

不同生长期甘松中无机元素含量分析

张宇霞^{1,2}, 马世震^{1*}, 迟晓峰¹, 冯海生¹, 冀恬¹, 李彩霞¹

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

[摘要] 目的: 测定不同生长期甘松地上和地下部分 22 种无机元素的含量, 调查该药材的重金属含量。方法: 样品经微波消解后分别采用原子吸收分光光度法测定 Pb 和 Cd 含量, 原子荧光光谱法测定 Hg 和 As 含量。利用电感耦合等离子体原子发射光谱法测定 Cu, P, S, K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn 等其他元素含量, 等离子体射频发射功率 1.20 kW, 等离子体气流量 15.0 L·min⁻¹, 雾化器流量 0.75 L·min⁻¹, 辅助气流量 1.50 L·min⁻¹, 观察高度 10 mm, 一次读数时间 3.0 s, 稳定时间 15 s。结果: 甘松不同部位中 Pb, Cd, Hg, As, Cu 含量均符合 2010 年版《中国药典》规定; K, Mg, P, Ca, S, Ba 含量较丰富, Al, Fe, Na 次之, 微量元素 Li, Mn, Sr, Ti, V, Zn 含量均较低, 所有样品中均未检测出 Mo。结论: 甘松不同部位中 22 种无机元素含量与药材生长期、生长环境均有一定联系, 为该药材的规范化栽培和综合开发利用提供参考。

[关键词] 甘松; 生长期; 药材部位; 无机元素; 电感耦合等离子体原子发射光谱法

[中图分类号] R282.4; R931.4; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0079-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060079

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150127.1149.009.html>

[网络出版时间] 2015-01-27 11:49

Analysis of Inorganic Elements in *Nardostachys chinensis* from Different Growth Stages ZHANG Yu-xia^{1,2}, MA Shi-zhen^{1*}, CHI Xiao-feng¹, FENG Hai-sheng¹, JI Tian¹, LI Cai-xia¹ (1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

[Abstract] **Objective:** To determine 22 inorganic elements in the aerial and underground parts of *Nardostachys chinensis* from different growth stages and investigate the content of heavy metal in *N. chinensis*. **Method:** Samples were dissolved by microwave digestion using nitric acid. Contents of Pb and Cd were determined by atomic absorption spectrophotometry (AAS), contents of Hg and As were determined by atomic fluorescence spectrometry (AFS). Contents of Cu, P, S and other elements were determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES), plasma radiofrequency transmission power was 1.20 kW, plasma gas flow was 15.0 L·min⁻¹, atomizer gas flow was 0.75 L·min⁻¹, auxiliary gas flow was 1.50 L·min⁻¹, observation height was 10 mm, one reading time was 3.0 s, stability time was 15 s. **Result:** Contents of Pb, Cd, Hg, As and Cu in different parts of *N. chinensis* were in line with the 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia* requirements. Contents of K, Mg, P, Ca, S and Ba were rich, contents of Al, Fe and Na were higher, contents of trace elements of Li, Mn, Sr, Ti, V and Zn were low. Mo was not detected in all samples. **Conclusion:** Contents of 22 inorganic elements in different parts of *N. chinensis* are closely related to their growth stages and growing environment, this study can provide a scientific basis for standardized cultivation and comprehensive utilization of *N. chinensis*.

[Key words] *Nardostachys chinensis*; growth stages; medicinal parts; inorganic elements; inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

[收稿日期] 20140725(003)

[基金项目] 中国科学院藏药现代化重点实验室项目(Y342910Z1)

[第一作者] 张宇霞 在读硕士 从事药材质量标准研究, Tel: 18309714660, E-mail: yuxia10086@126.com

[通讯作者] * 马世震 博士 副研究员 从事植物化学研究, Tel: 13709763487, E-mail: szma@nwipb.cas.cn

甘松具有理气止痛、开郁醒脾的功能,临床用于治疗脘腹胀痛、头痛、瘕病、胃痛及脚气等^[1]。其富含萜类和挥发油类成分^[2],这些成分具有抗心律失常、抑制黑斑产生、诱导神经干细胞选择性表达、抗抑郁等药理作用^[3-5],亦可与其他药材配伍使用以保护早期糖尿病肾病大鼠的肾脏^[6]。药材中无机元素对植物本身的生理活动和新陈代谢具有重要作用,而且与药材的药理作用密切相关^[7-8]。目前关于甘松的研究主要集中于化学成分及药理作用方面^[9-10],鲜见其无机元素含量及采收期的分析报道。2010 年版《中国药典》一部规定甘松以根及根茎入药,但文献报道该药材的地上部分也含有一定量药效成分,且市场上流通的多为甘松全草^[11-12]。故本实验拟通过分析不同生长环境及生长期甘松根茎中无机元素含量,结合挥发油含量分析确定最佳采收期,同时测定甘松地上部分的无机元素,为该药材的质量控制及合理开发提供参考。

1 材料

MARS 6 型微波消解仪(美国 CEM 公司),AA240Z 型石墨炉原子吸收光谱仪和 725 型电感耦合等离子体-原子发射光谱仪(美国 Aligent 公司),AFS-8230 型原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司),VB20 型赶酸装置(美国 Lab Tech 公司),ESJ182-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司)。5 批二年生栽培甘松(2013 年 6~10 月期间每月月底在青海大通宝库药材栽培试验基地采集,种源为青海省玉树巴塘乡,编号分别为 S1, S2, S3, S4, S5)和 2 批野生甘松(2013 年 7, 9 月均采自青海玉树巴塘乡,编号分别为 S6, S7)均经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰教授鉴定为败酱科植物甘松 *Nardostachys chinensis* 的全草;水为二次去离子水,各元素对照储备液(1 g·L⁻¹,中国计量科学研究所)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 将甘松的地上部分和地下部分分别干燥,粉碎,过 40 目筛后待用。精密称取药材粉末约 0.5 g,置聚四氟乙烯消解罐中,加入浓硝酸 8 mL 进行消解,30 min 升温至 180 °C,保持 15 min,待温度下降至室温后取出,冷却,将消解罐放入赶酸装置中赶酸,待蒸汽挥尽,用水转移至 50 mL 量瓶并稀释至刻度,摇匀,即得。同法制备试剂空白溶液。

2.2 Pb 和 Cd 的含量测定 Pb 和 Cd 含量测定的仪

器工作条件见表 1,狭缝均为 0.2 nm,干燥升温步骤 85~120 °C。用水将 Pb 对照溶液稀释为 10, 20, 30, 40, 50 μg·L⁻¹,Cd 对照溶液稀释为 2, 4, 6, 8, 10 μg·L⁻¹,以质量浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,得回归方程分别为 $C = A / (-0.307A^2 + 0.005A + 0.00077)$, $C = A / (-0.115A^2 + 0.032A + 0.021)$ 。

表 1 甘松中 Pb 和 Cd 含量测定的石墨炉原子吸收仪工作条件
Table 1 Working conditions of graphite furnace atomic absorption spectrometer for determination of contents of Pb and Cd in *Nardostachys chinensis*

元素	灯电流 /mA	波长 /nm	升温步骤/°C		
			灰化	原子化	清除
Pb	10.0	283.3	400	2 100	2 100
Cd	4.0	228.8	250	1 800	1 800

2.3 Hg 和 As 的含量测定 Hg 和 As 含量测定的灯电流分别为 30, 60 mA,屏蔽气依次为 800, 450 mL·min⁻¹,原子化器高度均为 8 mm,负高压均为 270 V,载气 300 mL·min⁻¹。用水将 Hg 对照溶液稀释为 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 μg·L⁻¹,As 对照溶液稀释为 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 10.0 μg·L⁻¹,以质量浓度(C)为横坐标,荧光强度(I)为纵坐标,得回归方程分别为 $I = 860.7C - 16.8$ ($r = 0.9991$), $I = 393.0C - 64.5$ ($r = 0.9990$)。

2.4 18 种无机元素的含量测定

2.4.1 ICP-OES 工作参数 等离子体射频发射功率 1.20 kW,等离子气流量 15.0 L·min⁻¹,雾化器流量 0.75 L·min⁻¹,辅助气流量 1.50 L·min⁻¹,观察高度 10 mm,1 次读数时间 3.0 s,稳定时间 15 s,高纯氩气。

2.4.2 元素分析谱线与检测限 每个元素分别选择 2~4 条特征谱线进行测定,选择干扰小且信号强度较大的谱线作为分析谱线。按 2.4.1 项下参数对空白溶液连续测定 12 次,以 3 倍标准偏差除以相应元素标准曲线的斜率计算检出限,见表 2。

2.4.3 标准曲线绘制 加水将 K, Na, Ca 对照溶液稀释为 20, 40, 60, 80, 100 mg·L⁻¹,P 和 S 对照溶液稀释为 10, 20, 30, 40, 50 mg·L⁻¹,Mg 和 Al 对照溶液稀释为 2.5, 5.0, 10, 15, 20 mg·L⁻¹,Mo, B, Ba, Li, Sr, V, Ti, Fe 对照溶液稀释为 1, 2, 3, 4, 5 mg·L⁻¹,Mn, Cu, Zn 对照溶液稀释为 0.25, 0.50, 1.0, 1.5, 2.0 mg·L⁻¹。以质量浓度为横坐标,测量值为纵坐标,绘制标准曲线,见表 2。

表2 甘松中各元素分析波长、检出限、回归方程及相关系数
Table 2 Wavelength, regression equation, correlation coefficient and detection limit of each element in *Nardostachys chinensis*

元素	波长 /nm	回归方程	r	检出限 /ng·L ⁻¹
K	769.9	$Y=776.3X-86.6$	0.999 8	179.2
Na	589.0	$Y=4\ 248.0X+2\ 915.6$	0.999 6	381.1
Ca	422.7	$Y=2\ 497.1X-392.6$	0.999 7	934.2
P	213.6	$Y=54.1X+14.2$	0.999 8	2 778.2
S	180.7	$Y=73.5X+50.0$	0.999 9	6 078.9
Mg	279.6	$Y=25\ 172.0X+6\ 294.4$	0.999 5	0.3
Al	396.2	$Y=2\ 333.6X+322.0$	0.999 6	86.0
Mo	281.6	$Y=239.1X+51.4$	0.999 4	20.1
B	249.8	$Y=1\ 450.0X+25.1$	0.999 8	103.9
Ba	455.4	$Y=824.7X+48.5$	0.999 7	157.3
Li	670.8	$Y=652.1X+21.4$	0.999 6	17.5
Sr	407.8	$Y=439\ 141.0X+8\ 896.8$	0.999 6	0.008
V	311.1	$Y=1\ 223.1X+511.4$	0.999 5	2.1
Ti	336.1	$Y=339.1X+61.4$	0.999 8	16.5
Fe	238.2	$Y=833.9X+61.4$	0.999 7	302.3
Mn	257.6	$Y=431.2X+64.4$	0.999 3	6.3
Cu	324.8	$Y=4\ 215.5X+188.4$	0.999 9	3.4
Zn	213.9	$Y=1\ 715.8X+68.14$	0.999 7	30.2

2.5 样品测定 取2.1项下供试品溶液,按上述条件测定,结果见表3。依据2010年版《中国药典》及出口标准^[11,13]中对重金属及有害元素的含量限定,表明7批甘松地上和地下部分中重金属的含量均未超标。数据显示甘松不同部位的无机元素种类相似,但含量存在差异。甘松不同部位中,常量元素K、Mg、P、Ca、S及Ba含量较其他元素高,Al、Fe、Na次之,微量元素Li、Mn、Sr、Ti、V、Zn含量均较低,而所有样品中均未检测出Mo。就甘松地下部分而言,

比较7月份与9月份生长期甘松中各元素含量,结果显示栽培与野生甘松中Zn、Ca、K、Sr、Ba的含量变化呈相反趋势,其他元素含量变化趋势一致;常量元素Ca、P含量各月份间动态变化幅度较大,微量元素Ti、Mn、V的变化幅度较大;Na和K含量在7月份达最大值;Zn、Sr、Ca含量在7月份达峰值后先下降又逐渐升高,10月份达最大值;Ba和P分别在8、9月份含量最高;其他元素6~10月期间基本呈上升趋势。

3 讨论

前期研究测定了野生甘松7、9月样品根茎中挥发油质量分数分别为0.020、0.052 mL·g⁻¹,栽培甘松6、7、8、9、10月样品根茎中则分别为0.050、0.050、0.050、0.033、0.030 mL·g⁻¹,均符合2010年版《中国药典》规定^[11]。表4数据显示野生甘松地下部分Na的9月份含量略低于7月份,其余元素均是9月份高于7月份,且9月份样品中挥发油含量明显高于7月份,说明野生条件下秋季采收较为适宜,这与2010年版《中国药典》记录甘松春秋两季采挖相一致。除少数几种元素外,栽培甘松地下部分各元素含量在9月份后基本呈上升趋势,但9月份后的样品中挥发油含量却下降,故需要根据采收的目的,合理确定青海大通栽培甘松的最佳采收期。

药材的生长环境、生长年限及生长期对药材中各元素含量均有很大的影响;同时药材不同部位中元素的含量存在差异,可能与植物本身的生理活动,包括对各种元素的选择性吸收、协同作用、富集等密切相关^[14]。栽培甘松与野生甘松的生长环境条件不同,但后者的生长年限较难确定,故生长年限对元素种类及含量的影响还有待确认。Mn可防止动脉粥样硬化,Mg对心脏血管具有重要的保护作用,Mg和Zn还具有抗衰老作用,上述无机元素表现出的生

表3 甘松地上部分各元素的含量测定

样品	Table 3 Determination of 22 inorganic elements in aerial parts of <i>Nardostachys chinensis</i>																				mg·kg ⁻¹
	Cd	Hg	As	Cu	Pb	P	S	K	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	B	Al	Ba	Li	Sr	V	
S1	0.004	0.019	0.08	11.61	0.60	2 634.95	1 934.75	19 305.38	288.01	14 278.87	3 522.68	140.71	12.86	28.72	35.01	96.81	1 427.20	1.44	109.49	0.91	1.68
S2	0.003	0.005	0.08	3.32	0.51	2 724.43	2 219.64	18 002.54	283.26	18 285.83	3 960.98	145.85	13.81	37.84	40.99	113.87	1 527.07	1.55	136.17	0.61	1.73
S3	0.006	0.008	0.23	6.59	0.03	2 309.22	1 967.04	1 443.66	438.13	18 006.59	4 522.94	604.88	36.36	36.08	43.42	537.14	990.62	6.11	126.76	8.90	8.89
S4	0.006	0.004	0.18	6.03	0.36	2 995.54	2 184.45	13 696.80	301.88	18 192.09	4 098.81	566.37	35.51	33.51	40.30	492.67	1 265.31	5.85	128.76	8.03	7.32
S5	0.010	0.004	0.39	7.93	0.70	2 562.07	2 009.60	6 943.34	432.54	22 224.63	4 606.82	1 006.93	56.59	40.66	59.94	879.78	1 476.01	10.53	149.85	15.88	13.42
S6	0.002	0.008	0.03	9.37	0.03	1 206.90	1 253.40	11 816.43	138.05	7 683.90	1 284.05	74.74	8.32	43.35	23.88	58.38	529.40	0.66	117.65	0.14	0.63
S7	0.007	0.010	0.16	12.82	1.07	946.02	908.57	8 923.46	143.40	5 665.78	3 733.22	478.31	32.70	57.72	38.67	335.60	2 117.68	27.04	153.16	6.91	10.09

注: Mo 均未检出(表4同)。

表4 甘松地下部分各元素的含量测定

Table 4 Determination of 22 inorganic elements in underground parts of *Nardostachys chinensis* mg·kg⁻¹

样品	Cd	Hg	As	Cu	Pb	P	S	K	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	B	Al	Ba	Li	Sr	V	Ti
S1	0.01	0.014	0.18	10.04	0.22	2 082.56	638.85	11 930.98	331.26	1 671.90	1 260.78	132.00	5.92	12.95	11.45	69.45	798.31	0.69	39.64	0.41	1.16
S2	0.02	0.004	0.15	5.78	0.01	2 779.00	898.97	14 393.32	693.30	1 941.37	1 411.57	119.57	9.27	22.63	12.44	133.56	653.37	1.09	44.06	0.83	2.15
S3	0.01	0.003	0.13	11.30	0.27	3 104.21	930.15	13 295.29	413.54	1 280.15	1 587.33	176.67	12.33	14.27	12.12	205.68	1 180.93	1.46	39.40	1.03	2.63
S4	0.01	0.002	0.21	9.27	0.07	3 385.63	1 023.83	13 127.15	336.32	1 789.80	1 636.72	323.54	16.35	15.67	13.92	374.35	650.46	2.04	42.47	2.37	6.76
S5	0.01	0.032	0.32	11.79	0.16	3 141.64	1 155.89	12 076.74	327.41	2 975.66	1 854.60	580.31	26.91	25.04	18.29	642.19	718.25	3.33	49.36	4.93	8.06
S6	0.02	0.002	0.04	16.74	0.03	1 720.26	729.45	4 555.21	398.29	3 011.27	385.21	103.29	2.25	29.26	13.43	66.43	641.25	0.39	18.54	0.03	0.87
S7	0.08	0.010	0.28	8.02	0.19	2 883.20	1 383.32	6 658.50	366.55	4 493.21	1 074.94	400.23	14.45	36.30	23.86	314.58	1 437.14	1.99	45.73	1.48	6.03

理功能与甘松具有的抗心律失常、抑制黑斑产生等药理作用相一致;甘松中K、Ca、Na、Mg、S的含量均较高,这些元素可能与该药材的抗肿瘤作用有关^[15-16]。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 566-567.

[2] 武姣姣, 石晋丽, 刘云召, 等. 不同产地甘松挥发油成分的GC-MS分析[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(10): 2196-2200.

[3] Jang J Y, Kim H N, Kim Y R, et al. Partially purified components of *Nardostachys chinensis* suppress melanin synthesis through ERK and Akt signaling pathway with cAMP down-regulation in B16F10 cells [J]. J Ethnopharmacol 2011, 137(3): 1207-1214.

[4] Li Z H, Li W, Shi J L, et al. Nardosinone improves the proliferation, migration and selective differentiation of mouse embryonic neural stem cells [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91260.

[5] 武姣姣, 石晋丽, 唐民科, 等. 甘松对动物行为绝望模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 205-207.

[6] 袁玲, 南一, 徐俊, 等. 回回甘松饮对早期糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 109-113.

[7] 王懿萍, 张小荣, 杨巧艳, 等. 中药微量元素与药效的关系[J]. 陕西中医, 2007, 27(12): 1573-1576.

[8] 张明昶, 麻秀萍, 徐文芬. 微量元素与六味地黄丸组方关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 100-103.

[9] 刘春力, 段营辉, 戴毅, 等. 甘松根茎化学成分研究[J]. 中药材, 2011, 34(8): 1216-1219.

[10] 何跃, 杨松涛, 胡晓梅, 等. 甘松不同提取成分组给药预防大鼠急性胃炎的实验研究[J]. 实用医院临床杂志, 2011, 8(1): 27-29.

[11] 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: 79-80.

[12] 耿晓萍, 石晋丽, 刘勇, 等. 甘松地上和地下部位挥发油化学成分比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(1): 56-59.

[13] 国家对外贸易经济合作部. 药用植物及制剂进出口绿色行业标准[S]. VM2-2001, 2001-07-01.

[14] 田柱萍, 何邦平, 王小燕, 等. 中药材的药效与其所含微量元素关系的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2005, 22(4): 54-56.

[15] 安翔. 抗肿瘤中草药钾、钙、钠、镁、硫含量及体育保健作用研究[D]. 太原: 山西大学, 2010.

[16] 张毅. 中药甘松化学成分的研究及天然抗肿瘤活性化合物(-)-zeylenone全合成和构效关系的研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2006.

[责任编辑 刘德文]