

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.17.018

电感耦合等离子体发射光谱法测定土牛膝中 13 种微量元素及相关性分析*

马杰^{1,2}, 丁野^{1,2}, 方磊^{1,2,Δ}, 李瑞莲^{1,2}, 王湘波^{1,2}

(1. 湖南省药品检验研究院, 湖南长沙 410001; 2. 湖南省药品质量评价工程技术中心, 湖南长沙 410001)

摘要:目的 建立测定湖南产土牛膝中 13 种微量元素[铝(Al), 硼(B), 钡(Ba), 铍(Be), 铜(Cu), 铁(Fe), 锂(Li), 镁(Mg), 锰(Mn), 锶(Sr), 钛(Ti), 钒(V), 锌(Zn)]含量的电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法。方法 土牛膝根粉未经微波消解, 加 2% HNO₃ 稀释, 采用 ICP-OES 法测定 13 种微量元素含量。结果 13 种微量元素的线性相关系数为 0.997 8~0.999 9, 检测限为 0.04~1.21 mg/kg, 重复性试验结果的 RSD 在 0.11%~3.86% 范围内, 回收率为 69.29%~103.11%。结论 该方法简便、准确, 可同时测定土牛膝中 13 种微量元素的含量。

关键词:电感耦合等离子体发射光谱法; 土牛膝; 微量元素; 相关性分析

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)17-0071-03

Content Determination of 13 Trace Elements in *Achyranthes Aspera* by ICP-OES and Correlation Analysis

MA Jie^{1,2}, DING Ye^{1,2}, FANG Lei^{1,2}, LI Ruilian^{1,2}, WANG Xiangbo^{1,2}

(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha, Hunan, China 410001; 2. Hunan Engineering & Technology Research Center for Pharmaceutical Quality Evaluation, Changsha, Hunan, China 410001)

Abstract: **Objective** To determine and analyze 13 trace elements(Al, B, Ba, Be, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Sr, Ti, V, Zn) in *Achyranthes aspera* from Hunan Province by inductively coupled plasma-emission spectrometry(ICP-OES). **Methods** The powder of *Achyranthes aspera* root was digested by microwave. The solution was diluted by 2% HNO₃ and the 13 trace elements were determined by ICP-OES. **Results** The linear correlation coefficients of all elements were 0.997 8-0.999 9, the detection limit was 0.04-1.21 mg/kg, the RSD of repeatability test was 0.11%-3.86%, and the recovery was 69.29%-103.11%. **Conclusion** The method is simple, accurate and can be used for the simultaneous determination of 13 trace elements in *Achyranthes aspera*.

Key words: inductively coupled plasma-emission spectrometry; *Achyranthes aspera*; trace elements; correlation analysis

土牛膝为苋科植物粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L. 的干燥根及根茎^[1], 主产于湖南、江西、江苏、广东、广西、四川、云南、贵州等地, 以野生为主, 具有疗伤止痛、补肾强骨、外用消风祛斑的功效, 用于治疗咽喉肿痛、高血压、月经不调、闭经、风湿痹痛、腰膝酸痛、跌打损伤、尿路结石、肾炎、扁桃体炎等^[2]。东梅止咳颗粒、喉咽清口服液、喉咽清颗粒、复方无花果含片、金乌骨通胶胶囊等均含有土牛膝药材, 其中咽清口服液和喉咽清颗粒为

2010 年《湖南省基本医疗保险、工伤保险、生育保险药品》《湖南省新型农村合作医疗的基本药品》纳入品种, 并增入 2017 年国家医保目录^[3]。微量元素是植物生长发育必需的营养元素, 在促进作物生长代谢、提高产量品质方面有十分重要的作用。中药的疗效不仅与其活性成分有关, 且与微量元素的种类和含量也密切相关^[4]。为了考察土牛膝中代表性微量元素的含量, 并了解各元素间含量的相关性, 本研究中建立了测定 10 批湖南产

*基金项目: 国家食品药品监督管理总局药化注册司专项。

第一作者: 马杰, 男, 硕士研究生, 主管中药师, 主要从事中药材及饮片的质量检验工作, (电子信箱) majie172@qq.com。

Δ通信作者: 方磊, 男, 大学本科, 主管中药师, 主要从事中药质量检验工作, (电子信箱) 22349405@qq.com。

- [6] 黄璐敏, 刘杜妙, 徐文英. 2 种医院软膏剂微生物限度检查方法学验证[J]. 中国药业, 2012, 21(18): 47-49.
- [7] 翁一玲, 张黎莉, 陈松旺. 维生素 E 乳膏微生物限度检查方法验证[J]. 海峡药学, 2014, 26(9): 53-55.
- [8] 孙荣嵘. 水杨酸软膏微生物限度检查方法研究[J]. 中国科技纵横, 2015(16): 202.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 140-151.
- [10] 周 剑, 李 霞. 克霉唑乳膏微生物限度检查方法学研究[J]. 中国药业, 2011, 20(12): 33-34.

- [11] 国家药典委员会. 中国药典分析检测技术指南[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 567.
- [12] 中国药品生物制品检定所, 中国药品检验总所. 中国药品检验标准操作规范[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 351-382.
- [13] 曹晓云, 郭艳娟. 药品微生物限度检查方法学验证试验及其相关的技术问题[J]. 天津药学, 2006, 18(6): 49-51.
- [14] 中央军委后勤保障部卫生局. 中国人民解放军医疗机构制剂规范[M]. 北京: 人民军医出版社, 2015: 216.

(收稿日期: 2019-12-20; 修回日期: 2020-02-15)

土牛膝中 13 种微量元素[铝(Al), 硼(B), 钡(Ba), 铍(Be), 铜(Cu), 铁(Fe), 锂(Li), 镁(Mg), 锰(Mn), 锶(Sr), 钛(Ti), 钒(V), 锌(Zn)]含量的微波消解结合电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICPE-9000 型电感耦合等离子体原子发射光谱仪(日本岛津公司);MARS 6 CLASSIC 型微波消解仪(美国培安科技公司);BHW-09C 型控温电加热器(上海博通化学科技有限公司);AE200 型电子分析天平(德国梅特勒-托利多公司,精度为十万分之一)。

1.2 试剂

Al, B, Ba, Be, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Sr, Ti, V, Zn 对照品溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心),离子质量浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$; HNO_3 (优级纯);水为娃哈哈纯净水;10 批土牛膝药材均采自湖南省土牛膝的主产地湖南省永州市,经湖南省药品检验研究院丁野主任中药师鉴定为正品,详见表 1。

表 1 样品采集信息

编号	采集地	采收时间	编号	采集地	采收时间
1	湖南省永州马鞍山	2018 年 7 月	6	湖南省永州江华县	2018 年 7 月
2	湖南省永州马鞍山	2018 年 9 月	7	湖南省永州江华县	2018 年 9 月
3	湖南省永州道县	2018 年 7 月	8	湖南省永州双牌县	2018 年 7 月
4	湖南省永州道县	2018 年 9 月	9	湖南省永州双牌县	2018 年 7 月
5	湖南省永州宁远县	2018 年 9 月	10	湖南省永州竹瓦村	2018 年 7 月

2 方法与结果

2.1 ICPE-9000 工作条件

氩气气压:465.30 MPa;功率:1.2 kW;等离子体流量:10.00 L/min;辅助气流量:0.60 L/min;载气流量:0.70 L/min;观测方向:Axial;位置:Low;泵速:20 r/min;仪器稳定延时:15 s;溶剂清洗:30 s;样品清洗:90 s;灵敏度模式:宽范围;曝光时间:30 s。

2.2 样品预处理^[5-8]

取样品粗粉约 0.5 g,置微波消解罐中,加入 8 mL HNO_3 ,加盖密封,静置过夜,放入微波消解炉中消解。消解完毕后,设置赶酸仪的温度为 120 $^{\circ}\text{C}$,赶酸 2~3 h,至溶液剩余 2~3 mL,转移至 50 mL 容量瓶中,加 2% HNO_3 溶液稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。同法制备空白样品溶液。

2.3 测定波长选择

各元素分析谱线根据元素的谱线特征、元素间的干扰情况及仪器对该种元素的检测灵敏度确定。选择发射净强度大、信噪比高、背景低、共存元素干扰少、强度匹配的谱线为待测元素的分析谱线。最终,选择分析谱线的最优波长为 394.403 nm(Al)、182.640 nm(B)、233.527 nm(Ba)、234.861 nm(Be)、327.396 nm(Cu)、

239.562 nm(Fe)、610.363 nm(Li)、383.826 nm(Mg)、260.569 nm(Mn)、216.596 nm(Sr)、337.280 nm(Ti)、292.402 nm(V)、206.200 nm(Zn)。

2.4 方法学考察

线性关系考察:按拟订条件依次测定各微量元素的系列质量浓度的对照品溶液,以对照品质量浓度(X)为横坐标、峰强度(Y)为纵坐标进行线性回归,得各元素的回归方程。详见表 2。

表 2 13 种微量元素的线性关系考察、检测限及加样回收试验结果

元素	回归方程	相关系数 (r)	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	检测限 (mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)
Al	$Y=1.5904X+105.896$	0.999 6	0.1~10	0.625 4	103.11	0.51
B	$Y=10.576X-262.589$	0.999 8	0.02~2	1.213 9	69.29	2.06
Ba	$Y=0.347X-16.549$	0.999 9	0.02~2	0.091 9	74.62	2.34
Be	$Y=0.129X+42.846$	0.979 0	0.02~2	0.015 3	71.60	2.86
Cu	$Y=0.6592X+48.572$	0.999 5	0.1~10	0.423 2	92.73	0.73
Fe	$Y=1.036X-88.959$	0.999 8	0.1~10	0.236 6	96.07	1.13
Li	$Y=0.949X-64.879$	0.998 6	0.02~2	0.431 9	69.36	2.06
Mg	$Y=3.390X-1688.723$	0.999 4	0.1~10	0.312 4	93.51	1.31
Mn	$Y=0.113X+10.180$	0.993 4	0.02~2	0.048 1	96.08	2.54
Sr	$Y=6.225X+37.576$	0.999 9	0.02~2	0.805 4	77.33	2.53
Ti	$Y=0.212X-95.810$	0.999 9	0.02~2	0.190 2	83.46	3.46
V	$Y=0.428X-97.364$	0.999 9	0.02~2	0.148 1	76.14	2.78
Zn	$Y=1.200X-36.479$	0.999 8	0.1~10	0.165 1	94.27	1.62

检测限确定:按拟订条件,取空白样品溶液连续进样 11 次测定,以 3 倍空白溶液的标准偏差所对应的质量浓度作为仪器的检测限。结果见表 2,各元素的检测限均低于 2 mg/kg ,灵敏度较高,可满足分析要求。

精密性试验:取混合对照品溶液,按拟订工作条件连续进样 6 次。结果各微量元素含量的 RSD 为 0.20%~2.49% ($n=6$),表明仪器精密性良好。

重复性试验:对同一批(编号 5)土牛膝样品,依法制备供试品溶液 6 份,分别进样测定。结果各元素含量的 RSD 为 0.11%~3.86% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(编号 5),依法制备供试品溶液。加入各待测元素(Al, B, Ba, Be, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Sr, Ti, V, Zn)对照品溶液(Al, Fe 100 μg ; Mg 1 000 μg ; Ba, Be, Cu, Li, Ti, V 1 μg ; B, Mn, Sr, Zn 10 μg ,均水浴蒸干后取样),按 2.2 项下方法消解,依法测定。结果见表 2。

2.5 样品含量测定

取 10 批样品,粉碎,得粗粉,依法制备供试品溶液。测定 Al, Mg, Fe, Mn, Zn 前将供试品溶液稀释后再进样,以满足线性范围要求。按拟订条件进行测定,结果见表 3。有 2 批未检出 Cd 和 Ni,其余元素均有不同程度检出。

2.6 元素间相关性分析

采用 SPSS 19.0 统计学软件进行相关性分析,因多

表3 13种微量元素含量测定结果(mg/kg, n=3)

序号	Al	B	Ba	Be	Cu	Fe	Li	Mg	Mn	Sr	Ti	V	Zn	总量
1	864.14	23.31	20.70	3.53	15.81	608.32	8.46	2120.54	143.87	25.38	3.48	1.23	41.70	3880.47
2	360.67	12.30	8.76	4.07	15.70	200.54	7.66	833.32	115.84	10.73	1.32	ND	38.25	1609.16
3	2180.12	24.41	30.70	2.27	26.60	1460.63	8.62	2460.15	127.18	24.51	9.31	3.88	40.41	6398.79
4	1900.42	28.50	12.89	1.91	11.52	1610.61	7.83	2130.23	110.34	22.54	52.26	4.42	39.53	5933.00
5	2130.49	50.01	21.38	1.55	13.44	1890.21	6.66	3880.84	121.41	42.11	21.30	5.87	45.62	8230.89
6	1610.18	41.13	18.83	2.67	13.13	1190.84	6.35	4770.43	331.48	32.21	16.86	2.79	71.48	8108.38
7	544.54	13.03	4.82	3.73	8.29	432.43	7.61	699.11	213.93	11.00	4.31	0.98	56.81	2000.59
8	1050.62	36.86	15.78	3.07	15.28	869.39	6.38	2780.85	148.29	21.51	11.03	1.84	57.18	5018.08
9	785.29	20.89	7.88	3.37	8.36	674.51	7.03	1510.15	139.01	20.42	7.78	1.74	52.09	3238.52
10	359.25	16.45	5.89	3.99	8.33	231.84	6.71	1480.38	115.20	13.46	3.18	ND	60.61	2305.29

注:ND表示未检出。

表4 13种微量元素相关性分析

元素	Al	B	Ba	Be	Cu	Fe	Li	Mg	Mn	Sr	Ti	V	Zn
Al	1.000												
B	0.806**	1.000											
Ba	0.830**	0.697*	1.000										
Be	-0.939**	-0.879**	-0.673*	1.000									
Cu	0.467	0.236	0.806**	-0.200	1.000								
Fe	0.939**	0.879**	0.673*	-1.000**	0.200	1.000							
Li	0.103	-0.430	0.152	0.091	0.394	-0.091	1.000						
Mg	0.794**	0.964**	0.770**	-0.806**	0.382	0.806**	-0.418	1.000					
Mn	0.036	0.188	0.055	0.036	-0.043	-0.036	-0.389	0.231	1.000				
Sr	0.794**	0.879**	0.830**	-0.794**	0.382	0.794**	-0.152	0.867**	0.201	1.000			
Ti	0.818**	0.867**	0.455	-0.939**	-0.018	0.939**	-0.273	0.770**	0.049	0.673*	1.000		
V	0.948**	0.869**	0.687*	-0.997**	0.237	0.997**	-0.073	0.802**	-0.037	0.784**	0.936**	1.000	
Zn	-0.212	0.236	-0.248	0.079	-0.503	-0.079	-0.782**	0.236	0.614	0.103	0.067	-0.128	1.000

注:*为P值在0.05水平(双侧)上显著相关;**为P值在0.01水平(双侧)上显著相关。

数变量不服从正态分布,采用 Spearman 等级相关系数法。结果见表4。

3 讨论

本研究中建立的同时测定土牛膝13种元素含量的微波消解-ICP-OES法,能快速、准确地测定土牛膝中13种微量元素,线性范围广,方法学考察结果均能满足检测要求。

土牛膝中含量较高的为Al, Fe, Mg, Mn, Zn, 占13种元素总量的96.24%~98.35%,土牛膝的疗效可能与以上元素相关;其中,Mg含量最高(699~4770 mg/kg),占13种微量元素总量的34.9%~64.2%。

元素含量间有Al-Ba, Al-Mg, Al-Sr, Fe-Sr, Fe-Mg, Cu-Mg, Sr-Mg等25对呈显著正相关,表明土牛膝生长过程中,25对元素吸收积累的协同作用较好;Al-Be, B-Be, Li-Zn等8对呈显著负相关,表明土牛膝在生长过程中此8对元素的吸收积累的拮抗作用较强。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:

中国医药科技出版社,2015:418.

- [2] 戴斌,李剑东.“虎牛钻风”类传统瑶药的调查研究[J]. 中国民族民间医药杂志,1998,31(2):28-34.
- [3] 文庆,方磊,李瑞莲,等. 土牛膝药材民族特色及研究现状[J]. 中国药业,2018,27(21):2-5.
- [4] 王懿萍,张小荣,杨巧艳,等. 中药微量元素与药效的关系[J]. 陕西中医,2006,27(12):1573-1576.
- [5] 丁野,曾丽,蒋秋桃,等. 微波消解-ICP-OES法检测龙胆泻肝丸中的重金属[J]. 中南药学,2014,12(12):1236-1239.
- [6] 袁园园,周五碧,孙菁,等. 基于ICP-OES对不同产地大白刺果实矿质元素的主成分分析[J]. 中国中药杂志,2017,42(12):2334-2338.
- [7] 蔡伟,熊耀康,盛振华,等. ICP-OES测定不同产地浙贝母中的18种微量元素含量[J]. 中国现代应用药学,2013,30(3):277.
- [8] 徐婷,钟凌云. 附子及不同姜制附子中十种微量元素的ICP-AES测定[J]. 时珍国医国药,2017,28(10):2405-2407.

(收稿日期:2020-02-06)