

## ICP-MS 测定茯苓与猪苓中无机元素的含量

老骄阳<sup>1</sup>, 田腾跃<sup>1</sup>, 王帅<sup>1,2</sup>, 包永睿<sup>1,2</sup>, 孟宪生<sup>1,2\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600;

2. 辽宁省组分中药工程技术研究中心, 辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁大连 116600)

**[摘要]** **目的:**测定5个不同产地的茯苓与猪苓中无机元素的含量,探讨无机元素含量的地域差异性及其药材中无机元素间的相关性,并探讨利尿作用与元素含量的相关性。**方法:**采用微波消解-电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)对茯苓与猪苓中的无机元素进行全定量分析。应用MPP(12.6)软件对数据进行主成分分析(PCA)及聚类分析,SPSS 17.0软件对元素含量的相关性进行分析。**结果:**含量测定结果表明茯苓与猪苓中各无机元素的含量随原子序数增大呈现相似的规律性分布;主产地的茯苓与猪苓中无机元素含量高于其他产地。主成分分析和聚类分析表明,2种药材间无机元素的含量差异大,云南、广西与贵州茯苓间无机元素的含量相近,湖南与安徽茯苓间无机元素含量相近;山西、陕西与安徽猪苓中无机元素的含量相近,辽宁与吉林猪苓中无机元素的含量相近。相关性结果表明茯苓和猪苓中有55对元素具有相关性( $P < 0.05$ ),有121对元素具有显著相关性( $P < 0.01$ );常量元素Mg与Na、K显著相关,绝大部分的微量元素之间具有显著相关性;常量元素与微量元素之间也具有显著的相关性。**结论:**该方法适合茯苓、猪苓药材中多种元素含量的同时测定;药材的种属亲缘关系及药材的资源品质与地域性密切相关;药材对无机元素的吸收具有选择性,其吸收比例可能与药材的药理活性及强弱有关。

**[关键词]** 茯苓;猪苓;无机元素;微波消解-电感耦合等离子体质谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)05-0084-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016050084

## Determination of Inorganic Elements in Poria and Polyporus by ICP-MS

LAO Jiao-yang<sup>1</sup>, TIAN Teng-yue<sup>1</sup>, WANG Shuai<sup>1,2</sup>, BAO Yong-rui<sup>1,2</sup>, MENG Xian-sheng<sup>1,2\*</sup>

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Component Medicine Engineering Research Center of Liaoning Province,

Liaoning Province Modern Chinese Medicine Research Engineering Laboratory, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the content of the inorganic elements in *Poria cocos* and *Polyporus* from 5 different areas by inductively coupled plasma mass spectroscopy (ICP-MS), analyze the regional difference of inorganic element contents and correlation between inorganic elements of the drugs, and investigate the relationship between the diuretic activity and elements content. **Method:** Full quantitative analysis was done for the inorganic elements in *Poria* and *Polyporus* by microwave digestion-ICP/MS. In the process of data analysis, MPP (12.60) software was employed for principal component analysis (PCA) and clustering analysis (CA), and SPSS (17.0) software was employed for the analysis of correlation between elements content. **Result:** The content of elements in the samples showed similar regularity with the increase of atomic number. The content of the inorganic elements in *Poria* and *Polyporus* from main producing areas was higher than that from other areas. The PCA and CA results showed that there was significant difference in inorganic elements content between these two herbs. The *Poria* from Yunnan, Guangxi and Guizhou had closer results in content of inorganic elements, and Hunan and Anhui had similar results. The *Polyporus* from Shanxi, Shaanxi and Anhui had closer results in content of

**[收稿日期]** 20150914(017)

**[基金项目]** 国家“重大新药创新”科技重大专项(2013ZX09507005)

**[第一作者]** 老骄阳,在读硕士,从事药物分析研究,Tel:18640049425,E-mail:811310261@qq.com

**[通讯作者]** \*孟宪生,教授,博士,从事中药药效物质和作用机制研究,Tel:0411-85890185,E-mail:mxsxv@126.com

inorganic elements, and Liaoning and Jilin had similar results. Correlation results showed that 55 pairs of elements had correlation ( $P < 0.05$ ), and 121 pairs of elements had significant correlation ( $P < 0.01$ ). Macro element Mg had significant correlation with Na, K. Most trace elements had significant correlation. There was also significant correlation between macro elements and trace elements. **Conclusion:** The method provided a suitable way to the simultaneous determination of multiple elements in Poria and Polyporus. The genus genetic relationship and the quality of the herbs were closely related to areas; the absorption of inorganic elements may be selective, and its absorption ratio may be associated with the pharmacological effects and strength of the herbs.

[Key words] Poria; Polyporus; ICP-MS; inorganic elements; content determination

茯苓和猪苓是常用的利尿中药材。茯苓出自《神农本草经》，在我国主产于安徽、湖北、云南等地，具有利水渗湿、健脾、宁心的作用，用于水肿尿少、痰饮眩悸、脾虚食少、便溏泄泻、心神不安、惊悸失眠等<sup>[1]</sup>。茯苓中主要含有茯苓多糖、三萜、脂肪酸、甾醇、酶等多种药理活性成分<sup>[2]</sup>。猪苓始载于《神农本草经》，在我国主产于陕西、山西、内蒙古等地，利水渗湿是其主要功能，用于小便不利、水肿、泄泻、淋浊、带下等<sup>[1]</sup>。猪苓中主要含有猪苓多糖、甾体、非甾体(除多糖类外)、氨基酸、维生素等多种药理活性成分<sup>[3]</sup>。有关 2 种药材中有机成分及药理活性的研究已有很多<sup>[4-6]</sup>，但对药材中无机元素含量的研究较少。

中药材的疗效与有机成分密切相关，还与无机元素的种类和含量有关<sup>[7]</sup>，人体内上千种酶中约有 50%~70% 都需要无机元素的参与或激活<sup>[8]</sup>。中药材的道地性与无机元素的含量及分布也具有密切的相关性，因此测定利尿药茯苓与猪苓中无机元素的含量对药材的分析及阐明药材的物质基础具有重要意义。本实验采用微波消解法处理样品，应用 ICP-MS 技术对 5 个不同产地的茯苓与猪苓药材中无机元素的含量进行测定，探讨无机元素含量的地域性差异及药材中无机元素间的相关性，及其利尿作用与元素含量趋势的相关性。为完善茯苓与猪苓的质量标准及物质基础提供参考。

### 1 材料

7500a 型电感耦合等离子体质谱(美国 Agilent 公司), SW-2 型微波消解仪(德国 Berghof 公司), Milli-QS 型超纯水器(美国 Millipore 公司)。

茯苓药材分别采自湖北、安徽、云南、广西、湖南;猪苓药材分别采自辽宁、山西、陕西、安徽、内蒙古。经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定分别为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* 的干燥菌核,多孔菌科真菌猪苓 *Polyporus umbellatus* 的干燥菌核。

多元素内标混合对照溶液为 Li, Sc, Ge, Y, In,

Bi, Tb( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 美国 Agilent); 多元素混合对照溶液为 Fe, K, Ca, Na, Mg( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), Ag, Al, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Tl, Hg, V(钒), Zn, Th, U( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和 Hg 对照溶液( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 均购自 AccuStangard;  $\text{HNO}_3$ (优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

### 2 方法与结果

**2.1 供试品的制备** 精密称取茯苓与猪苓细粉(60 目筛)0.200 g, 置聚四氟乙烯微波消解罐中, 精密加入 65% 浓硝酸 8 mL 和 30% 过氧化氢 1 mL, 摇匀, 放入微波消解仪中进行消解。消解步骤为①温度  $130 \text{ }^\circ\text{C}$ , 升温时间 5 min, 保持时间 10 min; ②温度  $190 \text{ }^\circ\text{C}$ , 升温时间 2 min, 保持时间 18 min; ③温度  $190 \text{ }^\circ\text{C}$ , 保持时间 15 min; ④温度  $75 \text{ }^\circ\text{C}$ , 降温时间 2 min, 保持时间 5 min。消解完成后, 冷却, 转移并定容至 100 mL 量瓶中, 即得茯苓与猪苓的供试品溶液。试剂空白按照同样方法处理。

**2.2 仪器参数** 用  $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的调谐液调整仪器各项指标, 使仪器的分辨率、氧化物、双电荷、灵敏度等各项指标符合检测要求, 得到工作参数见表 1。

表 1 ICP-MS 仪器参数

Table 1 Instrument parameters of ICP-MS

参数	数值	参数	数值
RF 功率	1 300 W	采样深度	9.9 mm
载气流速	$1.3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$	蠕动泵提升转速	$0.3 \text{ r} \cdot \text{s}^{-1}$
雾化器温度	$2 \text{ }^\circ\text{C}$	蠕动泵提升时间	30 s
氧化物	<1.09%	蠕动泵稳定时间	45 s
双电荷	<1.55%	重复次数	3

**2.3 对照溶液的配制** 分别精密吸取多元素混合对照溶液 0, 100, 200, 300, 500  $\mu\text{L}$ , 用超纯水定容至 100 mL 的量瓶中, 并在定容前分别加入 Hg 对照溶液 0, 10, 20, 30, 50  $\mu\text{L}$ , 制成混合对照溶液。

**2.4 内标溶液的配制** 精密吸取多元素内标混合对照溶液 5 mL, 用超纯水定容至 50 mL 的量瓶中。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 线性关系与检出限** 在优化的实验条件下,对不同质量浓度的混合对照溶液进行测定,仪器自动绘制标准曲线,各元素相关系数  $r$  均在 0.999 2 ~ 1.000 0,线性关系良好,符合 2010 年版《中国药典》的要求,方法可行。

取最低浓度的混合对照溶液进行测试,连续重复进样 11 次,以测定值的 3 倍标准偏差除以相应元素标准曲线斜率计算该方法的检出限。结果见表 2。

表 2 各元素的回归方程、相关系数及检出限

Table 2 Standard curves, coefficients and detection limits of elements

元素	回归方程	$r$	检出限 / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Be	$Y = 0.2168X - 0.1237$	0.9997	0.01
Na	$Y = 0.6904X + 632.20$	0.9999	3.98
Mg	$Y = 0.4255X + 4.2900$	1.0000	3.09
Al	$Y = 0.6820X + 0.6398$	0.9996	2.06
K	$Y = 0.7943X + 162.20$	0.9997	3.87
Ca	$Y = 0.0014X + 0.0493$	0.9992	3.28
V	$Y = 1.0150X - 0.5264$	0.9998	0.05
Cr	$Y = 0.0739X + 0.2900$	0.9999	0.86
Mn	$Y = 1.1440X + 0.0474$	1.0000	0.17
Fe	$Y = 0.8989X + 103.60$	0.9999	1.87
Co	$Y = 4.7630X - 0.7563$	1.0000	0.08
Ni	$Y = 1.0640X - 0.8343$	0.9993	0.92
Cu	$Y = 2.7460X + 0.2793$	0.9999	0.29
Zn	$Y = 0.5542X + 0.0240$	0.9996	0.84
As	$Y = 0.9144X + 0.1047$	0.9999	0.60
Se	$Y = 0.0059X + 0.0165$	0.9995	0.07
Mo	$Y = 0.1600X - 0.2694$	0.9997	0.03
Ag	$Y = 0.3872X - 0.0913$	0.9999	0.49
Cd	$Y = 0.0786X - 0.0538$	0.9994	10.61
Sb	$Y = 0.2924X - 0.0346$	0.9999	0.76
Ba	$Y = 0.1213X - 0.1252$	0.9995	0.40
Hg	$Y = -0.0001X + 0.0222$	0.9997	0.03
Tl	$Y = 0.9582X + 1.1210$	0.9995	0.30
Pb	$Y = 0.6451X + 0.7676$	0.9995	0.55
U	$Y = 1.1800X + 0.9434$	0.9993	0.02

**2.5.2 精密度与加样回收率试验** 取同一对照溶液,按优化后条件,连续测定 6 次,经测定各元素的 RSD 在 0.3% ~ 3.3%。方法精密度良好,符合分析

检测要求。

选取茯苓(安徽)、猪苓(辽宁)样品进行加样回收试验。各元素回收率均在 91.2% ~ 103.8%。符合相关要求。

**2.5.3 重复性试验** 分别取茯苓(安徽)药材、猪苓(辽宁)药材,按 2.1 项下方法各平行制备 6 份供试品溶液,按 2.2 项下仪器参数测定各元素含量,经测定各元素的 RSD 均 < 3.2%。方法重复性良好,符合分析检测要求。

**2.5.4 稳定性** 分别取茯苓(安徽)药材、猪苓(辽宁)药材,按 2.1 项下方法制备供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 按 2.2 项下仪器参数测定各元素含量,经测定各元素的 RSD 均 < 2.3%。表明该方法所测元素在 10 h 之内稳定性良好。

**2.5.5 样品测定** 将 2.1 项下制备的供试品溶液,按 2.2 项下仪器条件进行全定量分析,其中 Al, Mn, Zn, Ba 元素超出标准曲线范围,将供试品溶液稀释 25 倍后再进行全定量测定。结果见表 3。

## 3 统计分析

**3.1 茯苓、猪苓药材中无机元素含量** 各产地猪苓、茯苓中无机元素的含量测定结果见表 3,对一些含量悬殊的元素同时放大或缩小不同倍数至同一数量级后进行分析。不同产地的茯苓与猪苓中各无机元素的含量不完全相同,但各元素的含量随原子序数增大呈现相似的规律性分布。除 Cu 元素外,同质量的茯苓中无机元素的含量均小于猪苓。在 5 个产地的茯苓中,湖南、云南茯苓中大多数无机元素的含量相对最高,其次是贵州茯苓;在 5 个产地的猪苓中,山西、辽宁猪苓中大部分元素的含量相对较高,其次是陕西猪苓。

**3.2 茯苓、猪苓药材中无机元素含量的主成分分析及聚类分析** 利用 MPP(12.60)软件对茯苓与猪苓中无机元素的含量进行主成分分析(PCA)和聚类分析。见图 1,2。

主成分分析图中的空间位置清晰的表明了不同产地茯苓、猪苓间的关系的远近<sup>[9]</sup>,茯苓与猪苓之间无机元素的含量相差较大,在图中分为两部分。聚类分析图详细地说明了各个产地茯苓与猪苓中无机元素含量的关系,颜色代表含量的高低<sup>[9]</sup>。由聚类分析结果可知,云南与广西茯苓中无机元素含量的差异最小,且与贵州茯苓中无机元素的含量相近,湖南与安徽茯苓间无机元素含量相近,但与另外 3 个产地的茯苓差异较大;山西与陕西猪苓无机元素含量的差异最小,且与安徽猪苓中无机元素的含量

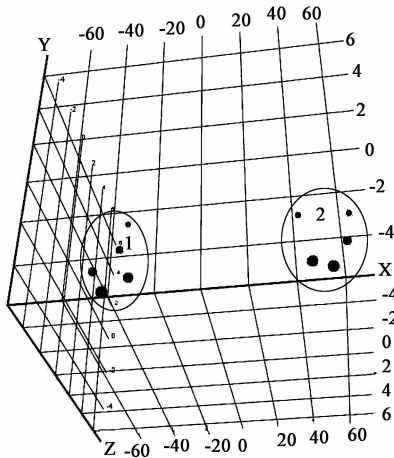
表 3 不同产地茯苓和猪苓药材各元素质量分数测定 (n=3)

药材	Be	Na	Mg	Al	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
猪苓安徽	0.128	306.813	186.719	124.253	887.438	343.031	3.630	5.573	19.757	441.844	0.454	0.562	-
猪苓山西	0.187	459.219	396.438	175.750	567.031	474.594	4.463	5.049	32.782	977.125	1.100	2.022	0.170
猪苓辽宁	0.156	536.500	503.000	303.469	665.313	174.063	6.421	8.361	55.194	1470.625	0.931	0.816	-
猪苓陕西	0.086	185.438	180.500	72.881	653.750	392.781	1.874	4.378	20.497	315.500	0.259	0.977	2.158
猪苓吉林	0.152	407.281	312.750	153.313	679.594	419.594	4.337	5.113	27.282	761.094	0.810	1.604	0.231
茯苓湖南	0.006	45.185	74.150	61.008	833.833	58.470	0.009	1.086	12.252	51.300	0.083	0.233	2.208
茯苓云南	0.001	20.457	95.167	40.280	953.000	56.200	0.016	1.640	9.453	57.550	0.066	0.065	3.061
茯苓广西	0.002	32.155	51.983	82.712	712.667	29.538	0.027	0.536	8.577	32.118	0.050	0.004	1.595
茯苓贵州	0.002	66.267	59.383	52.373	687.000	48.325	0.028	0.856	17.857	44.480	0.076	0.020	1.675
茯苓安徽	0.001	21.852	51.653	33.597	657.500	30.172	0.005	0.433	11.468	31.920	0.054	-	1.601

药材	Zn	As	Se	Mo	Ag	Cd	Sb	Ba	Hg	Tl	Pb	U
猪苓安徽	12.570	0.389	0.074	0.089	0.048	0.026	0.035	60.656	0.010	0.036	1.847	0.053
猪苓山西	10.174	0.107	0.122	-	0.074	0.026	0.055	55.675	-	0.031	1.650	0.089
猪苓辽宁	37.925	-	0.093	0.033	0.028	0.022	0.069	105.156	-	0.051	1.014	0.080
猪苓陕西	44.650	0.422	0.060	-	0.065	0.034	0.087	42.875	-	0.020	0.913	0.052
猪苓吉林	11.358	0.112	0.112	0.001	0.065	0.026	0.036	56.425	-	0.034	1.625	0.049
茯苓湖南	7.358	0.162	0.001	-	0.001	0.015	0.007	1.854	-	0.010	0.054	0.001
茯苓云南	5.089	0.050	0.001	-	0.019	0.003	0.027	1.319	0.053	0.013	0.026	0.001
茯苓广西	1.350	0.029	0.001	-	0.003	0.002	0.025	1.589	-	0.004	0.006	0.001
茯苓贵州	1.063	0.130	0.001	-	0.003	0.002	0.024	1.537	0.051	0.001	0.011	0.001
茯苓安徽	1.053	0.035	0.001	-	0.001	0.002	0.006	1.425	-	0.010	0.001	0.001

注：“-”表示未检出。



1. 猪苓; 2. 茯苓

图 1 茯苓、猪苓药材中无机元素含量的主成分分析

Fig. 1 PCA diagram of inorganic elements in Poria and Polyporus from different producing areas

相近, 辽宁与吉林猪苓中无机元素的含量相近, 与其他 3 个产地的猪苓差异较大。

### 3.3 茯苓与猪苓中无机元素含量的相关性分

析 利用 SPSS 17.0 软件中的 Pearson correlation 分析茯苓与猪苓中无机元素含量的相关性。结果可知, 有 55 对元素具有相关性 ( $P < 0.05$ ), 有 121 对元素具有显著相关性 ( $P < 0.01$ ); 常量元素 Mg 与 Na, K 显著相关, 绝大部分的微量元素之间具有显著相关性; 常量元素 Na, Mg 元素与微量元素 V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Se, 常量元素 K 与微量元素 Mn, 常量元素 Ca 与微量元素 V, Co, Se 具有显著相关性。猪苓中有 59 对元素具有显著相关性, 茯苓中有 46 对元素具有显著相关性。

### 4 讨论

重金属污染是影响中药材质量的重要因素, 本试验同时测定了不同产地药材中的重金属含量, 《中国药典》(2010 年版) 中规定重金属元素的限量标准为  $Cu \leq 20.0 \mu g \cdot g^{-1}$ ,  $As \leq 2.0 \mu g \cdot g^{-1}$ ,  $Cd \leq 0.3 \mu g \cdot g^{-1}$ ,  $Hg \leq 0.2 \mu g \cdot g^{-1}$ ,  $Pb \leq 5.0 \mu g \cdot g^{-1}$ 。本实验中不同产地的茯苓与猪苓中重金属含量均符合标准。同时为用药的安全性提供了参考。

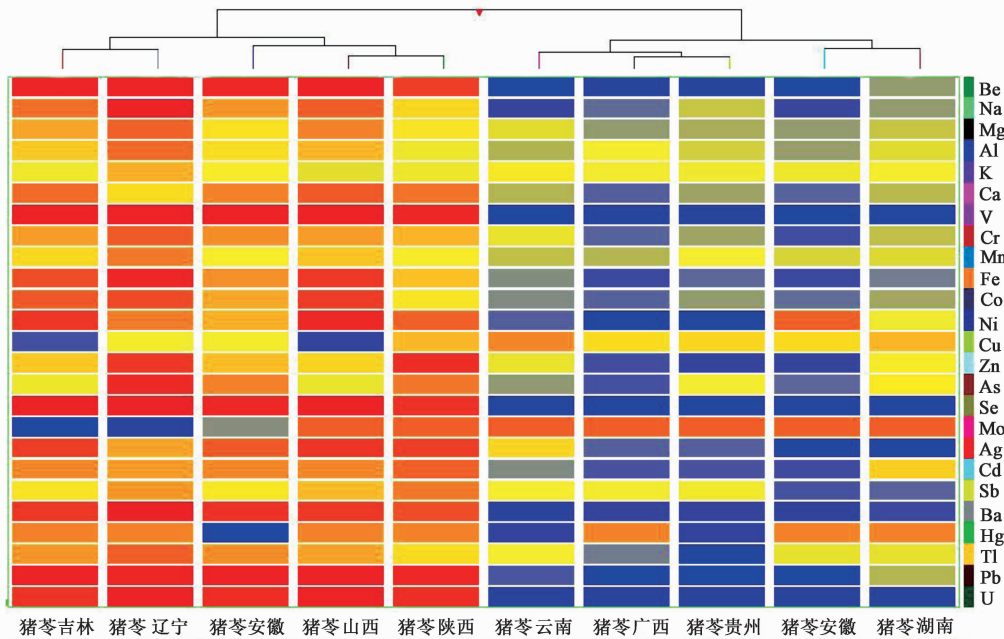


图 2 茯苓、猪苓药材中无机元素含量的聚类分析

Fig. 2 CA diagram of inorganic elements in Poria and Polyporus from different producing areas

本文通过测定茯苓与猪苓无机元素的含量,从无机元素角度为药材种属亲缘关系的鉴定及药材的资源品质与地域性的相关性提供了参考。由茯苓与猪苓元素含量分布图可知,茯苓中除 Cu 以外的元素含量均低于猪苓,分析可能与菌种不同或培育技术等因素有关;猪苓的利尿作用比茯苓强<sup>[10]</sup>,有研究表明,利尿的作用机制与干扰肾小管中  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  的转运系统有关<sup>[11]</sup>,但  $\text{Ca}^{2+}$  的含量与利尿作用的强弱并不相关<sup>[12]</sup>,从本实验结果可知,两种药材利尿作用的强弱可能与其他元素的总量或比例有关,笔者将在后续实验中做进一步研究。湖南茯苓与云南茯苓中大多数无机元素的含量相对较高,山西猪苓与辽宁猪苓中大部分元素的含量相对较高,从无机元素角度证明了主产地药材的质量优于其他产地。主成分分析及聚类分析的分析结果一致并能相互验证。云南茯苓、广西茯苓与贵州茯苓间无机元素的含量差异较小,可能与其同处云贵高原有关,湖南茯苓与安徽茯苓相近可能与其同处华北平原有关。山西猪苓与陕西猪苓相近可能与其同处黄土高原有关,辽宁与吉林猪苓相近可能与其同处东北平原有关。可见,无机元素含量的差异与地理位置、生态环境等因素密切相关。

由相关性分析结果可知,茯苓与猪苓中大部分无机元素的含量具有相关性,其中常量元素之间、微量元素之间、常量元素与微量元素之间都呈现显著的相关性,说明药材对无机元素的吸收具有选择性,

其吸收比例可能决定药材的药理活性及强弱。所以,药材中无机元素含量的研究在药材的质量控制及物质基础方面具有重要的作用。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:224,299.  
 [2] 徐国钧,徐璐珊,何宏贤,等. 中国药材学. 下卷[M]. 北京:中国医药科技出版社,1996:1706-1709.  
 [3] 江苏新医学院. 中草药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:2191-2192.  
 [4] 张秀明. 茯苓药理作用研究概况[J]. 中药材,2001,24(6):446-449.  
 [5] 沈玉萍,李军,贾晓斌. 中药茯苓化学成分的研究进展[J]. 南京中医药大学学报,2012,28(3):297-300.  
 [6] 赵英永,崔秀明,张文斌,等. 猪苓的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材,2009,32(11):1785-1787.  
 [7] 贡济宇,许天阳. 中药微量元素的研究[J]. 微量元素与健康研究,2002,19(4):69.  
 [8] 尹智慧,盛振华,丁红梅,等. ICP-MS 测定红花和藏红花中 22 种微量元素[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(12):96-98.  
 [9] 刘博,包永睿,王帅,等. 十产地柴胡药材无机元素差异分析[J]. 中南药学,2014,12(2):158-161.  
 [10] 李森,谢人明,孙文基. 茯苓、猪苓、黄芪利尿作用的比较[J]. 中药材,2010,33(2):264-267.  
 [11] 张庆柱. 基础药理学[M]. 北京:高等教育出版社,2006:242-243.  
 [12] 赵子剑. 原子吸收分光光度法测定利水渗湿类中药材中钙元素含量[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(21):1771-1772.

[责任编辑 顾雪竹]