

# HPLC-ICP-MS 测定动物药地龙中的形态汞

## ICPMS-122

**摘要：**参考 2020 版《中国药典》征求意见稿通则《2322 汞、砷元素形态及价态测定法》，建立了高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱法 (HPLC-ICP-MS) 测定动物药地龙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，利用电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 进行定量分析。在 0.5~20 ng/mL 范围内，线性回归系数为 0.99988~0.99998，仪器检出限为 0.11~0.15  $\mu\text{g/L}$ ，样品加标回收率为 81.7~91.5%，分析结果精密度良好，RSD 值小于 5% (n=3)，该方法适用于动物药地龙中形态汞的分析。

**关键词：**HPLC-ICP-MS 2020 版《中国药典》通则 2322 地龙 形态汞

地龙是我国重要的中药材之一，别名为蚯蚓，具有清热定惊、通络、平喘、利尿等功效。地龙对土壤中的重金属元素具有吸附和富集能力。

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，更大程度上还与其存在形态有关。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，并且各汞形态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出汞的暴露水平。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》征求意见稿通则《2322 汞、砷元素形态及价态测定法》，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 联用对动物药地龙进行汞形态分析。

## ■ 实验部分

### 1.1 对照品

无机汞采用常规元素标液，甲基汞和乙基汞购于国家标准物质中心。

### 1.2 实验检材及试剂

市售地龙药材；胃蛋白酶购于 Sigma-Aldrich；硝酸银、乙酸铵及 L-半胱氨酸，购于国药集团，均为优级纯；硝酸购于国药集团，为电子纯；甲醇购于 Sigma-Aldrich，为色谱纯。

### 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-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，岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪，LabSolutions ICPMS Version TRM1.12 工作站。

### 1.4 仪器条件

LC-20Ai 色谱分析条件和 ICPMS-2030 质谱分析条件见表 1 和表 2。

表 1 液相色谱 LC-20Ai 条件

参 数	设定值
色谱柱	shim-pack GIST (C18) 5 $\mu\text{m}$ , 4.6 mm $\times$ 150mm
流动相	A 相: 0.01 mol/L 乙酸铵 (含 0.12% L- 半胱氨酸, 氨水调 pH 值至 7.5) ; B 相: 甲醇
流速	0.8 mL/min
柱温	40 $^{\circ}\text{C}$
进样量	50 $\mu\text{L}$
洗针液	水
洗脱程序	等度洗脱 (A:B=92:8)

表 2 ICP-MS 条件

参数	设定值	参数	设定值
高频功率	1.20 kW	等离子体气流速	9.0 L/min
辅助气流速	1.10 L/min	载气流速	0.70 L/min
炬管类型	Mini 炬管	雾化器	同轴
雾化室	旋流	雾化室温度	0 $^{\circ}\text{C}$
采样深度	5.0 mm	高频频率	27.12 MHz
碰撞气体	He	碰撞气流速	5 mL/min
池电压	-21 V	能量过滤器电压	7.0 V

## ■ 标准溶液及供试品溶液制备

### 2.1 对照品贮备溶液的制备

分别取氯化汞、甲基汞、乙基汞对照品适量, 精密称定, 加 8% 甲醇制成每 1ml 各含 100 ng (均以汞计) 的混合溶液。

### 2.2 标准曲线溶液的制备

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。

### 2.3 供试品溶液的制备

精密称取供试品粉末 (过三号筛) 0.3 g, 加 0.1mol/L 硝酸银溶液 300  $\mu\text{L}$ , 精密加入硝酸人工胃液适量 10 mL, 置于约 40 $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热约 22 小时, 取出, 摇匀, 室温放置 2 小时, 取上清液, 用一次性双层滤膜 (10 $\mu\text{m}$ +3 $\mu\text{m}$ ) 滤过, 取续滤液, 即得。同法制备空白溶液和样品加标溶液。

## ■ 3.1 色谱分离图

对空白进行考察排除系统干扰, 并且考察混合标准溶液中无机汞、甲基汞和乙基汞的分离度, 以确保实际样品分析过程中不存在假阳性检出, 图 1 所示为标准溶液 (5  $\mu\text{g/L}$ ) 色谱分离图 (单位 kcps)。

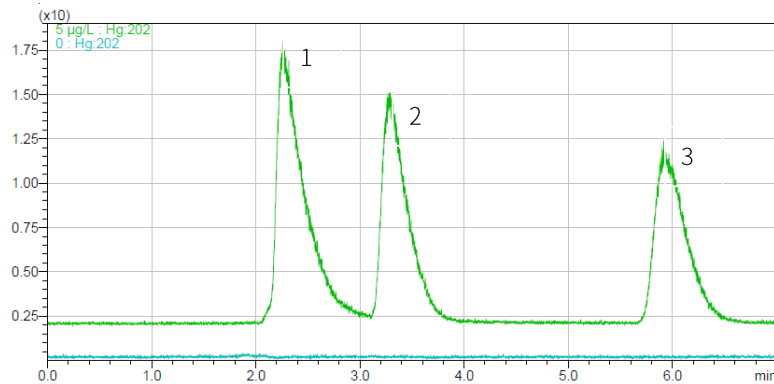


图 1 三种形态汞色谱图

1. 无机汞 (iHg)、2. 甲基汞 (MeHg)、3. 乙基汞 (EtHg)

### 3.2 标准曲线

根据色谱及质谱分析条件, 依次测定各标准点, 以汞浓度对峰面积做线性回归曲线, 标准曲线如图 2 至图 4 所示, 在 0.5~20 µg/L 范围内, 线性相关系数  $r$  为 0.99988~0.99998。

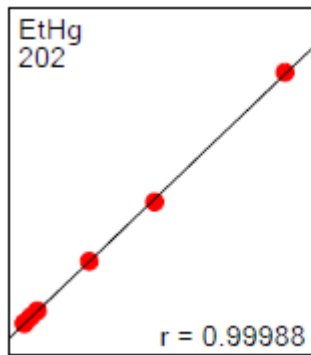


图 2 EtHg 标准曲线

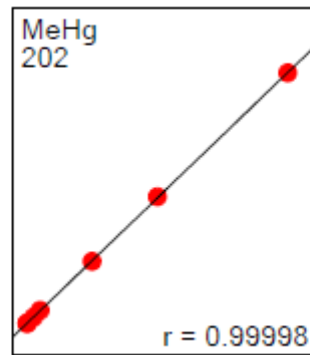


图 3 MeHg 标准曲线

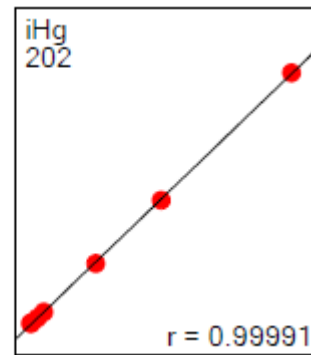


图 4 iHg 标准曲线

### 3.3 检出限

对浓度为 1 µg/L 的混和溶液考察无机汞、甲基汞、乙基汞的信噪比, 以三倍信噪比 (3S/N) 峰高对应浓度作为检出限, 三种形态汞检出限结果见表 3, 仪器检出限为 0.11~0.15 µg/L, 方法检出限为 3.65~4.98 µg/kg。

表 3 三种形态汞检出限

名称	仪器检出限 (µg/L)	方法检出限 (µg/kg)
无机汞 (iHg)	0.11	3.65
甲基汞 (MeHg)	0.12	4.10
乙基汞 (EtHg)	0.15	4.98

### 3.4 准确度考察

取市售地龙药材, 按照前处理方法处理后进 HPLC-ICP-MS 分析, 并对地龙样品进行 1 µg/L 加标回收试验, 样品及加标样品谱图见图 5, 测定结果及加标回收率见表 4。如结果所示, 地龙药品中汞主要以无机汞形式存在, 甲基汞和乙基汞未检出, 3 种形态汞的加标回收率为 81.7~91.5%。

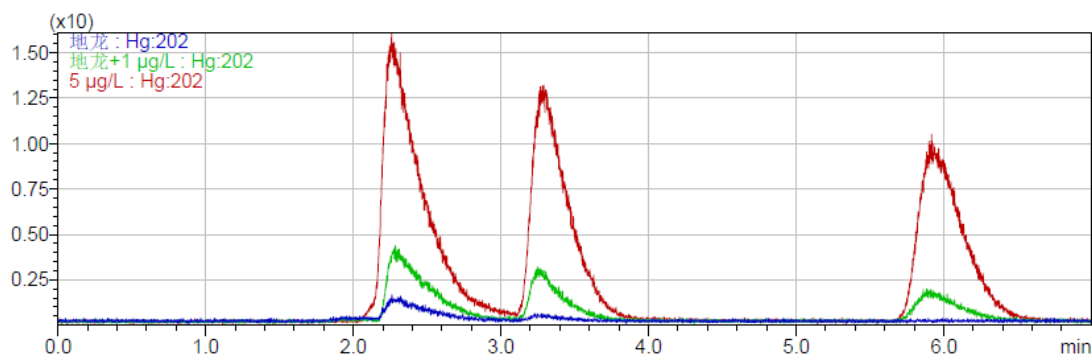


图 5 地龙中 3 种形态汞及加标谱图

表 4 地龙样品测定结果及加标回收率

名称	样品测定			加标回收		
	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	样品结果 ( $\mu\text{g/kg}$ )	加标量 ( $\mu\text{g/L}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	RSD/% (n=3)	回收率 (%)
无机汞 (iHg)	0.40	13.2	1.0	1.26	4.08	86.0
甲基汞 (MeHg)	N.D	N.D	1.0	0.91	4.67	91.5
乙基汞 (EtHg)	N.D	N.D	1.0	0.82	0.25	81.7

ND: 未检出

## 结论

参考 2020 版《中国药典》征求意见稿通则《2322 汞、砷元素形态及价态测定法》，使用岛津高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法 (HPLC-ICP-MS) 测定了地龙药材种 3 种形态汞的含量，地龙药材中汞主要以少量的无机汞形式存在，甲基汞和乙基汞未检出；方法准确度高，3 种形态汞的加标回收率为 81.7~91.5%；仪器精密度良好，分析结果 RSD 值小于 5% (n=3)。该方法具有分离度好，灵敏度高等优点，适用于地龙动物药中形态汞的测定。