

# 基于 ICP-MS 对不同产地藟头无机元素 的主成分分析和聚类分析

焦阳<sup>1</sup>, 尹海波<sup>1\*</sup>, 张乐<sup>1</sup>, 刘爽<sup>1</sup>, 关颖<sup>1</sup>, 董双双<sup>2</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁中医药大学经济管理学院, 沈阳 110032)

**[摘要]** **目的:**研究藟头中无机元素的含量分布特征,为中药材薤白的品质评价和质量控制提供实验依据。**方法:**采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法,对 10 个藟头样品中 14 个无机元素的含量进行定量分析,建立其无机元素指纹谱,并采用 SPSS 聚类分析和主成分分析对其特征元素进行评价。**结果:**主成分分析选出 4 个主因子,得出藟头的特征元素为 Mn,Cu,Zn,Fe,Ni,Se,Cr;聚类分析将 10 个藟头样品聚为 2 大类,赤、白藟头在品质上存在一定的差异性,不同采集地的藟头体内无机元素的含量与其生长环境存在着一定的关系。**结论:**定量分析法可用于藟头无机元素的含量测定;主成分分析法和聚类分析法是藟头无机元素含量分析的有效方法。

**[关键词]** 藟头; 电感耦合等离子体质谱; 无机元素; 定量分析法; 主成分分析; 聚类分析

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0068-05

## Principal Component Analysis and Cluster Analysis of Inorganic Elements in *Allium chinense* from Different Areas Based on ICP-MS

JIAO Yang<sup>1</sup>, YIN Hai-bo<sup>1\*</sup>, ZHANG Le<sup>1</sup>, LIU Shuang<sup>1</sup>, GUAN Ying<sup>1</sup>, DONG Shuang-shuang<sup>2</sup>

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

2. College of Economics and Management, Liaoning University of Traditional Chinese, Shenyang 110032, China)

**[Abstract]** **Objective:**To study the distribution character of inorganic elements content of *Allium chinense* and to provide valuable experimental evidence for the quality evaluation and control of Chinese herbal medicines *Allii macrostemi bulbos*. **Method:** The content of 14 inorganic elements in ten samples of *A. chinense* was determined by the means of ICP-MS with the result that fingerprints of inorganic elements were established and the characteristic elements were evaluated by SPSS cluster analysis and principal component analysis. **Result:** Four principal components were extracted from the original data. The principal component analysis results show that Mn, Cu, Zn, Fe, Ni, Se and Cr may be the characteristic elements in *A. chinense*; the results of cluster analysis showed that ten samples could be clustered reasonably into two groups, and there were some differences between red bulb and white bulb of *A. chinense*. And the content of inorganic elements of *A. chinense* is related to the ecological environment in some degree. **Conclusion:** The overall quantitative similarity method could be used for the determination of the inorganic elements in *A. chinense*; The principal component analysis and cluster analysis could be perfectly applied in data processing in inorganic elements.

**[Key words]** *Allium chinense*; ICP-MS; inorganic elements; quantitative analysis; principal component analysis; cluster analysis

**[收稿日期]** 20101118(002)

**[基金项目]** 辽宁省教育厅项目(2009A498);辽宁中医药大学大学生科研创新基金项目(201002)

**[第一作者]** 焦阳, 学士, 研究方向: 新药研发及中药品质评价, E-mail: jiaoyang0919@163.com

**[通讯作者]** \*尹海波, 学士, 副教授, 博士, 研究方向: 生药鉴定及中药品质评价, Tel: 15998530628, E-mail: yhb0528@sina.com

藁头 *Allium chinense* G. Don 为百合科葱属植物,其干燥鳞茎是中药薤白的药用来源之一<sup>[1]</sup>。主产于我国长江流域及以南地区,是一味药食同源的中草药。据考证<sup>[2]</sup>,藁头始见于《陆川本草》,又名薤。其味辛、苦,性温。归心、肺、胃、大肠经。具有温中通阳,行气散结的功效。用于胸腹胀满刺痛,肋间神经痛,慢性胃炎,湿滞泄痢,心绞痛,毒蛇咬伤等病症<sup>[3]</sup>。藁头主要含有挥发油、甾体皂苷、含氮化合物等多种具有药用价值的化学成分;药理研究表明其含有抗菌活性物质,具有抑菌消炎、抑制肿瘤、降血脂、抗动脉硬化和血小板聚集等作用,且具低毒、安全的特点,有较大的药用价值和市场开发价值<sup>[4]</sup>。

药用植物体内无机元素的存在与中药临床治疗效果有着密切的关系<sup>[5-7]</sup>,如人参富含硒元素,具有明显的抗癌作用。无机元素的作用机制除直接参与和调节体内必需的元素外,还常与其药用有机成分形成配合物,产生协同作用,增强其疗效。因此,测定中药中微量元素的含量及分布特征为阐明中药材中无机元素和机体的构效关系以及药材的道地性与生态、产地的相关性特征提供一定的实验依据。本文将 ICP-MS 法应用于藁头无机元素的研究领域,采用定量分析法测定了 10 个不同产地藁头样品中 14 种无机元素的含量,并用主成分分析法和聚类分析法对测定结果进行了分析。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 7500a 型电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)(美国 Agilent 公司),MDS-6 型微波消解仪(上海新仪微波化学科技有限公司),Milli2Q 超纯水处理系统(美国 Millipore 公司),Sartorius ALC-11.4 电子天平(德国 Sartorius 公司)。

**1.2 试剂** 硝酸(优级纯),超纯水( $\geq 18.2$  M $\Omega$ )。Agilent 多元素混标(Part #5183-4688)标准溶液:镁(Mg)、钾(K)、钙(Ca)、铜(Cu)、砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)、铅(Pb)、铬(Cr)、锰(Mn)、铁(Fe)、镍(Ni)、锌(Zn)、硒(Se);内标液(Part # 5183-4680);10 ppt 锂(Li)、钪(Sc)、锗(Ge)、钇(Y)、铟(In)、铋(Bi)调谐液(Part # 5184-3566)。

**1.3 药材** 藁头药材于 2010 年 6 月—8 月在我国南方地区分别采集,经辽宁中医药大学药用植物教研室尹海波副教授鉴定为 *A. chinensis*,凭证标本保存于本院药用植物教研室,采集信息见表 1。

## 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液的制备** 将药材粉碎,过 40 目筛,

表 1 藁头样品采集信息

No.	产地	样品生长环境
J1	广东广州郊区	熟土栽培
J2	江西新建生米镇	野地栽培
J3	江西上饶	野地栽培
J4	湖南岳阳湘阴 1	野地栽培
J5	湖南岳阳湘阴 2	熟土栽培
J6	湖南长沙宁乡县	熟土栽培
J7	湖南常德鼎城区	熟土栽培
J8	湖北荆州	熟土栽培
J9	四川绵阳安县	熟土栽培
J10	四川遂宁	熟土栽培

烘干至恒重,取药材粉末 0.3 g,精密称定,置于酸蒸洗净的聚四氟乙烯(PTFE)消解罐中,加入 5 mL 浓硝酸;将消解罐加盖组装放入消解炉内,然后按照 MDS-6 微波消解系统的操作程序消解 30 min,待温度和压力降下后取出,放气、冷却,用超纯水溶解并转移至 100 mL 量瓶中定容,即为待测溶液。空白试剂采用同样方式消解。样品与空白试剂一式 3 份。

## 2.2 定量分析方法的建立

**2.2.1 半定量分析** 对藁头药材进行定量分析前,需确定药材中待测的无机元素。因此,课题组首先采用半定量分析法对部分藁头样品中的无机元素进行分析测定。根据实验结果,筛选出供定量分析的无机元素种类。

**2.2.2 无机元素的筛选** 首先确立 3 种宏量元素(Mg, K, Ca)和 5 种重金属及有害无机元素(Cu, As, Cd, Hg, Pb)。另外依据藁头样品中半定量检测的无机元素含量高低以及国内外对微量元素的生物活性研究的成果<sup>[8]</sup>,择优确立了 Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Se 等 6 种无机元素。

**2.2.3 标准曲线的建立** 在每个样品中(包括标准溶液、供试品溶液和试剂空白)添加相同浓度的内标元素( $^7\text{Li}$ ,  $^{45}\text{Sc}$ ,  $^{72}\text{Ge}$ ,  $^{89}\text{Y}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^{209}\text{Bi}$ ),以标准溶液待测元素分析峰响应值与内标元素参比峰响应值的比值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。利用供试品中待测元素分析峰响应值与内标元素参比峰响应值的比值,扣除试剂空白后,从回归方程中查的相应浓度,计算,即得样品中各待测元素的含量。各待测元素的标准曲线,分别为 Mg:  $Y = 1.264X + 2.026 \times 10^2$  ( $r = 0.9996$ ); K:  $Y = 1.745X +$

4.  $227 \times 10^3 (r = 0.9996)$ ; Ca:  $Y = 2.142 \times 10^{-3} X + 0.8539 (r = 0.9997)$ ; Cu:  $Y = 3.490X + 37.69 (r = 0.9961)$ ; As:  $Y = 0.5627X + 2.087 (r = 0.9973)$ ; Cd:  $Y = 8.906 \times 10^{-2} X + 4.912 \times 10^{-2} (r = 1.0000)$ ; Hg:  $Y = 0.5740X - 1.326 (r = 0.9988)$ ; Pb:  $Y = 0.8095X + 0.6310 (r = 0.9999)$ ; Cr:  $Y = 0.1054X + 0.5266 (r = 0.9999)$ ; Mn:  $Y = 1.077X + 4.472 (r = 0.9977)$ ; Fe:  $Y = 0.8639X + 3.491 \times 10^2 (r = 0.9998)$ ; Ni:  $Y = 1.450X + 8.388 (r = 0.9967)$ ; Zn:  $Y = 0.5787X + 9.492 (r = 0.9992)$ ; Se:  $Y = 9.375 \times 10^{-3} X + 1.822 \times 10^{-2} (r = 0.9997)$ 。各元素的相关系数  $r$  均  $\geq 0.99$ , 符合 2010 年版《中国药典》的要求, 方法可行。

表 2 不同产地葛头无机元素含量 ( $n=3$ )

No.	Mg	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	As	Se	Cd	Hg	Pb
J1	738.30	8534.34	247.59	0.35	19.20	68.91	2.63	1.05	26.06	0.00	0.16	0.15	2.04	0.00
J2	586.71	7722.67	119.13	0.42	12.47	50.61	0.65	0.00	7.58	0.00	0.15	0.06	1.09	0.00
J3	804.21	7159.82	472.68	0.43	21.81	68.37	0.94	0.56	15.34	0.00	0.10	0.09	0.83	0.00
J4	478.04	9398.65	4.81	0.44	14.42	38.48	2.14	1.86	34.83	0.00	0.10	0.22	0.69	0.00
J5	953.97	13088.73	175.42	0.28	47.80	75.62	1.96	0.39	67.78	0.00	0.21	0.34	0.59	0.00
J6	594.17	9619.33	467.73	0.59	31.03	48.13	3.25	0.78	29.89	0.00	0.21	0.25	0.47	0.00
J7	1042.30	13823.53	1279.25	0.70	9.69	84.73	1.63	0.28	20.99	0.00	0.25	0.04	0.38	0.00
J8	2389.00	25431.09	5349.63	2.49	116.67	987.78	41.41	17.03	181.74	0.19	0.29	1.02	0.37	0.57
J9	1165.94	13208.18	866.24	0.76	11.60	91.99	4.47	2.60	38.59	0.00	0.16	0.06	0.28	0.47
J10	737.86	9574.19	551.23	0.55	19.10	27.83	3.07	0.94	15.70	0.00	0.23	0.19	0.28	0.00
平均值	949.05	11756.05	953.37	0.70	30.38	154.24	6.21	2.55	43.85	0.02	0.19	0.24	0.70	0.10

注: Cu, As, Pb 部分样品含量低于 ICP-MS 仪的检测限 ( $10^{-3}$  ppt), 将其含量视为 0。

**2.4 葛头无机元素指纹谱的建立** 根据定量测定的元素结果并参考牻牛儿苗<sup>[7]</sup>、何首乌<sup>[9]</sup>的无机元素分析方法, 按其原子序数顺序制作含量分布曲线。为了绘图方便, 把一些含量悬殊的元素同时缩小或扩大一定的倍数至同一数量级 (Mg, K, Ca 缩小 100 倍, Mn 缩小 10 倍, Ni, Cd, As, Cu, Pb, Hg 放大 10 倍, Cr, Se 放大 100 倍, 8 号样品在此基础上全部元素再缩小 10 倍)。为了便于比较, 本研究将 10 个葛头样品的无机元素含量分布图谱绘在一起, 见图 1。

图 1 表明 10 个不同葛头样品除个别样品中个别元素外基本具有相似的峰形。但由于产地和生态环境不同, 其含量有所差异。这一相近的峰形和主要元素均为  $K > Fe > Cr > Zn > Se$  的趋势, 可作为葛头无机元素指纹谱与其他药材无机元素指纹谱的区别特征。另外 5 种重金属及有害无机元素平均含

**2.2.4 仪器工作参数的优化** 条件优化实验以灵敏度、背信比、待测元素氧化产率、测定精密度的考察指标。其中射频功率、载气流量和采样深度是 ICP-MS 最重要的参数。通过仪器设置的程序, 对仪器进行了最优化, 优化结果为 RF 功率为 1.3 kW, 载气流速为  $1.14 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 等离子体流速为  $15.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 雾化腔温度  $2 \text{ }^\circ\text{C}$ , 采样深度 8.4 mm, 测点数/质量 6, 采样锥孔径 1.0 mm, 截取锥孔径 0.4 mm, 样品提升率为  $1.45 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 分析时间/质量 0.1 s。

**2.3 不同葛头样品中无机元素的测定结果** 依据 2.2 建立的葛头无机元素定量分析方法进行检测, 由各元素的标准曲线, 计算, 即得待测样品元素的测定结果, 见表 2。

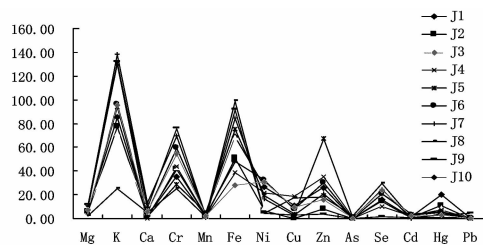


图 1 葛头无机元素的含量分布

量: Cu 为  $1.02 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , Cd 为  $0.19 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , Hg 为  $0.70 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 其中 Hg 含量相对较高, 可能与部分样品生长环境离路边较近, 易由外界引入, 同时葛头中 As、Pb 等重金属及有害无机元素只在个别样品 (8, 9 号) 中能检测出。

**2.5 主成分分析** 采用 SPSS 16.0 软件对数据进行标准化处理。由于 8 号样品为赤葛头, 从 2.3 项下的含量测量结果及后文的讨论可知, 其与另 9 个

样品(白葛头)有较大的差异性,统计意义不大,故在主成分分析中暂不将其列入。表3描述了主成分分析初始解对原有变量总体描述情况,从表3中可以看到总方差的90.563%的贡献来自前4个因子,即一个4因子模型解释了试验数据的90.563%。

由主成分因子载荷矩阵(表4)可知,第一个主因子表明其与Cr高度正相关,与Fe, Ni, Se, Cu正相关,与Mn负相关;第二个主因子表明其与Mn, Zn高度正相关,与Se正相关;因为总方差62.539%的贡

表4 主成分因子载荷矩阵

主成分	Mg	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Se	Cd	Hg	Pb
1	0.841	0.792	0.822	0.830	-0.266	0.640	0.621	0.491	0.211	0.399	-0.364	-0.554	0.786
2	0.164	0.458	-0.251	-0.371	0.899	0.093	0.241	-0.016	0.912	0.335	0.876	-0.190	-0.076

**2.6 聚类分析** 采用SPSS 16.0软件包中的聚类分析程序对10个样品进行聚类分析。在方法上采用系统聚类分析Q聚类法;10个样品用14个元素含量作为聚类变量,可分成2个大类,8号样品为一类;另1,2,3,4与5,6,7,9,10在大类的基础上再细分为2个小类,聚类结果见图2。

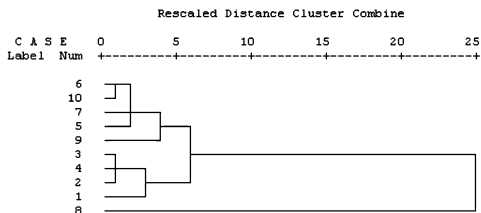


图2 葛头聚类结果

聚类分析结果表明,不同产地白葛头对无机元素的吸收与其生长环境有着一定的联系,1,2,3,4号样品,除1号样品为熟土栽培外,其余均为野地栽培,聚为一类,而5,6,7,9,10号样品均为熟土栽培,聚为另一类。进一步分析5,6,7,9,10号样品生长环境为熟土,曾是种植农作物的土地,生长期间有施肥或曾经施肥的历史,其土壤较肥沃;2,3,4号样品生长环境为野地,土壤相对贫瘠;另外我们分别将熟土采集的样品与野地采集的样品聚类分析,发现熟土采集的样品无机元素的含量大于野地采集的样品。由于葛头多为栽培,这为葛头生长期间科学施肥,产业化、规范化种植提供一定的理论依据。

### 3 讨论与结论

从表2可以看出葛头各无机元素平均含量按由高到低的顺序前6位的依次是K( $1.18 \times 10^4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ), Ca( $9.53 \times 10^2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ), Mg( $9.49 \times 10^2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ), Fe( $1.54 \times 10^2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ), Zn( $43.85 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ),

来自第1和第2个主因子,所以可以认为Mn, Cu, Zn, Fe, Ni, Se, Cr是葛头的特征无机元素。

表3 主成分因子总体描述

主成分	特征值	方差贡献率%	累计贡献率%
1	5.066	38.969	38.969
2	3.064	23.571	62.539
3	2.086	16.049	78.589
4	1.557	11.974	90.563

Mn( $30.38 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 即  $\text{K} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Mn}$ 。

在采集葛头的样品中,发现葛头鳞茎有赤、白之分。其中8号样品采自湖北荆州,其鳞茎表皮为赤色,《新修本草》云:“蕤有赤白二种:白者补而美,赤者主金疮及风,苦而无味。”赤葛头与白葛头在含量与药效方面的差异性,有待深入研究。同时聚类分析的结果进一步证实,赤、白葛头分别聚为一类。8号样品为赤葛头,其与白葛头样品距离较远,表明其在药材品质上与白葛头是有差异的,从而也在一定范围内佐证了《新修本草》等文献认为赤白葛头在性效上的不同。进一步说明2.5项下进行主成分分析时将其单独列出,只分析白葛头的统计学意义。但赤、白葛头是否属于不同的品(亚)种以及两者之间含量差异,有待进一步确认。

本研究建立了葛头无机元素定量分析方法,提供了葛头无机元素含量测定的准确数据,为中药材蕤白的深入研究提供了依据;并建立不同葛头样品无机元素指纹谱。主成分分析结果表明Mn, Cu, Zn, Fe, Ni, Se, Cr是葛头的特征无机元素。

熟土采集的样品无机元素的含量大于野地采集的样品。这为葛头大田栽培,实施GAP提供一定的参考。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:353.
- [2] 焦阳,尹海波,董双双.葛头的本草考证[J].辽宁中医药大学学报,2010,12(7):186.
- [3] 谢宗万,余友琴.全国中草药名鉴:上册[M].北京:人民卫生出版社,1996,5:996.

# HPLC 测定柴芍丸中芍药苷、栀子苷及丹皮酚的含量

孟宪波\*, 郑晖

(淄博市药品检验所, 淄博 255086)

[摘要] 目的:建立以高效液相色谱法同时测定柴芍丸中芍药苷、栀子苷及丹皮酚含量的方法。方法:色谱柱为 Inertsil ODS-SP(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水梯度洗脱, 检测波长 230 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果:芍药苷在 0.494 4 ~ 12.36 μg ( $r=1$ ) 线性关系良好, 平均回收率为 98.77%, RSD 2.1%; 栀子苷在 0.492 2 ~ 12.305 μg ( $r=0.9999$ ) 线性关系良好, 平均回收率 101.64%, RSD 1.9%; 丹皮酚在 0.260 2 ~ 6.505 μg, ( $r=0.9999$ ) 线性关系良好, 平均回收率 100.92%, RSD 1.7%。结论:方法简便、快速、重复性好, 可用于柴芍丸的质量控制。

[关键词] 柴芍丸; 芍药苷; 栀子苷; 丹皮酚; 含量测定; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)17-0072-03

## Determination of Paeoniflorin, Geniposide and Paeonol in Chaishao Pills by HPLC

MENG Xian-bo\*, ZHENG Hui

(Zibo Institute for Drug Control, Zibo 255086, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of paeoniflorin, geniposide and paeonol in Chaishao Pills. **Method:** Paeoniflorin, geniposide and paeonol were separated on Inertsil ODS-SP (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column and detected at 230 nm. The mobile phase was acetonitrile-water with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** Paeoniflorin, geniposide and paeonol were linear within the range of 0.494 4-12.36 μg ( $r=1$ ), 0.492 2-12.305 μg ( $r=0.9999$ ) and 0.260 2-6.505 μg, ( $r=0.9999$ ) respectively. The average recovery was 98.77% (2.1%), 101.64% (1.9%) and 100.92% (1.7%). **Conclusion:** The method is simple, reproducible, and it can be used for the quality control of Chaishao pills.

[Key words] Chaishao pills; paeoniflorin; geniposide; paeonol; determination; HPLC

柴芍丸为一中药复方制剂,由柴胡、白芍、香附、 栀子、牡丹皮、当归、茯苓等 11 味药组成,具有疏肝

[收稿日期] 20110317(006)

[通讯作者] \* 孟宪波, Tel:13506441422, E-mail:sevine@126.com

- [4] 周向荣,夏延斌,周跃斌,等. 藟头的主要功能性成分及其作用的研究进展[J]. 食品与机械, 2006, 22(3):73.
- [5] 周祖文. 影响中药微量元素的相关因素研究概况[J]. 微量元素与健康研究, 2002, 19(1):66.
- [6] 祁俊生,徐辉碧,周井炎,等. 稀土元素与中药药性关系研究[J]. 计算机与应用化学, 2000, 17(2):182.
- [7] 尹海波,张囡,罗宏,等. 不同产地牻牛儿苗无机元素的主成分分析和聚类分析[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(15):1935.
- [8] 李瑞芬,叶明德. 中草药中微量元素铁锰锌铜镉的形态分析[J]. 微量元素与健康研究, 2010, 27(2):19.
- [9] 严寒静,房志坚. 不同产地何首乌无机元素的含量测定和主成分分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4):416.

[责任编辑] 蔡仲德