

云南重楼中不同形态重金属元素含量测定及其化学模式识别研究

颜翠萍¹，黎海灵²，刘桓玲³，朱星宇³，吴育⁴，符映均⁴，周浓^{2,3}，李伟东^{3*}

(1. 泰州市药品检验院, 江苏泰州 225300; 2. 重庆三峡学院, 重庆万州 404120; 3. 南京中医药大学, 江苏南京 210023; 4. 南通市中医院, 江苏南通 226001)

摘要: 目的 考察云南重楼中重金属元素不同形态的含量, 同时基于主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 对其进行化学模式识别。方法 采用经典 Tessier 连续提取法和电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 对 6 种重金属元素 (Cu、Cd、Cr、Pb、As、Hg) 的不同形态进行连续提取和含量测定, 并进行化学计量学分析, 考察不同生长方式下药材中重金属存在形态与分布的差异性。结果 6 种重金属元素中 Cu 超标情况最严重, 风险最高, 其次为 Pb 和 Cr, 野生品重金属超标情况比种植品更严重。PCA 无法将 27 批野生和栽培样品分开, 而 OPLS-DA 可将两者分开。结论 以单一元素含量为云南重楼重金属元素含量限定标准具有一定局限性, 结合其不同形态的含量测定可能更具实际意义。

关键词: 云南重楼; 重金属元素; 形态; 电感耦合等离子体质谱; 主成分分析; 正交偏最小二乘法判别分析

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)07-2440-11

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.07.053

重楼为百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 或七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的干燥根茎, 为国家二级濒危药用植物, 具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊的功效^[1], 有着抑菌、抗病毒、抗肿瘤、镇静镇痛等作用^[2-3]。近年来随着重楼临床应用的不断推广, 市场需求量逐年增加, 人工种植品大量替代野生品, 但由于自然环境和农药、化肥不合理使用等因素, 药材常存在重金属超标的现象^[4-5]。重金属经生物体吸收富集后会对肝、肾等解毒器官造成损害^[6], 还会影响次生代谢物的生物合成, 导致药用植物的质量发生变化^[7], 因此, 控制重金属含量对保证药材的安全性及有效性至关重要。目前, 对于药材中重金属的控制主要以总含量为指标, 但重金属在毒理学和生物学上的影响不仅与其总量有关, 更取决于其化学形态, 在毒性、生物利用度、生物累积效应、迁移率等方面均有差别, 因此, 分析重金属元素不同形态对控制药材的安全性具有重要意义^[8-10]。

本研究共采集 27 批云南、贵州、四川产地栽培和野生云南重楼, 且两者相对应, 生长年限接近, 再对药材中 6 种重金属元素 (Cu、Cd、Cr、Pb、As、Hg) 的可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化态、有机结合态和残渣态进行测定, 考察不同产地药材各重金属元素存在形态与分布的差异性, 为其人工栽培、质量控制及临床安全应用提供科学

依据。

1 材料

1.1 药材 27 批云南重楼经泰州市药品检验院主任中药师叶慧鉴定为百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 或七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的干燥根茎, 具体见表 1, 前处理方法参考课题组前期报道^[11]。

表 1 云南重楼信息

栽培品	产地	野生品	产地
Z1	贵州省毕节市	Y1	贵州省安顺市
Z2	贵州省安顺市	Y2	贵州省安顺市
Z3	贵州省黔西南州	Y3	贵州省贵阳市
Z4	贵州省黔西南州	Y4	贵州省黔西南州
Z5	四川省凉山州	Y5	贵州省黔西南州
Z6	云南省昆明市	Y6	四川省凉山州
Z7	云南省玉溪市	Y7	云南省楚雄市
Z8	云南省保山市	Y8	云南省保山市
Z9	云南省保山市	Y9	云南省保山市
Z10	云南省保山市	Y10	云南省大理州
Z11	云南省德宏州	Y11	云南省丽江市
Z12	云南省保山市		
Z13	云南省大理州		
Z14	云南省大理州		
Z15	云南省丽江市		
Z16	云南省大理州		

收稿日期: 2023-11-02

基金项目: 重庆市自然科学基金项目 (cstc2018jcyjAX0267); 南通市卫生健康委员会科研立项课题 (QA2021020); 泰州市科技支撑计划社会发展项目 (SSF20220158)

作者简介: 颜翠萍 (1988—), 女, 硕士, 主管中药师, 从事中药检测研究。Tel: 15996017500, E-mail: yan7000@126.com

* 通信作者: 李伟东 (1969—), 男, 博士, 研究员, 从事中药炮制及其品质评价研究。Tel: 13901584680, E-mail: liweidong0801@163.com

1.2 试剂 重金属元素对照品溶液 (1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) [铜 (Cu, 批号 GSB04-1725-2004)、镉 (Cd, 批号 GSB04-1721-2004)、铬 (Cr, 批号 GSB04-1723-2004)、铅 (Pb, 批号 GSB04-1742-2004)、砷 (As, 批号 GSB04-1714-2004)、汞 (Hg, 批号 GSB04-1729-2004)]、内标元素对照品溶液 (1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) [锗 (Ge, 批号 GSB04-1728-2004)、铑 (Rh, 批号 GSB04-1746-2004)、铋 (Bi, 批号 GSB04-1719-2004)] 均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心。其余试剂均为优级纯；水为去离子水。

1.3 仪器 EXPEC 7000 电感耦合等离子体质谱仪 [聚光科技 (杭州) 股份有限公司]；MARS6 高压微波消解仪 (美国 CEM 公司)；SQP Sartorius 电子天平 (万分之一, 德国 Sartorius 公司)。

2 方法

2.1 元素形态提取 采用 Tessier 连续提取法对药材中 6 种重金属元素不同形态进行提取^[12-13]，平行 3 份，同法制备空白样品。

2.1.1 可交换态 取药材粉末 1 g, 加入 8 mL 1 mol/L MgCl_2 溶液 ($\text{pH}=7.0$), 振荡 1 h (25 °C, 200 r/min), 每 30 min 涡旋 1 次, 5 000 r/min 离心 20 min, 上清液转移至 50 mL 量瓶中, 去离子水洗涤残渣 3 次, 合并上清液, 定容至刻度。残渣 I 供第 2 步提取使用。

2.1.2 碳酸盐结合态 向残渣 I 中加入 8 mL 1 mol/L CH_3COONa 溶液 (CH_3COOH 调节 pH 至 5.0), 振荡 6 h (25 °C, 200 r/min), 每 30 min 涡旋 1 次, 5 000 r/min 离心 20 min, 上清液转移至 50 mL 量瓶, 去离子水洗涤残渣 3 次, 合并上清液, 定容至刻度。残渣 II 供第 3 步提取使用。

2.1.3 铁锰氧化态 向残渣 II 中加入 20 mL 0.04 mol/L $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 溶液 (25% CH_3COOH 溶解), 在 (96±3) °C 下间歇振荡 6 h, 每 30 min 涡旋 1 次, 5 000 r/min 离心 20 min, 上清液转移至 50 mL 量瓶中, 去离子水洗涤残渣 3 次, 合并上清液, 定容至刻度。残渣 III 供第 4 步提取使用。

2.1.4 有机结合态 向残渣 III 中加入 3 mL 0.02 mol/L

HNO_3 和 5 mL 30% H_2O_2 (HNO_3 调节 $\text{pH}=2$), (85±2) °C 间歇振荡 2 h, 再加入 3 mL 30% H_2O_2 (HNO_3 调节 $\text{pH}=2$), (85±2) °C 振荡 3 h, 每 30 min 涡旋 1 次, 冷却至室温后, 加入 5 mL 3.2 mol/L $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 溶液, 去离子水稀释至 20 mL, 涡旋混匀, 5 000 r/min 离心 20 min, 上清液转移至 50 mL 量瓶中, 去离子水洗涤残渣 3 次, 合并上清液, 定容至刻度。残渣 IV 供第 5 步提取使用。

2.1.5 残渣态 将残渣 IV 转移到聚四氟乙烯消解罐中, 加入一定量浓硝酸, 密封后置于微波消解仪中消解, 经 12 min 由室温升至 150 °C, 持续 10 min, 以 8 °C/min 升至 190 °C, 持续 20 min。消解结束后, 将消解液转移至 25 mL 量瓶中, 去离子水定容至刻度^[14]。

2.2 元素测定 ICP-MS 参数为功率 1.4 kW; 雾化气体积流量 1.224 L/min; 辅助气体积流量 1.0 L/min; 冷却气体积流量 14.0 L/min; 雾化室温度 2.0 °C; 蠕动泵速度 30 r/min; 采样深度 3.91 mm; 扫描次数 10 次; 分析时间 26 s。以 Ge、Rh、Bi 为内标元素。

2.3 药材限量标准 药材限量标准参照 2020 年版《中国药典》^[13] 和《食品安全国家标准食品中污染物限量》(GB2762-2022)^[15], 即药材及饮片 (植物类) 中铅 (Pb) ≤5 mg/kg, 镉 (Cd) ≤1 mg/kg, 砷 (As) ≤2 mg/kg, 汞 (Hg) ≤0.2 mg/kg, 铜 (Cu) ≤20 mg/kg, 铬 (Cr) ≤2 mg/kg。

2.4 数据处理 采用 SPSS 22.0 软件进行处理, 结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 *t* 检验进行组间比较。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 方法学考察 以重金属元素含量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 可知在各自范围内线性关系良好。精密度试验 $\text{RSD} \leq 2.43\%$, 表明仪器精密度良好; 重复性试验 $\text{RSD} \leq 2.4\%$, 表明方法重复性良好; 24 h 稳定性试验 $\text{RSD} \leq 2.39\%$, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。加样回收率试验平均加样回收率在 85.16~101.32% 之间, $\text{RSD} \leq 2.39\%$, 均符合痕量检测要求。见表 2。

表 2 6 种重金属元素方法学考察结果

元素	回归方程	线性范围/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)		检测限/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	定量限/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	精密度 RSD/%	重复性 RSD/%	稳定性 RSD/%	加样回收率	
		r							平均值/%	RSD/%
Cu	$Y = 16\ 004.36X + 595.20$	0.01~200	0.999 6	0.002 8	0.009 3	1.68	1.31	2.15	85.16	2.12
Cd	$Y = 4\ 999.21X + 10.052$	0.02~20	0.999 2	0.005 3	0.017 7	1.92	2.40	2.28	94.84	2.25
Cr	$Y = 14\ 095.71X + 2\ 577.91$	0.02~20	0.999 3	0.003 4	0.011 3	2.11	1.58	1.60	85.83	1.93
Pb	$Y = 140\ 632.05X + 4\ 058.79$	0.02~20	0.999 5	0.001 9	0.006 3	1.71	1.84	2.39	96.57	2.39
As	$Y = 860.03X + 61.78$	0.02~20	0.999 3	0.005 8	0.019 3	1.76	2.16	1.66	99.06	1.61
Hg	$Y = 8\ 617.69X + 60.00$	0.01~2	0.999 0	0.002 6	0.008 7	2.43	2.38	1.81	101.32	2.42

3.2 Cu 不同形态 27 批栽培和野生药材中 Cu 不同形态含量存在显著性差异 ($P < 0.05$), 见表 3。除 Z13 样品仅有可交换态被检出外, Z6、Z10、Z12、Z13、Z14、Y2 和 Y7 产地样品未检测到残渣态外, 其余产地样品均检测到 5 个形态; Cu 不同形态平均含量依次为可交换态>有机结合态>铁锰氧化态>碳酸盐结合态>残渣态, 其范围为 0.006~

110.901 mg/kg。从总体上看, 栽培品中可交换态和碳酸盐结合态平均含量稍高于野生品, 而其他 3 个形态和总含量平均值则相反; 栽培品和野生品碳酸盐结合态和铁锰氧化态的变异系数均远高于可交换态和有机结合态, 表明不同产地药材 Cu 的碳酸盐结合态和铁锰氧化态含量相较于可交换态和有机结合态含量差异更大。

表3 云南重楼中 Cu 不同形态的含量和分布 (mg/kg, $\bar{x}\pm s$, n=3)

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z1	44.078±0.333 ^{def} (63.22%)	1.704±0.055 ^e (2.44%)	2.668±0.089 ^{jk} (3.823%)	21.266±1.161 ^{def} (30.50%)	0.006±0.005 ⁱ (0.01%)	69.722
Z2	37.601±0.155 ^{fg} (71.26%)	0.987±0.025 ^f (1.87%)	2.514±0.098 ^{jk} (4.76%)	11.388±0.589 ⁱ (21.58%)	0.277±0.013 ^{cd} (0.52%)	52.766
Z3	50.871±1.269 ^{de} (43.66%)	17.193±0.463 ^a (14.76%)	27.083±0.319 ^b (23.24%)	20.752±0.646 ^{efg} (17.81%)	0.617±0.024 ^a (0.53%)	116.517
Z4	33.212±0.108 ^{ghi} (57.37%)	1.887±0.068 ^{de} (3.26%)	3.767±0.113 ^{hij} (6.51%)	18.921±0.889 ^{fg} (32.69%)	0.102±0.013 ^{fg} (0.18%)	57.889
Z5	110.901±0.225 ^a (76.80%)	2.066±0.084 ^{cd} (1.43%)	5.221±0.168 ^{ghi} (3.62%)	26.004±1.755 ^c (18.01%)	0.220±0.018 ^e (0.15%)	144.412
Z6	16.704±0.033 ^{lmn} (77.64%)	0.466±0.014 ^l (2.17%)	1.784±0.079 ^{kl} (8.29%)	2.563±0.133 ^l (11.91%)	—	21.516
Z7	53.178±0.597 ^{ed} (56.33%)	2.147±0.053 ^e (2.27%)	14.994±0.383 ^e (15.88%)	24.03±1.192 ^{ed} (25.46%)	0.047±0.007 ^{hi} (0.05%)	94.397
Z8	91.753±0.075 ^b (59.72%)	1.800±0.064 ^e (1.17%)	23.564±0.670 ^c (15.34%)	36.411±2.134 ^b (23.70%)	0.106±0.011 ^{fg} (0.069%)	153.634
Z9	41.799±0.235 (71.39%)	0.673±0.012 ^{ghijk} (1.15%)	7.780±0.046 ^f (13.29%)	8.067±0.175 ^{jk} (13.78%)	0.228±0.010 ^{de} (0.39%)	58.547
Z10	6.732±0.043 ^o (79.33%)	0.091±0.003 ^m (1.07%)	0.809±0.031 ^l (9.53%)	0.854±0.051 ^l (10.064%)	—	8.486
Z11	11.599±0.051 ^{mno} (54.90%)	0.188±0.002 ^m (0.89%)	2.189±0.083 ^{jk} (10.36%)	7.124±0.193 ^k (33.72%)	0.026±0.008 ^{hi} (0.12%)	21.126
Z12	10.271±0.034 ^{no} (75.99%)	0.153±0.002 ^m (1.13%)	1.885±0.080 ^{kl} (13.95%)	1.209±0.125 ^l (8.94%)	—	13.517
Z13	26.842±23.396 ^{ijk} (100%)	—	—	—	—	26.842
Z14	40.555±0.104 ^{fg} (61.24%)	0.950±0.009 ^f (1.44%)	6.720±0.226 ^{fg} (10.15%)	17.998±0.965 ^{gh} (27.18%)	—	66.223
Z15	33.868±0.123 ^{ghi} (56.33%)	0.745±0.009 ^{ghi} (1.24%)	6.667±3.241 ^{fg} (11.09%)	18.825±0.616 ^{fg} (31.31%)	0.023±0.009 ⁱ (0.038%)	60.129
Z16	26.28±0.126 ^{ijk} (64.82%)	0.447±0.003 ^l (1.10%)	3.183±0.112 ^{jk} (7.85%)	10.604±0.697 ^{ij} (26.15%)	0.032±0.009 ^{hi} (0.079%)	40.546
平均值	39.765 (63.23%)	2.1 (3.34%)	7.389 (11.75%)	15.068 (23.96%)	0.153 (0.24%)	62.892
变异系数/%	68.31	194.97	106.11	65.47	112.39	68.40
Y1	30.57±0.119 ^{hij} (50.58%)	0.602±0.010 ^{ijkl} (1.00%)	6.846±0.255 ^{fg} (11.33%)	22.399±1.423 ^{de} (37.06%)	0.023±0.016 ⁱ (0.038%)	60.440
Y2	10.251±0.003 ^{no} (47.41%)	0.200±0.004 ^m (0.93%)	2.847±0.100 ^{jk} (13.17%)	8.322±4.215 ^{jk} (38.49%)	—	21.620
Y3	91.722±0.442 ^b (43.55%)	3.997±0.111 ^b (1.90%)	55.871±1.494 ^a (26.53%)	58.88±3.043 ^a (27.96%)	0.140±0.021 ^f (0.066%)	210.610
Y4	28.610±0.28 ^{hijk} (58.38%)	0.674±0.015 ^{ghijk} (1.38%)	2.785±0.101 ^{jk} (5.68%)	16.601±1.001 ^h (33.88%)	0.337±0.029 ^b (0.67%)	49.007
Y5	29.310±0.124 ^{hijk} (41.56%)	0.844±0.004 ^{fg} (1.20%)	18.57±0.613 ^d (26.33%)	21.703±1.384 ^{def} (30.77%)	0.100±0.011 ^{fg} (0.14%)	70.526
Y6	20.700±0.179 ^{khm} (61.74%)	0.500±0.017 ^{jk} (1.49%)	3.426±0.094 ^{ijk} (10.22%)	8.801±0.434 ^{ijk} (26.25%)	0.103±0.020 ^{fg} (0.31%)	33.529
Y7	23.139±0.173 ^{jk} (48.84%)	0.643±0.014 ^{hijk} (1.36%)	5.421±0.165 ^{gh} (11.44%)	18.179±1.456 ^{gh} (38.37%)	—	47.381
Y8	40.021±0.306 ^{fg} (57.25%)	0.578±0.016 ^{ijkl} (0.83%)	5.551±0.202 ^{gh} (7.94%)	23.376±1.087 ^{cde} (33.44%)	0.381±0.040 ^b (0.55%)	69.906
Y9	20.925±0.044 ^{khm} (47.27%)	0.481±0.01 ^{kl} (1.09%)	3.358±0.085 ^{jk} (7.59%)	19.216±1.503 ^{fgh} (43.41%)	0.286±0.021 ^c (0.65%)	44.267
Y10	61.760±0.418 ^c (64.92%)	0.871±0.011 ^{fg} (0.92%)	8.348±2.445 ^f (8.78%)	23.508±0.590 ^{cde} (24.71%)	0.653±0.065 ^a (0.69%)	95.139
Y11	29.800±0.082 ^{hijk} (45.77%)	0.690±0.019 ^{ghij} (1.06%)	15.610±0.477 ^e (23.97%)	18.942±0.938 ^{fgh} (29.09%)	0.072±0.013 ^{gh} (0.11%)	65.113
平均值	35.164 (50.40%)	0.916 (1.31%)	11.694 (16.76%)	21.811 (31.26%)	0.233 (0.33%)	69.776
变异系数/%	62.03	107.98	126.88	58.42	81.67	69.41

注: 同列不同小写字母表示具有显著性差异 ($P<0.05$)。

根据限定标准, Cu 仅有 5 个产地药材 (Z6、Z10、Z11、Z12、Y2) 可交换态未超过规定, 3 个产地药材 (Z3、Z8、Y3) 铁锰氧化态及 10 个产地药材 (Z1、Z3、Z5、Z7、Z8、Y1、Y3、Y5、Y8、Y10) 有机结合态超过规定, 而碳酸盐结合态和有机结合态均未超过规定。同时, 仅有 2 个产地药材 (Z10、Z12) 5 个形态总和未超过规定, 其他产地药材远远超标, Y3 尤为明显, 为标准限量的 10.5 倍。

3.3 Cd 不同形态 由表 4 可知, 27 批药材均未检测到 Cd 的碳酸盐结合态、铁锰氧化态, 且少数产地药材有机结合

态和残渣态也未被检出; 不同产地药材中 Cd 可交换态、有机结合态和残渣态含量存在显著性差异 ($P < 0.05$); 被检测到的 3 个形态平均含量依次为可交换态>有机结合态>残渣态, 其范围为 0.001~0.422 mg/kg; 野生品可交换态、有机结合态、残渣态及平均总含量略高于栽培品; 野生品 Cd 3 个形态及其总和的变异系数远高于栽培品, 表明不同产地野生药材之间其不同形态含量差异性高于栽培品。根据中药材重金属含量限量标准, 27 批药材中 Cd 可交换态、有机结合态、残渣态及其总和均未超过规定。

表 4 云南重楼中 Cd 不同形态的含量和分布 (mg/kg, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z1	0.094±0.001 ^f (88.68%)	—	—	0.012±0.003 ^{adef} (11.32%)	—	0.106
Z2	0.117±0.001 ^{cd} (92.12%)	—	—	0.007±0.002 ^{def} (5.51%)	0.003±0.001 ^{cdefg} (2.36%)	0.127
Z3	0.111±0.001 ^{de} (98.23%)	—	—	—	0.002±0.001 ^f (1.77%)	0.113
Z4	0.048±0.001 ⁱ (85.71%)	—	—	0.005±0.001 ^{ef} (8.93%)	0.003±0.001 ^{defg} (5.36%)	0.056
Z5	0.048±0.001 ⁱ (72.73%)	—	—	0.008±0.003 ^{def} (12.12%)	0.009±0.001 ^b (13.63%)	0.066
Z6	0.107±0.002 ^e (100%)	—	—	—	—	0.107
Z7	0.046±0.002 ⁱ (73.02%)	—	—	0.014±0.002 ^{cde} (22.22%)	0.003±0.001 ^{defg} (4.76%)	0.063
Z8	0.087±0.001 ^{jk} (170.59%)	—	—	0.015±0.001 ^{cde} (29.41%)	0.001±0.001 ^g (1.96%)	0.051
Z9	0.025±0.001 ^{lm} (37.88%)	—	—	0.038±0.003 ^b (57.58%)	0.003±0.001 ^{defg} (4.55%)	0.066
Z10	0.011±0.001 ^o (100%)	—	—	—	—	0.011
Z11	0.004±0.001 ^p (57.14%)	—	—	0.003±0.001 ^f (42.86%)	—	0.007
Z12	0.020±0.014 ^{mn} (100%)	—	—	—	—	0.020
Z13	0.019±0.001 ^{mn} (100%)	—	—	—	—	0.019
Z14	0.022±0.001 ^{lm} (62.86%)	—	—	0.013±0.009 ^{cdef} (37.14%)	—	0.035
Z15	0.028±0.001 ^{kl} (57.14%)	—	—	0.021±0.003 ^c (42.86%)	—	0.049
Z16	0.092±0.003 ^f (64.34%)	—	—	0.046±0.014 ^b (32.17%)	0.005±0.003 ^{cd} (3.50%)	0.143
平均值	0.052 (80.00%)	—	—	0.017 (26.15%)	0.004 (6.15%)	0.065
变异系数/%	72.99	—	—	78.54	62.31	63.86
Y1	0.078±0.002 ^g (93.98%)	—	—	0.005±0.003 ^{def} (6.02%)	—	0.083
Y2	0.056±0.001 ^h (100%)	—	—	—	—	0.056
Y3	0.422±0.004 ^a (75.76%)	—	—	0.118±0.011 ^a (21.16%)	0.016±0.001 ^a (2.87%)	0.557
Y4	0.122±0.001 ^c (96.063%)	—	—	—	0.006±0.002 ^c (4.72%)	0.127

续表4

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Y5	0.036±0.002 ^j (85.714%)	—	—	—	0.006±0.001 ^c (14.29%)	0.042
Y6	0.048±0.001 ⁱ (75%)	—	—	0.015±0.002 ^{cde} (23.44%)	—	0.064
Y7	0.156±0.001 ^b (90.698%)	—	—	0.016±0.002 ^{cd} (9.30%)	—	0.172
Y8	0.011±0.001 ^o (45.833%)	—	—	0.013±0.002 ^{cdef} (54.17%)	—	0.024
Y9	0.016±0.001 ^{no} (76.19%)	—	—	0.003±0.002 ^f (14.29%)	0.002±0.001 ^{efg} (9.52%)	0.021
Y10	0.020±0.001 ^{mn} (50%)	—	—	0.016±0.002 ^{cd} (40%)	0.004±0.001 ^{cdef} (10%)	0.040
Y11	0.029±0.001 ^{kl} (52.727%)	—	—	0.021±0.004 ^c (38.18%)	0.005±0.001 ^{cde} (9.09%)	0.055
平均值	0.09 (79.646%)	—	—	0.026 (23.01%)	0.007 (6.20%)	0.113
变异系数/%	125.93	—	—	135.96	71.02	130.40

注:同列不同小写字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

3.4 Cr 不同形态 由表5可知,各产地药材中Cr可交换态均未被检出,碳酸盐结合态仅Z1、Z2、Z3产地药材被检出,其他3种形态中除Y4产地药材的有机结合态和Y5、Y7产地药材的残渣态外均被检出; Cd不同形态平均含量依次为残渣态>铁锰氧化态>有机结合态>碳酸盐结合态,其范围为0.004~2.491 mg/kg; 野生品中铁锰氧化态、残渣态含量远高于栽培品,而有机结合态含量低于栽培品; 仅采集于贵州

省的栽培品检测出了Cr碳酸盐结合态; 栽培品和野生品各形态变异系数相差较小,表明两者Cr不同形态含量差异较小。根据中药材重金属含量限量标准,仅Y4、Y10产地药材残渣态、Y5产地药材铁锰氧化态,以及Z3、Y4、Y5、Y6、Y8、Y9、Y10、Y11产地药材Cr5个形态总和超过规定。然而,残渣态不易被人体吸收,除残渣态外其他形态总和均未超过规定(除Y5外)。

表5 云南重楼中Cr不同形态的含量和分布 (mg/kg, $\bar{x}\pm s$, n=3)

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z1	— (1.85%)	0.029±0.001 ^a (1.85%)	0.041±0.007 ^h (2.62%)	0.679±0.161 (43.33%)	0.817±0.318 (52.14%)	1.567
Z2	— (1.17%)	0.013±0.001 ^b (1.17%)	0.149±0.018 ^{gh} (13.41%)	0.421±0.118 (37.90%)	0.527±0.216 (47.44%)	1.111
Z3	— (0.18%)	0.004±0.001 ^c (0.18%)	0.245±0.004 ^{fg} (11.02%)	0.743±0.098 (33.41%)	1.232±0.246 (55.40%)	2.224
Z4	— (0.23%)	0.004±0.002 ^c (0.23%)	0.309±0.029 ^{efgh} (18.02%)	0.524±0.108 (30.55%)	0.878±0.295 (51.20%)	1.715
Z5	— (18.45%)	— (18.45%)	0.319±0.015 ^{efgh} (18.45%)	0.747±0.144 (43.20%)	0.663±0.255 (38.35%)	1.729
Z6	— (21.46%)	— (21.46%)	0.353±0.017 ^{efgh} (21.46%)	0.627±0.078 (38.12%)	0.665±0.277 (40.43%)	1.645
Z7	— (21.12%)	— (21.12%)	0.38±0.021 ^{efgh} (21.12%)	0.561±0.116 (31.18%)	0.858±0.259 (47.69%)	1.799
Z8	— (21.37%)	— (21.37%)	0.423±0.027 ^{efgh} (21.37%)	0.463±0.136 (23.40%)	1.094±0.308 (55.28%)	1.979
Z9	— (43.64%)	— (43.64%)	0.741±0.006 ^{defgh} (43.64%)	0.503±0.090 (29.62%)	0.454±0.201 (26.74%)	1.698
Z10	— (32.72%)	— (32.72%)	0.498±0.028 ^{defgh} (32.72%)	0.409±0.077 (26.87%)	0.614±0.228 (40.34%)	1.522
Z11	— (49.45%)	— (49.45%)	0.808±0.038 ^{cdefg} (49.45%)	0.566±0.194 (34.64%)	0.261±0.165 (15.97%)	1.634
Z12	— (46.54%)	— (46.54%)	0.754±0.049 ^{cdefg} (46.54%)	0.300±0.037 (18.52%)	0.565±0.200 (34.88%)	1.620
Z13	— (57.99%)	— (57.99%)	0.893±0.021 ^{cdef} (57.99%)	0.260±0.106 (16.88%)	0.387±0.288 (25.13%)	1.540

续表5

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z14	—	—	0.773±0.036 ^{cdefg} (55.29%)	0.368±0.168 (26.32%)	0.258±0.149 (18.46%)	1.398
Z15	—	—	0.758±0.047 ^{cdefg} (52.75%)	0.400±0.064 (27.84%)	0.279±0.283 (19.42%)	1.437
Z16	—	—	0.501±0.026 ^{defgh} (31.23%)	0.243±0.138 (15.15%)	0.860±0.341 (53.62%)	1.604
平均值	—	0.013 (0.79%)	0.497 (30.32%)	0.488 (29.77%)	0.651 (39.72%)	1.639
变异系数/%	—	82.96	50.89	31.63	43.42	14.54
Y1	—	—	0.775±0.024 ^{cdefg} (39.81%)	0.284±0.145 (14.59%)	0.888±0.345 (45.61%)	1.947
Y2	—	—	0.781±0.041 ^{cdefg} (55.35%)	0.259±0.053 (18.36%)	0.372±0.339 (26.36%)	1.411
Y3	—	—	1.012±0.033 ^{cde} (55.51%)	0.115±0.098 (6.31%)	0.697±0.346 (38.23%)	1.823
Y4	—	—	1.935±1.339 ^{ab} (45.58%)	—	2.310±1.006 (54.42%)	4.245
Y5	—	—	2.491±0.149 ^a (77.12%)	0.740±0.608 (22.91%)	—	3.230
Y6	—	—	0.959±0.819 ^{cde} (45.95%)	0.367±0.101 (17.59%)	0.760±0.389 (36.42%)	2.087
Y7	—	—	1.173±0.590 ^{cd} (75.63%)	0.379±0.125 (24.44%)	—	1.551
Y8	—	—	0.617±0.021 ^{defgh} (28.25%)	0.402±0.081 (18.41%)	1.165±0.639 (53.34%)	2.184
Y9	—	—	1.367±0.517 ^{bc} (53.59%)	0.499±0.208 (19.56%)	0.685±0.393 (26.85%)	2.551
Y10	—	—	0.844±0.372 ^{cdefg} (26.07%)	0.288±0.088 (8.89%)	2.106±0.708 (65.04%)	3.238
Y11	—	—	0.591±0.023 ^{defgh} (29.29%)	0.119±0.095 (5.90%)	1.308±0.286 (64.82%)	2.018
平均值	—	—	1.14 (47.70%)	0.345 (14.44%)	1.143 (47.82%)	2.390
变异系数/%	—	—	49.34	50.42	54.78	34.19

注:同列不同小写字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

3.5 Pb不同形态 由表6可知,除Z10、Z12、Z14产地药材碳酸盐结合态及Z9产地药材残渣态未检出外,27个产地药材均可检测到Pb5个形态,其含量具有显著性差异($P<0.05$);有机结合态平均含量最高,其次是可交换态、残渣态、铁锰氧化态,碳酸盐结合态的平均含量最低,其范围为0.002~35.567 mg/kg;栽培品和野生品可交换态、碳酸盐结合态平均含量相近;野生品铁锰氧化态、残渣态平均含量略高于栽培品,且其有机结合态、5个形态总和平均含量远高于栽培品;不同产地栽培品Pb可交换态、铁锰氧化态、有机结合态总含量相较于野生品差异较大,而碳酸盐结合态和残渣态恰好相反。根据中药材重金属含量限量标准,绝大多数药材中Pb有机结合态超标,其他4个形态均未超过规定;63%的药材中Pb5个形态总和超过规定,以野生品为主。

3.6 As不同形态 由表7可知,27批栽培和野生药材中As可交换态、碳酸盐结合态均未被检出,除Z11产地药材铁锰氧化态,Z6、Z9、Z11、Z14、Y6、Y7、Y10产地药材

残渣态未被检出外,其余产地药材铁锰氧化态、有机结合态和残渣态均被检测到,且具有显著性差异($P<0.05$);As不同形态平均含量依次为铁锰氧化态>有机结合态>残渣态,其范围为0.001~1.603 mg/kg,其中Z15产地药材铁锰氧化态和有机结合态最高,Z10产地药材最低;栽培品和野生品残渣态含量差异略小,但栽培品铁锰氧化态、有机结合态、总平均含量和变异系数均远高于野生品,表明栽培品As铁锰氧化态、有机结合态含量高于野生品,且不同栽培品之间的形态含量差异性远高于野生品。根据中药材重金属含量限量标准,As3个形态均未超过规定,且仅有Z15产地药材元素形态总和超过规定。

3.7 Hg不同形态 由表8可知,Hg不同形态中Y5、Y6、Y7、Y10产地药材有机结合态未检测出,仅Z4、Z5、Z9~Z11、Y3、Y4、Y9~Y11产地药材检测出铁锰氧化态,除Y7产地药材外,26批药材可交换态、有机结合态和残渣态均被检出,且具有显著性差异($P<0.05$);Hg不同形态平均含量依次为残渣态>有机结合态(栽培品)或可交换态

表6 云南重楼中Pb不同形态的含量和分布 (mg/kg, $\bar{x} \pm s$, n=3)

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z1	0.906±0.007 ^c (14.45%)	0.088±0.003 ^{fg} (1.40%)	0.066±0.003 ^{lm} (1.05%)	5.193±0.242 ^{hi} (82.85%)	0.014±0.003 ⁱ (0.22%)	6.268
Z2	0.587±0.005 ^h (14.38%)	0.044±0.001 ⁱ (1.08%)	0.066±0.004 ^{lm} (1.62%)	3.349±0.192 ^k (82.06%)	0.035±0.003 ^{hi} (0.86%)	4.081
Z3	0.918±0.005 ^e (10.90%)	0.137±0.009 ^d (1.63%)	0.113±0.007 ^{ij} (1.34%)	7.135±0.218 ^f (84.68%)	0.123±0.012 ^{efgh} (1.46%)	8.426
Z4	0.371±0.004 ^l (13.30%)	0.037±0.003 ^{ij} (1.33%)	0.060±0.003 ^{lmn} (2.15%)	2.309±0.065 ^l (82.76%)	0.014±0.003 ⁱ (0.50%)	2.790
Z5	0.467±0.004 ^j (7.54%)	0.083±0.005 ^g (1.34%)	0.114±0.004 ^{hij} (1.84%)	5.352±0.253 ^b (86.38%)	0.180±0.006 ^{def} (2.91%)	6.196
Z6	0.272±0.003 ^{mn} (11.51%)	0.025±0.002 ^k (1.06%)	0.035±0.002 ^{no} (1.48%)	1.911±0.062 ^{lm} (80.87%)	0.119±0.005 ^{efgh} (5.04%)	2.363
Z7	0.882±0.011 ^f (11.38%)	0.109±0.005 ^e (1.45%)	0.175±0.005 ^f (2.26%)	6.512±0.167 ^{fg} (84.00%)	0.073±0.005 ^{ghi} (0.94%)	7.752
Z8	3.739±0.041 ^a (14.84%)	0.249±0.012 ^b (0.99%)	0.512±0.010 ^d (2.03%)	20.559±0.779 ^c (81.61%)	0.132±0.011 ^{efg} (0.52%)	25.191
Z9	0.055±0.001 ^r (8.46%)	0.006±0.001 ^{no} (0.92%)	0.013±0.001 ^o (2.00%)	0.577±0.005 ^o (88.77%)	—	0.650
Z10	0.153±0.002 ^p (19.49%)	—	0.035±0.002 ^{no} (4.46%)	0.557±0.023 ^o (70.96%)	0.039±0.006 ^{ghi} (4.97%)	0.785
Z11	0.051±0.001 ^r (10.47%)	0.002±0.001 ^o (0.41%)	0.012±0.001 ^o (2.46%)	0.420±0.015 ^o (86.24%)	0.002±0.001 ⁱ (0.41%)	0.487
Z12	0.380±0.003 ^l (27.92%)	—	0.113±0.009 ^{ij} (8.30%)	0.803±0.049 ^{mo} (59.00%)	0.065±0.008 ^{ghi} (4.78%)	1.361
Z13	0.390±0.004 ^{kl} (17.58%)	0.001±0.002 ^o (0.045%)	0.063±0.004 ^{lm} (2.84%)	1.537±0.052 ^{mn} (69.27%)	0.226±0.015 ^d (10.19%)	2.219
Z14	0.404±0.004 ^k (6.94%)	—	0.103±0.008 ^{jk} (1.77%)	5.221±0.213 ^{hi} (89.74%)	0.090±0.008 ^{fgi} (1.55%)	5.818
Z15	0.282±0.006 ^m (4.75%)	0.035±0.001 ^j (0.59%)	0.078±0.003 ^{kl} (1.31%)	4.56±0.199 ^{ij} (76.83%)	0.980±0.030 ^b (16.51%)	5.935
Z16	0.240±0.003 ^o (3.25%)	0.018±0.001 ^{kl} (0.24%)	0.102±0.004 ^{jk} (1.38%)	6.945±0.347 ^{fg} (94.16%)	0.071±0.006 ^{ghi} (0.96%)	7.376
平均值	0.631 (11.512%)	0.064 (1.17%)	0.104 (1.90%)	4.559 (83.18%)	0.144 (2.63%)	5.481
变异系数/%	134.04	102.11	109.20	203.96	160.53	104.43
Y1	0.637±0.008 ^g (8.91%)	0.021±0.002 ^{kl} (0.29%)	0.110±0.006 ^j (1.54%)	6.333±0.282 ^g (88.54%)	0.052±0.004 ^{ghi} (0.73%)	7.153
Y2	0.631±0.006 ^g (11.87%)	0.016±0.001 ^{lm} (0.30%)	0.139±0.004 ^{gh} (2.62%)	4.413±0.097 ^j (83.01%)	0.117±0.005 ^{fg} (2.20%)	5.316
Y3	1.800±0.021 ^b (4.67%)	0.095±0.002 ^f (0.25%)	0.911±0.035 ^a (2.36%)	35.567±0.933 ^a (92.18%)	0.212±0.015 ^{de} (0.55%)	38.586
Y4	0.577±0.004 ^h (5.20%)	0.068±0.004 ^h (0.61%)	0.231±0.009 ^e (2.08%)	9.890±0.354 ^e (89.17%)	0.326±0.018 ^c (2.94%)	11.091
Y5	0.534±0.003 ⁱ (10.02%)	0.015±0.001 ^{lm} (0.28%)	0.209±0.007 ^e (3.92%)	4.515±0.185 ^{ij} (84.71%)	0.056±0.005 ^{ghi} (1.05%)	5.330
Y6	0.980±0.010 ^e (3.22%)	0.306±0.003 ^a (1.01%)	0.880±0.042 ^b (2.894%)	23.237±0.656 ^b (76.43%)	4.999±0.223 ^a (16.44%)	30.403
Y7	0.100±0.002 ^q (4.09%)	0.012±0.001 ^{mn} (0.49%)	0.056±0.001 ^{lmn} (2.29%)	2.233±0.105 ^{lm} (91.29%)	0.045±0.005 ^{ghi} (1.84%)	2.446
Y8	0.166±0.001 ^p (3.26%)	0.018±0.001 ^{klm} (0.35%)	0.138±0.005 ^{ghi} (2.71%)	4.660±0.175 ^{hij} (91.48%)	0.112±0.008 ^{fg} (2.20%)	5.094
Y9	0.290±0.001 ^m (6.17%)	0.020±0.001 ^{klm} (0.43%)	0.045±0.002 ^{mn} (0.96%)	4.270±0.183 ^j (90.89%)	0.073±0.003 ^{ghi} (1.55%)	4.698
Y10	0.258±0.002 ^{mo} (3.51%)	0.019±0.001 ^{klm} (0.26%)	0.154±0.007 ^{fg} (2.09%)	6.574±0.222 ^{fg} (89.39%)	0.349±0.019 ^c (4.75%)	7.354
Y11	1.059±0.020 ^c (4.94%)	0.220±0.003 ^c (0.03%)	0.634±0.017 ^c (2.96%)	19.350±0.858 ^d (90.29%)	0.167±0.008 ^{def} (0.78%)	21.430
平均值	0.639 (5.06%)	0.074 (0.59%)	0.319 (2.53%)	11.004 (87.15%)	0.592 (4.69%)	12.627
变异系数/%	73.61	128.27	97.65	91.43	236.22	91.156

注:同列不同小写字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

表7 云南重楼中As不同形态的含量和分布 (mg/kg, $\bar{x} \pm s$, n=3)

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z1	—	—	0.054±0.005 ^{np} (30.17%)	0.113±0.023 ^{bcd} (63.13%)	0.012±0.001 ^{fg} (6.70%)	0.179
Z2	—	—	0.094±0.005 ^{lm} (50.00%)	0.080±0.022 ^{defghi} (42.55%)	0.014±0.002 ^{efg} (7.45%)	0.188
Z3	—	—	0.061±0.001 ^{no} (47.29%)	0.045±0.008 ^{fghi} (34.88%)	0.023±0.001 ^d (17.83%)	0.129
Z4	—	—	0.185±0.010 ^{fg} (55.56%)	0.113±0.021 ^{bcd} (33.93%)	0.036±0.002 ^c (10.81%)	0.333
Z5	—	—	0.173±0.008 ^g (50.59%)	0.127±0.014 ^{bcde} (37.14%)	0.041±0.001 ^b (11.99%)	0.342
Z6	—	—	0.024±0.003 ^q (35.29%)	0.043±0.018 ^{fghi} (63.24%)	—	0.068
Z7	—	—	0.113±0.003 ^{kl} (43.97%)	0.128±0.018 ^{bcd} (49.81%)	0.016±0.001 ^{ef} (6.23%)	0.257
Z8	—	—	0.058±0.003 ^{no} (57.43%)	0.042±0.004 ^{fghi} (41.58%)	0.001±0.001 ^{kl} (0.99%)	0.101
Z9	—	—	0.143±0.010 ^{hi} (43.60%)	0.185±0.086 ^b (56.40%)	—	0.328
Z10	—	—	0.029±0.001 ^{pq} (65.91%)	0.010±0.002 ⁱ (22.73%)	0.005±0.001 ^{ijk} (11.36%)	0.044
Z11	—	—	—	0.084±0.043 ^{defghi} (100%)	—	0.084
Z12	—	—	0.201±0.012 ^{ef} (53.18%)	0.174±0.011 ^{bc} (46.03%)	0.004±0.001 ^{jk} (1.06%)	0.378
Z13	—	—	0.131±0.007 ^{ij} (63.29%)	0.052±0.012 ^{defghi} (25.12%)	0.024±0.002 ^d (11.59%)	0.207
Z14	—	—	0.23±0.018 ^{cd} (82.44%)	0.049±0.013 ^{efghi} (17.56%)	—	0.279
Z15	—	—	1.603±0.052 ^a (70.25%)	0.670±0.158 ^a (29.36%)	0.009±0.001 ^{hi} (0.39%)	2.282
Z16	—	—	0.250±0.008 ^c (69.83%)	0.075±0.005 ^{defghi} (20.95%)	0.033±0.002 ^e (9.22%)	0.358
平均值	—	—	0.223 (64.27%)	0.124 (35.74%)	0.018 (5.19%)	0.347
变异系数/%	—	—	168.10	199.62	69.60	147.15
Y1	—	—	0.108±0.001 ^{kl} (77.14%)	0.032±0.007 ^{hi} (22.86%)	0.001±0.001 ^l (0.71%)	0.140
Y2	—	—	0.168±0.001 ^{gh} (68.02%)	0.072±0.017 ^{defghi} (29.15%)	0.006±0.003 ^{ij} (2.43%)	0.247
Y3	—	—	0.306±0.003 ^b (73.74%)	0.097±0.026 ^{defgh} (23.37%)	0.012±0.001 ^{fgh} (2.89%)	0.415
Y4	—	—	0.144±0.009 ^{hi} (64.00%)	0.070±0.017 ^{defghi} (31.11%)	0.011±0.002 ^{gh} (4.90%)	0.225
Y5	—	—	0.175±0.012 ^{fg} (59.52%)	0.101±0.015 ^{defgh} (34.35%)	0.018±0.002 ^e (6.12%)	0.294
Y6	—	—	0.070±0.007 ^{mn} (67.96%)	0.033±0.005 ^{ghi} (32.04%)	—	0.103
Y7	—	—	0.041±0.002 ^{pq} (47.67%)	0.045±0.002 ^{bcd} (52.33%)	—	0.086
Y8	—	—	0.123±0.005 ^{ijk} (46.07%)	0.096±0.019 ^{cdefgh} (35.96%)	0.048±0.006 ^a (17.98%)	0.267
Y9	—	—	0.050±0.002 ^{np} (51.02%)	0.044±0.006 ^{fghi} (44.90%)	0.004±0.001 ^{jk} (4.08%)	0.098
Y10	—	—	0.101±0.007 ^{kl} (67.33%)	0.049±0.014 ^{efghi} (32.67%)	—	0.150
Y11	—	—	0.219±0.004 ^{de} (57.78%)	0.112±0.005 ^{bcd} (29.55%)	0.048±0.002 ^a (12.67%)	0.379
平均值	—	—	0.137 (62.56%)	0.068 (31.05%)	0.019 (8.68%)	0.219
变异系数/%	—	—	54.60	41.28	95.21	49.65

注:同列不同小写字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

表8 云南重楼中 Hg 不同形态的含量和分布 (mg/kg, $\bar{x} \pm s$, n=3)

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
Z1	$6.734 \times 10^{-4} \pm 0.001^b$ (3.54%)	—	—	$2.651 \times 10^{-3} \pm 0.001^b$ (13.95%)	$1.568 \times 10^{-2} \pm 0.001^{cde}$ (82.50%)	0.019
Z2	$5.516 \times 10^{-4} \pm 0.001^c$ (3.25%)	—	—	$2.153 \times 10^{-3} \pm 0.001^c$ (12.67%)	$1.429 \times 10^{-2} \pm 0.001^{defg}$ (84.09%)	0.017
Z3	$3.169 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (1.98%)	—	—	$5.802 \times 10^{-4} \pm 0.001^e$ (3.63%)	$1.510 \times 10^{-2} \pm 0.001^{cde}$ (94.39%)	0.016
Z4	$1.540 \times 10^{-4} \pm 0.001^g$ (0.55%)	—	$5.443 \times 10^{-6} \pm 0.001^{de}$ (0.02%)	$1.252 \times 10^{-3} \pm 0.001^e$ (4.47%)	$2.659 \times 10^{-2} \pm 0.001^a$ (94.96%)	0.028
Z5	$5.545 \times 10^{-5} \pm 0.001^{hijk}$ (0.23%)	—	$4.631 \times 10^{-6} \pm 0.001^{de}$ (0.02%)	$5.485 \times 10^{-4} \pm 0.001^e$ (2.29%)	$2.339 \times 10^{-2} \pm 0.001^{bc}$ (97.46%)	0.024
Z6	$2.441 \times 10^{-5} \pm 0.001^{kl}$ (2.44%)	—	—	$1.564 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (15.64%)	$8.192 \times 10^{-4} \pm 0.001^i$ (81.92%)	0.001
Z7	$8.019 \times 10^{-6} \pm 0.001^l$ (0.20%)	—	—	$1.646 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (4.11%)	$3.827 \times 10^{-3} \pm 0.001^{ghi}$ (95.685%)	0.004
Z8	$9.986 \times 10^{-6} \pm 0.001^l$ (0.33%)	—	—	$3.537 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (11.79%)	$2.636 \times 10^{-3} \pm 0.001^{ghi}$ (87.88%)	0.003
Z9	$6.300 \times 10^{-5} \pm 0.001^{hi}$ (0.42%)	—	$1.614 \times 10^{-4} \pm 0.001^a$ (1.08%)	$3.579 \times 10^{-3} \pm 0.001^a$ (23.86%)	$1.120 \times 10^{-2} \pm 0.001^{defg}$ (74.65%)	0.015
Z10	$1.189 \times 10^{-5} \pm 0.001^l$ (0.20%)	—	$2.212 \times 10^{-5} \pm 0.001^c$ (0.37%)	$4.176 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (6.96%)	$5.548 \times 10^{-3} \pm 0.001^{fghi}$ (92.47%)	0.006
Z11	$6.697 \times 10^{-5} \pm 0.001^b$ (6.70%)	—	$2.855 \times 10^{-6} \pm 0.001^e$ (0.27%)	$4.306 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (43.06%)	$4.995 \times 10^{-4} \pm 0.001^i$ (49.95%)	0.001
Z12	$3.144 \times 10^{-5} \pm 0.001^{ijkl}$ (1.05%)	—	—	$7.259 \times 10^{-4} \pm 0.001^e$ (24.20%)	$2.243 \times 10^{-3} \pm 0.001^{hi}$ (74.76%)	0.003
Z13	$2.473 \times 10^{-5} \pm 0.001^{kl}$ (1.25%)	—	—	$2.958 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (14.79%)	$1.680 \times 10^{-3} \pm 0.001^{hi}$ (83.98%)	0.002
Z14	$3.567 \times 10^{-6} \pm 0.001^l$ (0.051%)	—	—	$7.612 \times 10^{-4} \pm 0.001^e$ (10.87%)	$6.235 \times 10^{-3} \pm 0.001^{fghi}$ (89.08%)	0.007
Z15	$5.698 \times 10^{-5} \pm 0.001^{hij}$ (0.48%)	—	—	$1.126 \times 10^{-3} \pm 0.001^e$ (9.38%)	$1.082 \times 10^{-2} \pm 0.001^{defgh}$ (90.14%)	0.012
Z16	$1.413 \times 10^{-4} \pm 0.001^g$ (2.36%)	—	—	$7.260 \times 10^{-4} \pm 0.001^e$ (12.10%)	$5.133 \times 10^{-3} \pm 0.001^{ghi}$ (85.55%)	0.006
平均值	1.371×10^{-4} (1.37%)	—	3.928×10^{-5} (0.39%)	9.951×10^{-4} (9.95%)	0.009 (90.00%)	0.010
变异系数/%	143.39	—	156.39	95.20	85.71	81.44
Y1	$6.342 \times 10^{-5} \pm 0.001^{hi}$ (1.27%)	—	—	$1.712 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (3.43%)	$4.765 \times 10^{-3} \pm 0.001^{fghi}$ (95.31%)	0.005
Y2	$8.294 \times 10^{-5} \pm 0.001^h$ (1.38%)	—	—	$9.501 \times 10^{-5} \pm 0.001^f$ (1.58%)	$5.822 \times 10^{-3} \pm 0.001^{fghi}$ (97.03%)	0.006
Y3	$3.757 \times 10^{-4} \pm 0.001^c$ (2.09%)	—	$1.015 \times 10^{-5} \pm 0.001^d$ (0.056%)	$1.824 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (1.01%)	$1.743 \times 10^{-2} \pm 0.001^{cd}$ (96.84%)	0.018
Y4	$5.097 \times 10^{-4} \pm 0.001^d$ (2.83%)	—	$3.412 \times 10^{-5} \pm 0.001^b$ (0.19%)	$1.403 \times 10^{-3} \pm 0.001^d$ (7.79%)	$1.605 \times 10^{-2} \pm 0.001^{cd}$ (89.19%)	0.018
Y5	$2.522 \times 10^{-5} \pm 0.001^{jkl}$ (0.42%)	—	—	—	$5.975 \times 10^{-3} \pm 0.001^{fghi}$ (99.58%)	0.006
Y6	$7.809 \times 10^{-6} \pm 0.001^l$ (0.39%)	—	—	—	$1.992 \times 10^{-3} \pm 0.001^{hi}$ (99.61%)	0.002
Y7	—	—	—	—	—	—
Y8	$1.708 \times 10^{-5} \pm 0.001^l$ (0.17%)	—	—	$1.579 \times 10^{-5} \pm 0.001^f$ (0.16%)	$9.967 \times 10^{-3} \pm 0.001^{defgh}$ (99.67%)	0.010
Y9	$1.776 \times 10^{-5} \pm 0.001^l$ (0.25%)	—	$5.850 \times 10^{-6} \pm 0.001^{de}$ (0.08%)	$2.108 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (3.01%)	$6.766 \times 10^{-3} \pm 0.001^{efghi}$ (96.65%)	0.007
Y10	$9.829 \times 10^{-6} \pm 0.001^l$ (0.33%)	—	$9.285 \times 10^{-6} \pm 0.001^c$ (0.31%)	—	$2.981 \times 10^{-3} \pm 0.001^{ghi}$ (99.36%)	0.003
Y11	$2.154 \times 10^{-5} \pm 0.001^l$ (1.27%)	—	$1.660 \times 10^{-6} \pm 0.001^e$ (0.10%)	$1.075 \times 10^{-4} \pm 0.001^f$ (6.32%)	$1.569 \times 10^{-3} \pm 0.001^{hi}$ (92.31%)	0.002

续表8

样品	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化态	有机结合态	残渣态	总和
平均值	3.404×10^{-4} (0.52%)	—	1.221×10^{-5} (0.02%)	3.122×10^{-4} (0.48%)	0.064 (98.46%)	0.065
变异系数/%	216.41	—	92.98	143.92	280.28	278.95

注:同列不同小写字母表示具有显著性差异($P < 0.05$)。

(野生品) >铁锰氧化态, 其范围为 1.660×10^{-6} ~ 0.027 mg/kg ; 野生品可交换态、残渣态、总平均含量和变异系数均远大于栽培品, 而碳酸盐结合态和有机结合态恰好相反, 表明不同野生品可交换态、残渣态含量高于栽培品, 且不同野生品间含量差异性高于栽培品。根据中药材重金属含量限量标准, Hg 中除 Z4、Z5 产地药材残渣态外, 其余 4 种形态均未超过规定。

3.8 元素比较 图 1 显示, 栽培品和野生品中 Cu、Pb 5 种形态总含量均超过标准限量, 而 Cd、As、Hg 5 种形态总含量均未超过; 栽培品中 Cr 5 个形态总和未超过标准限量, 但野生品中 Cr 含量略超过; 栽培品中除了 As 含量略高于野生品中外, 其他 5 种重金属含量均低于后者中。*t* 检验结果表明, 栽培品和野生品中 6 种重金属总含量均无显著性差异($P > 0.05$)。

3.9 化学模式识别 由图 2 可知, 仅用 PCA 不能将栽培品与野生品区分开, 故进一步采用 OPLS-DA 分析, 发现该方

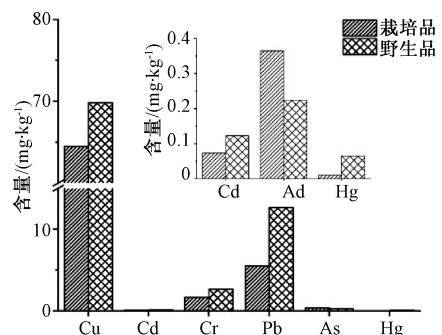


图 1 栽培品和野生品中各元素含量

法分离效果更佳, 可将两者区分开。从 VIP 得分图可以看出, CuF4 (Cu 有机结合态)、PbF4 (Pb 有机结合态)、CuF1 (Cu 可交换态)、CuF3 (Cu 铁锰氧化态)、CuF2 (Cu 碳酸盐结合态) 得分均大于 1, 可作为区分栽培品与野生品的关键差异物。

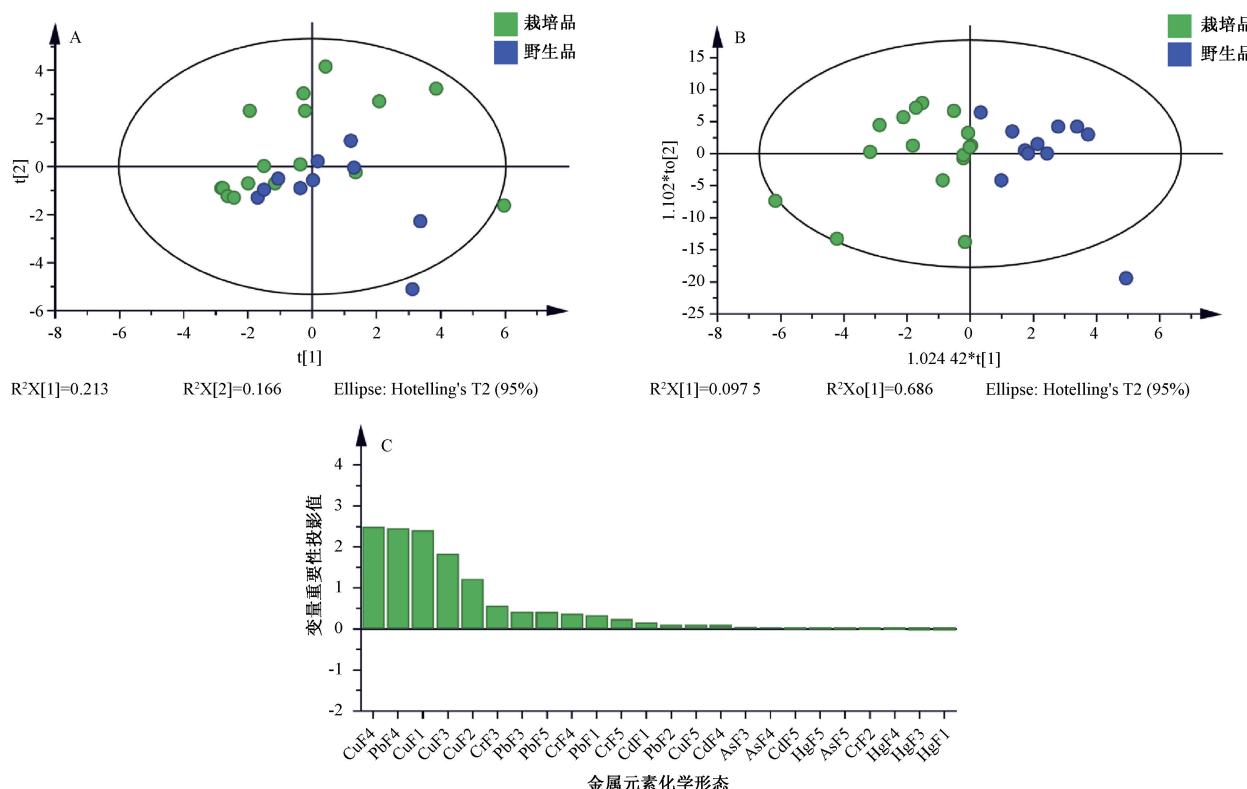


图 2 各元素 PCA (A)、OPLS-DA (B)、VIP (C) 分析图

4 讨论

近年来, 中药材重金属超标问题引起了越来越多的关注。但重金属在药材或土壤中的总量并不能真实评价其环境行为和生态效应, 还与其不同存在形态及各个形态的浓度相关^[16-18]。药材中的重金属主要来源于土壤, 植物体会

通过吸附、沉淀、氧化还原、络合、酸碱反应等过程对土壤中的重金属进行吸收和富集, 重金属在植物体内产生不同价态和形态的变化, 导致其表现出的活性、迁移性和生物毒性均不同^[19]。Tessier 法将重金属分为 5 种形态, 不同形态的生物可利用性依次为可交换态>碳酸盐结合态>铁锰

氧化态>有机结合态>残渣态^[20]。

本研究对西南地区27个产地野生、种植品种的云南重楼进行重金属形态分析,结果显示,在6种重金属元素5个形态中,Cu超标情况最严重,且重楼中其存在形式更容易被生物体吸收利用,安全风险最高;Pb有机结合态在大多数野生、栽培药材中都超出限量标准,以野生品尤为明显,但不易被生物体吸收利用,相对风险较低;3个产地药材Cr超标,且均为野生品;Cd、As、Hg不同形态含量基本未出现超标情况。

同时,本研究通过化学模式识别对野生、种植品种的云南重楼中不同形态重金属元素进行研究,发现PCA无法将两者区分开,故进一步建立OPLS-DA识别模式,可将其分为2类;Cu有机结合态、Pb有机结合态、Cu可交换态、Cu铁锰氧化态及Cu碳酸盐结合态可能为区分栽培品与野生品的关键差异物。由此建议,对云南重楼中重金属含量的限定应以其总量结合可利用态含量为主,单一元素含量具有一定局限性,并且选择易被生物体利用的重金属形态含量作为中药材质量控制指标可能有助于制订更合理的相关标准。

参考文献:

- [1] 黄璐琦,肖培根,王永炎.中国珍稀濒危药用植物资源调查[M].上海:上海科学技术出版社,2012.
- [2] 管 鑑,李若诗,段宝忠,等.重楼属植物化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J].中草药,2019,50(19):4838-4852.
- [3] 杨远贵,张 霖,张金渝,等.重楼属植物化学成分及药理活性研究进展[J].中草药,2016,47(18):3301-3323.
- [4] 金 琳,马永军,戴雪雯,等.滇重楼品质差异研究进展[J].中药材,2019,42(6):1448-1452.
- [5] 韦美丽,陈中坚,黄天卫,等.滇重楼栽培研究进展[J].文山学院学报,2015,28(3):11-14.
- [6] 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.
- [7] Yang J, Xu M M, Song B, et al. Influence ofsoil factors on quality of panacis majoris rhizoma [J]. *J Chin Med Mater*, 2014, 37(9): 1513-1517.
- [8] 潘 兰,贾新岳,贾晓光,等.菊花、大黄中有害元素的形态分析[J].中国中药杂志,2011,36(13):1794-1797.
- [9] 韩 旭.含有毒矿物药成方制剂的有害元素形态与安全性研究[D].长春:吉林农业大学,2017.
- [10] 郑丹丹,吕 尚,刘海龙,等.BCR连续提取法联合ICP-MS分析藏药白脉软膏及其矿物原料药中铅、镉、砷、汞、铜元素提取形态[J].药物分析杂志,2019,39(4):702-708.
- [11] 黎海灵,谷文超,赵顺鑫,等.不同产地滇重楼药材及其根际土壤中6种重金属含量的比较[J].环境化学,2021,40(7):2179-2192.
- [12] Tessier A, Campbell P, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Anal Chem*, 1979, 51(7): 844-851.
- [13] 贾 敏,张 寒,魏月霞,等.五味子4种炮制品中5种元素测定及其赋存形态[J].中成药,2017,39(10):2118-2124.
- [14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版四部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:520-522.
- [15] GB 2762-2022,食品安全国家标准食品中污染物限量[S].
- [16] 李 娜,夏 瑜,何绪文,等.基于Tessier法的土壤中不同形态镉的转化及其影响因素研究进展[J].土壤通报,2021,52(6):1505-1512.
- [17] Chen Y, Zou J, Sun H, et al. Metals in traditional Chinese medicinal materials (TCMM): A systematic review [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 207(1): 111311.
- [18] 李晓琦,王 琪,陈 彦.不同产地栀子中重金属的含量测定及健康风险评估[J].中华中医药杂志,2022,37(2):1041-1046.
- [19] 张 寒,张婷盼,张 彦,等.不同炮制方法对杜仲中重金属含量及其赋存形态的影响[J].国际药学研究杂志,2017,44(5):437-441.
- [20] 雷 鸣,廖柏寒,秦普丰.土壤重金属化学形态的生物可利用性评价[J].生态环境,2007,16(5):1551-1556.