

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.21.021

微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定整蛋白型肠内营养剂中铁、锌、铜、锰元素含量*

郭雷¹, 宋宇², 邵天舒¹, 周长明^{1△}

(1. 北京市药品检验所, 北京 102206; 2. 北京大学药学院, 北京 100191)

摘要:目的 建立测定整蛋白型肠内营养剂中铁(Fe)、锌(Zn)、铜(Cu)、锰(Mn)元素含量的微波消解-电感耦合等离子体质谱(MAE-ICP-MS)法。方法 采用微波-硝酸消解处理整蛋白型肠内营养剂样品, 采用 ICP-MS 法测定, 射频功率为 1 350 W, 载气流速为 1.10 L/min, 辅助气流速为 1.20 L/min, 氦气流速为 4 L/min, 加入锗元素(Ge)作为内标, 校正由于样品基体效应和仪器信号漂移对测量产生的干扰。结果 国家标准物质对比试验证明测定方法准确、可靠; 各元素质量浓度在 1~100 µg/L 范围内与峰面积线性关系良好, 相关系数(r) ≥ 0.9997 , 4 种元素检出限范围为 0.042 6~0.139 3 µg/kg, 回收率为 100.41%~115.14%, 精密度试验结果的 RSD 为 0.78%~4.04%。结论 该方法简便、灵敏、准确, 可同时检测整蛋白型肠内营养剂中 Fe, Zn, Cu, Mn 4 种金属元素的含量。

关键词:电感耦合等离子体质谱; 整蛋白型肠内营养剂; 铁; 锌; 铜; 锰; 含量

中图分类号: R927.2; R977.6

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)21-0072-03

Content Determination of Fe, Zn, Cu and Mn in Intact Protein Enteral Nutrition Powder by MAE-ICP-MS

GUO Lei¹, SONG Yu², SHAO Tianshu¹, ZHOU Changming¹

(1. Beijing Institute for Drug Control, Beijing, China 102206; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing, China 100191)

Abstract: Objective To determine the Fe, Zn, Cu and Mn in Intact Protein Enteral Nutrition Powder by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry(MAE-ICP-MS). **Methods** The Intact Protein Enteral Nutrition Powder was digested by microwave and nitric acid and determined by ICP-MS. The RF power was 1 350 W, the flow rate was 1.10 L/min for carrier gas, 1.20 L/min for auxiliary gas, 4 L/min for helium gas. The internal standard solution Ge was used to correct the interference caused by matrix effect and instrument signal drift. **Results** The national standard material comparison experiment demonstrated the validated method was accurate and reliable. The linear range of each element was in the range of 1~100 µg/L, the correlation coefficient (r) ≥ 0.9997 . The detection limits of 4 elements were in the range of 0.042 6~0.139 3 µg/kg. The recoveries were in the range of 100.41%~115.14%, and the RSD of precision test was in the range of 0.78%~4.04%. **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate, which can be used for the simultaneous determination of Fe, Zn, Cu and Mn in Intact Protein Enteral Nutrition Powder.

Key words: ICP-MS; Intact Protein Enteral Nutrition Powder; Fe; Zn; Cu; Mn; content

*基金项目: 国家药典委员会 2017 年国家药品质量标准提高课题[118]。

第一作者: 郭雷, 男, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为生化药物与生物制品检验, (电子信箱)leileimap@sina.com。

△通信作者: 周长明, 男, 大学本科, 主任药师, 研究方向为生化药物与生物制品检验, (电子信箱)zcm.602@163.com。

痔复康颗粒的质量控制标准提供参考。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 301-302.
- [2] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药, 2016, 38(1): 141-147.
- [3] 雷芳. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 中国药业, 2010, 19(15): 87-90.
- [4] 文学平, 刘德俊, 裴忆雪, 等. 黄芩苷抗急性痛风性关节炎的实验研究[J]. 中药材, 2017, 40(8): 1952-1955.
- [5] 李倩楠, 葛晓群. 黄芩苷的解热作用及对细胞因子的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 1068-1072.
- [6] 高雷, 陈鸿珊. 黄芩苷体外对流感病毒, 单纯疱疹病毒和柯萨奇病毒的抑制作用[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(6): 474-478.
- [7] 郑海峰, 段国辰. 黄芩苷抑制肿瘤机制的研究进展[J]. 河北医科大学学报, 2012, 33(3): 363-366.
- [8] 龙进. 黄芩苷对 A549 肺癌细胞增殖的抑制作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(5): 1094-1095.
- [9] 钱锋, 蒙艳丽, 王英岩, 等. 黄芩苷的抗菌作用研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2015, 44(5): 73-74.
- [10] 肖红侠, 张喜霞, 邵世峰, 等. 黄芩苷对结核分枝杆菌抑菌作用的研究[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(4): 291-292.
- [11] 刘昊, 赵自冰, 王新. 黄芩苷对大肠埃希菌的抗菌活性及其作用机制[J]. 中国生物制品学杂志, 2019, 32(9): 983-986.
- [12] 邝枣园, 吴伟, 黄衍寿, 等. 黄芩苷抗肺炎衣原体的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2005, 17(2): 87-88.
- [13] 窦永青, 杜文力, 薛毅, 等. 黄芩苷降解细菌内毒素的考察[J]. 中国医药学杂志, 2005, 25(7): 683-684.
- [14] 刘彬, 卢军. 黄芩苷对单核细胞增生李斯特氏菌的体外抑菌作用研究[J]. 安徽医药, 2016, 20(2): 244-246.

(收稿日期: 2020-02-26; 修回日期: 2020-06-08)

肠内营养剂是用于临床肠内营养支持的各种产品的总称,有助于维持肠黏膜细胞结构与功能的完整性,促进黏膜的增生、修复,维护肠黏膜屏障,减少肠源性感染的发生^[1]。铁(Fe)、锌(Zn)、铜(Cu)、锰(Mn)是人体必需的微量元素,具有重要的生理功能,Fe可维持机体正常的免疫功能,Zn参与体内酶的合成并促进发育,Mn维持大脑正常代谢,Cu对中枢神经、免疫系统及心、肝等内脏的发育和功能有重要影响^[2-4]。因此,监测肠内营养剂中各金属元素的含量对其质量控制十分重要。目前,常用于测定金属元素的方法有原子吸收光谱法^[5-7]、原子荧光光度法^[8-10]、原子发射光谱法^[11-13]等。电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法是20世纪80年代后发展起来的技术,其灵敏度高、检出限低、线性范围宽,且能实现多元素同时测定,目前已广泛应用于食品、医药、环境等领域。本研究中建立了微波消解(MAE)-ICP-MS测定整蛋白型肠内营养剂的方法,肠内营养剂用微波消解,对ICP-MS仪器工作参数进行优化,采用动能歧视模式(KED)同时检测多种元素,并用锗(Ge)作为内标进行校正。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

NexION 300X型电感耦合等离子体质谱仪(美国Perkin Elmer公司);ETHOS One型微波消解仪(意大利Milestone公司);Milli-Q型超纯水机(美国Millipore公司)。

1.2 试剂

65%硝酸(优级纯,德国Merck公司);ICP-MS调谐溶液(美国Perkin Elmer公司);Fe标准贮备液(100 μg/mL),Zn标准贮备液(1 000 μg/mL),Cu标准贮备液(1 000 μg/mL),Mn标准贮备液(1 000 μg/mL),内标Ge标准贮备液(1 000 μg/mL),均购自国家标准物质中心;水为超纯水(>18.2 MΩ/cm);国家一级标准参考物质(人发)[GBW07601a(GSB-20)],整蛋白型肠内营养剂(规格为每袋62.5 g,批号分别为0136783221,0136752606,0136783224),均为2017年国家标准提高课题检验用样品。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

内标工作溶液:精密量取Ge标准贮备液适量,用5%硝酸配制质量浓度为1 μg/mL的内标工作溶液,置冰箱冷藏。

混合标准工作溶液:精密量取Fe,Zn,Cu,Mn标准贮备液适量,置样品瓶中,得各元素质量浓度均为1 μg/L的混合标准贮备液;精密量取混合标准贮备液1,0.7,0.5,0.3,0.1,0.01 mL,精密加入等量内标工作溶液0.1 mL,用5%硝酸溶液稀释至10 mL,得各待测

元素质量浓度分别为100,70,50,30,10,1 μg/mL,内标元素Ge的质量浓度为10 μg/L的混合标准工作溶液,置冰箱冷藏保存。

2.2 样品前处理

称取样品1.0 g,精密称定,置微波消解罐中,加入硝酸6 mL,混匀,浸泡过夜,盖上内外盖后,移入微波消解仪中消解,消解完全后,取消解罐置电热板上,缓缓加热至红棕色蒸汽挥尽并近干,待降至室温后,再用1%硝酸分次转移至50 mL容量瓶中,并用1%硝酸洗涤消解罐,用1%硝酸定容,混匀,作为供试品溶液。同时制备空白试剂。微波消解程序见表1。

表1 微波消解程序

步骤	功率(W)	升温时间(min)	温度(℃)	保持时间(min)
1	1 200	5	120	5
2	1 200	3	150	10
3	1 200	3	180	18

2.3 ICP-MS条件

采用KED模式进行检测,仪器用调谐溶液调谐在整个质量范围内具有高灵敏度[铍(Be)灵敏度大于3 000、镁(Mg)灵敏度大于20 000、铟(In)灵敏度大于50 000、铀(U)灵敏度大于40 000]及低干扰水平CeO_{155.9}/Ce_{139.905} ≤ 0.025和Ce²⁺_{69.952}7/Ce_{139.905} ≤ 0.03。ICP-MS相关参数:射频功率为1 350 W,载气流速为1.10 L/min,辅助气流速为1.20 L/min,蠕动泵转速为24 r/min,扫描次数为30次,停留时间为50 s,重复次数为3次,扫描模式为跳峰模式,氮气流速为4 L/min。

2.4 方法学考察

线性关系和检出限考察:按2.1项下方法配制混合标准工作溶液,并进行测定,以各元素与内标测量值的比值(Y)为纵坐标、相应质量浓度(X, μg/L)为横坐标进行线性回归,得各元素的回归方程及相关系数(r)。连续测定空白溶液11次,计算4种元素的标准偏差,计算得方法检测限(LOD)和定量限(LOQ)。结果见表2。

表2 各元素的线性关系、检出限及定量限考察结果

元素	m/z	线性回归方程	线性范围(μg/L)	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)	r
Fe	56	$Y=0.3882X+0.0822$	1~100	0.0826	0.2753	0.9997
Zn	64	$Y=0.1310X-0.2025$	1~100	0.1393	0.4643	0.9999
Cu	65	$Y=0.2460X-0.1019$	1~100	0.0433	0.1443	0.9999
Mn	55	$Y=0.2410X-0.1082$	1~100	0.0426	0.1419	0.9998

标准物质分析:对国家标准物质(人发)进行分析测定,通过3次平行测定,得各微量元素质量浓度平均值和RSD,并与标准值进行比较。结果见表3。可见,各微量元素测定值在标准值的范围内,表明方法准确性好。

加样回收试验和精密度试验:取样品1 g,精密称

表 3 国家标准物质(人发)分析结果($n=3$)

元素	测量值($\mu\text{g/L}$)	标准值($\mu\text{g/L}$)	准确度(%)	RSD(%)
Fe	15.51	18.0 $\pm$ 2.5	86.21	3.61
Zn	65.41	68.5 $\pm$ 4.5	95.50	1.28
Cu	7.74	7.15 $\pm$ 0.8	108.28	2.54
Mn	1.12	1.0 $\pm$ 0.15	112.03	3.66

定,共 9 份,平均分为 3 组,分别精密加入各元素质量浓度为 30,60,90 mg/L 的混合标准溶液各 1 mL,按 2.2 项下方法处理后进行测定,计算精密度和加样回收率。结果见表 4。

表 4 加样回收试验和精密度试验结果($n=3$)

元素	样品含量($\mu\text{g/kg}$)	加入量($\mu\text{g/kg}$)	测得量($\mu\text{g/kg}$)	回收率(%)	精密度 RSD(%)
Fe	69.426 6	30	101.934 2	108.36	4.04
	69.426 6	60	132.545 6	105.20	2.09
	69.426 6	90	162.635 6	103.57	3.05
Zn	57.509 2	30	89.450 6	106.47	3.56
	57.509 2	60	121.622 8	106.86	2.14
	57.509 2	90	147.874 4	100.41	1.75
Cu	9.654 6	30	44.197 2	115.14	3.93
	9.654 6	60	77.133 6	112.56	2.18
	9.654 6	90	105.416 8	106.40	0.78
Mn	16.873 2	30	50.763 0	112.97	3.63
	16.873 2	60	81.241 4	107.28	1.41
	16.873 2	90	109.799 0	103.25	0.85

2.5 样品含量测定

采用拟订方法对 3 批样品中 4 种金属元素含量进行测定,结果见表 5。

表 5 3 批样品中 4 种金属元素含量测定结果(每 100 g 的含量)

批号	Fe	Zn	Cu	Mn
0136783221	6.733	5.301	0.974	1.526
0136752606	6.728	5.382	0.958	1.525
0136783224	6.708	5.066	0.908	1.509

3 讨论

利用现代技术测定微量元素含量时,试验误差多来源于样品前处理过程,如干法灰化法^[14]、酸提取法^[15]等存在着样品易损、试剂使用量大、环境污染严重等问题。本研究中采用全密封的聚四氟乙烯消化罐微波消解,在高温高压条件下将样品彻底消解,具有试剂消耗少、空白值低、无容器吸附、回收完全等优点^[16]。在消解过程中,选择优级纯的硝酸,相较于其他无机酸,硝酸产生的多原子离子较少,对待测元素干扰较小^[17]。

综上所述,采用 MAE-ICP-MS 方法对整蛋白型肠内营养剂进行微量元素分析,检测限为 0.042 6~0.139 3 $\mu\text{g/kg}$,方法精密度试验的 RSD 为 0.78%~4.04%,加样回收率为 100.41%~115.14%,与国家标准物质的测定结果与证书标准值相符。该方法检测限

低,灵敏度高,可同时测定多种元素,且具有较高的准确度和精密度,可用于整蛋白型肠内营养剂中 Fe、Zn、Cu、Mn 元素的含量测定,为其他肠内营养剂类药物微量元素的测定提供了参考。

参考文献:

- [1] BRAGA M, GIANOTTI L, GENTILINI O, et al. Early postoperative enteral nutrition improves gut oxygenation and reduces costs compared with total parenteral nutrition[J]. Critical Care Medicine, 2001, 29(2): 242.
- [2] 杨心乐, 王桂兰, 张忠诚. 锰与人体健康[J]. 医学综述, 2006, 12(18): 1134-1136.
- [3] 何淑贤, 王秀玲, 邓利荣. 免疫力低下患者血清中铁锌铜锰含量的研究[J]. 广东微量元素科学, 1999, 6(2): 32-34.
- [4] 王克, 张帅. 微波消解-电感耦合等离子体质谱测定全血中钙铁锌铜锰硒钼铅[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(6): 1084-1086.
- [5] 何佩雯, 杜钢, 赵海誉, 等. 微波消解-原子吸收光谱法测定 9 种中药材中重金属含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1707-1712.
- [6] 宋欣鑫, 白璐, 李丹, 等. 原子吸收光谱法测定斑蝥体内微量元素[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1124-1126.
- [7] 马稳, 张秀兰. 原子吸收光谱法测定不同生长期不同品种芦荟中微量元素[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(9): 1547-1550.
- [8] 姜卫东, 贺亚玲, 杜刚. 益母草注射液铅、镉、砷、汞、铜残留量的测定[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(9): 1540-1542.
- [9] 姚国. 微波消解-原子吸收/原子荧光光度法测定活性污泥中的 Cd、Pb、Ni、Cu、Zn、Cr、K、As、Hg[J]. 干旱环境监测, 2008, 22(2): 65-68.
- [10] 苏建峰. 一次性消解-原子吸收光谱法、原子荧光光谱法检测水产品中铅、镉、铜、锌和砷[J]. 光谱实验室, 2007, 24(4): 566-569.
- [11] 张玉芬, 韩娜, 赵玉英, 等. 微波消解-等离子体原子发射光谱法测定 6 种蒙药中 15 个元素含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(7): 1186-1189.
- [12] 李春香, 王玲玲, 荆俊杰, 等. 微波消解/ICP-AES 法同时测定中药中 Cd、Hg、Pb 含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3): 433-436.
- [13] 邓卫萍, 解成喜, 钱秀英. 新疆阿魏中多种微量元素的 ICP-AES 分析[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(9): 1543-1546.
- [14] 王全林, 袁伟, 沈坚, 等. 干灰化法制样-ICP-AES 测定食品中铝含量[J]. 现代仪器与医疗, 2008(3): 71-72.
- [15] 夏道宗, 于新芬. 罐头食品中微量重金属的快速测定[J]. 现代食品科技, 2005, 21(2): 163-165.
- [16] 苏建峰, 张林田, 陈冠武, 等. 高压消解法同时测定奶粉中 11 种金属元素[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 792-794.
- [17] 张伟, 周长明, 任连杰, 等. 微波消解-ICP-MS 测定人血白蛋白中痕量元素[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(3): 553-557.

(收稿日期: 2020-01-21; 修回日期: 2020-06-24)