

ICP-MS 半定量检测在天然产物中应用探索

石文杰*, 杨清山, 周丽, 程远欣, 张欢欢

晨光生物科技集团股份有限公司, 河北 057250

摘要: 本文开发了一种适用于天然产物的 ICP-MS 半定量检测方法, 通过在样品测试液中标定的方法校正半定量因子, 达到减少基质影响的目的。优化了稀释倍数和加标浓度, 该方法测定值与标准值偏差在 $\pm 1 \sim 25\%$ 之间。该方法简便快捷、不受标准物质限制, 适用于天然产物等复杂基质样品的半定量检测。通过此方法可以很好的鉴别天然番茄红素和合成番茄红素, 鉴别不同产地金银花, 并实现对不同产地金银花中危害元素的快速监测。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS); 加标校正; 半定量; 天然产物; 应用探索

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.020

Application and Exploration of ICP-MS Semi-quantitative method in Nature Product

SHI Wen-jie*, YANG Qing-shan, ZHOU Li, CHENG Yuan-xin, ZHANG Huan-huan

Chenguang Biotech Group Co., Ltd, Hebei 057250, China

Abstract: This paper developed one ICP-MS semi-quantitative method suitable for nature products which have complex matrix; it reduces the affect of the matrix by correcting the semi-quantitative factor with sample solution. The relative deviation is between $\pm 1-25\%$ after optimize the dilution ratio and the concentration of adding standard element. The method is simple, rapid, and not limited by standard substance. It is very helpful to identify nature lycoropene and synthetic lycoropene, honeysuckle origin identification, Heavy metal and harmful element survey.

Key words: inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); standard addition calibration; semi-quantity; nature product; application and exploration

植物提取物是以植物为原料, 经过物理化学提取分离过程, 定向获取和浓集植物中的某一种或多种有效成分。目前广泛应用于营养补充剂、保健食品、天然着色剂、化妆品等行业。用于提取的原料植物种类也非常多, 目前进入工业提取的植物品种在 300 种以上。近年来, 植物提取物在全球市场上均表现出强劲的增长势头。我国提取物产业已经发展成为一个以天然提取物为核心, 以中药提取物为特点, 并包容了源自世界各地的植物提取物的现代产业。但是天然提取物行业也面临着很多问题, 如产品原料和产品掺假及非法添加, 重金属残留等食品安全等问题。

电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)分析技术是近几十年发展最快的无机微量元素和痕量元素分

析技术之一, 可以同时测定样品中多种元素的含量。^[1-7] ICP-MS 提供了一种非常快速的半定量模式, 不需要标准物质的校准就可以测量一个样品中大约 75 种元素的浓度。^[8,9] 半定量分析目前在食品和水质应急检测中发挥了较大作用。^[10,11] 半定量分析的原理主要是通过部分元素响应来校正仪器对整个质量轴元素的灵敏度。并以此为基础, 来对其他元素浓度进行估算。^[12,13]

目前 ICP-MS 半定量分析主要在水质和食品中应用, 在天然产物中应用主要是产地溯源, 多数采用的是全定量检测。天然产物中元素信息丰富, 半定量检测可以得到更多的元素信息, 比全定量更有优势。本文开发一种适合天然产物半定量检测方法, 并对其在天然产物中的应用进行初步的探索。

1 仪器与材料

1.1 仪器

安捷伦 7900ICP-MS, 微波消解仪 WX8000 (上

海屹尧科技),分析天平(感量 0.0001g, AUY220, SHIMIDAZ),智能控温电热器 DKQ-1000(上海屹尧科技)。

1.2 试剂

硝酸(优级纯,上海安谱实验科技股份有限公司),过氧化氢(优级纯,天津大茂化学试剂),超纯水(屈臣氏,瓶装蒸馏水)。

内标液:200 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Bi, Ge, In, Li, Lu, Rh, Sc, Tb, 安捷伦)。

调谐液:1 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Ce, Co, Li, Mg, Ti, Y, 安捷伦)。

重金属单标溶液:铍 Be、钪 Sc、锗 Ge、钇 Y、

钌 Ru、锑 Sb、铪 Hf、钽 Ta、金 Au、银 Ag、镉 Cd、钒 V、钴 Co;10mg/L;(中国计量科学研究院)。

标准比对物质,生物成分分析标准物质-胡萝卜 GBW10047(GSB-25)(地球物理地球化学勘查研究所 IGGE)。

2 实验方法

2.1 仪器条件

准备好仪器测试条件后,用 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的调谐液对仪器性能进行自动调谐,保证仪器灵敏度尽可能高,确保仪器工作条件最佳。仪器详细工作条件见表 1。

表 1 仪器工作参数

Table 1 Operating parameters of instrument

工作参数 Operating parameters	设定值 Set point	工作参数 Operating parameters	设定值 Set point
功率 Power	1 550 W	雾化器 Atomizer	同心雾化器
反射功率 reflection power	< 2 W	雾室 Frog room	玻璃旋流雾化室
载气 Carrier gas	1.05 L/min	重复次数 Times of repetition	1
辅助气流速 Flow velocity of auxiliary gas	0.90 L/min	测点数 Points number	3
冷却气流速 Flow velocity of cooling gas	15.0 L/min	采样深度 Sampling depth	8 mm
调谐模式 Tuning mode	HE	雾室温度 Temperature of frog room	2 $^{\circ}\text{C}$
采样模式 Sampling mode	半定量	氧化物(156/140) Oxide	< 2%
积分时间 Integral time	0.1 s	双电荷(70/140) Double charge	< 3%

2.2 样品处理

准确称取待测样品 0.2 g 于密闭聚四氟乙烯消解管中,精密加入硝酸 5 mL,过氧化氢 1 mL。盖好内盖,旋紧外盖至于微波消解仪中。若样品反应激烈,需要先在自动加热器预消解 1 h,然后微波消解仪中进行消解。按照预先设定好的微波消解程序进

行消解(表 1)。待完成消解,冷却至室温后,打开消解罐,将聚四氟乙烯管放到智能控温加热器上将酸赶走,自动加热器的温度为 150 $^{\circ}\text{C}$ 。将样品冷却到室温,用纯净水稀释到合适倍数后再 ICP-MS 上进行半定量检测。

表 2 微波消解程序

Table 2 Procedure of microwave digestion

步骤 Step	温度 Temperature($^{\circ}\text{C}$)	压力 Pressure(atm)	保持时间 Time(min)
1	80	0.5	2
2	100	10	3
3	130	15	5
4	160	26	10
5	180	30	15

2.3 半定量方法

2.3.1 加标元素的选择

首先调整仪器到最佳检测状态,仪器出厂时已

经为各元素设置了半定量因子,使用此响应因子对未知的天然产物消化后的稀释液进行半定量测量,得到不同天然产物中各元素的大概浓度。根据检测

结果,选择试样液中含量不显著的元素进行加标,不同基质选择的加标元素不一样。本文分别对番茄红

素、辣椒红、叶黄素、金银花、丹参和胡萝卜粉 6 种不同基质天然产物和原料进行了测定,结果见表 3。

表 3 不同基质中的加标元素本底含量

Table 3 Adding standard element concentration in Deferent Matrix

元素 Element	番茄红素 Lycopene ($\mu\text{g}/\text{L}$)	辣椒红 Paprika oleoresin ($\mu\text{g}/\text{L}$)	叶黄素 Lutein ($\mu\text{g}/\text{L}$)	金银花 Honeysuckle ($\mu\text{g}/\text{L}$)	丹参 Salvia ($\mu\text{g}/\text{L}$)	胡萝卜 Carrot powder ($\mu\text{g}/\text{L}$)
铍 Be	0.8	0.01	-	1	0.8	0.2
钪 Sc	0.1	0.01	0.02	3.5	2	0.3
锆 Ge	0.5	0.2	0.1	-	-	0.06
铪 Y	0.7	-	-	3	1.5	-
钌 Ru	0.003	0.02	0.007	0.002	0.003	0.005
钒 V	-	1	0.4	-	-	-
锑 Sb	0.6	0.001	0.001	0.04	0.04	0.15
钴 Co	-	0.5	0.5	-	-	0.5
铪 Hf	0.01	0.001	0.001	0.02	0.02	0.01
钽 Ta	0.005	0.001	0.001	0.004	0.004	0.005
金 Au	0.006	0.005	0.005	0.001	0.001	0.001
银 Ag	0.01	0.001	0.001	0.01	0.02	0.001
镉 Cd	0.4	0.04	0.04	-	-	3.4

注:“-”表示样品测试液中该元素含量本底值大于 $10\mu\text{g}/\text{L}$, 不适合做加标。

Note:“-”mean the element is more than $10\mu\text{g}/\text{L}$ in this matrix that it is not suitable to be added.

各基质中钪 Sc、钌 Ru、锑 Sb、铪 Hf、钽 Ta、金 Au、银 Ag 等含量均较少。选择各测试液中含量小于 $10\mu\text{g}/\text{L}$ 的元素进行加标,加标浓度为 $100\mu\text{g}/\text{L}$ 。然后将加标后的测试液作为标准样品来校正半定量响应因子。

2.3.2 测试液稀释倍数的确定

把消化完毕的番茄红素测试液分别稀释 10、25、50、100 倍,并分别加入铍 Be、钪 Sc、锆 Ge、铪 Y、钌 Ru、锑 Sb、铪 Hf、钽 Ta、金 Au、银 Ag、镉 Cd 标准溶液,使各测试液中加标浓度为 $100\mu\text{g}/\text{L}$ 。检测并计算加标回收率,结果见表 4。

表 4 番茄红测试液稀释倍数对加标回收率影响

Table 4 Recovery of adding standard element under different dilution ratio

元素名称/加标量 Element / Dilution ratio	10	25	50	100
铍 Be	132	127	108	105
钪 Sc	89	92	101	107
锆 Ge	74	85	98	104
铪 Y	85	94	103	99.8
钌 Ru	84	96	100.5	103
银 Ag	98	98	102	102
镉 Cd	96	104	104	104
锑 Sb	125	122	107	107
铪 Hf	85	89	92	88
钽 Ta	91	93	95	95
金 Au	72	81	94	100

检测结果表明,样品测试液稀释浓度对加标回收率有影响。当番茄红素测试液稀释 50 倍时,各加标元素的回收率较好。

2.3.3 加标浓度的确定

把消化完毕的番茄红素测试液稀释 50 倍,分别

加入铍 Be、钪 Sc、锗 Ge、钇 Y、钌 Ru、锑 Sb、铪 Hf、钽 Ta、金 Au、银 Ag、镉 Cd 标准溶液,使测试液中各加标元素浓度分别为 10、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 。检测并计算加标回收率见表 5。

表 5 番茄红素中不同加标浓度回收率

Table 5 Recovery of adding standard element at different concentration

元素名称/加标量 Element/Standard Con	10($\mu\text{g/L}$)	50($\mu\text{g/L}$)	100($\mu\text{g/L}$)	200($\mu\text{g/L}$)
铍 Be	151	119	108	105
钪 Sc	132	107	101	107
锗 Ge	89	104	98	104
钇 Y	96	99.8	103	99.8
钌 Ru	84	100.5	100.5	100.5
银 Ag	98	102	102	102
镉 Cd	96	104	104	104
锑 Sb	121	107	107	107
铪 Hf	85	102	92	102
钽 Ta	98.5	98.5	95	98.5
金 Au	100	100	94	100

检测结果表明,加标浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 时,加标回收率较好。加标浓度过低,受到的干扰会大。但加标元素的浓度过高,则会失去对低信号值的校正作用^[15],此外加入内标元素过多也会增加污染的机会。

2.3.4 加标浓度的确定

向 50 mL 番茄红测试液中加入 5 mL 浓度 10 mg/L 的铍 Be、钪 Sc、锗 Ge、钇 Y、钌 Ru、锑 Sb、铪 Hf、钽 Ta、金 Au、银 Ag、镉 Cd 标准溶液,测试液中各加标元素浓度为 100 $\mu\text{g/L}$,对仪器半定量因子校正结果见图 1。

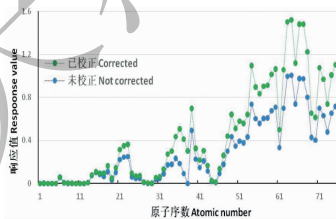


图 1 番茄红素测试液校正半定量因子

Fig. 1 Graph of semi quantitative factor correction of lycopene matrix

2.3.5 样品测定

天然提取物作为着色剂、调味剂、防腐剂等已经

广泛应用在生活中,准确的定性定量分析食品中的非法添加剂对食品安全有重要意义。辣椒红是从辣椒中提炼出来的天然红色素。分别使用上述半定量检测方法和全定量检测方法检测辣椒红,检测结果见表 6:

按上面半定量检测方法检测标准比对物质,生物成分分析标准物质-胡萝卜 GBW10047 (GSB-25) (地球物理地球化学勘查研究所 IGGE) 检测结果如下:

通过对不同基质的样品进行半定量检测,本方法的检测结果与全定量检测结果的误差在 $\pm 1 \sim 25\%$ 。表明该方法结果准确可靠,快速方便。

2.4 半定量方法优化讨论

目前半定量检测方法主要应用在水质检测方面,在食品和陶瓷等方面也有应用,采用的半定量因子校正方法主要是使用标准溶液直接校正^[10,11]。天然产物基质复杂,使用标准溶液直接校正半定量因子检测偏差大。在电感耦合等离子质谱的实际应用过程中,基体效应的影响被称为 ICP-MS 多元素分析的瓶颈。^[14]基体效应可能会对信号产生增强或抑制作用,仪器的灵敏度随样品基体的不同而有变化。天然产物基质复杂,采用试样溶液加标校

表 6 全定量和半定量的结果对比

Table 6 Comparison between full quantitative and semi-quantitative methods

元素 Element	全定量检测值 Standard value ($\mu\text{g}/\text{L}$)	半定量检测值 Semi-quantitative measured result ($\mu\text{g}/\text{L}$)	偏差 1 Deviation //%
锂 Li	323	362	11.4
钠 Na	187000	167241	-11.2
镁 Mg	257000	256600	-0.2
铝 Al	119000	119410	0.3
钾 K	1648000	1541000	-6.7
钙 Ca	69400	62145	-11.0
钒 V	110	112	1.8
铬 Cr	961	975	1.4
锰 Mn	5021	4988	-0.7
铁 Fe	80421	77428	-3.8
钴 Co	54	52	-3.8
镍 Ni	583	671	14.0
铜 Cu	1180	1148	-2.7
锌 Zn	2826	2913	3.0
砷 As	160	131	-19.9
硒 Se	405	381	-6.1
银 Ag	1	1	-3.3
镉 Cd	43	38.2	-11.8
钡 Ba	2252	2308	2.5
铅 Pb	187	209	11.1
铋 Bi	2422	2341	-3.40

表 7 标准物质半定量的结果与标准值比较

Table 7 Comparison between standard substance and semi-quantitative methods value

元素名称 Element	标准值 Standard value ($\mu\text{g}/\text{L}$)	半定量测定值 Semi-quantitative Determination result ($\mu\text{g}/\text{L}$)	偏差 Deviation (%)
Be	6.5	5.1	-24
Na	65000	61002	-6
Mg	9100	8191	-11
Al	(46000)	50650	10
K	108000	101451	-6
Ca	25500	24829	-3
V	210	203.8	-3
Cr	1040	1215	16
Mn	12100	11590	-4
Fe	1480	1516	2
Co	66	82.5	22
Ni	670	703	5

续表 7 (Continued Tab. 7)

元素名称 Element	标准值 Standard value ($\mu\text{g}/\text{L}$)	半定量测定值 Semi-quantitative determination result ($\mu\text{g}/\text{L}$)	偏差 Deviation (%)
Cu	4100	4123	1
Zn	11200	10506	-6
As	110	131	17
Se	31	36	15
Mo	100	95	-5
Ag	6	7.3	20
Cd	34	41	19
Sb	15	18.5	21
Ba	24000	22457	-7
Ti	10.7	11.5	7
Pb	430	464	8
Th	28	33	16
U	9.8	12.1	21

正半定量因子的方法可以最大限度的减少天然产物复杂基质的影响。这一方法的缺点是,每次做不同基质的样品都要进行加标校正。

采用试样溶液加标校正半定量因子时除了考虑样品中不含显著量的加标元素外,还必须注意与加标元素具有相同荷质比的干扰元素,一般可以通过仪器调谐减少双电荷干扰,利用碰撞反应池技术消除多原子干扰及氧化物干扰的影响。加标元素浓度大小应合适,加标浓度过低,受到的干扰会大。但加标元素的浓度过高,则会失去对低信号值的校正作用^[15],增加污染的机会。另外要充分考虑样品的基体效应,可对样品适当稀释后进行加标。^[15]

3 应用探索

3.1 天然产物真伪鉴别

番茄红素属于类胡萝卜素的一种。其抗氧化性能在所有类胡萝卜素中是最强的,它清除单线态氧的能力是常用抗氧化剂维生素 E 的 100 倍,是 β -胡萝卜素的 2 倍以上;它的保健功能覆盖了延缓衰老、预防癌症、增强肌体免疫能力、改善动脉粥样硬化以及美容、美肤、防紫外线辐射等多个方面。目前番茄红素的生产方式有:从番茄酱中提取、化学合成、生物工程生产等方法。天然植物提取的优势在于产品完全为自然状态,存在天然异构体组分,大众接受度高,更安全。目前关于天然番茄红素和合成番茄红素鉴别方法主要是通过液相色谱,如刘沐霖、惠伯棣

等利用 C18-HPLC 分析两者的类胡萝卜素组成,鉴定天然产物中番茄红素合成的前体和后体。

本文利用 ICP-MS 半定量检测方法对天然番茄红素和合成番茄红素进行了检测,发现合成番茄红素和天然番茄红素元素组成差别非常明显,尤其是 V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Mo 等元素。

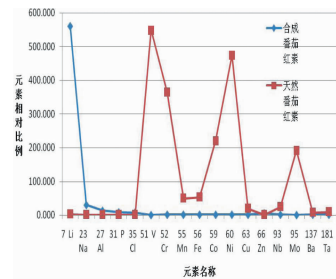


图 2 天然番茄红素和合成番茄红素元素差异

Fig. 2 The difference of element between nature lycopene and synthetic lycopene

从图中可以看到,天然番茄红素与合成番茄红素有明显的元素差异,化学合成的番茄红素微量元素不如天然番茄红素的元素丰富。使用合适的化学统计方法,可以很方便的对天然番茄红素和合成番茄红素建立鉴别方程进行鉴别。

3.2 天然产物产地鉴别

关于利用 ICP-MS 进行产地鉴别和品种鉴别已有较多报道,如韩深等研究的赤霞珠葡萄酒中矿质元素分布特征及在产地鉴别中的应用。曹晨等研究

的不同产地不同品种细辛药材的无机元素分析,张龙等基于矿质元素检测杭白菊产地溯源等。但是利用 ICP-MS 半定量检测进行产地鉴别的报道还未见到,实际上天然产物元素组成复杂多样,半定量检测在产地鉴别中优势比全定量检测更加明显。本文对巨鹿、禹州和濮阳三个产地的金银花进行了半定量检测,然后在 SPSS 软件中进行聚类分析,结果如图 3 所示。

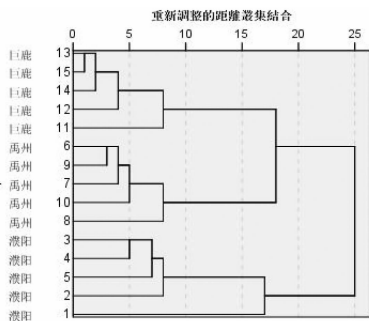


图 3 不同产地金银花半定量检测后聚类分析结果

Fig. 3 Result of cluster analysis of difference origin honeysuckle

由图 3 可知,3 个产地的金银花聚类效果较好。天然产物元素分布特征与产地密切相关,通过元素分布特征鉴别产地已经比较成熟。半定量检测获得的元素信息比全定量检测更多,更全面,而且检测更迅速,在天然产物产地鉴别中应用中有较大用途。

3.3 重金属安全快速监控

中药是中国传统医学特有的药物,人类对它的利用和使用已经有数千年的历史。作为用以防病、治病的特殊商品,中药因其无毒副作用的自然属性、显著的疗效、独特的治疗机理、浩瀚的文献史料屹立于世界医学之林,成为人类医学宝库的共同财富。然而,近些年来对常用药材、饮片等品种中重金属含量的检测表明,部分品种中重金属含量超标问题已不容忽视。经统计发现,全国常用的 300 余种中药材中,很多品种的生药重金属含量经检测远超世

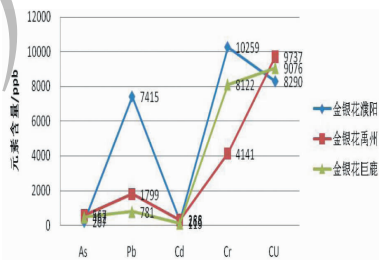


图 4 不同产地金银花半定量检测危害元素

Fig. 4 Result of harmful element of difference origin honeysuckle

界卫生组织的基线值。因此,重要原料和产品中重金属元素的快速准确定性和定量检测十分重要。

图 4 是对市场上不同产地金银花中重金属做的快速检测,发现濮阳的金银花 Pb 和 Cr 含量都比较高,另外三个产地中的 Cu 含量也都比较高。通过半定量检测可以快速、准确的得到原料和和产品中不同元素的大致含量,对于原料的筛选,产品的质量控制在有很大帮助。

4 结论

本文开发了一种适用于天然产物的 ICP-MS 半定量检测方法,通过在样品测试液中标定的方法校正半定量因子,达到减少基质影响的目的。通过优化稀释倍数和加标浓度,本方法与标准值的检测误差在 $\pm 1 \sim 25\%$ 。该方法简便快捷、不受标准物质限制,适用于天然产物等复杂基质样品的半定量检测。通过本方法可以很好的鉴别天然番茄红素和合成番茄红素,鉴别不同产地金银花,并实现对不同产地金银花中危害元素的快速监测。与全定量检测相比,ICP-MS 半定量检测检测速度快,得到的元素信息多。尤其在天然产物的真伪辨别,产地鉴别,危害快速监控等方面的优势更加明显。

参考文献

- Liu GH (刘贵华), Xie JB (谢建滨), *et al.* Analysis of multi elements in drinking water by inductively coupled plasma spectrometry and mass spectrometry. *Health Res* (卫生研究), 2000, 29: 359-361.
- Chen XY (陈雪云), Liu LP (刘丽萍). Determination of 16 elements in water by ICP-MS. *World Sci Technol Res Devel* (世界科技研究与发展), 2008, 30: 143 (146).
- Lian XW (连晓文), Yang XH (杨秀环), Liang XX (梁旭霞). ICP-MS method for the rapid determination of 11 trace elements in wine. *Chin J Health Ins* (中国卫生检验杂志), 2005, 15: 925 (927).
- Li B (李冰), Yang HX (杨红霞). Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in the study of geo science. *Lead Edge* (地学前缘), 2003, 10: 367-377.
- Peng B (彭博), Lin WX (林维宣), Wang YP (王玉萍). Determination of the distribution of heavy metals in fruits by ICP-MS. *Chin J Anal Lab* (分析实验室), 2008, 27: 167-169.
- Jenner GA, Longrich HP, Jackson SE, *et al.* ICP-MS-A powerful tool for high precision trace element analysis in Earth sciences: Evidence from analysis of selected U. S. G. S. reference samples. *Chemical Geology*, 1990, 83: 133-148.