

· 论著 ·

微波消解-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定全血中的镧

张静如, 华俊杰, 韩 凌, 朱 敏, 鲁 莹 (海军军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 评估多效防护乳中镧(La)的透皮安全性, 建立微波消解-电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法测定大鼠全血中镧的分析方法。方法 全血样品经微波消解后, 采用电感耦合等离子体发射光谱仪分析, 以 333.749 nm 为分析谱线, 对大鼠全血中的 La 进行含量测定。结果 该方法的标准曲线相关性良好($r>0.9994$), 方法检出限为 0.0025 $\mu\text{g/ml}$, 定量限为 0.0077 $\mu\text{g/ml}$, 精密度的 $<3\%$, 回收率在 94.9%~102.0% 之间。结论 基于微波消解的 ICP-OES 方法稳定可靠, 可为镧元素的含量测定和给药安全性研究提供重要依据。

[关键词] 镧; 微波消解; 多效防护乳; 电感耦合等离子体原子发射光谱; 透皮

[中图分类号] R965.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2021)02-0118-03

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202012019

Determination of lanthanum in whole blood by microwave digestion-inductively coupled plasma optical emission spectrometry

ZHANG Jingru, HUA Junjie, HAN Ling, ZHU Min, LU Ying (Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the transdermal safety of lanthanum (La) in sunscreen and jellyfish sting protective lotion, establish a microwave digestion-inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) method for determination of lanthanum (La) in rat's whole blood. **Methods** The whole blood samples were digested by microwave and analyzed by inductively coupled plasma emission spectrometer (ICP-OES). Using 333.749 nm as the analysis line, the content of La in rat whole blood was determined. **Results** The correlation linearity of the standard curve of this method was good ($r>0.9994$), the detection limit of the method was 0.0025 $\mu\text{g/ml}$, the limit of quantification was 0.0077 $\mu\text{g/ml}$, the precision was less than 3%, and the recovery rate was between 94.9% and 102.0%. **Conclusion** The ICP-OES method based on microwave digestion is stable and reliable, and can provide an important basis for the study of the transdermal safety of lanthanum.

[Key words] lanthanum; microwave digestion; sunscreen and jellyfish sting protective lotion; inductive plasma optical emission spectrometry; transdermal

针对海训需求, 本课题组研制出一款能同时满足防晒和防水母蛰伤需求的防水型多效防护乳, 对于增强海军部队日常海训强度和提提高海军战斗力具有重要作用和意义。经文献和相关专利调查, 以及初步药效学评价^[1-5], 本课题确定以 $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 mmol/L)、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (25 mmol/L)、 CaCl_2 (25 mmol/L) 的水溶液作为防水母蛰伤成分加入到基质处方中。镧是一种重要的稀土元素, 广泛应用与电子、医药、生物医学等领域, 有文献报道^[6-9], 镧

离子暴露可能会导致人的健康问题, 对阈值效应而言, 需要进行未观察到有害作用剂量(NOEL)的测定。防护乳长期、大量涂抹, 而且很可能接触破损的皮肤, 镧离子(La^{3+})可能通过经皮吸收进入人体体循环, 而其在体内的毒性或潜在毒性均未明确。此外, 迄今为止, 未见含镧乳膏的透皮安全性的报道, 所以必须对防护霜中添加的镧离子进行安全性验证。

电感耦合等离子体发射光谱技术具有分析速度快、线性范围宽、可多元素同时测定、检出限低等特性, 已被广泛地应用于各类物质中无机元素的分析检测^[10]。本文以镧元素为检测对象, 结合微波消解与电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)技术, 建立一种体内含量分析方法, 可为多效防护乳的质量分析和透皮安全性评价提供基础数据。

[基金项目] 国家科技重大专项(子课题)—长远航环境及应激损伤防治药物的临床前及临床研究(2018ZX09J18110-001)

[作者简介] 张静如, 硕士研究生, 研究方向: 军队特需制剂研究, Email: 17826805417@163.com

[通信作者] 鲁 莹, 博士、教授, 研究方向: 纳米靶向递药, Email: acuace@163.com

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Scientific iCAP6000 系列电感耦合等离子体光谱仪,包括 RF 发生器、光谱仪系统和光电转换检测器; iTEVA 工作站(美国赛默飞世尔公司); MDS-6G 多通量微波消解/萃取系统(上海新仪微波化学科技有限公司); AL-104 电子天平(瑞士梅特勒公司); VORTEX-6 涡旋振荡器(海门市其林贝尔仪器有限公司); Barnstead D3750 超级纯水仪(美国赛默飞世尔公司)。

1.2 药品与试剂

硝酸(优级纯,批号:20190920)购自国药集团化学试剂有限公司; La 元素标准溶液(浓度 1000 $\mu\text{g/ml}$)购自国家有色金属及电子材料分析测试中心; 水为超纯去离子水($\geq 18.2\Omega$); 多效防护乳(批号:82004163)为中试放大样品。

1.3 实验动物

SD 大鼠,均为雄性,体重约 250 g,昭衍(苏州)新药研究中心有限公司提供,许可证号(苏)2018-0006。

2 方法与结果

2.1 全血样品采集

给药前,尽可能剃掉大鼠背部及两侧体毛,约 5 cm \times 10 cm,休息观察 24 h。实验前禁食 12 h,自由饮水。实验前,将大鼠编号,用丙酮轻轻擦去油脂。然后以 0.4 g/cm² 的剂量分别将防护乳均匀涂布在大鼠裸露皮肤表面。分别于给药前和给药后 1 h 在眼眶静脉丛取血 1 ml,置于肝素化的离心管中,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

2.2 仪器工作参数

iCAP6000 系列电感耦合等离子体光谱仪最佳化后工作条件为:射频功率 1150 W; 采样深度 5 mm; 冷却气流量 12 L/min; 辅助气流量 0.5 L/min; 泵转速 45 r/min。样品冲洗时间 30 s; 样品测定次数 3 次。微波消解仪参数和检测程序如表 1 所示。

表 1 全血样品微波消解程序

步骤	温度(T/ $^{\circ}\text{C}$)	保持时间(t/min)	功率(P/W)
1	120	6	800
2	150	5	800
3	180	15	800

2.3 供试品溶液的制备

准确吸取血样 1 ml,置于聚四氟乙烯烧杯中,

加入硝酸 8 ml,混匀,在电热板上于 120 $^{\circ}\text{C}$ 加热预消解 20 min,血样可完全溶解为黄色的消解液;然后,按照表 1 程序将样品置于微波消解仪中完全消解。取出样品置于 160 $^{\circ}\text{C}$ 的电热板上加热赶去硝酸,消解液呈无色透明或略带黄色,直到四氟乙烯杯剩余溶液小于 1 ml 时,将消解液转移至 10 ml 量瓶中,用 2% 硝酸溶液洗涤容器,洗液合并于量瓶中,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,得到供试品溶液。未经给药处理的血样经过上述消解程序得到的溶液即为空白基质溶液。

2.4 对照品溶液的制备

精密量取 La 元素标准溶液 1 ml,置 10 ml 量瓶中,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,得到浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 的储备液(A)。精密量取储备液 0.05、0.1、0.25、0.5、1、2.5 ml,分别置 50 ml 量瓶中,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,得到浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1、2、5 $\mu\text{g/ml}$ 的一系列对照品溶液。

2.5 方法学验证

2.5.1 专属性试验

将空白溶液(2% 硝酸溶液)、空白基质溶液、对照品溶液和供试品溶液依次注入等离子体光谱仪,检测并记录结果,其图谱如图 1 所示,结果表明 La 在 333.749 nm 处谱线干扰较少,对照品溶液和供试品溶液的峰形较好,空白溶液和空白基质溶液在此谱线无响应,方法的专属性较好。

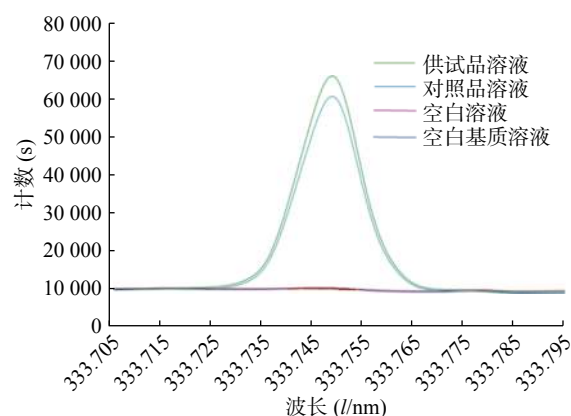


图 1 镧的专属性图谱

2.5.2 线性与定量限

将“2.4”项下制备的对照品溶液依次注入 ICP-OES,检测并记录结果。结果表明,在 0.1 ~ 5 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内,仪器响应值与浓度呈良好线性关系,La 的线性方程为 $Y=33730X-774.4$, $r=0.9998$ 。

将 2% 硝酸溶液注入 ICP-OES 进行测试,连续进样 11 次,以空白溶液响应值标准偏差的 3.3 倍计算检出限,以空白溶液响应值标准偏差的 10 倍

计算定量限。方法检出限为 0.0025 $\mu\text{g/ml}$, 定量限为 0.0077 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.5.3 准确度

精密量取空白血样 9 份于烧杯中, 各 1 ml, 分别精密加储备液 0.16、0.2、0.24 ml, 低、中、高每个浓度平行配制 3 份。随后按照“2.3”项下样品的处理方法进行制备, 即得空白加标溶液。将空白基质溶液和空白加标溶液分别注入仪器, 进样分析, 结果见表 2。La 的低、中、高浓度的回收率均在 94.9% ~ 102.0% 之间, 表明本法的回收率良好。

表 2 空白血样加标回收率试验结果

加入对照品含量 ($\mu\text{g/ml}$)	空白基质响应值 ($\mu\text{g/ml}$)	测得值 ($\mu\text{g/ml}$)	回收率 (%)	RSD (%)
1.6	0.0131	1.5354	95.1	0.86
1.6	0.0131	1.5610	96.7	
1.6	0.0131	1.5543	96.3	
2	0.0131	2.0521	102.0	1.20
2	0.0131	2.0246	100.6	
2	0.0131	2.0059	99.6	
2.4	0.0131	2.2914	94.9	0.85
2.4	0.0131	2.3231	96.0	
2.4	0.0131	2.3272	96.4	

2.5.4 重复性

取同一批血样(给药后 1 h 取血样本)共 6 份, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样分析。结果 La 含量的 RSD 为 1.01%, 表明本法的重复性良好。

2.6 样品测定

4 组样品在 1 h 的取血时点所测得的 La 的浓度($\mu\text{g/ml}$)如表 3 所示。

表 3 全血样品在给药后 1 h 测得的镧浓度 ($\mu\text{g/ml}$, $n=4$)

编号	含量($\mu\text{g/ml}$)	RSD(%)
1	1.770 \pm 0.016	0.94
2	2.092 \pm 0.012	0.57
3	1.968 \pm 0.008	0.44
4	1.885 \pm 0.012	0.67

3 讨论

3.1 镧的安全性

La 不是人体必需元素, 已有研究表明^[7, 9, 11] 镧具有潜在的毒性, 包括神经行为和认知行为功能障

碍, 可致肝功能下降, 对骨、肾、脾脏、免疫系统均具有负面影响。镧可从农产品通过胃肠道进入人体, 但是经皮吸收进入人体体循环的情况尚未可知, 未见有 La 的经皮安全性评价的报道。本次试验建立了 La 元素的生物样本体内分析方法, 为单次涂抹含镧防护乳后 24 h 的透皮安全性研究提供了新的方法和思路。

3.2 前处理方法的优化

全血中无机元素的分析常通过两种途径: 一是以 TritonX-100 水溶液或去离子水直接稀释进样测定; 二是通过传统的干灰化法、湿法消解或微波消解法将血样完全消解后进样测定^[12]。由于全血中含有大量蛋白质等物质, 直接稀释干扰较多, 与湿法、干法消解法相比, 微波消解具有加热快、消解完全、消耗试剂少、节能环保等优点^[13], 故本研究选择微波消解法对全血样品进行处理。常用的消解溶剂有 HNO_3 、 HF 、 H_2O_2 、 HClO_4 等^[14], 本实验采用 HNO_3 , 即可将血液样品消解为近无色的澄清液体(消解完全), 避免了 H_2O_2 、 HClO_4 等易爆溶剂的使用。

3.3 La 测定方法的建立

本文通过微波消解-ICP-OES 法, 建立了生物样本中 La 的测定方法, 该方法操作简单, 分析速度快, 灵敏度高, 准确度好, 为多效防护乳中 La 的含量测定和安全性评价提供依据。

【参考文献】

- [1] GINESTAR G J, PANYELLA C D, RECASENS G M, et al. Anti-jellyfish compositions [P]. EP2363135, 2011, 09.
- [2] GINESTAR G J, PANYELLA C D, CATAL E R, et al. Anti-jellyfish combinations [P]. EP2380577, 2011, 10.
- [3] LOTAN A. Compositions and methods for inhibiting nematocyst discharge [P]. US6406709, 2002, 06.
- [4] 张智. 水母蜇伤皮肤防护剂研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [5] LOTAN A. A Composition and method for inhibiting polar capsule discharge and protecting a subject from nematocyst sting[P]. EP1511457, 2015, 09.
- [6] D'HAESE P C, DOUGLAS G, VERHULST A, et al. Human health risk associated with the management of phosphorus in freshwaters using lanthanum and aluminium[J]. *Chemosphere*, 2019, 220: 286-299.
- [7] BADRI N, FLOREA A, MHAMDI M, et al. Toxicological effects and ultrastructural changes induced by lanthanum and cerium in ovary and uterus of Wistar rats[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2017, 44: 349-355.

(下转第 125 页)