

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.23.008

等离子体质谱法同时测定不同产地制白附子药材中6种重金属元素含量及其聚类分析

赵倩^{1,2}, 赵彤乐³, 叶盛英¹, 沈西宅¹, 杨晶¹, 王晓飞¹, 魏源祯^{1△}

(1. 中国人民解放军联勤保障部队第九八三医院药剂科, 天津 300142; 2. 天津中医药大学, 天津 300193;
3. 天津市北辰医院体检中心, 天津 300400)

摘要:目的 建立同时测定不同产地制白附子药材中, 铅(Pb)、镉(Cd)、铬(Cr)、铜(Cu)、汞(Hg)、砷(As)6种重金属含量的等离子体质谱法(ICP-MS)。方法 测定时选取同位素²⁰⁸Pb和²⁰²Hg,以²⁰⁹Bi作内标物,¹¹⁴Cd以¹¹⁵In作内标物,⁶³Cu和⁵²Cr以⁴⁷Sc作内标物,⁷⁵As以⁷³Ge作内标物,微波消解后,采用ICP-MS同时测定不同产地白附子药材中6种重金属元素的含量。结果 对12个不同产地的白附子中6种重金属含量进行系统聚类分析发现,部分产地的制白附子药材中有Cd,Cr,As,Hg等超标现象,不同产地的制白附子药材中6种重金属元素含量差异较大,6种重金属元素的线性相关系数(r)均大于0.9977;平均加样回收率为88.18%~100.34%,RSD为0.59%~2.36%($n=6$)。结论 该方法操作简单,分析速度快,准确度高,可用于不同产地白附子药材中6种重金属元素的含量测定及其质量评价。

关键词:白附子药材;不同产地;电感耦合等离子体质谱法;重金属元素;聚类分析

中图分类号:R932;R917

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)23-0026-05

Simultaneous Determination of Six Heavy Metal Elements and Cluster Analysis of Processed *Typhonii Rahizoma* from Different Localities by ICP-MS

ZHAO Qian^{1,2}, ZHAO Tongle³, YE Shengying¹, SHEN Xizhai¹, YANG Jing¹, WANG Xiaofei¹, WEI Yuanzhen¹

(1. Department of Pharmacy, No. 983 Hospital of PLA, Tianjin, China 300142; 2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, China 300193; 3. Medical Examination Center, Tianjin Beichen Hospital, Tianjin, China 300400)

Abstract: Objective To establish an ICP-MS method for the simultaneous determination of six heavy metal elements(Pb, Cd, Cr, Cu, Hg and As) of processed *Typhonii Rahizoma* from different localities. **Methods** The internal standard was ²⁰⁹Bi for ²⁰⁸Pb and ²⁰²Hg, ¹¹⁵In for ¹¹⁴Cd, ⁴⁷Sc for ⁶³Cu and ⁵²Cr, ⁷³Ge for ⁷⁵As, and the ICP-MS method was used for simultaneous determination of the six heavy metal elements in *Typhonii Rahizoma* from different localities after the samples were digested by microwave digestion. **Results** Cluster analysis of six heavy metal elements in *Typhonii Rahizoma* from 12 localities showed that the Cd, Cr, As and Hg were above the standards. The content of the six heavy metal elements in the processed *Typhonii Rahizoma* from different localities had obviously difference, the linear correlation coefficient(r) of six heavy metal elements were above 0.9977 and the average recovery was in the range of 88.18% - 100.34%, RSD was in the range of 0.59% - 2.36% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, rapid and accurate, which can be used for the content determination and quality evaluation of six heavy metal elements in processed *Typhonii Rahizoma* from different localities.

Key words: processed *Typhonii Rahizoma*; different localities; ICP-MS; heavy metal elements; cluster analysis

第一作者:赵倩,女,大学本科,药师,研究方向为中药制剂分析,(电子信箱)zp768@sina.com。

△通信作者:魏源祯,女,大学本科,研究方向为中药制剂分析,(电子信箱)1029300443@qq.com。

通过DAD全波长扫描对照品溶液,发现靛蓝、靛玉红分别在285 nm和289 nm波长处有最大吸收。比较285 nm和289 nm波长下的色谱图,在289 nm波长处样品主成分峰与其余杂质峰分离度好,干扰较少,灵敏度高,且样品中靛玉红的峰面积远小于靛蓝,故采用289 nm作为测定波长。

本研究中建立的高效液相色谱法可同时测定双料喉风散中靛蓝和靛玉红的含量,且方法精密度、重复性、准确度均良好,可用于检测不同批次的样品,为更好地控制双料喉风散的质量提供了参考。

参考文献:

[1] WS₃-B-3033-98,中华人民共和国卫生部药品标准·中药

成方制剂(第十六册)[S].

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:19.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:199.

[4] 赵电红,张殿云,谢来洪,等. HPLC法同时测定口腔溃疡散II号中靛蓝和靛玉红的含量[J]. 药物分析杂志,2017,37(7): 96-101.

[5] 闫玮,张楠,刘建利. HPLC测定口腔溃疡散中色胺酮、靛蓝、靛玉红的含量[J]. 中成药,2009,31(5):743-745.

[6] 李喜平,徐小岗,翁靖平. 高效液相色谱法测定珍元清咽散中靛蓝的含量[J]. 中国药业,2003,12(9):31-32.

(收稿日期:2019-04-09)

白附子辛为天南星科植物独角莲 *Typhonium giganteum* Engl. 的干燥块茎。一般在秋季进行采挖,除去须根和外皮,晒干备用,味辛、性温,具有定惊搐、祛风痰、解毒、散结等作用。由于白附子有毒,故一般用其炮制品,临床主要用于治疗中风痰壅,口眼歪斜,痰厥头痛,惊风癫痫等^[1-2]。白附子的主要化学成分有机酸、氨基酸、鸟苷和腺苷,此外还有挥发油成分^[3-6]等,具有抗炎、镇惊、抗惊厥、抗肿瘤及提高免疫力的作用。目前,对白附子的研究主要有对其化学成分、无机元素、炮制前后化学成分和白附子中铝(Al)的含量测定研究^[7-13],未见对其重金属[铅(Pb)、镉(Cd)、铬(Cr)、铜(Cu)、汞(Hg)、砷(As)]含量测定的报道。白附子药材使用的是其干燥块茎部分,由于近年来环境污染,以及各种农药、化肥等的大量使用和工业废水的排放对土壤造成了不可弥补的损害,破坏了中药的生长环境,由于重金属在人体内易累积,难以排除,且在人体易于和酶蛋白结合,使蛋白质失去活性,损伤人体组织细胞。

目前,对中药材的重金属测定方法主要有比色法、原子吸收光谱法^[14]、原子荧光光谱法^[15]、电感耦合等离子-光学发射光谱法(ICP-OES)^[16]、等离子体质谱法(ICP-MS)^[17]等。2015年版《中国药典(四部)》收载的为原子吸收光谱法和IC-PMS法,但由于比色法易受到样品干扰,只能用于定性,原子吸收和原子荧光光谱法具有检测灵敏度高、定量准确的特点,但只能逐个分析,不能同时测定多种元素。电感耦合等离子体法因其具有较高灵敏度和检出限,是目前公认的同时测定多种痕量元素较常用的方法,广泛用于食品、药品、环境等各个行业。本研究中参考2015年版《中国药典(四部)》重金属指导原则和文献^[18]建立同时测定不同产地的12批次制白附子药材中6种重金属元素含量的ICP-MS法,并采用聚类分析对其结果进行评价。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7500A型电感耦合等离子体质谱仪(美国安捷伦公司);Milestone ETHOSA微波消解仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司);VB24型赶酸器(北京Labtech公司);BP210S型电子分析天平(德国赛多利斯有限公司)。

1.2 标准物质与试剂

汞元素标准溶液(购自中国计量科学研究院,1 000 μg/mL,批号为GBWE 081593-1702);Pb, Cd, As, Cu, Cr标准溶液(1 000 μg/mL,批号为GNM-M251678-2016),内标溶液Bi, Ge, Sc, In标准溶液(1 000 μg/mL,批号为GSB 04-1719-2004),Au元素标准溶液(1 000 μg/mL,批号为GSB 04-1715-2004),均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;KED调谐液(美国Agilent公司);65%优级硝酸(美国

Merck公司);水为超纯水(美国Millipore公司);容量瓶和移液管均为聚乙烯塑料瓶(德国布兰德公司);12批白附子药材样品为我国不同产地种植和栽培,均购自河北安国中药材市场和天津中药材零售药店,所有药材均经第九八三医院叶盛英主任药师鉴定为正品。其药材信息见表1。

表1 12批不同产地白附子药材样品

编号	品种	栽培或野生	产地	编号	品种	栽培或野生	产地
S1	白附子	野生	贵州铜仁	S7	白附子	野生	甘肃武威
S2	白附子	野生	贵州遵义	S8	白附子	栽培	山东临沂
S3	白附子	栽培	江苏盐城	S9	关白附子	栽培	辽宁西丰
S4	白附子	野生	宁夏固原	S10	白附子	野生	湖北恩施
S5	白附子	野生	陕西汉中	S11	白附子	野生	四川江油
S6	白附子	野生	河北保定	S12	白附子	野生	四川绵阳

2 方法与结果

2.1 ICP-MS工作条件

ICP-MS仪器参数:RF发射功率为1 300 W,雾化气流速为0.87 L/min;辅助气体流量为1.0 L/min;冷却气体流量为18.0 L/min;采样深度为7.2 mm,样品提升速率为1.0 L/min,液氩压力为0.6 MPa;脉冲电压为850 V;样品冲洗时间为40 s,延迟16 s;数据采集模式为全定量方式;读数时间为3 s,每个样品测定3次。测定时选取同位素²⁰⁸Pb和²⁰²Hg,以²⁰⁹Bi作内标物,¹¹⁴Cd以¹¹⁵In作内标物,⁵²Cr和⁶³Cu以⁴⁷Sc作内标物,⁷⁵As以⁷³Ge作内标物质。

2.2 溶液制备

标准贮备溶液:分别精密吸取1.2项下Hg单元素标准溶液1 mL及Pb, Cd, As, Cu, Cr多元素标准溶液1 mL,置同一100 mL容量瓶中,用2%硝酸稀释至刻度,摇匀,作为对照品混合贮备溶液。精密吸取上述对照品混合贮备溶液10 mL置100 mL容量瓶中,加2%硝酸稀释至刻度,摇匀,得每1 mL分别含Pb, Cd, As, Cu, Hg, Cr 1 μg的对照品混合溶液。

标准溶液:精密量取上述标准贮备溶液适量,采用仪器自动稀释功能分别稀释成每1 mL含Pb 5, 10, 20, 30, 40 ng;Cd 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 ng;Cr 5, 10, 15, 20, 25 ng;Cu 0.04, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80 μg;As 2, 6, 10, 16, 20 ng;含Hg 2, 4, 8, 12, 16 ng的系列标准溶液。

内标溶液:精密量取Sc, Bi, Ge, In单元素标准溶液适量,用超纯水稀释成每1 mL分别含Sc, Bi, Ge, In各0.1 μg的溶液。

供试品溶液:精密称取贵州铜仁产制白附子药材粉末0.5 g,置聚四氟乙烯微波消解罐中,加入硝酸10 mL,混匀,静置4 h,置微波消解仪中,按微波消解程序(见表2)进行消解。消解完成后,用赶酸器将消解液挥发至1~2 mL时,用少量水多次转移至50 mL聚四氟乙烯容

量瓶中,加入金单元素标准溶液($1\text{ }\mu\text{g/mL}$) $200\text{ }\mu\text{L}$,加水稀释并定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液。同时,制备样品空白溶液。

表2 微波消解仪工作条件

步骤	升温(min)	保持(min)	功率(W)	温度($^{\circ}\text{C}$)
1	3	3	1 300	120
2	2	5	1 600	150
3	2	10	1 600	190
4	5	3	1 600	130

2.3 方法学考察

线性关系考察:取2.2项下系列标准溶液,按2.1项下ICP-MS工作条件测定,采用2.2项下 $0.1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 内标溶液作为校正,依次将进样管插入各个系列标准溶液中测定,内标管插入内标溶液中,以各个元素测量的信号值作为纵坐标(Y)、相对应质量浓度(X)为横坐标,进行线性回归,各元素线性方程及相关系数见表3。

表3 6种重金属元素线性方程及相关参数

元素	线性方程	线性范围(ng/mL)	r
^{208}Pb	$Y=0.0083X+0.0123$	$0\sim40$	0.9978
^{111}Cd	$Y=0.0725X+0.0054$	$0\sim4$	0.9991
^{52}Cr	$Y=0.0186X+0.0156$	$0\sim25$	0.9977
^{63}Cu	$Y=0.0001X+0.0002$	$0\sim800$	0.9996
^{202}Hg	$Y=0.0080X-0.0061$	$0\sim16$	0.9995
^{75}As	$Y=0.0144X+0.0008$	$0\sim20$	0.9992

精密度试验:在2.2项下各元素线性范围内,分别取低、中、高浓度的混合系列标准溶液,按2.1项下工作条件进行测定,每个质量浓度重复测定6次,记录信号值。结果Pb的RSD分别为3.16%,2.27%,2.06%;Cd的RSD分别为4.28%,3.36%,2.97%;Cr的RSD分别为2.83%,3.22%,3.03%;Cu的RSD分别为0.82%,0.91%,0.53%;Hg的RSD分别为1.88%,1.36%,1.25%;As的RSD分别为4.03%,3.17%,2.21% ($n=6$)。RSD均在5%内,表明仪器精密度良好。

重复性试验:精密称取药材粉末(编号为S1) 0.5 g ,同时制备6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下条件进行测定,分别计算6种元素的含量。结果Pb,Cd,Cr,Cu,Hg,As的平均含量为 $0.4126,0.2318,0.5615,1.2058,0.1153,1.0517\text{ mg/kg}$,RSD分别为2.77%,4.42%,1.23%,1.06%,1.29%,2.15% ($n=6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:精密称取药材粉末(编号为S1) 0.5 g ,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下条件分别于0,1,2,4,8,12,16,20,24 h时进样测定,记录各元素的信号值。结果Pb,Cd,Cr,Cu,Hg,As的RSD分别为3.34%,2.28%,1.58%,0.56%,1.96%,2.07% ($n=$

6),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

加样回收试验:精密称取已知含量的药材粉末(编号为S1) 0.25 g ,置聚四氟乙烯消解罐内,同时制备6份,另取2.2项下的多元素系列标准溶液和汞单元素标准溶液,用水稀释成每 1 mL 含Pb,Cr,Cd,As,Cu各 $100\text{ }\mu\text{g/L}$ 和Hg $30\text{ }\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液,作为加标溶液,分别向上述6份样品中加入加标溶液各 1 mL ,再按2.2项下方法制备供试品溶液,同时做空白样品,按2.1项下工作条件进行测定,分别计算各元素的加样回收率,结果见表4。

表4 加样回收试验结果($n=6$)

元素	取样量	样品含量(ng)	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
Pb	0.2502	103.23	100	201.24	98.01	97.83	1.54
	0.2511	103.60	100	203.70	100.10		
	0.2541	104.84	100	201.96	97.12		
	0.2535	104.59	100	202.06	97.47		
	0.2527	104.26	100	199.89	95.63		
	0.2518	103.89	100	202.52	98.63		
Cd	0.2502	58.00	100	151.23	93.23	93.26	1.19
	0.2511	58.20	100	152.53	94.33		
	0.2541	58.90	100	151.95	93.05		
	0.2535	58.76	100	150.01	91.25		
	0.2527	58.58	100	152.77	94.19		
	0.2518	58.37	100	151.88	93.51		
Cr	0.2502	140.49	100	236.97	96.48	96.16	0.59
	0.2511	140.99	100	237.83	96.84		
	0.2541	142.68	100	238.82	96.14		
	0.2535	142.34	100	237.62	95.28		
	0.2527	141.89	100	238.36	96.47		
	0.2518	141.39	100	237.15	95.76		
Cu	0.2502	301.69	100	399.22	97.53	95.56	2.36
	0.2511	302.78	100	399.62	96.84		
	0.2541	306.39	100	399.89	93.50		
	0.2535	305.67	100	397.65	91.98		
	0.2527	304.71	100	401.24	96.53		
	0.2518	303.62	100	400.59	96.97		
Hg	0.2502	28.85	30	55.21	87.87	88.18	1.32
	0.2511	28.95	30	55.87	89.73		
	0.2541	29.30	30	55.67	87.90		
	0.2535	29.23	30	56.01	89.27		
	0.2527	29.14	30	55.48	87.80		
	0.2518	29.03	30	54.98	86.50		
As	0.2502	263.14	100	365.22	102.08	100.34	1.05
	0.2511	264.08	100	364.59	100.51		
	0.2541	267.24	100	366.43	99.19		
	0.2535	266.61	100	365.92	99.31		
	0.2527	265.76	100	366.02	100.26		
	0.2518	264.82	100	365.53	100.71		

2.4 样品重金属元素含量测定

取上述 12 个不同产地的制白附子药材,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,同法制备空白溶液,按 2.1 项下条件进行测定,结果见表 5。

表 5 不同产地制白附子药材重金属元素含量测定结果

编号	Pb	Cd	Cr	Cu	Hg	As
S1	0.412 6	0.231 8	0.561 5	1.205 8	0.115 3	1.051 7
S2	0.225 4	0.105 4	0.123 5	6.213 6	0.086 7	0.253 4
S3	1.817 2	0.325 6	1.976 3	2.161 1	0.402 8	0.652 8
S4	1.284 6	0.221 2	0.628 5	3.342 8	0.253 4	1.562 9
S5	0.044 2	0.106 3	0.418 2	1.413 3	ND	ND
S6	2.105 6	0.200 1	2.103 7	3.312 4	0.305 6	0.832 4
S7	0.321 1	0.152 6	0.665 2	5.012 8	ND	0.912 7
S8	1.052 8	0.176 4	1.325 6	6.052 7	0.182 4	ND
S9	0.556 7	0.226 9	0.892 4	4.123 8	0.202 2	1.108 7
S10	0.987 1	0.362 8	1.684 7	2.221 5	0.326 3	1.286 9
S11	2.103 2	0.188 6	1.553 8	1.203 7	0.228 5	2.325 8
S12	2.011 4	0.311 3	2.321 6	3.215 4	0.165 7	2.152 4

注:ND 为未检出。

2.5 聚类分析

采用 SPSS 20.0 统计学软件对 12 个不同产地的制白附子药材中 6 种重金属含量进行聚类分析,采用组间联接方法、平均 Euclidean 距离进行层次聚类。当平均 Euclidean 距离为 5 时,12 批样品共分为五大类,结果见图 1。其中,S11(四川江油)为一类,S3(江苏盐城)、S10(湖北恩施)、S6(河北保定)、S12(四川绵阳)为第二类;S1(贵州铜仁)、S5(陕西汉中)为第三类,S2(贵州遵义)、S8(山东临沂)为第四类,S7(甘肃武威)、S9(辽宁西丰)、S4(宁夏固原)为第五类。聚类结果显示,同类间的重金属含量结果相似度较高,不同类之间差异较大。因此,可以初步判断不同产地制白附子药材中重金属含量的差异。

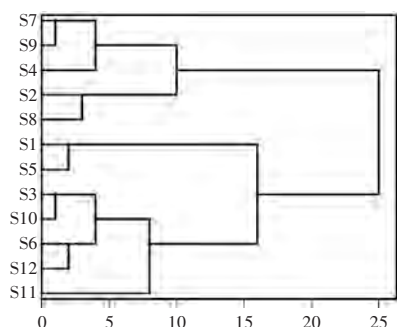


图 1 制白附子药材中 6 种重金属系统聚类分析结果

3 讨论

3.1 供试品制备中酸的选择

本研究分别采用 HNO_3 , $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$ (9 : 1), $\text{HNO}_3 - \text{HCl}$ (8 : 2), $\text{HNO}_3 - \text{HF}$ (9 : 1) 等体系进行消解样品,结果发现 4 种体系的酸都可以把白附子药材消解完

全,且消解液澄清无残渣,但考虑到酸体系越复杂,对试验结果的测定干扰就越大,而且酸体系越多,引入的元素就越多,进而会影响测定结果的准确性,如果采用 $\text{HNO}_3 - \text{HCl}$ (8 : 2) 作为消解液时,就会引入 Cl, Cl 与氩 (Ar) 形成的 $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ 会干扰 ^{75}As 的测定,如果采用 $\text{HNO}_3 - \text{HF}$ (9 : 1) 体系,会引入 HF,在赶酸过程中,若 HF 赶酸不彻底,在测定时会对仪器的雾化室、通透镜和炬管产生腐蚀作用,从而损坏仪器,综合考虑并参考 2015 年版《中国药典(四部)》重金属的指导原则,故采用 HNO_3 作为制白附子的消解体系。由于所测重金属元素为痕量物质,因此试验所用移液管和容量瓶均为聚乙烯塑料材质,使用前需用 20% 硝酸溶液浸泡过夜,减少污染,从而保证试验数据的准确性。

3.2 供试品制备要点

本研究中,汞的回收率较低,基本为 50% ~ 60%,通过多次试验发现,在供试品制备过程中,赶酸温度影响很大,如果超过 140 $^{\circ}\text{C}$,汞会挥发掉,影响结果的准确性,如果低于 80 $^{\circ}\text{C}$,回收率基本可在 80% 以上,因此试验中赶酸时需要温度较低,保证汞的测定。本试验中发现汞具有强的吸附性,极易附着在仪器的采样锥、样品管和炬管上,影响其他元素的测定,故在样品中总要加入一定量的金元素标准溶液(汞可与金形成金汞齐,使其溶解,减少仪器污染)。

3.3 ICP-MS 的优点

ICP-MS 在测定中药重金属时具有较高的灵敏度和准确性,为了使仪器的灵敏度最高,减少相互干扰,补偿基体效应,依据质量数相近、电离电位相近的原则选择 ^{47}Sc 作为 ^{52}Cr , ^{209}Bi 作为 ^{202}Hg 和 ^{208}Pb , ^{72}Ge 作为 ^{64}Cu 和 ^{75}As , ^{115}In 作为 ^{114}Cd 的内标溶液,结果发现可减少元素间的干扰,保证了测定结果的准确性。采用 ICP-MS 法一次进样同时测定多个元素,缩短试验时间,提高效率,解决了原子吸收、原子荧光光谱等仪器对重金属元素逐个分析的现状,提高了工作效率。

3.4 结果判定

目前,药典对部分药材的重金属含量具体规定为 $\text{Pb} \leq 5 \text{ mg/kg}$, $\text{Cd} \leq 0.3 \text{ mg/kg}$, $\text{Cr} \leq 2 \text{ mg/kg}$, $\text{Cu} \leq 20 \text{ mg/kg}$, $\text{Hg} \leq 0.2 \text{ mg/kg}$, $\text{As} \leq 2 \text{ mg/kg}$ 。本研究结果显示,S3 号的 Cd 和 Hg 元素超标,S6 号的 Cr 和 Hg 超标,S10 号的 Cd 和 Hg 超标,S11 号的 Hg 和 As 超标,S6 号、S12 号的 Cr 超标,S12 号的 Cd, Cr, Hg 超标,这可能是由于当地长期施用工业磷肥造成的,以及和当地的植物生长环境、土壤污染程度有关。参考其他药材重金属含量限度判断,已有部分产地的药材重金属含量超标,应引起当地监管部门的注意,为了防止重金属的污染必须从源头做起,如在符合《中药材生产质量管理规范》的产地进行种植和栽培,严格控制化肥的使用等,保证药