

高压消解-原子荧光光谱法测定天麻药材 及全天麻胶囊中硒的含量

陈思颖, 兰波, 朱迪, 刘童, 王爱民, 王永林*

(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:建立高压消解-原子荧光光谱测定天麻药材及全天麻胶囊中硒的含量测定方法。方法:采用高压消解法处理天麻药材及全天麻胶囊样品,用具有还原与消除干扰作用的硝酸-盐酸混合体系作为反应介质,并加入铁氰化钾消除共存离子的干扰,用氢化物发生-原子荧光分光光度法对天麻药材及全天麻胶囊中硒含量测定进行研究,同时以茶叶、黄芪、人参成分分析标准物质对测定结果进行质量控制。结果:硒的荧光强度与进样浓度之间呈良好的线性关系,检出限为 $0.16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,重复性、精密度均良好,回收率 $98.26\% \sim 101.2\%$, $\text{RSD } 2.4\% \sim 4.4\%$,采用所建立的方法对 22 批不同产地天麻药材和 5 批全天麻胶囊中硒含量进行了测定,结果天麻药材中硒的含量为 $0.0124 \sim 0.660 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,表明各产地由于地理环境不同,差异较大;全天麻胶囊由于天麻药材来源较为一致,硒含量为 $0.214 \sim 0.385 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。结论:方法操作简便、成本低廉,且对环境污染小,适用于天麻中硒的含量测定,为进一步提高天麻药材及全天麻胶囊质量控制及其再开发应用提供实验依据。

[关键词] 高压消解; 原子荧光光谱法; 天麻; 全天麻胶囊; 硒

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0079-04

[doi] 10.11653/syfy2013120079

Determination of Selenium in *Gastrodia elata* and Quantianma Capsule by Atomic Fluorescence Spectrometry with High Pressure Digestion

CHEN Si-ying, LAN Bo, ZHU Di, LIU Tong, WANG Ai-min, WANG Yong-lin*

(School of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guizhou 550004, China)

[Abstract] **Objective:** The research aimed to establish a high pressure digestion and a hydride-generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) method for the determination of selenium in *Gastrodia elata* and Quantianma capsules. **Method:** The samples, include *G. elata* herbs, Quantianma capsules and CRM Tea, Astragalus and Ginseng were prepared by high pressure digestion. The reaction medium was $\text{HNO}_3\text{-HCl}$, which had reducing and interference diminishing effects. $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ was added to diminish the interference of coexist elements. Selenium in *G. elata* and Quantianma capsules is researched by HG-AFS. Meanwhile, selenium in the CRM Tea, Astragalus and Ginseng was detected in order to control the quality of the measured results. **Result:** There was a good linear relation between fluorescence intensity and concentration. The LOD was $0.16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The precision and repeatability were satisfactory. The recovery was $98.26\% \sim 101.2\%$ and RSD was $2.4\% \sim 4.4\%$. The method was used to detect the concentration of selenium in 22 batches of *G. elata* herbs and 5 batches of Quantianma capsules. The concentration of selenium in 22 batches of herbs is $0.0124 \sim 0.660 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The content was obviously different due to the different origins. As the origin of the Quantianma capsules is same, the

[收稿日期] 20121121(007)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2011BAI13B04);贵州省重大专项(黔科合重大专项字[2011]6005);贵阳市重大专项(筑科合同[2011401]社 6-1 号);科技部国际合作重大项目(2010DBF30530)

[第一作者] 陈思颖, 硕士研究生, 从事药物分析与中药新制剂研究, Tel: 13595120710, E-mail: chensiyang520@hotmail.com

[通讯作者] *王永林, 教授, 博士生导师, 从事中药新药的开发研究, Tel: 0851-6908899, E-mail: gywyl@gmc.edu.cn

concentration of selenium is 0.214-0.385 mg·kg⁻¹. **Conclusion:** The method is easy and simple to handle. It has low cost and little pollution to environment. This method can be applied into the determination of selenium in *G. elata* and Quantianma capsules. It provides useful references for the quality control and further application of *G. elata* and Quantianma capsules.

[**Key words**] selenium; *Gastrodia elata*; Quantianma capsules; atomic fluorescence spectrometry; high pressure digestion

天麻又名赤箭、定风草、独摇芝,为兰科天麻属植物天麻的干燥块茎。《神农本草经》将其列为上品,有平肝息风、通络止痛的功效,有“治风之神药”之称,主治头痛眩晕、肢体麻木、癫痫抽搐等症^[1-2]。硒是人体必需的微量元素之一,对于维持人的生命活动发挥着重要作用,与人体健康有密切关系,具有提高免疫力、保护心肌、抗氧化、解毒排毒等重要生理功能^[3-5]。硒在人体内经过新陈代谢排出体外,继而需要不断补充才能保持体内硒的正常水平,世界粮农组织(FAO)、世界卫生组织(WHO)推荐的膳食安全日硒摄入量范围为 50~400 μg^[6],过度摄入硒可能会导致硒的急慢性中毒,表现为剧烈咳嗽、胸痛、呼吸困难、发热等,甚至死亡^[7]。因此在天麻药材品质评价中建立良好的硒测定方法是必要的。

1 材料

AFS-8220 型原子荧光光谱仪和硒空心阴极灯(北京吉天仪器有限公司),聚四氟乙烯高压消解罐(南京瑞尼克科技开发有限公司),G2X-9240MBE 型数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),EH20Aplus 型电子温控加热板(LabTech),AE240 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司)。

硝酸、盐酸为优级纯,氢氧化钠、硼氢化钠、铁氰化钾为分析纯,高纯氩气(99.999%,贵阳申建气体有限公司),硒标准溶液(1 000 mg·L⁻¹,国家有色金属及电子材料分析测试中心,GSB04-1751-2004),生物成分分析标准物质茶叶[GBW10016(GSB-7)],硒标准值为(0.098±0.008) mg·kg⁻¹],生物成分分析标准物质黄芪[GBW10028(GSB-19)],硒标准值为(0.071±0.024) mg·kg⁻¹],生物成分分析标准物质人参[GBW10027(GSB-18)],硒标准值为(0.012±0.004) mg·kg⁻¹];天麻药材 22 批由贵阳医学院药学院药用植物与生药学教研室龙庆德副教授鉴定为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl.,全天麻胶囊 5 批由贵州益康制药有限公司提供。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 还原剂的制备 称取氢氧化钠 2.5 g,加入适量水,待完全溶解后加入硼氢化钠 10 g,溶解后用水稀释至 500 mL,摇匀,即得。

2.1.2 载流液的制备 量取浓盐酸 50 mL 置于 1 000 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 掩蔽剂的制备 精密称取铁氰化钾 10 g 置于 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,制得 10% 铁氰化钾溶液。

2.2 标准系列溶液的制备 精密吸取硒标准溶液(1 000 mg·L⁻¹)0.25 mL 置于 50 mL 量瓶中,加入浓盐酸 2.5 mL,用水稀释至刻度,摇匀,得硒储备液(5 mg·L⁻¹);精密吸取硒储备液 5.0 mL 置 100 mL 量瓶,加入浓盐酸 5.0 mL,用水稀释至刻度,摇匀,得硒使用液(0.25 mg·L⁻¹)。分别精密吸取硒使用液 0,0.1,0.2,0.4,1.0,2.0,4.0 mL 置 50 mL 量瓶,加入浓盐酸 5.0 mL,用水稀释至刻度,摇匀,得硒浓度为 0,0.5,1.0,2.0,5.0,10.0,20.0 μg·L⁻¹ 的系列标准溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取天麻药材粉末(40 目)或全天麻胶囊内容物 0.5 g,精密称定,置于聚四氟乙烯塑料内罐中,加硝酸 7 mL,盖上内盖,放入不锈钢套中,旋紧密封,然后置于电热鼓风干燥箱内加热,170 ℃ 保持 2 h,取出冷却至室温,将消解罐置控温电加热板上 130 ℃ 加热,将红棕色气体挥尽,至溶液约 1 mL,再加浓盐酸 2.0 mL,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,冷却,转移至 50 mL 量瓶中,加浓盐酸 2.5 mL,加 10% 铁氰化钾溶液 2.0 mL,再用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 测定 仪器参数:光电倍增管负高压 300 V,空心阴极灯灯电流 80 mA,原子化温度 800 ℃,原子化器高度 8 mm,载气流量 400 mL·min⁻¹,屏蔽气流量 1 L·min⁻¹,测量方式标准曲线法。

按上述设置仪器条件和参数,预热稳定 30 min 后,依次测定标准空白、标准曲线、样品空白、样品,由工作站绘制工作曲线,并计算出供试品溶液中的硒浓度。

3 结果

3.1 反应介质选择 实验比较了 HNO_3 , $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$, $\text{HNO}_3\text{-HCl}$ 消解体系, 结果发现 $\text{HNO}_3\text{-HCl}$ 消解效果好; 比较了不同硝酸和盐酸用量对测定结果的影响, 结果表明硝酸为 7 mL、盐酸为 2 mL 时反应彻底。

3.2 消解条件的选择 比较了消解温度为 150, 170, 180 $^\circ\text{C}$, 消解时间为 120, 150, 180 min 的消解情况, 结果表明消解温度为 170 $^\circ\text{C}$ 、消解时间为 120 min 时达到最佳消解条件。

3.3 线性范围与检出限 硒在 0.5 ~ 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好, 其线性回归方程为 $Y = 3.37 \times 10^2 X + 4.52 \times 10^1$ ($r = 0.9999$)。取标准空白溶液进行 11 次连续测定, 在仪器工作条件下, 利用仪器提供的检出限测量功能连续测定空白荧光强度 11 次, 计算得出方法的检出限为 0.16 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3.4 精密度试验 分别取每 1 mL 含硒 2, 5, 10 ng 的工作溶液, 各浓度分别连续测定 6 次, 结果 RSD 在 1.5% ~ 2.2%, 表明仪器精密度良好。

3.5 重复性试验 取同一批天麻药材 6 份, 照 2.4 方法制备供试品溶液分别测定, 结果硒质量分数为 0.120 0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 7.3%, 表明本方法重复性良好。

3.6 回收率试验 取已测定硒含量的天麻药材 (含量 0.120 0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 9 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 分为 3 组, 每组分别加入 15, 30, 45 ng 硒, 按 2.4 方法进行处理, 测定, 计算硒的含量。结果表明, 硒含量在不同范围内回收率良好, 见表 1。

表 1 天麻中硒加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品含量 /ng	加入量 /ng	测得量 /ng	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD %
1	0.253 4	30.41	15	45.90	103.3	101.20	4.40
	0.253 3	30.40	15	44.82	96.13		
	0.253 1	30.37	15	46.02	104.3		
2	0.252 2	30.26	30	58.98	95.73	98.26	2.60
	0.252 1	30.25	30	60.48	100.8		
	0.251 2	30.14	30	59.62	98.27		
3	0.250 4	30.05	45	73.92	97.49	99.69	2.40
	0.251 7	30.2	45	76.23	102.3		
	0.250 2	30.02	45	74.70	99.29		

3.7 共存离子干扰 固定硒质量浓度为 5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 分别加入其他离子进行干扰试验。实验结果

表明在添加离子浓度均为 10 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Ca, Mg, K, Na 不干扰硒的测定; 在添加离子浓度均为 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Mn, Zn, Al, Cr, Fe, As, Cu, Hg, Cd, Pb 不干扰硒的测定, 加 10% 铁氰化钾溶液作为掩蔽剂, 可在一定程度上消除其余未知离子对硒测定的干扰。

3.8 利用标准物质对本方法的验证分析 为了进一步验证方法的准确性、可靠性, 将生物成分分析标准物质茶叶 GBW 10016 (GSB-7)、生物成分分析标准物质黄芪 GBW10028 (GSB-19)、生物成分分析标准物质人参 GBW10027 (GSB-18) 与天麻样品同时测定, 结果表明硒元素测定值在标准值范围内, 表明本方法准确度良好。结果见表 2。

表 2 国家标准物质中的硒测定 ($n = 3$) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

样品	标准参考值	硒
GBW10016 (GSB-7) 茶叶	0.098 \pm 0.008	0.094
GBW10028 (GSB-19) 黄芪	0.071 \pm 0.024	0.072
GBW10027 (GSB-18) 人参	0.012 \pm 0.004	0.014

3.9 样品测定 分别取 22 批天麻药材及 5 批全天麻胶囊样品按拟定方法前处理并测定其荧光值、计算硒的含量。结果见表 3。

4 讨论

硒具有提高免疫力、保护心肌、抗氧化等生理活性, 以其作为天麻药材品质评价的指标之一具有一定的意义。从表 3 结果可见, 各产地由于地理环境不同, 天麻药材中硒的含量从 0.012 4 ~ 0.660 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 硒含量差异较大; 而全天麻胶囊中的硒含量为 0.214 ~ 0.385 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 差异不大, 这与生产制剂所用的药材来源的一致性有关。

本实验采用硝酸为介质的高压消解法处理天麻及制剂样品, 用具有还原与消除干扰作用的盐酸作为反应介质, 并加入铁氰化钾消除共存离子的干扰, 用氢化物发生-原子荧光分光光度法对天麻中硒进行研究并测定。同时考察共存离子的干扰, 并以茶叶、黄芪、人参成分分析标准物质对测定结果进行质量控制。

文献报道高压消解技术可用于消解样品以测定其中的矿物元素^[8]。本方法利用高压消解罐内高温高压密闭的环境和强酸来达到高消解效率, 且高压消解罐为密封体系, 对环境污染小, 并最大限度避免样品中硒元素的损失, 有良好的精密度和准确度, 结果准确可靠。本文同时采用国家标准“GB

表 3 22 批天麻药材及 5 批全天麻胶囊中
硒元素含量测定 (n=2)

No.	名称	来源	批号	含量 /mg·kg ⁻¹
1	天麻药材	贵州毕节	2004	0.036 3
2	天麻药材	贵州黎平	200312	0.327
3	天麻药材	贵州大方	200311	0.226
4	天麻药材	贵州贵阳	20100403	0.127
5	天麻药材	贵州贵阳乌当	200403	0.660
6	天麻药材	浙江	200402	0.218
7	天麻药材	湖北兴山	200309	0.043 1
8	天麻药材	四川南江	200312	0.080 9
9	天麻药材	四川圣仁	20100419B	0.124
10	天麻药材	河南	201010	0.014 8
11	天麻药材	安徽	200309	0.063 2
12	天麻药材	安徽	200502	0.050 5
13	天麻药材	安徽亳州	201108	0.108
14	天麻药材	陕西汉中	20111205	0.138
15	天麻药材	河北安国	1 号 20110302-1	0.013 7
16	天麻药材	河北安国	2 号 20110302-2	0.632
17	天麻药材	河北安国	3 号 20110302-3	0.116
18	天麻药材	河北安国	4 号 20110302-4	0.063 8
19	天麻药材	河北安国	1 号 20110720-1	0.225
20	天麻药材	河北安国	2 号 20110720-2	0.061 9
21	天麻药材	河北安国	3 号 20110720-3	0.043 1
22	天麻药材	河北安国	4 号 20110720-4	0.302
23	全天麻胶囊	贵州益康制药	20100103	0.252
24	全天麻胶囊	贵州益康制药	20100201	0.214
25	全天麻胶囊	贵州益康制药	20100302	0.385
26	全天麻胶囊	贵州益康制药	20100405	0.235
27	全天麻胶囊	贵州益康制药	20100503	0.234

5009.93-2010 食品安全国家标准食品中硒的测定”中所用的湿法消解^[9]、文献报道的微波消解^[10-11],测定结果与本法基本一致,本法操作更为简单,成本更低廉。

[参考文献]

[1] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中草药现代研究与应用. 第 1 卷[M]. 北京: 学苑出版社, 1997:885.

[2] 麻印莲,肖永庆,耿立冬,等. 天麻饮片的 HPLC 指纹图谱鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19):104.

[3] 李军,张忠诚. 微量元素硒与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2011, 8(5):59.

[4] 汪岛,王曙. 硒与甲状腺:密不可分的关系[J]. 中国新药与临床杂志, 2011, 6(5):397.

[5] 徐丛,徐凌忠. 硒与心血管疾病的联系以及富硒农产品的开发[J]. 社区医学杂志, 2011, 9(17):24.

[6] 刘兴艳,马建华,朱静平,等. 食品中硒的分析进展[J]. 微量元素与健康研究, 2005, 22(1):26.

[7] 王广珠,牛作霞. 微量元素硒的毒性研究进展[J]. 西北药学杂志, 2010, 25(3):237.

[8] 刘洪旭,邓思珊,马振菁,等. 野生与栽培草珊瑚中矿物元素比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15):78.

[9] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.93—2010, 食品安全国家标准食品中硒的测定[S]. 2010-03-26 发布.

[10] 汤进贤,黄锋. 微波消解-氢化物发生原子荧光法测定天麻粉中的硒[J]. 广东微量元素科学, 2009, 16(8):50.

[11] 谢颖颖. 微波消解-氢化物发生-原子荧光法测定青稞硒含量[J]. 四川农业大学学报, 2010, 28(3):366.

[责任编辑 顾雪竹]