

基于热图和聚类分析的毛冬青 18 种无机元素间的相关性研究

刘媛¹, 李敏², 陈晓鹏², 叶慧², 白钢钢², 仇雅静², 姚鑫^{1*}, 姜玮^{2*}

¹苏州大学附属第一医院, 苏州 215006; ²泰州市食品药品检验所, 泰州 225300

摘要:采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定毛冬青中 18 种无机元素(Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Zn、Zr、Ba、Sn、Sb、Pb、Cu、Cd、As、Hg), 并进行热图和聚类分析。样品经微波消解处理后, 以 Ge、In、Sc 元素为内标, 以黄芩标准物质作为质控标准物质, 采用 ICP-MS 对 8 批不同来源的毛冬青中的 18 种无机元素进行测定。各元素线性关系良好, 相关系数(r)均大于 0.999 0, 仪器检出限为 0.020 ~ 106.639 mg/kg, 方法检出限为 0.002 ~ 10.664 mg/kg, 加样回收率为 82.4% ~ 110.8%, 相对标准偏差为 0.67% ~ 2.98%。8 批毛冬青样品中 Mn、Fe、Zn、Ba 结果较高, Sb、Sn、Zr、As、Hg 较低。通过聚类分析结果可见毛冬青所含 18 种无机元素含量存在显著的地区差异。该方法简便, 灵敏度高, 适用于毛冬青中无机元素的测定。本文对考察毛冬青药材有效性及安全性提供了一定帮助。

关键词:毛冬青; 无机元素; 热图和聚类分析

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)7-1111-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.7.004

The correlation study between 18 inorganic elements in Maodongqing based on heat map and cluster analysis

LIU Yuan¹, LI Min², CHEN Xiao-peng²,
YE Hui², BAI Gang-gang², CHOU Ya-jing², YAO Xin^{1*}, JIANG Wei^{2*}

¹The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China;

²Department of Chinese medicine, Taizhou Municipal Institute for Food and Drug Control, Taizhou 225300, China

Abstract: The 18 inorganic elements of Maodongqing were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) (Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, Zr, Ba, Sn, Sb, Pb, Cu, Cd, As, Hg), and performed by heat map and cluster analysis. The 18 inorganic elements of Maodongqing from 8 different sources were determined. All samples were digested by microwaves. The Ge, In, and Sc elements were used as the internal standards. The standard substance of *Astragalus* were took as a quality control standard substance. The linear relationship between the elements were all good. The correlation coefficient (r) were all greater than 0.999 0. The detection limit of the instrument was 0.020 ~ 106.639 mg/kg. The detection limit of the method was 0.002 ~ 10.664 mg/kg. The recoveries were all in the range of 82.4% ~ 110.8% which with RSD of 1.2% ~ 11.7%. And the content of Mn, Fe, Zn and Ba elements in the 8 batches of Maodongqing were higher, the content of Sb, Sn, Zr, As and Hg elements were lower. The results from cluster analysis showed that there were significant regional differences in the content of 18 inorganic elements in Maodongqing. The method can be used for the quality control of inorganic elements in Maodongqing. This article provides some help to investigate the effectiveness and safety of Maodongqing.

Key words: Maodongqing; inorganic elements; heat map and cluster analysis

毛冬青又名茶叶冬青、密毛假黄杨和密毛冬青, 属冬青科 (Aquifoliaceae) 冬青属植物毛冬青 (*Ilex*

pubescens Hook. et Arn.) 的干燥根, 是我国常用中药材, 药用价值较高。毛冬青中活性成分主要是三萜类、酚酸类、木脂素类成分, 具有抗血栓^[1]、降血压^[2]、抗炎^[3]、保护心脑血管组织^[4,5]的作用, 在临床上主要用于治疗冠心病、血栓闭塞性脉管炎、缺血性脑中风、慢性肾炎、小儿急性上呼吸道感染等疾病。中医药现代化研究的核心除了中药活性成分之

收稿日期: 2019-11-15 接受日期: 2020-06-17

基金项目: 江苏省食品药品监督管理局科研项目 (20170226); 2017 年度苏州市产业技术创新专项-医疗卫生应用基础研究 (SYSD2017149)

* 通信作者 Tel: 86-523-86200632; E-mail: jiangwei0624@yeah.net, yaobest@163.com

外,药材中微量元素的探索亦是重要方向,有研究证实药材中一些无机元素不仅直接参与体内调节,还与其药用活性成分产生协同作用,增强临床疗效^[6]。但是随着科技的进步、工业的发展,重金属及有害元素极大威胁着中药材生长环境,对其药材质量造成了极大的损害,更对服用中药材的人体带来了潜在的威胁。所以,考察中药材中无机元素的含量,是全面考察中药材质量的必要手段之一。

中药材的重金属测定方法主要有原子吸收光谱法(AAS),原子荧光光谱法(AFS),电感耦合等离子体光谱法(ICP-AES),电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)等。由于ICP-MS灵敏度高、线性范围宽、抗干扰能力强、分析速度快、同时测定元素多等优点,目前已成为国内外普遍采用的一种痕量元素分析工具。由于毛冬青产地覆盖面广,各地生长环境相差较大,市售饮片炮制过程又不统一,造成药材质量参差不齐,关于毛冬青药材的质量评价目前主要集中在皂苷类^[7]和黄酮类^[8]等活性成分,对无机元素研究报道为零。本实验采用ICP-MS法对毛冬青不同产地8份饮片中18种无机元素进行测定,并对测定结果进行多元统计分析,为传统中药的药理毒理研究提供更科学的理论依据,为毛冬青药材的合理应用及安全性评价提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

THERMO iCAP-Q 电感耦合等离子体质谱仪(美国 THERMO 公司);Milli-Q 超纯水处理系统(美国 MILLIPORE 公司);CEM MARSCHEM MARS 240-

50 微波消解仪(美国 CEM 公司);Mettler XS-105 电子分析天平;YB-1500A 型高速多功能粉碎机(永康市速峰工贸有限公司);IKA[®] TUBE-MILL 试管研磨机(德国 IKA 公司)。

1.2 试剂与试剂

试剂和标准物质:65% 优级纯硝酸(Merck 公司);超纯水(Milli-Q 超纯水处理系统);Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Zn、Zr、Ba、Sn、Sb 混合溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号:17B110, 100 μg/mL);Pb(中国计量科学研究院,批号:15073, 1 000 μg/mL)、Cu(中国计量科学研究院,批号:14128, 1 000 μg/mL)、Cd(中国计量科学研究院, 1 000 μg/mL)、As(中国计量科学研究院,批号:16041, 1 000 μg/mL)、Hg(中国计量科学研究院,批号:16083, 1 000 μg/mL);内标液:In(中国计量科学研究院,批号:13051, 100 μg/mL),Ge(上海安谱实验科技股份有限公司,批号:710899486-3, 1 000 μg/mL),Bi(中国计量科学研究院,批号:16031, 100 μg/mL)、Sc(国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号:171020, 1 000 μg/mL);金标准溶液(上海安谱实验科技股份有限公司,批号:166660-4, 1 000 μg/mL);调谐液:17Li, 59Co, 89Y, 140Ce, 205Tl(美国 Agilent 公司, 0.1 μg/L);标准参考物质黄芩(国家标准物质研究中心)。

毛冬青样品购买自各个饮片生产企业,均经泰州市食品药品检验所叶慧副主任中药师鉴定为冬青科冬青属植物毛冬青 *Ilex pubescens* Hook. & Arn. 的干燥根。详细样品信息见表 1。

表 1 不同产地毛冬青样品信息

Table 1 The different places of Maodongqing sample informations

序号 No.	样品名称 Sample	产地 Habitat	批号 Batch No.	厂家 Manufacturer
1	毛冬青	江西	20151101	江苏中裕药业有限公司
2	毛冬青	广西	20151106	江苏中裕药业有限公司
3	毛冬青	安徽	160121	江苏百草堂中药饮片有限公司
4	毛冬青	福建	050801	亳州市精华制药有限公司
5	毛冬青	安徽	20151101	江苏高港中药饮片厂
6	毛冬青	广东	160306961	康美药业股份有限公司
7	毛冬青	广东	20151101	安徽盛海堂中药饮片有限公司
8	毛冬青	浙江	160102	安徽永刚饮片厂有限公司

2 方法

2.1 ICP-MS 工作条件

经优化的 ICP-MS 工作参数为:等离子体射频功率 1.5 kW,冷却气、载气、辅助气流量分别为 14、0.91 和 0.8 L/min,采样深度 5 mm,蠕动泵转速为 40 rpm,采用全定量分析模式。

2.2 对照品溶液的制备

吸取多元素标准溶液,用 10% 硝酸溶液稀释制成含 Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Zn、Zr、Ba、Sn、Sb 质量浓度均为 1 mg/L 的对照品储备液。配制成含上述各元素质量浓度分别为 0、 0.1×10^{-3} 、 0.5×10^{-3} 、 2×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 20×10^{-3} 、 50×10^{-3} 、 100×10^{-3} mg/L 的对照混合溶液 1;吸取适量的 Pb、Cu、As、Cd 元素标准溶液,稀释制成分别含 Pb、As、Cd 元素 0.5 mg/L, Cu 元素 2.5 mg/L 的对照品储备液,再精密吸取对照品储备液,用 10% 硝酸溶液依次稀释,配制成含 Pb、As、Cd 元素质量浓度分别为 0、 1×10^{-3} 、 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 20×10^{-3} mg/L,含 Cu 元素质量浓度为 0.5×10^{-3} 、 25×10^{-3} 、 50×10^{-3} 、 100×10^{-3} mg/L 的对照混合溶液 2;精密吸取 Hg 元素标准溶液适量,用 2% 硝酸溶液稀释制成 0.1 mg/L 的对照品储备液,再用 2% 硝酸溶液稀释成含元素质量浓度为 0、 0.5×10^{-3} 、 1×10^{-3} 、 1.5×10^{-3} 、 2×10^{-3} 、 2.5×10^{-3} mg/L 的对照溶液 3。

2.3 内标溶液的配制

分别精密吸取 Ge、Sc、In、Bi 单元素适量,用 2%

硝酸溶液配置成质量浓度分别为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照溶液,作为内标溶液。

2.4 供试品的制备

取 8 批不同样品,打粉,过二号筛得粗粉,每份称取样品 0.5 g,置洗净干燥的聚四氟乙烯消解罐中,精密加入硝酸 5 mL,置 90 $^{\circ}\text{C}$ 的加热板上预消解 30 分钟,静置 12 小时后加盖密封,装入微波消解仪中。根据植物类中药材及饮片特点以及查阅相关资料,采取以下消解条件:第一步消解功率 800 W,在 10 min 内温度由室温升至 120 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;第二步消解功率 800 W,在 5 min 内温度由 120 $^{\circ}\text{C}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;第三步消解功率 1 600 W,在 20 min 内温度由 150 $^{\circ}\text{C}$ 升至 180 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min。消解完全后,取出消解罐,置 90 $^{\circ}\text{C}$ 的加热板上赶酸约 2 小时以上,待消解液冷却至室温。将冷却至室温的消解液转移至 50 mL 量瓶中,用少量水洗涤消解罐 3 次,洗涤液合并于量瓶中,加入金单元素标准溶液 (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 200 μL ,用水稀释至刻度,摇匀,即得。除不加金单元素标准溶液外,同法制备试剂空白溶液。

2.5 标准曲线的制备

将“2.2 项”下的对照品混合溶液 1、2,对照品溶液 3,分别进样分析。以对照品的浓度为横坐标,测量值(3 次得数的平均值)为纵坐标,绘制标准曲线,得到各元素的线性方程和相关系数,结果见表 2。

表 2 18 种无机元素的线性关系

Table 2 The linear relationship between 18 inorganic elements

元素 Element	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	精密度 Precision RSD(%)	重复性 Repeatability RSD(%)	稳定性 Stability RSD(%)
Cu	$Y = 10\ 823.47X + 12\ 043.83$	1.000 0	1.12	1.23	3.21
As	$Y = 3\ 014.74X + 394.01$	0.999 9	0.89	1.24	2.29
Cd	$Y = 9\ 291.55X + 5\ 765.35$	0.999 0	0.78	0.58	2.56
Hg	$Y = 2\ 861.14X + 916.13$	0.999 1	2.23	1.46	2.33
Pb	$Y = 25\ 009.91X + 36\ 230.60$	0.999 2	1.03	1.78	3.21
Al	$Y = 15\ 311.19X + 294\ 732.25$	0.999 2	1.32	-	3.35
Ti	$Y = 17\ 878.48X + 8\ 737.10$	1.000 0	1.67	3.01	1.89
V	$Y = 22\ 525.28X + 1\ 398.08$	1.000 0	2.05	1.33	1.67
Cr	$Y = 19\ 480.14X + 53\ 819.82$	0.999 9	0.98	3.26	1.56
Mn	$Y = 32\ 926.76X + 26\ 766.83$	0.999 5	0.67	2.33	2.01
Fe	$Y = 625.45X + 22\ 662.62$	1.000 0	0.78	1.22	2.33
Co	$Y = 21\ 403.01X + 496.01$	1.000 0	2.67	2.34	2.67

续表 2(Continued Tab. 2)

元素 Element	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	精密度 Precision RSD(%)	重复性 Repeatability RSD(%)	稳定性 Stability RSD(%)
Ni	$Y = 4\ 279.40X + 2\ 378.23$	0.999 6	1.69	3.59	2.78
Zn	$Y = 3\ 225.50X + 7\ 780.45$	0.999 8	1.34	1.78	2.43
Zr	$Y = 21\ 260.39X + 4\ 414.80$	0.999 5	1.65	2.89	2.78
Sn	$Y = 10\ 577.51X + 5\ 033.32$	0.999 8	2.22	1.93	2.01
Sb	$Y = 11\ 209.43X + 124.01$	0.999 8	0.78	3.39	4.02
Ba	$Y = 5\ 078.25X + 5\ 707.33$	0.999 8	2.98	1.67	3.79

2.6 检出限的测定

取空白溶液进行测试,连续进样 11 次,以空白溶液计算出各元素的标准偏差(SA),按 $Q_L(n=3) = 3 \times S_A/S$ 计算检出限,其中 S_A 为标准偏差,S 为标准曲线的斜率。仪器检出限指在一定的置信范围内能与仪器噪音相区别的最小检测信号对应的待测物质的量,计算公式为 $D_L(\text{mg/kg}) = 3 \times S_A \times 1/S$;方法检出限指在特定仪器条件下,以合理的置信水平测定被测物的最小浓度值,计算公式为 $C_L(\text{mg/kg}) = 3 \times S_A \times 1/S \times 50 \times 10^{-6} \times 1/(0.5 \times 10^{-3})$ 。根据以上两个公式计算出仪器、方法检出限,结果 18 种无机元素的检出限均能很好的满足分析要求,见表 3。

2.7 精密度试验

取将“2.2 项”下的对照品混合溶液 1 和 2,对照品溶液 3,连续进样 6 次,记录结果。可见各成分精密度 RSD 在 0.67% ~ 2.98%,结果见表 2。

2.8 重复性试验

选取毛冬青 S8 样品,称取约 0.25 g,精密称定,根据“2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,测定,计算,可见各成分重复性 RSD 在 0.58% ~ 3.59%。结果见表 2。

2.9 稳定性试验

选取毛冬青 S8 样品,称取约 0.25 g,精密称定,按照“2.4”项下方法制备供试品溶液,分别于 0、1、2、4、6、8、10、12 h 测定,计算各无机元素 RSD 值,结果见表 2。可见各成分稳定性 RSD 在 1.56% ~ 4.02%。

2.10 加样回收率

选取毛冬青 S8 样品,称取 0.25 g,精密称定,加入混合对照品溶液,按照“2.4”项下的方法制备加样回收率溶液,扣除本地值后,用 ICP-MS 测定各元素的回收率,各元素的回收率为 82.4% ~ 110.8%,相对标准偏差为 1.2% ~ 11.7%。

3 结果

3.1 样品测定

采用上述微波消解法-ICP-MS 法,精密称取 8 批毛冬青饮片各 0.5 g,按照上述方法进行测定,通过内标校正的标准曲线法计算样品中 18 种无机元素的含量,结果见图 1、表 4。

3.2 无机元素的相关性分析

中药材中无机元素的分析,可采用相关性分析用以衡量不同元素之间是否具有协同或者拮抗作用

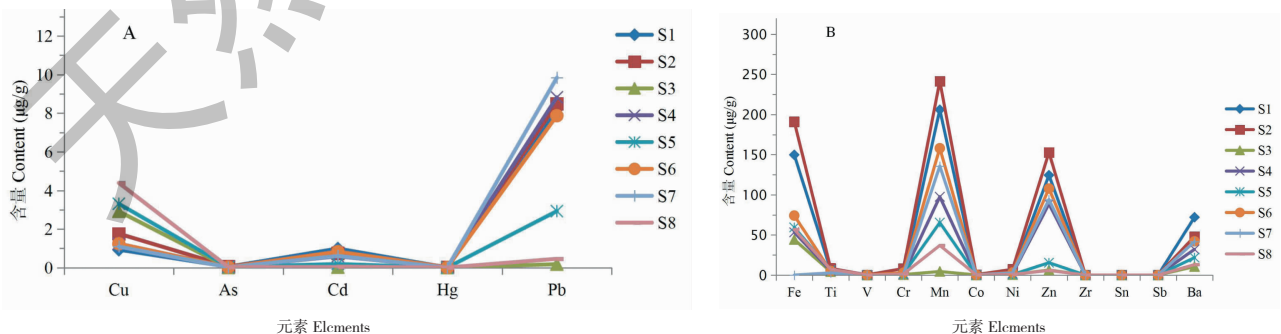


图 1 不同产地毛冬青中无机元素含量对比图

Fig. 1 The comparison of inorganic elements in Maodongqing from different producing areas

注:A.药典收载重金属有害元素;B.其它无机元素。Note:A. The harmful elements of heavy metals of Pharmacopoeia;B. The other inorganic elements.

用。本研究采用 SPSS 23.0 软件对毛冬青中 18 种无机元素进行相关性分析,采用皮尔孙相关系数法(该方法主要用于度量两个变量之间的相关程度),统计结果见表 5,统计结果共有 6 对元素显著性负相关($P < 0.01$),4 对元素负相关($P < 0.05$);79 对元素显著性正相关($P < 0.01$),60 对元素正相关(P

< 0.05)。如:As 与 V 和 Sb 均呈极显著性正相关,其相关系数分别为 0.835 ($P < 0.01$) 和 0.867 ($P < 0.01$);Cu 与 Cd、Pb 及 Zn 均呈极显著性负相关,其相关系数分别为-0.812 ($P < 0.01$)、-0.915 ($P < 0.01$) 和-0.839 ($P < 0.01$)。

表 3 18 种无机元素的标准偏差(SA)及检出限

Table 3 The standard deviations (SA) and the detection limits of 18 inorganic elements

元素 Element	空白溶液 Blank solution											S _A	S	仪器检出限 Instrument detection limit (mg/kg)	方法检出限 Method detection limit (mg/kg)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Cu	0.524	0.542	0.604	0.580	0.702	0.574	0.661	0.743	0.730	0.697	0.729	0.081	0.984	0.248	0.025
As	0.045	0.030	0.038	0.053	0.046	0.048	0.031	0.040	0.058	0.038	0.009	0.013	0.301	0.132	0.013
Cd	0.042	0.032	0.056	0.036	0.079	0.041	0.072	0.037	0.033	0.027	0.040	0.016	0.370	0.137	0.014
Hg	0.001	0.005	0.002	0.007	0.005	0.005	0.006	0.004	0.002	0.006	0.005	0.001	0.286	0.020	0.002
Pb	0.637	0.646	0.651	0.618	0.701	0.576	0.620	0.647	0.661	0.722	0.634	0.039	2.501	0.047	0.005
Al	5.448	9.336	6.147	0	13.917	6.850	2.816	13.652	4.379	9.016	13.270	4.603	1.531	9.019	0.902
Ti	1.832	0.960	1.949	1.611	1.617	1.357	2.384	1.392	0.985	1.719	1.792	0.416	1.787	0.698	0.070
V	0.085	0.076	0.110	0.100	0.136	0.089	0.133	0.084	0.094	0.083	0.089	0.020	2.252	0.027	0.003
Cr	0.061	0.047	0.152	0.056	0.145	0.077	0.158	0	0.040	0	0.055	0.056	1.948	0.087	0.009
Mn	2.033	1.643	2.829	2.326	4.350	2.422	3.965	1.836	1.754	1.365	2.046	0.952	3.2927	0.868	0.087
Fe	21.735	22.238	23.219	20.759	25.214	20.782	25.375	23.863	27.635	26.000	24.073	2.223	0.062	106.639	10.664
Co	0.058	0.038	0.074	0.060	0.113	0.059	0.199	0.051	0.048	0.191	0.057	0.057	2.140	0.081	0.008
Ni	0	0	0	0	0	0	0.011	0	0	0	0	0.003	0.427	0.023	0.002
Zn	5.503	5.416	5.761	5.545	5.803	5.477	5.835	6.830	7.350	7.418	7.182	0.818	0.322	7.614	0.761
Zr	0.582	0.436	0.378	0.299	0.328	0.236	0.288	0.260	0.280	0.254	0.266	0.102	2.126	0.145	0.015
Sn	0.910	0.902	0.829	0.638	0.700	0.647	0.693	0.744	0.576	0.572	0.639	0.119	1.057	0.340	0.034
Sb	0.045	0.036	0.054	0.045	0.086	0.047	0.078	0.038	0.036	0.028	0.042	0.017	1.120	0.048	0.005
Ba	0.447	0.543	0.533	0.480	0.755	0.541	0.760	0.849	0.789	0.794	0.776	0.149	0.507	0.885	0.089

表 4 不同产地毛冬青样品中 18 种无机元素测定结果

Table 4 The determinations of 18 inorganic elements in Maodongqing samples from different producing areas

样品 Sample	Cu	As	Cd	Hg	Pb	Al	Fe	Ti	V	Cr	Mn	Co	Ni	Zn	Zr	Sn	Sb	Ba
S1	0.930	0.050	0.990	0.008	8.210	0.591	149.741	6.441	0.101	2.192	205.89	0.560	3.381	124.380	0.027	0.033	0.007	71.981
S2	1.761	0.062	0.752	0.031	8.503	2.042	191.021	8.391	0.202	8.201	241.361	0.531	7.153	152.711	0.072	0.048	0.012	47.962
S3	2.922	0.006	0.023	0.004	0.180	-	44.191	4.210	0.031	0.572	4.443	0.077	0.571	6.312	0.030	0.032	0.004	10.561
S4	1.241	0.023	0.590	0.014	8.821	0.089	53.242	5.282	0.051	0.760	97.525	0.211	1.673	88.591	0.026	0.043	0.003	32.072
S5	3.312	0.045	0.191	0.007	2.931	0.026	59.311	6.240	0.081	1.422	65.291	0.161	0.680	15.361	0.031	0.033	0.006	21.721

续表 4(Continued Tab. 4)

样品 Sample	Cu	As	Cd	Hg	Pb	Al	Fe	Ti	V	Cr	Mn	Co	Ni	Zn	Zr	Sn	Sb	Ba
S6	1.244	0.026	0.831	0.013	7.873	0.894	74.061	5.043	0.111	2.940	157.930	0.314	3.231	107.780	0.031	0.031	0.005	42.063
S7	1.091	0.023	0.614	0.006	9.840	-	-	2.712	0.042	0.433	135.632	0.301	2.674	93.961	0.017	0.032	0.005	41.712
S8	4.392	0.031	0.052	0.009	0.464	-	56.821	7.094	0.084	1.261	36.912	0.153	0.719	5.684	0.020	0.013	0.004	12.983
平均 Average	2.111	0.033	0.051	0.012	5.851	0.731	89.771	5.681	0.088	2.221	118.121	0.291	2.521	74.351	0.032	0.033	0.006	35.131

表 5 不同产地毛冬青中 18 种无机元素的皮尔逊相关性分析

Table 5 Pearson correlations analysis among eighteen heavy metals of Maodongqing samples from different producing areas

元素 Element	Cu	As	Cd	Hg	Pb	Al	Fe	Ti	V	Cr	Mn	Co	Ni	Zn	Zr	Sn	Sb	Ba
Cu	1.000	-0.108	-0.812**	-0.221	-0.915**	-0.229	-0.469	0.304	-0.119	-0.178	-0.710*	-0.639	-0.532	-0.839**	-0.111	-0.632	-0.141	-0.797*
As	-0.108	1.000	0.422	0.637	0.324	0.590	0.830*	0.782*	0.835**	0.737*	0.716*	0.746*	0.672*	0.528	0.634	0.332	0.867**	0.572
Cd	-0.812**	0.422	1.000	0.373	0.819**	0.348	0.626	0.074	0.425	0.395	0.834**	0.793*	0.651	0.862**	0.240	0.463	0.368	0.867**
Hg	-0.221	0.637	0.373	1.000	0.409	0.882*	0.735*	0.659	0.877**	0.936**	0.666	0.572	0.863**	0.653	0.907**	0.618	0.783*	0.313
Pb	-0.915**	0.324	0.819**	0.409	1.000	0.439	0.589	-0.127	0.297	0.317	0.809**	0.701*	0.647	0.899**	0.196	0.614	0.267	0.793*
Al	-0.229	0.590	0.348	0.882*	0.439	1.000	0.825*	0.727	0.956**	0.968**	0.843*	0.700	0.973**	0.775	0.898*	0.512	0.836*	0.385
Fe	-0.469	0.830*	0.626	0.735*	0.589	0.825*	1.000	0.723*	0.862**	0.855**	0.901**	0.939**	0.917**	0.809*	0.762*	0.501	0.914**	0.774*
Ti	0.304	0.782*	0.074	0.659	-0.127	0.727	0.723*	1.000	0.794*	0.704*	0.348	0.406	0.445	0.190	0.654	0.112	0.697*	0.149
V	-0.119	0.835**	0.425	0.877**	0.297	0.956**	0.862**	0.794*	1.000	0.965**	0.743*	0.706*	0.854**	0.616	0.856**	0.375	0.911**	0.452
Cr	-0.178	0.737*	0.395	0.936**	0.317	0.968**	0.855**	0.704*	0.965**	1.000	0.724*	0.672*	0.904**	0.641	0.948**	0.526	0.923**	0.400
Mn	-0.710*	0.716*	0.834**	0.666	0.809**	0.843*	0.901**	0.348	0.743*	0.724*	1.000	0.964**	0.913**	0.960**	0.566	0.557	0.727*	0.901**
Co	-0.639	0.746*	0.793*	0.572	0.701*	0.700	0.939**	0.406	0.706*	0.672*	0.964**	1.000	0.856**	0.895**	0.511	0.455	0.736*	0.935**
Ni	-0.532	0.672*	0.651	0.863**	0.647	0.973**	0.917**	0.445	0.854**	0.904**	0.913**	0.856**	1.000	0.884**	0.801**	0.612	0.841**	0.675*
Zn	-0.839**	0.528	0.862**	0.653	0.899**	0.775	0.809*	0.190	0.616	0.641	0.960**	0.895**	0.884**	1.000	0.508	0.649	0.575	0.873**
Zr	-0.111	0.634	0.240	0.907**	0.196	0.898*	0.762*	0.654	0.856**	0.948**	0.566	0.511	0.801**	0.508	1.000	0.655	0.884**	0.235

注: * $P < 0.05$, 显著相关; ** $P < 0.01$, 极显著相关。

Note: * $P < 0.05$, significant correlation; ** $P < 0.01$, highly significant correlation.

3.3 无机元素的热图和聚类分析

热图(heat map)是近年来被广泛应用于数据挖掘的方法之一,其原理是在聚合大量试验数据的基础上,以一种渐进的蓝红色带直观的将结果展现出来,借此可以看出数据的疏密和频率高低程度,以及重点研究对象的地区差异变化。本文通过根据 8 批不同产地毛冬青 18 种无机元素各自的比值,利用 Image GP 网页制图工具绘制热图,见图 2。由图 2 热图可见 8 批不同产地毛冬青样品呈现出一定的聚类性特征,可以按产地划分为 4 类:第 I 类为 S1(江西)、S2(广西),这 2 组资源中 Cd、Cr 比值差异是 4 组类别中最大的,值得注意的是 As、Hg 比值亦较高,其它常量及微量元素比值较为平均;第 II 类为 S3(安徽)、S8(浙江),这 2 组资源中各种无机元素

较为平均,Cu 比值较高;第 III 类为 S4(福建)、S6(广东)、S7(广东),这 3 组资源中 Cd 比值是 4 组类别中第 2 高的,其它元素相对来说差异不大;第 IV 类为 S5(海南),这组资源中所有元素比值是 4 组类别中最低的,差异均不大。由此可见 8 批毛冬青样品中无机元素含量受不同产地土壤、水质、气候等因素的影响比较明显。

4 讨论

本文采用了 ICP-MS 法对 8 组资源毛冬青进行了 18 种无机元素的测定,根据元素的分类,对文中所测元素进行分类,人体必需微量元素为 Mn、Ti、Cr、Sn、Ni、Fe、Zn,有害微量元素为 Pb、Hg、As、Cd、Cu、Ba、Sb、Al,其他元素为 V、Co、Zr。从表 4 看,人体必需微量元素 Mn、Ti、Cr、Sn、Ni、Fe、Zn 元素均检

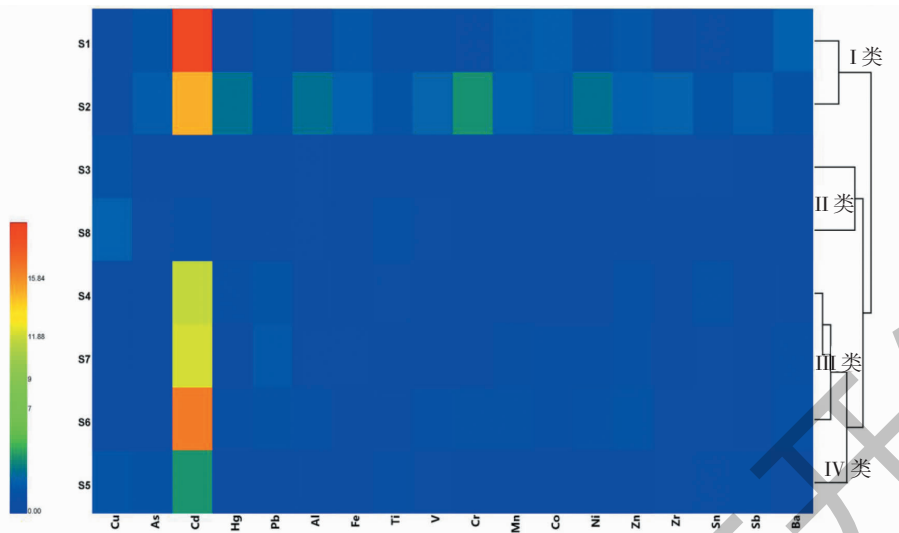


图2 无机元素含量的热图分析

Fig. 2 Heatmap of mineral element content

注:8批毛冬青18个元素测定值与每个元素平均值相比,得出的比值由小到大,用蓝色向红色转变表示,颜色越红,差异越大。Note: The content of 18 element from 8 producing areas compared with the average element. The ratio from small to large was expressed by the transition from blue to red. The redder the color, the greater the difference.

出且含量不低,而Cr、Ni、V等元素有利于冠心病治疗^[9],毛冬青中具有测出了不低的Cr、Ni、V元素, Cr、Ni元素测定值甚至大于2 mg/kg,这与其具有治疗冠心病的作用是相符的;而Fe、Zn元素具有较强的活血作用,毛冬青中Fe为89.77 mg/kg, Zn为74.35 mg/kg,这与其临床上治疗血栓闭塞性脉管炎、缺血性脑中风相符。但现代研究证实过量的无机元素亦会对人体造成不良影响,例如Mn过量会造成人暴躁易怒,而毛冬青中Mn检出平均值最高,达到了118.12 mg/kg。

《中国药典》2015年版一部规定了丹参、西洋参、黄芪、甘草等药材中铅不得过5 mg/kg、砷不得过2 mg/kg、镉不得过0.3 mg/kg、汞不得过0.2 mg/kg、铜不得过20 mg/kg^[10]。由表4可见8批毛冬青中Pb、Cd、As、Hg、Cu均检出,平均值分别为5.85、0.05、0.033、0.012、2.11 mg/kg。与药典规定限度比较,笔者发现其中毛冬青中Pb元素超出了标准规定的限度,而过量的Pb进入人体后,只有少量会随着体液排除,大部分会集聚在体内,易造成贫血、动脉硬化等疾病。此外,药典中未规定限度的Ba元素的测定值也较高,8批平均值为35.13 mg/kg,而Ba元素中毒会造成心肌中毒、心律失常及严重低血钾。由此可见,建立合适的重金属及有害元素控制方法是迫切而必须的。

近年来,对中药材中无机元素的测定已经得到

越来越广泛的关注,尤其是不同产地中药材无机元素含量差异较大,这从侧面可反应出我国土壤、水质、气候等环境因地理及科技发展带来的差距,所以在选择中药材道地不道地的时候,亦需要将重金属作为考察指标之一^[11]。减少中药材的重金属污染除了从源头上防治污染以外,也可以在中医药理论指导下深入研究,采取合理炮制方法降低其含量。这对保证中药材质量,保障中药用药安全具有极大意义。本文对考察毛冬青药材有效性及安全性提供了一定帮助。

参考文献

- 1 Xiong TQ, Chen YY, Li HX, et al. Antithrombotic activity of ilex saponin B₃ from roots of *Ilex pubescens* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2012, 43: 1785-1788.
- 2 Zhang XQ, Chen J, Meng L, et al. The effects of endothelial function in rats with abdominal aortic coarctation of Maodongqing [J]. J New Chin Med (新中医), 2012, 44: 131-132.
- 3 Wang LL. Study on the anti-inflammatory effects of Maodongqing oral liquid [J]. Med Forum Mag (医药论坛杂志), 2007, 28: 22-23.
- 4 Fu XC, Wang JH, Chen JJ, et al. Protective effect of Maodongqing effective parts on experimental myocardial infarction in dogs [J]. Chin J Integr Med Cardio-Cerebrovasc Dis (中西医结合心脑血管病杂志), 2009, 12: 1432-1434.

(下转第1227页)