

REFERENCES

- [1] GOU Z P, YANG Y J. Survey of resources of medicinal plants of *Cynanchum* L. in Gansu province [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2001, 32(1): 70-71.
- [2] JIANG Y, LI B T. Flora Rep Pop Sin(中国植物志) [M]. Vol 63. Beijing: Science Press, 1977: 314.
- [3] PENG X D, YAN Q S, YAN L. Anticonvulsant efficacy of Chinese materia medica *Cynanchum chinese* R. Br in mice [J]. J Fourth Mil Med Univ(第四军医大学学报), 2009, 30(4): 340-343.
- [4] PENG X D, YAN Q S, WANG R. Hypnotic effect of Chinese material medica *Cynanchum chinese* in mice [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2007, 32(17): 1174-1176.
- [5] WU Y, ZHOU H L. Advances study on chemical constituents of *Cynanchum* plants [J]. Cent South Pharm(中南药学), 2006, 4(5): 371-375.
- [6] XU W Q, GONG X J, ZHOU X. Chemical constituents from *Kalimeris indica* [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2010, 41(7): 1065-1060.
- [7] XIE Y F, LIANG Y, DU Q T. Study on the chemical constituents from *Melicope ptelefolia* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2011, 34(3): 386-388.
- [8] HU H, WU Y X, HE X J. Flavonoids from the roots of *Marsdenia sinensis* Hemsl [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2011, 23: 1045-1048.
- [9] WENG Y X, LIU X H, CHEN Z H. Phytochemical studies on the constituents of *Lespedeza davurica* [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2011, 39(25): 15281-15282.
- [10] WU H F, SONG Z J, ZHU H J. Chemical constituents of *Meconopsis punicea* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2011, 23: 202-207.
- [11] YIN J G, YUAN C S, JIA Z J. A new iridoid and other chemical constituents from *Pedicularis kansuensis* forma *albiflora* Li. [J]. Arch Pharm Res, 2007, 30(4): 431-435.

收稿日期: 2012-05-23

ICP-OES 测定不同产地浙贝母中的 18 种微量元素含量

蔡伟^{1,2}, 熊耀康^{1*}, 盛振华¹, 夏苗芬², 崔明超² (1.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 2.浙江医药高等专科学校中药系, 浙江 宁波 315100)

摘要: 目的 建立电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)测定浙贝母中微量元素的方法, 比较不同产地浙贝母中 Ag、As、B、Ba、Bi、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Ga、Hg、In、Mn、Ni、Pb、Tl 和 Zn 18 种元素的含量。方法 用微波消解法预处理浙贝母, 采用 ICP-OES 测定样品中的微量元素。结果 各种元素在其线性范围内线性关系良好, r 在 0.999 3~0.999 9 之间, 平均回收率在 95.0%~103.2%之间, RSD<10%($n=6$), 符合微量分析要求。结论 微波消解法操作简便、快速, 样品消解完全, 空白值低, 选择性好。ICP-OES 可同时测定多种微量元素, 方便快捷。

关键词: 浙贝母; 电感耦合等离子体发射光谱; 微量元素

中图分类号: R917

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)03-0277-04

Determination of Eighteen Trace Elements in Fritillaria from Different Places by ICP-OES

CAI Wei^{1,2}, XIONG Yaokang^{1*}, SHENG Zhenhua¹, XIA Miaofen², CUI Mingchao² (1.College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Department of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of trace elements in *Fritillariae Thunbergii* Bulbus by ICP-OES, and compare 18 trace elements content of *Fritillaria* from different places, such as Ag, As, B, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, In, Mn, Ni, Pb, Tl, Zn. **METHODS** Microwave digestion procedure was applied under optimized conditions for digesting *Fritillaria*. Concentrations of elements were determined by ICP-OES. **RESULTS** Experimental results showed that linear relationship was good, r was between 0.999 3 and 0.999 9. Average recovery rate was between 95.0% and 103.2%, RSD was less than 10%($n=6$). The results met requirement of microanalysis. **CONCLUSION** Microwave digestion is a simple and rapid method. It digests completely with low blank value and the measurement result is satisfactory. ICP-OES method is rapid, accurate and convenient, can be used to determine various trace elements.

KEY WORDS: *Fritillariae Thunbergii* Bulbus; ICP-OES; trace elements

作者简介: 蔡伟, 男, 博士生, 讲师 Tel: 15067441899 E-mail: caiwei-0129@163.com
(0571)86633118 E-mail: xiongyaokang@126.com

*通信作者: 熊耀康, 教授, 博导 Tel:

浙贝母为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq.的干燥鳞茎,具有清热化痰、散结消痈的功效,用于风热、痰热咳嗽、乳痈疮毒等,主产地为浙江宁波鄞州区,江苏、安徽等地亦产,“浙八味”之一^[1-2]。研究表明,Zn、Mn、Fe等微量元素在人体内不仅具有重要的生物活性,而且还参与人体内各种重要生物大分子(如酶和核酸等)的合成和代谢,而Pb、As、Cd、Hg等元素则会对人体产生危害,甚至可能导致癌症等^[3]。在常规检测中发现,不同产地的浙贝母中所含重金属和微量元素的种类以及含量有较大差异。因此本实验采用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)^[4]对5种不同产地浙贝母中Ag、As、B、Ba、Bi、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Ga、Hg、In、Mn、Ni、Pb、Tl和Zn等18种微量元素进行含量检测,为浙贝母的药材质量控制、药材道地性鉴别及微量元素与浙贝母药理作用的物质基础相关性研究提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICAP 6000 ICP-OES 全谱直读等离子体发射光谱仪(美国热电公司); Mars 高通量密闭微波消解系统(微波消解仪)(美国 CEM 公司); 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

1.2 标准物质

Ag、As、B、Ba、Bi、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Ga、Hg、In、Mn、Ni、Pb、Tl和Zn混合对照溶液,由德国MERCK公司提供,As、Hg的浓度为100 μg·mL⁻¹,其他各离子浓度为1 000 μg·mL⁻¹,供ICP-OES法含量测定用,批号:HC825498。

1.3 试剂

氩气(纯度>99.99%),由上海五钢气体有限责任公司提供;HNO₃(优级纯);水为去离子水,其他所用试剂均为分析纯。

1.4 样品

浙贝母样品编号1~5产地分别为江苏南通市、浙江宁海县、浙江磐安县、江苏淮安市、浙江宁波鄞州区,并经浙江中医药大学中药资源与鉴定教研室熊耀康教授鉴定均为浙贝母(*Fritillaria thunbergii* Miq.)。

2 方法与结果

2.1 实验条件

仪器条件:样品延时0 s,样品冲洗时间30 s,

样品导入雾化器,等离子观测水平;最大积分时间30 s;雾化器泵冲洗泵速50 r·min⁻¹;分析泵速50 r·min⁻¹;泵延时时间5 s;RF功率1 150 W;辅助气0.5 L·min⁻¹。各元素分析测定波长见表1。

表1 各元素分析测定波长

Tab 1 Elemental analysis wavelength

元素	波长/nm	元素	波长/nm
Ag	328.068	Fe	259.940
As	189.042	Hg	184.950
B	249.773	In	230.606
Ba	455.403	Ga	294.364
Bi	223.061	Mn	257.610
Cd	228.802	Ni	221.647
Co	228.616	Pb	220.353
Cr	283.563	Tl	190.856
Cu	324.754	Zn	213.856

2.2 供试品溶液制备

分别精确称取不同产地浙贝母粗粉0.5 g,平行3份。分别将样品放入聚氟乙烯微波消化罐中,精密加入硝酸8.0 mL,静置过夜。将消化罐放入微波消化仪消解,微波消解方法见表2。冷却后样品的消化液澄清透明,消化液用去离子水稀释定容于50 mL量瓶中,即得供试品溶液。按“2.1”项下条件,用ICP-OES分析测定Ag、As、B、Ba、Bi、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Ga、Hg、In、Mn、Ni、Pb、Tl和Zn等18种元素含量,随行空白对照实验。

表2 微波消化条件优化

Tab 2 Optimization of microwave digestion parameters

消化程序	功率		升温时间/min	消化温度/℃	保持时间/min
	W	%			
1	800	100	05:00	120	02:00
2	1 600	100	10:00	185	18:00

2.3 对照品溶液制备

取混合对照溶液,用5%HNO₃稀释为Ag、B、Ba、Bi、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Ga、In、Mn、Ni、Pb、Tl和Zn 1, 2, 3, 4, 5 μg·mL⁻¹,Hg和As 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 μg·mL⁻¹的不同浓度混合对照品溶液。

2.4 线性关系

依次将各浓度的混合对照品溶液注入电感耦合等离子体发射光谱仪的进样管中进行测定,软件以分析的响应值(y)为纵坐标,浓度(x)为横坐标,绘制标准曲线,得出回归方程,相关系数r应不低于0.999 0,结果见表3。

表 3 各元素的线性范围、线性回归方程及检出限

Tab 3 Elemental linear ranges, linear regression equations and detection limits

元素	线性范围/ μg·mL ⁻¹	回归方程	相关系数 <i>r</i>	检出限 (<i>n</i> =10)/ ng·mL ⁻¹
Ag	1.0~5.0	<i>y</i> =35 916.361 02 <i>x</i> -344.949 786	0.999 8	0.041 8
As	0.1~0.5	<i>y</i> =2526.019 765 <i>x</i> +19.146 627	0.999 8	0.831 3
B	1.0~5.0	<i>y</i> =23 783.633 92 <i>x</i> +2 109.199 082	0.999 9	0.063 1
Ba	1.0~5.0	<i>y</i> =1 122 539.061 <i>x</i> +5 591.638 144	0.999 5	0.000 3
Bi	1.0~5.0	<i>y</i> =2 647.582 043 <i>x</i> -26.334 605	0.999 7	1.019 8
Cd	1.0~5.0	<i>y</i> =45 364.560 09 <i>x</i> +41.995 881	0.999 9	0.006 6
Co	1.0~5.0	<i>y</i> =31 877.430 81 <i>x</i> +11.172 805	0.999 8	0.009 4
Cr	1.0~5.0	<i>y</i> =50 908.009 15 <i>x</i> +276.821 031	0.999 8	0.017 7
Cu	1.0~5.0	<i>y</i> =49 496.436 59 <i>x</i> +325.897 239	0.999 7	0.018 2
Fe	1.0~5.0	<i>y</i> =29 505.336 59 <i>x</i> +136.568 804	0.999 8	0.050 8
Ga	1.0~5.0	<i>y</i> =6 783.640 922 <i>x</i> +202.403 180	0.999 7	0.309 6
Hg	0.1~0.5	<i>y</i> =9 392.564 906 <i>x</i> -8.670 222	0.999 3	0.031 9
In	1.0~5.0	<i>y</i> =2 387.343 732 <i>x</i> +34.099 361	0.999 7	2.513 3
Mn	1.0~5.0	<i>y</i> =20 9817.798 7 <i>x</i> +231.272 401	0.999 7	0.001 4
Ni	1.0~5.0	<i>y</i> =27 295.239 64 <i>x</i> -997.171 499	0.999 7	0.022 0
Pb	1.0~5.0	<i>y</i> =5 757.897 136 <i>x</i> -45.788 978	0.999 8	0.260 5
Tl	1.0~5.0	<i>y</i> =2 586.508 702 <i>x</i> +53.366 399	0.999 7	0.695 9
Zn	1.0~5.0	<i>y</i> =48 489.232 45 <i>x</i> +452.802 287	0.999 7	0.012 4

2.5 仪器精密度试验

取浓度为 2 μg·mL⁻¹(Hg、As 浓度为 0.2 μg·mL⁻¹)的混合对照品溶液，连续测定 6 次，计算响应值的 RSD 值，其 RSD 值均在 0.10%~0.77%之间，表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取“江苏南通”样品 6 份，按“2.2”项下方法制备样品后，按“2.1”项下条件测定，计算含量及 RSD 值，RSD 值均<3%，符合分析要求。

2.7 加样回收试验

取“江苏南通”样品粉末 6 份，每份 0.25 g，精密测定，分别精密加入混合对照品溶液，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，进样测定，计算加样回收率及 RSD，结果表明，各元素加样回收率在 95.0%~103.2%，RSD<10%，符合微量分析要求，见表 4。

2.8 样品测定

按照“2.2”项下方法制备供试品溶液，注入电感耦合等离子发射光谱的进样管中进行测定，计算各元素的含量，结果见表 5。

表 4 各元素的加样回收率(*n*=6)

Tab 4 Elemental results for recovery experiment(*n*=6)

元素	原有值/μg	加样量/μg	测定值/μg	回收率/%	RSD/%
Ag	0.000 0	0.500 0	0.477 8	95.6	1.84
As	0.021 4	0.050 0	0.070 3	97.8	0.92
B	0.195 3	0.500 0	0.678 0	96.5	1.23
Ba	0.069 1	0.500 0	0.585 2	103.2	2.65
Bi	0.000 0	0.500 0	0.475 1	95.02	2.73
Cd	0.023 8	0.500 0	0.511 9	97.6	1.84
Co	0.000 0	0.500 0	0.486 2	97.2	2.09
Cr	0.000 0	0.500 0	0.497 9	99.6	1.64
Cu	0.412 0	0.500 0	0.923 6	102.3	0.68
Fe	22.330 5	0.500 0	22.840 3	102.0	2.37
Ga	0.000 0	0.500 0	0.496 2	99.2	2.90
Hg	0.026 2	0.050 0	0.074 0	95.6	1.17
In	0.159 6	0.500 0	0.636 4	95.4	1.83
Mn	2.648 1	0.500 0	3.145 2	99.4	2.05
Ni	0.645 4	0.500 0	1.149 6	100.9	0.58
Pb	0.000 0	0.500 0	0.497 5	99.5	2.26
Tl	0.000 0	0.500 0	0.476 9	95.4	2.63
Zn	3.507 8	0.500 0	3.990 6	96.6	1.95

表 5 不同产地浙贝母元素含量(*n*=3)

Tab 5 Content of elements in Fritillaria from different places(*n*=3)

元素	含量/μg·g ⁻¹				
	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5
Ag	—	—	—	—	—
As	0.08	0.14	0.11	0.10	0.11
B	0.78	—	—	—	—
Ba	0.28	3.22	7.21	1.80	1.84
Bi	—	—	0.06	0.11	0.23
Cd	0.10	0.52	0.61	0.04	0.15
Co	—	—	0.22	—	—
Cr	—	—	—	—	—
Cu	1.65	2.30	1.56	1.37	2.07
Fe	89.32	73.18	53.50	61.85	47.23
Ga	—	—	—	—	—
Hg	0.10	0.02	—	—	—
In	0.64	1.03	0.96	1.06	1.01
Mn	10.59	12.50	24.01	11.82	13.44
Ni	2.58	1.22	2.78	1.70	2.21
Pb	Q	0.72	0.25	0.01	0.21
Tl	—	—	—	—	—
Zn	14.03	27.31	28.68	20.38	30.95

注：“—” 未检测到该元素

Note: “—” —no signal is detected

3 讨论

对浙贝母中的微量元素研究目前常采用不同方法分别对少数几种元素进行检测^[5-7]。本实验采用 1 次检测过程同时测定 18 种微量元素，实验中微波消解进行样品预处理，样品处理快、损失少、污染小。但本仪器灵敏度高，易受干扰，因此每次实验均应做随行空白对照。

由结果可知，不同产地浙贝母中均未检测到 Ag、Cr、Ga、Tl；其余 14 种元素中 Ba、B、Bi、

Cd、Co、Hg、Pb 含量 RSD 值偏大,提示浙贝母中上述 6 种元素含量在不同产地差异较大,As、Cu、Fe、In、Mn、Ni、Zn 含量 RSD 值较前 6 种偏小,提示浙贝母中上述 6 种元素含量在不同产地差异较小。人体必需的微量元素如 Fe、Cu、Mn、Zn 等,不同产地 4 元素含量均较高,其中 Fe 含量江苏南通最高为 $89.32 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, Cu 含量浙江宁海最高为 $2.30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, Mn 含量浙江磐安最高为 $24.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, Zn 含量浙江宁波鄞州最高为 $30.95 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

参照《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》规定^[8]:结果显示 5 产地浙贝母 Pb、Cu、Hg、As 限量符合规定;Cd 限量浙江宁海、磐安超标,其余产地样品符合规定。

REFERENCES

- [1] GAO X M. Traditional Chinese Pharmacology(中药学) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2007: 356.
[2] KANG T G. Authentication of Chinese medicines(中药鉴定

- 学) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2007: 208-211.
[3] LIU Y, QIU C G. Review of study on heavy metals in Chinese traditional medicines [J]. Stud Trace Elements Health(微量元素与健康研究), 2008, 25(4): 56-58.
[4] WANG D M, FENG J, JIAO A J, et al. Determination of 14 trace elements in *Zanthoxylum Nitidum* (Roxb.) DC. in 10 different habitats of Guangxi by ICP-AES [J]. Chin J Mod Appl Pharmacy(中国现代应用药理学), 2012, 29(3): 219-222.
[5] LI J S, XU Q C. Study on heavy metal elements content in *Fritillaria thunbergii* Miq for detection method [J]. Beijing J Tradit Chin Med(北京中医药), 2008, 27(3): 211-213.
[6] MA W C, SHENG Z H, RONG J H. Determination the total alkaloid in different habitat *Fritillaria thunbergii* Miq [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2009, 27(7): 1495-1496.
[7] MA X M, HUANG Z Y, QIU Z C, et al. Determination of harmful elements in Liuweidihuang pill measured with microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry(ICP-MS) [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2005, 25(5): 554-556.
[8] WM2-2001. The green industry standard of medicinal plants and preparation for import and export (药用植物及制剂进出口绿色行业标准) [S]. 2001: 1.

收稿日期: 2012-07-09

细胞膜红色荧光探针 PLGA 纳米粒的制备及表征

闻真, 郭桂萍, 谢鑫鑫, 王俊腾, 秦利芳, 林东海^{*}(烟台大学药学院, 山东 烟台 264005)

摘要:目的 以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)和单甲氧基聚乙二醇聚乳酸-羟基乙酸共聚物(MePEG-PLGA)为材料,制备包载细胞膜红色荧光探针(DiI)的纳米粒,为后续的实验奠定基础。方法 采用自乳化溶剂扩散法制备纳米粒;超滤法分离纯化纳米粒,紫外可见分光光度法测定 DiI 的含量,并计算包封率。结果 DiI 用量为 0.5 mg, PLGA 或 MePEG-PLGA 投入量为 50 mg, PVA 浓度为 0.5%,可制得粒径较合适的纳米粒。DiI-PLGA-NP 平均粒径为 $(280.7\pm3.6)\text{nm}$, Zeta 电位为 $(-2.98\pm0.47)\text{mV}$,包封率可达 88.0%;DiI-MePEG-PLGA-NP 平均粒径为 $(157.2\pm3.2)\text{nm}$, Zeta 电位为 $(-4.90\pm0.54)\text{mV}$,包封率可达 87.1%。结论 DiI 作为脂溶性良好的示踪剂,用其制得的荧光素纳米粒可为后续的体外实验奠定良好的基础。
关键词:细胞膜红色荧光探针;聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒;单甲氧基聚乙二醇聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒;自乳化溶剂扩散法;超滤法;紫外可见分光光度法

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)03-0280-05

Preparation and Characterization of DiI Loaded PLGA Nanoparticles

WEN Zhen, GUO Guiping, XIE Xinxin, WANG Junteng, QIN Lifang, LIN Donghai^{*}(Department of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare DiI loaded nanoparticles using PLGA and MePEG-PLGA as carriers. **METHODS** Spontaneous emulsion solvent diffusion method(SES) was adopted to prepare nanoparticles. Ultrafiltration-UV-visible spectrophotometry was used for the determination of DiI-NP' encapsulation efficiency. **RESULTS** When DiI's dosage was 0.5

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30973949); 山东省自然科学基金资助项目(ZR2009CM012)

作者简介: 闻真, 女, 硕士生 Tel: (0535)6706030 E-mail: mindfree89@163.com *通信作者: 林东海, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0535)6706022 E-mail: ldh@ytu.edu.cn