

GAE-AFS 法分析藏药当佐中总汞与人工胃液中的游离态汞

李 岑^{1,2,3}, 杨红霞^{1,2,3}, 魏立新^{1,2*}, 杜玉枝^{1,2}, 张国英^{1,2,3}

1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008
2. 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810008
3. 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘 要 藏药中的重金属汞已成为藏药安全性评价研究的重点。该文以藏药当佐为研究对象, 分别采用湿法消解和人工胃液处理, 利用金汞齐富集冷原子荧光法(GAE-AFS), 测定当佐中总汞含量及其在人工胃液中游离态汞含量, 并对所建立的方法及仪器的工作条件进行了考察。在选定的测试条件下, 仪器系统稳定性良好, HgS 的回收率($n=6$)为 99.56% (RSD=1.94%), Hg 的检出限为 $0.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 线性范围为 $0 \sim 500 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $r=0.9999$ 。同时, 应用该方法对不同地区来源的当佐进行了测定, 结果总汞含量变化范围为 $3.9980 \sim 16.7358 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 游离汞含量变化范围为 $45.5377 \sim 1033.9850 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 表明不同来源样品中总汞及其在人工胃液中游离态汞含量具有一定差异。该方法快速、灵敏, 适合于中、藏药中的总汞及其在人工胃液中的游离汞的测定。

关键词 冷原子荧光; 金汞齐富集; 当佐; 佐太; 汞; 人工胃液

中图分类号: O657.3 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)07-1950-04

引 言

当佐为藏医临床常用传统藏成药制剂, 由石榴籽、红花、肉桂、白豆蔻、萆薢及珍宝药物佐太六味药组成, 有温胃益火、化滞除湿、温通经脉、保肝健胃等功效, 用于消化不良、食欲不振、寒性腹泻、慢性肠胃炎等病症。本制剂临床应用广泛, 疗效确切, 但关于其总汞及在人工胃液中游离态汞的分析评价尚未见文献报道。

现代毒理学研究表明^[6], 汞通过胃肠道或肺部进入机体后, 随着血液循环分布于各组织, 主要以二价形式与巯基蛋白结合而蓄积, 极难代谢, 影响功能蛋白的活性, 阻碍了细胞正常代谢, 进而引起细胞变性和坏死, 最终导致肝肾损伤、神经系统疾病、免疫功能紊乱及生殖毒性等。为此, 分析藏药中的总汞及其在人工胃液中游离态汞对评价含汞藏药安全性就显得十分必要。

金汞齐富集冷原子荧光法(GAE-AFS)^[7,8]具有灵敏度高、选择性强、线性范围广、背景干扰极小及方便快捷等优点, 被广泛用于医药、环境及农业等领域。本文采用湿法消解和人工胃液处理样品, 以金汞齐富集冷原子荧光法

(GAE-AFS)对样品中总汞及在人工胃液中的游离态汞进行了分析和探讨。

1 仪器、试剂与试药

AFS/AAS 双模式全自动测汞仪 Mercur, WinAAS Ver 4.5.0 工作站(德国, Jena 公司); AG135 精密天平(瑞士, Mettler Toledo 公司); 石英自动双重纯水蒸馏器 1810-B 型(常州澳华化器有限公司), 加热回流装置(天津市天玻玻璃仪器有限公司)。

HNO_3 (GR, 65%, max 0.005 ppm Hg, 德国 Merck 公司), SnCl_2 (max 1E-8 Hg, 德国 Merck 公司), $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (max 1E-8 Hg, 德国 Merck 公司), HCl (GR, 36.5%, 华北特种化学试剂有限公司), H_2SO_4 (GR, 98%, 国药集团化学试剂有限公司), KNO_3 (GR, 国药集团化学试剂有限公司), 胃蛋白酶(1:10 000, 美国 Sigma 公司), Hg 标准储备液 (Hg^{2+} 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 12% HNO_3 介质, 美国 Sigma 公司), 高纯氮气(99.999%, 青海劳谦气体有限公司), 水为自制二蒸水。

当佐样品共四批, 分别购自于西藏藏医学院藏药厂(批

收稿日期: 2010-10-24, 修订日期: 2011-01-20

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2007BA148B02)资助

作者简介: 李 岑, 1985 年生, 中国科学院研究生院硕士研究生

e-mail: licen_601@126.com

* 通讯联系人 e-mail: lxwei@nwnipb.ac.cn

号: 080401)、西藏雄巴拉曲神水藏药厂(批号: 20090701)、青海玉树州藏医院(批号: 无)及四川石渠县藏医院(批号: 无); 红色 HgS($\geq 99.0\%$, 美国 Sigma 公司)。

2 方法与结果

2.1 仪器的工作条件

AFS/AAS 双模式全自动测汞仪 Mercur, 采用单次金汞齐富集冷原子荧光法(GAE AFS)测定, Mercur 工作技术参数见表 1。

Table 1 Operating condition in Mercur

Parameters items	Parameters setting	Parameters items	Parameters setting
Line	253.7 nm	Purge time 1	20 s
Lamp type	Hg LP	Purge time 2	15 s
Integr. Mode	Peak height	Purge time 3	10 s
PMT	363 V	Heat time coll 1	20 s
AZ time	5 s	Integr. time	20 s
Dlay	0 s	Peak smoothing	off/off
Working mode	Enr w/o reload	System cleaning	Off
FBR Technique	on	Washing time acid	10 s
Pump speed	3	Soaking time	20 s
Sample load time	10 s	Gas load time	10 NL·h ⁻¹
Reaction time	10 s	Gas washing time 2	10 NL·h ⁻¹
Waiting time AZ	5 s	Gas washing time 3	10 NL·h ⁻¹
Dlay	0 s	Cool Time coll 1	50 s

2.2 试剂的配制

2.2.1 人工胃液的制备

称取 NaCl 2.0 g、胃蛋白酶 3.2 g, 再加浓 HCl 7 mL, 用二蒸水定容于 1 000 mL 容量瓶中, 即得人工胃液。

2.2.2 硝酸重铬酸钾溶液的制备

称取 0.5 g K₂Cr₂O₇, 置于 1 000 mL 容量瓶中, 加浓 HNO₃ 50 mL, 二蒸水定容, 配制成 0.05% 硝酸重铬酸钾溶液。

2.2.3 还原试剂的制备

称取 25 g SnCl₂, 加入 25 mL 浓 HCl, 加热至澄清, 然后用二蒸水定容于 500 mL 容量瓶中, 配制成 5% SnCl₂ 溶液。

2.2.4 仪器清洗试剂的制备

量取 43 mL 浓 HCl 置于 500 mL 容量瓶中, 二蒸水定容至 500 mL, 配制成 3% HCl 溶液, 即为仪器清洗试剂。

2.3 样品的处理

2.3.1 湿法消解处理

称取不同来源当佐样品 1 g, 置于 100 mL 磨口三角烧瓶中, 加 8.31 g 硝酸钾, 用移液管取 33.4 mL 浓硫酸, 加热回流消解 30 min, 至溶液澄清, 冷却, 用 0.05% 硝酸重铬酸钾溶液定容于 100 mL 容量瓶中, 然后用移液管取 1 mL 于 100 mL 容量瓶中, 0.05% 硝酸重铬酸钾溶液定容, 再如是进行两次稀释, 即得供试品溶液, 置于 4 °C 保存, 待测。

2.3.2 人工胃液处理

称取不同来源当佐样品 1 g, 置于 100 mL 三角烧瓶中,

加 60 mL 人工胃液, 在 37 °C 下恒温振荡 8 h, 滤过于 100 mL 容量瓶中, 0.255% HCl 溶液定容, 然后用移液管取 1 mL 置于 100 mL 容量瓶中, 0.255% HCl 溶液定容, 即为供试样品溶液, 置于 4 °C 保存, 待测。

2.4 线性关系和检出限的考察

以 0.05% 硝酸重铬酸钾溶液介质, 配制 0, 50, 100, 150, 200, 300 和 500 ng·L⁻¹ 系列浓度汞标准液, 每个浓度进样三次, 以信号强度平均值对相应浓度进行线性回归处理, 得回归方程 $Y = 0.000244X + 0.003063$, $r = 0.9999$, 并见图 1。

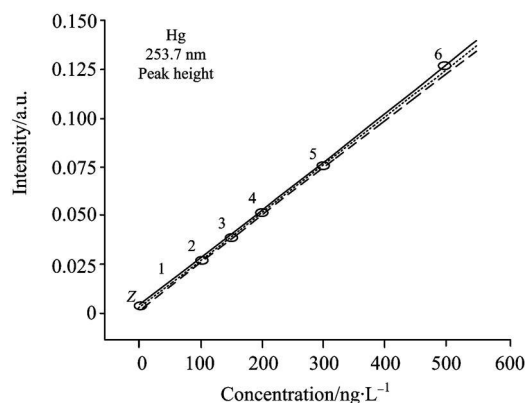


Fig 1 Mercury standard curve

仪器调试稳定后, 将 0.05% 硝酸重铬酸钾溶液连续进样 10 次, 读取响应值, 以产生三倍空白响应的信号所对应的浓度表示检出限, Hg 的检出限为: $0.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 中间精密度和重复性的考察

取同一供试样品溶液分别于 1, 2, 4, 8, 12, 24 和 48 h 测定, 以测得浓度的 RSD 计算日间精密度, 结果日间精密度为 2.73%; 三名实验人员对同一样品进行处理并测定, 结果样品浓度的 RSD 为 1.82%, 表明该方法中间精密度良好。

称取同一当佐样品 1 g, 共六份, 制备供试品溶液, 每份供试品连续进样三次, 结果测得样品浓度的 RSD 为 1.44%, 表明该方法重复性良好。

2.6 HgS 回收率试验

称取红色 HgS 0.5 g, 共六份, 按 2.3.1 项下方法处理, 然后按 2.1 项下仪器条件进样测定, 结果见表 2。

Table 2 The recovery of HgS (n=6)

Serial	Added /mg	Detected /mg	Recovery /%	Average recovery/ %	RSD /%
1	0.5004	0.4945	98.82	99.56	1.94
2	0.5016	0.4926	98.21		
3	0.4997	0.5104	102.14		
4	0.5018	0.4909	97.83		
5	0.5025	0.5075	101.89		
6	0.4987	0.4910	98.46		

2.7 样品的测定

不同来源当佐样品, 分别按 2.2.1 项和 2.2.2 项下方法

处理, 每份样品设 6 个平行样, 每份供试品溶液测定三次, 结果见表 3。

Table 3 The results of total mercury and ionic mercury in artificial gastric juice of Dangzuo by GAE AFS

Sample origins	Total mercury /(mg·g ⁻¹)	Ionic mercury /(ng·g ⁻¹)	Percent of ionic mercury in total mercury/ %
西藏藏医学院藏药厂	5 415 2	45 537 7	8 409 3 × 10 ⁻⁴
西藏雄巴拉曲神水藏药厂	3 998 0	1 033 985 0	2 586 3 × 10 ⁻²
青海玉树州藏医院	16 735 8	204 750 3	1 223 4 × 10 ⁻³
四川石渠县藏医院	6 814 4	120 981 4	1 775 4 × 10 ⁻³

3 讨论

本方法能够准确快速测定藏药当佐中的总 Hg 及其在人工胃液中游离态 Hg 的含量, 与其他方法相比较, 金汞齐富集-冷原子荧光法(GAE-FAS)具有专属性强、检出限极低、高达 10⁶ 数量级的动态检测范围、背景干扰极少、精密度高和分析速度快等优点。

在采用加热回流-湿法消解样品的过程中, 尝试了 H₂SO₄-KNO₃, HNO₃-H₂O₂ 及 HCl-HNO₃ 体系, 最终采用了 H₂SO₄-KNO₃ 体系, 在此体系下样品不仅消解快速, 且消解液不会喷溅。采用人工胃液处理当佐, 于 37 °C 恒温振荡, 模拟胃环境, 初步探讨了当佐中的汞元素在胃液中的可能溶出度, 对评价当佐临床安全性具有重要的参考价值。

当佐组方中的佐太是藏药中的珍宝药物, 主要由水银、硫磺, 及能蚀八金、能蚀八矿等, 经过特殊炮制工艺炼制而成。佐太很少单独用药, 藏医认为在其他药物中加入佐太, 具有“减毒增效”作用。最新研究表明^[9-11], 佐太中的汞主要是以 HgS 形式存在, 无单质态汞存在, 另外含有少量的 Fe, Cu, Ca, Al, Pb 和 Au 等元素; 佐太中的汞能够在实验动物的肝、肾、脾、脑、骨、肺和睾丸等器官组织中蓄积; 病理切片表明, 长期给药佐太对实验动物的肝、肾及脾产生不同程度影响。而分析含佐太藏药中的总汞及其在人工胃液中的游离态汞, 对藏药的安全性评价具有重要意义。

本研究表明, 不同来源当佐样品中总汞量及其在人工胃液中游离态汞量具有一定差异。玉树州藏医院制当佐中总汞含量最高, 西藏雄巴拉曲神水藏药厂样品最低, 石渠县藏医院和西藏藏医学院之间差别不大。西藏雄巴拉曲神水藏药厂制当佐在人工胃液中的游离汞最高, 分别约是玉树州藏医院、石渠县藏医院、西藏藏医学院的 5 倍、9 倍和 23 倍。游离汞占总汞百分比的比较, 西藏神水藏药厂制当佐约是石渠县藏医院 15 倍、玉树州藏医院 21 倍、西藏藏医学院 307 倍, 推测这可能与不同藏区佐太炮制工艺的差异有关。

Hg 被列在有毒物质目录, 是各国药品、食品及环境领域重点监测的对象, 但是含 Hg 藏药制剂对某些疾病如心脑血管、肝胆疾病、消化系统疾病、风湿性疾病及糖尿病等具独特的疗效, 并且历史悠久、应用广泛。因此, 藏药中的 Hg 究竟在治疗疾病的过程中起着什么样的作用, 以及含 Hg 藏药在临床用药中的安全性, 还有待于进一步深入地研究。

References

- [1] Lalancette A, Morin Y, Measures L, et al. *Developmental and Comparative Immunology*, 2003, 27: 735.
- [2] Frodello J P, Roméo M, Viale D. *Environmental Pollution*, 2000, 108: 447.
- [3] Heyer Nicholas J, Bittner Jr Alvah C, Echeverria Diana, et al. *Toxicology Letter*, 2006, 161: 159.
- [4] Radonjic Marijana, Woltebeek André, de Groot Didima, et al. *Toxicology Letters*, 2008, 180: S125.
- [5] Kenow Kevin P, Hoffman David J, Hines Randy K, et al. *Environmental Pollution*, 2008, 156: 732.
- [6] Clarkson Thomas W, Magos Laszlo. *Toxicology*, 2006, 36: 609.
- [7] ZHENG Wei, FENG Xir bin, ZHU Yong-xuan, et al(郑伟, 冯新斌, 朱泳焯, 等). *Earth and Environment(地球与环境)*, 2005, 33(1): 84.
- [8] FENG Xir bin, HONG Ye tang, ZHU Wei guo, et al(冯新斌, 洪业汤, 朱卫国, 等). *Environmental Monitoring in China(中国环境监测)*, 1997, 13(3): 9.
- [9] YAN Lifeng(闫立峰). *China Tibetology(中国藏学)*, 2007, 3: 150.
- [10] LI Xiang-yang, FENG Wei-li, MA Qi-sheng, et al(李向阳, 冯伟力, 马祈生, 等). *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research(时珍国医国药)*, 2010, 21(2): 290.
- [11] YANG Bao-shou, JIANG Ji-cun, JIANG Yong, et al(杨宝寿, 江吉村, 降拥, 等). *Tibetan Studies(西藏研究)*, 2004, 1: 74.

Determination of Total Mercury and Ionic Mercury in Artificial Gastric Juice of Tibetan Medicine *Dangzuo* by GAE-AFS

LI Cen^{1,2,3}, YANG Hong xia^{1,2,3}, WEI Li xin^{1,2*}, DU Yu zhi^{1,2}, ZHANG Guo ying^{1,2,3}

1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China

2. Qinghai Province Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Assess, Xining 810008, China

3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract The mercury in Tibetan medicine has become important focus in the research on medicine safety evaluation. The total mercury and the ionic mercury in artificial gastric juice of Tibetan medicine *Dangzuo* were detected by Gold Amalgam Enrichment Atomic Fluorescence Spectrometry (GAE-AFS). In the present study, Tibetan medicine *Dangzuo* was prepared by $H_2SO_4-KNO_3$ digest ion system and artificial gastric juice. The established method and condition of instrument were investigated. Under the optimum experimental conditions and instrumental operation parameters, the recovery ($n=6$) of HgS is 99.56% (RSD = 1.94%), the limit of detection for mercury is $0.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, the linear range is $0 \sim 500 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, and $r=0.9999$. Then, the total mercury and the ionic mercury in artificial gastric juice in *Dangzuo* samples from different Tibetan regions were assayed. The result showed that the ranges of total mercury and ionic mercury in artificial gastric juice were $3.9980 \sim 16.7358 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $45.5377 \sim 1033.9850 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. The analytical method mentioned above is rapid and accurate for determining the amount of mercury in Tibetan medicine *Dangzuo*.

Keywords Atomic fluorescence spectrometry; Gold amalgam enrichment; *Dangzuo*; *gT So thal*; Hg; Artificial gastric juice

(Received Oct. 24, 2010; accepted Jan. 20, 2011)

* Corresponding author