

离子辐射选育当归新品种安全性评价

李 硕^{1,2,3}, 李成义^{1,2,3*}, 李 敏^{4*}, 杨秀娟^{1,3}, 冯新昌^{1,3}

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地, 甘肃 兰州 730000

4. 成都中医药大学, 四川 成都 610075

摘 要: **目的** 对离子辐射选育当归新品种进行安全性评价。**方法** 采用气相色谱法测定有机氯类农药残留量; 电感耦合等离子体质谱法测定 Pb、Cd、Cu 含量; 测汞仪测定 Hg 含量; 原子荧光法测定 As 含量。以总灰分、酸不溶性灰分、重金属及有害元素含量为指标, 利用灰色关联度法, 结合小鼠急性毒性实验, 对样品安全性进行综合评价。**结果** 辐射选育当归新品种岷归 3 号、岷归 4 号药材中有机氯类农药残留量、重金属和有害元素含量符合《中华人民共和国药用植物及制剂进出口绿色行业标准》规定。灰色关联度法对样品安全性进行综合评价表明, 岷归 3 号、岷归 4 号整体安全性优于其他样品。当归不同部位对重金属及有害元素的富集程度不同, 归头对重金属 Pb、Cd、Cu 的富集程度较高, 归尾对重金属 As、Hg 的富集程度较高, 归身对重金属的富集程度相对较低。小鼠急性毒性实验未测得 ig 给药小鼠半数致死量 (LD₅₀), 而小鼠对其最大耐受量为 120 g/kg, 相当于临床成人 (60 kg) 最大用量的 480 倍。**结论** 当归辐射选育品种药材无明显毒性, 临床常用量安全可行。

关键词: 辐射选育; 当归; 新品种; 安全性评价; 灰色关联

中图分类号: R286.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)11-2662-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.11.027

Safety evaluation of new *Angelica sinensis* varieties cultivated with ionizing radiation

LI Shuo^{1,2,3}, LI Cheng-yi^{1,2,3}, LI Min⁴, YANG Xiu-juan^{1,3}, FENG Xin-chang^{1,3}

1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of the College of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

3. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality and Standard, Lanzhou 730000, China

4. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Abstract: Objective To evaluate the safety of new *Angelica sinensis* species with ionizing radiation. **Methods** GC was adopted to determine the organochlorine pesticide residues; ICP-MS was used to identify the contents of lead (Pb), cadmium (Cd), and copper (Cu); Mercury vapourmeter was used to determine the content of mercury (Hg); Atomic fluorescence spectrometry was used to identify the content of arsenic (As). Adopting gray correlation as experiment method and taking the total ash, acid-insoluble ash, heavy metals, and harmful elements content as evaluation indexes, combined with acute toxicity test on mice, the study is to evaluate the safety of the new *A. sinensis* varieties cultivated with ionizing radiation. **Results** The results show that the organochlorine pesticide residues, heavy metals, and harmful elements contents in Mingui No.3 and Mingui No.4 comply with regulations in "Green Industry Standards for the Import and Export of Medicinal Plants and Preparations of the People's Republic of China". Comprehensive evaluation of the safety of the samples with gray correlation degree showed that the safety of Mingui No.3 and Mingui No.4 was superior to other samples.

收稿日期: 2018-02-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81360622); 甘肃省中医药管理局项目 (GZK-2017-7); 甘肃省高等学校科学研究项目 (2016B-055); 甘肃省自然科学基金项目 (1508KJ2A013)

作者简介: 李 硕 (1981—), 女, 博士研究生, 研究方向为中药鉴定学。Tel: 13919824303 E-mail: 290608323@qq.com

***通信作者** 李成义 (1964—), 男, 博士生导师, 主要从事中药品质评价及产品开发研究。Tel: 13893259481 E-mail: gslichengyi@163.com
李 敏 (1962—), 女, 博士生导师, 主要从事中药品质评价及产品开发研究。Tel: 13980038316 E-mail: 028limin@163.com

The enrichment degrees of different parts of *A. sinensis* on heavy metals and harmful elements were different: The head of *A. sinensis* presented higher enrichment degree on the heavy metals lead (Pb), cadmium (Cd), and copper (Cu), the tail shows higher enrichment degree on such heavy metals as arsenic (As) and mercury (Hg), and the body presented lower enrichment degree on heavy metals. In the acute toxicity experiment of mice, LD₅₀ was not measured in the mice and the maximum tolerance of mice was 120 g/kg, equivalent to 480 times the clinically maximum amount of adults (60 kg). **Conclusion** There is no obvious toxicity in new *A. sinensis* species with ionizing radiation, and the clinical usual dosage is safe and feasible.

Key words: irradiation breeding; *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; new species; safety evaluation; grey correlation analysis

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根，具有补血活血、调经止痛、润肠通便的功效，主产于甘肃岷县、漳县、陇西、渭源等地，在云南、四川、陕西等省也有生产。其中，岷县、漳县当归以种植面积最大，品质最佳，被誉为“岷归”^[1-5]。目前商品当归几乎全来源于栽培品，当归种质现已分化出“紫茎当归”和“绿茎当归”2 个农家栽培种，7 个当归栽培新品种（品系）中（其中岷归 1~5 号已审定），岷归 1 号、岷归 2 号、岷归 5 号、90-03、2000-01 为系统选育品种（品系）；岷归 3 号、岷归 4 号分别为重离子辐射生物育种选育品种^[6-8]。

通过对当归品种选育、栽培种植、质量评价、市场情况等进行实地考察及综合调研发现^[9-13]，对选育出的当归栽培品种未进行安全性综合评价，难以保证临床用药的安全有效性，尤其是经过辐射育种的栽培品种药材是否存在安全隐患，能否与系统选育品种药材具备同等的药效价值不得而知。当归优良品种选育工作与实际生产脱节，未能进行有效推广应用。

针对上述问题，本研究以有机氯类农药残留量、重金属和有害元素含量为评价指标，利用灰色关联度法，结合小鼠急性毒性实验，对 55 MeV/u 40 Ar¹⁵⁺、Ar¹⁷⁺ 离子辐射选育当归新品种岷归 3 号、岷归 4 号进行安全性评价，为重离子辐射选育当归新品种临床用药的安全有效及推广应用提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

当归不同栽培品种（品系）药材样品及引种朝鲜当归样品，于 2014 年 10 月在甘肃漳县殪虎桥乡实验样地采集，当归不同产地样品为在当地采集或收集，经甘肃中医药大学李成义教授鉴定为当归 *A. sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根；引种样品为朝鲜当归 *A. gigas* Nikai. 的干燥根。

岷归 3 号、岷归 4 号分别为采用 55 MeV/u 40 Ar¹⁵⁺、Ar¹⁷⁺ 中能离子束 2.5 Gy 剂量辐射岷归 1 号种

子并按育种程序选育而成。

有机氯类农药残留量、重金属及有害元素测定样品信息见表 1，小鼠急性毒性实验样品来源信息见表 2。通过四分法选取实验样品，保证样品具有代表性。

表 1 有机氯类农药残留量、重金属及有害元素测定实验材料信息

Table 1 Information of samples of organochlorine pesticide residues, heavy metals and harmful elements

编号	栽培品种（品系）	药用部位	产地	采集时间	来源
1	岷归 1 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
2	岷归 2 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
3	岷归 3 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
4	岷归 4 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
5	岷归 5 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
6	90-03	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
7	2000-01	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
8	引种朝鲜当归	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
9	当归	全归	云南曲靖	2014-10	商品
10	野生当归	全归	甘肃岷县	2014-10	采集
11	野生当归	全归	甘肃定西	2014-10	采集
12	当归	全归	甘肃岷县	2014-10	采集
13	当归	全归	甘肃岷县	2014-10	商品
14	当归	全归	甘肃漳县	2014-10	商品
15	当归	全归	甘肃渭源	2014-10	采集
16	当归	全归	甘肃陇西	2014-10	商品
17	当归	全归	甘肃临泽	2014-10	采集
18	当归	全归	甘肃和政	2014-10	采集
19	当归	全归	甘肃康乐	2014-10	采集
20	当归	全归	青海西宁	2014-10	采集

表 2 急性毒性实验材料信息

Table 2 Information of samples for acute toxicity test on mice

栽培品种	药用部位	产地	采集时间	样品类型
岷归 3 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
岷归 4 号	全归	甘肃漳县	2014-10	采集
商品当归	全归	甘肃漳县	2014-10	收集

1.2 仪器与试剂

BS224S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); 7890A Agilent 气相色谱仪(安捷伦科技中国有限公司); DMA-80 测汞仪(莱伯泰科有限公司); Thermo Fisher X Series 2 ICP-MS(电感耦合等离子体质谱仪, 赛默飞世尔科技有限公司); AFS-922 双道原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司)。

六六六(α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC)、滴滴涕(OP-DDT、PP-DDD、PP-DDE、PP-DDT)及五氯硝基苯(PCNB)对照品溶液(质量浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$)均购自农业部环境保护科研监测所, 水为去离子水。As、Cd、Hg 标准溶液(100 mg/mL), Pb、Cu 标准溶液(500 mg/mL)均购自国家环保总局标准样品研究所; 丙酮、石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)、二氯甲烷均为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为去离子水; 生理盐水(上海索诚化学试剂有限公司); 无水乙醇(禹城市创兴化工有限公司)。实验用水为超纯水, 由纯水仪制得。

昆明种小鼠(SPF 级)40 只, 体质量 18~22 g, 雌雄各半, 由甘肃中医药大学科研实验中心提供, 合格证号 SYXK(甘)2011-0001。

2 方法

2.1 有机氯类农药残留量检测

参照《中国药典》2015 年版一部附录 IXQ 有机氯类农药残留量测定法测定。

2.1.1 对照品溶液的制备 精密吸取 α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、OP-DDT、PP-DDD、PP-DDE、PP-DDT、PCNB 对照品溶液各 200 μL , 用石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)稀释成质量浓度均为 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取样品 5.000 g, 按照《中国药典》2015 年版附录 IXQ 有机氯类农药残留量测定法制备。

2.1.3 色谱条件 色谱柱为 DB-5 弹性石英毛细管柱(30 $\text{cm} \times 0.32 \text{ mm}$, 0.25 μm); 63Ni-ECD 检测器。升温程序: 初始温度 100 $^{\circ}\text{C}$, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 220 $^{\circ}\text{C}$, 以 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min。衰减 3。进样口温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 300 $^{\circ}\text{C}$, 不分流进样。进样量 1 μL 。

2.2 重金属及有害元素检测

2.2.1 对照品溶液的制备 按照《中国药典》2015 年版一部附录 IXB 中, Pb、Cd、As、Hg、Cu 测定

法制备。

2.2.2 供试品溶液的制备 准确称取样品 0.400 g, 置入消化管中, 加入 0.3 mL 硝酸, 同时做试剂空白, 摇匀放置过夜。置于电热板上加热消解至完全。消解好的样品、空白对照、对照品系列同时用去离子水定容至 100 mL 量瓶中, 摇匀备用。

2.2.3 色谱条件 Pb、Cd、Cu 采用电感耦合等离子体质谱法。用热电调谐液 Tune A 对 ICP-MS 进行仪器调试, 使灵敏度、背景、稳定性等各项指标达到测定要求。仪器工作参数: 射频功率为 1 370 W, 玻璃球锥形雾室(雾室温度 3 $^{\circ}\text{C}$), 采样深度 160 步, 辅助气体流量 0.80 L/min, 载气体积流量 0.87 L/min, 冷却气体流量 13.0 L/min; 测量通道 3, 测量时间 30 ms; 测量方式为跳峰模式。选取同位素 Pb(208)、Cd(111)、Cu(65)测定样品溶液。Hg 采用直接测汞仪测定。仪器条件: 干燥温度 200 $^{\circ}\text{C}$, 干燥时间 60 s; 催化温度 650 $^{\circ}\text{C}$, 催化时间 60 s; 分解温度 650 $^{\circ}\text{C}$, 分解时间 180 s; 歧化温度 900 $^{\circ}\text{C}$, 歧化时间 12 s; 信号采集时间 30 s, 清洗时间 60 s。As 采用原子荧光法测定。测定条件为: 负高压 250 V, 灯电流 50 mA, 载气体积流量 400 mL/min, 屏蔽气体流量 800 mL/min。

2.3 灰色关联度法

测定所收集样品的重金属及有害元素含量, 参考文献方法^[14-15]建立评价当归药材安全性的灰色模式识别数据集。主要包括参考序列的选择、原始数据规格化处理、关联系数计算、相对关联度计算, 根据相对关联度的大小对评价单元序列进行排序, 最终得到优劣评价结果。

2.4 急性毒性实验方法

2.4.1 药材提取液的制备 取辐射选育当归品种岷归 3 号、岷归 4 号及市售当归药材粗粉各 120 g, 分别加 10 倍量水后加热回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤过后合并滤液, 加热浓缩至 90 mL(按最大药物浓度为恰好能通过灌胃针头计算含生药量 1.33 g/mL)^[16]。置冰箱冷藏备用。

2.4.2 小鼠经口急性毒性实验 选取 SPF 级昆明种小鼠 40 只, 体质量 18~22 g。适应环境后, 按体质量随机分为 4 组: 对照组、岷归 3 号组、岷归 4 号组、商品当归组, 每组 10 只, 雌雄各半, 分笼饲养。实验前禁食 12 h, 自由饮水。将岷归 3 号、岷归 4 号及商品当归药材浓缩后的水提液按小鼠 ig 最大给药容积(0.04 mL/g)一次性 ig 给药, 对照

组一次 ig 给予等体积的生理盐水。给药后常规饲养,连续观察 7 d 内小鼠毒性反应和死亡情况。若小鼠死亡率 $\geq 30\%$,则用改良寇氏法测定半数致死量(LD₅₀)。若不足以引起小鼠死亡,则改为测定样品水提液的最大耐受量(MTD)。实验结果发现,各组 7 d 内未见小鼠死亡及其他异常,需测定 MTD。

2.4.3 MTD 实验 选取 SPF 级昆明种小鼠 80 只,体质量 18~22 g。适应环境后,按体质量随机分为 4 组:对照组、岷归 3 号组、岷归 4 号组、商品当归组,每组 20 只,雌雄各半,分笼饲养。实验前禁食 12 h,自由饮水。将岷归 3 号、岷归 4 号及商品当归浓缩后的水提液按小鼠最大耐受体积 0.04 mL/g ig 给药,6 h 后以同样剂量再次给药,累计给药剂量为 120 g/kg。对照组 ig 给予等体积生理盐水,正常摄食

饮水。连续观察 7 d 并记录数据。观察 7 d 后,处死所有小鼠,解剖后肉眼观察心脏、肝脏、脾、肺、肾大小颜色是否正常;胃内是否有尚未消化完全的食物残渣;肠内是否有成型大便、胀气、充血及出血等异常病变。以体质量变化、行为反应及死亡情况,综合评价实验结果。

2.5 统计分析

利用 SPSS 软件及灰色关联度法进行方差分析及数据统计。

3 结果与分析

3.1 有机氯类农药残留量

按照“2.1.2”项制备方法平行制备 3 份供试品,精密吸取对照品、供试品溶液各 1 μ L,分别进样,按外标法计算,有机氯类农药残留量测定结果见表 3。样品 1、2、3 分别代表归头、归身、归尾。

表 3 有机氯类农药残留量结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 3 Results of organochlorine pesticide residues ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	质量分数/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)							
	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	OP-DDT	PP-DDD	PP-DDE	PP-DDT
1-1	—	—	—	—	—	—	—	—
1-2	—	—	—	—	—	—	—	—
1-3	—	—	—	—	—	—	—	—
2-1	—	—	—	—	—	—	—	—
2-2	—	—	—	—	—	—	—	—
2-3	—	—	—	—	—	—	—	—
3-1	—	—	—	—	—	—	—	—
3-2	—	—	—	—	—	—	—	—
3-3	—	—	—	—	—	—	—	—
4-1	—	—	—	—	—	—	—	—
4-2	—	—	—	—	—	—	—	—
4-3	—	—	—	—	—	—	—	—
5-1	—	—	—	—	—	—	—	—
5-2	—	—	—	—	—	—	—	—
5-3	—	—	—	—	—	—	—	—
6-1	—	—	0.092 3 $\pm$ 0.000 6	—	—	—	—	—
6-2	—	—	0.039 6 $\pm$ 0.003 9	—	—	—	—	—
6-3	—	—	0.154 5 $\pm$ 0.002 0	—	—	—	—	—
7-1	—	—	0.084 1 $\pm$ 0.001 4	—	—	—	—	—
7-2	—	—	0.086 2 $\pm$ 0.002 9	—	—	—	—	—
7-3	—	—	0.102 0 $\pm$ 0.002 6	—	—	—	—	—
8-1	—	—	—	—	—	—	—	—
8-2	—	—	—	—	—	0.075 0 $\pm$ 0.003 0	—	—
8-3	—	—	—	—	—	—	—	—
9-1	—	—	—	—	—	—	—	—

续表 3

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)							
	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	OP'-DDT	PP-DDD	PP'-DDE	PP'-DDT
9-2	—	—	—	—	—	—	0.056 0 $\pm$ 0.005 5	—
9-3	—	—	—	—	—	—	—	—
10-1	—	—	—	—	—	—	—	—
10-2	—	—	—	—	—	—	—	—
10-3	—	—	—	—	—	—	—	—
11-1	—	—	—	—	—	—	—	—
11-2	—	—	—	—	—	—	—	—
11-3	—	—	—	—	—	—	—	—
12-1	—	—	0.065 0 $\pm$ 0.006 3	—	—	—	—	—
12-2	—	—	—	—	—	—	—	—
12-3	—	—	0.069 4 $\pm$ 0.006 0	—	—	—	—	—
13-1	—	—	—	—	—	—	—	—
13-2	—	—	—	—	—	—	—	—
13-3	—	—	—	—	—	—	—	—
14-1	—	—	—	—	—	—	—	—
14-2	—	—	—	—	—	—	—	—
14-3	—	—	0.039 4 $\pm$ 0.003 9	—	—	—	—	—
15-1	—	—	—	—	—	—	—	—
15-2	—	—	—	—	—	—	—	—
15-3	—	—	0.103 8 $\pm$ 0.001 9	—	—	—	—	—
16-1	—	—	—	—	—	—	—	—
16-2	—	—	—	—	—	—	—	—
16-3	—	—	—	—	—	—	—	—
17-1	—	—	—	—	—	—	—	—
17-2	—	—	—	—	—	—	—	—
17-3	—	—	—	—	—	—	—	—
18-1	—	—	—	—	—	—	—	—
18-2	—	—	—	—	—	—	—	—
18-3	—	—	0.081 9 $\pm$ 0.003 9	—	—	—	—	—
19-1	—	—	—	—	—	—	—	—
19-2	—	—	—	—	—	—	—	—
19-3	—	—	0.019 2 $\pm$ 0.008 0	—	—	—	—	—
20-1	—	—	—	—	—	—	—	—
20-2	—	—	—	—	—	—	0.002 0 $\pm$ 0.007 6	—
20-3	—	—	—	—	—	—	—	—

“—” 未检出

“—” not detected

由表 3 可以得出, 除个别样品(90-03 归尾、2000-01 归尾、产于渭源的当归归尾)中 γ -BHC 不符合《中华人民共和国药用植物及制剂进出口绿色行业标准》规定外($\text{BHC} \leq 0.1 \text{ mg/kg}$), 其余样品有机氯类农药残留量均符合限量规定。

3.2 重金属及有害元素

按上述方法测定样品, 结果见表 4。表 4 结果表明, 除 2000-01 归头(编号 7-1)中 Cu 含量超出《药用植物及制剂外贸绿色行业标准》(WM/T2-2004)限

量要求外(质量分数 $\leq 0.000 2\%$), 其余样品中 Pb、Cd、As、Hg、Cu 含量均符合 WM/T2-2004 限量规定。

3.3 当归药材安全性灰色关联度评价模式的建立

将原始数据集进行规格化处理, 计算各评价单元序列相对最优(差)参考序列的差值、关联系数和关联度, 进行排序, 确定当归药材安全性名次, 结果见表 5。

由于最优参考序列的关联度越大, 最差参考序列的关联度越小, 评价单元的相对关联度就越大,

表 4 重金属及有害元素测定结果

Table 4 Results of heavy metals and harmful elements content

编号	质量分数/($\times 10^{-4} \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	Pb	Cd	As	Hg	Cu
1-1	0.396 4 $\pm$ 0.002 5	0.065 8 $\pm$ 0.001 5	0.517 1 $\pm$ 0.003 9	0.001 9 $\pm$ 0.000 2	16.908 3 $\pm$ 0.005 9
1-2	0.274 8 $\pm$ 0.007 3	0.036 6 $\pm$ 0.004 7	0.342 0 $\pm$ 0.005 9	0.002 3 $\pm$ 0.000 3	9.527 0 $\pm$ 0.002 3
1-3	0.241 2 $\pm$ 0.004 2	0.018 0 $\pm$ 0.003 5	0.561 3 $\pm$ 0.003 6	0.002 5 $\pm$ 0.000 4	6.450 8 $\pm$ 0.003 7
2-1	0.310 4 $\pm$ 0.006 4	0.066 5 $\pm$ 0.001 5	0.461 6 $\pm$ 0.002 2	0.002 4 $\pm$ 0.000 2	13.326 0 $\pm$ 0.002 0
2-2	0.307 7 $\pm$ 0.006 5	0.023 4 $\pm$ 0.004 3	0.421 5 $\pm$ 0.004 1	0.003 2 $\pm$ 0.000 3	6.000 1 $\pm$ 0.001 5
2-3	0.303 7 $\pm$ 0.003 3	0.022 0 $\pm$ 0.004 5	0.574 3 $\pm$ 0.004 6	0.004 0 $\pm$ 0.000 3	4.883 2 $\pm$ 0.009 4
3-1	0.240 9 $\pm$ 0.007 2	0.060 1 $\pm$ 0.001 7	0.289 4 $\pm$ 0.006 0	0.001 7 $\pm$ 0.000 7	5.892 0 $\pm$ 0.003 5
3-2	0.219 0 $\pm$ 0.007 9	0.024 3 $\pm$ 0.004 1	0.200 4 $\pm$ 0.010 0	0.001 3 $\pm$ 0.000 5	3.516 0 $\pm$ 0.005 9
3-3	0.200 0 $\pm$ 0.001 0	0.022 2 $\pm$ 0.004 5	0.453 7 $\pm$ 0.002 2	0.002 1 $\pm$ 0.000 3	3.267 0 $\pm$ 0.005 6
4-1	0.237 6 $\pm$ 0.004 2	0.021 6 $\pm$ 0.004 6	0.242 1 $\pm$ 0.008 3	0.000 7 $\pm$ 0.000 1	6.112 0 $\pm$ 0.001 2
4-2	0.227 3 $\pm$ 0.007 6	0.020 2 $\pm$ 0.008 6	0.202 6 $\pm$ 0.008 6	0.000 3 $\pm$ 0.000 2	5.744 0 $\pm$ 0.003 2
4-3	0.184 4 $\pm$ 0.010 8	0.010 5 $\pm$ 0.000 9	0.356 9 $\pm$ 0.002 8	0.001 4 $\pm$ 0.000 4	3.586 0 $\pm$ 0.005 3
5-1	0.255 8 $\pm$ 0.003 9	0.046 5 $\pm$ 0.002 2	0.406 8 $\pm$ 0.004 3	0.002 6 $\pm$ 0.000 2	9.163 0 $\pm$ 0.002 3
5-2	0.248 4 $\pm$ 0.004 0	0.021 4 $\pm$ 0.008 1	0.330 2 $\pm$ 0.003 0	0.001 8 $\pm$ 0.000 3	7.531 0 $\pm$ 0.002 3
5-3	0.231 5 $\pm$ 0.004 3	0.023 2 $\pm$ 0.007 5	0.536 1 $\pm$ 0.003 7	0.003 1 $\pm$ 0.000 2	7.016 0 $\pm$ 0.001 1
6-1	0.476 3 $\pm$ 0.002 1	0.062 6 $\pm$ 0.001 6	0.413 4 $\pm$ 0.004 2	0.003 5 $\pm$ 0.000 2	19.472 4 $\pm$ 0.005 9
6-2	0.454 5 $\pm$ 0.003 8	0.024 0 $\pm$ 0.004 2	0.231 7 $\pm$ 0.004 3	0.002 9 $\pm$ 0.000 2	18.638 9 $\pm$ 0.008 2
6-3	0.431 2 $\pm$ 0.004 6	0.021 0 $\pm$ 0.004 8	0.646 5 $\pm$ 0.004 1	0.003 7 $\pm$ 0.000 7	14.123 6 $\pm$ 0.001 1
7-1	0.709 8 $\pm$ 0.001 4	0.062 6 $\pm$ 0.001 6	0.632 2 $\pm$ 0.001 6	0.003 2 $\pm$ 0.000 9	20.334 6 $\pm$ 0.008 5
7-2	0.455 6 $\pm$ 0.003 8	0.024 0 $\pm$ 0.004 2	0.575 0 $\pm$ 0.001 7	0.002 8 $\pm$ 0.000 2	10.863 0 $\pm$ 0.001 6
7-3	0.283 9 $\pm$ 0.007 0	0.021 3 $\pm$ 0.004 7	0.918 2 $\pm$ 0.001 1	0.004 4 $\pm$ 0.000 1	4.571 2 $\pm$ 0.003 4
8-1	0.337 6 $\pm$ 0.003 0	0.021 7 $\pm$ 0.004 6	0.419 3 $\pm$ 0.004 1	0.002 4 $\pm$ 0.000 3	8.152 1 $\pm$ 0.002 6
8-2	0.260 9 $\pm$ 0.007 7	0.019 6 $\pm$ 0.005 1	0.214 2 $\pm$ 0.008 1	0.002 2 $\pm$ 0.000 3	5.103 2 $\pm$ 0.004 0
8-3	0.137 0 $\pm$ 0.001 9	0.021 1 $\pm$ 0.008 2	0.431 5 $\pm$ 0.002 3	0.003 4 $\pm$ 0.000 2	3.861 4 $\pm$ 0.003 0
9-1	0.450 7 $\pm$ 0.003 8	0.043 9 $\pm$ 0.002 3	0.579 4 $\pm$ 0.001 7	0.005 6 $\pm$ 0.001 1	1.653 3 $\pm$ 0.008 7
9-2	0.437 3 $\pm$ 0.006 1	0.041 8 $\pm$ 0.002 4	0.463 8 $\pm$ 0.002 2	0.003 8 $\pm$ 0.000 6	1.298 7 $\pm$ 0.001 3
9-3	0.391 2 $\pm$ 0.005 1	0.037 6 $\pm$ 0.002 7	0.871 4 $\pm$ 0.003 0	0.007 6 $\pm$ 0.000 8	0.912 5 $\pm$ 0.001 8
10-1	0.265 6 $\pm$ 0.007 5	0.010 7 $\pm$ 0.000 9	0.217 7 $\pm$ 0.001 2	0.002 3 $\pm$ 0.000 3	4.626 5 $\pm$ 0.002 5
10-2	0.239 3 $\pm$ 0.008 4	0.009 4 $\pm$ 0.000 3	0.134 2 $\pm$ 0.001 5	0.001 8 $\pm$ 0.000 3	4.331 2 $\pm$ 0.003 8
10-3	0.112 8 $\pm$ 0.008 9	0.009 8 $\pm$ 0.003 3	0.235 6 $\pm$ 0.004 2	0.002 7 $\pm$ 0.000 2	3.908 2 $\pm$ 0.002 4
11-1	0.251 8 $\pm$ 0.006 9	0.025 3 $\pm$ 0.004 0	0.119 5 $\pm$ 0.008 4	0.001 4 $\pm$ 0.000 4	3.128 7 $\pm$ 0.004 0
11-2	0.235 8 $\pm$ 0.004 2	0.019 8 $\pm$ 0.005 1	0.071 2 $\pm$ 0.002 4	0.000 9 $\pm$ 0.000 3	2.459 2 $\pm$ 0.009 0
11-3	0.193 3 $\pm$ 0.009 0	0.024 5 $\pm$ 0.004 1	0.131 9 $\pm$ 0.007 6	0.001 6 $\pm$ 0.000 4	2.423 7 $\pm$ 0.004 6
12-1	0.326 3 $\pm$ 0.003 1	0.034 7 $\pm$ 0.005 0	0.382 3 $\pm$ 0.002 6	0.004 9 $\pm$ 0.001 2	13.192 0 $\pm$ 0.001 5
12-2	0.307 5 $\pm$ 0.003 3	0.032 9 $\pm$ 0.005 3	0.171 4 $\pm$ 0.005 8	0.003 9 $\pm$ 0.001 6	12.590 0 $\pm$ 0.007 9
12-3	0.258 2 $\pm$ 0.001 0	0.030 6 $\pm$ 0.005 7	0.607 0 $\pm$ 0.001 7	0.006 2 $\pm$ 0.000 1	8.042 0 $\pm$ 0.008 2
13-1	0.201 2 $\pm$ 0.008 6	0.047 8 $\pm$ 0.003 6	0.229 6 $\pm$ 0.001 2	0.003 8 $\pm$ 0.000 2	7.234 6 $\pm$ 0.002 3
13-2	0.180 7 $\pm$ 0.005 5	0.042 5 $\pm$ 0.004 1	0.174 4 $\pm$ 0.009 9	0.002 2 $\pm$ 0.000 3	7.117 0 $\pm$ 0.002 3
13-3	0.135 1 $\pm$ 0.007 4	0.042 3 $\pm$ 0.002 4	0.231 7 $\pm$ 0.004 3	0.004 0 $\pm$ 0.000 5	6.194 5 $\pm$ 0.002 4
14-1	0.987 0 $\pm$ 0.001 8	0.051 9 $\pm$ 0.001 9	0.985 0 $\pm$ 0.001 0	0.002 8 $\pm$ 0.000 2	11.759 0 $\pm$ 0.001 7
14-2	0.797 5 $\pm$ 0.001 3	0.040 9 $\pm$ 0.002 4	0.523 7 $\pm$ 0.001 9	0.004 2 $\pm$ 0.000 5	7.636 0 $\pm$ 0.001 6
14-3	0.270 8 $\pm$ 0.006 4	0.020 8 $\pm$ 0.004 8	1.182 0 $\pm$ 0.008 5	0.004 9 $\pm$ 0.001 2	5.792 0 $\pm$ 0.002 0

续表 4

编号	质量分数/($\times 10^{-4} \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	Pb	Cd	As	Hg	Cu
15-1	0.812 5 $\pm$ 0.002 5	0.154 8 $\pm$ 0.000 6	0.596 1 $\pm$ 0.001 7	0.001 7 $\pm$ 0.000 4	12.746 0 $\pm$ 0.001 4
15-2	0.803 6 $\pm$ 0.001 2	0.141 3 $\pm$ 0.000 7	0.498 3 $\pm$ 0.004 0	0.001 6 $\pm$ 0.000 3	9.831 2 $\pm$ 0.001 3
15-3	0.672 8 $\pm$ 0.003 0	0.127 8 $\pm$ 0.000 8	0.772 2 $\pm$ 0.003 4	0.002 7 $\pm$ 0.000 2	8.690 8 $\pm$ 0.002 0
16-1	0.356 3 $\pm$ 0.005 6	0.032 5 $\pm$ 0.003 1	0.420 3 $\pm$ 0.004 1	0.008 6 $\pm$ 0.000 7	7.118 4 $\pm$ 0.002 7
16-2	0.278 2 $\pm$ 0.003 6	0.030 1 $\pm$ 0.005 8	0.364 5 $\pm$ 0.005 5	0.006 7 $\pm$ 0.000 9	6.780 9 $\pm$ 0.003 0
16-3	0.221 7 $\pm$ 0.007 8	0.031 7 $\pm$ 0.005 5	0.438 0 $\pm$ 0.006 0	0.009 0 $\pm$ 0.000 7	6.164 0 $\pm$ 0.001 7
17-1	1.123 6 $\pm$ 0.008 9	0.015 7 $\pm$ 0.006 4	0.428 9 $\pm$ 0.002 3	0.002 4 $\pm$ 0.000 3	6.710 2 $\pm$ 0.001 3
17-2	1.072 3 $\pm$ 0.001 6	0.013 2 $\pm$ 0.007 6	0.371 3 $\pm$ 0.002 7	0.002 3 $\pm$ 0.000 2	6.456 6 $\pm$ 0.004 1
17-3	0.927 6 $\pm$ 0.001 1	0.011 4 $\pm$ 0.008 8	0.531 4 $\pm$ 0.003 8	0.002 7 $\pm$ 0.000 3	5.258 9 $\pm$ 0.002 7
18-1	1.526 4 $\pm$ 0.006 6	0.038 1 $\pm$ 0.002 6	0.422 3 $\pm$ 0.004 1	0.003 3 $\pm$ 0.000 9	9.245 1 $\pm$ 0.002 6
18-2	1.504 9 $\pm$ 0.006 6	0.034 9 $\pm$ 0.002 9	0.361 7 $\pm$ 0.007 3	0.002 9 $\pm$ 0.000 1	7.876 2 $\pm$ 0.001 6
18-3	1.357 8 $\pm$ 0.007 4	0.036 5 $\pm$ 0.004 7	0.481 9 $\pm$ 0.004 2	0.003 5 $\pm$ 0.000 7	7.451 1 $\pm$ 0.001 5
19-1	2.120 4 $\pm$ 0.004 7	0.089 5 $\pm$ 0.001 1	0.748 2 $\pm$ 0.001 3	0.002 3 $\pm$ 0.000 3	2.796 0 $\pm$ 0.006 6
19-2	1.972 0 $\pm$ 0.001 3	0.083 7 $\pm$ 0.001 2	0.601 3 $\pm$ 0.003 3	0.002 1 $\pm$ 0.000 2	2.638 9 $\pm$ 0.008 4
19-3	1.758 3 $\pm$ 0.005 7	0.074 4 $\pm$ 0.002 3	0.751 4 $\pm$ 0.001 3	0.002 5 $\pm$ 0.000 4	2.342 7 $\pm$ 0.008 9
20-1	1.841 2 $\pm$ 0.001 4	0.052 3 $\pm$ 0.003 3	0.409 2 $\pm$ 0.006 5	0.003 6 $\pm$ 0.000 7	9.374 5 $\pm$ 0.001 1
20-2	1.674 8 $\pm$ 0.006 0	0.041 6 $\pm$ 0.004 2	0.312 4 $\pm$ 0.003 2	0.002 5 $\pm$ 0.000 2	8.239 8 $\pm$ 0.002 5
20-3	1.796 4 $\pm$ 0.009 6	0.047 9 $\pm$ 0.004 2	0.511 3 $\pm$ 0.005 2	0.004 2 $\pm$ 0.000 5	7.764 2 $\pm$ 0.001 3

表 5 当归药材安全性的相对关联度及排序名次

Table 5 Relative correlation and ranking order of safety of *A. sinensis*

编号	相对关联度	安全性排序	编号	相对关联度	安全性排序	编号	相对关联度	安全性排序
1-1	0.459 6	43	7-3	0.387 5	19	14-2	0.480 8	47
1-2	0.406 6	26	8-1	0.397 0	22	14-3	0.453 4	41
1-3	0.392 0	21	8-2	0.376 5	14	15-1	0.569 6	60
2-1	0.390 7	20	8-3	0.373 8	12	15-2	0.557 9	58
2-2	0.341 4	5	9-1	0.419 4	32	15-3	0.550 2	57
2-3	0.348 1	7	9-2	0.412 2	29	16-1	0.412 1	28
3-1	0.374 3	13	9-3	0.421 4	33	16-2	0.399 3	23
3-2	0.339 7	3	10-1	0.362 2	10	16-3	0.409 7	27
3-3	0.347 8	6	10-2	0.352 7	8	17-1	0.442 5	39
4-1	0.340 2	4	10-3	0.359 0	9	17-2	0.436 3	37
4-2	0.332 4	2	11-1	0.380 7	17	17-3	0.433 1	36
4-3	0.322 6	1	11-2	0.370 1	11	18-1	0.488 3	50
5-1	0.403 7	24	11-3	0.377 9	16	18-2	0.479 6	46
5-2	0.376 6	15	12-1	0.460 1	44	18-3	0.484 5	48
5-3	0.385 8	18	12-2	0.455 5	42	19-1	0.559 7	59
6-1	0.469 1	45	12-3	0.442 3	38	19-2	0.548 8	56
6-2	0.442 6	40	13-1	0.425 0	35	19-3	0.538 2	55
6-3	0.424 0	34	13-2	0.418 7	30	20-1	0.536 0	54
7-1	0.485 4	49	13-3	0.419 0	31	20-2	0.520 2	52
7-2	0.405 6	25	14-1	0.507 5	51	20-3	0.535 3	53

因最优参考序列代表的是当归药材中安全性相关成分的最大值,其最优参考序列值越大,说明其安全性越小,即各评价单元的安全性排序与其相对关联度相反。表 5 结果表明,各评价单元的相对关联度在 0.322 6~0.569 6,渭源、康乐、青海产当归的归头、归身、归尾及陇西产当归的归头相对关联度均大于 0.500 0,说明其安全性较差;岷归 4 号、岷归 3 号、野生当归、岷归 2 号的归头、归身、归尾的相对关联度均小于 0.400 0,其安全性排名在前 20 名,说明岷归 4 号、岷归 3 号、野生当归、岷归 2 号安全性较好;引种朝鲜当归归头、归身、归尾的相对关联度均小于 0.400 0,其归身、归尾排名在前 20 名,归头排名为 22 名,其安全性也相对较好;所有样品中除云南产当归归头的相对关联度稍小于归尾外,其余样品归头的相对关联度均大于归身和归尾,即相应的安全性排名在归身、归尾之后。

3.4 急性毒性实验

小鼠累计 ig 给药 120 g/kg 后,部分小鼠出现轻度中毒现象,对肌肉的影响主要表现为自主活动减

少,倦卧不动,对呼吸系统的主要表现为呼吸急促,对自主神经系统的影响主要表现为精神不振,反应迟钝,另有闭目现象,部分小鼠有竖毛现象,所有中毒现象均在 2 h 之内恢复正常。除此外,未见其余异常表现。7 d 观察期内,所有动物中枢神经系统及躯体运动、自主神经系统、呼吸系统、循环系统、毛色、行为、分泌物、排泄物正常,未见明显中毒症状,无动物死亡。实验期间,小鼠毛发光亮,饮食进水未受影响,体质量增长正常,大小便颜色正常,结果见表 6。7 d 后解剖观察小鼠心脏跳动有规律,未见充血水肿及心衰;肝脏、脾脏、肺、肾大小、颜色正常,未见病变;胃内尚有未消化完全的食物残渣,肠内有成型大便,均无胀气且无载膜充血及出血等异常病变。

对辐射选育品种岷归 3 号、岷归 4 号药材进行小鼠急性毒性实验研究,并以道地产区商品当归作为对比材料,实验未测得 ig 给药小鼠 LD₅₀,而小鼠对其 MTD 为 120 g/kg,相当于临床成人(60 kg)最大用量的 480 倍。

表 6 当归提取液经口急性毒性实验结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Results of acute toxicity test of extracting solution of *A. sinensis* in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	性别	n/只	初始体质量/g	终末体质量/g	MTD/(g·kg ⁻¹)
对照	雄	10	20.10±1.28	23.35±1.27	120
	雌	10	20.02±1.20	23.34±1.01	
	合计	20	20.06±1.22	23.35±1.12	
岷归 3 号药材	雄	10	20.09±1.14	24.49±1.09	120
	雌	10	19.93±1.21	24.25±0.95	
	合计	20	20.01±1.19	24.37±1.04	
岷归 4 号药材	雄	10	19.73±1.19	23.05±1.15	120
	雌	10	19.42±1.33	23.38±1.29	
	合计	20	19.58±1.29	23.22±1.24	
商品当归药材	雄	10	19.61±1.27	22.99±1.13	120
	雌	10	20.11±1.08	23.69±1.32	
	合计	20	19.86±1.36	23.34±1.16	

4 讨论

本实验以有机氯类农药残留量、重金属、有害元素含量为评价指标,结合小鼠急性毒性实验,对 55MeV/u 40 Ar¹⁷⁺、Ar¹⁵⁺离子辐射选育当归新品种岷归 3 号、岷归 4 号进行安全性评价,结果表明,辐射选育当归新品种药材中有机氯类农药残留量、重金属及有害元素含量均符合《中华人民共和国药用植物及制剂进出口绿色行业标准》

规定。利用灰色关联度法对样品安全性进行综合评价得出,岷归 3 号、岷归 4 号整体安全性优于其他样品。此外,当归不同部位对重金属及有害元素的富集程度不同,归头对 Pb、Cd、Cu 的富集程度要高于归身和归尾,归尾对 As、Hg 的富集程度要高于归头和归身。归身对重金属及有害元素的富集程度相对较低。当归道地产区甘肃岷县、漳县所产药材安全性优于云南、青海和甘肃

渭源、康乐、和政等非道地产区。

对辐射选育品种岷归 3 号、岷归 4 号药材进行小鼠急性毒性实验研究, 未测得 ig 给药小鼠 LD₅₀, 小鼠对其 MTD 为 120 g/kg, 相当于临床成人(60 kg)最大用量的 480 倍。实验证明当归辐射选育品种药材无明显毒性, 临床常用量安全可行。本实验为当归辐射选育新品种的临床使用提供了一定的参考依据。

由于农药残留量、重金属及有害元素的含量与种植环境、地质背景和施肥特征等因素关系密切, 对于当归辐射选育品种药材临床应用的科学性及其推广生产还有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 张尚智, 贺莉萍, 韩黎明, 等. 野生当归及其当归植物资源的研究 [J]. 中国现代中药, 2012, 14(4): 33-36.
- [4] 朱田田, 晋玲, 黄得栋, 等. 野生与栽培当归遗传多样性比较 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 211-218.
- [5] 孙红梅. 当归药材资源调查与品质特征的研究 [D]. 北京: 中国医学科学院药用植物研究所, 2010.
- [6] 颜红梅, 刘效瑞, 李文建, 等. 甘肃当归新品系 DGA2000-02 的选育研究 [J]. 原子核物理评论, 2008, 25(2): 196-200.
- [7] 李鹏程, 刘效瑞. 当归新品种岷归 4 号选育及优化种植技术研究 [J]. 中药材, 2011, 34(7): 1017-1019.
- [8] 王引权, 安培坤, 赵勇, 等. 当归不同品种(系)种子超显微结构的扫描电镜观察 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(7): 838-839.
- [9] 欧阳晓玫, 何英梅, 朱俊儒, 等. 不同商品规格的甘肃当归的综合质量评价 [J]. 中医药学报, 2005, 33(4): 12-14.
- [10] 李硕, 李敏, 卢道会, 等. 当归 ISSR-PCR 反应体系的建立、优化及引物筛选 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 373-376.
- [11] 李硕, 李敏, 周围, 等. 当归不同栽培品种(品系)种子含油量及组分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 44-49.
- [12] 李硕, 李敏, 李成义, 等. 基于灰色关联分析方法评价当归不同栽培品种(品系)种子质量 [J]. 中国现代中药, 2015, 17(18): 821-828.
- [13] 王明伟, 李硕, 李敏等. 基于熵权 TOPSIS 模型对当归不同栽培品种(品系)药材质量的综合评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 63-69.
- [14] 覃洁萍, 王智猛, 李梦龙. 化学计量学方法在中药鉴别及质量控制方面的应用 [J]. 数理医药学杂志, 2004, 17(4): 351-354.
- [15] 李峰, 刘春丽, 张振秋, 等. 灰色关联度分析法评价僵蚕药材质量研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(2): 203-205.
- [16] 王志旺, 李芸, 潘政, 等. 硫磺炮制当归的急性与亚急性毒性研究 [J]. 毒理学杂志, 2013, 27(6): 489-490.