

防风挥发油与其根际土壤的相关性研究

孙晶波^{1,2}, 杨 鹤¹, 刘岩硕¹, 张连学^{1*}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 北华大学药学院, 吉林 吉林 132013

摘要: **目的** 研究不同时间、不同采集地的防风挥发油量与防风根际土壤相关性。**方法** 水蒸气蒸馏法提取防风挥发油, 检测其成分; 根据国家标准规定方法测定根际土壤 pH, 水解 N, 速效 P、K, 全 N 及有机质的量, 用 SPSS 13.0 软件分析数据。**结果** 防风挥发油量随采集地不同由南至北递减, 所含成分明显不同, 但均以 1-甲酰基-4-(1-丁烯-3-基)-苯和 β -没药烯为主。防风挥发油量与其根际土壤全 N 之间呈显著幂相关, 与水解 N 呈显著非线性相关, 而速效 P、K、有机质, 只一批样品之间呈较好的相关性。土壤自身 pH、水解 N 与速效 P 之间, 水解 N、速效 P 与速效 K 之间, 水解 N、速效 P、速效 K 与有机质之间显著相关 ($P < 0.01$); 土壤 pH 与水解 N、速效 K 之间显著相关 ($P < 0.05$)。**结论** 防风挥发油量在不同采收期差异无规律性, 但其产率受根际土壤全 N 量的抑制作用显著, 随其量的增加而显著降低, 而水解 N、速效 P、K 及有机质量适宜时可显著提高挥发油产率。土壤 pH 则可以通过调节土壤其他化学性质而影响防风挥发油的量。

关键词: 防风; 挥发油; 根际土壤; 气-质联用; 相关性

中图分类号: R282.4

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)07-0891-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.07.022

Study on correlation between volatile oil and rhizosphere soil from roots of *Saposhnikovia divaricata*

SUN Jing-bo^{1,2}, YANG He¹, LIU Yan-shuo¹, ZHANG Lian-xue¹

1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Pharmaceutical College of Beihua University, Jilin 132013, China

Abstract: **Objective** To study the correlation between the content of volatile oil and the rhizosphere soil from the roots of *Saposhnikovia divaricata* collected from different regions at different harvest time. **Methods** The volatile oil from the roots of *S. divaricata* was extracted by steam distillation and analyzed. According to the *National Standard of the People's Republic of China*, we determined the pH value, total nitrogen, hydrolysable nitrogen, available phosphorus, available potassium, and organic matter in the rhizosphere soil of *S. divaricata*. The obtained data were statistically analyzed with SPSS 13.0 software. **Results** The content of volatile oil in the roots of *S. divaricata* presented a trend of decrease with different collection regions from south to north and the main chemical components were significantly different, in which 1-(1-formylethyl)-4-(1-buten-3-yl)-benzene and β -bisabolene were found as the principal components. There was a significantly negative power function relationship between the content of volatile oil and the total nitrogen, a significantly non-linear correlation between the content of volatile oil and the hydrolysable nitrogen, but a good correlation between content of volatile oil and available phosphorus, available potassium, and the content of organic matter was found only in the first sample. There were significant good correlations of the pH value and hydrolysable nitrogen with available phosphorus, hydrolysable nitrogen, and available phosphorus with available potassium, hydrolysable nitrogen, available phosphorus, and available potassium with organic matter in rhizosphere soil ($P < 0.01$). The significant correlation of hydrolysable nitrogen, available potassium with pH was found ($P < 0.05$). **Conclusion** There is no significant difference among the contents of volatile oil extracted from *S. divaricata* collected at different harvest time. There is a negative correlation between the total nitrogen content in rhizosphere soil and the content of volatile oil, namely, the productivity of volatile oil decreases with the increase of total nitrogen content, while the optimal

收稿日期: 2012-09-26

基金项目: 国家科技支撑项目“人参规范化种植提升、系列产品综合开发及品牌培育研究”(2011BAI03B01)

作者简介: 孙晶波 (1978—), 女, 讲师, 在读博士, 研究方向为中草药活性成分及质量评价。

Tel: 18604498617 Fax: (0432)64608281 E-mail: sjb781219@163.com

*通信作者 张连学 Tel: (0431)84532952 E-mail: zlx863@163.com

contents of hydrolysable nitrogen, available phosphorus, available potassium, and organic matter could accumulate the content of volatile oil. On the other hand, pH value may affect the content of volatile oil by modulating the other chemical properties of the rhizosphere soil.

Key words: *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk; volatile oil; rhizosphere soil; GC-MS; correlation

防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk 的干燥根, 具有祛风解表、胜湿止痛、止痉等功效, 用于治疗感冒头痛、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风等症^[1]。目前有关防风生物活性的研究基本都集中在色原酮类成分上^[2-4]。相关研究结果表明, 除色原酮类成分外, 防风挥发油也具有很好的抗炎作用^[5-6]。植物有效成分的量与生长环境关系密切^[7], 受当地的温度、光照、降水及土壤状况等因素影响很大, 植物中的挥发油因具有挥发性而受环境影响更大。为探讨土壤环境对防风挥发油量及主要成分组成的影响, 本实验对吉林、甘肃、河北等10个产地共100份防风样品及100份根际土壤样品进行了比较研究。

1 仪器与材料

6890N/5973I 型气相色谱-质谱联用仪 (美国安捷伦公司); FP640 型火焰光度计 (上海欣益仪器仪表有限公司); 酸度计 (江苏江分电分析仪器有限公司); K9860 全自动凯氏定氮仪 (山东海能仪器有限公司); JH722S 型分光光度计 (上海菁华科技仪器有限公司)。

浓硫酸、浓盐酸、氟化氨、钼酸铵等均为分析纯; 硫酸亚铁、锌粉、硫酸钾等均为化学纯, 乙醇为色谱纯。上述试剂与试药均购自吉林市欣利实验仪器经销有限公司。

防风样品经吉林农业大学张连学教授鉴定为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk, 药材及土壤样品详见表1。每个产地每个批次采集5份防风和5份相应的根际土壤样品。防风根用水洗净, 回到实验室后再用去离子水冲洗, 风干, 粉碎, 备用; 土壤样品采集后剔除土壤以外的杂质, 风干后过筛备用。

2 方法

2.1 挥发油的提取与 GC-MS 测定

2.1.1 供试品溶液的制备 分别精密称取各防风样品50 g, 置于挥发油提取器中, 按文献所述的水蒸气蒸馏法^[1]进行提取。所得挥发油用无水硫酸钠干燥后, 称其质量, 计算药材中挥发油的量。然后将挥发油用无水乙醇转移至25 mL量瓶中, 用无水乙醇定容, 待测。

表1 防风及土壤样品信息

Table 1 Information of *S. divaricata* and soil samples

编号	采集地	采集时间	编号	采集地	采集时间
1	长春	2010-08	11	大连	2010-08
2	长春	2010-10	12	大连	2010-10
3	左家	2010-08	13	通辽*	2010-08
4	左家	2010-10	14	通辽*	2010-10
5	白城*	2010-08	15	亳州	2010-08
6	白城*	2010-10	16	亳州	2010-10
7	大庆*	2010-08	17	安国	2010-08
8	大庆*	2010-10	18	安国	2010-10
9	大兴安岭*	2010-08	19	陇西	2010-08
10	大兴安岭*	2010-10	20	陇西	2010-10

*为野生防风

*means wild *S. divaricata*

2.1.2 色谱条件: 毛细管柱 DB-1 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 色谱柱程序升温条件: 柱温 50 °C (2 min) 10 °C/min, 180 °C (1 min), 6 °C/min, 280 °C (10 min); 进样口温度 250 °C; 分流比 40:1; 体积流量 1.0 mL/min。质谱条件: 电离方式为 EI 源; 全扫描方式, 单位 *m/z*; 扫描质量范围 35~550 amu; 溶剂延迟 1.90 min。

2.1.3 GC-MS 测定: GC-MS 调整至如前所述的最佳条件后, 进样 10 μL, 进行检测, 对每个样品峰进行分析, 并通过 NIST 数据库检索、人工解析鉴定各挥发油样品中所含的化学成分。

2.2 土壤样品 pH, 有机质, 水解 N, 速效 P、K 及全 N 的测定^[8-9]

2.2.1 土壤样品的 pH 称取 10.0 g 土样于 50 mL 烧杯中, 加 25 mL 不含 CO₂ 的水后剧烈搅拌 2 min, 静置 30 min 后用酸度计测定 pH 值。

2.2.2 有机质的量 取 0.15 g 土样置硬质大试管底部, 加 0.8 mol/L 重铬酸钾和浓硫酸各 5 mL, 在 170~180 °C 油浴中煮沸 5 min, 取出冷却后加 3 滴邻菲罗啉指示剂, 用 0.2 mol/L 的硫酸亚铁进行滴定, 计算得土壤中有机质的量。

2.2.3 水解 N 的量 称取 2.00 g 土样均匀铺在扩散皿的外室, 加 1 g 锌-硫酸亚铁还原剂于土样上面。

内室加 3 mL 20 g/L 硼酸指示剂溶液。快速向外室加 10 mL 1.8 mol/L 氢氧化钠溶液, 40 °C 保温 24 h。取出后用 0.02 mol/L 盐酸标准溶液进行滴定, 以滴定用盐酸的量计算土壤中水解 N 的量。

2.2.4 速效 P 的量 称取 5.00 g 土样于 100 mL 三角瓶中, 加 NH₄F-HCl 浸提液 50 mL 并振荡 5 min, 滤过。移取滤液 5 mL 到 50 mL 量瓶中, 加 1 滴 2, 4'-二硝基酚指示剂、0.06 mol/L 硼酸溶液 5 mL、水 10 mL、钼锑抗显色剂 5 mL 后用蒸馏水定容, 摇匀。放置 30 min 后用分光光度计检测 700 nm 处的吸光度, 计算含 P 量。

2.2.5 速效 K 的量 称取 5.00 g 土样于 100 mL 三角瓶中, 加 50 mL 1 mol/L 的乙酸铵溶液后振荡 30 min, 滤过, 滤液直接用火焰光度计测定 K 的量。

2.2.6 全 N 的量 称取 1.50 g 土样于凯氏烧瓶中, 加 2 g 混合加速剂并摇匀, 滴加 5 mL 浓硫酸后放在调温电炉上消煮, 直到消煮液和土粒变为灰白带绿色后, 再消煮 1 h, 冷却后直接用全自动凯氏定氮仪测定全 N 的量。

3 结果与分析

防风挥发油量及土壤相关指标的测定结果见表 2。防风挥发油量与其根际土壤之间的相关性分析见

表 3 及图 1。数据均采用 SPSS13.0 进行统计学分析。

防风挥发油的量及所含成分的种类随产地以及采集时间的不同而差异显著, 但规律性不明显, 主要成分均为 1-甲酰基-4-(1-丁烯-3-基)-苯、β-没药烯以及萜烯、长链烃类化合物。从采于不同时间的两批样品来看, 野生防风挥发油量通辽>白城>大庆>大兴安岭, 栽培防风挥发油量左家>长春>陇西>安国>亳州>大连, 整体上呈由南向北递减趋势; 其中大连采集地的土壤是填海土, 属近海区, 而陇西处于较为干旱的黄土高原地区, 两地的防风生长发育受气候等影响因素较多, 呈现出不规则变化。

由图 1 可知, 防风挥发油量与防风根际土壤的全氮量呈显著的负相关, 随着土壤全 N 量的增加, 挥发油的量逐渐降低, 当全 N 量降至 3.0 g/kg 以后, 挥发油量随其量的升高而缓慢降低。挥发油量与水解 N 量亦呈显著相关, 随着水解 N 量的增加而升高, 但当其量达到 260 mg/kg 之后, 会随着水解 N 量的增加而迅速降低。上述分析结果表明, 土壤中全 N 量过高会降低防风中挥发油的量, 抑制挥发油的产率, 而水解 N 的量适宜时可使挥发油量达到最高。

对于速效 K、速效 P 及有机质, 只有一批样品三者的量与挥发油的量之间显示出相关性, 回归方程

表 2 防风挥发油量及土壤 pH、水解 N、速效 P、K、全 N 及有机质的量 (n=5)

Table 2 Determination of volatile oil in *S. divaricata* and pH value, hydrolysable nitrogen, available phosphorus, potassium, total nitrogen, and organic materials in soil (n = 5)

样品	挥发油 / (mg·g ⁻¹)	pH	水解 N / (mg·kg ⁻¹)	速效 P / (mg·kg ⁻¹)	速效 K / (mg·kg ⁻¹)	全 N / (g·kg ⁻¹)	有机质 / (g·kg ⁻¹)
1	4.401	5.47	117.042	241.914	210.584	2.659	19.433
2	2.922	5.34	121.109	293.778	163.428	2.320	20.863
3	3.500	5.67	138.450	102.627	209.246	3.682	39.155
4	4.507	5.59	176.720	175.127	127.461	3.278	11.098
5	2.972	7.97	163.369	18.728	135.439	3.019	38.827
6	3.844	8.02	154.806	9.863	70.793	2.698	42.200
7	2.920	7.78	197.664	24.189	177.673	3.177	41.756
8	2.565	8.26	135.084	13.061	107.630	2.964	45.994
9	1.453	5.86	488.823	349.221	400.711	7.938	222.344
10	2.217	5.99	434.339	684.780	417.408	7.980	185.677
11	1.717	7.75	55.934	27.000	136.042	21.712	12.501
12	0.723	8.10	49.022	37.341	61.838	17.082	33.966
13	3.273	6.81	159.265	10.631	111.380	3.330	38.306
14	5.349	6.45	212.755	19.104	143.924	3.313	51.884
15	2.004	7.50	136.093	52.297	151.089	9.123	15.616
16	1.470	7.90	74.089	34.959	116.761	6.215	14.652
17	2.069	7.90	63.983	30.103	61.100	26.483	14.033
18	2.104	7.49	120.616	21.281	47.920	19.431	12.151
19	3.598	8.04	97.737	38.818	241.370	2.514	20.158
20	2.134	8.16	101.720	33.248	141.443	2.691	18.052

表3 防风根际土壤化学性质及其与挥发油的相关分析

Table 3 Correlation analysis between chemical properties of rhizosphere soil and volatile oil of *S. divaricata*

根际土壤营养成分	土壤 pH	土壤水解 N 量	土壤速效 P 量	土壤速效 K 量	土壤全 N 量	土壤有机质量
土壤 pH	1					
土壤水解 N 量	-0.469*	1				
土壤速效 P 量	-0.661**	0.729**	1			
土壤速效 K 量	-0.517*	0.824**	0.811**	1		
土壤全 N 量	0.289	-0.235	-0.113	-0.278	1	
土壤有机质量	-0.351	0.946**	0.725**	0.827**	-0.087	1
防风挥发油量	-0.417	0.016	-0.054	-0.017	-0.574**	-0.201

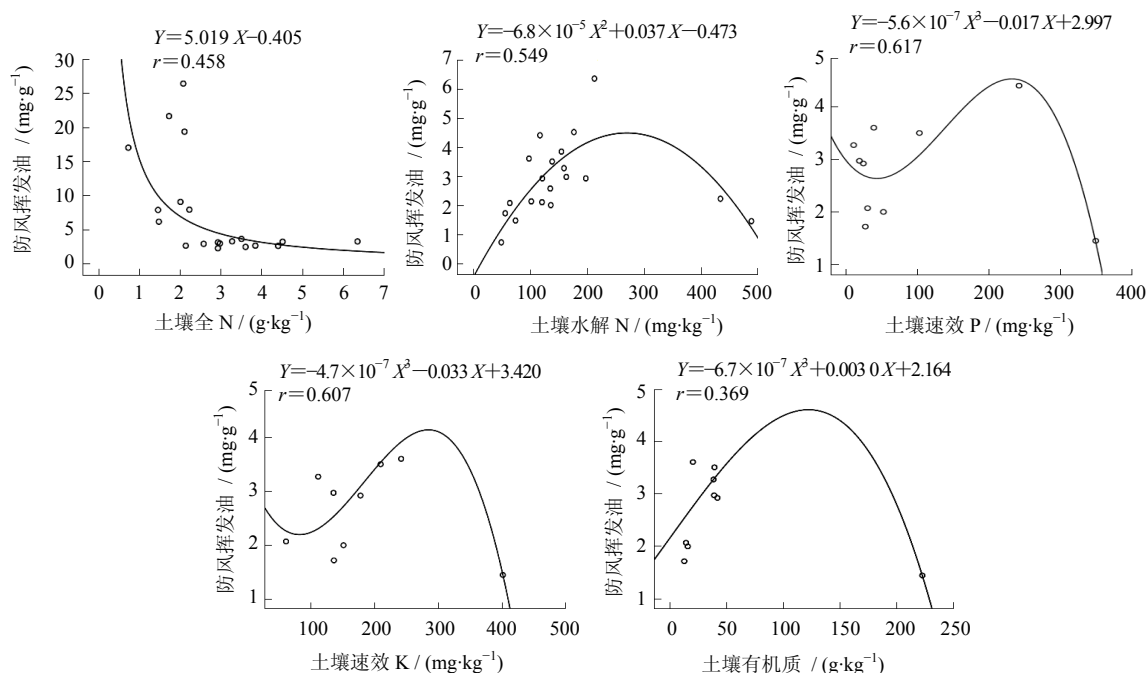
** $P < 0.01$ * $P < 0.05$ vs CK

图1 防风根际土壤全N、水解N、速效P、K及有机质量对挥发油量的影响

Fig. 1 Effects of total nitrogen, hydrolysable nitrogen, available phosphorus, potassium, and organic materials in rhizosphere soil of *S. divaricata* on content of volatile oil

的 r 分别为 0.607、0.617、0.369。如果把其中有机质量异常高的大兴安岭防风数据去除, 则 r 可达 0.765。上述分析结果表明, 速效 K、P 及有机质对防风挥发油量的影响随采收时间的不同而变化显著。8 月下旬, 三者的量与防风挥发油量有一定的相关性, 而且当速效 P 量在 300 mg/kg 左右, 速效 K 量在 200~300 mg/kg, 有机质量在 100~150 g/kg 时, 防风中挥发油的量可以达到最高。

防风中挥发油的量与根际土壤中的矿物质元素均呈一定的相关性, 但与 pH 之间无显著的相关性。整体上, 弱酸性土壤中生长的防风挥发油量相对偏高。

由表 2 可知, 土壤本身所含化学成分之间也具有良好的相关性。pH、水解 N 与速效 P 之间, 水解 N、速效 P 与速效 K 之间, 水解 N、速效 P、速效 K 与有机质之间均在 0.01 水平上有显著性相关; pH 与水解 N、速效 K 之间在 0.05 水平上有显著的相关性。而土壤 pH 则可以通过调节根际土壤中的 N、P、K 及有机质量而间接影响挥发油的量。土壤各成分之间相互影响、相互制约, 并且各成分之间的平衡均会受 pH 调控^[10], 共同影响着防风中挥发油的量。

4 讨论

挥发油为植物类药材的主要成分之一, 提取方法较多, 其中水蒸气蒸馏法为最经典的简便、

经济的提取方法,且为《中国药典》所收载。其结果稳定、可靠,为后续的挥发油成分分析奠定良好的基础。

土壤的主要营养元素均采用了国家标准规定的方法进行测定。其中水解N及有机质量的测定均为手动滴定,因此要求单人在固定的条件下进行操作,尽量减小误差。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 刘焕蓉,秦雪梅,王利平,等. 玉屏风散配伍剂量变化与有效成分的相关性研究 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1922-1924.
- [3] 赵娟,刘春芳,林娜,等. 防风色原酮提取物对大鼠胶原诱导性关节炎的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 52-56.
- [4] 汪琼,罗士德,徐永艳. 绣球防风化学成分的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 27-31.
- [5] 黎建斌,刘丽萍,丘振文. 生防风挥发油抗炎止血作用的药理研究 [J]. 新中医, 2007, 39(8): 105-106.
- [6] 葛卫红,郭建友,沈映君,等. 荆防挥发油对炎症因子表达和调节的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2007, 32(17): 1777-1779.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [8] 中华人民共和国林业行业标准 [S]. 1999.
- [9] 中华人民共和国国家标准土壤环境质量标准 [S]. 1995.
- [10] He L Z, Yang X E, Stoffella P J. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2005, 19: 125-140.