

· 资源与鉴定 ·

## 川芎种质与药材质量的相关性分析

任敏, 李敏\*, 陈辉, 刘德军, 魏恒, 殷莉丽

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

**[摘要]** **目的:**分析川芎质量及镉含量与其种质的相关性,为选育川芎新品种、解决川芎镉含量超标问题提供参考。**方法:**采集四川省内 6 份不同种质的川芎苓种,测定其镉含量并进行多点评比大田实验,对不同种质对应川芎药材的生物产量、成分含量(浸出物、挥发油、阿魏酸)及重金属镉含量进行测定,结合不同苓种对应药材质量,分析川芎质量及镉含量与其种质的相关性。**结果:**不同种质的川芎质量存在一定差异,以 Z-6 号(眉山市洪雅县瓦屋山镇)川芎苓种对应的川芎药材质量相对较好,其次为 Z-1 号(敖平镇坝苓子)和 Z-2 号(崇州市九龙岗)对应的川芎药材,Z-5 号(彭州市小鱼洞镇)苓种所产川芎药材质量相对较差。6 份不同种质中镉质量分数  $0.31 \sim 2.10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,与其对应药材中镉质量分数( $0.23 \sim 0.59 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )不存在显著相关性( $r=0.585, P=0.223$ )。**结论:**不同种质对应栽培川芎的质量存在一定差异,种质对川芎药材中重金属镉含量影响不大,但川芎中镉含量受到地域因素影响较为明显。

**[关键词]** 川芎; 种质; 镉; 浸出物; 挥发油; 阿魏酸

**[中图分类号]** R282.2; R282.6; R932; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)06-0017-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016060017

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160126.1609.008.html>

**[网络出版时间]** 2016-01-26 16:09

## Correlation Analysis of Germplasm and Medicinal Materials Quality of Chuanxiong Rhizoma

REN Min, LI Min\*, CHNE Hui, LIU De-jun, WEI Heng, YIN Li-li

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze correlation of quality and cadmium content in Chuanxiong Rhizoma herb and its germplasm, in order to provide a scientific basis for breeding of this herb and solving its problem of cadmium content exceeds bid. **Method:** Six different germplasm of Chuanxiong Rhizoma in Sichuan province were collected for multipoint comparison field experiment. Different germplasm corresponding biological yield of Chuanxiong Rhizoma medicinal materials, component content (extract, volatile oil and ferulic acid) and cadmium content combined with three different kinds of corresponding medicinal materials quality were determined, correlation between quality and cadmium content of Chuanxiong Rhizoma with its germplasm. **Result:** Quality of Chuanxiong Rhizoma with different germplasm had some differences, Chuanxiong Rhizoma with germplasm of Z-6

**[收稿日期]** 20150708(001)

**[基金项目]** 国家工信部 2014 年中药材生产扶持项目

**[第一作者]** 任敏,在读硕士,从事中药品种、质量与资源研究, Tel:13688025169, E-mail:331676507@qq.com

**[通讯作者]** \*李敏,教授,博士生导师,从事中药品种、质量及资源研究, Tel:13980038316, E-mail:028limin@163.com

(Wawushan town, Hoanya county, Meishan city) had a relatively good quality, followed by herbs with germplasm of Z-1 (Aoping town) and Z-2 (Chongzhou city), quality of herbs with germplasm of Z-5 (Xiaoyudong town of Pengzhou city) was relatively poor. The content of cadmium in six different germplasm itself was the range of 0.31-2.10 mg·kg<sup>-1</sup>, and cadmium content in its corresponding herb was 0.23-0.59 mg·kg<sup>-1</sup>, there was no significant correlation of cadmium content between herb and germplasm ( $r = 0.585$ ,  $P = 0.223$ ). **Conclusion:** There are some differences among quality of Chuanxiong Rhizoma with different germplasm, there is little effect of germplasm on the content of cadmium in Chuanxiong Rhizoma, but effect of geographical factors on cadmium content in Chuanxiong Rhizoma is obvious.

[**Key words**] Chuanxiong Rhizoma; germplasm; cadmium; extract; volatile oil; ferulic acid

川芎始载于《神农本草经》<sup>[1-2]</sup>,味辛温,用于胸痹心痛、胸肋刺痛、跌扑肿痛、月经不调、经闭痛经、癥瘕腹痛、头痛、风湿痹痛等证。现代药效学研究证明川芎主要具有影响女性生殖系统、人体心血管系统、神经系统、呼吸系统、消化系统,镇痛抗炎,解热,抗肿瘤等作用<sup>[3]</sup>。川芎主产于四川,以都江堰、郫县、彭州、崇庆产质量较优,江苏、江西、甘肃等省亦有产,现市售川芎中约有 90% 产自四川。侯嘉等<sup>[4-5]</sup>研究表明川产川芎苓种质量较优,川芎群体内的个体间移栽可提高群体间的基因交流,利于保护川芎的遗传多样性<sup>[6]</sup>。

一直以来川芎作为我国中草药类的大宗药材出口欧美,但 20 世纪 90 年代以来检测出其重金属镉含量超标( $\leq 0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )<sup>[7]</sup>现象较为普遍,影响了川芎的用药安全性及对外贸易<sup>[8]</sup>。现今就川芎中镉含量的研究较少,已知川芎药材中镉含量与其栽培土壤 pH 存在一定相关性<sup>[9-12]</sup>,川芎种质对药材镉含量影响的研究暂未见报道,且四川省内不同种质的川芎药材质量分析鲜见报道,本实验对此进行相关研究,探讨川芎的质量及镉含量与其种质的相关性,为选育川芎新品种、解决川芎镉含量超标问题提供参考。

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(含 1260 Infinity 型标准自动进样器,1260DAD 型检测器,美国安捷伦公司),DZKW-4 型电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司)。镉元素标准溶液(四川省食品药品检验检测院,批号 GBW08612),阿魏酸对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号 A-002-120911,经 HPLC 检测,纯度 $\geq 98\%$ ),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。2013 年 7 月收集四川省彭州市敖平镇(Z-1),崇州市九龙沟(Z-2),阿坝州汶川县水磨镇(Z-3),彭州市龙门山镇(Z-4),彭州市小鱼洞镇(Z-5),眉山市洪雅县瓦屋山镇(Z-6)共 6 份不同种

质的川芎苓种,经成都中医药大学李敏教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的茎节。收集后的苓种放置于冷藏库(3~5℃)中保存,并于 8 月下旬分别于四川省彭州市敖平镇、眉山市永寿镇进行了不同苓种的多点评比大田试验研究,设置小区面积 10 m<sup>2</sup>,平行 3 次,统一田间管理。2014 年 5 月采收药材,每个小区随机采集 30 株川芎组成 1 份样品,所有川芎样品及苓种去杂,烘干,粉碎,过 60 目筛,制成粉末,进行相关的含量测定,数据采用 Microsoft Excel 2013 和 SPSS 13.0 进行了统计和处理分析。

## 2 方法与结果

**2.1 生物产量** 将样品于 55℃ 烘干,撞去泥土及须根,称重并换算而成。

**2.2 重金属的含量测定** 委托四川省农科院分析测试中心进行检测。照《中国药典》2010 年版一部附录 IX B 镉量测定方法进行测定。

**2.2.1 测定条件** 射频功率 1 400 W,载气流速 0.95 L·min<sup>-1</sup>,辅助气流量 0.90 L·min<sup>-1</sup>,冷却气流速 13.8 L·min<sup>-1</sup>,蠕动泵采集样品时转速 30 r·min<sup>-1</sup>,雾室温度 3℃,积分时间 40 s,重复 3 次。

**2.2.2 镉标准储备液的制备** 精密量取镉元素标准溶液 0.1 mL,用 2% 硝酸溶液稀释成每 1 mL 含镉 1 μg 的溶液,即得,0~5℃ 贮存。

**2.2.3 标准曲线的制备** 分别精密量取镉标准储备液适量,用 2% 硝酸溶液稀释制成系列溶液。分别精密吸取 10 μL 注入石墨炉原子化器,测定吸光度 A,以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y = 3\,359X + 18$  ( $r = 0.999$ ),线性范围 0~50 μg·L<sup>-1</sup>。

**2.2.4 供试品溶液的制备** 精密称定样品粉末 0.5 g,置聚四氟乙烯消解罐内,加硝酸 7 mL,混匀,放置约 1 h 后,设定微波消解程序(功率 1 600 W。经 6 min 温度升至 120℃,持续 5 min;经 5 min 温度

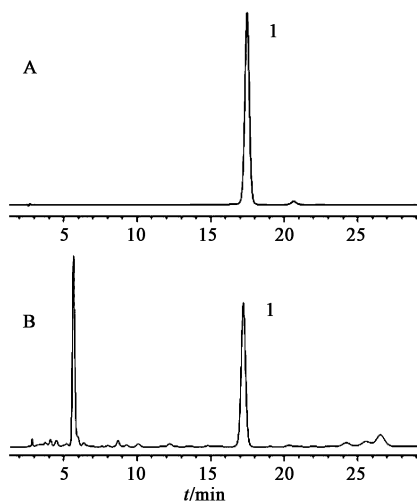
升至 160 ℃,持续 10 min;经 5 min 温度升至 185 ℃,持续 25 min)。消解完全冷却至室温后,打开内塞,挥去浓烟,用水转移消解液至 25 mL 量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,即得。

**2.3 醇溶性浸出物的含量测定** 按照《中国药典》2010 年版一部川芎项下方法测定。

**2.4 挥发油的含量测定** 参照《中国药典》2010 年版一部附录 X D 乙法水蒸气蒸馏法提取并测定。

**2.5 阿魏酸的含量测定** 参照《中国药典》2010 年版一部川芎项下方法进行测定。

**2.5.1 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-1% 乙酸溶液(30:70),检测波长 321 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. 阿魏酸

图 1 川芎 HPLC

Fig.1 HPLC chromatograms of Chuanxiong Rhizoma

**2.5.2 对照品溶液的制备** 精密称取阿魏酸对照品 100 μg,置 5 mL 棕色量瓶中,加 70% 甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

**2.5.3 样品溶液的制备** 精密称取各样品药材粉末(过四号筛)0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,密塞后称定质量,水浴加热回流 30 min,放冷,称定质量,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.5.4 标准曲线的绘制** 精密吸取对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20 μL 按 2.5.1 项下条件测定,以阿魏酸峰面积积分为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y = 27.885X - 1.149$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 0.04 ~ 0.50 μg。

**2.6 灰色关联度的计算** 主要包括参考序列的选择、最优参考序列和最差参考序列关联系数及关联度的计算,根据相对关联度进行排序。

**2.6.1 参考序列的选择** 设有  $n$  个样品,每个样品有  $m$  个评价指标,则组成 1 个评价单元序列,记为  $\{X_{ik}\}$  ( $i = 1, 2, 3 \dots n; k = 1, 2, 3 \dots m$ ),  $n = 37, m = 5$ 。

**2.6.2 原始数据变换** 将不同序列的数据无量纲化,按公式  $Y_{ik} = X_{ik}/X_k$  计算,  $X_k$  为第  $n$  个样品的第  $k$  个指标的均值。

**2.6.3 关联系数计算** 相对于最优参考序列和最差参考序列的关联系数按公式(1)和(2)计算。

$$\xi_{k(s)}^i = \frac{\Delta \min + \rho \Delta \max}{|Y_{ik} - Y_{sk}| + \rho \Delta \max} \quad (1)$$

$$\xi_{k(t)}^i = \frac{\Delta' \min + \rho \Delta' \max}{|Y_{ik} - Y_{tk}| + \rho \Delta' \max} \quad (2)$$

$\Delta \min = |Y_{ik} - Y_{sk}|, \Delta \max = |Y_{ik} - Y_{tk}|$ ,一般取  $\rho = 0.5$  即可满足分辨率要求。

**2.6.4 关联度计算** 相对于最优参考序列和最差参考序列的关联度按公式(3)和(4)计算。

$$r_{i(s)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \xi_{k(s)}^i \quad (3)$$

$$r_{i(t)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \xi_{k(t)}^i \quad (4)$$

$r_i$  为比较数列  $x_i$  对参考数列  $x_k$  的灰关联度,或称为序列关联度、平均关联度、线关联度。 $r_i$  越接近 1,说明相关性越好。

**2.6.5 相对关联度计算** 最佳评价单元是该评价单元与最优参考序列关联度程度最大值,同时为最差参考序列的关联程度最小值。按公式  $r_i = r_{i(s)}/(r_{i(t)} + r_{i(s)})$  计算。

**2.7 不同种质的川芎药材质量分析** 结果见表 1~3。不同种质(Z-1, Z-2, Z-3, Z-4, Z-5, Z-6)对应川芎药材质量的相对关联度分别为 0.867, 0.804, 0.778, 0.778, 0.777, 0.900。结果表明 Z-6 号(眉山市洪雅县瓦屋山镇)川芎苓种对应的川芎药材质量相对较好,其次是 Z-1 号(敖平镇坝苓子)和 Z-2 号(崇州市九龙沟)的川芎药材, Z-5 号(彭州市小鱼洞镇)苓种所产川芎药材质量相对较差。

**2.8 镉含量分析** 测定不同苓种及其对应川芎药材中镉的含量,见表 4。结果 6 份不同种质中镉质量分数 0.31 ~ 2.10 mg·kg<sup>-1</sup>,SPSS 13.0 方差分析显示差异极显著( $P < 0.01$ )。不同种质对应川芎药材中镉质量分数 0.23 ~ 0.59 mg·kg<sup>-1</sup>。除 Z-3 号(汶川县水磨镇)外,不同产地相同种质对应川芎药材中镉含量差异较明显,彭州市敖平镇不同种质对应

表 1 不同种质川芎药材的质量分析

Table 1 Quality analysis of Chuanxiong Rhizoma medicinal materials with different germplasm

产地	苓种编号	产量/kg·667 m <sup>-2</sup>	浸出物/%	挥发油/mL·g <sup>-1</sup>	阿魏酸/%	镉/mg·kg <sup>-1</sup>
眉山市永寿镇	Z-1	364.22	35.68	0.43	0.30	0.59
	Z-2	311.12	33.01	0.35	0.45	0.55
	Z-3	297.43	33.45	0.50	0.39	0.53
	Z-4	321.81	30.46	0.45	0.41	0.51
	Z-5	244.58	34.12	0.23	0.40	0.50
	Z-6	283.59	29.02	0.60	0.29	0.57
彭州市敖平镇	Z-1	189.09	30.44	0.70	0.54	0.28
	Z-2	253.56	31.97	0.65	0.46	0.38
	Z-3	287.41	34.61	0.40	0.42	0.54
	Z-4	257.14	30.12	0.55	0.50	0.48
	Z-5	231.49	29.11	0.50	0.42	0.40
	Z-6	212.37	30.22	0.60	0.32	0.23

表 2 评价单元序列相对于最优参考序列的关联系数与关联度

Table 2 Correlation coefficient and correlation degree of evaluation unit sequence relative to optimal reference sequence

产地	苓种编号	产量	浸出物	挥发油	阿魏酸	镉
永寿镇	Z-1	0.850	1.174	1.276	1.026	1.110
敖平镇	Z-1	0.726	1.000	1.080	1.251	0.779
永寿镇	Z-2	1.116	1.363	0.986	1.205	1.230
敖平镇	Z-2	1.111	1.250	1.100	1.554	1.284
永寿镇	Z-3	1.285	1.408	1.546	1.444	1.234
敖平镇	Z-3	1.304	1.241	1.151	1.387	1.262
永寿镇	Z-4	1.092	1.461	1.319	1.540	1.325
敖平镇	Z-4	1.310	1.304	1.364	1.106	1.354
永寿镇	Z-5	1.468	1.078	0.817	1.259	1.395
敖平镇	Z-5	1.199	1.340	1.531	1.460	1.144
永寿镇	Z-6	1.266	1.491	0.974	1.038	1.228
敖平镇	Z-6	0.859	1.084	1.388	0.860	0.527

表 3 评价单元序列相对于最差参考序列的关联系数与关联度

Table 3 Correlation coefficient and correlation degree of evaluation unit sequence relative to the worst reference sequence

产地	苓种编号	产量	浸出物	挥发油	阿魏酸	镉
永寿镇	Z-1	0.092	0.206	0.277	0.140	0.173
敖平镇	Z-1	0.068	0.131	0.160	0.257	0.078
永寿镇	Z-2	0.176	0.373	0.127	0.224	0.241
敖平镇	Z-2	0.174	0.256	0.168	1.000	0.285
永寿镇	Z-3	0.285	0.447	0.943	0.523	0.244
敖平镇	Z-3	0.304	0.249	0.193	0.411	0.266
永寿镇	Z-4	0.165	0.567	0.320	0.905	0.327
敖平镇	Z-4	0.310	0.304	0.376	0.171	0.362
永寿镇	Z-5	0.590	0.159	0.085	0.263	0.423
敖平镇	Z-5	0.220	0.344	0.848	0.565	0.189
永寿镇	Z-6	0.269	0.664	0.123	0.144	0.240
敖平镇	Z-6	0.094	0.162	0.413	0.094	0.041

川芎药材镉含量平均值较眉山市永寿镇的约高  $0.16 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。不同产地不同种质与对应川芎药材中镉含量相关性不显著 ( $r = 0.585, P = 0.223$ ), 表明川芎种质对其药材中镉含量影响不大。

表 4 不同苓种及其对应川芎药材中镉含量  
Table 4 Cadmium content in different kinds of Chuanxiong Rhizoma germplasm and its corresponding medicinal materials

				$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			
产地	编号	苓种	药材	产地	编号	苓种	药材
敖平镇	Z-1	0.80	0.59	永寿镇	Z-1	0.80	0.28
	Z-2	1.92	0.55		Z-2	1.92	0.38
	Z-3	1.34	0.53		Z-3	1.34	0.54
	Z-4	0.31	0.51		Z-4	0.31	0.48
	Z-5	2.10	0.50		Z-5	2.10	0.40
	Z-6	0.81	0.57		Z-6	0.81	0.23

### 3 讨论

川芎人工栽培有近千年历史, 一直采用高山育种、坝区繁殖的栽培方式。近些年由于气候及交通等原因, 逐渐出现坝区育种繁殖方式。四川省内除道地产区都江堰、郫县、敖平外, 崇州、邛崃、大邑等地均有栽培, 且当地山区均有川芎苓种繁殖, 不同产地川芎苓种, 即不同种质川芎苓种, 栽培环境、栽培方式均存在差异, 导致其对应栽培川芎药材的质量不同, 而坝区与高山苓种对应川芎药材质量评价鲜见报道, 本文研究结果显示坝区苓种与高山苓种对应川芎药材质量之间不存在明显差异。近几年发现坝区苓种较高山苓种在种植过程中更耐高温, 但关于其易感染病虫害、物种退化等方面还需进一步跟踪调查。

自 20 世纪 90 年代以来, 川芎药材中镉含量超标现象较为普遍, 影响了其用药安全及外贸出口, 本文通过探讨川芎质量及镉含量与其种质相关性, 可为选育川芎新品种、解决川芎镉含量超标问题提供

参考。研究结果表明川芎种质对其栽培药材中镉含量影响不大, 川芎中镉含量受地域因素的影响比较明显, 在后续研究中应注重观察土壤环境及栽培方式对川芎镉元素超标影响的讨论与分析。

### [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] 孙冯翼. 神农本草经[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2006: 104.

[3] 杨丽红, 谢秀琼, 万丽, 等. 川芎化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1576-1577.

[4] 侯嘉. 不同产地川芎种质资源的品质研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2007.

[5] 蒋桂华. 川芎苓种标准化及种质保存技术的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.

[6] 王岚. 用 ISSR 分子标记研究川产道地药用植物川芎的遗传多样性[D]. 成都: 四川大学, 2007.

[7] 中华人民共和国对外贸易经济合作部. 中华人民共和国外贸行业标准(WM2-2001): 药用植物及制剂进出口绿色行业标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001: 101.

[8] 马鸣, 卢建中. 中药材中重金属含量超标的现状调查[J]. 中国中医药咨讯, 2010, 2(34): 9-10.

[9] 易桂花, 彭培好. 川产道地中药材川芎根茎对土壤重金属元素的吸收富集特征[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(33): 10744-10745.

[10] 李晓念, 陈幸, 李彬, 等. 川产道地药材川芎中重金属的来源途径研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19361-19363.

[11] 李青苗, 李彬, 徐琴, 等. 川产道地药材川芎中镉含量的影响因素初探[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(16): 7114-7115, 7118.

[12] 银玲, 彭月, 陈鸿平, 等. 川芎有效成分与土壤营养价值相关性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24): 121-125.

[责任编辑 刘德文]