

珍珠和珍珠母的微量元素测定及其比较分析

李尚蓉^{1,2} 张静娴² 姚 帅² 果德安² 吴婉莹²

(1 长春中医药大学, 长春, 130117; 2 中国科学院上海药物研究所中药现代化中心, 上海, 201203)

摘要 目的:全面测定珍珠和珍珠母中的微量元素,对其在2味药材中的分布情况进行比较分析,找出差异性。方法:采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法和电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法对8批珍珠和9批珍珠母中24种微量元素进行测定,并运用SIMCA-P+13.0软件,采用主成分分析法(Principal Component Analysis, PCA)和正交偏最小二乘-判别分析法(Orthogonal Partial Least Squares-discriminant Analysis, OPLS-DA)对测定结果进行统计分析。结果:在24种微量元素中,珍珠和珍珠母中共检测出了16种,其中Ca含量最高,其次是Na, Mn, Sr, Mg, Fe。PCA得分图显示2味药材可以明显区分开,OPLS-DA结果表明二者差异较大的微量元素为Na。结论:本研究全面阐明了珍珠和珍珠母中微量元素和二者的差异性,为珍珠粉与贝壳粉的区分提供了依据,同时为二者的质量控制提供了参考。

关键词 珍珠;珍珠母;微量元素;PCA;OPLS-DA

Comparative Study of Trace Elements in Pearls and Nacres

Li Shangrong^{1,2}, Zhang Jingxian², Yao Shuai², Guo De-an², Wu Wanying²

(1 Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2 Shanghai Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract Objective: To comprehensively compare and detect the trace elements of pearls and nacres in the purpose of finding their differences. **Methods:** ICP-MS and ICP-OES were used to determine the 24 kinds of trace elements in 8 batches of pearls and 9 batches of nacres. The results were taken to principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) by using SIMCA-P + 13.0 software to analyze the distribution of the trace elements in the two drugs and also to detect the discriminatory constituents. **Results:** Among the 24 kinds of trace elements, 16 were detected in both pearls and nacres. It was found that Ca was the most abundant one, which was followed by Na, Mn, Sr, Mg, and Fe. The scatter plot from PCA indicated that pearls and nacres can be easily discriminated, as is proved by the result from OPLS-DA, which showed that the most discriminatory element was Na. **Conclusion:** The study described the distribution and differences in the trace elements between pearls and nacres, and provided important information for the differentiation of pearl powder and conch powder. This also can be taken as the reference to the quality control of the two drugs.

Key Words Pearl; Nacre; Trace element; PCA; OPLS-DA

中图分类号:R286.0 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.10.037

珍珠母和珍珠分别为珍珠贝科动物马氏珍珠贝 *Pteria martensii* (Dunker)、蚌科动物三角帆蚌 *Hyriopsis cumingii* (Lea) 或褶纹冠蚌 *Cristaria plicata* (Leach) 等双壳类动物的贝壳及受刺激形成的结晶体,二者均为传统中药,能够安神定惊、明目退翳,另外,珍珠母还具有平肝潜阳,珍珠还具有解毒生肌、润肤祛斑等功效^[1-4]。对于珍珠和珍珠母的化学组成,研究表明二者主要成分均为碳酸钙、角壳蛋白及微量元素等^[5-6],其中,碳酸钙含量在90%以上,二

者无明显差别,难以区分。文献曾报道过珍珠和贝壳类药材中的微量元素^[7-8],但测定种类不够全面,缺乏系统比较,难以找出珍珠粉与贝壳粉的差异。因此,我们在文献调研的基础上,采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法和电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法测定珍珠和珍珠母中24种微量元素的含量,并采用SIMCA-P+13.0软件对测定结果进行统计分析,揭示二者微量元素分布情况和差异性。

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(编号:2013AA093002)——“海洋传统药源生物(中药)资源开发利用”

作者简介:李尚蓉(1988—),女,硕士研究生,研究方向:中药分析,E-mail:lishangrong1988@163.com

通信作者:吴婉莹(1973.6—),女,博士,研究员,中药现代化中心副主任,研究方向:中药质量标准,Tel:(021)50806600-2221,E-mail:wanyingwu@simm.ac.cn

1 资料与方法

1.1 一般资料 珍珠和珍珠母药材信息见表 1, 样品经上海药物研究所果德安研究员鉴定为蚌科动物三角帆蚌的贝壳及所产珍珠。硝酸为(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 水由 Mili-Q 超纯水仪制备。

表 1 珍珠和珍珠母药材信息

珍珠编号	来源	收集日期	珍珠母编号	来源	收集日期
1	山东	2012. 9	1	山东	2012. 9
2	山东	2012. 9	2	山东	2012. 9
3	四川亳州	2013. 11	3	山东	2012. 9
4	四川亳州	2013. 11	4	山东	2012. 9
5	湖南常德	2013. 11	5	山东	2012. 9
6	浙江金华	2013. 11	6	山东	2012. 9
7	浙江金华	2013. 11	7	浙江	2013. 11
8	福建福州	2013. 11	8	浙江	2013. 11
			9	湖南常德	2013. 11

7900 电感耦合等离子体质谱仪 (Agilent, 美国); 720 电感耦合等离子体发射光谱仪 (Agilent, 美国); 电子天平 (Satorius CP124 S, 北京赛多利斯有限公司); 粉碎机 (MF10 B S 25 IKA)。

1.2 方法

1.2.1 微量元素测定 将珍珠和珍珠母样品粉碎, 分别称取样品粉末 0.3 g 于微波消解罐中, 加入 5 mL 浓硝酸, 经微波消解后冷却至室温, 消解所得溶液用超纯水定容至 25 mL。采用 ICP-MS 法, 测定 Be, V, Cr, Co, Ni, As, Cd, Sb, Sn, Ba, Pb, Zn, Sr, Hg 和 Pd 15 个微量元素, 采用 ICP-OES 法, 测定 Li, Cu, Ti,

Bi, Ca, Na, Fe, Mg 和 Mn 9 个微量元素, 仪器参数如表 2 所示。

表 2 仪器参数

ICP-MS		ICP-OES	
项目	参数	项目	参数
功率	1.5kW	功率	1.2kW
等离子流	15.0 L/min	等离子流	15.0 L/min
雾化器流量	0.8 L/min	辅助气流	2.25 L/min
载气流速	0.1 rps	雾化器流量	0.75 L/min
样品加载速率	0.5 rps	分析泵流速	15rpm
样品加载时间	30sec	冲洗泵率	50rpm
探头冲洗速率	0.1 rps	复制时间	3
冲洗瓶	1	稳定时间	20s
冲洗吸收速率	0.5 rps	清洗时间	20s
冲洗吸收时间	10sec	延迟时间	20s
冲洗稳定速率	0.1 rps	阅读时间	7s
每点积分时间	0.1 sec	代码检测模式	Point Sum 2 points
采集时间重复	1	背景校正	Fitted

1.2.2 统计分析 采用 SIMCA-P + (Version 13.0, Umetrics, Umea, Sweden) 软件对测定结果进行 PCA 和 OPLS-DA 分析, 了解微量元素在 2 味药材中的分布情况, 并找出二者的差异性。

2 结果

2.1 微量元素测定 采用 ICP-MS 和 ICP-OES 测定珍珠和珍珠母中的 24 种微量元素, 结果显示其中 8 种元素包括 Co, Sn, Sb, Li, Be, V, Bi 和 Cd 在珍珠和珍珠母中未检测出来, 另外 16 种元素含量结果如表 3 所示, 可以看出 Ca 元素含量最高, 其次是 Na, Mn, Sr, Mg, Fe。

表 3 微量元素测定结果 (mg/kg)

Sample *	Ca	Zn	Na	Fe	Mg	Mn	Sr	Cu	B	Ba	Ti	Pb	Hg	As	Cr	Ni
ZZ1	39300	2.0	2520	49.0	67.5	552	334	0	0	97	0	0.13	10.60	0	3.8	1.8
ZZ2	38200	0	2650	16.0	30.8	467	314	0	0	78	0	0	0	0	2.3	1.6
ZZ3	39100	0	2560	8.0	24.8	514	341	0	0	85	0	0	0.65	0	1.7	1.0
ZZ4	37800	0	2560	11.0	19.2	516	365	0	0	76	0	0	0	0	1.7	1.0
ZZ5	38300	0	2620	5.0	21.4	523	341	0	0	70	0	0	0	0	1.0	0.4
ZZ6	38900	1.0	2620	16.0	36.3	489	306	0	0	88	0	0	0	0	2.0	0.9
ZZ7	40500	0	2570	9.0	25.6	328	341	0	0	61	0	0	0	0	1.6	0.4
ZZ8	38500	0	2630	12.0	19.6	500	341	0	0	93	0	0	0	0	2.8	1.3
ZZM1	42300	1.2	3280	89.3	32.6	488	377	0	5.7	55.1	0	0	0	0.49	4.4	2.1
ZZM2	43900	1.8	3170	63.9	56.1	891	397	0	4.3	64	0	0.25	0	0.58	2.2	1.6
ZZM3	41600	3.1	2910	127	46.6	668	379	1.0	2.5	56.4	4	0.27	0	1.40	3.6	1.7
ZZM4	43000	2.9	2910	36.6	33.1	399	376	1.0	1.7	47.9	0	0.49	0	3	2.2	1.3
ZZM5	42000	6.6	3020	49.6	34.4	329	383	1.0	0	45.1	0	0.84	0	4.90	1.2	0.6
ZZM6	41200	4.2	3020	53.4	41.1	424	383	1.0	0	46.1	0	1.20	0	5.40	0.6	0.5
ZZM7	42600	2.0	3140	37.5	25.0	484	366	1.0	0	58.6	0	0.21	3.2	0.27	1.3	0.7
ZZM8	41900	1.4	3130	11.4	13.1	542	368	0	0	58.9	0	0	0.2	0	1.6	0.7
ZZM9	42700	2.0	3070	36.5	19.6	179	267	1.0	0	26.7	0	0	0	0	3.5	1.7

注: * ZZ: 珍珠, ZZM: 珍珠母。

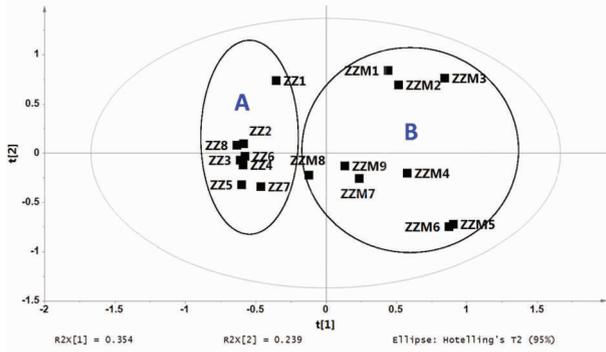


图1 珍珠和珍珠母 PCA 得分图

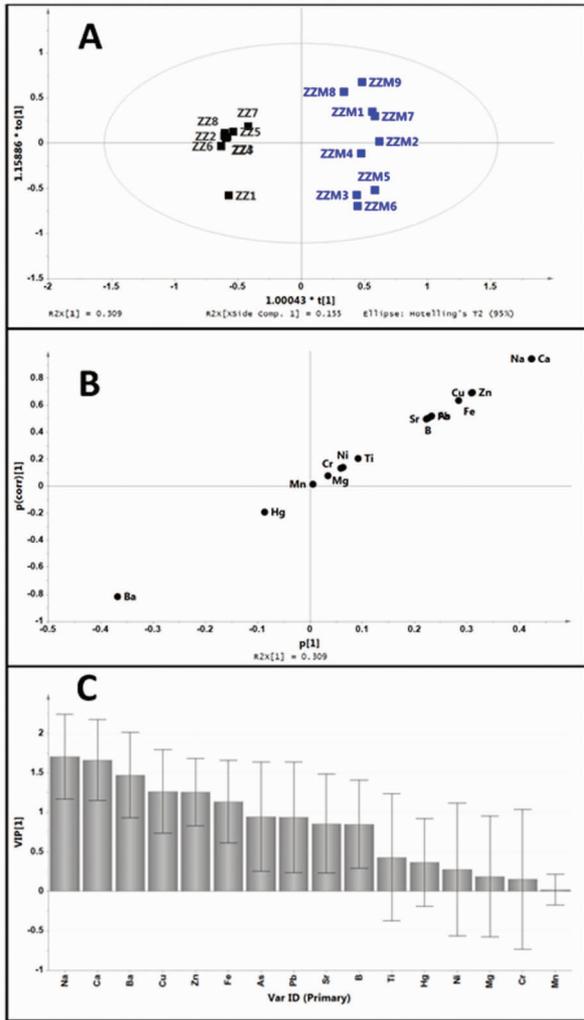


图2 珍珠、珍珠母 OPLS-DA 散点图
(A)得分图, (B)S 曲线图, (C)VIP 图

2.2 多元统计分析 主成分分析 (PCA) 是一种无监督的多元统计分析方法,它是采用降维的方式将多个变量减至为少数几个新的变量,并尽可能多地反映原始样本的信息,通过散点图可以直观分析样品的分类情况,并初步了解差异性指标^[9]。本文首先对微量元素测定结果进行了 PCA 分析,采用了 UV scaling 的前处理方法,前 2 个主成分的累积方差贡献率为 59.3% (PC1 35.4%, PC2 23.9%), 结

果如图 1 所示,珍珠和珍珠母样品可以区分开,分别分布在组 A 和组 B 中,说明二者的微量元素分布存在差异。为了进一步确定差异性微量元素,本研究采用了监督的正交偏最小二乘-判别分析法 (OPLS-DA)^[9]对实验结果进行统计分析,采用了 UV scaling 的前处理方法,该模型的主要参数为 $R^2 = 0.958, Q^2 = 0.906$ 。结果如图 2 所示,从图 2A 得分图中可以看出 2 味药材明显地区分开;在图 2B 中 S 型曲线图两端的成分对分类结果影响显著,主要包括了微量元素 Na, Ca 和 Ba;另外, OPLS-DA 模型提供了变量重要性投影 (Variable Influence on Projection, VIP) 值,如图 2C 所示,可以看出对分类影响最大的成分是 Na 元素,其次是 Ca 和 Ba。图 3 提供了 3 个差异性微量元素在珍珠和珍珠母中的分布,可以看出在珍珠母中 Na 和 Ca 的含量明显高于珍珠,而 Ba 的含量在珍珠中偏高。

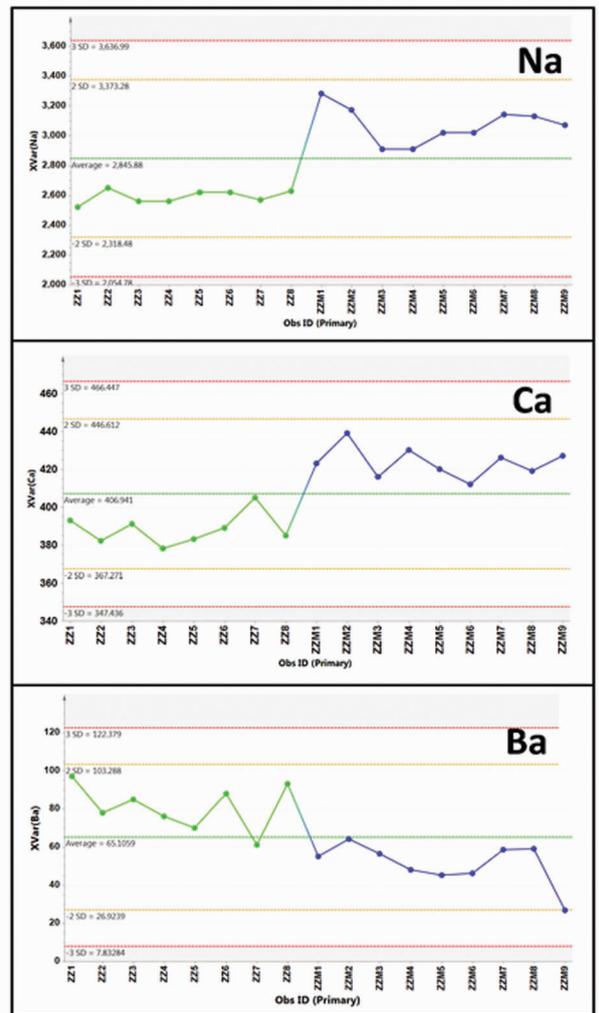


图3 微量元素 Na、Ca 和 Ba 在珍珠和珍珠母中的分布图

3 讨论

本文采用 ICP-MS 和 ICP-OES 法对珍珠和珍珠

母中 24 个微量元素进行了测定,包括 Be、V、Cr、Co、Ni、As、Cd、Sb、Sn、Ba、Pb、Zn、Sr、Hg、Li、Cu、Ti、Bi、Ca、Na、Fe、Mg 和 Mn,这是目前对 2 味药材中微量元素最全面的报道。结果显示在所分析样品中共检测出了其中 16 种,另外 8 种包括 Co、Sn、Sb、Li、Be、V、Bi 和 Cd 未检测出来,2 味药材所含微量元素的分布规律基本一致,Ca 元素含量最高,其次是 Na、Mn、Sr、Mg 和 Fe。

很多研究证明,微量元素具有很重要的疾病治疗和保健功能,例如 Mn 可以防治心血管疾病和调节神经系统,并促进人体对 Ca 的吸收^[10];Ge 具抗肿瘤作用^[10];Fe 可用于改善贫血症状^[10]等。珍珠和珍珠母的药理活性与其含有丰富的微量元素密切相关,研究表明珍珠母等贝壳类药物可作为补钙剂,其不仅可防治各种缺钙引起的疾病,如抽筋、骨质疏松、痴呆病等,还具有低免疫原性、良好的生物相容性、可降解性、骨传导性和较好的成骨作用,可作为生物骨的替代材料^[11]。另外,据文献报道,Fe、Mg、Mn、Sr 等与珍珠母的平肝潜阳功效相关^[12-13],Fe、Mn、Ca 等元素与镇静安神作用^[14-15]相关。

我们又进一步采用了 SIMCA-P+ 软件对测定结果进行了 PCA 和 OPLS-DA 分析,全面地了解 2 味药材中微量元素的分布情况,并找出二者的主要差异性成分。从 PCA 分析结果看,珍珠和珍珠母能够区分,可见二者所含微量元素的分布存在差异,OPLS-DA 分析结果显示主要差异性成分为 Na、Ca 和 Ba,其中元素 Na 的差异性最为显著。可见根据微量元素的差异性可以将二者很好地区分,就目前结果来看,每千克珍珠中含 Na 在 2 500~2 700 mg,而每千克珍珠母中含 Na 元素为 2 900~3 300 mg。

本研究提供了珍珠和珍珠母的微量元素分布情况,并找出了二者的差异性成分,为 2 味药材的质量控制提供了重要参考数据,同时也为珍珠粉与其他贝壳粉的质量鉴别提供了科学实用的研究方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:215-216.
- [2] Dai JP, Chen JB, Yu F, et al. Effects of pearl powder extract and its fractions on fibroblast function relevant to wound repair[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2010, 48(2):122-127.
- [3] Shen, YT, Zhu J, Zhang HB, et al. In vitro osteogenetic activity of pearl[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(2):281-287.
- [4] Xu H, Huang K, Gao Q, et al. A study on the prevention and treatment of myopia with nacre on chicks[J]. *Pharmacological Research*, 2001, 44(1):1-6.
- [5] 邱红,刘彦钦,韩士田. 卟啉在医学上的应用研究进展[J]. 河北师范大学学报:自然科学版,2000,24(4):497-500.
- [6] 张杰魁,陈治清. 珍珠及其在生物医学等领域中的研究进展[J]. 天然产物研究与开发,1996,8(2):63-68.
- [7] 谭晓梅,王新雨,张明明,等. 5 种贝壳类动物药及其煎出物中微量元素含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):61-63.
- [8] 陈红,朱蓉,陈鸿平. ICP-MS 法测定贝壳类药材中的微量元素[J]. 华西药理学杂志,2012,27(4):465-466.
- [9] 阿基业. 代谢组学数据处理方法——主成分分析[J]. 中国临床药理学与治疗学,2010,15(5):481-489.
- [10] 董娜,梁婧,刘雨晴,等. 珍珠粉中微量元素测定[J]. 安徽农业科学,2011,39(1):315-316.
- [11] 陈士勇,王令充,嵇晶,等. 双壳类贝壳的应用研究进展[J]. 中国海洋药物,2011,30(1):58-64.
- [12] 张永萍,陈彤. 生煅龙骨牡蛎混制品及其煎出液中 8 种元素含量研究[J]. 微量元素与健康研究,1995,12(2):27-28.
- [13] 吴德康,吴启南,叶冠,等. 石决明成分与结构的分析研究[J]. 中草药,2000,31(12):87-88.
- [14] 张玉芝. 镁与神经系统疾病[J]. 微量元素与健康研究,2001,18(4):73-75.
- [15] 罗炳镛. 中药微量元素的作用[J]. 中药材,1990,13(2):41-44.

(2015-02-04 收稿 责任编辑:王明)