

iCAP Qc/RQ ICP-MS测定冬虫夏草中总砷及无机砷的含量

王艳萍 荆淼

赛默飞世尔科技（中国）应用与产品市场部，痕量元素分析

引言

随着2015版《药典》的问世，中药材中有毒元素及元素形态得到了更高度的认识。近期市场上出现大量的报道涉及到在冬虫夏草相关中药中砷元素超标的问题。而砷元素按照其形态不同，其毒性也完全不同，就目前已知的砷形态毒性排序： $As(III) > As(V) > DMA = MMA > AsC > AsB$ 。更加复杂形态的例如砷糖等，均为无毒性。因此仅测定砷元素的总量并不能代表砷元素的毒性，国标中也有规定，要求分析食品样品中的无机砷^[1]。本文采用两种不同的前处理方式分别测定冬虫夏草中的总砷及无机总砷的含量，两组数据进行对比，探讨了总砷及无机砷的差异。采用微波消解前处理方式，对冬虫夏草全消解后，采用ICP-MS测定总砷含量；配制人工肠液对冬虫夏草中不同砷形态进行提取，采用IC-ICPMS联用测定无机总砷的含量，采用人工肠液模拟人体吸收过程，则更有利于对研究中药中所含砷形态在人体中的吸收情况。



仪器

- iCAP Q/RQ ICPMS (Thermo Scientific)
- 微波消解仪 (MILESTON)
- IC 600 (Thermo Scientific)
- 超纯水机 (Thermo Scientific)
- 电子天平 (Metler-toledo)
- Ge 10 μ g/mL (Inorganic Venture)
- As 1000 μ g/mL (Inorganic Venture)

试剂及标准品

- 砷甜菜碱溶液标准物质硝酸AsB (国家标准物质中心)
- 二甲基砷溶液标准物质DMA (国家标准物质中心)
- 亚砷酸根溶液标准物质AsIII (国家标准物质中心)
- 砷胆碱溶液标准物质AsC (国家标准物质中心)
- 一甲基砷溶液标准物质MMA (国家标准物质中心)
- 砷酸根溶液标准物质AsV (国家标准物质中心)
- 乙酸钠 (国药试剂)
- 硝酸钾 (国药试剂)
- 磷酸二氢钠 (国药试剂)
- EDTA-2Na (国药试剂)
- 乙醇 (国药试剂)
- 磷酸二氢钾 (国药试剂)
- 氢氧化钠 (国药试剂)
- 胰酶 (国药试剂)

仪器参数

表1. iCAP Q/RQ运行参数

仪器参数	设置值
RF功率(W)	1550
冷却气(L/min)	14
辅助气(L/min)	0.8
雾化气(L/min)	1.02
Q Cell 气体(mL/min)	4.0(He)
KED 电压(v)	3
驻留时间(ms)	100
分析质量数	75As

总砷的测定

样品制备

准确称取0.5000 g粉碎均匀冬虫夏草粉末样品于聚四氟乙烯微波消解罐中，加入6 mL的浓硝酸，1 mL双氧水，滴加2滴浓氢氟酸，按照表2程序升温，待样品冷却到室温再开启罐体，低温赶酸到1 mL左右，定容到50 mL后，上机测试（也可同时测定As、Pb、Hg、Cr、Cu）。

表2. 微波消解升温程序

步骤	升温时间 t (min)	功率 E (W)	目标温度 T (°C)	保持时间 Hold (min)
1	3	1500	120	2
2	6	1500	160	30
3	5	1500	185	10

标准溶液制备

将As标准溶液用1% HNO_3 配制成为1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/L}$ 标准曲线。

选用Ge72作为内标，用1% HNO_3 将Ge标准溶液配制成浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 。

结果

将消解好的虫草样品上机测定，结果如下表3：

表3. 冬虫夏草中总砷的含量

mg/kg	微波As
1#冬虫夏草	5.23
2#冬虫夏草	8.18
3#冬虫夏草	4.95

无机总砷的测定

流动相的配

10 mmol/L无水乙酸钠，3 mmol/L硝酸钾、10 mmol/L磷酸二氢钠，0.2 mmol/L乙二胺四乙酸二钠的缓冲液（pH10）。分别称取0.820 g无水乙酸钠、0.303 g硝酸钾、1.56 g磷酸二氢钠，0.075 g乙二胺四乙酸二钠，用水定容到1000 mL，氨水调节pH值为10，经过0.45 μm 水系滤膜过滤后，超声水浴中超声30 min后加入，10 mL乙醇混匀备用。色谱条件如下表4：

表4. ICS 600离子色谱运行参数

柱子	Dionex IonPac AG19 (4 × 50) AS19(4 × 250 mm)
洗脱	等度
采样模式	tQuant
流速	1.0 mL/min
进样体积	20 μL
持续时间	500s

样品提取

人体的营养100%靠肠道吸收，人体中90%的毒素是从肠道进入人体的。食物进入人体后停留时间最长的部位在肠道，吸收也是在肠道，一般2-3 hr。所以下列实验采用人工肠液作为砷形态的提取液。

人工肠液：取磷酸二氢钾6.8 g加水500 mL。用0.4%的氢氧化钠溶液调节pH至6.8；另取胰酶10 g加水适量使溶解，将两液混合后，加水定容至1000 mL即可。

称取0.2 g冬虫夏草粉末样品于50 mL离心管中，加入20 mL人工肠液在37度恒温水浴震荡24 hr后，37度恒温静置1 hr后，取出冷却至室温，8000 r/min离心15 min，取上清液，经过0.45 μm 有机滤膜过滤后测定，按照同一操作方法作空白实验。

标准溶液制备

将亚砷酸根（AsIII）、砷酸根（AsV）、一甲基砷（MMA）、二甲基砷（DMA）、砷胆碱（AsC）、砷甜菜碱（AsB）标准试剂用去离子水梯度稀释成混合液浓度以As计分别为0.10、0.20、0.50、1.0 $\mu\text{g/L}$ 。

色谱图及标准曲线拟合

将配制好的标准曲线，按照设置好程序，进行分析测试如下图1,2：

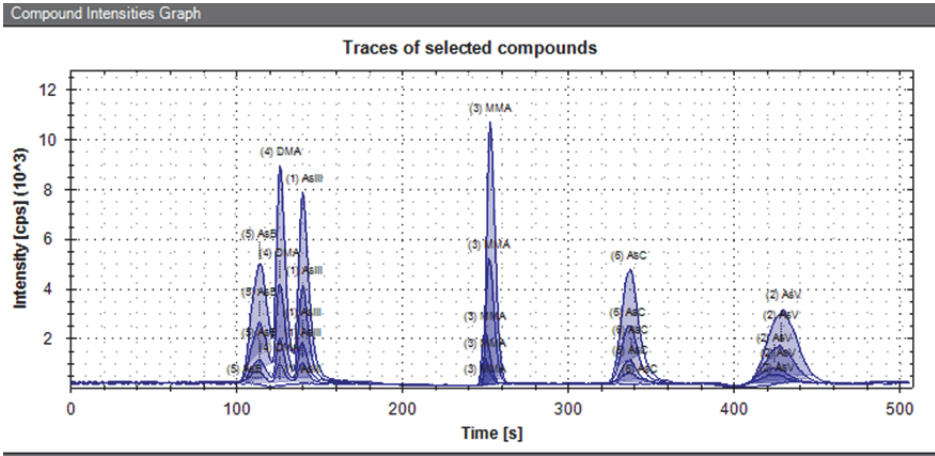


图1. Blank、0.1、0.2、0.5、1.0 $\mu\text{g/L}$ 6种混合As标的物图

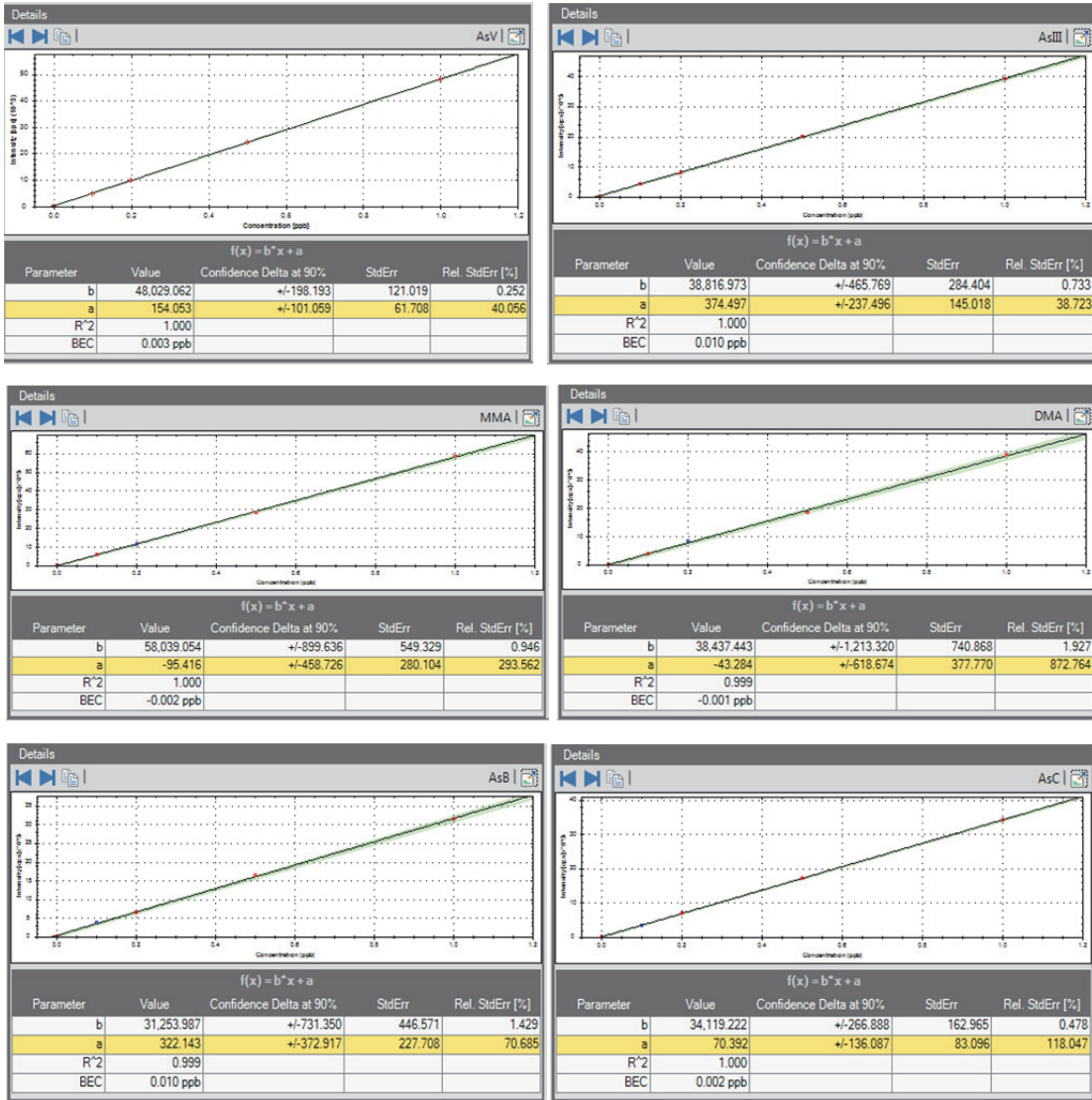


图2. 6种As标准拟合曲线

结果与讨论

将萃取好的冬虫夏草溶液样品，在IC-ICPMS上进行测试，色谱分离如下图3。从图上可以看到冬虫夏草样品中大部分砷的形态还是以无机砷的形态，三价和五价砷占大部分，其余四种有机砷（AsB/DMA/MMA/AsC）比例较小，有可能提取液中存在四种以外的有机砷形态。

将提取液样品直接在ICP-MS测定，再IC-ICPMS联用样品测试结果比较如下表5。从表中结果看出无机总砷结果虫草1、2和3分别为0.66、0.79和0.59mg/kg，而萃取液直接测定结果分别为0.71、0.86和0.65mg/kg，两者具有很好的符合性，6种形态As加标回收率在89到105%之间。

微波消解总砷和无机总砷两种结果差距较大，但提取液ICPMS直接测定和6种形态砷加和浓度基本无差异。考虑到可能的原因，人体的肠液并不能完全把虫草中所有的砷形态提取出来，体现出人体本身吸收系统不能完全吸收虫草中的砷。目前对于保健食品关于砷的限量只有总砷1.0mg/kg的标准，没有关于无机总砷的限量和提取规定，并不是很严谨，相信在不久将来国家标准将会对其进行完善。

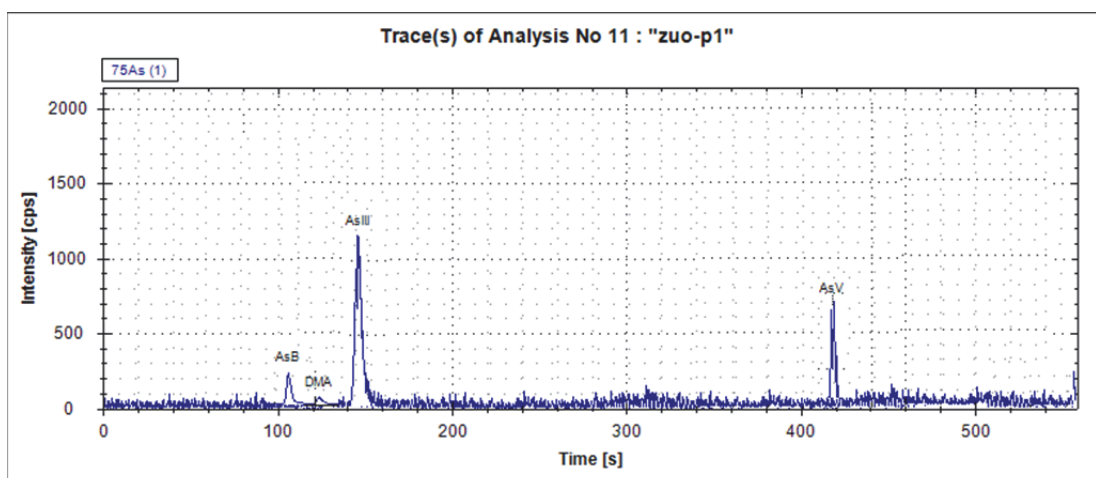


图3. 冬虫夏草提取液色谱图

表5. 虫草样品中砷含量的比对

mg/kg 以As计	1# 冬虫夏草	2# 冬虫夏草	3# 冬虫夏草	2#+1 μ g/L 回收率%
微波消解-ICPMS	5.23	8.18	4.95	/
萃取液-ICPMS	0.71	0.86	0.65	/
AsB	0.031	0.038	0.029	95
DMA	0.005	<0.002	<0.002	97
AsIII	0.42	0.53	0.38	101
MMA	<0.002	<0.002	<0.002	94
AsC	<0.002	<0.002	<0.002	89
AsV	0.24	0.26	0.21	105
6种总和	0.69	0.82	0.62	/
无机总砷（III+V）	0.66	0.79	0.59	/

结论

本文所建立的微波消解ICPMS和IC-ICP-MS方法，分别对冬虫夏草中的总砷和无机总砷进行了测定，方法简便快速，满足市场上对冬虫夏草砷元素及其形态分析的需求，为研究虫草在人体内吸收代谢及溯源提供了有效手段。

参考文献

- [1] GB5009.11-2014《食品中总砷及无机砷的测定》
- [2] Daniel Kutscher, Shona McSheehy, Julian Wills
《IC-ICP-MS speciation analysis of As in apple juice using the Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS》
- [3] 通则412-电感耦合等离子体质谱法 《中国药典》2015版第四部

赛默飞世尔科技(中国)有限公司

免费服务热线: 800 810 5118
400 650 5118 (支持手机用户)

ThermoFisher
SCIENTIFIC