

原子荧光法测定桑蝉止咳方中甘草砷汞的含量*

蒲星宇¹, 徐静逍², 毕云^{3△}, 熊丽娟², 魏丹霞⁴

(1. 云南省药物研究所, 云南昆明 650111; 2. 云南中医学院, 云南昆明 650500;
3. 昆明医科大学, 云南昆明 650500; 4. 昆明市中医医院, 云南昆明 650011)

[摘要] 目的: 通过原子荧光光谱法测定桑蝉止咳方中甘草中砷和汞的含量。方法: 采用微波消解样品, 通过原子荧光光谱法测定。结果: 桑蝉止咳方中甘草砷含量为 0.3857mg/kg; 汞含量为 5.8274 μ g/kg。符合中国药典 2010 版一部甘草项下的规定。对于所测元素标准曲线相关系数 $r > 0.9997$, 加标回收率为 99.5% ~ 102.8%, RSD $\leq 2.2\%$ 。结论: 使用原子荧光光谱法进行重金属的测量成本低廉, 快速简便, 方法准确且灵敏度较高。

[关键词] 桑蝉止咳方; 重金属; 原子荧光; 微波消解

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2012)05—0008—03

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根。具有补脾益气, 清热解毒, 祛痰止咳, 缓急止痛, 调和诸药等功效。桑蝉止咳方是昆明医科大学在研课题六类新药临床前研究项目中的处方, 临床用于治疗燥热型咳嗽。甘草作为方中的重要组成药物, 起着祛痰止咳及处方佐使药的双重功效。随着药材种植过程中农药化肥的广泛使用及环境污染, 重金属污染已经严重影响到了药品质量与安全性评价, 特别是其中所含的砷和汞等元素对人体有害, 在桑蝉止咳方的质量标准制定和质量监控中, 对其重金属含量水平的控制及检测尤为重要。本实验通过原子荧光法测定桑蝉止咳方中原料甘草的砷和汞含量, 成本低廉, 方法准确可靠。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

FA2004N 电子分析天平, 上海精密科学仪器有限公司; Speedwave MWS-3 无接触红外测温微波压力消解系统, 德国 BERGHOF 公司; AFS-3100 双道原子荧光光度计, 北京科创海光仪器有限公司; AS-10 自动进样器, 编号 91929, 北京

科创海光仪器有限公司; IFS-30 双泵断续流动系统, 编号 9189, 北京科创海光仪器有限公司; As 空心阴极元素灯, 编号 AH951244, 北京科创海光仪器有限公司; Hg 空心阳极元素灯, 编号 BH0A2371, 北京科创海光仪器有限公司。Easy-Q DI8 纯水器 (上海生仪), Milli-Q Advantage A10 (Millipore 公司), 可调式电热板 (型号: ML—3—4, 北京市永光明医疗仪器厂)。10—100 μ L 移液枪 (北京大龙兴创实验仪器有限公司)。所有的玻璃器皿、容器、量具都用 20% 硝酸浸泡 24h 以上, 取出后用去离子水冲洗干净备用。

1.2 试剂

纯氩, 99.99%, 昆明梅塞尔气体产品有限公司; 硼氢化钠 (AR), 国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20051130; 氢氧化钠 (GR), 国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20081021; 盐酸 (GR), 西陇化工股份有限公司, 批号: 1004262; 硝酸 (GR) 重庆川东 (集团) 有限公司化学试剂厂, 批号: 20101008; 硫脲 (AR), 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20090212; 抗坏血酸 (AR), 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20080107。实验用水为超纯水。1 000 μ g/mL 砷

* 基金项目: 云南省重点产业创新工程 (中药现代化科技产业云南基地建设) 项目 (NO: 2008IF01)

收稿日期: 2011—11—22 修回日期: 2012—01—11

作者简介: 蒲星宇 (1986~), 男, 云南保山人, 助理工程师, 主要从事中药材重金属和农残检测。 Δ 通讯作者: 毕云, E-mail: xionglj188@yahoo.com.cn

(As) 标准液 [GBW (E) 080586 SDS332 山东省冶金科学院]、1 000 $\mu\text{g/mL}$ 汞 (Hg) 标准液 [GBW (E) ZBR802 济南众标科技有限公司]。

1.3 标准品的配置

取砷标准品母液用 2% 的硝酸分别配置为 5 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$, 15 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$ 的标准品备用; 再取汞标准品母液用 2% 的硝酸分别配置为 0.5 $\mu\text{g/L}$, 1 $\mu\text{g/L}$, 1.5 $\mu\text{g/L}$, 2 $\mu\text{g/L}$ 的标准品备用。

1.4 还原剂和载液的配制

用去离子水配制含 2% NaBH_4 和 0.5% NaOH 的溶液作为还原剂, 再用去离子水配制 5% 的盐酸溶液作为载液。

1.5 药材

甘草购于云南药材有限公司中药饮片厂; 批号 0902127; 产地: 内蒙古。

2 样品的前处理

精密称取供试品甘草约 0.5 g 3 份各放入聚四氟乙烯罐中再加 5 mL 硝酸 (GR), 盖上盖子, 旋紧, 放置过夜, 第 2 天补液 2 mL 硝酸 (GR), 按微波消解装样指导放入 Speedwave MWS - 3 无接触红外测温微波压力消解系统中, 按表 1 程序进行消解:

表 1 样品消解条件

	温度/ $^{\circ}\text{C}$	压力/ bar	斜率	时间/ min	功率/ $\%$
1	100	30	3	35	75
2	175	30	3	40	95
3	50	30	5	10	10

待消解完毕后取出消解罐, 冷却 1 ~ 2 h 冷却到室温, 小心缓慢的打开消解罐, 将消解完毕的液体倒入洁净的 250 mL 三角瓶中, 放置在电热板上, 缓慢加热, 至瓶内液体只有约 2 ~ 3 mL 时候, 加 1 ~ 2 mL 去离子水, 待烟雾由黄变白, 至不冒烟雾再缓慢加热 0.5 h, 放冷至室温转移到 25 mL 容量瓶中, 用 5% 硫脲 - 5% 抗坏血酸的溶液定容到刻度, 待测。

3 检测条件

使用前先将砷和汞元素灯预热 20 min 以上, 待灯能量稳定后, 使用去离子水装样, 运转 20 min 左右以清洗管道。将标准品和样品装样, 上机, 按下

表的条件进行检测:

表 2 标准品梯度 $\mu\text{g/L}$

A 道标准品	B 道标准品
5	0.5
10	1.0
15	1.5
20	2.0

表 3 仪器条件

	As/A 道	Hg/B 道
光电倍增管负高压 (V)	300	300
原子化器高度 (mm)	8	9
灯总电流 (mA)	60	25
灯辅助电流 (mA)	30	0
载气流量 (mL/min)	400	400
屏蔽气流量 (mL/min)	900	900

表 4 测量条件

	As/A 道	Hg/B 道
读数时间 (s)	10	10
延迟时间 (s)	1	1
重复次数	6	6
测量方法	标准曲线法	标准曲线法
读数方式	峰面积	峰面积
空白判别值	5	5

表 5 继续流动程序

步骤	时间/s	A 泵转速/ rpm	B 泵转速/ rpm	读数
1	10	100	100	No
2	18	120	120	Yes

4 方法与结果

4.1 方法学考察

4.1.1 标准曲线的绘制

按照上述检测条件, 分别做 As 和 Hg 的标准曲线, 得到结果如下:

4.1.2 仪器精密度实验

取 As 和 Hg 低浓度的标准液, 按相应的方法重复进样 6 次, As 和 Hg 荧光强度的 RSD 分别为: 0.9%, 2.5%。

表 6 标准曲线参数

二次线性方程/ I_f 为荧光强度	相关系数	线性范围/ ($\mu\text{g/L}$)
$I_f(\text{As}) = 1.393C^2 + 144.033C + 134.366$	$R = 0.9997$	0 ~ 20
$I_f(\text{Hg}) = 93.520C^2 + 145.225C - 22.355$	$R = 0.9997$	0 ~ 2

4.1.3 重复性试验

精密称取样品 6 份, 按相应元素的方法制备, 再通过相应的方法测定, As 和 Hg 的 RSD 分别为: 1.2% 和 2.2%。

4.1.4 加标回收率

在一定量的样品中加入标准液, 定容, 进行加标回收试验, 根据测定值计算回收率, 见下表:

表 7 回收试验结果

元素 (n=6)	基底值/ μg/L	加入量/ μg/L	测试值/ μg/L	回收率/ %	RSD/ %
As	7.73	2	9.69	99.5	1.3
Hg	0.13	2	2.19	102.8	2.2

4.2 样品的检测

根据 2、样品的前处理和 3、检测条件, 处理提供的样品, 分别测定 As 和 Hg 的含量, 根据荧光强度计算重金属含量 As 和 Hg 分别为: 0.3857mg/Kg; 5.8274μg/Kg。

5 讨论

氢化物发生-原子荧光法是基于化学反应后, 将分析元素转化为在室温下为气态的氢化物。反应所生成的氢化物被引入石英炉中, 并且被原子化, 受空心阴极灯激发, 原子外层电子跃迁到较高能级, 并在回到较低能级的过程中辐射出原子荧光。荧光强度与溶液中被测元素的浓度成正比。硼氢化钠(钾)是氢化物反应中最重要的试剂, 应保证足够纯度及不含有被测元素。且将硼氢化钠(钾)

溶于一定量的氢氧化钠中以保证硼氢化钠(钾)的稳定性。

样品溶于硫脲-抗坏血酸中, 既是砷从五价态还原到三价态的还原剂, 同时也是抗干扰的掩蔽剂。

药典中测 Hg 为冷蒸汽吸收法, 而根据此法, Hg 也可点火炉丝后测量, 甚至可以配混标和 As 同时测量。根据中国药典 2010 版^[1]一部甘草项下规定: As 不得超过百万分之二, Hg 不得超过千万分之二。桑蝉止咳方中甘草 As、Hg 含量都符合规定, 通过原子荧光测定 As, Hg 成本低廉, 方法准确可靠。

中药重金属 Hg、Ag 等元素被人体吸收后, 当蓄积至一定量时可起到免疫系统障碍, 神经、内分泌、肝、肾功能受损, 而引起一系列严重的中毒症状, 某些元素还能引起肿瘤, 因而世界各国对这些有害元素在药品和食品中的含量制定了严格的限量标准^[2]。本实验通过原子荧光法测定桑蝉止咳方中原料甘草的砷和汞含量, 从源头严格质量把关, 提高了制剂的临床使用安全性。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 80.
- [2] 陆宇照, 龚跃刚, 王兴文, 等. 中药提取物中重金属的研究[J]. 云南中医学院学报, 2001, 1(24): 1.

(编辑: 李 平)

To Determine the Contents of Two Heavy Metals As and Hg in Radix Glycyrrhiza of Sang Chan Zhi Ke Fang

PU Xing-yu¹, XU Jing-xiao², BI Yun³, XIONG Li-juan², WEI Dan-xia⁴

(1. Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming Yunnan 650111;

2. Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500;

3. Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500;

4. Kunming Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650011)

[ABSTRACT] Objective: To establish the method for determination of two kinds of heavy metals (As, Hg) in Glycyrrhiza of Sang Chan Zhi Ke Fang by atomic fluorescence spectrometry (AFS). Methods: Microwave digestion and determination by AFS. Results: The content of As is 0.3857mg/Kg; The content of Hg is 5.8274μg/Kg. Accord with the chinese pharmacopoeia under the provisions of Glycyrrhiza. The correlative coefficient of the calibration curves was over 0.9997, the recovery was 99.5% ~ 102.8%, RSD ≤ 2.2%. Conclusion: The method is quick, convenient, acquired accurate and highly sensitive.

[KEY WORDS] Sang Chan Zhi Ke Fang; heavy metal; AFS; microwave digestion