

微波消解 ICP-MS 法测定清血八味片中 32 种无机元素

王宝丽^{1,2}, 李 志³, 荆 淼³, 邹秦文⁴, 王金凤^{1,2}, 马志强^{1,2}, 周 凯⁵, 林瑞超^{1,2*}

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102
2. 中药品质评价北京市重点实验室, 北京 100102
3. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 北京 100007
4. 北京联馨药业有限公司, 北京 102609
5. 内蒙古自治区药品检验所, 呼和浩特 010020

摘要: 目的 采用微波消解-电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法建立清血八味片中 Be、B、Na、Mg、Al、P、K、Ca、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Rb、Sr、Mo、Ag、Cd、Sn、Sb、Cs、Ba、Hg、Tl、Pb 共 32 种无机元素的测定方法, 建立清血八味片无机元素指纹谱并分析其特征元素。方法 以硝酸加过氧化氢体系为消解试剂, 样品经微波消解后, 以 ⁶Li、Sc、Y、Rh、In、Ho、Bi、Th 元素为内标元素, 采用 ICP-MS 法测定清血八味片中无机元素的量, 绘制无机元素量分布曲线图, 并用 SPSS 19.0 软件对数据进行主成分分析(PCA)。结果 测定的各元素线性关系良好, $r \geq 0.999\ 5$, 各元素的检测限在 0.001~6.390 $\mu\text{g/L}$, 精密度、稳定性和重复性试验的 RSD 均符合定量分析要求; 加样回收率为 94.36%~105.47%, RSD 1.53%~4.56%。通过无机元素量分布曲线分析建立了清血八味片的无机元素指纹谱, 不同批次的样品均有相似的峰形, 且不同无机元素量的多寡顺序趋于一致。经 PCA 筛选出清血八味片主要特征无机元素为 Co、As、Ba、Ca、Sb、Ti、Ni、Fe、Cs、Se、P、Al、K。测定的样品中检测出 Pb、Cd、As、Hg、Cu, 5 种重金属元素的量均低于《中国药典》2015 年版的限度要求。结论 该方法简便、快速、准确, 适用于同时测定清血八味片中 32 种无机元素。通过对清血八味片无机元素的分析, 可以为清血八味片的质量控制、安全性评价及临床使用提供一定参考。

关键词: 清血八味片; 电感耦合等离子体质谱法; 微波消解; 无机元素; 主成分分析

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)10-1983-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.10.009

Determination of 32 kinds of inorganic elements in Qingxue Bawei Tablets by inductively coupled plasma mass spectrometry with microwave digestion

WANG Bao-li^{1,2}, LI Zhi³, JING Miao³, ZOU Qin-wen⁴, WANG Jin-feng^{1,2}, MA Zhi-qiang^{1,2}, ZHOU Kai⁵, LIN Rui-chao^{1,2}

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China
2. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Evaluation, Beijing 100102, China
3. Thermo Fisher Scientific (China) Inc., Beijing 100007, China
4. Beijing Lianxin Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 102609, China
5. Inner Mongolia Institute for Drug Control, Huhehaote 010020, China

Abstract: Objective To establish an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with microwave digestion method for the determination of 32 kinds of inorganic elements in Qingxue Bawei Tablets (QBT), including Be, B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Cs, Ba, Hg, Tl, and Pb, in order to establish the fingerprint chromatogram of inorganic elements and analyze characteristic elements. **Methods** The samples with nitric acid and hydrogen peroxide system as digestion reagents were digested via microwave, calibrated by internal standard elements, such as ⁶Li, Sc, Y, Rh, In, Ho, Bi, and Th. The contents of 32 inorganic elements were analyzed by ICP-MS. The content distribution curve of inorganic elements was plotted. And the principal components were analyzed with the SPSS 19.0 software. **Results** The 32 inorganic elements showed good linearity in the selected concentration ranges, with the correlation coefficients over 0.999 5. The detection limits of the 32

收稿日期: 2017-01-18

作者简介: 王宝丽(1992—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中药民族药品质评价研究。Tel: 18810125745 E-mail: wblego@163.com

*通信作者 林瑞超(1954—), 博士, 教授, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药民族药品质评价研究。E-mail: linrch307@sina.com

elements were in the range of 0.001—6.390 $\mu\text{g/L}$. The RSD values of precision, stability, and repeatability all met the demands of quantitative analysis. The recovery was 94.36%—105.47%, while their RSD was 1.53%—4.56%. The fingerprint chromatogram was established by the content distribution curve of inorganic elements. Different batches of samples were similar peak shape, and the amount of inorganic elements content in different order tend to be consistent. The results of principal component analysis showed that Co, As, Ba, Ca, Sb, Ti, Ni, Fe, Cs, Se, P, Al, and K might be the characteristic elements in QBT. The content of five heavy metals (Pb, Cd, As, Hg, and Cu) was under the limit requirements of *Chinese Pharmacopoeia* (2015). **Conclusion** The method is simple, rapid, and accurate, and it can be used for the content determination of inorganic elements in QBT. The analysis of inorganic elements can provide certain reference for the quality control, safety evaluation, and clinical application of QBT.

Key words: Qingxue Bawei Tablets; ICP-MS; microwave digestion; inorganic elements; principal component analysis

蒙医药被称为“草原上的神奇之花”，是祖国医学的重要组成部分。蒙药的研究日益受到重视^[1]，且不断促进中医药和民族医药的丰富与发展。蒙医方剂清血八味（蒙名“琪孙黑木拉-8”）始载于《甘露四部》，是蒙医药史上治疗“血病”的传统验方。据《蒙古志》记载：“王患衄血之症，施以八味之方，二年得愈。”著名蒙医学家明如勒占布拉所著《蒙医金匱》（1829 年）中亦收录此方。

清血八味片由寒水石（凉制）、紫草、土木香、人工牛黄、梔子、瞿麦、石膏、甘草共 8 味药材经现代科技加工而成^[2]。其中紫草、土木香、梔子、瞿麦、甘草属植物药，人工牛黄属动物药，而寒水石和石膏则属于矿物药。方中寒水石的主要成分为 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，经凉制后失去结晶水；寒水石具有清热泻火、除烦止渴的功效，经凉制后可治疗血热病并有活血化瘀的作用^[3]。紫草具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抑制脂肪生成等药理作用^[4]。梔子对心血管系统具有明显的调血脂、抗动脉粥样硬化、降压及抗血栓等作用^[5]。甘草具有保肝、抗癌、降糖、调脂及抗血小板凝集等作用^[6]。石膏的主要成分为 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，还含有 Fe、Cu、Mg、Al、Ti、Sr 等多种微量元素，丰富的微量元素是石膏具有广泛药理作用的基础，石膏内服经胃酸作用，一部分变为可溶性钙盐，至肠吸收入血能增加血清钙离子浓度，可抑制神经应激能力和减轻血管渗透性，故能清热泻火、除烦止渴；石膏的解热作用与其所含微量元素有关，其中 Fe、Zn、Mn、Cu 等微量元素对机体免疫功能也有特效^[7-9]。临床研究已经证实，清血八味片联合辛伐他汀可显著降低高脂血症患者血清总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇，升高高密度脂蛋白胆固醇，治疗总有效率明显高于单用辛伐他汀片，且无不良反应^[2]。

中药发挥药效的物质基础除了有机成分以外，无机元素所起的作用也得到广泛关注^[10-11]。中药药

效与其所含无机元素的种类、量及存在状态有着密切的关系，如补血补气的中药中含 Fe 量较多^[10]，Fe 在人体内的生物能转化中的电子流调控、脱氧核糖核酸的合成、血红蛋白与氧的结合等方面发挥重要的生理作用；化湿滋阴的中药中 Mn 量较高，Mn 与消除自由基、抗衰老、黏多糖的合成、Ca 和 P 代谢、生殖与生长发育等关系密切^[12]。复方制剂为多成分、多途径、多靶点、多效应整体调控的作用模式，研究清血八味片中无机元素的组成特点可以进一步阐释其药效作用机制。因此，无机元素的测定与分析对药品的药效研究、安全性评价以及有害元素的限量标准制定都有着十分重要的意义^[10]。目前电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）法发展日渐成熟，且具有分析速度快、检测限低、线性范围宽等特点，广泛应用于各类样品的微量元素及痕量元素分析^[13-17]。本研究采用 ICP-MS 法对清血八味片中 Be、B、Na、Mg、Al、P、K、Ca、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Rb、Sr、Mo、Ag、Cd、Sn、Sb、Cs、Ba、Hg、Tl、Pb 共 32 种无机元素进行测定，并对其中的无机元素量的组成特点进行分析总结。

1 仪器与材料

1.1 仪器

iCAP RQ 型电感耦合等离子体质谱仪，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；ETHOS UP 全自动微波消解仪，意大利 Milestone 公司；Milli-Q 超纯水处理系统，美国 Millipore 公司；电子分析天平，瑞士 Mettler Toledo 上海有限公司。

1.2 试剂与试药

汞单元素标准溶液，1 000 $\mu\text{g/mL}$ ，中国计量科学研究院；混合元素标准溶液 1（含 Be、B、Na、Mg、Al、P、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Rb、Sr、Ag、Cd、Cs、Ba、Hg、Tl、Pb，均为 100 $\mu\text{g/mL}$ ）、混合元素标准溶液

2 (含 Ti、Mo、Sn、Sb, 均为 10 $\mu\text{g/mL}$)、混合内标标准溶液 (含有 ^6Li 、 ^{45}Sc 、 ^{89}Y 、 ^{103}Rh 、 ^{115}In 、 ^{165}Ho 、 ^{209}Bi 、 ^{232}Th , 均为 10 $\mu\text{g/mL}$)、德国 Spex CertiPrep 公司; 硝酸 (HNO_3 质量分数为 68%~70%)、盐酸 (质量分数为 36%~38%)、调谐液 (Ba、Bi、Ce、Co、In、Li、U 混合标准溶液, 1 $\mu\text{g/L}$)、美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 30%过氧化氢, 优级纯, 国药集团化学试剂有限公司; 超纯水由 Milli-Q 制水系统制得, 18.2 $\text{M}\Omega$, 用于配制所有标准溶液与样品溶液。清血八味片, 8 批, 批号 20150702、20150804、20150901、20160101、20160102、20160301、20160302、20160401, 内蒙古蒙奇药业股份有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 标准溶液的制备

精密量取混合元素标准溶液适量, 用 2%硝酸溶液稀释制成含 Be、B、Na、Mg、Al、P、K、Ca、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Rb、Sr、Mo、Ag、Cd、Sn、Sb、Cs、Ba、Tl、Pb 质量浓度均为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品储备液。精密量取标准品储备液适量, 用 2%硝酸溶液依次稀释配制含上述各元素质量浓度分别为 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、12.5、25.0、50.0、100.0 ng/mL 标准工作溶液。

精密量取 Hg 单元素标准溶液适量, 用 5%盐酸溶液稀释制成质量浓度为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 作为 Hg 标准品储备液。精密量取 Hg 标准品储备液, 用 5%盐酸溶液稀释配制质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 ng/mL 的标准工作溶液, 本溶液随用随配。

2.2 内标溶液的制备

精密量取适量内标混合溶液, 用 2%硝酸溶液稀释制成质量浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 的溶液, 采用在线三通与样品或标准工作液一起加入质谱仪。采用内标法分配给各个元素进行内标校正。

2.3 供试品溶液的制备

将清血八味片用研钵磨成粉末, 混合均匀。取本品粉末约 0.5 g, 精密称定, 置于聚四氟乙烯消解罐中, 加入 8 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢, 混匀, 待气泡散尽, 置微波消解仪内, 消解功率为 1 000 W, 在 15 min 内温度爬升至 200 $^{\circ}\text{C}$, 消解时间为 15 min。消解完毕后取出, 冷却至常温, 打开密闭消解罐, 待蒸气挥尽后, 将消解液转移至 50 mL 量瓶

中, 用少量水洗涤消解罐与盖子 3 次, 洗液合并于量瓶中, 加水定量至 50.00 g, 摇匀, 即得。同法制备试剂空白溶液。

2.4 ICP-MS 工作参数

采用氦气碰撞-动能歧视模式进行样品分析, RF 功率 1 550 W; 中心管规格 2.5 mm; 雾化室温度 2 $^{\circ}\text{C}$; 辅助气体流量 0.8 L/min; 冷却气体流量 14 L/min; 雾化气体流量 1.1 L/min; 蠕动泵转速 40.0 r/min; 驻留时间 30 ms; 反应池气 (He) 体积流量 4.6 mL/min; 动能歧视 (KED) 电压 3 V。

2.5 测定方法

选择 ^9Be 、 ^{11}B 、 ^{23}Na 、 ^{24}Mg 、 ^{27}Al 、 ^{31}P 、 ^{39}K 、 ^{43}Ca 、 ^{48}Ti 、 ^{51}V 、 ^{52}Cr 、 ^{55}Mn 、 ^{56}Fe 、 ^{59}Co 、 ^{60}Ni 、 ^{63}Cu 、 ^{66}Zn 、 ^{71}Ga 、 ^{75}As 、 ^{78}Se 、 ^{85}Rb 、 ^{88}Sr 、 ^{95}Mo 、 ^{107}Ag 、 ^{111}Cd 、 ^{118}Sn 、 ^{121}Sb 、 ^{133}Cs 、 ^{137}Ba 、 ^{202}Hg 、 ^{205}Tl 、 ^{208}Pb 32 种元素的相应同位素进行分析测定。根据元素的质量数不同分别采用内插法分配合适的内标进行基体校正, 每个样品读取 3 个数值。以校正后的强度结果为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 然后根据标准曲线计算得到样品的质量浓度。

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察 取“2.1”项下配制的不同质量浓度的混合元素标准溶液及 Hg 单元素标准溶液, 根据“2.4”和“2.5”项下的方法依次测定, 以内标校正后的测量值为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得到各元素的回归方程及相关系数, 见表 1。结果表明上述元素在 0.5~100.0 $\mu\text{g/L}$ 线性关系良好, 其中 Hg 在 0.1~2.0 $\mu\text{g/L}$ 线性关系良好。

2.6.2 检测限 连续测定空白溶液 11 次, 以测定元素的信号响应值的标准偏差 (δ) 的 3 倍所对应的质量浓度为检测限^[18], 结果见表 1, 各元素的检测限多处于 10^{-12} 级别, 方法灵敏度高, 非常适于分析样品中的痕量元素。

2.6.3 精密度试验 取“2.1”项下配制的混合元素标准溶液 (10.0 ng/mL) 及 Hg 单元素标准溶液 (1.0 ng/mL), 连续进样 6 次, 计算各元素的 RSD 在 0.19%~4.00%, 见表 1。结果表明方法精密度良好。

2.6.4 重复性试验 取同一批次清血八味片供试品 (批号 20150702) 约 0.5 g, 精密称定, 按照“2.3”项下供试品制备方法, 平行制备 6 份供试品溶液, 依次进样测定, 结果见表 2, 计算各元素的 RSD 在

表 1 各元素的线性关系、检测限及精密度

Table 1 Linearity, LODs, and precision for test of elements

元素	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	精密度 RSD/%
^9Be	$Y=42.559\ 1\ X$	0.999 8	0.5~100.0	<0.000 1	0.49
^{11}B	$Y=26.453\ 6\ X+34.483\ 3$	0.999 8	0.5~100.0	0.486	2.34
^{23}Na	$Y=704.458\ 0\ X+11\ 719.872\ 6$	1.000 0	0.5~100.0	0.745	2.56
^{24}Mg	$Y=263.297\ 3\ X+692.274\ 4$	1.000 0	0.5~100.0	0.582	1.38
^{27}Al	$Y=82.420\ 9\ X+221.276\ 4$	0.999 6	0.5~100.0	0.614	1.11
^{31}P	$Y=5.091\ 8\ X+71.318\ 3$	0.999 5	0.5~100.0	6.390	4.00
^{39}K	$Y=276.824\ 0\ X+5\ 582.662\ 0$	1.000 0	0.5~100.0	0.604	1.17
^{43}Ca	$Y=12\ 693.450\ 4\ X+18.673\ 3$	0.999 6	0.5~100.0	0.002	2.86
^{48}Ti	$Y=1\ 544.643\ 4\ X+164.755\ 3$	0.999 9	0.5~100.0	0.040	2.52
^{51}V	$Y=5\ 171.781\ 9\ X+26.744\ 2$	0.999 9	0.5~100.0	0.010	1.40
^{52}Cr	$Y=7\ 756.213\ 9\ X+613.962\ 0$	0.999 9	0.5~100.0	0.019	1.42
^{55}Mn	$Y=4\ 290.401\ 0\ X+441.377\ 6$	0.999 9	0.5~100.0	0.016	1.63
^{56}Fe	$Y=7\ 320.413\ 9\ X+20\ 787.138\ 8$	0.999 8	0.5~100.0	0.206	2.87
^{59}Co	$Y=14\ 446.530\ 2\ X+39.344\ 3$	0.999 9	0.5~100.0	0.001	1.12
^{60}Ni	$Y=3\ 854.959\ 5\ X+482.052\ 0$	0.999 9	0.5~100.0	0.007	1.67
^{63}Cu	$Y=10\ 511.608\ 6\ X+990.348\ 0$	0.999 8	0.5~100.0	0.018	1.08
^{66}Zn	$Y=1\ 727.038\ 1\ X+2\ 287.726\ 2$	0.999 5	0.5~100.0	0.059	0.96
^{71}Ga	$Y=2\ 851.454\ 7\ X+5.330\ 2$	0.999 9	0.5~100.0	0.002	2.11
^{75}As	$Y=957.648\ 0\ X+13.977\ 2$	0.999 9	0.5~100.0	0.012	0.94
^{78}Se	$Y=145.039\ 6\ X+6.027\ 1$	0.999 9	0.5~100.0	0.110	0.19
^{85}Rb	$Y=5\ 217.556\ 2\ X+49.263\ 0$	0.999 9	0.5~100.0	0.007	0.73
^{88}Sr	$Y=7\ 392.097\ 6\ X+407.989\ 3$	0.999 9	0.5~100.0	0.007	0.49
^{95}Mo	$Y=8\ 311.347\ 2\ X+69.303\ 8$	0.999 8	0.5~100.0	0.005	1.32
^{107}Ag	$Y=35\ 132.611\ 1\ X+149.961\ 0$	0.999 8	0.5~100.0	0.001	1.44
^{111}Cd	$Y=5\ 367.896\ 6\ X+8.661\ 1$	0.999 9	0.5~100.0	0.002	2.13
^{118}Sn	$Y=11\ 774.918\ 8\ X+1\ 430.010\ 6$	0.999 9	0.5~100.0	0.010	1.93
^{121}Sb	$Y=10\ 690.668\ 0\ X+108.659\ 7$	0.999 8	0.5~100.0	0.005	1.51
^{133}Cs	$Y=30\ 065.277\ 7\ X+14.662\ 3$	0.999 8	0.5~100.0	0.001	1.71
^{137}Ba	$Y=5\ 910.246\ 9\ X+494.686\ 6$	0.999 9	0.5~100.0	0.013	1.87
^{202}Hg	$Y=8\ 299.644\ 9\ X+45.976\ 3$	0.999 8	0.1~ 2.0	0.001	1.56
^{205}Tl	$Y=142\ 845.635\ 8\ X+697.407\ 5$	0.999 9	0.5~100.0	0.001	2.08
^{208}Pb	$Y=101\ 739.650\ 2\ X+6\ 170.406\ 6$	0.999 9	0.5~100.0	0.004	0.90

0.77%~4.83%，结果表明检测方法重复性良好。

2.6.5 稳定性试验 取清血八味片供试品（批号 20150702）约 0.5 g，精密称定，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定，结果见表 2。计算各元素的 RSD 在 0.94%~5.14%，结果表明，供试品溶液室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.6.6 加样回收率试验 取清血八味片供试品（批

号 20150702）约 0.25 g，精密称定，加入 8 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢，加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合元素标准溶液 100 μL ，加入 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Hg 单元素标准溶液 300 μL ，按照“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液。同法制备试剂空白溶液。依次测定，计算各元素的回收率及其 RSD，见表 2。各元素的平均回收率为 94.36%~105.47%，RSD 在 1.53%~4.56%，方法准确度良好。

2.7 样品测定

取 8 批次的清血八味片, 按“2.3”项下方法制

备供试品溶液, 按“2.5”项下方法测定供试品中的 32 种元素, 结果见表 3。

表 2 重复性、稳定性及加样回收率试验结果 ($n = 6$)

Table 2 Results of repeatability, stability, and recovery tests ($n = 6$)

元素	重复性		稳定性	回收率		元素	重复性		稳定性	回收率	
	平均值/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD/%		平均值/%	RSD/%		平均值/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD/%		平均值/%	RSD/%
^9Be	0.056	2.79	2.82	95.56	4.36	^{66}Zn	99.681	2.28	2.45	99.36	2.97
^{11}B	6.044	3.83	3.88	101.79	3.18	^{71}Ga	0.232	3.40	3.45	102.84	2.72
^{23}Na	1 440.760	1.96	2.33	103.31	2.77	^{75}As	0.259	4.79	3.78	96.70	4.49
^{24}Mg	1 136.406	1.22	1.97	98.53	3.55	^{78}Se	0.050	4.16	4.06	104.60	3.21
^{27}Al	344.915	3.53	5.14	105.33	3.48	^{85}Rb	28.911	1.94	1.46	105.06	4.10
^{31}P	560.221	2.66	3.46	99.81	3.48	^{88}Sr	208.718	3.38	1.15	95.78	3.65
^{39}K	9 238.817	1.57	1.32	100.61	1.53	^{95}Mo	0.431	2.85	2.75	101.30	2.78
^{43}Ca	225 562.322	1.51	0.96	98.63	3.88	^{107}Ag	0.003	3.02	3.25	103.38	4.56
^{48}Ti	535.356	1.97	1.21	101.51	2.89	^{111}Cd	0.020	4.55	4.25	105.47	3.96
^{51}V	0.360	2.91	2.46	94.36	4.50	^{118}Sn	0.220	4.74	3.61	99.42	3.30
^{52}Cr	6.561	2.72	2.90	102.36	2.53	^{121}Sb	0.022	3.54	3.73	102.35	2.86
^{55}Mn	22.015	0.77	1.07	99.75	3.51	^{133}Cs	0.437	2.79	0.94	94.83	4.02
^{56}Fe	2 103.348	3.26	4.40	102.55	2.03	^{137}Ba	18.403	4.07	1.18	100.47	2.36
^{59}Co	0.359	0.89	1.05	100.30	1.96	^{202}Hg	0.012	4.51	4.45	98.98	2.78
^{60}Ni	1.254	4.83	3.60	97.99	3.91	^{205}Tl	0.046	2.88	1.51	96.00	3.39
^{63}Cu	0.352	3.80	4.32	101.31	4.34	^{208}Pb	0.267	1.63	4.64	101.09	2.81

表 3 8 批次清血八味片的检测结果 ($n = 3$)

Table 3 Measurement results for eight kinds of different batches of QBT ($n = 3$)

批号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)										
	^9Be	^{11}B	^{23}Na	^{24}Mg	^{27}Al	^{31}P	^{39}K	^{43}Ca	^{48}Ti	^{51}V	^{52}Cr
20150702	0.056	6.044	1 440.760	1 136.406	344.915	560.221	9 238.817	225 562.322	535.356	0.360	6.561
20150804	0.009	5.778	1 490.533	1 246.838	244.307	376.386	6 780.928	129 166.307	285.489	0.228	1.696
20150901	0.010	5.554	1 471.681	1 246.838	303.850	391.462	6 741.220	143 202.378	317.640	0.330	7.520
20160101	0.013	6.890	1 456.591	1 246.838	306.175	333.570	6 126.989	140 419.677	314.503	0.308	4.055
20160102	0.083	4.908	1 466.079	1 208.785	301.938	409.885	6 778.293	176 154.465	394.702	0.908	4.670
20160301	0.060	5.794	1 341.493	1 249.483	327.284	400.870	7 763.393	179 034.162	404.049	0.743	3.842
20160302	0.079	6.316	1 522.406	1 322.045	333.871	460.787	8 808.180	188 311.356	424.121	0.744	5.774
20160401	0.058	6.707	1 417.584	1 372.121	332.379	503.219	9 498.093	195 457.509	441.645	0.858	11.862

批号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)										
	^{55}Mn	^{56}Fe	^{59}Co	^{60}Ni	^{63}Cu	^{66}Zn	^{71}Ga	^{75}As	^{78}Se	^{85}Rb	^{88}Sr
20150702	22.015	2 103.348	0.359	1.254	0.352	99.681	0.232	0.259	0.050	28.911	208.718
20150804	13.989	1 354.201	0.112	0.414	0.409	63.525	0.039	0.058	0.009	25.033	145.914
20150901	19.344	1 576.731	0.188	0.848	0.790	77.091	0.051	0.090	0.014	25.460	199.627
20160101	13.384	1 516.697	0.135	0.447	0.528	74.853	0.052	0.076	0.012	22.907	198.824
20160102	30.030	2 027.750	0.302	1.059	0.812	72.082	0.117	0.201	0.022	17.437	195.077
20160301	23.612	1 992.371	0.283	0.917	0.700	80.747	0.107	0.214	0.024	22.278	248.316
20160302	29.006	2 008.174	0.315	1.067	0.852	78.569	0.107	0.206	0.029	25.253	241.227
20160401	41.283	1 880.534	0.371	1.506	1.220	85.610	0.111	0.259	0.028	26.968	218.701

续表 3

批号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)									
	^{95}Mo	^{107}Ag	^{111}Cd	^{118}Sn	^{121}Sb	^{133}Cs	^{137}Ba	^{202}Hg	^{205}Tl	^{208}Pb
20150702	0.431	0.003	0.020	0.220	0.022	0.437	18.403	0.012	0.046	0.267
20150804	0.218	0.007	0.014	0.205	0.008	0.111	4.931	0.071	0.025	0.228
20150901	0.273	0.004	0.016	0.073	0.012	0.128	6.122	0.012	0.027	0.264
20160101	0.160	0.003	0.014	0.086	0.010	0.121	6.006	0.011	0.024	0.214
20160102	0.171	0.003	0.023	0.141	0.017	0.271	14.967	0.012	0.039	0.658
20160301	0.233	0.004	0.026	0.113	0.018	0.233	12.966	0.014	0.029	0.409
20160302	0.223	0.004	0.032	0.119	0.015	0.258	13.372	0.012	0.029	0.421
20160401	0.208	0.003	0.031	0.152	0.022	0.270	16.389	0.017	0.041	0.578

2.8 无机元素量分布曲线分析

由表 3 可以看出, 32 种待测元素的量差别较大。其中 Ca 元素由于是寒水石中的主要元素, 所以在清血八味片中的量也较为突出, 在 20% 上下波动; 其次, 质量分数超过 1.00 mg/g 的元素还有 4 种, 按照平均质量分数从高到低的顺序依次为 $\text{K} > \text{Fe} > \text{Na} > \text{Mg}$; 再次, 质量分数超过 100 $\mu\text{g/g}$ 的元素有 4 种, 分别是 Al、P、Ti 和 Sr; 剩余 23 种元素量均小于 100 $\mu\text{g/g}$ 。

根据定量测定的元素结果, 并参考西洋参、黄芩、何首乌等的无机元素分析方法^[19-21], 将测定的 32 种无机元素按其原子序数顺序制作质量分数分布曲线。为了绘图方便, 把一些质量分数悬殊的元素同时缩小或扩大相同倍数至同一数量级 (K 、 Ca 缩小 1 000 倍, Na 、 Mg 、 Al 、 P 、 Ti 、 Fe 缩小 10 倍, V 、 Co 、 Ga 、 Sn 、 Cs 、 Pb 扩大 10 倍, Be 、 As 、 Se 、 Ag 、 Cd 、 Sb 、 Hg 、 Tl 扩大 100 倍), 从而在一

个坐标系区域内绘制了清血八味片无机元素的质量分数分布曲线。同时为了便于比较, 下图将 8 批样品的无机元素分布曲线进行重叠 (图 1), 8 批清血八味片样品均有相似的峰形, 可看到虽然批次不同, 原料等有差异, 但不同无机元素量的多寡顺序趋于一致, 所以此质量分数分布图可作为清血八味片的特征指纹图谱, 为清血八味片的鉴别和质量评价提供参考依据。同时, 所建立的无机元素特征指纹图谱可直观显示出不同批次间的差异信息, 可对原料来源、制剂工艺等方面有所提示, 方便药品生产厂家建立长期质控图, 维持药品的长期稳定性。

2.9 无机元素主成分分析 (PCA)

参考野菊花、刺参、藏药坐珠达西等特征元素的分析方法^[22-24], 利用 SPSS 19.0 软件对上述 8 批清血八味片样品中的 32 种无机元素数据进行 PCA。结果 (表 4) 表明, 前 5 个成分的特征值均大于 1, 累积贡献率达 94.888%, 说明这 5 个成分可以解释

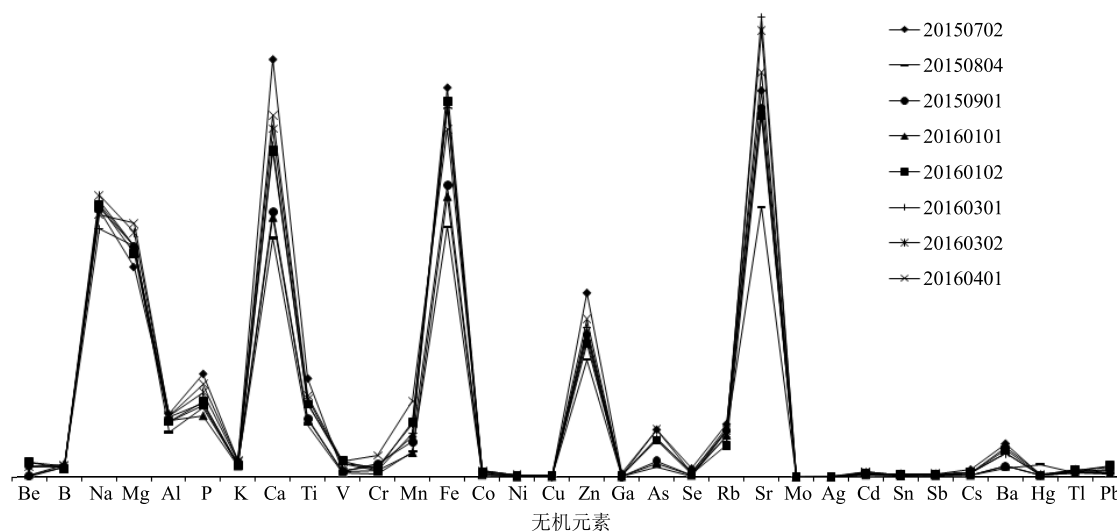


图 1 清血八味片中无机元素质量分数分布曲线

Fig. 1 Content distribution curves of inorganic elements in QBT

表 4 主成分的初始特征值和贡献率

Table 4 Initial eigenvalues and contribution rates of principal components

主成分	初始特征值		
	合计	方差/%	累积贡献率/%
1	18.097	56.553	56.553
2	5.584	17.449	74.001
3	2.928	9.151	83.153
4	2.571	8.036	91.188
5	1.184	3.700	94.888
6	0.984	3.075	97.963
7	0.652	2.037	100.000

表 5 前 5 个主成分的因子载荷矩阵

Table 5 Factor loadings matrix of first five principal components

元素	主成分					元素	主成分				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
Co	0.990	-0.095	-0.054	0.077	0.002	Be	0.793	-0.311	-0.420	0.039	0.227
As	0.983	-0.053	-0.091	0.055	0.101	Mn	0.766	-0.530	0.038	0.335	-0.137
Ba	0.974	0.037	-0.193	0.061	0.017	Cd	0.751	-0.510	0.073	0.212	0.332
Ca	0.972	0.207	-0.035	-0.009	0.082	Sr	0.659	-0.356	0.204	-0.447	0.407
Sb	0.970	0.019	-0.024	0.004	-0.077	Ag	-0.649	0.209	-0.086	0.574	0.348
Ti	0.954	0.279	-0.030	-0.026	0.073	Cr	0.632	-0.255	0.536	0.141	-0.466
Ni	0.943	-0.145	0.084	0.169	-0.197	V	0.631	-0.702	-0.301	0.091	0.092
Fe	0.916	-0.057	-0.297	-0.177	0.159	Hg	-0.583	0.270	-0.121	0.712	0.180
Cs	0.909	0.358	-0.190	-0.002	0.014	Pb	0.564	-0.660	-0.409	0.220	-0.158
Se	0.890	0.438	-0.008	-0.045	0.071	Mo	0.452	0.819	0.109	-0.053	-0.055
P	0.874	0.358	0.129	0.279	-0.060	Cu	0.401	-0.819	0.249	0.211	-0.209
Al	0.860	-0.048	0.267	-0.414	0.086	Na	-0.315	0.074	0.026	0.328	-0.174
K	0.859	0.122	0.310	0.334	0.191	Sn	0.270	0.643	-0.266	0.617	0.064
Tl	0.851	0.242	-0.198	0.168	-0.353	Rb	0.254	0.555	0.729	0.274	0.037
Ga	0.849	0.484	-0.177	-0.087	0.008	B	0.076	-0.007	0.819	-0.032	0.228
Zn	0.820	0.420	0.284	-0.245	-0.066	Mg	0.044	-0.740	0.521	0.393	0.157

超过 5 mg/kg, Cd 不得超过 0.3 mg/kg, As 不得超过 2 mg/kg, Hg 不得超过 0.2 mg/kg, Cu 不得超过 20 mg/kg。本实验测定的 8 批清血八味片样品中 Pb、Cd、As、Hg、Cu 5 种有害重金属元素的量均较低, 未超出限度要求, 说明清血八味片中重金属元素的量符合我国安全性的相关标准。

3 讨论

3.1 供试品前处理方法选择

固体样品的消解方法有敞口容器消解法、密闭容器消解法和微波消解法。与其他消解方法相比,

94.888%的原始数据变量信息。因此提取这 5 个主成分的因子进行分析。由因子载荷矩阵(表 5, 按负荷量的大小进行排序)可知, 第 1 个主成分因子中 Co、As、Ba、Ca、Sb、Ti、Ni、Fe、Cs、Se、P、Al、K 的因子负荷量较大, 均在 0.85 以上。所以确定 Co、As、Ba、Ca、Sb、Ti、Ni、Fe、Cs、Se、P、Al、K 是清血八味片的特征无机元素。

2.10 重金属及有害元素的安全性分析

重金属及有害元素是中药安全性评价的重要指标, 《中国药典》2015 年版^[18]对甘草、西洋参等中药材及妇必舒阴道泡腾片、紫雪散等中成药中重金属和有害元素的限度作出了明确规定, 即 Pb 不得

微波消解法具有操作简单、试剂消耗少, 消解效率高, 试剂空白值低、样品制备过程中的污染小和待测元素的挥发损失少等优点, 特别对于需要测汞的方法, 所以本实验采用微波消解前处理样品。

3.2 微波消解试剂选择

本实验对比了文献中普遍采用的硝酸体系和硝酸加过氧化氢体系的消解效果。发现仅采用硝酸体系消解, 所得溶液呈浅蓝色浑浊, 消解不完全, 而硝酸-过氧化氢体系所得消解液无色透明, 消解效果更佳。故最终选择硝酸加过氧化氢体系消解样品。

3.3 结论

本研究采用微波消解 ICP-MS 法同时测定清血八味片中 32 种无机元素量,该方法简便快速、准确灵敏、重现性好,可用于清血八味片中无机元素的定量分析。经过测定,清血八味片中含有丰富的常量元素 Ca、K、Na、Mg、P、Al 等以及人体所必需的微量元素 Fe、Zn、Sr、Mn、Cr、Cu、Se、Co、Mo、V 等,这些常量元素和微量元素对人体健康起着重要调控作用,且在清血八味片的药效发挥中应当存在一定的协同作用。

通过对所含无机元素的组成特点分析,建立了清血八味片的无机元素量分布曲线,作为清血八味片无机元素的指纹图谱,为清血八味片的鉴别、制剂工艺稳定性以及质量评价提供参考依据;通过 PCA 确定了清血八味片中的特征元素,分别为 Co、As、Ba、Ca、Sb、Ti、Ni、Fe、Cs、Se、P、Al 和 K,为后续研究药效的发挥及之间的协同作用提供了数据参考。

参考文献

- [1] 王曦烨,李 丹,唐兴盟,等.基于组学方法的蒙药复方森登-4 配伍机制研究 [J]. 中草药,2016,47(5): 736-740.
- [2] 贾志新,韩 滨,穆 磊.清血八味片联合辛伐他汀治疗高血脂血症 64 例临床观察 [J]. 北京中医药,2015,34(1): 54-55.
- [3] 阿拉腾珠拉.寒水石的常用炮制方法及其作用 [J]. 世界最新医学信息文摘,2016,16(12): 120-121.
- [4] 詹志来,胡 峻,刘 谈,等.紫草化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志,2015,40(21): 4127-4135.
- [5] 杨全军,范明松,孙兆林,等.栀子化学成分、药理作用及体内过程研究进展 [J]. 中国现代中药,2010,12(9): 7-12.
- [6] 高雪岩,王文全,魏胜利,等.甘草及其活性成分的药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志,2009,34(21): 2695-2700.
- [7] 苏达世,万郑莉.石膏中无机元素的研究概况 [J]. 中国医院药学杂志,1989,9(4): 166-167.
- [8] 周永学,李 敏,唐志书,等.中药石膏及其主要成分解热抗炎作用及机制研究 [J]. 陕西中医学院学报,2012,35(5): 74-76.
- [9] 孙 姝.石膏的药理作用与微量元素的探究 [J]. 中国中医药现代远程教育,2009,7(5): 170.
- [10] 郑礼胜,刘学中,崔艳丽,等.中药里 Fe 元素的研究进展 [J]. 药物评价研究,2016,39(4): 677-685.
- [11] 张丽敏,王嘉亿,孟宪生,等.ICP-MS 法测定山绿茶降压胶囊无机元素及其质量评价 [J]. 广东微量元素科学,2016,23(11): 15-18.
- [12] 田柱萍,何邦平,王小燕,等.中药材的药效与其所含微量元素关系的研究进展 [J]. 微量元素与健康研究,2005,22(4): 54-56.
- [13] 汤卫国,王奇志,印 敏,等.微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定脉络宁注射液中 25 种矿物质元素 [J]. 中草药,2014,45(15): 2172-2177.
- [14] 张海弢,李曼曼,付 娟,等.ICP-MS 法分析顷康片中的元素 [J]. 药学与临床研究,2016,24(2): 113-116.
- [15] 热增才旦,利毛才让,童 丽,等.微波消解 ICP-MS 法测定藏药十五味赛尔斗丸中的无机元素 [J]. 时珍国医国药,2016,27(8): 1873-1875.
- [16] 付 娟,张海弢,杨素德,等.基于 ICP-MS 法分析九味熄风颗粒中 25 种重金属及微量元素 [J]. 中草药,2015,46(21): 3185-3189.
- [17] 刘庄蔚,王 娟.微波消解-ICP-MS 法测定血栓通注射液中 20 种元素 [J]. 中成药,2016,38(10): 2188-2191.
- [18] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [19] 陈军辉,谢明勇,傅博强,等.西洋参中无机元素的主成分分析和聚类分析 [J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(7): 1326-1329.
- [20] 王 升,赵曼茜,郭兰萍,等.不同产地黄芩中无机元素含量及其与根际土壤无机元素的关系 [J]. 生态学报,2014,34(16): 4734-4745.
- [21] 罗益远,刘娟秀,侯 娅,等.何首乌不同产地及商品药材中无机元素的 ICP-MS 分析 [J]. 中草药,2015,46(7): 1056-1064.
- [22] 房海灵,郭巧生,邵清松.野菊花中元素分布特征及相关性和主成分分析 [J]. 中国中药杂志,2010,35(18): 2432-2436.
- [23] 刘小芳,薛长湖,王玉明,等.刺参中无机元素的聚类分析和主成分分析 [J]. 光谱学与光谱分析,2011,31(11): 3119-3122.
- [24] 陈 莹,王长生,况 刚,等.微波消解 ICP-OES 法测定藏药珍宝类药物坐珠达西及其主要矿物药原料中 26 种无机元素及相关性分析 [J]. 中草药,2016,47(13): 2346-2352.