

朱茯苓饮片炮制所用容器和烘干温度优选研究*

钟其新¹, 曾峰², 刘逊³, 耿文婷³, 刘竞天³, 周扬^{3Δ}

1 广州中医药大学深圳医院(福田), 广东 深圳 518034;

2 广州中医药大学青蒿研究中心, 广东 广州 510445;

3 苏州卫生职业技术学院/苏州检验医学生物技术重点实验室, 江苏 苏州 215009

[摘要] 目的:分析不同炮制容器和烘干温度所得朱茯苓饮片的差异,建立其X射线衍射(X-ray diffraction, XRD)指纹图谱评价方法和重金属含量测定方法,为朱茯苓饮片选择合适的炮制容器和烘干温度提供参考。方法:采用XRD粉末衍射技术,对16种自制朱茯苓饮片进行模糊物相检索,得到主要物相;采用电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)测定16种朱茯苓饮片中的重金属元素;采用MDI Jade6.0、Origin 2019软件进行朱茯苓饮片XRD衍射指纹图谱叠合,同时结合Excel进行共有峰识别和相似度评价;采用Weka软件、SPSS 18.0和The Unscrambler软件分别进行随机树分析、聚类分析和主成分分析;采用SPSS 18.0和The Unscrambler软件对重金属含量测定结果进行聚类分析和主成分分析。结果:共得到16种朱茯苓饮片的XRD衍射指纹图谱;玻璃杯和砂锅碗炮制所得朱茯苓饮片的相似度高于不锈钢碗和铁锅炮制所得;随机树分析、主成分分析和聚类分析结果与相似度评价结果基本一致,当使用不锈钢碗和铁锅进行炮制时,朱茯苓中朱砂的一些成分可能发生了化学变化。采用ICP-MS测定了朱茯苓饮片的5种重金属元素含量,主成分分析结果显示这16种朱茯苓饮片可分为3类,其中玻璃杯和砂锅炮制所得朱茯苓饮片为一类,聚类结果与主成分分析结果基本一致;不同炮制容器和烘干温度所得朱茯苓饮片的Hg含量有一定差异。结论:不锈钢碗和铁锅不适合作为朱茯苓饮片的炮制容器,烘干温度较低比较合适。XRD指纹图谱和ICP-MS分析方法专属性强,准确可靠,可用于不同炮制容器和烘干温度得到的朱茯苓饮片的鉴别和质量评价。

[关键词] 朱茯苓; 炮制容器; 烘干温度; X射线衍射指纹图谱; 电感耦合等离子体质谱

[中图分类号] R283.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)09-0001-09

Study on the Optimization of Container and Drying Temperature for Processing *Zhufuling* Decoction Pieces

ZHONG Qixin¹, ZENG Feng², LIU Xun³, GENG Wenting³, LIU Jingtian³, ZHOU Yang^{3Δ}

1 Shenzhen Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518034, China;

2 Artemisinin Research Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China;

3 Suzhou Vocational Health College/Suzhou Key Laboratory of Laboratory Medical Biotechnology, Suzhou 215009, China

Abstract Objective: To analyze the differences in *Zhufuling* [*poria cocos* (Schw.)Wolf] decoction pieces obtained with different processing containers under drying temperatures, and to establish the evaluation method of its X-ray diffraction (XRD) fingerprint and the determination methods of heavy metal content, which could provide the reference for the selection of processing container and drying temperature of *Zhufuling* decoction pieces. Methods: The main phases of 16 kinds of prepared *Zhufuling* decoction pieces were retrieved by XRD powder diffraction. The contents of heavy metals contained in 16 kinds of prepared *Zhufuling* decoction pieces were detected by ICP-MS. MDI jade6.0 and Origin 2019 software were used to overlap the XRD fingerprint of *Zhufuling* decoction pieces, moreover, the common peaks were identified and the similarity was evaluated using Excel, Weka software, SPSS18.0 and the Unscrambler software were utilized to carry out decision tree analysis, cluster analysis and principal component analysis respectively. Cluster analysis and principal component analysis of the determination results of heavy metals were conducted by SPSS18.0 and the Unscrambler software. Results: The study has yielded XRD fingerprints of 16 kinds of *Zhufuling* decoction pieces; the similarity of the decoction pieces processed from glass and casserole was higher than that from stainless-steel bowl and iron pots; the results of decision tree analysis, principal component analysis and cluster analysis were basically consistent with the similarity evaluation results, when stainless-steel bowls and iron pots were used for processing, chemical changes might happen in some ingredients of cinnabar contained in *Zhufuling*. ICP-MS was adopted to detect the contents of five kinds of heavy metals in the decoction pieces, the results of principal component analysis indicated that 16 kinds of herbs could be classified into three categories, among them, the decoction pieces processed by glass and casserole belong to one category, the clustering results were basically the same with the results of principal component analysis; the contents of Hg were different in the decoction pieces obtained by different processing

containers under drying temperatures. Conclusion: XRD fingerprint and ICP-MS analysis, showing high-specificity, the accuracy and reliability, could be used for the identification and quality evaluation of the decoction pieces obtained by different processing containers under different drying temperatures.

Keywords Zhufuling; processing container; drying temperature; X-ray diffraction fingerprint; inductively coupled plasma mass spectrometry

中药拌衣炮制是一种传统的炮制方式,一般是指朱砂拌衣,是将中药表面润湿后加入朱砂细粉拌匀、晾干而得^[1]。中药茯苓为多孔菌科真菌茯苓的干燥菌核,具有利水渗湿、健脾宁心功效,主治水腫尿少,脾虛食少等症。朱砂(Cinnabaris)为硫化物类辰砂族矿石,又名丹砂、辰砂,具有清心镇惊、安神解毒功效^[2],传统中医学认为将朱砂拌入中药,可增强镇惊安神功效。朱砂主要成分为硫化汞(HgS),在朱茯苓炮制过程中虽然用量不多,但如果炮制不当,会产生毒副作用,进而影响疗效。一般认为茯苓采用朱砂拌衣得到的炮制品(即朱茯苓)具有安神功效^[3]。

文献记载朱茯苓的炮制方法为取切好的茯苓50 g,置于烧杯中,喷水少许,微润,用朱砂细粉1 g(水飞)撒布均匀,并随时翻动至外表挂匀朱砂为度,取出,50 ℃烘干即得^[4],对炮制容器和烘干温度均做了要求。2019年版《安徽省中药饮片炮制规范》记载了朱茯苓饮片炮制方法:取净茯苓片或块,喷水少许,微润,用朱砂细粉拌匀,染成红色,干燥,每100 kg茯苓,用2 kg朱砂^[5]。此法对炮制所用器具和烘干温度未做详细规定。而且炮制容器和烘干温度是否对朱茯苓饮片炮制结果产生影响,未有相关报道。

X-射线衍射法(X-ray diffraction, XRD)是一种专属性强的可用于确定晶体物质结构的方法,常用于矿物类中药的定性鉴别^[6-8]。对于不同物质,由于其化学组成、分子构型和晶型不同,决定了它特有的特征衍射图谱^[9-11]。无机元素也是中药的重要组成部分,在一定程度上影响中药药性和功效^[12];也是其药性物质基础的重要组成部分^[13]。电感耦合等离子体-质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)分析是测定未知样品中元素种类及浓度的快速分析方法,具有灵敏度高和操作简便等优点^[14]。由于朱茯苓在炮制时,需要用到朱砂,朱砂一般忌火煅,而且对炮制容器有一定要求。因此,本研究拟采用不同炮制容器和烘干温度进行朱茯苓饮片的炮制工艺研究,测定不同炮制容器和烘干温度所得朱茯苓炮制品的XRD衍射指纹图谱和5种重金属含量,对比朱茯苓饮片的XRD衍射图谱变化和重

金属含量差异,为优选朱茯苓饮片炮制所用的合适炮制容器和烘干温度提供实验基础。

1 仪器、材料与试剂

1.1 仪器 Ultima IV组合型多功能水平X射线衍射仪(日本理学公司);Agilent7800ICP-MS(Agilent公司);Mars6微波消解仪(美国CEM公司);MS205DU型微量分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);Sartorius BSA224S-CW电子分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);Direct-Q3纯水机(美国millipore公司);MDI Jade6.0、Origin 2019、SPSS18.0、Weka 3.7.13、The Unscrambler 9.7数据处理软件。

1.2 材料与试剂 朱砂矿石购于安徽亳州药材市场,经苏州卫生职业技术学院刘逊老师鉴定为硫化物矿类辰砂族辰砂的天然矿石,符合《中华人民共和国药典》2015年版一部规定^[15]。茯苓饮片(购于安徽道源堂中药饮片有限公司,批号:190820)。硝酸(优纯级,美国默克公司);标准溶液Ge、In、Bi(Agilent公司,浓度1.0 μg/L);Mn、Cu、As、Hg、Pb(国家标准物质研究中心,浓度1000 μg/mL);调谐溶液为Co、Li、In、U(Agilent公司,浓度1.0 μg/L)。

2 方法与结果

2.1 XRD研究方法

2.1.1 实验条件 工作电压为40 kV,工作电流为100 mA。发射狭缝、散射狭缝和接受狭缝分别为1°、1°和0.2 mm。以CuK β 为光源,扫描速度为每分钟6.1423°,扫描方式为连续扫描,扫描范围为5°~90°(2 θ),步长为0.02°。

2.1.2 供试品制备 水飞朱砂制备:采用《中华人民共和国药典》2015版水飞法炮制朱砂矿石^[15],水飞朱砂经鉴定符合2015版药典相关规定。

朱茯苓饮片炮制:精密称取茯苓饮片16份,每份50 g置于不同炮制容器(玻璃杯,砂锅碗,不锈钢碗,铁锅)内,用喷壶向饮片表面均匀喷洒少量水,并不断搅拌,保持饮片微微湿润。然后精密称量水飞后的朱砂细粉1 g,用勺子将其慢慢撒在茯苓饮片上,边撒边翻动茯苓饮片,使朱砂挂在茯苓饮片上,朱砂撒布完成后,继续轻微摇动炮制容器2 min,使朱砂能均匀挂在茯苓饮片上,将炮制好的朱茯苓饮片于不同温度(40 ℃, 50 ℃,

60 ℃, 70 ℃) 烘干。

朱茯苓饮片测试样品制备: 取上述16种炮制好的朱茯苓饮片, 用玻璃研钵捣碎, 研细后, 过120目筛, 制得16种朱茯苓饮片XRD测试供试品。同时取水飞朱砂细粉制备XRD测试供试品。

XRD测定: 每种炮制品经处理后直接进行XRD进行测试, 作为最终XRD数据。

2.2 XRD 研究结果

2.2.1 物相分析^[16-17] 采用Mid Jade 6.0软件将16种朱茯苓饮片样品数据导入Jade软件中, 通过2004版XRD-PDF卡片进行物相检索, 与国际晶体衍射数据库数据匹配, 获得物相分析结果。根据FOM值和d值判断16种朱茯苓饮片的主要物相均为HgS。朱茯苓饮片物相分析图见图1, 水飞朱砂物相分析图见图2。可见, 朱茯苓饮片和水飞朱砂的XRD图有一定差异, 因朱茯苓饮片中所含朱砂较少, 因此朱茯苓中的朱砂峰强度小于水飞朱砂, 仔细观察发现, 图1和图2在相应位置时峰与峰之间的相对峰高不一致, 推测可能是水飞朱砂对茯苓拌衣炮制后, 其所含成分可能发生了一定变化。

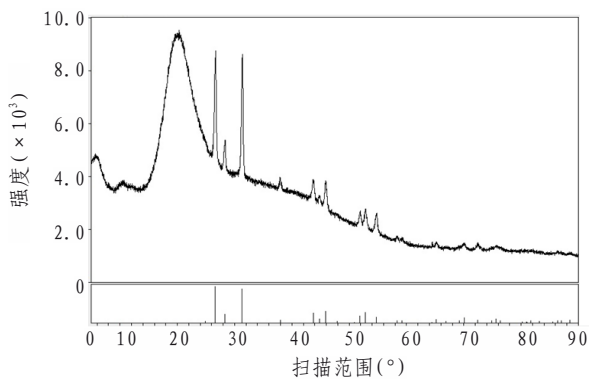


图1 朱茯苓饮片XRD物相分析图

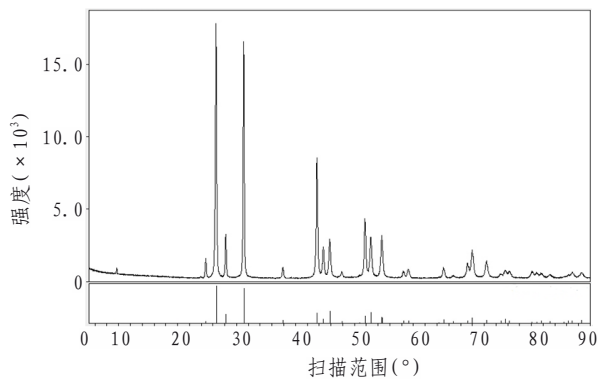


图2 水飞朱砂细粉的XRD物相分析图

2.2.2 不同炮制容器炮制所得朱茯苓饮片XRD Fourier 指纹图谱的建立 应用Jade 6.0作图软件及Origin 2019数据分析软件进行处理, 得到

玻璃杯(S1~S4, 40~70 ℃)、砂锅碗(S5~S8, 40~70 ℃)、不锈钢碗(S9~S12, 40~70 ℃)和铁锅(S13~S16, 40~70 ℃)炮制所得朱茯苓饮片的XRD衍射指纹图谱, 见图3。

2.2.3 平均数及中位数对照图谱的建立 采用Origin 2019软件, 以不同炮制容器炮制得到的朱茯苓饮片的XRD衍射图谱中, 色谱峰的 2θ 为横坐标 X , 峰面积相对强度 I/I_0 为纵坐标 Y , 分别计算其平均数和中位数。得到平均数对照图谱见图4, 中位数对照图谱见图5。

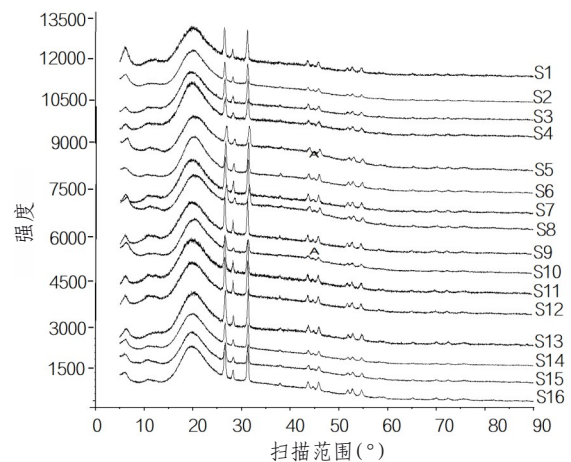


图3 朱茯苓饮片的XRD衍射指纹图谱

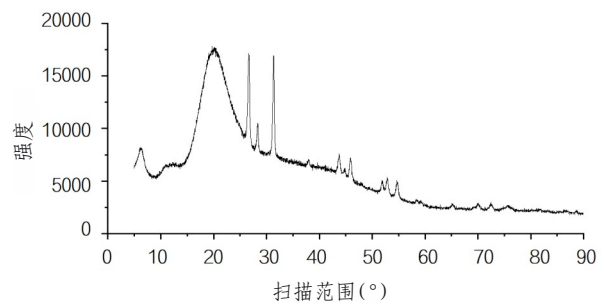


图4 朱茯苓饮片平均值对照XRD衍射指纹图谱

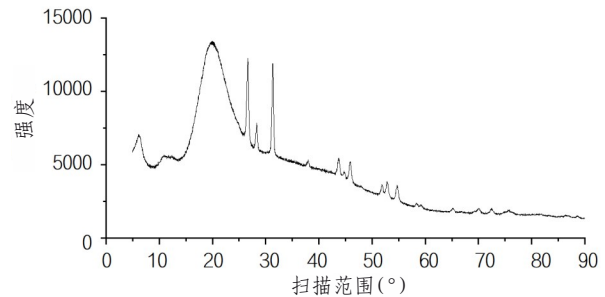


图5 朱茯苓饮片中位数对照XRD衍射指纹图谱

2.2.4 朱茯苓饮片的XRD衍射指纹图谱分析

2.2.4.1 XRD衍射图谱峰的标定在Jade 6.0软件中设定寻峰条件, Width为1.0, Height为2.0, Minimum Height为1.5, d 为晶格间距, 实验数据中以 $d/(I/I_0)$ 表示其衍射峰值, d 为晶格间距(nm),

I为峰高, I/I_0 为相对强度。各样品峰值 2θ 及晶格间距d见表1。对于朱茯苓这种含有矿物饮片的

XRD分析,一般通过参考特征峰的 2θ 与d值对应关系来确定物相,不要求其全部峰对应。

表1 16种朱茯苓饮片的XRD衍射指纹图谱的 2θ 和d值

编号	参数	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
1	2θ	26.66	26.64	26.64	26.58	26.58	26.54	26.62	26.72	26.74	26.56	26.60	26.78	26.64	26.62	26.64	26.90
	d	3.34	3.34	3.34	3.35	3.35	3.36	3.35	3.33	3.33	3.35	3.35	3.33	3.34	3.35	3.34	3.31
2	2θ	28.36	28.30	28.30	28.30	28.28	28.20	28.28	28.32	28.34	28.32	28.26	28.48	28.32	28.32	28.28	28.54
	d	3.14	3.15	3.15	3.15	3.15	3.16	3.15	3.15	3.15	3.15	3.16	3.13	3.15	3.15	3.15	3.12
3	2θ	31.40	31.34	31.36	31.28	31.30	31.26	31.30	31.38	31.42	31.24	31.28	31.46	31.30	31.32	31.34	
	d	2.85	2.85	2.85	2.86	2.86	2.86	2.86	2.85	2.84	2.86	2.86	2.84	2.86	2.85	2.85	
4	2θ	38.04	37.96	37.98	37.92	37.96		37.89	38.00	37.98	38.00		38.17	37.97	37.93	38.02	38.13
	d	2.36	2.37	2.37	2.37	2.37		2.37	2.37	2.37	2.37		2.36	2.37	2.37	2.36	2.36
5	2θ	43.70	43.74	43.80	43.64	43.74	43.62	43.68	43.76	43.84	43.68	43.62	43.90	43.62	43.70	43.76	44.00
	d	2.07	2.07	2.07	2.07	2.07	2.07	2.07	2.07	2.06	2.07	2.07	2.06	2.07	2.07	2.07	2.06
6	2θ	44.84	44.77	44.86	44.74	44.82				44.84	44.90	44.78	44.86	44.66	44.76	44.78	
	d	2.02	2.02	2.02	2.02	2.02				2.02	2.02	2.02	2.02	2.03	2.02	2.02	
7	2θ	45.90	45.94	45.94	45.82	45.88	45.86	45.96	45.94	46.04	45.84	45.82	45.98	45.82	45.90	45.96	46.06
	d	1.98	1.97	1.97	1.98	1.98	1.98	1.97	1.97	1.97	1.98	1.98	1.97	1.98	1.98	1.97	1.97
8	2θ	51.88	51.86	51.86	51.86	51.90	51.80	51.74	51.84	52.02	51.78	51.70	51.90	51.90	51.90	51.90	52.10
	d	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.77	1.76	1.76	1.76	1.77	1.76	1.76	1.76	1.76	1.75
9	2θ	52.84	52.80	52.90	52.80	52.78	52.78	52.84	52.94	52.96	52.74	52.78	52.96	52.86	52.92	52.86	53.02
	d	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73
10	2θ	54.80	54.74	54.74	54.68	54.66	54.66	54.72	54.76	54.84	54.62	54.68	54.78	54.74	54.74	54.78	54.90
	d	1.67	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.67	1.67	1.68	1.68	1.67	1.68	1.68	1.67	1.67
11	2θ		58.38	58.47	58.34	58.32		58.32		58.46	58.36		58.50	58.36	58.41		58.61
	d		1.58	1.58	1.58	1.58		1.58		1.58	1.58		1.58	1.58	1.58		1.57
12	2θ		59.18	59.13	59.09	59.06		59.33		59.38			59.31	59.18			
	d		1.56	1.56	1.56	1.56		1.56		1.56			1.56	1.56			
13	2θ				59.30												
	d				1.56												
14	2θ								64.53								
	d								1.44								
15	2θ	65.26	65.30	65.22	65.22	65.16	65.17	65.14	65.16	65.30		65.10	65.30	65.14	65.28		65.30
	d	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43		1.43	1.43	1.43	1.43		1.43
16	2θ							66.79									
	d							1.40									
17	2θ	70.02	70.07	70.14	70.00	70.08	69.95	70.24	69.95	70.18		70.04		70.12	70.12		70.21
	d	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34		1.34		1.34	1.34		1.34
18	2θ	72.48	72.44	72.34	72.42	72.46	72.43	72.59	72.38	72.50	72.42		72.60	72.46	72.40	72.38	72.66
	d	1.30	1.30	1.31	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30		1.30	1.30	1.30	1.30	1.30
19	2θ								72.74								
	d								1.30								
20	2θ		75.68	75.72	75.68	75.58				75.72			75.72	75.62			75.88
	d		1.26	1.26	1.26	1.26				1.26			1.26	1.26			1.25
21	2θ						80.44										
	d						1.19										
22	2θ			81.86													81.87
	d			1.18													1.18
23	2θ												83.32				
	d												1.16				
24	2θ		86.41	86.58	86.90				86.38				87.14				
	d		1.13	1.12	1.12				1.13				1.12				
25	2θ	88.75			88.54	88.60		88.41		88.45			88.71	88.61			
	d	1.10			1.10	1.10		1.10		1.10			1.10	1.10			

注:采用玻璃杯炮制(S1~S4,40~70℃)、砂锅碗炮制(S5~S8,40~70℃)、不锈钢碗炮制(S9~S12,40~70℃)和铁锅炮制(S13~S16,40~70℃)

2.2.4.2 平均值和中位数共有峰 采用Jade 6.0软件对朱茯苓饮片的XRD图谱进行寻峰处理,同时导入平均数对照图谱和中位数对照图谱。每次

寻峰前做一次平滑处理,以减少误判。将水飞朱砂XRD图谱及平均数与中位数对照XRD衍射图谱导入Jade软件,获得寻峰报告,根据寻峰报告获

得20峰位与相对强度值(I/I_0),选取强度较大的共有峰,进行对比分析,获得共有峰数目及相对强度,见表2。所对应的共有峰位置见图6。图6中

共有峰2之后的峰强度也很高,但不属于共有峰,此峰为表1中编号为3的峰,但由于样品S16无此峰,因此不属于共有峰。

表2 朱茯苓饮片共有峰的峰位(2θ)和相对强度 I/I_0 。

共有峰	2θ	d	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
1	26.65	3.35	84.5	86.0	91.2	88.4	86.8	89.9	87.7	92.1	90.1	92.0	98.7	90.6	94.5	97.6	100.0	83.2
2	28.32	3.15	116.5	112.2	127.0	118.3	123.9	127.8	119.6	120.0	106.5	129.6	139.1	113.0	147.0	164.8	143.0	126.5
3	43.94	2.07	72.5	67.1	80.2	72.1	55.8	68.6	83.3	79.8	52.0	104.0	79.5	88.4	58.0	73.3	81.0	85.7
4	45.91	1.97	61.3	58.8	72.5	74.1	56.5	58.5	61.0	78.3	70.0	79.6	77.3	86.3	69.3	62.9	70.3	86.9
5	51.87	1.76	55.4	55.4	58.9	62.9	53.7	52.6	50.3	64.0	56.6	62.3	52.6	72.0	65.1	58.9	57.7	71.4
6	52.86	1.73	47.7	46.6	64.6	59.2	46.2	54.5	47.7	60.6	49.5	63.2	51.3	81.2	49.5	51.3	53.8	71.8
7	54.74	1.68	110.7	101.5	154.2	125.0	100.7	113.2	108.4	140.5	125.2	130.6	113.2	177.9	130.5	126.0	122.9	167.9

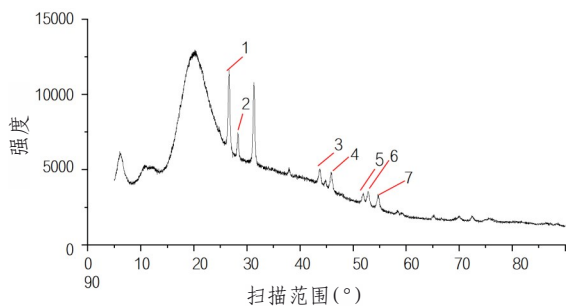


图6 朱茯苓饮片共有峰位置

2.2.5 相似度评价 采用叠加平均计算得到朱茯苓饮片的对照指纹图谱,根据朱茯苓饮片XRD指纹图谱中各特征峰峰位($2\theta/^\circ$)、相对强度(I/I_0),以各自均值为参照,采用Excel分别计算各样品相关系数和相似度(夹角余弦值)。相似度计算结果见表3。

表3 相似度计算结果

样品号	平均数法		中位数法	
	夹角余弦	相关系数	夹角余弦	相关系数
S1	0.9992	0.9919	0.9996	0.9955
S2	0.9980	0.9788	0.9983	0.9827
S3	0.9966	0.9700	0.9958	0.9627
S4	0.9990	0.9952	0.9987	0.9915
S5	0.9946	0.9557	0.9944	0.9534
S6	0.9979	0.9817	0.9977	0.9791
S7	0.9963	0.9614	0.9972	0.9711
S8	0.9980	0.9794	0.9978	0.9769
S9	0.9945	0.9479	0.9938	0.9405
S10	0.9948	0.9460	0.9956	0.9556
S11	0.9953	0.9535	0.9961	0.9413
S12	0.9838	0.8308	0.9825	0.8175
S13	0.9942	0.9592	0.9936	0.9538
S14	0.9908	0.9579	0.9908	0.9571
S15	0.9976	0.9387	0.9980	0.9525
S16	0.9911	0.9079	0.9901	0.8980

由相关系数结果可得,S12和S16的相关系数均小于0.910,而16份朱茯苓炮制品的夹角余弦值均大于0.980,因此采用夹角余弦值进行相似度分析,可建立朱茯苓饮片的XRD指纹图谱。同时可以发现,由不锈钢碗和铁锅炮制所得朱茯苓饮片样品的相关系数均小于0.960。

2.2.6 随机树分析 分别以16份朱茯苓饮片XRD指纹图谱共有峰的相对强度 I/I_0 为变量,利用Weka 3.7.13软件进行随机树分析(random tree),采用Training Set模式进行分析,以分析结果中的分类正确率(correctly classified instances)判断分类结果误差,正确率越高,分类越准确。分析后得到分类结果,此分类的正确率为100%,分类结果见图7。每一种药品都对应于特定的相对强度值,分类时主要采用共有峰1和共有峰2的相对强度值进行分类,从分类结果发现,采用同一炮制容器所得朱茯苓饮片的共有峰值相近,如S1和S2、S6和S7、S13和S14样品。

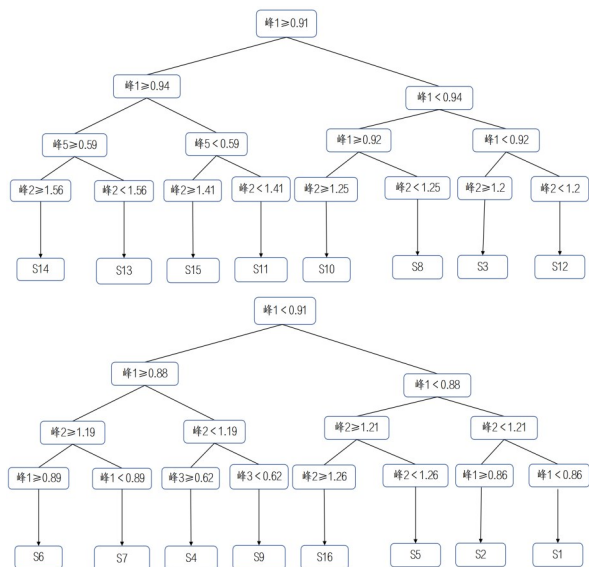


图7 随机树分类结果

2.2.7 聚类分析 选择朱茯苓饮片的XRD衍射指纹图谱中7个共有峰,根据表2中的数据,用SPSS 18.0软件中的系统聚类(hierarchical cluster)方法对朱茯苓进行聚类分析,得到聚类分析结果见图8。聚类分析结果显示,当距离为1时,S1和S2为一类,S11和S15为一类;当距离为2时,S1、S2和S5为一类,S3和S4为一类,S6和S7为一类;当距离为3.5时,样品S1、S2与S5、S6、S7为一类;当距离为4.5时,S13和S14为一类,S12和S16为一类;当距离为5时,S3、S4和S8、S10为一类;当距离为6时,S1、S2和S5、S7、S8、S9为一类,S11和S13、S14、S15为一类;当距离为25时,所有样品归为一类。在这一结果中,可以发现当距离比较小时,玻璃杯和砂锅碗炮制的朱茯苓饮片样品归为一类,不锈钢碗和铁锅炮制的朱茯苓饮片样品归为一类,同时炮制时烘干温度相近的朱茯苓饮片归为一类。说明不同炮制容器和烘干温度得到的XRD谱图有一定区别。此结果与随机树分析结果基本一致。

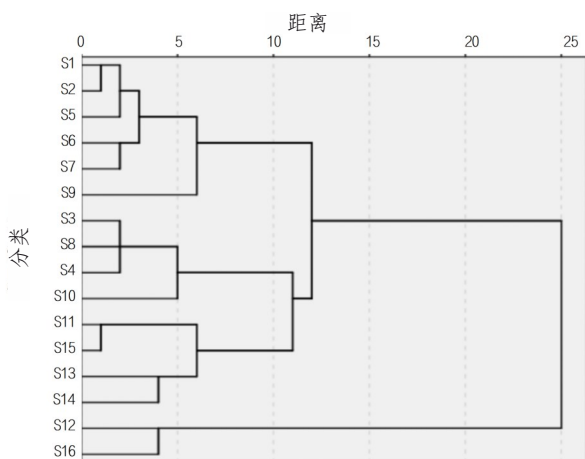


图8 XRD测试聚类分析结果

2.2.8 主成分分析 分别以16份朱茯苓饮片XRD衍射指纹图谱共有峰的相对强度 I/I_0 为变量,利用The Unscrambler 9.7软件进行主成分分析,得到朱茯苓饮片主成分分析图。分析时以特征值 $\lambda > 1$ 为指标,得到2个主成分,贡献率分别为56%和25%,累计方差贡献率为81%。由主成分因子载荷图(图9)可知,主成分1和主成分2可以代表朱茯苓饮片X射线衍射图谱共有峰的大部分信息,具有较好的代表性。各共有峰的相对强度数据信息经标准化处理后,得到主成分得分图,见图10。样品可以基本分为四类,S1、S2和S5、S6、S7、S9为一类,S11、S13、S14、S15为一类,S3、S4、S8、S10为一类,S12和S16为一类。从这一分类结

果可以发现,玻璃杯和砂锅碗炮制的朱茯苓饮片样品为一类,不锈钢碗和铁锅炮制的朱茯苓饮片样品为一类,同时炮制时烘干温度相近的朱茯苓饮片为一类,与聚类分析结果基本一致。

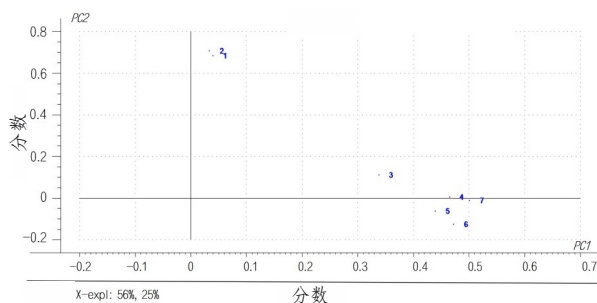


图9 XRD结果的主成分因子载荷

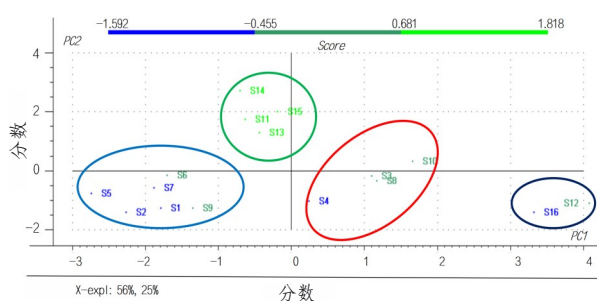


图10 XRD结果的主成分分析得分

2.3 重金属含量测定方法

2.3.1 ICP-MS工作条件 ICP-MS工作条件见表4。

表4 ICP-MS工作参数

参数	工作值	参数	工作值
等离子气流量	15.0 L/min	采样深度	10 mm
蠕动泵	0.10 r/s	扫描次数	100 e
雾化室温度	2 ℃	冷却气流速	15 L/min
载气流量	0.8 L/min	辅助气流速	0.9981 L/min
射频功率	1550 W	积分时间	0.02 s

2.3.2 溶液制备 供试品溶液制备:精密称取样品0.2 g,分别置于微波消解罐中,加硝酸8.0 mL。消解程序:5 min升温至120 ℃,保持10 min;5 min升温至185 ℃,保持25 min;消解结束后,冷却至85 ℃以下,取出消解罐,放冷,将消解液转入50 mL量瓶中,用水洗涤消解罐3次,洗液合并至量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

标准溶液制备:定量分析所用内标标准溶液为精密量取的Ge、In、Bi标准溶液适量,用水稀释制成浓度均为1 μg/mL的混合溶液。精密取含Mn、Cu、As、Hg、Pb的标准溶液适量,用10%硝酸溶液稀释制成含Cu、As、Pb为0、2、5、10、20、50 ng/mL(其中含Mn为0、20、50、100、200、500 ng/mL;Hg为0、

100、500、1000、5000、10 000、50 000 ng/mL)的混合标准溶液。

2.3.3 测定方法和线性、检出限 对16种朱茯苓饮片进行定量分析,对上述各标准溶液在工作条件下进行ICP-MS测定,仪器给出各元素的工作曲线及线性关系。取空白标准溶液进行测试,连

续进样12针,以空白标准溶液测定值的3倍标准偏差除以相应元素灵敏度,得到该元素的检测限。线性回归方程、相关系数 r 及检测限见表5。结果表明各元素标准曲线线性相关系数为0.9993~0.9998,表明该方法线性关系均良好。

表5 重金属元素线性方程、相关系数和检测限结果

序号	重金属	线性回归方程	r	线性范围(ng/mL)	检测限(ng/mL)
1	Mn	$Y=0.2589X-0.3487$	0.9993	0~500	0.035
2	Cu	$Y=0.1229X+0.142$	0.9997	0~50	0.012
3	As	$Y=0.1213X+0.0806$	0.9996	0~50	0.008
4	Hg	$Y=2.9252X-326.21$	0.9998	0~50000	0.041
5	Pb	$Y=0.1174X+0.0165$	0.9996	0~50	0.005

2.4 重金属含量测定结果

2.4.1 方法学考察

2.4.1.1 精密度试验 在选定测试条件下,分别吸取混合标准品溶液,连续进样6次,分别计算5种重金属元素峰强度RSD值。各分析元素质量分数RSD为0.99%~2.14%,表明该方法精密度良好。

2.4.1.2 稳定性试验 取样品0.2 g(共6份),精密称量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h,测定各元素质量分数。RSD为0.52%~2.15%,表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.4.1.3 重复性试验 取样品0.2 g(共6份),精密称量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,在所选条件下测定各元素质量分数。RSD为0.79%~

2.26%,可满足实验的要求。

2.4.1.4 加样回收率试验 取样品0.2 g(6份),精确称量,分别加入适量已测定的各元素标准溶液。照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,在所选测试条件下测定。回收率为98.2%~106.7%,RSD<3%。

2.4.1.5 16种朱茯苓饮片种重金属含量测定 取16种朱茯苓饮片样品,前处理后检测,每个样品平行测定3份,采用平均值表示,测定样品中各元素含量。实际样品中各元素含量测定值见表6。由表6可知,不同炮制容器和烘干温度所得朱茯苓的Mn、Cu、As等重金属含量存在一定差异,其中Mn和Hg含量差别较大,其他差别较小。

表6 朱茯苓饮片重金属含量测定结果

样品编号	Mn(μg/g)	Cu(μg/g)	As(μg/g)	Hg(mg/g)	Pb(μg/g)	样品编号	Mn(μg/g)	Cu(μg/g)	As(μg/g)	Hg(mg/g)	Pb(μg/g)
S1	5.001	1.494	1.382	1.327	2.074	S9	21.764	1.888	1.661	9.283	2.005
S2	6.357	0.903	1.224	2.078	1.282	S10	19.917	2.458	1.845	7.517	3.881
S3	6.263	1.322	1.065	2.706	0.773	S11	25.682	1.105	2.979	13.957	4.735
S4	7.010	1.745	1.588	6.833	1.299	S12	39.859	1.794	4.912	26.519	3.900
S5	8.205	1.979	1.885	2.867	1.547	S13	15.430	1.909	1.304	10.401	1.588
S6	7.664	1.768	1.056	1.186	1.208	S14	22.002	1.674	2.621	10.575	2.237
S7	10.517	2.163	1.266	6.122	0.929	S15	21.788	1.006	3.817	15.400	1.474
S8	13.208	1.101	1.281	8.294	1.320	S16	28.831	0.920	4.193	13.312	1.973

2.4.2 聚类分析 使用SPSS 18.0软件对16份样品的5种重金属元素含量进行系统聚类分析,采用欧氏距离法进行计算^[18],结果见图11。S2、S3、S8聚为一类,S4~S7聚为一类,S1单独聚为一类,同时S1~S8聚为一类。S11和S12聚为一类,S5和S16聚为一类,S11、S12、S15、S16聚为一类。

S9、S13、S14聚为一类,S10单独聚为一类。

2.4.3 主成分分析 采用The Unscrambler 9.7软件对16份样品的5种重金属元素含量进行主成分分析,得到朱茯苓饮片的主成分分析图。分析时以特征值 $\lambda > 1$ 为指标,得到2个主成分,贡献率分别为66%和22%,累计方差贡献率为87%。

由主成分因子载荷图(图12)可知,主成分1和主成分2可以代表大部分信息,具有较好代表性。数据经标准化处理后,得到主成分得分图,见图13。样品可以基本分为三类,S1~S8为一类,S9、S10、S13、S14为一类,S11、S12、S15、S16为一类。从这一分类结果可以看出,玻璃杯和砂锅碗炮制的朱茯苓饮片样品为一类,不锈钢碗和铁锅炮制的在同一温度烘干的朱茯苓饮片样品为一类,与聚类分析结果基本一致。

2.4.4 相关性分析 由于重金属含量结果中,Hg含量较高,而且不同炮制容器所得朱茯苓饮片中的Hg含量有一定差异,基于主成分分析结果,进行主成分得分(Z)和Hg含量的相关性分析,结果见图14,相关系数 $r > 0.999$,故可用Hg含量值对16种朱茯苓饮片进行分类表征。由图15可得,炮制容器为玻璃杯和砂锅所得朱茯苓饮片与炮制容器为铁锅和不锈钢锅所得朱茯苓饮片所测得的Hg含量差别较大。由图16可得,采用铁锅和不锈钢锅进行炮制时,在60℃和70℃烘干温度下所得朱茯苓饮片的Hg含量差别不大,与其他烘干温度下所得朱茯苓饮片的Hg含量有较大差别。

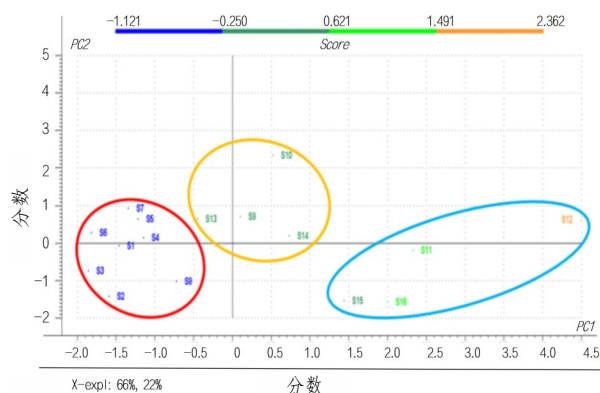


图13 重金属含量的主成分分析结果

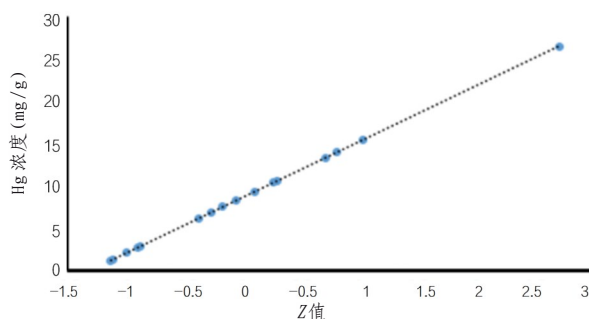


图14 主成分得分Z与Hg含量的相关性

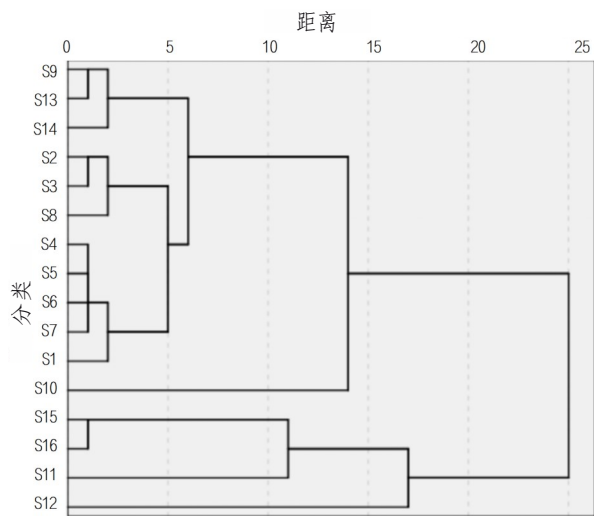


图11 重金属含量聚类分析结果

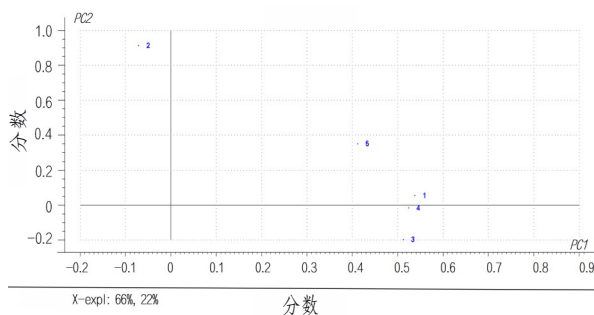
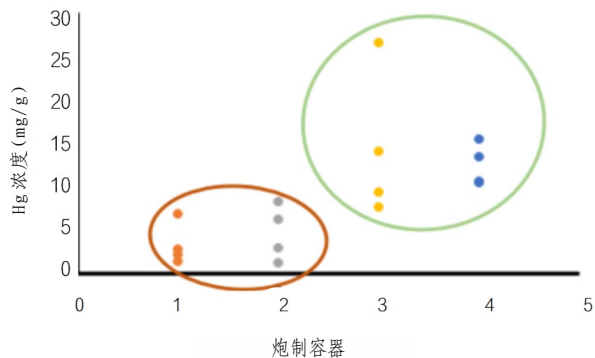
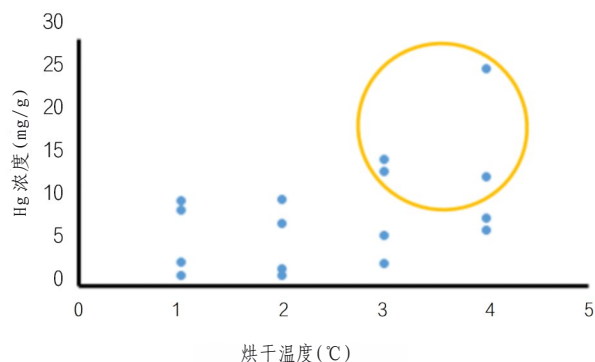


图12 重金属含量的主成分分析载荷



注:1为玻璃杯,2为砂锅碗,3为铁锅,4为不锈钢锅
图15 不同炮制容器所得朱茯苓的Hg含量范围



注:1为40℃,2为50℃,3为60℃,4为70℃
图16 不同烘干温度下所得朱茯苓的Hg含量范围

3 讨论

本研究通过XRD衍射图谱对16种朱茯苓饮片

进行物相定性检索分析,采用找寻共有峰及相似度评价等方式,建立朱茯苓饮片的XRD衍射图谱,朱茯苓饮片中含有朱砂,HgS是朱砂主要成分,因此朱茯苓饮片也以HgS为其主要物相。

通过随机树分析、聚类分析及主成分分析,对采用不同炮制容器和不同烘干温度的朱茯苓饮片进行区分,结果表明不同炮制容器、不同烘干温度所得朱茯苓饮片有一定差别。相似度结果表明,不锈钢碗和铁锅炮制所得朱茯苓饮片的相关系数值均低于玻璃杯和砂锅碗炮制所得,聚类分析结果和主成分分析结果表明相同烘干温度的朱茯苓饮片为一类,这可能由于朱茯苓中的HgS在炮制过程中受炮制容器或烘干温度影响,发生了变化。

在聚类分析和主成分分析时,将S12和S16归为一类,这可能由于朱茯苓中朱砂在高温时,其中所含HgS发生了变化。而且在相似度分析时,不锈钢碗和铁锅炮制得到的朱茯苓相关系数低于玻璃杯和砂锅碗炮制得到的朱茯苓饮片,其中S12为不锈钢碗炮制而得,中位数相关系数为0.8175,S16为采用铁锅炮制而得,中位数相关系数为0.8980,均比较低,这可能是因为在炮制过程中,朱茯苓饮片里面朱砂的一些成分和铁或者不锈钢发生了化学反应。因此认为不锈钢碗和铁锅可能不适合作为朱茯苓饮片的炮制容器。

朱茯苓饮片中因含有朱砂,朱砂的主要成分是HgS,因此在重金属含量测定结果中,与其他元素含量测定结果相比,Hg元素含量较高。聚类分析、主成分分析和相关性分析结果表明,不同炮制容器和烘干温度下,朱茯苓饮片的重金属含量有一定差异,同时炮制容器为玻璃杯和砂锅碗所得朱茯苓饮片的重金属含量差异不大。以Hg含量作为指标,不锈钢锅和铁锅炮制所得朱茯苓饮片Hg含量较高,而玻璃杯和砂锅碗炮制所得朱茯苓饮片Hg含量较低。

该研究基于XRD测试结果和ICP-MS重金属含量测定结果,分析不同炮制容器和烘干温度所得朱茯苓饮片的差异,结果表明玻璃杯和砂锅碗可能更适合作为朱茯苓饮片炮制所用容器,烘干温度宜较低,此两种方法为朱茯苓饮片炮制方法的优化和质量控制提供了合理方法。

参考文献

- [1] 郭玉凡,连树利. 饮片类朱砂拌衣刍议[J]. 河南中医药学刊,1996,11(2):63-64.
- [2] 周超凡,林育华. 传统中药朱砂应用概况及其安全性[J]. 药物不良反应杂志,2008,10(3):184-189.
- [3] 汤明启. 朱砂拌衣类中药饮片的临床应用探讨[J]. 湖北中医杂志,2022,44(6):53-55.

- [4] 冉懋雄,郭建民. 现代中药炮制手册[M]. 北京:中国中医药出版社,2002:1020.
- [5] 安徽省药品监督管理局. 安徽省中药饮片炮制规范[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2019:135.
- [6] 崔晓慧,陈龙,陈科力. 矿物药硼砂的X射线衍射与拉曼光谱鉴别[J]. 中药材,2017,40(2):306-310.
- [7] 陈龙,明晶,曹艳,等. 24份紫石英样品的XRD谱分析[J]. 中药材,2016,39(1):42-47.
- [8] 李蕾,王兴达,王颖,等. 铁屑X射线衍射Fourier指纹图谱研究[J]. 中草药,2018,49(5):1061-1067.
- [9] 朱林燕,谢建锋,孔子铭,等. 藏药奶制南寒水石X-射线衍射指纹图谱及其在微波炮制中的应用[J]. 中国中药杂志,2015,40(10):1948-1952.
- [10] 黄必胜,明晶,陈科力. X射线衍射指纹图谱在矿物药中的研究进展[J]. 中南民族大学学报(自然科学版),2015,34(4):45-49.
- [11] 杨新萍. X射线衍射技术的发展和应[J]. 山西师范大学学报(自然科学版),2007,21(1):72-76.
- [12] 周蓓,武暄,蒋勇,等. 重庆产青蒿药材中微量元素与有效成分含量评价及其相关性分析[J]. 西南大学学报(自然科学版),2013,35(10):159-164.
- [13] 李蓉蓉,张俊杰,李昆,等. ICP-MS法分析脑震宁颗粒无机元素组成[J]. 中草药,2019,50(10):2347-2354.
- [14] 顾捷,梅光明,黄丽英,等. 三疣梭子蟹肌肉组织微量元素的ICP-MS半定量分析方法研究[J]. 山东化工,2017,46(21):97-100.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:137.
- [16] 杨丹,刘圣金,燕珂,等. 朱砂药材及饮片X射线衍射Fourier指纹图谱研究[J]. 中药材,2018,41(12):2767-2773.
- [17] 李蕾,王兴达,韩泳平. 朱砂生品和炮制品X-射线衍射Fourier指纹图谱比较研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版),2018,44(6):568-575.
- [18] 李翔宇. 羽毛角蛋白再生及成丝性能研究[D]. 上海:东华大学,2013.

收稿日期:2024-07-12

*基金项目:国家自然科学基金青年基金(31901002);江苏省卫生健康委医学科研项目(Z2019051);苏州市科技局民生科技项目(SYSD2018072);2024年江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人培养项目;深圳福田区卫生公益科研项目(FTWS2019024, FTWS2020050)。

作者简介:钟其新(1987—),男,主治医师。研究方向:老年病的中医诊治。

△通讯作者:周扬(1989—),女,博士学位,副教授。研究方向:中药制剂研究。Email:catzysheep@163.com。