

LC-ICPMS 测定雄黄中三价砷和五价砷 作业指导书 (SOP)

标准号：《中国药典》第四部 通则 2322

■ 参考标准

《中国药典》第四部《通则 2322 汞、砷元素形态及价态测定法》。

■ 方法概述

2.1 方法编制说明

《中国药典》第四部通则 2322 规定了中药中汞、砷元素形态及价态测定法。本法采用高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱法 (LC-ICPMS) 测定雄黄中三价砷和五价砷。

2.2 方法使用范围

本方法适用于高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱法 (LC-ICPMS) 测定雄黄中三价砷和五价砷。

2.3 方法技术指标

三价砷和五价砷的方法检出限分别为 33 $\mu\text{g/g}$ 和 250 $\mu\text{g/g}$ ，曲线范围 5~500 ng/mL。

■ 方法原理

试样经人工肠液提取处理后，采用高效液相色谱仪分离砷元素不同形态及价态，电感耦合等离子体质谱仪检测，根据保留时间定性，信号响应峰面积定量。

■ 仪器设备及辅助设备

4.1 仪器设备

液相色谱仪，电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030。

4.2 辅助设备

分析天平，超声波清洗器，pH 计，移液枪 / 移液管，离心管，容量瓶及其他实验室常用设备。

4.3 标准品、试剂、耗材

4.3.1 砷胆碱 (AsC)、砷甜菜碱 (AsB)、亚砷酸 (三价砷, As III)、二甲基砷 (DMA)、一甲基砷 (MMA)、砷酸 (五价砷, As V) 有证标准溶液。

4.3.2 阴离子交换柱：10 μm ，250 mm \times 4.1 mm。

4.3.3 磷酸二氢钾，氢氧化钠，胰酶，乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-2Na)，磷酸二氢铵，氨水，以上试剂优级纯或色谱纯。

4.3.4 氢氧化钠溶液 (0.1 mol/L)：称取 0.4 g 氢氧化钠，溶解于水中，转移、定容至 100 mL。

4.3.5 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-2Na) (0.02 mol/L)：称取 EDTA-2Na ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 372.24 g/mol) 7.44 g，纯水溶解定容至 1000 mL。

4.3.6 人工肠液：称取 6.8 g 磷酸二氢钾，加入 500 mL 水使其溶解，用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液 (4.3.4) 调节 pH 至 6.8；另称取胰酶 10 g，加水适量使其溶解，将两种溶液混合后，加水定容至 1000 mL，摇匀。

4.3.7 磷酸二氢铵 (0.025 mol/L) 流动相：称取 2.88 g 磷酸二氢铵 ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 115.03 g/mol)，纯水溶解、定容至 1000 mL，氨水调节 pH 至 8.0，摇匀超声。

4.3.8 ICP-MS 调谐液 (Be、Co、Mn、Bi、Ce、In)

Be 浓度 10 ng/mL, Co 和 Mn 5 ng/mL, Bi、Ce 和 In 2 ng/mL, 含 1% HNO₃。

4.3.9 0.45 μm 微孔滤膜, 高纯氦气和氩气等。

■ 操作步骤

5.1 标准溶液配制

准确吸取适量亚砷酸、砷酸、一甲基砷、二甲基砷、砷胆碱、砷甜菜碱标准溶液适量 (4.3.1), 以 0.02 mol/L EDTA-2Na (4.3.5) 稀释配制成 0、1、5、20、50、100、500 ng/mL 的标准序列 (均以 As 计)。在确保六种砷形态分离度、满足系统适用性情况下, 日常检测可以只配制亚砷酸、砷酸标准溶液。

5.2 样品前处理

准确称取雄黄粉末 (过五号筛) 样品 30 mg, 置于 250 mL 塑料量瓶中, 加人工肠液 (4.3.6) 约 200 mL, 摇匀, 置 37 °C 水浴中超声处理 (功率 600 W, 频率 40 kHz) 2 小时 (每隔 15 分钟充分摇匀一次), 放冷, 用人工肠液 (4.3.6) 稀释至刻度, 摇匀, 静置 20~24 小时, 吸取中层溶液适量 (吸取时应避免带入颗粒), 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 50 mL 塑料量瓶中, 加 0.02 mol/L EDTA-2Na 溶液 (4.3.5) 稀释至刻度, 摇匀, 即得。同法制备空白溶液。

5.3 仪器条件

ICP-MS 分析条件见表 1、表 2。

表 1 砷形态分析液相条件

参 数	参数设定
色谱柱	Hamilton PRP-X100 Anion Exchange 10 μm, 250 mm×4.1mm
流动相	A-0.025 mol/L NH ₄ H ₂ PO ₄ (pH=8); B- 水
流 速	1.0 mL/min
柱 温	40°C
进样量	20 μL
洗脱程序	梯度洗脱

表 2 砷形态 ICP-MS 分析条件

参 数	参数设定	参 数	参数设定
高频功率	1.20 kW	等离子体气	9.0 L/min
辅助气	1.10 L/min	载气 (雾化气)	0.70 L/min
炬管类型	Mini 炬管	雾化器	同心雾化器
雾化室	旋流雾室	雾化室温度	5°C
采样深度	5.0 mm	采样锥 / 截取锥	铜锥 / 镍锥
碰撞气	He	碰撞气流速	6 mL/min
池电压	-21 V	能量过滤器电压	7.0 V

5.4 测定

5.4.1 仪器调谐

点燃等离子体后预热稳定 30 分钟左右, 使用 ICP-MS 调谐溶液 (4.3.8) 对仪器灵敏度、氧化物、双电荷等指标进行调谐认证, 相关指标满足要求后即可进行样品测试。

5.4.2 试样测定

吸取适量标准系列溶液注入液相色谱 - 电感耦合等离子质谱仪进行测定，得到相应的色谱图，以保留时间定性。记录峰面积，以浓度（以 As 计）与峰面积做线性回归绘制标准曲线；相同条件测试空白、样品等。计算样品中三价砷和五价砷含量，结果以三价砷和五价砷总量计。

5.4.3 结果计算与表示

试样中待测元素含量按照以下公式计算：

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times f}{m \times 1000}$$

式中：

X —— 试样中待测元素的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ —— 样品溶液中被测元素质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

ρ_0 —— 试样空白液中被测元素质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V —— 试样定容体积，单位为毫升（mL）；

f —— 试样稀释倍数；

m —— 试样称取质量，单位为克（g）；

1000 —— 换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

岛津应用云

