

# HPLC-ICP-MS 测定中药材甘草中的形态砷

## ICPMS-044

**摘要：**参考 2015 版中国药典《2322 汞和砷元素形态及其价态测定法》，建立了一种测定中药材甘草中形态砷的高效液相色谱电感耦合等离子体质谱法 (HPLC-ICP-MS)。样品经过处理后，采用高效液相色谱 LC-20Ai 对不同形态砷进行分离，电感耦合等离子体质谱 ICPMS-2030 检测进行定量分析。线性范围在 1~500 ng/mL 范围内回归系数大于 0.99987，方法检出限 6.0~11 µg/kg，适用于中药材中形态砷的分析。

**关键词：**中国药典 形态砷 中药 甘草 HPLC-ICP-MS

砷是自然界中常见的有毒致癌性元素之一，砷的生物毒性不仅与其含量有关，更大程度上还与其存在形态有关。不同形态的砷化合物性质往往不同，毒性差异很大。

常见的砷化合物有：亚砷酸 (As(III))、砷酸 (As(V))、一甲基砷酸 (MMA)、二甲基砷酸 (DMA)、砷甜菜碱和砷胆碱等。其中，无机砷的毒性大于有机砷，砷与有机基团结合越多，毒性越小。它们的毒性排序为：As(III) > As(V) > MMA > DMA，而砷胆碱和砷甜菜碱普遍认为是无毒的。

由于砷的毒性、致癌性、迁移性质和生物效应均取决于它的化学形态，并且各砷形态随着所处环境的不同处于动态互变之中，所以测定总砷含量无法准确表示出砷的暴露水平。因此，对砷的各种存在形态分别进行分析测定十分必要。

本文参考 2015 版中国药典《2322 汞和砷元素形态及其价态测定法》，采用岛津高效液相色谱 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用对中药甘草进行砷形态分析。

## 实验部分

### 1.1 对照品

砷酸、亚砷酸、一甲基砷、二甲基砷、砷甜菜碱和砷胆碱购于国家标准物质中心。

### 1.2 实验检材

市售中药甘草

### 1.3 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用系统。具体配置为 LC-20Ai×2 输液泵，DGU-20A<sub>3</sub> 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪，LabSolutions ICPMS Version 1.02 工作站；AY-120 电子天平 (日本岛津公司)。

### 1.4 试剂

胰蛋白酶购于 Sigma-Aldrich。EDTA、磷酸二氢铵及磷酸二氢钾购于国药集团。

## 结果与讨论

### 2.1 对照品溶液配制

精密吸取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 含各 1 ng、5 ng、20 ng、100 ng、200 ng、500 ng (均以砷计) 系列浓度的溶液，摇匀，即得。

### 2.2 样品的处理方法

精确称取粉碎后的甘草样品 1 g，加入人工肠液 10 mL，置 37°C 水浴中超声处理适当时间，摇匀，取适量，静置约 24 小时，吸取 1 mL 中层溶液，用微孔滤膜 (10 µm) 滤过，精密量取续滤液 1 mL，用 0.02 mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液稀释至 50 mL，摇匀，即得。同法制备加标溶液及空白溶液。

### 2.3 色谱条件

色谱柱: Hamilton PRP-X100 Anion Exchange  
250\*4.1 mm  
流动相: A- 水 B-0.025 mol/L 磷酸二氢铵水溶液  
流速: 1.3 mL/min

柱温: 30 °C  
进样量: 20 μL  
洗针液: 水  
洗脱程序: 梯度洗脱

Time	Flow	A.Conc	B.Conc
0.00	1.30	100	0.0
0.50	1.30	100	0.0
0.60	1.30	0.0	100.0
8.00	1.30	0.0	100.0
8.10	1.30	100	0.0
13.00	1.30	100	0.0

### 2.4 质谱条件

等离子体参数:

高频功率: 1.20 kW

等离子体气流速: 8.0 L/min

辅助气流速: 1.10 L/min

载气流速: 0.70 L/min

矩管类型: Mini

雾化器类型: 同轴

雾化室: 旋流

雾化室温度: 5°C

采样深度: 5.0 mm

高频频率: 27.12 MHz

碰撞池参数:

碰撞气种类: He

碰撞气流速: 0.0 mL/min

池电压: 0 V

能量过滤器电压 0.0 V

### 2.5 方法学考察

#### 2.5.1 专属性考察

对空白进行考察, 排除系统干扰, 并且考察 As 混合标液中六种形态砷的分离度, 以确保实际样品分析过程中造成假阳性检出。的判断, 并给出相应的诊断依据, 可大大提高分析效率并保证分析结果的准确性。

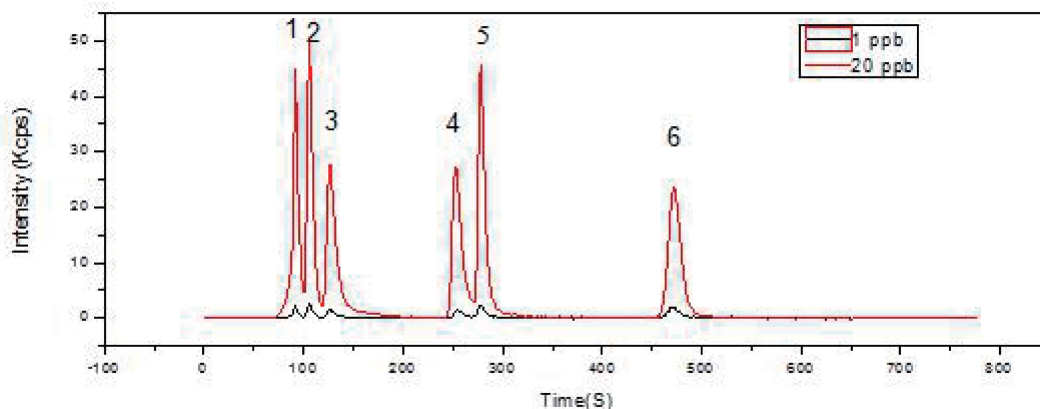


图1 六种形态砷色谱图

(1) 砷胆碱; (2) 砷甜菜碱; (3) 亚砷酸根; (4) 二甲基砷; (5) 一甲基砷; (6) 砷酸根

### 2.5.2 线性关系考察

按“2.1 对照品溶液的配制”项下规定进行标准曲线系列浓度的配制，记录各成分的峰面，以浓度（浓度均以 As 计）与峰面积比值做线性回归绘制标准曲线，结果如下所示。

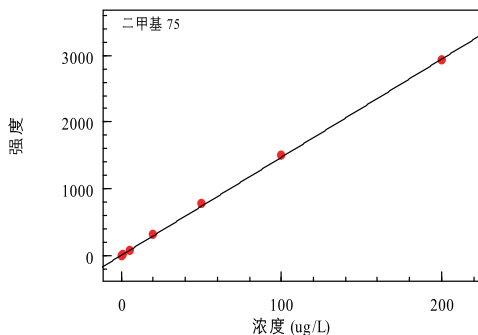


图2 二甲基砷校准曲线  $r=0.99987$

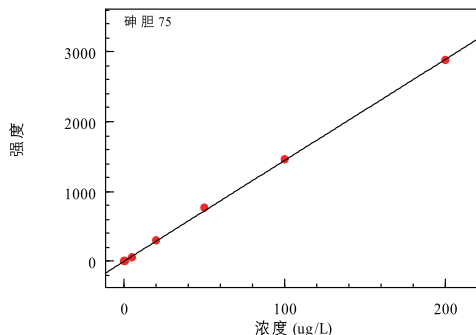


图3 砷胆碱的校准曲线  $r=0.99989$

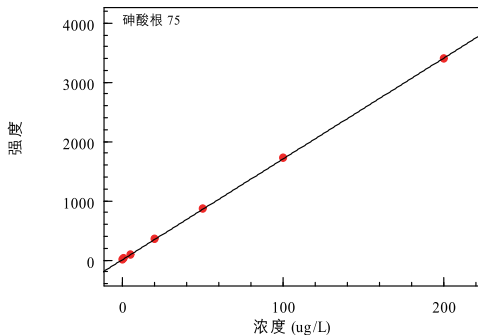


图4 砷酸根的校准曲线  $r=0.99996$

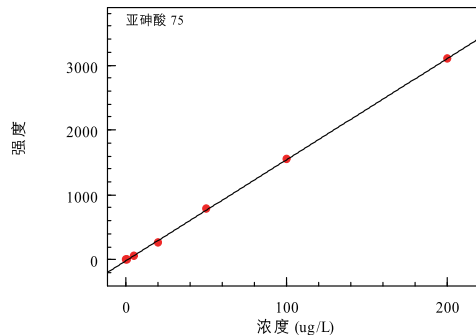


图5 亚砷酸的校准曲线  $r=0.99992$

### 2.5.3 样品测试结果及回收率考察

对某市售中药甘草破壁粉碎取样，按“2.2 样品的处理方法”进行处理后进 HPLC-ICP-MS 分析，加标样品加入一定量浓度的 As 形态标液，按“2.2 样品的处理方法”进行处理后进 HPLC-ICP-MS 分析，考察回收率。结果如下：

表1 甘草测试结果及回收率(%)

名称	测定结果 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)
二甲基砷	ND	2.00	102
砷胆碱	ND	2.00	98
砷酸根	ND	2.00	97
砷甜菜碱	ND	2.00	100
亚砷酸	ND	2.00	94
一甲基砷	ND	2.00	100

### 2.5.4 检出限考察

对浓度为 1 ng/mL 样品溶液考察 6 种形态砷的信噪比，折算信噪比  $S/N=3$  时检出限以及  $S/N=10$  定量限，结果如下：

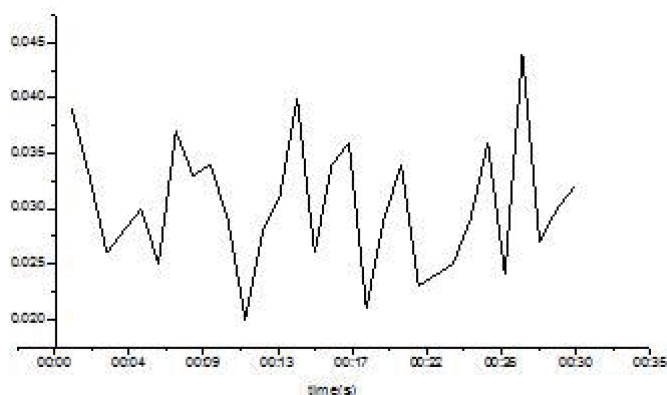


图6 基线考察

表2 灵敏度考察结果

名称	仪器检出限 (ng/mL)	方法检出限 ( $\mu\text{g/g}$ )	仪器定量限 (ng/mL)	方法定量限 ( $\mu\text{g/kg}$ )
二甲基砷	0.054	2.7	0.18	9.0
砷胆碱	0.039	2.0	0.13	6.5
砷酸根	0.045	2.3	0.15	7.5
砷甜菜碱	0.039	2.0	0.13	6.5
亚砷酸	0.066	3.3	0.22	11
一甲基砷	0.037	1.9	0.12	6.0

## 结论

参考 2015 版中国药典《2322 汞和砷元素形态及其价态测定法》，建立一种中草药甘草中形态砷的高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法。方法灵敏度高，方法检出限 6.0~11  $\mu\text{g/kg}$ ，适用于中药材甘草中形态砷的分析。