

生石灰类处理对川芎 5 种重金属含量及产量和品质的影响研究

张德林¹, 喻文¹, 王梅¹, 任敏², 苟琰^{1,3}, 刘薇¹, 李敏^{1*}¹成都中医药大学 中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137;²四川省中药材集团有限责任公司, 成都 610015; ³四川省药品检验研究院, 成都 611731

摘要:探究生石灰类处理对川芎药材重金属含量、产量及质量的影响, 筛选适宜的降低川芎重金属含量的方法。在川芎主产区(眉山、彭州)开展大田试验, 采收期采收样品, 采用微波消解-ICP-MS 法测定 5 种重金属含量; 采用药典方法分析浸出物和挥发油; 采用 HPLC 和 UPLC 法测定 6 种药效成分含量; 利用多元统计分析方法进行差异比较。结果表明, T-1(生石灰 6.67 kg/hm²)、T-2(生石灰 6.67 kg/hm² + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm²)、T-3(生石灰 6.67 kg/hm² + 淀粉 6.67 kg/hm²) 处理能显著降低川芎 Cd 含量; T-5(生石灰 6.67 kg/hm² + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm² + 淀粉 6.67 kg/hm²)、T-6(生石灰 6.67 kg/hm² + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm² + 聚丙烯酸钠 10 kg/hm² + 活性炭 10 kg/hm²) 处理能显著降低川芎 Pb 含量; T-2、T-6 处理能显著降低川芎 As 含量; 生石灰类处理后, 川芎药材增产 0.93% ~ 39.03%, 彭州川芎洋川芎内酯 A 和阿魏酸松柏酯以及眉山川芎阿魏酸和绿原酸的含量不同程度降低, T-2 处理能显著增加醇溶性浸出物和洋川芎内酯 I 含量。相关分析和聚类分析显示, 产地和处理方式均对各指标有影响。综合考虑降低重金属效果(主要是 Cd)、药材产量及质量, T-1、T-2 可作为彭州、眉山川芎生产中降低重金属的方法, T-3、T-4(生石灰 6.67 kg/hm² + 聚丙烯酸钠 10 kg/hm²) 可分别作为眉山、彭州川芎生产中降低重金属的方法。上述方法的应用可保障川芎药材产量并有效降低药材 Cd 含量, 提高药材安全性, 为优质绿色川芎的生产提供理论依据和技术支撑。

关键词:川芎; 生石灰; 重金属; 镉; 质量; 多元统计分析

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)11-1925-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.11.016

Improvement effects for the content of five heavy metals, the yield, and quality of Chuanxiong Rhizoma via quicklime treatments

ZHANG De-lin¹, YU Wen¹, WANG Mei¹, REN Min², GOU Yan^{1,3}, LIU Wei¹, LI Min^{1*}

¹Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicinal Materials, Ministry of Education; Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; ²Sichuan Traditional Chinese Medicine Group Co., Ltd., Chengdu 610015, China; ³Sichuan Institute for Drug Control, Chengdu 611731, China

Abstract: As it seeks to screen suitable methods for reducing the heavy metal content in Chuanxiong Rhizoma (CX), CX, the object of this study, which was treated by quicklime single or combined, has been studied on the contents of five heavy metals, the yield, and quality. Field experiments were carried out in CX's main producing areas, Pengzhou and Meishan. The samples were collected during the harvest time. The contents of five heavy metals were determined by microwave digestion-ICP-MS. The extracts and volatile oils were analyzed by the pharmacopeia method. The contents of six effective components were determined by HPLC and UPLC. The differences among each index were compared by multivariate statistical analysis. The results are as follows: T-1 (quicklime 6.67 kg/hm²), T-2 (quicklime 6.67 kg/hm² + potassium dihydrogen phosphate 1.33 kg/hm²), and T-3 (quicklime 6.67 kg/hm² + starch 6.67 kg/hm²) can significantly reduce the Cd content of CX. T-5 (quicklime 6.67 kg/hm² + potassium dihydrogen phosphate 1.33 kg/hm² + starch 6.67 kg/hm²) and T-6 (quicklime 6.67 kg/hm² + potassium dihydrogen phosphate 1.33 kg/hm² + sodium polyacrylate 10 kg/hm² + activated carbon 10 kg/hm²) can significantly reduce the Pb content of CX. T-2 and T-6 can significantly reduce the As content of CX. In addition, T-2 can sig-

收稿日期: 2021-01-25 接受日期: 2021-07-15

基金项目: 国家科技部中药现代化重点专项(2017YFC1701800); 四川省科技厅科技计划项目(2018SZ005); 四川省科技厅科技计划项目(2020YFS0303); 成都中医药大学“杏林学者”提升计划(CXTD2018016)

* 通信作者 Tel: 86-28-61800237; E-mail: 028limin@163.com

nificantly increase the content of alcohol-soluble extract and ligustilide I. On the whole, the yield of CX increased by 0.93% - 39.03% via quicklime single or combined treatments. Nevertheless, the contents of senkyunolide A, coniferyl ferulate in Pengzhou CX, and the contents of ferulic acid and chlorogenic acid in Meishan CX were reduced to different degrees. Both the sampling locality and quicklime treatment method influence each index drawn by correlation analysis and cluster analysis. Committed to improvement effects for the contents of five heavy metals, the yield and quality of CX, T-1 and T-2 can be used to reduce heavy metal contents in CX, which grow in Pengzhou or Meishan. T-3 can be used to reduce heavy metal contents in CX, which grow in Meishan. And T-4 (quicklime 6.67 kg/hm² + sodium polyacrylate 10 kg/hm²) can be used to reduce heavy metal contents in CX, which grow in Pengzhou. In conclusion, the heavy metals content and yield of CX can be improved by quicklime single or combined treatment, which improving its safety, providing the theoretical basis and technical support for the high-quality and green production of CX.

Key words: Chuanxiong Rhizoma; quicklime; heavy metal; cadmium; quality; multivariate statistical analysis

川芎是伞形科植物川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 的干燥根茎, 是中医临床上重要的活血止痛药, 被誉为“血中之气药”, 具有活血行气、祛风止痛之功效, 常用于胸痹心痛、月经不调、头痛、风湿痹痛等症^[1,2]。川芎药效成分主要包括内酯类、酚酸类和生物碱类等化合物, 如: 阿魏酸、洋川芎内酯 A、洋川芎内酯 I、Z-藁本内酯、阿魏酸松柏酯和绿原酸等。现代药理研究表明, 川芎具有抗炎、镇痛、抗肿瘤、抑制血小板聚集和扩张血管等多方面的作用^[3]。

川芎是著名的川产道地药材, 也是常用大宗药材和重要的出口品种, 具有近千年的栽种历史, 主产于四川, 以四川都江堰、彭州、郫县等地为道地, 当前以彭州和眉山两地产量最大。市售川芎均为人工种植, 其中 90% 以上产自四川^[2]。川芎是重金属镉 (Cd) 富集植物, 近年来因川芎重金属含量超标 (主要是 Cd), 严重影响了川芎的出口创汇、用药安全以及地方经济的发展和药农的收入^[4-6]。据不完全统计, 川芎 Cd 含量超标高达 87.99%^[7], 川芎药材 Cd 含量超标给产品安全和产业健康发展带来了不利影响。

土壤修复技术是缓解土壤重金属超标使用的常规土壤改良方法, 该技术通常是施用改良剂改变土壤理化性质, 减少土壤中有效态重金属含量, 降低植物对重金属的吸收。前人研究证实影响川芎药材 Cd 含量的主要因素是其 Cd 富集特性和土壤中离子态 Cd 浓度, 而生石灰可通过提高土壤 pH、降低土壤中离子态 Cd 浓度, 进而降低川芎药材 Cd 含量^[4,6,8,9]。Dong 等^[10] 研究发现交联氨基淀粉与 Cd²⁺ 可通过配位作用结合, 吸附水中的 Cd²⁺。Lu^[11] 等报道, 石灰、钙镁磷肥、泥炭、活性炭和聚丙烯酸钠组成的复合改良剂的施用不仅能够明显提高蔬菜地上部分生物量, 还可以降低蔬菜中 Pb、Cd 的

含量。目前, 川芎降低重金属含量的方法研究主要集中在单施生石灰、硅肥、KH₂PO₄-NaOH 缓冲液等土壤改良剂, 而采用复合形式研究仅课题组前期报道过一些探索性工作。本文在课题组研究的基础上^[5-7], 采用大田试验, 探究生石灰单施或与淀粉、活性炭、磷酸二氢钾、聚丙烯酸钠复合施用对川芎重金属含量、药材产量和质量的影响, 并采用多元统计分析方法比较各指标含量差异, 以期筛选出能有效降低川芎重金属含量, 同时保障药材产量和质量的方法, 为川芎优质绿色生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

350 型电感耦合等离子体质谱仪 (美国 PE 公司); MARS 型微波消解仪 (美国 CEM 公司); ULUP-IV-10T 优普系列超纯水器 (成都超纯科技有限公司); QUINTIX224-1CN 电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); Agilent 1290 Infinity II UHPLC 高效液相色谱系统 (安捷伦科技有限公司), 色谱柱为 Waters BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); Agilent 1200 HPLC 高效液相色谱仪 (安捷伦科技有限公司), 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); DZKW-4 型电子恒温水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司); KQ-500DB 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 101 型电热鼓风干燥箱 (北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.2 试剂与试药

65% MOS 级硝酸 (德国 CNW 公司); 镉单元素标准液 1 000 μg/mL (中国计量科学研究院, GBW08612); 铜 (GSB04-1725-2004)、铅 (GSB04-1742-2004)、汞 (GSB04-1729-2004)、锆 (GSB04-1728-2004)、铟 (GSB04-1731-2004)、(GSB04-1719-2004)、金 (GSB04-1715-2004) 单元素标准溶液 1

000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (国家有色金属及电子材料分析测试中心);30%过氧化氢(GR)、磷酸二氢钾(AR)、活性炭(粒状)均购自成都市科龙化工试剂厂;生石灰(购自西陇化工股份有限公司);淀粉(吉林中粮能源销售有限公司);聚丙烯酸钠(食品级,郑州雪泉聚合材料有限公司);调谐液(美国PE公司, Li、Be、Mg、Fe、In、Ce、Pb、U混合标准溶液, 1 $\mu\text{g}/\text{L}$);超纯水由优普超纯水系统制得。阿魏酸(wkq18042309)、洋川芎内酯A(wkq19042509)、绿原酸(wkq17112007)、阿魏酸松柏酯(wkq19042409)、洋川芎内酯I(wkq19041810)对照品均购自四川省维克奇生物科技有限公司,Z-藁本内酯(5408)对照品购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。乙腈、甲醇、冰醋酸、磷酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.3 样品来源

2018年在川芎主产区彭州市敖平镇(E103°59'21.60", N31°04'56.70")、眉山市永寿镇(E103°51'02.80", N29°55'45.51")川芎基地开展大田试验,以汶川县水磨镇自繁F1代苓种为试验材料,设置7个试验组,详见表1。以单因素随机区组设计试验小区,重复3次,每个小区4 m^2 (2 m \times 2 m),在川芎播种前将相应试剂与表土(20 cm)均匀混合,正常播种,统一田间管理。分别于2019年4月中旬(眉山)、5月中旬(彭州)进行样品采挖,样品采集后去除杂质、洗净泥沙,干燥测产,粉碎过65目筛备用。

所有药材样品均经成都中医药大学中药鉴定教研室李敏教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。

表1 试验处理方法

Table 1 Experimental treatment methods

编号 No.	处理方法 Treatment method
T-1	生石灰 6.67 kg/hm^2
T-2	生石灰 6.67 kg/hm^2 + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm^2
T-3	生石灰 6.67 kg/hm^2 + 淀粉 6.67 kg/hm^2
T-4	生石灰 6.67 kg/hm^2 + 聚丙烯酸钠 10 kg/hm^2
T-5	生石灰 6.67 kg/hm^2 + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm^2 + 淀粉 6.67 kg/hm^2
T-6	生石灰 6.67 kg/hm^2 + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm^2 + 聚丙烯酸钠 10 kg/hm^2 + 活性炭 10 kg/hm^2
CK	不作处理

1.4 产量分析

采样时挖起全株,去掉非药用部分,快速洗净,置电热鼓风干燥箱55 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重,冷却后称重计量,以小区单位面积产量计算药材产量。

1.5 浸出物分析

醇溶性浸出物参照《中国药典》2020年版一部川芎项下方法测定;水溶性浸出物参照《中国药典》2020年版四部(通则2201)项下的热浸法测定^[1]。

1.6 挥发油分析

参照《中国药典》2020年版四部(通则2204)项下挥发油测定法中乙法测定^[1]。

1.7 化学成分分析

阿魏酸含量测定参照《中国药典》2020年版一部川芎项下方法进行测定^[1]。色谱条件:色谱柱为Kromasil C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);以甲醇-1%醋酸溶液(30:70)为流动相;检测波长为321 nm;流速1.0 mL/min,柱温30 $^{\circ}\text{C}$,进样量10 μL 。对照品

溶液的制备:精密称取阿魏酸对照品2 mg置10 mL棕色容量瓶中,用70%甲醇定容至刻度,摇匀,作为阿魏酸贮备液(阿魏酸的浓度为200 $\mu\text{g}/\text{mL}$);精密量取适量阿魏酸贮备液置于2 mL棕色容量瓶中,用70%甲醇稀释至每mL含阿魏酸10、25、50、75、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列浓度溶液。供试品溶液的制备:精密称取样品粉末(过四号筛)约0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇50 mL,密塞,称定重量,加热回流30 min,放冷,再称定重量,用70%甲醇补足减失的重量,摇匀,静置,取上清液,经0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、绿原酸、阿魏酸松柏酯、Z-藁本内酯参照文献方法^[12]测定。色谱条件:色谱柱为Waters BEH C_{18} (50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水(B);梯度洗脱0~0.2 min(5% A),0.2~7.5 min(5% \rightarrow 80% A),7.5~8.0 min(80% \rightarrow 100% A),8.0~8.5 min

(100% A), 8.5 ~ 9.0 min (100% → 5% A), 9.0 ~ 10.0 min (5% A); 流速 0.4 mL/min; 柱温 35 °C; 检测波长 280 nm (洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A), 320 nm (绿原酸、阿魏酸松柏酯、Z-藁本内酯); 进样体积 2 μL。对照品溶液的制备: 取绿原酸、洋川芎内酯 A、洋川芎内酯 I、阿魏酸松柏酯和 Z-藁本内酯对照品各 5 mg, 精密称定, 分别置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇-甲酸(95:5)溶解并定容至刻度, 配成对照品储备液。分别吸取各对照品储备液适量, 置于同一 10 mL 量瓶中, 用甲醇-甲酸(95:5)定容至刻度, 配制成含绿原酸 178.40 μg/mL、洋川芎内酯 A 561.60 μg/

mL、洋川芎内酯 I 8.72 μg/mL、阿魏酸松柏酯 237.60 μg/mL、Z-藁本内酯 1 204.00 μg/mL 的混合对照品溶液。供试品溶液的制备: 精密称取样品粉末(过四号筛)约 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-甲酸(95:5) 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声(功率 180 W, 频率 40 kHz)提取 60 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇-甲酸(95:5)补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

1.8 重金属分析

川芎药材重金属含量参照课题组建立方法^[5]进行测定。ICP-MS 运行条件见表 2。

表 2 ICP-MS 运行条件

Table 2 ICP-MS operating conditions

仪器参数 Instrument parameter	条件 Condition	仪器参数 Instrument parameter	条件 Condition
RF 功率 RF power	1 150 W	扫描次数/样品 Sweeps/reading	20
采样锥(Ni)孔径 Sample cone(Ni)	1.1 mm	读取次数 Reads	1
截取锥(Ni)孔径 Skimmer cone(Ni)	0.9 mm	重复次数 Replicates	3
辅助气流速 Auxiliary gas flow rate	1.2 L/min	驻留时间 Residence time	50 ms
等离子气流速(Ar) Plasma gas flow(Ar)	18 L/min	积分时间 Integral time	0.4 s
运行模式 Running mode	标准模式	进样泵速 Nebulizer pump speed	30 rpm
扫描模式 Scan mode	跳峰	Rpq	0.25
雾化器流速 Nebulizer gas flow	0.94 L/min	进样冲洗时间 Injection flushing time	20 s
数据采集模式 Data acquisition mode	Dual		

1.9 统计分析

试验数据应用 Excel 2019 进行整理计算, 采用 R(4.0.3) 软件对数据进行相关分析(Pearson)、聚类分析(Complete)、ANOVA 分析(Tukey HSD 检验)并作图。参照《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》^[13](WM/T2-2004)对样品中 5 种重金属含量进行分析。

2 结果与分析

2.1 标准曲线、线性范围及测定结果

Cd、Hg、Pb、As、Cu 5 种元素的标准曲线和相关系数, 详见表 3, 结果显示 5 种元素的线性关系良好, r 值大于 0.999, 符合药典规定; 洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、绿原酸、阿魏酸松柏酯、Z-藁本内酯 6 种成分的标准曲线和相关系数, 详见表 4, 色谱图详见图 1、图 2, 结果表明 6 种成分的线性关系良好, r 值大于 0.999, 符合药典规定。

表 3 5 种重金属的线性关系、检测限和定量限

Table 3 Linear relationship, detection limit, and quantitative limit of five elements

元素 Element	线性方程 Linear equation	线性范围 Linear range (μg/L)	相关系数 Correlation coefficient(r)	检测限 LOD (μg/L)	定量限 LOQ (μg/L)
¹¹¹ Cd	$y = 0.0030x - 0.2134$	1.00 ~ 100.00	0.9999	0.01	0.03
²⁰² Hg	$y = 0.0040x - 0.2780$	0.01 ~ 5.00	0.9996	0.01	0.03
²⁰⁸ Pb	$y = 0.0026x - 0.6684$	1.00 ~ 100.00	0.9999	0.04	0.12
⁷⁵ As	$y = 0.0030x - 0.2098$	1.00 ~ 100.00	0.9999	0.01	0.03
⁶⁵ Cu	$y = 0.0060x + 0.4109$	2.00 ~ 200.00	0.9999	0.07	0.23

表4 6种化学成分的线性关系及线性范围

Table 4 Linear relationship and linear range of six chemical components

成分 Component	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient(<i>r</i>)	线性范围 Linear range($\mu\text{g/L}$)
阿魏酸 Ferulic acid	$y = 27.89x + 1.15$	0.999 9	10 ~ 100
绿原酸 Chlorogenic acid	$y = 7.0 \text{ E} + 06x - 8 734.5$	0.999 8	17.84 ~ 178.4
洋川芎内酯 A Senkyunolide A	$y = 3.0 \text{ E} + 06x - 4 485.1$	0.999 9	140.4 ~ 561.6
洋川芎内酯 I Senkyunolide I	$y = 1.0 \text{ E} + 06x + 1 777.5$	0.999 8	1.74 ~ 8.72
阿魏酸松柏酯 Coniferyl ferulate	$y = 6.0 \text{ E} + 06x + 64 115$	0.999 7	79.2 ~ 237.6
Z-藁本内酯 Z-Ligustilide	$y = 3.0 \text{ E} + 06x - 3 996.3$	0.999 8	120.4 ~ 1 204

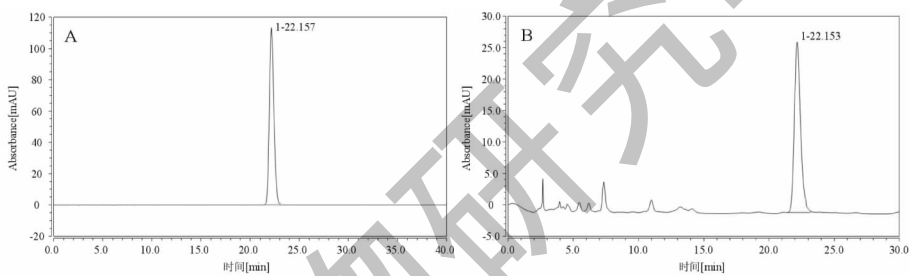


图1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram

注:A-阿魏酸对照品;B-川芎样品。Note:A-Ferulic acid;B-Sample.

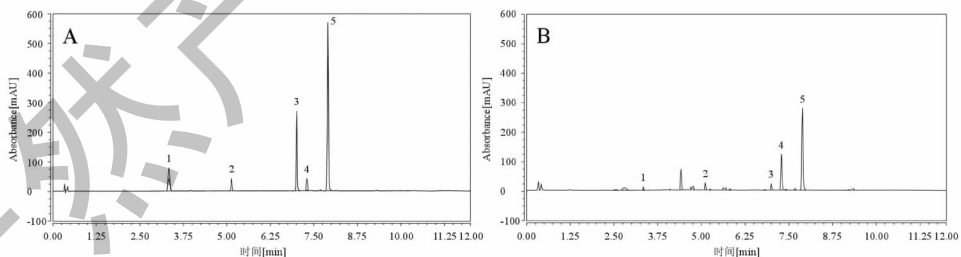


图2 UHPLC 色谱图

Fig. 2 UHPLC chromatogram

注:A-对照品;B-川芎样品。1-绿原酸;2-洋川芎内酯 I;3-洋川芎内酯 A;4-阿魏酸松柏酯;5-Z-藁本内酯。Note:A-Reference substance; B-Sample. 1-Chlorogenic acid;2-Senkyunolide I;3-Senkyunolide A;4-Coniferyl ferulate;5-Z-Ligustilide.

川芎样品检测结果详见表5。两地川芎药材产量为1.98~3.26 t/hm²,醇溶性浸出物为28.70%~36.91%,水溶性浸出物为38.25%~46.26%,挥发油为0.60~1.29 mL/100g,阿魏酸为0.30%~0.51%,洋川芎内酯 I 为0.02%~0.04%,洋川芎内

酯 A 为0.67%~1.94%,绿原酸为0.43%~0.71%,阿魏酸松柏酯为0.57%~1.00%,Z-藁本内酯为2.32%~2.92%,Pb为0.48~2.89 mg/kg,Cd为0.12~0.70 mg/kg,As为0.15~0.27 mg/kg,Hg为0.01~0.05 mg/kg,Cu为7.76~14.34 mg/kg。

表 5 川芎样品检测结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 5 Test results of Chuanxiong samples ($\bar{x} \pm s, n=3$)

指标 Index	眉山 Meishan							彭州 Pengzhou						
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6	CK	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6	CK
产量 Yield (t/hm ²)	2.22 ± 0.23	2.00 ± 0.11	2.4 ± 0.41	2.58 ± 0.94	2.76 ± 0.15	2.20 ± 0.41	1.98 ± 0.10	3.26 ± 0.31	2.98 ± 0.19	3.05 ± 0.22	3.13 ± 0.17	2.80 ± 0.02	2.95 ± 0.62	2.41 ± 0.51
醇溶性浸出物 Alcohol-soluble extract (%)	28.97 ± 3.52	30.63 ± 2.07	29.00 ± 1.05	28.70 ± 4.97	32.79 ± 0.57	34.13 ± 2.13	35.90 ± 1.20	35.32 ± 1.60	36.91 ± 0.85	33.22 ± 1.05	34.78 ± 0.31	35.43 ± 0.48	31.83 ± 2.22	33.80 ± 0.56
水溶性浸出物 Water-soluble extract (%)	38.25 ± 2.18	41.70 ± 2.51	40.13 ± 1.83	38.83 ± 2.17	45.58 ± 5.09	42.59 ± 3.07	42.85 ± 0.84	44.83 ± 1.18	46.26 ± 1.37	44.61 ± 1.34	44.87 ± 1.49	44.65 ± 1.31	40.86 ± 4.16	43.42 ± 2.21
挥发油 Volatile oil (mL/100g)	1.29 ± 0.17	1.04 ± 0.67	1.10 ± 0.70	0.80 ± 0.61	1.08 ± 0.24	1.17 ± 0.38	0.95 ± 0.62	0.93 ± 0.12	1.17 ± 0.21	0.80 ± 0.40	0.60 ± 0.35	0.93 ± 0.12	0.88 ± 0.24	1.07 ± 0.76
阿魏酸 Ferulic acid (%)	0.40 ± 0.11	0.47 ± 0.03	0.46 ± 0.06	0.41 ± 0.07	0.46 ± 0.08	0.47 ± 0.12	0.51 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.34 ± 0.05	0.33 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.30 ± 0.02
洋川芎内酯 I Senkyunolide I (%)	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
洋川芎内酯 A Senkyunolide A (%)	1.61 ± 0.10	1.60 ± 0.06	1.94 ± 0.10	1.50 ± 0.25	1.09 ± 0.24	1.75 ± 0.03	1.52 ± 0.06	0.76 ± 0.10	0.67 ± 0.11	0.91 ± 0.12	0.75 ± 0.07	0.87 ± 0.08	0.75 ± 0.05	0.99 ± 0.14
绿原酸 Chlorogenic acid (%)	0.63 ± 0.09	0.57 ± 0.05	0.43 ± 0.04	0.58 ± 0.21	0.58 ± 0.09	0.59 ± 0.01	0.71 ± 0.04	0.51 ± 0.04	0.43 ± 0.07	0.57 ± 0.01	0.52 ± 0.03	0.57 ± 0.13	0.62 ± 0.05	0.44 ± 0.02
阿魏酸松柏酯 Coniferyl ferulate (%)	0.75 ± 0.07	0.94 ± 0.12	1.00 ± 0.06	0.92 ± 0.10	0.84 ± 0.08	0.90 ± 0.02	0.89 ± 0.03	0.69 ± 0.07	0.57 ± 0.04	0.79 ± 0.09	0.74 ± 0.10	0.74 ± 0.04	0.73 ± 0.03	0.82 ± 0.10
Z-藜本内酯 Z-Ligustilide (%)	2.63 ± 0.12	2.32 ± 0.25	2.55 ± 0.12	2.74 ± 0.40	2.49 ± 0.22	2.84 ± 0.02	2.42 ± 0.10	2.81 ± 0.26	2.44 ± 0.13	2.85 ± 0.13	2.90 ± 0.26	2.76 ± 0.06	2.92 ± 0.07	2.85 ± 0.14
Pb (mg/kg)	0.75 ± 0.01	0.66 ± 0.10	0.93 ± 0.10	0.72 ± 0.06	0.48 ± 0.18	0.62 ± 0.01	0.77 ± 0.03	1.52 ± 0.10	1.43 ± 0.28	1.47 ± 0.16	1.99 ± 0.54	1.99 ± 0.27	2.02 ± 0.57	2.89 ± 0.65
Cd (mg/kg)	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.19 ± 0.06	0.17 ± 0.02	0.23 ± 0.01	0.19 ± 0.00	0.45 ± 0.07	0.42 ± 0.06	0.59 ± 0.11	0.48 ± 0.07	0.49 ± 0.10	0.49 ± 0.06	0.70 ± 0.06
As (mg/kg)	0.25 ± 0.06	0.17 ± 0.03	0.22 ± 0.05	0.18 ± 0.03	0.15 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.22 ± 0.03	0.27 ± 0.11	0.25 ± 0.07	0.19 ± 0.04	0.26 ± 0.10
Hg (mg/kg)	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.05 ± 0.00
Cu (mg/kg)	12.87 ± 1.19	11.83 ± 1.12	11.51 ± 0.95	14.03 ± 0.65	13.05 ± 0.06	13.65 ± 2.38	14.34 ± 1.04	9.77 ± 0.64	8.97 ± 1.24	10.27 ± 1.97	10.38 ± 1.69	7.76 ± 0.91	9.92 ± 1.22	8.70 ± 1.51

2.2 生石灰类处理对川芎药材中 5 种元素含量的影响

生石灰类处理后川芎药材中 5 种重金属含量发生了不同程度的变化(图 3)。《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》(WM/T2-2004)规定 Pb、Cd、As、Hg、Cu 含量分别不得过 5.0、0.3、2.0、0.2、20 mg/kg,由图 3 可看出,眉山产川芎 5 种元素含量均符合标准规定,而彭州产川芎仅 Cd 含量超过标准限量。眉山试验结果显示,与 CK 相比,T-1~T-5 处理川芎 Cd 含量降低了 1.26%~35.22%,其中 T-1、T-2、T-3 处理降 Cd 效果最突出,分别降低了 26.85% ($P < 0.01$)、15.44% ($P < 0.05$)、35.22% ($P < 0.01$);T-5、T-6 处理川芎 Pb 含量分别降低了 37.76% ($P < 0.01$)、19.77% ($P < 0.05$);T-2~T-6

处理川芎 As 含量降低了 17.33%~42.81%;T-2、T-3 处理川芎 Cu 含量分别降低了 17.51% ($P < 0.01$)、19.73% ($P < 0.01$);不同处理后川芎 Hg 含量有一定程度的升高,但远低于标准限量。彭州试验结果表明,与 CK 相比,不同处理川芎 Cd、Pb、Hg 含量均显著降低,分别降低了 15.42%~39.05%、30.15%~50.41%、23.34%~38.05%,其中 T-2 处理 Cd、Pb 含量降低最突出,分别降低了 39.05% ($P < 0.01$)、50.41% ($P < 0.01$),不同处理降 Cd 效果依次是 T2 > T1 > T4 > T6 > T5 > T3;T-1、T-2、T-6 处理川芎 As 含量显著降低,其中 T-1 降低最多,降低了 31.05% ($P < 0.01$);不同处理川芎 Cu 含量较 CK 无显著变化。综合分析,T-1、T-2、T-3 处理能显著降低川芎 Cd 含量,T-4、T-5、T-6 处理能显著降低彭州

川芎 Cd 含量,T-5、T-6 处理能显著降低川芎 Pb 含量,T-2、T-6 处理能显著降低川芎 As 含量,而不同

处理对川芎 Hg、Cu 含量影响较小。

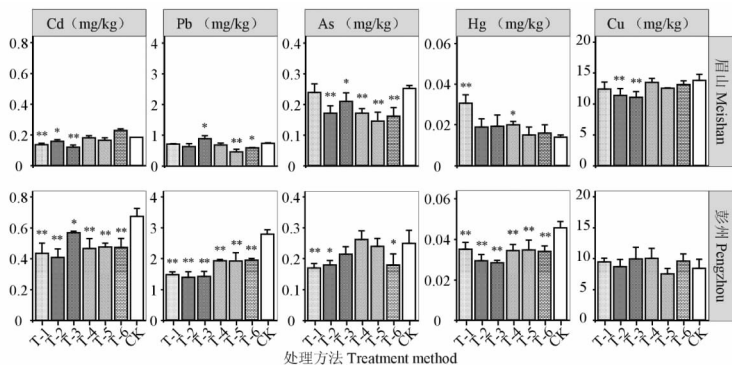


图3 生石灰类处理川芎药材中 5 种重金属含量的差异比较

Fig. 3 Comparison of contents of 5 elements in CX treated by quicklime methods

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (下同)。Note:Compared with CK,* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (the same below).

2.3 生石灰类处理对川芎药材产量及质量的影响

生石灰类处理后川芎药材产量、浸出物及挥发油有一定程度的变化(图4)。由图4可知,与CK相比,眉山不同处理川芎药材增产0.93%~39.03%,其中T-5处理川芎产量显著增加($P < 0.05$);醇溶性浸出物在28.70%~35.90%之间,符合《中国药典》2020年版川芎项下规定最低限量(12%),其中T-1~T-4处理醇溶性浸出物较CK显著降低,降低了14.66%~20.06% ($P < 0.05$);水溶性浸出物在38.25%~45.58%之间,T-1、T-4处理水溶性浸出物较CK分别降低了10.72%、9.39% ($P < 0.05$);不同处理川芎挥发油含量较CK无显著

变化。彭州不同处理川芎药材增产15.91%~34.97%,其中以T-1增产效果最佳;醇溶性浸出物在31.83%~36.91%之间,符合药典规定,除T-2醇溶性浸出物显著高于CK外,其余处理与CK无显著差异;川芎样品水溶性浸出物在40.86%~46.26%之间,不同处理与CK无显著性差异;与CK相比,T-3、T-4处理挥发油含量分别降低24.97% ($P < 0.05$)、43.74% ($P < 0.01$),其余处理与CK无显著差异。两地试验结果表明,生石灰类处理均能不同程度的提高川芎药材产量,T-2处理能显著增加川芎醇溶性浸出物,而对水溶性浸出物、挥发油含量影响较小。

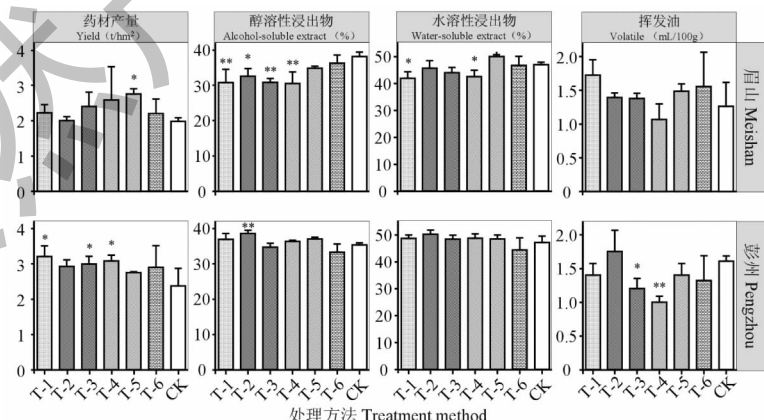


图4 生石灰类处理川芎药材产量、浸出物及挥发油的差异比较

Fig. 4 Comparison of yield,extract and volatile oil of CX treated by quicklime methods

生石灰类处理对阿魏酸等6种成分含量影响差异较大(图5)。由图5可见,眉山不同处理川芎阿

魏酸含量为0.40%~0.51%,符合《中国药典》2020年版川芎项下规定最低限量(0.1%),其中T-1、T-

3、T-4、T-5 处理阿魏酸含量较 CK 降低了 10.13% ~ 21.78%。与 CK 相比,T-2、T-3、T-4 处理川芎洋川芎内酯 I 含量显著升高 32.23% ~ 43.25% ($P < 0.05$);不同处理川芎绿原酸含量显著降低,其中 T-3 降低最多,降低了 39.23% ($P < 0.01$);T-1 处理川芎阿魏酸松柏酯含量显著降低了 16.25% ($P < 0.05$);T-4、T-6 处理川芎 Z-藜本内酯含量分别增加 12.99% ($P < 0.05$)、17.18% ($P < 0.01$)。彭州不同处理组川芎阿魏酸含量为 0.30% ~ 0.34%,符合药典规定。与 CK 相比,T-2、T-5 处理川芎洋川芎内酯 I 含量分别增加 30.98%、31.88% ($P < 0.05$);不同处理川芎洋川芎内酯 A 含量均有一定程度地降低,

其中 T-1、T-2、T-4、T-6 处理洋川芎内酯 A 含量降低了 23.32% ~ 32.84% ($P < 0.05$);T-3、T-5、T-6 处理川芎绿原酸含量增加 28.66% ~ 42.03% ($P < 0.01$);不同处理川芎阿魏酸松柏酯含量均有一定程度的降低,T-2 处理川芎阿魏酸松柏酯、Z-藜本内酯含量分别降低 30.30%、14.42% ($P < 0.01$)。两地试验结果表明,生石灰类处理在两地对阿魏酸等 6 种成分含量影响差异较大,不同处理后彭州川芎洋川芎内酯 A 和阿魏酸松柏酯含量不同程度地降低,眉山川芎阿魏酸和绿原酸含量不同程度的降低,T-2 处理能显著增加川芎中洋川芎内酯 I 含量。

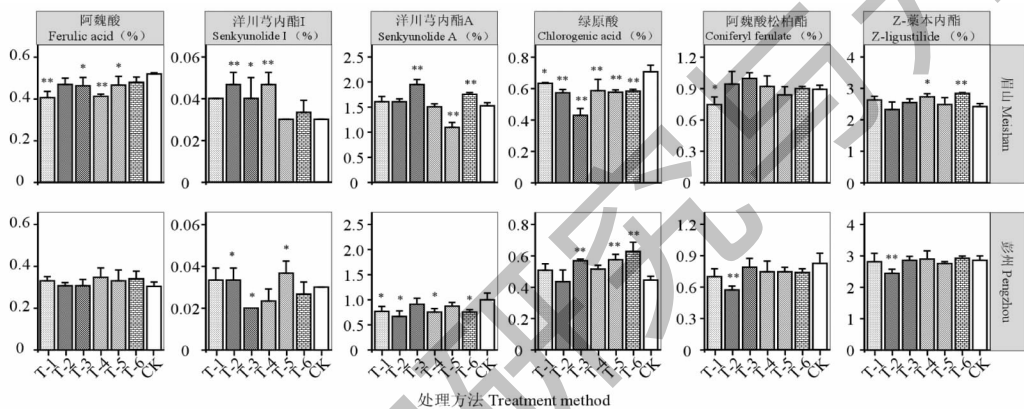


图 5 生石灰类处理川芎药材中 6 种成分含量的差异比较

Fig. 5 Comparison of the contents of 6 components in CX treated by quicklime methods

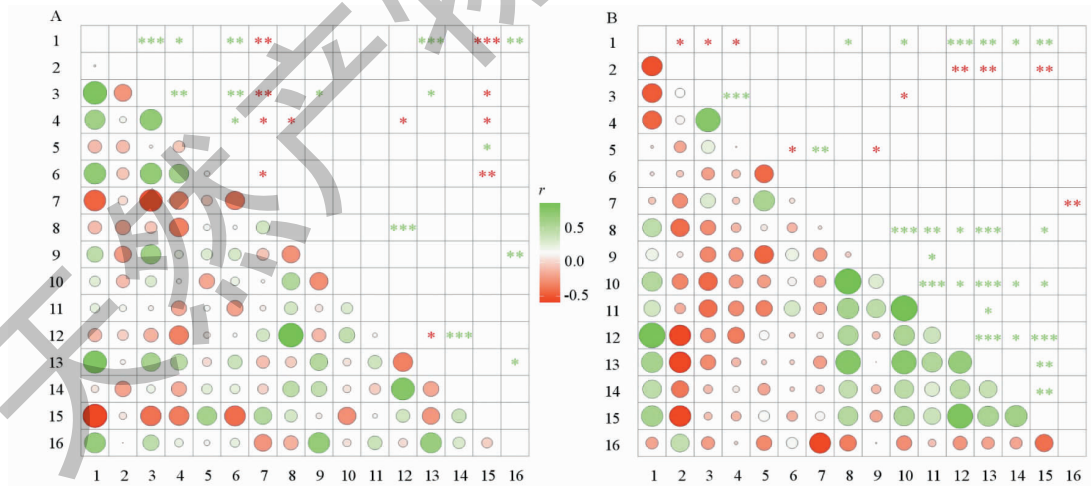


图 6 相关分析图

Fig. 6 Correlation analysis diagram

注: A-眉山; B-彭州。1-处理方法; 2-产量; 3-醇溶性浸出物; 4-水溶性浸出物; 5-挥发油; 6-阿魏酸; 7-洋川芎内酯 I; 8-洋川芎内酯 A; 9-绿原酸; 10-阿魏酸松柏酯; 11-Z-藜本内酯; 12-Pb; 13-Cd; 14-As; 15-Hg; 16-Cu。Note: A-Meishan; B-Pengzhou. 1-Treatment method; 2-Yield; 3-Alcohol-soluble extract; 4-Water-soluble extract; 5-Volatile oil; 6-Ferulic acid; 7-Senkyunolide I; 8-Senkyunolide A; 9-Chlorogenic acid; 10-Coniferyl ferulate; 11-Z-Ligustilide; 12-Pb; 13-Cd; 14-As; 15-Hg; 16-Cu.

2.4 相关性分析

川芎各指标相关分析结果见图6。眉山试验结果表明,醇溶性浸出物、水溶性浸出物、阿魏酸、Cd、Cu与处理方法显著正相关,洋川芎内酯I、Hg与处理方法显著负相关;洋川芎内酯A与Pb呈显著正相关;阿魏酸与Hg显著负相关;绿原酸与Cu显著正相关;Pb与As显著正相关;Pb与Cd显著负相关;Cd与Cu均呈显著正相关。彭州试验结果表明,Pb、Cd、As、Hg4种元素及洋川芎内酯A、阿魏酸松柏酯2种成分与处理方式显著正相关,产量、醇溶性浸出物、水溶性浸出物与处理方式显著负相关;洋川芎内酯I与Cu呈显著负相关;洋川芎内酯A和阿魏酸松柏酯均与Pb、Cd、Hg呈显著正相关;阿魏酸松柏酯与As显著正相关;Z-藜本内酯与Cd显著正相关;Pb与Cd、As、Hg以及Cd与Hg均显著正相关。综合分析,处理方法与Cd显著正相关,Pb与Cd显著负相关,Pb与洋川芎内酯A、As显著正相关。

2.5 聚类分析

为了进一步明确产地和处理方法对川芎各指标的影响,利用R软件绘制热图并进行聚类分析,结果如图7所示。通过横向聚类反映各指标的关系,通过纵向聚类反映产地和处理方式之间的关系,并以热图颜色的深浅反映各样品指标标准化值大小。聚类分析结果显示,在指标方面分为两类,As、Hg、Pb、Cd、醇溶性浸出物、水溶性浸出物、产量、Z-藜本内酯聚为一类,剩余指标聚为一类;在产地和处理方式方面,分为眉山产地和彭州产地两类,而彭州产地将T-2聚为一类,其他处理聚为一类,眉山产地将CK、T-5、T-6聚为一类,其他处理聚为一类。整体来看,彭州样品在醇溶性浸出物、水溶性浸出物、产量、Z-藜本内酯、Hg、Pb、Cd、As高于眉山样品,而挥发油、洋川芎内酯A、洋川芎内酯I、绿原酸、Cu、阿魏酸、阿魏酸松柏酯低于眉山样品,从而说明产地和处理方式均对各指标有影响。

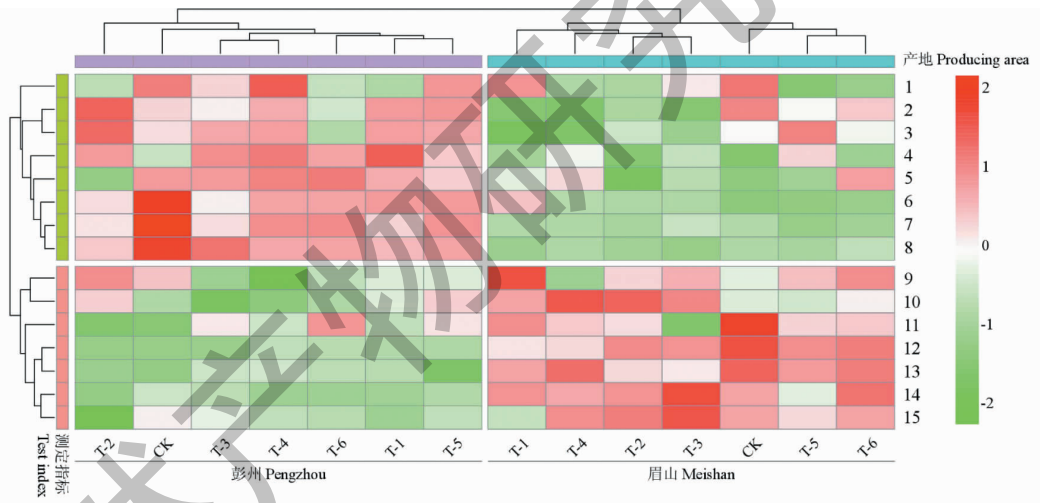


图7 聚类热图

Fig. 7 Heat map clustering

注:1-As;2-醇溶性浸出物;3-水溶性浸出物;4-产量;5-Z-藜本内酯;6-Hg;7-Pb;8-Cd;9-挥发油;10-洋川芎内酯I;11-绿原酸;12-阿魏酸;13-Cu;14-洋川芎内酯A;15-阿魏酸松柏酯。Note:1-As;2-Alcohol-soluble extract;3-Water-soluble extract;4-Yield;5-Z-Ligustilide;6-Hg;7-Pb;8-Cd;9-Volatile oil;10-Senkyunolide I;11-Chlorogenic acid;12-Ferulic acid;13-Cu;14-Senkyunolide A;15-Coniferyl ferulate.

3 结论和讨论

3.1 结论

生石灰类处理对川芎5种重金属含量、药材产量及质量影响不一,且产地和处理方法均对各指标有影响。综合考虑降低重金属效果(主要是Cd)、药材产量及质量,T-1(生石灰 6.67 kg/hm^2)、T-2(生石灰 6.67 kg/hm^2 +磷酸二氢钾 1.33 kg/hm^2)可作为彭州、眉山川芎生产中降低重金属的方法,T-3(生石灰 6.67 kg/hm^2 +淀粉 6.67 kg/hm^2)、T-4(生石

灰 6.67 kg/hm^2 +聚丙烯酸钠 10 kg/hm^2)可分别作为眉山、彭州川芎生产中降低重金属的方法。T-2处理能显著降低川芎Cd、As含量,显著增加川芎醇溶性浸出物和洋川芎内酯I含量,并且能一定程度地提高药材产量;T-1、T-3、T-4能显著降低川芎Cd含量,提高药材产量,上述方法既达到了降低重金属的效果,同时也保障了药材产量和质量。此外,上述方法的降Cd效果与课题组人员Ren^[6]前期报道结果基本一致,进一步说明上述方法在川芎降Cd效

果方面的稳定性较好,可以为川芎主产区低 Cd 川芎药材的生产提供参考。

3.2 讨论

单独施用生石灰(T-1 生石灰 6.67 kg/hm²) 在眉山(26.85%)、彭州(35.18%)均取得较好的降 Cd 效果,川芎生产过程中添加生石灰可提高土壤 pH、降低土壤有效性 Cd 含量,降低川芎药材 Cd 含量^[4,6,8,9]。因此,生产上通过施用生石灰等土壤改良剂适当提高土壤 pH 是有效降低川芎中 Cd 含量的有效措施之一。然而,添加生石灰的同时增加了土壤中 Ca 浓度,有研究发现土壤中施加 Ca 可以减少玉米^[14]、小油菜^[15]等植物对 Cd 的吸收和富集,而 He 等^[16]研究表明 Ca 对 Cd 有一定的活化作用,能够提高互花米草对重金属 Cd 的吸收积累和向地上部分的转移能力。因此,川芎生产过程土壤中 Ca 的增加是否对其 Cd 吸收和富集有影响有待进一步研究阐释。

土壤中 P 与 Cd 存在密切关系,磷酸盐可通过诱导吸附和沉淀作用影响 Cd 的有效性^[17]。将磷酸二氢钾施入土壤中,可提高土壤 pH,促进 Cd 生成难溶性磷酸盐沉淀和羟基磷铅镉矿物,降低 Cd 有效性^[18]。有研究报道,磷酸二氢钾能显著降低水稻镉积累^[19]。6 个处理中,眉山 T-2(生石灰 6.67 kg/hm² + 磷酸二氢钾 1.33 kg/hm²)、彭州 T-3(生石灰 6.67 kg/hm² + 淀粉 6.67 kg/hm²) 处理降 Cd 效果优于 T-1,说明磷酸二氢钾、淀粉与生石灰复合使用,可以增强降 Cd 效果。然而相同措施在两地对川芎 Cd 含量的影响存在差异,推测生石灰类处理对植物降镉 Cd 效果受到土壤理化性质的影响,相关分析和聚类分析显示,产地和处理方式均对各指标有影响,进一步证实了此猜想。因此,筛选最佳降重金属方法时应因地制宜。同时也说明了适宜的土壤改良剂复合使用能取得更好地降低重金属的效果。

研究结果显示,14 份川芎样品中 7 份样品 Cd 含量超标,超标率达 50%,并且超标的 7 份样品均来自彭州试验点,这与彭州土壤 Cd 背景值(0.54 mg/kg)高于眉山土壤 Cd 背景值(0.22 mg/kg)以及眉山土壤 pH(7.53)大于彭州土壤 pH(5.47)有关。川芎药材 Cd 含量的主要影响因素除了土壤 Cd 高背景值外,其自身的高 Cd 富集特性仍是主要因素之一。本研究发现彭州 6 个处理组川芎 Cd 含量较 CK 降低了 15.42% ~ 39.05%,但其镉含量仍在 0.42 ~ 0.59 mg/kg 之间,基于川芎传统优质产区 Cd

超标现状,课题组正在开展低 Cd 富集川芎新品种的筛选,拟为解决川芎重金属 Cd 超标问题提供更多的可能性。

通过各指标的相关性分析,我们发现 Pb 与 Cd 显著负相关,推测川芎在吸收 Pb 和 Cd 时存在竞争性抑制,许中坚等在油菜中发现相同规律,Cd 对 Pb 的吸收积累具有明显的抑制作用^[20];Pb 与洋川芎内酯 A、As 显著正相关,推测川芎生长发育过程中植株体内 Pb 含量对洋川芎内酯 A 合成有一定的影响,川芎吸收 As 和 Pb 时有相互促进的作用,Hu 在水稻中发现水稻根系吸收 As、Pb 时有相互促进的作用^[21]。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020:42.
- 2 Zhang TM, Ma YY, Zeng N, et al. Chuanxiong Rhizoma [J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药与临床), 2010, 1(2): 6-11.
- 3 Chen ZJ, et al. A systematic review on the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort. (Chuanxiong) [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 119: 309-325.
- 4 Xu Q, Chen X, Li B, et al. Preliminary investigation on the relationship between the Cd content in *Ligusticum chuanxiong* Hort. and the pH value and active-state Cd content in cultivated soil [J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2013, 41: 1044-1046.
- 5 Zhang DL, Chen R, Yu W, et al. Study on the enrichment characteristics of four heavy metals based on different germplasm resources of *Ligusticum chuanxiong* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2019, 42: 279-284.
- 6 Ren M. Preliminary study on factors and control measures of cadmium exceeded in Chuanxiong Rhizoma [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM(成都中医药大学), 2016.
- 7 Zhang DL, Zhang SD, Yang HY, et al. Effect of yield and quality of *Ligusticum chuanxiong* Hort. based on soil cadmium pollution [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2019, 42: 1228-1230.
- 8 Yang J, Li B, Li QM, et al. The study of correlation between the pH value of cultivated soil, the active-state content in cultivated soil and the content in Rhizoma Chuanxiong [J]. Chin Agr Sci Bull(中国农学通报), 2014, 30(7): 142-147.
- 9 Li QM, Li B, Guo XJ, et al. Effects of quicklime and sulfur on the growth and development of soil pH, Rhizoma Chuanxiong

- and the content of cadmium in medicinal materials [J]. J Chin Med Mater(中药材),2016,39:16-20.
- 10 Dong AQ, Liu Q, Xie J. A study on influencing factors in Cd²⁺ removal with crosslinked amino starch [J]. Acta Agr Univ Jiangxiensis (江西农业大学学报), 2018, 40: 856-865.
 - 11 Lu SF, Cao XJ, Tian ML(田美玲), et al. A study on influencing factors in Cd²⁺ removal with crosslinked amino starch [J]. Jiangsu Agr Sci(江苏农业科学), 2019, 47(7): 278-281.
 - 12 Chen C, Wu Y, Li B, et al. Contents determination for 6 main compounds from *Ligusticum chuanxiong* during growing period by UPLC [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:997-1001.
 - 13 Ministry of Commerce of the People's Republic of China. Green standards of medicinal plants and preparations for foreign trade and economy(药用植物及制剂外经贸绿色行业标准 WM/T 2-2004) [S]. 2005.
 - 14 Zhou W, Wang H, Li CH, et al. Effects of calcium carbonate addition on Cd form transformation in soil and Cd components in Maize leaves [J]. Acta Pedol Sin(土壤学报), 2001(2):219-225.
 - 15 Song ZG, Xu MG, Li JM, et al. Effects of calcium on cadmium bioavailability in lateritic red soil and related mechanisms [J]. Chin J Appl Ecol(应用生态学报), 2009, 20: 1705-1710.
 - 16 He ZZ, Chai WM, Wei Y, et al. Effects of CaCl₂ on the Cd accumulation and stress of *Spartina alterniflora* [J]. Chin J Ecol(生态学杂志), 2013, 32:1571-1577.
 - 17 Zhou SW, Xu MG. The Progression phosphate remediation of heavy metal-contaminated soils [J]. Acta Ecol Sin(生态学报), 2007, 27:3043-3050.
 - 18 He M. Phosphate fixed heavy metal contaminated soil Pb and Cd [D]. Shanxi:Xi'an University of Architecture and Technology(西安建筑科技大学), 2013.
 - 19 Liu ZB, Ji XH, Peng H, et al. Effects of phosphorous fertilizers on phyto-availability of cadmium in its contaminated soil and related mechanisms [J]. Chin J Appl Ecol(应用生态学报), 2012, 23:1585-1590.
 - 20 Wu CH, Qiu XY, et al. Transfer and interaction of Pb, Zn and Cd in soil-mustard/cole systems under multi-pollution conditions [J]. J Soil Water Conserv(水土保持学报), 2007, 21(6):1-6.
 - 21 Hu Y, Duan GL, Liu YX, et al. Effects of arsenic and lead interaction on arsenic and lead accumulation in iron plaque and uptake by rice roots [J]. Environ Chem(环境化学), 2012, 31:1968-1973.
- (上接第 1817 页)
- 18 Yu T, Bai XY, Jlie XJ, et al. Calculation of *in vitro* EC₅₀ of a drug by GraphPad Prism 5. 0(R) software [J]. Prog Pharm Sci(药学进展), 2012, 36(4): 180-183.
 - 19 Wang ZY, Yang SY, Lv W, et al. Analysis of spectrum-activity relationship among different antioxidant parts of Lycii Fructus using three chemometrics [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2021, 46:3377-3387.
 - 20 Zhang GH. Studies on extraction, separation and coordination antioxidant ability of flavonoids from *Morus nigra* L. in Xinjiang [D]. Alaer:Tarim University(塔里木大学), 2016.
 - 21 Huang XB, Wang GH, Xiang HY, et al. First exploration of introduction and cultivation technology of *Zanthoxylum armatum* DC. [J]. Hunan Forest Sci Technol(湖南林业科技), 2019, 46(5):105-108.