

· 化学与分析 ·

## 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

冷静<sup>1,2</sup>, 魏伯平<sup>3</sup>, 杨华蓉<sup>4\*</sup>, 林大胜<sup>4</sup>, 王莉<sup>4</sup>, 马茹君<sup>4</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 重庆市中医院, 重庆 400021;  
3. 四川省食品药品检验所, 成都 610097; 4. 成都华神集团股份有限公司制药厂, 成都 610225)

[摘要] 目的: 研究三七、三七三醇皂苷(PTS)及其制剂三七通舒胶囊中的重金属砷(As)的检测方法及含量。方法: 采用微波消解-氢化物发生-原子荧光法进行测定 As, 系统地研究微波消解-氢化物发生的最佳条件。结果: 荧光强度与进样浓度之间呈良好的线性关系, 线性范围 0~12  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 回收率为 88.37%~104.76%, 检出限 0.1096  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , RSD 为 0.82%, PTS 及其制剂中 As 含量较低。结论: 该方法具有简便、快速、灵敏度高等优点, 适用于三七、PTS 及其制剂中 As 的测定。

[关键词] 三七; 三七三醇皂苷; 三七通舒胶囊; 砷; 原子荧光法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)19-0054-04

## Determination of the Arsenic in Notoginseng Radix et Rhizoma, Panaxatriol Saponins and its Preparation by Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry

LENG Jing<sup>1,2</sup>, WEI Bo-ping<sup>3</sup>, YANG Hua-rong<sup>4\*</sup>, LIN Da-sheng<sup>4</sup>, WANG Li<sup>4</sup>, MA Ru-jun<sup>4</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;  
2. Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing 400021, China;  
3. Sichuan Provincial Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610097, China;  
4. Chengdu Huashen Pharmaceutical Factory of Co. Ltd, Chengdu 610225, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of Arsenic (As) in radix notoginseng, panaxatriol saponins (PTS) and Sanqi Tongshu capsule. **Method:** The content of As was determined by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. The optimal experimental conditions of microwave digestion-hydride generation were optimized. **Result:** Fluorescence intensity and concentration was in a good linear relationship; the linear range was 0-12  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  and the recovery was in the range of 88.37%-104.76%, the detection limit was 0.1096  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , RSD 0.82%; the content of As in PTS and its preparation were low. **Conclusion:** The method was simple, rapid and high sensitive. It can be used in the determination of As in radix notoginseng, protopanaxatriol saponins and its preparation.

[Key words] Notoginseng Radix et Rhizoma; panaxatriol saponins; Sanqi Tongshu capsule; arsenic; atomic fluorescence spectrometry

[收稿日期] 20110405(007)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BA111B04); 2007年度成都市科技计划项目(07GGYB074SF); 2008年度成都市双流县科技成果孵化资金

[第一作者] 冷静, 博士, 主管药师, 从事中药新剂型与新制剂研究, Tel: 13667684034, E-mail: lj1engjing@sina.com

[通讯作者] \* 杨华蓉, 博士, 高级工程师, 从事中药新制剂研究, E-mail: yhr\_rose@hotmail.com

中药材中重金属含量超标是影响中药及中药制剂质量的主要因素之一,也是制约我国中药进入国际市场重要原因之一。重金属砷(As)在自然界分布很广,动物机体、植物中都有含有微量的As。As对人体具有强烈毒性,因此检测中药材及制剂中As的含量并制订限量标准是十分必要的。本研究根据《中国药典》和《欧洲药典》的技术要求,采用微波消解技术及氢化物发生-原子荧光光谱法,对原料药材三七、原料药三七三醇皂苷(panaxatriol saponins, PTS)和制剂三七通舒胶囊中重金属As的检测方法进行研究,以期达到国际市场相关标准和要求。

## 1 材料

**1.1 仪器** AFS-3100型双道原子荧光光度计(北京科海光电仪器有限公司),MARS型微波消解萃取仪(美国CEM公司);BP2110型1/10万分析天平(德国Sartorius公司)。

**1.2 试剂** 杨树叶标准物质[批号GBW 07604(GSV-3)01170,国家地矿部物化探研究所];As(批号UN3264 HC88856,1 g·L<sup>-1</sup>,德国MERCK公司)。盐酸、硝酸、高氯酸为超高纯试剂(德国GmbH公司),氩气为色谱纯(四川天一科技股份有限公司),其余试剂皆为分析纯,水为高纯水。15批三七产自云南文山,经成都华神集团股份有限公司制药厂质量检验部鉴定为五加科植物三七*Panax notoginseng*(Burk)F. H. Chen的根茎;15批PTS及三七通舒胶囊均为成都华神集团股份有限公司制药厂提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 供试品溶液的制备** 取杨树叶标准物质和供试品(三七药材,三七醇皂苷提取物及三七通舒胶囊内容物)粗粉0.1~0.5 g,精密称定,置消解罐中,加硝酸-高氯酸(4:1)的混合溶液15 mL,混匀,静置30 min,盖好内盖,旋紧外套,置微波消解炉中进行消解,微波消解升温程序见表1。消解完全后,取消解内罐放入通风橱,慢慢的将外盖扭松,待罐中红棕色的二氧化氮气体挥发完,用高纯水把消解液转移到50 mL烧杯中,将烧杯电热板上缓缓加热至白色蒸气挥尽,待液体浓缩至1~2 mL时,沿瓶壁加入20 mL高纯水,缓缓浓缩至1~2 mL,放冷,用体积比为5%硫脲溶液2.5 mL转入25 mL量瓶中,并用5% HCl溶液稀释至刻度,摇匀,放置40 min,即得。同法同时制备试剂空白溶液。

表1 微波消解升温程序

功率 /W	升温时间 /min	温度 /°C	t /min
800	5	120	5
800	4	160	5
800	5	180	10

**2.1.2 As标准溶液的制备** 精密量取砷标准储备液适量,用5% HCl溶液制成每1 mg·L<sup>-1</sup>砷溶液,摇匀,即得。

**2.2 测定条件** 参考《中国药典》2010年一部<sup>[1]</sup>和《欧洲药典》(6.0版)<sup>[2]</sup>,测定条件为光电倍增管负高压,270 V,As灯电流50 mA,原子化器高度9 mm,载气流速400 mL·min<sup>-1</sup>,屏蔽气流速900 mL·min<sup>-1</sup>,延迟时间1 s,读数时间15 s,屏蔽气99.96%的高纯氩气。测量方式标准曲线法,读数方式峰面积。

### 2.3 仪器条件的优化

**2.3.1 原子化器高度对测定的影响** 原子化器高度过低时温度低,原子化效率低,气相干扰较严重,过高时又将导致灵敏度的降低。试验表明原子化器高度为9 mm时,信号强度最大,原子化效率最高,故选择9 mm作为测定As的炉高。

**2.3.2 负高压对测定的影响** As的荧光值随负高压的增大而明显增强。当负高压增大时,As的荧光信号和噪声同时增加,在灵敏度可以满足的时候应该尽量选择较低的负高压,且较低的负高压会有助于延长光电倍增管的使用寿命。综合考虑选择采用270 V。

**2.3.3 灯电流的选择** 空心阴极灯电流与荧光强度有一定的关系,灯电流越大,荧光强度就越大,但灯电流过大会降低灯的使用寿命。试验结果表明As的灯电流为50 mA时的信背比最高,故确定50 mA作为测定As的灯电流。

**2.3.4 载气、屏蔽气流速的确定** 样品与NaBH<sub>4</sub>反应后生成的气态化物由载气携带至原子化器,所以载气流速对样品检出信号非常重要。载气流速过高会稀释氢化物,过低不利于氢-氩焰的稳定,有拖尾现象及记忆效应等。试验表明较小的载气流速有利于信号强度的增加,载气流速为400 mL·min<sup>-1</sup>时,灵敏度和信背比最大,峰形完美。屏蔽气是为避免石英管在加热过程中氧化及产生背景吸收,试验显

示,当其流速为 900 mL·min<sup>-1</sup>时,效果最好,过大时火焰稳定性较差。

**2.3.5 载流盐酸浓度** 砷化氢的生成效率及其挥发性与载流盐酸的浓度有关。本试验对 3% ~ 10% 的载流盐酸的浓度进行了考察,结果显示,随着 HCl 浓度的升高,仪器信背比先升高,后下降,当载流 HCl 的质量分数为 4% 时,As 和汞的原子荧光信号强度均达到最大,所以我们最终选择了 4% HCl 作为载流溶液。

**2.3.6 还原剂浓度** 由于五价砷较难还原完全,造成测定结果偏低,选用硫脲作为五价砷还原剂可以得到较好的还原效果。由于 KBH<sub>4</sub> 能够还原 Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cr<sup>6+</sup> 等重金属离子,对氯化物的干扰能力强,硫脲对 Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cr<sup>6+</sup> 等有一定的掩蔽作用。试验表明,当 5% 硫脲溶液占样品溶液的体积比为 10% 时,荧光强度趋于稳定。As 在 KBH<sub>4</sub> 浓度大于 10 g·L<sup>-1</sup> 时才有比较高的荧光强度,且 As 需要生成气态的氢化物才能被载气带入原子化器,所以必须有足够量的硼氢化钾,同样,过多的硼氢化钾产生的大量氢气也会稀释氯化物的浓度。综合各种影响因素,在本试验中选用 20 g·L<sup>-1</sup> 的 KBH<sub>4</sub> 作为还原剂。

**2.4 标准曲线的制备** 精密移取 As 标准溶液适量,逐级稀释,制得每 1 mL 分别含 As 0, 2, 4, 6, 8, 12 ng 的溶液。分别精密量取 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加体积比为 5% 硫脲溶液 5 mL,并用 5% HCl 溶液稀释至刻度,摇匀,放置 40 min。取适量,吸入氢化物发生装置,测定荧光强度。以荧光强度(*I*)为纵坐标,浓度(*C*)为横坐标,绘制标准曲线,线性方程为  $I = 130.078C + 4.941$  ( $r = 1.000$ )。结果表明,在进样浓度 0 ~ 12 μg·L<sup>-1</sup>,峰面积与进样浓度呈良好的线性关系。

**2.5 检出限、精密度的确定** 取样品空白溶液及 As 对照品溶液,用相应溶剂进行逐级适当稀释后,测定吸收值;结果 As 的检出限为 0.109 6 μg·L<sup>-1</sup>,符合痕量测定的要求。在本试验条件下,As (6 μg·L<sup>-1</sup>) 精密度试验测得荧光强度值分别为 797.637, 811.163, 794.443, 797.468, 807.716, 800.231, 794.528, RSD 0.82%。

**2.6 重复性试验** 精密称取同一批次的三七各 6 份,每份 0.1 g,按上述方法进行测定,结果样品中 As 的含量分别为 2.095 8, 2.034 8, 1.896 7, 2.030 9,

2.124 2, 2.050 1 mg·kg<sup>-1</sup>, RSD 3.86%。

**2.7 回收率试验** 精密称取三七 0.05 g,各 6 份,分别加入 As 元素对照品溶液(6 μg·L<sup>-1</sup>) 1 mL,按上述方法进行消解,测定,计算回收率。结果 As 元素回收率分别为 88.94%, 88.37%, 102.83%, 95.56%, 104.76%, 94.91%, 平均回收率为 95.89%, RSD 7.12%。表明本方法回收率良好。

**2.8 样品测定** 分别取三七、PTS、三七通舒胶囊样品各 15 批,测定所含 As 元素残留量,结果见表 2。

表 2 三七、PTS、三七通舒胶囊中 As 元素的含量 mg·kg<sup>-1</sup>

No.	三七	PTS	三七通舒
1	1.889 4	0.080 4	0.204 3
2	2.692 7	0.180 0	0.155 9
3	2.461 6	0.183 0	0.242 8
4	1.758 3	0.305 3	0.155 4
5	1.942 4	0.177 0	0.091 7
6	1.766 6	0.166 8	0.092 8
7	2.192 9	0.146 9	0.101 7
8	1.743 2	0.175 6	0.160 4
9	1.989 4	0.169 7	0.150 3
10	2.153 6	0.208 3	0.138 9
11	2.589 3	0.237 9	0.152 1
12	1.195 9	0.144 9	0.086 6
13	1.835 6	0.162 9	0.070 9
14	1.743 8	0.190 8	0.096 8
15	1.528 7	0.120 7	0.107 3
Mean	1.965 5	0.176 7	0.133 9

### 3 结论

从以上结果分析,确定采用微波消解进行样品的前处理,采用氢化物发生-原子荧光法测定三七、PTS、三七通舒胶囊中的重金属 As,方法可行,灵敏度高、干扰小、方法简便、快速、精密度与准确度均符合要求。

### 4 讨论

《中国药典》2010 年版进一步加强对重金属、有害元素及农药残留的检查,并规定有害元素限量为铅不得过百万分之五;镉不得过千万分之三;砷不得过百万分之二;汞不得过千万分之二;铜不得过百分之二十。《欧洲药典》亦规定砷不得过百万分之二。本研究通过对 15 批三七、PTS 和三七通舒胶囊中 As 元素的测定,尽管有几批药材中 As 含量超标,但经提取、分离、制剂等工艺后,所得的 PTS 及制剂

## HPLC 测定金银花及金芪降糖片中 6 种成分的含量

于静, 邓雁如\*, 陈奇, 宋丽丽, 高樱, 郭利平

(天津中医药大学 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193)

**[摘要]** 目的: 建立同时测定金银花及金芪降糖片中 6 种成分的反相高效液相色谱法。方法: 色谱柱为依利特 ODS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱; 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 355 nm; 柱温 30 ℃。结果: 6 种成分在上述条件下分离良好。绿原酸、咖啡酸、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷和 4,5-*O*-双咖啡酰奎宁酸分别在 3.24 ~ 64.80, 0.24 ~ 4.79, 1.22 ~ 24.40, 0.09 ~ 0.44, 0.68 ~ 13.55, 1.19 ~ 23.87 mg·L<sup>-1</sup> 线性良好, 平均回收率均大于 97% (RSD < 3%, n = 9)。结论: 本方法操作简单、结果准确、回收率高、重复性好, 可用于金芪降糖片及其相关制剂的质量控制。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 金芪降糖片; 绿原酸; 4,5-*O*-双咖啡酰奎宁酸; 芦丁; 木犀草苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0057-04

## Simultaneous Determination of Six Constituents in Flos Lonicerae and Jingqi Jiangtang Tablets by HPLC

YU Jing, DENG Yan-ru\*, CHEN Qi, SONG Li-li, GAO Ying, GUO Li-ping

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Key Laboratory of Chinese Medicine Chemistry and Analysis, Tianjin 300193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography method of simultaneously determining 6 constituents in Flos Lonicerae and Jingqi Jiangtang tablets. **Method:** The separation was carried out on an ODS C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> as mobile phase by gradient elution. The flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was at 355 nm. The column temperature was at 30 ℃. **Result:** The six ingredients were separated well. The linear ranges of chlorogenic acid, caffeic acid, rutin, hyperoside, luteolin-7-*O*-glucoside and 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid were 3.24-64.80, 0.24-4.79, 1.22-24.40,

**[收稿日期]** 20101202(001)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2009CB523003)

**[第一作者]** 于静, 在读硕士, 研究方向为药物分析, Tel: 13821107104, E-mail: janejingyu@126.com

**[通讯作者]** \* 邓雁如, 教授, Tel: 022-23052125, E-mail: dyanru@yahoo.com

三七通舒胶囊各元素指标均符合《中国药典》要求。这就提示我们, 对于三七, 由于样品采收地点、时间和批次均不同, 其 As 超标可能是三七对 As 有天然蓄积作用, 或者与药材栽培、加工、运输等过程受到重金属污染有关; 对于此类情况, 有必要进一步结合 GAP 种植规范要求, 探索重金属蓄积原因; 此外, 由本试验可知, 尽管三七中重金属元素含量超标, 但通过乙醇提取和大孔吸附树脂纯化等工艺可以使有害元素 As 得以除去, 从而保证 PTS 及其制剂中的 As

残留量符合相关要求。因此, 今后需在多批工业化生产的基础上, 进一步对减少制剂中重金属及有害元素的影响因素和方法进行研究。

### [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 附录 48.

[2] European Pharmacopoeia. 6. 0[S]. 2008.

[责任编辑 蔡仲德]