

# ICP-MS法同时测定林下西洋参和园地栽培西洋参中14种微量元素的含量<sup>Δ</sup>

林红强\*, 谭静, 王涵, 吴福林, 董庆海, 李平亚, 刘金平<sup>#</sup>(吉林大学药学院天然药物研究中心, 长春 130021)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)16-2203-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.16.10

**摘要** 目的:建立同时测定林下西洋参和园地栽培西洋参中14种微量元素含量的方法。方法:采用电感耦合等离子体质谱法。射频功率为1350 W,采样深度为7.0 mm,载气流量为1.1 L/min,雾化室温度为2 ℃,蠕动泵转速分辨率为0.1 rps,等离子体气流量为15.0 L/min,雾化器为高盐雾化器,氧化物指标(氧化铈离子/铈) $<0.5\%$ ,双电荷指标(二价钡离子/一价钡离子) $<1\%$ ;微波消解功率为3600 W,升温程序为190 ℃保持48 h,冷却至室温,再升温至150 ℃,保持12 h。结果:锰、铬、锶、铷、硼、镍、铜、钒、锡、砷、钼、硒、钴元素检测质量浓度线性范围分别为0.1~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ )、0.5~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.1~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.5~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.5~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.1~200  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.5~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、1~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.1~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ )、0.1~200  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ )、0.5~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.1~200  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ )、0.5~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ )、0.1~500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ );定量限均小于0.60  $\mu\text{g/L}$ ,检测限均小于0.20  $\mu\text{g/L}$ ;精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%;加样回收率为97.08%~106.65%(RSD为0.64%~2.33%, $n=9$ );林下西洋参含量为0.288 2~148.600 0  $\mu\text{g/g}$ ,园地栽培西洋参含量为0.135 7~65.190 0  $\mu\text{g/g}$ 。结论:该方法灵敏度高、准确性好,可用于同时测定林下西洋参和园地栽培西洋参中14种微量元素的含量;林下西洋参和园地栽培西洋参中14种微量元素含量差异显著,总体上林下西洋参较园地栽培西洋参中微量元素的含量更高,表明两种生长环境对西洋参的成分影响较大。

**关键词** 林下西洋参;园地栽培西洋参;电感耦合等离子体质谱法;微量元素;含量测定

## Simultaneous Determination of 14 Kinds of Microelements in Underwood-cultivated and Garden-cultivated *Panax quinquefolius* by ICP-MS

LIN Hongqiang, TAN Jing, WANG Han, WU Fulin, DONG Qinghai, LI Pingya, LIU Jinping (Research Center of Natural Drug, School of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 14 kinds of microelements from underwood-cultivated *Panax quinquefolius* and garden-cultivated *P. quinquefolius*. METHODS: ICP-MS method was adopted. The radio frequency power was 1350 W, and sampling depth was 7.0 mm; carrier gas velocity was 1.1 L/min, and atomizing chamber temperature was 2 ℃; peristaltic pump was 0.1 rps; plasma gas flow rate was 15.0 L/min in high-salt nebulizer as atomizer; oxide index( $\text{CeO}^*/\text{Ce}^+$ ) is less than 0.5% and the double charge index( $\text{Ba}^{2+}/\text{Ba}^+$ ) is less than 1%. The microwave digestion power is 3600 W, and the heating process is heated to 190 ℃, maintained at 48 h, and cooling to room temperature, and the heated 150 ℃, maintained 12 h. RESULTS: The linear range of Mn, Cr, Sr, Zn, Rb, B, Ni, Cu, V, Sn, As, Mo, Se and Co were 0.1-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ ), 0.5-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.1-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.5-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.5-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.1-200  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.5-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 1-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.1-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ ), 0.1-200  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ ), 0.5-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), 0.1-200  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9998$ ), 0.5-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ) and 0.1-500  $\mu\text{g/L}$ ( $r=0.9999$ ), respectively. The limits of quantitation were less than 0.60  $\mu\text{g/L}$ , and the limits of detection were lower than 0.20  $\mu\text{g/L}$ . RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 3%; the recoveries were 97.08%-106.65%(RSDs were 0.64%-2.33%, $n=9$ ); the content of underwood-cultivated *P. quinquefolius* were 0.288 2-148.600 0  $\mu\text{g/g}$ , the content of garden-cultivated *P. quinquefolius* were 0.135 7-65.190 0  $\mu\text{g/g}$ . CONCLUSIONS: The method is sensitive, accurate and can be used for simultaneous determination of 14 kinds of microelements. There are great differences in 14 kinds of microelements between underwood-cultivated *P. quinquefolius* and garden-cultivated *P. quinquefolius*. On the whole, the contents of microelements in underwood-cultivated *P. quinquefolius* are higher than garden-cultivated *P. quinquefolius*. The cultivation environments have great influence on the growth of *P. quinquefolius*.

**KEYWORDS** Underwood-cultivated *Panax quinquefolius*; Garden-cultivated *P. quinquefolius*; ICP-MS; Microelements; Content determination

Δ 基金项目:吉林省科技发展计划项目(No.20160307008YY)

\* 硕士研究生。研究方向:天然药物化学成分。电话:0431-85619803。E-mail:linhq17@mails.jlu.edu.cn

# 通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:天然药物化学成分。电话:0431-85619803。E-mail:liujp@jlu.edu.cn

人体必需微量元素对维持正常生理功能具有重要作用<sup>[1]</sup>,其可参与体内多种功能性酶、蛋白质、激素、维生素等的构成,对调节机体代谢具有重要意义<sup>[2]</sup>。如铜(Cu)元素可参与酪氨酸酶的合成,铁(Fe)元素经转化后

与珠蛋白结合形成血红蛋白,锰(Mn)元素可调节糖类和脂质代谢等<sup>[9]</sup>。虽然微量元素在人体内的含量较少,但其摄入量过低或过高都会导致相应疾病的发生。现代医学研究表明,中药发挥药效除了依赖于有效成分外,与其中所含的众多微量元素也有一定关系<sup>[9]</sup>。

西洋参为五加科人参属植物西洋参(*Panax quinquefolius* L.)的干燥根,又称花旗参<sup>[5]</sup>,原产于北美,进入国际市场近300年<sup>[6]</sup>,具补气养阴、清热生津之功效。与园地栽培西洋参不同,野生西洋参具有独特的药理活性,如改善受损记忆、保护心血管系统、调节血脂代谢等<sup>[7-8]</sup>。但随着野生西洋参需求量的激增,其资源骤然减少;因此,与山林中种植山参以得到林下山参用以替代野山参相似,“野生模拟”山林环境下播种西洋参使其自然生长的方法应运而生,以此得到林下西洋参用以替代野生西洋参<sup>[9-11]</sup>。

本研究采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)同时测定了林下西洋参和园地栽培西洋参中Mn、铬(Cr)、锶(Sr)、锌(Zn)、铷(Rb)、硼(B)、镍(Ni)、Cu、钒(V)、锡(Sn)、砷(As)、钼(Mo)、硒(Se)、钴(Co)等14种微量元素的含量,以探讨两种生长环境对西洋参中微量元素的影响,旨在为其质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

7500a型ICP-MS仪,包括真空系统、四极杆、检测器、碰撞池等(美国Agilent公司);AL104型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);Transform 800型微波消解仪(加拿大Aurora公司);FW177型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂);Milli-Q超纯水机(美国Millipore公司,电阻率:18.2 MΩ·cm)。

### 1.2 试剂

Mn(批号:GSB04-1736-2004)、Cr(批号:GSB04-1723-2004)、Sr(批号:GSB04-1754-2004)、Zn(批号:GSB04-1761-2004)、Rb(批号:GSB04-2836-2011)、B(批号:GSB04-1716-2004)、Ni(批号:GSB04-1740-2004)、Cu(批号:GSB04-1725-2004)、V(批号:GSB04-1759-2004)、Sn(批号:GSB04-1753-2004)、As(批号:GSB04-1714-2004)、Mo(批号:GSB04-1737-2004)、Se(批号:GSB04-1751-2004)、Co(批号:GSB04-1722-2004)标准品溶液,均由北京中科质检生物技术有限公司提供,质量浓度均为10.0 mg/L;铟(In,内标,批号:GSB04-1731-2004)、铈(Rh,内标,批号:GSB04-1746-2004)标准品溶液,均由上海甄准生物科技有限公司提供,质量浓度均为50.0 mg/L;锂(Li,质谱调谐液,批号:GSB04-1734-2004)、钇(Y,质谱调谐液,批号:GSB04-1788-2004)、Co(质谱调谐液,批号:BW30014-1000-N-50)、铋(Bi,质谱调谐液,批号:GSB04-1719-2004)标准品溶液,均由北京万佳首

化生物科技有限公司提供,质量浓度均为10.0 mg/L;氢氟酸为色谱纯,硝酸为优级纯[密度( $\rho$ )=1.4 g/mL],其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 药材

25年生林下西洋参(批号:W20170501、W20170502、W20170503)、6年生园地栽培西洋参(批号:G20170501、G20170502、G20170503)干燥品,均由吉林省抚松县关东绿色生态参茸有限公司提供,经吉林大学药学院天然药物研究中心李平亚教授鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件

2.1.1 ICP-MS条件 ICP-MS仪经Li、Y、Co、Bi质谱调谐液优化。射频功率:1 350 W;采样深度:7.0 mm;载气流量:1.1 L/min;雾化室温度:2 ℃;蠕动泵转速分辨率:0.1 rps;等离子体气流量:15.0 L/min;雾化器:高盐雾化器;氧化物指标(氧化铈离子/铈) $<0.5\%$ ;双电荷指标(二价钡离子/一价钡离子) $<1\%$ 。

2.1.2 微波消解程序 消解功率:3 600 W;升温程序:190 ℃保持48 h,冷却至室温,再升温至150 ℃,保持12 h。

### 2.2 溶液的准备

2.2.1 供试品溶液 取药材样品细粉(过200目筛)0.1 g,加入聚四氟乙烯5.0 mL溶解,置于溶样弹中,加入硝酸1.0 mL、双氧水0.5 mL,置于120 ℃电热板上预处理,待液体蒸至湿盐状,加入氢氟酸1.4 mL、硝酸1.6 mL,将溶样弹加盖及钢套密闭,置于微波消解仪中,按“2.1.2”项下微波消解程序进行消解,冷却至室温后,将消解液移至聚氯乙烯样品瓶中,定容至50 mL,摇匀,备用。

2.2.2 混合标准品溶液 分别精密吸取Mn、Cr、Sr、Zn、Rb、B、Ni、Cu、V、Sn、As、Mo、Se、Co标准品溶液各适量,置于同一10 mL量瓶中,加入3%硝酸溶液逐级稀释,得质量浓度分别均为500、200、100、50、10、5、2、1、0.5、0.1  $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准品溶液。

2.2.3 混合内标溶液 分别精密吸取In、Rh标准品溶液各适量,置于同一10 mL量瓶中,加入3%硝酸溶液稀释,得质量浓度均为1.0  $\mu\text{g/L}$ 的混合内标溶液。

2.2.4 空白对照溶液 缺药材样品,按“2.2.1”项下方法制备空白对照溶液。

### 2.3 线性关系考察

分别精密量取“2.2.2”项下系列混合标准品溶液各适量,按“2.1.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值。以各待测元素质量浓度( $x, \mu\text{g/L}$ )为横坐标、各待测元素与内标(以In为内标)仪器响应值的比值( $y$ )为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

### 2.4 定量限与检测限考察

精密吸取“2.2”项下空白对照溶液和混合标准品溶

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equation and linear range

待测元素	回归方程	r	线性范围, μg/L
Mn	$y=1.355 \times 10^{-2}x-1.083 \times 10^{-2}$	0.999 8	0.1~500
Cr	$y=1.287 \times 10^{-3}x-3.178 \times 10^{-3}$	0.999 9	0.5~500
Sr	$y=1.274 \times 10^{-3}x-5.085 \times 10^{-3}$	0.999 9	0.1~500
Zn	$y=1.097 \times 10^{-3}x+7.693 \times 10^{-3}$	0.999 9	0.5~500
Rb	$y=1.029 \times 10^{-3}x-2.725 \times 10^{-2}$	0.999 9	0.5~500
B	$y=1.733 \times 10^{-3}x+6.270 \times 10^{-3}$	0.999 9	0.1~200
Ni	$y=2.815 \times 10^{-3}x-3.701 \times 10^{-3}$	0.999 9	0.5~500
Cu	$y=2.976 \times 10^{-3}x+3.054 \times 10^{-3}$	0.999 9	1~500
V	$y=1.179 \times 10^{-2}x-4.845 \times 10^{-4}$	0.999 8	0.1~500
Sn	$y=3.677 \times 10^{-3}x-1.376 \times 10^{-3}$	0.999 8	0.1~200
As	$y=1.121 \times 10^{-3}x-1.409 \times 10^{-3}$	0.999 9	0.5~500
Mo	$y=2.167 \times 10^{-3}x-4.826 \times 10^{-4}$	0.999 8	0.1~200
Se	$y=8.036 \times 10^{-3}x+5.130 \times 10^{-5}$	0.999 9	0.5~500
Co	$y=1.254 \times 10^{-2}x-1.007 \times 10^{-2}$	0.999 9	0.1~500

液适量,按“2.1.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值,以连续测定空白对照溶液仪器响应值的10倍标准偏差(10SD)对应的各待测元素质量浓度为定量限,以连续测定空白对照溶液仪器响应值的3倍标准偏差(3SD)对应的各待测元素质量浓度为检测限,结果见表2。

表2 定量限与检测限考察结果

Tab 2 Determination results of quantitation limits and detection limits

待测元素	定量限, μg/L	检测限, μg/L
Mn	0.006 7	0.001 9
Cr	0.119 5	0.034 7
Sr	0.007 6	0.002 3
Zn	0.258 3	0.075 4
Rb	0.123 5	0.036 1
B	0.041 6	0.012 0
Ni	0.120 8	0.035 1
Cu	0.564 0	0.164 4
V	0.037 5	0.010 9
Sn	0.025 5	0.007 5
As	0.135 2	0.039 8
Mo	0.031 7	0.009 3
Se	0.414 6	0.120 9
Co	0.011 8	0.003 3

2.5 精密度的试验

取“2.2.2”项下混合标准品(质量浓度为100 μg/L)溶液适量,按“2.1.1”项下ICP-MS条件连续进样测定6次,记录仪器响应值。结果, Mn、Cr、Sr、Zn、Rb、B、Ni、Cu、V、Sn、As、Mo、Se、Co仪器响应值的RSD分别为0.68%、0.96%、1.26%、0.53%、0.17%、2.07%、0.29%、2.36%、0.82%、1.06%、0.42%、1.83%、0.76%、1.52% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.1”项下供试品溶液(批号:W20170501)适量,共6份,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值。结果, Mn、Cr、Sr、Zn、Rb、B、Ni、Cu、V、Sn、As、Mo、Se、Co仪器响应值的RSD分别为1.02%、2.76%、1.87%、0.87%、1.53%、1.18%、2.84%、1.55%、2.46%、0.97%、

1.36%、2.05%、1.94%、1.59% (n=6),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取药材样品细粉(批号:W20170501)适量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值。结果, Mn、Cr、Sr、Zn、Rb、B、Ni、Cu、V、Sn、As、Mo、Se、Co仪器响应值的RSD分别为0.98%、2.53%、1.58%、0.91%、1.67%、1.28%、2.59%、1.09%、2.36%、1.88%、0.85%、2.65%、1.72%、1.58% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的药材样品细粉(批号:W20170501)共9份,每份0.05 g,分别加入各待测元素低、中、高质量浓度标准品溶液适量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 3 Results of recovery tests(n=9)

待测元素	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %			
Mn	7.491 5	4.000 0	11.911 9	98.01	100.32	1.76			
	7.408 1	4.000 0	11.860 5	98.81					
	7.394 8	4.000 0	11.399 6	100.12					
	7.483 1	8.000 0	15.610 3	101.59					
	7.420 3	8.000 0	15.630 7	102.63					
	7.391 1	8.000 0	15.679 9	103.61					
	7.427 8	12.000 0	19.370 2	99.52					
	7.424 2	12.000 0	19.349 8	99.38					
	7.420 8	12.000 0	19.329 6	99.24					
	Sr	0.192 9	0.100 0	0.291 0			98.06	99.43	1.58
		0.190 9	0.100 0	0.290 1			99.23		
		0.192 4	0.100 0	0.289 7			97.31		
		0.192 5	0.200 0	0.389 5			98.50		
		0.190 9	0.200 0	0.389 2			99.15		
		0.192 9	0.200 0	0.390 1			98.60		
0.196 3		0.300 0	0.496 2	99.97					
0.188 5		0.300 0	0.496 3	102.60					
0.191 5		0.300 0	0.495 8	101.42					
2.727 3		1.500 0	4.287 0	103.98	100.82	2.33			
2.733 6		1.500 0	4.278 5	102.99					
2.711 8		1.500 0	4.282 8	104.73					
2.719 2		3.000 0	5.691 0	99.06					
2.731 4		3.000 0	5.690 3	98.63					
2.722 7		3.000 0	5.694 8	99.07					
2.652 1	4.500 0	7.206 6	101.21						
2.784 9	4.500 0	7.209 8	98.33						
2.736 8	4.500 0	7.207 6	99.35						
Zn	2.374 8	1.000 0	3.345 6	97.08			99.25	1.63	
	2.375 7	1.000 0	3.349 6	97.39					
	2.375 3	1.000 0	3.348 1	97.28					
	2.395 2	2.000 0	4.396 4	100.06					
	2.373 0	2.000 0	4.392 6	100.98					
	2.358 1	2.000 0	4.396 1	101.90					
	2.362 1	3.000 0	5.366 6	100.15					
	2.382 4	3.000 0	5.358 7	99.21					
	2.382 7	3.000 0	5.358 7	99.20					
	Rb	0.746 5	0.500 0	1.266 2	103.91	101.47			2.16

续表3

Continued tab 3

待测元素	样品含量, $\mu\text{g}$	加入量, $\mu\text{g}$	测得量, $\mu\text{g}$	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
	0.747 6	0.500 0	1.268 8	104.28		
	0.744 0	0.500 0	1.269 0	105.01		
	0.739 9	1.000 0	1.753 0	101.31		
	0.742 8	1.000 0	1.747 9	100.52		
	0.752 3	1.000 0	1.752 1	99.97		
	0.747 3	1.500 0	2.235 1	99.18		
	0.729 1	1.500 0	2.230 2	100.06		
	0.752 6	1.500 0	2.237 2	98.96		
B	1.263 1	0.500 0	1.763 3	100.03	99.40	0.64
	1.264 2	0.500 0	1.764 8	100.11		
	1.273 1	0.500 0	1.773 3	100.04		
	1.303 1	1.000 0	2.289 7	98.66		
	1.301 7	1.000 0	2.289 0	98.73		
	1.297 2	1.000 0	2.290 3	99.31		
	1.270 2	1.500 0	2.762 7	99.50		
	1.265 8	1.500 0	2.763 7	99.86		
	1.281 2	1.500 0	2.756 2	98.33		
Ni	0.160 4	0.100 0	0.262 3	101.89	100.56	1.05
	0.161 0	0.100 0	0.262 5	101.49		
	0.161 4	0.100 0	0.262 4	100.97		
	0.161 0	0.200 0	0.359 2	99.08		
	0.159 2	0.200 0	0.359 7	100.27		
	0.162 6	0.200 0	0.359 6	98.49		
	0.160 5	0.300 0	0.463 5	100.99		
	0.159 9	0.300 0	0.463 6	101.25		
	0.162 5	0.300 0	0.464 3	100.61		
Cu	0.239 0	0.100 0	0.340 3	101.26	99.86	0.96
	0.240 8	0.100 0	0.340 8	99.98		
	0.238 9	0.100 0	0.340 7	101.76		
	0.239 2	0.200 0	0.437 6	99.18		
	0.238 7	0.200 0	0.437 4	99.34		
	0.240 8	0.200 0	0.438 4	98.78		
	0.238 8	0.300 0	0.537 5	99.58		
	0.241 0	0.300 0	0.538 1	99.02		
	0.238 3	0.300 0	0.537 8	99.84		
V	0.058 1	0.030 0	0.088 5	101.34	99.21	1.37
	0.058 3	0.030 0	0.088 4	100.50		
	0.058 9	0.030 0	0.089 2	101.16		
	0.063 3	0.050 0	0.112 7	98.76		
	0.063 5	0.050 0	0.113 0	99.07		
	0.063 6	0.050 0	0.112 7	98.27		
	0.058 5	0.080 0	0.136 6	97.58		
	0.058 0	0.080 0	0.136 8	98.53		
	0.059 2	0.080 0	0.137 3	97.68		
Sn	0.014 5	0.010 0	0.024 4	98.96	99.63	1.04
	0.014 3	0.010 0	0.024 3	100.29		
	0.014 8	0.010 0	0.024 8	100.30		
	0.014 5	0.020 0	0.034 2	98.49		
	0.014 7	0.020 0	0.034 5	98.91		
	0.014 3	0.020 0	0.033 9	97.89		
	0.014 3	0.030 0	0.044 3	99.98		
	0.014 7	0.030 0	0.045 0	100.84		
	0.014 5	0.030 0	0.044 8	101.04		
As	0.036 0	0.020 0	0.056 0	99.86	100.72	1.79
	0.036 4	0.020 0	0.056 5	100.35		
	0.035 6	0.020 0	0.056 1	102.49		
	0.035 5	0.040 0	0.075 6	100.31		

续表3

Continued tab 3

待测元素	样品含量, $\mu\text{g}$	加入量, $\mu\text{g}$	测得量, $\mu\text{g}$	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
	0.036 0	0.040 0	0.075 7	99.17		
	0.037 0	0.040 0	0.076 1	97.87		
	0.035 3	0.060 0	0.097 1	102.97		
	0.034 8	0.060 0	0.097 0	103.65		
	0.037 9	0.060 0	0.097 8	99.77		
Mo	0.062 0	0.030 0	0.093 3	104.20	101.58	1.76
	0.063 0	0.030 0	0.093 8	102.58		
	0.062 2	0.030 0	0.093 4	104.02		
	0.066 8	0.050 0	0.118 2	102.87		
	0.068 3	0.050 0	0.118 5	100.46		
	0.067 8	0.050 0	0.117 9	100.27		
	0.062 1	0.080 0	0.142 0	99.93		
	0.063 2	0.080 0	0.142 3	98.89		
	0.061 3	0.080 0	0.142 1	100.97		
Se	0.055 7	0.030 0	0.085 5	99.43	99.49	1.30
	0.055 9	0.030 0	0.085 3	98.03		
	0.056 3	0.030 0	0.086 0	98.94		
	0.060 6	0.050 0	0.110 1	99.10		
	0.061 3	0.050 0	0.110 4	98.24		
	0.060 9	0.050 0	0.110 1	98.46		
	0.286 3	0.080 0	0.368 0	102.14		
	0.056 4	0.080 0	0.136 4	99.96		
	0.056 0	0.080 0	0.136 9	101.11		
Co	0.014 9	0.010 0	0.025 3	103.85	103.54	1.42
	0.015 3	0.010 0	0.025 7	104.01		
	0.016 0	0.010 0	0.026 4	103.54		
	0.015 5	0.020 0	0.035 7	101.25		
	0.014 9	0.020 0	0.035 4	102.56		
	0.015 9	0.020 0	0.036 3	101.89		
	0.015 6	0.030 0	0.046 8	104.16		
	0.016 0	0.030 0	0.047 2	103.98		
	0.014 7	0.030 0	0.046 7	106.65		

## 2.9 药材样品中微量元素的含量测定

取6批药材样品细粉各适量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下ICP-MS条件进样测定,平行测定3次,记录仪器响应值并计算药材样品中微量元素的含量,结果见表4。

表4 药材样品中微量元素的含量测定结果( $n=18, \mu\text{g/g}$ )Tab 4 Results of content determination of microelements in samples ( $n=18, \mu\text{g/g}$ )

待测元素	林下西洋参	园地栽培西洋参
Mn	148.600 0 $\pm$ 0.130 0	65.190 0 $\pm$ 0.150 0
Cr	3.836 0 $\pm$ 0.025 0	3.009 0 $\pm$ 0.107 0
Sr	54.530 0 $\pm$ 0.130 0	26.960 0 $\pm$ 0.170 0
Zn	47.370 0 $\pm$ 0.150 0	31.680 0 $\pm$ 0.160 0
Rb	14.850 0 $\pm$ 0.080 0	6.277 0 $\pm$ 0.134 0
B	25.230 0 $\pm$ 0.360 0	11.720 0 $\pm$ 0.160 0
Ni	3.240 0 $\pm$ 0.032 0	8.257 0 $\pm$ 0.017 0
Cu	4.775 0 $\pm$ 0.024 0	9.433 0 $\pm$ 0.043 0
V	1.278 0 $\pm$ 0.017 0	0.664 4 $\pm$ 0.002 1
Sn	0.288 2 $\pm$ 0.002 4	0.225 7 $\pm$ 0.002 8
As	0.714 7 $\pm$ 0.005 3	0.522 4 $\pm$ 0.002 0
Mo	1.386 0 $\pm$ 0.030 0	0.135 7 $\pm$ 0.010 5
Se	1.229 0 $\pm$ 0.068 0	0.983 7 $\pm$ 0.004 3
Co	0.303 4 $\pm$ 0.004 5	0.218 6 $\pm$ 0.003 3

### 3 讨论

本研究采用ICP-MS法同时测定了林下西洋参和园地栽培西洋参中Mn、Cr、Sr、Zn、Rb、B、Ni、Cu、V、Sn、As、Mo、Se、Co等14种微量元素的含量,方法学验证结果表明该方法灵敏度高、准确性好,可用于同时测定样品中14种微量元素的含量。

研究表明,林下西洋参和园地栽培西洋参中均以Mn元素(148.600 0  $\mu\text{g/g}$  vs. 65.190 0  $\mu\text{g/g}$ )含量最高。园地栽培西洋参中Ni和Cu元素含量高于林下西洋参,约为林下西洋参的2~3倍;而林下西洋参中其余12种元素(Mn、Cr、Sr、Zn、Rb、B、V、Sn、As、Mo、Se、Co)含量均高于园地栽培西洋参,其中前者所含的Mn、Sr、B元素含量约为后者的2倍,Mo元素含量约为后者的10倍。这说明,两种生长环境下的西洋参中微量元素的含量存在较大差异,总体上林下西洋参较园地栽培西洋参中微量元素的含量更高,提示生长环境对西洋参的成分有较大影响。

Mn元素可参与多种酶的合成与激活过程,能促进细胞内脂肪的氧化,降低肝内的脂肪含量,加快蛋白质代谢和维生素B、维生素C及骨质合成,对心血管系统的正常生理功能具有重要的作用<sup>[12]</sup>;此外,Mn元素还能调节内分泌系统,提高机体的免疫功能,其缺乏与多种疾病的发生密切相关<sup>[13-14]</sup>。

Sr元素在中药材中广泛存在,其生物活性与骨骼形成、机体代谢、心血管系统疾病预防等相关<sup>[15]</sup>。Sr元素被吸收后可直接参与体内的钙代谢,对生骨、壮骨以及维持骨骼功能具有重要作用;此外,Sr元素还可控制人体对钠的过度吸收,从而对高血压、冠心病等疾病有一定的预防作用<sup>[16-17]</sup>。

有研究表明,Zn元素可协同其他微量元素作用于造血系统的不同环节,促进造血,从而可有效治疗贫血<sup>[18]</sup>;此外,Zn元素还参与人体多种酶的形成、激活和体内大分子物质的合成及代谢,可通过影响细胞生长、分裂和分化而促进儿童生长、发育<sup>[19-20]</sup>。

有研究认为,B元素发挥生物活性的重要途径可能为其能促进体内许多重要激素和酶的表达及分泌<sup>[21]</sup>;同时,B元素与维生素D<sub>3</sub>、氨基酸、蛋白质、脂肪等代谢过程密切相关,具有抗骨质疏松、抗炎、降血脂等作用,尤其对生殖健康有重要影响<sup>[22]</sup>。

Cr元素能维持机体正常的糖和脂类代谢;Ni元素可促进体内铁的吸收,刺激造血功能及红细胞再生;Sn元素对骨和牙齿的生长及正常功能的维持有重要作用;Co元素的缺失会引起巨细胞性贫血,影响蛋白质、氨基酸、辅酶及脂蛋白的合成;Rb、Cu、V、As、Mo、Se等元素可参与合成体内多种酶及生物活性蛋白,参与物质和能量代谢<sup>[23]</sup>。

综上所述,本方法灵敏度高、准确性好,可用于同时测定林下西洋参和园地栽培西洋参中14种微量元素的含量;林下西洋参和园地栽培西洋参中14种微量元素含量差异显著,总体上林下西洋参较园地栽培西洋参中微

量元素的含量更高,表明两种生长环境对西洋参的成分影响较大。

### 参考文献

- [1] 侯远生,张旭梅.必需微量元素药物的应用现状及展望[J].中国药房,1990,1(5):24-25.
- [2] 王丽娟,刘菊林.微量元素对人体健康的作用[J].临床合理用药杂志,2013,6(8):63-63.
- [3] 夏敏.必需微量元素与人体健康[J].广东微量元素科学,2003,10(1):11-16.
- [4] 陈启军,汪家全,于慧.微量元素与人体健康[J].现代职业教育,2016(24):113.
- [5] 卓丹如,阙慧卿,章宁,等.不同粉碎度野生西洋参人参皂苷Rb<sub>1</sub>的体外溶出度研究[J].药物评价研究,2013,36(5):374-376.
- [6] CASE MA, FLINN KM, JANCAITIS J, et al. Declining abundance of American ginseng (*Panax quinquefolius*, L.) documented by herbarium specimens[J]. *Biological Conservation*, 2007, 134(1):22-30.
- [7] 王铁生.美国野生西洋参及其复方制剂营销概况[J].人参研究,2006,18(3):8-10.
- [8] 林红强,李平亚,刘金平.野生西洋参鉴别、化学成分及药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2017,29(12):2157-2162.
- [9] CHANDLER JL, MCGRAW JB. Variable effects of timber harvest on the survival, growth, and reproduction of American ginseng (*Panax quinquefolius*, L.) [J]. *Forest Ecology & Management*, 2015, 344:1-9.
- [10] ELXA MC, SLOVER C, MCGRAW JB. Analysis of wood thrush (*Hyllocichla mustelina*) movement patterns to explain the spatial structure of American ginseng (*Panax quinquefolius*) populations[J]. *Ecological Research*, 2016, 31(2):1-7.
- [11] 万红娇,谢燕飞,谢斌,等.16SrDNA-RFLP分析不同产地人参内生菌的多态性[J].江西中医药大学学报,2015,27(5):51-54.
- [12] 沈炜东,杨晓美.微量元素锰与医学相关性的国内研究[J].实用医药杂志,2004,21(7):660-662.
- [13] 黄维钱.海南特色中药及药对中微量元素猛(Mn)的形态分析及生物利用性评估[D].海口:海南大学,2012.
- [14] 吴现芳,赵成爱,孙辉,等.微量元素锰在新疆6种红景天中的含量及其与人体健康[J].世界元素医学,2011,18(3):21-26.
- [15] 李桃,詹晓黎.微量元素锡与健康[J].广东微量元素科学,2003,10(11):7-12.
- [16] 赵金,邹学正.微量元素锶在中医药中的作用[J].贵阳中医学院学报,1991(1):4-6.
- [17] 王成海.人体必需微量元素的作用[J].中学生物学,2005,21(2):8-8.
- [18] 胡焰,韩光宇,王健.微量元素锌与人体健康初探[J].当代医学,2011,17(31):152-153.
- [19] 曹继琼,何长华.锌缺乏对人体健康的影响[J].现代医药卫生,2014,30(7):1016-1019.

# 马来酸噻吗洛尔滴眼液中有关物质的测定及杂质定性研究<sup>Δ</sup>

刘荷英\*,程奇珍#,周敏,易巧(江西省药品检验检测研究院/江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心,南昌 330029)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)16-2208-07  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.16.11

**摘要** 目的:建立测定马来酸噻吗洛尔滴眼液中有关物质的方法,并对其杂质进行定性。方法:采用高效液相色谱法测定有关物质的含量,色谱柱为 ACES C<sub>18</sub>,流动相为甲醇与 4.32 g/L 辛烷磺酸钠溶液(冰醋酸调 pH 至 3.0)的混合溶液(50:50, V/V)-甲醇(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 295 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 20 μL。采用制备液相色谱法制备杂质纯品,色谱柱为 YMC-PACK ODS-A,流动相为甲醇-0.01% 三氟乙酸(40:60, V/V)和甲醇-0.01% 三氟乙酸(20:80, V/V),流速为 8 mL/min,检测波长为 295 nm,柱温为 20 ℃,进样量为 0.8 mL。采用液相色谱串联质谱法进行结构推测,色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-5 mmol/L 甲酸铵溶液(含 0.05% 甲酸)(梯度洗脱),流速为 0.2 mL/min,柱温为 20 ℃,进样量为 2 μL;采用电喷雾离子源,以质谱全扫描模式检测母离子,以子离子扫描模式检测碎片离子。采用氢谱、碳谱进行结构确证和推测。结果:马来酸噻吗洛尔检测质量浓度线性范围为 0.501~10.02 μg/mL( $r=0.999\ 9$ );定量限为 3.012 ng,检出限为 1.004 ng;精密度的 RSD 为 0.2%,稳定性和重复性试验的 RSD 均小于 5%。确证了杂质 I、II、III 的结构,并推测了杂质 IV 和 V 的结构。结论:该方法快速、准确、专属性好,可用于马来酸噻吗洛尔滴眼液的质量控制。

**关键词** 马来酸噻吗洛尔;有关物质;降解杂质;高效液相色谱法;制备液相色谱;液相色谱串联质谱法;氢谱;碳谱;测定;结构推测

## Determination of Related Substance and Impurities Qualitative Study of Timolol Maleate Eye Drops

LIU Heying, CHENG Qizhen, ZHOU Min, YI Qiao (Jiangxi Institute for Drug Control/Jiangxi Provincial Engineering Research Center for Drug and Medical Device Quality, Nanchang 330029, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in Timolol maleate eye drops, and to conduct qualitative analysis of its degradation impurities. METHODS: HPLC method was adopted for determination of related substance. The determination was performed on ACES C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of the mixed solution of methanol and 4.32 g/L sodium octane sulfonate (pH adjusted to 3.0 with glacial acetic acid) (50:50, V/V)-methanol (gradient elution) at flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 295 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 20 μL. Preparative LC method was used to prepare pure impurities. The determination was performed on YMC-PACK ODS-A column with mobile phase consisted of methanol-0.01% trifluoroacetic acid (40:60, V/V) and methanol-0.01% trifluoroacetic acid (20:80, V/V) at flow rate of 8 mL/min. The detection wavelength was set at 295 nm, and column temperature was 20 ℃. The sample size was 0.8 mL. LC-MS/MS method was adopted. The determination was performed on Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-5 mmol/L ammonium formate (0.05% formic acid) (gradient elution) at flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was 20 ℃. The sample size was 2 μL. The electrospray ionization source was conducted, detecting parent ion by MS full scan and fragment ion by daughter ion scan. The structure was confirmed and speculated by <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. RESULTS: The linear range of timolol maleate was 0.501-10.02 μg/mL ( $r=0.999\ 9$ ). The limit of quantitation was 3.012 ng, and the limit of detection was 1.004 ng. RSD of precision test was 0.2%. RSDs of stability and reproducibility tests were all lower than 5%. The structures of impurity I, II and III were confirmed, and those of impurity IV and V were speculated. CONCLUSIONS: The method is rapid, accurate and specific. It can be used for the determination of related substance in Timolol maleate eye drops.

**KEYWORDS** Timolol maleate; Related substance; Degradation impurity; HPLC; Preparative LC; LC-MS/MS; <sup>1</sup>H-NMR; <sup>13</sup>C-NMR; Determination; Structure speculation

[20] 刘月新,党玉洁,邹茜. 四物汤传统汤剂中微量元素含量测定[J]. 亚太传统医药,2016,12(24):27-29.

Δ 基金项目:国家药品评价抽验计划质量评价分析项目;江西省食品药品监督管理局科技计划项目(No.2015yp11)

\* 主管药师,硕士研究生。研究方向:药物分析。电话:0791-88158656。E-mail:276553071@qq.com

# 通信作者:主任药师。研究方向:药物分析。电话:0791-88158656。E-mail:cqz1110@sina.com

[21] 刘雨田,郭中文. 微量元素硼的营养研究进展[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报,2000,20(4):265-266.

[22] 谢伟,徐国茂,叶琴. 微量元素硼与人体健康[J]. 微量元素与健康研究,2010,27(1):65-66.

[23] 曾琦斐. 微量元素与人体健康[J]. 中国科技信息,2008. DOI:10.3969/j.issn.1001-8972.2008.03.101.

(收稿日期:2018-03-06 修回日期:2018-06-14)

(编辑:陈宏)