AN_C_ICPMS_3_201703Y

iCAP RQ ICPMS 测定安宫牛黄丸中的形态汞及可溶性汞

王艳萍，荆淼
赛默飞世尔科技（中国）应用与产品市场部，痕量元素分析

引言

安宫牛黄丸是我国传统药物中最负盛名的急症用药，它源于清代瘟病学家吴鞠通的《瘟病条辩》。是中医治疗高热症的“瘟病三宝”之一。全方由牛黄、郁金、犀角、麝香、珍珠、栀子、黄连、黄芩、朱砂、雄黄、冰片 11 味药组成。安宫牛黄丸具有清热解毒、镇惊开窍的功效。主治瘟病高热、神昏， 中风、口眼歪斜、筋脉牵引、痰痫壅盛，该方疗效独特、确切。

表 1. iCAP Q 运行参数

安宫牛黄丸技术规格要求			
项目	规格（1）1.5g	规格（1）3.0g	浓度 mg/g
可溶性砷 mg	>0.8	>1.6	>0.533
可溶性汞 mg	>1.2	>2.4	>0.8
价态砷 mg	<6.5	<13.0	<4.33
价态汞 mg	<0.05	<0.1	<0.033

安宫牛黄丸中朱砂和雄黄中总汞、总砷在人体内的吸收一直是非常受到广泛关注的问题。此实验明了在人体内朱砂中的硫化汞只有少量可溶性的汞被体内所吸收， 而绝大部分硫化汞从消化道排除体外。而这部分可溶性的汞很可能就是安宫牛黄丸朱砂和雄黄中的药理、毒理学的活性部分。作为构成朱砂的主要成分硫化汞很可能是既不被体内吸收， 又无任何药理活性的成分。这就给降低安宫牛黄丸中重金属的含量提供了可能。

仪器

iCAP RQ ICPMS （Thermo Scientific）
IC 600（Thermo Scientific）
超纯水机（Thermo Scientific）
电子天平（Metler-toledo）
超声波水浴（Thermo Scientific）



试剂及标准品

甲基汞溶液标准物质，GBW08675，浓度 86.2 ug/g，1.5 mL/ 瓶。
乙基汞溶液标准物质，GBW(E)081524，浓度 77.3 ug/g，1.5 mL/ 瓶。
Re 1000 μg/mL（Inorganic Venture）
Hg 1000 μg/mL（Inorganic Venture）
EDTA-2Na（国药试剂）
乙醇（国药试剂）
磷酸二氢钾（国药试剂）
氢氧化钠（国药试剂）
胰酶（国药试剂）

ThermoFisher SCIENTIFIC

仪器参数

表 1. iCAP RQ 运行参数

仪器参数	设置值	仪器参数	设置值
RF 功率（W）	1550	Q Cell 气体（mL/min）	4.0（He）
冷却气（L/min）	14	KED 电压（v）	3
辅助气（L/min）	0.8	驻留时间（ms）	100
雾化气（L/min）	1.02	分析质量数	202Hg

样品提取

人工肠液：取磷酸二氢钾 6.8 g 加水 500 mL。用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.8；另取胰酶 10 g 加水适量使溶解，将两液混合后，加水定容至 1000 mL 即可。

将安宫牛黄丸剪碎并混匀，取约 0.3 g，精密称定，放置于 250 mL 塑料容量瓶中，加入人工肠液至刻度，摇匀，密塞，称定重量，置 37 ℃ 水浴超声处理（功率 300 W，频率 45 kHz）2 小时，（每隔 30 分钟充分摇匀一次），取出，放冷，再称定重量，用人工肠液补足减失的重量，摇匀即取适量至 50 mL 塑料离心管中，静置 20-24 小时，用洗耳球轻轻吹开上层表面溶液，吸取中层溶液约 15 mL（吸取时应避免带入颗粒），用微孔滤膜（10 μm）滤过，精密量取续滤液 5 mL，置 10 mL 塑料容量瓶中，加入稀释到刻度，摇匀，即得。精密量取 1 mL（其余溶液供价态汞使用），置顶置顶空进样瓶中，加入硝酸 2 mL，盐酸 0.5 mL，加盖密封，在 80 到 90 度水浴水解 1 hr，置于 50 mL 塑料容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即得。同法制备试剂空白溶液。

可溶性汞的测定

标准溶液制备

将 Hg 无机单标标准溶液用 5% 的盐酸和 0.1% L-半胱氨酸配制成 1.0、2.0、5.0、10.0 μg/L 标准曲线。

选用 Re185 作为内标，用 1% HNO_3 将 Re 标准溶液配制成浓度为 10 μg/L。

可溶性标准曲线汞结果

将配制好的无机汞标准溶液进行上机测试，标准曲线拟合如下图 1，线性拟合系数 1.000。在标准曲线稀释液中采用盐酸和 L-半胱氨酸对 Hg 具有良好的稳定效果，可以代替传统的金元素作为稳定剂，可以减少金带来的污染。

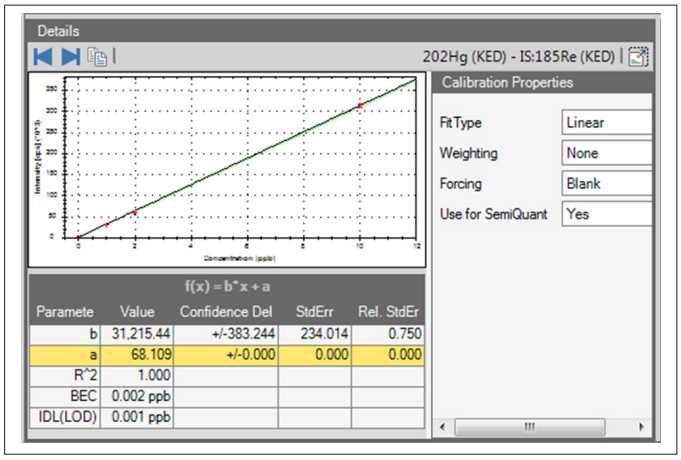


图 1. 无机汞标准曲线

将处理好的安宫牛黄丸浸提液，加酸恒温处理后，样品上机测定，结果如下表 2：从结果可以

表 2. 安宫牛黄丸中可溶性汞的含量

mg/kg	可溶性 Hg
20160611-1	1546
20160611-2	1578
20160705-1	1201
20160705-2	1218

形态汞的测定

流动相的配

60 mM 乙酸铵，5% 甲醇，0.1% 2-巯基乙醇，经过 0.45 μm 水系滤膜过滤后，超声水浴中超声 30 min 后备用。色谱条件如下表 3：

表 3. ICS 600 离子色谱运行参数

柱子	Acclaim 120 C18， 5 um， 2.1*50 mm
洗脱	等度
采样模式	tQuant
流速	0.4 mL/min
进样体积	20 μL
持续时间	500 s

标准溶液制备

以流动相逐级稀释汞形态标液，配制成 0、0.1、0.2、0.4、1、2 μg/L 三种汞形态混合标准溶液。

色谱图及标准曲线拟合

将配制好的标准曲线，按照设置好程序，进行分析测试如下图 1，2：

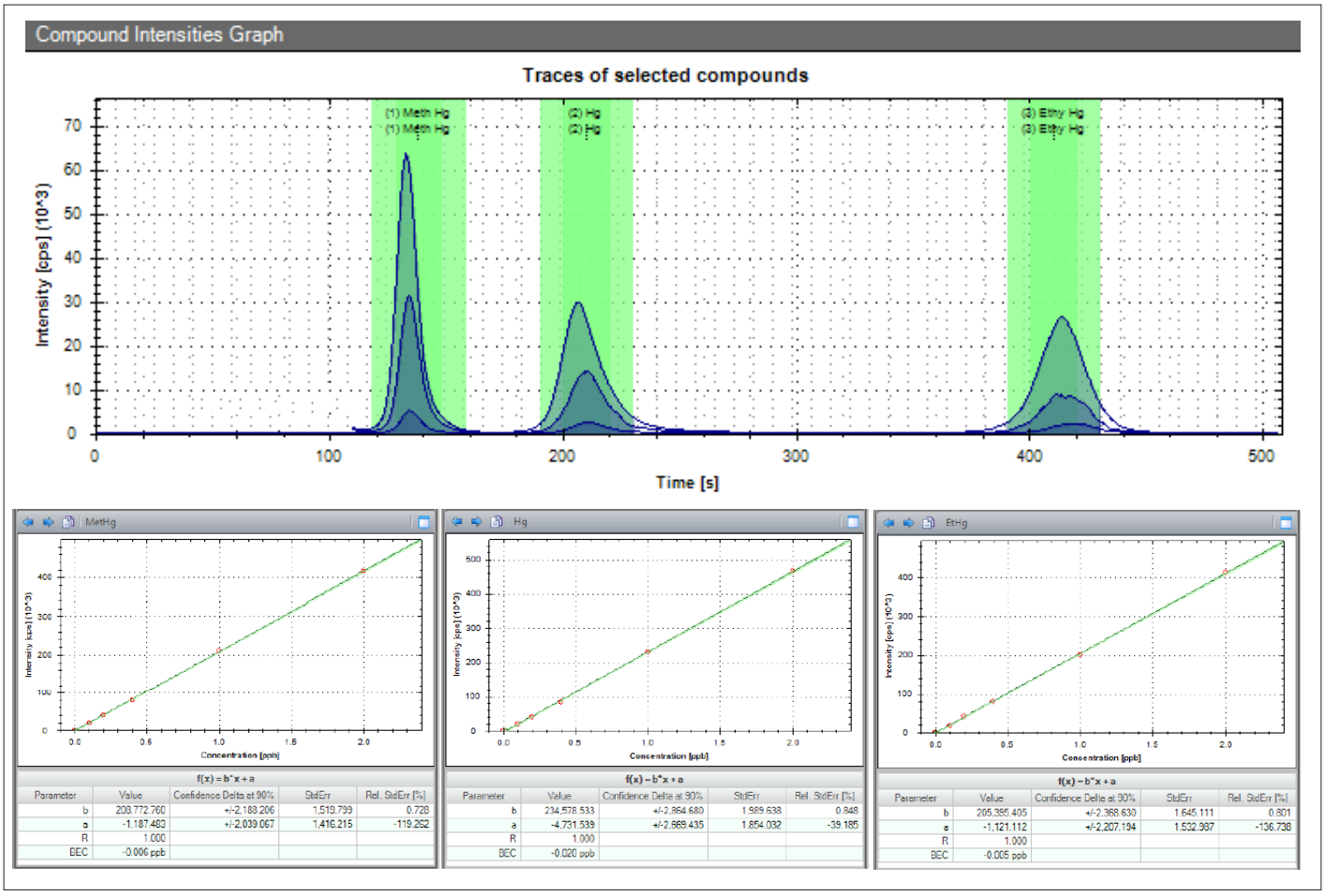


图 2. 形态汞标准曲线

结果与讨论

将提取好的样品，在 IC-ICPMS 上进行测试，色谱分离如下图 3。

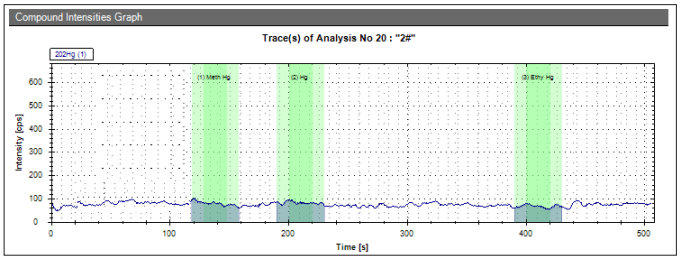


图 3. 20160611-1 样品色谱图

样品测定后，发现色谱流出图 3 中完全没有任何 Hg 形态，甲基汞、乙基汞和无机汞都没有。怀疑样品基质在柱子中产生干扰，完全没有形态。在样品中加入 1 μg/L 的三种形态汞，上机测定如图

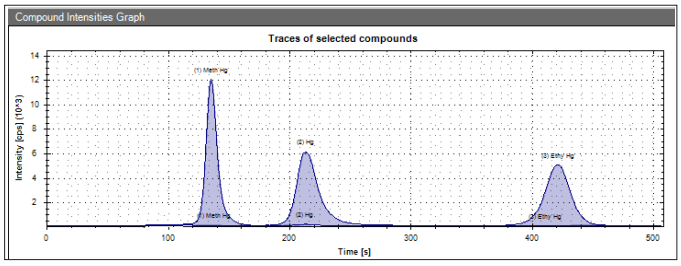


图 4. 20160611-1+1 μg/L 样品色谱图

从上图可以看出，否定了样品基体效应对汞的形态的干扰不出峰，相反良好的回收率（95-101% 之间），加标出峰位置完全和标准 1 μg/L 标准物质重合，更加全面的证明，样品中完全没有可溶性汞的形态。

表 4. 安宫牛黄丸样品汞形态结果

mg/kg	甲基汞	Hg^{2+}	乙基汞
20160611-1	ND	ND	ND
20160611-2	ND	ND	ND
20160611-1+20160611-1 μg/L 回收率 %	96	95	101
20160705-1	ND	ND	ND
20160705-2	ND	ND	ND
MDL	0.1	0.1	0.1

从表 4 样品测试结果表明，安宫牛黄丸中可溶性汞完全未检出。安宫牛黄丸配方中含有 10% 朱砂，即含有 10% 的硫化汞，但在硫化汞在肠液中完全不溶解，导致未检测出任何可溶性汞形态，进一步验证了样品测试结果。

结论

本文所建立了采用人工肠液对安宫牛黄丸浸提的方法，对浸提液进行酸处理和直接过滤膜，分别测定可溶性汞和形态汞的测定方法。完全满足了市场上对安宫牛黄丸的对汞和砷的分析需求。

参考文献

1. GB5009.17-2014《食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定》
2. 通则 412- 电感耦合等离子体质谱法 《中国药典》2015 版第四部
3. 安宫牛黄丸公示标准 160630