DOI:10.19789/j.1004-9398.2016.05.009

微波消解ICP-MS法测定藏药德君芒觉却毛中的无机元素*

热增才旦[1**] 张 兰[2] 利毛才让[3] 童 丽[1] 李文渊[1] 杨 芳[1] 王英锋[2]

(1. 青海大学医学院中藏药研究中心,青海 西宁 810001; 2. 首都师范大学化学系,北京 100048;
3. 青海师范大学民族师范学院化学系,青海 西宁 810008)

摘 要

目的:建立藏药德君芒觉却毛中无机元素含量的测定方法. 方法:样品经微波消解后,以铑、铼为内标,用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定样品中Na、Mg、Al、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Ag、Cd、Au、Hg、Pb等20种元素的含量. 结果:该方法对各元素的检出限0.0033~2.418 $\mu g \cdot g^{-1}$,加标回收率在87.27%~106.5%之间. 结论:所建立的方法快速、准确、灵敏度高,可以用于测定德君芒觉却毛中无机元素的含量.

关键词:微波消解,电感耦合等离子体质谱,德君芒觉却毛,无机元素.
中图分类号:R917

藏药德君芒觉却毛系传统藏成药,是由佐太、铁灰、珊瑚、牛黄、西红花、麝香、青金石、熊胆等多味药组成,气清香,味苦、辛、涩. 具有清热解毒,化浊和胃之功效. 在藏医临床上用于治疗浊毒中阻所致的恶心呕吐,泄泻腹痛,消化性溃疡,食物中毒[1]. 微量元素与藏药药性及药效的关系是近年来藏药研究的热点,微量元素分析对阐明藏药的药效具有重要意义[2]. 为阐明藏药德君芒觉却毛清热解毒的药效物质基础,探讨微量元素与其功效的相关性,本文建立了微波消解ICP-MS法测定德君芒觉却毛中Na、Mg、Al、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Ag、Cd、Au、Hg、Pb等多种微量元素含量的方法,为进一步研究其中有害元素的形态研究奠定了基础;分析了德君芒觉却毛等在藏医临床上具有很好药效的珍宝类藏成药中都含有较多的Hg、Cu、Zn、Mn、As和Pb的原因,提出进一步研究Hg、Pb等元素存在形态及体内作用机制的必要性.

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

标准贮备液:10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ ECS环境混合标准溶液(Environmental Calibration Standard, Agilent)(5% HNO_3介质);内标溶液:由1000 $\mu g \cdot mL^{-1}$铑标准储备液(10% HNO_3介质)(钢铁研究总院),逐级稀释为1 $\mu g \cdot mL^{-1}$;调谐溶液:10ng$\cdot mL^{-1}$ 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(18.2MΩ·cm):由Milli-Q超纯水系统制得,用于配置所有标准溶液与样品溶液.

离心机:BECKMAN COULTER Allegra™ 64R Centrifuge;藏药德君芒觉却毛(胶囊剂)由青海久美藏药药业有限公司提供.

CEM MARSS微波消解仪(CEM,USA):包括微波炉、聚四氟乙烯-四氟(PTFE-TFE)中压消解罐及固定装置;Agilent7500c电感耦合等离子体质谱仪. 雾化器:巴比顿雾化器;雾化室:石英双通道,Piltier半导体控温于(2±0.1)℃;矩管:石英一体化,2.5 mm中心通道;样品锥:Pt材质.

1.2 样品制备

将藏药德君芒觉却毛胶囊中的粉末,混合均匀. 准确称取0.0500 g样品于置于酸煮洗净的聚四氟乙烯-四氟乙烯(PTFE-TFE)中压消解罐中,加入5mL浓硝酸和1 mL H_2O_2,按优化的消解程序加热消解. 消解程序结束后,冷却至常温,打开密闭消解罐,将样品消解液转移至干净50 mL PET塑料瓶中,

收稿日期:2015-11-12
* 青海省自然科学基金项目(2013-Z-938Q)、中国科学院"西部之光"项目、青海大学医学院中青年科研项目(2015-KY-5)
**通讯作者. E-mail: rezengcd@163.com

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

以少量超纯水洗涤消解罐与盖子 3 ~4 次,洗液合并至 PET 瓶中,定重至 50.00 mL,混匀. 测定前根据不同元素的含量再稀释适当的倍数. 空白按相同方法处理,进 ICP-MS 分析.

1.3　工作曲线及仪器条件

用 5% 硝酸介质将混合标准溶液逐级稀释为 0、0.5、2、10、50 ng·mL^{-1},得到混合标准溶液系列. 汞的标准溶液系列由汞的标准储备液 1 000 μg·mL^{-1} 用 5% 硝酸介质逐级稀释为 0、0.5、2、10、50 ng·mL^{-1}. 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,相关系数 $r \geqslant 0.999\ 9$.

微波消解程序: 最佳消解步骤见表 1.

表 1　微波消解程序

步骤	功率		温度爬升时间/min	控温/℃	保持时间/min
	最大功率/W	利用率/%			
1	1 200	100	5	120	5
2	1 200	100	6	170	30

ICP-MS 仪器的工作参数为仪器全自动调谐优化给出,满足仪器安装标准要求的灵敏度、背景、氧化物、双电荷、稳定性等各项指标. 经调谐后的仪器参数设置如表 2 所示.

表 2　ICP-MS 的参数及仪器操作条件

参数	工作条件
功率/W	1 350
冷却气流量/L·min^{-1}	15.0
辅助气流量/L·min^{-1}	1.0
载气流量/L·min^{-1}	1.10
补偿气流量/L·min^{-1}	0.25
样品提升速率/mL·min^{-1}	0.1
采样深度/mm	8.0
采样锥孔径/mm	1.0
截取锥孔径/mm	0.4
分析模式	全定量分析
积分时间	0.3s/同位素
氧化物	<0.5%
双电荷	<2%
内标元素	^{103}Rh,^{185}Re

2　结果与讨论

2.1　方法的检出限和精密度

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及 3 次平行测定一定浓度各元素标准溶液的结果得到该方法对样品中各元素的检出限. 对同一样品,处理 6 份平行样,测定此 6 份样的含量值计算得到方法的精密度. 结果见表 3.

表 3　方法检出限和精密度

元素	检出限(ng/g)	RSD(%)	元素	检出限(ng/g)	RSD(%)
^{23}Na	0.178 6	0.90	^{63}Cu	0.112 5	1.23
^{24}Mg	0.210 3	0.58	^{66}Zn	0.245 8	1.53
^{27}Al	2.201 2	1.41	^{75}As	0.699 7	2.01
^{39}K	0.437 8	0.40	^{82}Se	0.510 2	4.12
^{43}Ca	0.620 3	0.89	^{95}Mo	0.065 9	1.54
^{51}V	0.043 6	1.31	^{107}Ag	0.351 8	1.34
^{53}Cr	2.418 0	1.42	^{111}Cd	0.044 5	1.21
^{55}Mn	0.172 4	0.90	^{197}Au	0.003 3	1.34
^{57}Fe	0.201 8	0.47	^{202}Hg	0.614 5	1.16
^{60}Ni	0.323 6	1.62	^{208}Pb	0.192 15	2.41

2.2　准确度试验

以同一样品为基体,分别加入适当浓度的混合标准溶液,按操作步骤“1.2”测定其中各元素的加标回收率,每个样品做 3 份,随样做空白. 结果表明: 各元素在测定次数为 3 的情况下,所有元素的回收率在 87.27% ~106.5% 内变化,说明该方法准确可靠,结果见表 4.

表 4　回收率结果(n=5)

元素	回收率/%	元素	回收率/%
^{23}Na	104.8	^{63}Cu	103.7
^{24}Mg	103.6	^{66}Zn	92.13
^{27}Al	105.8	^{75}As	93.72
^{39}K	103.1	^{82}Se	91.23
^{43}Ca	98.88	^{95}Mo	92.68
^{51}V	102.1	^{107}Ag	94.58
^{53}Cr	103.7	^{111}Cd	93.96
^{55}Mn	100.6	^{197}Au	91.23
^{57}Fe	98.33	^{202}Hg	87.27
^{60}Ni	103.6	^{208}Pb	106.5

2.3　藏药德君芒觉却毛中无机元素测定

取藏药德君芒觉却毛样品按“1.2 样品制备”项下操作,样品溶液注入 ICP-MS,测定各样品中 20 种元素的含量. 结果见表 5.

表 5　藏药德君芒觉却毛中无机元素总量的测定结果(n=3)

μg·g^{-1}

元素	德君芒觉却毛中的元素含量	元素	德君芒觉却毛中的元素含量
Na	3 290	Cu	597.0
Mg	4 270	Zn	102.7
Al	2 810	As	31.40
K	12 400	Se	23.76
Ca	30 300	Mo	1.49
V	6.92	Ag	18.8
Cr	13.20	Cd	未检出
Mn	148.6	Au	3.10
Fe	2 820	Hg	8 090
Ni	9.29	Pb	71.35

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

4 结 论

(1) 常量元素的分布模式与植物及果实类藏药材中的分布基本相一致.

样品测定结果表明藏药德君芒觉却毛中 4 种常量元素的含量分布为: Ca > K > Mg > Na 依次减少,这种分布与常用清热解毒类 5 种植物及果实类藏药材所含常量元素 Ca、K、Mg、Na 的基本一致[3]. 很多文献报道的中藏药药材的常量元素含量基本也是这种分布趋势[4-5].

(2) 人体必需的 10 种微量元素的分布模式

人体必需的 10 种微量元素 Fe、Cu、Mn、Zn、As 的含量高于 Cr、Ni、V、Se、Co 的含量,这与清热解毒类 5 种植物及果实类藏药材中这些微量元素的分布相一致. 且 Fe、Cu、Mn、Zn 四种金属的含量大于 100 $\mu g \cdot g^{-1}$,均是组成超氧化物歧化酶的金属离子,有这四种金属离子组成的 Fe-SOD、Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 在人体内可专一清除各自由基,从而抑制心脑血管疾病,可提高人体的免疫力、抗衰老,可治疗各类自身免疫性疾病[6]. 但在德君芒觉却毛中的 Cu 与 Zn 的含量之比约为 6∶1,这与清热解毒类 5 种植物类藏药材中 Zn 含量比 Cu 含量高 2 ~ 3 倍不同. 这有待进一步研究.

(3) 德君芒觉却毛中 Hg、Al、Pb、Ag、As 和 Au 的含量都比藏药中常用清热解毒类 5 中藏药材中的高很多,且 Hg 的含量 8 090 $\mu g \cdot g^{-1}$ > 宏量元素 Mg (4 270 $\mu g \cdot g^{-1}$) > 宏量元素 Na(3 290 $\mu g \cdot g^{-1}$). 分析文献可知[7-8],“德君芒觉却毛”、“七十味珍珠丸”、“仁青常觉”、“仁青芒觉”和“坐珠达西”等珍宝类藏药都是以遵循藏医炮制要求制得的佐太为君药配制而成的,且从金属含量角度分析可知,这些珍宝类藏成药都含较高量的 Hg、Cu、Zn、Mn、As 和 Pb. 人们普遍认为汞、铅和砷的毒性很高,可是这些珍宝类藏成药在临床上的应用长达一千多年且疗效很好. 从元素存在形态角度去分析可知这并不矛盾,因为德君芒觉却毛等珍宝类藏成药中 Hg 总量多是因佐太是这些珍宝类藏成药的君药,汞又是炮制佐太的主要原料;但此汞为炮制后的汞,而非单质汞. 不同形态 Hg、As 和 Pb 有不同的药理或毒理效果[9]. 如当汞以无机汞形式存在时,它会与具还原性的 S 组成无毒性且人体不容易吸收的化合物或复合物如形成硫化物、多硫化物或硫醇化物[10].

本文不仅建立了微波消解 ICP-MS 法测定德君芒觉却毛中 Hg、Pb、As 等 20 种金属总量测定的方法,而且对比分析了德君芒觉却毛中常量、微量和其他元素的分布情况,也分析了珍宝类藏成药的共性. 这样既为进一步研究这些元素存在形态及作用机制奠定了基础,又提出进一步研究珍宝类藏成药中 Hg、Pb 等元素存在形态及其体内作用机制的必要性.

参 考 文 献

[1] 玉多·云登贡布. 四部医典[M]. 西藏人民出版社出版, 2000: 602 - 603.

[2] 热增才旦, 刘斌, 王英锋, 等. 微波消解 ICP-MS 法测定藏药四味藏木香散中微量元素[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1852 - 1854.

[3] 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, 2009, 20(3): 551.

[4] 祁俊生, 徐辉碧, 周井炎, 等. 解表植物类中药中微量元素与功效关系[J]. 计算机与应用化学, 2003, 20(4): 449 - 452.

[5] 赵军, 金日光, 罗璐. 8 味抗艾滋病中药的性味与微量元素的相关性[J]. 北京化工大学学报, 2007, 34(5): 467 - 470.

[6] Yuko T, Akiko F, Naoyuki T, et al. Increased expression of manganese superoxide dismutase is associated with that of nitrotyrosine in myopathies with rimmed vacuoles[J]. Acta Neuropathol, 2002, 103: 59 - 65.

[7] 旦增, 盛德策, 白玛卓嘎. 典型名贵藏药重金属含量分析及评价[J]. 中国医药科学, 2013, 18(3): 42 - 44.

[8] 旦增, 许晔, 胡忻, 等. 名贵藏药“坐珠达西”重金属含量分析及其毒性评价[J]. 西藏大学学报(自然科学版), 2013, 28(1): 32 - 36.

[9] Kampalath R A, Lin C C, Jay J A. Influences of zero-valent sulfur on mercury methylation in bacterial cocultures[J]. Water Air Soil Pollut, 2013, 224: 1399.

[10] Slowey A J. Rate of formation and dissolution of mercury sulfide nanoparticles: the dual role of natural organic matter

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[1]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 14(16): 4693 - 4708.

Determination of the Trace Elements in Dejunmangjuequemao by ICP-MS

Rezeng Caidan[1*]　Zhang Lan[2]　Limao Cairang[3]　Tong Li[1] Li Wenyuan[1]　Yang Fang[1]　Wang Yingfeng[2]

(1. The Research Center of Chinese and Tibetan Medicine, Medicine College of Qinghai University, Xining Qinghai　810001;
2. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing　100048; 3. Chemistry Department of
Nationality College, Qinghai Normal University, Xining Qinghai　810008)

Abstract

Objective: Established the method for determination of the inorganic elements in Tibetan medicine Dejunmangjuequemao. Methods: A method was studied for the assay of twenty inorganic elements such as Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Ag, Cd, Au, Hg and Pb in Dejunmangjuequemao by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with Rh and Re as internal standard. Results: Detection limits for above elements were 0.0033 ~ 2.418 $\mu g \cdot g^{-1}$, with the recoveries were 87.27% ~ 106.5%. Conclusion: The method is fast, accurate and reliable, which can be used to determinate the contents of inorganic elements in Dejunmangjuequemao.

Key words: microwave digestinon, ICP-MS, Dejunmangjuequemao, inorganic element.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net