

植物药山楂中总汞和形态汞含量的测定

ICPMS-149

摘要：参考 2020 版《中国药典》，利用岛津电感耦合等离子体质谱仪（ICPMS-2030）和高效液相色谱 LC-20Ai 分别建立了植物药山楂中总汞和形态汞的测定方法。样品经过处理后，采用高效液相色谱 LC-20Ai 对不同形态汞进行分离，电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 进行定量分析。实验结果表明：总汞线性范围在 0.2-5.0 ng/mL 内回归系数大于 0.9999，方法检出限为 0.002 $\mu\text{g/g}$ ，加标回收率为 100 %。形态汞线性范围在 1-20 ng/mL 内回归系数大于 0.9998，方法检出限在 0.02-0.04 $\mu\text{g/g}$ 之间，加标回收率在 101.8 % - 107.2 % 之间，该方法适用于植物药中总汞和形态汞的分析。

关键词：HPLC-ICP-MS 山楂 总汞 形态汞

汞具有很强的挥发性，是一种剧毒的重金属元素，是环境中广泛存在的一类持久性污染物。有机汞化合物在农业中常用作杀菌剂和杀虫剂，无机汞在生活中也经常使用，且无机汞通过生物甲基化作用生成甲基汞，从而被动植物吸收，并通过食物链的富集作用进入人体，损害人体健康。

汞的生物毒性不仅与其含量有关，更大程度上取决于其存在形态。不同形态的汞化合物性质不同，毒性差异很大。常见的汞形态有无机汞（iHg）、甲基汞（MeHg）、乙基汞（EtHg）等。其中有机汞的毒性

大于无机汞，尤其是甲基汞毒性最大，同时甲基汞和乙基汞均是脂溶性的，容易被生物体所吸收，所造成的生物体危害尤为突出。鉴于不同形态汞化合物毒性的差异以及对汞形态毒理性能研究的深入，不仅要测试总汞含量，还要区分不同形态汞的含量。

本文参考 2020 版《中国药典》，使用岛津电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 与高效液相色谱仪 LC-20Ai，建立了植物药山楂中总汞和三种形态汞含量的测定方法。

■ 实验部分

1.1 对照品

无机汞采用常规元素标液，甲基汞和乙基汞均购于国家标准物质中心。

1.2 实验样品

山楂粉

1.3 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用系统。具体配置为 LC-20Ai \times 2 输液泵，DGU-20A_{3R} 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪，LabSolutions ICPMS TRM 工作站；AP135W 电子天平（岛津），OFW-600S 烘箱。

1.4 试剂

硝酸、氨水和 L-半胱氨酸均为优级纯；甲醇为质谱纯；乙酸铵为色谱纯。

胃蛋白酶（来源于猪胃黏膜）。

■ 方法和结果

2.1 标准溶液配制

总汞标准溶液的制备：精密吸取对照品贮备液适量，加 10% HNO₃ 分别制成每 1 mL 含 Hg 0 ng、0.2 ng、0.5 ng、1 ng、2 ng、5 ng 的溶液。

形态汞标准溶液的制备：分别取无机汞标液、甲基汞和乙基汞对照品适量，精密称定，加 8% 甲醇制成每 1 mL 各含 100 ng（均以汞计）的混合标准储备液。精密吸取混合标准贮备液适量，加 8% 甲醇分别制成每 1 mL 各含 0.5 ng、1 ng、2 ng、5 ng、10 ng、20 ng（均以汞计）系列浓度的溶液。

2.2 样品前处理

稀硝酸：取硝酸 105 mL 加水稀释至 1000 mL，即得。

硝酸人工胃液的配制：取 32.8 mL 稀硝酸，加水约 800 mL 与胃蛋白酶 10 g，摇匀后加水稀释至 1000 mL，即得。

总汞测定样品制备：准确称取山楂粉末 0.5g 置于微波消解罐中，加入 5 mL 硝酸，3 mL 水后进行消解，冷却转移至 50mL 容量瓶中，加入 200 μL 1 mg/L 金单标溶液，定容。同法制备空白溶液和加标回收溶液。

形态汞测定样品制备：准确称取山楂粉末 0.2g 于塑料容量瓶中，加入 0.1 mol/L 硝酸银溶液 500 μL，加入硝酸人工胃液定容至 50 mL，至 37 °C 水浴中加热 24 h，取出，摇匀，室温放置 2 h 后，取上清液用 0.45 μm 水系滤膜过滤后测定。同法制备空白溶液和加标回收溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST (C18) 5 μm，4.6 mm×150 mm

流动相：甲醇 -0.01 mol/L 乙酸铵溶液

(含 0.12% L- 半胱氨酸，pH=7.5) (8:92)

流速：1.0 mL/min

柱温：40°C

进样量：50 μL

洗针液：水

洗脱程序：等度洗脱

2.4 质谱参数

高频功率：1.2 kW

辅助气流速：1.1 L/min

炬管类型：Mini

雾化室：旋流

雾化室温度：5 °C

碰撞气体：He

碰撞气流速：6 mL/min

采样深度：5.0 mm

等离子体气流速：8.0 L/min

载气流速：0.7 L/min

雾化器类型：同心

高频频率：27.12 MHz

池电压：-21 V

能量过滤器电压：7 V

■ 结果与讨论

3.1 总汞的测定

3.1.1 标准曲线

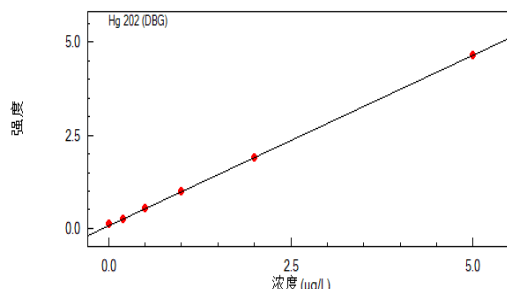


图 1 总汞标准曲线 $r=0.99996$

3.1.2 方法检出限

按照实验方法对标准曲线空白进行 11 次测定，以 3 倍信号强度的标准偏差除以标准曲线斜率得到仪器检出限，按称样量 0.5 g，定容体积为 50 mL 计算方法检出限，结果列于表 1。

表 1 总汞检出限考察结果

名称	仪器检出限 (ng/mL)	方法检出限 ($\mu\text{g/g}$)	方法定量限 ($\mu\text{g/g}$)
总汞	0.02	0.002	0.006

3.1.3 测试结果及回收率

将山楂样品按“2.2 样品前处理”进行处理后进行分析，并对样品进行加标回收试验，测定结果见表 2。

表 2 总汞测试结果及加标回收率

名称	稀释倍数	测定值 (ng/mL)	样品结果 ($\mu\text{g/g}$)	加标量 (ng/mL)	测定值 (ng/mL)	RSD/% (n=3)	回收率 (%)
总汞	25	3.64	9.64	1.00	4.64	1.40	100.0

3.2 形态汞的测定

3.2.1 专属性考察

对空白和形态汞标准溶液进样考察，排除系统干扰，并且考察无机汞 (iHg)、甲基汞 (MeHg) 和乙基汞 (EtHg) 的分离度，以确保实际样品分析过程中不会造成假阳性检出，见图 2。

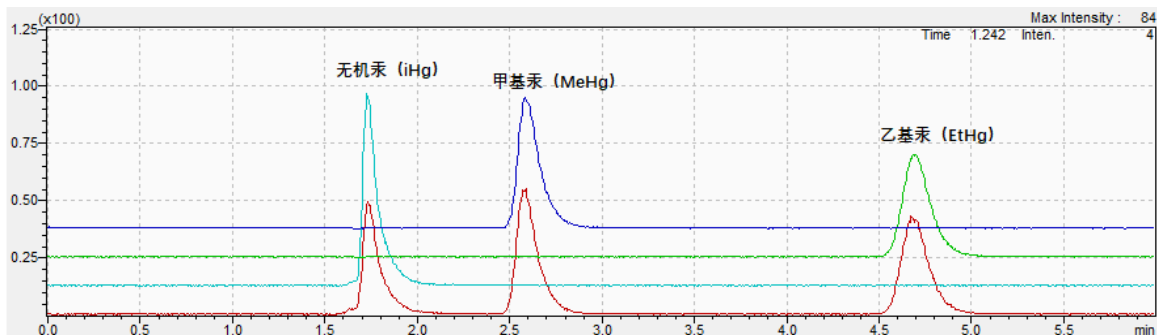


图 2 汞元素形态及价态测定图谱

3.2.2 线性关系考察

按“2.1 标准溶液配制”项下规定进行标准曲线系列浓度的配制，记录各成分的峰面积，以浓度（浓度均以汞计）与峰面积做线性回归绘制标准曲线，结果如下所示。

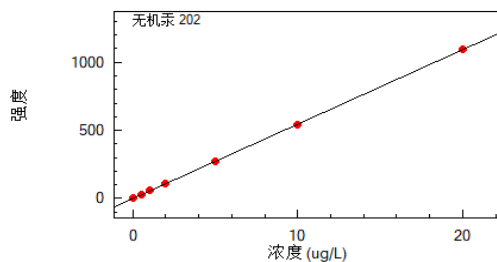


图 3 无机汞 (iHg) 标准曲线 $r=0.99997$

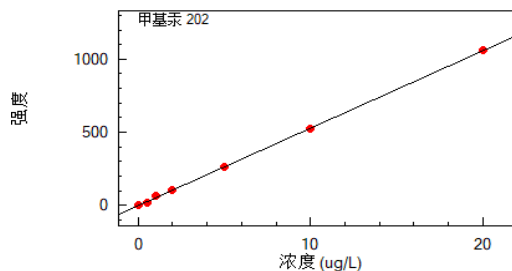


图 4 甲基汞 (MeHg) 标准曲线 $r=0.99985$

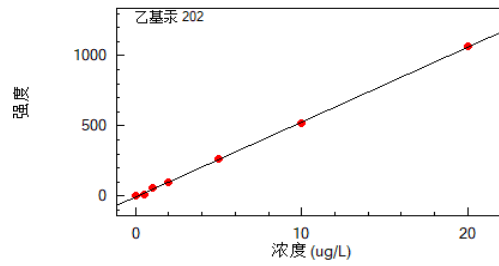


图5 乙基汞 (EtHg) 标准曲线 $r=0.99981$

3.2.3 检出限考察

在进样体积为 50 μL 时, 对浓度为 1.0 ng/mL 标准溶液考察无机汞 (iHg)、甲基汞 (MeHg) 和乙基汞 (EtHg) 的信噪比, 以三倍信噪比 (3S/N) 峰高对应浓度作为检出限, 无机汞 (iHg)、甲基汞 (MeHg) 和乙基汞 (EtHg) 1.0 ng/mL 色谱图、基线及检出限结果分别见图 6、图 7 和表 3。

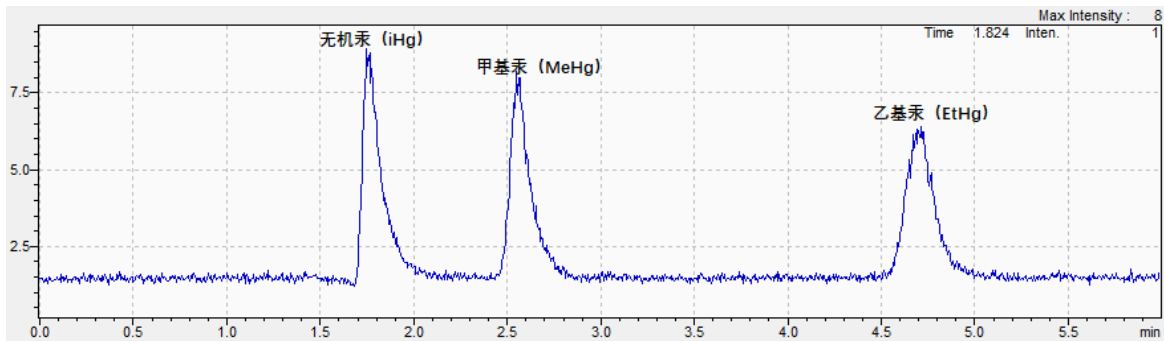


图6 1.0 ng/mL 形态汞标准溶液的色谱图

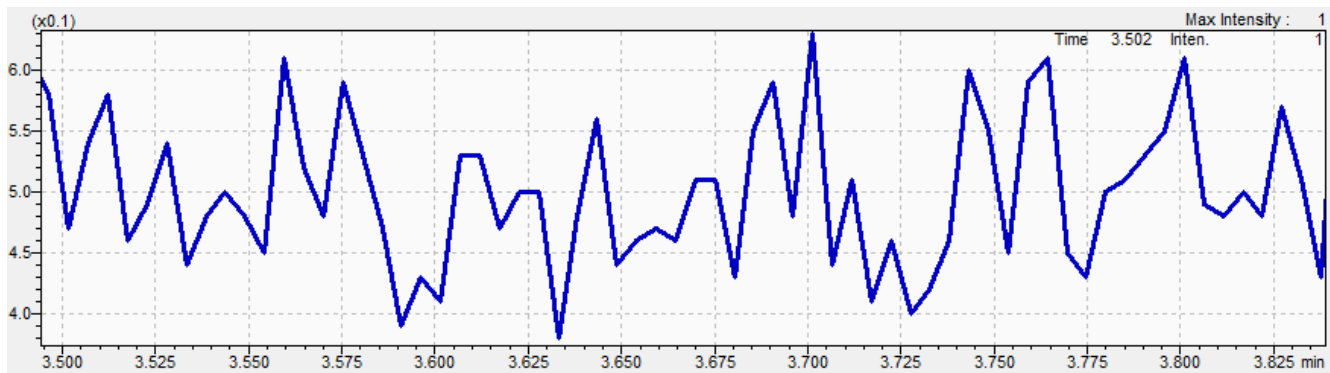


图7 色谱分离基线

表3 形态汞检出限考察结果

名称	仪器检出限 (ng/mL)	方法检出限 ($\mu\text{g/g}$)
无机汞 (iHg)	0.10	0.02
甲基汞 (MeHg)	0.11	0.03
乙基汞 (EtHg)	0.15	0.04

3.2.4 样品测试结果及回收率考察

将山楂样品按“2.2 样品前处理”进行处理后进行分析，并对样品进行加标回收试验，测定结果见表 4。

表 4 形态汞测试结果及加标回收率

名称	测定值 (ng/mL)	样品结果 ($\mu\text{g/g}$)	加标量 (ng/mL)	测定值 (ng/mL)	RSD/% (n=3)	回收率 (%)
无机汞 (iHg)	11.58	2.90	5.00	16.67	2.50	101.8
甲基汞 (MeHg)	N.D.	N.D.	5.00	5.36	1.06	107.2
乙基汞 (EtHg)	N.D.	N.D.	5.00	5.19	2.03	103.8

注：N.D. 表示未检出。

■ 结论

利用岛津电感耦合等离子体质谱仪 (ICPMS-2030) 和岛津惰性液相系统 LC-20Ai，分别建立了植物药山楂中总汞和形态汞含量的测试方法。该方法分析结果线性相关系数良好，灵敏度高，该方法可适用于植物药中总汞和形态汞的测定。

岛津应用云

