

# 砷的不同形态在石菖蒲中的分布

## Distribution Research of Arsenic speciation in *Acori Tatarinowii*

陈 练<sup>1,2</sup> 马莎莎<sup>3</sup> 易伦朝<sup>3</sup> 颜鸿飞<sup>1</sup> 王利兵<sup>1,2</sup> 黎继烈<sup>2</sup>

CHEN Lian<sup>1,2</sup> MA Sha-sha<sup>3</sup> YI Lun-zhao<sup>3</sup> YAN Hong-fei<sup>1</sup> WANG Li-bing<sup>1,2</sup> LI Ji-lie<sup>2</sup>

(1. 湖南出入境检验检疫局, 湖南长沙 410004; 2. 中南林业科技大学经济林培育与保护教育部重点实验室, 湖南长沙 410004; 3. 昆明理工大学云南省食品安全研究院, 云南昆明 650500)

(1. *Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changsha, Hunan 410004, China*; 2. *Key Laboratory of Cultivation and Protection Non-wood Forest Trees, Ministry Education, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China*; 3. *Yunnan Food Safety Research Institute, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China*)

**摘要:**建立砷元素 6 种形态的分析方法, 研究砷的不同形态在石菖蒲不同部位中的含量、分布及转化。采用高效液相色谱法(HPLC)分离, 色谱柱 HAMILTON PR-X100 阴离子交换柱(4.1 mm×250 mm, 10 μm); 流动相 A 为水, 流动相 B 为 pH 8.5 的碳酸铵(50 mmol/L)与甲醇(1%)混合液, 梯度洗脱, 电感耦合等离子体原子发射光谱质谱联用仪(ICP-MS)测定不同形态的砷。该方法线性范围为 0.995~0.999, 回收率为 89%~97%。建立的检测方法准确、稳定、可靠。对石菖蒲根茎、叶及与外源性三价砷浸泡后的根茎、叶进行检测发现, 石菖蒲样品中只存在砷的无机形态, 且三价砷为主要存在的无机形态。石菖蒲的根茎为无机砷的主要富集部位, 石菖蒲的根茎、叶均能将部分高毒性的三价砷转化为毒性较低的五价砷。

**关键词:**砷; 形态分析; 石菖蒲; HPLC-ICP-MS

**Abstract:** The speciation analytical method was developed to detect the arsenic (As) and research its styles, contents and distribution in *Acori tatarinowii*. The arsenic speciation was separated by high performance liquid chromatograph with anion exchange column (HAMILTON PR-X100, 4.1 mm×250 mm, 10 μm). Mobile phases were ultra-pure water (A) and 50 mmol/L ammonium carbonate with 1% methanol (pH 8.5, B). Inductively coupled plasma emission and mass

spectrometry was involved to detect arsenic speciation. The linear ranges were between 0.995 and 0.999, and the rate of recovery ranged from 89% to 97%. The method was confirmed to be accurate, stable and reliable. The results showed that leaves soaked in different contents As (III) solution for different times, only inorganic speciation of As was found, among which As (III) was the main speciation. The rhizome of *A. tatarinowii* was the main enrichment position absorbing the inorganic arsenic. Both the rhizome and the leaves could transform the As (III) to As (V).

**Keywords:** arsenic; speciation research; *Acori tatarinowii*; HPLC-ICP-MS

石菖蒲是一种天南星科、菖蒲属禾草状多年生草本植物, 具有镇静安神、理气活血、豁痰开窍等功效<sup>[1-3]</sup>。民间常食用石菖蒲以助益智安神。然而, 有文献<sup>[4]</sup>报道, 石菖蒲中元素砷的含量较高。砷的毒性与其存在的形态密切相关<sup>[5-7]</sup>。在砷的几种存在形态中, 三价砷(As III)的毒性最大, 五价砷(As V)的毒性次之; 一甲基砷(MMA)、二甲基砷(DMA)的毒性较小; 砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC)几乎没有毒性。因此, 要客观地对元素砷进行评价, 仅考察砷的总量是不够的, 需要进一步了解砷的各种形态的分布和含量。

目前, 石菖蒲的研究文献<sup>[8-9]</sup>主要涉及有机物和元素总量, 而对砷形态分析的文献<sup>[10-12]</sup>多侧重于形态砷的含量分析, 鲜见砷的不同形态的分布和迁移转化研究。石菖蒲中砷的形态分析尚未见报道, 不同形态的砷在石菖蒲不同部位分布和转化的文献也未见报道。本研究采用高效液相色谱-电感耦合等离子体原子发射光谱质谱联用技术(HPLC-ICP-MS)建立砷的 6 种形态的分析方法, 研究砷的不同形态在石菖蒲不同部位的含量、分布及转化。为砷的不同形态在石菖

**基金项目:** 国家重大科学仪器设备开发专项(编号: 2012YQ0901940502)

**作者简介:** 陈练, 女, 湖南出入境检验检疫局高级工程师, 中南林业科技大学在读博士研究生。

**通信作者:** 王利兵(1967-), 男, 湖南出入境检验检疫局研究员, 博士。E-mail: wanglb1@126.com

黎继烈(1959-), 女, 中南林业科技大学教授, 博士。

E-mail: lijilie12@163.com

**收稿日期:** 2017-01-09

蒲中以至于植物产品中的分布、转化研究,以及植物产品对砷的减毒作用研究,提供有价值的参考数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

标准物质亚砷酸根[三价砷,标准物质编号 GBW08666,批号 1503,摩尔浓度(1.011±0.016) μmol/g]、砷酸根[五价砷,标准物质编号 GBW08667,批号 1503,摩尔浓度(0.233±0.005) μmol/g]、一甲基砷[标准物质编号 GBW08668,批号 1412,摩尔浓度(0.335±0.011) μmol/g]、二甲基砷[标准物质编号 GBW08669,批号 1412,摩尔浓度(0.706 0±0.002 4) μmol/g]、砷甜菜碱[标准物质编号 GBW08670,批号 1412,摩尔浓度(0.518±0.015) μmol/g]、砷胆碱[标准物质编号 GBW08671,批号 1305,摩尔浓度(0.374±0.015) μmol/g]:中国计量科学研究院;

标准物质黄芪:标准物质编号 GBW 10028[GSB-18,总砷含量(0.57±0.05) μg/g],中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所;

砷标准溶液:标准物质编号 GSB G 62028-90,批号 13011627,浓度 1 000 μg/mL,国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院;

锆标准溶液:标准物质编号 GSB04-1728-2004,批号 14307-3,浓度 1 000 μg/mL,国家有色金属及电子材料分析测试中心;

碳酸铵、硝酸(65%)、氨水(25%):优级纯,德国 Merck 公司;

甲醇:色谱纯,德国 Merck 公司;

石菖蒲样品:湖南长沙,经中南大学湘雅医学院刘韶教授鉴定为石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)的根茎叶。

### 1.2 试验仪器

高效液相色谱仪:1200 型,配色谱柱 HAMILTON PR-X100 阴离子交换柱(4.1 mm×250 mm,10 μm),美国 Agilent 公司;

电感耦合等离子体发射光谱质谱联用仪:820-MS 型,配碰撞反应器,美国 Varian 公司;

超声波仪:B8510E-MT 型,频率 60 Hz,美国 Branson 公司;

离心机:Universal 320 型,德国 Heitich 公司;

旋转蒸发器:LABOROTA 4000 型,德国 Heidolph 公司;

恒温水浴摇床:BT300 型,日本 Yamato 公司;

分析天平:MS403S 型,瑞士梅特勒-托利多公司。

### 1.3 检测方法

1.3.1 仪器条件 ICP-MS 仪器条件见表 1。ICP-MS 测定 <sup>75</sup>As,开启碰撞模式以消除可能存在的多原子离子 <sup>35</sup>Cl<sup>40</sup>Ar 的干扰。采用内标元素 <sup>72</sup>Ge 补偿信号漂移。

液相色谱条件:色谱柱为 HAMILTON PR-X100 阴离子交换柱(4.1 mm×250 mm,10 μm)。流动相 A 为水,B 为

表 1 ICP-MS 仪器参数表

Table 1 Instrument parameters of ICP-MS

参数	参数值	参数	参数值
等离子体流速	18 L/min	采样深度	6.5 mm
辅助气流速	1.7 L/min	RF 线圈功率	1.40 kW
鞘气流速	0.16 L/min	泵速	8 r/min
雾化气流速	0.98 L/min	第 1 提取电镜电压	-1 V
碰撞气体	He	第 2 提取电镜电压	-200 V
碰撞气体流速	45 mL/min	第 3 提取电镜电压	-240 V
停留时间	50 000 μs	角电镜电压	-180 V

pH 8.5 的碳酸铵(50 mmol/L)与甲醇(1%)混合液。洗脱程序:0.0~3.0 min,100% B;3.1~9.0 min,90% B;9.1~9.5 min,100% B。流速 1 mL/min;进样体积 20 μL。

### 1.3.2 溶液的配制

(1) 标准工作溶液的配制:三价砷、五价砷、一甲基砷、二甲基砷、砷甜菜碱、砷胆碱标准溶液用超纯水逐级稀释为混合标准工作液,浓度见表 2。6 种形态砷标准工作液中保持内标物质锆的浓度为 5 ng/mL。

表 2 工作溶液浓度表

Table 2 Concentrations of standard solutions

砷的形态	nmol/mL				
	标准工作液 1	标准工作液 2	标准工作液 3	标准工作液 4	标准工作液 5
As(III)	0.253	0.506	1.011	2.528	5.055
As(V)	0.233	0.466	0.932	2.330	4.660
MMA	0.335	0.670	1.340	3.350	6.700
DMA	0.282	0.565	1.130	2.824	5.648
AsB	0.259	0.518	1.036	2.590	5.180
AsC	0.374	0.748	1.496	3.740	7.480

(2) 外源性三价砷接触溶液的配制:三价砷标准溶液用超纯水稀释成 50 mL 浓度分别为 5.06,10.11,50.55,101.10 nmol/mL 的三价砷浸泡液。

(3) 流动相 B 的配制:50 mmol 碳酸铵溶解于近 1 L 甲醇溶液(1%)中,用硝酸和氨水溶液调节 pH 值为 8.5,再用甲醇溶液(1%)定容至 1 L,混匀、脱气备用。

### 1.3.3 供试品溶液的制备

(1) 石菖蒲样品供试溶液的制备:将石菖蒲的根茎和叶完全剥离,称取 4 g 根茎或叶分别置于陶瓷研钵中研磨。用约 20 mL 提取液少量多次冲洗研钵与研杵后,溶液及样品全转移至 100 mL 三角烧瓶中。60 °C 恒温水浴振荡提取 2.5 h 后,浸提液 4 500 r/min 离心 5 min,取清液过滤。样品残渣再次用 20 mL 提取液按上述过程提取两次。过滤清液置于 250 mL 圆底蒸馏瓶中旋转蒸馏浓缩后用超纯水转移定容到 10 mL 容量瓶。该溶液中保持内标物质锆的浓度为 5 ng/mL。

(2) 外源性三价砷接触样品供试溶液的制备:称取 4 g 根茎或叶样品分别于三价砷接触溶液中浸泡一定的时间。

取出晾干后,与石菖蒲样品相同的方法处理。

(3) 标准物质样品供试溶液的制备:称取 1 g 黄芪标准物质与样品同样处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法的有效性

6 种砷的形态在以上色谱条件下,分离良好,见图 1。采用逐步稀释测定 3 倍信噪比的方法,获得 6 种砷形态的检出限。对同一浓度的标准溶液重复进样 6 次,计算出峰时间的相对标准偏差,考察重现性。在 0~20 nmol/mL 浓度范围内,对 6 种形态砷的色谱峰与浓度进行拟合。回归方程、相关系数、相对标准偏差及检出限数据见表 3。由表 3 可知,6 种形

态砷的色谱峰与浓度间相关系数在 0.995 以上,有良好的线性关系。相对标准偏差小于 5%,方法有良好的精密度。As(III)、As(V)的检出限可达 0.05 nmol/mL, MMA、DMA、AsB、AsC 的检出限可达 0.03 nmol/mL,方法具有良好的灵敏度。

方法的准确性用黄芪标准物质及样品加标回收进行验证。黄芪标准物质中砷的标识值为 $(0.57 \pm 0.05) \mu\text{g/g}$ ,用该方法进行测定,只检出三价砷和五价砷,含量分别为 0.10  $\mu\text{g/g}$  及 0.45  $\mu\text{g/g}$ ,总砷含量为 0.55  $\mu\text{g/g}$ ,与标准物质的标示值相符。实际样品添加回收为 89%~97%,数据见表 4。由黄芪标准物质测定值和回收率数据可知,方法具有良好的准确性。

表 3 回归方程、相关系数、相对标准偏差及检出限

Table 3 Regression equation, correlation coefficient, relative standard deviation and detection limit of the method

元素形态	回归方程	相关系数	相对标准偏差/%	检出限/(nmol · mL <sup>-1</sup> )
As(III)	$Y=4\ 457X-491$	0.995	2.96	0.05
As(V)	$Y=5\ 074X-223$	0.999	3.67	0.05
MMA	$Y=5\ 458X-546$	0.999	3.54	0.03
DMA	$Y=5\ 654X+307$	0.997	2.31	0.03
AsB	$Y=7\ 151X+1\ 107$	0.998	1.25	0.03
AsC	$Y=3\ 905X-1\ 275$	0.999	2.42	0.03

表 4 添加浓度及回收率

Table 4 Added concentrations and recoveries

元素形态	添加浓度/ (nmol · mL <sup>-1</sup> )	回收率/ %
As(III)	1.011	92
As(V)	0.932	95
MMA	1.340	89
DMA	1.130	97
AsB	1.036	96
AsC	1.496	95

各种形态的砷均为未检出。

三价砷为各种砷形态中毒性最大的,也是石菖蒲中砷的主要存在形态,因此,选择砷的三价形态,研究其在石菖蒲不同部位中的迁移规律。考察在不同外源性三价砷接触浓度和不同接触时间的影响下,石菖蒲根茎和叶对无机砷吸收积累的量。扣除其本身的三价砷、五价砷的量,石菖蒲根茎和叶对无机砷吸收积累的量结果见表 5、6。

### 2.3 讨论

由表 5、6 可知,在高毒性三价砷单一来源接触的情况下,石菖蒲样品的根茎和叶均富集了三价砷和五价砷。可见,石菖蒲的根茎和叶均能通过生物代谢,将部分高毒性的三价砷转化为较低毒性的五价砷。这可能是在石菖蒲根茎、叶细胞中,部分三价砷可以作为电子供体,被 As(III)氧化酶催化从而被氧化为五价砷<sup>[13-14]</sup>,达到部分降低无机砷毒性的效果。

### 2.2 无机砷在石菖蒲不同部位的分布及迁移试验

用建立的方法对石菖蒲样品进行检测,根茎中三价砷的含量为 2.22  $\mu\text{mol/kg}$ ,五价砷含量为 0.3  $\mu\text{mol/kg}$ ,一甲基砷、二甲基砷、砷甜菜碱及砷胆碱均为未检出;石菖蒲的叶中

表 5 不同浓度三价砷浸泡液浸泡 4 d 时石菖蒲根茎、叶中无机砷的分布量

Table 5 Distribution of inorganic arsenic in rhizomes and leaves of *Acori Tatarinowii Rhizoma* soaked in different concentrations of As(III) solutions for 4 days

三价砷浸泡液 浓度/ (nmol · mL <sup>-1</sup> )	根茎				叶				根茎、叶 As 总量比
	As(III)/ nmol	As(V)/ nmol	$\frac{\text{As(III)}}{\text{As(V)}}$	$\text{As}_{\text{根茎,总}}/$ nmol	As(III)/ nmol	As(V)/ nmol	$\frac{\text{As(III)}}{\text{As(V)}}$	$\text{As}_{\text{根茎,总}}/$ nmol	
5.06	21.8	0.9	24.2	22.7	2.8	0.7	4.0	3.5	6.5
10.11	36.8	1.5	24.5	38.3	4.5	1.0	4.5	5.5	7.0
50.55	300.5	9.5	31.6	310.0	35.7	7.1	5.0	42.8	7.2
101.10	400.1	9.9	40.4	410.0	46.6	7.9	5.9	54.5	7.6

表6 10.11 nmol/mL 三价砷浸泡液浸泡不同时间石菖蒲根茎、叶中无机砷的分布量

Table 6 Distribution of inorganic arsenic in rhizomes and leaves of *Acori Tatarinowii Rhizoma* soaked in 10.11 nmol/mL As (III) solutions for different times

浸泡时间/d	根茎				叶				根茎、叶 As 总量比
	As(III)/nmol	As(V)/nmol	$\frac{As(III)}{As(V)}$	As <sub>根茎,总</sub> /nmol	As(III)/nmol	As(V)/nmol	$\frac{As(III)}{As(V)}$	As <sub>叶,总</sub> /nmol	
2	26.9	1.2	22.4	28.1	3.6	0.9	4.0	4.5	6.2
4	36.8	1.5	24.5	38.3	4.5	1.0	4.5	5.5	7.0
5	54.0	2.2	24.5	56.2	5.6	1.2	4.7	6.8	8.3
7	81.4	3.3	24.7	84.7	8.3	1.7	4.9	10.0	8.5

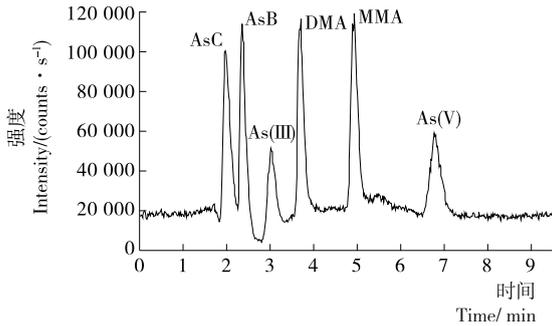


图1 6种砷形态的色谱图

Figure 1 Chromatogram of six arsenic speciations

在根茎和叶中,三价砷、五价砷的积累量均与外源性三价砷的浓度及接触时间成正比。随着浓度和时间的增加,三价砷积累量的增幅高于五价砷积累量的增幅。可见,在三价砷单一来源接触的情况下,三价砷仍是石菖蒲根茎和叶对砷的主要富集形态。

石菖蒲的根茎及叶对无机砷总量的积累与外源性高毒性的三价砷的浓度及接触时间呈正相关。且在两个因素下,石菖蒲的根茎对无机砷的积累总量均高于叶。可见,石菖蒲的根茎是积累无机砷的主要部位。这可能是在石菖蒲的根茎部无机砷与巯基化合物络合,生成较为稳定的砷-巯基络合物,影响了无机砷向叶部的迁移,使得无机砷大部分富集在石菖蒲的根茎部<sup>[13-14]</sup>。

### 3 结论

本试验建立的6种形态砷的分析方法灵敏、稳定、可靠。运用该方法测定石菖蒲中砷的形态,发现石菖蒲中只存在无机形态的砷,其中三价砷为主要的存在形态。在有外源性三价砷接触的情况下,石菖蒲样品也只表现出对无机形态砷的积累。根茎是无机形态砷积累的主要部位。石菖蒲根茎和叶均能将部分三价砷转化为五价砷,但三价砷仍为积累的主要形态。石菖蒲对外源性无机形态砷的积累与接触时间和浓度呈正比。本试验的研究成果对砷的不同形态在石菖蒲中的分布、转换研究有重要的参考价值;可为砷的不同形态在植物产品中的分布、转化及植物产品对砷的减毒作用研究提供了参考数据。

### 参考文献

[1] 王睿, 费洪新, 李晓明, 等. 石菖蒲的化学成分及药理作用研究

进展[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(7): 1 606-1 610.

[2] 王争, 王曙东, 侯中华. 石菖蒲成分及药理作用的研究概况[J]. 中国药业, 2012, 21(11): 1-3.

[3] 吴启瑞, 吴清和. 石菖蒲的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(6): 477-480.

[4] 白研, 颜戊利, 梁文静, 等. 广东产地中药中砷含量的测定[J]. 广东药学, 2005, 15(2): 4-6.

[5] 张普敦, 徐国旺, 魏复盛. 砷形态分析方法进展[J]. 分析化学, 2001, 28(7): 971-977.

[6] 张光亚, 宋佳, 邓跃全, 等. 砷形态分析的研究进展[J]. 理化检验: 化学分册, 2015, 51(4): 560-566.

[7] CAO Xuan, HAO Chun-li, WANG Geng, et al. Sequential extraction combined with HPLC-ICP-MS for As speciation in dry seafood products[J]. Food Chem, 2009, 113(2): 720-726.

[8] XIN Zhong-quan, REN Da-bing, ZHANG Xiao-juan, et al. Chromatographic Fingerprints Combined with Chemometric Methods Reveal the Chemical Features of Authentic *Radix Polygalae*[J]. Journal of AOAC International, 2017, 100: 30-37.

[9] CHEN Lian, YUAN Da-lin, ZHANG Xiao-juan, et al. Elemental Analysis of *Acori Tatarinowii Rhizoma* by Inductively Coupled Plasma Emission and Mass Spectrometry with Chemometrics[J]. Anal Lett, 2015, 48: 2 882-2 893.

[10] 易路遥, 章红, 李杰, 等. 高效液相色谱-原子荧光光谱法分析水产品中砷的形态[J]. 中国卫生检验杂志, 2016(21): 3 045-3 048.

[11] 谭洪涛, 周鸿, 李娟, 等. 液相色谱-原子荧光光谱法测定大米中4种砷形态的含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2016, 52(9): 1 104-1 107.

[12] 谭婷婷, 王瑛, 滕久委, 等. 微波辅助提取-高效液相-电感耦合等离子体质谱法测定生米与熟米中各形态砷的含量[J]. 食品与机械, 2016, 32(6): 73-76.

[13] 陈鹏, 晏磊, 王雄, 等. 砷的生物转化与代谢机制研究进展[J]. 生命科学研究, 2013, 17(6): 554-560.

[14] 张旭, 于秀敏, 谢亲建, 等. 砷的微生物转化及其在环境与医学应用中的研究进展[J]. 微生物学报, 2008, 48(3): 408-412.