

丹参药材中亚硝酸盐和硝酸盐的含量比较

庞小存^{1,2}, 王东辉^{1,2}, 李先恩^{1*}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193;
2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的:**通过建立中药丹参中亚硝酸盐和硝酸盐的测定方法来测定不同产地、不同煎煮时间丹参中亚硝酸盐和硝酸盐含量,并探究丹参体内硝酸盐积累的因素。**方法:**在超声条件下,利用去离子水萃取试样中的亚硝酸盐和硝酸盐,萃取液经 C₁₈小柱净化,离心过滤后直接进样,使用阴离子交换色谱柱分离,电导检测器检测,外标法定量。**结果:**亚硝酸和硝酸根离子的线性关系良好,加样回收率介于 93.1% ~ 105.9%,方法的精密度和重复性良好。测得不同产地、不同品种、不同栽培措施处理的丹参中硝酸盐含量很高并且有显著性差异,同一品种不同器官中硝酸盐含量茎 > 根 > 叶。**结论:**离子色谱法可以同时检测丹参中亚硝酸根离子和硝酸根离子,灵敏度高,结果准确可行,为丹参的质量控制提供了一种简便快速的方法。同时,参考文献与其他 10 多种常用中药材的硝酸根含量作比较得出丹参是一种容易富集硝酸盐的作物,其硝酸盐的累积与种类、品种及部位等内在因素和施肥、栽培措施等外在因素密切相关。

[关键词] 离子色谱; 丹参; 亚硝酸根离子; 硝酸根离子; 含量

[中图分类号] R932;R282;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)13-0048-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130048

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.0940.026.html>

[网络出版时间] 2017-04-20 9:40

Compaision on Content of Nitrite and Nitrate in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma

PANG Xiao-cun^{1,2}, WANG Dong-hui^{1,2}, LI Xian-en^{1*}

(1. *Institute of Medical Plants, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China*; 2. *School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish a method to determine the contents of nitrite and nitrate in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma of different origins and different boiling times, in order to explore the factors of nitrate accumulation in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma. **Method:** Under ultrasonic conditions, nitrite and nitrate in samples were extracted with deionized water. The extracting solution was purified through C₁₈ column and directly injected after centrifugal filtration. Anion exchange column was used to separate. Conductivity detector was used to detect, and the external standard method was used to quantify. **Result:** The linear relationship of nitrite and nitrate were good respectively, the recoveries rate was between 93.1% and 105.9%, and the precision and repeatability of the method were good. The content of nitrate in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma of different origin, different varieties and different cultivation measures was high and significantly different. The order of the content of nitrate in different organs of same variety was stem > root > leaf. **Conclusion:** Ion chromatography can simultaneously detect nitrite ions and nitrate ions in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma, with a high sensitivity and accuracy. It provides a simple and rapid method for the quality control of Salviae Miltiorrhizae Radix et

[收稿日期] 20170113(011)

[基金项目] 中医药行业科研专项(201407005)

[第一作者] 庞小存, 硕士, 从事药用植物种质资源研究, Tel:18810941256, E-mail: xiaocunpang@126.com

[通讯作者] *李先恩, 博士, 研究员, 从事药用植物种质资源研究, Tel:010-57833351, E-mail: xeli@implad.ac.cn

Rhizoma. At the same time, it is concluded that *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* is a crop that is easy to enrich nitrate compared with the nitrate content in other ten kinds of commonly used Chinese herbal medicines, and the accumulation of nitrate is closely related to such internal factors as species, varieties and location and such external factors as fertilization and cultivation measures.

[**Key words**] ion chromatography; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; nitrite ion; nitrate ion; content

自然界硝酸盐广泛分布在于土壤、饮用水和食品中。硝酸盐本身对人体无害或毒害性相对较低,但其代谢产物亚硝酸盐,*N*-亚硝基化合物会危害人体的健康,特别是 *N*-亚硝基化合物与许多癌症^[1]发生发展有关。研究表明食用亚硝酸盐和硝酸盐含量较高的蔬菜会使人们患肠胃癌、高铁血红蛋白症等疾病的概率上升^[2-3]。因此,世界各国都建立了食品中亚硝酸盐含量的限量标准。关于食品中对硝酸盐及亚硝酸盐的含量变化研究主要集中于叶类蔬菜中。研究表明叶类蔬菜硝酸盐及亚硝酸盐的累积与蔬菜种类、品种及部位有关,同时也与栽培环境如光照、温度、水分、施肥种类与施肥量及栽培方式等密切相关。但是,对中药材中硝酸盐及亚硝酸盐含量变化规律的研究未见报道。

离子色谱法 (ion chromatography, IC) 在阴离子方面的成就较为广泛,主要应用于测定无机阴离子和有机化合物的含量。在分析卤素离子和卤素含氧酸,氰化物,碳酸盐以及 N, P 和 S 的形态分析中, IC 是目前首选的方法。中草药成分比较复杂,其水提液会溶解一定量的有色有机物(酚酸类物质)使提取液显示较深颜色,用比色法进行测定,会严重影响结果的准确性^[4]。同时,比色法只能测定单一离子,操作较复杂,而离子色谱法在前处理完善的条件下,可以快速准确地测定中草药中无机阴离子。屈晶等^[5]建立并优化了分析中草药中的无机阴离子、有机酸和糖类化合物的阴离子交换色谱方法。结果显示该方法可以快速有效地分离测定 F^- , Cl^- , NO_3^- 等无机盐离子和草酸等有机酸。准确度和回收率较高,满足实验要求,本研究选用离子色谱法测定硝酸盐和亚硝酸盐的含量。

丹参是临床常用大宗中药材之一,种植面积很大。由于栽培过程中化肥的大量使用,丹参单位面积产量显著增加,但是是否会带来硝酸盐及亚硝酸盐的残留以及它们的含量变化规律等不得而知。张元等^[6]对丹参注射液中的 6 种无机阴离子含量进行了测定,庞小存^[7]测定了黄芩、金银花等中药材中的硝酸盐与亚硝酸盐的含量,丹参中硝酸盐和亚硝

酸盐的含量测定方法已基本建立,但丹参药材中硝酸盐和亚硝酸盐含量的高低与哪些因素有关,目前尚没有报道,本文利用离子色谱法分析了不同产地、不同品种、连作后丹参药材中亚硝酸盐和硝酸盐含量,探究影响丹参中亚硝酸盐和硝酸盐积累的因素,对确保丹参的质量安全有极其重要的意义。

1 材料

试验用丹参品种为北丹 1 号(选育品种),陕黄 1 号(选育品系),滨海丹参(来自江苏滨海县)。于 2014 年春季栽培于北京市海淀区药植所栽培试验基地,采用根段繁殖,行距 45 cm,株距 30 cm,常规管理。于当年 10 月初地上部枯萎前挖去全株,分为地下根及根茎、茎及叶三部分(由于陕黄 1 号茎不明显,所以只分成根、茎两部分),晒干。

选用北丹 1 号为试验品种,试验小区面积 30 m² (5 m × 6 m), 3 次重复。于 2014 年春季栽培于北京市海淀区药植所栽培试验基地,采用根段繁殖,行距 45 cm,株距 30 cm,常规管理。丹参施肥试验处理,头茬常规施肥^[8]:鸡粪 500 kg·(667 m²)⁻¹,复合肥 100 kg·(667 m²)⁻¹;连作常规施肥^[8]:鸡粪 500 kg·(667 m²)⁻¹,复合肥 100 kg·(667 m²)⁻¹。连作生物有机肥,生物有机肥 500 kg·(667 m²)⁻¹(其中 250 kg 撒施,250 kg 按 1:1 伴土穴施),复合肥 100 kg·(667 m²)⁻¹。

山东临朐丹参、山东莒县丹参、山西阳泉丹参、山西万荣丹参、河北行唐丹参、河北安国丹参均购自河北省安国市药材市场,经药用植物研究所李先恩研究员鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的干燥根及根茎。收获的丹参药材在 50 °C 烘箱内干燥 24 h。干燥后的丹参用高速粉碎机粉碎,过 60 目筛,待用。

ICS-1000 型离子色谱仪(包括 Chromeleon 7 色谱工作站,美国 Dionex 公司),3K15 型离心机(美国 Sigma 公司),KQ5200DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),AL204 型 1/1 万电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],HH-6 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),FW135 中草药

粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司), Milli-Q 型超纯水处理系统(美国 Millipore 公司)。

亚硝酸钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 20110216), 硝酸钾(西陇化工股份有限公司,批号 140222)对照品均为分析纯(纯度 $\geq 99.0\%$); 碳酸钠(纯度 $\geq 99.5\%$), 碳酸氢钠(纯度 $\geq 99.7\%$) 均购自德国 Sigma 公司。水为去离子水(电阻率 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$), 津腾尼龙 66 滤膜($0.22 \mu\text{m}$)。

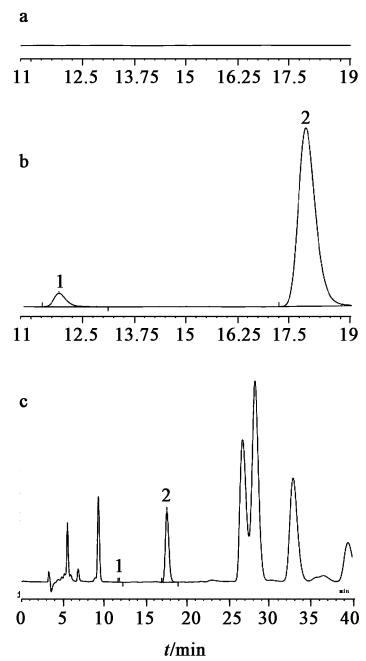
2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 精密称取粉碎样品 0.50 g , 置锥形瓶中, 精确加入去离子水 50 mL , 超声处理 30 min , 转移提取液于 10 mL 离心管中, $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心 15 min , 取上清液过 C_{18} 小柱(依次用甲醇、水淋洗预处理), 弃去前流出液 5 mL , 收集后流出液 5 mL , 流出液用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤头滤过, 滤液直接进样。每个供试品称取 3 份, 做平行试验。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取经 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥至恒重的亚硝酸钠 0.75 g 于 500 mL 量瓶中加水定容, 配制 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_2^-$ 对照品储备液; 精密称取硝酸钾 0.815 g 于 500 mL 量瓶中加水定容, 配成 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_3^-$ 对照品储备液; 精密移取亚硝酸钠对照品储备液 1 mL 于 100 mL 量瓶中, 配制 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_2^-$ 对照品溶液。取 NO_2^- 对照品溶液 $0.1, 0.2, 0.3, 0.6, 1.0, 2.5, 5.0 \text{ mL}$ 于 50 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 配成 $0.02, 0.04, 0.06, 0.12, 0.2, 0.5, 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_2^-$ 系列溶液。取 $0.25, 0.50, 1.00, 2.50, 4.00, 5.00 \text{ mL}$ NO_3^- 对照品储备液至 50 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 配成 $5, 10, 20, 50, 80, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_3^-$ 系列 1 溶液; 取 NO_3^- 对照品储备液 $0.25, 0.50, 1.25, 2.50, 5.00, 7.50 \text{ mL}$ 至 25 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 配成 $10, 20, 50, 100, 200, 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_3^-$ 系列 2 溶液。取 7 个 50 mL 量瓶, 分别取 NO_2^- 对照品溶液 $0.1, 0.2, 0.3, 0.6, 1.0, 2.5, 5.0 \text{ mL}$ 依次加入, 再分别取 NO_3^- 对照品溶液 $0.25, 0.50, 1.00, 2.50, 4.00, 5.00, 10.00 \text{ mL}$ 依次加入, 分别加水至刻度, 配成不同质量浓度混合对照品溶液。

2.3 色谱条件 IonPac AS23 ($4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 离子交换柱, IonPac AS23 ($4 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 保护柱, ASRS300-4 mm 抑制器, 淋洗液浓度为 $4.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 。 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$, 流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样时间为 180 s , 抑制器 ASRS 4 mm 阴离子抑制器, 加电自动抑制, 抑制温度为 $19 \text{ }^\circ\text{C}$, 抑制电流 21 mA , 电导检测器, 检测

池温度 $36 \text{ }^\circ\text{C}$, 柱温室温, 进样量 $25 \mu\text{L}$ 。空白、对照品和丹参样品的离子色谱见图 1。



a. 空白溶液; b. 离子混合对照品溶液; c. 中药丹参样品; 1. 亚硝酸根离子; 2. 硝酸根离子

图 1 丹参样品离子色谱

Fig. 1 Ion chromatograms of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma

2.4 测定方法 按 2.3 项下色谱条件, 待基线稳定后, 依次取相同体积的对照溶液和待测样品溶液, 注入离子色谱仪, 根据保留时间定性, 标准曲线法定量。

2.5 丹参饮片水煎液测定 取山西阳泉丹参 20 g 于圆底烧瓶中, 加入去离子水 400 mL , 加热回流, 沸腾后开始计时, 在 $0, 10, 20, 30, 40, 50 \text{ min}$ 时分别取水煎液 10 mL 用于测定。

2.6 方法学考查

2.6.1 线性关系及最低检出限试验 分别吸取 NO_2^- 和 NO_3^- 系列溶液 1 mL , 手动注入离子色谱仪, 按 2.3 项下色谱条件分离, 测定。以峰面积为纵坐标, 对照品溶液的浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程、相关系数, 线性范围见表 1。

将混合对照品溶液依次稀释至不同浓度, 按 2.3 项下色谱条件分别检测。以信噪比 $3:1$ 作为检测限, 计算 NO_2^- 和 NO_3^- 检出限; 以信噪比 $10:1$ 作为定量限, 计算 NO_2^- 和 NO_3^- 定量限。见表 1。

2.6.2 精密度试验 取同批次丹参样品, 按供试品溶液制备方法平行制备 6 份, 按 2.4 项下测定方法, 依次测定, 样品中 NO_2^- 和 NO_3^- 含量的 RSD 分别为 1.0% , 1.3% , 表明仪器精密度良好。

表 1 离子色谱法的线性方程和检出限

Table 1 Linear equations and detection limit of ion chromatograms

| 离子组分 | 回归方程 | r | 线性范围/mg·L ⁻¹ | 检出限/mg·L ⁻¹ | 定量限/mg·L ⁻¹ |
|-----------------------------------|--------------------|----------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| NO ₂ ⁻ | Y=0.154 0X-0.000 8 | 0.999 69 | 0.02~4.00 | 0.05 | 0.02 |
| NO ₃ ⁻ 系列 1 | Y=0.145 5X+0.177 1 | 0.999 09 | 0.50~30.00 | 0.10 | 0.50 |
| NO ₃ ⁻ 系列 2 | Y=0.143 9X+1.011 3 | 0.999 04 | 1.00~50.00 | 0.20 | 1.00 |

2.6.3 稳定性试验 取一份丹参供试品溶液,分别于 0,2,6,12,24 h 进行测定,记录 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 的峰面积,RSD 分别为 1.7%,2.2%。结果表明,供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.6.4 加样回收率试验 取同批次丹参样品,同时添加质量浓度为 10 mg·L⁻¹NO₂⁻ 对照品溶液 0.5 mL 和 1 000 mg·L⁻¹NO₃⁻ 对照品储备液 1 mL,平行 6 份,按供试品溶液制备方法制备样品,对 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 进行测定。NO₂⁻ 回收率为 93.1%~105.9%,平均回收率为 102.0%,RSD 0.8%;NO₃⁻ 回收率为 93.7%~101.5%,平均回收率为 100.5%,RSD 1.3%。

3 结果与分析

3.1 不同品种丹参中亚硝酸盐和硝酸盐含量比较

丹参的不同品种及植株的不同部位中亚硝酸盐和硝酸盐含量测定结果见表 2。从表 2 的结果可以看出,丹参不同品种根中亚硝酸盐含量有明显差异,其中滨海丹参是北丹 1 号、陕黄 1 号中的 2 倍,而北丹 1 号及陕黄 1 号差别不大。3 个丹参品种根中硝酸盐含量差异十分明显,表现为滨海丹参 > 北丹 1 号 > 陕黄 1 号。不同品种丹参叶中亚硝酸盐含量差异不大,而根中硝酸盐含量差异明显,表现为陕黄 1 号 > 北丹 1 号 > 滨海丹参。不同品种丹参茎中亚硝酸盐含量差异不大,而根中硝酸盐含量具有明显差异。

从植株的不同部位亚硝酸盐含量来看,滨海丹参为茎 > 根 > 叶,三者之间具有明显的差异;北丹 1 号为茎 > 根 > 叶,根、茎之间差异不明显,但与叶之间具有明显的差异;陕黄 1 号为根 > 叶,根、叶差异明显。3 个品种植株的不同部位硝酸盐含量均表现为茎 > 根 > 叶,三者之间差异十分明显。

3.2 不同产地丹参中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数比较

不同产地丹参药材中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数测定结果见表 3。从表 3 的结果可以看出,不同产地丹参药材中亚硝酸盐质量分数具有明显差异,质量分数范围为 1~10 mg·kg⁻¹,以产于河北行塘丹参最高,质量分数达 9.5 mg·kg⁻¹,产于河北安

表 2 不同品种丹参中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Content of nitrite and nitrat in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma from different regions($\bar{x} \pm s, n=3$) mg·kg⁻¹

| 品种 | 部位 | NO ₂ ⁻ | NO ₃ ⁻ |
|--------|----|------------------------------|------------------------------|
| 滨海丹参 | 根 | 11.2 ± 1.0a | 13 516.4 ± 230.2c |
| 北丹 1 号 | 根 | 5.5 ± 0.2b | 4 194.8 ± 59.5d |
| 陕黄 1 号 | 根 | 5.8 ± 0.4b | 1 947.4 ± 73.8f |
| 滨海丹参 | 叶 | 2.9 ± 0.4c | 2 864.1 ± 17.5e |
| 北丹 1 号 | 叶 | 2.5 ± 0.4c | 2 308.1 ± 52.0f |
| 陕黄 1 号 | 叶 | 2.8 ± 0.4c | 3 150.0 ± 76.0e |
| 滨海丹参 | 茎 | 7.3 ± 1.4ab | 49 659.8 ± 22.7a |
| 北丹 1 号 | 茎 | 6.7 ± 1.1ab | 15 142.3 ± 16.3b |

注:不同标记字母间即为差异显著 P < 0.05(表 3 同)。

国的丹参质量分数最低为 1.8 mg·kg⁻¹,两者相差 5 倍以上。其他产地之间也具有明显的差异。不同产地丹参药材中硝酸盐质量分数差异十分明显,质量分数范围为 800~4 600 mg·kg⁻¹,以产于山西阳泉丹参质量分数最高,达 4 516 mg·kg⁻¹,山东临胸的丹参质量分数最低为 826 mg·kg⁻¹,两者相差近 5 倍。其他产地之间也具有明显的差异。

表 3 不同产地丹参药材中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Content of nitrite and nitrat in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma from different regions($\bar{x} \pm s, n=3$) mg·kg⁻¹

| 产地 | NO ₂ ⁻ | NO ₃ ⁻ |
|------|------------------------------|------------------------------|
| 山东临胸 | 5.1 ± 0.3a | 826.7 ± 4.1f |
| 山东莒县 | 2.5 ± 0.4b | 1 024.3 ± 11.7e |
| 山西阳泉 | 3.9 ± 0.1a | 4 516.1 ± 27.0a |
| 山西万荣 | 5.4 ± 0.8a | 2 962.6 ± 2.0c |
| 河北行塘 | 9.5 ± 1.6a | 1 823.0 ± 20.1d |
| 河北安国 | 1.8 ± 0.2b | 4 016.3 ± 44.3b |

3.3 连作及施肥对丹参药材中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数影响的比较

连作及施肥对丹参药材中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数影响的测定结果见表 4。从表 4 的结果可以看出,连作对丹参中亚硝酸盐质量分数变化影响不大,其质量分数在 6.4 mg·kg⁻¹左右;而生物有机肥能够明显减少亚硝酸盐质量分

数。在施用相同肥料条件下,连作能够明显促进丹参中硝酸盐的积累,是头茬丹参质量分数的 5 倍;在相同的土壤条件下,生物有机肥能够明显降低丹参中硝酸盐质量分数。

表 4 连作及施肥丹参中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 4 Contents of nitrite and nitrat in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* from continuous cropping and fertilization ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
mg·kg⁻¹

| 栽培方式 | NO ₂ ⁻ | NO ₃ ⁻ |
|---------|------------------------------|------------------------------|
| 头茬常规施肥 | 6.4 ± 0.5a | 869.3 ± 142.3c |
| 连作常规施肥 | 6.3 ± 1.0a | 4 403.7 ± 120.4a |
| 连作生物有机肥 | 4.7 ± 0.5b | 1 705.7 ± 266.2b |

3.4 丹参饮片水煎过程中亚硝酸盐和硝酸盐含量比较 丹参饮片水煎过程中亚硝酸盐和硝酸盐测定结果见表 5。结果显示随着煎煮时间的延长,水煎液中 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 质量分数逐渐增加,20 min 时 NO₂⁻ 质量分数达到 135 mg·(400 L)⁻¹ 左右后增加不明显,而 NO₃⁻ 质量分数在水煎 10 min 时达到 87 g·(400 L)⁻¹ 左右后增长缓慢。说明中药丹参在煎煮 20 min 左右后,其中所含 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 会全部进入水煎液中。

表 5 丹参饮片煎煮过程中亚硝酸盐和硝酸盐质量分数变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 5 Contents of nitrite and nitrat in period of decocting *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* pieces ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 煎煮时间 | NO ₂ ⁻ / mg·(400 L) ⁻¹ | NO ₃ ⁻ / g·(400 L) ⁻¹ |
|------|---|--|
| 0 | 45.45 ± 0.8b | 47.257 ± 1.0b |
| 10 | 77.95 ± 1.3b | 87.264 ± 1.0a |
| 20 | 135.87 ± 2.5a | 94.664 ± 1.5a |
| 30 | 147.86 ± 1.4a | 94.639 ± 2.8a |
| 40 | 140.27 ± 4.5a | 102.212 ± 1.4a |
| 50 | 154.16 ± 5.1a | 96.887 ± 1.7a |

4 讨论

本文建立的超声提取,利用离子色谱法测定丹参中亚硝酸盐和硝酸盐,具有取样量少(0.5 g),耗时短(约 40 min),前处理简单,专属性强,灵敏度、准确度高,适用于大批丹参样品的检测。

目前,对于植物体内硝酸盐积累的研究多见于蔬菜。Cantliffe^[9]首先提出蔬菜不同品种间硝酸盐含量有显著差异。赵建平,沈明珠等^[10-11]对蔬菜硝酸盐积累生理机制进行了总结。刘社平等^[12]通过对不同基因型萝卜品系硝酸盐含量的差异比较,指

出通过选育优质品种来进一步降低蔬菜体内硝酸盐积累量是切实可行的。但对于中药丹参中硝酸盐积累和控制的研究还未见报道。本研究结果显示,在同一栽培条件下,不同品种丹参中硝酸盐含量有显著性差异,丹参根中最高和最低含量之差可达到 11 569 mg·kg⁻¹,表明同一类作物的硝酸盐含量积累受基因型的控制。同时,同一株丹参的不同器官组织内硝酸盐含量亦有很大差异,叶内硝酸盐含量最低,根和茎内含量依次增加。出现这种情况可能与丹参不同部位硝酸还原酶的活力不同有关,高活力的硝酸还原酶加速催化硝酸盐的还原,因而硝酸盐含量低。丹参作物硝酸盐的积累是植株的遗传因素与外部环境共同作用的结果,机制十分复杂。因此,筛选硝酸盐积累低的优良丹参品种是控制丹参质量的途径之一。庞小存^[7]对常见 11 种中药的硝酸盐和亚硝酸盐含量进行了测定,中药材中硝酸盐质量分数在 200 mg·kg⁻¹ 左右,本研究结果不同品种、不同产地丹参中硝酸盐的质量分数在 800 ~ 4 600 mg·kg⁻¹,表明丹参是一种易富集硝酸盐的作物。

营养元素的供应、外界光照、温度、水分等多种外部环境因素对丹参体内硝酸盐的积累同样发挥着重要的作用。罗德涛等^[13]发现了不同氮肥及用量可以显著促进甘薯叶片中硝酸盐、亚硝酸盐含量。吴俊侠等^[14]研究了施肥模式对生菜硝酸盐含量影响,发现生菜的硝酸盐含量随着化肥施肥量的增加而增高,施用有机肥生菜硝酸盐含量最低。本文在外部环境相同的条件下,考察了肥料和连作障碍对丹参体内硝酸盐积累的影响,实验结果表明,生物有机肥能够显著降低硝酸盐的积累,其机制一方面可能是有机质生物降解释放养分的过程缓慢,丹参吸收养分更加充分;另一方面可能是肥料中的 NH₄⁺ 被有机质吸收、固定, NH₄⁺ 的硝化反应受到抑制,进而促进了土壤的反硝化过程,土壤中硝态氮的形成减少,丹参没有对氮素出现奢侈吸收,丹参中硝酸盐的累积减少。连作区丹参体内硝酸盐含量比头茬区要高得多,表明连坐障碍不仅会影响丹参的品质和质量,同时还会影响丹参对硝酸盐的积累,原因可能与丹参连作障碍导致土壤有害微生物增加和自毒作用有关,有害微生物增加可以加快 NH₄⁺ 的硝化作用,使根部硝酸盐含量增加,促进根部吸收。而自毒作用可能抑制丹参的代谢反应,尤其是硝酸还原酶的活性降低,使硝酸盐在丹参体内大量积累。不同产地丹参中硝酸盐含量具有显著性差异,表明硝酸盐的积累具有一定的地域性差异,说明硝酸盐积累

影响因素较多。山东丹参中硝酸盐相对含量最少,表明硝酸盐的积累可能与药材的道地性有关。因此,可以通过筛选低硝酸盐积累品种、优化农艺手段等措施来减少丹参体内硝酸盐的积累,确保中药丹参的质量安全。

食品中污染物限量国家标准(GB 2762-2012)^[15]中规定亚硝酸盐(以 NaNO_2 计)限量为蔬菜及其制品 $\leq 4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,腌渍蔬菜 $\leq 20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,乳及乳制品 $\leq 2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 粮食 $\leq 3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,矿泉水 $\leq 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 等;硝酸盐(以 NaNO_3 计)限量为:矿泉水 $\leq 4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,特殊膳食食品中婴儿配方食品 $\leq 100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,婴幼儿灌装辅助食品 $\leq 200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,蔬菜、乳制品等没有硝酸盐含量的限量标准。本实验的结果表明,部分丹参中亚硝酸盐含量高于国标规定的限量指标,而几乎所有丹参中硝酸盐含量差异非常明显,同时是国标规定限量标准的10~100倍。丹参水煎液中也含有较多的硝酸盐,说明人体在服用丹参有关药材时,会摄入大量亚硝酸盐和硝酸盐,对人体健康会产生影响。因此,合理制定中药材中 NO_2^- 和 NO_3^- 限量标准值得关注。

[参考文献]

[1] Corre W J, Breimer T. Nit rate and nitrite in vegetable [M]. Wageningen Center: Agricultural Publishing and Documentation, 1979: 85.
[2] Bartsch H, Ohshima H, Pignatelli B. Inhibitors of endogenous nitrosation: mechanisms and implications in human cancer prevention [J]. *Mutat Res*, 1988, 202(2): 307-324.
[3] Slob W, Berg R V D, Van Veen M V. A statistical exposure model applied to nitrate intake in the Dutch population [M]. Strasbourg: Council of Europe Press, 1995: 75-82.

[4] 郭新苗,郭庆梅,周凤琴. 中药金银花中4种阴离子含量的离子色谱法测定[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(12): 3067-3069.
[5] 屈晶,周光明. 离子色谱法测定中草药成分的研究[J]. *食品工业科技*, 2010(7): 357-359.
[6] 张元,李伟青,周伟娥,等. 离子色谱法同时测定丹参注射剂中6种无机阴离子[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(17): 24-27.
[7] 庞小存. 常用中药材中亚硝酸盐及硝酸盐等六种阴离子含量分析及比较[D]. 北京:北京中医药大学, 2016.
[8] 王娜妮,张扬,黄孝闻,等. 超声辅助离子色谱法分析5种中药饮片中有机关酸含量[J]. *浙江中医杂志*, 2015, 50(4): 310-311.
[9] Cantliffe D J. Nitrate accumulation in vegetable crops affected by Photoperiodlightduration [J]. *Amer Soc Hort Sci*, 1972, 97(3): 414-418.
[10] 赵建平. 蔬菜硝酸盐积累生理机制研究进展[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(1): 93-96.
[11] 沈明珠,翟宝杰,东惠茹,等. 蔬菜硝酸盐累积的研究[J]. *园艺学报*, 1982, 9(4): 41-48.
[12] 刘社平,任喜波,戴希尧,等. 不同基因型萝卜品系硝酸盐含量的差异比较与聚类分析[J]. *北方园艺*, 2010(24): 146-148.
[13] 罗德涛,聂呈荣. 不同氮肥及用量对甘薯叶亚硝酸盐、硝酸盐含量的影响[J]. *佛山科学技术学院学报*, 2015, 33(6): 5-9.
[14] 吴俊侠,董元华,李建刚,等. 施肥模式对设施生菜产量、硝酸盐含量及土壤酶活性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(2): 147-149.
[15] GB 2762-2012, 食品安全国家标准食品中污染物限量[S]. 北京:中国标准出版社, 2012.

[责任编辑 邹晓翠]