

川芎有效成分与土壤营养值相关性研究

银玲, 彭月, 陈鸿平, 刘荣, 赵梓辰, 刘友平*

(成都中医药大学药学院, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] **目的:**建立不同产地川芎药材品质与产地土壤因子的相关性, 确定影响川芎药材质量的主要因素。**方法:**采用 TFW-VII 型土壤养分·水分综合测定仪测定土壤样品中有机质、速效磷、速效钾及硝态氮等土壤营养值, 采用 SPSS 统计软件分析土壤营养值与川芎有效成分含量间的相关性。**结果:**相关性分析显示土壤速效钾与川芎有效成分相关性最大, 速效钾与川芎总荧光物质、藁苯内酯均呈极显著负相关, 而与洋川芎内酯呈极显著正相关。其次是有机质、土壤 pH、速效磷, 而硝态氮与所选有效成分均无显著相关性。**结论:**影响川芎有效成分的主要土壤因素是速效钾和有机质。同时通过分析还发现川芎有效成分之间、土壤营养值之间均存在一定的相关关系, 由此说明土壤养分对于川芎药材品质的影响并非单因素作用, 而是由协同作用来共同影响川芎药材品质。该结论可为川芎的合理栽培、管理提供理论依据。

[关键词] 川芎; 有效成分; 土壤; 相关性

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0121-05

[doi] 10.11653/syfy2013240121

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131011.1437.002.html>

[网络出版时间] 2013-10-11 14:37

Correlation between the Soil Nutrition Values and the Content of Effective Components in Rhizoma Ligusticum Chuanxiong

YIN Ling, PENG Yue, CHEN Hong-ping, LIU Rong, ZHAO Zi-chen, LIU You-ping*

(Department of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, the Breeding Base of State Key Laboratory of Resources System Research and Development Utilization of Chinese Herbal Medicines Co-constructional by the Ministry of Science and Technology of the PRC and Sichuan Province, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the correlation between the quality of Rhizoma Ligusticum Chuanxiong from different producing areas and soil factors, and find the main factors that influence the quality of Rhizoma Ligusticum chuanxiong. **Method:** TFW-VII soil nutrient and moisture tester was used to determine the content of organic matter, available P, available K and nitrate-nitrogen. SPSS statistical software was used to analyze the correlation between the soil nutrition values and the content of effective components in Rhizoma Ligusticum Chuanxiong. **Result:** The statistical results showed that the content of available K had obvious correlations with the content of effective components in Rhizoma Ligusticum Chuanxiong. The content of available K had a significant negative correlation with the content of total fluorescence materials and ligustilide, while it had a significant positive correlation with the content of senkyunolide. The second were organic matter, pH and available P, while the content of nitrate-nitrogen had no significant correlation with the effective components. **Conclusion:** The main soil factors to influence the content of effective components in Rhizoma Ligusticum Chuanxiong were available K and organic matter. The content of effective components had certain correlation with the soil nutrition

[收稿日期] 20121214(016)

[基金项目] 四川省科技支撑计划项目(2011SZ0068)

[第一作者] 银玲, 硕士研究生, 从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:13880634702, E-mail: yinling81819@163.com

[通讯作者] * 刘友平, 研究员, 博士生导师, 从事中药质量标准化及药效物质基础研究, Tel:028-61800158, E-mail: liuyou_ping@yeah.net

values, that is to say the soil nutrient influenced on the quality of Rhizoma Ligusticum Chuanxiong is not single factor function, but synergistic effect. This conclusion can provide theory support for reasonable cultivation and maintenance of Rhizoma Ligusticum Chuanxiong.

[Key words] Rhizoma Ligusticum Chuanxiong; effective components; soil; correlation

川芎是伞形科植物川芎的干燥根茎,具有活血行气、祛风止痛之功效,川芎主要含挥发油类、内酯类、酚酸类、生物碱类等多种有效成分^[1-4]。川芎中的有效成分如阿魏酸、内酯成分等均具有荧光特征,因此川芎总荧光物质的含量高低可直接反映川芎有效成分的高低,同时亦反映川芎药材的品质优劣。川芎内酯类成分属于苯酞衍生物,具有抑制血栓形成、抑菌、抗氧化、抗炎、解痉、镇定、平喘、增加脑血流量、减少脑血管阻力等多种药理活性^[5]。

川芎是古今有名的川产地道药材,历史道地产区为四川省都江堰市(灌县)金马河上游以西地区,20 世纪 70 年代后扩展到彭州、郫县、崇州、新都等地^[6]。为揭示生态环境要素对药材质量的影响,药材有效成分与生态环境要素相关性,本研究收集不同产地多批川芎药材样品及土壤样品,测定药材主要有效成分及土壤营养值,并分析有效成分含量及土壤营养成分的相关性,揭示影响川芎有效成分含量的主要因素,为川芎的合理栽培管理提供理论依据。

1 材料

岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(包括 SPD-20A 检测器,CTO-20A 柱温箱,SIL-20A 自动进样器,日本岛津公司),RF-5301 型荧光分光光度计(日本岛津公司),Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm,5 μm,大连依利特分析仪器有限公司),BP211D 型(1/10 万),BP121S 型(1/万)电子分析天平(德国 Sartorius 公司),TFW-VII 型土壤养分/水分综合测定仪(武汉市天联科教仪器有限公司)

1.2 试剂 藁苯内酯对照品(自制,经 HPLC 检测纯度 >98%)洋川芎内酯 A 对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 110629,经 HPLC 检测纯度 >98%),阿魏酸松柏酯对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 111024,经 HPLC 检测纯度 >98%),甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

1.3 样品 药材采自新老产地,共计 25 批,由于传统采挖时间的差异,彭山地区采样比其他地区提前一个月。所有川芎样品经成都中医药大学标本馆卢先明教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum*

chuanxiong Hort. 的根茎。土壤样品采自药材生长地,且与药材同时采集,共计 25 批。

2 方法与结果

2.1 川芎药材有效成分含量测定

2.1.1 内酯成分含量测定 采用反相高效液相色谱法同时测定川芎中洋川芎内酯、阿魏酸松柏酯、藁苯内酯的含量,结果见表 1。

2.1.2 总荧光物质含量测定 采用荧光分光光度法测定川芎中总荧光物质含量,在发射波长 λ_{EM} 为 450 nm,激发波长 λ_{EX} 为 323 nm 条件下测定荧光强度,计算总荧光物质含量,结果见表 1。

2.2 土壤样品养分测定

2.2.1 土壤有机质含量测定

2.2.1.1 标准溶液制备 取葡萄糖(C₆H₁₂O₆·H₂O,CP)1.736 g 于 100 mL 量瓶中,加水溶解后加 H₂SO₄1 mL,定容得 0.5% 碳标准溶液。分别取碳标准溶液 0,2,3 mL 于 3 个烧杯中,逐个加入 10 mL K₂Cr₂O₇ 溶液和 10 mL H₂SO₄ 摇匀,20 min 后各加入 10 mL 水,摇匀,静置,取上清液 7.5 mL 于 25 mL 量瓶中,加水定容,即得空白、检验、上限标准溶液。

2.2.1.2 供试品溶液制备 土壤有机质采用重铬酸钾容量法测定,称取风干土样 1 g 于烧杯中,加水 3 mL 摇匀,向烧杯中加入 10 mL K₂Cr₂O₇ 溶液和 10 mL H₂SO₄ 摇匀,20 min 后各加入 10 mL 水,摇匀,离心,取上清液 7.5 mL 于 25 mL 量瓶中,加水定容,即得。

2.2.1.3 上机操作 采用 TFW-VII 型土壤养分/水分综合测定仪记录数据,使用 620 nm 滤色片,用空白标准液调零,用检验、上限标准溶液校正仪器。然后放入样品溶液测定,记录数据,计算有机质含量,结果见表 2。

土壤有机质% = C × 1.724/m/1 000 × 100 × 1.32(表头读数)

2.2.2 土壤速效钾含量测定

2.2.2.1 标准溶液制备 称取 0.158 g KCl(AR,110 °C 烘 2 h)加水溶解,定容至 1 L 量瓶中,得 100(×10⁻⁶) K₂O 标准储备液,取该标准溶液稀释 2.5 倍,得 40(×10⁻⁶) 标准溶液。取标准溶液 0,5,10 mL 于 50 mL 锥形瓶中,加 1 mol NaNO₃ 溶液补足 10

表1 川芎有效成分含量测定

No.	产地	采集时间	洋川芎内酯 A /mg·g ⁻¹	阿魏酸松柏酯 /mg·g ⁻¹	藁苯内酯 /mg·g ⁻¹	3种内酯总 /mg·g ⁻¹	总荧光物质 /%
1	什邡市隐丰镇欢喜村	2012-05	7.558 8	3.310 2	70.728 2	81.597 3	4.096 3
2	什邡市隐丰镇杨寨村	2012-05	10.169 8	9.549 7	72.227 1	91.946 7	4.168 6
3	什邡市师古镇思源村	2012-05	9.521 4	6.539 3	73.686 4	89.747 1	4.308 2
4	彭州市葛仙山华南村	2012-05	8.858 4	8.967 1	59.404 7	77.230 1	3.602 0
5	彭州市敖平镇兴泉村	2012-05	5.732 1	5.879 0	69.179 9	80.791 0	4.027 1
6	彭州市敖平镇紫泉村	2012-05	7.685 1	4.490 4	70.560 9	82.736 4	4.053 5
7	彭州市敖平镇星河村	2012-05	7.850 7	6.434 9	64.832 1	79.117 8	3.756 7
8	彭州市红岩镇九田村	2012-05	9.122 5	6.097 6	64.749 5	79.969 6	3.807 2
9	新都区新繁镇李元村	2012-05	7.902 2	7.811 5	53.907 8	69.621 5	3.385 6
10	新都区新繁镇和平村	2012-05	7.028 3	7.985 8	52.207 6	67.221 7	3.088 3
11	新都区新民镇东林村	2012-05	5.951 0	5.651 8	51.651 0	63.253 8	2.957 2
12	新都区斑竹园莲塘社	2012-05	6.995 7	5.420 8	54.213 6	66.630 1	3.207 2
13	彭山县谢家镇石山村	2012-04	11.081 2	6.010 6	42.716 5	59.808 4	2.712 9
14	彭山县公义镇马林村	2012-04	10.041 7	3.251 7	45.935 9	59.229 3	2.855 2
15	彭山县凤鸣镇金镞村	2012-04	13.4298	5.603 8	48.199 8	67.233 4	2.852 9
16	彭山县谢家镇吴埝村2	2012-04	10.918 4	9.123 5	60.796 5	80.838 4	3.559 9
17	彭山县谢家镇吴埝村1	2012-04	10.687 4	4.694 5	50.364 0	65.745 9	2.856 5
18	彭山县灵石镇宝珠村	2012-04	8.213 3	5.274 9	41.171 5	54.659 7	2.497 2
19	都江堰柳街镇民安村	2012-05	4.625 4	4.141 8	53.417 0	62.184 2	3.237 6
20	都江堰柳街镇水月村	2012-05	6.085 8	8.708 2	65.092 5	79.886 5	4.362 8
21	都江堰沿江镇同乐村	2012-05	7.298 6	2.467 2	58.906 1	68.671 9	3.907 9
22	都江堰徐渡乡金羊村	2012-05	5.227 3	4.065 0	60.563 7	69.856 0	3.919 1
23	都江堰石羊镇皂角村	2012-05	6.412 0	5.286 5	65.696 9	77.395 5	4.009 8
24	都江堰徐渡 GAP 基地	2012-05	5.467 0	5.001 4	59.170 1	69.638 5	4.571 4
25	都江堰石羊镇同心村	2012-05	7.438 4	4.287 5	54.106 7	65.832 5	3.466 9

mL,再分别加入3%四苯硼钠2 mL,摇匀,放置5~10 min,得浊度为0,20,40($\times 10^{-6}$)的标准溶液。

2.2.2.2 供试品溶液制备 称取风干土样2 g于锥形瓶中,加入20 mL 1 mol NaNO₃溶液加塞,振摇1 min,放置20 min,再振摇1 min,立即过滤,即得。

2.2.2.3 上机操作 采用TFW-VII型土壤养分/水分综合测定仪记录数据,使用440 nm滤色片,用空白标准液调零,用检验、上限标准溶液校正仪器。取土壤滤液10 mL于50 mL锥形瓶中,加入3%四苯硼钠2 mL,摇匀,放置5~10 min,得供试品浑浊液,加入比色皿中测定浊度,计算速效钾含量,结果见表2。

$$\text{土壤速效钾 } K_2O(\times 10^{-6}) = \text{样品浊度} \times \text{液土比}$$

2.2.3 土壤速效磷含量测定

2.2.3.1 标准溶液制备 称取45℃烘干4~8 h

的KH₂PO₄(AR)0.219 7 g于烧杯中溶解,将溶液洗入500 mL量瓶中,加入5 mL H₂SO₄,定容摇匀即得100 $\times 10^{-6}$ 磷标准储备液,取该储备液2.5 mL于50 mL量瓶中,加水定容即得5($\times 10^{-6}$)磷标准溶液。

2.2.3.2 供试品溶液制备 称取风干土样5 g于200 mL锥形瓶中加入100 mL 0.5 mol NaHCO₃,加入少许活性炭,密塞振摇30 min,立即过滤即得。

2.2.3.3 显色剂配制 取蒸馏水约400 mL放入1 000 mL烧杯中,将烧杯浸在冷水中,缓缓注入H₂SO₄(AR)208.3 mL,并不断搅拌,冷却至室温;另取钼酸铵(AR)20 g溶于约60℃的200 mL蒸馏水中,冷却。将H₂SO₄溶液徐徐倒入钼酸铵溶液中,不断搅拌,再加入100 mL 0.5%酒石酸锑钾溶液,洗入1 000 mL量瓶定容,贮于棕色瓶中,即得硫酸钼

表 2 川芎产地土壤样品营养物质含量测定

No.	产地	有机质含量/%	速效磷/ $\times 10^{-6}$	速效钾/ $\times 10^{-6}$	硝态氮/ $\times 10^{-6}$	pH
1	什邡市隐丰镇欢喜村	2.37	69.64	185.68	0.50	5.31
2	什邡市隐丰镇杨寨村	2.15	79.94	159.75	0.40	5.13
3	什邡市师古镇思源村	2.14	59.86	180.21	0.60	5.23
4	彭州市葛仙山华南村	2.67	79.76	172.62	0.60	5.03
5	彭州市敖平镇兴泉村	1.80	59.89	178.95	0.60	5.31
6	彭州市敖平镇紫泉村	2.91	79.59	187.77	0.95	5.10
7	彭州市敖平镇星河村	2.14	49.71	165.26	0.50	5.39
8	彭州市红岩镇九田村	1.88	39.74	203.05	0.55	5.13
9	新都区新繁镇李元村	3.28	49.78	207.17	0.85	5.53
10	新都区新繁镇和平村	2.72	89.52	233.02	0.90	5.78
11	新都区新民镇东林村	2.41	79.32	331.70	0.45	5.79
12	新都区斑竹园莲塘社	2.43	39.69	243.25	3.75	5.34
13	彭山县谢家镇石山村	2.91	39.86	386.61	0.40	6.40
14	彭山县公义镇马林村	2.23	4.96	327.62	0.35	6.58
15	彭山县凤鸣镇金镞村	2.96	9.91	446.42	1.80	5.40
16	彭山县谢家镇吴埝村 2	3.03	29.93	307.39	0.40	5.95
17	彭山县谢家镇吴埝村 1	2.85	19.89	500.55	3.00	6.00
18	彭山县灵石镇宝珠村	4.00	69.81	453.75	0.40	5.37
19	都江堰柳街镇民安村	2.56	79.29	192.51	1.20	5.53
20	都江堰柳街镇水月村	2.85	69.55	200.66	3.44	5.85
21	都江堰沿江镇同乐村	2.85	49.84	152.68	1.35	5.77
22	都江堰徐渡乡金羊村	2.44	29.78	171.72	0.90	6.37
23	都江堰石羊镇皂角村	3.06	14.85	117.57	0.70	5.53
24	都江堰徐渡 GAP 基地	2.60	80.39	220.42	3.95	5.27
25	都江堰石羊镇同心村	2.82	29.99	230.37	2.05	4.43

锑储存液。使用前于 100 mL 硫酸钼锑储存液中加入抗坏血酸 1.5 g, 搅拌即得显色剂。

2.2.3.4 标准液及供试液显色 取 $5(\times 10^{-6})$ 磷标准溶液 0, 3, 5 mL 于 3 个 50 mL 量瓶中加 0.5 mol NaHCO 补足 10 mL, 同时取 10 mL 土壤滤液于 50 mL 量瓶中, 然后对上述 4 个量瓶逐个加入显色剂 5 mL, 摇匀, 排出 CO₂ 后加水定容, 摇匀显色 30 min, 上机操作即可。

2.2.3.5 上机操作 采用 TFW-VII 型土壤养分/水分综合测定仪记录数据, 使用 650 nm 滤色片, 用空白标准液调零, 用检验、上限标准溶液校正仪器。取供试品显色液倒入比色皿中, 放入比色槽, 记录表头数据, 计算速效磷含量, 结果见表 2。

$$\text{土壤速效磷 } P(\times 10^{-6}) = \text{表头读数} \times 100/5 \times 50/10$$

2.2.4 土壤硝态氮含量测定

2.2.4.1 还原粉及显色剂配制 称取锌粉 0.5 g 与 2.5 g 硫酸锰(MnSO₄·H₂O)混合, 再取 25 g 酒石酸颗粒磨细, 将三者混合均匀即的还原粉。称取 0.05 g α -萘胺溶于 20 mL 蒸馏水中, 煮沸数分钟, 再将 0.5 g 对

氨基苯磺酸溶于 50 mL 20% 醋酸中, 稍加热溶解, 将两者合并, 加蒸馏水至 100 mL, 即得显色剂溶液。

2.2.4.2 标准溶液制备 称取烘干过的硝酸钾 0.360 9 g(105 °C 烘 2 h), 溶于 2% 醋酸中, 定容至 500 mL, 即含 NO₃-N100($\times 10^{-6}$)。

2.2.4.3 供试品溶液制备 称取风干土样 5 g 于 50 mL 锥形瓶中, 加入 2% 醋酸 10 mL, 振摇 1 min, 离心, 取上清液 5 mL 于另一 50 mL 锥形瓶中, 加还原粉 0.25 g, 摇匀, 立即加显色剂 1 mL, 摇匀, 静置 30 min, 即可。

2.2.4.4 上机操作 将 $100(\times 10^{-6})$ 硝态氮标准溶液用 2% 醋酸稀释成 0, 5, 10($\times 10^{-6}$) 的标准溶液, 分别吸取上述 3 种标准溶液 5 mL 于 50 mL 锥形瓶中, 照供试品方法显色。使用 500 nm 滤色片, 用空白标准液调零, 用检验、上限标准溶液校正仪器。取供试品显色液倒入比色皿中, 放入比色槽, 记录表头数据, 计算硝态氮含量, 结果见表 2。

$$\text{土壤硝态氮}(\times 10^{-6}) = \text{表头读数} \times \text{比色稀释倍数} \times \text{浸提液水土比}$$

2.3 川芎有效成分与土壤营养值相关性分析 采用 SPSS 软件对川芎有效成分及产地土壤营养值进行普通相关分析,计算两两相关系数,结果见表 3。

表 3 川芎有效成分与土壤营养值相关性分析

指标	相关系数	总荧光物质	洋川芎内酯	阿魏酸松柏酯	藁苯内酯	3 种内酯之和	有机质	速效磷	速效钾	硝态氮	pH
总荧光物质		1	-0.385	0.124	0.892 ²⁾	0.790 ²⁾	-0.412 ¹⁾	0.298	-0.785 ²⁾	0.151	-0.346
洋川芎内酯 A			1	0.237	-0.229	0.051	0.129	-0.460 ¹⁾	0.567 ²⁾	-0.199	0.108
阿魏酸松柏酯				1	0.203	0.445 ¹⁾	0.022	0.299	-0.096	-0.100	-0.126
藁苯内酯					1	0.944 ²⁾	-0.523 ²⁾	0.285	-0.751 ²⁾	-0.105	-0.408 ¹⁾
内酯和						1	-0.466 ¹⁾	0.229	-0.610 ²⁾	-0.164	-0.390
有机质							1	-0.056	0.437 ¹⁾	0.097	0.073
速效磷								1	-0.336	-0.039	-0.339
速效钾									1	0.124	0.341
硝态氮										1	-0.107
pH											1

注: ¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

由表 3 可以看出,影响川芎有效成分含量的主要因素为土壤速效钾,速效钾与川芎总荧光物质含量呈极显著负相关(-0.785),与藁苯内酯及 3 种内酯总量均呈极显著负相关,其相关系数分别为 -0.751, -0.610,而与洋川芎内酯呈极显著正相关(0.567)。其次是有机质与藁苯内酯含量呈极显著负相关(-0.523),与总荧光物质、3 种内酯总量呈显著负相关,其相关系数分别为 -0.412, -0.466。而土壤 pH 仅与藁苯内酯有一定负相关关系(-0.408),硝态氮与以上有效成分均无显著相关性。可见,影响川芎有效成分的土壤因素主要是速效钾和有机质。川芎有效成分之间也存在一定的相关关系,土壤营养对于川芎药材品质的影响并非单因素作用,而是由协同作用来共同影响川芎药材品质。

本研究测定了四川 5 大产地的 25 批川芎药材的多种有效成分,统计分析表明各大产地的各有效

成分差异较大,但无显著地域分布规律,该结论表明四川境内的生态环境差异较小,影响川芎品质的因素可能主要由栽培管理方式造成。

[参考文献]

[1] 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, 2010:38.
 [2] 金玉青,洪远林,李建蕊,等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2013, 4(19):44.
 [3] 肖永庆,李丽,游小琳,等. 川芎化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7):519.
 [4] 郝淑娟,张振学,田洋,等. 川芎化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2010, 12(3):22.
 [5] 吴巍,滕厚雷,邵萌,等. 洋川芎内酯 A 的制药用途及含有它的药物组合物与制备方法:中国专利, CN1977838A[P]. 2005-12-05.
 [6] 陈林,彭成,刘友平,等. 川芎道地药材形成模式的探讨[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15):11.

[责任编辑 顾雪竹]