

微波消解 – 原子荧光光谱法检测药用辅料微晶纤维素中砷的含量

崔超¹, 薛雯², 薛秋颜¹, 陈平^{1*}

(1. 湖南文理学院芙蓉学院, 常德 415000; 2. 济宁市食品药品检验检测研究院, 济宁 272000)

摘要:目的 建立微波消解 – 原子荧光光谱法检测药用辅料微晶纤维素中砷的方法。**方法** 采用微波消解程序升温法消解微晶纤维素样品, 氢化物发生 – 原子荧光光谱法检测其中的砷含量。**结果** 砷的线性范围为 0~10.00 $\mu\text{g/L}$ ($r=0.9995$), 方法的检出限为 0.02397 $\mu\text{g/L}$, 定量限为 0.07991 $\mu\text{g/L}$, 精密度 RSD 为 1.13%, 稳定性 RSD 为 1.45%, 平均回收率为 100.85%。**结论** 所用方法简便可靠, 适用范围广, 灵敏度高, 准确度高, 重现性好, 值得推广。

关键词: 微波消解 – 原子荧光光谱法; 药用辅料; 微晶纤维素; 砷; 含量检测

0 引言

砷是微量金属元素中重要的组成部分, 对人体的危害极大, 砷侵入人体后, 一部分可以通过尿液、乳汁等排出体外, 另一部分会蓄积在肝、肾、脾、指甲等部位。砷会破坏细胞氧化还原能力, 造成组织损伤和身体紊乱, 并可直接导致中毒死亡; 砷作用于人体局部, 会出现刺激症状, 久之会产生组织坏死, 还可致癌^[1-3]。

微晶纤维素是一种常用的药用辅料, 因其具有良好的吸附性、分散性及流动性而广泛应用于药物制剂。在片剂和胶囊剂的制备过程中, 微晶纤维素可用作稀释剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂^[4-5]。微晶纤维素对砷盐的检测与质量控制十分严格, 其法定检测方法是《中华人民共和国药典》2020版的古蔡氏检砷法^[6], 此法过程繁琐, 实验误差较大, 且此法只能进行限度检查, 不能定量分析, 实验过程中要用到剧毒物质三氧化二砷(俗称砒霜), 风险较高。目前, 光谱分析法检测微晶纤维素中砷的含量未见文献报道, 本研究采用原子荧光光谱法测定样品中砷的含量, 为微晶纤维素中砷的检测提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

MARS 6 型微波消解仪 / 可控温电热板(美国 CEM 公司); PF5 原子荧光光度计(北京谱析通用仪器有限责任公司); 砷空心阴极灯(SHUGUANGMING 公司); Sartorius A120S 电子天

平(西德沙多利斯有限公司); 微晶纤维素样品 1(曲阜市天利药用辅料有限公司); 微晶纤维素样品 2(济宁市六佳药用辅料有限公司); 微晶纤维素样品 3(曲阜市天利药用辅料有限公司); 硝酸、盐酸、硫脲(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氢氧化钠(优级纯, 上海沃凯生物技术有限公司); 硼氢化钾(优级纯, 天津市河东区红岩试剂厂); 抗坏血酸(优级纯, Aladdin Industrial Corporation); 砷单元素溶液标准物质 [$\rho(\text{As})=1000 \mu\text{g/mL}$, 中国计量科学研究院提供]。

1% 硼氢化钾 – 0.5% 氢氧化钠混合溶液: 称取氢氧化钠 10 g 溶于 2000 mL 水中, 称取 20 g 硼氢化钾溶于此氢氧化钠溶液中不断搅拌, 混合均匀(现用现配)。

硫脲 – 抗坏血酸混合溶液: 称取硫脲 12.5 g, 加入少量水(约 80 mL)并加热使其溶解, 冰浴冷却到室温, 再加入抗坏血酸 12.5 g, 稀释至 100 mL 塑料量瓶中。

1.2 实验原理

样品消解后, 五价砷由硫脲 – 抗坏血酸体系预还原为三价砷, 加硼氢化钾还原生成砷化氢, 由氩气载入原子化器中分解为原子态砷, 受特制砷空心阴极灯特征波长的光照射后, 其基态原子被激发跃迁至较高能态, 然后跃迁至某一较低能态(常常是基态)而产生原子荧光, 其荧光强度在固定条件下与被测物中的砷浓度成正比, 与标准系列比较定量^[7]。

1.3 方法

1.3.1 样品处理条件筛选

微晶纤维素是由纤维浆通过无机酸解聚制得的 α - 纤维素,

基金项目: 湖南省教育厅资助科研项目“基于富电子炔烃的绿色多样性卤代反应研究”(编号: 22C0374); 常德市科技创新指导性项目“基于智能超算构建新型磺酰胺类抗肿瘤化合物库研究”(编号: 2023ZD122); 常德学院(筹)科学研究项目“增光片质量标准制定及优化研究”(编号: CDXY23YB015); 常德学院(筹)科学研究项目“基于炔酰胺高效构建抗肿瘤活性分子库”(编号: CDXY23ZD009); 常德市科技创新指导性项目“微波消解 – 原子荧光光谱法测定药用辅料微晶纤维素中砷的含量”(编号: 2024ZD53)

第一作者: 崔超, 硕士, 主管药师, 研究方向为新药质量标准制定及生物药物分析。

* **通信作者:** 陈平, 博士, 副教授, 研究方向为药物分析、药物化学。E-mail: chenping8315@126.com

因其交联化程度高,不易消解,为确保本实验的安全性与稳定性,须将其进行预消解。硝酸的沸点是120℃,故预消解温度以100℃时间以30 min为宜。微波消解为强氧化放热过程,为避免压力突升导致爆炸,消解样品需分阶段进行。压力和功率逐渐升高,既有利于样品消解完全,又可防止罐内压力升高过快而出现危险^[8-9]。本实验采用三段式程序升温消解法,重点对关键步骤第三阶段的温度和时间进行系统考察,结果见表1。

从表1可以得出,温度设定为190℃、时间30 min既能保证消解完全,又能缩短实验时间。最优温度和时间确定后,本实验还对样品浸泡是否需要过夜、是否需要加水或双氧水等预处理条件进行了系统考察。结果发现,样品用硝酸浸泡时间长短以及是否添加水或双氧水对其消解结果均无明显影响。因此,本实验中样品加硝酸后可直接进行预消解,冷却至室温后,将内罐放入外罐,旋好盖后放入微波消解仪,按照以下程序进行消解(见表2)。

表1 消解第三阶段考察结果

序号	温度(℃)	时间(min)	消解结果
1	180	30	不澄清
2	180	45	不澄清
3	190	20	不澄清
4	190	30	澄清
5	190	40	澄清

表2 微波消解程序

步骤	温度(℃)	爬坡时间(min)	保持时间(min)	功率(W)
1	120	5	2	1400
2	150	5	6	1400
3	190	5	30	1400

1.3.2 样品处理

称取混匀的微晶纤维素试样约0.2 g,精密称定,置聚四氟乙烯消解罐(内罐)中,加硝酸8 mL,振荡使样品充分浸没。在电热板上100℃预消解30 min。预消解后冷却至室温,将消解罐内罐放入外罐,旋紧塞子(旋紧后往回旋一指,避免无法泄压导致爆炸),放入微波消解仪。按表2的消解程序进行消解。消解结束,冷却后取出消解罐,缓慢旋转外罐盖释放罐内压力,排放至无黄烟后,缓慢打开内罐盖子,用少量纯化水冲洗内盖,洗液并入内罐,将消解罐内罐放到电热板上,设定赶酸温度^[10]为175℃(温度太高会导致砷盐随之蒸发,影响实验结果),赶酸至0.5 mL左右(一粒黄豆大小,大约需要1.5小时)。再用3%盐酸溶液转移至25 mL具塞试管中,加硫脲-抗坏血酸混合溶液2.0 mL,用3%盐酸溶液稀释至刻度,还原30 min后用原子荧光光谱法测定。同法制备空白溶液。

1.3.3 仪器工作参数的设定

按照仪器操作规范,将仪器调至最佳状态,原子化器温度为200℃、负高压为280.00 V、通道元素为砷,通道灯电流主灯40 mA,辅灯40 mA、载气流量300 mL/min、屏蔽气流量

600 mL/min。3%盐酸溶液为载液、1%硼氢化钾-0.5%氢氧化钠混合溶液为还原剂、水为清洗剂。

2 结果与分析

2.1 线性关系的考察

精密吸取砷标准溶液 [$\rho(\text{As})=1000 \mu\text{g/L}$] 1.0 mL,置100 mL量瓶中,加硫脲-抗坏血酸混合溶液2.0 mL,用3%盐酸溶液稀释至刻度,混匀为主标准溶液,在线稀释成0.50、1.00、2.50、5.00、7.50、10.00 $\mu\text{g/L}$ 砷标准溶液。以在线稀释的系列浓度的砷标准溶液进行分析,以砷吸收值(Y)为纵坐标,砷浓度(X)为横坐标,进行线性回归。结果线性方程为 $IF=678.46C+0.3233(r=0.9995)$ 。由此表明,在0~10.00 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内,砷元素的浓度与测得砷的荧光值呈良好的线性关系。

2.2 精密度试验

取线性关系考察项下2.50 $\mu\text{g/L}$ 的砷标准溶液,分别连续进样六次测定,测定荧光强度,其荧光强度的RSD=1.13%,表明该仪器的精密度良好。

2.3 稳定性实验

精密称取微晶纤维素样品10.2 g,置聚四氟乙烯消解罐中,按1.3.2项方法制备样品溶液,并按照1.3.3的方法,分别在0、2、4、6、8 h进样测定,其荧光强度的RSD=1.45%,表明溶液在8 h内稳定。

2.4 回收率实验

精密称取已知含量的九份样品,每份0.2 g,置聚四氟乙烯消解罐中,三罐一组,每组分别加入低、中、高(10、100、200 $\mu\text{g/L}$)三个浓度的砷标准溶液各1 mL,分别按照“1.3.2”和1.3.3项方法进行处理和测定,测得回收率、平均回收率和RSD值分别为96.20%~104.89%、100.85%、3.14%,结果见表3,表明本法回收率高,准确度较高。

表3 回收率试验的结果($n=9$)

原含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{x} (%)	RSD(%)
0.002059	0.01	0.011708	96.52		
0.002056	0.01	0.011678	96.20		
0.002058	0.01	0.011928	98.75		
0.002053	0.1	0.103993	101.94		
0.002050	0.1	0.104563	102.51	100.85	3.14
0.002056	0.1	0.102110	100.05		
0.002057	0.2	0.208713	103.33		
0.002059	0.2	0.209013	103.48		
0.002058	0.2	0.209778	104.89		

2.5 检出限和定量限

按1.3.2项下方法随样品制备20份空白溶液,进样测定,求出其标准偏差(SD),并由标准曲线斜率计算出仪器的检出限为0.02397 $\mu\text{g/L}$,定量限为0.07991 $\mu\text{g/L}$,表明该方法是一种高灵敏度的微晶纤维素中砷含量测定的定量检测方法。

2.6 样品测定

取三批样品, 每批 2 份, 分别按 1.3.2 和 1.3.3 项方法制备样品溶液和测定, 根据所测荧光强度利用回归方程计

算样品中砷的含量, 结果见表 4。结果表明三批样品均符合药典标准规定, 这与用药典方法测定的三批样品的结果一致。

表 4 样品测定结果

样品	第一批		第二批		第三批	
	样品 1	样品 2	样品 1	样品 2	样品 1	样品 2
取样量(g)	0.2016	0.2010	0.2019	0.2021	0.2018	0.2015
As(mg/kg)	0.0103	0.0101	0.01061	0.01070	0.01053	0.01024

3 讨论与结论

样品消解方法包括湿法消解、干灰化法消解和微波消解等^[11-12]。与传统方法相比, 微波消解可使样品与酸充分接触, 最大限度地发挥酸的作用, 微波可直接穿透样品内部, 里外同时加热, 瞬间达到较高温度。因此, 微波消解具有消解速度快、元素损失少、环境污染小、节约能源等优点, 尤其适合于痕量和超纯分析^[13-16], 故本试验采用微波消解法进行消解。微波消解法常用的消解剂有硝酸(常与双氧水同时使用)、硫酸、氢氟酸、王水(1 体积硝酸和 3 体积盐酸的混合物)等^[11-12], 从经济和安全的角度考虑, 本实验选择硝酸。在实验过程中发现, 仪器推荐的消解剂硝酸用量 8 mL 就能将样品消解完全, 继续增大硝酸的用量没有必要, 故本实验消解剂的用量为 8 mL。此外, 样品消解结束后, 需将溶液赶酸至 0.5 mL(一粒黄豆大小)左右, 避免酸度过高影响实验结果, 同时需注意切不可将酸赶尽造成样品变黑, 以免造成待测元素的损失。

目前, 样品中砷的检测方法主要有火焰原子吸收光谱法、电感耦合等离子体质谱法、高效液相色谱联用电感耦合等离子体质谱法、氢化物发生-原子荧光光谱法、X 荧光光谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法、液相色谱-原子荧光联用技术等。其中, 氢化物发生-原子荧光光谱法具有操作简便快捷、干扰少、灵敏度高、分析成本低及精密度和准确性好等特点^[5]。故本研究采用氢化物发生-原子荧光光谱法。由于原子荧光光谱法灵敏度高, 对空白信号值必须严格控制, 故实验用水电阻值应在 18 MΩ 以上, 制备的纯水应尽快使用, 以免吸收空气中不挥发组分和灰尘, 实验中用到的试剂尽可能选择优级纯, 同时为避免器皿污染, 所用的量瓶、移液管等玻璃器皿, 都需在 30% 的硝酸溶液中浸泡 24 h 以上。

本实验采用温微波消解氢化物发生-原子荧光光谱法对微晶纤维素中砷盐进行含量测定, 弥补了药典方法中只能进行限度检查, 无法定量及操作繁琐的缺陷, 本方法简便可靠, 灵敏度高, 准确度高, 选择性好, 重现性优, 适用性广泛。

参考文献

- [1] 王春燕, 杨培, 张欣婷, 等. 微波消解-原子荧光光谱法测定川芎中的砷和汞[J]. 医药化工, 2023, 49(09): 187-190.
- [2] 延敏芳. 原子荧光光谱法在职业卫生砷、汞检测中的应用研究[J]. 化工管理, 2017, (03): 108.
- [3] 唐军. 淮安市水产品质量安全的现状及对策[J]. 中国科技博览, 2009, (32): 2-3.
- [4] 张彩莉, 张鑫. 微晶纤维素的特性及应用[J]. 中国调味品, 2006, (09): 46-48.
- [5] WELLER WJ. Cellulose microcrystalline. In handbook of pharmaceutical excipients [M]. 4th ed. London: Pharmaceutical Press, 2003: 108-111.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 782.
- [7] 王颖, 徐愚聪, 贺亚玲, 等. 微波消解-原子荧光光谱法测定中药材中的砷[J]. 中国药品标准, 2007, (05): 21-23.
- [8] 何耀良, 廖晓新, 黄科林, 等. 微晶纤维素的研究进展[J]. 化工技术与开发, 2010, 39(01): 12-16.
- [9] 刘桂英, 王少斌. 微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定中药材中痕量砷[J]. 理化检验-化学分册, 2012, 48: 53-55.
- [10] 陈路阳. 化妆品安全技术规范[M]. 北京: 中国标准出版社, 2015. 12: 169-171.
- [11] 杨岚, 王军磊, 彭靖, 等. 微波消解-原子荧光法测定食品中的总砷[J]. 煤炭与化工, 2008, 31(09): 62-63.
- [12] 杨宝红, 鄢中妮, 熊福平, 等. 微波消解-原子荧光光谱法同时测定人体血液中砷和汞[J]. 化工管理, 2024, (08): 69-71, 89.
- [13] 张丽娟, 马群, 王晶, 等. 微波消解-原子吸收分光光度法测定中成药中砷-铜的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(05): 342-344.
- [14] 曹峰, 徐强, 黄鹏, 等. 微波消解-原子荧光光谱法测定莱菔香肠中的砷和汞[J]. 肉类工业, 2016, (04): 38-41.
- [15] 王新. AF-610E型原子荧光光谱仪和 722E型分光光度计测定水中砷的比对试验[J]. 新疆水利, 2016, (02): 15-20.
- [16] 运行, 安迎雪, 尤海丹. 微波消解-原子荧光光谱法测定宫瘤消片中的砷、镉[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(02): 289-291.