

ICP-MS用于新疆紫草的无机元素初级形态分析及其溶出特性研究

施玉峰¹, 谢明勇^{1*}, 聂少平¹, 荆 森², 王小如^{2,3}

1. 南昌大学食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047

2. 国家海洋局青岛第一海洋研究所, 山东 青岛 266061

3. 厦门大学现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005

摘 要 应用电感耦合等离子体质谱技术(ICP-MS), 分析了新疆紫草中20多种无机元素的初级形态; 并研究了不同提取溶剂对其溶出特性的影响。结果显示: 在消解方法上, 高温密封消解较之微波辅助消解(MAP)能更彻底地消解样品, 达到分析要求; 在溶液中, 除了K、Zn以溶解态为主要存在形式外, 其余绝大部分元素主要以悬浮态存在; 不同提取溶剂的极性与所分析的无机元素密切相关。Mg、K、Ca、Mn、Ti、Co和Pb等7种元素的提取得率与其提取溶剂极性呈完全的正比例关系, 其余元素尽管略有差异, 但基本上呈线性关系。

关键词 新疆紫草; 元素初级形态分析; ICP-MS; 溶出特性

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)02-0378-05

引 言

无机元素形态^[1]是指测定样品中元素的不同键合形式、不同氧化态和该元素的总量。不同的元素形态具有不同的化学和生物行为, 元素毒性也与其形态密切相关^[2]。中草药的无机元素形态分析是指: 按一定程序对原生药或其制剂的水提液进行分离测定, 确定其化学生物形态, 从而揭示其在水提液(药液)中或人体内独特的药理作用机制^[3]。

新疆紫草(*Arnebia euthroma* (Royle) Johnston)是一种传统的中草药, 具有抑菌^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]以及抗生育^[6]等作用。长期以来, 对其有机成分研究较多, 很少对其无机元素加以深入的探究。

在元素形态分析中, 无机元素的离线测定方法有石墨炉原子吸收光谱法(GFAAS)^[7]、火焰原子吸收光谱法(FAAS)^[8]、电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)^[9]、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)^[10,11]。相对于前3种测定方法, 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)是当今多元素测定领域最为先进和准确的分析测试手段, 具有突出的性能和优势^[12]: 极低的检出限, 可以低至 $0.1 \text{ fg} \cdot \text{g}^{-1}$; 高灵敏度, 高于 $1.2 \text{ Gcps} \cdot (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$; 宽线性, 宽至9个数量级, 分析范围可以从 $1 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$ 到 $1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 而不影响其

线性。

本文根据元素形态分析的层次模式^[13], 采用电感耦合等离子体质谱法, 参考相关文献^[14,15]的研究方法, 初步揭示了新疆紫草中20多种无机元素的溶解态和悬浮态, 并探讨了不同提取方法对元素形态分析的影响。

1 材料及方法

1.1 主要试剂及仪器

新疆紫草: 购自江西省中医院药品仓库; 超纯水($\geq 18.2 \text{ M}\Omega$): 美国 Barnstead Nanopure DiamondTM 公司; HNO_3 (优级纯): 德国 Merk 公司; 三氯甲烷, 无水乙醇: 均为分析纯; CO_2 (纯度 $\geq 99.5\%$): 江西氨厂; 桃叶标准(BW08501): 中国生物环境研究所(北京); ICP-MS标准溶液 Hewlett Packard Part# 5183-4682: 美国 Agilent 公司; ICP-MS内标溶液 Agilent Part# 5183-4680: 美国 Agilent 公司。

旋转蒸发仪 R201: 上海申生科技有限公司; 循环水式真空泵 SHZ-D: 河南巩义市英峪豫华仪器厂; 电热鼓风干燥箱 DGF-30: 南京实验仪器厂; 压力自控密闭微波消解系统 MDS-2002A: 上海新仪微波化学科学有限公司; FA1104 电子天平: 上海精天电子仪器厂; 临界萃取装置 HA121-50-01:

收稿日期: 2005-12-09, 修订日期: 2006-03-28

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(20235020)和江西省农业科技攻关重点项目资助

作者简介: 施玉峰, 1976年生, 南昌大学硕士 *通讯联系人 e-mail: myxie@ncu.edu.cn

江苏南通华安超临界萃取有限公司; 超声波清洗器: 上海声源科学仪器公司; Agilent 7500a Shield Torch ICP-MS: 美国 Agilent 公司; ChemStation ICP-MS 工作软件: 美国 Agilent 公司。

1.2 SFE-CO₂ 提取

取适量新疆紫草原料, 80 °C 干燥, 过 80 目筛, 于萃取温度 35 °C、萃取压力 27 MPa、萃取时间 3 h、CO₂ 流量 27 ~ 32 L · h⁻¹、无夹带剂、一级分离条件下, 作 SFE-CO₂ 提取, 提取物 80 °C 干燥, 称重。

1.3 回流-超声提取

取 3 份 80 °C 干燥, 过 80 目筛的新疆紫草原料各 1.500 0 g, 依次加入 100 mL 无水乙醇、超纯水、三氯甲烷, 分别在 100, 100, 70 °C 下回流提取 1 h 后, 再超声提取 30 min, 过 0.45 μm 微孔滤膜(依次为有机、水、有机系), 分别用相应的 3 种提取溶剂淋洗 3 次, 每次 5 mL, 合并滤液, 滤液在 70 °C, 0.095 MPa 真空度下减压浓缩, 连同滤渣, 在 80 °C 下干燥, 称重。

1.4 高温消解

事先将 Teflon 消解罐置于优级纯浓 HNO₃ 中浸泡过夜, 依次用去离子水, 超纯水冲洗数次, 干燥。新疆紫草原料、SFE-CO₂ 提取物、乙醇提取物、水提取物、三氯甲烷提取物及各自残渣各 0.100 0 g 置于处理完毕的 Teflon 消解罐中, 加入 5 mL 优级纯浓 HNO₃, 密封, 250 °C 下烘箱内消解 12 h, 直至消解液清亮, 冷却, 用 2% HNO₃ 定容至 50 mL, 待测定。每个样品重复做 3 次, 随样以 1 mL 蒸馏水做试样空白, 以扣除背景。

1.5 标准溶液的制备

将标号为 Hewlett Packard Part # 5183-4682 混标储备液(含 1 000 ppm Fe, K, Ca 和 Mg, 10 ppm Al, As 和 Ba 等)分别取 25, 50, 250, 500 和 1 000 μL, 另加标号为 Agilent Part # 5183-4680 内标溶液(含 10 ppm Li, Sc, Y, In 和 Bi)5 mL 混合, 用超纯水稀释至 50 mL, 制备成浓度如下表的标准溶液(见表 1)。

Table 1 Standard solutions for ICP-MS determination

Fe, K, Ca, Mg (μg · mL ⁻¹)		Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Li, Sc, Y, In, Bi Se, Ti, V, Zn, Th, U (μg · mL ⁻¹) (10 ⁻³ μg · mL ⁻¹)	
STD0	0	0	1
STD1	0.5	5	1
STD2	1	10	1
STD3	5	50	1
STD4	10	100	1
STD5	20	200	1

标准元素质量数: ²⁴Mg, ²⁷Al, ³⁹K, ⁴³Ca, ⁵¹V, ⁵³Cr, ⁵⁵Mn, ⁵⁷Fe, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁶³Cu, ⁶⁶Zn, ⁷⁵As, ⁸²Se, ¹¹¹Cd, ⁹⁵Mo, ¹²¹Sb, ¹³⁷Ba, ²⁰⁵Tl, ²⁰⁸Pb, ²³²Th 和 ²³⁸U。

内标元素质量数: ⁶Li, ⁴⁵Sc, ⁸⁹Y, ¹¹⁵In 和 ²⁰⁹Bi。

1.6 ICP-MS 测定

运行自动调谐程序, 用调谐溶液及内标溶液调谐至灵敏度、多原子分子干扰、氧化物干扰, 符合既定要求为止, 在下列 ICP-MS 工作参数下(见表 2), 样品做 ICP-MS 测定。

Table 2 Working parameters of agilent 7 500a ICP-MS

工作参数	值	工作参数	值
射频功率	1 400 W	射频匹配电压	1.6 V
采样深度	7.2 mm	炬管垂直距离	0.5 mm
炬管水平距离	-0.7 mm	载气流速	1.21 L · min ⁻¹
补偿气	0 L · min ⁻¹	辅助气	0 %
蠕动泵 1	0.1 rps	蠕动泵 2	-
喷雾室温度	1	提取透镜 1	-141.4 V
提取透镜 2	-60 V	Einzel 透镜 1,3	-100 V
Einzel 透镜 2	0 V	Omega 透镜偏压	-30 V
Omega 透镜(+)	7.5 V	Omega 透镜(-)	-5 V
四极杆聚焦电压	5 V	平面偏压	-2 V
AMU 增益	126	AMU 补偿	126
质量轴增益	1 000.2	质量轴补偿	-0.1
四极杆偏压	2 V	分辨电压	8 mV
模拟电压	1 820 V	脉冲电压	1 010 V

2 结果与讨论

2.1 最低检出限实验

各取 1 mL 蒸馏水 11 份, 按步骤 1.4 高温消解, 并在表 3 的 ICP-MS 工作参数下测定, 计算 Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Mo, Sb, Ba, Tl, Pb, Th 和 U 等 22 个元素的 σ(RSD %), 采用 3σ 作为元素最低检出限(DL), 结果见表 3。

Table 3 Determination limits of inorganic elements

Element	DL/(ng · mL ⁻¹)	Element	DL/(ng · mL ⁻¹)
Mg	0.624	Zn	0.111
Al	0.236	As	0.009 87
K	1.35	Se	0.071 7
Ca	6.54	Mo	0.016 8
V	0.013 9	Cd	0.002 60
Cr	0.055 6	Sb	0.005 12
Mn	0.027 5	Ba	0.016 8
Fe	5.10	Tl	0.046 9
Co	0.005 93	Pb	0.009 26
Ni	0.063 4	Th	0.003 41
Cu	0.047 5	U	0.003 18

2.2 校正曲线-内标法

制备好的标准溶液在表 3 的 ICP-MS 工作参数下依次测定, 以浓度为横坐标, 测定元素与内标元素信号强度比为纵坐标, 作一元线性回归曲线, 并计算其回归方程, 结果发现: 所有元素的校正曲线的变异系数 r^2 均大于 0.999。

2.3 准确度及精密度实验

将桃叶标准(GBW 08501)称取 0.100 0 g, 各 3 份, 按步

骤 1.4, 1.6 测定, 数据采集频率为 3, 随样以蒸馏水为试样空白, 扣除背景。计算出各元素的测定值, 与参考值相比较, 求出其 RSD %和回收率。结果表明, 各元素在测定次数为 3 的情况下, 其 RSD %均在 5 %以内, 回收率在 94.4 % ~ 102.9 %内变化, 说明该测定方法准确可靠, 见表 4。

Table 4 Results of accuracy and precision experiments(n = 3)

Element	MV/ (ng · g ⁻¹)	RV/ (ng · g ⁻¹)	RSD/ %	r/ %
As	0.35	0.34 ±0.03	2.86	102.9
Cd	0.017	0.018 ±0.004	3.11	94.4
Cu	10.2	10.4 ±0.8	1.96	97.1
Hg		0.046 ±0.006		
Mg *	0.48	0.47 ±0.02	4.17	102.1
Pb	0.98	0.99 ±0.04	3.06	99.0
Zn	22.6	22.8 ±1.3	3.54	99.1
Co	0.24	(0.25)	4.17	96.0
Ba	18.2	18.4 ±0.9	3.85	98.9
Cr	0.94	0.94 ±0.07	4.26	100.0
Fe	425	431 ±15	2.35	98.6
K *	2.20	2.17 ±0.08	1.82	101.4
Mn	74.8	75.4 ±2.7	1.60	99.2
Sr		61.6 ±3.9		
B		(45.8)		
Se	0.04	(0.04)	0.81	100.0

MV —测定值; RV —参考值; r —回收率; 标 * 的元素计量单位为 μg · g⁻¹

Table 5 Result of preliminary speciation analysis

元素	元素初级形态/ %		总量/ (μg · g ⁻¹)
	溶解态	悬浮态	
Mg	13.68	86.72	2.988
Al	3.890	96.61	3.168
K	48.02	51.90	2.215
Ca	13.61	86.39	33.180
V	3.667	96.53	8.195
Cr	1.327	98.60	33.24
Mn	6.3846	93.69	73.23
Fe	3.846	96.19	1.539
Co	2.696	97.34	2.194
Ni	5.739	94.36	19.63
Cu	12.17	87.93	12.07
Zn	60.84	39.16	10.68
As	20.12	79.79	1.828
Se	9.780	90.52	0.6975
Mo	6.718	93.16	1.783
Cd	8.821	91.11	0.3181
Sb	0.9781	99.32	0.4325
Ba	7.567	92.35	134.7
Tl	9.244	90.51	0.1865
Pb	23.49	76.91	0.6744
Th	4.052	95.84	1.033
U	6.060	94.07	1.936

2.4 新疆紫草无机元素初级形态分析

将水提取物及其残渣按步骤 1.4, 1.6 作 ICP-MS 测定,

计算结果, 以水提取物中无机元素含量作为溶解态指标, 其残渣中无机元素含量作悬浮态指标, 考察各元素异同, 试样平行做 3 次, 计算结果取其平均值, 结果如表 5 所示。

表 5 显示, 被分析的 22 种无机元素中, Ca, Al, Mg 和 K 总量特别高, 均超过了 2 000 μg · g⁻¹, 并且 K 溶解态与悬浮态百分比基本相当, 这可能与 K 主要以可溶解的硝酸盐, 硫酸盐存在于植物中有关; Ca 含量很高, 但其溶解态百分比不高, 这因为 Ca 主要以硫酸盐、磷酸盐的形式存在, 而钙的硫酸盐在水中难溶, 其磷酸盐不溶于水^[16]; Ba, Mn, Cr, Ni, Zn 和 V 在新疆紫草中所占的质量比重在 8.195 ~ 134.7 μg · g⁻¹变化, 除 Zn 以高达 60.84 %悬浮态百分比存在外, 其余 5 种元素的悬浮态含量均未过 15 %; 重金属元素 Pb, As, Cd 和 Tl, 悬浮态百分比分别为 23.49, 20.12, 8.821, 9.244 %, 据文献^[2]报道, 以上四类元素发生人体中毒主要是以离子态形式起作用, 如果结合其他有机大分子化合物, 其毒性会降低, 甚至于完全没有毒性, 由以上可看出, Pb, As 悬浮态含量还是比较高的, 但铅和砷总量并不高, 分别为 0.6744 和 1.828 μg · g⁻¹。除以上分析的 14 种元素以外, 其余 8 种元素存在形态主要以悬浮态(约 90 %)为主。

2.5 不同提取方法对新疆紫草无机元素溶出特性的影响

分别对 SFE-CO₂ 提取物、乙醇提取物、水提取物、三氯甲烷提取物按步骤 1.4, 1.6 测定, 随样做蒸馏水的试样空白, 每个样品做 3 份, 计算结果取其平均值, 数据采集频率为 3, 结果见表 6。

Table 6 Transference characteristics of inorganic

elements in arnebia euthroma (Royle) johnst

元素	SFE-CO ₂ / %	氯仿提取/ %	乙醇提取/ %	水提取/ %
Mg	-	0.7641	1.944	13.68
Al	0.009865	0.5930	0.4319	3.890
K	0.0008000	0.5452	8.697	48.02
Ca	0.02197	0.4129	0.5694	13.61
V	1.462	1.100	0.8396	3.667
Cr	0.1752	1.150	0.8128	1.327
Mn	0.01133	1.866	1.975	6.384
Fe	0.02521	0.9047	0.5792	3.846
Co	-	0.6897	0.7391	2.696
Ni	-	1.877	1.122	5.739
Cu	-	15.20	5.152	12.17
Zn	24.83	33.56	29.92	60.81
As	0.8247	3.737	3.509	20.12
Se	1.875	7.532	6.962	9.780
Mo	1.892	7.076	7.376	6.718
Cd	0.9164	15.50	18.32	8.821
Sb	0.5014	1.540	1.214	0.9781
Ba	0.03490	0.5265	0.3011	7.567
Tl	2.089	7.560	7.615	9.244
Pb	0.6744	8.889	9.621	23.49
Th	1.033	3.933	3.803	4.052
U	1.936	7.312	7.137	6.060

(%) : 百分含量指元素的溶剂提取量占新疆紫草原料的比重;

“-”表示该元素含量低于检测限。

由上表可知, 伴随着提取溶剂极性的增大(从弱极性或

无极性 SFE-CO_2 流体到强极性的水), 研究发现: 无机元素含量与提取溶剂的得率基本上呈现正比例关系(氯仿和乙醇差异不大), 特别表现在 Mg, K, Ca, Mn, Tl, Co 和 Pb 等 7 种元素上, 呈现完全的正比例关系。从某种程度上来说, 该结果提示无机元素的无机形态在总形态中的比例与提取溶剂的极性呈线性关系。

从表中还可以看出, 尽管 Pb 和 As 有毒元素在新疆紫草中的总量甚微, 但其在极性溶剂(乙醇及水), 特别是水提取物中相对含量却很高, 这从侧面提示水可能不适宜作为药品制剂或食品物料的提取溶剂。

此外, SFE-CO_2 流体提取的无机元素含量很低(除 Zn 占 24.83% 外, V, As, Se, Mo, Cd, Tl, Pb, Th 和 U 约为 1%~2%, 其余元素均低于 1%, 甚至几乎没有), 如果作为一种溶剂手段用于元素的形态分析, 并不适宜, 除非在提取过程中加入夹带剂, 或许有所改善。

3 结 论

(1) 不同的微波消解程序, 对样品都不能消解完全, 消

解液底部存有白色絮状沉淀(可能是硅酸盐), 而采用高温密封消解, 尽管处理时间较长, 但能消解样品至清亮透明, 不含沉淀, 说明其可以消解彻底。因此紫草的元素分析不宜采用微波消解。

(2) 在 ICP-MS 测定中, ^{75}As 和 ^{82}Se 的多原子分子干扰分别来源于 $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$, $^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}_2$ 和 $^{34}\text{S}^{16}\text{O}_3$, 致使结果偏高, 本实验采用 Agilent Chem Station 软件自带的干扰校正方程测定, 效果良好。

(3) 在所考察的 22 种无机元素中, K 和 Zn 以溶解态为其主要存在形式, 其余 18 种元素以悬浮态为主要存在形式, 其原因可能与其结合无机盐, 或与有机分子所形成的配合物不易溶于水直接相关。

(4) 在新疆紫草的元素形态分析中, 提取溶剂的极性与所分析的无机元素息息相关, 其溶出特性研究显示: Mg, K, Ca, Mn, Tl, Co 和 Pb 等 7 种元素的提取得率与其提取溶剂呈完全的正比例关系, 其余元素尽管略有差异, 但基本上呈线性关系。

参 考 文 献

- [1] SUN Han-wen, LI Ai-hong, SUN Jian-min(孙汉文, 李爱红, 孙建民). Journal of Hebei University(河北大学学报). 2002, 22(4): 400.
- [2] JIA Li, CHEN Xi, WANG Xiao-ru, et al(贾 丽, 陈 曦, 王小如, 等). Chinese Journal of Chromatography(色谱). 1998, 16(5): 402.
- [3] YANG Rong(杨 荣). China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy(中国医药学报). 1992, 7(3): 34.
- [4] WANG Wen-jie(王文杰). Acta Pharmaceutica Sinica(药学报), 1994, 29(3): 161.
- [5] JIN Rui(金 锐). Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine(中国中西医结合杂志), 1995, 15(2): 101.
- [6] MA Bao-hua(马保华). Acta Academiae Medicinae Shandong(山东医科大学学报), 1993, 31(1): 34.
- [7] LIANG Shu-xuan, SUN Han-wen(梁淑轩, 孙汉文). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(5): 847.
- [8] PENG Mi-jun, ZHOU Qing-ping(彭密军, 周清平). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(1): 89.
- [9] FU Zhi-hong, XIE Ming-yong, ZHANG Zhi-ming, et al(付志红, 谢明勇, 章志明, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(6): 737.
- [10] WANG Xiao-yi, Zhu W, Witkamp G T, et al(王小逸, Zhu W, Witkamp G T, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(6): 1167.
- [11] CHEN Jun-hui, XIE Ming-yong, FU Bo-qiang, et al(陈军辉, 谢明勇, 傅博强, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1326.
- [12] Jarvis K E, Gray A L, Houk R S. Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Beijing: Press of Atomic Energy(北京: 原子能出版社), 1997. 10.
- [13] ZHOU Tian-ze(周天泽). Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 1990, 21(10): 37.
- [14] FAN Xiang-xi, CHEN Yin, WANG Shu-ying, et al(樊祥熹, 陈 颖, 王淑英, 等). Analytical Laboratory(分析试验室), 1993, 12(4): 52.
- [15] LI Lei, XIE Ming-yong, SUN Zhen-hua, et al(李 磊, 谢明勇, 孙振华, 等). Chemical Research in Chinese Universities(高等学校化学学报), 2000, 21(5): 707.
- [16] XIE Ming-yong, WEN Hui-liang, Von Bohlen, et al(谢明勇, 温辉梁, Von Bohlen, 等). Journal of Tea Science(茶叶科学), 2000, 20(1): 51.

Study on Elemental Speciation Analysis and Transference Characteristics of *Arnebia Euthroma* (Royle) Johnston by ICP-MS

SHI Yu-feng¹, XIE Ming-yong^{1*}, NIE Shao-ping¹, JING Miao², WANG Xiao-ru^{2,3}

1. Key Lab of Food Science of MOE, Nanchang University, Nanchang 330047, China

2. First Institute of Oceanography, S. O. A, Qingdao 266061, China

3. Key Lab of Analytical Science of MOE, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract The elemental transference characteristics and primary speciation analysis of *Arnebia euthroma* (Royle) Johnston were investigated in the present paper. The results showed: sealed digestion at high temperature was more efficient and thorough than microwave-assisted process (MAP) digestion in the preparation of speciation analysis; Most of the elements analyzed, excluding potassium and zinc, exist in particulate speciation in the plant; The transference characteristics of elements were associated with the polarity of extraction solvents. Contents of all 22 elements basically were directly proportional to the polarity of solvents varying from almost no polarity to strong, especially for 7 elements: magnesium, potassium, calcium, manganese, cobalt, thallium and lead.

Keywords *Arnebia euthroma* (Royle) Johnston; Primary elemental speciation analysis; ICP-MS; Transference characteristics

(Received Dec. 19, 2005; accepted Mar. 28, 2006)

* Corresponding author