

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.14.017

火焰原子吸收光谱法同时测定养血软坚片中钙、锌、镁含量

李彦超, 李宜鲜

(河南省食品药品检验所·国家药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室, 河南 郑州 450018)

摘要:目的 建立同时测定养血软坚片中钙、锌、镁含量的火焰原子吸收光谱法。方法 采用微波消解法处理样品。主要光源为空心阴极灯和无极放电灯,钙、锌、镁的检测波长分别为422.7, 213.9, 285.2 nm,灯电流分别为5, 4, 4 mA,狭缝宽度分别为0.8, 0.8, 1.2 nm,均以氘灯做背景校正。考察水煎、复方水提和水提醇沉工艺对牡蛎中钙、锌、镁含量的影响。结果 钙、锌、镁质量浓度分别在5~40 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1~1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2~1.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸光度线性关系良好;精密性、准确性、重复性试验的RSD均小于2.1%,平均加样回收率分别为96.71%, 96.97%, 97.57%, RSD分别为1.64%, 1.66%, 2.18% ($n=9$)。复方水提液、水提醇沉液中钙和锌的含量明显高于单煎液,镁在3种溶液中的含量相当。结论 该方法操作简便、准确,稳定性、重复性好,可用于同时测定养血软坚片中钙、锌、镁的含量。

关键词:牡蛎;养血软坚片;钙;锌;镁;含量;同时测定;火焰原子吸收光谱法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)14-0063-03

Simultaneous Determination of Calcium, Zinc and Magnesium in Yangxue Ruanjian Tablets by Flame Atomic Absorption Spectrometry

LI Yanchao, LI Yixian

(Henan Institute for Food and Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine <Chinese Materia Medica and Prepared Slices>, Zhengzhou, Henan, China 450018)

Abstract: Objective To establish a flame atomic absorption spectrometry method for simultaneous determination of calcium, zinc and magnesium in Yangxue Ruanjian Tablets. **Methods** Microwave digestion was used to treat the samples. The main light sources were the hollow cathode lamp and the electrodeless discharge lamp. The detection wavelength of calcium, zinc and magnesium was 422.7, 213.9, 285.2 nm, respectively. The lamp current of calcium, zinc and magnesium was 5, 4, 4 mA, respectively. The slit width of calcium, zinc and magnesium was 0.8, 0.8, 1.2 nm, respectively with a deuterium lamp for background correction. The effects of water decoction, compound water extraction and water extraction alcohol precipitation on the contents of calcium, zinc and magnesium in *Ostrea gigas* were investigated. **Results** There linear ranges of calcium, zinc and magnesium were 5–40 $\mu\text{g/mL}$, 0.1–1.0 $\mu\text{g/mL}$, 0.2–1.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The RSDs of precision, accuracy and repeatability tests were less than 2.1%. The average recoveries of calcium, zinc and magnesium were 96.71%, 96.97%, 97.57% with RSDs of 1.64%, 1.66%, 2.18% ($n=9$), respectively. The contents of calcium and zinc in Yangxue Ruanjian Tablets extracted by water extraction and water-alcohol precipitation were significantly higher than those extracted by water extraction, while the content of magnesium in the three solutions had no significant difference. **Conclusion** The method is simple, accurate, stable and reproducible, which can be used for the simultaneous determination of calcium, zinc and magnesium in Yangxue Ruanjian Tablets.

Key words: *Ostrea gigas*; Yangxue Ruanjian Tablets; calcium; zinc; magnesium; content; simultaneous determination; flame atomic absorption spectrometry method

养血软坚胶囊是上海中医药大学附属曙光医院的医院制剂,具有养血活血、软坚通络功效,临床多用于治疗骨关节炎及骨关节疼痛等症^[1-3]。养血软坚方中牡蛎为牡蛎科动物长牡蛎 *Ostrea gigas* Thunberg 的贝壳,经去肉、洗净、干燥、碾碎而得,具有重镇安神、潜阳补阴、软坚散结功效,多用于惊悸失眠、眩晕耳鸣、瘰癧痰核、癥瘕痞块等证的治疗^[4],其主要成分为碳酸钙、无机盐、微量元素等^[5]。本研究采用火焰原子吸收光谱法同时测定养血软坚片中钙(Ca)、镁(Mg)和锌(Zn)的含量,为牡蛎在其复方中的提取纯化工艺的选择提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AAS-ZEEnit700型原子吸收分光光度计(德国Analytik Jena AG公司);XR205SM-DR型分析天平(瑞士Precisa公司);AS-1型Ca, Zn, Mg空心阴极灯(北京有色金属研究院);ETHOS A微波消解系统(意大利Milestone公司);ED16型智能样品处理器(北京莱伯泰科仪器有限公司);Milli-Q型超纯水处理系统(美国Millipore公司)。

1.2 试剂

钙标准溶液(批号为12053032), 锌标准溶液(批号

为 11010672),均购自国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院,质量浓度均为 1 000 mg/L;镁标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号为 13622-2,质量浓度为 1 000 mg/L);65% 硝酸(优级纯,美国 Merck 公司);35% 过氧化氢水溶液(优级纯,美国 Alfa Aesar 公司);氧化镧(优级纯,天津市光复精细化工研究所);盐酸(优级纯,北京化工厂分厂);水为超纯水。白芍、秦艽、甘草、牡蛎等药材均购自禹州金地中药饮片有限公司,经河南省食品药品检验所李振国主任药师鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 试验条件^[6-8]

采用火焰原子吸收光谱法测定 Ca、Zn、Mg 含量,主要光源为空心阴极灯和无极放电灯,输入波长、电流及狭缝宽度见表 1。

表 1 各元素原子吸收分光光度计工作条件

Tab. 1 Working conditions of atomic absorption spectrophotometer for each element

元素	波长(nm)	灯电流(mA)	狭缝宽度(nm)	背景校正
Ca	422.7	5	0.8	氘灯
Zn	213.9	4	0.8	氘灯
Mg	285.2	4	1.2	氘灯

2.2 样品及溶液制备

样品溶液:取白芍、秦艽、甘草、牡蛎等药材各适量,以 8 倍量水浸泡 30 min 后,煎煮 1 h,滤过;药渣加 6 倍量水煎煮 45 min,滤过;合并滤液,将滤液浓缩至相对密度为 1.10~1.15[(60±3)℃],放冷至室温,得 60 mL 药液(相当于牡蛎 0.333 3 g/mL)^[9-10];取 30 mL 药液作复方水煎液(样品 1);另取 30 mL 药液加乙醇至药液含醇量达 50%,静置 36 h,滤过,回收乙醇,浓缩至 30 mL,即得水提醇沉液(样品 2)。取牡蛎 30 g,同上述药液制备方法制备牡蛎单煎液(相当于牡蛎 0.333 3 g/mL),即得对照样品。

供试品溶液:精密量取上述样品溶液各 5 mL,置消解罐中,蒸至近干,加入 8 mL 硝酸,90℃ 预消解至无明显棕色气体溢出,取出,放冷;加 2 mL 过氧化氢,补硝酸至 10 mL。将消解罐置微波消解仪中,按微波消解程序(用 10 min 升温至 140℃ 后,再用 10 min 升温至 200℃、维持 10 min)消解,放冷,取出消解罐,加热以除去多余的氮氧化物;放冷,用去离子水转入 25 mL 容量瓶中并定容,摇匀,备用。取适量,稀释,分别作为 Mg 和 Zn 的供试品溶液;精密吸取备用液适量,用 20 g/L 氧化镧溶液(称取 23.45 g 氧化镧,先用少量水湿润,再加 75 mL 盐酸于 1 000 mL 容量瓶中溶解,加去离子水定容)稀释,即得 Ca 供试品溶液。

空白对照溶液:按样品制备方法制备空白样品,再按

供试品溶液制备方法制备缺相应物质的空白对照溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:分别精密量取 1.2 项下标准溶液,以 20 g/L 氧化镧溶液制成 Ca 质量浓度分别为 5,10,20,30,40 μg/mL 的系列标准溶液,以 2% 硝酸制成 Zn 质量浓度分别为 0.1,0.3,0.5,0.7,1.0 μg/mL, Mg 质量浓度分别为 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 μg/mL 的系列标准溶液。取上述溶液适量,按 2.1 项下试验条件进样检测,记录吸光度。以标准品质量浓度(X)为横坐标、吸光度(Y)为纵坐标进行线性回归,得 Ca、Zn、Mg 回归方程分别为 $Y_1 = 0.024\ 7X_1 + 0.029\ 5$ ($r = 0.999\ 8$)、 $Y_2 = 0.284\ 9X_2 + 0.011\ 0$ ($r = 0.999\ 3$)、 $Y_3 = 0.702\ 6X_3 + 0.030\ 8$ ($r = 0.999\ 1$)。结果表明,Ca、Zn、Mg 质量浓度分别在 5~40 μg/mL、0.1~1.0 μg/mL、0.2~1.0 μg/mL 范围内与吸光度线性关系良好。

检测限与定量限考察:取 2.2 项下空白对照溶液适量,按 2.1 项下试验条件重复进样测定 11 次,记录吸光度,并计算其标准偏差,以 3 倍、11 倍标准偏差对应的各待测元素质量浓度作为检测限及定量限^[11-14]。结果 Ca、Zn、Mg 的检测限分别为 0.8,0.3,0.4 mg/L,定量限分别为 2.6,1.0,1.3 mg/L。

精密度试验:取 20 mg/L 的 Ca、0.5 mg/L 的 Zn、0.6 mg/L 的 Mg 标准溶液各适量,按 2.1 项下试验条件连续进样测定 6 次,记录吸光度。结果 Ca、Zn、Mg 吸光度的 RSD 分别为 0.32%,1.35%,0.49% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 2.2 项下供试品溶液适量,分别于室温下放置 0,2,4,6,8,10,12 h 时按 2.1 项下试验条件进样测定,记录吸光度。结果 Ca、Zn、Mg 吸光度的 RSD 分别为 1.65%,1.81%,2.01% ($n = 7$),表明供试品溶液在室温放置 12 h 内基本稳定。

重复性试验:精密量取 2.2 项下单煎液适量,各 6 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下试验条件进样测定,记录吸光度。结果 Ca、Zn、Mg 吸光度的 RSD 分别为 0.93%,1.78%,1.13% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的对照样品适量,每份 2.5 mL,共 9 份,分别加入低、中、高质量浓度的标准溶液,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录吸光度,并计算回收率。结果见表 2。

2.4 样品含量测定

取 3 种样品各适量,分别按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下试验条件进样测定,平行测定 3 次,记录吸光度,并计算样品含量,结果见表 3。结果显示,复方水提液、水提醇沉液中 Ca 和 Zn 的含量明显高于

表2 加样回收试验结果($n=9$)
Tab. 2 Results of the recovery test($n=9$)

元素	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
Ca	2.773 9	2.20	4.875 1	95.51	96.71	1.64
	2.773 9	2.20	4.867 5	95.16		
	2.773 9	2.20	4.892 1	96.28		
	2.773 9	2.80	5.498 9	97.32		
	2.773 9	2.80	5.578 4	100.16		
	2.773 9	2.80	5.521 2	98.12		
	2.773 9	3.30	5.950 5	96.25		
	2.773 9	3.30	5.931 3	95.68		
	2.773 9	3.30	5.940 1	95.95		
Zn	2.766 4	2.20	4.883 5	96.23	96.97	1.66
	2.766 4	2.20	4.860 1	95.17		
	2.766 4	2.20	4.876 6	95.92		
	2.766 4	2.80	5.498 1	97.56		
	2.766 4	2.80	5.577 4	100.39		
	2.766 4	2.80	5.514 2	98.14		
	2.766 4	3.30	5.920 5	95.58		
	2.766 4	3.30	5.949 4	96.45		
	2.766 4	3.30	5.976 5	97.28		
Mg	0.415 8	0.330	0.730 3	95.30	97.57	2.18
	0.415 8	0.330	0.741 8	98.79		
	0.415 8	0.330	0.732 9	96.09		
	0.415 8	0.420	0.829 7	98.55		
	0.415 8	0.420	0.842 3	101.55		
	0.415 8	0.420	0.832 8	99.29		
	0.415 8	0.500	0.901 2	97.08		
	0.415 8	0.500	0.891 9	95.22		
	0.415 8	0.500	0.896 5	96.14		

表3 样品含量测定结果(mg/L, $n=2$)

Tab. 3 Content determination of calcium, zinc and magnesium in the samples(mg/L, $n=2$)

样品	Ca	Zn	Mg
样品1	423 8	4.27	491
样品2	397 2	4.38	474
对照样品	332 9	3.32	499

单煎液, Mg在3种溶液中的含量差异不大。

3 讨论

中药常规提取纯化方法主要有水提醇沉法、乙醇回流法、提取后柱纯化法等, 养血软坚片优选工艺为水提醇沉法; 方中牡蛎采用水提取后醇沉, 牡蛎主要成分为碳酸钙、无机盐、微量元素等, 复方水提醇沉法似有不妥。经验证, 复方水煎液、水提醇沉液中Ca和Zn的含量明显高于单煎液, 由于牡蛎中Ca在单煎液中溶解度小, 而在复方水煎液及水提醇沉液中存在如皂苷、树胶、蛋白质等能降低表面活性物质的混合物, 上述混合物浓度较高

时, 就会在溶液中聚合成“胶团”, 原来在水中不溶解或部分溶解的物质分子可钻进胶团的内部, 分布在胶团的中心或夹缝中, 显著升高溶解度^[15]。另一方面, 中药煎剂属胶体溶液, 由许多难溶物质以分子形式组成微粒混悬于介质中成为溶胶或粗分散体系, 也是使物质在溶液中含量的一个重要因素^[15]。目前, 对于含矿物质及贝壳类药材的中药复方制剂, 仍选用合煎为主。

供试品均为水溶液, 尝试用2%硝酸稀释(Ca供试品溶液用2 g/L氧化铜溶液稀释)后经微孔滤膜滤过进样, 但重复性差, 谱图有肩峰或峰分裂, 原因为样品未消解, 有机或无机杂质干扰所致, 因此样品仍需消解后再检测。

综上所述, 该方法操作简便、准确, 稳定性、重复性好, 可用于同时测定养血软坚片中Ca, Zn, Mg的含量。

参考文献

- [1] 庞坚, 陈元川, 陈博, 等. 养血软坚胶囊治疗膝关节炎的随机、双盲、安慰剂对照临床研究[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(11): 48-52.
- [2] 李峰. 养血软坚胶囊治疗膝关节炎疗效及安全性评价[J]. 临床研究, 2018, 26(8): 125-127.
- [3] 邓华萍, 陆泳, 张琥. 功能锻炼联合养血软坚胶囊治疗早中期膝关节炎的疗效观察[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(26): 97-98.
- [4] 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: 184.
- [5] 赵玉英, 魏风华, 王颖莉. 牡蛎壳与煅制牡蛎壳化学成分的比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(12): 110-114.
- [6] GB 5009. 92-2016, 食品安全国家标准: 食品中钙的测定[S].
- [7] GB 5009. 14-2017, 食品安全国家标准: 食品中锌的测定[S].
- [8] GB 5009. 241-2017, 食品安全国家标准: 食品中镁的测定[S].
- [9] 宋汉敏, 李彦超, 李宜鲜, 等. 养血软坚片的提取纯化工艺研究[J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(6): 104-106.
- [10] 宋汉敏, 李彦超, 李宜鲜, 等. 养血软坚片的制备工艺研究[J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(5): 481-483.
- [11] 张玉昆, 郭珊珊, 牛雯颖, 等. 固本安神胶囊中5种重金属和有害元素残留量测定及健康风险评估[J]. 中国药业, 2020, 29(17): 9-12.
- [12] 卢小兰, 王健, 黄富宏. 原子吸收分光光度法测定镇痛片中钙含量[J]. 中国药业, 2019, 28(24): 38-40.
- [13] 袁玲玲, 钱如贵, 陈龙芳, 等. 几种常见钙剂中镁的含量测定[J]. 中国药品标准, 2020, 21(2): 135-139.
- [14] 刘晓芳, 萨力塔娜提, 徐鸿, 等. 火焰原子吸收光谱法测定大青盐中微量钾、钙和镁的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(15): 1389-1391.
- [15] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 17-18.

(收稿日期: 2020-06-28; 修回日期: 2020-12-16)