

[饮片炮制]

不同采收期各品种甘草产量和有效成分的比较

叶 菊^{1,2}, 邱黛玉^{2,3}, 曾擎义¹, 蔺海明^{2,4*}, 张汉平², 王升元², 赵贵亮²

(1. 青海民族大学青藏高原植物化学重点实验室, 青海 西宁 810007; 2. 酒泉市甘草生物育种研究所, 甘肃 酒泉 733101; 3. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070; 4. 甘肃省农业研究院中药材研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: **目的** 比较不同采收期甘草 *Glycyrrhizae uralensis*、光果甘草 *Glycyrrhizae glabra*、胀果甘草 *Glycyrrhizae inflate*、刺果甘草 *Glycyrrhizae pallidiflora*、黄甘草 *Glycyrrhizae eurycarpa* 的产量和其有效成分甘草苷、甘草酸的含有量。**方法** 以 1~3 年生、不同采收期的甘草为原料, 称重法测定其干重 (产量的主要因素), HPLC 法测定甘草苷和甘草酸含有量。**结果** 甘草苷、甘草酸的含有量以及干重均依次为甘草 > 光果甘草 > 胀果甘草 > 刺果甘草 > 黄甘草、3 年生 > 2 年生 > 1 年生、当年秋季 > 次年春季。**结论** 在人工栽培条件下, 我国西北干旱荒漠与半荒漠地区应选用 3 年生的甘草进行培育, 最佳采收期为当年秋季。

关键词: 甘草; 品种; 采收期; 产量; 甘草苷; 甘草酸; 称重法; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2016)05-1088-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.05.026

Comparisons of yields and effective constituents of various kinds of licorice in different picking time

YE Ju^{1,2}, QIU Dai-yu^{2,3}, ZENG Qing-yi¹, LIN Hai-ming^{2,4*}, ZHANG Han-ping², WANG Sheng-yuan², ZHAO Gui-liang²

(1. Key Laboratory of Plant Chemistry in Qinghai-Tibet Plateau, Qinghai University for Nationalities, Xining 810007, China; 2. Jiuquan Municipal Biological Breeding Reserch Institute of Radix Glycyrrhiza, Jiuquan 733101, China; 3. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 4. Institute of Traditional Chinese Medicine, Gansu Provincial Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT: **AIM** To compare the yields of *Glycyrrhizae uralensis*, *Glycyrrhizae glabra*, *Glycyrrhizae inflate*, *Glycyrrhizae pallidiflora* and *Glycyrrhizae eurycarpa* in different picking time and contents of effective constituents (liquiritin and glycyrrhizic acid). **METHODS** With one-, two- and three-year-old licorice in different picking time as raw materials, the dry weight (main factor of yield) was determined by weighing method, and HPLC was adopted to detect the contents of liquiritin and glycyrrhizic acid. **RESULTS** The contents of liquiritin and glycyrrhizic acid, together with dry weight, were all in sequence of *G. uralensis* > *G. glabra* > *G. inflate* > *G. pallidiflora*. > *G. eurycarpa*, three years > two years > one year, and autumn current year > spring next year. **CONCLUSION** In the condition of artificial cultivation, three-year-old *G. uralensis* should be selected to cultivate in north-west arid desert and semi-desert areas in China, and the best picking time is autumn current year.

KEY WORDS: licorice; kinds; picking time; yields; liquiritin; glycyrrhizic acid; weighing method; HPLC

甘草为豆科甘草属多年生草本或亚灌木植物, 具有抗寒、抗旱、抗盐碱、抗风沙、耐热、喜光等特性, 是维护干旱荒漠与半荒漠地区生态环境的资源植物之一^[1]。其以根或根茎入药, 具有和中缓

收稿日期: 2015-12-14
基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划课题 (2011BAI05B01); 甘肃省农牧厅科技创新项目 (GNCX-2011-37); 甘肃省教育厅基金项目资助 (0902-03)
作者简介: 叶 菊 (1978—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为药用植物资源与利用。E-mail: yeju8145@163.com
* 通信作者: 蔺海明 (1953—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为药用植物资源与利用。E-mail: Linhm@gsau.edu.cn

急、润肺、解毒、调和诸药之功效，同时还广泛应用于食品、烟草、日化及畜牧业等领域^[2]。甘草的主要药效成分有三萜、黄酮以及生物碱等，其中三萜具有润肺、解毒、抗肿瘤、抗变态反应以及免疫调节等作用^[3]，而黄酮具有抗氧化、抗病毒、抗炎、抗溃疡等作用^[4]。近十几年来，甘草资源受到了前所未有的破坏，随着国家保护力度的加强，甘草人工培育工作越来越受到重视，尤其是我国西北地区，其栽培面积逐年增加^[5]。但积极开展人工培育的同时，存在着栽培甘草产量低下、品质不佳、病虫害严重及盲目开发等问题。

影响甘草品质的因素较多，如盲目引种、栽培管理粗放、病虫害严重以及采收加工不当等。本课题组调研发现，西北地区甘草栽培品种多样，主要有甘草、光果甘草、胀果甘草、刺果甘草和黄甘草，但由于市场价格起伏不定，药农往往依价采挖，不顾及药材品质高低。目前，相关研究主要集中在水肥管理对甘草品质的影响方面。张清云等^[6]采用最优混合“311”设计方法，研究了人工栽培甘草的最优混合施肥，为甘草栽培施肥技术提供依据。周雪洁等^[7]以盆栽甘草幼苗为材料，研究干旱胁迫及复水条件下甘草幼苗的响应，为其节水栽培提供理论依据。吴春蕾等^[8]研究不同锌水平对甘草品质的影响及其机制，为其栽培科学施肥提供一定的参考。然而，关于甘草品种及其采收期对药材品质的影响未见详细报道，本实验通过大田试验，探讨不同栽培品种及采收期对甘草质量和产量的影响，以期为该植物的优质高产栽培技术提供理论依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 AL204 电子天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）；YF-150 中药粉碎机（瑞安市永历制药机械有限公司）；KQ-250B 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；Agilent 1200 高效液相色谱仪，配置自动进样器、在线脱气机、四元梯度泵、恒温柱温箱、DAD 检测器、Agilent 1200 色谱工作站（美国 Agilent 公司）。

1.2 试药 药材经甘肃省农业研究院蔺海明研究员鉴定，分别为甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* Linn.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Batal.、刺果甘草 *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim. 和黄甘草 *Glycyrrhiza eurycarpa* P. C. Li。甘草苷（编号 111610）、甘草酸铵（编号 110731）对照品（北京中科仪友化工技术研究院）。乙腈为

色谱纯（山东禹王实业有限公司禹城化工厂）；磷酸为分析纯（天津市红岩试剂厂）；水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 样品采集及处理 样品采自甘肃省酒泉市甘草生物育种研究所甘草栽培基地，于同一试验田（2011 年 4 月播种）连续 3 年，分春秋两期（每年 4 月和 10 月中旬）采集，各品种随机采挖 5 株生长良好的完整植株，截取根段，清水洗净，阴干，电子天平测定其干重，粉碎过筛，HPLC 法测定甘草苷和甘草酸含量。

2.2 色谱条件 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；进样量 20 μL；流动相为乙腈（A）-0.5% 磷酸水（B），梯度洗脱（程序见表 1）；柱温 30 ℃；检测波长 250 nm 和 276 nm；体积流量 0.5 mL/min。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	A 乙腈/%	B 0.5% 磷酸水/%
0	15	85
20	30	70
40	45	55
50	45	55

2.3 对照品溶液制备 精密称取甘草苷和甘草酸对照品 12.31、19.85 mg，置于 5 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对照品贮备液。取 0.1 mL，置于 5 mL 量瓶中，甲醇稀释至刻度，摇匀，得 49.24 μg/mL 甘草苷、79.40 μg/mL 甘草酸对照品溶液。将其混合，摇匀，作为混合对照品贮备液，0.45 μm 微孔滤膜过滤，即得混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备 精密称取甘草粉末 0.20 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 20 mL，密塞，称定质量，超声（250 W、40 kHz）30 min，静置放冷，甲醇补足减失质量，摇匀，过滤，即得。

2.5 分析方法考察

2.5.1 线性关系考察 精密吸取“2.3”项下甘草苷和甘草酸对照品溶液，分别稀释 1、2、4、8 和 16 倍，得 49.24、24.62、12.31、6.16 和 3.08 μg/mL 甘草苷溶液，以及 79.40、39.70、19.85、9.93 和 4.96 μg/mL 甘草酸溶液，各取 20 μL，在“2.1”项条件下测定，以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得回归方程分别为甘草苷 $Y = 58.063 + 49.489X$ ，

$R^2=0.999\ 3$ ；甘草酸 $Y=27.805X-59.378$ ， $R^2=0.999\ 5$ ，分别在 $0.06\sim0.98\ \mu\text{g}$ 和 $0.10\sim1.59\ \mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系。

2.5.2 精密密度试验 分别吸取甘草苷和甘草酸对照品溶液 $20\ \mu\text{L}$ ，重复进样 6 次，测得两者峰面积 RSD 分别为 0.41% 、 0.69% （ $n=6$ ），表明仪器精密密度良好。

2.5.3 重复性试验 取样品粉末 $1.00\ \text{g}$ ，共 6 份，按“2.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下，测得甘草苷和甘草酸的平均含量分别为 1.26% 和 2.89% ，峰面积 RSD 分别为 0.99% 和 0.68% （ $n=6$ ），表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 $20\ \mu\text{L}$ ，在“2.2”项色谱条件下，分别于 0、4、8、12、24、48 h 进样，测得甘草苷和甘草酸峰面积 RSD 分别为 1.57% 、 1.12% （ $n=6$ ），表明供试品溶液在室温下 48 h 内稳定。

2.5.5 回收率试验 精密量取 1 年生次年春季采收的黄甘草粉末 $0.10\ \text{g}$ ，共 10 份。其中，1 份用于测定目标成分含量（含甘草苷 $340.00\ \mu\text{g}$ ，甘草酸 $760.00\ \mu\text{g}$ ），另 9 份用于测定回收率（高、中、低梯度各平行 3 次），加入对照品溶液（分别含甘草苷 272.00 、 340.00 、 $408.00\ \mu\text{g}$ ，甘草酸 608.00 、 760.00 和 $912.00\ \mu\text{g}$ ），按“2.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下计算回收率。结果见表 2 和表 3。

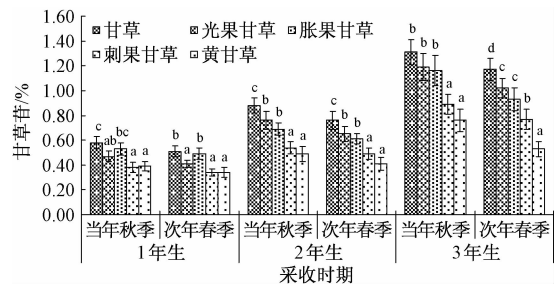
2.6 有效成分含量测定 取不同品种春秋两季甘草适量，粉碎，按“2.3”项下方法制备供试品溶液， $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤，进样 $20\ \mu\text{L}$ ，在“2.2”项色谱条件下测定。结果见图 1 和图 2。

表 2 甘草苷加样回收率试验结果

Tab. 2 Results of recovery tests for liquiritin						
称样量/ g	原有量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.10	340.00	272.00	617.00	101.8		
0.10	340.00	272.00	612.00	100.0		
0.10	340.00	272.00	611.00	99.6		
0.10	340.00	340.00	687.00	102.1		
0.10	340.00	340.00	679.00	99.7	100.3	1.07
0.10	340.00	340.00	680.00	100.0		
0.10	340.00	408.00	747.00	99.8		
0.10	340.00	408.00	743.00	98.8		
0.10	340.00	408.00	751.00	100.7		

表 3 甘草酸加样回收率试验结果

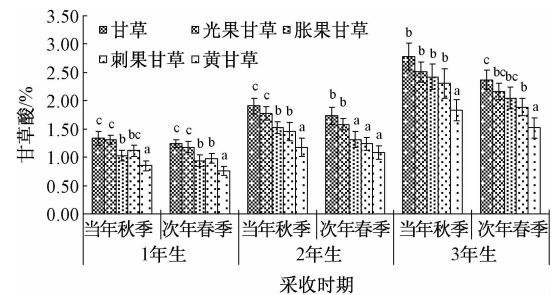
Tab. 3 Results of recovery tests for glycyrrhizic acid						
称样量/ g	原有量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.10	760.00	608.00	1 371.00	100.5		
0.10	760.00	608.00	1 360.00	98.7		
0.10	760.00	608.00	1 357.00	98.2		
0.10	760.00	760.00	1 534.00	101.8		
0.10	760.00	760.00	1 507.00	98.3	99.6	1.45
0.10	760.00	760.00	1 512.00	99.0		
0.10	760.00	912.00	1 671.00	99.9		
0.10	760.00	912.00	1 658.00	98.5		
0.10	760.00	912.00	1 688.00	101.8		



注：同组数据不同小写字母表示品种间差异显著（ $P<0.05$ ）

图 1 甘草苷含量测定结果

Fig. 1 Determination results of liquiritin content



注：同组数据不同小写字母表示品种间差异显著（ $P<0.05$ ）

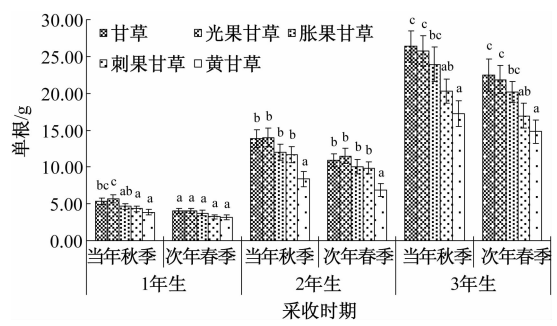
图 2 甘草酸含量测定结果

Fig. 2 Determination results of glycyrrhizic acid content

由图 1 可见，随着生长年限的增加，甘草苷的含有量随之增加，而且当年秋季明显高于次年春季。1 年生春秋两季样品中，甘草和胀果甘草中甘草苷含有量显著高于其他品种；2 年生春秋两季样品中，甘草中甘草苷含有量显著高于其他品种，而且光果甘草和胀果甘草又显著高于刺果甘草和黄甘草；3 年生秋季样品中，甘草、光果甘草和胀果甘草中甘草苷含有量显著高于刺果甘草和黄甘草；3 年生春季样品中，甘草显著高于其他品种，而且光果甘草和胀果甘草显著高于刺果甘草，刺果甘草又显著高于黄甘草。

由图2可见,随着生长年限的增加,甘草酸的含有量随之增加,而且当年秋季明显高于次年春季。1年生春秋样品中,甘草和胀果甘草中甘草酸含有量显著高于刺果甘草和黄甘草;2年生秋季样品中,甘草和光果甘草中甘草酸含有量显著高于其他品种,而且胀果甘草和刺果甘草又显著高于黄甘草;2年生春季样品中,甘草和光果甘草中甘草酸含有量显著高于其他品种;3年生秋季样品中,黄甘草中甘草酸含有量显著低于其他品种;3年生春季采收样品中,甘草中甘草酸含有量显著高于刺果甘草,而且刺果甘草又显著高于黄甘草。

2.7 不同采收期几种甘草产量 取不同品种春秋两季样品,按“2.1”项下方法称定其干重。结果见图3。



注:同组数据不同小写字母表示品种间差异显著 ($P < 0.05$)

图3 甘草干重测定结果

Fig. 3 Determination results of dry weight of licorice

由图3可见,随着生长年限的增加,几种甘草干重也随之增加,而且当年秋季时明显高于次年春季。1年生秋季样品中,甘草和胀果甘草干重显著高于刺果甘草和黄甘草;1年生春季样品中,各品种干重无显著差异;2年生春秋两季样品中,黄甘草干重显著低于其他品种;3年生春秋两季样品中,甘草和光果甘草干重显著高于刺果甘草和黄甘草。

3 结论与讨论

甘草单根干重是影响其产量的主要因素,可直接衡量人工栽培甘草产量的高低^[9],而甘草酸和甘草苷是甘草的主要活性成分,其含有量高低可判断药材质量的优劣^[10]。

3.1 我国西北干旱荒漠与半荒漠地区,人工栽培甘草生长年限应为3年生 1~3年内,几种甘草的品质随生长年限的增加而明显增加。以较优品种(甘草 *G. uralensis*)为例,3年生当年秋季采收样

品的单根干重、甘草苷和甘草酸含有量分别为2年生的1.90、1.49和1.46倍,1年生的4.93、2.26和2.09倍;3年生春季样品分别为2年生的2.06、1.54和1.37倍,1年生的5.56、2.29和1.91倍,与刘金荣等^[11-13]研究结果一致。黄帅等^[14]采用MTT法检测光果甘草对人乳腺癌BCAP细胞的增殖抑制效应,发现3年生光果甘草药效最佳。甘草为多年生植物,以地下根或根茎为药用产品,随着生长年限的增加,其物质累积和次生代谢产物也随之增多。上述研究表明,3年生甘草药效成分含有量已达药典标准,而且产量较高。

3.2 我国西北干旱荒漠与半荒漠地区,人工栽培甘草采收期应为当年秋季 1~3年内,几种甘草当年秋季样品的品质明显优于次年春季。以较优品种(甘草 *G. uralensis*)为例,3年生当年秋季样品的单根干重、甘草苷和甘草酸含有量分别为次年春季的1.18、1.12和1.17倍;2年生当年秋季样品分别为次年春季的1.27、1.16和1.10倍;1年生当年秋季样品分别为次年春季的1.32、1.14和1.08倍。《中国药典》(2010版)规定,甘草分春、秋2季采挖^[15]。王栋等^[13]对人工栽培甘草不同发育期甘草酸的含有量进行检测,发现甘草最适采收期为秋季。沈玉莲等^[16]认为,甘草最适宜采收期为9~10月。姜晓莉等^[17]采用大田试验,对甘草根及根状茎中甘草酸和可溶性糖的动态变化规律进行了研究,发现我国吉林地区甘草的适宜采收期为9月末至10月初。李娜等^[18]对不同季节光果甘草总黄酮变化规律进行了研究,发现其最佳采收期为早秋。上述研究从多方面表明,秋季甘草的产量和质量均较高,这可能是因为其地上器官在秋季枯萎后,植株的生存和代谢需依靠地下根及根茎,使其在越冬过程中产生较大的物质消耗,导致次年春季采挖甘草品质偏低。

3.3 我国西北干旱荒漠与半荒漠地区,人工栽培甘草应选甘草(*G. uralensis*) 同期采收样品中,甘草(*G. uralensis*)的品质明显优于其它品种。以较佳采收期(3年生当年秋季)为例,甘草单根干重、甘草苷和甘草酸含有量分别为光果甘草的1.02、1.10和1.11倍,胀果甘草的1.10、1.13和1.15倍,刺果甘草1.30、1.47和1.20倍,黄甘草1.53、1.72和1.52倍。甘草属植物抗逆性强、分布广泛、品种繁多,文献[19-22]报道各品种间存在着较大的种间差异,而甘草的外部形态、内部结构及生长习性更适于西北干旱荒漠与半荒漠地

区，并表现出高产、优质、适应性好等优良品质。

4 小结

在人工栽培管理模式下，药材产量和有效成分的形成与积累除了受遗传因子的调控外，还与栽培技术密切相关^[23]，故生产高产优质药材需以筛选优良品种为前提，以先进栽培管理技术为保证。目前，市场上甘草药材品种繁多、基原混乱、依价采挖，致使甘草药材良莠不齐。从质量、产量及经济效益等方面来看，甘草（*G. uralensis*）为西北地区道地药材，能比较充分地利用当地自然与栽培环境中的有利条件，更有效地解决人工栽培甘草品质低下的问题，具有大面积推广栽培价值，而且其较佳采收时期为 3 年生当年秋季。

参考文献：

[1] 李 昂，张 鸣，蔺海明，等. 西北风蚀区种植甘草对地表微环境和土壤物理性状的影响[J]. 干旱区资源与环境，2014，28(10)：128-132.

[2] 尚辛亥. 甘草质量与生境的关系及其可持续发展研究[D]. 北京：北京中医药大学，2010.

[3] 于 力，张 蕾，郝志宏，等. 甘草甜素对大鼠肾小球硬化早期的防护作用[J]. 中草药，2010，41(2)：250-255.

[4] 闫永红，王文全，杨 娜. HPLC 测定栽培甘草中甘草苷的含量[J]. 中国中药杂志，2006，31(11)：926-927.

[5] 于福来. 甘草优良种质遴选指标与传粉特性研究[D]. 北京：北京中医药大学，2012.

[6] 张清云，李 强，蒋 齐，等. 氮、磷、钾互作效应对甘草产量影响的研究[J]. 土壤通报，2009，40(5)：1119-1122.

[7] 周雪洁，王改利，梁宗锁，等. 干旱胁迫及复水对甘草幼苗生理特性和甘草酸积累的影响[J]. 西北农业学报，2011，20(7)：64-70.

[8] 吴春蕾，曹福磊，丁云洁，等. 供锌水平对甘草生长和药用成分含量的影响[J]. 华北农学报，2011，26(3)：168-172.

[9] 侯 嘉，闫立本，赵贵亮，等. 甘草种苗等级与植株生物

量积累及药材产量和质量的关系[J]. 中药材，2015，38(2)：221-226.

[10] 万春阳. 盐分对甘草酸和甘草苷积累的影响及其作用机制研究[D]. 北京：北京中医药大学，2011.

[11] 刘金荣，赵文彬，王航宇，等. 不同生长期栽培甘草的产量及有效成分分析比较[J]. 上海中医药杂志，2004，38(11)：56-58.

[12] 詹晓平，翟 宇，马 玲，等. 宁夏栽培甘草质量分析的研究[J]. 宁夏医学杂志，2009，31(11)：1008-1009，964.

[13] 王 栋，刘丽杰，丁肇贵，等. 栽培甘草不同生长期甘草酸变化规律的研究[J]. 中药材，1991，14(5)：9-10.

[14] 黄 帅，户元林，马 森. 不同种植年限的光果甘草对人乳腺癌细胞增殖抑制作用的研究[J]. 石河子大学学报：自然科学版，2009，27(5)：571-573.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2010 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2010：150.

[16] 沈玉莲，张风琴. 甘草高产栽培技术要点[J]. 黑河科技，2000(4)：16.

[17] 姜晓莉，王保民，李 刚，等. 甘草根及根状茎中甘草酸和可溶性糖含量的动态研究[J]. 中药材，2011，34(9)：1321-1323.

[18] 李 娜，陆嘉惠，秦忠立，等. 光果甘草营养器官不同季节总黄酮消长规律的研究[J]. 西北植物学报，2012，32(1)：162-165.

[19] 米慕真，张 莅. 不同品种不同产地甘草中甘草酸含量的考察[J]. 沈阳药科大学学报，1995，12(3)：214-216，227.

[20] 李 薇，夏 晴，孙成荣，等. 柱前衍生（PMP）-HPLC 法测定不同品种甘草多糖中单糖组成[J]. 辽宁中医药大学学报，2014，16(1)：56-58.

[21] 邓 毅，丁仁伟，张艳萍，等. 甘肃不同品种甘草对肺炎链球菌感染小鼠肺炎的药效[J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17(23)：212-214.

[22] 买买提·吐尔逊，司马义·巴拉提. 反相高效液相色谱法测定新疆不同品种甘草中甘草苷的含量[J]. 时珍国医国药，2009，20(9)：2223-2224.

[23] 关杰敏. 铁皮石斛良种繁育与 GAP 种植关键技术研究[D]. 广州：广州中医药大学，2014.