

## 纸色层法测定胶体金-198 溶液中金离子条件的研究

景 烈 李文英

本文研究了纸色层分析中微量金离子的吸附现象；找出了在许多国家药典中关于用纸上色层法（以7:2:1的丙酮-水-盐酸为溶剂）控制放射性胶体金-198注射液放化纯度时所存在的问题：由于微量金离子在纸上有严重的吸附，使金离子含量的分析值大为偏低。

本文通过实验，进一步提出预先用2%氯化铵溶液浸泡色层纸的方法，消除了金离子的吸附。本法所得金离子含量的色层分析结果与萃取分光光度法符合，可有效地控制产品质量。

### 一、前 言

可溶性金离子是放射性胶体金-198注射液中的主要放化杂质，药典中通常规定其最大含量不得超过2%。

在许多药典中<sup>[1-5]</sup>，包括我国药典<sup>[6]</sup>都规定用上行纸色层法，以丙酮-水-盐酸（7:2:1）的混合物为溶剂，测定其中的金离子含量，方法很简便，但对其分析值的可靠性历来存有争议。

1965年苏联的 Харламов 等人<sup>[7]</sup>通过研究认为，由于上述溶剂的酸度过高，致使胶体部分地被破坏，从而在整个色层谱上发生放射性吸附，因而建议使用低酸度的溶剂。第三版的捷克药典中<sup>[8]</sup>规定以丙酮-0.1N盐酸（7:3）为溶剂。而以以色列<sup>[9]</sup>所使用的溶剂则为不含酸的丙酮-水（3:1）的混合物。

1967年挪威 Høyе<sup>[10]</sup>的文章报道，用纸色层、薄层电泳及高压电泳等方法分别测定胶体金中的金离子量时，所得结果互不重复。

1970年捷克的 Cifka<sup>[11]</sup>通过研究指出：在胶体金分析中，除受溶剂的酸度影响外，胶体溶液中的添加剂，如明胶等的存在，对分析也有明显的影响，并指出在丙酮-水-盐酸（7:2:1）溶剂中，胶体金中金离子含量的纸色层分析结果是可疑的。但未提出解决的办法。

1975年金华龙<sup>[12]</sup>也进行过研究，同样认为胶体金取样量为1微升左右时，用上述药典方法分析金离子含量是不准确的。

我们在产品质量控制分析中，也观察到这一方法的金离子含量分析结果严重偏低，需要解决。

本文通过实验，找出了偏低的原因，并提出了用氯化铵溶液预处理色层纸的方法，使问题得到了解决。

1981年4月9日收到。

## 二、实验程序及条件

实验采用 Whatman No.1 色层纸, 以刻度过的玻璃毛细管定量加样于色层纸上, 样点需经吹干后再进行色层分离, 前沿为10厘米。色层分离完毕后, 将纸条取出吹干, 然后制成放射性自显影图, 或以  $\beta$  自动色层扫描仪定量测量放射性在纸条上的分布。

所用放射性制剂的制备:

(1) **放射性金-198 溶液** 将在反应堆中经中子辐照的金靶 (99.999%) 加王水 加热溶解, 蒸至近干, 除去过剩的酸, 再加少量 0.1N HCl 溶解, 再蒸至近干。如此重复两次后, 加一定量的 0.1N HCl 溶解, 即得一定浓度的  $H^{198}AuCl_4$  溶液。

(2) **放射性胶体金-198 溶液**

① 由本所同位素研究室提供的胶体金-198注射液。

② 金离子含量较高的胶体溶液制备如下: 按需要取一定量的明胶溶液, 用 0.1N NaOH 调节 pH 至 10 左右, 并向其中加入数微升金晶种, 于水浴上加热, 在不断搅拌下, 以每分钟 1 滴的速度, 滴入需要量的上述  $H^{198}AuCl_4$  溶液, 并用 0.1N NaOH 调节 pH 至 9 左右即成。改变明胶与金量之比, 即可得到不同金离子含量的胶体。

所用试剂皆为二级。

## 三、实验结果及讨论

### 1. 金离子色层行为的观察和研究

(1) **常用纸色层溶剂的比较** 比较了下列溶剂中, 金离子的色层行为: ①丙酮-水-盐酸 (7:2:1)<sup>[1-6]</sup>; ②丙酮-0.1N 盐酸 (7:3)<sup>[6]</sup>; ③丙酮-水 (3:1)<sup>[9]</sup>; ④乙酸乙酯-硝酸 (9:1)<sup>[10]</sup>。

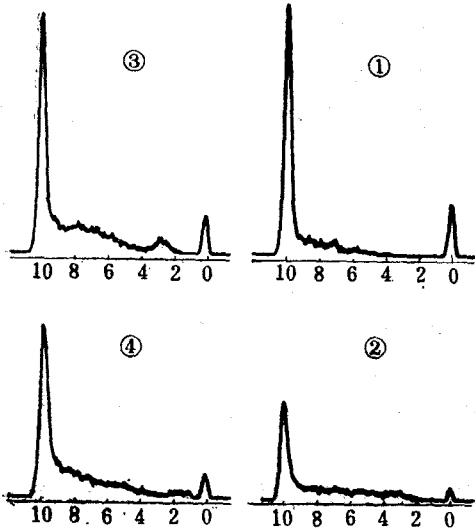


图1 不同溶剂中的金离子色层谱扫描图  
(图中号码为溶剂号)

所得色层谱扫描图见图1, 前沿10厘米处为金离子峰, 存在严重的拖尾现象; 此外, 从图中还可以看到, 在起始点上皆有残留。②、③号溶剂的酸度都比①号溶剂小, 在图1中并未见拖尾有所减小; 相反, 有增加的趋势。

(2) **不同形态金离子的色层行为** 正三价金离子通常不会以  $Au^{3+}$  形态存在于溶液中, 因为它形成络离子的倾向很大, 通常易形成三种络离子:  $[AuCl_3O]^{2-}$ ;  $[AuO_2]^-$ ;  $[AuCl_4]^-$ 。

分别观察了它们在丙酮-水-盐酸 (7:2:1) 溶剂中的色层行为, 色层分离后的纸条用 10% 抗坏血酸溶液喷雾显色, 金的斑点呈灰黑色。实验结果表明, 这三种络离子都随溶剂迁移到

前沿, 所以金离子在纸上的色层行为不因其形态不同而有显著差异。

**(3) 金离子在纸上的色层行为与原点加样量的关系** 实验中同时比较了两种酸度不同的溶剂：①丙酮-水-盐酸 (7:2:1)，测得 pH 约 0.5；②丙酮-0.1N 盐酸 (7:3)，测得 pH 约 2。原点加样量分别为 0.01, 0.1, 1, 10 微克金。

以色层谱上  $R_f$  0.1 以下测得的放射性作为金离子在原点残留的量；以  $R_f$  0.1—0.8 之间的放射性为路程上吸附的量；以  $R_f$  0.8 以上直至前沿的放射性为到达前沿的金离子量\*。所得结果示于图 2 及图 3。

从图 2 中可以看到，原点金离子加样量的变化，对原点残留量的影响不大，而对路程上吸附百分比和到达前沿百分比影响很大。当原点加样量少至 0.01 微克时，只有 50% 左右的金离子能达到前沿，吸附率达 40% 以上；而当加样量增至 1 微克时，则可有 95% 的金离子到达前沿，这时吸附百分率很小。可见金离子在纸上的吸附百分率与原点加样量有很大关系。

从图 3 中还可以看到，用酸度较低的②号溶剂色层分离时并无好处，反而增加了金离子在纸上的吸附，拖尾现象更严重，到达前沿的金离子峰变得很小。从图 2 中的曲线更可定量比较：当加样量为 0.01 微克金时，在酸度较高的①号溶剂中，可有 53% 的金离子到达前沿；而在酸度较低的②号溶剂中，能到达前沿的金离子量减少到只有 3%。我们获得的这一结果与 Харламов<sup>[7]</sup> 及 Cifka<sup>[11]</sup> 等人的结论相反。

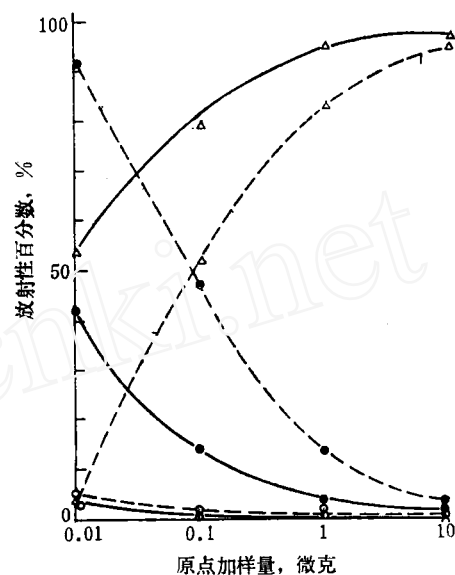


图 2 放射性金离子在色层谱上的分布与原点加样量的关系

△——到达前沿的金离子；●——路程上吸附的金离子；○——原点残留的金离子。实线表示丙酮-水-盐酸 (7:2:1) 溶剂的实验值；虚线表示丙酮-0.1N 盐酸 (7:3) 溶剂的实验值。



图 3 金离子色层谱自显影图及扫描图 (原点加样 0.1 微克)  
①溶剂为丙酮-水-盐酸 (7:2:1); ②溶剂为丙酮-0.1N 盐酸 (7:3)。

**(4) 明胶对金离子在纸色层分离中的影响** 明胶是胶体金溶液中不可缺少的添加剂，而且含量较高，与金量之比达 10:1，按原方法试验了不同明胶量对不同的金离子量色层分离的

\* 药典上规定前沿下 2 厘米内的放射性计数为金离子量。

影响, 溶剂仍为丙酮-水-盐酸 (7:2:1), 得到的色层谱扫描图列于图 4, 其定量测量结果绘于图 5 (当加样量达 1 微克金时, 含与不含明胶对扫描图已无影响, 故图 4 中未列入)。

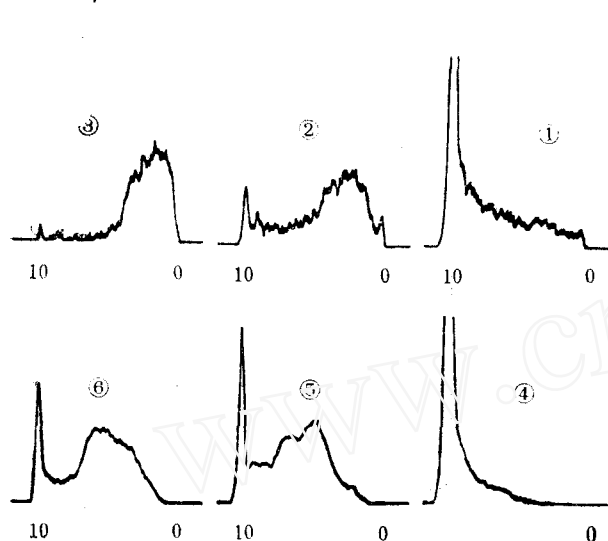


图 4 明胶量不同时金离子色层谱扫描图

- ① 明胶量为 0, 金 0.01 微克; ② 明胶 1%, 金 0.01 微克; ③ 明胶 5%, 金 0.01 微克;  
④ 明胶 0, 金 0.1 微克; ⑤ 明胶 1%, 金 0.1 微克; ⑥ 明胶 5%, 金 0.1 微克。

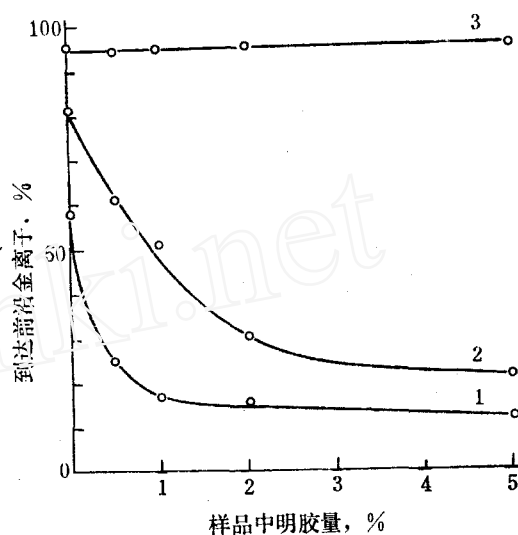


图 5 不同加样量时到达前沿的金离子百分数与样品中明胶含量的关系

- 1——原点加 0.01 微克金; 2——原点加 0.1 微克金; 3——原点加 1 微克金。

从图 4 和图 5 中可以看到: 明胶量愈大, 到达前沿金离子量就愈少; 在明胶量相同时, 金的加样量愈少, 到达前沿的金离子量愈少; 而当金加样量达 1 微克时, 明胶含量的影响几乎消失。

然而, 对放射性胶体金-198 注射液产品来说, 使样点中的金离子含量达到 1 微克是困难的。因为辐照得到的  $^{198}\text{Au}$  同位素的比放射性较高 (每毫克金达 100 毫居里左右)。而胶体金-198 溶液的浓度通常为 1 毫克金/毫升, 当在原点加 0.5 微升胶体金样品时, 其放射性已达 50 微居里, 不能再增加取样量了。这时按其中含 2% 的最大允许金离子量计算, 样点中也只含有 0.01 微克金离子, 同时样品中又有 1% 明胶存在, 按图 5 中曲线 1 查出能到达前沿的金离子只有 16% 左右。这就是药典上规定用来控制放射性胶体金-198 注射液中金离子含量的方法分析值严重偏低的原因。

丙酮-水-盐酸 (7:2:1) 这一溶剂原是印度的 Majumdar<sup>[4]</sup> 等人 1958 年报道用来分离金、铂、铀等贵金属离子的, 但在一些药典和文献中把这一溶剂直接移用来分离测定胶体金溶液中的金离子的依据是什么呢? 我们未见有实验报道。然而, 在分析胶体金样品时, 由于金-198 的比放射性太高, 使加样量受到限制, 又含有 1% 明胶, 使得样点中所含的极微量金离子在色层纸上吸附很严重。

通常, 加稳定性同位素载体可以很好地解决放射性吸附问题, 但由于金的同位素交换反应速度极快<sup>[1]</sup>, 使加稳定载体的方法不能使用, 因此, 只有设法消除金离子在色层纸上的吸附。

## 2. 金离子在纸上吸附的消除

将色层纸预先以电解质溶液浸泡处理, 试图来消除金离子在纸上的吸附。

(1) **电解质溶液的选择** 实验比较了下列三种电解质溶液: ①1% NaCl 溶液; ②1%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液; ③1% NaAc 溶液。色层纸的处理程序如下: 将裁好的色层纸条分别在上述溶液中浸泡1分钟后取出, 在滤纸上轻轻吸去多余的溶液, 立即挂入100℃左右的干燥箱中烘干, 取出后保存于干燥器中备用。处理过的色层纸, 同样以丙酮-水-盐酸(7:2:1)为溶剂, 按上行色层法分离, 原点加0.01微克金离子, 样品中含1%明胶, 所得色层谱自显影图见图6。从图6可见, 以 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液对色层纸的处理效果最佳, 吸附现象基本消失。

(2)  **$\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液浓度的选定** 比较了下列四种浓度的 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液: 0.5%; 1%; 2%; 4%。其余条件不变, 得到的色层谱自显影图见图7。定量测得的到达前沿的金离子量与 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液浓度的关系绘于图8。

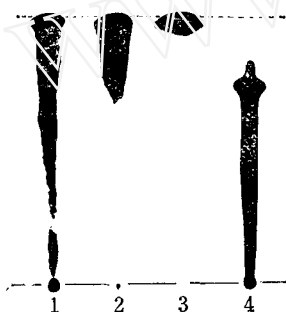


图6 在经不同溶液处理的色层纸上金离子的色层谱自显影图

1——纸未经处理; 2——纸经1% NaCl溶液处理;  
3——纸经1%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液处理; 4——纸经1% NaAc溶液处理。

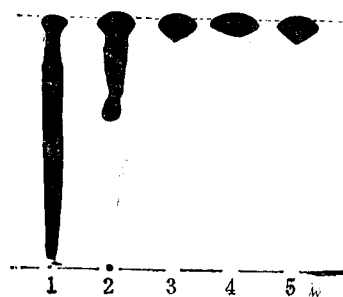


图7 在用不同浓度 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液处理的纸上金离子色层谱自显影图

1——纸未经处理; 2——纸经0.5%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 处理;  
3——纸经1%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 处理; 4——纸经2%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 处理; 5——纸经4%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 处理。

从图7及图8可见, 随 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度的增加, 金离子在纸上的吸附急剧减少, 当浓度增至2%以上时, 到达前沿的金离子量(97%)已无明显的增加, 故取2% $\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度已够。

(3) **2%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液对色层纸的处理效果** 为进一步观察2% $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液的处理效果, 将原点金加样量减少到千分之一微克, 比较了0.001微克、0.01微克、0.1微克和1微克四个加样量。分为不含明胶和含1%明胶两组。经色层分离后, 分别测量到达前沿的金离子百分比, 所得结果列于表1中。

从表中数据可看出, 在经2% $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液处理过的Whatman No.1色层纸上, 当金离子量进一步减少至千分之一微克, 且含1%明胶时, 仍有95%的金离子能迁移到前沿, 因此, 这一方法对消除金离子在纸上的吸附是非常

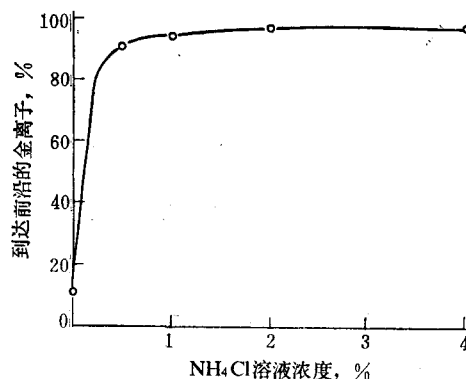


图8 处理色层纸的 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液浓度与到达前沿的金离子量的关系

有效的。

表1 在经2% $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液处理的色层纸上不同加样量下到达前沿的金离子百分比

原点金离子加样量, 微克	到达前沿的金离子百分比, %	
	样品中无明胶	样品中含 1%明胶
0.001	95.4	94.9
0.01	98.3	96.9
0.1	97.8	96.8
1	98.4	

### 3. 放射性胶体金-198注射液的分析

用药典上的原分析方法和经本文改进的方法, 对放射性胶体金-198注射液产品同时进行分析对比, 所得色层谱自显影图及扫描图列于图9。同时对其中部分产品以罗丹明B萃取分光光度法<sup>[5]</sup>测定金离子含量作为对照, 三种方法的分析结果列于表2中。

从图9可以清晰地看到, 原分析方法由于金离子存在严重的吸附, 能到达前沿的量很少, 自显影图中可见严重的吸附拖尾(见图9-①)。同一样品用本文改进后的方法分析, 由于消除了吸附, 拖尾现象消失, 前沿金离子斑点非常清晰(见图9-②)。

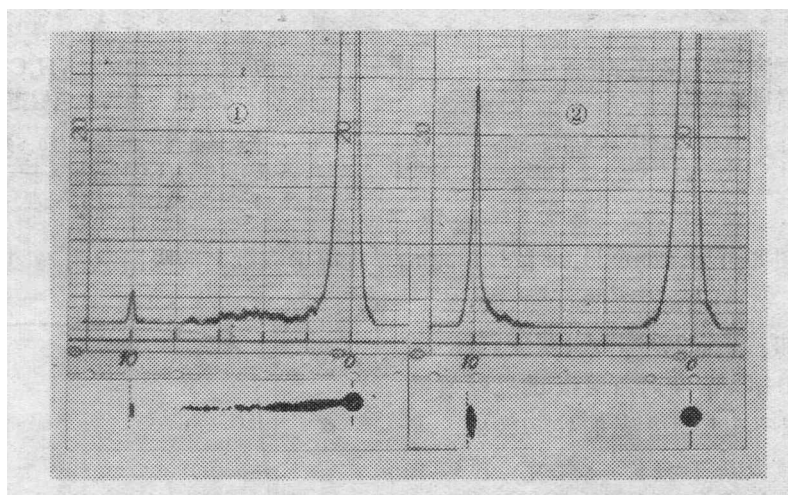


图9 放射性胶体金-198注射液产品的色层谱自显影图及扫描图

①——色层纸未处理; ②——色层纸经2% $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液处理。

比较表2中的5、6、7号样品, 用原方法分析的结果是合格的, 金离子含量小于2%; 而用本文方法分析, 金离子含量大于2%, 为不合格产品。可见原来药典中推荐的方法在关键的时候, 不能有效地控制该产品的质量。同时从表2中也可见本文方法与萃取分光光度法得到的金离子含量符合, 方法是可靠的, 可作为放射性胶体金-198注射液产品的有效的常规质量控制方法。

表2 不同方法分析胶体金-198注射液中金离子含量的结果

样品号	样品中金离子含量, %		
	原方法	本文方法	萃取分光光度法
1	26.31	31.67	/
2	4.19	9.05	8.74
3	2.52	5.18	5.60
4	2.83	5.77	5.46
5	1.77	3.63	3.70
6	1.87	2.87	/
7	1.62	2.42	/
8	0.30	0.90	/
9	0.09	0.25	0.28
10	0.04	0.12	/

## 4. 几点讨论

(1) Харламь [7] 曾建议将稳定金同位素载体加在起点上方 1.5—2 厘米处, 待放射性制剂中的金-198 离子迁移到此处时, 与之一起移动, 从而达到降低放射性吸附的目的。对此我们进行了观察。金离子含量的分析结果列于表 3 中。放射性胶体金-198 注射液样品的色层谱自显影图示于图 10。从图中可以看到自加稳定金同位素载体处至前沿之间的放射性吸附确实可以消除, 但从加载体处至原点的吸附依然存在。表 3 中的数据也清楚地说明了这一点。由于加载体能消除部分吸附, 所以其金离子含量分析值较不加载体时高; 又由于它并未能完全消除吸附, 所以仍比本文方法所得结果低, 因此不能根本解决问题。

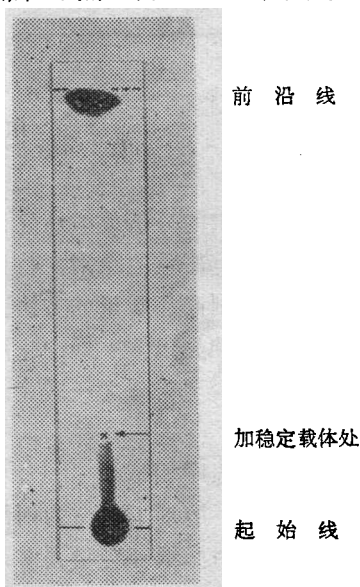


图10 胶体金-198注射液的色层谱自显影图

(2) 在采用丙酮-水-盐酸 (7:2:1) 这一溶剂时, 色层分离过程中并未见到胶体受到溶解破坏 [11] 而使金离子含量增加的现象。用本文方法测得的胶体金样品中金离子最小含量为 0.12%, 可见在该溶剂中胶体是稳定的。

表3 不同分析方法得到的胶体金-198注射液的金离子含量

序号	样品中金离子含量, %		
	原方法		本文方法
	不加载体	原点上 2 厘米处加载体	
1	0.04	0.07	0.12
2	0.30	0.63	0.82
3	0.70	2.60	4.87
4	26.32	29.04	32.04

(3) 实验表明, 酸度较高的①号溶剂中到达前沿的金离子量较高, 预处理色层纸也是以酸性的 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液为好。可见保持一定的酸度, 有利于金离子在色层纸上的迁移。

至于2%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液处理色层纸后, 可以消除金离子在纸上吸附, 其机制还有待于进一步探讨。

### 5. 方法的精密度

以6—12个样点测定了三次, 分别测量计算金离子含量。结果列于4。

表4 本文方法分析时的精密度数据

序号	平行测定次数 n	平均金离子量 $\bar{C}$ , %	均方根误差 $\sigma$	可信度取95%时的 Student值 t	置信区间 $\bar{C} \pm \frac{\sigma t}{\sqrt{n}}$
1	10	0.25	$\pm 0.075$	2.26	$(0.25 \pm 0.05)\%$
2	12	2.18	$\pm 0.233$	2.20	$(2.18 \pm 0.15)\%$
3	6	17.82	$\pm 0.878$	2.57	$(17.82 \pm 0.92)\%$

## 四、结 论

(1) 现行药典上规定的分析放射性胶体金-198注射液中金离子含量的纸上色层法, 由于微量金离子在色层纸上有严重的吸附, 特别由于明胶的存在, 使金离子含量的分析值大为偏低, 不能作为有效的控制产品质量的方法。

(2) 本文将色层纸预先以2%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液处理后再用于色层分离, 可消除金离子在纸上的吸附, 即使金离子量少至千分之一微克, 且含1%明胶, 也可有95%的金离子能到达色层前沿。

(3) 本方法的分析程序如下:

仍用上行纸色层法, 溶剂不变, 为丙酮-水浓盐酸(7:2:1)。色层纸预先用2%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液浸泡1分钟, 取出后用滤纸轻轻吸去多余溶液, 挂于100℃左右的干燥箱中烘干, 保存于干燥器中备用。点样后需吹干再挂入溶剂中分离, 否则胶体颗粒会移动。前沿展开至10厘米, 时间约需1小时。胶体金停留在原点, 离子金迁移到前沿。

(4) 本方法测得的胶体金溶液中金离子含量与罗丹明B萃取分光光度法符合, 方法是可靠的。

建议以本方法作为药典中测定放射性胶体金-198注射液放化纯度的方法, 可准确有效地控制这一产品的质量。

### 参 考 文 献

- [1] Pharmacopoe Francaise VIII ème Edition, 1074 (1965).
- [2] European Pharmacopoeia III, 389 (1975).
- [3] Deutsches Arzneibuch, 8 Ausgabe, 635 (1978).
- [4] British Pharmacopoeia, 892 (1980).

- [ 5 ] WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, WHO Technical Report Series No. 567, Geneva, 35, (1975).
- [ 6 ] 中华人民共和国药典 (二部), 302 (1977).
- [ 7 ] В. Т. Харламов и др., Методы Анализа Радиоактивных Препаратов, Атомиздат, М., 162 (1965).
- [ 8 ] P. Veselý, *Česká Farm.*, 16, 105 (1967).
- [ 9 ] Radioisotope Production and Quality Control, Technical Reports Series No. 128, IAEA, Vienna, 211 (1971).
- [ 10 ] А. Нфус, *J. Chromatog.*, 28, 379 (1967).
- [ 11 ] J. Cifka, Analytical Control of Radiopharmaceuticals, IAEA, Vienna, p. 153 (1970).
- [ 12 ] 金华龙, 胶体金-198 的纸上色层行为研究, 原子能研究所内部资料, 1975.
- [ 13 ] R. J. Drašković, R. S. Drašković, *Isotopenpraxis*, 4, 314 (1968).
- [ 14 ] A. K. Majumdar, M. M. Chakrabartty, *Anal. Chim. Acta*, 19, 129 (1958).
- [ 15 ] 景烈, 李文英, 罗丹明 B 萃取分光光度法测定胶体金溶液中的微量金离子, 1981 年, 待发表.

## AN INVESTIGATION OF THE CONDITIONS OF DETERMINING IONIC GOLD IN COLLOIDAL GOLD-198 SOLUTION BY PAPER CHROMATOGRAPHY

JING LIE      LI WENYING

*(Institute of Atomic Energy, Academia Sinica, P. O. Box 275, Beijing)*

### ABSTRACT

The adsorption phenomena of trace ionic gold in paper chromatography were investigated. The paper chromatography with acetone-water-hydrochloric acid (7:2:1) as solvent, which is being used as the standard method for controlling radiochemical purity of colloidal gold-198 injection in pharmacopoeia of many countries, was found to give lower analytical value of ionic gold which was seriously adsorbed on the chromatographic paper.

We found that by immersing the chromatographic paper previously in a 2%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  solution, the adsorption of ionic gold on the paper can be eliminated. By this method the content of ionic gold obtained agrees with the result of extraction-spectrophotometry, and the product quality can also be controlled effectively.

This method is recommended as the pharmacopoeia method for the determination of ionic gold in the colloidal gold-198 injection.