

不同产地三叶青中 27 种矿质元素的综合评价

吴 浩¹, 常 欣², 桑旭峰², 邱 彬³, 崔慧芳², 彭 昕^{1*}

(1. 浙江医药高等专科学校医药生物技术研究, 浙江 宁波 315100; 2. 宁波市药品检验所, 浙江 宁波 315400; 3. 福州大学, 食品安全与生物分析教育部重点实验室, 福建 福州 350116)

摘要: **目的** 综合评价不同产地三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 中 27 种矿质元素。**方法** 采用电感耦合等离子体质谱法进行含有量测定, 采用 SPSS 19.0、Matlab (R2015b) 软件, 主成分分析、聚类分析进行综合评价。**结果** 所测 27 种元素都有检出, 所有样品中均检出 13 种元素, 其中 K、Mg、Ca、Al、Fe、Mn 平均含有量较高, 所有样品中有害元素含有量均达到中国药典限量标准, Hg、Ag、Tl、U 等仅在极个别样品中有检出。不同产区样品间各元素含有量差异较大, 主成分分析得 3 个主成分, 其累计方差贡献率达 80.70%。第一主成分的方差贡献率为 36.33%, 其中 Ca、Cu、Ni、Ba、Al、K 有较高的载荷值, 为三叶青的特征元素。聚类分析显示不同产地三叶青中矿质元素呈现一定的选择性累积和地域差异。西部地区三叶青样品的矿质元素与东部地区的差异较大, 广西与其他产区样品差异最大, 单独聚为一类; 浙江、福建、江西等东南产区的样品差异较小, 聚为一大类。**结论** 该方法准确稳定, 重复性好, 为三叶青质量评价、药效物质基础研究与资源开发利用提供理论依据。

关键词: 三叶青; 矿质元素; 产地; 电感耦合等离子体质谱法; 主成分分析; 聚类分析

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)11-2475-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.023

Comprehensive evaluation of twenty-seven varieties of mineral elements in *Tetrastigma hemsleyanum* from different growing areas

WU Hao¹, CHANG Xin², SANG Xu-feng², QIU Bin³, CUI Hui-fang², PENG Xin^{1*}

(1. Institute of Medical Biotechnology of Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; 2. Ningbo Institute of Drug Control, Ningbo 315400, China; 3. Key Laboratory for Analytical Science of Food Safety and Biology, Ministry of Education, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China)

KEY WORDS: *Tetrastigma hemsleyanum*; mineral element; growing areas; ICP-MS; principal component analysis; cluster analysis

三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 是葡萄科崖爬藤属珍稀药用植物, 于 2018 年 2 月入选新“浙八味”中药材。主要分布于浙江、福建等省, 以地下块根入药, 是抗肿瘤常用药物, 也可用于治疗风湿性关节炎、肝炎及病毒性脑膜炎等多种疾病^[1]。因野生资源稀缺, 近年来浙江、福建、云南等地均开展三叶青人工栽培驯化, 不同种源的三叶青外观性状、药理活性、产量及价格差异悬殊。目前关于其黄酮、多糖等成分的研究有较多报道^[2-3], 而对

其中矿质元素含有量的报道较少。中药矿质元素是其药效成分研究中的一个重要补充, 与中药的药效、毒副作用等密切相关。研究表明, 黄芩药材中的矿质元素对自身次生代谢产物合成和积累有显著的影响, 10 种无机元素与黄芩苷等 4 种药效成分的含有量呈相关性^[4]。另一方面, 多种微量元素含有量与中药的药用价值具有直接相关性。而多种有害重金属, 如摄入过量则可能对人体造成损害或病变, 也是影响中药材品质的关键因素

收稿日期: 2018-03-01
基金项目: 浙江省公益技术项目 (2017C32075); 浙江省教育厅高校科研项目 (Y201330228); 宁波市科技创新团队项目 (2015C110027); 福州大学食品安全与生物分析教育部重点实验室开放课题 (FS2017007)
作者简介: 吴 浩 (1985—), 女, 硕士生, 实验师, 研究方向为药品检验和药物质量。E-mail: 51471924@qq.com
* 通信作者: 彭 昕 (1980—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为中药资源评价。E-mail: px4142@163.com

之一。目前,三叶青各矿质元素的组成及其含有量,不同种源之间是否存在差异,亟待进一步系统研究,阐明三叶青药材微量元素分布规律以及与代谢产物之间的关系,以期为药材质量控制奠定基础。

矿质元素的检测方法主要有原子吸收光谱法、极谱法、原子荧光光谱仪法 (AFS)、电感耦合等离子体-发射光谱法 (ICP-OES)、电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 等^[5],其中后 2 种方法较其他方法灵敏度高、稳定性好、简便快速,且能同时检测样品中多种无机元素。

本实验采用微波消解-ICP-MS 法测定不同产地三叶青中 Mg、Al、Ca、Li、Mn、Ni、Pb、Ag、As、Cu、Fe、Cd、Se 等 27 种矿质元素的含有量,并结合化学计量学方法,对三叶青中矿质元素进行综合评价,为其药效物质基础及其药材品质评价标准研究提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 ICP-MS 7900 (美国 Agilent 公司); MARS 微波消解仪 (美国 CEM 公司); CASCADA-BIO 超纯水机 (美国 PALL 公司); 聚四氟乙烯微波消解罐 (青岛海特尔环保科技有限公司); 多孔电热板 (美国 PyNN 公司)

1.2 试剂 汞单元素标准溶液 (批号 8-153HGY2A, 10 μg/mL)、混合内标溶液 (批号 22-205VYY2, 100 μg/mL) (美国 Agilent 公司); 金单元素标准溶液 (批号 16C013-1, 1 000 μg/mL, 国家有色金素及电子材料分析测试中心); 柑橘叶成分分析标准物质 (批号 GSB-11, 地球物理化学勘察研究所); 硝酸 (优级纯, 德国 Merk 公司); 水为自制超纯水。

1.3 样品收集 三叶青样品于 2016 至 2017 年采自 9 个省份的不同地理区域,每个采样点采集 3 ~ 10 份样品,采集地均未受到当地污染排放等影响,原植物经丽水市农业科学院吉庆勇高级农艺师鉴定为正品,保存于浙江医药高等专科学校医药生物技术研究,详细信,息见表 1。所得药材经超纯水洗净,40 ℃烘干至恒重粉碎后过 50 目筛,4 ℃贮存备用。

2 方法

2.1 供试品溶液制备 精密称取各样品粉 3 份,每份约 0.5 g,精密称定,置消解罐中,加硝酸 7 mL,混匀,盖好内盖和防爆膜,并按消解程序 (见表 2) 消解 1 h,冷却至 60 ℃以下,取出冷却

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

编号	数量	采集地	纬度	经度	采集时间
S1	4	贵州遵义	N27 °73′	E109 °21′	2016. 10
S2	3	贵州兴义	N24 °59′	E104 °50′	2016. 10
S3	5	江西玉山	N28 °41′	E118 °15′	2016. 10
S4	4	湖南益阳	N22 °60′	E112 °33′	2016. 10
S5	6	广西玉林	N22 °38′	E110 °08′	2016. 09
S6	3	湖北恩施	N30 °30′	E109 °47′	2016. 10
S7	6	云南呈贡	N24 °51′	E102 °50′	2016. 09
S8	3	重庆铜梁	N30 °16′	E105 °08′	2016. 10
S9	4	福建宁德	N26 °65′	E119 °52′	2016. 10
S10	5	浙江宁波	N29 °46′	E121 °31′	2017. 10
S11	9	浙江台州	N28°39′	E121°24′	2016. 10
S12	9	浙江淳安	N29°31′	E118°58′	2017. 10
S13	10	浙江丽水	N28 °26′	E119 °50′	2017. 09
S14	7	浙江杭州	N30°26′	E120°19′	2017. 09
S15	8	浙江绍兴	N30°01′	E120°58′	2017. 10
S16	4	浙江武义	N28°09′	E119°81′	2017. 10

2 h,将罐内的液体转移至量瓶中,用适量的超纯水冲洗消解罐和盖子 3 ~ 5 次,合并收集到 50 mL 塑料量瓶中,加入金单元素标准溶液 (1 μg/mL) 200 μL,定容摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得。

按相同方法做空白对照。同时采用国家一级标准物质柑橘叶成分分析标准物质按同样方法处理作为全程质控。标准物质中各元素测定值与标准值比较,均在参考值范围内,表明该消解及测定方法可靠,可用于待测样品的分析。

表 2 微波消解仪工作程序

Tab. 2 Microwave digestion program

步骤	功率/W	温度/℃	升温时间/min	保持时间/min
1	800	120	5	2
2	800	160	5	5
3	800	190	5	25

2.2 ICP-MS 仪器参数 采用调谐液对电感耦合等离子体质谱仪进行调谐,待信号响应度符合要求后测定,仪器工作参数见表 3。

表 3 ICP-MS 检测参数

Tab. 3 ICP-MS detection parameters

项目	参数
射频功率	1 550 W
冷却气 (氩气体积流量)	15.00 L/min
辅助气体积流量	1 L/min
雾化器体积流量	0.8 L/min
采样锥和截取锥	镍
采样深度	8.00 mm
碰撞模式	碰撞反应池

2.3 标准工作曲线及内标溶液制备

2.3.1 内标溶液制备 分别取质量浓度为 1.000 g/L 含 Li、Sc、Ge、In、Bi 的内标溶液，用 5% 硝酸稀释定容至质量浓度为 1 μg/mL，作为内标溶液。

2.3.2 混合标准溶液制备 用 5% 硝酸稀释，配制成以下元素不同质量浓度梯度的混合系列溶液，取汞 Hg 单素标准溶液配制 0、0.2、0.4、0.8、2 μg/L 5 个质量浓度；Li、V、Cr、Mn、Co、Cu、Zn、Ga、As、Rb、Cs、Pb 混标用水配制 0、4、80、200、400 μg/L 5 个质量浓度；Na、Mg、Al、K、Ca、Fe 混标用水配制 0、800、2 000、8 000、10 000、20 000 μg/L 6 个质量浓度；Be、Ni、Se、Ag、Cd、Ba、Tl、U 混标用水配制 0、4、8、24、80、200、400 μg/L 7 个质量浓度。

2.4 标准品线性关系、检出限 对混合标准溶液和样品分别进行测定，检测模式为脉冲和模拟自动切换。以对应标准品的质量浓度为横坐标（X），离子数为纵坐标（Y）进行回归，以空白样品重复测定 11 次，结果见表 4，表明各元素在各自范围内线性关系良好。

表 4 各元素线性关系与检出限 (n=3)
Tab. 4 Linear relationships of various elements and detection limits (n=3)

内标	元素	回归方程	r	检测限/ (×10 ⁻⁹)
Li	Li	Y=0.021 0X+0.248 5	0.996 1	0.003 1
	Na	Y=0.768 9X+29.939 9	0.993 2	2.493 3
	Mg	Y=0.323 3X+4.616 4	0.994 7	1.002 6
	Al	Y=0.079 3X+0.691 5	0.993 7	0.136 1
Sc	K	Y=0.002 3X+0.218 0	0.999 8	4.229 1
	Ca	Y=7.967 8×10 ⁻⁵ X+0.001 8	0.999 4	2.437 8
	V	Y=0.039 7X+0.162 6	0.999 9	0.002 9
	Cr	Y=0.053 4X+0.176 0	0.999 9	0.006 9
	Mn	Y=0.020 7X+0.095 1	0.999 4	0.048 6
	Fe	Y=0.041 2X+0.025 3	0.999 8	0.118 2
	Co	Y=0.099 0X+0.400 4	1.000 0	0.003 1
	Ni	Y=0.034 3X+0.002 7	0.999 9	0.009 7
Ge	Cu	Y=0.093 0X+0.377 6	1.000 0	0.017 5
	Zn	Y=0.012 6X+0.085 5	1.000 0	0.157 6
	Ga	Y=0.013 3X+0.025 2	1.000 0	0.009 8
	As	Y=0.008 3X+0.033 7	1.000 0	0.003 0
	Se	Y=3.619 3×10 ⁻⁴ X+9.480 8×10 ⁻⁵	1.000 0	0.400 5
	Rb	Y=0.020 1X+0.092 5	0.999 2	0.010 6
	Ag	Y=0.018 1X+4.373 8×10 ⁻⁵	1.000 0	0.003 6
	Cd	Y=0.006 3X+9.698 0×10 ⁻⁶	1.000 0	0.001 2
In	Cs	Y=0.007 9X+0.035 9	1.000 0	0.009 1
	Ba	Y=0.001 9X+1.664 4×10 ⁻⁴	1.000 0	0.021 1
	Hg	Y=0.003 1X+1.974 7×10 ⁻⁵	0.999 7	0.000 5
	Tl	Y=0.012 1X+1.025 9×10 ⁻⁵	1.000 0	0.000 8
	Pb	Y=0.016 6X+0.061 3	1.000 0	0.003 0
	U	Y=0.015 6X+5.131 4×10 ⁻⁶	1.000 0	0.000 2

2.5 方法学考察 为考察仪器的准确性及方法的可靠性，进行了精密度、重复性、加样回收率及稳

定性试验。取样品溶液重复进样 6 次，结果显示 27 种元素的 RSD 均小于 3%，表明该方法精密度良好。将处理好的样品放置 0、2、5、24 h 后进样，各元素的含有量变动范围在 3.1% ~ 6.4% 之间。各元素加样回收率变动范围在 89.8% ~ 104.4% 之间，均能达到检测要求。

2.6 统计学分析 采用 SPSS19.0 统计软件对实验数据进行聚类分析和相关性分析。采用 Matlab (R2015b) 软件进行主成分分析，所有的数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 形式表示，差异性显著 $P < 0.05$ 。

3 结果

3.1 矿质元素种类及含有量 三叶青中含有丰富的矿质元素，除了 Li、Be、V、Co、Ga、Se、As、Ag、Cd、Cs、Hg、Tl、Pb、U 仅在部分样品中有检出外，其余元素在所有样品中均有检出。结果见表 5。其中 K、Mg、Ca、Al、Na、Fe、Mn 平均含有量最高，Zn、Ba、Cr、Ni、Cu、Rb、Pb 平均含有量在 1 ~ 100 mg/kg 之间；Li、Be、V、Co、Ga、Se、As、Cd、Cs 的含有量均小于 1 mg/kg；Hg、Ag、Tl、U 含有量均小于 0.1 mg/kg。在含有量高于 100 mg/kg 的元素中，K 含有量在所测元素中最高，其中 8 号样品中 K 含有量最高达 15 800 mg/kg，10 号样品中 K 含有量最低为 5 146 mg/kg，极差值是平均值的 1.14 倍。含有量在 1 ~ 100 mg/kg 之间的元素中，Zn、Ba 含有量最高，其中 10 号样品中 Zn 含有量最高达 215.1 mg/kg，11 号样品中 Ba 含有量最高达 180.92 mg/kg。含有量在 1 mg/kg 以下的元素，在部分样品中未检出，Be、Ga、As、Ag、Cd、Cs、Hg、Tl、U 分别在 3、9、4、4、5、4、5、2、3 个样品中有检出。

《中国药典》附录中规定“除矿物、动物、海洋类以外的中药材中，Pb 不得超过 10 mg/kg；Cd 不得超过 1 mg/kg；As 不得超过 5 mg/kg；Hg 不得超过 1 mg/kg；Cu 不得超过 20 mg/kg”。所有样品均未超标。

Li、V、Co、Se 分别在 8、12、7、6 个样品中有检出。4、5、7、8、10、12、13、16 号样品中均检出 Li，其中 10 号样品中含有量最高 (6.98 mg/kg)。1 ~ 5、7、8、10、12 ~ 14、16 号样品中均检出 V，其中 12 号样品 V 含有量最高 (2.88 mg/kg)。5、7、10、12 ~ 16 号样品中检出 Co，其中 10 号样品中 Co 含有量最高 (0.86 mg/kg)。5、10、12 ~ 16 号样品中检出 Se，其中 10 号样品中 Se 含有量最高 (0.47 mg/kg)。

表 5 各元素含有量测定结果 (n=3, mg/kg)

Tab. 5 Results of content determination of various elements (n=3, mg/kg)

元素	范围	平均值	极差	元素	范围	平均值	极差
Li	0.00 ~ 6.98	0.58	6.98	Zn	10.6 ~ 215.1	45.18	204.50
Be	0.00 ~ 0.42	0.10	0.42	Ga	0.00 ~ 1.12	0.26	1.12
Na	55.3 ~ 1 425	295.8	1 369.70	As	0.00 ~ 1.90	0.14	1.90
Mg	708 ~ 13 576	3 226	12 868	Se	0.00 ~ 0.47	0.14	0.47
Al	48.5 ~ 3 538	654.7	3 489.50	Rb	2.83 ~ 33.72	14.03	30.89
K	5 146 ~ 15 800	9317	10 654	Ag	0.00 ~ 0.28	0.03	0.28
Ca	149 ~ 1 574	656	1425	Cd	0.00 ~ 1.80	0.28	1.80
V	0.00 ~ 2.88	0.54	2.88	Cs	0.00 ~ 0.32	0.10	0.32
Cr	0.28 ~ 29.43	4.06	29.15	Ba	5.44 ~ 180.93	54.30	175.49
Mn	7.40 ~ 170	59.93	162.60	Hg	0.00 ~ 0.42	0.03	0.42
Fe	53 ~ 1015	388.4	962	Tl	0.00 ~ 0.11	0.04	0.11
Co	0.00 ~ 0.86	0.48	0.86	Pb	0.00 ~ 3.63	1.01	3.63
Ni	0.15 ~ 5.15	2.88	5.00	U	0.00 ~ 0.21	0.04	0.21
Cu	1.45 ~ 18.43	6.98	16.98				

3.2 多元统计分析 将所有样品中均有检出的 13 种元素含有量测定值标准化后进行主成分分析 (见表 6, 见图 1~2)。表 6 显示, 三叶青中 13 种矿质元素间存在一定的相关性。Ca 与 Al、Ni、

Cu、Ba 元素间存在极显著相关性, Mg、Ca、Al 之间存在极显著相关性, Na 与 Rb、Mn 元素间存在显著相关性, 与其他元素均无明显相关性。

表 6 各元素含有量相关分析矩阵结果

Tab. 6 Correlation analysis matrix results of the various elements

Rb	Mn	Fe	Zn	Na	Mg	K	Ca	AL	Cr	Ni	Cu	Ba	
Rb	1.000												
Mn	0.717 **	1.000											
Fe	-0.074	-0.039	1.000										
Zn	-0.295	-0.088	-0.105	1.000									
Na	0.640 **	0.627 **	0.103	-0.269	1.000								
Mg	-0.173	-0.145	0.005	0.827 **	-0.168	1.000							
K	-0.159	-0.120	0.489 *	0.100	-0.329	0.407	1.000						
Ca	0.224	0.434 *	0.043	0.309	0.094	0.586 **	0.509 *	1.000					
Al	0.004	0.032	0.247	0.242	0.068	0.657 **	0.530 *	0.683 **	1.000				
Cr	0.494 *	0.448 *	0.379	-0.174	0.339	-0.148	-0.095	0.308	0.076	1.000			
Ni	0.085	0.325	0.457 *	-0.018	0.247	0.281	0.610 **	0.677 **	0.641 **	0.274	1.000		
Cu	0.357	0.496 *	0.238	0.059	0.131	0.263	0.336	0.780 **	0.498 *	0.648 **	0.668 **	1.000	
Ba	0.097	0.475 *	-0.062	0.245	0.104	0.337	0.264	0.640 **	0.489 *	0.139	0.634 **	0.709 **	1.000

注: * 表示在 0.05 水平上显著相关, ** 表示在 0.01 水平上显著相关

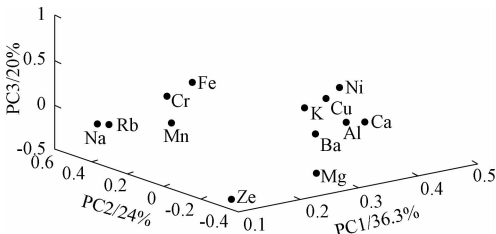


图 1 各元素载荷图

Fig. 1 Load scatter diagram of various elements

由表 7 可知特征值大于 1 的前 3 个主成分的累计贡献率达到 80.7%。第一主成分的特征值为 4.72, 可解释原始数据变量信息的 36.33%, 其中

Ca、Cu、Ni、Ba、Al、K 有较高的载荷值, 表明它们对第一主成分有较高的贡献率; 第二主成分的贡献率为 24.1%, 特征值为 3.13, 与第二主成分有较高的相关性的元素有 Rb、Na、Mn、Mg、Ze、Cr; 第三主成分的特征值是 2.59, 贡献率为 20.3%, 第三主成分与 Fe 有较高的相关性。

3.3 聚类分析 采用组间链接和平方 Euclidean 距离系统聚类方法 (见图 3), 对 16 地区三叶青样品进行聚类分析树状图结果。可知西部地区三叶青样品的矿质元素与东部地区的差异较大, 5 号广西样品与其他产区样品差异较大, 单独聚为一类, 云南与重庆的聚为一类, 贵州产区的聚为一类, 浙江、

表 7 各元素主成分分析结果
Tab. 7 PCA results of various elements

元素	成份		
	1	2	3
Ca	0.901	-0.116	0.188
Cu	0.874	0.184	
Ni	0.842		-0.321
Ba	0.754		0.282
Al	0.748	-0.352	
K	0.542	-0.490	-0.484
Rb	0.303	0.770	0.198
Na	0.242	0.718	0.114
Mn	0.504	0.690	0.301
Mg	0.516	-0.662	0.361
Zn	0.229	-0.607	0.536
Cr	0.442	0.573	-0.204
Fe	0.313		-0.800
特征值	4.72	3.13	2.59
贡献率/%	36.3	24.1	20.3
累计贡献率/%	36.3	60.4	80.7

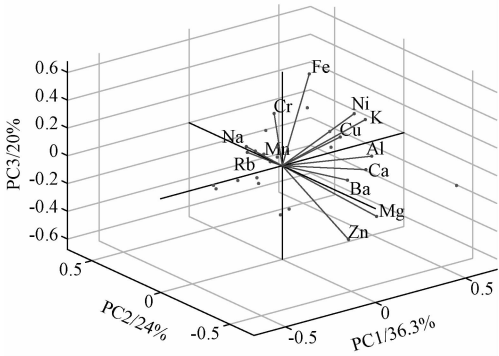


图 2 各元素主成分分析散点图
Fig. 2 Scatter diagram of principal component analysis of various elements

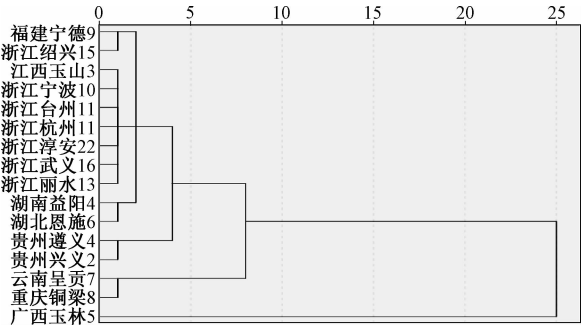


图 3 16 批样品聚类树状图
Fig. 3 Dendrogram of sixteen batches of samples

福建、江西等东南产区的样品差异较小，聚为一大类。

药材市场上三叶青主要来源于人工栽培，主产于浙江、福建、云南、贵州等地，受气候、土壤、品种等条件不同的影响，三叶青形态、产量、品质

差异较大。范世明等^[6]采用原子荧光光谱、吸收光谱法测定了来自广西、贵州等 6 省份的三叶青样品中 Pb、Cd、As、Ag 和 Cu 5 种有害元素的含量，而三叶青矿质元素的全面研究尚未见报道。多项研究表明^[7-8]，矿物质元素的种类、含量与中药性味、归经、药效等都存在一定的相关性，有研究者发现 Se^[9]、Zn^[10]、Li^[8]可以通过促进细胞因子的分泌，进而提高机体的免疫力。中药柴胡中富含的 Fe、Zn、Mn 元素与其解毒、治疗呼吸系统疾病及清除自由基等功效有较为密切的相关性^[11]。因此全面检测药用植物中矿物质的种类及含量，有利于其药效物质基础的研究和品质评价标准的制定。

同种元素在不同产地之间含量有明显差异，这可能与不同产区的土壤、地貌特征、气候等外界条件以及样品的品种有关。Pb、Cd、As、Hg、Cu 等药典规定的有害元素限量指标均符合规定。范世明等^[6]研究表明，所测 20 个批次样品中 As、Hg、Cu、Cd、Pb 均未超标，其中 As 含量最高为 0.25 mg/kg，大部分地区含量都小于 0.05 mg/kg，Hg 在所有样品中均未检出，Pb、Cd 含量在 0.45 ~ 4.99、0.012 ~ 0.284、0 ~ 5.04 mg/kg。本研究中 As 含量最高为 1.90 mg/kg，大部分地区未检出，Hg、Pb、Cd、Cu 含量在 0.00 ~ 0.42 mg/kg、0.00 ~ 3.63、0.00 ~ 1.80、1.45 ~ 18.43 mg/kg，检出浓度高于前述研究，可能是因为所用的检测方法的灵敏度高，且样品采样区域不同。研究表明所检样品中有害重金属含量均符合国家药典限量标准要求。本研究测定结果表明 Cd 和 Hg 分别有一个样品含量偏高，且 Al、Mn 含量偏高，Mn 使体内糖及脂肪代谢酶的辅助因子，然而过多的 Mn 会造成行动失调、易激动等症状，Al 不是人体的必需元素，摄入过多引起体内 Ca 含量变化，诱发骨软化症，也可能导致神经系统的一些疾病。为了满足市场对绿色药材的需求，在三叶青种植及药材质量控制中需要重点监控以上几种元素的含量。

研究^[12]表明，肝癌患者存在微量元素异常，血清 Cu、Zn、Fe、Mn、Mg 表现为含量异常，通过对多种抗肝癌中草药中微量元素的主成分分析及多元统计，微量元素对抗肝癌的贡献程度依次为 Zn、Mn、Cu、Fe、Mg^[13]。本研究中以上 5 种元素在所有样品中均有检出，且 Mg、Fe、Mn 为三叶青中含有量最高的元素，Zn、Cu 含量也显著高于

其他植物。因此，推测该 5 种元素可能与三叶青抗肝癌^[14]、抗肝损伤^[15]的药效活性相关。付金娥等^[16]采用 ICP-OES 法测定了广西产区三叶青样品中 12 种微量元素的含有量，结果亦显示 Mg、Fe、Mn、Zn 含有量最丰富。因此建议增加 Zn、Mn、Cu、Fe、Mg 含有量作为三叶青药材质量评价指标。

经主成分和载荷分析，三叶青中特征元素包括 Ca、Cu、Ni、Ba、Al、K、Rb、Na、Mn、Mg、Zn、Cr。且 Ca 与 Al、Ni、Cu、Ba 元素间存在极显著正相关性。聚类结果表明三叶青样品矿质元素差异主要体现在东西部地区之间，其中广西地区与其他地区样品矿质元素差异最大。可能是因为广西地区多为大叶青藤品种，而东部地区多为小叶或尖叶紫藤品种，因此本身遗传差异较大。此外西南地区（云贵川、湖南湖北）样品差异较小，而东部产区（浙江、江西、福建）因土壤、地貌特征、气候等条件相近，样品之间差异较小，聚为一大类。从东西部样品的各元素含有量来看，东部产区样品的矿物质种类和含有量普遍高于西部产区。如 Li、V、Co、Se 主要在东部产区样品中检出，西部产区样品中大多未检出或含有量非常低；Fe、Mn、Zn 等虽然所有样品都有检出，但东部产区的平均含有量显著高于西部产区；同时一些有害重金属 Al、Cd、Hg 等东部产区的含有量也高于西部产区。可能是受东西部地形、地貌及气候差异的影响，西部地区全年气温较稳定，植株生长速度快，不利于各种代谢物质的积累。而东部地区冬夏季气温差异较大，三叶青适生温度在 18~25℃ 之间，10℃ 以下即停止生长，抗寒和耐高温能力差，因此东部地区三叶青一年有 2 个生长停滞期，有利于代谢物质的积累。药理研究表明浙江产区三叶青提取物在解热^[17]、抑制肝癌细胞增殖^[18]活性等方面都占有明显优势，不同产区之间药效活性的差异有可能和矿质元素的差异存在一定的联系。但另一方面，东部地区三叶青药材有害元素超标的机率也高于西部地区，尤其是 Cd 和 Hg，存在一定的超标风险，需研究是由于种植土壤本身含有重金属，还是农药化肥等的污染造成，采取相应措施对药材重金属污染进行有效控制，以进一步规范化种植。

参考文献：

[1] 彭 昕, 吉庆勇, 梁雅清, 等. 珍稀药用植物三叶青种质资源研究现状[J]. 中国现代中药, 2016, 18(8):

1088-1092.
[2] Peng X, Zhang T T, Zhang J, *et al.* Effect of subculture times on genetic fidelity, endogenous hormone level and pharmaceutical potential of *Tetrastigma hemsleyanum* callus [J]. *Plant Cell Tiss*, 2015, 122(1): 67-77.
[3] 许 文, 傅志勤, 林 婧, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定三叶青中 10 种黄酮类成分[J]. 药学报, 2014, 49(12): 1711-1717.
[4] 赵曼茜. 无机元素对中药材品质的多重影响研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2010
[5] 张 赞, 张 慧, 姚 力, 等. 山楂丸中 Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种有害元素的残留量和形态分析[J]. 中草药, 2017, 48(15): 3077-3084.
[6] 范世明, 刘 巧, 徐惠龙, 等. 不同产地三叶青中重金属元素含量测定研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(8): 50-52.
[7] 李倩华, 孙淑军, 王 洋, 等. 金属元素在中医药研究中的现状[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(4): 901-906.
[8] 秦俊法. 中国的中药微量元素研究Ⅲ. 微量元素: 中药性数量化的物质基础[J]. 广东微量元素科学, 2011, 18(1): 1-10.
[9] 王庆晓, 王建军, 徐根兴. 富硒转白细胞介素 2 基因双歧杆菌对小鼠移植瘤 H22 的治疗作用[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(9): 788-791, 796.
[10] 荔 霞, 刘永明, 齐志明, 等. 锌对小鼠血清中细胞因子水平的调控作用研究[J]. 家畜生态学报, 2007, 28(6): 13-15.
[11] 钟 越, 董顺福, 雷钧涛, 等. 柴胡中微量元素和总黄酮测定与清除自由基构效关系分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(19): 8137-8138.
[12] 翦耀文, 熊文婧, 刘 也, 等. 血清微量元素水平与肝癌相关性的 Meta 分析[J]. 中南医学科学杂志, 2017, 45(1): 42-47.
[13] 周长会, 侯庆高, 田金灵, 等. 抗肝癌中草药中微量元素的主成分分析[J]. 广西师范学院学报 (自然科学版), 2013, 30(1): 49-52.
[14] Peng X, Zhang Y Y, Wang J, *et al.* Ethylacetate extract from *Tetrastigma hemsleyanum* induces apoptosis via the mitochondrial -caspase-dependent intrinsic pathway in HepG2 cells [J]. *Tumor Biology*, 2016, 37(1): 865-876.
[15] 杨雄志. 三叶青对小鼠免疫性肝损伤保护作用的研究[J]. 实用中西医结合临床, 2008, 8(2): 88-89.
[16] 付金娥, 韦树根, 谷筱玉, 等. 三叶青药材中微量元素的分析[J]. 光谱实验室, 2012, 29(6): 3395-3398.
[17] 杨雄志, 王翰华. 不同产地三叶青提取物解热作用及对大白鼠下丘脑 5-羟色胺、去甲肾上腺素、多巴胺含量的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(3): 393-395.
[18] 林 婧, 黄泽豪, 许 文, 等. 不同产地三叶青总黄酮含量及对肝癌细胞增殖的抑制率比较[J]. 福建中医药大学学报, 2014, 24(5): 40-41.