西红花主要活性成分含量的影响,针对高西红花苷含量确定了最佳遮覆方式与施肥方式,明确了叶形态特征、

产量性状与西红花苷含量的相关性,为西红花优质栽培与优良品系筛选提供了依据。

[参考文献]

[1] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范[S]. 2005年版. 杭州:浙江科学技术出版社,2006:273.

[2] 王玉英,林慧萍,李水福. 西红花的真伪优劣检定[J]. 中草药,2010,41(7):1194.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:367.

[4] 陈阳,杨婷,黄娟,等. 西红花苷和西红花酸在小鼠体内抗氧化活性对比研究[J]. 中国药理学通报,2010,26(2):248.

[5] 绪广林,钱之玉,任董. 西红花苷对培养的牛内皮细胞内钙的调节作用[J]. 中国药科大学学报,2002,33(5):445.

[6] 邓远雄,钱之玉,何丽华,等. 西红花酸对巨噬细胞源性泡沫细胞形成的影响[J]. 中国中药杂志,2011,36(10):1374.

[7] 许建平,龚凯,包士忠,等. 西红花高产栽培技术研究[J]. 上海农业学报,2003,19(2):94.

[8] 杨敬奎,王根法. 藏红花栽培技术[J]. 现代农业科技,2009(4):36.

[9] 何常明,谢晓梅,何美莲,等. 西红花中西红花苷 I 与西红花苷 II 含量测定方法的建立[J]. 药物分析杂志,2006,26(9):1270.

[10] 兰卫,陶宁. 新疆产西红花的质量评价[J]. 中草药,2012,43(2):380.

[11] 邓颖,郭志刚,曾兆麟,等. 藏红花的药理研究进展[J]. 中国中药杂志,2002,27(8):562.

[12] 孙创斌,刘艳霞,刘国清,等. 西红花苷的药理研究进展[J]. 西南国防医药,2011,21(8):914.

[13] 刘瑛,古天明,周红. 西红花苷类成分药理作用研究概况[J]. 成都大学学报,2008,27(1):16.

[14] 赵淑娟,张金家,裴卫忠,等. 西红花有效成分含量与球茎大小相关性分析[J]. 上海中医药大学学报,2011,25(3):95.

[15] 徐象华,施林妹,朱波,等. 不同产地西红花开花与有效成分含量研究[J]. 浙江农业科学,2012,4(12):1639.

[16] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2005.

[17] 萧凤回,郭巧生. 药用植物育种学[M]. 北京:中国林业出版社,2008:296.

[责任编辑 邹晓翠]