

# ICP-MS/ICP-OES法结合化学计量学分析法比较不同产地牡丹皮药材中无机元素的含量<sup>Δ</sup>

蒋磊<sup>1,2\*</sup>, 胡云飞<sup>3</sup>, 裴月梅<sup>4</sup>, 徐国兵<sup>1,3,4#</sup>, 吴德玲<sup>1</sup>, 徐倩<sup>1</sup>(1.安徽中医药大学药学院, 合肥 230031; 2.亳州市食品药品检验中心, 安徽亳州 236800; 3.国家中药材产品质量监督检验中心, 安徽亳州 236800; 4.安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1249-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.30

**摘要** 目的:比较不同产地15批牡丹皮药材中无机元素的含量,为牡丹皮道地药材的鉴别提供依据。方法:采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)/电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法测定不同产地15批牡丹皮药材中无机元素的含量。ICP-MS条件:功率为1 200 W,雾化气压力为1.6 bar,分子泵电机电流为2 A,分子泵转速为1 000 Hz,炬箱调谐参数为Load 59, Tune 190。ICP-OES条件:功率为1 300 W,等离子炬气流量为15 L/min,辅助冷却气流量为0.2 L/min,雾化器流量为0.8 L/min,读数时间(自动)为1~5 s,进样量为1.5 ml/min。采用SPSS 19.0统计软件对15批牡丹皮药材进行聚类分析;采用SIMCA-P 11.0软件联合主成分分析(PCA)法、偏最小二乘聚类判别模式分析(PLS-DA)法对15批牡丹皮药材进行主要元素分析。结果:聚类分析显示道地产区(铜陵)与非道地产区可较好分为两类;PCA法可将不同产地牡丹皮药材分别聚成不同组别;PLS-DA法显示牡丹皮药材中主要无机元素为锂、锌、铅、铁、钾。结论:牡丹皮道地药材与非道地药材在无机元素的含量与种类上存在一定的差异。

**关键词** 牡丹皮;电感耦合等离子体质谱;电感耦合等离子体发射光谱;无机元素;主成分分析;偏最小二乘法-判别模式分析

## Comparison of Inorganic Elements in *Paeonol saffurucosa* from Different Origins by ICP-MS/ICP-OES Combined with Chemometrics Technology

JIANG Lei<sup>1,2</sup>, HU Yunfei<sup>3</sup>, PEI Yuemei<sup>4</sup>, XU Guobing<sup>1,3,4</sup>, WU Deling<sup>1</sup>, XU Qian<sup>1</sup>(1.School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 2.Anhui Bozhou Institute for Food and Drug Control, Anhui Bozhou 236800, China; 3.National Quality Supervision and Inspection Center for Chinese Medicinal Materials Products, Anhui Bozhou 236800, China; 4.Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To compare and analyze the contents of inorganic elements in 15 kinds of *Paeonol saffurucosa* from different origins, and to lay the foundation for the discrimination of its genuine regional drug. METHODS: ICP-MS and ICP-OES were conducted to determine the contents of inorganic elements in 15 kinds of *P. saffurucosa*. ICP-MS determination conditions: the powder was 1 200 W, atomizer pressure was 1.6 bar, molecular pump motor current was 2 A, molecular pump speed was 1 000 Hz, bake box tuning parameters were Load 59 and Tune 190; ICP-OES determination conditions: the powder was 1 300 W, plasma gas flow rate was 15 L/min, auxiliary cooling gas flow was 0.2 L/min, atomizer flow rate was 0.8 L/min, reading time (automatic) was 1-5 s, and the injection volume was 1.5 ml/min. SPSS 19.0 software was conducted for the cluster analysis of 15 batches of samples; SIMCA-P 11.0 software was combined with principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) to analyze the main elements in 15 batches of samples. RESULTS: Cluster analysis showed specific areas (Tongling) and non-specific area may be better and divided into two types; PCA can cluster the medicines from different origins into different groups; PLS-DA shows the main elements in samples were lithium, zinc, lead, iron and potassium. CONCLUSIONS: The contents of inorganic elements in *P. saffurucosa* genuine regional drug and non-genuine regional drug one show certain differences with the types.

**KEYWORDS** *Paeonol saffurucosa*; ICP-MS; ICP-OES; Inorganic elements; Principal component analysis; PLS-DA

[11] 申明金,贾飞云,柴震.化学计量学在中药研究中的应用[J].山西医药杂志,2010,39(17):795.

Δ 基金项目:安徽省自然科学基金项目(No.1308085MH171)

\* 副主任药师,硕士研究生。研究方向:中药活性成分与质量控制。E-mail:9717491@qq.com

# 通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:中药活性成分与质量控制。电话:0551-63710027。E-mail: xgb119@163.com

[12] 朱晓勤,尹莲.化学模式识别在中药分类和质量评价中的应用[J].中华中医药学刊,2007,25(10):2 111.

[13] 王智民,钱忠直,张启伟.一测多评建立的技术指南[J].中华中药杂志,2011,36(6):657.

(收稿日期:2015-09-17 修回日期:2015-12-16)

(编辑:张静)

表1 牡丹皮来源

Tab 1 The information of *P. saffuriticosa*

| 编号 | 产地      | 采收年月    | 编号 | 产地   | 采收年月    |
|----|---------|---------|----|------|---------|
| 1  | 安徽铜陵凤凰山 | 2013.4  | 9  | 重庆南川 | 2013.5  |
| 2  | 安徽铜陵凤凰山 | 2013.4  | 10 | 山西运城 | 2013.4  |
| 3  | 安徽铜陵凤凰山 | 2013.4  | 11 | 山西运城 | 2013.4  |
| 4  | 安徽亳州十八里 | 2013.5  | 12 | 山西运城 | 2013.4  |
| 5  | 安徽亳州十九里 | 2013.10 | 13 | 山东菏泽 | 2013.10 |
| 6  | 安徽亳州十八里 | 2013.10 | 14 | 山东菏泽 | 2013.10 |
| 7  | 重庆垫江桂溪镇 | 2013.5  | 15 | 山东菏泽 | 2013.10 |
| 8  | 重庆垫江桂溪镇 | 2013.5  |    |      |         |

首先选取5种重金属与有害元素(Pb、As、Cd、Cu、Hg)和宏量元素(K、Mg、S),再依据半定量检测的无机元素含量高低和1990年联合国农业及粮食组织(FAO)/国际原子能机构(IAEA)/世界卫生组织(WHO)3个国际组织对微量元素的重新界定选取Fe、Li、Zn、Mn、P为测定元素。

### 2.3 微波消解条件

微波消解优化条件以消解后溶液清亮,浓缩定容后无沉淀和絮状悬浮物为观察指标,从而得出适宜温度与消化时间,详见表2。

表2 微波消解条件

Tab 2 The conditions of microwave digestion

| 步骤 | 压力,kPa | 温度,℃    | 升温时间,min | 保持时间,min |
|----|--------|---------|----------|----------|
| 1  | 800    | 0~106   | 5        | 5        |
| 2  | 1200   | 106~160 | 5        | 25       |
| 3  | 0      | 160~0   | 0        | 15       |

### 2.4 试验条件

仪器参数优化以灵敏度、精密性、氧化物干扰等为考察指标,采用ICP-OES法测定S含量,采用ICP-MS法测定其他元素含量。

2.4.1 ICP-MS条件 功率:1200 W;雾化气压力:1.6 bar;分子泵电机的电流:2 A;分子泵转速:1000 Hz;炬箱的调谐参数 Load:59, Tune:190。

2.4.2 ICP-OES条件 功率:1300 W;等离子炬气流量:15 L/min;辅助冷却气流量:0.2 L/min;雾化器流量:0.8 L/min;读数时间(自动):1~5 s;进样量:1.5 ml/min。

### 2.5 溶液的制备

2.5.1 混合标准溶液和混合内标溶液 精密量取“1.2”项下标准溶液适量,用10%硝酸稀释,分别制成S、K系列混合标准溶液(质量浓度分别为0、100、200、500、1000 mg/L),Mn、Fe、Mg、P系列混合标准溶液(质量浓度分别为0、50、100、200、500 mg/L),Li、As、Cd、Pb系列混合标准溶液(质量浓度分别为0、1、5、10、20、50 mg/L),Zn、Cu系列混合标准溶液(质量浓度分别为0、10、50、100、200、500 mg/L),Hg系列标准溶液(质量浓度分别为0、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mg/L)。精密量取“1.2”项下内标液适量,用10%硝酸稀释,制成Ge、In、Bi质量浓度均为50 ng/ml的混合内标溶液。

2.5.2 样品溶液 将样品粉碎(过2号筛),于40℃下烘干至恒质量,精密称定样品粉末0.2 g,置于消解罐中(酸洗净),加硝酸5 ml,氢氟酸1 ml,按“2.3”项下微波消解条件进行消解,消解后移至50 ml离心管中,用水反复洗涤消解罐,合并洗涤液并定容,即得。

2.5.3 空白对照溶液 取“2.5.2”项下“加硝酸5 ml……合并洗涤液并定容”,即得空白对照溶液。

### 2.6 方法学考察

牡丹皮为毛茛科植物牡丹*Paeonol saffuriticosa*的干燥根皮,具有清热凉血、活血散瘀之功效<sup>[1]</sup>。牡丹皮主要成分为苯甲酸、丹皮酚、没食子酰葡萄糖、芍药苷、黄酮类等,具有保肝、抗炎、镇静、镇痛、解痉等多种药理作用<sup>[2]</sup>。牡丹皮在我国具有悠久的药用历史,因产地及其加工方法的不同而形成了道地药材与非道地药材。目前,对牡丹皮道地性研究多偏重于其有机成分<sup>[3-4]</sup>,而对其无机元素研究报道较少。近年来,随着现代科技的发展,发现药用植物中的无机元素与其临床疗效有着密切的关系,无机元素不仅可以参与调节体内代谢,还易与含氧、氮、硫等配体结合,协调物质平衡,促进有效成分的合成<sup>[5]</sup>。为此,笔者采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)、电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)联用技术对铜陵、亳州、重庆、山东、山西5个产地的15批牡丹皮药材中的无机元素含量进行了比较分析,从而比较道地药材与非道地药材的差异性。

聚类分析(Cluster analysis, CA)是依据“物以类聚”理论,对样品或指标进行分类的一种分析方法,能对大样品按各自的特性进行合理分类,即无模式下进行的分类分析<sup>[6]</sup>。

主成分分析(Principal components analysis, PCA)法是一种基于其简化数据,保持数据集中的对方差贡献最大的特征,从而快速实现模式化关系的可视化识别<sup>[7]</sup>。偏最小二乘判别分析(Partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)法是近年来应用较广泛的一种化学计量学方法,基于特征变量回归的判别分析分类,具有高鉴别能力<sup>[8]</sup>。笔者运用多元统计分析方法对ICP-MS/ICP-OES的试验结果进行进一步验证,为牡丹皮药材中的无机元素分析与道地药材的鉴别提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

XP-205型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);Multiwave PRO型微波消解仪(奥地利Anton Paar公司);GL-21C型离心机(上海安亭科学仪器厂);XSERIES 2型ICP-MS仪(美国Thermo Fisher公司);FW80型粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);ICP-OES仪(美国Perkin Elmer公司)。

### 1.2 试剂

铜(Cu)、砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)、铅(Pb)、钾(K)、镁(Mg)、硫(S)、铁(Fe)、锂(Li)、锌(Zn)、锰(Mn)、磷(P)、锗(Ge)、铟(In)、铋(Bi)标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号分别为GSB 04-1725-2004、GSB 04-1714-2004、GSB 04-1721-2004、GSB 04-1729-2004、GSB 04-1742-2004、GSB 04-1733-2004、GSB 04-1735-2004、GSB 04-1773-2004、GSB 04-1726-2004、GSB 04-1734-2004、GSB 04-1761-2004、GSB 04-1736-2004、GSB 04-1741-2004、GSB 04-1728-2004、GSB 04-1731-2004、GSB 04-1719-2004,质量浓度均为1000 μg/ml);硝酸、氢氟酸均为优级纯,水为二次纯化水。

### 1.3 药材

牡丹皮(见表1)采集于我国主要牡丹皮产区,经安徽省食品药品检验研究院黄丽丹主任中药师鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 半定量分析

对牡丹皮药材进行定量分析前,需确定该药材中待测的无机元素。故采用半定量分析法对部分牡丹皮药材中的无机元素进行分析测定,再依据测定结果筛选出供定量分析的无机元素种类<sup>[9]</sup>。

### 2.2 无机元素的筛选

2.6.1 线性关系考察<sup>[10]</sup> 精密量取“2.5.1”项下各系列混合标准溶液适量,加入相同质量浓度的混合内标溶液,按“2.4”项下试验条件进样测定,记录分析峰响应值。以待测元素质量浓度( $x, \text{mg/L}$ )为横坐标、标准溶液元素分析峰响应值与内标元素参比响应值之比( $y$ )为纵坐标进行线性回归。回归方程和线性范围见表3。

表3 回归方程和线性范围

| 待测元素 | 回归方程                    | 线性范围,mg/L | $r$     | 检测限, $\mu\text{g/L}$ |
|------|-------------------------|-----------|---------|----------------------|
| Cu   | $y=3.337.6x-5.885.6$    | 0~500     | 0.999 9 | 0.13                 |
| Cd   | $y=2.638.6x+154.12$     | 0~50      | 0.999 9 | 0.02                 |
| As   | $y=2.283.5x+632.34$     | 0~50      | 0.999 9 | 0.28                 |
| Hg   | $y=9.044.6x-636.43$     | 0~5       | 0.999 4 | 0.11                 |
| Pb   | $y=1.367.9.4x-1.034.54$ | 0~50      | 0.999 9 | 1.54                 |
| K    | $y=1.744x+425$          | 0~1 000   | 0.999 7 | 11.00                |
| Mg   | $y=1.265x+222.5$        | 0~500     | 0.999 7 | 18.11                |
| S    | $y=0.529.7x-1.825.2$    | 0~1 000   | 0.999 8 | 40.00                |
| Fe   | $y=1.129.2x+83.452$     | 0~500     | 0.999 9 | 1.29                 |
| Li   | $y=114.93x+46.469$      | 0~50      | 0.999 7 | 0.04                 |
| Zn   | $y=1.330.4x+13.393$     | 0~500     | 0.999 9 | 2.44                 |
| Mn   | $y=1.406.6x+145.091.24$ | 0~500     | 0.999 9 | 0.32                 |
| P    | $y=3.212.2x+5.452$      | 0~500     | 0.999 8 | 10.40                |

2.6.2 检测限考察 精密量取“2.5.3”项下空白对照溶液适量,按“2.4”项下试验条件连续进样测定 11 次,以空白溶液测定值的 3 倍标准偏差除以相应元素标准曲线的斜率得出相应检测限,结果见表3。

2.6.3 精密度试验 取“1.2”项下标准溶液适量,按“2.4”项下试验条件连续进样测定 6 次,记录分析峰响应值。结果,待测元素分析峰响应值的 RSD 范围为 1.6%~2.83% ( $n=6$ ),表明仪器精密密度良好。

2.6.4 稳定性试验 取“2.5.2”项下供试品溶液(编号:1)适量,保存于 0~4 °C 环境中,分别于放置 0 h、12 h、1 d、2 d、3 d 时进样测定,记录分析峰响应值。结果,待测元素分析峰响应值的 RSD 范围为 1.54%~7.69% ( $n=5$ ),表明供试品溶液在 3 d 内基本稳定。

2.6.5 重复性试验 精密称取同一批样品(编号:1)适量,按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液,共 6 份,再按“2.4”项下试验条件进样测定,记录分析峰响应值。结果,待测元素分析峰响应值的 RSD 范围为 1.41%~2.76% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.6.6 加样回收率试验 取已知含量样品(编号:1)适量,共 6 份,分别加入一定质量的“1.2”项下标准溶液,按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4”项下试验条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表4。

表4 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 4 Results of recovery test( $n=6$ )

| 待测元素 | 取样量,g | 样品含量, $\mu\text{g/g}^{-1}$ | 加入量, $\mu\text{g}$ | 测得量, $\mu\text{g}$ | 加样回收率,% | 平均加样回收率,% | RSD,% |
|------|-------|----------------------------|--------------------|--------------------|---------|-----------|-------|
| Cu   | 0.2   | 6.225                      | 1.25               | 2.434              | 95.1    | 96.3      | 2.36  |
|      |       |                            | 1.25               | 2.501              | 100.5   |           |       |
|      |       |                            | 1.25               | 2.448              | 96.2    |           |       |
|      |       |                            | 1.25               | 2.421              | 94.1    |           |       |
|      |       |                            | 1.25               | 2.456              | 96.9    |           |       |
| As   | 0.2   | 0.858                      | 0.20               | 0.381              | 104.8   | 102.1     | 2.03  |
|      |       |                            | 0.20               | 0.374              | 101.1   |           |       |
|      |       |                            | 0.20               | 0.369              | 98.9    |           |       |
|      |       |                            | 0.20               | 0.369              | 98.9    |           |       |

续表4  
Continued tab 4

| 待测元素 | 取样量,g | 样品含量, $\mu\text{g/g}^{-1}$ | 加入量, $\mu\text{g}$ | 测得量, $\mu\text{g}$ | 加样回收率,% | 平均加样回收率,% | RSD,% |
|------|-------|----------------------------|--------------------|--------------------|---------|-----------|-------|
| Cd   | 0.2   | 0.292                      | 0.20               | 0.379              | 103.5   |           |       |
|      |       |                            | 0.20               | 0.377              | 102.7   |           |       |
|      |       |                            | 0.20               | 0.374              | 101.3   |           |       |
|      |       |                            | 0.06               | 0.115              | 93.9    | 95.7      | 1.81  |
|      |       |                            | 0.06               | 0.116              | 96.1    |           |       |
|      |       |                            | 0.06               | 0.116              | 96.3    |           |       |
|      |       |                            | 0.06               | 0.114              | 93.3    |           |       |
|      |       |                            | 0.06               | 0.117              | 97.2    |           |       |
|      |       |                            | 0.06               | 0.117              | 97.5    |           |       |
|      |       |                            | 0.06               | 0.117              | 97.5    |           |       |
| Hg   | 0.2   | 0.045                      | 0.01               | 0.020              | 109.9   | 104.8     | 3.43  |
|      |       |                            | 0.01               | 0.020              | 105.9   |           |       |
|      |       |                            | 0.01               | 0.019              | 101.1   |           |       |
|      |       |                            | 0.01               | 0.020              | 105.6   |           |       |
|      |       |                            | 0.01               | 0.020              | 106.5   |           |       |
|      |       |                            | 0.01               | 0.019              | 100.3   |           |       |
|      |       |                            | 0.25               | 0.510              | 105.1   | 102.3     | 2.73  |
|      |       |                            | 0.25               | 0.496              | 99.7    |           |       |
|      |       |                            | 0.25               | 0.507              | 103.9   |           |       |
|      |       |                            | 0.25               | 0.492              | 98.1    |           |       |
| K    | 0.2   | 3.423.67                   | 0.25               | 0.504              | 102.9   |           |       |
|      |       |                            | 0.25               | 0.508              | 104.3   |           |       |
|      |       |                            | 700                | 1.361.634          | 96.7    | 95.7      | 1.30  |
|      |       |                            | 700                | 1.356.034          | 95.9    |           |       |
|      |       |                            | 700                | 1.346.234          | 94.5    |           |       |
|      |       |                            | 700                | 1.343.434          | 94.1    |           |       |
|      |       |                            | 700                | 1.365.834          | 97.3    |           |       |
|      |       |                            | 700                | 1.352.534          | 95.4    |           |       |
|      |       |                            | 18                 | 35.836             | 101.2   | 102.7     | 3.13  |
|      |       |                            | 18                 | 36.628             | 105.6   |           |       |
| Mg   | 0.2   | 88.100                     | 18                 | 36.898             | 107.1   |           |       |
|      |       |                            | 18                 | 36.898             | 107.1   |           |       |
|      |       |                            | 18                 | 35.584             | 99.8    |           |       |
|      |       |                            | 18                 | 35.458             | 99.1    |           |       |
|      |       |                            | 18                 | 36.196             | 103.2   |           |       |
|      |       |                            | 1000               | 2.029.500          | 99.5    | 95.2      | 2.42  |
|      |       |                            | 1000               | 1.976.500          | 94.2    |           |       |
|      |       |                            | 1000               | 1.985.500          | 95.1    |           |       |
|      |       |                            | 1000               | 1.971.500          | 93.7    |           |       |
|      |       |                            | 1000               | 1.965.500          | 93.1    |           |       |
| S    | 0.2   | 5.172.5                    | 1000               | 1.992.500          | 95.8    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 129.805            | 101.7   | 98.2      | 2.62  |
|      |       |                            | 65                 | 129.220            | 100.8   |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 125.645            | 95.3    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 127.595            | 98.3    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 126.165            | 96.1    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 126.815            | 97.1    |           |       |
|      |       |                            | 0.1                | 0.200              | 98.5    | 97.6      | 1.46  |
|      |       |                            | 0.1                | 0.201              | 99.9    |           |       |
|      |       |                            | 0.1                | 0.198              | 97.1    |           |       |
| Fe   | 0.2   | 318.500                    | 65                 | 129.805            | 101.7   | 98.2      | 2.62  |
|      |       |                            | 65                 | 129.220            | 100.8   |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 125.645            | 95.3    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 127.595            | 98.3    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 126.165            | 96.1    |           |       |
|      |       |                            | 65                 | 126.815            | 97.1    |           |       |
|      |       |                            | 0.1                | 0.200              | 98.5    | 97.6      | 1.46  |
|      |       |                            | 0.1                | 0.201              | 99.9    |           |       |
|      |       |                            | 0.1                | 0.198              | 97.1    |           |       |
|      |       |                            | 0.1                | 0.198              | 96.7    |           |       |
| Zn   | 0.2   | 8.898                      | 1.80               | 3.504              | 95.8    | 96.5      | 2.92  |
|      |       |                            | 1.80               | 3.585              | 100.3   |           |       |
|      |       |                            | 1.80               | 3.448              | 92.7    |           |       |
|      |       |                            | 1.80               | 3.538              | 97.7    |           |       |
|      |       |                            | 1.80               | 3.473              | 94.1    |           |       |
|      |       |                            | 1.80               | 3.549              | 98.3    |           |       |
|      |       |                            | 7.0                | 13.973             | 97.7    | 96.9      | 2.90  |
|      |       |                            | 7.0                | 13.973             | 97.7    |           |       |
|      |       |                            | 7.0                | 13.973             | 97.7    |           |       |
|      |       |                            | 7.0                | 13.973             | 97.7    |           |       |

续表4  
Continued tab 4

| 待测元素 | 取样量/g   | 样品含量, $\mu\text{g/g}^{-1}$ | 加入量, $\mu\text{g}$ | 测得量, $\mu\text{g}$ | 加样回收率, % | 平均加样回收率, % | RSD, % |
|------|---------|----------------------------|--------------------|--------------------|----------|------------|--------|
| P    | 0.2     | 1 121.1                    | 7.0                | 13.728             | 94.2     | 102.8      | 2.13   |
|      |         |                            | 7.0                | 13.686             | 93.6     |            |        |
|      |         |                            | 7.0                | 14.057             | 98.9     |            |        |
|      |         |                            | 7.0                | 13.861             | 96.1     |            |        |
|      |         |                            | 7.0                | 14.197             | 100.9    |            |        |
|      |         |                            | 200                | 428.422            | 102.1    |            |        |
|      |         |                            | 200                | 426.022            | 100.9    |            |        |
|      |         |                            | 200                | 424.022            | 99.9     |            |        |
|      |         |                            | 200                | 434.622            | 105.2    |            |        |
|      |         |                            | 200                | 434.022            | 104.9    |            |        |
| 200  | 432.022 | 103.9                      |                    |                    |          |            |        |

表5 样品中无机元素含量测定结果 ( $n=3, \mu\text{g/g}$ )

Tab 5 Contents determination results of inorganic elements in samples ( $n=3, \mu\text{g/g}$ )

| 编号 | Cu    | As    | Cd    | Hg    | Pb    | K         | Mg      | S         | Fe      | Li    | Zn     | Mn     | P         |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|---------|-----------|---------|-------|--------|--------|-----------|
| 1  | 6.225 | 0.858 | 0.292 | 0.045 | 1.236 | 3 423.670 | 88.100  | 5 172.500 | 318.500 | 0.505 | 8.898  | 35.670 | 1 121.110 |
| 2  | 6.385 | 0.894 | 0.296 | 0.046 | 1.291 | 3 671.210 | 104.825 | 3 627.500 | 319.000 | 0.581 | 7.883  | 41.200 | 1 219.020 |
| 3  | 6.263 | 0.878 | 0.269 | 0.046 | 1.857 | 3 333.450 | 122.800 | 4 245.000 | 309.000 | 0.372 | 7.473  | 36.710 | 1 089.100 |
| 4  | 5.430 | 0.467 | 0.060 | 0.065 | 0.223 | 3 456.112 | 483.500 | 3 162.500 | 321.120 | 0.668 | 2.725  | 10.310 | 1 054.000 |
| 5  | 5.060 | 0.702 | 0.069 | 0.060 | 0.522 | 3 409.211 | 434.500 | 2 715.000 | 331.750 | 0.594 | 3.075  | 10.230 | 1 027.000 |
| 6  | 4.830 | 0.693 | 0.068 | 0.056 | 0.440 | 3 478.654 | 419.500 | 2 762.500 | 335.750 | 0.607 | 3.575  | 9.810  | 1 189.000 |
| 7  | 2.266 | 0.426 | 0.113 | 0.000 | 0.516 | 4 470.810 | 339.000 | 531.250   | 74.025  | 0.328 | 8.370  | 5.460  | 1 259.000 |
| 8  | 2.085 | 0.436 | 0.111 | 0.000 | 0.281 | 4 298.109 | 450.500 | 816.000   | 67.250  | 0.571 | 8.918  | 5.210  | 1 302.000 |
| 9  | 3.010 | 0.530 | 0.147 | 0.000 | 0.187 | 4 576.987 | 535.000 | 760.000   | 87.150  | 0.393 | 10.618 | 6.100  | 1 299.000 |
| 10 | 3.200 | 0.648 | 0.141 | 0.054 | 0.147 | 2 249.320 | 270.000 | 677.750   | 19.718  | 0.107 | 4.058  | 13.080 | 756.000   |
| 11 | 3.208 | 0.626 | 0.140 | 0.052 | 0.215 | 2 389.122 | 281.500 | 540.750   | 17.800  | 0.105 | 3.565  | 12.870 | 812.000   |
| 12 | 2.758 | 0.774 | 0.075 | 0.026 | 0.179 | 2 298.231 | 422.500 | 521.250   | 17.475  | 0.106 | 5.650  | 12.040 | 798.000   |
| 13 | 3.910 | 0.330 | 0.054 | 0.000 | 0.495 | 4 012.213 | 336.000 | 2 059.750 | 121.600 | 0.196 | 3.850  | 8.710  | 1 421.000 |
| 14 | 4.245 | 0.325 | 0.054 | 0.046 | 0.284 | 3 982.087 | 517.250 | 2 127.500 | 163.350 | 0.584 | 4.553  | 8.120  | 1 332.230 |
| 15 | 4.673 | 0.559 | 0.066 | 0.047 | 0.332 | 4 058.632 | 572.000 | 2 330.000 | 137.598 | 0.296 | 5.183  | 7.780  | 1 298.210 |

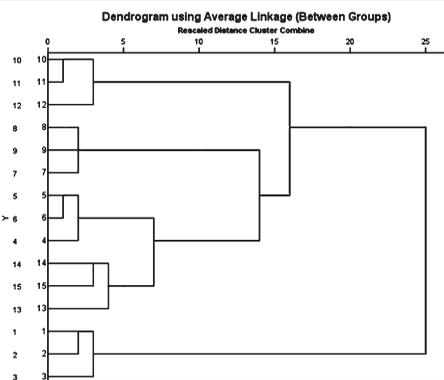


图1 牡丹皮无机元素聚类分析结果

Fig 1 Cluster analysis results of inorganic elements in *C. moutan*

产(道地产区)聚为一类,其他样品为非道地产区聚为一类,两类差异较大。进一步分析,取阈值为4时,同一产区3批样品(编号4~15)各自聚为一类,表明同一产区(土壤)牡丹皮药材中的无机元素间有一定相近性。取阈值为4时,样品分为五大类,即G1(编号1~3)、G2(编号4~6)、G3(编号7~9)、G4(编号10~12)、G5(编号13~15)。另外,将道地产区牡丹皮药材与非道地产区比较,发现铜陵产牡丹皮药材Cu、As、Cd、Pb、S、Fe元素明显高于其他产地,这是否为其道地药材的形成机制还需进一步证实,但为其药材的引种、栽培以及药材产地鉴定提供了一条新的途径<sup>[12]</sup>。

2.9 主成分分析

2.7 样品中无机元素含量测定结果

取15批样品各适量,分别按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4”项下试验条件进样测定,计算样品含量,结果见表5。

2.8 聚类分析

采用SPSS 19.0统计软件对15批样品进行聚类分析,采用系统聚类分析中Q型聚类法<sup>[11]</sup>对15批样品以13个元素含量进行聚类分析,共分为两大类,编号1、2、3为一大类,其他样品(编号4~15)为另一大类。取阈值为4时,样品分为五大类,即G1(编号1~3)、G2(编号4~6)、G3(编号7~9)、G4(编号10~12)、G5(编号13~15),分析结果见图1。

由图1可知,不同产地牡丹皮药材中的无机元素与其产地生长环境存在一定的联系,编号1、2、3样品为铜陵凤凰山地区

采用SIMCA-P 11.0软件对数据进行标准化处理,以样品元素含量为特征值,分别进行无监督的PCA和有监督的PLS-DA分析,对不同产地的牡丹皮药材进行PCA分析,前两个组分贡献的总方差值为71.8%,详见图2。由图2可知,不同产地牡丹皮药材均处于相对独立的空间内,在主成分空间分布上较为分散,说明不同产地牡丹皮药材中的无机元素有着一定程度上的区别,从疏密度来比较,铜陵产牡丹皮药材明显较其他产区疏远,其原因可能为土壤、气候等因素导致其无机元素富集时的特异性,这种差异性的分布可能受气候、地质等因素影响<sup>[12]</sup>;导致其对无机元素的富集不同,地理位置越接近的居群,其主成分空间位置也会越接近,如铜陵产地与亳州产地较为接近,而与山东产地、重庆产地较远,这也验证了含量测定与聚类分析结果。

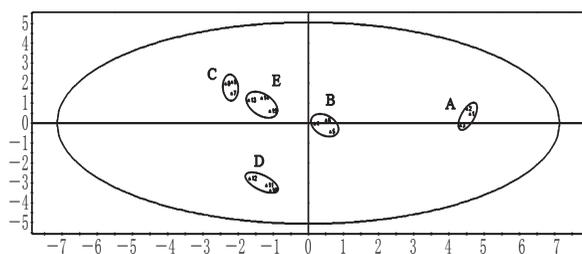


图2 不同产地牡丹皮药材的PCA得分图

A. 铜陵; B. 亳州; C. 重庆; D. 山西; E. 山东

Fig 2 The PCA score plot of *C. moutan* from different origins

A. Tongling; B. Haozhou; C. Chongqing; D. Shanxi; E. Shandong

在PCA数据分组的基础上,进行PLS-DA分析,得出5个主因子,其中识别模型的解释度(R<sup>2</sup>Y)为95.3%,模型的预测度(Q<sup>2</sup>Y)为80.6%,可以解释各成分含量的预测率(R<sup>2</sup>X)为95.8%。对牡丹皮药材进行分组比较,详见图3。按照变量对分组的贡献值(VIP)的大小进行排列,其中Li、Zn、P、Fe、K元素的VIP>1,表明这几种元素可能为样品分组的主要标记物,即以上几种元素在不同产地牡丹皮药材中的含量差异较大,详见图4。

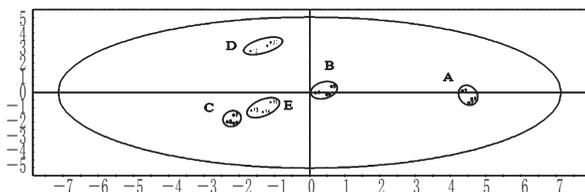


图3 不同产地牡丹皮药材的PLS-DA得分图  
A.铜陵;B.亳州;C.重庆;D.山西;E.山东

Fig 3 The PLS-DA score plot of *C. moutan* from different origins

A. Tongling; B. Haozhou; C. Chongqing; D. Shanxi; E. Shandong

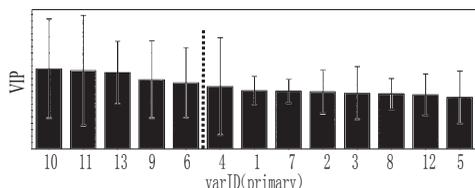


图4 各元素变量对分组的贡献值

Fig 4 Contribution value of each element on subgroups

### 3 讨论

通过ICP-MS/ICP-OES联用技术对牡丹皮药材中无机元素进行测定,其中ICP-MS检测限低、线性范围宽、分析速度快,且可同时测定多种元素,近年来被逐渐推广,但由于其为质量数检测器,因此对S元素的测定(S与O<sub>2</sub>相对分子质量均为32)有一定的局限性,而ICP-OES法采用光谱检测器,因而对S及常规元素具有较好测定作用<sup>[13]</sup>。

不同产地牡丹皮药材均来源于凤丹种属<sup>[14]</sup>,其外观差异不大,但其内部无机元素的积累受到了土壤、气候等因素影响,存在着不同程度的差异,铜陵产牡丹皮药材中Cu、As、Cd、S、Fe等元素高于其他产地。采用化学计量法对试验数据进行分析,聚类分析可以将道地产区与非道地产区样品很好分组,PCA与PLS-DA对不同产地牡丹皮药材能很好区分,并筛选出Li、Zn、P、Fe、K等元素为可能的标记物。资料显示<sup>[3-4]</sup>,凤丹药材含有丰富的丹皮酚类、多糖类、没食子酰类等有效成分,是否因为差异元素参与牡丹皮的次级代谢,促进了丹皮酚类、多糖类等有效成分的合成;亦或这些元素与丹皮多糖等成分形成了螯合物,从而稳定与增强了有效部位的药理药效,还有待于进一步研究与证实<sup>[15]</sup>。

本研究建立了牡丹皮药材中无机元素的定量分析方法,测定了牡丹皮药材中无机元素的含量,为进一步探究其道地

性提供了依据。通过聚类分析与主成分分析等数据处理方法,找出生物标记物,也将为牡丹皮的栽培与制订中药材生产管理规范提供一定的参考。

### 参考文献

- [1] 侯宇荣,刘炜,郑艳.安徽南陵丫山产牡丹皮的道地性研究[J].中药材,2014,37(8):1488.
- [2] 胡云飞,徐国兵.牡丹皮及其主要成分丹皮酚的药理作用研究进展[J].安徽医药,2014,18(4):589.
- [3] He C, Peng B, Dan Y, *et al.* Chemical taxonomy of tree peony species from China based on root cortex metabolic fingerprinting[J]. *Phytochemistry*, 2014(107):69.
- [4] Xu SJ, Yang L, Zeng X, *et al.* Characterization of compounds in the Chinese herbal drug Mu-Dan-Pi by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(22):3275.
- [5] 曹晨,刘震,李丹,等.不同产地不同品种细辛药材的无机元素分析[J].中国中药杂志,2015,40(8):1535.
- [6] 田洪磊,张灏,田丰伟,等.GC-MS结合聚类分析和PCA分析用于新疆小白杏杏仁油质量控制研究[J].食品工业科技,2013,34(2):87.
- [7] 李玲,吕磊,张薇,等.运用GC-MS结合PCA技术对川白芷与杭白芷挥发油成分的比较分析[J].药物分析杂志,2011,31(1):112.
- [8] 王珊,郝丽娟,朱晶晶,等.硫磺熏蒸对杭白菊化学品质的影响[J].中国中药杂志,2014,39(8):1457.
- [9] 姜南辉.ICP-MS法测定黄芪药材中无机元素含量[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(1):167.
- [10] 陈佳,乔菲,金红宇,等.ICP-MS法测定马钱子中重金属及有害元素含量的不确定度评定[J].药物分析杂志,2013,33(12):2176.
- [11] 卢丽萍,汪金玉,林励,等.化橘红药材红外指纹图谱的聚类分析[J].广东药学院学报,2011,27(3):284.
- [12] 聂久胜,翟宏焱,吴德玲,等.电感耦合等离子体质谱法分析不同产地菊花中的微量元素[J].中药材,2013,36(3):358.
- [13] 王小平,李柏.ICP-OES和ICP-MS测定中日两国大米中27种矿质元素含量[J].光谱学与光谱分析,2010,30(8):2260.
- [14] 胡云飞,徐倩,徐国兵,等.牡丹皮炒制前后UPLC特征指纹图谱比较[J].中国药房,2015,26(6):800.
- [15] 郭敏,陈卫平,徐迎春,等.丹皮中微量元素对药材质量的影响[J].中国中药杂志,2008,33(9):1083.

(收稿日期:2015-08-27 修回日期:2015-12-11)

(编辑:张静)

《中国药房》杂志——WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊,欢迎投稿、订阅