

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.02.023

电感耦合等离子体-质谱法测定益肾壮骨丸中6种重金属含量*

刘 慧,王 健,张 璐,尹 萌,李 奇[△]

(江苏省扬州市食品药品检验检测中心,江苏 扬州 225000)

摘要:目的 建立测定益肾壮骨丸中6种重金属元素含量的电感耦合等离子体-质谱(ICP-MS)法。方法 射频功率为1 550 W,冷却气、辅助气流速分别为14.0,0.8 L/min,采样锥和截取锥为镍锥,重复次数为3次,采样模式为KED模式,蠕动泵转速为40 r/min,并加入内标元素校正响应信号波动。结果 铅(Pb)、砷(As)、汞(Hg)、镉(Cd)、铜(Cu)、铬(Cr)元素质量浓度分别在0~20 ng/mL,0~20 ng/mL,0~2 ng/mL,0~10 ng/mL,0~500 ng/mL,0~100 ng/mL范围内与各待测元素/内标元素仪器信号强度线性关系良好($r > 0.995$);检测限分别为0.029,0.005,0.016,0.001,0.022,0.022 ng/mL;多数元素精密度、重复性试验的RSD小于2.0%;平均加样回收率分别为88.03%,96.64%,83.75%,91.51%,95.63%,94.49%,RSD分别为6.99%,5.41%,3.68%,2.70%,1.87%,3.31%($n=6$)。结论 该方法灵敏、准确,可用于益肾壮骨丸中重金属元素Pb,As,Hg,Cd,Cu,Cr的含量测定,并有助于评价其各生产环节产品的安全性。

关键词:电感耦合等离子体-质谱法;益肾壮骨丸;重金属元素;含量测定

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)02-0087-04

Content Determination of Six Heavy Metals in Yishen Zhuanggu Pills by ICP-MS

LIU Hui, WANG Jian, ZHANG Lu, YIN Meng, LI Qi

(Yangzhou Center for Food and Drug Control, Yangzhou, Jiangsu, China 225000)

Abstract: Objective To establish an inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) method for the content determination of six heavy metals in Yishen Zhuanggu Pills. **Methods** The radio frequency (RF) power was 1 550 W, the flow rates of cooling gas and auxiliary gas were 14.0 L/min and 0.8 L/min respectively, the sampling cone and interception cone

*基金项目:江苏省药学会-奥赛康临床药理学基金科研项目[A201746]。

第一作者:刘慧,女,硕士研究生,主管中药师,研究方向为药品、化妆品检验,(电子信箱)liu_huiabc@163.com。

[△]通信作者:李奇,男,大学本科,副主任中药师,研究方向为药品、食品、化妆品监督检验,(电子信箱)liqi8082@126.com。

粒的质量控制。标准汤剂中槲皮素含量为2.88 mg/g,且不同产地样品含量无明显差异,但不同批次间槲皮素含量存在一定差异,可能受采收时间和贮藏方式的影响。配方颗粒中的槲皮素含量均低于标准汤剂中的含量,考虑受原药材质量差异及制备工艺等因素的影响。后续可进一步探更多指标性成分及其在原药材、标准汤剂、配方颗粒中的量及转移情况。且还需从配方颗粒与标准汤剂及传统汤剂的关联性、差异性等方面,并结合药效物质基础、药理活性等多方面进行研究,为中药配方颗粒质量控制体系的建立提供依据。

参考文献

- [1] 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,2020:106.
- [2] 韩 媛. 仙鹤草及常见伪品的鉴定[J]. 长春中医药大学学报,2009,25(6):968.
- [3] 巴晓雨,何永志,路 芳,等. 仙鹤草研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2011,13(5):258-261.
- [4] 张 东,郭国栋,张术禹. 仙鹤草的药理和临床研究新进展[J]. 中国药业,2004,13(6):79-80.
- [5] 路 芳,巴晓雨,何永志. 仙鹤草的化学成分研究[J]. 中草药,2012,43(5):851-855.
- [6] 武晓丹,金哲熊,宛春雷,等. 仙鹤草醋酸乙酯有效部位体外诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡及其机制研究[J]. 现代

药物与临床,2011,26(2):119-122.

- [7] 王宝庆,金哲雄. 仙鹤草的化学成分及抗氧化研究进展[J]. 中草药,2011,42(10):167-169.
- [8] 潘 娅,刘红霞,庄玉磊,等. 仙鹤草中黄酮类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(24):2925-2927.
- [9] 刘位杰,梁敬钰,孙建博,等. 仙鹤草化学成分及药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2016,28(2):1-7.
- [10] 郝云芳,倪 艳,李先荣. 中药配方颗粒的质量控制方法研究进展[J]. 药物评价研究,2013,36(4):307-310.
- [11] 沈晓宇,刘雪松,毕宇安,等. 盐补骨脂标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中草药,2018,49(1):100-108.
- [12] 朱广伟,李西文,邹 兰,等. 赤芍饮片标准汤剂制备及质量标准研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2016,18(12):2062-2069.
- [13] 陈士林,刘 安,李 琦,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志,2016,41(8):1367-1375.
- [14] 李远辉,伍振峰,李延年,等. 基于粉体学性质分析浸膏干燥工艺与中药配方颗粒制粒质量的相关性[J]. 中草药,2017,48(10):1930-1935.
- [15] 陈林伟,秦昆明,徐雪松,等. 中药指纹图谱数据库的研究现状及展望[J]. 中草药,2014,45(21):3041-3047.
- [16] 曹 玲,王志刚,王连芝. 色谱法在中药指纹图谱研究中的应用[J]. 中国当代医药,2012,19(1):16-17.

(收稿日期:2021-04-13;修回日期:2021-08-31)

were nickel cone, the repetition times were three times, the sampling mode was KED mode, the peristaltic pump speed was 40 r/min, and internal standard elements were added to correct the response signal fluctuation. **Results** The mass concentrations of lead (Pb), arsenic (As), mercury (Hg), cadmium (Cd), copper (Cu) and chromium (Cr) showed a good linear relationship with the instrument signal intensity of each element to be tested / internal standard element in the range of 0 – 20 ng/mL, 0 – 20 ng/mL, 0 – 2 ng/mL, 0 – 10 ng/mL, 0 – 500 ng/mL, 0 – 100 ng/mL ($r > 0.995$), respectively. The limits of detection (LOD) were 0.029, 0.005, 0.016, 0.001, 0.022 and 0.022 ng/mL, respectively. The RSDs of precision and repeatability tests of most elements were less than 2.0%. The average recoveries of Pb, As, Hg, Cd, Cu and Cr were 88.03%, 96.64%, 83.75%, 91.51%, 95.63% and 94.49% with RSDs of 6.99%, 5.41%, 3.68%, 2.70%, 1.87% and 3.31% ($n = 6$), respectively. **Conclusion** The method is sensitive and accurate, it can be used for the determination of heavy metal elements Pb, As, Hg, Cd, Cu and Cr in Yishen Zhuanggu Pills, and it is helpful to evaluate the safety of the products in all production links.

Key words: ICP – MS; Yishen Zhuanggu Pills; heavy metal elements; content determination

益肾壮骨丸为专利方剂^[1-2],由山萸肉、杜仲、枸杞子、补骨脂、地龙等药材组方,具有补肝益肾、强壮筋骨、通经活络、理气止痛等功效。该制剂临床应用已久,治疗骨质疏松、膝骨性关节炎、腰椎间盘突出等骨科病症疗效确切^[3-5]。中药重金属及有害元素残留问题日益突出,铅(Pb)、砷(As)、汞(Hg)、镉(Cd)、铜(Cu)是公认的有害重金属元素,6价铬(Cr)被国际癌症机构列为一级致癌物,可由劣质辅料包材或胶类药材引入,也可能与生产过程中使用的含铬不锈钢设备有关。服用中成药的风险主要来自中药材原料及其生产工艺。2020年版《中国药典(四部)》规定了中药材中Pb, As, Hg, Cd, Cu的含量测定方法,其中二法为电感耦合等离子体-质谱(ICP – MS)法^[6]。该方法具有灵敏度高、检测范围广、检测限低、精密度好、准确度高等优点。为进一步提高益肾壮骨丸临床用药的安全性,本研究中建立了测定其6种重金属元素含量的ICP – MS法,并设定工艺流程中间体质控点,分别测定药材提取浸膏、中间体和成品中此6种元素的含量,以监测其在生产工艺流程中各环节的含量,确保该制剂的生产安全性。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICP – Q型电感耦合等离子体质谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);MV3000型微波消解仪(奥地利Anton Parr公司);BHW – 09A型恒温消解仪(上海博通化学科技有限公司);KH5200DB型高功率数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);Milli – Q型超纯水机(美国Millipore公司);AB204N型电子分析天平(精度为十万分之一,美国Mettler Toledo公司)。

1.2 试剂

Y1 ~ Y3浸膏(批号分别为181119 – G, 181203 – G, 181218 – G);Y4 ~ Y6中间体(批号分别为181119 – F, 181203 – F, 181218 – F),Y7 ~ Y9成品(批号分别为181119, 181203, 181218),均为宝应县中医院自制。Cr,

Pb, Cd, As, Hg, Cu及锗(Ge)、铟(In)、铋(Bi)单元素标准溶液(批号分别为19B041, 19B027 – 5, 19C021 – 1, 19A001 – 7, 19C034 – 2, 19A021 – 8, 19A106, 198033, 198004 – 2),质量浓度均为1 000 μg/mL,均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;硝酸为优级纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

射频功率:1 550 W;冷却气流速:14.0 L/min;辅助气流速:0.8 L/min;采样锥和截取锥:镍;重复次数:3次;采样模式:KED碰撞模式;蠕动泵转速:40 r/min^[7-9]。

同位素选择:⁶³Cu和⁷⁵As以⁷³Ge为内标,¹¹¹Cd以¹¹⁵In为内标,²⁰²Hg和²⁰⁸Pb以²⁰⁹Bi为内标。

2.2 溶液制备

取样品0.3 g,精密称定,用5%硝酸5 mL灌装,混匀,置100℃电热板上,预消化3 h,进行微波消解(消解程序见表1)。然后置120℃电热板上,加热至棕红色蒸汽挥尽,浓缩至2 ~ 3 mL,冷却至室温,用水定容至50 mL,摇匀,即得供试品溶液。以5%硝酸作空白对照溶液。

表1 微波消解程序

Tab. 1 Microwave digestion procedure

步骤	功率(W)	爬坡时间(min)	保持时间(min)	风扇强度
1	800	5	10	1级
2	1 300	10	30	1级
3	0		15	3级

注:升压速率0.3 bar/s;温度上限200℃;压力上限35 bar。

Note: The pressure rise rate is 0.3 bar/s. The upper temperature limit is 200℃. The upper pressure limit is 35 bar.

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取Cr, Pb, Cd, As, Hg, Cu单元素标准溶液各1 mL,用5%硝酸稀释成质量浓度Pb为0, 1, 5, 10, 20 ng/mL, Cd为0, 0.5, 2.5, 5, 10 ng/mL, As为0, 1, 5, 10, 20 ng/mL, Hg为0, 0.2, 0.5, 1, 2 ng/mL, Cu为0, 50, 100, 200, 500 ng/mL, Cr为0, 5, 25, 50,

100 ng / mL的系列标准工作液。分别精密量取单元素内标标准溶液,制备成质量浓度为100 ng / mL的混合内标溶液。按2.1项下试验条件进样测定,记录仪器信号强度。以待测元素质量浓度(X , ng / mL)为横坐标、待测元素与内标元素仪器信号强度比(Y)为纵坐标进行线性回归。回归方程和线性范围见表2。

表2 各元素回归方程线性范围和检测限

Tab. 2 The linear range of regression equation and LOD of each element					
元素	回归方程	r	线性范围 (ng / mL)	检测限 (ng / mL)	
Pb	$Y_1 = 144\,535.265\,7X_1 + 5\,160.386\,3$	1.000 0	0~20	0.029	
Cd	$Y_2 = 8\,029.908\,4X_2 + 11.524\,7$	1.000 0	0~10	0.001	
As	$Y_3 = 1\,352.402\,9X_3 + 31.825\,7$	1.000 0	0~20	0.005	
Hg	$Y_4 = 20\,105.576\,2X_4 + 146.183\,0$	0.995 8	0~2	0.016	
Cu	$Y_5 = 14\,627.041\,6X_5 + 399.538\,5$	0.999 5	0~500	0.022	
Cr	$Y_6 = 12\,065.060\,3X_6 + 439.707\,9$	1.000 0	0~100	0.022	

检测限考察:取2.2项下空白对照溶液适量,按2.1项下试验条件重复进样测定11次,记录仪器信号强度,计算标准差,以3倍标准差对应的各待测元素的质量浓度为检测限。结果见表2。

精密度试验:取含Pb, Cd, As, Hg, Cu, Cr质量浓度分别为5, 2.5, 5, 0.5, 100, 25 ng / mL的标准工作液适量,连续依法进样测定6次,记录仪器信号强度。结果Pb, Cd, As, Hg, Cu, Cr仪器信号强度的RSD分别为1.27%, 1.72%, 0.86%, 6.80%, 1.38%, 1.45%($n = 6$)。表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品Y7(批号为181119)粉末适量,精密称定,各6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录仪器信号强度。结果Pb, Cd, As, Hg, Cu, Cr仪器信号强度的RSD分别为1.16%, 1.22%, 1.44%, 12.04%, 1.18%, 0.80%($n = 6$)。表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品Y7(批号为181119)粉末6份,精密称定,各0.15 g,分别精密加入Cr, Pb, Cd, As, Hg, Cu质量浓度为4, 0.2, 0.1, 0.2, 0.03, 5 mg / L的混合溶液0.5 mL,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下试验条件进样测定,记录仪器信号强度,并计算加样回收率。结果见表3。

2.4 样品中重金属元素含量测定

取样品Y1~Y9,精密称定固体样品0.3 g,液体样品0.5 mL,各2份,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下试验条件进样测定,记录仪器信号强度,采用内标校正的标准曲线计算样品中各元素含量。结果见表4和表5。

表3 加样回收试验结果($n = 6$)

Tab. 3 Results of the recovery test ($n = 6$)							
元素	取样量 (g)	样品含量 (ng)	加入量 (ng)	测得量 (ng)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
Pb	0.140 5	129.401	100	220.65	91.25	88.03	6.99
	0.139 4	128.387	100	212.95	84.56		
	0.144 0	132.624	100	217.50	84.88		
	0.144 5	133.085	100	213.85	80.76		
	0.132 5	122.033	100	216.95	94.92		
Cd	0.135 0	124.335	100	216.15	91.82	91.51	2.70
	0.140 5	27.819	50	74.15	92.66		
	0.139 4	27.601	50	72.40	89.60		
	0.144 0	28.512	50	73.60	90.18		
	0.144 5	28.611	50	73.10	88.98		
As	0.132 5	26.235	50	73.60	94.73	96.64	5.41
	0.135 0	26.730	50	73.20	92.94		
	0.140 5	109.731	100	208.40	98.67		
	0.139 4	108.871	100	201.95	93.08		
	0.144 0	112.464	100	205.20	92.74		
Hg	0.144 5	112.855	100	204.15	91.30	83.75	3.68
	0.132 5	103.483	100	207.60	104.12		
	0.135 0	105.435	100	205.40	99.96		
	0.140 5	1.265	15	13.90	84.23		
	0.139 4	1.255	15	13.30	80.30		
Cu	0.144 0	1.296	15	14.10	85.36	95.63	1.87
	0.144 5	1.301	15	14.05	85.00		
	0.132 5	1.193	15	14.20	86.72		
	0.135 0	1.215	15	13.35	80.90		
	0.140 5	931.796	2 500	3 362.50	97.23		
Cr	0.139 4	924.501	2 500	3 298.90	94.98	94.49	3.31
	0.144 0	955.008	2 500	3 295.55	93.62		
	0.144 5	958.324	2 500	3 308.00	93.99		
	0.132 5	878.740	2 500	3 322.45	97.75		
	0.135 0	895.320	2 500	3 301.00	96.23		
	0.140 5	1 717.051	2 000	3 654.85	96.89	94.49	3.31
	0.139 4	1 703.607	2 000	3 561.90	92.91		
	0.144 0	1 759.824	2 000	3 614.25	92.72		
	0.144 5	1 765.935	2 000	3 643.65	93.89		
	0.132 5	1 619.283	2 000	3 446.15	91.34		
	0.135 0	1 649.835	2 000	3 633.65	99.19		

3 讨论

由于2020年版《中国药典》中未收录益肾壮骨丸,本研究以《中国药典》中Pb, Cd, As, Hg, Cu的含量测定法二法为依据,建立ICP-MS法,并增加了易残留的Cr的测定。预试验中考察了湿法提取、微波消解法、直接提取法等方法,由于微波消解法处理样品较完全,故被选择;同时分别考察了消解试剂、消解温度和时长等参

表4 样品Y1~Y3中各重金属元素含量测定结果(mg/L)
Tab.4 Results of content determination of heavy metal elements
in the samples Y1-Y3 (mg/L)

序号	Pb	Cd	As	Hg	Cu	Cr
Y1	0.076	0.009	0.044	-	0.318	0.093
	0.089	0.009	0.041	-	0.311	0.083
Y2	0.039	0.008	0.041	-	0.232	0.035
	0.032	0.008	0.041	-	0.302	0.072
Y3	0.018	0.009	0.040	-	0.218	0.009
	0.016	0.009	0.040	-	0.214	0.004

注:浸膏相对密度为1.16~1.18 g/mL。-为未检测到。

Note: The relative density of the extract is 1.16-1.18 g/mL.

- indicates that no heavy metal element is detected.

表5 样品Y4~Y9中各重金属元素含量测定结果(mg/kg)
Tab.5 Results of content determination of heavy metal elements
in the samples Y4-Y9 (mg/kg)

序号	Pb	Cd	As	Hg	Cu	Cr
Y4	0.996	0.186	0.765	0.009	7.154	13.96
	0.809	0.172	0.676	0.004	6.580	12.41
Y5	0.677	0.158	0.781	0.003	6.499	4.982
	0.702	0.178	0.773	0.005	6.388	7.069
Y6	27.16	0.144	0.759	0.006	7.235	2.135
	455.70	0.254	0.828	0.009	7.178	2.263
Y7	0.903	0.194	0.761	0.013	6.510	12.05
	0.936	0.200	0.791	0.008	6.754	12.26
Y8	0.922	0.188	0.687	0.009	6.793	12.46
	0.884	0.188	0.699	0.014	6.745	12.78
Y9	0.927	0.197	0.770	0.009	6.659	12.50
	0.905	0.196	0.758	0.012	6.677	12.43

数,经不断优化,最终得到了澄清、透明的样品溶液。

样品含量测定结果显示,样品Y6中的Pb含量高达455.70 mg/kg,说明中间体的重金属污染概率较高;样品Y7~Y9中均检出大于12 mg/kg的Cr,中间体和浸膏也均检出Cr,其原因可能为原药材被Cr污染或由生产设备带入。一般生产设备为不锈钢材质,若出现锈迹、裂痕就可能引入重金属元素到样品中。

参照《中医药-中药材重金属限量》ISO国际标准对中药材重金属元素的限值规定,Pb≤10.0 mg/kg,As≤4.0 mg/kg,Hg≤3.0 mg/kg,Cd≤2.0 mg/kg^[10]。

欧盟对中草药重金属元素的限值规定为Pb≤5.0 mg/kg,Cd≤1.0 mg/kg,Hg≤0.1 mg/kg。中国绿色行业标准规定,Cu≤20.0 mg/kg,As≤2.0 mg/kg,Cd≤0.3 mg/kg,Hg≤0.2 mg/kg,Pb≤5.0 mg/kg^[11]。本研究中样品的Pb,Cd,As,Hg,Cu元素含量均未超标。

综上所述,本研究中建立了同时测定益肾壮骨丸中Pb,As,Hg,Cd,Cu,Cr元素含量的ICP-MS法,该方法灵敏、准确。在提升药材质量标准时,应增加Cr等其他元素的含量测定,控制多种有害元素的含量将有助于提升药品生产工艺的规范性和临床用药的安全性。

参考文献

- [1] 李国柱,姜志戎,王心亚.治疗骨性关节炎的益肾壮骨丸及其生产方法:CN200610041184.1[P].2007-01-31.
- [2] 张璐,姜志戎,尹萌,等.高效液相色谱法同时测定益肾壮骨丸中芍药苷、莫诺苷和马钱苷含量[J].中国药业,2020,29(21):62-65.
- [3] 王琼.伤科益肾壮骨丸治疗腰椎间盘突出致坐骨神经痛的疗效观察[J].湖北中医杂志,2019,41(3):62-64.
- [4] 王宇强.骨性关节炎的中药治疗新进展[J].陕西中医学院学报,2005,28(3):21.
- [5] 王心亚,潘敬舜.益肾壮骨丸治疗膝关节骨性关节炎75例分析[J].吉林中医药,2004,24(6):19.
- [6] 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,2020:43-47.
- [7] 胡妹,于丽,杨沫,等.电感耦合等离子体质谱法检测小浆果中6种重金属含量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(5):1950-1953.
- [8] 陈明,段萍,万红才,等.ICP-MS法测定不同产地乌蕨5种重金属[J].中成药,2020,42(12):3346-3349.
- [9] 卞彦,谈健康.电感耦合等离子体质谱法检测农作物土壤中的镉、锡、锰、锑、钒、钛、锆金属污染物残留[J].化学分析计量,2021,30(1):49-53.
- [10] International Organization for Standardization. ISO 18664: 2015 Traditional Chinese Medicine - Determination of heavy metals in herbal medicines used in Traditional Chinese Medicine[EB/OL]. (2017-05-06)[2021-04-11]. <https://www.iso.org/standard/63150.html>.
- [11] 郭兰萍,周利,王升,等.《中医药-中药材重金属限量》ISO国际标准下中药材重金属污染现状与分析[J].科技导报,2017,35(11):91-98.

(收稿日期:2021-05-09;修回日期:2021-08-13)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号:78-130,各地邮局均可订阅;补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真:(023) 86592565

网上投稿:<http://www.zhongguoyaoye023.com> 或 中国药业在线投稿系统