

2322 汞和、砷元素形态及其价态测定法

本法系采用高效液相色谱-电感耦合等离子质谱法测定供试品中汞或、砷元素形态及其价态。

由于元素形态及其价态分析的前处理方法与样品密切相关，供试品溶液的制备方法如有特殊要求应在品种项下**进另**行规定。

一、汞元素形态及其价态测定法

照高效液相色谱法-电感耦合等离子体质谱测定法（通则 0412）测定。

色谱、质谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（150mm×4.6mm，5 μ m）；以甲醇-0.01mol/L 乙酸铵溶液（含 0.12% L-半胱氨酸，氨水调节 pH 值至 7.5）（8:92）为流动相；流速为 1.0ml/min。以具同轴雾化器和碰撞反应池的电感耦合等离子体质谱（具碰撞反应池）进行检测；测定时选取同位素为 ^{202}Hg ，根据干扰情况选择正常模式或碰撞池反应模式。3 种不同形态汞及不同价态汞的分离度应大于 1.5（图 1）。

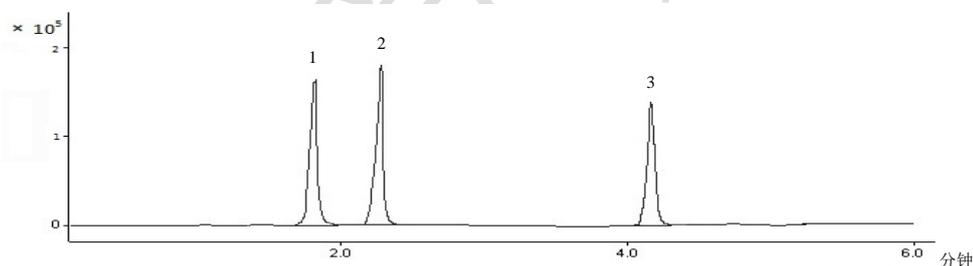


图 1 汞元素形态及价态示意图测定图谱

1.氯化汞（二价汞）；2.甲基汞；3.乙基汞

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，再精密吸取汞元素标准溶液（1mg/ml，介质类型为硝酸）适量，加 8% 甲醇制成每 1ml 各含 100ng（均以汞计）的溶液，即得。

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 1ml 各含 0.5ng、1ng、5ng、10ng、20ng（均以汞计）系列浓度的溶液，即得。

供试品溶液的制备 （1）**矿物药及其制剂**：除另有规定外，取供试品适量，取相当于含汞量 20~30mg 的供试品粉末（过四号筛），精密称定，精密加入人工胃液或人工肠液适量，置 37℃ 水浴中超声处理适当时间，摇匀，取适量，静

置约 2420~36 小时，吸取中层溶液适量，用微孔滤膜（10 μ m）滤过，精密量取续滤液适量，用 0.125mol/L 盐酸溶液稀释至一定体积，摇匀，即得。同法制备空白溶液。

（2）动、植物类中药（除甲类、毛发类）：除另有规定外，取供试品粉末（过三号筛）0.2~0.5g，精密称定，加 0.1mol/L 硝酸银溶液 200~600 μ l，精密加入硝酸人工胃液适量，置 37~45 $^{\circ}$ C 水浴中加热约 20~24 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 μ m+3 μ m）滤过，取续滤液，即得。同法制备空白溶液。

测定法 分别吸取系列标准曲线溶液和供试品溶液各 20~100 μ l，注入液相色谱仪，测定。以系列标准曲线溶液中不同形态汞或不同价态汞的峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算供试品溶液中不同形态或不同价态汞的含量，即得。

二、砷元素形态及其价态测定法

照高效液相色谱法-电感耦合等离子体质谱测定法（通则 0412）测定。

色谱、质谱条件与系统适用性试验 以聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物载体键合三甲基铵阴离子交换材料或相当的材料为填充剂（250 \times 4.1mm；10 μ m）；以 0.025mol/L 磷酸二氢铵溶液（氨水调节 pH 值至 8.0）为流动相 A，以水为流动相 B，按下表进行梯度洗脱；流速为 1.0ml/min。以具同轴雾化器和碰撞反应池的电感耦合等离子体质谱进行检测；测定时选取同位素为 75 As，选择碰撞池反应模式或根据不同仪器的要求选用适宜校正方程进行校正。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~15	0 \rightarrow 100	100 \rightarrow 0
15~20	100 \rightarrow 0	0 \rightarrow 100
20~25	0	100

6 种不同形态砷的分离度应符合要求，其中砷胆碱、砷甜菜碱和亚砷酸的分离度应不小于 1.0（图 2）。

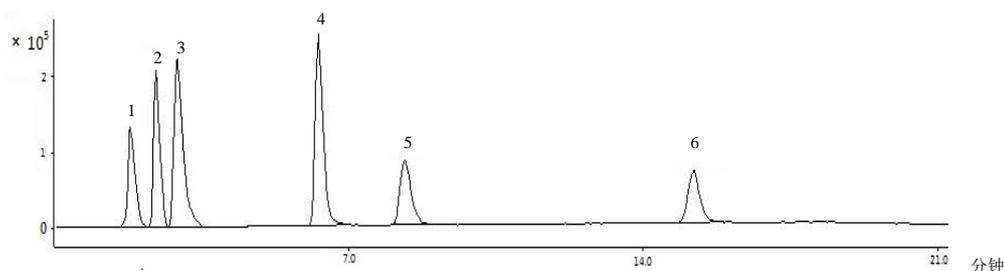


图 2 砷元素形态及价态示意图测定图谱

1.砷胆碱；2.砷甜菜碱；3.亚砷酸（三价砷）

4.二甲基砷；5.一甲基砷；6.砷酸（五价砷）

对照品贮备溶液的制备 分别取亚砷酸、砷酸、一甲基砷、二甲基砷、砷胆碱、砷甜菜碱对照品适量，精密称定，加水制成每 1ml 各含 2.0 μ g（均以砷计）的对照品溶液，即得。

标准曲线溶液的制备 精密吸取对照品贮备溶液适量，加 0.02mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液制成每 1ml 各含 1ng、5ng、20ng、50ng、100ng、200ng、500ng（均以砷计）系列浓度的溶液，摇匀，即得。

供试品溶液的制备 （1）**矿物药及其制剂**：除另有规定外，取供试品适量，取相当于含砷量 20~30mg 的供试品粉末（过四号筛），精密称定，精密加入人工肠液适量，置 37 $^{\circ}$ C 水浴中超声处理适当时间，摇匀，取适量，静置约 24~36 小时，吸取中层溶液适量，用微孔滤膜（10 μ m）滤过，精密量取续滤液适量，用 0.02mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液稀释至一定体积，摇匀，即得。同法制备空白溶液。

（2）**动、植物类中药（除甲类、毛发类）**：除另有规定外，取供试品粉末（过三号筛）0.2~0.5g，精密称定，精密加入硝酸人工胃液适量，置 37~45 $^{\circ}$ C 水浴中加热约 20~24 小时，取出，摇匀，放置 2 小时，取上清液，用一次性双层滤膜（10 μ m+3 μ m）滤过，取续滤液，即得。同法制备空白溶液。

测定法 分别吸取系列标准曲线溶液和供试品溶液各 20~100 μ l，注入液相色谱仪，测定。以系列标准曲线溶液中不同形态砷或不同价态砷的峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算供试品溶液中不同形态或不同价态砷的含量，即得。

【附注】

(1) 所用玻璃仪器使用前均需以 20% 硝酸溶液 (V/V) 浸泡 24 小时或其他适宜方法进行处理, 避免干扰。

(2) 本法系汞和砷元素形态及其价态的通用性测定方法, 在满足系统适用性的条件下, 并非每次测定均需配制 3 种汞或 6 种砷的形态及其价态系列标准曲线溶液, 可根据实际情况仅配制需要分析的汞或砷形态及其价态的系列标准曲线溶液。

(3) 进行汞元素形态及其价态分析时, 由于色谱柱中暴露的未完全封端硅羟基对 Hg^{2+} 的影响, 导致色谱柱柱效损失较快。建议采用封端覆盖率较高的色谱柱, 且必要时, 在一定进样间隔, 以采用阀切换技术以高比例有机相冲洗色谱柱后再继续分析。

(4) 硝酸人工胃液: 取 32.8ml 稀硝酸, 加水约 800ml 与人工胃蛋白酶 10g, 摇匀后, 加水稀释成 1000ml, 即得。

(5) 因中药成分复杂且砷、汞含量差异较大, 故本法中称样量仅供参考。矿物药及其制剂的取样量一般应折算至含砷量或含汞量 20~30mg; 动、植物类中药 (除甲类、毛发类) 的取样量应根据样品中砷或汞的含量来确定适宜的量, 一般为 0.2~0.5g。

(6) 本法中规定的供试品溶液制备方法系通用性的推荐方法, 实践中可根据样品基质的不同而进行参数的适当调整, 并在各品种项下另作详细规定, 同时进行必要的方法验证。

~~(4)~~ (7) 供试品中汞或、砷形态或价态的限量应符合各品种项下的规定。