

КОМБИНИРОВАННАЯ МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

А.В. Никулин, Е.А. Платонов, О.Г. Потанина*, докт. фарм. наук

Российский университет дружбы народов.

Центр коллективного пользования (Научно-образовательный центр),

117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

*E-mail: Microly@mail.ru

Разработана новая комбинированная методика определения элементов с помощью атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией в растворах, полученных кислотным разложением лекарственного растительного сырья в условиях микроволнового нагрева. Оценены основные метрологические характеристики сырья. Эффективность разработанной методики подтверждена анализом промышленных образцов 7 видов сырья.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье, элементный анализ, комбинированный метод, микроволновая система для разложения, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией.

Ценность лекарственного растительного сырья (ЛРС) определяется не только содержанием органических веществ, непосредственно проявляющих биологическую активность, но и способностью накапливать неорганические соединения, в том числе металлы. Уровни содержания металлов в лекарственных растениях определяются комплексом различных природных и техногенных факторов. Значительные изменения этих факторов в окружающей среде вызывают необходимость ужесточения контроля содержания металлов в ЛРС [1–6]. Для их определения в ЛРС используются различные физико-химические методы анализа, включенные в большинство фармакопей

развитых стран [7–10], в том числе и в Государственную фармакопею Российской Федерации XII издания [11]. К их числу относятся атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП), атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией (ЭТААС). Сочетание методов АЭС-ИСП и ЭТААС позволяет полностью удовлетворить потребности в многоэлементном анализе ЛРС в диапазоне содержаний аналитов на уровне от ррб до ppm. Эффективное применение этих методов предполагает необходимость перевода анализируемых объектов в раствор.

Методы, предлагаемые в отечественной и зарубежных фармакопеях [7–10], не всегда дают корректные результаты, поскольку при их использовании возникает опасность не только потерь аналитов на стадии разложения, но и получения нестабильных, часто ошибочных результатов на стадии определения наиболее токсичных тяжелых металлов. Методики определения других элементов, содержание которых может быть важным показателем безопасности и эффективности ЛРС, в фармакопеях отсутствуют, хотя в научной литературе такая информация имеется [1–3]. Наиболее удачным вариантом подготовки ЛРС к определению современными спектральными методами является кислотное разложение растительного материала в условиях микроволнового нагрева, использование таких систем позволяет в значительной степени предотвратить потери определяемых элементов, а также ускорить, упростить и автоматизировать процедуру переведения анализируемых объектов в раствор [12–15].

Цель работы заключалась в разработке простой, универсальной комбинированной методики определения большинства металлов в ЛРС методами АЭС-ИСП и ЭТААС после кислотного разложения объектов в условиях микроволнового нагрева.

Экспериментальная часть

В исследовании использовались промышленные образцы плодов шиповника, листьев шалфея, травы пустырника, чистотела, зверобоя, эрвы шерстистой, цветков ромашки и пижмы. Образцы разлагали азотной кислотой концентрированной квалификации Trace Metal Grade (Fisher Chemical) и концентрированным раствором водорода перекиси квалификации A.C.S. (Sigma-Aldrich). Разложение осуществляли с помощью микроволновой системы (МВ-печь/система) под контролем температуры (Milestone Ethos). Аналиты в полученных растворах определяли атомно-эмиссионным спектрометром с индуктивно связанной плазмой (Varian 720-ES, аксиальный обзор плазмы) и атомно-абсорбционным спектрометром с электротермической атомизацией (Varian AA 240, GTA 120).

Пробоподготовку проводили по следующей методике: 0,3 г анализируемых образцов (точная навеска) помещали в тефлоновые сосуды, прибавля-

ли 5 мл азотной кислоты концентрированной и 0,5 мл концентрированного раствора водорода перекиси, тщательно укупоривали и помещали в МВ-печь. Образцы разлагали в течение 20 мин при повышенной температуре, охлаждали, распечатывали сосуды и фильтровали содержимое в колбу объемом 100 мл через фильтровальную бумагу типа «Синяя лента». Далее полученные растворы анализировали методами АЭС-ИСП и ЭТААС. Правильность методики подтверждали с помощью метода добавок как на стадии разложения кислотами, так и на последующей стадии инструментального определения.

Для выбора условий определения элементов методом АЭС-ИСП использовали добавки аналитов в раствор, полученный кислотным разложением плодов шиповника в МВ-печи при температуре 170°C. Правильность выбранной методики определения элементов, а также согласование между введенными и найденными концентрациями металлов иллюстрируют данные в табл. 1 и 2. Длины волн могут быть скорректированы в зависимости от содержания определяемого элемента и возможных спектральных влияний со стороны других компонентов матрицы в анализируемом растворе. Диапазон линейности для всех элементов составляет до 100 мкг/мл за исключени-

Таблица 1

ПРАВИЛЬНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ МЕТОДОМ АЭС-ИСП НА ФОНЕ РАСТВОРА, ПОЛУЧЕННОГО КИСЛОТНЫМ РАЗЛОЖЕНИЕМ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА В МВ-ПЕЧИ

Элемент	Длина волны, нм	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл
Al	308,215	1,10	1,08
	396,152	1,08	1,10
Ba	233,527	1,13	1,10
	455,403	0,91	0,90
Co	228,615	1,06	0,98
	238,892	1,11	1,00
Cr	205,560	1,13	1,10
	267,716	1,13	1,10
	283,563	1,11	1,04
Cu	324,754	1,03	1,00
	327,395	1,08	1,03
Fe	238,204	1,12	1,21
	259,940	1,08	1,15
Mn	257,610	1,07	1,07
Ni	231,604	1,10	1,00
Sr	407,771	1,19	1,23
Zn	206,200	1,14	1,05
	213,857	1,11	1,00

ем кальция (Ca), определяемого при длине волны 396,847 нм, и стронция (Sr). Для определения Ca при длине волны 396,847 нм диапазон линейности – до 20 мкг/мл, для Sr – до 2 мкг/мл. Коэффициенты корреляции (R^2), полученные из анализа градуировочных зависимостей, составляли более 99,8%. Относительные стандартные отклонения (RSD), вычисленные при концентрации аналитов, – 1 мкг/мл, составляют менее 2% ($n=3$, $p=0,95$).

Однако для выявления следовых количеств наиболее токсичных элементов, в частности кадмия, свинца, мышьяка (Cd, Pb, As), чувствительности метода АЭС-ИСП недостаточно. Поэтому для их определения использовался другой высокочувстви-

тельный метод – ЭТААС. Для обеспечения максимальной чувствительности и правильности определения элементов выбор температур термообработки и атомизации осуществляли по растворам Cd, Pb, As с концентрациями аналитов 0,5, 10, 20 нг/мл (соответственно) на фоне раствора, полученного кислотным разложением плодов шиповника. Температуры термообработки для Cd, Pb, As составляли соответственно 300°C, 350°C, 1400°C; температуры атомизации – 1800°C, 2100°C, 2500°C. Для Pb в качестве модификатора использовали 1% раствор аскорбиновой кислоты, для As – 1% раствор Ni^{2+} . Правильность ЭТААС-методики была подтверждена методом добавок (табл. 3). Найденные концентрации аналитов удовлетворительно совпадали с введенными. Диапазон линейности составлял до 1, 25, 45 нг/мл для Cd, Pb, As соответственно, коэффициенты корреляции (R^2), полученные из анализа градуировочных зависимостей для Cd, Pb, As, – более 99,5%. Относительные стандартные отклонения (RSD), вычисленные при концентрации Cd, Pb, As 0,5, 10, 20 нг/мл соответственно, составляли менее 6% ($n=3$, $p=0,95$).

Выбор условий кислотного разложения образцов ЛРС проводили на примере As, как наиболее склонного к потерям в процессе пробоподготовки элементов из всех изученных. Контроль возможных потерь осуществляли методом добавок. Наиболее оптимальным оказался диапазон температур 150–170°C, при котором достигалось не только разложение исследуемого материала, но и не было потерь мышьяка (введено – 20 нг/мл, найдено – 22 нг/мл). Все остальные элементы (значительно менее летучие), изученные в настоящей работе, не терялись в процессе пробоподготовки.

Эффективность разработанной комбинированной методики была проверена на примере анализа разных видов ЛРС на содержание Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Sr, Cd, Pb, As (табл. 4). Согласно полученным результатам, методика может применяться для определения элементов в различных морфологических группах ЛРС.

Таблица 2

**ПРАВИЛЬНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ Ca, Mg, K
МЕТОДОМ АЭС-ИСП НА ФОНЕ РАСТВОРА,
ПОЛУЧЕННОГО КИСЛОТНЫМ РАЗЛОЖЕНИЕМ
ПЛОДОВ ШИПОВНИКА В МВ-ПЕЧИ**

Элемент	Длина волны, нм	Содержание в анализируемом растворе, мкг/мл	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл
Ca	318,127	21,8	1,05	22,8
Mg	280,270	4,32	1,09	5,45
K	766,490	29,6	1,04	31,4

Таблица 3

**ПРАВИЛЬНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ Cd, Pb, As
МЕТОДОМ ЭТААС НА ФОНЕ РАСТВОРА,
ПОЛУЧЕННОГО КИСЛОТНЫМ РАЗЛОЖЕНИЕМ
ПЛОДОВ ШИПОВНИКА В МВ-СИСТЕМЕ**

Элемент	Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл
Cd	0,52	0,56
Pb	9,90	8,70
As	21,0	19,1

Таблица 4

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Sr, Cd, As, Pb
В ГРАНУЛИРОВАННОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ ($n=3$, $p=0,95$)**

ЛРС	АЭС-ИСП, ppm							ЭТААС, ppb		
	Al	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Sr	Cd	Pb	As
Плоды шиповника	478±350	11147±3500	388±200	8548±700	3404±2120	59±20	51±15	<8	<120	<1000
Листья шалфея	378±200	15121±5400	319±150	10047±2210	3453±2520	45±20	57±10	<8	<120	<1000
Трава пустырника	64±20	10187±3500	85±20	9355±2510	1934±1520	42±10	45±20	15±7	<120	<1000
Цветы ромашки	339±250	12108±2100	683±250	16481±1130	2487±250	79±20	42±10	8±2	122±50	<1000
Трава чистотела	283±100	12326±1000	537±300	21520±7100	2279±250	82±30	45±10	<8	144±23	<1000
Трава зверобоя	144±100	10045±3500	454±300	16977±7500	1974±1510	94±30	34±10	27±10	150±21	<1000
Цветки пижмы	283±150	10398±1300	222±100	15874±2250	4585±2030	100±20	82±30	11±6	<120	<1000
Трава эрвы шерстистой	562±350	8850±4420	401±300	11338±4200	4113±2070	108±30	88±50	25±9	<120	<1000

Вывод

Разработана комбинированная методика, позволяющая определять большинство металлов в широком диапазоне концентраций в лекарственном растительном сырье следующих морфологических групп: плоды, листья, травы, цветки. Методика включает кислотное разложение сырья в условиях микроволнового нагрева и последующее прямое определение элементов в полученных растворах методами АЭС-ИСП и ЭТААС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гравель И.В. Региональные проблемы экологической оценки лекарственного сырья и фитопрепаратов на примере Алтайского края. Автореферат на соискание степени дисс. докт. фарм. наук. Барнаул, 2005; 402.
2. Łozak A., Sołtyk K., Ostapczuk P., Fijałek Z. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. *Sci. Total Env.*, 2002; 289: 33–40.
3. Putlakowska K., Kita A., Janoska P., Potowniak M., Kozik V. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chem.*, 2012. 135: 494–501.
4. Марковеццио Д.Е., Ботте С.Е., Фрайдже Р.Ш. Тяжелые металлы, ведущие металлы, следовые количества элементов. Руководство по анализу воды (под ред. Ноллета Л.М). Л. Бока-Ратон: СРС Пресс, 2007; 275–311.

5. Olowoyo J.O., Okedeyi O.O., Mkolo N.M., Lion G.N. Mdakane S.T.R. Uptake and translocation of heavy metals by medicinal plants growing around a waste dump site in Pretoria, South Africa. *South African Journal of Botany*, 2012. 78: 116–121.
6. Логан Т.Д., Гоинс Л.Е., Линдсай Б.Д. Оценка поглощения следов элементов в шести видах растительного материала, произрастающего на N-Viro почвах. Исследования воды и окружающей среды, 1997; 69: 28–33.
7. Государственная фармакопея СССР XI издания. Вып. 1, 2. М.: Медицина, 1998.
8. Deutsches Arzneibuch. 10 Ausgabe, 1991; Band 1–4.
9. European Pharmacopoeia 6th Edition. – 2008.
10. The United State Pharmacopoeia 25 Edition. – 2007. Vol. 1. 1248 p.
11. Государственная Фармакопея Российской Федерации XII издания. Вып. 1. М.: Медицина, 2009.
12. Niu X., Chen X., Su H., Egrinya Eneji A., Guo Y., Dong X. Changes of secondary metabolites and trace elements in gentian macrophylla flowers: a potential medicinal plant part. *Chinese herbal medicines*, 2014; 6: 145–151.
13. Kolachi N.F., Kazi T.G., Afridi H.I., Khan S., Wadhwa S.K., Shah A.Q., Shah F., Baig J.A., Sirajuddin. Determination of selenium content in aqueous extract of medicinal plants used as herbal supplement for cancer patients. *Food and Chemical Toxicology*, 2010; 48: 3327–3332.
14. Кубракова И.В. Микроволновое излучение в аналитической химии: возможности и перспективы. Успехи химии, 2002; 71 (4): 327–334.
15. Кингстон Г.М., Джесси Л.Б. Пробоподготовка в микроволновых печах. Теория и практика. Перевод с англ. М.: Мир, 1991; 333.

Поступила 11 октября 2015 г.

A COMBINED PROCEDURE FOR DETERMINING THE ELEMENTAL COMPOSITION OF RAW MEDICINAL PLANT MATERIAL

A.V. Nikulin; E.A. Platonov; O.G. Potanina, PhD

Multiuser Center (Research and Educational Center), People's Friendship University of Russia; 6, Miklukho-Maklai St., Moscow 117198

SUMMARY

The value of raw medicinal plant material is determined by both the content of organic substances that directly show their biological activity and the ability to accumulate inorganic compounds, including metals. A new combined procedure has been developed to determine elements by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and electrothermal atomic absorption spectrometry in the solutions prepared by acidic decomposition of raw medicinal plant material during microwave heating. The main metrological characteristics of the raw material were estimated. The efficiency of the developed procedure was confirmed analyzing the industrial samples of 7 raw material species.

Key words: raw medicinal plant material, elemental analysis, combined method, microwave decomposition system, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, electrothermal atomic absorption spectrometry.

REFERENCES

1. Gravel I. V. The regional problems of an ecological assessment of the medicinal raw materials and phytopreparations on the example of Altai region. Dissertation. Barnaul: 2005; 402 (in Russian).
2. Łozak A., Sołtyk K., Ostapczuk P., Fijałek Z. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. *Sci. Total Env.*, 2002. 289: 33–40.
3. Putlakowska K., Kita A., Janoska P., Potowniak M., Kozik V. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chem.*, 2012. 135: 494–501.
4. Marcovecchio E., Botte S. E., Freije R. H. Heavy metals, major metals, trace elements, In: Nollet. L.M.L. (Ed.). Handbook of water analysis, 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. 2007; 275–311 (in Russian).
5. Olowoyo J. O., Okedeyi O. O., Mkolo N. M., Lion G. N. Mdakane S. T. R. Uptake and translocation of heavy metals by medicinal plants growing around a waste dump site in Pretoria, South Africa. *South African Journal of Botany*, 2012. 78: 116–121.
6. Logan T.D., Goins L.E., Lindsay B.D. Field assessment of trace element uptake by six vegetables from N-Viro soil. *Water and Environmental Research*, 1997. 69: 28–33 (in Russian).
7. State Pharmacopoeia USSR XI ed., Moscow: Medicine. Vol. 1, 2. 1998 (in Russian).
8. Deutsches Arzneibuch. 10 Ausgabe, 1991. Band 1–4.
9. European Pharmacopoeia 6th Edition. 2008.
10. The United State Pharmacopoeia 25 Edition, Vol. 1. 2007; 1248.
11. State Pharmacopoeia RF XII ed. Vol.1. Moscow: Medicine, 2009 (in Russian).
12. Niu X., Chen X., Su H., Egrinya Eneji A., Guo Y., Dong X. Changes of secondary metabolites and trace elements in gentian macrophylla flowers: a potential medicinal plant part. *Chinese herbal medicines*, 2014; 6: 145–151.
13. Kolachi N.F., Kazi T.G., Afridi H.I., Khan S., Wadhwa S.K., Shah A.Q., Shah F., Baig J.A., Sirajuddin. Determination of selenium content in aqueous extract of medicinal plants used as herbal supplement for cancer patients. *Food and Chemical Toxicology*, 2010; 48: 3327–3332.
14. Kubrakova I.V. Microwave radiation in analytical chemistry: the scope and prospects for application. *Russ. Chem. Rev.*, 2002; 71 (4): 283–294 (in Russian).
15. Kingston H.M., Jassie L.B. Introduction to microwave sample preparation. Theory and practice. Moscow: Mir, 1991; 333 (in Russian).