

· 药学研究 ·

# 基于 ICP-MS 技术的野生与栽培何首乌无机元素差异性研究

罗益远<sup>1</sup>, 刘娟秀<sup>1</sup>, 侯娅<sup>1</sup>, 刘训红<sup>1\*</sup>, 兰才武<sup>2</sup>, 马阳<sup>1</sup>, 王胜男<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 贵州昌昊中药发展有限公司研发部, 贵州 凯里 556000)

**摘要:**目的 分析野生与栽培何首乌中无机元素的差异。方法 用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)技术分析野生与栽培何首乌中 24 种无机元素; 数据处理用 SIMCA-P 11.5 软件进行统计分析。结果 主成分得分图显示, 野生与栽培何首乌中无机元素差异明显, 通过载荷图筛选出差异显著的 10 种无机元素, 野生与栽培何首乌中 10 种差异无机元素呈现出不同的规律。结论 揭示野生与栽培何首乌中无机元素的分布规律, 为何首乌药材的质量控制及安全性评价提供参考依据。

**关键词:**何首乌; 野生品; 栽培品; 无机元素; 电感耦合等离子体质谱

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2015)01-0064-04

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2015.0064

## Study on the Differences of Inorganic Elements between Wild and Cultivated *Polygonum Multiflorum* Based on ICP-MS Technique

LUO Yi-yuan<sup>1</sup>, LIU Juan-xiu<sup>1</sup>, HOU Ya<sup>1</sup>, LIU Xun-hong<sup>1\*</sup>, LAN Cai-wu<sup>2</sup>, MA Yang<sup>1</sup>, WANG Sheng-nan<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Research and Development Department, Guizhou Chang Hao Chinese Medicine Co., Ltd., Kaili, 556000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To analyze the differences of inorganic elements between wild and cultivated *Polygonum Multiflorum*. **METHODS** Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) technology was applied to analyze 24 kinds of inorganic elements between wild and cultivated *Polygonum Multiflorum*. SIMCA-P 11.5 software was utilized for data processing and statistical analysis. **RESULTS** The principal component score plot displayed the inorganic elements between wild and cultivated *Polygonum Multiflorum* existed significant differences. 10 inorganic elements with significant differences were screened by load diagram, which exhibited different patterns between wild and cultivated *Polygonum Multiflorum*. **CONCLUSION** Our research reveals the distribution of inorganic elements between wild and cultivated *Polygonum Multiflorum*, which provides a normative reference for quality control and safety evaluation.

**KEY WORDS:** *Polygonum Multiflorum*; wild products; cultivated products; inorganic elements; ICP-MS

何首乌为大宗常用中药材,系蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。具有解毒、消痈、截疟、润肠通便之功效<sup>[1]</sup>。现代研究表明,何首乌具有抗衰老、增强免疫力、抗肿瘤、保肝、止痛抗菌等药理作用<sup>[2]</sup>,其药效成分除二苯乙烯苷类<sup>[3]</sup>、蒽醌类、黄酮类<sup>[4]</sup>、磷脂类<sup>[5]</sup>等有机物外,无机元素对药效发挥的协同作用也不容忽视。由于药材疗效确切,临床用量大,野生资源不能满足市场需求,我国已于 1994 年开始对何首乌进行栽培研究。实验研究表明,野生与栽培何首乌中有机成分存在较大的差异<sup>[6]</sup>,对于野生与栽培何首乌中无机元素的差异研究,文献报道尚少。本文采用电感耦合等

离子体质谱(ICP-MS)技术分析野生与栽培何首乌中无机元素的差异性,并通过主成分分析找出差异显著的无机元素及其变化规律,为何首乌药材的质量控制及安全性评价提供依据。

### 1 材料

Optima™ 2100DV 电感耦合等离子体-质谱仪(美国 Perkin Elmer 公司); ETHOS 型微波消解系统(意大利 MILESTONE 公司); DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏试验设备有限公司); BSA2245 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

各元素标准溶液均为国家标准样品;含有 Be、

收稿日期: 2014-10-21; 修稿日期: 2014-11-22

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAI13B04); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(yssk-2014)

作者简介: 罗益远(1989—),男,福建连城人,南京中医药大学 2013 级硕士研究生。\* 通信作者: liuxunh1959@sohu.com

Mg、Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Ni、Co、Cu、Zn、As、Zr、Cd、Sn、Sb、Ba、Bi 的多种元素标准溶液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ); B (GSB04-1716-2004)、Al (GSB04-1713-2004)、Mg (GSB04-1735-2004)、Si (GSB04-1752-2004)、P (GSB04-1741-2004)、Ca (GSB04-1720-2004)、K (GSB04-1751-2004)、Fe (GSB04-1726-2004)、Sr (GSB04-1754-2004)、Hg (GSB04-1729-2004)、Pb (GSB04-1742-2004) 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。65% 硝酸(AR, 批号: 080330229); 试验所用水均为双重蒸馏水。

何首乌样品为实地采集, 栽培品药材编号及产地如下: S1-贵州凯里、S4-四川北川、S5-湖北罗田、S6-广西河池、S7-重庆丰都、S12-安徽、S14-四川阿坝; 野生品药材编号及产地如下: S2-贵州麻江、S3-贵州瓮安、S8-浙江临安、S9-广东高州、S10-湖南江华、S11-云南、S13-四川。所有样品均经南京中医药大学药学院刘训红教授鉴定为何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的块根。留样凭证存放于南京中医药大学中药鉴定实验室。

## 2 方法与结果

### 2.1 ICP-MS 测定条件

功率: 13 kW; 载气流速: 0.8 L/min; 辅助气流量: 0.2 L/min; 冷却气流量: 15 L/min; 样品提升量: 1.5 mL/min; 延迟时间: 1 s; 积分时间: 10 s。

### 2.2 供试品溶液制备

精密称取样品粉末(过 80 目筛) 0.4 g 样品置于聚四氟乙烯消解罐中, 加入 8 mL 浓硝酸, 于通风橱中静置 20 min, 待反应不剧烈后加盖密封, 装入微波消解仪中, 照设定的消解程序: 经 10 min 升温到 150  $^{\circ}\text{C}$ , 并维持 2 min 消解, 然后 3 min 由 150  $^{\circ}\text{C}$  升温至 200  $^{\circ}\text{C}$ , 并维持 8 min 消解, 消解完毕后, 冷却到室温并取出消解罐, 于通风橱中挥尽酸, 用重蒸水定容至 100 mL 容量瓶中摇匀, 即得。

### 2.3 对照溶液制备

多元素对照溶液的制备: 分别精密量取多元素标准溶液 100  $\mu\text{L}$ , 用重蒸水定容至 10 mL, 配制成 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的多元素混标母液。精密量取母液 0、0.25、0.5、0.75、1.0 mL, 分别精确加入 1.8 mL 浓硝酸, 用重蒸水定容至 10 mL, 制得 As、B、Ba、Be、Cd、Co、Cr、Cu、Mn、Ni、Sb、Sn、Sr、V、Zn 等元素浓度均分别为 0、0.025、0.05、0.075、0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的一系列混合的对照溶液。

Fe、Al、Si 对照溶液的制备: 分别精密量取 Fe、Al、Si 元素标准溶液 0、0.02、0.03、0.04、0.05 mL, 精确加入 0.09 mL 硝酸, 用重蒸水定容至 10 mL, 制得 Fe、Al、Si 浓度分别为 0、2.0、3.0、4.0、5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  系列浓度的混合对照溶液。

K、Mg、Ca、P 对照溶液的制备: 分别精密量取各元素的标准溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.5 mL, 精确加入 1.8 mL 浓硝酸, 用重蒸水定容至 10 mL, 制得 K、Mg、Ca、P 浓度分别为 0、10、20、30、50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的一系列混合的对照溶液。

Pb、Hg 对照溶液的制备: 分别精密量取 Pb、Hg 的单元素标准溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 用重蒸水定容至 10 mL, 配制成 Pb、Hg 母液, 浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分别精密量取 Pb、Hg 母液各 0、0.25、0.5、0.75、1.0 mL, 精确加入 1.8 mL 硝酸, 用重蒸水定容至 10 mL, 制得 Pb、Hg 浓度分别为 0、0.025、0.05、0.075、0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的一系列混合的对照溶液。

### 2.4 标准曲线制备

结果见表 1。

表 1 24 种无机元素的标准曲线

分析元素	回归方程	$r$	线性范围/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
Sn	$Y=1\ 460X+4.5$	0.994 3	0.025~0.100
As	$Y=1\ 255X+6.6$	0.985 6	0.025~0.100
Zn	$Y=13\ 490X+32.5$	0.996 4	0.025~0.100
Sb	$Y=2\ 460X+1.0$	0.999 4	0.05~0.200
P	$Y=464.8X+427.0$	0.999 2	10.0~50.0
Pb	$Y=3\ 188X+10.6$	0.994 0	0.025~0.100
Co	$Y=37\ 200X-19.1$	0.999 9	0.025~0.100
Cd	$Y=86\ 110X+112.0$	0.999 6	0.025~0.100
Ni	$Y=27\ 680X+47.0$	0.998 8	0.025~0.100
Ba	$Y=106\ 300X+20.0$	0.999 7	0.025~0.100
Fe	$Y=18\ 160X+448.5$	0.999 7	2.0~5.0
B	$Y=53\ 180X+27.8$	0.997 7	0.025~0.100
Si	$Y=39\ 060X+2\ 458.2$	0.998 3	0.025~0.100
Hg	$Y=3\ 709X+16.5$	0.992 3	0.025~0.100
Mn	$Y=586\ 200X+307.7$	0.999 7	0.025~0.100
Cr	$Y=65\ 530X-40.1$	0.999 8	0.025~0.100
Mg	$Y=44\ 740X+13\ 597.8$	0.999 7	10.0~50.0
V	$Y=47\ 060X+52.8$	0.999 7	0.025~0.100
Be	$Y=1\ 321\ 000X-380.9$	0.999 9	0.025~0.100
Ca	$Y=13\ 230X+7\ 422.2$	0.999 3	10.0~50.0
Cu	$Y=158\ 000X-93.8$	0.999 8	0.025~0.100
Al	$Y=187\ 400X+9\ 055.8$	0.998 5	2.0~5.0
Sr	$Y=4\ 086\ 000X-3\ 254.6$	0.999 7	0.025~0.100
K	$Y=19\ 790X+245.2$	0.999 8	10.0~50.0

根据供试样品中 24 种元素的含量水平配制相应的对照溶液,依次测定无机元素一系列浓度的对照溶液,以各对照元素峰强  $Y$  对各元素浓度  $X$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 进行线性回归,得各对照溶液的线性回归方程、线性范围与相关系数<sup>[7]</sup>。

### 2.5 加样回收率试验

精密称定 0.4 g 已知含量的样品 S10(6 份),分别精密加入一定量的各元素标准溶液,依照 2.2 项下制备方法制备样品溶液,依照上述条件样品测定,Sn、As、Zn、Sb、P、Pb、Co、Cd、Ni、Ba、Fe、B、Si、Hg、Mn、Cr、Mg、V、Be、Ca、Cu、Al、Sr、K 各元素的平均回收率分别为 101.17%、99.89%、99.48%、97.97%、99.72%、100.28%、99.76%、100.09%、102.74%、102.03%、98.86%、98.69%、99.37%、99.44%、97.12%、99.70%、101.78%、97.56%、102.54%、98.45%、100.92%、101.36%、102.13%、99.25%。

### 2.6 样品含量测定

结果见表 2。

表 2 何首乌中重金属及有害元素含量分析( $\mu\text{g}/\text{g}$ )

样品	Cu	As	Cd	Cr	Pb	Hg
S1	18.095	1.288	7.718	24.136	3.879	0.355
S2	17.833	1.921 4	6.605	23.370	4.205	0.365
S3	18.384	1.918 6	6.782	23.920	3.012	0.278
S4	23.539	1.290	7.648	23.643	1.060	0.236
S5	21.332	1.412	8.277	45.209	5.180	0.592
S6	18.422	1.941	7.475	22.531	1.916	0.106
S7	18.286	2.126	6.684	22.597	3.542	0.405
S8	19.772	1.561 3	7.896	27.346	2.951	—
S9	17.580	1.996 4	6.602	22.807	3.381	0.235
S10	25.868	1.879 6	7.703	31.375	2.05	0.193
S11	18.241	1.589 8	5.474	33.464	2.384	0.475
S12	29.129	2.351	7.303	48.177	1.577	0.301
S13	18.791	1.339	7.607	36.176	1.409	0.327
S14	26.898	2.227	7.534	48.782	2.795	0.169
均数	20.869	1.774	7.236	30.967	2.810	0.288

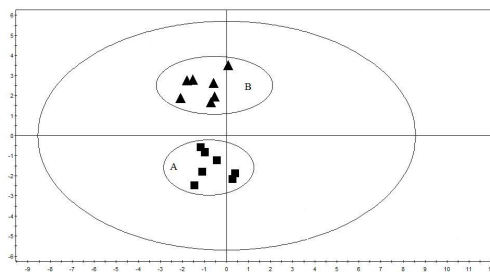
取各样品供试品溶液,依 2.1 项下条件进行含量测定,结果表明:K、Fe、Al、Mg、Ca、P 含量较高,而 Sn、As、Zn、Sb、Pb、Co、Cd、Ni、Ba、B、Si、Hg、Mn、Cr、V、Cu、Be、Na、Sr 含量较低。野生与栽培何首乌样品中,大多数无机元素的含量均有一定的差异,其中 Fe、Ca 元素含量悬殊,最大的达到 2 398.33、5 439.58  $\mu\text{g}/\text{g}$ ,最小的只有 229.99、820.12  $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

对重金属及有害元素 Cd、As、Pb、Hg、Cu 元素

分析显示(表 2),所测试的何首乌大多数样品中 Hg、As、Pb 等均大于《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中汞(Hg) $\leq 0.2 \mu\text{g}/\text{g}$ ,砷(As) $\leq 2.0 \mu\text{g}/\text{g}$ ,铅(Pb) $\leq 5.0 \mu\text{g}/\text{g}$  的限量标准,应该引起注意。

### 2.7 野生与栽培何首乌的差异元素识别

通过对 14 个野生与栽培何首乌主成分差异性进行分析,得到主成分分析的 PCA 得分图(图 1)。对造成野生品与栽培品间差异元素进行识别,从而得到的各元素分布的载荷图(图 2),离中心较远的点为影响野生和栽培之间差异变化的无机元素,靠近中心的则是各种样品含量基本不变的无机元素。采用  $t$  检验( $P < 0.05$ )进一步对差异元素进行比较,筛选出差异显著的 10 种元素,分别为 K、P、Ca、Mg、Fe、Si、Al、Mn、Zn、Cu。



注:A.野生品;B.栽培品

图 1 野生与栽培何首乌的主成分分析得分图

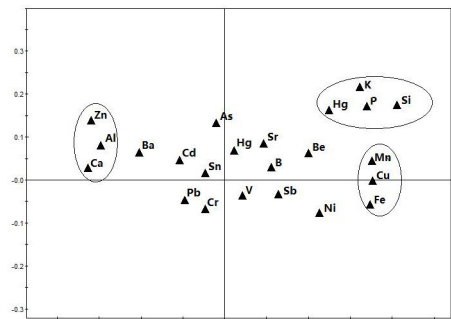
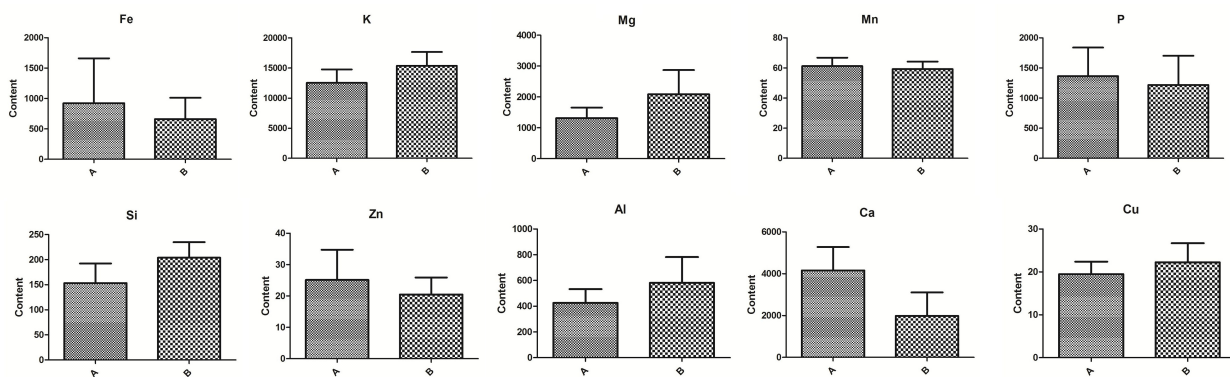


图 2 野生与栽培何首乌的主成分分析载荷图

### 2.8 野生与栽培何首乌差异元素含量变化

提取差异成分在各组间对应的含量,对每个何首乌样品间同一元素含量的平均值和标准差进行计算,能够得到 10 种差异成分在不同组间的含量变化<sup>[8]</sup>,如图 3 所示,总体趋势是 K、P、Ca、Mg、Fe 元素的含量在野生和栽培何首乌中较高, Si、Al、Mn、Zn、Cu 的含量相对较低。其中野生何首乌中 Fe、Mn、P、Zn、Ca 元素的含量比栽培何首乌高;栽培何首乌中 K、Mg、Si、Al、Cu 元素的含量比野生何首乌中高。



注: A.野生品; B.栽培品

图 3 野生与栽培何首乌差异显著无机元素的含量变化图

### 3 讨论

实验结果显示,何首乌中常量元素以 K、Fe、Mg、Ca、Al、P、Si 等较为丰富,微量元素以 Zn、Mn 和 Sn 量较为丰富。野生和栽培何首乌的差异明显,差异显著的成分主要是 K、P、Si、Mg、Mn、Cu、Fe、Zn、Al、Ca。上述元素所表现出的生理功能与何首乌具有免疫调节、抗氧化、延缓衰老、抗肿瘤和抗炎等作用相一致。同时有益元素含量是药材质量的内在因素之一,比较栽培品与野生品中无机元素的含量,用栽培代替野资源,解决野生资源不足问题,对保护野生药材资源具有重要意义。

重金属及有害元素是中药材安全性评价的重要指标,目前许多中药都已制定了 Pb、Hg、As、Cd 等元素的限量标准。为确保何首乌临床用药的安全有效,重金属及有害元素的限量控制要引起足够的重视,也为何首乌药材的炮制减毒提出了更高的要求。

建立野生和栽培何首乌的 ICP-MS 分析方法,结合主成分分析方法对野生和栽培何首乌无机元素进行差异性分析,为揭示野生和栽培何首乌中无机元素积累的影响规律及何首乌药材的质量控制与安全性评价提供科学的参考依据。

#### 参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 164-165.  
China Pharmacopoeia Committee. China Pharmacopoeia[S]. Beijing: China medical science and technology press, 2010: 164-165.

[2] 杨红莉, 葛珍珍, 孙震晓. 何首乌药理研究新进展[J]. 中药材, 2013(10): 1713-1717.  
Yang HL, Ge ZZ, Sun ZX. Pharmacological research progress of Polygonum multiflorum[J]. J Chin Med Mater, 2013, 36(10):

1713-1717.

[3] Li SG, Chen LL, Huang XJ, et al. Five new stilbene glycosides from the roots of Polygonum multiflorum[J]. J Asian Nat Prod Res, 2013, 15(11): 1145-1151.

[4] 王真. 何首乌化学成分分离及其提取物微生物发酵前后成分比较研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2011.  
Wang Z. Isolation and chemical constituents of Polygonum multiflorum extract Comparison of composition before and after fermentation[D]. Jinan: Shandong University of Chinese Medicine, 2011.

[5] 万益群, 吴世芳. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法分析何首乌中磷脂类化合物[J]. 分析科学学报, 2008, 24(4): 417-420.  
Wan YQ, Wu SF. Determination of phospholipids in polygonum multiflorum thumb by high performance liquid Chromatography-Evaporative light scattering detection[J]. J Anal Sci, 2008, 24(4): 417-420.

[6] 陈亚. 何首乌质量评价及产地适宜区划研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.  
Chen Y. The study of quality evaluation and Regional Division of Polygonum multiglorum Thunb[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2013.

[7] 陈菲, 张奉苏, 刘训红, 等. 樟芝菌粉无机元素的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)分析[J]. 中药材, 2014, 37(2): 257-262.  
Chen F, Zhang FS, Liu XH, et al. Determination of inorganic elements in Antrodia camphorata powder by ICP-MS[J]. J Chin Med Mater, 2014, 37(2): 257-262.

[8] 李飞, 王宇光, 杨亮, 等. UPLC-Q-TOF/MS 分析不同比例丹参配伍藜芦毒性生物碱变化规律[J]. 化学学报, 2012, 70(21): 2257-2264.  
Li F, Wang YG, Yang L, et al. Regularity of toxic alkaloids during the combination of veratrum nigrum and salvia miltiorrhiza by UPLC-Q-TOF/MS[J]. Acta Chim Sin, 2012, 70(21): 2257-2264.

(编辑: 董宇)