

# HPLC-ICP-MS 法测定安宫牛黄丸中的无机砷

## ICPMS-066

**摘要：**本文参考 2015 版中国药典《安宫牛黄丸质量标准》征求意见稿，建立了使用岛津高效液相色谱 LC-20Ai 和电感耦合等离子体质谱 ICPMS-2030 联用分离测定安宫牛黄丸中无机砷的方法。该方法线性相关系数良好， $r>0.9996$ ，加标回收率在 102~106% 之间，重现性  $RSD<3\%$ ，检出限低，三价砷和五价砷的检出限分别为 0.17  $\mu\text{g/L}$  和 0.14  $\mu\text{g/L}$ ，可满足安宫牛黄丸中无机砷含量的分析需求。

**关键词：**中国药典 安宫牛黄丸 无机砷 HPLC-ICP-MS

砷是自然界中常见的有毒致癌性元素之一，在其多种存在形态中，以亚砷酸 (As (III)) 和砷酸 (As (V)) 形态存在的无机砷是毒性最大的，而有机砷多为毒性微小甚至无毒的。

安宫牛黄丸是我国传统药物中久负盛名的急症用药，也是清热开窍的代表方剂，与紫雪丹、至宝丹并称为“中医温病凉开三宝”，并奉为“三宝”之首。在其处方之中，需要加入一定量的雄黄（主含二硫化二砷  $\text{As}_2\text{S}_2$ ），而砷为毒性元素，因此，药品中的可溶性砷

元素的含量和以无机形态存在的剧毒砷含量对药品的安全性起着至关重要的影响。2015 版中国药典《安宫牛黄丸质量标准》征求意见稿中也明确指定了相关可溶砷和价态砷的分析方法，并规定了限值水平。

本文参考《安宫牛黄丸质量标准》征求意见稿，采用高效液相色谱 LC-20Ai 对多种不同形态砷进行分离之后，使用岛津 ICPMS-2030 准确定量分析了无机砷的含量。

## 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LC-20Ai 高效液相色谱仪，岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪

### 1.2 对照品

砷酸、亚砷酸、一甲基砷、二甲基砷和砷甜菜碱购于国家标准物质中心

### 1.3 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质，使用硝酸溶液 (1+1) 浸泡 24 小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验所用乙二胺四乙酸二钠为 ACS 级，碳酸氢铵为 LC-MS 级，磷酸二氢铵为优级纯，实验用水为超纯去离子水。

### 1.4 样品前处理

取安宫牛黄丸适量，剪碎并混匀，取约 0.3 g，精密称定，置 250 mL 塑料容量瓶中，加入人工肠液至刻度，摇匀，密塞，称定重量，置 37°C 水浴中超声处理 2 小时（每隔 30 分钟充分摇匀一次），取出，放冷，再称定重量，用人工肠液补足减失的重量，摇匀立即取适量至 50 mL 塑料离心管中，静置 20~24 小时，用洗耳球轻轻吹开上层表面溶液，吸取中层溶液约 15 mL 用微孔滤膜 (10  $\mu\text{m}$ ) 滤过，精密量取滤液 5 mL，置于 10 mL 塑料量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，继续量取供试品溶液 1 mL 至 10 mL 塑料容量瓶中，加 0.02 mol/L 乙二胺四乙酸二钠溶液稀释至刻度，摇匀待测。

### 1.5 色谱条件

色谱柱：Hamilton PRP-X100 (250\*4.1 mm;  
10  $\mu\text{m}$ )

流动相：A-30 mmol/L 磷酸二氢铵，2 mmol/L  
乙二胺四乙酸二钠 (pH 8.0) B-2 mmol/L  
碳酸氢铵 (pH 9.0)

流速：1.5 mL/min

柱温：40°C

进样量：20  $\mu\text{L}$

洗脱程序：梯度洗脱（梯度程序如下表）

表1 梯度程序

Time	Flow	A.Conc	B .Conc
0.00	1.50	0.0	100.0
1.30	1.50	0.0	100.0
1.70	1.50	100.0	0.0
6.30	1.50	100.0	0.0
7.00	1.50	0.0	100.0
8.00	1.50	0.0	100.0

## 1.6 质谱条件

等离子体参数:

高频功率: 1.20 kW

辅助气流速: 1.10 L/min

炬管类型: Mini

雾化室: 旋流

采样深度: 5.0 mm

碰撞池参数:

碰撞气种类: He

碰撞气流速: 6.0 mL/min

等离子体气流速: 8.0 L/min

载气流速: 0.70 L/min

雾化器类型: 同轴

雾化室温度: 5°C

高频频率: 27.12 MHz

池电压: -21 V

能量过滤器电压: 7.0 V

## 结果与讨论

### 2.1 对照品溶液配制

分别精密吸取亚砷酸和砷酸对照品储备溶液适量, 加 0.02 mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液制成每 1 mL 各含 1.25 ng、5.0 ng、12.5 ng、25 ng、50 ng (均以砷计) 系列浓度的溶液, 摇匀即得。同时配制相同介质的砷酸 (As(V))、亚砷酸 (As(III))、一甲基砷 (MMA)、二甲基砷 (DMA) 和砷甜菜碱 (AsB) 等 5 种形态砷单标, 用于定性分析。

2.2 形态砷标准曲线如下:

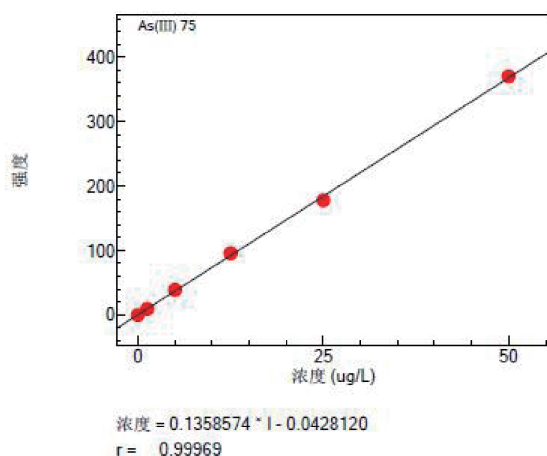


图1 As(III)的标准曲线

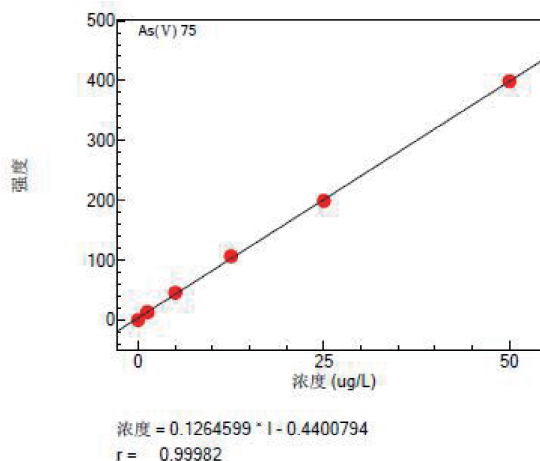


图2 As(V)的标准曲线

### 2.3 形态砷色谱图

选用 Hamilton PRP-X100(250\*4.1 mm; 10 μm) 色谱柱，在磷酸二氢铵、乙二胺四乙酸二钠和碳酸氢铵的流动相体系下，采用梯度洗脱的方式进行 5 种形态砷的分离，6 min 以内即可达到各形态完全分离，确保了实际样品分析过程中不会造成假阳性检出。图 3 为所选色谱体系下，以 ICPMS-2030 作为检测器、进样量 20 μL 时部分样品的 5 种砷形态色谱分离图。

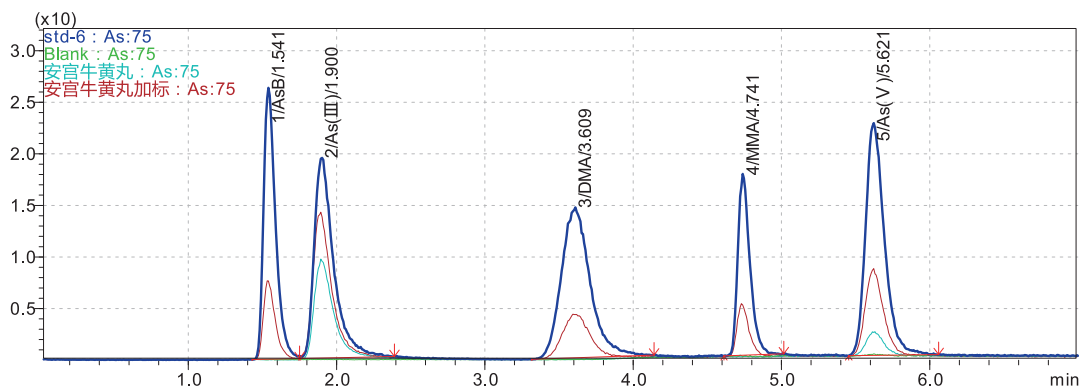


图3 5种形态砷的色谱图

### 2.4 检出限考察

在进样体积为 20 μL 时，对标准溶液样品 STD2 考察亚砷酸和砷酸的信噪比，折算信噪比 S/N=3 时检出限以及 S/N=10 定量限，结果如下：

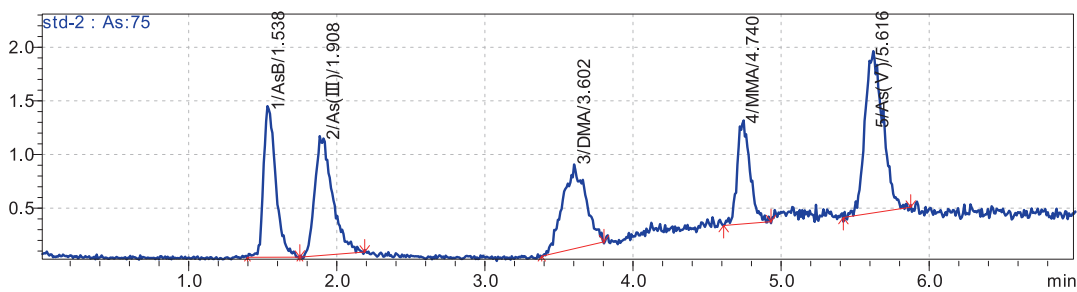


图4 标准溶液STD2的色谱图

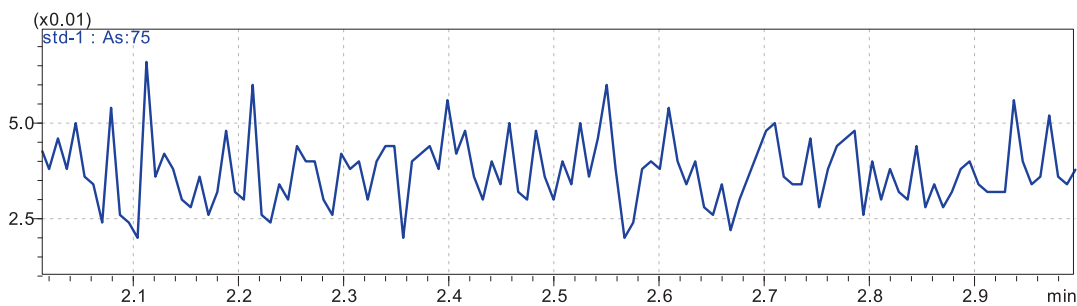


图5 基线考察

表2 灵敏度考察结果

名称	仪器检出限 (μg/L)	仪器定量限 (μg/L)
As(III)	0.17	0.57
As(V)	0.14	0.47

## 2.5 样品分析结果

使用 HPLC 分离 5 种形态砷，ICPMS-2030 测定安宫牛黄丸中无机砷的含量，并进行加标回收率实验。同一样品重复进样 3 针考察测量重复性。实验结果见表 3。

表3 安宫牛黄丸样品分析结果

砷形态	测定结果 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标量 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标后测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标回收率 (%)	RSD (n=3) (%)
As(III)	12.2	5.0	17.3	102	1.53
As(V)	3.42	5.0	8.71	106	2.15

## 结论

本文将高灵敏度的 ICPMS-2030 与岛津高效液相色谱 LC-20Ai 联用，利用阴离子交换谱分离的机理，建立了快速测定安宫牛黄丸样中无机砷的分析方法。将所建立方法应用于安宫牛黄丸样中的无机砷分析，分析结果线性相关系数良好， $r > 0.9996$ ，加标回收率良好，方法准确、可靠。该方法具有灵敏度高，检出限低，易于操作的特点，为安宫牛黄丸样品中的无机砷分析测定提供了的参考。