

油橄榄叶中总黄酮提取工艺优化及不同品种含量差异分析

王碧霞^{1,2}, 张春艳¹, 刘捷¹, 苏光灿³, 丁春邦^{1*}¹四川农业大学生命科学学院, 雅安 625014; ²西华师范大学环境科学与工程学院, 南充 637009;³凉山州中泽新技术开发有限责任公司, 西昌 615000

摘要: 采用响应面法优化油橄榄叶总黄酮的提取工艺, 并测定 10 个油橄榄品种老叶和嫩叶的总黄酮含量。基于单因素实验, 选择甲醇浓度、料液比、提取温度、提取时间为自变量, 以油橄榄叶总黄酮提取量为响应值, 利用 Box-Behnken 中心组合设计 4 因素 3 水平试验, 确定最佳提取工艺条件为: 甲醇浓度 82%、料液比 1: 29 g/mL、提取温度 90 °C、提取时间 106 min。在此条件下提取油橄榄叶总黄酮含量为 3.07%。按照该优化条件分别检测 10 个油橄榄品种的老叶和嫩叶, 总黄酮含量均具有显著差异, 嫩叶的总黄酮含量均显著高于老叶; 老叶和嫩叶的总黄酮含量最低的品种均是鄂植, 分别为 1.24% 和 1.74%, 最高的均是切姆拉尔, 分别为 3.01% 和 3.72%。

关键词: 油橄榄叶; 响应面法; 总黄酮; 含量分析

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.021

Extraction and Content Variation of Total Flavonoids from *Olea europaea* L. Leaf in Different Varieties

WANG Bi-xia^{1,2}, ZHANG Chun-yan¹, LIU Jie¹, SU Guang-chan³, DING Chun-bang^{1*}¹College of Life Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China;²College of Environmental Science and Engineering, China West Normal University, Nanchong 637009, China;³Liangshan Zhongze New Tech Development Co. Ltd, Xichang, Sichuan 615000, China

Abstract: Response surface methodology was employed to optimize the extraction process of total flavonoids in olive (*Olea europaea* L.) leaf. And the total flavonoids content of the old leaves and young leaves of 10 olive cultivars was determined. The effects of methanol concentration, solid-liquid ratio, extraction temperature, extraction time and their interactions on the extraction yield of total flavonoids have been studied in this paper by Box-Behnken design method. The results showed that the optimum conditions were as follows: methanol concentration 82%, solid-liquid ratio 1: 29 g/mL, extraction temperature 90 °C, extraction time 106 min. Under these conditions, the total flavonoids content of olive leaves was 3.07%. According to the optimized conditions, the lowest total flavonoids content of the old leaves and young leaves was *Ezhi*, with a minimum value of 1.24% and 1.74%. And the highest content was *Chelmsford Lal*, with a maximum value of 3.01% and 3.72%. On the whole, the total flavonoids content in young leaves was significantly higher than that of old leaves in the 10 varieties.

Key words: olive leaves; surface methodology; total flavonoids; content analysis

油橄榄 (*Olea europaea* L.) 为木犀科 (*Oleaceae*) 木犀属 (*Olea*) 常绿乔木, 是世界著名油料作物, 原产于地中海沿岸国家^[1]。我国油橄榄引种始于 20 世纪 60 年代, 先后引进 158 个品种, 主要分布于四川、云南、甘肃、广东等地区^[2]。油橄榄成熟的果实

可直接食用, 也能榨取油脂, 其成熟鲜果含油达 20~30%, 不饱和脂肪酸含量达 85%, 有“植物油皇后”之美称^[3]。到 2016 年底, 我国油橄榄种植面积达到 6 万余 hm², 每年因自然落叶和剪枝而废弃的油橄榄叶达 60 万吨, 造成生态环境的破坏和资源的浪费^[1,4]。

油橄榄叶含有丰富的裂环烯醚萜类、黄酮类、甾醇及烷烃类等活性物质^[5]。油橄榄叶提取物中多酚和黄酮化合物的含量还高于果实, 其活性酚类物

收稿日期: 2017-07-07 接受日期: 2017-08-02

基金项目: 四川省科技厅科技支撑计划 (2013NZ0047); 西华师范大学基本科研业务费 (17D078)

* 通信作者 E-mail: deb@sicau.edu.cn

质含量是油橄榄果的 2~6 倍^[6,7]。有研究发现,油橄榄叶可直接用于退烧和治疗疟疾等疾病,其提取物可增加动脉血流速,降低动物血压,主要原因是多酚化合物起作用^[8,9]。黄酮是多酚化合物中重要的组成部分,其强抗氧化性也已被证实^[10,11]。近年来,美国和欧洲将油橄榄叶提取物作膳食补充剂以增强免疫功能,并将其当做纯天然的抗氧化剂和自由基清除剂应用于食品、化妆品和医药中^[3,4],市场前景广阔。油橄榄品种多,不同品种油橄榄叶所含活性成分基本相同,但含量差异却较大。如朱静平和吴遵均发现不同品种油橄榄叶中,总酚和总黄酮含量具有品种差异^[7,12]。然而,关于油橄榄叶总黄酮提取工艺的优化及不同品种间老叶与嫩叶总黄酮含量差异的研究却甚少,故本文采用甲醇热水浸提技术,利用 Design-Expert (RSM) 软件设计试验条件,优化油橄榄叶总黄酮的提取工艺,并比较 10 个油橄榄品种老叶和嫩叶中总黄酮含量的差异,为油橄榄叶中总黄酮的生产以及综合开发利用油橄榄叶资源提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

油橄榄叶于 2016 年 9 月采自四川西昌北河油橄榄种植基地,共选取 10 个树龄为 12 年的油橄榄品种,分别为:鄂植、豆果、卡拉马达、贝拉特、克罗莱卡、白橄榄、皮瓜尔、奥托卡、科拉蒂和切姆拉尔,其中用于响应面试验的品种为白橄榄。蒸馏水冲洗,干燥,粉碎,4 ℃ 冰箱保存备用。

芦丁标准品(上海硕光科技公司)、甲醇、三氯化铝均为分析纯,购于成都科龙化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

LDP-750A 型粉碎机(浙江永康市红太阳机电有限公司),SB-3200D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司),BT-124S 型电子天平(德国 Sartorius 公司),UV-3200PC 紫外分光扫描仪(上海美谱达仪器有限公司),DZ-2BC 型真空干燥箱(天津泰斯特仪器有限公司),RM-220 试验室超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司),7D-4Z 型台式低速离心机(蜀科仪器有限公司),Spectra Max M2 酶标仪(美国 molecular Devices 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 油橄榄叶中总黄酮的测定

油橄榄叶中总黄酮提取量的测定采用 AlCl_3 显

色法^[13],稍加改动:取待测液 2 mL,加 4 mL AlCl_3 (1%) 试剂,30% 甲醇定容至 25 mL,摇匀避光,静置 10 min,于 415 nm 检测吸光值。以芦丁标准液浓度为 x 轴、吸光度为 y 轴,绘制标准曲线,所得回归方程为 $y = 0.0359x - 0.0012$, $R^2 = 0.9993$ 。

总黄酮含量(%) = 样品液中总黄酮质量浓度 × 样品液体积 × 稀释倍数 / 初始油橄榄叶质量 / 1000 × 100

1.3.2 油橄榄叶中总黄酮的提取

准确称取油橄榄叶粉末 1 g,加甲醇水浴热浸提,4000 转离心 10 min,收集上清液后定容,按 1.3.1 方法测定并计算总黄酮含量。

1.3.3 单因素试验

以油橄榄叶总黄酮含量为指标,考察甲醇浓度(60、70、80、90、100%,固定料液比 1:40,时间 180 min,温度 70 ℃)、提取时间(60、120、180、240、300 min,固定料液比 1:40,甲醇浓度 70%,温度 70 ℃)、提取温度(60、70、80、90、100 ℃,固定料液比 1:40,时间 180 min,甲醇浓度 70%)、料液比(1:10、1:20、1:30、1:40,固定甲醇浓度 70%,时间 180 min,温度 70 ℃)4 个因素对总黄酮含量的影响。

1.3.4 响应面优化试验方法

在单因素试验结果的基础上,采用 Design-Expert 8.0 (RSM) 软件设计试验条件,选用 Box-Behnken (BB) 模型,以油橄榄叶总黄酮含量为响应值,甲醇浓度(A)、料液比(B)、提取温度(C)、提取时间(D)为自变量,设计 4 因素 3 水平响应面试验(表 1)。

1.3.5 不同品种油橄榄叶总黄酮含量测定

采用优化的提取工艺,提取测定 10 个油橄榄品种老叶和嫩叶中总黄酮的含量。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010、SPSS 17.0 对实验数据进行统计分析处理。所有试验均重复三次。

2 结果和分 析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 甲醇浓度对总黄酮含量的影响

由图 1 A 可知,随着甲醇浓度的增大,油橄榄叶总黄酮含量逐渐增加,当甲醇浓度为 80% 时,含量达到 2.05%,浓度继续增大,含量却逐渐下降。这可能是脂溶性物质在高浓度甲醇条件下大量溶出,引起油橄榄叶黄酮类化合物含量减少。因此,选择

表1 因素水平编码表

Table 1 Factors and levels for response surface analysis

水平	因素 Factor			
	甲醇浓度(A) Level	料液比(B) Concentration(%)	提取温度(C) Solid-liquid ratio (g/mL)	提取时间(D) Time (min)
-1	70	1:20	80	60
0	80	1:30	90	120
1	90	1:40	100	180

甲醇浓度为70%、80%、90%进行响应面分析。

2.1.2 料液比对总黄酮含量的影响

由图1 B可知,随着溶剂量的增加,油橄榄叶总黄酮含量逐渐增大,当料液比达到1:30(g/mL)时,含量达到3.63%,但当溶剂量大于1:30(g/mL)时,总黄酮含量下降。这可能是溶剂量增大后可溶性物质溶出增多,杂质含量增高,造成黄酮类物质的部分分解。因此,响应面分析时选择1:20、1:30、1:40为合适的比例条件。

2.1.3 提取温度对总黄酮含量的影响

由图1 C可知,当温度在60~90℃之间时,油橄榄叶总黄酮含量在1.25%~1.31%范围内,差异不显著,但当温度达到100℃时却显著降低。这可

能是达到一定的温度后,溶剂分子与溶质分子的运动已经扩散,总黄酮也已经溶出,且过高的温度还可能造成总黄酮化合物的部分降解,引起总黄酮含量下降。因此,响应面分析时选择80、90、100℃为合适的温度。

2.1.4 提取时间对总黄酮含量的影响

由图1 D可知,当时间为60~120 min时,总黄酮含量递增,在120 min达到最大值1.82%。当提取时间超过120 min时,总黄酮越来越低。这可能在120 min时油橄榄叶细胞中有效成分已基本溶出,提取时间继续增加,黄酮类化合物的结构则受到部分破坏,引起总黄酮含量减少。因此,响应面分析时选择60、120、180 min为合适的时间。

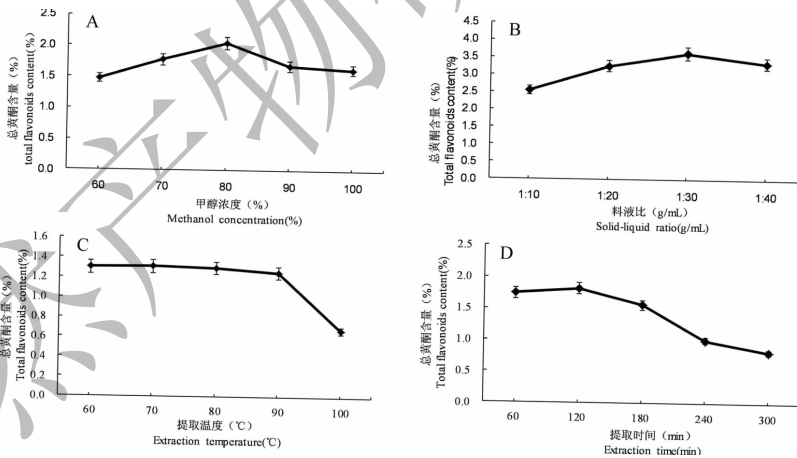


图1 甲醇浓度、料液比、提取温度、提取时间对总黄酮含量的影响

Fig. 1 Effects of methanol concentration, solid-liquid ratio, temperature, time on the total flavonoids content

2.2 响应面试验结果及分析

2.2.1 响应面试验设计及结果

基于单因素试验结果确定的最佳条件,以甲醇浓度(A)、料液比(B)、提取温度(C)和提取时间(D)为自变量,以油橄榄叶总黄酮含量为响应值设计4因素3水平响应面试验,结果见表2。对表2中的结果进行多元线性回归拟合,得到油橄榄叶总黄

酮提取量对甲醇浓度(A)、料液比(B)、提取温度(C)、提取时间(D)的二次多项回归方程模型:

$$Y = 3.10 + 0.34A + 0.070B + 0.063C - 0.095D + 0.035AB + 0.018AC + 0.19AD - 0.050BC + 0.095BD + 0.25CD - 0.58A^2 - 0.35B^2 - 0.46C^2 - 0.31D^2.$$

2.2.2 回归模型的方差分析与显著性检验

利用 Design-Expert 8.0 软件对回归模型进行方

差分析(analysis of variance, ANOVA)(表3),以确定各因素对油橄榄叶总黄酮含量的影响程度,同时也检验回归方程的有效性。从表3可知,经RSM获得的模型极显著($P < 0.01$),失拟项 P 值为0.2234($P > 0.05$),不显著;相关系数 $R^2 = 0.9948$,说明该模型拟合度较好。因此,表明建立的数学模型成功拟合实验数据,在一定范围内对总黄酮提取量具有较

高的预测性。

各因素对油橄榄总黄酮含量显著性分析可以看出,A、B、C、D、AD、BD、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 的 P 值小于0.01,这表明各因素对油橄榄叶总黄酮含量的影响并不是简单的线性关系。且根据 F 值的大小,可以得出四个因素对油橄榄总黄酮提取量的影响大小为 $A > D > B > C$ 。

表2 响应面分析方案及试验结果

Table 2 Factors and results of response surface analysis

编号 Number	A: 甲醇浓度 Concentration (%)	B: 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	C: 提取温度 Temperature (°C)	D: 提取时间 Time (h)	总黄酮含量 Total flavonoids content (%)
1	0	-1	0	1	2.16
2	1	-1	0	0	2.40
3	-1	0	0	1	2.13
4	0	-1	1	0	2.34
5	0	0	0	0	3.09
6	-1	1	0	0	1.82
7	0	-1	0	-1	2.56
8	-1	-1	0	0	1.79
9	0	0	0	0	3.10
10	0	-1	-1	0	2.09
11	0	0	0	0	3.06
12	0	0	-1	1	1.90
13	-1	0	-1	0	1.67
14	0	0	1	1	2.50
15	1	0	0	1	2.66
16	0	1	0	-1	2.55
17	0	1	-1	0	2.33
18	0	1	1	0	2.38
19	1	0	0	-1	2.42
20	0	1	0	1	2.53
21	0	0	-1	-1	2.61
22	1	1	0	0	2.57
23	1	0	-1	0	2.34
24	0	0	0	0	3.11
25	1	0	1	0	2.50
26	0	0	1	-1	2.22
27	0	0	0	0	3.12
28	-1	0	1	0	1.76
29	-1	0	0	1	1.60

表 3 响应面回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis for the built regression model

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 R-square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significant
Model	5.45	14	0.39	385.22	< 0.0001	significant
A	1.41	1	1.41	1400.86	< 0.0001	**
B	0.059	1	0.059	58.23	< 0.0001	**
C	0.078	1	0.078	47.67	< 0.0001	**
D	0.18	1	0.18	107.25	< 0.0001	**
AB	0.00049	1	0.00049	4.85	0.0449	*
AC	0.0001225	1	0.0001225	1.21	0.2893	ns
AD	0.15	1	0.15	146.79	< 0.0001	**
BC	0.001	1	0.001	9.90	0.0071	**
BD	0.036	1	0.036	35.75	< 0.0001	**
CD	0.25	1	0.25	242.66	< 0.0001	**
A ²	2.21	1	2.21	2186.49	< 0.0001	**
B ²	0.80	1	0.80	791.04	< 0.0001	**
C ²	1.38	1	1.38	1364.69	< 0.0001	**
D ²	0.63	1	0.63	620.98	< 0.0001	**
残差 Residual	0.014	14	0.000101			
失拟项 Lack of Fit	0.012	10	0.0001202	2.27	0.2234	ns
净误差 Pure Error	0.000212	4	0.000053			
总离差 Cor Total	5.46	28				

注: *** 表示差异极显著 ($P < 0.01$); * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。
 Note: Very significant difference ($P < 0.01$), significant difference ($P < 0.05$).

2.2.3 响应面分析

根据试验结果,利用 Design-Expert 8.0 软件作图,得到四个因素交互作用的响应面(图 2),可直观

反映各因素的交互作用。响应值对于因素的改变越不敏感则响应曲面越平缓,反之,响应值对于因素的改变越敏感则响应面越陡峭。甲醇浓度和提取温度

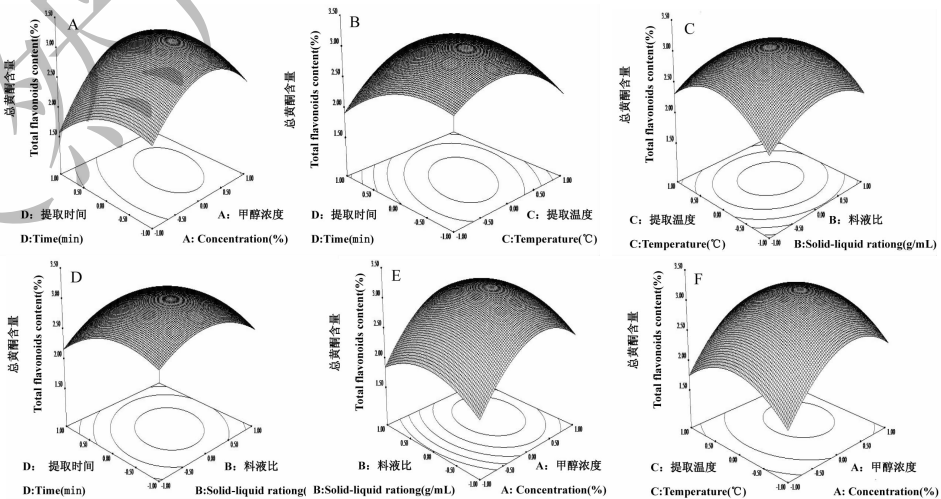


图 2 4 因素交互作用对总黄酮含量影响的 3D 响应面图 (A-D、C-D、B-C、B-D、A-B、A-C)

Fig. 2 3D response surface of the 4 factors interaction on taotal flavonoids content (A-D、C-D、B-C、B-D、A-B、A-C)

与提取时间的交互曲面陡峭,交互作用显著(图2 A、B)。由图2可知,随着各因素值的增大,响应值逐渐增大,但当响应值达到最大值之后,随着各因素值的继续增高,响应值则逐渐降低。当料液比为1:30 g/mL时,油橄榄总黄酮含量随着提取温度和提取时间的增加而逐渐增大(图2 C、D);甲醇浓度与料液比的交互作用也较为显著(图2 E),但甲醇浓度与提取温度的交互作用却不显著(图2 F)。这与方差分析结果一致。

2.2.4 验证试验

根据试验所建立的模型,得到提取油橄榄叶总黄酮的最佳工艺条件为甲醇浓度82.53%、料液比1:29.14 g/mL、提取温度89.97℃、提取时间106 min,在此条件下总黄酮提取量为3.13%。

考虑到实际操作的可性,将优化的工艺条件修改为甲醇浓度82%、料液比1:29 g/mL、提取温度90℃、提取时间106 min,在此条件下进行3次重复试验,油橄榄叶总黄酮实际平均提取量为3.07%。

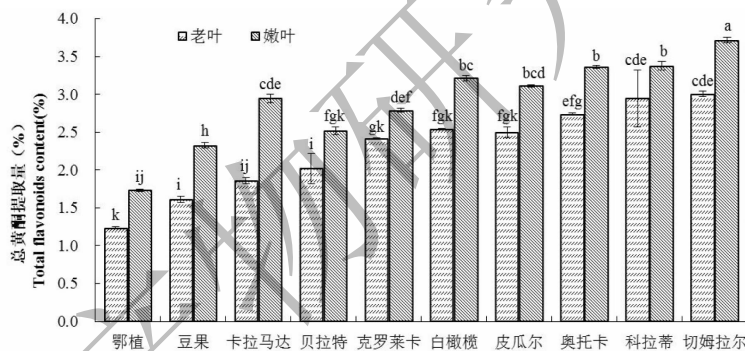


图3 10个油橄榄品种老叶和嫩叶的总黄酮含量比较

Fig. 3 Comparison of total flavonoids content in old leaves and young leaves of 10 olive varieties

3 结论

3.1 单因素实验结果表明,油橄榄叶总黄酮含量随着甲醇浓度、料液比、提取时间的增加呈先升后降的趋势,而随着提取温度的增高,呈现为先平稳后降低。

3.2 在单因素试验结果的基础上,通过 Design-Expert 8.0 软件和 Box-Behnken (BB) 实验设计进行响应面优化,得到最佳提取工艺为甲醇浓度82%、料液比1:29g/mL、提取温度90℃、提取时间106 min,油橄榄叶总黄酮提取量为3.07%。

3.3 在最佳提取工艺条件下,10个油橄榄品种老叶和嫩叶的总黄酮含量均具有显著差异。其中,嫩

与预测值的相对误差为1.91%。表明响应面法优化所得最佳工艺条件可靠,具有实用价值。

2.3 10个油橄榄品种老叶和嫩叶总黄酮含量比较

在优化的最佳提取条件下,测定10个油橄榄品种的老叶和嫩叶总黄酮含量,结果如图3。10个油橄榄品种老叶和嫩叶的总黄酮含量均具有显著差异($P < 0.000$)。老叶和嫩叶的总黄酮平均含量分别为2.29%和2.91%,含量最低的品种均是鄂植,分别为1.24%和1.74%;含量最高的均是切姆拉尔,分别为3.01%和3.72%。同一个品种中,老叶和嫩叶总黄酮含量差异最大的是卡拉马达,嫩叶比老叶高58.33%;含量差异最小的是科拉蒂,嫩叶仅比老叶高14.60%。嫩叶的总黄酮含量从高到低分别为:切姆拉尔>科拉蒂>奥托卡>白橄榄>皮瓜尔>卡拉马达>克罗莱卡>贝拉特>豆果>鄂植,老叶品种间含量差异与嫩叶较为相似。从总体上来看,10个油橄榄品种中,嫩叶的总黄酮含量均显著高于老叶。

叶的总黄酮含量均显著高于老叶;老叶和嫩叶的总黄酮含量最低的品种均是鄂植,分别为1.24%和1.74%,最高的均是切姆拉尔,分别为3.01%和3.72%。

参考文献

- 1 Wang BL(王布雷), Wang YJ(王玉洁), Yang ZS(杨泽身), et al. Antioxidant and antimicrobial activities of polysaccharide from *Olea europaea* L. Leaf. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28:1284-1288.
- 2 Wang LY(王兰英), Song XL(宋祥兰), Xie ZC(谢再成), et al. Introduced cultivation technology of *Olea europaea* and its sapling's management and protection. *South China Fore Sci*(南方林业科学), 2016, 44:23-26.

- 3 Xie PJ(谢普军). Study on high-value utilization of olive leaf and its mechanism. Beijing: China Forestry Science Research Institute(中国林业科学研究院), PhD. 2015.
- 4 del Mar Delgado-Povedano M, Priego-Capote F, de Castro M D L. Selective ultrasound-enhanced enzymatic hydrolysis of oleuropein to its aglycon in olive (*Olea europaea* L.) leaf extracts. *Food Chem*, 2017, 220:282-288.
- 5 Wang BC(王百川). Analysis and characterization of phenolic compounds in domestic olive leaves. Dalian: Dalian polytechnic university(大连工业大学), MSc. 2011.
- 6 De Marino S, Festa C, Zollo F, et al. Antioxidant activity and chemical components as potential anticancer agents in the olive leaf (*Olea europaea* L.) decoction. *Anticancer Agents Med Chem*, 2014, 14:1376.
- 7 Wu ZQ(吴遵秋). Content dynamic changes of three kinds of active components and isolation and identification of oleuropein with the analysis of antibacterial and antioxidant activities in vitro from olive leaves. Yaan: Sichuan agricultural university(四川农业大学), MSc. 2015.
- 8 Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy K M, et al. Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 2012, 13:3291-3340.
- 9 Zheng J(郑洁), He HR(何海荣), Wang NL(王宁丽), et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of *Olea europaea* L. leaf extracts. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27:001743-1820.
- 10 Benavente-García O, Castillo J, Marin F R, et al. Uses and properties of citrus flavonoids. *J Agr Food Chem*, 1997, 45:4505-4515.
- 11 Liu YJ(刘一杰), Xue YC(薛永常). The research progress of flavonoids in plants. *China Biotech* (中国生物工程杂志), 2016, 36:81-86.
- 12 Zhu JP(朱静平). Determination of the content of plant polyphenol in different species of olive leaves. *Food Industry* (食品工业), 2016 (2):7-9.
- 13 Zhang ZX(张振兴), Liu YF(刘永峰), Liu Y(刘毅), et al. A novel high-speed shear dispersing emulsification pretreatment method for the extraction of active ingredients of *Olea europaea* L. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25:1555-1561.

(上接第 327 页)

- 7 Dieter Garbe. Simultaneous determination of thirty-seven trace elements in twenty-eight international rock standards by ICP-MS. *Geostandards Newsletter*, 1993, 17(1):81-97.
- 8 Bayon MM., Alonso JIG, Medel AS. Enhanced semi quantitative multianalysis of trace elements in environmental samples using inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom*, 1998, 13(4):277.
- 9 Ingle CP, Sharp BL, Horstwood MS, et al. Instrument response functions, mass bias and matrix effects in isotope ratio measurements and semi-quantitative analysis by single and multi-collector ICP-MS. *J Anal At Spectrom*, 2003, 18:219-229.
- 10 Shen QY(沈沁怡), Xu PP(徐蓬蓬). The application of ICP-MS semi-quantitative method in water energy monitoring. *Environmental Science and Management*. 2014 (02):132-05.
- 11 Zhang X(张祥). Semi-quantitative method for the rapid determination of trace heavy metal in food with ICP-MS. *J Anhui Agr* (安徽农业科学), 2016, 44:107-108.
- 12 Laborda F, Medrano J, Castillo JR. Quality of quantitative and semi quantitative results in inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom*, 2001, 16:732-738.
- 13 Garc'a Alonso JI, Montes Bay' on M, Sanz Medel A. Environmental applications using ICP-MS; semi quantitative analysis. In: *Plasma Source Mass Spectrometry -New Developments and Applications* (eds G. Holland and S. D. Tanner), Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1999, 95-107.
- 14 Yang L(杨乐), Zeng J(曾静), Wang XY(王小燕), et al. Research of correction of matrix interference with single inner standard when test Magnesium, copper, lead in blood with ICP-MS. *Spectroscopy and Spectral Analysis*(光谱学与光谱分析), 2010, 30:518-522.
- 15 Tian M(田梅), Han XY(韩小元), Wang J(王江), et al. Research of correction of none mass interference with inner standard during environmental sample test by ICP-MS. *Chinese J Analysis Laboratory*(分析实验室), 2012, 31:116-120.
- 16 Lin L(林立), Li DL(李东雷), Liu XX(刘玺祥), et al. Test W、Cd etd metal element in sediment from water and soil with ICP-MS. *J Instrumental Analysis* (分析测试), 2006, (5):65-67.