

电感耦合等离子体质谱法测定不同产地构树叶 22 种无机元素及健康风险评估

马鹏程¹, 梁卜文², 中国华², 董培智^{2*}, 项新华^{3*} (1. 山西中医药大学, 山西 晋中 030619; 2. 山西省检验检测中心药品检验技术研究 所 食品药品安全防控山西省重点实验室, 太原 030031; 3. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要:目的 建立同时测定构树叶中 22 种无机元素含量的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用方法,分析不同产地构树叶无机元素的差异性,并对重金属及有害元素的安全性和健康风险进行评估,为构树叶的质量评价与资源的有效开发提供参考。方法 构树叶微波消解后,22 种元素以其相对分子质量相近的元素为内标,采用 ICP-MS 法测定,进行方法学考察后,测定样品,利用正交偏最小二乘法(OPLS-DA)比较不同产地无机元素的差异性,以单项污染指数(Pi)和综合污染指数(Pc)进行安全性评价,并通过计算每日摄入的最大重金属量(EDI)、靶标危害系数(THQ)和致癌风险(CR)对其进行健康风险评估。结果 22 种元素测定的线性关系良好,相关系数 $r^2 \geq 0.991$,精密度、稳定性、重复性试验相对标准差(RSD)值均符合分析要求,各元素的检出限在 $0.0006 \sim 1.6873 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,回收率在 83.63%~106.58%之间。测定不同产地的 24 批构树叶样品,构树叶中元素 K、Ca、Mg、P 的含量较高,分别为 19 098、5 258、4 882、2 904 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。主成分分析得到 5 个主因子,共筛选出 Co、Al、Fe、Ni、Sr、Mg、K 为构树叶的主要特征性元素。Pi 和 Pc 均为优良安全等级,EDI 和 CR 结果表明,构树叶重金属及有害元素对人体健康没有潜在的风险,但 THQ 提示构树叶样品中的 As 元素可能对人体健康有影响。结论 构树叶中含有丰富的无机元素,重金属及有害元素对人体健康影响较小,人体所必需的 K、Ca、Mg、Fe、Na、Zn 等元素的含量均较高。此方法灵敏度高、快速、准确,可用于构树叶无机元素的定量分析,对其无机元素的研究具有重要价值。

关键词:构树叶;电感耦合等离子体质谱;无机元素;微波消解法;健康风险评估

doi:10.11669/cpj.2025.03.005 中图分类号:R282 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2025)03-0234-10

Determination of 22 Inorganic Elements in *Broussonetia papyrifera* Leaves from Different Habitats and Health Risk Assessment by ICP-MS

MA Pengcheng¹, Liang Buwen², Shen Guohua², DONG Peizhi^{2*}, XIANG Xinhua^{3*} (1. Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China; 2. Shanxi Key Laboratory of Food and Drug Safety Prevention and Control, Institute of Drug Inspection Technology, Inspection and Testing Center of Shanxi Province, Taiyuan 030031, China; 3. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method for the simultaneous determination of 22 kinds inorganic elements in *Broussonetia papyrifera* leaves, analyze the differences of inorganic elements in leaves from different origins, and evaluate the safety and health risks of heavy metals and harmful elements, so as to provide a reference for the quality evaluation of *Broussonetia papyrifera* leaves and the effective development of resources. **METHODS** After microwave digestion of *Broussonetia papyrifera* leaves, 22 elements were analyzed by ICP-MS using Relative molecular mass similar elements as internal standards. After methodological investigations, samples were analyzed, and the orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) method was utilized to compare variability of inorganic elements from diverse sources. Safety was evaluated by individual pollution index(Pi) and comprehensive pollution index(Pc), while health risk was assessed by calculating maximum daily intake of heavy metals (EDI), target hazard quotient (THQ), and carcinogenic risk (CR). **RESULTS** The linearity of the 22 elements determined was excellent with a correlation coefficient $r^2 \geq 0.991$. The relative standard deviation (RSD) values of precision, stability, and reproducibility tests met analytical requirements. The detection limit of each element was between 0.0006 to $1.6873 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, and recovery rate was between 83.63% and 106.58%. The contents of K, Ca, Mg, and P in 24 batches of leaf samples from different origin were higher, which were 19 098, 5 258, 4 882 and 2 904 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. Principal component analysis revealed 5 key factors, identifying Co, Al, Fe, Ni, Sr, Mg, and K as the main characteristic elements of *Broussonetia papyrifera* leaves. Pi and Pc had excellent safety

基金项目:食品药品安全防控山西省重点实验室项目资助(202204010931006)

作者简介:马鹏程,男,硕士研究生 研究方向:中药质量标准研究 *通讯作者:董培智,男,博士,主任药师 研究方向:食品药品质量控制及标准研究 Tel:(0351)2021138;项新华,男,主任技师 研究方向:药品质量控制 Tel:(010)53851353

ratings. EDI and CR results indicated no potential health risks from heavy metals and harmful elements in *Broussonetia papyrifera* leaves, but THQ suggests that the as element in the leaves may have an impact on human health. **CONCLUSION** The *Broussonetia papyrifera* leaves are rich in inorganic elements, heavy metals and harmful elements have less impact on human health, the content of essential elements such as K, Ca, Mg, Fe, Na and Zn are high. This method is sensitive, rapid and accurate for the quantitative analysis of the inorganic elements in *Broussonetia papyrifera* leaves, which has important value for the study of its inorganic elements.

KEY WORDS: *Broussonetia papyrifera* Leaf; ICP-MS; inorganic element; microwave digestion process; health risk assessment

构树叶为桑科植物构树 [*Broussonetia papyrifera* (L.) L'Hér. ex Vent.] 的干燥叶, 别名构叶、楮叶、楮桃叶、谷黄叶等, 广泛分布于我国南北各地, 资源十分丰富^[1]。构树叶入药最早记载于汉代《名医别录》, 其曰“习作浴汤, 又主恶疮生肉”, 《山东省中药材标准》载: 构树叶味甘, 性凉, 归肝、脾、肺经, 主四肢风痹, 赤白下痢, 具有清热, 凉血, 利湿, 杀虫之功效, 用于吐血、血崩、外伤出血、鼻衄, 肠炎, 水肿、疝气、痢疾、癣疮等疾病。有研究表明, 构树叶含有丰富的化学成分, 主要有酚酸类、生物碱、木脂素类、糖苷类、萜类以及大量的黄酮类化合物, 其在抑菌、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、缓解高血压症状等方面具有重要作用^[2-3]。

构树叶虽在我国有着丰富的资源, 但医药应用方面尚未得到有效的开发利用, 每年有大量构树叶过剩而浪费^[4]。目前关于构树叶的研究主要集中在化学成分的分离与鉴定、药理作用等方面, 对不同产地的构树叶无机元素尚未有报道^[5], 本研究采用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法对不同产地构树叶中的 Mg 等 22 种元素进行测定, 并探讨不同产地构树叶在生长过程中的无机元素差异性, 较为全面地研究了构树叶中无机元素的种类, 有助于进一步研究无机元素对其功效的作用, 为更好地开发利用构树叶提供一定的依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

电感耦合等离子体质谱仪 (iCAP Qc 四级杆, 美国赛默飞世尔公司), Mars 6 微波消解仪 (上海屹尧仪器科技发展有限公司), SQP 型万分之一电子天平 (德国赛多利斯科学仪器有限公司), EDH-24 型赶酸器 (东方科创生物技术有限公司), EH45C 型电热板 (郑州今时迈科技有限公司), UF110 型干燥箱 (合测实业上海有限公司), PURELAB 超纯水仪 (英国埃尔格 ELGA 公司)。

1.2 材料

Bi、Ge、In、Li、Sc、Tb、Y 多元素混合标准溶液 (10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 批号: 20230819, 国家有色金属及电子材料分析测试中心), Mg、Al、Ca、Cr、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Cd、Pb、Sr、Mo、Hg、Mn、K、P、Na、Fe、I、Re、Au 各单元素标准溶液 (1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 国家有色金属及电子材料分析测试中心), 标准调谐液 (含 Ba、Bi、Ce、Co、In、Li、U, 美国赛默飞世尔公司), 优级纯硝酸 (体积分数 65%, 批号: 20230409, 国药集团化学试剂有限公司), 氦气、氩气 (99.999%, 山西宜虹气体工业有限公司), 24 批构树叶供试药材来源信息见表 1, 经山西省食品药品检验所主任药师崔宇宏鉴定为桑科植物构树 [*Broussonetia papyrifera* (L.) L'Hér. ex Vent.] 的叶。

表 1 构树叶来源及批号信息

Tab. 1 Source and batch number of *Broussonetia papyrifera* leaves

No.	Origin (in Chinese)	Medicinal position	No.	Origin (in Chinese)	Medicinal position
S1	Shanxi Jinzhong (山西晋中)	Leaf	S13	Guangdong Huizhou (广东惠州)	Leaf
S2	Shanxi Jinzhong (山西晋中)	Leaf	S14	Guangdong Huizhou (广东惠州)	Leaf
S3	Hebei Anguo (河北安国)	Leaf	S15	Sichuan Meishan (四川眉山)	Leaf
S4	Hebei Anguo (河北安国)	Leaf	S16	Sichuan Meishan (四川眉山)	Leaf
S5	Shandong Weifang (山东潍坊)	Leaf	S17	Henan Nanyang (河南南阳)	Leaf
S6	Shandong Weifang (山东潍坊)	Leaf	S18	Henan Nanyang (河南南阳)	Leaf
S7	Shandong Taian (山东泰安)	Leaf	S19	Henan Nanyang (河南南阳)	Leaf
S8	Shandong Taian (山东泰安)	Leaf	S20	Henan Nanyang (河南南阳)	Leaf
S9	Guangxi Wuzhou (广西梧州)	Leaf	S21	Jiangsu Xuzhou (江苏徐州)	Leaf
S10	Guangxi Wuzhou (广西梧州)	Leaf	S22	Jiangsu Xuzhou (江苏徐州)	Leaf
S11	Guangdong Yunfu (广东云浮)	Leaf	S23	Hubei Enshi (湖北恩施)	Leaf
S12	Guangdong Yunfu (广东云浮)	Leaf	S24	Hubei Enshi (湖北恩施)	Leaf

2 方法

2.1 混合内标溶液的配制

精密吸取 Bi、Ge、In、Li、Sc、Tb、Y 多元素标准溶液 0.5 mL,加体积分数 2% 的硝酸配制成质量浓度为 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合内标溶液。以 Li 内标测定 Mg、Na 元素,以 Sc 内标测定 Al、Ca、K、Cr、Mn、P、Fe 元素,以 Ge 内标测定 Co、Ni、Cu、Zn、As、Se 元素,以 Y 内标测定 Sr、Mo 元素,以 In 内标测定 Cd、I 元素,以 Bi 内标测定 Pb、Hg、Re 元素。

2.2 混合系列标准溶液的配制

精密吸取各元素标准溶液适量,加体积分数为 2% 的硝酸定容至 50 mL,配制成含 Mg、Al、Ca、Cr、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Cd、Pb、Sr、Mo、Hg、Mn、K、P、Na、Fe、I、Re 元素质量浓度为 $1 \sim 6\,000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列标准溶液,并加 200 μL 的 Au 标准溶液(质量浓度为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)作为稳定液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取构树叶粉末 0.500 g,置于四氟乙烯消解罐中,加硝酸 10 mL,摇匀,浸泡过夜,密闭,置于微波消解仪中,按表 2 中进行消解,消解完毕后冷却至室温,取出消解罐并缓慢释放压力,置于赶酸仪中,在 $160 \text{ }^\circ\text{C}$ 下赶酸至约 1 mL,用纯化水分 2~3 次定容至 50 mL,并同法制备空白溶液。

表 2 微波消解程序

Tab. 2 Microwave digestion program

Step	Climbing time/min	Retention time/min	T/ $^\circ\text{C}$	Power/W
1	6	10	120	800
2	5	10	150	1 000
3	5	10	180	1 000
4	3	20	190	1 200

2.4 ICP-MS 测定条件

等离子体功率 1 500 W;雾化室温度 $2.7 \text{ }^\circ\text{C}$; KED 碰撞模式;冷却气流速 $14.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$;辅助气流速 $0.8 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$;雾化器流速 $1.03 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$;采样深度 5.00 mm;蠕动泵流速 $40.0 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$;检测器电压(脉冲)1 263 V;全定量分析模式。

3 结果

3.1 标准曲线的绘制

取“2.2”项下系列标准溶液,以“2.4”项下所设方法进行测定,以各元素的浓度为横坐标(X),各元素峰强度为纵坐标(Y)绘制标准曲线,各元素线性方程、相关系数和线性范围见表 3。

3.2 方法学考察

3.2.1 检出限与定量限 按《中国药典》2020 年版四部通则 0412,在最佳实验条件下,测定 11 份的空白样品溶液,以连续测定空白样品溶液响应值的 3 倍标准偏差(3SD)所对应的待测元素浓度作为检测限;以连续测定空白溶液响应值的 10 倍标准偏差(10SD)所对应的待测元素浓度作为定量限,结果见表 3。

3.2.2 精密度试验 取“2.2”项下配制的混合标准溶液,按“2.4”项下方法连续测定 6 次,各元素峰强度相对标准偏差(RSD)值在 0.83%~3.75% 之间,表明该仪器精密度良好。

3.2.3 稳定性试验 取供试品溶液(S7),按“2.4”项下方法每隔 1 h 测定一次,测定 6 次,各元素峰强度 RSD 值在 1.42%~3.62% 之间,表明该供试品溶液在 6 h 内较为稳定。

3.2.4 重复性试验 取同一批样品(S1),按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,各元素峰强度 RSD 值在 0.96%~3.22% 之间,表明该供试品重复性良好。

3.2.5 加样回收率试验 称取 6 份已知各元素含量的构树叶粉末 0.250 g,分别精密加入各元素混合标准溶液适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,同法测得 22 种无机元素的平均加样回收率在 83.63%~106.58% 之间,RSD 值均小于 4.79%,表明该方法适合构树叶无机元素的分析,各元素加样回收率试验结果见表 4。

3.3 样品含量测定

取收集的 24 批不同产地样品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.4”项下方法进行测定,结果见表 5。

3.4 无机元素含量热图分析

对不同产地构树叶 22 种无机元素含量数据进行标准化处理后^[6],为绘图的方便与美观,在保持元素含量不变的前提下,将元素含量相差较大的数据缩小或扩大一定的倍数,各元素含量具体调整信息见表 6,利用 Hiplot(<https://hiplot.com.cn>)绘图系统进行热图分析,见图 1,尽管 24 批不同产地的构树叶各元素含量之间存在差异,但也呈现出一定的规律性,均含有丰富的 K、Ca、Mg、P 等元素,有害元素 Hg、As、Cd、Pb 含量均较低。K、Ca、Mg 和 P 是植物生长发育所必需的元素,它们参与了植物体内的许多生物化学反应和代谢过程,对植物的生长发育起着至关重要的作用^[7]。构树叶多为野生植物在自然环境中生长,很少受到人为的干扰与污染,因此有害元素含量均较低。

表3 构树叶22种元素线性关系测定结果

Tab. 3 Results of linear relationship determination of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

Element	Linear regression equation	r^2	Linear range/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	Detection limit/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	Quantification limit/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
Mg	$Y = 335.809X + 9315.002$	0.992	5 – 100	0.3106	1.0352
Al	$Y = 106.223X + 1373.664$	0.998	10 – 100	1.1064	3.6880
Ca	$Y = 115.436X + 6800.423$	0.991	10 – 100	0.6115	2.0383
Cr	$Y = 10035.259X + 8385.348$	0.999	5 – 60	0.0109	0.0363
Co	$Y = 19044.097X + 3542.515$	0.999	1 – 50	0.0006	0.0020
Ni	$Y = 5285.409X + 4619.323$	0.999	1 – 50	0.0057	0.0189
Cu	$Y = 14549.139X + 47443.188$	0.999	10 – 500	0.0033	0.0109
Zn	$Y = 2198.857X + 46701.241$	0.999	10 – 500	0.0347	0.1155
As	$Y = 1030.856X + 871.866$	0.999	1 – 50	0.0131	0.0438
Se	$Y = 45.756X + 14.690$	0.999	1 – 50	0.0245	0.0815
Cd	$Y = 6628.947X + 186.673$	1.000	1 – 50	0.0005	0.0017
Pb	$Y = 111973.709X + 74716.094$	0.999	1 – 50	0.0030	0.0099
Sr	$Y = 6789.477X + 1516.519$	1.000	5 – 100	0.0137	0.0456
Mo	$Y = 9667.835X + 1004.183$	0.999	5 – 100	0.0012	0.0039
I	$Y = 353.062X + 1185.295$	0.999	5 – 100	0.0766	0.2552
Re	$Y = 78368.492X - 54133.500$	0.999	5 – 100	0.0002	0.0008
Hg	$Y = 15524.408X + 4136.106$	1.000	2 – 100	0.0055	0.0184
Mn	$Y = 5388.031X - 20989.468$	0.999	10 – 800	0.0089	0.0298
K	$Y = 261.979X + 47454.364$	1.000	100 – 4000	0.4516	1.5054
P	$Y = 4.885X + 150.476$	1.000	200 – 5000	0.3317	1.1058
Na	$Y = 786.377X + 167842.223$	0.997	500 – 4000	1.6873	5.6243
Fe	$Y = 235.341X + 17167.719$	1.000	500 – 6000	0.2534	0.8446

表4 构树叶22种元素加样回收率试验表

Tab. 4 Test table of recovery rate of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves adding sample

Element	$m(\text{Original})/\mu\text{g}$	$m(\text{Added})/\mu\text{g}$	$m(\text{Measured})/\mu\text{g}$	Average recovery /%	RSD/%
Cu	2.54	2.50	5.10	102.40	1.83
As	0.16	0.16	0.30	87.50	1.25
Cd	0.02	0.02	0.04	90.50	3.01
Hg	0.01	0.01	0.02	92.00	1.07
Pb	0.78	0.80	1.45	83.63	0.73
Na	16.41	16.40	33.09	101.70	1.13
Mg	2441.01	2440.00	4776.35	95.70	2.89
Al	160.79	160.00	318.23	98.40	3.44
P	1451.92	1500.00	2844.29	92.80	1.95
K	9549.12	9500.00	19674.53	106.58	0.91
Ca	2628.92	2600.00	5103.22	95.20	4.79
Cr	0.55	0.55	1.03	87.30	3.14
Mn	19.32	19.00	39.07	103.90	1.27
Fe	171.83	170.00	340.95	99.50	0.65
Co	0.08	0.08	0.15	92.50	3.18
Ni	0.47	0.47	0.92	95.74	4.05
Zn	9.37	9.00	17.10	85.90	2.76
Se	0.11	0.11	0.21	90.00	1.19
Sr	29.34	29.00	57.93	98.60	1.82
I	1.89	2.00	3.57	83.85	4.37
Re	0.04	0.04	0.08	87.50	1.59
Mo	0.84	0.84	1.61	91.67	2.17

表5 24批枸树叶中22种元素含量测定结果。 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

Tab.5 Results of determination of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves of 24 batches. $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

Sample	Cu	As	Cd	Hg	Pb	Na	Mg	Al	P	K	Ca
S1	5.10	0.45	0.02	0.02	1.43	36.6	7 063	366	1 960	16 646	6 284
S2	4.56	0.38	0.02	0.03	1.42	34.3	6 905	378	2 057	17 376	6 427
S3	4.66	0.51	0.07	0.01	2.75	45.5	4 182	689	2 086	17 095	4 665
S4	4.48	0.48	0.07	0.01	2.74	46.6	4 403	689	2 087	17 436	4 656
S5	5.47	0.13	0.02	-	0.75	35.6	5 130	168	3 119	17 222	4 373
S6	4.84	0.11	0.02	-	0.73	39.7	5 851	168	3 118	17 501	4 420
S7	4.19	0.36	0.02	-	1.55	60.0	3 879	400	2 203	11 146	5 621
S8	3.94	0.35	0.02	-	1.53	53.8	3 700	403	2 214	11 333	5 660
S9	5.79	0.54	0.04	-	1.94	20.7	4 226	411	2 728	21 411	4 117
S10	5.42	0.51	0.04	-	2.16	20.4	4 373	419	2 784	22 027	4 175
S11	5.37	0.29	0.02	-	1.09	25.5	3 916	237	2 943	21 346	5 721
S12	5.00	0.26	0.02	-	1.07	26.8	4 236	239	2 974	21 661	5 723
S13	5.84	0.31	0.02	-	1.29	29.0	5 455	331	2 532	20 539	4 570
S14	5.51	0.29	0.03	-	1.26	24.2	5 089	344	2 621	21 332	4 721
S15	5.57	0.34	0.06	0.02	1.57	21.8	5 564	166	2 315	18 754	6 772
S16	4.95	0.32	0.05	0.01	1.45	18.6	5 241	155	2 183	17 637	6 300
S17	4.86	0.30	0.06	0.01	1.98	35.2	4 051	264	4 834	18 637	4 769
S18	4.57	0.29	0.06	0.01	1.96	33.5	4 160	283	5 131	19 840	5 071
S19	6.00	0.18	0.02	-	0.68	28.0	5 243	126	2 657	20 318	6 445
S20	5.71	0.15	0.02	-	0.67	27.9	5 512	129	2 694	20 731	6 488
S21	5.64	0.33	0.03	-	1.75	38.4	4 022	499	3 821	22 696	5 137
S22	4.92	0.26	0.02	-	1.60	30.9	3 537	474	3 528	21 645	4 851
S23	4.83	0.31	0.06	-	2.08	28.6	5 746	179	3 478	21 482	4 499
S24	4.46	0.28	0.06	-	2.05	25.9	5 673	189	3 614	22 537	4 712
Sample	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Zn	Se	Sr	I	Re	Mo
S1	3.08	57.7	375	0.18	0.86	21.4	0.48	49.9	3.40	0.10	0.65
S2	2.96	57.8	365	0.16	0.82	20.2	0.52	57.0	4.01	0.10	0.62
S3	1.96	64.1	673	0.36	2.01	19.3	0.34	84.3	4.62	0.08	0.36
S4	1.90	63.6	646	0.35	1.94	19.2	0.25	87.5	4.98	0.08	0.34
S5	0.63	55.1	214	0.10	0.97	20.7	0.09	55.2	2.32	0.07	0.95
S6	0.60	54.4	203	0.09	0.86	19.0	0.13	57.3	2.41	0.07	0.90
S7	1.04	41.3	411	0.20	1.16	15.9	0.20	36.1	3.76	0.07	0.33
S8	0.94	40.7	389	0.18	1.09	15.4	0.20	37.4	3.81	0.07	0.30
S9	0.88	21.2	433	0.13	0.44	17.7	0.19	33.8	5.34	0.07	5.33
S10	0.81	20.7	411	0.12	0.41	17.2	0.25	34.6	5.50	0.07	5.01
S11	0.86	21.9	266	0.11	0.50	17.4	0.29	48.4	4.79	0.07	1.92
S12	0.77	21.5	255	0.10	0.47	16.8	0.18	49.9	4.80	0.07	1.80
S13	1.04	41.1	435	0.18	0.67	23.3	0.26	52.6	3.45	0.08	1.97
S14	1.00	41.7	426	0.17	0.64	23.2	0.16	53.3	3.50	0.08	1.80
S15	0.64	38.7	194	0.18	1.17	18.3	0.11	81.2	4.36	0.08	1.47
S16	0.54	35.5	171	0.16	1.04	16.9	0.13	78.2	4.24	0.08	1.31
S17	0.99	19.6	298	0.14	1.27	17.9	0.15	69.5	2.48	0.07	2.37
S18	0.96	19.9	297	0.13	1.18	17.6	0.13	71.2	2.71	0.07	2.28
S19	0.33	30.8	149	0.06	0.39	15.4	0.32	49.3	2.21	0.18	2.72
S20	0.30	29.9	144	0.06	0.38	15.3	0.26	51.9	2.17	0.18	2.58
S21	1.79	38.6	552	0.26	1.38	25.4	0.23	71.5	5.79	0.07	1.38
S22	1.56	35.5	487	0.22	1.19	22.8	0.20	67.1	5.26	0.07	1.23
S23	0.54	38.0	227	0.09	0.96	17.0	0.14	64.8	2.46	0.07	1.41
S24	0.51	37.9	222	0.08	0.88	16.3	0.17	66.2	2.53	0.07	1.33

注: - - 未检出。

Note: - - No detected.

3.5 主成分分析

为了探究不同产地构树叶样品中各元素的分布情况,采用 SPSS 软件对 24 批不同产地构树叶所含的 22 种无机元素进行主成分分析。其特征值、方差贡献率见表 7,共提取到 5 个主成分,一般认为特征值大于 1 或累计方差贡献率大于 80% 的主成分具有一定代表性^[8]。由表 7 和图 2 可知,前 5 个主成分的特征值均大于 1 且累积方差贡献率为 83.6%,表明这 5 个主成分可代表构树叶药材中无机元素 83.6% 的变量信息。因此,对这 5 个主成分进行因子分析,结果见表 8,由表 8 可知,第 1 主成分中 Co、Al、Fe、Ni 的载荷量较大,第 2 主成分中 Sr、Mg 的载荷量较大,第 3 主成分中 K 的载荷量较大,第 4、5 主成分中无载荷量较大的元素,因此可确定 Co、Al、Fe、Ni、Sr、Mg、K 为构树叶的主要特征性元素^[9]。从 Co、Al、Fe、Ni、Sr、Mg、K 主要特征性元素的含量差异来看,其不同地域之间具有一定的差异性,Mg、Al 在北部地区的含量高于中部与南部地区,K 元素含量中部与南部地区相差不大,北部地区最低,Fe、Ni 元素的含量在北部地区最高,南部地区次之,中部地区最低,可见构树叶中 Mg、Al、K、Fe、Ni 元素有明显的地域性差异,而 Co、Sr 元素含量 3 个地区相差不大,没有明显的差异性。

表 6 构树叶 22 种元素含量具体调整信息

Tab. 6 Specific adjustment information of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves content

Expansion	Element	Minification	Element
X ⁵	Cu, Cr	÷ 6	Al, Fe
X ¹⁰	As, Cd, Hg, Pb, I	÷ 35	P
X ¹⁵	Co, Ni	÷ 75	Ca, Mg
X ²⁰	Se, Re, Mo	÷ 100	K

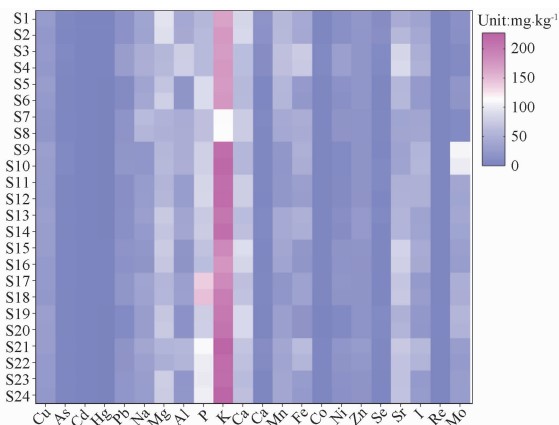


图 1 构树叶 22 种元素含量热图分析

Fig. 1 Heat map analysis of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

表 7 构树叶 22 种元素主成分特征值及贡献率

Tab. 7 Principal component characteristic values and contribution rates of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

Principal component	Eigenvalue	Variance contribution rate / %	Cumulative variance contribution / %
1	7.116	32.343	32.343
2	4.695	21.340	53.683
3	2.977	13.531	67.214
4	1.938	8.811	76.025
5	1.667	7.578	83.604

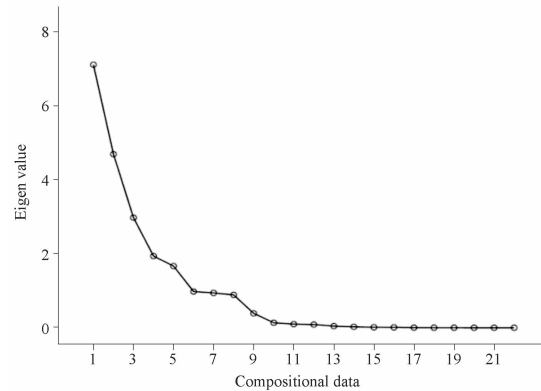


图 2 构树叶 22 种元素主成分因子碎石图

Fig. 2 Principal component factor lithotripsy diagram of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

表 8 构树叶 22 种元素成分矩阵

Tab. 8 Composition matrix of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

Element	1	2	3	4	5
Co	0.935	-0.042	0.062	-0.090	0.023
Al	0.913	-0.144	0.235	-0.158	-0.128
Fe	0.883	-0.196	0.273	-0.244	-0.029
Ni	0.810	-0.109	-0.357	0.165	0.230
Pb	0.729	-0.412	0.112	0.491	0.000
Cr	0.719	0.491	0.303	-0.042	0.151
As	0.688	-0.128	0.456	0.313	-0.334
Mn	0.589	0.526	-0.226	-0.163	0.331
Sr	-0.056	0.898	0.255	0.176	0.043
Mg	-0.218	0.727	0.113	0.246	0.410
Se	0.320	0.709	0.448	-0.011	-0.162
Ca	-0.212	0.704	-0.027	0.178	-0.317
Hg	0.373	0.597	0.131	0.517	0.156
Re	-0.425	0.581	0.164	0.047	-0.193
P	-0.278	-0.545	-0.137	0.171	0.415
Cu	-0.509	-0.013	0.649	-0.233	0.158
K	-0.393	-0.363	0.841	0.079	0.384
Mo	-0.459	-0.435	0.620	0.157	-0.242
Na	0.591	0.167	-0.602	-0.284	-0.194
I	0.520	-0.294	0.535	-0.180	-0.315
Cd	0.358	-0.397	-0.069	0.764	0.205
Zn	0.369	0.025	0.377	-0.497	0.641

3.6 正交偏最小二乘法判别(OPLS-DA)分析模型的建立

运用 SIMCA 14.1 软件,对 24 批不同产地构树叶无机元素含量进行 OPLS-DA 分析,此次分析中,模型参数 $R^2 X = 0.942$, $R^2 Y = 0.880$, $Q^2 = 0.596$,均大于 0.5,表明该模型为有效模型。得分图及 VIP 值见图 3,不同产地样品可明显分为 3 类,表明不同产地构树叶含有的无机元素含量有所不同。以 VIP 值 > 1 为标准,共筛选出 Mn、Mg、I、K、Cr、As、Zn、P、Mo 为构树叶无机元素的质量差异性成分^[10]。为验证该模型是否过于拟合,经 200 次的置换检验图(图 4)可知,OPLS-DA 分析模

型有效,不存在过拟合情况(以 Q^2 截距 < 0.05 为标准)。由图 3A 可知,24 批不同产地构树叶分为 3 类,S1 ~ S8 来源于山西、山东、河北地区,归属于北部地区,此为第 1 类;S9 ~ S16 来源于广西、广东、四川地区,归属于南部地区,此为第 2 类;S17 ~ S24 来源于河南、江苏、湖北地区,归属于中部地区,此为第 3 类。从测定结果来看,3 个不同地域构树叶药材中,重金属及有害元素含量均低于《中国药典》2020 年版标准,且含量较为接近,常量元素 Mg、Ca、K、P、Na 的含量均较高,Al、Zn、Sr、Mn、Na、Fe 元素含量次之,不同地域之间元素含量具有一定的相似性。

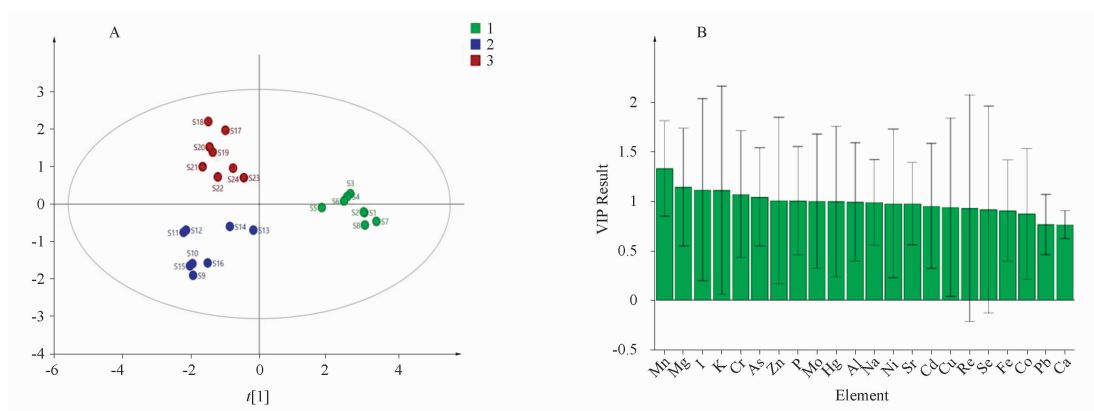


图 3 构树叶 22 种元素正交偏最小二乘回归判别分析(OPLS-DA)得分图(A)与投影变量重要性指数(VIP)值图(B)。n=2
Fig. 3 OPLS-DA score diagram (A) and VIP value diagram (B) of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves. n=2

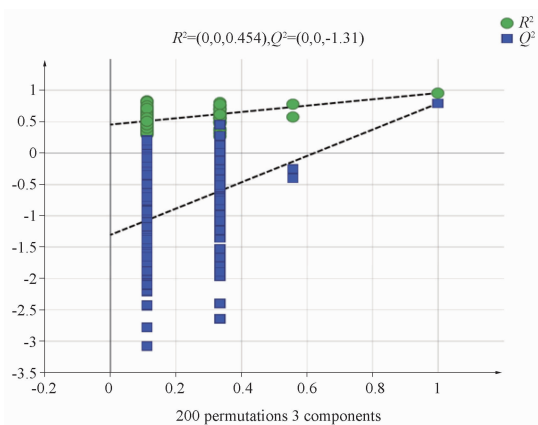


图 4 构树叶 22 种元素模型置换验证图
Fig. 4 Model replacement validation diagram of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

3.7 安全性评价

《中国药典》2020 年版中 5 种重金属及有害元素的限度为 $Pb \leq 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $Cd \leq 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $Hg \leq 0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $As \leq 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $Cu \leq 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

据表 5 结果可知,24 批构树叶样品中 Hg 元素仅有 8 批样品中检测到,其余 Pb、Cd、As、Cu 的含量均未超标^[11-12]。

构树叶的安全性评价可采用单项污染指数(P_i)和综合污染指数(P_c),见公式 1~2。

$$P_i = \frac{C_i}{S_i} \quad \text{公式(1)}$$

$$P_c = \sqrt{\frac{P^2_{\max} + P^2_{\text{ave}}}{2}} \quad \text{公式(2)}$$

公式 1 中 C_i 为构树叶中 Pb、Cd、As、Cu、Hg 的含量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), S_i 为 Pb、Cd、As、Cu、Hg 的限量指标。公式 2 中, P_{\max} 为各元素 P_i 的最大值, P_{ave} 为各元素 P_i 的平均值^[13]。由图 5 可知,24 批构树叶样品的 P_i 和 P_c 值均小于 0.7,处于优良水平,样品等级为安全(当 $P_i \leq 0.7$ 时,为优良;当 $P_c \leq 0.7$ 时,为安全级、清洁)。综上所述,24 批构树叶重金属及有害元素的安全性均符合相关规定。

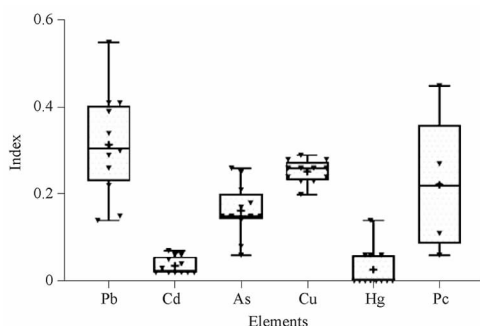


图5 构树叶22种元素 P_i 及 P_c 箱式图

Fig. 5 P_i and P_c box diagram of 22 kinds element in *Broussonetia papyrifera* leaves

3.8 健康风险评估

3.8.1 每日摄入的最大重金属量(EDI)按公式3计算:

$$EDI = \frac{C \times IRD}{BA} \quad \text{公式(3)}$$

C 为药材中重金属的含量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), BA 为成年人的平均体质量,国际通用标准为55.9 kg, IRD 为每日摄入量药材,《山东省中药材标准》规定构树叶用量10~30 g,此处构树叶每日最大摄入量以30 g计。当EDI值低于PTDI(每日暂定可耐摄入量)时,则可认为服用构树叶富集的重金属对人体健康不存在明显影响,经查阅相关文献[14], Pb、Cd、Cu、As、Hg的PTDI分别为 3.57×10^{-3} 、 0.83×10^{-3} 、0.5、 2.14×10^{-3} 、 $0.57 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。24批构树叶样品的EDI结果见表9,其EDI值均低于PTDI,因此,服用构树叶样品后不会产生明显的健康风险。

3.8.2 靶标危害系数(THQ)与致癌风险(CR)的计算 THQ与CR是评价人体摄入重金属风险的有效手段,见公式4~5。

$$THQ = \frac{C \times EF \times ED \times IRD}{BA \times AT \times RFD} \quad \text{公式(4)}$$

$$CR = \frac{C \times IRD \times EF \times ED \times CSF}{BA \times AT} \times 10^{-6} \quad \text{公式(5)}$$

公式4~5中,EF指一年中接触重金属和有害元素的天数的,按30 d计;ED指接触重金属和有害元素的年限,按30年计;AT指暴露于含重金属及有害元素中草药中的平均时间,以人的平均寿命70年 \times 365计。美国环保局(USEPA)规定Pb、Cd、Cu、As、Hg的RFD参考值为0.004、0.001、0.04、0.0003、0.0003 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。CSF是致癌斜率因子,Pb、Cd和As具有一定的致癌毒性^[15],其CSF分别

为 8.5×10^{-3} 、6.1、1.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,成年人每天的食物摄入量按1.5 kg计,若 $THQ < 0.01$,则可认为构树叶对成年人的健康没有显著影响。由图6可知,24批构树叶样品中As的THQ均值 > 0.01 ,表明若长期服用构树叶可能会对人体健康产生一定的负面影响。CR是指生物体因暴露于致癌因素中而患癌的概率,USEPA指出,CR值可接受的范围在 $10^{-6} \sim 10^{-4}$ 之间,若CR值 $> 10^{-4}$,则视为危害较严重,当CR值 $< 10^{-6}$ 时,危害则可忽略不计,由表9可知,Pb、Cd和As的CR值远小于 10^{-4} ,表明构树叶无明显的致癌风险^[16-17]。

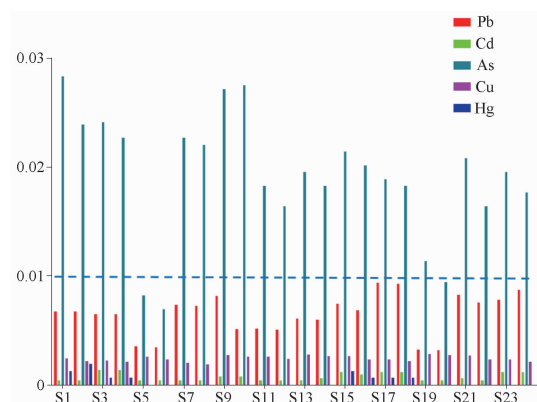


图6 长期服用构树叶摄入的重金属靶标危害系数(THQ)

Fig. 6 Heavy metal THQ ingested by long-term administration of *Broussonetia papyrifera* leaves

4 讨论

实验结果表明,不同产地之间构树叶中无机元素含量有所不同,这种差异性受诸多方面的影响,如地质结构、气候条件、土壤类型和人类活动等。《新修本草》谓“离其本土,则质同而效异”^[18],《本草纲目》曰“性从地变,质与物仟”,土壤是中药材无机元素的来源之一,不同中药对土壤无机元素的富集程度有所不同,这些无机元素在中草药中既可以独立作为活性成分,也可能影响药物的活性和效果^[19-20]。

在预实验中,笔者分别考察了不同定容溶剂(纯化水、体积分数1% HNO_3 、2% HNO_3 、3% HNO_3 、5% HNO_3)与不同消解体系(HNO_3 与 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$)对构树叶元素含量的影响,结果表明,以纯化水作为定容溶剂的元素含量均高于其他定容溶剂,可能原因是 HNO_3 浓度越高,解离程度不完全,且高浓度的 HNO_3 对锥的损伤较大; HNO_3 消解体系的元素含量高于 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解体系, $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解体系

表9 构树叶中重金属的最大金属量(EDI)和致癌风险(CR)

Tab.9 EDI and CR of heavy metals in *Broussonetia papyrifera* leaves

Sample	EDI/×10 ⁻⁴ mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹					CR/×10 ⁻⁶ mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹		
	Pb	Cd	As	Cu	Hg	Pb	Cd	As
S1	7.67	0.11	2.42	27.4	0.11	0.23	2.31	12.7
S2	7.62	0.11	2.04	24.5	0.16	0.23	2.31	10.7
S3	14.8	0.38	2.74	25.0	0.05	0.44	8.07	14.5
S4	14.7	0.38	2.58	24.0	0.05	0.44	8.07	13.6
S5	4.03	0.11	0.70	29.4	-	0.12	2.31	3.70
S6	3.92	0.11	0.59	25.9	-	0.12	2.31	3.12
S7	8.32	0.11	1.93	22.5	-	0.25	2.31	10.2
S8	8.21	0.11	1.88	21.1	-	0.25	2.31	9.92
S9	10.4	0.21	2.90	31.1	-	0.31	4.61	15.3
S10	11.6	0.21	2.74	29.1	-	0.35	4.61	14.4
S11	5.85	0.11	1.56	28.8	-	0.18	2.31	8.22
S12	5.74	0.11	1.40	26.8	-	0.17	2.31	7.37
S13	6.92	0.11	1.66	31.3	-	0.21	2.31	8.79
S14	6.76	0.16	1.56	29.6	-	0.20	3.46	8.22
S15	8.43	0.32	1.82	29.9	0.11	0.25	6.92	9.64
S16	7.78	0.27	1.72	26.6	0.05	0.23	5.77	9.07
S17	10.6	0.32	1.61	26.1	0.05	0.32	6.92	8.51
S18	10.5	0.32	1.56	24.5	0.05	0.31	6.92	8.22
S19	3.65	0.11	0.97	32.2	-	0.11	2.31	5.10
S20	3.60	0.11	0.81	30.6	-	0.11	2.31	4.25
S21	9.39	0.16	1.77	30.3	-	0.28	3.46	9.36
S22	8.59	0.11	1.40	26.4	-	0.26	2.31	7.37
S23	11.2	0.32	1.66	25.9	-	0.33	6.92	8.79
S24	11.0	0.32	1.50	23.9	-	0.33	6.92	7.94

不适合构树叶元素的分析,更适合根类、根茎类等质地坚硬的药材。

ICP-MS法测定Hg元素时存在明显的记忆效应,汞标准溶液在不加任何稳定剂的情况下较不稳定,RSD也随之增大,而加入Au元素后能形成稳定的金汞络合物,因此,在配制Hg标准溶液的过程中,加200 μL浓度为1 μg·mL⁻¹的Au标准溶液作为稳定液,既能够降低记忆效应,也能保证其稳定性。另外,汞元素标准溶液单独配制与其他元素混合配制并无区别。

5 结论

本实验建立了ICP-MS同时分析不同产地构树叶中22种无机元素的方法,测定了构树叶中22种无机元素的含量,结果显示构树叶中人体所需的K、Ca、Mg、Fe、Na等元素含量较高。健康风险评估结果表明,日常服用构树叶对人体健康并无明显影响,有害元素As的含量虽在安全范围内,

但THQ值显示As的暴露可能对人体健康有一定的影响。结合化学计量方法分析,结果表明,不同产地之间构树叶含量存在一定的差异性。此方法灵敏度高、分析速度快,适于构树叶无机元素的含量分析。

REFERENCES

- [1] LI D F, LI Y F. The value and cultivation technique of *Broussonetia papyrifera* tree[J]. *Pract Technol For*(林业实用技术), 2006(9):41-42.
- [2] LIANG X, RU M, ZHAI Z, et al. *In vitro* antibacterial effects of *Broussonetia papyrifera* leaf extract and its anti-colitis in DSS-treated mice [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1255127.
- [3] QIN C Y, NING D L. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of conformation tree[J]. *World's Latest Med Inf Digest*(世界最新医学信息文摘), 2019, 19(96):66-67.
- [4] WEI P P, GAO Z L, WANG P S, et al. Research progress on the medicinal efficacy of conformation tree[J]. *Breed Feed*(养殖与饲料), 2021, 20(5):58-62.

- [5] NEI L, PENG J, CHANG J, *et al.* Research status and application prospect of conformation tree[J]. *J Shanxi Agric Sci* (陕西农业科学), 2013,59(2):124-126.
- [6] LIU Y, LI M, CHEN X P, *et al.* Correlation study of 18 inorganic elements in Woolly Holly based on heat map and cluster analysis[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2020, 32(7):1111-1117.
- [7] ZHANG X, WANG F, YANG N, *et al.* Bioinformatics analysis and function prediction of NBS-LRR gene family in *Broussonetia papyrifera*[J]. *Biotechnol Lett*, 2023,45(1):13-31.
- [8] PENG Z, GUO X Z, ZHOU L, *et al.* ICP-MS combined with chemometrics analysis of 38 inorganic elements in citrus peel from different sources[J]. *Mod Chin Med*(中国现代中药), 2021, 23(7):1204-1212.
- [9] DING Z X. Geographical discrimination and element distribution of *Poria Cocos* based on multi-element combination chemometrics [D]. *J Anhui Univ Chin Med* (安徽中医药大学学报), 2021, 43(2): 53-56.
- [10] WU Q F, LIU Y P, HE D, *et al.* Icp-ms combined with chemometrics analysis of inorganic elements and health risk assessment of *Eucommia ulmoides* leaves[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2022,45(9):2157-2164.
- [11] YAN B F, FU Y X, SU S L, *et al.* ICP-MS analysis and evaluation of inorganic elements in stem and leaf of *Scutellaria baicalensis* from different places[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2018,49(22):5418-5425.
- [12] XU Q K, WEI X B, LI L, *et al.* Determination of various trace elements in *Cistanche deserticola* from different places by ICP-MS[J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2024, 59(2):179-185.
- [13] WEI Y Y, SHI M. Determination of 8 metal elements in Niu Dali by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2019,54(16):1328-1331.
- [14] ZHOU D L, WANG X Z, ZHANG Q Q, *et al.* Study on determination of inorganic elements in licorice and health risk assessment [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2023(8):1976-1985.
- [15] JIANG Z, XIAO H, ZHANG H, *et al.* *Broussonetia papyrifera* (paper mulberry) pollen is an important cause of allergic rhinitis in Southwest China[J]. *Clin Exp Allergy*, 2022,52(12):1448-1451.
- [16] CHEN H J, LUO Y Y, PENG X, *et al.* Distribution characteristics and health risk assessment of inorganic elements in white and different parts[J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2023,45(6):2079-2085.
- [17] CHE J, XIA H L, DENG Y J, *et al.* Determination of 5 heavy metals and harmful elements in *Periplaneta Americana* by ICP-MS [J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2021, 56(1): 63-67.
- [18] GU Z R, SHI F G, JIN Y. Research progress on the relationship between soil inorganic elements and quality of Chinese medicine [J]. *Guangdong Trace Elem Sci*(广东微量元素科学), 2013, 20(11):18-22.
- [19] QI J S. Study on the relationship between rare earth elements and medicinal properties of Chinese medicine[J]. *Comput Appl Chem* (计算机与应用化学), 2000,19(1):181-182.
- [20] ZHOU Z W. Research on the related factors affecting trace elements of traditional Chinese medicine[J]. *Trace Elem Health Res* (微量元素与健康研究), 2002,13(1):66-68.

(收稿日期:2024-05-13)