

基于 AHP-CRITIC 复合加权法优选牡蛎的炮制工艺及其重金属元素健康风险评估

张洪怡¹, 周靖惟¹, 刘佳雯¹, 仰 莲², 杨小艳³, 黄 宇², 艾光丽³, 王 福¹, 胡 媛¹, 陈 林¹, 刘友平¹, 马双成⁴, 陈士林¹, 罗 霄^{3*}, 陈鸿平^{1*}

1. 成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

2. 四川新绿色药业科技发展有限公司, 四川 彭州 611930

3. 成都市药品检验研究院 国家药品监督管理局中药材质量监测评价重点实验室, 四川 成都 610045

4. 国家药典委员会, 北京 100061

摘 要: 目的 采用层次分析(analytic hierarchy process, AHP)-基于指标相关性的权重确定方法(criteria importance through intercriteria correlation, CRITIC)复合加权法优选牡蛎的炮制工艺, 并对牡蛎药材和煅牡蛎饮片的重金属及有害元素进行健康风险评估。方法 采用单因素试验, 结合热重-差热分析(thermogravimetric-differential thermal analysis, TG-DTA)、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和 X 射线衍射光谱(X-ray diffraction spectroscopy, XRD)技术, 对不同温度所得牡蛎煅制品进行表征与分析, 初步确定煅制温度。采用正交试验, 以 CaCO_3 、5 种重金属及有害元素含量、饮片得率和酥脆程度为指标, 基于 AHP-CRITIC 复合加权法优选最佳炮制工艺。采用电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)法检测牡蛎药材和煅牡蛎饮片中 Pb、Cd、As、Hg、Cu 5 种重金属及有害元素含量。以原粉入药为例, 计算靶标危害系数(target hazard quotients, THQ)和致癌风险(carcinogenic risk, CR), 对牡蛎药材和煅牡蛎饮片的重金属及有害元素进行健康风险评估。结果 优化后的牡蛎炮制工艺为煅制温度 650 °C, 煅制时间 90 min, 药材直径 2~3 cm。炮制后的煅牡蛎饮片中 CaCO_3 含量变化不大, 重金属及有害元素含量降低。健康风险评估模型 THQ 和 CR 结果显示, 22 批牡蛎药材和煅牡蛎饮片均不会对暴露人群产生明显健康危害, 无潜在致癌风险, 且煅牡蛎饮片较牡蛎药材的健康风险显著降低($P < 0.05$)。结论 将重金属及有害元素含量纳入评价指标, 使结果更具全面性, 采用 AHP-CRITIC 复合加权法将主、客观相结合以优选牡蛎的炮制工艺, 所得工艺科学可靠, 稳定可行, 为牡蛎等贝壳类中药的炮制工艺研究提供了实验思路与方法。对牡蛎药材和煅牡蛎饮片的重金属及有害元素进行健康风险评估, 为中医临床用药安全和含牡蛎保健食品的长期安全服用提供了科学依据。

关键词: 牡蛎; 炮制工艺; AHP-CRITIC 复合加权法; 电感耦合等离子体质谱; 重金属; 有害元素; 健康风险评估; 热重-差热分析; 傅里叶变换红外光谱; X 射线衍射光谱; 正交试验; CaCO_3 ; Pb、Cd、As、Hg、Cu; 靶标危害系数; 致癌风险
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)05-1549-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.007

Optimization of processing technology based on AHP-CRITIC mixed entropy method and health risk assessment of heavy metals elements in *Ostreae Concha*

ZHANG Hongyi¹, ZHOU Jingwei¹, LIU Jiawen¹, YANG Lian², YANG Xiaoyan³, HUANG Yu², AI Guangli³, WANG Fu¹, HU Yuan¹, CHEN Lin¹, LIU Youping¹, MA Shuangcheng⁴, CHEN Shilin¹, LUO Xiao³, CHEN Hongping¹

1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Sichuan New Green Pharmaceutical Technology Development Co., Ltd., Pengzhou 611930, China

3. Chengdu Institute for Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring and Evaluation of Traditional Chinese

收稿日期: 2024-09-23

基金项目: 国家重点研发计划—中医药现代化专项(2023YFC3504101); 国家中医药管理局应用基础研究课题(gzyjc20210901)

作者简介: 张洪怡, 硕士研究生, 研究方向为中药化学有效成分与质量标准应用研究。E-mail: 2253376745@qq.com

*通信作者: 罗 霄, 副主任中药师, 硕士生导师, 从事中药鉴定及质量监测评价研究。E-mail: 76209608@qq.com

陈鸿平, 教授, 硕士生导师, 从事中药炮制和中药化学有效成分与质量标准应用研究。E-mail: chen_hongping@126.com

Medicine, Chengdu 610045, China

4. Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061, China

Abstract: Objective To optimize the calcination process of Muli (*Ostreae Concha*) by AHP-CRITIC mixed entropy method, and health risk of heavy metals and harmful elements were evaluated in *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces. **Methods** A one-way test, combined with thermogravimetric-differential thermal analysis (TG-DTA), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction spectroscopy (XRD), was used to characterize and analyze the calcined *Ostreae Concha* decoction pieces obtained at different temperatures, and to preliminarily determine the calcination temperature. The optimal processing parameters were optimized based on the AHP-CRITIC method through orthogonal tests with calcium carbonate (CaCO_3) content, heavy metals elements content, yield and crispiness as indicators. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was employed to detect the contents of five heavy metals elements, namely, Pb, Cd, As, Hg and Cu, in *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces. Taking the application of raw powder into medicine as an example, the target hazard quotients (THQ) and carcinogenic risk (CR) were calculated to assess the health risks of heavy metals and harmful elements in *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces. **Results** The optimized calcination process is 2—3 cm in diameter of *Ostreae Concha*, and calcining for 90 minutes at 650 °C. After processing, the CaCO_3 content of calcined *Ostreae Concha* decoction pieces did not change much, the heavy metal and harmful elements contents were reduced. As demonstrated by health risk assessment based on the THQ and CR models, these 22 batches of *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces did not cause significant health hazards for the exposed populations, and there was no potential carcinogenic risk. And the health risk of 22 batches of calcined *Ostreae Concha* decoction pieces was significantly reduced compared with the original medicinal materials ($P < 0.05$). **Conclusion** In this study, heavy metals and harmful elements were included in the evaluation indexes to make the results more comprehensive. The AHP-CRITIC mixed entropy method combines subjective and objective factors to optimize the calcination process of *Ostreae Concha*, and the scoring results are scientific and reliable, and the process was stable and feasible, which provided experimental ideas and methods for the study of the decoction process of *Ostreae Concha* and other testacean traditional Chinese medicine. The health risk assessment of heavy metal elements in *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces provides a scientific basis for the safety in clinic and the long-term safety of *Ostreae Concha*-containing in health food.

Key words: *Ostreae Concha*; processing technology; AHP-CRITIC mixed entropy method; inductively coupled plasma mass spectrometry; heavy metal; harmful element; health risk assessment; thermogravimetric-differential thermal analysis; Fourier transform infrared spectroscopy; X-ray diffraction spectroscopy; orthogonal test; CaCO_3 ; Pb; Cd; As; Hg; Cu; target hazard quotients; carcinogenic risk

牡蛎为牡蛎科牡蛎属动物长牡蛎 *Ostrea gigas* Thunberg、大连湾牡蛎 *O. talienwhanensis* Crosse 或近江牡蛎 *O. rivularis* Gould 的贝壳^[1], 首载于《神农本草经》, 列为上品^[2], 是《中国药典》2020 年版收载的常用贝壳类中药之一。牡蛎味咸, 具有重镇安神、潜阳补阴、软坚散结的功效, 临床常用于治疗惊悸失眠、眩晕耳鸣、瘰癧痰核、癥瘕痞块。煅牡蛎长收敛固涩、制酸止痛, 常用于自汗盗汗、遗精滑精、崩漏带下、胃痛吞酸。除其主要成分 CaCO_3 外, 牡蛎还含有少量氨基酸、蛋白质等成分及铁、铜、铝、铅等多种元素^[3-5]。

牡蛎药材质地坚硬, 不利于调剂制剂和成分溶出, 临床应用以其煅品为主。历版《中国药典》均收录有牡蛎及其炮制品, 所录牡蛎炮制方法为煅法, 炮制品为煅牡蛎, 且各版药典均未明确煅制温

度和时间等工艺参数。各省、市、自治区中药炮制规范中所录牡蛎炮制方法有明煅法和煅淬法 2 种, 炮制品包括煅牡蛎、醋牡蛎和盐牡蛎。除《北京市中药饮片炮制规范》2008 年版^[6]明确牡蛎的煅制工艺为“煅(550 °C、1 h)至酥脆”外, 其余各地方炮制规范均未明确煅制工艺的相关参数。既往报道中, 张凤婷等^[7]对各牡蛎炮制品的硬度、钙离子溶出等理化性质进行考察, 并通过大鼠抗胃溃疡药效优选最佳工艺, 实验内容和评价指标相对完善。郑晓霞等^[8]以产生孔隙和酥脆程度优选出牡蛎最佳工艺为 300 °C 煅制 3 h, 实践中发现该温度煅制并不能达到酥脆程度, 需进一步改善煅制条件。孙颖等^[9]采用电热自动恒温干燥箱将牡蛎铺至约 10~15 cm 厚, 以 300 °C 煅制 3~4 h 得煅牡蛎, 该方法虽创新了煅制器具, 但实际生产中很难实现煅

制酥脆。总体来说,牡蛎的炮制工艺多以其 CaCO_3 含量与酥脆程度为评价指标,缺乏全面性,所得炮制工艺参数亦参差不齐,且部分工艺所得煅牡蛎饮片难以满足药典要求,不利于其质量控制和临床规范用药。

牡蛎的药用部位为贝壳,是同时具有动物药和矿物药特性的特殊类药材,其主要成分为 CaCO_3 , 含量达 90% 以上。除中医临床上用作药用外,牡蛎亦是多种具有补钙、安神等功能保健食品的重要原料之一。基于其自身特性和生长环境因素,重金属元素是牡蛎的重要组成部分,也是需要重点关注的对象。重金属及有害元素在体内蓄积至一定程度可能会引起中枢神经中毒、肾衰竭、肝坏死等一系列健康问题^[10-13],严重危害人体健康,可见重金属及有害元素含量超标是影响其临床用药安全与保健食品长期服用的一大关键问题。《中国药典》2020 年版一部牡蛎项下对其重金属及有害元素作有限量规定,而现有研究仅对牡蛎、石决明、瓦楞子等贝壳类中药中 Co、Cu、As 及 Pb 等元素进行含量测定^[5,14-15],未见对其重金属及有害元素进行健康风险评估,不利于牡蛎临床安全用药及中药国际化发展。

基于此,本研究采用层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)-基于指标相关性的权重确定方法(criteria importance through intercriteria correlation, CRITIC)复合加权法,以 CaCO_3 含量、重金属及有害元素含量、酥脆程度和饮片得率为评价指标,采用单因素和正交试验对牡蛎的炮制工艺进行考察优选;并计算 22 批牡蛎药材和煅牡蛎饮片的靶标危害指数(target hazard quotients, THQ)和致癌风险(carcinogenic risk, CR),对其重金属及有害元素进行安全性评估,以期对牡蛎的炮制工艺及其临床安全用药提供实验参考和数据支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器

DLD-30 型程控煅药炉,杭州海善制药设备有限公司;MS205DU 型十万分之一电子天平,瑞士梅特勒-托利多公司;BCE224-1CCN 型万分之一电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;101-3A 型电热鼓风干燥箱,北京中兴伟业世纪仪器有限公司;Integral 5 型密理博超纯水仪,美国 Millipore 公司;SDT 650 型同步热分析仪,美国沃特斯公司;FTIR-650 型傅里叶变换红外光谱仪,天津港东科技股份

有限公司;DX-2700BH 型多功能衍射仪,丹东浩元仪器有限公司;MWPRO Multiwave PRO 型微波消解仪,奥地利 Anton Paar 公司;7850 型电感耦合等离子体质谱仪,美国 Agilent 公司。

1.2 试药、试剂与药材

氢氧化钾、甲基红、钙黄绿素、乙二胺四醋酸二钠、氧化锌,均为分析纯,溴化钾(光谱纯),均购于成都科隆化学品有限公司。65%硝酸,优级纯,德国 Merck 公司;Pb(批号 228040-4)、Cd(批号 227021-6)、As(批号 228042-2)、Hg(批号 229105)、Cu(批号 228027-5)、Au(批号 228015-1)、In(批号 225059-2)、Bi(批号 225037-1)、Ge(批号 226032)单元素标准液,质量浓度 1 000 mg/L,均购于国家有色金属及电子材料分析测试中心标准样品部;超纯水(自制),Integral 5 型密理博超纯水仪,美国 Millipore 公司。共收集到牡蛎药材 22 批,样品由四川新绿色药业科技发展有限公司(新绿色)提供或购于成都市荷花池中药材专业市场(荷花池),经成都中医药大学中药资源与鉴定系王光志教授鉴定为近江牡蛎 *O. rivularis* Gould 的贝壳。牡蛎药材洗净,去除表面附着物及泥沙,干燥,备用。牡蛎药材样品信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 单因素试验考察煅制温度对牡蛎炮制品性状、内在成分的影响及其炮制机制分析

2.1.1 不同煅制温度单因素试验样品的制备 《中国药典》2020 年版一部牡蛎项下记载牡蛎的炮制方法为明煅法(通则 0213),但对于具体的煅制温度、煅制时间和药材直径大小却无明确规定。根据文献调研^[7-9]和预试验结果,在确定煅制条件和煅制设备的情况下,影响牡蛎炮制工艺的主要因素有煅制温度、煅制时间和药材直径,其中,煅制温度是影响牡蛎炮制工艺的重要因素。因此,本实验在固定煅制时间为 60 min 和药材直径为 1~2 cm 条件下,对煅制温度进行单因素试验考察。因编号为 ML-18 的牡蛎药材收集量较大,故选择此批药材进行炮制工艺考察。取净制后的牡蛎药材 ML-18,砸碎,筛取直径为 1~2 cm 的牡蛎药材,置煅药炉中,分别设定温度为 350、450、550、650、750、850、950 °C 进行煅制,煅制 60 min,得到 7 种不同煅制温度牡蛎煅制品,分别编号 DML-350~DML-950,备用。

2.1.2 外观、性状分析 牡蛎药材与煅牡蛎饮片外观性状见图 1。350~950 °C 煅制时,随着煅制温度

表 1 牡蛎药材及煅牡蛎饮片样品信息
Table 1 Sample information of *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces

序号	药材编号	产地	供应商/购入地点	收集时间	饮片编号
1	ML-01	广东湛江	新绿色	2023-09	DML-01
2	ML-02	广东湛江	新绿色	2023-09	DML-02
3	ML-03	广东湛江	新绿色	2023-09	DML-03
4	ML-04	广东阳江	新绿色	2023-09	DML-04
5	ML-05	广东茂名	新绿色	2023-09	DML-05
6	ML-06	广西南宁	新绿色	2023-09	DML-06
7	ML-07	广西南宁	新绿色	2023-09	DML-07
8	ML-08	广西南宁	新绿色	2023-09	DML-08
9	ML-09	广西柳州	新绿色	2023-09	DML-09
10	ML-10	广西柳州	新绿色	2023-09	DML-10
11	ML-11	天津	新绿色	2023-09	DML-11
12	ML-12	天津	新绿色	2023-09	DML-12
13	ML-13	浙江宁波	新绿色	2023-09	DML-13
14	ML-14	浙江宁波	新绿色	2023-09	DML-14
15	ML-15	浙江宁波	新绿色	2023-09	DML-15
16	ML-16	广东阳江	荷花池	2023-12	DML-16
17	ML-17	广东阳江	荷花池	2023-12	DML-17
18	ML-18	广西	新绿色	2023-05	DML-18
19	ML-19	广西	新绿色	2023-05	DML-19
20	ML-20	广西	新绿色	2023-05	DML-20
21	ML-21	广西	新绿色	2023-05	DML-21
22	ML-22	广西	新绿色	2023-05	DML-22

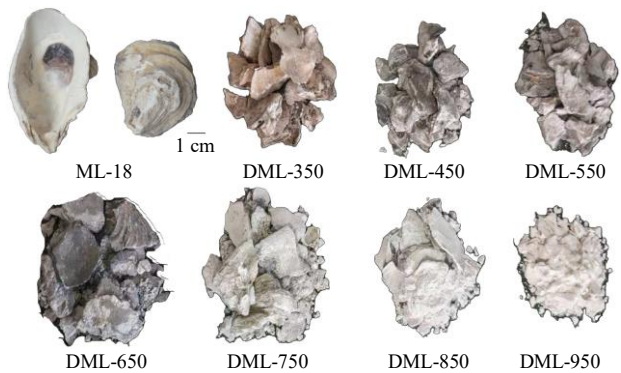


图 1 牡蛎药材与煅牡蛎饮片的外观、性状
Fig. 1 Appearance and character of *Ostreae Concha* medicinal materials and calcined *Ostreae Concha* decoction pieces

升高，其质地越酥脆，越易掰碎；颜色由药材的白色向黄褐色-灰黑色-灰色-灰白色-白色转变，且内面光泽逐渐消失；煅制温度达 850 ℃ 及以上时，药材明显由块状向粉末状转变。

观察牡蛎药材和不同温度下煅制所得 7 种煅牡

蛎饮片的性状：牡蛎药材呈卵圆形或三角形，壳面稍不平，环生同心鳞片，内面白色，有光泽，质坚硬，难用手掰碎，断面层状，有腥气，味微咸；煅牡蛎饮片呈不规则碎块或粉末状，灰白色或白色，无光泽，质酥脆，易用手掰碎，断面层状，腥气微或无腥气。

取编号为 ML-18 的牡蛎药材和不同温度下煅制的 7 种煅牡蛎饮片 DML-350~DML-950，粉碎，研磨，过 200 目筛，即得各样品粉末，用于热重-差热分析（thermogravimetric-differential thermal analysis, TG-DTA）、傅里叶变换红外光谱（Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR）、X 射线衍射光谱（X-ray diffraction spectroscopy, XRD）和电感耦合等离子体质谱（inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS）测试与分析。

2.1.3 TG-DTA 测试与分析 分别取“2.1.2”项下样品粉末，置氧化铝坩埚中，按以下实验条件对样品进行测试。检测条件：DTA 量程为 50 μV，实验气氛为动态高纯氮气，体积流量为 50 mL/min，压力为 0.06~0.08 MPa，采样周期为 1 000 ms，升温速率为 25 ℃/min，试样质量为 10 mg 左右，测试温度范围为 50~1 000 ℃，试样皿为氧化铝坩埚。采用 Origin 2022 软件对数据进行分析处理。牡蛎药材 ML-18、牡蛎煅制品 DML-650、DML-850、DML-950 的 TG-DTA 热解特性曲线见图 2~5，各煅制品的 DTA 和 TG 曲线见图 6-a、b。

牡蛎药材的失重过程分为 3 个阶段：第 1 阶段为 50.00~609.47 ℃，质量损失为 1.86%，主要是自由水和结合水的蒸发以及少量有机质成分的损失过程；第 2 阶段为 609.47~820.60 ℃，是一段急剧

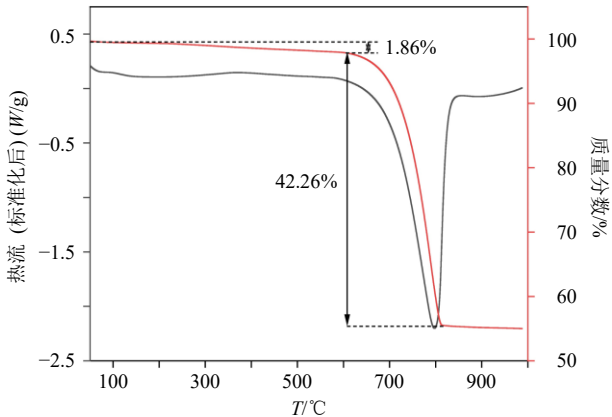


图 2 牡蛎药材 ML-18 的 TG-DTA 曲线
Fig. 2 TG-DTA curves of *Ostreae Concha* medicinal materials ML-18

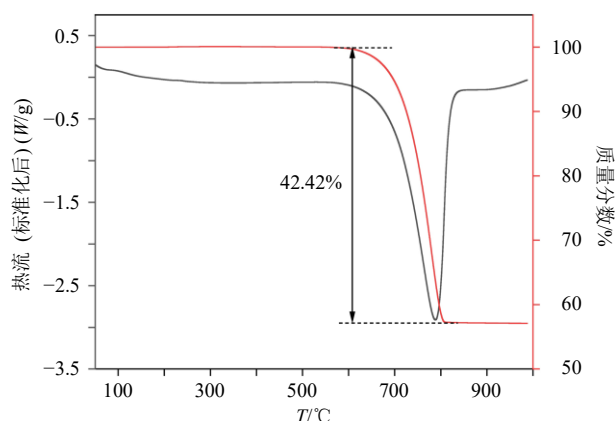


图 3 煅牡蛎饮片 DML-650 的 TG-DTA 曲线

Fig. 3 TG-DTA curves of calcined *Ostreae Concha* decoction pieces DML-650

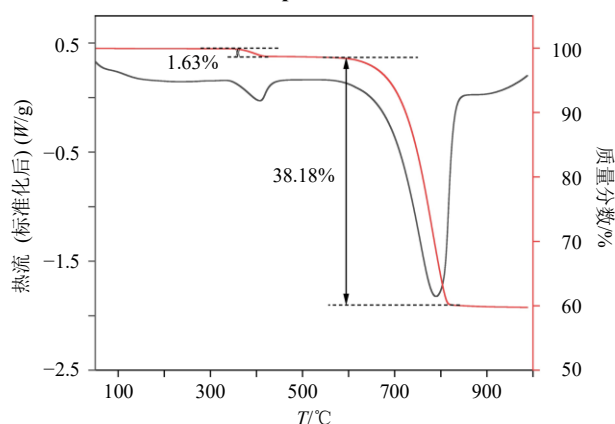


图 4 煅牡蛎饮片 DML-850 的 TG-DTA 曲线

Fig. 4 TG-DTA curves of calcined *Ostreae Concha* decoction pieces DML-850

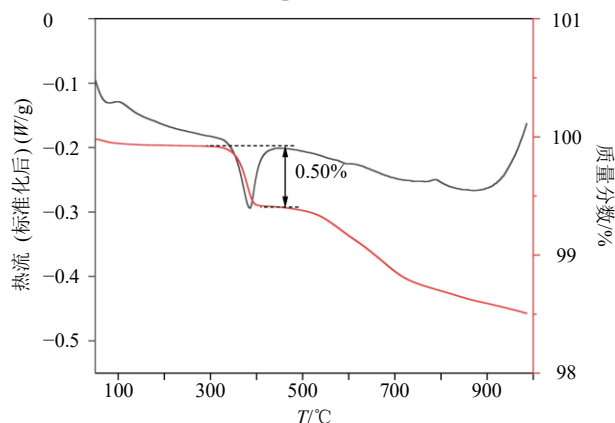


图 5 煅牡蛎饮片 DML-950 的 TG-DTA 曲线

Fig. 5 TG-DTA curves of calcined *Ostreae Concha* decoction pieces DML-950

的质量损失过程,质量损失为 42.26%,同时对应的 DTA 曲线在 800.50 °C 附近有 1 个强烈的吸热峰,此阶段是 CaCO_3 分解产生 CaO 和 CO_2 所致;第 3 阶段在 820.60 °C 后,无明显失重,样品质量趋于稳

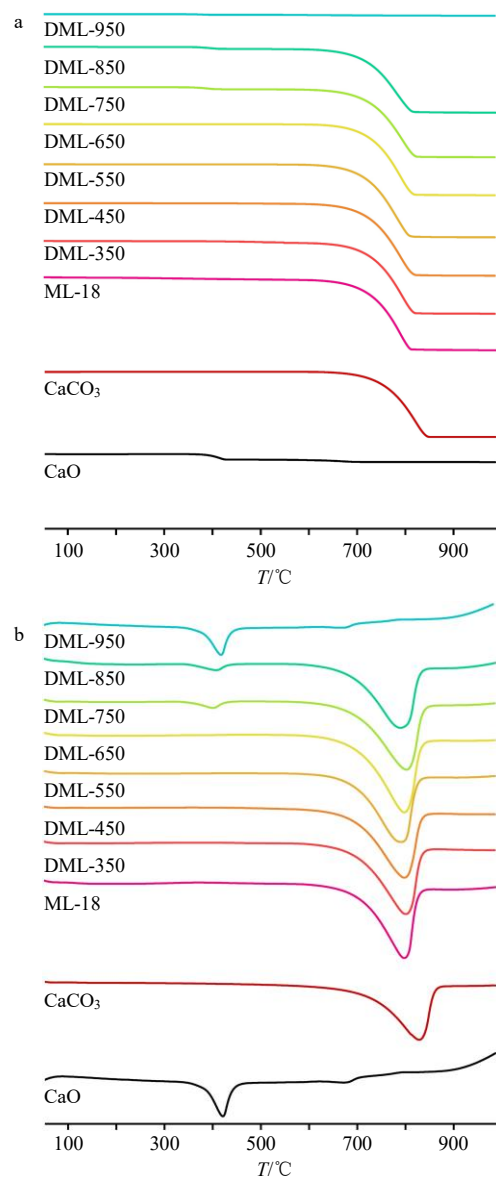


图 6 不同煅制温度牡蛎煅制品的 TG (a) 和 DTA (b) 曲线

Fig. 6 TG (a) and DTA (b) curves of *Ostreae Concha* of different calcination temperatures

定。见图 2。经 650 °C 煅制后,失去自由水、结合水和有机质成分,故 TG-DTA 曲线与生品相比第 1 失重阶段不明显。见图 3。

牡蛎经 850 °C 煅制后,有机质成分损失,主要成分 CaCO_3 分解产生部分 CaO , CaO 吸水形成 Ca(OH)_2 , 其失重过程分为 4 个阶段:第 1 阶段为 50.00~420.87 °C,质量损失为 1.63%,同时对应的 DTA 曲线在 407.67 °C 附近有 1 个较强的吸热峰,主要是 Ca(OH)_2 脱水形成 CaO ;第 2 阶段为 420.87~594.61 °C,此阶段样品中存在的 CaCO_3 和 CaO 均不发生分解反应,故无明显失重;第 3 阶段为 594.61~817.85 °C,是一段急剧的质量损失过程,质

量损失为 38.18%，同时对应的 DTA 曲线在 789.83 °C 附近有 1 个强烈的吸热峰，此阶段是 CaCO_3 分解产生 CaO 和 CO_2 所致；第 4 阶段在 817.85 °C 后，无明显失重，样品质量趋于稳定。见图 4。

牡蛎在 950 °C 下煅制 60 min 后，其主要成分 CaCO_3 几乎完全分解成 CaO ， CaO 吸水形成 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 。牡蛎 950 °C 煅制品仅在 384.26 °C 附近有 1 个明显的吸热峰，该吸热峰为 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 脱水形成 CaO 所致，质量损失约为 0.50%。见图 5。

2.1.4 FTIR 测试与分析 分别取“2.1.2”项下样品粉末和 KBr，按 1:100 比例混合，用玛瑙研钵研磨均匀，在 15 kN 压力下加压 10 s 制成透明薄片，进行红外光谱扫描检测。检测条件：扫描范围 4 000~400 cm^{-1} ；仪器分辨率 4 cm^{-1} ；扫描次数 32。以波数和透过率为红外光谱图的横、纵坐标，采用 Origin 2022 软件对数据进行分析处理。ML-18 牡蛎药材及各煅制温度下牡蛎炮制品的 FTIR 图谱见图 7-a，二阶导数图谱见图 7-b。由图 7 可知，DML-750、DML-850 和 DML-950 3 个牡蛎炮制品在 3 600 cm^{-1} 附近出现红外吸收峰，推测是 CaCO_3 转变为 CaO ， CaO 吸水生成 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 所致^[7]；在 1 687、1 083、1 012 cm^{-1} 左右，仅牡蛎药材和 DML-350 炮制品有吸收峰，其余炮制品均未见相应特征峰，因经煅制后有机质成分部分损失导致；DML-950 炮制品主要成分已由 CaCO_3 完全转变为 CaO ，故在 2 510、1 800 cm^{-1} 处未见 CO_3^{2-} 的倍频峰，在 1 400~1 600 cm^{-1} 处和 877、711 cm^{-1} 处未见 CO_3^{2-} 的弯曲振动和伸缩振动吸收峰^[16-17]。

2.1.5 XRD 测试与分析 分别取“2.1.2”项下样品粉末适量，对各样品进行 XRD 扫描检测。检测条件：Cu-K α 靶源 X 射线 ($\lambda=0.154 \text{ nm}$)，石墨单色器，管电压为 40 kV，管电流为 30 mA，扫描速率为 6°/min，扫描范围 5°~80°。实验数据以 2θ 表示色谱峰衍射角（衍射峰峰位）， d 为晶格间距， I/I_0 为衍射相对强度。ML-18 牡蛎药材及各煅制温度牡蛎炮制品的 XRD 图谱见图 8。可见，牡蛎生品在 2θ 为 23.13°、29.49°、31.52°、35.08°、39.51°、43.28°、47.61°、48.63°、57.56°、58.22°、61.57°、64.82°、65.77°、77.30° 等处有衍射峰，符合方解石型 CaCO_3 的标准 PDF 卡片 (Calcite: PDF#05-0586)。350、450、550、650 °C 温度下煅制 60 min 所得牡蛎炮制品与生品的衍射图谱基本一致，表明在以上温度下煅制 60 min，主要成分 CaCO_3 未分解。950 °C 下煅

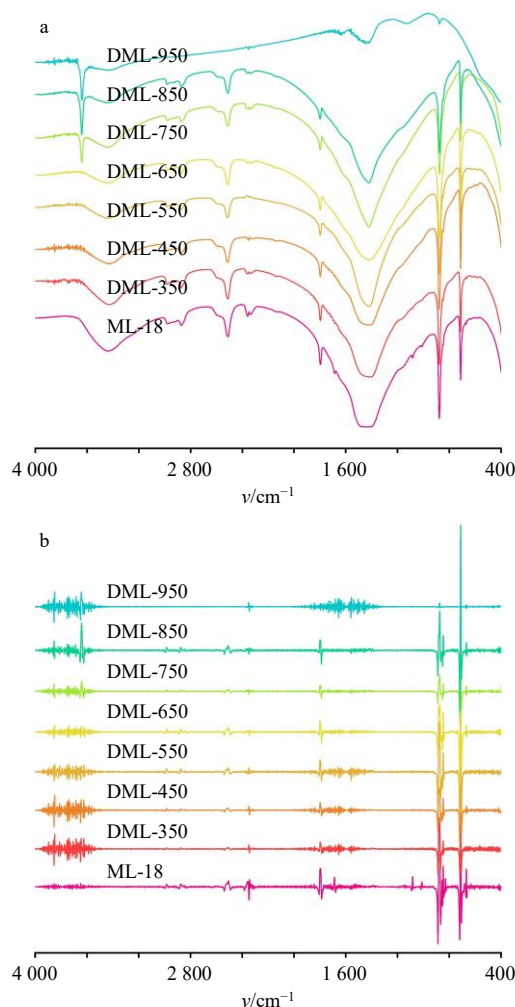


图 7 牡蛎药材及不同煅制温度下煅制品的 FTIR 图谱 (a) 及其二阶导数图谱 (b)

Fig. 7 FTIR spectra (a) and their second derivative spectra (b) of *Ostrea Concha* of different calcination temperatures

制 60 min 牡蛎炮制品的衍射图谱在 2θ 为 32.29°、37.45°、53.97°、64.28°、67.52° 等处有衍射峰，符合 CaO 的标准 PDF 卡片 (Lime: PDF#37-1497)，而未出现符合 CaCO_3 标准 PDF 卡片的衍射峰，表明此条件下 CaCO_3 几乎完全分解为 CaO 。750、850 °C 牡蛎炮制品除有方解石型 CaCO_3 的特征衍射峰外，在 2θ 为 32.24°、37.40°、53.97° 附近出现衍射峰，符合 CaO 的标准 PDF 卡片，表明此条件下 CaCO_3 部分分解成 CaO 。与 TG-DTA 和 FTIR 分析结果一致。

2.1.6 ICP-MS 测试与分析

(1) ICP-MS 测试条件：测定时选取的同位素为 ^{63}Cu 、 ^{75}As 、 ^{114}Cd 、 ^{202}Hg 、 ^{208}Pb ，其内标同位素分别为 ^{72}Ge 、 ^{72}Ge 、 ^{115}In 、 ^{209}Bi 、 ^{209}Bi 。等离子体气体（氩气）流量 15.0 L/min，辅助气体（氦气）流量 1.0 L/min，雾化气流量 1.0 L/min，补偿/稀释气体流量

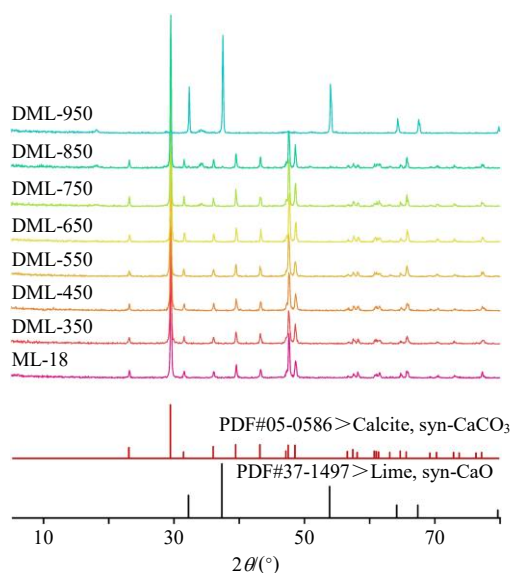


图 8 牡蛎药材及不同温度煅制品的 XRD 图谱
Fig. 8 XRD spectra of *Ostrea Concha* of different calcination temperatures

1.0 L/min, 蠕动泵转速为 0.1 r/min, 雾化室温度 2.0 °C, 检测器模式为脉冲模式, 重复次数为 3 次。

(2) 标准溶液的制备: 精密吸取 Cu、As、Cd、Hg、Pb 单元素标准溶液适量, 用 5%硝酸稀释制成分别含 Pb 和 As 0、1、5、10、20 μg/L, 含 Cd 0、0.5、2.5、5.0、10.0 μg/L, 含 Cu 0、50、100、200、500 μg/L, 含 Hg 0、0.2、0.5、1.0、2.0 μg/L 的系列质量浓度混合标准溶液。

(3) 内标溶液的制备: 精密吸取 In、Bi、Ge 单元素标准溶液适量, 用 5%硝酸稀释, 制成各含 1 mg/L 的混合内标溶液。内标溶液采用在线内标加入法加入。

(4) 供试品溶液的制备: 取样品粉末 0.1 g, 精密称定, 置于 100 mL 聚四氟乙烯消解罐中, 加入 7 mL 65%硝酸, 于通风橱中静置 10 min, 待反应不剧烈后, 于赶酸仪中 80 °C 预消解 15 min, 冷却后加盖密封, 放入微波消解仪中, 照表 2 条件进行消解。消解完成后, 待冷却至室温取出消解罐, 将消解液转至 50 mL 量瓶中, 用少量水洗涤消解罐 3 次, 洗液合并于量瓶中, 加入金单元素标准溶液 (1 mg/L)

表 2 微波消解仪工作参数

Table 2 Working parameters of microwave digester

消解 步骤	微波功率/ W	升温时间/ min	控制温度/ °C	维持时间/ min
1	750	10	100	5
2	1 500	10	200	25

200 μL, 加水定容至刻度, 摇匀, 即得。每批样品平行制备 3 份。

(5) 空白溶液的制备: 除不加牡蛎样品和 Au 元素外, 余同法制备试剂空白溶液。

(6) 线性关系考察: 分别取系列质量浓度的混合标准品溶液, 按照“2.1.6 (1)”项下 ICP-MS 测试条件测定各元素含量。以待测元素的质量浓度为横坐标 (X), 以待测元素和选用内标元素参比峰响应值的比值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 计算得回归方程。各元素的线性回归方程及相关系数 (r) 见表 3, 各 r 均大于 0.999 0, 表明各元素在各自范围内的线性关系良好。

表 3 各元素线性关系

Table 3 Linear relationship of elements

元素	内标 元素	回归方程	r	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)
⁶³ Cu	⁷² Ge	$Y=0.0541X+0.0116$	1.000 0	0.182 0~500.000
⁷⁵ As	⁷² Ge	$Y=0.0061X+9.7413\times10^{-5}$	1.000 0	0.211 7~20.000
¹¹⁴ Cd	¹¹⁵ In	$Y=0.0035X+1.3106\times10^{-5}$	1.000 0	0.021 0~10.000
²⁰² Hg	²⁰⁹ Bi	$Y=0.0015X+1.9025\times10^{-5}$	0.999 6	0.006 0~2.000
²⁰⁸ Pb	²⁰⁹ Bi	$Y=0.1390X+2.5000\times10^{-3}$	1.000 0	0.082 0~20.000

(7) 检出限、定量限: 取制备的空白溶液, 按照“2.1.6 (1)”项下 ICP-MS 测试条件, 连续进样测试 11 次, 记录仪器响应值, 分别以仪器响应值的 3 倍、10 倍标准差对应的待测元素质量浓度作为检出限和定量限。结果 Cu、As、Cd、Hg、Pb 元素的检出限分别为 54.6、63.5、6.3、1.8、24.6 ng/L, 定量限分别为 182.0、211.7、21.0、6.0、82.0 ng/L。

(8) 精密度试验: 取 ML-03 供试品溶液, 按照“2.1.6 (1)”项下 ICP-MS 测试条件连续测定 6 次, 记录各元素响应值。结果显示, Cu、As、Cd、Hg、Pb 元素响应值的 RSD 分别为 1.54%、3.01%、3.63%、3.87%、0.69%, 均在可接受范围内, 表明该仪器精密度良好。

(9) 稳定性试验: 取 ML-03 供试品溶液, 按照“2.1.6 (1)”项下 ICP-MS 测试条件, 分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h 进行测定, 计算各元素含量。结果显示, Cu、As、Cd、Hg、Pb 元素响应值的 RSD 分别为 3.52%、3.15%、3.15%、3.82%、2.58%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

(10) 重复性试验: 分别取 6 份 ML-03 样品 0.1 g, 精密称定, 平行制备供试品溶液 6 份, 按照“2.1.6 (1)”项下 ICP-MS 测试条件进行测定, 计算各元素

[illegible]

间和药材直径 3 个主要因素的不同水平对 CaCO_3 含量、重金属及有害元素含量、饮片酥脆程度及得率的影响, 每组实验重复 3 次。实验设计及结果见表 5。

2.2.2 考察指标的测定

(1) CaCO_3 含量测定: 取煅牡蛎细粉约 0.15 g, 精密称定, 按照《中国药典》2020 年版一部^[1]牡蛎项下 CaCO_3 含量测定方法进行测定。

(2) 5 种重金属及有害元素含量测定: 按照“2.1.6”项下方法进行供试品溶液制备与含量测定。

(3) 酥脆程度赋分: 根据陶明宝等^[18]对瓦楞子不同炮制品质地的描述, 将牡蛎炮制品的不同酥脆程度进行赋分量化。赋分标准: 难用手掰碎者赋 20 分; 能用手掰碎者赋 40 分; 易用手掰碎者赋 60 分; 用手轻掰即碎者赋 80 分; 质极酥松、轻捏即碎者赋 100 分。介于二者之间的分别赋 30、50、70、90 分。

(4) 饮片得率计算: 按照公式 (1) 进行计算。

$$\text{饮片得率} = \text{饮片质量} / \text{投料量} \quad (1)$$

2.2.3 评价指标的组合赋权

(1) AHP 法确定主观权重系数 (W_{AHP}): AHP 是指将一个复杂的多目标决策问题作为一个系统, 将目标分解为多个目标或准则, 进而分解为多指标 (或准则、约束) 的若干层次, 通过定性指标模糊量化方法算出层次单排序 (权数) 和总排序, 以便作为目标 (多指标)、多方案优化决策的系统方法。在本研究中, CaCO_3 是牡蛎的主要成分, 且是《中国药典》2020 年版一部牡蛎项下规定的含量测定指标成分, 故设置权重最大; Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种重金属及有害元素亦是牡蛎的质控指标之一, 设置其权重仅次于 CaCO_3 ; 《中国药典》牡蛎炮制项下有“煅至酥脆”的描述, 故本研究将其酥脆程度作为评价指标之一; 此外, 单因素试验结果显示, 虽温度越高, 煅制品越酥脆, 但温度过高, CaCO_3 转变为 CaO , 甚至灰化, 饮片得率降低, 故本研究将饮片得率纳为牡蛎炮制工艺的评价指标之一。

综合考虑牡蛎煅制工艺中以上评价指标的相对重要程度, 本实验将以上 8 个评价指标分为 4 个层次, 确定其先后顺序为 $\text{CaCO}_3 > \text{Cu} = \text{As} = \text{Cd} = \text{Hg} = \text{Pb} > \text{酥脆程度} = \text{饮片得率}$, 构建两两比较的判断矩阵, 计算获得各指标 W_{AHP} 见表 6。矩阵一致性比例因子 (consistency ratio, CR) = 0.027 < 0.100, 结果显示指标优先比较判断矩阵一致性较好, 表明所得指标的权重系数有效、可靠。

(2) CRITIC 法确定客观权重系数 (W_{CRITIC}):

表 6 评价指标成对比较的优先判断矩阵及各指标 W_{AHP}
Table 6 Priority judgment matrix and each index W_{AHP} for pair comparison of evaluation indicators

评价指标	CaCO_3	Cu	As	Cd	Hg	Pb	酥脆程度	饮片得率	W_{AHP}
CaCO_3	1	3	3	3	3	3	4	4	0.309 5
Cu	1/3	1	1	1	1	1	2	2	0.113 4
As	1/3	1	1	1	1	1	2	2	0.113 4
Cd	1/3	1	1	1	1	1	2	2	0.113 4
Hg	1/3	1	1	1	1	1	2	2	0.113 4
Pb	1/3	1	1	1	1	1	2	2	0.113 4
酥脆程度	1/4	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1	2	0.067 4
饮片得率	1/4	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1	0.056 0

CRITIC 是一种客观赋权法, 基于评价指标的对比强度和指标之间的冲突性来综合衡量指标的客观权重。本研究中, CaCO_3 是牡蛎的主要成分, 含量越高表示其质量越优, 酥脆程度评分越高反映煅制品越佳, 饮片得率越高越好, 以上 3 者均属正向指标; 5 种重金属及有害元素危害人体健康, 其含量越低表示药材和饮片质量越好, 属负向指标。用公式 (2) 对负向指标作正向化处理。并对以上 8 个评价指标数据进行无量纲化处理以消除单位量纲, 按公式 (3) 获得标准化值 (S_i), 并进行权重计算。

$$X_i = x_{\max} - x_i \quad (2)$$

X_i 为正向指标的实测值或负向指标的正向化处理值, $x_{\max}$ 为该负向指标的最大值, x_i 为该负向指标的实测值

$$S_i = (x_i - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) \quad (3)$$

S_i 为标准化值, $x_{\min}$ 为该指标最小值, $x_{\max}$ 为该指标最大值

采用 SPSS 27.0 软件计算各指标的标准差 (σ_j)、冲突性 (R_j)、综合权重系数 (C_j) 和客观权重系数 (W_{CRITIC}), 得 CaCO_3 、Cu、As、Cd、Hg、Pb、酥脆程度和饮片得率 8 个评价指标的 W_{CRITIC} , 结果见表 7。

表 7 3 项评价指标的权重系数

评价指标	σ_j	R_j	C_j	W_{CRITIC}	$W_{\text{AHP-CRITIC}}$
CaCO_3	34.162 9	6.838 4	233.618 0	0.194 8	0.455 1
Cu	35.947 4	3.111 1	111.836 0	0.093 2	0.079 9
As	34.148 8	3.028 5	103.419 5	0.086 2	0.073 8
Cd	26.876 7	3.722 7	100.053 3	0.083 4	0.071 4
Hg	35.158 8	3.242 8	114.012 8	0.095 0	0.081 4
Pb	36.731 3	3.064 4	112.560 9	0.093 8	0.080 4
酥脆程度	32.467 4	3.709 6	120.440 8	0.100 4	0.051 1
饮片得率	28.048 6	10.823 0	303.569 0	0.253 1	0.107 0

(3) AHP-CRITIC 复合加权法确定复合权重系数 ($W_{\text{AHP-CRITIC}}$): 为使所得的权重系数更全面且贴合生产实际, 本研究采用复合加权法, 将使用 AHP 法和 CRITIC 法分别得到的各指标权重系数进行结合, 按公式 (4) 计算获得 $W_{\text{AHP-CRITIC}}$, 结果见表 7。

$$W_{\text{AHP-CRITIC}} = W_{\text{AHP}} W_{\text{CRITIC}} / \sum_{j=1}^n W_{\text{AHP}} W_{\text{CRITIC}} \quad (4)$$

采用 SPSS 27.0 软件对基于 3 种权重分析法所得的综合评分结果进行相关系数分析。结果显示, 基于 AHP 法与 CRITIC 法、AHP 法与 AHP-CRITIC 复合加权法、CRITIC 法与 AHP-CRITIC 复合加权法所得的综合评分的相关系数分别为 0.998 7、0.998 4、0.999 2, 表明 3 种方法两两之间均具有显著相关性 ($P < 0.01$), 即 3 种权重分析法得到的综合评分结果具有一致性。采用 SPSS 27.0 软件对 AHP 法与 CRITIC 法所得权重系数的相关性进行分析, 结果显示, 2 种方法所得权重系数之间的相关系数为 0.163 5, 其相关性不显著 ($P > 0.05$), 说明二者所反映的信息不具有叠加性。

2.2.4 正交试验结果分析与最佳炮制工艺参数优选 为全面、科学地对 8 项评价指标进行赋权, 本研究从主、客观 2 方面综合考虑 3 种权重分析方法的优劣, 最终选择 AHP-CRITIC 复合加权法确定的 $W_{\text{AHP-CRITIC}}$ 为最佳权重系数, 按照公式 (5) 计算各组正交试验结果 (表 5) 的综合评分 (Y), Y 值越大表明该方案越优, 结果见表 5。方差分析见表 8。

表 9 牡蛎炮制工艺验证试验

Table 9 Validation test results of *Ostreae Concha* processing technology

试验号	CaCO ₃ / %	质量分数/(mg·kg ⁻¹)					酥脆程度/ 分	饮片得率/ %	Y	RSD/ %
		Cu	As	Cd	Hg	Pb				
1	98.021 5	1.165 9	0.231 6	0.018 3	0.028 9	0.984 8	80	96.95	98.24	
2	97.857 4	1.175 5	0.237 3	0.018 7	0.028 0	1.003 6	80	97.07	98.52	0.75
3	98.087 1	1.180 6	0.228 7	0.018 7	0.028 4	0.981 9	80	97.34	98.37	

650 ℃, 煅制时间 90 min, 药材直径 2~3 cm, 对 22 批牡蛎药材进行炮制得到对应煅牡蛎饮片, 编号见表 1。

2.3 牡蛎炮制前后重金属及有害元素的健康风险评估

2.3.1 牡蛎炮制前后重金属及有害元素的含量分析 取表 1 中 22 批牡蛎药材和煅牡蛎饮片, 粉碎, 研磨, 过 200 目筛, 得各样品粉末。分别取以上样品粉末 0.1 g, 精密称定, 按照“2.1.6 (4)”项下方法制备供试品溶液, 并测定 Cu、As、Cd、Hg、Pb

表 8 方差分析

Table 8 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	4 184.28	2	2 092.14	1 204.15	<0.01
B	235.15	2	117.58	67.67	<0.05
C	32.55	2	16.27	9.37	
D (误差)	34.75	2	1.74		

$$Y_i = 100 \times \sum_{j=1}^n X_{ij} \times W_{\text{AHP-CRITIC}} / X_{\text{imax}} \quad (5)$$

由表 5、8 可知, 煅制温度 (A)、煅制时间 (B)、药材直径 (C) 3 个因素对牡蛎炮制工艺影响程度为 $A > B > C$, 其中因素 A、B 对综合评分 Y 影响显著 ($P < 0.01$ 、0.05)。最终确定煅制工艺为 $A_3B_3C_3$, 即牡蛎的最佳炮制工艺为药材粉碎为直径 2~3 cm, 在 650 ℃ 温度下煅制 90 min。

2.2.5 牡蛎煅制工艺验证试验 对“2.2.4”项下优选的牡蛎炮制工艺 $A_3B_3C_3$ 进行试验验证, 并按照 AHP-CRITIC 复合加权法进行综合评分, 结果见表 9。结果显示, 3 次验证试验中各指标综合评分 Y 的平均值为 98.38 (RSD 为 0.75%), 表明此工艺重复性好、稳定可行。

综合分析正交试验及 TG-DTA、FTIR、XRD 和 ICP-MS 测试结果可知, 在 650 ℃ 温度下煅制 90 min 所得牡蛎炮制品, 有机质成分基本损失, 但其主要成分 CaCO₃ 未发生物相转变, 且其性状符合现行版药典标准, 达到煅制目的。故后续选择煅制温度为

5 种元素含量, 结果见表 10。可见, 牡蛎药材中 5 种重金属及有害元素含量的高低顺序为 $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{As} > \text{Hg} > \text{Cd}$ 。其中编号为 ML-18~ML-21 的 4 批牡蛎药材中 Hg 元素含量超出《中国药典》2020 年版一部牡蛎项下 $\text{Hg} \leq 0.2 \text{ mg/kg}$ 的限量规定。

经煅制后, 牡蛎中 Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种元素含量均降低。根据《中草药重金属限量国际标准 (ISO 18664: 2015)》规定的 $\text{Cu} \leq 1 \text{ mg/kg}$ 、 $\text{As} \leq 4 \text{ mg/kg}$ 、 $\text{Cd} \leq 2 \text{ mg/kg}$ 、 $\text{Hg} \leq 3 \text{ mg/kg}$ 、 $\text{Pb} \leq 10 \text{ mg/kg}$ 的一致性限量指导值^[19], 牡蛎药材和煅牡蛎饮片的

表 10 22 批牡蛎药材与煅牡蛎饮片 CaCO_3 含量及重金属元素含量 ($n=3$)

Table 10 CaCO_3 content and heavy elements content in 22 batches of *Ostreae Concha* and calcined *Ostreae Concha* ($n=3$)

序号	$\text{CaCO}_3/\%$		$\text{Cu}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$		$\text{As}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$		$\text{Cd}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$		$\text{Hg}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$		$\text{Pb}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	
	药材	饮片	药材	饮片	药材	饮片	药材	饮片	药材	饮片	药材	饮片
1	98.80	99.22	1.995 5	1.488 1	0.484 1	0.146 2	0.027 8	0.018 3	0.017 8	0.015 9	0.925 2	0.916 7
2	95.67	96.13	3.041 6	1.925 2	0.494 1	0.196 0	0.030 7	0.015 8	0.198 0	0.011 9	1.003 0	0.957 4
3	96.49	96.46	2.502 5	1.601 4	0.359 6	0.165 3	0.025 0	0.020 0	0.046 0	0.012 0	1.361 6	0.852 6
4	95.51	96.64	4.957 7	1.422 8	0.372 5	0.181 3	0.027 9	0.026 4	0.058 8	0.006 5	0.915 3	0.816 7
5	96.45	96.55	3.926 2	1.476 7	0.209 1	0.165 0	0.025 3	0.024 3	0.126 4	0.045 1	0.826 6	0.724 0
6	95.12	95.80	2.649 9	1.302 2	0.302 7	0.077 4	0.026 5	0.012 0	0.050 0	0.022 5	0.694 3	0.517 5
7	97.85	98.08	2.135 2	1.055 4	0.245 5	0.141 7	0.024 0	0.021 5	0.032 4	0.013 5	0.741 0	0.085 3
8	97.41	97.34	2.271 1	1.565 2	0.404 5	0.173 6	0.025 4	0.018 4	0.052 7	0.013 4	1.071 6	0.806 0
9	95.95	95.82	2.229 5	1.201 1	0.622 8	0.148 2	0.025 0	0.019 5	0.058 9	0.010 5	1.551 9	0.873 8
10	95.77	95.59	3.567 2	0.949 2	0.213 1	0.212 6	0.025 4	0.018 4	0.126 0	0.010 5	1.043 3	0.638 4
11	96.37	96.70	4.168 8	1.640 2	0.706 8	0.250 2	0.030 1	0.027 6	0.017 8	0.005 9	1.396 8	0.929 9
12	95.32	95.04	2.216 5	1.557 1	0.589 4	0.109 2	0.028 8	0.014 4	0.037 7	0.016 9	0.912 1	0.479 1
13	96.99	95.71	6.994 5	1.803 3	1.000 5	0.439 7	0.031 4	0.027 9	0.181 8	0.009 0	1.246 5	1.223 1
14	97.07	97.92	2.455 5	1.041 3	0.188 7	0.127 0	0.027 5	0.019 9	0.057 8	0.017 0	0.671 5	0.650 9
15	94.39	95.03	2.397 7	1.793 9	0.623 8	0.243 6	0.033 9	0.030 4	0.024 0	0.016 5	1.089 3	1.081 3
16	97.27	99.18	4.374 5	1.261 4	0.754 0	0.259 9	0.034 4	0.019 8	0.065 2	0.011 4	2.826 6	0.785 6
17	98.79	99.01	4.450 0	1.604 3	0.168 0	0.124 4	0.019 6	0.016 7	0.026 4	0.000 0	1.260 0	0.349 7
18	97.96	98.79	2.178 5	1.170 6	0.418 9	0.233 9	0.025 7	0.019 3	0.248 2	0.028 2	4.948 6	0.914 2
19	94.25	97.52	1.795 7	0.929 2	0.090 4	0.086 3	0.014 1	0.010 5	0.242 2	0.013 1	4.292 2	0.812 0
20	95.52	95.82	1.677 0	1.038 8	0.150 4	0.073 3	0.020 6	0.020 2	0.226 2	0.023 1	2.548 7	0.441 0
21	96.46	96.67	1.644 4	1.013 0	0.096 4	0.086 4	0.017 0	0.017 0	0.221 9	0.009 0	2.420 6	0.457 0
22	95.51	96.44	2.217 8	1.367 7	0.178 5	0.121 9	0.023 1	0.018 7	0.147 6	0.046 5	4.953 3	0.814 2
$\bar{x} \pm s$	96.41 $\pm$ 1.26	96.88 $\pm$ 1.32*	2.993 1 $\pm$ 1.330 5	1.373 1 $\pm$ 0.297 5*	0.394 3 $\pm$ 0.242 6	0.171 1 $\pm$ 0.082 6*	0.025 9 $\pm$ 0.005 0	0.019 9 $\pm$ 0.005 0*	0.102 9 $\pm$ 0.081 6	0.016 3 $\pm$ 0.011 3*	1.759 1 $\pm$ 1.348 5	0.733 0 $\pm$ 0.261 3*

与牡蛎药材比较: * $P<0.05$; 表 11、12 同。

* $P<0.05$ vs *Ostreae Concha*; same as tables 11, 12.

As、Cd、Hg、Pb 元素含量均在限量范围内, Cu 元素虽超出 ISO 规定上限, 但均符合《中国药典》2020 年版规定的一致性限量指导值 $\text{Cu} \leq 20 \text{ mg/kg}$ 。根据表 10 数据, 比较牡蛎药材和煅牡蛎饮片的重金属含量差异, 配对 t 检验结果显示, 经煅制后饮片中 Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种元素含量均显著低于药材 ($P<0.05$)。

以各元素含量为变量, 采用 SIMCA 14.1 软件对牡蛎药材和煅牡蛎饮片进行有监督模式的正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 结果见图 9。OPLS-DA 模型解释能力参数 R^2 和 R^2 分别为 0.769、0.659, 预测能力参数 $Q^2=0.579$, 均大于 0.5, 表明该模型稳定可靠, 且预测能力强。

OPLS-DA 模型的 200 次置换检验结果见图 10, 可见 R^2 和 Q^2 的回归线分别与左侧纵轴相交于 2 条

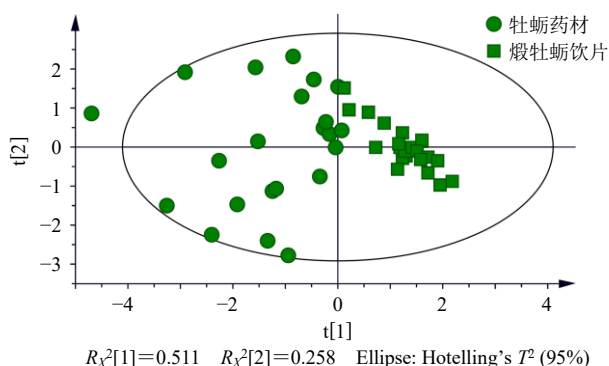


图 9 牡蛎药材和煅牡蛎饮片中 5 种重金属及有害元素的 OPLS-DA 得分散点图

Fig. 9 OPLS-DA score chart of five kinds of heavy metals elements of *Ostreae Concha* and calcined *Ostreae Concha*

回归线, 且左侧随机排列得到的 R^2 和 Q^2 均小于右侧的原始值, 说明该模型有效、稳定, 且未出现过拟合。

变量重要性投影 (variable importance in the projection, VIP) 值图见图 11, 可见, 以 $VIP > 1.0$ 为阈值, 筛选出对该模型贡献值较大的元素为 Hg 和 As, 这 2 个元素在区分牡蛎药材和煅牡蛎饮片中起重要作用, 是造成二者差异的主要元素。

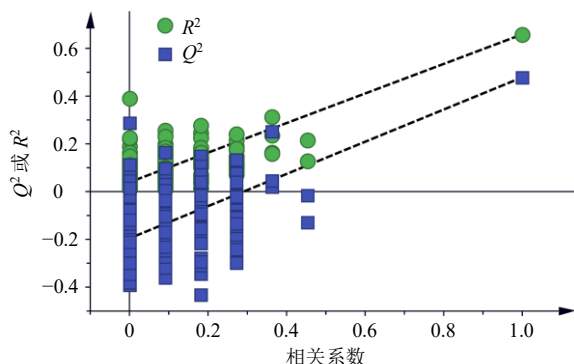


图 10 OPLS-DA 模型 200 次置换检验结果

Fig. 10 Test results of 200 permutations of OPLS-DA model

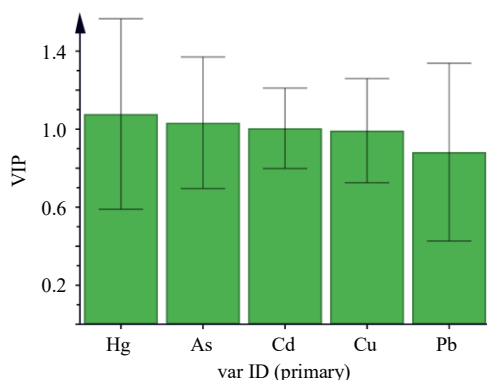


图 11 5 种重金属及有害元素的 VIP 值

Fig. 11 VIP of five kinds of heavy metals and harmful elements

2.3.2 牡蛎炮制前后重金属及有害元素的健康风险评估

(1) 暴露评估: 由于 Cu、As、Cd、Hg、Pb 元素的半衰期较长, 蓄积于人体, 故采用长期暴露评估作为重金属及有害元素的暴露量评估方法, 通过日暴露量 (daily exposure, Exp) 表征, 计算公式见公式 (6)。

$$\text{Exp} = \text{EF} \times \text{ED} \times \text{IR} \times C \times T / (\text{BW} \times \text{AT}) \quad (6)$$

Exp 为日暴露量, 单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$; EF 为暴露频率 (exposure frequency), 即中药材的服用频率, 按 90 d/年计算; ED 为暴露持续时间 (exposure duration, 此处指用药年数), 按 20 年计算; IR 为摄入率 (ingestion rate, 此处指日摄入量), 按《中国药典》2020 年版规定, 牡蛎用量为 9~30 g, 此处按平均每天服用 20 g 计; C 为各重金属及有害元素的测定值

(mg/kg); T 为元素转移率, 此处牡蛎按以原粉入药为例, 认为 T 为 1; BW 为人体质量 (body weight), 按 63 kg 计; AT 为平均接触非致癌物的时间 (average exposure time for noncarcinogens), 定为人的平均寿命天数, 按 365 d/年 $\times$ 70 年 = 25 550 d 计^[20]

(2) 靶标危害系数 (target hazard quotients, THQ): THQ 是用于评估污染物对人体的非致癌健康危害, 是较为完善的风险评估方法之一。THQ ≤ 1 时, 认为人体负荷的重金属及有害元素量对人体健康未造成明显影响, THQ > 1 时, 认为重金属及有害元素量对人体健康产生潜在影响。计算公式见公式 (7), 计算结果见表 11。可见, 22 批牡蛎药材和煅牡蛎饮片中 Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种元素的 THQ < 1 , 且累积加和所得 THQ < 1 。配对 t 检验结果显示, 牡蛎经煅制后, 5 种重金属及有害元素的 THQ 值均显著降低 ($P < 0.05$), 累积 THQ 值亦显著降低 ($P < 0.05$), 即其健康风险降低。

$$\text{THQ} = \text{Exp} \times 10 / \text{HBGV} \quad (7)$$

10 为安全因子, 表示每日由中药饮片及其制品中摄取的重金属及有害元素的量不大于日总暴露量 (包括食物和饮用水) 的 10%; HBGV 为重金属及有害元素的健康指导值 (health-based guidance values, $\mu\text{g}/\text{kg}$), Cu、As、Cd、Hg、Pb 元素的 HBGV 经统一折算, 分别为 50.00、3.00、0.83、0.57、1.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[21]

(3) 致癌性健康风险特征描述: 致癌性风险是指个体一生中暴露某致癌物所产生的致癌概率, 其致癌性风险一般通过致癌风险 (carcinogenic risk, CR, 若 $\text{CR} < 1 \times 10^{-6}$, 则致癌风险较低, CR 为 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4}$ 则有一定致癌风险, $\text{CR} > 1 \times 10^{-4}$ 致癌风险较高^[10]) 表征, 多个重金属及有害元素的联合暴露致癌性的风险通过总致癌风险 (total carcinogenic risk, TCR) 表征。按照公式 (8) 和 (9) 分别计算 CR 和 TCR。计算结果见表 12。可见, 22 批牡蛎药材和煅牡蛎饮片中 As、Cd、Pb 3 种元素的 CR 均低于 1×10^{-6} , 且累积加和所得 TCR 亦低于 1×10^{-6} 。配对 t 检验结果显示, 牡蛎经煅制后, 3 种重金属及有害元素的 CR 值均显著降低 ($P < 0.05$), TCR 值亦显著降低 ($P < 0.05$), 即其致癌风险降低。

$$\text{CR} = \text{Exp} \times \text{CSF} \times 10^{-6} \quad (8)$$

$$\text{TCR} = \text{CR}_{\text{As}} + \text{CR}_{\text{Cd}} + \text{CR}_{\text{Pb}} \quad (9)$$

CSF 为致癌物斜率因子 (carcinogenic slope factor), 表示致癌物对人终生暴露带来的致癌风险, As、Cd、Pb 元素的 CSF

表 11 22 批牡蛎药材与煅牡蛎饮片中 5 种重金属元素的 THQ 值
Table 11 THQ of five heavy metals elements in 22 batches of *Ostreae Concha* and calcined *Ostreae Concha*

编号	牡蛎药材THQ值					累积 THQ	煅牡蛎饮片THQ值					累积 THQ
	Cu	As	Cd	Hg	Pb		Cu	As	Cd	Hg	Pb	
1	0.008 9	0.036 1	0.007 5	0.007 0	0.159 2	0.218 7	0.006 7	0.010 9	0.004 9	0.006 2	0.157 7	0.186 4
2	0.013 6	0.036 8	0.008 3	0.077 7	0.172 6	0.309 0	0.008 6	0.014 6	0.004 3	0.004 7	0.164 7	0.196 9
3	0.011 2	0.026 8	0.006 7	0.018 0	0.234 3	0.297 0	0.007 2	0.012 3	0.005 4	0.004 7	0.146 7	0.176 3
4	0.022 2	0.027 8	0.007 5	0.023 1	0.157 5	0.238 0	0.006 4	0.0135	0.007 1	0.002 5	0.140 5	0.170 0
5	0.017 6	0.015 6	0.006 8	0.049 6	0.142 2	0.231 7	0.006 6	0.012 3	0.006 5	0.017 7	0.124 6	0.167 7
6	0.011 9	0.022 6	0.007 1	0.019 6	0.119 4	0.180 6	0.005 8	0.005 8	0.003 2	0.008 8	0.089 0	0.112 7
7	0.009 6	0.018 3	0.006 5	0.012 7	0.127 5	0.174 5	0.004 7	0.010 6	0.005 8	0.005 3	0.014 7	0.041 0
8	0.010 2	0.030 2	0.006 8	0.020 7	0.184 4	0.252 2	0.007 0	0.012 9	0.005 0	0.005 3	0.138 7	0.168 8
9	0.010 0	0.046 4	0.006 7	0.023 1	0.267 0	0.353 2	0.005 4	0.011 0	0.005 2	0.004 1	0.150 3	0.176 1
10	0.016 0	0.015 9	0.006 8	0.049 4	0.179 5	0.267 6	0.004 2	0.015 9	0.005 0	0.004 1	0.109 8	0.139 0
11	0.018 6	0.052 7	0.008 1	0.007 0	0.240 3	0.326 7	0.007 3	0.018 7	0.007 4	0.002 3	0.160 0	0.195 7
12	0.009 9	0.043 9	0.007 8	0.014 8	0.156 9	0.233 3	0.007 0	0.008 1	0.003 9	0.006 6	0.082 4	0.108 0
13	0.031 3	0.074 6	0.008 5	0.071 3	0.214 4	0.400 1	0.008 1	0.032 8	0.007 5	0.003 5	0.210 4	0.262 3
14	0.011 0	0.014 1	0.007 4	0.022 7	0.115 5	0.170 7	0.004 7	0.009 5	0.005 4	0.006 7	0.112 0	0.138 1
15	0.010 7	0.046 5	0.009 1	0.009 4	0.187 4	0.263 2	0.008 0	0.018 2	0.008 2	0.006 5	0.186 0	0.226 9
16	0.019 6	0.056 2	0.009 3	0.025 6	0.486 3	0.596 9	0.005 6	0.019 4	0.005 3	0.004 5	0.135 1	0.169 9
17	0.019 9	0.012 5	0.005 3	0.010 4	0.216 8	0.264 9	0.007 2	0.009 3	0.004 5	0.000 0	0.060 2	0.081 1
18	0.009 7	0.031 2	0.006 9	0.097 4	0.851 3	0.996 6	0.005 2	0.017 4	0.005 2	0.011 1	0.157 3	0.196 2
19	0.008 0	0.006 7	0.003 8	0.095 0	0.738 4	0.852 0	0.004 2	0.006 4	0.002 8	0.005 1	0.139 7	0.158 3
20	0.007 5	0.011 2	0.005 6	0.088 8	0.438 5	0.551 5	0.004 6	0.005 5	0.005 4	0.009 1	0.075 9	0.100 5
21	0.007 4	0.007 2	0.004 6	0.087 1	0.416 4	0.522 6	0.004 5	0.006 4	0.004 6	0.003 5	0.078 6	0.097 7
22	0.009 9	0.013 3	0.006 2	0.057 9	0.852 2	0.939 5	0.006 1	0.009 1	0.005 0	0.018 2	0.140 1	0.178 6
$\bar{x} \pm s$	0.013 4± 0.006 0	0.029 4± 0.018 1	0.007 0± 0.001 3	0.029 8± 0.032 0	0.302 6± 0.232 0	0.382 2± 0.248 5	0.006 1± 0.001 3*	0.012 8± 0.006 2*	0.005 4± 0.001 3*	0.006 4± 0.004 5*	0.121 4± 0.045 0*	0.152 1± 0.050 8*

分别为 1.5、6.1、 8.5×10^{-3} mg/(kg·d)

3 讨论

经文献整理分析发现,既往研究多以 CaCO_3 含量、钙离子溶出、酥脆程度、煅制品色泽和硬度等为评价指标,以筛选煅制温度和时间等炮制工艺参数,但各研究所得参数参差不齐。有学者认为煅制后形成的孔道结构明显和 CaCO_3 含量高为佳^[8,19],亦有以抗胃溃疡药效好、硬度小、钙离子溶出高为优者^[7-8,22]。本研究将重金属及有害元素含量纳入作为炮制工艺考察的评价指标,能反映其内在质量与安全性,在既往研究中尚未见报道,属创新之一,但未涉及药理药效相关评价指标,指标全面性尚有欠缺,后续将逐步完善。

综合考量表现性状与内在质量,首先设计煅制工艺关键参数煅制温度的单因素试验,并结合 TG-DTA、FTIR、XRD 和 ICP-MS 技术,分析其热效应的产生、结构信息、主要物相和重金属及有害元素

含量,以初步确定煅制温度。后采用正交试验,基于 AHP-CRITIC 法的数学建模方法,以 CaCO_3 含量、酥脆程度、饮片得率及 5 种重金属及有害元素含量为指标,对煅制温度、煅制时间和药材直径 3 个因素进行正交试验考察,优选牡蛎的最佳炮制方案,使其结果更加客观合理。

重金属超标是目前中医临床安全用药和中药国际化发展面临的重要问题,现有研究表明,炮制能在一定程度上降低重金属及有害元素含量^[21,23]。除作为药用外,牡蛎亦是节节康牌牡蛎钙粉、维格尔牌海洋牡蛎钙加维生素 D 片、固本堂牌牡蛎胶囊补骨脂等保健食品的原料之一,可见重金属及有害元素问题亦是影响保健食品长期食用的重要因素。既往研究未见对牡蛎药材及其炮制品的重金属及有害元素进行健康风险评估,不能为其中医临床的安全用药和保健食品的长期安全服用提供科学依据与数据支持。基于此,本研究采用 ICP-MS 技术测定 22

表 12 22 批牡蛎药材与煅牡蛎饮片中 5 种重金属元素的 CR 值

Table 12 CR of five heavy metals elements in 22 batches of *Ostreae Concha* and calcined *Ostreae Concha*

编号	牡蛎药材CR值(×10 ⁻⁹)			TCR	煅牡蛎饮片CR值(×10 ⁻⁹)			TCR
	As	Cd	Pb		As	Cd	Pb	
1	16.241 9	3.785 9	0.175 9	20.203 6	4.904 1	2.501 4	0.174 3	7.579 8
2	16.574 5	4.187 4	0.190 7	20.952 6	6.576 7	2.161 2	0.182 0	8.919 9
3	12.065 1	3.407 3	0.258 9	15.731 2	5.546 6	2.725 8	0.162 1	8.434 5
4	12.496 8	3.804 7	0.174 0	16.475 6	6.081 3	3.600 9	0.155 3	9.837 5
5	7.015 4	3.447 9	0.157 1	10.620 4	5.535 9	3.312 7	0.137 6	8.986 1
6	10.154 8	3.611 7	0.132 0	13.898 5	2.597 3	1.635 5	0.098 4	4.331 2
7	8.236 3	3.267 7	0.140 9	11.644 8	4.754 3	2.927 3	0.016 2	7.697 8
8	13.569 3	3.461 6	0.203 7	17.234 6	5.824 9	2.511 3	0.153 2	8.489 5
9	20.892 0	3.403 9	0.295 0	24.590 9	4.971 9	2.655 0	0.166 1	7.793 0
10	7.150 6	3.465 0	0.198 3	10.814 0	7.133 9	2.513 8	0.121 4	9.769 1
11	23.711 9	4.107 6	0.265 5	28.085 0	8.395 2	3.770 9	0.176 8	12.342 9
12	19.772 1	3.928 9	0.173 4	23.874 4	3.664 6	1.964 4	0.091 1	5.720 1
13	33.564 4	4.280 3	0.237 0	38.081 7	14.752 3	3.804 7	0.232 5	18.789 5
14	6.332 0	3.751 7	0.127 7	10.211 4	4.260 6	2.717 7	0.123 7	7.102 0
15	20.925 4	4.629 3	0.207 1	25.761 8	8.172 6	4.152 7	0.205 6	12.530 9
16	25.293 3	4.688 7	0.537 3	30.519 4	8.718 4	2.696 2	0.149 3	11.563 9
17	5.635 1	2.672 4	0.239 5	8.547 0	4.172 9	2.271 6	0.066 5	6.511 0
18	14.052 9	3.508 5	0.940 7	18.502 1	7.847 7	2.631 4	0.173 8	10.652 9
19	3.031 4	1.917 7	0.816 0	5.765 0	2.896 7	1.438 2	0.154 4	4.489 3
20	5.047 0	2.817 1	0.484 5	8.348 6	2.457 5	2.750 0	0.083 8	5.291 4
21	3.234 1	2.316 9	0.460 2	6.011 2	2.899 0	2.316 9	0.086 9	5.302 8
22	5.987 1	3.152 4	0.941 6	10.081 2	4.090 4	2.548 8	0.154 8	6.793 9
$\bar{x} \pm s$	13.226 5±	3.527 9±	0.334 4±	17.088 9±	5.738 9±	2.709 5±	0.134 2±	8.582 5±
	8.139 1	0.683 4	0.256 4	8.635 9	2.769 6*	0.681 2*	0.049 7*	3.288 4*

批牡蛎炮制前后 5 种重金属及有害元素的含量，并计算各批次牡蛎药材和煅牡蛎饮片的 THQ 值和 CR 值，结果表明经煅制后牡蛎对人体的健康危害和致癌风险降低。此外，重金属及有害元素对人体健康的危害不仅与其含量相关，亦与其存在形态有关，而牡蛎和煅牡蛎中各重金属的形态分布变化及其对人体健康风险有何影响，需进一步研究探索。

中药材的质量和安全性受产地影响，现有研究对不同产地中药材进行重金属及有害元素进行含量测定，并结合化学计量学方法对其重金属及有害元素含量和产地之间的关联性进行探讨，以用于药材的产地溯源及质量评价^[19,24-26]。本研究收集了广东、广西、天津和浙江 4 个产地的牡蛎药材，对其重金属及有害元素含量与产地进行了关联分析，结果显示 22 批药材并未按产地聚为一类，且以判别区分产地为目的建立的 OPLS-DA 模型不可靠，提示本研究收集的 4 个产地 22 批牡蛎药材的重金属及有

害元素分布不具特征性，不能建立用于牡蛎药材产地溯源的有效模型。推测造成以上结果的原因可能是各产地收集批次差异较大，后续需增加收集批次并扩大收集产地，以探索牡蛎药材中重金属及有害元素与产地的关联性。也将采用人工神经网络（artificial neural network, ANN）、随机森林（random forest, RF）和 K 最近邻（k-nearest neighbors, KNN）等多种机器学习算法模型，尝试建立牡蛎药材产地区分的预测模型。此外，牡蛎为多基原中药，本实验仅聚焦于牡蛎的基原之一近江牡蛎 *O. rivularis* Gould，而未收集其余 2 种基原，具有一定的局限性，后续将对此进行补充和完善。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 180-181.

[2] 魏·吴普等述. 清·孙星衍, 清·孙冯翼辑. 曹瑛校注. 神农本草经 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 62.

- [3] 司玮, 阿如娜, 李尚蓉, 等. 7 种海洋矿物药的比较分析研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3321-3325.
- [4] 张杰, 洪寅, 盛振华, 等. 三种介类中药生、煅品水煎液中无机元素含量分析研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2018, 42(2): 149-153.
- [5] 姜涛, 陈林明, 陈学敏, 等. 牡蛎有效成分与重金属及有害元素的质量评价研究 [J]. 中药材, 2019, 42(1): 45-50.
- [6] 北京市药品监督管理局. 北京市中药饮片炮制规范 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 334.
- [7] 张凤婷, 铃莉妍, 包丽媛, 等. 基于理化性质和抗胃溃疡作用优化煅牡蛎的炮制工艺 [J]. 中南药学, 2023, 21(10): 2570-2576.
- [8] 郑晓霞, 何春花, 周凤娇. 牡蛎炮制工艺研究 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(46): 289.
- [9] 孙颖, 林清义. 刺猬皮等四种中药传统炮制工艺的改进 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(3): 149.
- [10] Wu X L, Wu P L, Gu M Y, *et al.* Trace heavy metals and harmful elements in roots and rhizomes of herbs: Screening level analysis and health risk assessment [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(4): 622-629.
- [11] 周德来, 马春旭, 姚晓玲, 等. 中药重金属生物可给性与转移率研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(1): 165-169.
- [12] Liu L H, Zhang Y, Yun Z J, *et al.* Estimation of bioaccessibility and potential human health risk of mercury in Chinese patent medicines [J]. *J Environ Sci*, 2016, 39: 37-44.
- [13] Zuo T T, Qu H R, Jin H Y, *et al.* Innovative health risk assessments of heavy metals based on bioaccessibility due to the consumption of traditional animal medicines [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27(18): 22593-22603.
- [14] 陈红, 朱蓉, 陈鸿平. 电感耦合等离子体质谱法测定三种贝壳类药材中稀土元素含量 [J]. 医药导报, 2014, 33(3): 373-377.
- [15] 张帅, 陈震, 傅余强, 等. 基于多元统计分析的 5 种海洋贝壳类中药微量元素比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4223-4228.
- [16] 杜成智, 邓家刚, 侯小涛, 等. 贝壳类中药碳酸钙含量测定及红外光谱比较 [J]. 湖北农业科学, 2018, 57(17): 84-87.
- [17] 杨智涵, 周靖惟, 王伟超, 等. 石决明 (皱纹盘鲍) 药材、饮片及标准汤剂的物相变化及量质传递分析 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志, (2024-09-18) [2025-02-11]. <http://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20250468>.
- [18] 陶明宝, 鄢玉芬, 陈林, 等. 瓦楞子的炮制工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21): 24-29.
- [19] 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.
- [20] 左甜甜, 刘佳琳, 李依玲, 等. 中草药重金属及有害元素健康风险评估新视角: 概率风险评估, 以车前草为例 [J]. 药学学报, 2022, 57(11): 3365-3370.
- [21] 吴杨倩, 周彤, 谢颖, 等. 基于 AHP-熵权 TOPSIS 法优选磁石炮制工艺及所含重金属元素的风险评估 [J]. 中草药, 2024, 55(14): 4679-4687.
- [22] 施枝江, 陈林明, 姜涛, 等. 牡蛎炮制前后碳酸钙含量变化研究 [J]. 海峡药学, 2020, 32(9): 69-71.
- [23] 李晓琦, 王琪, 陈彦. 栀子和炒栀子中重金属含量测定及其健康风险评估研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11): 2540-2545.
- [24] 代磊, 邹佳佳, 徐小力, 等. 电感耦合等离子体质谱法分析不同产地使君子中无机元素及健康风险评估 [J]. 医药导报, 2023, 42(8): 1204-1210.
- [25] 朱新焰, 左应梅, 冯人和, 等. 基于重金属及有害元素对不同产地仙茅的质量评价 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(6): 65-68.
- [26] 王巧, 于永杰, 王紫怡, 等. 基于 ICP-MS 的不同产地丹参元素差异分析及健康风险评估 [J]. 中药材, 2023, 46(9): 2224-2232.

[责任编辑 郑礼胜]