

微波消解 ICP-MS 法测定唐古特青兰中无机元素

利毛才让^{1,2,3}, 热增才旦⁴, 李春婷^{1,3}, 索有瑞^{1*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008;

2. 青海师范大学民师院化学系, 西宁 810008;

3. 中国科学院研究生院, 北京 100049;

4. 青海大学医学院中藏药研究中心, 西宁 810001)

[摘要] 目的: 建立唐古特青兰中微量元素含量的测定方法。方法: 样品经微波消解后, 以铯、铷为内标, 用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定样品中 Ni, Cr, V, Mn, Cu, Zn, Co, Se, Fe, As, Pb, Al, Ba, Mg, K 和 Ca 共 16 种元素的含量。结果: 该方法对各元素的检出限为 0.002 ~ 0.951 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 加标回收率在 91.82% ~ 104.72% 之间, 国家标准物质茶标(GBW07404)和杨树叶(GBW07405)的测定值与标准值基本吻合。结论: 所建立的方法快速、准确、灵敏度高, 为深入研究唐古特青兰中无机元素与藏药药效、药性味相关性奠定了基础, 也为治赤巴病藏药中微量元素的研究提供了一种可行的参考方法。

[关键词] 微波消解; 电感耦合等离子体质谱; 唐古特青兰; 无机元素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0080-04

Determination of Inorganic Elements in *Dracocephalum tanguticum Maxim* by Sealed Microwave Digestion ICP-MS

LI MAO Cai-rang^{1,2,3}, RE ZENG Cai-dan⁴, LI Chun-ting^{1,3}, SUO You-rui^{1*}

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

2. Chemistry Department of Nationality, Qinghai Normal University, Xining 810008, China;

3. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

4. Research Center of Chinese and Tibetan Medicine, Qinghai University Medical College, Xining 810001, China)

[收稿日期] 20110101(005)

[第一作者] 利毛才让, 副教授, E-mail: qh_lmccr@sohu.com

[通讯作者] * 索有瑞, 博士生导师, 研究员, 主要从事天然产物研究, E-mail: yrsuo@nwipb.ac.cn

表 2 野生绵茵陈和花茵陈中绿原酸质量分数 /%

样品名称	绿原酸	RSD
绵茵陈	0.81	1.27
花茵陈	0.46	1.35

花茵陈均含有绿原酸, 以绵茵陈中绿原酸含量较高(0.81%), 高于《中国药典》2010 年版规定的“不得少于 0.50%”^[1], 如以绿原酸作为质量评价依据, 野生茵陈的最佳采收期应为幼苗期, 即绵茵陈。

3 讨论

本试验采用超声提取法首次对长白山区野生绵茵陈和花茵陈中绿原酸进行提取, 参照《中国药典》2010 年版中绿原酸的定量检测方法, 通过 HPLC 测定野生绵茵陈和花茵陈中绿原酸含量, 该方法具有简单、易于操作、结果可靠。

通过本试验研究得知, 长白山区野生绵茵陈和

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 223.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1866, 1590.
- [3] 赵丽娜, 石延榜, 张振凌, 等. 中药斑蝥不同炮制品总斑蝥素含量的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 39.

[责任编辑 蔡仲德]

[**Abstract**] **Objective:** The method for content determination of inorganic elements in *Dracocephalum tanguticum* was established. **Method:** Inorganic elements including Ni, Cr, V, Mn, Cu, Zn, Co, Se, Fe, As, Pb, Al, Ba, Mg, K and Ca were determined by ICP-MS using sealed microwave digestion and Rh and Re as internal standards. **Result:** The detection limits of elements were 0.002-0.951 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and the recovery was 91.82% -104.72% by adding standard recovery experiment. Standard value of inorganic elements approximately equal to measured value in standard reference materials (GBW07605) and (GBW07604). **Conclusion:** It is indicated that the proposed method has the advantages of accuracy, simplicity, speediness and feasibility. This paper provides scientific basis for deeply studying the relation between the inorganic elements and the drug effects and flavor of *D. tanguticum*, which also established a feasible methods for studying inorganic elements in Tibet drug of curing CHI BA disease.

[**Key words**] *Dracocephalum tanguticum*; microwave digestion; inorganic elements; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)

唐古特青兰 *Dracocephalum tanguticum*. 系藏医治疗赤巴病主要药物之一,藏语称 *priyangku* (知羊格),是唇形科多年生草本植物,产于西藏、青海、四川、甘肃等地,全草入药。藏医药典籍《晶珠本草》中记载:“知样格味甘、苦、清胆热,止血、愈疮、燥黄水”。它也用于治疗胃炎、肝炎、头晕、神疲、关节炎和疥疮^[1]。目前,对唐古特青兰有机药效物质基础研究较多^[2-6],在药理药效方面主要研究了其抗乙型肝炎病毒作用、保肝作用和抗缺氧作用^[5]。

唐古特青兰药味呈苦味不仅与黄酮、多糖等有机成分有关,而且不同种类和不同存在形态的金属元素也有关^[7]。无机元素与藏药药性及药效的关系是近年来藏药研究的热点,无机元素分析对阐明藏药的药效具有重要意义^[8]。为阐明唐古特青兰治疗赤巴病的药效物质基础,探讨无机元素与其功效的相关性,本文建立了微波消解 ICP-MS 法测定唐古特青兰中 Ni, Cr, V, Mn, Cu, Zn, Co, Se, Fe, As, Pb, Al, Ba, Mg, K, Ca 等共 16 种无机元素的含量,为藏药唐古特青兰药物性味与无机元素相关性的进一步研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent 7500a 电感耦合等离子体质谱仪(Agilent Technologies Co. Ltd, USA); MARS5 微波消解仪(CEM, USA); Milli-Q 超纯水系统(Millipore, Bedford MA)。

1.2 试剂与样品 标准贮备液:10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 环境混合标准溶液(5% HNO_3 介质, Agilent); 内标溶液:由 1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 铯、铷标准储备液(10% HNO_3 介质, 钢铁研究总院), 逐级稀释为 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 调谐液:

10 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ Li, Co, Y, Ce, Tl 混合标准溶液(2% HNO_3 介质, Agilent); HNO_3 (BV-III 级, 北京化学试剂研究所); H_2O_2 (MOS 级, 北京化学试剂研究所); 超纯水(18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, Milli-Q 超纯水系统)。

成分分析标准物质:国家一级标准物质杨树叶 GBW07604, 茶叶 GBW07605。

唐古特青兰 *D. tanguticum* 为当年生新鲜药材, 购自青海亚郎藏药公司。

1.3 样品处理方法 洗净唐古特青兰全草, 阴干, 在温度控制于 55 ~ 65 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中干燥 8 h, 粉碎, 过 60 目筛, 精密称取 1.000 g, 加入聚四氟乙烯高压消解罐中, 再加 5 mL HNO_3 和 1 mL H_2O_2 , 按优化的消解程序加热消解。消解结束且冷却到常温后打开密闭消解罐, 将样品消解溶液移入 50 mL PET 塑料瓶中, 用少量超纯水洗涤消解罐和盖 3 次, 洗液合并至 PET 瓶中, 定容, 混匀。同时作试剂空白、加标回收及国家标准物质验证分析试验。

2 结果与分析

2.1 微波消解程序 最佳消解步骤见表 1。

表 1 样品消解步骤

步骤	功率		升温时间 /min	控温/ $^{\circ}\text{C}$	保持时间 /min
	最大功率 /W	利用率 /%			
1	1 200	100	5	130	10
2	1 200	100	6	180	18

2.2 ICP-MS 工作参数 用 10 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ Li, Co, Y, Ce, Tl 混合标准溶液为质谱调谐液和 1.000 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 铯、铷标准溶液为内标溶液, 对 ICP-MS 测定条件进行优化, 得到仪器项目与工作条件见表 2。

表 2 ICP-MS 的参数与条件

项目	工作条件	项目	工作条件
功率	1 350/W	采样锥孔径	1.0/mm
冷却气流量	15.0/L·min ⁻¹	截取锥孔径	0.4/mm
辅助气流量	1.0/L·min ⁻¹	分析模式	全定量分析
载气流量	0.85/L·min ⁻¹	积分时间	0.3s/同位素
补偿气流量	0.25/L·min ⁻¹	氧化物	<0.5%
样品提升速率	0.1/mL·min ⁻¹	双电荷	<2%
采样深度	7/mm	内标元素	¹⁰³ Rh, ¹⁸⁶ Re

2.3 标准工作曲线 以 5% HNO₃ 为介质, 配制 0.010 g·L⁻¹ 内含 Ni, Cr, V, Mn, Cu, Zn, Co, Se, Fe, As, Pb 等的环境混合标准溶液作为标准贮备液, 再用 5% HNO₃ 逐级稀释标准贮备液浓度至为 50, 10, 2, 1, 0 μg·L⁻¹, 而得标准溶液系列。在优化的实验

条件下, 采集空白及标准溶液系列, 仪器自动绘制标准曲线。所有元素的标准曲线性 $r \geq 0.9999$ 。

2.4 干扰因素及消除 考虑 ICP-MS 分析过程氧化物、双电荷、多原子离子、质量歧视效应、基体抑制、物理效应等干扰因素, 采用优化仪器测定的条件、合理选择适宜内标元素、采用国际通用的 EPA200.8 标准方程扣除干扰, 进行自动校正, 保证了测定方法的准确性。

2.5 方法检出限和精密度 在优化的实验条件下, 取 11 次平行测定试剂空白溶液的结果, 以空白的 3 倍标准偏差作为方法的检出限, 换算出对应样品中的检出限。每种样品平行测定 5 次来考察方法精密度, 结果显示, 所有测定结果的 RSD 在 0.4% ~ 3.7%, 具有较高的精密度。结果见表 3。

表 3 方法检出限和精密度

元素	⁶⁰ Ni	⁵² Cr	⁵¹ V	⁵⁵ Mn	⁶³ Cu	⁶⁶ Zn	⁵⁹ Co	⁷⁸ Se	⁵⁷ Fe	⁷⁵ As	²⁰⁸ Pb	²⁷ Al	¹³⁷ Ba	²⁴ Mg	³⁹ K	⁴³ Ca
检出限/μg·g ⁻¹	0.066	0.006	0.651	0.003	0.052	0.095	0.009	0.004	0.093	0.026	0.002	0.217	0.999	0.003	0.626	0.951
RSD/%	1.7	0.4	0.5	1.3	1.4	2.9	1.5	2.1	3.7	0.9	1.6	3.5	1.1	1.3	1.7	0.8

2.6 方法准确度 按照样品前处理方法和 ICP-MS 测定条件测定了国家标准物质茶标 (GBW07605) 和

杨树叶 (GBW07604), 验证方法的准确度, 结果见表 4。

表 4 标准物质的标准值和测定值

元素	杨树叶 (GBW07604)		茶叶 (GBW07605)	
	标准值	测定值	标准值	测定值
Ni	4.6 ± 0.3	4.526 ± 0.06	1.9 ± 0.2	1.900 ± 0.04
Cr	0.8 ± 0.02	0.5333 ± 0.14	0.55 ± 0.05	0.3344 ± 0.16
V	0.86	0.6058 ± 0.03	0.64	0.66 ± 0.23
Mn	1240 ± 40	1055 ± 0.13	45 ± 2	47.17 ± 0.01
Cu	17.3 ± 1.0	16.84 ± 0.04	9.3 ± 0.5	9.005 ± 0.03
Zn	26.3 ± 0.9	26.71 ± 0.04	37 ± 1	37.81 ± 0.14
Co	0.18 ± 0.02	0.1729 ± 0.12	0.42 ± 0.02	0.4554 ± 0.38
Se	0.072	0.067 ± 0.12	0.14 ± 0.01	0.1382 ± 0.05
Fe	264 ± 10	271.01 ± 0.14	274 ± 10	332.6 ± 0.04
As	0.280 ± 0.03	29.19 ± 0.13	3.70 ± 0.6	3.122 ± 0.02
Pb	4.4 ± 0.2	4.365 ± 0.04	1.5 ± 0.2	1.455 ± 0.03
Al	0.30	1.750 ± 0.03	0.104 ± 0.005	0.3677 ± 0.18
Ba	58 ± 3	59.47 ± 0.02	26 ± 2	28.29 ± 0.2
Mg	0.17 ± 0.01	0.1762 ± 0.04	0.65 ± 0.03	0.6828 ± 0.07
K	1.66 ± 0.06	1.628 ± 0.48	1.38 ± 0.04	1.423 ± 0.02
Ca	0.43 ± 0.02	4.243 ± 0.02	1.81 ± 0.07	1.854 ± 0.02

2.7 加标回收试验 经过样品加标回收实验考察方法的可行性, 精密称取唐古特青兰 0.100 0 g, 在消解罐中用最优化条件消解后, 加入多元素标准溶

液, 测定元素的含量, 计算回收率为 91.82% ~ 104.72%, 结果表明准确度较好, 方法可满足实际样品分析。结果见表 5。

表 5 各元素加样回收率试验

	唐古特青兰/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$							
	Ni	Cr	V	Mn	Cu	Zn	Co	Se
加入量	1.500	1.000	1.000	30.000	9.000	25.000	0.200	0.050
测定值	1.396	1.021	0.978	31.180	8.876	25.472	0.1899	0.048
回收率/%	93.06	102.10	97.80	103.93	98.62	101.88	94.95	96.00

	唐古特青兰							
	Fe/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	As/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Pb/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Al/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	Ba/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	Mg/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	K/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	Ca/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
加入量	250.000	0.500	1.000	0.500	0.050	2.000	10.000	15.000
测定值	261.82	0.467	0.932	0.482	0.047	1.876	9.182	14.472
回收率/%	104.72	93.40	93.20	96.40	94.00	93.80	91.82	96.48

2.8 样品分析 按 1.3 样品前处理方法处理样品 青兰溶液中 16 种元素,结果见表 6 所示。
和按标准物质测定方法,用 ICP-MS 分别测定唐古特

表 6 唐古特青兰中无机元素的质量分数测定

 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

元素	Ni	Cr	V	Mn	Cu	Zn	Co	Se	Fe	As	Pb	Al	Ba	Mg	K	Ca
含量	3.310	1.484	1.312	54.02	16.95	47.68	0.424	0.068	523.6	0.826	1.658	0.847	0.047	4.025	19.38	32.49

3 讨论

ICP-MS 法测定无机元素与 AES 法, AAS 法, AFS 法等相比较,具有快速、灵敏、准确等众多优点,是目前中藏药中分析无机元素和微量元素的十分有效手段。

样品测定结果表明唐古特青兰中元素 Fe, Zn, Mn 和 Cu 的含量远远高于 Ni, Cr, V 等元素含量。藏医药临床中铁及铁汁味略酸,消化味为苦,主要功效是清热,主治肝中毒、麻风病、疮口脓血、黄水、水肿;铜,味甘,性凉,功效为干肺脓,消腹水,愈骨折,清肝胆之热,主治疮疡、肺脓肿、肺热症、骨折、水肿症。目前发现,唐古特青兰中含量较高的微量元素的功效与其有机成分如齐墩果酸、熊果酸以及黄酮苷类的部分功效一致,这与藏药施治的综合性相通,是唐古特青兰治疗赤巴病的重要物质基础之一。

[参考文献]

[1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:

青海人民出版社, 1991:183.

- [2] 张晓峰,胡伯林,王生新. 唐古特青兰化学成分[J]. 植物学报,1994,36(8):645.
- [3] 李霁昕,贾忠建. 甘青青兰化学成分研究[J]. 西北植物学报,2006, 26(1): 188.
- [4] 利毛才让,热增才旦,李文渊,等. 甘青青兰挥发性成分 GC/MS 分析[J]. 青海师范大学学报:自然科学版, 2008,2:54.
- [5] 郑洪婷,张国刚,郑亚夫,等. 藏药甘青青兰脂溶性化学成分研究(1)[J]. 中国药物化学杂志, 2007,17(5): 314.
- [6] 沈杰,叶蕴华,周亚伟. 藏药甘青青兰生物活性成分研究[J]. 中国药学杂志,2009,44(3):170.
- [7] 丁耐克. 食品风味化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999,72.
- [8] 利毛才让,热增才旦,马永林,等. 藏茵陈等治疗赤巴病藏药中 24 种无机元素的测定及探讨[J]. 时珍国医国药,2010,20(3):551.

[责任编辑 蔡仲德]