

部分中药材中的砷含量测定及意义

涂剑波¹ 王四旺¹ 高双斌² 常 瑛¹ 黎海妮¹ 戚志华¹

(第四军医大学:1 药理学系药物研究所 2 预防医学系营养与食品卫生学教研室 陕西 西安 710032)

摘要背景与目的: 中药中的砷含量及其形态学研究已成为当前中医药领域的研究热点。本文旨在建立科学和可行的砷含量检测方法,并对部分中药中的砷含量进行了测定。**方法:** 中药材样品湿法消化后,采用原子荧光光谱法检测其中的砷含量,并对消化液的种类以及干扰的消除进行了探讨。**结果:** 本法检出限为 $0.05\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,样品加标回收率在 96.6% ~ 101.6% 范围内,相对标准偏差小于 2.36%。检测结果显示,大部分中药材中均含有一定量的砷,部分中药材中砷含量较高。**结论:** 本法灵敏度高,操作简便,重现性好,能够应用于中药材中不同含量砷的分析,具有一定的实用价值。

关键词: 原子荧光光谱; 中药材; 砷

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A

Determination of Arsenic in Part of Chinese Medicinal Herbs and Its Significance

TU Jian-bo¹, WANG Si-wang¹, GAO Shuang-bin², CHANG Ying¹, LI Hai-ni¹, QI Zhi-hua¹

(1 Institute of Materia Medica, School of pharmacy; 2 Department of Nutrition and Food Hygiene of Faculty of Prevention Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

ABSTRACT Background & Objective: The contents and morphology of arsenic research was a hot spot in the area of Chinese medicinal herbs. This article aimed at establishing a feasible and scientific method for the determination of arsenic in parts of Chinese medicinal herbs. **Methods:** The samples were treated by wet digestion, in which, the contents of arsenic were detected, discussing the kinds of digestive juice and removal of interference factors. **Results:** Detection limit of arsenic was $0.05\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, The recovery rate for the method was 96.6% ~ 101.6% and the relative standard deviation was less than 2.36%. The Results showed that most of Chinese medicinal herbs contained arsenic, part of which had a high arsenic content. **Conclusion:** This method was sensitive, practical, reproducible and easy to operate, which can be used to analyze different contents of arsenic in Chinese medicinal herbs.

Key words: Atomic fluorescence spectroscopy; Chinese Medicinal herbs; Arsenic

前言

中药是我国传统医学的重要组成部分;中药材中砷的含量主要决定于其生长环境和药材的种类^[1]。对于中药材中砷含量的限值世界各国的标准有所不同,德国的天然药规定 $\text{As} \leq 5.0\text{mg/kg}$;马来西亚规定中药的 $\text{As} \leq 6.0\text{mg/kg}$;新加坡规定中药的 $\text{As} \leq 5.0\text{mg/kg}$;FDA 功能性食品的限值为 $\text{As} \leq 0.02\text{mg/kg}$;国际规定人参中 $\text{As} \leq 1.0\text{mg/kg}$;而中国药典 2000 年版规定石膏的砷限值为百万分之二;阿胶的砷为百万分之三^[2]。然而,近年来人为的化学耕种污染了耕地、土壤、水源等,直接或间接地污染了许多道地药材,使部分中药材中砷含量超标,导致中药材的质量下降。同时,也由于出口中药材在国际上屡遭“封杀”,严重影响了我国中医药在国际上的形象和声

誉^[3-5]。目前,砷化物的安全性研究正成为毒理学、中药药理学以及生物无机化学等领域的研究热点。因此,研究中药材中砷的检测方法和检测中药材中砷的含量水平,不仅有益于规范含砷中药的检出限度,而且对于科学制定砷的生物学标量限度以及评判标准体系具有重要意义。本文采用原子荧光光谱仪,建立了中药中微量砷含量检测的分析方法,并应用该方法测定了 10 味中药材中砷的含量,取得了满意的结果。

1 实验材料与仪器

1.1 仪器及工作条件

1.1.1 仪器: AFS-3100 原子荧光光谱仪(附砷空心阴极灯,北京海光仪器厂)。

1.1.2 工作条件: 仪器工作条件是负高压 230V,灯电流 60mA,辅阴极电流 30%,原子化器高度 8mm,原子化器温度为室温,载气(Ar)流量 400mL/min,屏蔽气流量 900mL/min,读数方式为峰面积,读数时间 16s,延迟时间 1s,测定方式为标准曲线法。

1.1.3 器皿处理: 所有玻璃和塑料器械,使用前均须经 1

作者简介:涂剑波,(1978-),男,湖北大悟,在读硕士,中药学;

Tel:(029)84773689, toledo@126.com

通讯作者:王四旺,(1958-),男,教授,E-mail:wangsiw@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2006-07-19 接受日期:2006-08-21)

1HNO₃和1 1HCl交替浸泡72小时,用去离子水冲洗干净后,烘干置塑料袋中密封待用。

1.2 试剂、标准溶液及材料

1.2.1 试剂:硝酸、盐酸、硼氢化钾、氢氧化钾均为优级纯;硫脲、抗坏血酸均为分析纯。5%硫脲-5%抗坏血酸溶液:称取50g硫脲,50g抗坏血酸溶于1000mL水中,用时现配。

1.2.2 标准溶液和材料:10g/L硼氢化钾溶液:称取2g氢氧化钾溶于900mL水中,加入10g硼氢化钾并使其溶解,定容至1000mL,此溶液现用现配。砷标准贮备溶液1000mg/L(CBW08611,国家标准物质研究中心);砷标准工作液:吸取1000mg/L的砷标准贮备溶液,用10%盐酸逐级稀释成200μg/L标准工作液。实验用水均为去离子水。

2 实验方法

2.1 标准曲线的绘制

移取砷标准工作液0.0、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0mL于100mL容量瓶中,加入10g/L硫脲-抗坏血酸混合液10mL,5%盐酸稀释至刻度,得砷质量浓度分别为0.0μg/L、1.0μg/L、5.0μg/L、10.0μg/L、20.0μg/L、40.0μg/L,按仪器工作条件测定。

2.2 待测样品的制备

精密称取待测样品0.5000~0.6000g小烧杯中,依次标号,在每个小烧杯中加入硝酸:高氯酸(4:1)混合液10mL,同时加入数粒玻璃珠,盖上表面皿,置于可调温电热板上缓慢加热,放置过夜。次日,电热板上消化至无色透明(如消解过程色泽较深,稍冷后补加少量硝酸,继续消解)。待液体体积近2mL时,取下冷却,用水少量多次将消化液转入25mL容量瓶中,加入2.5mL 10g/L硫脲-抗坏血酸混合液,用水稀释至刻度,摇匀,同时设置平行空白。

3 结果与分析

3.1 介质的选择及酸度的影响

以HCL、H₂SO₄、HNO₃为对象,试验了不同酸性介质中同一标准砷溶液的荧光强度。结果以HCL为介质时砷的荧光强度最高,且线性范围较宽。通过对HCL浓度与荧光强度关系的对比实验,结果表明随着HCL浓度的增大,荧光强度也逐渐增大;当HCL在5%~20%的浓度范围内,砷的荧光强度出现一

个平台期;当浓度继续增大,荧光强度反而下降。

3.2 消化液的选择

采用HNO₃-HClO₄(4:1)、HNO₃-H₂O₂(4:1)和HNO₃-HClO₄-H₂O₂(2:1:1)三种消化体系试验,结果显示HNO₃-H₂O₂(4:1)体系消化效果最好,回收率较好,但耗时过长,消化时间在十天左右,HNO₃-H₂O₂难以快速将有机样品消化完全;HNO₃-HClO₄-H₂O₂(2:1:1)体系回收率低。而HNO₃-HClO₄(4:1)则在选定的时间段可以使样品消化完全,回收率高。故本方法选定HNO₃-HClO₄(4:1)作为消化液。

3.3 消化方法的确立

微波消化是当前微量元素检测的新型消化方式,与以往的湿法消化相比具有耗酸量少、加热时间短等的优点。但微波消化样品时取样量、压力、消解时间三个消化过程中的重要参数较难控制:压力过低,样品中的有机物难以消解完全;压力过高,有机物与酸反应剧烈,易引起酸的泄漏,造成砷的损失。生物样品取样量不能太大,取样量太小又会造成误差大。湿法消化设备简单、操作方便易行,通过实验比较,湿法消解与微波消解回收率无统计学差异,故本文采取湿法消解。

3.4 共存离子的干扰试验

稀释试验是检验样品共存离子有无干扰的最简单方法之一。如果稀释前后测定结果相同,表明共存离子对被测元素无干扰;如果稀释前后测定结果不一,表明共存离子对被测元素呈正负干扰。我们对各样品进行了不同稀释度试验,结果表明在硫脲和抗坏血酸的存在下,当样品稀释20倍时,测得样品中砷的含量基本一致,表明在本实验条件下样品中共存离子对砷的测定无干扰。

3.5 线性范围、检出限

在选定的最佳工作参数下,配制一系列砷标准溶液,测定其荧光值,绘制标准曲线。砷在0~40.00μg·L⁻¹范围内呈良好的线性关系,砷标准系列质量浓度X和荧光强度Y的线性回归方程为Y=119.587x-32.558,相关系数r=0.9992,取20次平行测定空白溶液的结果,按IUPAC规定,得出砷的检出限为0.05μg·L⁻¹。

3.6 精密度与回收率实验

3.6.1 精密度实验:对不同浓度砷含量的样品进行消化,分别测定7次,计算精密度,结果见表1。

表1 精密度测定结果(μg·mL⁻¹)

Table 1 Results of precision(μg·mL⁻¹)

样品号	测量值			$\bar{x}$	RSD				
1	0.332	0.316	0.325	0.311	0.318	0.314	0.326	0.320	2.36%
2	0.735	0.722	0.701	0.740	0.715	0.746	0.711	0.724	2.29%
3	0.935	0.937	0.911	0.902	0.926	0.923	0.918	0.922	1.36%

3.6.2 回收率实验:于原生药样品中加入一定量的砷,按2.2方法消化后进行AFS测定,计算回收率,结果见表2,样品加标回收率为96.6~101.6%,准确度较高。

表 2 加样回收试验($\bar{x}$, n = 3)

Table 2 Results of recovery test($\bar{x}$, n = 3)

原样砷含量(mg/kg)	加入砷含量(mg/kg)	加标后均值(mg/kg)	回收值(mg/kg)	回收率(%, n = 5)
0.1043	0.5	0.6122	0.5079	101.58
0.3499	0.5	0.8315	0.4816	97.32
0.799	0.5	1.2825	0.4835	96.6

3.7 实际样品分析

应用本方法对补益类中药材中的 10 味道地药材进行了分析,结果见表 3。

表 3 10 种道地中药材的砷含量

Table 3 Analytical results of Arsenic in 10 kind of original Chinese medicinal herbs

样品名称	枸杞子	车前子	五味子	菟丝子	淫羊藿	续断	何首乌	阳起石	牡蛎	龙骨
砷含量(mg/kg)	0.1043	0.3499	0.5171	0.799	0.3447	0.1883	0.3469	6.3167	2.7114	4.0872

4 讨论

4.1 砷的生物活性

砷在人体内的生理与毒性作用的剂量界限至今尚未明确。砷在机体内可影响基因的表达与调控,甚至致突变和干扰 DNA 合成;据报道砷化合物可使癌细胞凋亡,如 As₂O₃ 和 美拉脾钾(Mearsoprol)诱导早幼粒细胞白血病细胞凋亡,从而有效的治疗急性粒细胞白血病(APL),其作用机理可能为 As₂O₃ 抑制 Bcl-2 基因的表达^[6]。砷对细胞中的巯基有很大的亲和力,尤其是和带有双巯基的酶结合力更强,从而使多种酶的活性受到影响,进而影响细胞的正常代谢。例如丙酮酸氧化酶,其巯基与砷结合后,酶就失去活性导致丙酮酸不能继续氧化而堆积,血中丙酮酸含量增加。由于维生素 B₁ 和丙酮酸氧化酶都参与三羧酸循环,因此,当丙酮酸氧化受限时,维生素 B₁ 在体内的消耗量增加,导致维生素 B₁ 不足的症状。砷还能麻痹毛细血管,引起毛细血管壁通透性增加,致使血管神经功能紊乱。

4.2 砷的测定方法

过去常用的 Gutzeit 砷含量测定法实质为半定量检测法。1959 年 Holak 将传统的 Marsh 和 Gutzeit 砷化氢发生技术与原子吸收联用,相继出现了石墨炉原子吸收法、氢化物发生原子吸收法、氢化物发生原子荧光法。原子吸收法光路复杂、光损失大,尤其信噪和检出限度较低,故回收率也较差;原子荧光法灵敏度比原子吸收法高,是一种极有前景的测砷方法。本文建立了双道原子荧光测定中药中砷含量的方法。经对测定条件比较研究,并用于实际 10 种中药砷含量测定,表明本法灵敏度高,操作简便,重现性好,用于中药材砷含量的检测与分析具有实用价值。

4.3 实验结果的提示

由表 3 结果可以看出,阳起石、龙骨、牡蛎 3 味中药材中的砷含量较高。中药材中砷的含量与其同砷的伴生情况、蓄积能力有关。我国 2001 年制定的药用植物及制剂进出口绿色行业标准中限定中药中砷(As) ≤ 2.0mg/kg^[7],若以此标准衡量,上述 3 味中药材中的砷含量超标,其他 7 种中药材均符合要求。鉴于上述结果,有必要对阳起石、龙骨、牡蛎 3 味药材中的砷进行形态学的分析和检测。并建议国家药监相关部门尽快实施对中药材中砷含量的检测与普查工作,科学地制订中药材中砷限量标准,以利于提高中药材的质量和保障临床用药的安全。

参考文献

[1] 周济桂,魏春生,喇万英.临床微量元素学[M].1994 年第一版.石家庄:河北科学技术出版社,1994:296-307

[2] 中华人民共和国药典委员会.中国药典(2000 年版)一部.[M].北京:化学工业出版社,2000:71,485

[3] 薛平,傅英文,苑利.微波消解 FAAS 法测定中成药中的钾、钠、铜、铅、镉[J].光谱实验室,2001,18(1):63-65

[4] 谢美琪,崔昆燕,张卫红,等.中成药中微量砷和汞的微波消解氢化物发生原子荧光光谱法测定[J].分析测试学报,2001,20(2):47-49

[5] 王刚,陈荣达,林炳承.中药中微量元素测定的研究进展[J].药物分析杂志,2002,22(2):151-155

[6] Chenq, ZhuJ, ShiXG, et al. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide(As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As₂O₃ induces NB4 cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation PMLRAP/PML proteins [J]. Blood. 1996,88(3):1052-1061

[7] 杜贵友,方文贤.有毒中药现代研究与合理应用[M].2003 年第一版.北京:人民卫生出版社,2003:187-205