

# 基于 ICP-MS 研究不同生长时期红芪无机元素规律

强正泽, 李成义\*, 王 燕, 王明伟, 李 硕

甘肃中医药大学, 兰州 730000

**摘要:**采用 ICP-MS 测定不同生长时期红芪中 13 种无机元素含量, 并分析其规律, 发现红芪中 13 种无机元素含量随生长时期的变化呈现极大值与极小值, 不同生长期 As、Pb、B 含量无显著性差异, Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 含量具显著性差异; 红芪样品聚为两类; 无机元素含量与月份之间、元素与元素含量之间存在不同程度的相关关系。表明不同生长时期红芪中无机元素含量变化规律与季节有关, 具体关系有待于进一步研究。

**关键词:** ICP-MS; 不同生长时期; 红芪; 无机元素

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.014

## Determination of Inorganic Elements in Hedysari Radix with Different Growth Stages Using ICP-MS

QIANG Zheng-ze, LI Cheng-yi\*, WANG Yan, WANG Ming-wei, LI Shuo

Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

**Abstract:** The contents of 13 inorganic elements in Hedysari Radix were determined by ICP-MS. The result showed that the content of 13 inorganic elements in Hedysari Radix with growth stages exhibited a maximum and minimum value. The contents of As, pb and B were no significant difference, the contents of Hg, Be, Al, Ti, V, Ga, Ba, Ce, Sr and Mo were significant difference; The samples of Hedysari Radix clustered into two categories. There were correlations between the contents of inorganic elements and month. It showed that the contents of inorganic elements variation of Hedysari Radix with different growth stages were related to season and the specific relationships needed further study.

**Key words:** ICP-MS; different growth stages; Hedysari Radix; inorganic element

中药红芪为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根<sup>[1]</sup>, 是甘肃特产药材之一, 具有补气养血, 行滞通痹, 托毒排脓, 敛疮生肌等功效。本草记载, 其道地产区多为甘肃、四川、山西、陕西、内蒙古等地, 现今分布于甘肃陇南、定西地区, 药用历史悠久<sup>[2]</sup>。植物化学及药理学研究表明<sup>[3-6]</sup>, 红芪中含多种具有药理活性的成分, 这些成分主要有黄酮类、多糖类等。研究表明, 药材中无机元素不仅与药效、药性有一定相关关系<sup>[7,8]</sup>, 而且 27 种药材中无机元素锌、锰、铜与总黄酮、咖啡酸、阿魏

酸、槲皮素等成分呈显著的相关关系<sup>[9]</sup>, 同时某些药材中酚酸含量主要与钡、硼、钛和铁相关, 而多酚化合物的含量与铝、硼、铬、钼和铁相关<sup>[10]</sup>。据课题组前期研究发现, 红芪中含有丰富的无机元素<sup>[11]</sup>, 无机元素含量不仅与红芪中活性成分含量之间存在密切相关关系<sup>[12]</sup>, 而且与红芪野生与栽培生长类型存在密切关系, 可作为鉴别野生与栽培红芪的辅助依据<sup>[13]</sup>, 同时其可以合理的评价红芪质量, 表征不同产区红芪质量之间的差异性<sup>[14]</sup>, 还可以通过无机元素含量对药材产区进行归属和鉴别<sup>[15]</sup>, 以上信息提供了本文的研究基础。

本研究同时收集不同生长期红芪样品, 采用 ICP-MS 测定不同生长时期红芪中 13 种无机元素含量, 并对其进行作图分析、单因素方差分析、聚类分析及相关性分析, 以期阐明红芪生长期无机元素的变化规律、无机元素之间的内部联系及红芪资源的开发与利用提供参考。

收稿日期: 2016-9-27 接受日期: 2017-01-18

基金项目: 国家自然科学基金(81360621); 2015 联合研发横向项目(忘忧系列产品开发); 2015 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室开放基金(zzy-2015-01); 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地开放基金(ZYZL16-005); 甘肃省高校人文社科重点研究基地敦煌医学文献整理与应用研究中心开放基金(DHYX2016-01)

\* 通讯作者 Tel: 86-931-8765385; E-mail: gslchengyi@163.com

# 1 材料与仪器

## 1.1 样品来源

采集甘肃省陇西县首阳镇首阳村(104°25'12.34''E, 35°05'44.67''N, 1896.9 m) 2014年不同月份(6、7、8、9、10、11月)的栽培红芪样品,经甘肃中医药大学中药鉴定教研室李成义教授鉴定,为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根,样品经搓条加工后晾干,备用。学者马鹏里等<sup>[16]</sup>分析了甘肃省几个红芪栽培区10个气象站1961~2009年温度、降水、湿度及日照月平均值等,发现定西栽培区光照充足,空气湿度较大,温度较低,对红芪栽培有利,同时陇西县为“中国黄芪之乡”,适宜于黄芪生长,而红芪与黄芪生长环境、功效相似,同时红芪栽培的适宜环境为:海拔1400~2500 m,光照充足,降水量充足,较为肥沃的土壤,本实验所选采集地适合于红芪生长,因此本研究采集的红芪样品具有一定的代表性。

## 1.2 仪器

电感耦合等离子质谱仪(ICP-MS)(仪器型号:ELAN DRC-e)、SB450300型电热板(湖北英山国营无限电元件厂)、101-2型电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂)、VPH-1-5T型超纯水制造系统(批号:7061205)、BS 224-型分析天平(北京赛多利

斯仪器系统有限公司)。实验所需量瓶等玻璃仪器,使用前均用铬酸洗液浸泡24 h,后用自来水、蒸馏水冲洗干净,50℃烘干备用。

## 1.3 试剂

As、Pb、B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo标准溶液(浓度1000 μg/mL)均购于国家有色金属及电子材料分析测试中心,高氯酸、浓硝酸均为分析纯。

# 2 方法与结果

## 2.1 不同月份红芪样品处理

将6、7、8、9、10、11月份红芪样品分别用自来水冲洗干净泥土,后用蒸馏水清洗后于60℃的恒温干燥箱烘至恒重,用研钵研细。每份样品平行二次,精密称取1.0000 g粉末于100 mL烧杯中,准确加入浓硝酸与高氯酸(4:1)液20 mL,放置24 h后于电热板上加热消化处理,使其保持微沸状态,至溶液呈无色透明状,停止加热,冷却后用1%的硝酸定容于50 mL容量瓶中,备用。空白溶液同样操作。

## 2.2 ICP-MS测定条件

不同月份红芪中As、Pb、B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr及Mo元素含量测定方法均采用电感耦合等离子质谱法(ICP-MS),各元素测定条件见表1。

表1 测定条件及标准曲线

Table 1 The measurement conditions and standard curve

元素 Elements	检测元素 质量数 Detection of element mass	等离子 体流量 Plasma flow rate (L/min)	脉冲电压 Pulse voltage (V)	雾化 气流量 Nebulizer flow (L/min)	模拟电压 Analog voltage (V)	低质量截取 RPq (mL/min)	冷却气流量 Cooling air flow (L/min)	RF功率 RF power (W)	线性方程 Linear equation
As	74.922	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 286.52x
Pb	207.977	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 2069.89x
Hg	201.971	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 297.366x
Be	9.012	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 71.8548x
B	11.009	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 47.404x
Al	26.982	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 885.183x
Ti	46.952	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 136.072x
V	50.944	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 1866.47x
Ga	68.9257	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 1439.04x
Ba	137.905	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 3094.4x
Ce	139.905	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 3527.84x
Sr	87.9056	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 3043.83x
Mo	97.9055	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 712.886x

### 2.3 样品含量测定及趋势分析

将处理好的不同生长期红芪样品按表 1 测定条件进行测定,结果见图 1~4,在此基础上对不同月份红芪中 13 种无机元素的变化特点进行了趋势分

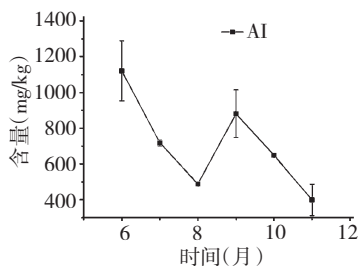


图 1 6 至 11 月份红芪根中 Al 含量变化趋势

Fig. 1 Content variation of Al in different months

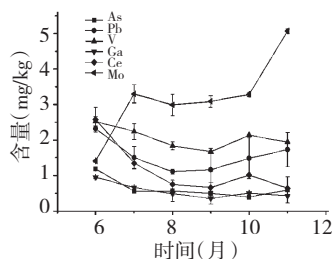


图 2 6 至 11 月份红芪根中 As、Pb、V、Ga、Ce、Mo 含量变化趋势

Fig. 2 Content variation of As, Pb, V, Ga, Ce and Mo in different months

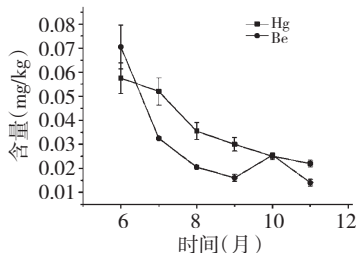


图 3 6 至 11 月份红芪根中 Hg、Be 含量变化趋势

Fig. 3 Content variation of Hg and Be in different months

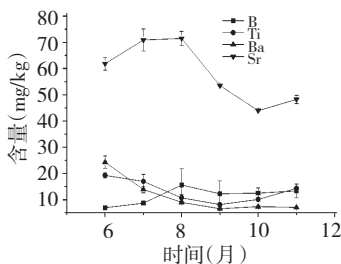


图 4 6 至 11 月份红芪根中 B、Ti、Ba、Sr 含量变化趋势

Fig. 4 Content variation of B, Ti, Ba and Sr in different months

析。为了考察测定方法的准确度,以 11 月份红芪样品做了加样回收率实验,平行 6 份,加样回收率为 93.2275%~106.6430%,RSD 值为 0.5%~2.5%,符合实验要求。

由图 1 可知,不同月份红芪中 13 种无机元素含量产生的趋势为:不同月份红芪根中 Al 含量 6 月最高,6~7 月急剧下降,7~8 月持续下降,8~9 月上升至 Al 含量次高,9~11 月下降至 11 月 Al 含量最高。由图 2 可知,不同月份红芪根中 As 含量 6 月最高,10 月最低,6~7 月急剧下降,7~8 月缓慢上升,8~10 月呈下降趋势,而 10~11 月又呈上升趋势;不同月份红芪根中 Pb 含量 6 月最高,6~7 月 Pb 含量呈急剧下降趋势,7~8 月下降至 Pb 含量最低,8~9 月又呈缓慢上升趋势,9~11 月呈急剧上升;不同月份红芪根中 V 含量 6 月最高,6~8 月呈急剧下降趋势,8~9 月缓慢下降至 9 月 V 含量最低,9~10 月呈急剧上升趋势,10~11 月呈下降趋势;不同月份红芪根中 Ce 含量 6 月最高,6~8 月呈急剧下降趋势,8~9 月缓慢下降,9~10 月呈上升趋势,10~11 月下降至 11 月 Ce 含量最低;不同月份红芪根中 Ga 含量 6 月最高,6~7 月呈急剧下降趋势,7~9 月持续下降至 9 月 Ga 含量最低,9~10 月呈上升趋势,10~11 月缓慢下降;不同月份红芪根中 Mo 含量 6 月最低,6~7 月呈急剧上升趋势,7~8 月呈缓慢下降趋势,8~10 月呈缓慢上升趋势,10~11 月急剧上升,11 月 Mo 含量最高。由图 3 可知,不同月份红芪根中 Hg 含量 6 月最高,6~7 月呈下降趋势,7~8 月急剧下降,8~11 月继续下降至 11 月 Hg 含量最低;不同月份红芪根中 Be 含量 6 月最高,6~7 月呈急剧下降,7~9 月呈下降趋势,9~10 月呈上升趋势,10~11 月下降至 11 月 Be 含量最低。由图 4 可知,不同月份红芪根中 B 含量 6 月最低,6~7 月缓慢上升,7~8 月急剧上升至 8 月 B 含量最高,8~9 月下降,9~11 月缓慢上升;不同月份红芪根中 Ti 含量 6 月最高,6~7 月呈下降趋势,7~8 月急剧下降,8~9 月持续下降至 9 月 Ti 含量最低,9~10 月呈上升趋势,10~11 月急剧上升。不同月份红芪根中 Ba 含量 6 月最高,6~7 月呈急剧下降趋势,7~9 月持续下降至 9 月 Ba 含量最低,9~10 月呈缓慢上升趋势,10~11 月极缓慢下降;不同月份红芪根中 Sr 含量 6~7 月呈急剧上升趋势,7~8 月缓慢上升至 8 月 Sr 含量最高,8~10 月急剧下降至 10 月 Sr 含量最低,10~11 月呈上升趋势。

## 2.4 数据处理

以不同月份及红芪中 13 种无机元素含量数据建立数据库,采用 SPSS 21.0 对数据进行单因素方差分析、聚类分析及相关性分析。

## 2.5 单因素方差分析

以不同月份为自变量,无机元素含量为因变量,

表 2 单因素方差分析结果

Table 2 The results of single factors analysis of variance

No.	平方和 Sum of square	df	均方 Mean square	F	Sig.
As	0.789	5	0.158	2.897	0.114
Pb	1.947	5	0.389	2.275	0.173
Hg	0.002	5	0.000	26.363	0.001
Be	0.004	5	0.001	58.902	0.000
B	101.594	5	20.319	1.670	0.274
Al	693078.341	5	138615.668	15.462	0.002
Ti	187.274	5	37.455	21.570	0.001
V	0.940	5	0.188	14.272	0.003
Ga	0.463	5	0.093	90.356	0.000
Ba	476.518	5	95.304	75.225	0.000
Ce	5.495	5	1.099	46.019	0.000
Sr	1351.211	5	270.242	48.242	0.000
Mo	13.481	5	2.696	83.797	0.000

## 2.6 聚类分析

以不同月份为自变量,无机元素含量为因变量,采用 SPSS 21.0 软件进行系统聚类分析,见图 5,发现红芪以不同月份聚为两类,6 月份红芪样品聚为第一类,7、8、9、10、11 月样品聚为第二类,同时第二类又可以分为两小类,7、9、10 为一小类,8、11 为一小类。说明,6 月份红芪样品中 13 种无机元素的代谢模式或存在状态具有相似性,7、8、9、10、11 月红芪样品中 13 种无机元素的代谢模式或存在状态具有相似性。

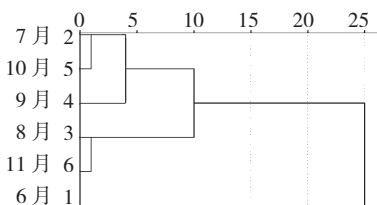


图 5 不同月份红芪中 13 种无机元素的聚类分析

Fig. 5 Hierarchical clustering of 13 inorganic elements of Hedysari Radix in different months

采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析,见表 2,发现不同月份之间 As、Pb、B 元素含量无显著性差异( $P > 0.05$ ),不同月份之间 Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 元素含量具显著性差异( $P < 0.01$ )。

## 2.7 月份与无机元素的相关性分析

对不同月份与 13 种无机元素含量做 Spearman 相关性分析,见表 3,发现无机元素含量与月份之间存在显著或极显著的相关关系,元素与元素含量之间也存在不同程度的相关关系。其中 Hg 元素与月份之间存在极显著的相关性( $P < 0.01$ ),相关系数为-1.000;Be 元素与月份之间存在显著的相关性( $P < 0.05$ ),相关系数为-0.829;Ba 元素与月份之间存在显著的相关性( $P < 0.05$ ),相关系数为-0.829;Ce 元素与月份之间存在显著的相关性( $P < 0.05$ ),相关系数为-0.829;其他元素含量与月份之间相关关系未达显著。

## 3 讨论及结论

本实验通过采用 ICP-MS 法测定了不同生长期红芪中 13 种无机元素的含量,通过作图分析发现,不同月份红芪根中 As 含量 6 月最高,10 月最低;Pb 含量 6 月最高,8 月含量最低;Hg 含量 6 月最高,11 月 Hg 含量最低;Be 含量 6 月最高,11 月 Be 含量最

表3 月份与无机元素的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between different months and inorganic elements

No.	月份 Month	As	Pb	Hg	Be	B	Al	Ti	V	Ga	Ba	Ce	Sr	Mo
月份 Month	1.000													
As	-0.371	1.000												
Pb	-0.200	0.600	1.000											
Hg	-1.000**	0.371	0.200	1.000										
Be	-0.829*	0.143	0.371	0.829*	1.000									
B	0.657	-0.143	-0.600	-0.657	-0.714	1.000								
Al	-0.714	0.029	0.257	0.714	0.657	-0.886*	1.000							
Ti	-0.600	0.771	0.771	0.600	0.600	-0.486	0.200	1.000						
V	-0.543	0.371	0.771	0.543	0.829*	-0.657	0.371	0.829*	1.000					
Ga	-0.714	0.314	0.543	0.714	0.943**	-0.600	0.429	0.771	0.943**	1.000				
Ba	-0.829*	0.486	0.429	0.829*	0.886*	-0.486	0.371	0.829*	0.829*	0.943**	1.000			
Ce	-0.829*	0.143	0.371	0.829*	1.000**	-0.714	0.657	0.600	0.829*	0.943**	0.886*	1.000		
Sr	-0.714	0.371	-0.257	0.714	0.314	-0.029	0.143	0.371	0.029	0.257	0.543	0.314	1.000	
Mo	0.657	-0.257	0.143	-0.657	-0.486	0.257	-0.600	-0.086	-0.086	-0.314	-0.429	-0.486	-0.429	1.000

注:“\*\*”在置信度(双测)为0.01时,相关性是显著的。“\*”在置信度(双测)为0.05时,相关性显著。

Note: \*\* indicated significant correlation at the confidence level 0.01; \* indicated significant correlation at the confidence level 0.05.

低;B含量6月最低,8月B含量最高;Al含量6月最高,11月Al含量最高;Ti含量6月最高,9月Ti含量最低;V含量6月最高,9月V含量最低;Ga含量6月最高,9月Ga含量最低;Ba含量6月最高,9月Ba含量最低;Ce含量6月最高,11月Ce含量最低;Sr含量8月最高,10月Sr含量最低;Mo含量6月最低,11月Mo含量最高,说明不同生长期红芪根中As、Pb、B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo元素含量随着生长期的变化呈现极大值与极小值,具体机制有待于进一步深入研究。其中As元素极大值为 $1.19 \pm 0.04$  mg/kg,极小值为 $0.39 \pm 0.04$  mg/kg;Pb极大值为 $2.32 \pm 0.01$  mg/kg,极小值为 $1.11 \pm 0.07$  mg/kg;Hg极大值为 $0.06 \pm 0.006$  mg/kg,极小值为 $0.02 \pm 0.001$  mg/kg,2015版《中华人民共和国药典》并未对成熟期红芪根中重金属元素含量规定,但与红芪同科异属的黄芪<sup>[17]</sup>对比发现,不同生长期红芪中As元素含量均小于2 mg/kg,Pb元素含量均小于5 mg/kg,砷,Hg元素含量均小于0.2 mg/kg,均符合2015版《药典》规定的限度。

单因素方差分析结果表明,不同生长期As、Pb、B元素含量无显著性差异,Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo元素含量具显著性差异;系统聚类分析结果发现,6月份红芪样品中13种无机元素的代谢模

式或存在状态具有相似性,7、8、9、10、11月红芪样品中13种无机元素的代谢模式或存在状态具有相似性;Spearman相关性分析发现,无机元素含量与月份之间存在显著或极显著的相关关系,元素与元素含量之间也存在不同程度的相关关系,说明不同生长期红芪中无机元素含量变化规律与季节有关,某一元素在不同生长期具体的代谢规律及其变化机制有待于进一步深入研究。

#### 参考文献

- 1 The Official Committee of Hygiene Department of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典,2015年,一部). Beijing:China Medical Science Press,2015. 152.
- 2 Li JY(李俊岳),Qiang ZZ(强正泽),Li CY(李成义). Literature study on Hedysari Radix. *China Pharm* (中国药房),2015,26:4860-4862.
- 3 Wang ZY,Zhang PX,Han N, et al. Effect of modified formula Radix Hedysari on the amplification effect during peripheral nerve regeneration. *Evidence-based Complement Alternative Med*,2013,2013:221-229.
- 4 Wang ZY,Zhang PX,Kou YH, et al. Hedysariextract improves regeneration after peripheral nerve injury by enhancing the amplification effect. *PLoS One*,2013,8(7):e67921.

(下转第448页)