

参考文献:

[1] 王晓宇,陈鸿平,银 玲,等.中国枸杞属植物资源概述[J].中药与临床,2011,2(5):1-3;50.

[2] 秦 岩,刘学年,王 弘,等.我国七大产区的枸杞子微量元素含量测定[J].中国卫生检验杂志,2013,23(4):950-951.

[3] Amagase H, Farnsworth N R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji) [J]. *Food Res Int*, 2011, 44(7): 1702-1717.

[4] 黄璐琦,陆建伟,郭兰萍,等.第四次全国中药资源普查方案设计与实施[J].中国中药杂志,2013,38(5):625-628.

[5] 卢有媛,郭 盛,张 芳,等.枸杞属药用植物资源系统利用与产业化开发[J].中国现代中药,2019,21(1):29-36.

[6] 钱 丹,纪瑞锋,郭 威,等.中国枸杞属种间亲缘关系和栽培枸杞起源研究进展[J].中国中药杂志,2017,42(17):3282-3285.

[7] 化希燕.甘肃省景泰县枸杞营销现状及对策研究[D].兰州:甘肃农业大学,2018.

[8] 武振利,王 健.青海省特色枸杞产业竞争力评价研究[J].青海师范大学学报(哲学社会科学版),2014,36(1):11-16.

[9] 史 良,邹海涛,郝月成,等.乌拉特前旗枸杞产业发展现状与思考[J].内蒙古林业调查设计,2015,38(3):137-138.

[10] 马惠兰,刘英杰,孙天罡.新疆枸杞产业发展现状及其对策建议[J].新疆社科论坛,2012(1):15-17;36.

[11] Zou S, Zhang X, Yao W B, *et al*. Structure characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 80(4): 1161-1167.

[12] Inbaraj B S, Lu H, Hung C F, *et al*. Determination of carotenoids and their esters in fruits of *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC- DAD- APCI-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 47(4-5): 812-818.

[13] 黄 莉.“一带一路”机遇下枸杞产业发展布局重点任务研究——以宁夏中宁县为例[J].青海民族研究,2016,27(3):94-97.

[14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:154.

[15] 李 慧,牟 蓉.我国中药相关政策法规的发展现状与解析[J].中医药管理杂志,2019,27(11):5-8.

4 个产地大叶茜草重金属测定及品质评价

何世新¹, 张 华¹, 牟腊梅¹, 熊学庆¹, 阳文武^{1*}, 周 浓²
(1. 重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404000; 2. 重庆三峡学院生物与食品工程学院, 重庆 404120)

摘要: **目的** 测定四川、重庆、贵州、云南产大叶茜草中重金属含量, 并进行品质评价。 **方法** 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定铅 (Pb)、镉 (Cd)、汞 (Hg)、砷 (As)、铜 (Cu) 含量, 2015 年版《中国药典》方法测定水分、总灰分、酸不溶性灰分含量, HPLC 法测定大叶茜草素含量。 **结果** Pb、Cd 的超标率分别为 12.5%、100%, Hg、As、Cu 均符合相关要求, 水分、总灰分、酸不溶性灰分、大叶茜草素含量范围分别为 11.83%~13.61%、6.42%~11.40%、0.62%~2.40%、0.211%~0.878%。 **结论** 4 个产地大叶茜草重金属含量差异较大, 水分、总灰分、酸不溶性灰分、大叶茜草素含量均符合相关规定。

关键词: 大叶茜草; 产地; 重金属; 品质评价; 微波消解-电感耦合等离子体质谱; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)11-3248-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.062

大叶茜草为茜草科茜草属植物大叶茜草 *Rubia schumanniana* Pritz. 的干燥根茎, 又名土茜草、川茜草、西南茜草, 1987 年版《四川省中药材标准》原名“茜草”, 为了与《中国药典》收录的茜草相区别, 故更名为“大叶

收稿日期: 2020-02-24

作者简介: 何世新 (1967—), 男, 副主任药师, 从事食品药品质量控制研究。Tel: (023) 58152381, E-mail: 412460564@qq.com

* 通信作者: 阳文武 (1986—), 男, 硕士, 主管中药师, 从事食品药品检测技术研究。Tel: (023) 58152381, E-mail: oyww2008@163.com

网络出版日期: 2021-08-16

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210815.1203.002.html>

茜草”^[1]，生长于海拔 1 300~3 000 m 处的山谷、山坡、路边林中或灌丛，主产于四川、云南、贵州、重庆等地，其性寒，味苦，归肝经，用于治疗吐血、衄血、崩漏出血、外伤出血、经闭瘀阻、关节痹痛、跌扑肿痛等疾病^[2]，主要成分为蒽醌及其苷类、萘醌及其苷类、环己肽类化合物^[3-4]，具有抗炎、抗肿瘤、解热、镇咳祛痰等药理作用，对心血管系统也有影响，药用价值很高^[5]。因此，本实验参照 2015 年版《中国药典》四部通则项下规定，对来自四川、重庆、贵州、云南的 8 批大叶茜草中水分、总灰分、酸不溶性灰分进行测定^[6]，HPLC 法测定大叶茜草素含量，微波消解-电感耦合等离子体质谱测定重金属〔铅（Pb）、镉（Cd）、汞（Hg）、砷（As）、铜（Cu）〕含量，以期为该药材质量控制和品质评价提供依据。

1 材料

ICAP-Q 型电感耦合等离子体质谱仪（美国 Thermo 公司）；LC-20A 型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；AB204S 型天平（万分之一，瑞士梅特勒-托利多公司）；MARS6 型微波消解仪（美国 CEM 公司）；KH-2000DB 型超声波清洗器（昆山禾创超声仪器有限公司）；ED53 型干燥箱（德国 Binder 公司）；SDLA-B-1101 型超纯水机（重庆圣德利医疗器械研究有限公司）；SX2-5-12 型电阻炉（重庆新特电炉设备厂）；HH-6 型电热恒温水浴锅（北京市永光明医疗仪器有限公司）。Pb、Cd、Hg、As、Cu 标准贮备液质量浓度均为 1 000 μg/mL（国家有色金属及电子材料分析测试中心，批号分别为 GSB04-1742-2004、GSB04-1721-2004、GSB04-1729-2004、GSB04-1714-2004、GSB04-1725-2004）。大叶茜草素对照品（中国食品药品检定研究院，批号 110884-200604）。优质级硝酸（台湾联仕电子化学材料股份有限公司）；盐酸（成都科龙化工试剂厂）；甲醇为色谱纯（德国 Merck 公司）；水为超纯水；载气为 99.99% 高纯氩气。重金属含量测定所用玻璃仪器、容器在使用前，均先用 20% 硝酸浸泡 24 h，再用超纯水洗净。大叶茜草采自四川、重庆、贵州、云南，经重庆市万州食品药品检验所张德伟副主任中药师鉴定为大叶茜草 *Rubia schumanniana* Pritz. 的干燥根茎，清洗后 35 ℃ 下烘干，粉碎过筛，备用。

2 方法与结果

2.1 重金属含量测定

2.1.1 分析条件 功率 1.55 kW；模拟电压-1.775 kV；进样泵转速 40 r/min；冷却气体积流量 14 L/min；雾化气体积流量 1.07 mL/min；采样深度 5 mm，连续采样 3 次；跳峰采集模式。

2.1.2 标准溶液制备 取 1 000 μg/mL Pb、Cd、As、Cu 单标溶液适量，10% 硝酸稀释成每 1 mL 含 Pb、As 1、5、10、20、40 ng，Cd 0.5、2.5、5、10、20 ng，Cu 50、100、200、400、500 ng 的溶液。另取 1 000 μg/mL Hg 单标溶液适量，10% 硝酸稀释成每 1 mL 含 Hg 0.2、0.5、1、1.5、2.0 ng 的溶液，随行试剂为空白，在“2.1.1”项条件下进

样测定。以重金属质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各重金属在各自范围内线性关系良好。

表 1 各重金属线性关系

重金属	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)
Pb	$Y=1.081\ 5\times10^5 X+1.716\ 0\times10^4$	0.999 5	1~40
Cd	$Y=8.422\ 5\times10^3 X+96.531$	0.999 7	0.5~20
As	$Y=1.937\ 2\times10^3 X+273.09$	0.999 5	1~40
Cu	$Y=2.406\ 9\times10^4 X+3.787\ 9\times10^3$	0.999 8	50~500
Hg	$Y=6.643\ 4\times10^3 X+145.01$	0.999 1	0.2~2

2.1.3 供试品溶液制备 取药材约 0.3 g，精密称定，置于聚四氟乙烯消解罐中，加 5 mL 硝酸混匀，盖上内盖，旋紧外套，在微波消解炉中消解，程序见表 2。消解完全后，用水转移至 50 mL 量瓶中，加入金标准溶液（1 μg/mL）200 μL，加水稀释至刻度，摇匀，即得。同法制备空白溶液。

表 2 微波消解程序

时间/min	状态	温度/℃
1~15	温度爬坡	室温~120
15~20	温度保持	120
20~27	温度爬坡	120~150
27~34	温度保持	150
34~41	温度爬坡	150~190
41~56	温度保持	190
56~90	冷却	190~室温

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 精密度、重复性试验 取 Pb、Cd、Hg、As、Cu 中间治疗浓度标准溶液，在“2.1.1”项条件下进样测定 6 次，测得各重金属峰面积 RSD 分别为 0.82%、0.93%、1.2%、0.91%、0.64%，表明仪器精密度良好。取药材（S3），按“2.1.3”项下方法处理，在“2.1.1”项条件下进样测定 6 次，测得各重金属含量 RSD 分别为 0.93%、0.82%、1.1%、0.83%、0.70%，表明该方法重复性良好。

2.1.4.2 加样回收率试验 精密称取药材（S3）6 份，每份 0.3 g，精密加入标准溶液，在“2.1.1”项条件下进样测定，测得各重金属加样回收率为 86.7%~97.9%，RSD 为 0.90%~3.1%。

2.1.5 样品含量测定 结果见表 3。根据《中医药-中药材重金属限量》ISO 国际标准^[7]，只有 1 批药材中 Cd 含量不符合要求，其余均合格；在 2015 年版《中国药典》限量值标准下^[8]，Pb、Cd 超标率分别为 12.5%、100%，而 Hg、As、Cu 均符合要求。

2.2 水分测定 参照 2015 年版《中国药典》四部^[6]进行测定，结果见表 4。

2.3 总灰分测定 参照 2015 年版《中国药典》四部^[6]进行测定，结果见表 4。

2.4 酸不溶性灰分测定 参照 2015 年版《中国药典》四部^[6]进行测定，结果见表 4。

表 3 各重金属含量测定结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

编号	来源/产地	铅/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	镉/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	汞/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	砷/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	铜/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
S1	攀枝花	4.93±0.26	0.62±0.03	0.022±0.002	0.40±0.02	6.1±0.3
S2	西昌	1.69±0.10	3.52±0.06	0.040±0.003	0.78±0.03	9.2±0.2
S3	重庆丰都	1.87±0.09	0.85±0.04	0.025±0.002	0.53±0.03	6.1±0.4
S4	西昌	1.40±0.10	0.39±0.02	0.007±0.001	0.63±0.03	6.6±0.3
S5	凉山州	2.71±0.15	1.18±0.06	0.028±0.002	0.47±0.02	10.4±0.4
S6	云南	4.77±0.28	1.47±0.07	0.074±0.003	0.50±0.03	7.5±0.4
S7	贵州	5.52±0.22	0.95±0.03	0.032±0.002	0.70±0.04	6.4±0.3
S8	西昌	3.52±0.12	0.85±0.04	0.024±0.002	0.42±0.02	6.7±0.4
平均值		3.30	1.20	0.03	0.60	7.40

表 4 水分、总灰分、酸不溶性灰分测定结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

编号	产地	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%
S1	攀枝花	13.05±0.13	11.40±0.10	2.40±0.02
S2	西昌	13.61±0.08	9.80±0.09	1.35±0.02
S3	重庆丰都	12.03±0.12	6.42±0.08	0.62±0.01
S4	西昌	12.22±0.09	10.92±0.12	0.95±0.01
S5	凉山州	12.41±0.08	9.90±0.08	0.96±0.01
S6	云南	13.32±0.08	9.93±0.07	0.82±0.01
S7	贵州	11.83±0.11	10.62±0.11	1.63±0.02
S8	西昌	12.30±0.12	11.05±0.10	1.75±0.03
平均值		12.60	10.01	1.31

2.5 大叶茜草素含量测定

2.5.1 色谱条件与系统适用性试验 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水 (80 : 20);

体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 ℃; 检测波长 250 nm; 进样量 10 μL。在上述色谱条件下, 大叶茜草素的保留时间为 28.702 min, 色谱峰分离度良好, 见图 1。

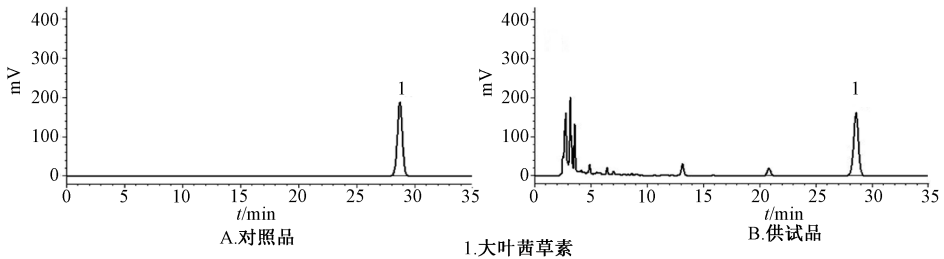


图 1 大叶茜草素色谱图

2.5.2 对照品溶液制备与线性关系考察 精密称取大叶茜草素对照品 0.012 07 g, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 得 0.483 mg/mL 对照品溶液, 精密量取 0.25、0.50、2.0、5.0、10.0 mL, 置于 20 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 即得 0.006、0.012、0.048、0.121、0.242、0.483 mg/mL 溶液。以大叶茜草素质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程为 $Y=4.744\ 8\times 10^7X+2.685\ 4\times 10^4$ ($r=0.999\ 9$), 在 0.006~0.483 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.5.3 供试品溶液制备 取药材 (S3) 粉末约 0.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 25 mL 甲醇, 称定质量, 浸泡过夜, 超声 (功率 250 W、频率 33 kHz) 处理 30 min, 放冷, 甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.5.4 方法学考察

2.5.4.1 精密度、重复性试验 精密吸取对照品溶液 3250

10 μL, 在“2.5.1”项色谱条件下进样测得 6 次, 测得大叶茜草素峰面积 RSD 为 0.46%, 表明仪器精密度良好。精密称取药材 (S3) 粉末 6 份, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5.1”项色谱条件下进样测定, 测得大叶茜草素含量 RSD 为 0.72%, 表明该方法重复性良好。

2.5.4.2 稳定性试验 取同一份供试品 (S3) 溶液, 于 0、4、8、12、16、20、24 h 在“2.5.1”项色谱条件下进样测定, 测得大叶茜草素峰面积 RSD 为 0.88%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.4.3 加样回收率试验 取大叶茜草素含量已知 (0.211%) 的药材粉末 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 精密加入标准溶液 2.0 mL, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5.1”项色谱条件进下样测定, 计算回收率。结果, 大叶茜草素平均加样回收率为 98.9%, RSD 为 0.93%。

2.5.5 样品含量测定 取不同产地药材粉末各约 0.5 g,

按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液，精密吸取 10 μL，在“2.5.1”项色谱条件下进样测定，外标法计算含量，结果见表 5。

表 5 大叶茜草素含量测定结果 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

编号	产地	大叶茜草素/%
S1	攀枝花	0.211±0.004
S2	西昌	0.317±0.005
S3	重庆丰都	0.869±0.010
S4	西昌	0.878±0.011
S5	凉山州	0.533±0.005
S6	云南	0.358±0.004
S7	贵州	0.440±0.005
S8	西昌	0.538±0.006
平均值		0.520

3 讨论

本实验发现，不同产地的药材重金属含量差异较大，与李若诗等^[9]报道一致；除 1 批药材中 Cd 含量不符合《中医药-中药材重金属限量》ISO 国际标准外^[7]，其余均符合规定；根据 2015 年版《中国药典》限量值标准^[8]，发现 Pb、Cd 超标，以后者更明显，是限量值的 11.7 倍，而 Hg、As、Cu 均符合相关要求，其原因可能与大叶茜草根对 Cd 元素的富集性相关^[10]，需作进一步研究。本实验采用的微波消解-电感耦合等离子体质谱法快速准确，检出限低，可用于大叶茜草中重金属含量测定，从而更好地保证该药材安全性、有效性、可控性。水分、总灰分、酸不溶性灰分是评价药材品质的重要指标，而大叶茜草素是大叶茜草主要活性成分，本实验发现 8 批药材上述指标均符合 2010 年版《四川省中药材标准》^[11]要求，其中四川西昌、凉山和重庆丰都所产药材中大叶茜草素含量较高，质量较好，可能与其在生长过程中受产地气候、环境、栽培方法等因素的影响有关。在含量测定时，本实验根据方乐敏、于瑞等^[12-13]的方法，优化了色谱条件，未将毒性较大的四氢呋喃作为流动相，可保证安全性。另外，8 批大叶茜草中几乎都未检出羟基茜草素，故未将其作为品质评价指标，但茜

草中该成分含量较高，故可考虑将其作为辨别茜草和大叶茜草的特征成分，从而为打击药材混用提供新的检测指标。

参考文献：

[1] 四川省卫生厅. 四川省中药材标准[S]. 成都：成都科技大学出版社，1987：181.

[2] 肖培根. 新编中药志（第一卷）[M]. 北京：化学工业出版社，2002：629.

[3] 张 琳，彭 亮，胡本祥. 茜草的化学成分研究进展[J]. 现代中医药杂志，2008，28(2)：52-54.

[4] 邝 彬，范君婷，赵思蒙，等. 大叶茜草中环肽类成分的研究[J]. 中国中药杂志，2012，37(17)：2563-2570.

[5] 李海峰，肖凌云，张 菊，等. 茜草化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中药材，2016，39(6)：1433-1436.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版四部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[7] ISO 18664，2015 Traditional Chinese Medicine - Determination of heavy metals in herbal medicines used in Traditional Chinese Medicine [S/OL]. <https://www.iso.org/standard/63150.html>.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[9] 李若诗，袁会琼，赵飞亚，等. 不同产地不同种类重楼药材重金属元素的含量测定及分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2019，25(15)：30-36.

[10] 周 浓，张 杰，郭冬琴，等. 三峡库区栽培重楼中重金属元素的含量与评价[J]. 环境化学，2015，34(9)：1758-1760.

[11] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药材标准[S]. 成都：四川科学技术出版社，2010：18.

[12] 方乐敏，杨 骏，刘 云，等. 复方茜草片质量标准的研究[J]. 中成药，2016，38(6)：1293-1297.

[13] 于 瑞，高明洁，崔彬彬，等. HPLC 法测定中药茜草中茜草素、羟基茜草素和大叶茜草素的含量[J]. 哈尔滨医科大学学报，2017，51(3)：195-199.