

• 民族药 •

基于 LIBS 技术对 4 种珍宝藏药快速多元素分析

刘晓娜^{1,2}, 史新元^{1,2}, 贾帅芸^{1,2}, 赵娜^{1,2}, 吴志生^{1,2*}, 乔延江^{1,2*}

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102;

2. 国家中医药管理局 中药信息工程重点研究室, 北京 100102)

[摘要] 采用激光诱导击穿光谱 (LIBS) 技术对 4 种珍宝藏药仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸进行元素定性研究, 建立 4 种珍宝藏药的元素特征图谱。实验采用 Nd:YAG 和基频 1 064 nm 的脉冲激光器; 激光光束聚焦待测样品表面产生等离子体, 采用光谱仪探测其光谱信号。基于美国国家原子光谱标准与技术 (NIST) 数据库, 对 LIBS 谱线进行辨识。4 种珍宝藏药主要含有 Ca, Na, K, Mg 等, 同时检测到 C-N 分子谱带。其中, 在仁青常觉和二十五味珍珠丸中检测到 Fe; 仁青常觉和仁青芒觉中检测到重金属 Cu, Hg; 仁青常觉中检测到 Ag。结果表明, LIBS 提供了 4 种珍宝藏药的可靠、快速多元素分析; LIBS 具有实时、快速、近似无损的优势, 该技术在民族药物的元素检测, 具有广阔的应用前景。

[关键词] 珍宝藏药; 激光诱导击穿光谱; 指纹图谱; 多元素分析

Rapid multi-elemental analysis on four precious Tibetan medicines based on LIBS technique

LIU Xiao-na^{1,2}, SHI Xin-yuan^{1,2}, JIA Shuai-yun^{1,2}, ZHAO Na^{1,2}, WU Zhi-sheng^{1,2*}, QIAO Yan-jiang^{1,2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Information Engineering, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] The laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) was applied to perform a qualitative elementary analysis on four precious Tibetan medicines, i. e. Renqing Mangjue, Renqing Changjue, 25-herb coral pills and 25-herb pearl pills. The specific spectra of the four Tibetan medicines were established. In the experiment, Nd:YAG and 1 064 nm-baseband pulse laser were adopted to collect the spectra. A laser beam focused on the surface of the samples to generate plasma. Its spectral signal was detected by using spectrograph. Based on the National Institute of Standard and Technology (NIST) database, LIBS spectral lines were indentified. The four Tibetan medicines mainly included Ca, Na, K, Mg and other elements and C-N molecular band. Specifically, Fe was detected in Renqing Changjue and 25-herb pearl pills; heavy mental elements Hg and Cu were shown in Renqing Mangjue and Renqing Changjue; Ag was found in Renqing Changjue. The results demonstrated that LIBS is a reliable and rapid multi-element analysis on the four Tibetan medicines. With Real-time, rapid and nondestructive advantages, LIBS has a wide application prospect in the element analysis on ethnic medicines.

[Key words] precious Tibetan medicine; laser-induced breakdown spectroscopy; fingerprint; multi-elemental analysis

doi:10.4268/cjcm20151132

[收稿日期] 2014-12-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81303218); 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20130013120006); 国家中医药行业科研专项 (201407003)

[通信作者] * 乔延江, 教授, 研究方向为中药信息学, Tel: (010) 84738621, E-mail: yjqiao@263.net; * 吴志生, 讲师, 研究方向为中药质量控制, Tel: (010) 84738650, E-mail: wzs@bucm.edu.cn

[作者简介] 刘晓娜, 博士研究生, 研究方向为中药质量快速评价及微区分析, Tel: (010) 84738650, E-mail: xiaonaliu5627@163.com

• 2239 •

藏医药学是我国重要的民族医药分支^[1-2]。藏药因其独特的功效驰名中外,珍宝藏药倍受国内外医学专家及广大患者的青睐。珍宝藏药主要有七十味珍珠丸、仁青常觉、仁青芒觉、坐珠达西、二十五味珊瑚丸、二十五味珍珠丸和二十五味松石丸7个产品^[3]。在藏药产品中,珍宝藏药囊括所有非珍宝藏药的特点和优势,如绿色天然、疗效确切、服用方便等。此外,珍宝藏药均为藏医经典配方。如仁青常觉、二十五味珍珠丸均记载于公元8世纪藏医药巨著《四部医典》^[4]。珍宝藏药多以名贵、珍稀藏药材入药。如仁青常觉由降香、沉香、诃子、天竺黄、西红花、檀香、牛黄、人工麝香、熊胆、琥珀、松石、佐太等140味藏药材精制而成,其中不乏名贵藏药材^[5-6]。然而,在藏药中金属和矿物药材是药物中不可或缺的成分。藏药中重金属是社会关注的焦点。第493次香山科学会议以“含重金属传统药物与安全”为主题,探讨重金属与安全这一重大科学问题。为此,如何快速、实时、多元素同时检测成为研究热点。

激光诱导击穿光谱技术(laser-induced breakdown spectroscopy, LIBS)是一种多元素同时检测的分析技术,是以激光脉冲作为激发源诱导产生激光等离子体的原子发射光谱^[7]。基于美国国家原子光谱标准与技术(NIST)数据库,LIBS提供可靠的元素分析结果。相对传统的元素分析技术如原子吸收光谱(AAS)、电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)及电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)等,LIBS技术是一种绿色的分析技术,无需湿法试剂提取的样品制备过程或仅需少量的样品预处理(如压片)。相对于传统的元素分析技术,LIBS技术具有“快速、实时、原位、近似无损”等优势^[8]。LIBS被广泛应用于工业、农业、医药、环境、艺术与考古、军事爆炸侦探、深空探测等领域^[9]。

近年来,LIBS技术被越来越多的应用到生物医药领域^[10-11]。该技术提供样品的元素特征图谱信息。吴金泉等^[12]采用LIBS技术对藏药七十味珍珠丸进行定性研究,检测出镁、钙、钠、铁、铝、钾、锂、汞、铅、金(Mg, Ca, Na, Fe, Al, K, Li, Hg, Pb, Au)等10种元素。Trevizan等^[13-14]采用LIBS技术检测植物中的微量元素和常量元素。Harmon等^[15]报道LIBS技术在地质材料中的元素指纹图谱研究。Alvey等^[16]采用LIBS技术建立石榴石的元素指纹图谱,并采用化学计量学方法实现石榴石产地分类。4种珍宝藏药疗效显著,仁青芒觉和仁青常觉具有清热解毒之功

效,二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸具有开窍通络、安神开窍之功效。藏药处方组成复杂且金属和矿物药材是藏药中不可或缺的成分,在质量控制上存在很大难度。且LIBS技术在4种珍宝藏药的研究尚未见报道。本研究以4种珍宝藏药为研究载体,采用LIBS技术构建元素特征图谱,探讨其元素物质基础,建立4种珍宝藏药可靠、快速质量控制方法。

1 材料

1.1 仪器 商业LIBS(ChemReveal™-3764, TSI, 美国)。LIBS系统采用Q-switched Nd:YAG激光器,基频光波长为1064 nm,激光脉冲最高能量为400 mJ,重复频率为2 Hz,脉冲宽度为1~3 ns,光束发散角 ≤ 1 mrad。激光器发射的激光经分束器及透镜聚焦到样品后击打样品。激光脉冲诱导产生的等离子体经透镜由光纤采集传导至7通道的光谱仪。光谱仪的波长范围为170~950 nm,分辨率为0.1 nm。样品放置在三维精密运动载物台,保证不同位置的样品光谱采集。采用数字脉冲信号发生器控制激光器和光谱仪间的延迟时间。通过可见光CCD探测器实时观测及调整距离,实现激光最佳聚焦。随机选取样品表面3个点,进行 3×3 (100 $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$)均匀排布的9个点激光击打测量。采集的光谱取平均值记录。采用ChemLytics软件对采集到的光谱信号进行分析处理。

1.2 药品 仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸、二十五味珍珠丸4种珍宝藏药由青海省藏医院提供。取样品约2 g,玛瑙研钵研细,称取1.0 g,用压片机在10 t压力下持续3 min,压制成厚度1 mm、直径13 mm样品锭片。

2 方法

2.1 延迟时间优化 Choi团队采用LIBS技术在积分时间1 ms,延迟时间1 μs 条件下检测21个标准参考物质(standard reference materials, SRM)^[17],包括食品、粘土、淤泥、合金、地质、农业原料等。经测试,实验采用积分时间为1 ms,以Ca 422.64 nm处信号强度与319~320 nm处背景信号强度的信背比(S/B)为指标优化激光器触发和光谱采集的延迟时间。二十五味珍珠丸在不同延迟时间下,Ca 422.64 nm处信号强度与319~320 nm处背景信号强度的信背比,结果见图1。延迟时间为1 μs 时, Ca 422.64 nm处信背比最大,因此选择1 μs 为藏药的最佳延迟时间。

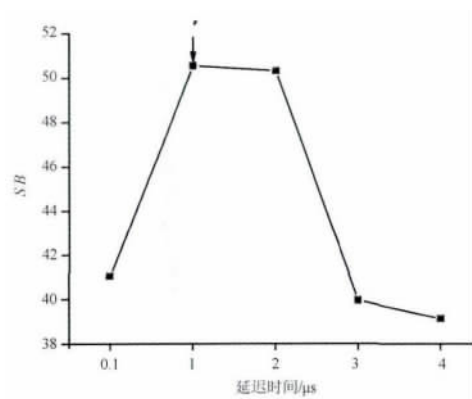


图 1 二十五味珍珠丸延迟时间优化

Fig. 1 The ratios of signal versus background on the laser delay time from Twenty-five Flavors Pearl pill

158 mJ) 为最佳激光能量。

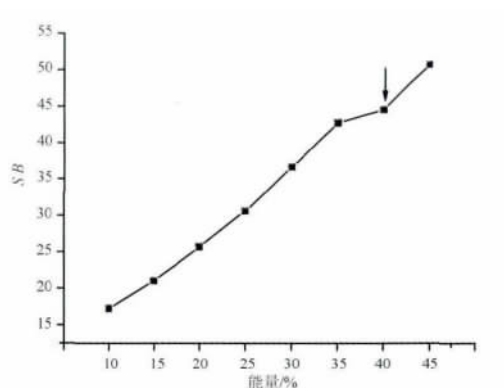


图 2 二十五味珍珠丸激光能量优化

Fig. 2 The ratios of signal versus background on the laser pulse energy from Twenty-five Flavors Pearl pill

2.2 激光能量优化 Ca 422.64 nm 处的信背比见图 2。激光能量的 10% ,15% ,20% ,25% ,30% ,35% ,40% ,45% 的实际激光能量约为 37 ,58 ,75 ,98 ,115 ,135 ,158 ,180 mJ。由图 2 可知 ,信背比随能量增加而增大 ,最大值出现在最大能量的 45% (约 180 mJ)。但在此能量多种元素信号强度超出量程。故选择最大能量的 40% (约

3 结果与分析

3.1 4 种珍宝藏药元素的特征谱线辨识 通过 ChemLytics 软件自带 NIST 数据库进行元素辨识 ,仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸、二十五味珍珠丸 4 种珍宝藏药的元素特征谱线辨识结果 ,见表 1。

表 1 4 种珍宝藏药元素的特征谱线辨识结果

Table 1 LIBS spectral emission lines of four kinds of precious Tibetan medicine

元素	波长/nm	S1	S2	S3	S4	元素	波长/nm	S1	S2	S3	S4
C	192.770	+	+	+	+	Ca	558.843	+	+	+	+
C	247.725	+	+	+	+	Ca	559.407	+	+	+	+
Hg	253.522	+	+	+	+	Ca	585.693	+	+	+	+
Mg	279.418	+	+	+	+	Na	588.952	+	+	+	+
Ca	315.863	+	+	+	+	Na	589.554	+	+	+	+
Ca	317.920	+	+	+	+	Ca	610.206	+	+	+	+
Cu	324.729	+	+	-	-	Ca	612.177	+	+	+	+
Cu	327.376	+	+	-	-	Ca	616.231	+	+	+	+
Ag	338.274	-	+	-	-	Ca	643.965	+	+	+	+
Mg	383.825	+	+	+	+	Ca	646.214	+	+	+	+
C-N	388.296	+	+	+	+	Ca	649.400	+	+	+	+
Ca	393.375	+	+	+	+	H	656.315	+	+	+	+
Al	394.417	+	+	+	+	Li	670.754	+	+	+	+
Al	396.177	+	+	+	+	Ca	714.856	+	+	+	+
Ca	396.816	+	+	+	+	Ca	720.267	+	+	+	+
Sr	407.789	+	+	+	+	N	742.388	+	+	+	+
Ca	422.640	+	+	+	+	N	744.306	+	+	+	+
Ca	428.287	+	+	+	+	N	746.918	+	+	+	+
Ca	430.228	+	+	+	+	K	766.523	+	+	+	+
Fe	438.344	+	+	+	+	K	769.959	+	+	+	+
Ca	442.559	+	+	+	+	O	777.212	+	+	+	+
Ca	443.498	+	+	+	+	O	777.492	+	+	+	+
Ca	445.441	+	+	+	+	N	869.367	+	+	+	+
Ba	455.358	+	+	+	+	N	870.256	+	+	+	+
Ba	493.388	+	+	+	+	N	870.947	+	+	+	+
Hg	546.065	+	+	-	-						

注:S1. 仁青芒觉;S2. 仁青常觉;S3. 二十五味珊瑚丸;S4. 二十五味珍珠丸(图 3 同);+. 检测到;- . 未检测到。

3.2 4种珍宝藏药的 LIBS 特征图谱 在延迟时间为 $1 \mu\text{s}$, 激光能量为 158 mJ 时, 仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸的 LIBS 光谱图见图 3。结果 4 种珍宝藏药的 LIBS 光谱显示强的谱线依次为 Ca 393.375, 396.816, 445.441 nm; Na 588.952, 589.554 nm; H 656.315 nm; K 766.523, 769.959 nm; N 746.918 nm; O 777.212, 777.492

nm; Mg 279.418 nm。同时检出 C-N 分子谱带。在仁青常觉和仁青芒觉中检出重金属元素 Cu 327.376, 324.729 nm 及微弱 Hg 253.522, 546.065 nm 谱线; 仁青常觉、二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸中检出 Ba 455.358, 493.388 nm 谱线; 仁青常觉和二十五味珍珠丸检出 Fe 438.344 nm 谱线; 仁青常觉中检出 Ag 338.274 nm 谱线。

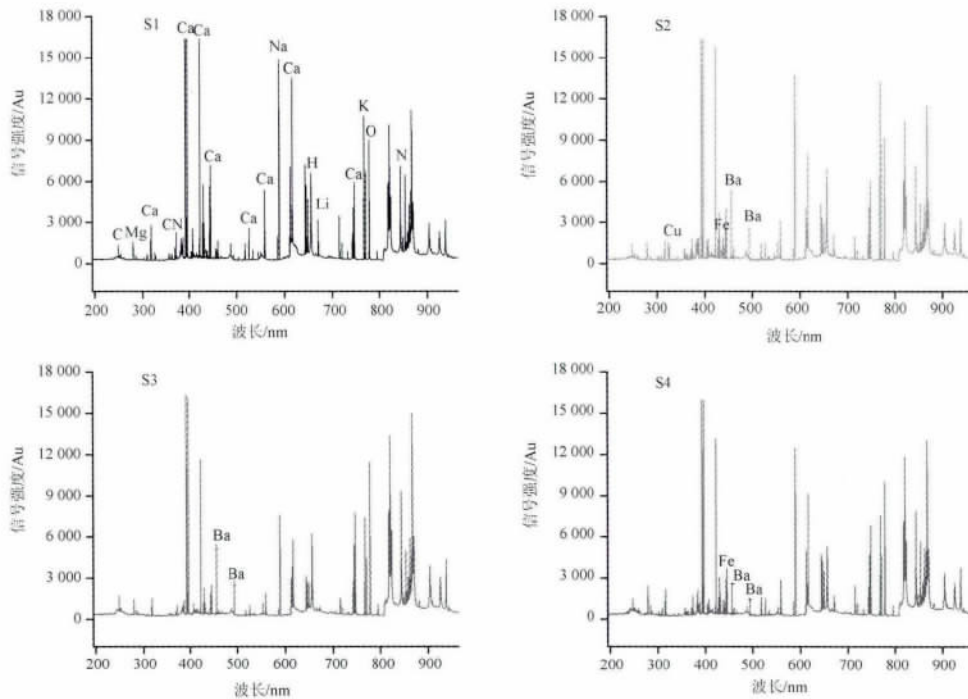


图 3 4 种珍宝藏药的 LIBS 特征图谱

Fig. 3 LIBS specific spectra taken from samples

4 讨论

4 种珍宝藏药仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸疗效显著, 均被《中国药典》2010 年版一部收录^[18]。本文通过对 LIBS 光谱采集及谱线辨识, 得到 4 种珍宝藏药仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸的 LIBS 特征图谱。4 种珍宝藏药主要含有 Ca, Na, K, Mg 等。在仁青常觉和二十五味珍珠丸中检出 Fe; 仁青常觉和仁青芒觉中检出重金属 Cu, Hg; 仁青常觉中检出 Ag。本文对藏药中重金属元素的检测及质量标准制定具有重要意义, 为重金属定量及元素价态研究做好铺垫。

LIBS 技术不仅能够用于多种元素定性研究, 而且能够用于相关元素的定量分析^[19-20]。实验结果

表明, LIBS 技术可用于分析藏药元素的定性分析。本研究为 4 种珍宝藏药仁青芒觉、仁青常觉、二十五味珊瑚丸和二十五味珍珠丸的元素定性检测提供方法依据。LIBS 技术具有多元素同时检测的优势, 在民族药物的元素检测具有广阔的前景。

[参考文献]

- [1] 陈仁寿. 中国少数民族药物的研究现状和前景[J]. 南京中医药大学学报: 社会科学版, 2006, 7(2): 921.
- [2] 王学勇, 吾布力·吐尔地, 赵保胜, 等. 藏药药性理论探析[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1199.
- [3] 李敏. 二十五味珊瑚丸安全性评价及相伴毒代动力学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [4] 房少新, 洛桑扎西. 藏药仁青常觉中微量元素的测析[J]. 西北民族大学学报: 自然科学版, 2012, 33(87): 64.
- [5] 马宁, 朱旭江, 杨锡, 等. 仁青芒觉胶囊质量标准研究[J].

- 中国中医药信息杂志, 2014, 21 (6): 72.
- [6] 看召本. 透视藏医珍宝类药品中的“佐太”[J]. 中国中药杂志, 2013, 38 (10): 1621.
- [7] 刘晓娜, 吴志生, 乔延江. LIBS 快速评价产品质量属性的研究进展及在中药的应用前景[J]. 世界中医药, 2013, 8 (11): 1269.
- [8] Hahn D W, Omenetto N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part I: review of basic diagnostics and plasma-particle interactions: still-challenging issues within the analytical plasma community[J]. Appl Spectrosc, 2010, 64(12): 335.
- [9] Hahn D W, Omenetto N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part II: review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields[J]. Appl Spectrosc, 2012, 66(4): 347.
- [10] Singh V K, Rai A K. Prospects for laser-induced breakdown spectroscopy for biomedical applications: a review[J]. Lasers Med Sci, 2011, 26(5): 673.
- [11] Liu X Y, Wei J Z. Recent developments in biomedicine fields for laser induced breakdown spectroscopy[J]. J Biomed Sci Engin, 2008, 1(3): 147.
- [12] 吴金泉, 林兆祥, 刘林美, 等. 藏药七十味珍珠丸的激光诱导击穿光谱检测[J]. 中南民族大学学报:自然科学版, 2009, 28(2): 53.
- [13] Trevizan L C, Santos J D, Samad R E, et al. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant material[J]. Spectrochimica Acta Part B, 2009, 64(5): 369.
- [14] Trevizan L C, Santos J D, Samad R E, et al. Evaluation of LIBS for the determination of macronutrients in plant materials[J]. Spectrochimica Acta Part B, 2008, 63(10): 1151.
- [15] Harmon R S, Remus J, McMillan N J, et al. LIBS analysis of geomaterials: geochemical fingerprinting for the rapid analysis and discrimination of minerals[J]. Appl Geochem, 2009, 24(6): 1125.
- [16] Alvey D C, Morton K, Harmon R S, et al. Laser-induced breakdown spectroscopy-based geochemical fingerprinting for the rapid analysis and discrimination of minerals: the example of garnet[J]. Appl Spectrosc, 2010, 49(13): C168.
- [17] Choi S J, Lee K J, Yoh J J. Quantitative laser-induced breakdown spectroscopy of standard reference materials of various categories[J]. Appl Phys B, 2013, 113(3): 379.
- [18] 中国药典. 一部[S]. 2010.
- [19] 孙兰香, 于海斌, 郭前进, 等. 激光诱导击穿光谱在物质成分定量分析方面的实验研究进展[J]. 仪器仪表学报, 2008, 29(10): 2235.
- [20] 李颖. LIBS 在金属元素定量分析中的应用及其影响因素研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.

[责任编辑 张燕]