

HPLC-ICP-MS 法测定蟑螂中形态汞含量

ICPMS-128

摘要：本文参考 2020 版中国药典四部《2322 汞、砷元素形态及价态测定法》征求意见稿，建立了高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱法 (HPLC-ICP-MS) 测定动物药蟑螂中形态汞含量的方法。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：该方法线性范围在 0.5~20 ng/mL 范围内回归系数大于 0.9998，加标回收率在 92.7 % - 99.8 % 之间，该方法可适用于蟑螂等动物药中不同形态汞含量的测定。

关键词：HPLC-ICP-MS 形态汞 动物药 蟑螂

蟑螂属于节肢动物门、昆虫纲、蜚蠊目，具有散瘀，化积，解毒之功效，主要用于治疗症瘕积聚、小儿疳积、喉痹、乳蛾、痈疮肿毒、虫蛇咬伤等病症。

汞是自然界中常见的有毒致癌性元素之一，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。常见的汞化合物有无机汞 (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。

由于汞的毒性、致癌性、迁移性质和生物效应均取决于它的化学形态，并且不同形态的汞随着所处环境的不同处于动态互变之中，所以测定总汞含量无法准确表示汞的暴露水平，因此，对汞的各种存在形态分别进行分析测定十分必要。

本文参考 2020 版中国药典四部《2322 汞、砷元素形态及价态测定法》征求意见稿，采用岛津高效液相色谱 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用对动物药蟑螂进行汞形态分析。

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 实验检材

市售中药材蟑螂

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×2 输液泵，DGU-20A₃ 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），恒温加热磁力搅拌器，三号筛（对应粒径 50 目）。

1.4 试剂

胃蛋白酶（来源于猪胃粘膜）；硝酸、L-半胱氨酸和硝酸银均为优级纯；甲醇为质谱纯；乙酸铵为色谱纯。

方法和结果

2.1 标准溶液配制

分别取无机汞标液、甲基汞、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）的混合溶液。

精密吸取对照品贮备液适量，加8%甲醇分别制成每1 mL各含0.5 ng、1 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

精密称取供试品粉末 (过三号筛) 0.4 g，加0.1 mol/L 硝酸银溶液 500 μ L，精密加入硝酸人工胃液 9.5 mL，置于约40 $^{\circ}$ C 水浴中加热约22小时，取出，摇匀，室温放置2小时，取上清液，用一次性滤膜 (0.45 μ m) 过滤，取滤液，即得。同法制备空白溶液和样品加标溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST (C18) 5 μ m，4.6 mm \times 250 mm
柱温：40 $^{\circ}$ C
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)
进样量：50 μ L
流速：0.8 mL/min
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
采样深度：5.0 mm
碰撞气体：He
碰撞气流速：6 mL/min
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
雾室温度：5 $^{\circ}$ C
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 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1。

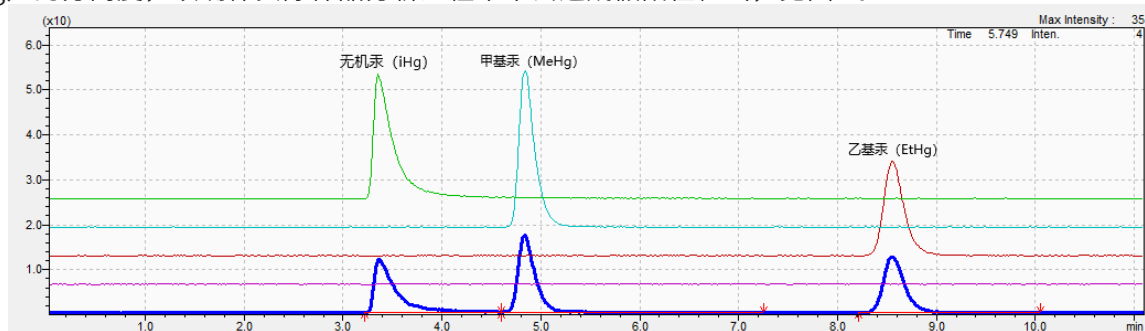


图 1. 汞元素形态及价态测定图谱

3.2 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。

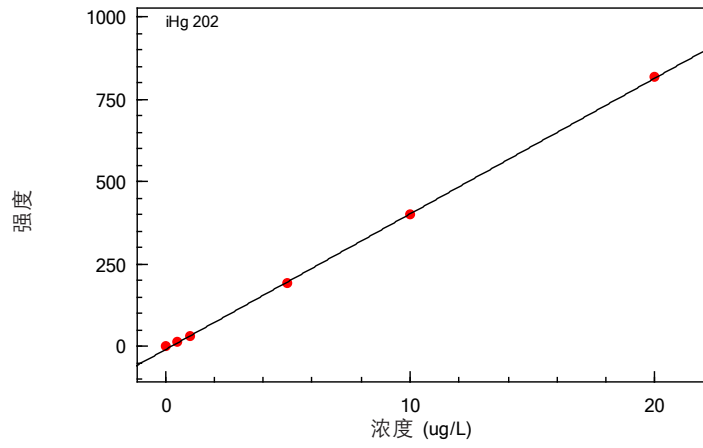


图 2. 无机汞 (iHg) 标准曲线 $r=0.99987$

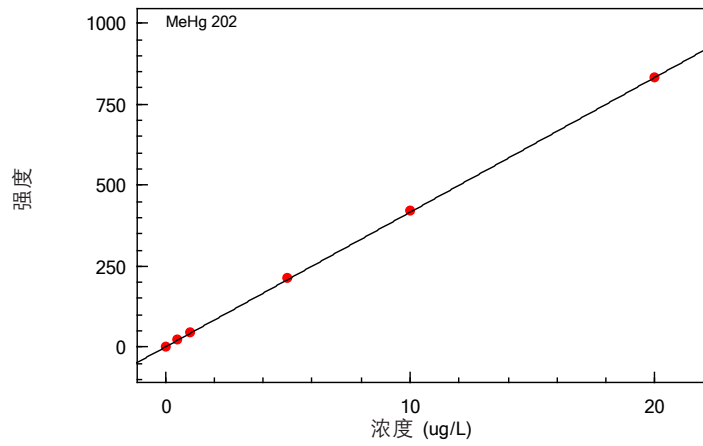


图 3. 甲基汞 (MeHg) 标准曲线 $r=0.99991$

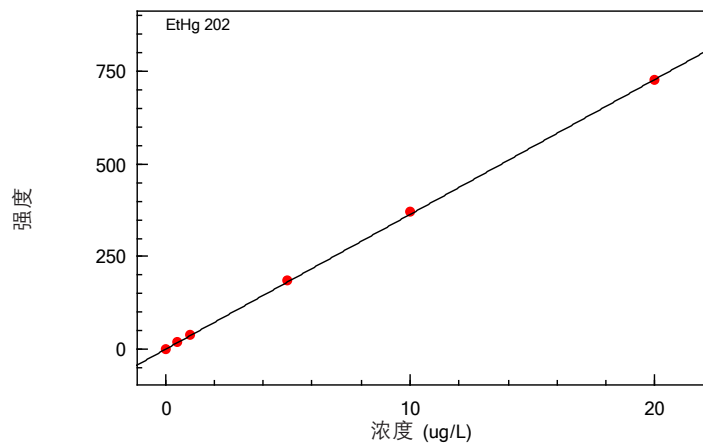


图 4. 乙基汞 (EtHg) 标准曲线 $r=0.99996$

3.3 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 5、图 6 和表 1。

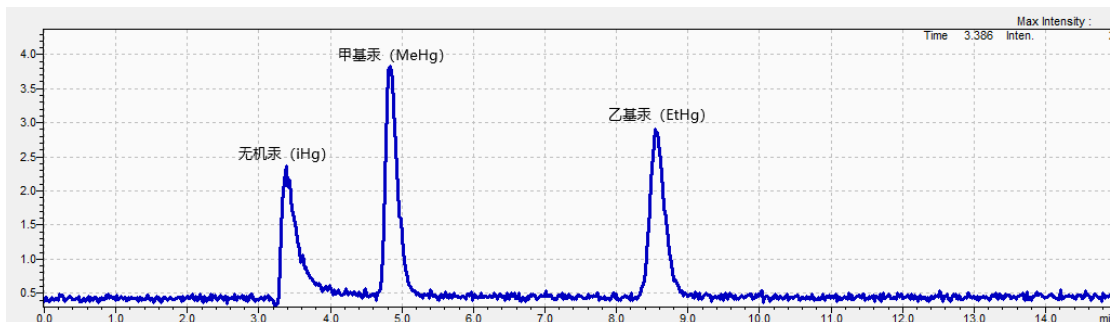


图 5. 1.0 ng/mL 形态汞标准溶液的色谱图

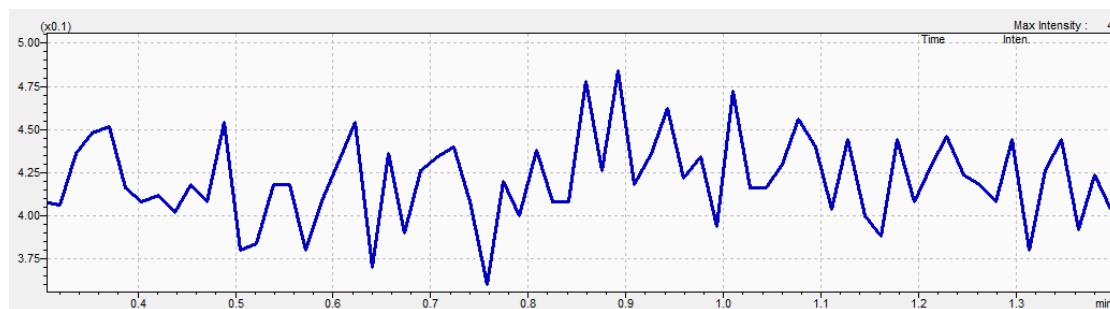


图 6. 色谱分离基线

表 1. 检出限考察结果

名称	仪器检出限 (ng/mL)	方法检出限 (ng/g)
无机汞 (iHg)	0.17	4.25
甲基汞 (MeHg)	0.11	2.75
乙基汞 (EtHg)	0.15	3.75

3.4 样品测试结果及回收率考察

将市售蟑螂样品按“2.2 样品前处理”进行处理后进 HPLC-ICP-MS 分析，并对蟑螂样品进行加标回收试验，测定结果见表 2。

表 2. 蟑螂样品测试结果及回收率

名称	样品测定		加标回收			
	测定值 (ng/mL)	样品结果 (ng/g)	加标量 (ng/mL)	测定值 (ng/mL)	RSD/% (n=3)	回收率 (%)
无机汞 (iHg)	1.78	44.5	3.0	4.77	1.16	99.8
甲基汞 (MeHg)	N.D	N.D	3.0	2.94	1.87	98.1
乙基汞 (EtHg)	N.D	N.D	3.0	2.78	0.72	92.7

■ 结论

参考 2020 版中国药典四部《2322 汞、砷元素形态及价态测定法》征求意见稿，使用岛津高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱联用仪（HPLC-ICP-MS）测定了蟑螂药材中 3 种形态汞的含量。该方法分析结果线性相关系数良好， $r > 0.9998$ ，灵敏度高，仪器检出限为 0.11-0.17 ng/mL，方法检出限为 2.75-4.25 ng/g，加标回收率为 92.7%-99.8%，可满足 2020 版中国药典的分析要求，适用于蟑螂等动物药中不同形态汞含量的分析。

岛津应用云



 岛津企业管理(中国)有限公司分析中心
Shimadzu(China)CO.,LTD. Analytical Applications Center

上海市徐汇区宜州路180号B2栋
Building B2, No.180 Yizhou Road, Shanghai

咨询电话：021-34193996
Hotline：021-34193996

<http://www.shimadzu.com.cn>