

# 碘化物-罗丹明 B-聚乙烯醇光度法测定 中成药中微量汞的研究

中国药科大学(南京 210009) 程光忻\* 王莉华 倪坤仪 郑朝华 王笑梅\*\*

**摘要** 研究了在表面活性剂聚乙烯醇(PVA<sub>124</sub>)存在下,硝酸介质中,汞与碘化物形成络阴离子后与罗丹明 B(RhB)形成可溶性多元离子络合物,在 595nm 处有最大吸收,0~5 $\mu\text{gHg}^{2+}$ /25ml 范围内服从比耳定律,其表观摩尔系数为  $7.36 \times 10^5$ ,桑德尔灵敏度为  $2.7 \times 10^{-4} \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ,回收率为 98.0%~103.0%,RSD<3%。

**关键词** 汞 王氏保赤丸 碘化物-罗丹明 B-聚乙烯醇光度法

中成药方剂中,尤其在小儿用药中常见含有朱砂。朱砂主含硫化汞,具清心镇静,安神解毒之功效。按国际卫生组织及国际食品和农业组织的规定,重金属汞属于有毒元素,每周允许摄入量在 0.3mg 以下,所以有必要测定中成药中汞的含量,确保用药安全<sup>[1]</sup>。

中成药成分复杂,测定干扰较多,通常采用的测定方法为原子吸收光谱法<sup>[2]</sup>或用测汞仪测定<sup>[3]</sup>。本文采用  $\text{Hg}^{2+}$ -碘化物-罗丹明 B-PVA<sub>124</sub>光度法对中成药王氏保赤丸进行汞总量测定及可溶性汞含量测定的初步研究<sup>[4]</sup>。处理后,在表面活性剂聚乙烯醇存在的硝酸介质中, $\text{Hg}^{2+}$ 与碘化物形成络阴离子再与罗丹明 B 形成蓝紫色的可溶性多元离子络合物,在 595nm 处有最大吸收,0~5 $\mu\text{gHg}^{2+}$ /25ml 范围内服从比耳定律, $r=0.9996$ ,表观摩尔系数  $\epsilon=7.36 \times 10^5$ ,具有灵敏度高、简便、快速的特点,反应具有高的选择性和灵敏性,回收率为 98.0%~103.0%,适用于中成药中微量汞的测定。

## 1 仪器与试剂

日本岛津 UV2100 型分光光度计,721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

试剂:汞标准液:将 0.1354g  $\text{HgCl}_2$ (A.R.)置 100ml 量瓶中并定容,溶液为 1mg  $\text{Hg}^{2+}$ /ml。临用时稀释成 10 $\mu\text{gHg}^{2+}$ /ml。

碘化钾-抗坏血酸溶液:精密称取 20g 碘化钾(A.R.)与 2.5g 抗坏血酸(A.R.)溶于水,定容至 100ml 量瓶中。

硝酸(A.R.),0.5mol/L,1%(W/V);聚乙烯醇(PVA<sub>124</sub>)0.5%(W/V);罗丹明 B(RhB)0.05%;硫酸(A.R.);硝酸(A.R.);高锰酸钾(A.R.)5%(W/V);盐酸羟胺(A.R.)10%(W/V)。

人工胃液:取盐酸(A.R.)23.4ml 以水稀释至 100ml,即得 10%盐酸,吸取上述溶液 24.0ml 加水稀释至 1000ml,测其 pH 值为 1.2~1.4。

几种离子水溶液: $\text{Fe}^{3+}$ : $5.0 \times 10^{-3} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Ca}^{2+}$ : $2.0 \times 10^{-5} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Al}^{3+}$ : $1.25 \times 10^{-3} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Cu}^{2+}$ : $5 \times 10^{-5} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Zn}^{2+}$ : $5 \times 10^{-3} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Cd}^{2+}$ : $5 \times 10^{-5} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Mn}^{2+}$ : $5 \times 10^{-4} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Pb}^{2+}$ : $5 \times 10^{-5} \text{g}/\text{ml}$ ; $\text{Cr}^{3+}$ : $5 \times 10^{-4} \text{g}/\text{ml}$ ;EDTA 溶液:0.05mol/L。

## 2 分析条件试验

\* Address: Cheng Guangxin, China Pharmaceutical University, Nanjing

\*\* 1995 届毕业生

## 2.1 绘制吸收曲线

2.1.1  $\text{Hg}^{2+}$ - $\text{I}^-$ -RhB 的吸收曲线:精密吸取  $\text{Hg}^{2+}$  溶液(相当于  $2.5\mu\text{g}$ )置 25ml 量瓶中,依次加入  $0.5\text{mol/L}$   $\text{HNO}_3$  1.5ml, KI 溶液 2.5ml, 摇匀, 静置 3min; 再加  $0.5\%$  PVA 2.0ml,  $0.05\%$  RhB 2.5ml, 摇匀, 定容后摇匀, 放置 20min; 以试剂空白为参比, 用 1cm 的吸收池在 UV 2100 型分光光度计上从 520~700nm 进行扫描, 得吸收曲线, 如图中 I 所示。

2.1.2  $\text{I}^-$ -RhB 的吸收曲线:操作同 2.1.1, 但不加  $\text{Hg}^{2+}$  溶液; 用稀释 25 倍上述溶液, 以水为参比, 得吸收曲线。见图中 II。

2.1.3  $\text{Hg}^{2+}$ -RhB 的吸收曲线:操作同 2.1.1, 但不加 KI 溶液, 以水为参比, 得吸收曲线。见图中 III。

2.1.4 RhB 的吸收曲线:操作同 2.1.3, 但不加  $\text{Hg}^{2+}$  及 KI 溶液, 以水为参比, 得吸收曲线。见图中 IV。由图可知: II、III、IV 的吸收曲线基本重合,  $\lambda_{\text{max}} = 555\text{nm}$ , 而 I (缔合物) 的  $\lambda_{\text{max}} = 595\text{nm}$ ,  $\Delta\lambda = 40\text{nm}$ , 故此用以测定。

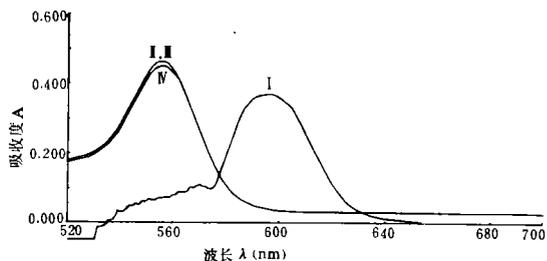


图 1 显色体系的吸收光谱

- I:  $\text{Hg}^{2+}$ - $\text{I}^-$ -RhB 溶液(试剂空白为参比)
- II:  $\text{I}^-$ -RhB 溶液(水为参比)
- III:  $\text{Hg}^{2+}$ -RhB 溶液(水为参比)
- IV: RhB 溶液(水为参比)

2.2 酸度的影响:操作同 2.1.1, 仅改变  $\text{HNO}_3$

的用量, 以相应的试剂空白为参比, 用 1cm 吸收池在 721 型分光光度计(以下均用此仪器测定)于 595nm 处测其吸光度。实验结果表明:酸度在  $0.01\text{mol/L} \sim 0.05\text{mol/L}$  之间吸光度较稳定, 即 1.5ml  $0.5\text{mol/L}$   $\text{HNO}_3$  为宜。

2.3 KI 用量影响:操作同 2.1.1, 仅改变 KI 用量, 以相应的试剂空白为参比, 于 595nm 处测其吸光度。实验结果表明:KI 用量在 2.25ml~2.75ml 之间 A 值较稳定, 为便于操作故选用 2.50ml。

2.4 PVA 用量影响:操作同 2.1.1, 仅改变 PVA<sub>121</sub> 用量, 以相应的试剂空白为参比, 于 595nm 处测其吸光度。实验结果表明:PVA<sub>121</sub> 用量在 1.0~2.0ml 之间吸光度最大且较稳定, 故选用 2.0ml。

2.5 RhB 用量的影响:操作同 2.1.1, 仅改变 RhB 用量, 于 595nm 处测其吸光度。实验结果表明:RhB 用量在 2.35~2.50ml 之间吸光度最大且稳定, 过高或过低缔合物均不稳定, 故选用 2.50ml。

2.6 温度的影响:操作同 2.1.1, 溶液配置完毕后, 分别置于 15℃、20℃、25℃、30℃、40℃、50℃ 水浴中恒温 10min 后进行测定。实验结果表明:温度对吸光度影响较大, 在 15~25℃ 之间吸光度基本稳定, 高于 25℃ 吸光度降低, 且出现缔合物沉淀。如温度过高, 需加冰水降温。

2.7 稳定性实验:操作同 2.1.1, 以试剂空白为参比, 于 595nm 处测其不同时间点的吸光度。实验结果表明:缔合物在 45min 内稳定, 45min 后吸光度逐渐下降。

2.8 共同离子的影响:操作同 2.1.1, 加入常见干扰离子的量如表, 以试剂空白为参比, 于 595nm 处测吸光度, 结果见表 1。实验结果表明:保赤丸若含主要共存离子, 除  $\text{Ca}^{2+}$  影响较大外, 其它对测定无干扰, 因而毋需掩蔽排除。

综上所述, 该缔合物的测定最佳条件, 酸度在  $0.5\text{mol/L}$   $\text{HNO}_3$  1.5ml; KI 2.5ml;  $0.5\%$  PVA 2.0ml;  $0.05\%$  RhB 2.50ml; 室温(25℃)以下静置 20min 后进行测定。

2.9 标准曲线的绘制:精密吸取标准汞液( $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ) $0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\text{ml}$ ,分别置  $25\text{ml}$  量瓶中,依次加入  $0.5\text{mol}/\text{L}$   $\text{HNO}_3$   $1.5\text{ml}$ , $\text{KI}$  液  $2.50\text{ml}$ ,摇匀,静置  $3\text{min}$ ;再加入  $0.5\%$   $\text{PVA}$   $2.0\text{ml}$ ;  $0.05\%$   $\text{RhB}$   $2.50\text{ml}$ ,摇匀后稀释至刻度,摇匀,放置  $20\text{min}$ ;以试剂空白为参比,用  $1\text{cm}$  吸收池,在  $595\text{nm}$  处进行测定,经直线回归,得方程式  $A = 0.0992C + 0.00994$  ( $r = 0.9996$ ),在  $0 \sim 5\mu\text{g}$   $\text{Hg}^{2+}/25\text{ml}$  浓度范围内线性良好,且重现性亦好。

2.10 络合比的测定:本文采取等摩尔连续变化法测定  $\text{Hg}^{2+} - \text{I}^- - \text{RhB}$  体系的络合比,由实验结果表明, $\text{RhB}$  与  $\text{Hg}^{2+}$  的络合比为  $2:1$ 。

2.11 红外吸收光谱:按实际方法(不加  $\text{PVA}$ )制备缔合物晶体,将缔合物晶体与纯  $\text{RhB}$  分别以  $\text{KBr}$  压片各自作红外吸收光谱。图谱表明: $1100\text{cm}^{-1}$  以上缔合物和染料红外光谱完全一致,反映了  $\text{RhB}^+$  阳离子结构的特征; $1590\text{cm}^{-1}$  吸收峰说明苯环存在; $\text{RhB}$  的羰基峰在  $1690\text{cm}^{-1}$ ,由于形成缔合物后,羰基峰位移至  $1720\text{cm}^{-1}$  左右; $\text{RhB}$  在  $800\text{cm}^{-1}$  以下有吸收,但形成缔合物后则  $800\text{cm}^{-1}$  以下吸收峰减少。缔合物中仍保留了  $\text{RhB}^+$  阳离子的结构特征,缔合物的生成不影响染料结构,缔合物中阴阳离子籍离子键缔合。

### 3 样品测定

#### 3.1 汞的总量测定

3.1.1 样品预处理:王氏保赤丸(南通中药厂):研成细粉,装瓶待用。

取上述样品约  $0.1\text{g}$ ,精密称定,置  $100\text{ml}$  锥形瓶中,加  $2.0\text{g}$   $\text{KNO}_3$ ,  $10\text{ml}$  浓硫酸,浸泡过夜;置于  $120\text{C}$  沙浴中消化至澄清透明,冷却,加入  $1\%$  硝酸溶液  $25\text{ml}$ ,振摇,冷却,过滤至  $100\text{ml}$  量瓶中,以  $1\%\text{HNO}_3$   $25\text{ml}$  洗涤(分 4 次)漏斗和锥形瓶,合并滤液,放冷,加  $5\%$   $\text{KMnO}_4$  溶液至粉红色( $2\text{min}$  不消失为度),再滴加  $10\%$  盐酸羟胺至红色消失,以水定容。精密吸取  $2.5\text{ml}$  上述消化液至  $50\text{ml}$  量瓶中,以水定容后摇匀,得供试品液。

3.1.2 测定:精密吸取供试品液  $1.00\text{ml}$ ,按标准曲线项下方法操作,以空白消化液作空白,测定吸光度、计算含量,同时与药典法<sup>(5)</sup> 进行比较,结果见表 2。

实验结果表明:本法与药典法测定结果吻合并经过  $t$  检验,两方法无显著差异。

3.1.3 加样回收率:取  $0.05\text{g}$  王氏保赤丸,精称,加入  $4.06\text{mg}$   $\text{HgCl}_2$ (相当于  $3.0\text{mg}$   $\text{Hg}^{2+}$ )。按 3.1.1 样品预处理方法消化及测定,计算回收率。结果为  $99.99\%$ ,  $\text{RSD} = 2\%$ 。

#### 3.2 可溶性汞的含量测定<sup>(6)</sup>

3.2.1 样品预处理:a)王氏保赤丸:研成细粉,装瓶待用。b)浸取与消化:精密称取王氏保赤丸细粉  $0.3\text{g}$ ,置于  $100\text{ml}$  烧杯中,加  $20\text{ml}$  人工胃液于  $37\text{C}$  沙浴中浸取  $4\text{h}$ ,每隔  $15\text{min}$  平行旋摇  $10\text{s}$ ,滤出上清液于  $100\text{ml}$  锥形瓶中,残渣以人工胃液  $15\text{ml}$  洗 3 次,合并滤液,置于  $160\text{C}$  沙浴中蒸至体积为  $5\text{ml}$  时,加入浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $5.0\text{ml}$ ,  $1.0\text{g}$   $\text{KNO}_3$  于  $120\text{C}$  沙浴中消化至颜色透明;取出放冷,转移至  $50\text{ml}$  量瓶中,以水稀释至约为  $40\text{ml}$  时,加  $5\%$   $\text{KMnO}_4$  呈至粉红色( $2\text{min}$  不消失),再加  $10\%$  盐酸羟胺至恰好褪色,定容,待测。

3.2.2 测定:吸取上述消化液  $5.0\text{ml}$  于  $25\text{ml}$  量瓶中,按标准曲线项下操作进行测定,结果见表 3。

表 1 常见干扰离子对测定结果的影响

干扰离子	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	A			不干扰倍数
		对照	加 EDTA	不加 EDTA	
$\text{Fe}^{3+}$	5000	0.276	0.272	0.273	2000
$\text{Al}^{3+}$	5000	0.274	0.273	0.273	2000
$\text{Zn}^{2+}$	5000	0.270	0.271	0.273	2000
$\text{Mn}^{2+}$	500	0.273	0.270	0.272	200
$\text{Cr}^{3+}$	500	0.270	0.267	0.268	200
$\text{Ca}^{2+}$	10	0.270	0.267	0.268	4
$\text{Ni}^{2+}$	5500	0.270	0.268	0.267	2200

表 2 本法与药典法测定保赤丸中汞总量结果的比较

批号	本 法					药 典 法					
	样品 (g)	A	计算量 (mg)	含量 (%)	平均值 (%)	RSD(%) n=6	样品 (g)	计算量 (mg)	含量 (%)	平均值 (%)	RSD(%) n=6
921102	0.0992	0.302	5.899	5.95			0.4984	29.79	5.98		
	0.0991	0.301	5.879	5.93							
	0.0985	0.301	5.879	5.97	5.98	0.7	0.4934	29.38	5.95	5.98	0.6
	0.0984	0.305	5.960	6.00			0.5012	30.20	6.02		
	0.1003	0.308	6.020	6.00							
	0.1002	0.310	6.054	6.05							
921105	0.1004	0.307	5.995	5.97							
	0.1006	0.305	5.956	5.92			0.4986	29.58	5.93		
	0.1011	0.310	6.054	5.99	5.94	0.8	0.4987	29.79	5.97	5.95	0.4
	0.1000	0.306	5.976	5.98			0.5016	29.79	5.94		
	0.1001	0.300	5.859	5.85							
	0.0998	0.305	5.956	5.98							
921104	0.1005	0.307	6.000	5.98							
	0.0994	0.308	6.020	6.05							
	0.1009	0.316	6.181	6.12	6.01	1					
	0.1012	0.312	6.101	6.02							
	0.1004	0.305	5.960	5.93							
	0.1004	0.307	6.000	5.97							

表 3 可溶性汞含量测定的结果

批号	编号	样品重 (g)	测得汞量 ( $\times 10^{-4}g$ )	汞含量 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
921102	1	0.2996	0.3589	0.120		
	2	0.3003	0.3498	0.117		
	3	0.2993	0.3519	0.118	0.119	2
	4	0.2993	0.3650	0.122		
	5	0.2994	0.3579	0.120		
	6	0.2999	0.3529	0.118		
921105	1	0.3002	0.3589	0.120		
	2	0.3011	0.3549	0.118		
	3	0.3008	0.3589	0.120	0.118	2
	4	0.3001	0.3529	0.118		
	5	0.3004	0.3478	0.116		
	6	0.2998	0.3468	0.116		

3.2.3 可溶性汞加样回收率测定:吸取消化液 2.5ml 于 25ml 量瓶中,加汞标准液(相当  $1.8\mu g Hg^{2+}$ )按标准曲线项下方法操作,计算回收率。测得结果 921102 批为 99.45%(n=6),RSD=1.0%;921105 批为 99.17%(n=6),RSD=1.0%。

#### 4 讨论

4.1 本实验体系生成的缔合物为三元缔合物  $Hg(I_1)^{2-} : RhB = 1 : 2$ ,为使缔合物充分形成且稳定,加硝酸及 PVA<sub>124</sub>后分别放置 3min 及 20min。

4.2  $Hg^{2+}$ 标准液放置时间太长浓度会降低,故应临用配制。

4.3 碘离子浓度对络合物的形成及其稳定性影响较大,因而须严格控制条件。

4.4 本实验中 PVA<sub>124</sub>起增溶作用,若配制不当,会造成溶液浑浊,且吸光度下降。

4.5 本法是测微量汞,试剂、仪器均要纯净,操作应严格遵循平行原则。

#### 参 考 文 献

- 田舍改,等. 分析试验室,1993,12(4):81
- 靳建中,等. 药物分析,1991,11(3):165
- 连珊枝,等. 中成药研究,1983(1):15
- 刘毅,等. 化学试剂,1984,6(2):125
- 中国药典. 一部.(1990年版).478
- 铁步荣,等. 中国中药杂志,1990,15(10):26

(1995-07-04 收稿)

## ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

### Studies on the Chemical Constituents of Emeixuedan (*Hemsleya emeiensis*)

Shi Yaqin, Zhang Wenjin, et al

Seven compounds were isolated from the tubers of *Hemsleya emeiensis* L. T. Shen et W. J. Chang and identified as oleanolic acid-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranoside (I), chikusetsusaponin Va (II), hemslosides Ma<sub>1</sub> (III), G<sub>1</sub>(N), H<sub>1</sub>(V), dihydrocucurbitacin F-25-O-acetate (VI) and dihydrocucurbitacin F(VII) on the basis of chemical and physical properties and spectral data. They all were isolated from this plant for the first time. Among them, I was obtained for the first time from the genus of *Hemsleya* Cogn.

(Original article on page 619)

### Studies on the Chemical Constituents of Tubeflower Dutchmanspipe (*Aristolochia tubiflora*)

Peng Guoping, Lou Fengchang, Chen Yuanzhu, et al

Seven constituents were isolated from the stem and root of *Aristolochia tubiflora* Dunn. They were identified as palmitone (I),  $\beta$ -sitosterol (II), eupomatenoic acid (III), stigmastame-3,6-dione (IV), vanillic acid (V), stigmast-4-en-3,6-dione (VI), aurantiamide acetate (VII). VII showed cytotoxicity against A-549, MCF-7, HT-29 cells in culture.

(Original article on page 623)

### Study on the Quality Standard of Shixiangzhitong Pill

Xu Renliu, Ning Tong

TLC was used for the qualitative identification of *Magnolia officinalis* Rehd. et wils, *Cyperus rotundus* L. and *Rheum palmatum* L. in Shixiangzhitong pill. The content of chrysophanol in Shixiangzhitong pill was assayed by TLC-scanning. The proposed method can be used to control the quality of Shixiangzhitong pill.

(Original article on page 629)

### Spectrophotometric Determination of Trace of Mercury in Traditional Chinese Medicine with Iodine-Rhodamine B-Polyvinyl Alcohol

Cheng Guangxin, Wang Lihua, Ni Kunyi, et al

A spectrophotometric method for the determination of trace amounts of mercury (II) was described based on the formation of a complicated ion-association complex of Hg(II)-I<sup>-</sup>-Rhodamine B in the presence of polyvinyl alcohol. The maximum absorption of the ion-association complex was at 595nm. Beer's law was obeyed for mercury (II) in the range of 0~5 $\mu$ g/25ml. The apparent molar absorptivity was  $7.36 \times 10^5$  L/mol  $\cdot$  cm. The recovery of mercury was 97.0%~103.0%, RSD <3%. The procedure was highly selective with good sensitivity and the result of determination was satisfactory.

(Original article on page 632)

### Effects of Membranous Milkvetch (*Astragalus membranaceus*) on the Action of "Decoction of Invigorating Yang for Recuperation"

Lin Guitao, Li Wanzhong

*Astragalus membranaceus* (AM) plays an important role in the traditional Chinese recipe "Decoction of Invigorating Yang for Recuperation" (DIC) as the main ingredient which invigorates Qi and promotes blood circulation. But in clinics, doses of AM used in the recipe often varies. For the purpose to investigate the effect of different doses of AM on the action of DIC, animal experiments were designed and studied. Results showed that when the doses of AM were 15 and 30g, the resulting DIC showed a better antiirritability and enhancing immunity effects, as well as in vivo antithrombosis and vitro anticoagulation actions as compared to a dose of 120g AM in DIC ( $P < 0.05$ ).

(Original article on page 639)