

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2018.04.004

火焰原子吸收法测定薄荷中 La^{3+} 含量*

付英杰 刘月帅 李新健 王建安
(济宁医学院药学院,日照 276826)

摘要 目的 利用火焰原子吸收法测定稀土元素 La^{3+} 含量,探究 La^{3+} 对薄荷各项生长指标的影响。方法 采用改良的火焰原子吸收法,制作标准曲线,考察该方法的线性、精密度、重复性、准确度、检出限和定量限,并测定叶面喷施 LaCl_3 后薄荷的生长指标及 La^{3+} 的残留量。结果 利用火焰原子吸收法测定 La^{3+} 含量在 $0 \sim 100 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好($r=0.9999$),标准曲线为 $A=0.0001C+0.0012$,精密度 RSD 为 1.20%,重复性 RSD 为 0%,加样回收率为 96.8%,RSD 为 1.45%,检测限为 $2.725 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、定量限为 $9.082 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。给薄荷叶面喷施稀土肥,喷施 LaCl_3 水溶液浓度为 $250 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,喷施 2 次后可显著增加正常薄荷的各项生长指标(株高、鲜质量、干质量),喷施 3 次后薄荷的 La^{3+} 吸收量接近饱和。结论 建立的用于测定薄荷中 La^{3+} 含量的火焰原子吸收分光光度法,方法准确可靠; La^{3+} 可明显促进正常薄荷的生长,并可应用于挥发油的增产。

关键词 薄荷;火焰原子吸收法; La^{3+} (镧)

中图分类号:O614.33;R931.2 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2018)08-242-05

Methodological study on determination of La^{3+} in *Mentha haplocalyx* Briq. by flame atomic absorption spectrometry

FU Yingjie, LIU Yueshuai, LI Xinjian, WANG Jianan
(College of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: Objective To study the methodology of flame atomic absorption spectrometry to determine the content of rare earth element La^{3+} and explore the growth effect of La^{3+} on *Mentha haplocalyx* Briq. **Methods** A modified flame atomic absorption method was used to prepare the standard curve. Then the linearity, precision, reproducibility, accuracy, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were investigated, and the growth index and the residual amount of La^{3+} after spraying LaCl_3 were measured. **Results** The flame atomic absorption method had a good linearity ($r=0.9999$) in the range of $0 \sim 100 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for the content of La^{3+} . The standard curve was $A=0.0001C+0.0012$. RSD of precision was 1.20%. RSD of repeatability was 0%. The recovery rate was 96.8%. And its RSD was 1.45%. LOD was $2.725 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the LOQ was $9.082 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The fertilization method was foliar spraying. The sprayed concentration was $250 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ LaCl_3 , and the growth indexes (plant height, fresh weight and dry weight) of the plant were significantly increased after spraying twice. The La^{3+} absorption was close to saturation after spraying 3 times. **Conclusion** The established flame atomic absorption method for the determination of La^{3+} in *Mentha haplocalyx* Briq. was accurate and reliable. La^{3+} could promote the growth obviously which could be applied to the increase of volatile oil.

Keywords: *Mentha haplocalyx* Briq.; Flame atomic absorption spectrometry; La^{3+}

薄荷 (*Mentha haplocalyx* (Briq.)) 是唇形科

(Labiatae.) 薄荷属多年生宿根性草本植物薄荷的地上部分,性辛凉,归肺肝经。其化学成分主要含有挥发油,其主要成分为薄荷脑(薄荷醇)、薄荷

* [基金项目] 山东省医药卫生科技发展计划项目(2014 WS0507)

酮、异薄荷酮、柠檬烯等^[1]。

镧(La^{3+})是一种重要的稀土元素,在各领域应用均十分广泛^[2]。 LaCl_3 可以使牧草叶片中的 SOD、CAT、POD 等抗氧化保护酶的活性明显增强,从而降低了活性氧对植物体造成的过氧化伤害^[3]。在低浓度稀土元素条件下,可影响细胞酶和细胞膜的生理功能,并具有类似于 SOD、POD 的抗氧化作用,使植物的产量增加,但如果稀土元素浓度过高会使植物表现为重金属中毒^[4]。前期试验发现叶面喷施 LaCl_3 有促进盐碱胁迫条件下薄荷生长的作用,但对叶片中 La^{3+} 的残留尚未检测。目前 La^{3+} 的测定方法主要有电感耦合等离子体原子发射光谱法^[5]、X 射线荧光光谱法^[6]、质谱法^[7]、紫外可见分光光度法^[8]等。本文拟在上述文献基础上采用火焰原子吸收法测定薄荷中残留 La^{3+} 的含量。报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 硝酸(批号:20150709,常熟市支塘精细化工有限公司,优级纯); LaCl_3 (批号:070228,上海青析化工科技有限公司); La^{3+} 标准溶液(批号:20160329,国家有色金属及电子材料分析测试中心,单元素标准溶液,1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。

1.1.2 药材 于 2015 年 8 月采于济宁医学院药学院中药材种植园,并由王建安副教授鉴定为唇形科植物薄荷(*Mentha haplocalyx* Briq.)。

1.1.3 仪器 人工气候箱(HPJ,金坛市友联仪器研究所);原子吸收分光光度计(AA-6800,日本岛津公司)。

1.2 方法

1.2.1 火焰原子吸收法分析条件 参考严方等^[9]方法并加以改良,采用火焰原子吸收法测定 La^{3+} 含量,仪器的工作条件如下:波长选择 550.1 nm,镧灯电流为 13mA,光谱通带(狭缝)为 0.2nm,载气(氩气)流量为 2.5L $\cdot\text{min}^{-1}$,燃烧器高度为 10.0mm。

1.2.2 样品处理 参考石克等^[10]方法并加以改良。样品硝化溶液的制备方法如下:将薄荷叶片干燥恒重后粉碎,精密称定粉碎后的薄荷粉末 0.5000g,精密加入 50%硝酸溶液 15.00ml,称定重

量,至电炉上加热至沸并保持微沸 5min,放冷,用 50%硝酸溶液补足减失的重量,摇匀,过滤,取滤液,即得所需样品溶液。

1.2.3 标准品配制及标准曲线制作 分别取 La^{3+} 标准品溶液(1000mg $\cdot\text{L}^{-1}$)0、0.5、1、1.5、2.0、2.5ml 于 25ml 容量瓶中,用去离子水稀释至刻度,获得 0、20、40、60、80、100mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 的 La^{3+} 标准溶液。然后计算回归方程及相关系数。

1.2.4 方法学考察 吸取 La^{3+} 标准品溶液 2ml,于 50ml 容量瓶中,用去离子水稀释到刻度,连续测定 6 次。计算精密度。

按 1.2.2 样品溶液制备方法制备 6 份平行样品溶液,分别测定 La^{3+} 含量,分析方法的重复性。

取已知 La^{3+} 含量(270ppm)的供试品溶液 5 份,每份精密量取 5ml,分别精密加入 20、40、60、80、100mg $\cdot\text{L}^{-1}$ LaCl_3 水溶液 5ml,定容到 10ml 容量瓶,制得加样回收溶液,按照 2.1.1 仪器分析条件,测定 La^{3+} 的含量,并计算回收率,分析方法的准确度。

按 1.2.1 分析条件,连续测定空白样品 5 次,根据检测限公式 $DL = 3 \times SD/K$ 、定量限公式 $QL = 10 \times SD/K$ (SD 为空白溶液吸光度值的标准差,K 为直线回归方程的斜率)来计算方法的检测限和定量限^[11]。

1.2.5 薄荷培养条件 选取若干株长势相同的薄荷,通过扦插法植于石英砂中,以大量元素的 Hoagland 营养液培养,生根 6cm 后,移栽于塑料花盆中(上口直径 14cm,高 10 cm,具底盘);基础土壤选取砂质土(土壤的养分测定为有机质 11g/kg,全氮 0.89g/kg,有效磷 14mg/kg,速效钾 109mg/kg,土壤肥力较低),移栽成功后选取长势接近的植株进行后续试验。

1.2.6 施稀土肥方法及用量选择 根据预实验及相关文献^[3],我们采用了叶面喷施法(此方法是目前微量元素肥料的主要施肥方法,用量比较经济,可避免土壤固定,养分吸收快,易于控制浓度,减少污染)。将 1.2.5 获取的移栽植株,喷施浓度为 0、50、100、150、200、250、300、350、400mg $\cdot\text{L}^{-1}$ LaCl_3 水溶液,在第 1、6 天各喷施 1 次,然后于光照培养箱中进行培养,控制温度(20 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$,光暗周期 13h/11h,光照强度 2000lx,共培养 20d,之后随机选取其中 10 株,测定存活率及株高,观察植株生长

情况。操作时采用压力喷壶均匀地在叶面喷洒至有小水珠,但又不会成股流下为止,每株喷施量约为 0.5ml 每次。

1.2.7 La³⁺ 残留量及各项生长指标测定 根据表 5 结果,设计为各组均每隔 5d 叶面喷施 250mg · L⁻¹ LaCl₃ 水溶液,喷施次数分别为 0、1(第 1 天)、2(第 1、6 天)、3(第 1、6、11 天)、4(第 1、6、11、16 天)。然后于光照培养箱中培养,控制温度(20 ± 2)℃,光暗周期 13h/11h,光照强度 2000lx,共培养 20d,之后随机选取每组 10 株,测定各株的生长指标(株高、鲜质量、干质量),挥发油得率采用中国药典(2015 版)四部 2204 的挥发油测定法,最后按照 1.2.2 项下方法进行 La³⁺ 残留量的测定,La³⁺ 残留量 = 测得 La³⁺ 的重量(μg)/植株干质量(μg) × 10⁶ ppm。实验设置 n = 10,计算 $\bar{x} \pm s$,用 Excel 进行统计绘图,用 SPSS19.0 进行 Duncan 分析

2 结果

2.1 线性关系考察

经计算得回归方程 $A = 0.0001C + 0.0012$,相关系数 $r = 0.9999$ 。利用火焰原子吸收法测定 La³⁺ 含量在 0 ~ 100mg · L⁻¹ 范围内线性关系良好。见图 1。

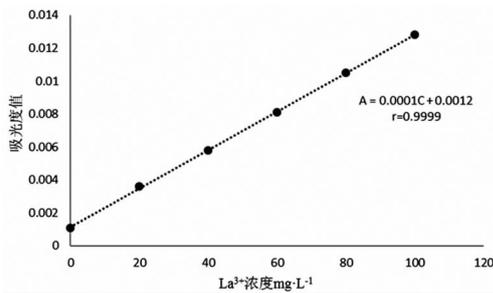


图 1 La³⁺ 标准溶液的标准曲线

2.2 方法学考察结果

精密度分析结果见表 1。经计算其 RSD 值为 1.80%,表明方法的精密度良好;重复性分析结果见表 2,经计算其 RSD 值为 0%,表明方法的重复性良好;加样回收率实验结果见表 3,经计算其加样回收率为 96.8%、RSD 为 1.45%,表明方法的准确度良好;检测限和定量限实验结果见表 4,该方法测定的标准差为 9.082×10^{-5} ,检测限为 2.725mg · L⁻¹,定量限 9.082mg · L⁻¹。

表 1 精密度分析结果

标准品	吸光度	La ³⁺ 浓度/mg · L ⁻¹	RSD/%
1	0.0057	45	1.20
2	0.0058	46	
3	0.0058	46	
4	0.0057	45	
5	0.0057	45	
6	0.0058	46	

表 2 重复性分析结果

编号	吸光度	薄荷中 La ³⁺ 含量/ppm	RSD/%
1	0.0021	270	0
2	0.0021	270	
3	0.0021	270	
4	0.0021	270	
5	0.0021	270	
6	0.0021	270	

表 3 准确度分析结果

样品 μg	加入 La ³⁺ 量/μg	吸光度值	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
45	100	0.0026	96.5	96.8	1.45
45	200	0.0036	98.0		
45	300	0.0045	95.7		
45	400	0.0056	98.6		
45	500	0.0064	95.4		

表 4 检测限和定量限结果

空白样品	吸光度值	检测限/mg · L ⁻¹	定量限/mg · L ⁻¹
1	0.0008	2.725	9.082
2	0.0010		
3	0.0005		
4	0.0007		
5	0.0008		

2.3 薄荷施稀土肥方法及用量选择

施稀土肥方法及用量选择结果表明:叶面喷施 LaCl₃ 浓度在 250mg · L⁻¹ 时,叶片生长较好,高于此浓度时部分叶片发生黄化或干枯,存活率下降,试验数据会有干扰,而低于此浓度时,株高较不喷施组只有增长趋势而无统计学意义。见表 5。

2.4 La³⁺ 残留量及各项生长指标测定

随着喷施 LaCl₃ 次数的增加,薄荷生长指标逐渐提升,叶面喷施 2 次后即可显著促进正常薄荷的生长,喷施 3 次后薄荷的 La³⁺ 吸收量接近饱和。在挥发油得率上,喷施次数影响较小,但由于鲜质量随次数显著增加。因此,挥发油的总量也有显著提升。见表 6。

表 5 施 La³⁺ 稀土肥用量选择结果 (n = 10)

喷施浓度/mg · L ⁻¹	0	50	100	150	200	250	300	350	400
存活率/%	100	100	100	100	100	100	90	90	70
株高/cm	16.1 ± 1.29	16.0 ± 1.04	16.2 ± 1.07	16.8 ± 1.11	17.4 ± 1.24	17.9 ± 1.59 *	17.9 ± 1.36 *	17.5 ± 1.44	17.5 ± 1.36
植株生长情况	正常	正常	正常	正常	正常	正常	部分叶片黄化、略有倒伏	部分叶片黄化、有倒伏	部分叶片干枯、有倒伏

注:与喷施浓度为 0mg · L⁻¹组对照, *P < 0.05

表 6 La³⁺ 残留量及各项生长指标测定结果 (n = 10)

次数	La ³⁺ 残留量/ppm	株高/cm	鲜质量(g/株)	干质量(g/株)	挥发油平均得率/%
0	0 ± 15	16.1 ± 1.29	2.68 ± 0.13	0.32 ± 0.02	0.99
1	218 ± 21 *	17.2 ± 1.31	2.83 ± 0.23	0.34 ± 0.03	1.01
2	409 ± 35 *	17.9 ± 1.59 *	2.95 ± 0.15 *	0.36 ± 0.02 *	1.03
3	627 ± 43 *	18.3 ± 2.24 *	3.08 ± 0.24 *	0.37 ± 0.02 *	1.02
4	655 ± 51 *	18.7 ± 1.69 *	3.17 ± 0.34 *	0.38 ± 0.03 *	1.03

注:与 0 次喷施深度相比, *P < 0.05

3 讨论

由各项指标(株高、鲜质量、干质量)测定结果可以看出,随着喷施次数的增加,薄荷生长指标逐渐升高,说明镧元素可以促进薄荷生长。喷施 3 次后薄荷的 La³⁺ 吸收量接近饱和,继续喷施基本不再吸收。为了防止薄荷重金属中毒将镧的喷施次数控制在 3 次为最佳。

文献中测定 La³⁺ 含量多采用石墨炉法,而火焰法则甚少见。石墨炉法尽管灵敏度更高,但由于光束方向与温度梯度方向一致,分析物原子蒸汽的形成和消失过程始终不在热平衡中,其热解离过程不可控制,因此气相干扰较大。本文中的薄荷样品采用石墨炉法干扰过多,无法应用,因此最终选择火焰法。

采用 50% 硝酸消解薄荷样品,火焰原子吸收光谱法测定薄荷中 La³⁺ 含量,其方法学考察线性、精密度、重复性、准确度(加样回收率)、检出限和定量限均达到分析要求,建立的薄荷中 La³⁺ 含量测定方法准确可靠。

在挥发油得率测定试验中,若每株薄荷分别进行测定,由于挥发油量较少,误差较大。因此,采用测定总量法,即在完成指标试验后,将剩余所有叶片进行一次提取,测定平均得率。

按照绿色标准总重金属含量 20ppm 进行计算,

若用途为药用或食用,叶面喷施浓度为 25mg · L⁻¹ 的 LaCl₃, 次数为 1 次,可达到绿色品质要求,但从表 5 结果来看,促生长效果可能较差 (P > 0.05)。综上所述,施 LaCl₃ 稀土肥的主要用途应为提取挥发油,可采用叶面喷施次数为 3 次,浓度为 250mg · L⁻¹ 的 LaCl₃。

参考文献:

- [1] 钟赣生. 中药学[M]. 9 版. 中国中医药出版社, 2012: 75-76.
- [2] 李雪梅. 荧光光度法测定镧、钇、铈的研究[D]. 山东理工大学, 2016.
- [3] 翁伯琦, 黄毅斌, 徐国忠, 等. 圆叶决明营养与逆境生理生态[M]. 科学出版社, 2011: 109-127.
- [4] 李雪梅, 柳玉英, 巩秀贤. 分子光谱法测定镧的研究进展[J]. 冶金分析, 2015, 35(01): 26-33. DOI: 10.13228/j. boyuan. issn1000-7571. 009486.
- [5] Abollino O, Mentasti E, Sarzanini C, et al. Determination of zirconium, barium, lanthanum, aluminium, sodium, hafnium and fluorine in fluorozirconate glasses[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 1992, 343(6): 482-487. DOI: 10.1007/BF00322154.
- [6] 姚强, 王燕, 朱宇宏. X 射线荧光光谱法测定稀土镁合金中镧、铈和铈含量[J]. 理化检验: 化学分册. (Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis). 2013, 49(12): 1515-1516.

(下转第 249 页)

综上所述, Corilagin 能促进人脑胶质瘤 U251 细胞的凋亡, 并抑制其迁移能力, 说明 Corilagin 对胶质瘤细胞具有较强的细胞毒作用。该结论补充了胶质瘤细胞的凋亡、耐药理论, 揭示了新型化疗药物 Corilagin 对胶质瘤细胞生物学特性的影响。尽管本研究还存在一定的局限性, 但是 Corilagin 的上述作用为胶质瘤的治疗拓宽了思路, 对恶性胶质瘤的临床治疗提供了理论依据。

参考文献:

[1] Madany M, Thomas TM, Edwards L, et al. Immunobiology and immunotherapeutic targeting of glioma stem cells [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 853: 139-166. DOI: 10.1007/978-3-319-16537-0_8.

[2] 刘永吉, 魏明华, 张永斌, 等. 胶质母细胞瘤的治疗现状[J]. *中国保健营养*, 2017, (17): 178-179. DOI: 10.3969/j. issn. 1004-7484. 2017. 17. 257.

[3] Jia L, Jin H, Zhou J, et al. A potential anti-tumor herbal medicine, Corilagin, inhibits ovarian cancer cell growth through blocking the TGF-beta signaling pathways [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13: 33. DOI: 10.1186/1472-6882-13-33.

[4] Jin F, Cheng D, Tao JY, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of corilagin in a rat model of acute cholestasis [J]. *BMC Gastroenterol*, 2013, 13: 79. DOI: 10.1186/1471-230X-13-79.

[5] Cheng JT, Lin TC, Hsu FL. Antihypertensive effect of corilagin in the rat [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 1995, 73(10): 1425-1429.

[6] 汪翔, 周修明, 张协军, 等. STAT3 信号通路在恶性脑胶质瘤中的研究进展[J]. *中华神经医学杂志*, 2016, (3): 245-250. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1671-8925. 2016. 03. 006.

[7] 杨凯元, 任晓辉, 林松. 生酮饮食疗法在脑胶质瘤治疗中的研究现状[J]. *中华神经外科杂志*, 2018, (1): 94-97. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1001-2346. 2018. 01. 022.

[8] Lopes RB, Gangeswaran R, Mc Neish IA, et al. Expression of the IAP protein family is dysregulated in pancreatic cancer cells and is important for resistance to chemotherapy [J]. *Cancer*, 2007, 120(11): 2344-2352. DOI: 10.1002/ijc. 22554.

[9] 李帅, 张炳东. 细胞凋亡途径的研究进展[J]. *山东医药*, 2017 (37): 103-106. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 37. 036.

[10] Lopez J. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within [J]. *British journal of cancer*, 2015, 112(6): 957-962. DOI: 10.1038/bjc. 2015. 85.

[11] Zaman S, Wang R. Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies [J]. *Leukemia&lymphoma*, 2014, 55(9): 1980-1992. DOI: 10.3109/10428194. 2013. 855307.

[12] Jin F, Zhao L, Guo YJ, et al. Influence of Etoposide on anti-apoptotic and multidrug resistance-associated protein genes in CD133 positive U251 glioblastoma stem-like cells [J]. *Brain research*, 2010, 1336: 103-111. DOI: 10.1016/j. brainres. 2010. 04. 005.

[13] Roomi MW, Kalinovsky T, Niedzwiecki A. Modulation of uPA, MMPs and their inhibitors by a novel nutrient mixture in human glioblastoma cell lines [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(2): 887-894. DOI: 10.3892/ijo. 2014. 2465.

[14] Ulasov I, Thaci B, Sarvaiya P, et al. Inhibition of MMP14 potentiates the therapeutic effect of temozolomide and radiation in gliomas [J]. *Cancer Med*, 2013, 2(4): 457-467. DOI: 10.1002/cam4. 104.

(收稿日期 2017-08-03)

(本文编辑: 石俊强)

(上接第 245 页)

[7] Pedreira WR, Sarkis JES, Rodrigues C, et al. Determination of trace amounts of rare earth elements in high pure lanthanum oxide by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry (HR ICP-MS) and high-performance liquid chromatography (HPLC) techniques [J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2002, 344: 17-20. DOI: 10.1016/S0925-8388(02)00297-9.

[8] 夏金虹. 紫外可见分光光度法用于 La、Ce 定量分析近况[J]. *玉林师范学院学报*, 2001, (03): 77-79.

[9] 严方, 高文苗, 罗文平, 等. 原子吸收法测定催化剂中的铜含量[J]. *中国测试*, 2009, 35(1): 82.

[10] 石克, 谢静, 罗立骏, 等. 原子吸收分光光度法测定制何首乌中的铁黑[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(3): 584. DOI: 10.16155/j. 0254-1793. 2011. 03. 016.

[11] 王大祥, 王倩倩. 石墨炉法测定地表水中镉的方法学研究[J]. *河南水利与南水北调*, 2015, (14): 95, 106.

(收稿日期 2017-12-01)

(本文编辑: 石俊强)