

电感耦合等离子体质谱法测定僵蚕中 钙、硼、钠元素含量

吴应帅*, 赖森森, 李功辉, 肖隆海, 杨氏荣

(赣州市综合检验检测院, 赣州 341000)

摘要: **目的** 建立电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法同时测定僵蚕中钙、硼、钠三种元素含量的方法。**方法** 采用微波消解法作为前处理方法, 采用ICP-MS测定25批次僵蚕中钙、硼、钠三种元素含量并结合多元统计对不同产地僵蚕进行分析评价。**结果** 三种元素在各自范围内线性关系良好($r > 0.995$); 加样回收率在80%~120%范围内; 重复性RSD<5%; 重现性RSD<5%; 1D内稳定性RSD<5%。**结论** 该方法操作简单, 结果准确, 可用于僵蚕中三种元素的定量研究, 结果可为僵蚕质量控制及产地研究提供参考。

关键词: 僵蚕; ICP-MS; Ca、B、Na元素含量

Determination of calcium, boron and sodium in *Bombyx batryticatus* by ICP-MS

WU Ying-Shuai*, LAI Sen-Sen, LI Gong-Hui, XIAO Long-Hai, YANG Min-Rong

(Ganzhou General Inspection and Testing Institute, Ganzhou 341000, China)

ABSTRACT: Objective A method was developed for the simultaneous determination of calcium, boron and sodium in *Bombyx batryticatus* by Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **Methods** Microwave Digestion was used as the pretreatment method. The contents of Ca, B and Na in 25 batches of *Bombyx batryticatus* were determined by ICP-MS and analyzed by multivariate statistics. **Results** The three elements had a good linear relationship ($r > 0.995$), the recoveries were in the range of 80%~120%, the reproducibility RSD<5%, the reproducibility RSD<5% and the stability RSD<5% within 1 day. **Conclusion** the method is simple and accurate, and can be used for the quantitative study of three elements in *Bombyx batryticatus*. The results can provide reference for the quality control and origin study of *Bombyx batryticatus*.

KEY WORDS: *Bombyx batryticatus*; ICP-MS; Ca, B, Na contents

0 引言

僵蚕作为药用, 最早的文字记载始于《神农本草经》, 药用历史近千年。主要有小儿惊风, 风痰咳喘, 隐疹风疮, 痒腮, 偏正头痛等疗效^[1]。僵蚕用量的增加, 也导致伪劣品有利可图, 市场常见伪品为石灰粉拌病死虫, 但近年也有报道, 出现了一

种新型伪品, 直接用硼砂浸泡未经感染白僵菌的家蚕来冒充僵蚕^[2]。石灰粉的主要成分为碳酸钙, 过量服用引起钙的沉积, 增加患结石类疾病的风险; 硼砂的主要成分为四硼酸钠, 世界卫生组织在1996年提出了成人硼元素每日摄入量为1.0-13.0毫克^[3], 过少与过量都可能影响到人体健康^[4], 我国卫生部颁布的《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单》

基金项目: 赣州市指导性科技计划(GZ2023ZQT001)

Fund: Ganzhou's Guiding Science and Technology Programme (GZ2023ZQT001)

*通信作者: 吴应帅, 主管中药师, 研究方向为中药检验, E-mail: wuys008@163.com

*Corresponding author: WU Ying-Shuai, Pharmacists of Chinese Medicine-in-Charge, 186 West Jinling Road, Zhanggong District, Ganzhou 341000, China.

E-mail: wuys008@163.com

中, 硼砂也被列入禁用食品添加剂中。我国颁布的僵蚕标准无这两种化学成分的限制检查, 本实验针对石灰粉, 硼砂两种物质的主要元素钙、硼、钠建立 ICP-MS 测定方法, 并研究僵蚕中这三种元素的含量范围, 以期对僵蚕的质量控制及用药安全提供参考。本实验样品前处理用的消解方法为微波消解法, 此方法试剂使用少成本低、升温程序智能快捷、封闭环境减少外源污染。检测方法采用的是 ICP-MS 进行测定, 该方法检测速度快、结果准确、三种元素线性关系良好、有较低的检出限、响应灵敏。前处理方法与检测方法均满足三种元素含量测定要求。

1 材料与方法

1.1 仪器

ICAP RQ 电感耦合等离子体质谱仪 (赛默飞世尔科

技)、Agilent 7900 电感耦合等离子体质谱仪 (安捷伦公司)、PURELAB Chorus 1 型超纯水机 (ELGA LabWate); Wx-8000 型微波快速消解仪 (上海屹尧仪器科技发展有限公司); XSE205DU 型电子天平 (梅特勒天平公司)。

1.2 对照品与试剂

钙 (Ca)、硼 (B)、钠 (Na) 单元素标准溶液 (1000 $\mu\text{g/mL}$, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 钪元素标准溶液 (100 $\mu\text{g/mL}$, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 高纯氩 (99.9999%, 赣州世鸿气体有限公司出品); 浓硝酸 (分析纯, 西陇科学股份有限公司)。配制所需水均为自制超纯水。

1.3 样品

共收集僵蚕 25 批, 具体信息详见表 1。

表 1 25 批次僵蚕详细信息
Table 1 25 batches of *Bombyx batryticatus*

编号	生产企业	批号	产地
1	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	1803002	江西
2	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	20211216	江西
3	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	20211217	江西
4	江西金品堂中药饮片有限公司	20211201-1	浙江
5	江西金品堂中药饮片有限公司	20211201-2	浙江
6	江西金品堂中药饮片有限公司	20211201-3	浙江
7	江西百仁中药饮片有限公司	201001	江西
8	江西宏洁中药饮片有限公司	P2019091604	江西
9	江西樟树国康中药饮片有限公司	210701	四川
10	樟树市庆仁中药饮片有限公司	202111164-1	四川
11	樟树市庆仁中药饮片有限公司	202111164-2	四川
12	江西樟树成方中药饮片有限公司	22030101	广西
13	江西樟树成方中药饮片有限公司	22030102	广西
14	亳州市圣海中药饮片有限公司	210201	四川
15	广东天诚中药饮片有限公司	200201	广东
16	安徽魏武中药饮片科技有限公司	210120	浙江
17	芍花堂国药股份有限公司	2210817	广西
18	山东千禾中药饮片有限公司	202111022	广西
19	山东千禾中药饮片有限公司	202104010	广西
20	亳州市永刚饮片厂有限公司	180914	四川
21	亳州市永刚饮片厂有限公司	A211218	四川
22	河北仁心药业有限公司	51221005	四川
23	湖南省自然堂中药饮片有限公司	211201	广西
24	安国市聚药堂药业有限公司	2207002	云南
25	四川新荷花中药饮片股份有限公司	1907081	四川

2 结果与分析

2.1 仪器测定条件

碰撞反应池干扰消除模式: He 模式, 射频功率: 1550 W, 载气流量: 1.14 L/min, 采样深度: 7 mm, 雾化室温度: 2°C, 积分时间: 0.09 s, 峰型: 3 个点^[5]。

2.2 标准曲线及内标溶液的制备

标准品贮备溶液的制备: 分别精密量取钙 (Ca)、硼 (B)、钠 (Na) 单元素标准溶液适量, 用 5% 硝酸溶液稀释制成每 1 mL 分别含钙、硼、钠为 10 μg 、1 μg 、1 μg 的溶液, 即得。

标准品溶液的制备: 精密量取钙、硼、钠标准品贮备液适量, 用 10% 硝酸溶液稀释制成每 1 mL 含钙 0、0.4、1.0、2.0、5.0、

10.0 μg , 含硼 0、0.01、0.02、0.04、0.1、0.2、0.4 μg , 含钠 0、0.02、0.04、0.1、0.2、0.4、1 μg 的溶液。

内标溶液的制备: 精密量取钪 (Sc) 元素标准溶液适量, 加 5% 硝酸溶液稀释制成每 1 mL 含钪 0.25 μg 的溶液。

2.3 供试品、空白溶液的制备

取样品于 60°C 干燥 2 小时, 粉碎成粗粉, 精密称取 0.2 g, 置微波消解罐中, 加硝酸 5 mL, 密闭, 在微波消解仪中消解^[6], 升温程序见表 2。消解完全后, 冷却取出, 消解液转入 50 mL 量瓶中, 加 5% 硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 5% 硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得样品溶液。同法制成空白溶液。

2.4 线性关系考察

按“2.1”项下条件进行测定, 对照元素选取的同位素为 ^{43}Ca 、 ^{11}B 、 ^{23}Na , 内标同位素为 ^{45}Sc 。

将待测元素的标准系列溶液、内标溶液注入电感耦合等离子体质谱仪中, 并用空白溶液进行校正, 测定 Ca 元素、B 元素、Na 元素、Sc 元素信号响应值, 以待测元素响应值与内标元素响应值的比率为纵坐标, 对照元素浓度为横坐标, 绘制标准曲线(见图 1), 结果见表 3, 三种元素的线性相关系数均大于 0.995, 线性关系良好。

表 2 微波消解仪升温程序

Table 2 Microwave digestion instrument temperature program

步骤	控制温度(°C)	升温时间 (min)	恒温时间 (min)
1	90	5	5
2	120	5	2
3	150	5	10
4	180	5	15

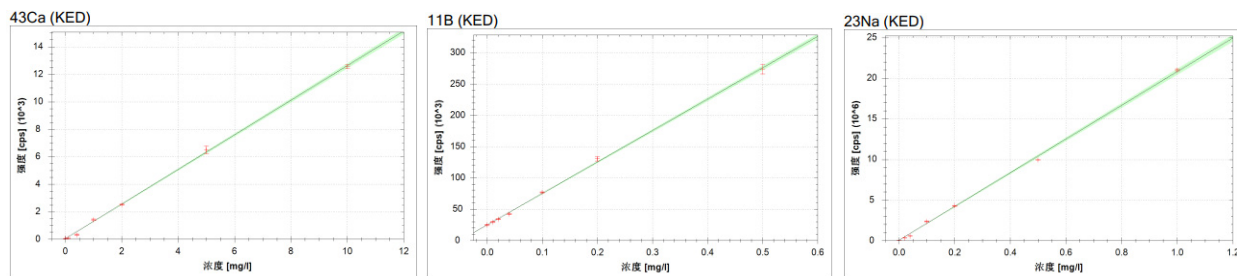


图 1 Ca、B、Na 元素标准曲线图

Fig.1 Standard curve of Ca, B and Na elements

表 3 三种元素线性关系

Table 3 The three elements are linear

元素	回归方程	r	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	检出限 (mg/kg)
Ca	$Y=1257.6X+46.9$	0.9976	0~10.0	0.40
B	$Y=50194.1X+25015.5$	0.9995	0~0.4	0.52
Na	$Y=2074389.8X+55334.8$	0.9993	0~1.0	0.04

2.5 精密度考察

取“2.2”项下浓度为 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Ca 元素对照品溶液、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 B 元素对照品溶液、0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Na 元素对照品溶液, 在“2.1”条件下测定 5 次, Ca 元素 CPS 分别为 28627、27960、29804、29521、28745, RSD 为 2.6% (n=5); B 元素 CPS 分别为 7194、7256、7496、6688、7341, RSD 为 4.2% (n=5); Na 元素 CPS 分别为 396215、392480、415254、390485、390550, RSD 为 2.6% (n=5)。精密度良好。

2.6 重复性试验

取样品 (编号 1), 按“2.3”方法制备 6 份, 在“2.1”条件下进行测定, Ca 元素含量分别为 4258、4296、4521、4350、4375、4605 mg/kg , RSD 为 3.1% (n=6); B 元素含量分别为 1.38、1.48、1.45、1.59、1.50、1.46 mg/kg , RSD 为 4.7% (n=6); Na 元素含量分别为 37.62、35.84、33.55、35.33、36.04、37.51 mg/kg , RSD 为 4.2% (n=6), 重复性良好。

2.7 重现性试验

取样品 (编号 1), 按 2.1~2.3 方法, 同日内, 分别在两台不同电感耦合等离子体质谱仪中测定, Ca 含量分别为 4308 mg/kg 、4498 mg/kg , RAD 为 2.2% (n=2); B 含量分别为 1.55 mg/kg 、1.42 mg/kg , RAD 为 4.4% (n=2); Na 含量分别为 35.01 mg/kg 、36.80 mg/kg , RAD 为 2.5% (n=2)。取样品 (编号 1), 按 2.1~2.3 方法, 在两个不同时间, 同一电感耦合等离子体质谱仪中测定, Ca 含量分别为 4455 mg/kg 、4328 mg/kg , RAD 为 1.4% (n=2); B 含量分别为 1.52 mg/kg 、1.42 mg/kg , RAD 为 3.4% (n=2); Na 含量分别为 36.65 mg/kg 、34.58 mg/kg , RAD 为 2.9% (n=2)。表明重现性良好。

2.8 稳定性试验

取样品 (编号 7), 按 2.1~2.3 方法, 分别于 0、2、6、12、18、24 h 测定, Ca 元素 CPS 分别为 37141、36924、37097、37535、36443、38111, 计算 RSD 为 1.5% (n=6); B 元素 CPS

分别为 1093、1023、1062、1035、1111、1054, 计算 RSD 为 3.2% (n=6); Na 元素 CPS 分别为 34273、33808、34559、34687、35102、34691, 计算 RSD 为 1.3% (n=6)。供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收试验

取样品 (编号 7) 6 份, 每份约 0.1 g, 分别精密加入 Ca 元素 0.5 mL、B 元素 20 μL、Na 元素 50 μL, 按“2.3”处理方法处理制备成加样回收供试品溶液, 按“2.1”测定方法进行测定。计算回收率, Ca、B、Na 元素平均回收率分别为 107.6%、115.3%、108.0%, 均在 80%~120% 范围内; RSD 分别为 5.4%、6.2%、3.9% (n=6), 均小于 10%^[8]。

2.10 样品含量测定

取本品, 按 2.1~2.3 方法制备样品并按测定条件进行测定, 计算, 含量结果见表 4。

表 4 Ca、B、Na 含量测定结果 (n=25)

Table 4 The results of Ca, B, Na content determination (n=25)

编号	Ca (mg/kg)	B (mg/kg)	Na (mg/kg)
1	4393	1.50	36.03
2	3445	1.91	21.24
3	3183	0.80	24.67
4	4770	4.79	28.64
5	4625	4.85	28.05
6	5845	6.12	38.21
7	3865	0.51	35.03
8	4761	127.57	253.58
9	3218	0.33	67.75
10	4530	275.43	560.63
11	3668	205.20	501.95
12	4140	403.28	1169.87
13	3609	357.98	899.17
14	7275	89.60	425.61
15	5483	1.27	52.69
16	6113	588.05	1359.07
17	7733	808.40	1644.52
18	7550	887.63	1611.32
19	5552	535.87	1073.11
20	5258	279.69	402.50
21	6555	298.66	430.95
22	5397	772.15	1418.22
23	4569	573.30	1220.57
24	3810	5.18	51.65
25	3828	36.64	119.55
平均值	4927	250.67	538.98

2.11 样品产地及含量分析

2.11.1 样品产地分析

僵蚕原产于江苏、浙江、四川、广东, 随着“东桑西移”工程的启动, 养蚕业向中西部转移, 所以市场逐渐出现江西、

广西、云南等地的僵蚕^[9]。从产地的批次数能看出, 原产地江苏的僵蚕未被收集到, 广东产僵蚕也只有 1 批次, 而江西、广西产僵蚕分别有 5 批次、6 批次, 这也很好地印证了“东桑西移”的启动。《中国药典》2020 年版一部中收录的僵蚕炮制方法对僵蚕体内元素含量并无明显影响, 而产地的不同, 会导致家蚕生长环境差异较大, 进食后各类元素的累积也不一样, 产地对僵蚕体内元素的影响更为明显, 因此, 本实验数据分析均以产地为参考因素, 而不用生产企业作为参考。

2.11.2 样品中 Ca 元素含量分析

从表 4 可看出, Ca 元素含量最小值是编号 3 (产地江西), 为 3183 mg/kg, 最大值是编号 17 (产地广西), 为 7733 mg/kg, 均值为 4927 mg/kg, 频数分布图见图 2, 箱式图见图 3。从图 2 可以看出 Ca 元素含量集中在 3000-6000 mg/kg, 占比 80%, 结合图 3 可以看出, 广东、江西、云南产地的僵蚕均在此范围内, 浙江有一批略超出范围, 6000-8000 mg/kg 范围内僵蚕主要产于四川和广西; 江西与浙江产的僵蚕 Ca 含量较为稳定, 而广西与四川产地僵蚕 Ca 含量差异较大。

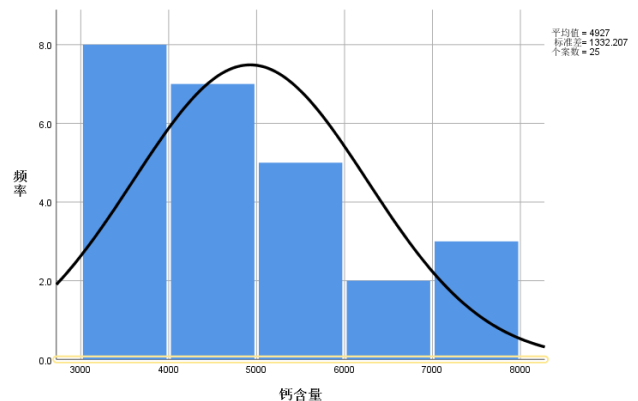


图 2 钙含量频数分布图

Fig.2 Frequency distribution of calcium content

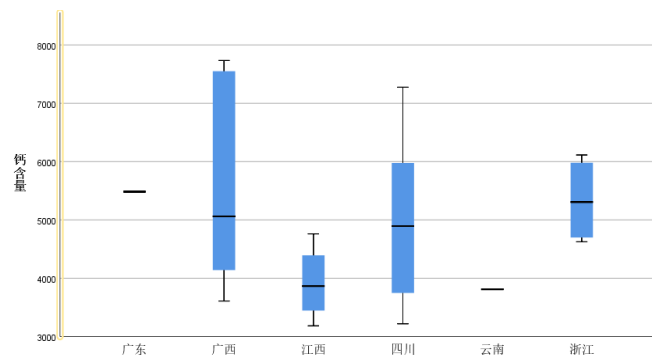


图 3 钙含量箱式图

Fig.3 Box diagram of calcium content

2.11.3 样品中 B 元素含量分析

从表 4 可看出, B 元素含量最小值是编号 9 (产地四川), 为 0.33 mg/kg, 最大值为编号 S18 (产地广西) 887.63 mg/kg, 均值为 250.67 mg/kg, 频数分布图见图 4, 箱式图见图 5。从

图4可以看出B元素含量在100 mg/kg以内的有12批次(其中10 mg/kg以内有10批),占比48%,结合图5,除广西产地外,其余五个产地均有样品在此区间,广西产僵蚕B含量普遍高于其他产地;江西产僵蚕B含量大部分小于10 mg/kg,但出现一个离群点(编号8),B含量为127.57 mg/kg;四川产僵蚕B含量大部分处于300 mg/kg以内,但出现一个离群点(编号22),B含量为772.15 mg/kg。

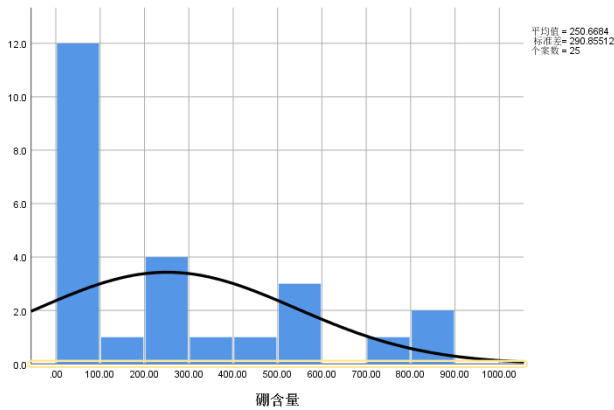


图4 硼含量频数分布图

Fig.4 Frequency distribution of boron content

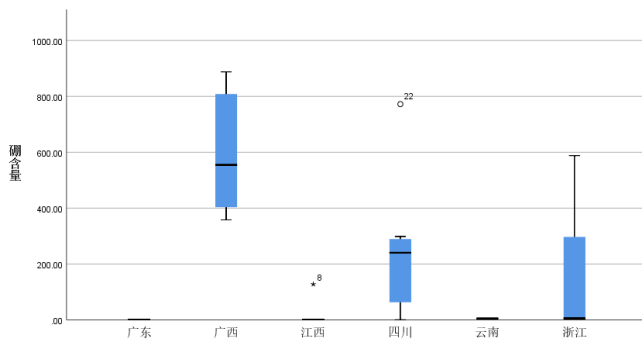


图5 硼含量箱式图

Fig.5 Box diagram of boron content

2.11.4 样品中Na元素含量分析

从表4可看出,Na元素含量最小值是编号2(产地江西),为21.24 mg/kg,最大值为编号17(产地广西)1644.52 mg/kg,均值为538.98 mg/kg,频数分布图见图6,箱式图见图7。从图6可以看出Na元素含量在200 mg/kg以内的有11批次(其中100 mg/kg以内有10批),占比44%,结合图7,除广西产地外,其余五个产地均有样品在此区间,广西产僵蚕Na含量普遍高于其他产地;江西产僵蚕Na含量大部分小于100 mg/kg,但出现一个离群点(编号8),Na含量为253.58 mg/kg;四川产僵蚕Na含量大部分处于600 mg/kg以内,但出现一个离群点(编号22),Na含量为1418.22 mg/kg。

2.11.5 聚类分析

用IBM SPSS 25.0软件以僵蚕三个元素的含量结果为变量,以平方欧式距离(Squared Euclidean distance)为区间,采用组

间联接(Between-group linkage)法,进行聚类分析,结果见图8。当距离为15时可分成两个类群,第一类群包括:所有江西、云南、广东产地僵蚕,四川产地编号为9、10、11、20、25的僵蚕,广西产地编号为12、13、23的僵蚕,浙江产地编号为4、5、6的僵蚕;第二类群包括:四川产地编号为14、21、22的僵蚕,广西产地编号为17、18、29的僵蚕,浙江产地编号为16的僵蚕。

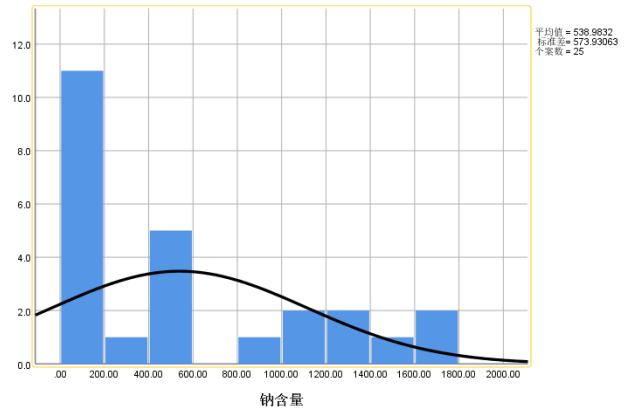


图6 钠含量频数分布图

Fig.6 Frequency distribution of sodium content

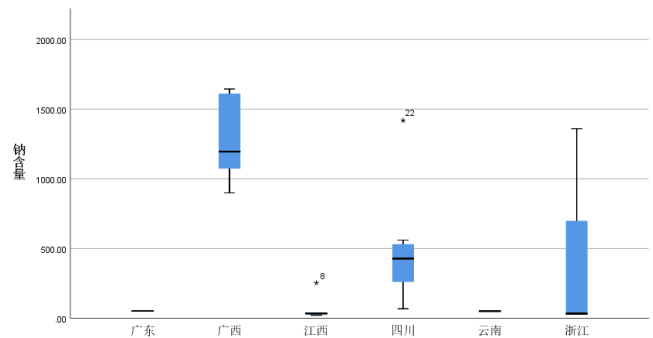


图7 钠含量箱式图

Fig.7 Box diagram of sodium content

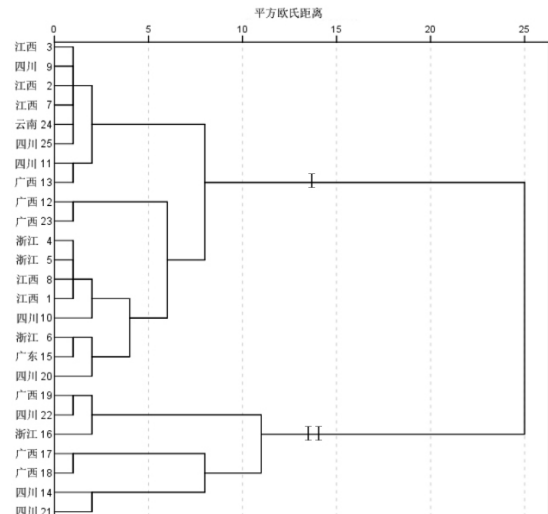


图8 25批僵蚕系统聚类分析(I为第一类群,II为第二类群)
Fig.8 Systematic cluster analysis of 25 batches of *Bombyx batryticatus* (I is the first group and II is the second group)

3 讨论与结论

钙元素含量相对另外两个元素含量更加稳定, 结果在 3183-7733 mg/kg, 最高值与最低值比值为 2.4, 其差异可能因为不同产地桑叶中草酸钙结晶的含量不一样所导致 (僵蚕体内可见未消化的桑叶), 有研究表明, 某地区不同品种的桑叶钙含量为 15002-30456 mg/kg^[10], 其最高值与最低值比值为 2.0, 两个比值相接近, 这也从侧面说明喂食的桑叶中钙的含量影响着僵蚕体内钙的含量。

硼和钠两种元素在僵蚕体内可能存在一定的关联性, 两种元素含量的频数图和箱式图高度一致。广西产地的僵蚕硼、钠元素普遍偏高, 广东、江西、云南产地僵蚕硼、钠含量相对更低, 导致这种结果的因素可能是各地区环境中含硼量不一样, 或在种植桑树时硼肥的选择和使用量有所区别。从图 5、图 7 可看出有江西、四川两产地僵蚕硼、钠元素含量分别出现一个离散值,

在市场调研过程中, 我们发现, 药农会随意更改药材产地以满足购买者的需求, 这两批次僵蚕存在虚标产地的可能。

通过聚类分析可知, 25 批次僵蚕可分为两类, 江西、云南、广东、浙江基本处于第一类群, 这几个产地的僵蚕相对稳定, 而四川与广西产地的僵蚕分成两个类群, 说明这两个产地的僵蚕三种元素的含量存在一定的差异, 从含量结果也能看出三元素含量跨度较大。

本实验同时收集了 4 批次伪劣僵蚕, 按 2.1~2.3 方法, 测定结果见表 5。编号 a,b,c 的三批次样品为掺有拌石灰粉的病死虫。这三批样品钙元素含量远超正品僵蚕, 范围在 13768-29648 mg/kg, 钙含量差异在于掺假比例不一样, 编号 c 样品中掺假数量少于编号 a, b; 编号 b, c 两批样品硼元素和钠元素也远超正常值, 原因可能为石灰粉中有其他成分的杂质。编号 d 样品为掺有直接用硼砂浸泡未经感染白僵菌的家蚕, 其钙元素含量在正常范围内, 而硼和钠元素超过正常含量水平。

表 5 4 批次伪劣僵蚕三种元素含量

Table 5 Contents of three elements in 4 batches of false and inferior *Bombyx batryticatus*

编号	Ca (mg/kg)	B (mg/kg)	Na (mg/kg)
a	29648	1309	2849
b	24073	9986	9554
c	13768	10537	7612
d	2050	2268	7854

综上所述, 本实验建立的方法, 稳定可靠, 可为僵蚕的质量控制和产地研究提供参考。

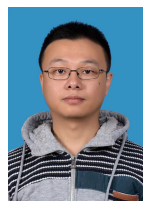
参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典 (上册)[M]. 第二版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1020-1022.
- [2] 倪亮, 姚毅, 王文渊, 等. 僵蚕新型伪品中标志物硼砂的定性定量检测方法研究 [J]. 中药材, 2021, 44(08): 1848-1850
- [3] WHO/FAO/IAEA. Trace elements in human nutrition and health [R]. Geneva: World Health Organization, 1996.
- [4] 杜鹏, 韩京秀, 董少霞, 等. 硼的健康风险研究进展 [J]. 环境卫生学杂志, 2015, 5(02): 177-183
- [5] 陈佳, 朱琼, 郭玮璐. 电感耦合等离子体发射光谱法测定炒僵蚕中 16 种微量元素的含量 [J]. 蚕业科学, 2020, 46(01): 119-123.
- [6] 闫卉欣, 孔丹丹, 李歆悦, 等. 动物药僵蚕中重金属及有害元素的污染水平及其健康风险评估 [J]. 中国中药杂志, 2019,

44(23): 5051-5057.

- [7] GB 5009.268-2016 食品安全国家标准食品中多元素的测定 [S]. 北京: 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局, 2016.
- [8] 钟思伟. ICP-MS 法测定左氧氟沙星注射液中 10 种元素杂质的含量 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43(11): 1914-1919.
- [9] 何青. 不同产地中药材僵蚕的品质分析与比较 [D]. 广东: 华南农业大学, 2017.
- [10] 殷霏瑶, 曲跃军, 金虎, 等. 高寒地区培育桑树品种营养成分含量测定对比 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(36): 12868-12870

作者简介



吴应帅, 主管中药师, 研究方向为药检验。