

色谱-原子荧光光谱联用技术测定北柴胡中砷的含量

崔兰冲, 沈晓君, 蔡广知, 贡济宇*

(长春中医药大学国家中医药管理局中药分析三级实验室, 长春 130117)

[摘要] 目的: 建立色谱-原子荧光光谱联用技术分离测定不同形态砷的方法。方法: 色谱-原子荧光光谱联用技术对砷进行测定。色谱及光谱条件如下, 阴离子分离柱 PRP-X100(4.1 mm × 250 mm, 10 μm), 流动相 15 mmol·L⁻¹ (NH₄)₂HPO₄ (pH 6.0), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C。As 空心阴极灯, 灯电流/辅阴极灯电流: 100/46 mA。结果: 砷含量在 0.002 ~ 0.01 μg 线性关系良好, 平均回收率为 97.35% (n = 6), RSD 1.5%。结论: 方法灵敏, 准确, 重复性好, 是分离测试不同形态砷的有效方法。

[关键词] 北柴胡; 色谱-原子荧光光谱联用; 砷; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0112-03

[doi] 10.11653/syfy2013100112

Determination of As in *Bupleurum chinense* by Chromatography-AFS

CUI Lan-chong, SHEN Xiao-jun, CAI Guang-zhi, GONG Ji-yu*

(Level Three Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Analysis, Changchun University of Chinese Medicine, State Administration of TCM, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method of chromatography-AFS for separating and determining As from different existing forms in *Bupleurum chinense*. **Method:** Chromatography-AFS was used to determine the content of As. The conditions of chromatography and spectrum were as follows: negative ion column of PRP-X100 (4.1 mm × 250 mm, 10 μm) was used, mobile phase was the solution of 15 mmol·L⁻¹ (NH₄)₂HPO₄ (pH 6.0). The flow rate was 1 mL·min⁻¹; column temperature was set at 25 °C; element lamp was hollow cathode lamp of As, lamp current/auxiliary cathode lamp current was 100/46 mA. **Result:** The standard curve was linear in the range of 0.002-0.01 μg. The average recovery was 97.35% with RSD 1.5% (n = 6). **Conclusion:** The method is sensitive, accurate and reproducible. It can be used to determine the content of As in different existing forms.

[Key words] *Bupleurum chinense* DC.; chromatography-AFS; As; content determination

元素的毒性与其化学形态密切相关, 不同结合态、价态元素的毒性不同。文献报道表明五价砷的

毒性远远小于三价砷, 无机砷化物的毒性是有机砷的 100 倍, 而砷甜菜碱等有机形式通常却被认为对人体无毒^[1-2], 因此传统意义上对重金属总量的测定显然不够客观、合理, 需建立一种有效地分离测定砷不同形态的方法, 进而完善其限量检测的技术标准^[3-5]。

柴胡为伞形科植物柴胡或狭叶柴胡的干燥根^[6]。本试验选择北柴胡作为分析对象, 采用色谱-原子荧光检测联用技术对其中砷的不同存在形式, 即三氧化二砷或亚砷酸盐(As III)、砷酸盐(As V)、一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)进行了分

[收稿日期] 20120227(020)

[基金项目] 吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科合字[2008]第 89 号)

[第一作者] 崔兰冲, 硕士, 讲师, 从事中药质量分析研究, Tel: 13756010627, E-mail: cuilanchong@163.com

[通讯作者] * 贡济宇, 教授, 博士生导师, 从事中药分析及结构研究, Tel: 0431-86172207, E-mail: gjy0431@126.com

离与测定^[7-10]。

1 材料

AFS-930 型双道原子荧光分光光度计,形态分析仪,高速冷冻离心机,离心机,AB-135-S 型电子天平,HH-S24 电子恒温水浴锅,微孔滤膜过滤器。

砷混标($200\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,北京药检所提供),所有试剂均为优级纯。

2 方法

2.1 色谱条件与 AFS 的参数 PRP-X100 保护柱($2.3\text{ mm}\times 25\text{ mm}$, $12\sim 20\mu\text{m}$),PRP-X100 阴离子分离柱($4.1\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, $10\mu\text{m}$)(美国 Hamilton 公司),流动相 $15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (NH_4)₂HPO₄ (pH 6.0),流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 。

As 空心阴极灯,负高压 270 V ,灯电流/辅阴极灯电流 $100/46\text{ mA}$,载气 $400\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,屏蔽气 $600\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.2 标准溶液的制备 取砷混标($200\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)适量,用水稀释制成每 1 mL 分别含砷 $20,40,60,80,100\text{ ng}$ 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取北柴胡粉末(过 5 号筛)约 2 g ,精密称定,置 100 mL 离心管中,加入甲醇-水(1:1)混合溶剂 60 mL ,超声提取 30 min ,经 $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心后,取上清液,药渣补加 10 mL 甲醇-水(1:1),超声提取 5 min ,经 $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心后,取上清液;药渣重复补加 5 mL 甲醇-水(1:1)混合溶剂,经超声、离心后,取上清液,合并样品提取液。将样品提取液经减压旋转蒸发至约 2 mL ,以去离子水定容至 5 mL 。取样品溶液于离心管中,经高速冷冻离心机 $10000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心,取离心后的上清液过 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜,即得。

3 结果

3.1 线性关系考察 精密吸取 $20,40,60,80,100\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷混合标准溶液 $100\mu\text{L}$ 分别进样,按上述色谱条件测定各形态峰高,以质量浓度为横坐标,荧光值为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 As(III): $Y=8.3593X-2.0231$ ($r=0.9996$);DMA: $Y=4.0479X-2.1687$ ($r=0.9992$);MMA: $Y=5.2825X-3.0991$ ($r=0.9994$);As(V): $Y=1.7857X+0.915$ ($r=0.9993$)。结果表明在 $0.002\sim 0.01\mu\text{g}$ 线性关系良好。

3.2 精密度试验 取制备好的供试品溶液重复进样 5 次,考察各个形态峰高的相对标准偏差,得 As(III),DMA,MMA,As(V) 的 RSD 分别为 1.70% , 1.97% , 1.88% , 1.91% 。结果表明此法中仪器的精

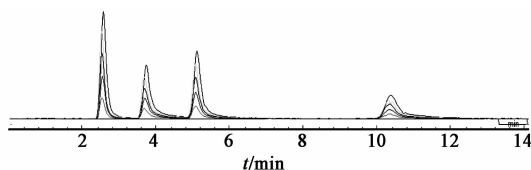


图1 4种主要砷形态的标准分离谱图(合图)

密度良好。

3.3 重复性试验 取同一批样品,按 2.3 项下的方法制备 5 份供试品溶液,测定其含量,结果的 RSD 分别为 2.12% , 2.28% , 2.21% 和 2.35% ,表明方法的重复性较好。

3.4 回收率试验 取已知重金属含量的样品 6 份,加入砷混标溶液($200\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)适量,按上述供试品制备方法和条件进行测定,结果表明方法准确度较好。结果见表 1。

表1 砷回收率试验

No.	As(III)	DMA	MMA	As(V)	%
1	98.8	99.6	96.8	98.8	
2	101.1	100.8	101.4	97.5	
3	99.5	101.6	95.8	99.0	
4	96.4	98.9	98.5	94.3	
5	97.9	96.4	96.2	96.2	
6	102.4	100.6	100.6	98.3	

3.5 含量测定 精密量取 $100\mu\text{L}$ 供试品溶液注入形态分析仪中进行测定,重复测定 3 次,结果见表 2。

表2 北柴胡样品中砷含量测定

No.	组分名	t_R /min	峰面积	含量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD
1	As(III)	2.538	29 820 332	0.176	1.57
2	DMA	3.691	12 895 575	0.127	1.62
3	MMA	5.093	19 499 251	0.147	1.59
4	As(V)	10.359	8 772 884	0.118	1.78

4 讨论

4.1 测定结果分析 分析后砷的总量为 $0.568\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,而不经色谱分离直接测定的总量为 $0.593\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,表明分离过程对测定结果影响不大。

4.2 提取方法的选择 考察了不同的提取方法,本法的提取效率高且过程中砷不易损失。

4.3 pH 选择 选用硫酸氢二氨和甲酸来调节溶液的 pH,磷酸氢二氨溶液有利于砷的洗脱,但浓度过高会使砷各个形态的分离效果不佳,经过试验考察,结果表明 pH 6 时,As(III),DMA,MMA,As(V) 的分离效果比较理想。

当归、枳壳挥发油 HPLC 指纹图谱的研究

王元清^{1,2}, 严建业^{1*}, 李顺祥^{1*}, 罗堃¹, 谢瑜¹

(1. 湖南中医药大学药学院 中药现代化教育厅重点实验室, 长沙 410208;
2. 中南林业科技大学生命科学与技术学院 生物技术与工程实验室, 长沙 410004)

[摘要] 目的: 研究不同批次当归、枳壳药材经 CO₂ 超临界混合萃取的挥发油的指纹图谱, 为科学评价和有效控制其质量提供实验依据。方法: 采用高效液相色谱, 条件为伊利特 ODS 2 C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈-水为流动相, 梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 325 nm。结果: 建立了 11 个不同批次的当归、枳壳混合提取挥发油的指纹图谱, 以蒿本内酯峰为参照峰, 共标定了 13 个共有峰, 利用化学对照品指认了其中 2 个色谱峰; 该指纹图谱可鉴别当归、枳壳经水蒸汽蒸馏法得的挥发油。结论: 方法准确可靠, 可用于控制淫藤骨痹康方中的挥发油的质量。

[关键词] 当归; 枳壳; 挥发油; 高效液相色谱; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0114-05

[doi] 10.11653/syfy2013100144

[收稿日期] 20121105(010)

[基金项目] 湖南省科技厅项目(2009TP4051-1); 长沙市科技计划项目(k1003034-31); 湖南省高校“中药新药创制与资源综合持续利用”科技创新团队项目(湘教通[2010]212号); 国家中医药管理局“药用植物学”、“中药药剂学”重点学科项目(国中医药发[2009]30号); 湖南省“中药学”重点学科项目(湘教通[2011]76号)

[第一作者] 王元清, 博士, 讲师, 从事生物药物的教学与科研, Tel: 0731-85623496, E-mail: wangyuanqing201@126.com

[通讯作者] * 严建业, 博士, 副教授, 从事中药剂型与疗效研究, Tel: 0731-88458231, E-mail: yanjianye201@126.com

* 李顺祥, 博士, 教授, 研究员, 博士生导师, 从事中药有效成分与资源研究, Tel: 0731-88458229, E-mail: lishunxg@yahoo.com.cn

[参考文献]

- [1] 高双荣, 梁爱华, 易艳, 等. 雄黄中砷的不同形态及其毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 243.
- [2] 顾晶晶, 黄珍贞, 谷颖敏, 等. 雄黄可溶性砷和价态砷与小鼠急性毒性关系的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 230.
- [3] 韩小丽, 张小波, 郭兰萍, 等. 中药材重金属污染现状的统计分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2041.
- [4] 胡斌, 江祖成. 高效液相色谱/氢化物发生/原子荧光快速检测尿砷形态[J]. 分析科学学报, 2000, 16(2): 89.
- [5] 董菊, 陈辉, 吴娟, 等. 原子荧光光谱法检测牛黄解毒片及其拆方可溶性砷的含量[J]. 中国实验方剂学杂

- 志, 2011, 17(18): 67.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 263.
- [7] 严秀平, 倪哲明. 联用技术应用于元素形态分析的新进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(5): 945.
- [8] 龙尚祥, 赵洋, 周欣, 等. 杠板归药材中重金属的含量测定及其质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 52.
- [9] 冷静, 魏伯平, 杨华蓉, 等. 氢化物发生-原子荧光法测定三七、三七三醇皂苷及其制剂中的砷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 54.
- [10] 杨健, 王宏洁, 边宝林. 中药材鲜地黄中砷、汞、铅和镉的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 33.

[责任编辑 顾雪竹]