

# 红景天饮片质量状况评估及非标方法研究

陈慧芝, 宋乐, 赵殊璇, 尹予希, 薛慧萍\*

(乌海检验检测中心, 乌海 016000)

**摘要:** **目的** 全面评估红景天质量状况及探索特征图谱有害物质筛查非标分析方法。**方法** 采用高效液相色谱性分析特征图谱和两种活性成分定量、ICP-MS 分析重金属元素含量、开展对照药材薄层鉴别。**结果** 红景天饮片水分、总灰分和浸出物含量在不同规格间无显著规律, 水分 7.7%~10.7%、总灰分 3.5%~6.3%、酸不溶性灰分 0.6%~1.7%、浸出物 26.2%~52.6%; 红景天苷含量 0.75%~1.49%; 重金属 Cu  $\leq$  0.95 mg/kg、Cd  $\leq$  0.06 mg/kg、Hg  $\leq$  0.02 mg/kg、As  $\leq$  0.42 mg/kg、Pb  $\leq$  2.79 mg/kg。法定标准检测所得结果均在规定的范围内, 样品质量状况良好, 非标方法中增加了特征成分分析、重金属有害物质筛查和薄层鉴别。**结论** 本文建立的非标方法提升了红景天的质量控制水平, 同时显微镜下发现红景天部分样品存在菌丝组织, 为该品种是否存在菌类共生提供了参考。

**关键词:** 红景天质量分析; 特征图谱; 金属元素

## 0 引言

红景天为临床常用药材, 具有提高免疫力和抗氧化的功效, 抗疲劳作用较显著<sup>[1]</sup>。红景天在国家标准<sup>[2-6]</sup>中质量控制指标为性状鉴别、显微和薄层鉴别、总灰分和水分的检查、酸不溶性灰分的检查、浸出物和含量测定。特征指标单一, 鉴别项专属性和安全性指标不足<sup>[7]</sup>。本文通过对从市场上收集的 24 批次样品检测分析, 对红景天的质量状况进行了较全面的考察, 以提升质量控制水平。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

ICAP-RQ 电感耦合等离子体质谱仪(Thermo 公司); 微波消解仪 ETHOS UP; Pb、Cd、As、Cu 标准储备液(1000  $\mu$ g/mL, 上海安谱瑞世标准技术服务有限公司); 标准储备液 Hg (1000  $\mu$ g/mL, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); DM3000 生物显微镜(德国徕卡公司); 红景天对照药材(中国食品药品检定研究院); 红景天苷(中国食品药品检定研究院); 硅胶薄层板(青岛海洋化工厂); 色谱柱为赛默飞 Syncronis C<sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 高效液相色谱仪 U3000(赛默飞世尔)。

### 1.2 重金属含量测定

#### 1.2.1 标准溶液制备

精密量取铅、砷、镉、汞、铜标准品储备液, 分别用 10%

HNO<sub>3</sub> 稀释成以下系列标准溶液: Pb、As 为 0.0、1.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL; Cd 为 0、0.5、2.5、5.0、10.0 ng/mL; Cu 为 0、50、100、200、500 ng/mL; Hg 为含金单标 200  $\mu$ g 的 0、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 ng/mL。

内标溶液的制备: 精密量取 Bi、Ge、In、Rh、Sc、Tb 多种元素标准溶液分别用水稀释制成 1  $\mu$ g/mL 的溶液。

#### 1.2.2 供试品溶液制备

称取试样约 0.5 g, 加入浓硝酸 5 mL, 微波消解后转入 50 mL 容量瓶中, 加入金单标(1  $\mu$ g/mL) 200  $\mu$ L, 用水定容至刻度。

### 1.3 粉末显微鉴别

采用生物偏光显微镜对红景天对照药材和 24 批次样品进行粉末显微鉴别考察, 寻找特征组织碎片, 建立特异性考察指标。

### 1.4 薄层鉴别

#### 1.4.1 对照品溶液的制备

用甲醇稀释红景天苷对照品, 制成 0.5 mg/mL 的浓度。

#### 1.4.2 对照药材溶液的制备

将称定的 0.5 g 红景天对照药材, 置于带盖塞的锥形瓶里, 精密加入甲醇 10 mL, 密塞后, 称定其重量, 超声处理半小时后, 放置室温, 再次对其称重, 用提取液甲醇将减失的重量补齐, 过滤后, 移取续滤液即可。

#### 1.4.3 供试品溶液的制备

精密称定 0.5 g 本品粉末, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定重

第一作者: 陈慧芝, 副主任中药师, 研究方向为药品与化妆品检验。

\* 通信作者: 薛慧萍, 副主任, 研究方向为质量管理。E-mail: 854135364@qq.com

量, 用甲醇将减失的重量补足, 摇匀, 取续滤液。

吸取供试品溶液、红景天苷对照品溶液和红景天对照药材溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 展开剂为以丙酮-甲醇-水-氯仿(1:3:1:7)的下面一层溶液, 进行展开, 19 cm 展开距离, 取出后室温晾干, 置于碘蒸气环境中熏蒸。

### 1.5 特征图谱考察

制订了以没食子酸、红景天苷、酪醇和咖啡酸为特征成分的特征图谱方法<sup>[8-10]</sup>。

#### 1.5.1 色谱条件

液相的流动相: 乙腈(A)-磷酸水溶液 0.1%(B), 梯度洗脱模式(0~10 min, 5%A; 10~30 min, 5%→9%A; 30.1~50 min, 12%→14%A; 50.1~55 min, 5%); 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 流速 1.2 mL/min; 柱温 35°C; 检测波长 276 nm。

#### 1.5.2 对照药材溶液的制备

对照药材红景天的称取量为 1 g, 放入带塞三角瓶中, 精密加入 55 mL 的 50% 甲醇溶液, 塞紧瓶口, 进行重量称定, 再超声(功率 550 W, 频率 45 kHz)提取 65 min, 取出后在室温条件下放冷, 再次称定其重量, 然后将减失的量用 50% 甲醇进行补齐, 适当振摇摇匀后, 用有机系微 0.45  $\mu\text{m}$  孔滤膜进行过滤, 移取续滤液即可。

#### 1.5.3 对照品混合溶液的制备

取适量的没食子酸、红景天苷、酪醇、咖啡酸标准物质, 进行精密称定, 用甲醇稀释成每 1 mL 中分别含上述标准物质 40、40、40、20  $\mu\text{g}$  的对照品混合溶液。

#### 1.5.4 供试品溶液的制备

将红景天饮片进行粉碎, 称取 1 g 粉末, 放于带盖三角瓶中, 用 50 mL 50% 甲醇溶液精密加入, 塞紧盖子, 对重量进行称定, 超声提取(频率 45 kHz, 功率 550 W), 65 min, 取出后室环境中放凉, 再次进行重量称定, 然后将减失的体积采用 50% 甲醇溶液进行补齐, 振摇均匀后, 用有机系 0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜进行过滤, 移取续滤液即可。

## 2 结果与分析

### 2.1 法定标准检测结果

鉴别: 24 批红景天饮片的性状均符合标准规定。显微和薄层鉴别样品间无显著差异。检查: 依据国家标准中红景天饮片项下方法, 检测 24 批样品中的水分值区间为 7.7%~10.7%、总灰分值区间为 3.5%~6.3%、酸不溶性灰分值区间为 0.6%~1.7%、浸出物值区间为 26.2%~52.6%, 红景天苷含量为 0.75%~1.49%, 所得结果均在规范范围。

### 2.2 重金属检测结果

按《中华人民共和国药典》(以下简称《药典》)ICP-MS 法和孔繁越<sup>[8]</sup>对样品进行五种重金属元素残留量的检查。本方法中五种金属元素的标准曲线范围合理, 具有较好的线性关系。24 批样品中铜、砷、镉、汞、铅的平均含量为 0.88、1.674、0.084、0.03、0.628 mg/kg。测得结果均在规范限度范围内。五种金属元素

的标准曲线回归方程及相关系数, 详见表 1。

表 1 各重金属元素线性关系

重金属	回归方程	相关系数	范围(ng/mL)
Pb	$y=128063.4232x+29341.8053$	0.9997	0~20
Cd	$y=12106.7756x+12.4708$	0.9998	0~10
As	$y=2984.3357x+1469.1474$	0.9997	0~20
Hg	$y=16782.6497x+1046.747$	0.9954	0~5
Cu	$y=166893.7561x+5974.9439$	0.9992	0~500

### 2.3 粉末显微鉴别

对 24 批次样品显微特征观察得到: 粉末为棕黄色; 木栓细胞多角形多皱缩; 栓内层细胞椭圆形类圆形; 表皮碎片黄色有纹理; 薄壁细胞含棕色分泌物及油点; 环纹导管(详见图 1)。

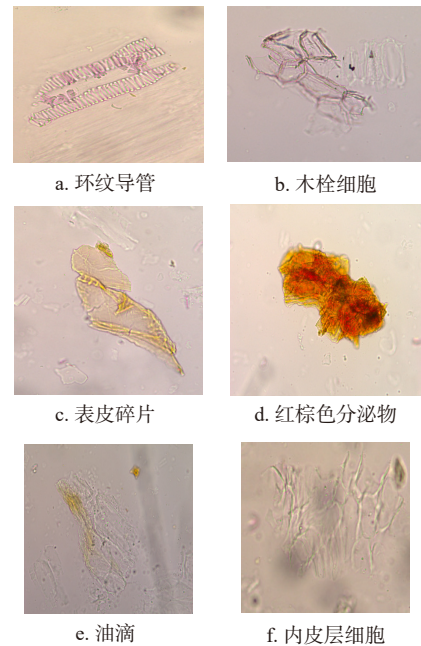


图 1 显微特征图

部分样品还可见不同的组织特征, 是否体现了样品为不同来源还有待进一步探索确证。在镜检过程中发现 14 批次样品有菌丝组织特征, 占比达 58.3%(详见图 2)。

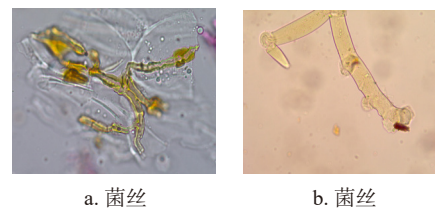
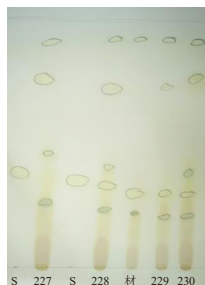


图 2 菌丝组织图

### 2.4 薄层鉴别

法定标准中薄层鉴别只有红景天苷对照品, 没有全面反应出红景天的全部特征斑点。因此本实验增加了红景天中样品和对照药材薄层鉴别的考察。从而更加全面体现了样品中所含多种成分的色谱行为。在薄层色谱中, 对照药材呈现出 3 个特征斑点, 选取的样品在对照药材相应的位置上显示了相应的斑点(详见图 3)。



注: S 为红景天苷; 材为红景天对照药材; 227、228、229、230 均为样品

图3 薄层鉴别特征图谱

## 2.5 特征图谱及方法学验证

### 2.5.1 系统适应性

分别对混合对照品溶液、供试品溶液、对照药材溶液进行精密的量取,按 1.5.1 描述的色谱条件开展检测。结果显示,没食子酸、咖啡酸、酪醇和红景天苷 4 个成分的色谱峰的基线分离良好,满足《药典》要求,各化学成分的色谱峰与相邻峰彼此之间的分离度均大于 1.6,按没食子酸计的理论板数 > 8000(见图 4)。

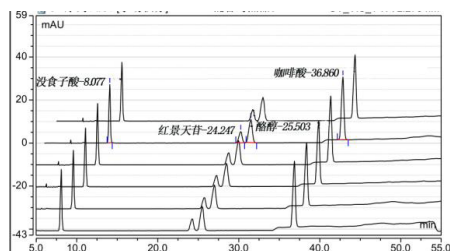


图4 系统适应性

### 2.5.2 精密度试验

将含有没食子酸 40 μg/mL、红景天苷 40 μg/mL、酪醇 40 μg/mL、咖啡酸 20 μg/mL 的标准物质混合溶液进行精密量取 10 μL,色谱条件参照 1.5.1 项下的描述进行连续 6 次的进样,对峰面积进行记录。结果显示,咖啡酸、没食子酸、红景天苷和酪醇峰面积的 RSD 分别为 2.7%、3.11%、3.91%、4.27% (n=6),表明该仪器设备具有较好的精密度。

### 2.5.3 稳定性试验

将混合标准物质溶液进行精密量取 10 μL,参照 1.5.1 项下描述的液相条件按照不同时段于室温下分别放置 0、4、8、12、18、24 h 进样检测。结果显示,酪醇、咖啡酸、红景天苷、没食子酸峰面积的 RSD 分别为 2.65%、4.16%、2.04%、5.25% (n=6),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内具有稳定性良好的表现。

## 3 讨论与结论

虽然法标检测指标性状鉴别、显微鉴别、薄层鉴别、水分、灰分、浸出物和红景天苷含量测定均在规定的范围内,但样品之间的横切面显微鉴别彼此之间无差异,薄层鉴别中作为色谱行为的参照物质只有红景天苷对照品 1 个化学成分,不能全面反应出红景天的全部特征斑点,没有体现出专属性,因此在显微鉴别中增加了药材粉末鉴别,可以提供丰富的植物组织差

异化信息,在薄层鉴别中增加对照药材作为色谱行为参照物、建立 Pb、Cd、As、Cu 5 种重金属元素测定方法,并对样品进行检测、建立多成分特征图谱测定方法等项目对 24 批次红景天样品进行了评价。

在显微鉴别中将木栓细胞、表皮碎片、棕色分泌物、油点、环纹导管和内皮层细胞作为显微特征。部分样品还可见不同的组织特征,是否体现了样品为不同来源还有待进一步探索确证。在镜检过程中发现部分样品有菌丝组织特征,饮片质量不同程度受到影响,可能存在被微生物寄生或污染的情况,应在种植、仓储、运输和使用等环节进行进一步考察,寻找原因,从而保障药材质量;薄层色谱中对照药材呈现出 3 个特征斑点,选取的样品在对照药材相应的位置上显示了相应的斑点,更加全面体现了样品中所含成分的色谱行为;24 批样品中铜、砷、镉、汞、铅的含量测得结果均在法标限度范围内,表明市场中流通的红景天较安全。

在特征图谱中,三分之一的样品与对照药材出峰数量和位置一致,其他样品与对照药材相比个别色谱峰缺失,间接说明不同产地之间可能存在品质差异。本文中非标方法考察项目交全面较大程度提高了红景天质量控制水平。监管部门应加强对红景天药材质量的监管,完善商品规格等级,规范饮片的种植、加工及存储,不断完善质量标准,提高专属性 and 整体性,增加安全性检查指标,保障中药材及饮片市场健康发展。

## 参考文献

- [1] 杨连梅,胡荣,齐文,等.藏药窄叶红景天化学成分研究[J].中国药理学,2011,20:154-158.
- [2] 中国科学院中国植物志编委会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1984:188-190.
- [3] 王爱玲,曲玮,梁敬.红景天属植物化学成分及药理作用研究进展[J].海峡药学,2014,26(01):1-8.
- [4] 李彬,彭亮,张洁宏,等.红景天提高小鼠抗疲劳和耐缺氧能力的研究[J].食品科技,2014,39(08):67-70.
- [5] 曾满红,黄清松,张德兴.红景天总黄酮对自然衰老大鼠抗氧化和免疫功能的影响[J].解剖学研究,2012,34(02):135-137.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(2020年版):一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:161.
- [7] 陈姗姗.高山红景天质量标准的建立及指纹图谱研究[D].长春:吉林大学,2007.
- [8] 孔繁越.中药材重金属限量标准和农残限量标准研究及标准制定相关建议[D].北京:北京中医药大学,2017.
- [9] 吕秀梅,范芳芳,文检,等.HPLC法同时测定 3 种红景天药材中 5 种化学成分的含量[J].中药与民族药,2018,29:2515-2519.
- [10] 时文娟,李中东,钟明康.不同产地大花红景天中红景天苷和酪醇的含量比较[J].中国临床药学杂志,2017,26(01):35-38.