

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)16-0089-04
doi: 10.3969/j.issn.1006-4931.2024.16.020



电感耦合等离子体质谱法测定明目上清片中5种元素含量

池文杰

(福建省食品药品质量检验研究院, 福建 福州 350012)

摘要:目的 建立测定明目上清片中5种元素含量的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法。方法 使用微波消解仪对样品进行预处理, 等离子体射频功率为1550 W, 采样深度为8.0 mm, 等离子体气流速为15 L/min, 雾化气流速为1.0 L/min, 辅助气流速为0.9 L/min, 蠕动泵转速为0.1 r/s。结果 铅、镉、砷、汞、铜元素质量浓度分别在4~100 ng/mL、0.2~5 ng/mL、2~50 ng/mL、0.2~5 ng/mL、20~500 ng/mL范围内与仪器响应值线性关系良好($R^2 > 0.999 5, n = 6$); 精密性、重复性试验结果的RSD均小于4.0%; 平均加样回收率分别91.97%, 104.12%, 107.05%, 92.74%, 103.46%, RSD均小于4.0% ($n = 6$)。4家生产企业34批样品检出5种元素含量分别为0.21~2.64, 0.03~0.16, 0.20~12.14, 0.00~1.14, 2.33~6.21 mg/kg。按拟订的限度(分别为1.6, 1.0, 3.8, 0.7, 625 mg/kg), 共有2批样品(涉及2家生产企业)存在超标现象, 不合格率为5.88%。结论 所建立的方法操作简单、快速、灵敏, 结果准确, 适用于明目上清片中5种元素的含量测定。

关键词:明目上清片; 微量元素; 电感耦合等离子体质谱法; 含量测定

Determination of Five Elements in Mingmu Shangqing Tablets by ICP - MS

CHI Wenjie

(Fujian Institute for Food and Drug Control, Fuzhou, Fujian, China 350012)

Abstract: Objective To establish an inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP - MS) method for determining the contents of five elements in Mingmu Shangqing Tablets. **Methods** The samples were pretreated by a microwave digestion instrument. The plasma radio frequency power was 1 550 W, the sampling depth was 8.0 mm, the plasma gas flow rate was 15 L / min, the atomization gas flow rate was 1.0 L / min, the auxiliary gas flow rate was 0.9 L / min, and the peristaltic pump speed was 0.1 r / s. **Results** The linear ranges of lead (Pb), cadmium (Cd), arsenic (As), mercury (Hg) and copper (Cu) were 4 - 100 ng / mL, 0.2 - 5 ng / mL, 2 - 50 ng / mL, 0.2 - 5 ng / mL, 20 - 500 ng / mL ($R^2 > 0.999 5, n = 6$) respectively. The RSDs of precision and repeatability tests were lower than 4.0%. The average recovery rates of the above five elements were 91.97%, 104.12%, 107.05%, 92.74%, 103.46% respectively, with RSDs lower than 4.0% ($n = 6$). Pb, Cd, As, Hg and Cu were detected in 34 batches of samples from four manufacturing enterprises, with concentrations of 0.21 - 2.64, 0.03 - 0.16, 0.20 - 12.14, 0.00 - 1.14, 2.33 - 6.21 mg / kg respectively. According to the proposed limits (1.6, 1.0, 3.8, 0.7, 625 mg / kg), the element contents of two batches of samples (involving two manufacturing enterprises) were over the limit, with a disqualification rate of 5.88%. **Conclusion** The established method is simple, fast, sensitive and accurate, which is suitable for the determination of the five elements in Mingmu Shangqing Tablets.

Key words: Mingmu Shangqing Tablets; trace element; inductively coupled plasma - mass spectrometry; content determination

明目上清片由桔梗、熟地黄、天花粉、石膏、麦冬、玄参、栀子、蒺藜、蝉蜕、甘草等21味中药组成, 具有清热散风、明目止痛功效, 用于治疗外感风热所致暴发火眼、红肿疼痛、头晕目眩、眼边刺痒、大便燥节、小便赤黄^[1]。现行质量标准收载于2020年版《中国药典(一部)》, 采用显微鉴别法、薄层色别法、气相色谱法和高效液相色谱法

对其有效成分进行质量控制^[2-5], 但对其安全性的研究较少。目前尚无该制剂中重金属及有害元素含量测定的报道。由于方中桔梗、熟地黄、天花粉等以原粉入药的根和根茎类药材在生长过程中易富集土壤或水里的重金属及有害元素, 且还使用了矿物药石膏, 导致制剂的安全性质量风险增加^[6-10]。基于此, 本研究中建立了测定

第一作者: 池文杰, 男, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为中药制剂质量分析, (电子信箱)56324010@qq.com。

分析测试学报, 2020, 39(7): 874 - 880.

[19] 吴家鑫, 刘敏, 尚飞, 等. 超高效液相色谱串联高分辨四极杆飞行时间质谱法快速筛选鉴别猪血浆中的大环内酯类抗生素[J]. 中国兽药杂志, 2018, 52(9): 49 - 55.

[20] 郭文建, 张慧, 王桂勋, 等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定废水中12种抗生素的含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2022, 58(4): 387 - 394.

[21] 张健威, 梁延鹏, 覃礼堂, 等. 加速溶剂萃取-固相萃取-超高效液相色谱/三重四级杆质谱法测定沉积物中10种磺胺类抗生素残留[J]. 分析科学学报, 2023, 39(1): 54 - 60.

[22] 章会琼, 杨琴, 蒲雪, 等. 高效液相色谱串联质谱法快速检测淫羊藿药材中47种农药残留[J]. 中国药业, 2023, 32(22): 103 - 107.

(收稿日期: 2023-07-11; 修回日期: 2023-10-20)

明目上清片中铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)含量的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法,同时按风险评估步骤^[11-15]对方中的重金属及有害元素进行了风险评估,并拟定了该制剂中上述5种元素的残留限量,以期为该制剂的安全性研究提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7700型电感耦合等离子体质谱仪(美国Agilent公司);CEM Mars 5 express型微波消解仪(美国Analyx公司);Milli Q IQ-7000超纯水机(美国Millipore公司);XS204型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.1 mg)。

1.2 试剂

明目上清片样品(共4个生产企业34批次,企业A 9批,编号S1-S9;企业B 22批,编号S10-S31;企业C 2批,编号S32-S33;企业D 1批,编号S34),均为国家药品监督抽验样品。Pb、Cu、As、Hg、Cd单元素标准溶液(批号分别为GBW08619-18103,GBW08615-16104,GBW08611-18083,GBW08617-20021,GBW08612-18071,质量浓度均为1 000 μg/mL),金(Au)单元素标准溶液(批号为GBW08650-1806,含量100 μg/g),均购于中国计量科学研究院;混合内标溶液[含铷(⁷Li)、钐(⁴⁵Sc)、锆(⁷²Ge)、铈(¹⁰³Rh)、铟(¹¹⁵In)、铽(¹⁵⁹Tb)、镨(¹⁷⁵Lu)、铋(²⁰⁹Bi),质量浓度均为100 mg/L,批号为5188-6525,美国Agilent公司];硝酸为优级纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 检测条件

等离子体射频功率:1 550 W;等离子体气体流速:15 L/min;雾化气流速:1.0 L/min;辅助气流速:0.9 L/min;蠕动泵转速:0.1 r/s;采样深度:8.0 mm,采样点3个,重复3次;雾化室温度:2 °C;采集模式为正负离子模式。²⁰⁸Pb和²⁰²Hg以²⁰⁹Bi为内标,¹¹¹Cd以¹¹⁵In为内标,⁷⁵As和⁶³Cu以⁷²Ge为内标。

2.2 溶液制备

混合标准溶液:精密量取Pb、Cd、As、Hg、Cu的单元素标准溶液各适量,用5%硝酸溶液稀释成质量浓度分别为2,0.1,1,0.1,10 μg/mL的混合元素标准贮备液。精密量取Au单元素标准溶液适量,用5%硝酸稀释成质量浓度为1 μg/mL的单元素标准贮备液。精密量取上述贮备液各适量,用5%硝酸稀释成含Pb 4,10,20,40,80,100 ng/mL,As 2,5,10,20,40,50 ng/mL,Cd、Hg 0.2,0.5,1,2,4,5 ng/mL,Cu 20,50,100,200,400,500 ng/mL,Au 10 ng/mL的系列质量浓度混合标准溶液。

内标溶液:精密量取混合内标溶液适量,加5%硝酸溶液稀释成含各内标元素均为200 ng/mL的内标溶液。在整个测定过程中,需通过蠕动泵恒速泵入仪器中。

供试品溶液:取样品适量,除去包衣,研细,取0.5 g,精密称定,置聚四氟乙烯消解罐内,加硝酸7 mL,混匀,预消解放置过夜,置微波消解仪中按程序(见表1)消解。消解完全后,冷却至室温,取消解罐置赶酸器中,110 °C加热至红棕色蒸气挥尽并浓缩至2~3 mL,用水洗涤多次并转移至50 mL容量瓶中,精密加入Au单元素标准溶液0.5 mL,定容,摇匀,即得。

表1 微波消解程序

Tab. 1 Microwave digestion program

步骤	功率(W)	起始温度(°C)	终点温度(°C)	升温时间(min)	保持时间(min)
1	1 600	25	120	5	5
2	1 600	120	160	5	5
3	1 600	160	185	10	25

空白溶液:不取样品,同供试品溶液制备方法制成相应空白溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:取2.2项下系列质量浓度混合标准溶液适量,按2.1项下试验条件进样测定,记录仪器响应值。以待测元素的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标、仪器响应值(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表2。

表2 线性关系、检测限及定量限考察结果($n=6$)

Tab. 2 Results of the linear relation test, limit of detection and limit of quantitation investigation ($n=6$)

待测元素	回归方程	R^2	线性范围 (ng/mL)	检测限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)
Pb	$Y_1 = 3.86 \times 10^{-2} X_1 + 1.91 \times 10^{-2}$	0.999 9	4~100	0.06	0.2
Cd	$Y_2 = 7.61 \times 10^{-3} X_2 + 1.26 \times 10^{-5}$	0.999 7	0.2~5	0.003	0.01
As	$Y_3 = 2.21 \times 10^{-2} X_3 + 3.32 \times 10^{-3}$	0.999 8	2~50	0.005	0.017
Hg	$Y_4 = 2.27 \times 10^{-2} X_4 + 5.92 \times 10^{-5}$	0.999 6	0.2~5	0.002	0.007
Cu	$Y_5 = 2.51 \times 10^{-1} X_5 + 4.66 \times 10^{-2}$	0.999 8	20~500	0.03	0.1

检测限与定量限考察:取2.2项下空白溶液适量,按2.1项下试验条件进样测定11次,分别以待测元素仪器响应值的3倍和10倍标准偏差所对应的待测元素质量浓度为检测限和定量限。结果见表2。

精密度试验:取2.2项下混合元素标准贮备液适量,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录仪器响应值。结果Pb、Cd、As、Hg、Cu仪器响应值的RSD分别为1.24%,2.57%,1.42%,2.81%,1.49%($n=6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(S30)适量,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.1项下试验条件进样测定,记录仪器响应值,并计算各元素的平均含量。结果Pb、Cd、As、Hg、Cu的平均含量分别为0.24,0.029,0.20,0.004,4.79 mg/kg,仪器响应值的RSD分别为2.66%,2.95%,3.05%,3.54%,1.54%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(S30)6份,每份0.5 g,精密称定,置聚四氟乙烯消解罐内,分别精密加入Pb、Cd、As、Hg、Cu质量浓度分别为2、0.1、1、0.1、10 μg/mL的单元素标准溶液1.0 mL,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,并计算加样回收率。结果见表3。

表3 加样回收试验结果(n=6)
Tab.3 Results of the recovery test (n=6)

待测元素	回收率(%)						\bar{X} (%)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
Pb	92.27	92.26	89.40	90.21	94.34	93.35	91.97	2.03
Cd	98.38	106.93	102.95	106.58	103.78	106.12	104.12	3.11
As	110.17	108.87	109.78	105.16	105.36	102.95	107.05	2.76
Hg	93.19	91.70	92.89	91.42	90.89	96.32	92.74	2.12
Cu	102.36	102.44	103.26	104.82	100.94	106.95	103.46	2.06

2.4 样品含量测定

取各批样品适量,包衣片除去包衣,研细,取0.5 g,精密称定,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,记录仪器响应值并计算含量。结果见表4。

表4 样品含量测定结果(mg/kg, n=3)

Tab.4 Results of content determination of five elements in samples
(mg/kg, n=3)

编号	Pb	Cd	As	Hg	Cu	编号	Pb	Cd	As	Hg	Cu
S1	1.34	0.11	0.35	0.01	5.68	S18	0.38	0.04	0.33	0.01	3.45
S2	1.25	0.08	0.38	0.01	5.14	S19	0.31	0.09	0.35	0.00	3.96
S3	0.98	0.10	0.45	0.01	4.83	S20	0.28	0.12	0.28	0.01	3.54
S4	1.27	0.09	0.42	0.01	4.65	S21	0.22	0.08	0.39	0.00	2.61
S5	1.17	0.12	0.56	0.00	5.58	S22	0.24	0.07	0.22	0.01	2.73
S6	1.18	0.10	0.53	0.01	4.86	S23	0.33	0.04	0.27	0.02	3.58
S7	1.28	0.15	0.59	0.01	5.27	S24	0.38	0.08	0.29	0.01	3.67
S8	0.96	0.16	0.46	0.00	6.21	S25	0.28	0.06	0.23	0.01	4.21
S9	0.76	0.09	0.55	0.01	4.64	S26	0.24	0.06	0.28	0.01	3.49
S10	2.64	0.06	0.25	0.01	2.86	S27	0.27	0.08	0.33	0.02	2.64
S11	1.02	0.05	0.21	0.01	2.98	S28	0.29	0.03	0.27	0.00	2.84
S12	0.38	0.08	0.36	0.01	3.21	S29	0.32	0.05	0.34	0.01	3.12
S13	0.45	0.10	0.28	0.01	2.85	S30	0.24	0.03	0.20	0.00	4.79
S14	0.27	0.04	0.38	0.00	2.33	S31	0.31	0.06	0.24	0.01	3.28
S15	0.28	0.05	0.42	0.01	2.48	S32	0.21	0.04	0.24	0.02	2.33
S16	0.23	0.08	0.29	0.01	2.69	S33	0.53	0.04	0.17	0.04	3.25
S17	0.32	0.07	0.40	0.01	3.10	S34	0.25	0.05	12.14	1.14	3.48

2.5 风险评估

样品含量测定结果显示,有部分样品Pb、As、Hg的含量出现了离群值,有1批样品(S34)As含量高达12.14 mg/kg,有必要进行风险评估。首先进行危害识别和危害特征描述,其目的主要是为了阐述重金属可能引起的不良健康效应,并对不良效应的特性进行定

性或定量描述,其核心是确定剂量-反应关系或健康指导原则的过程。由于重金属在人体的半衰期较长,并且在长期的暴露过程中,每日摄入量或每周摄入量微小。因此,世界卫生组织(WHO)有时以每周耐受摄入量(PTWI)或每月摄入量(PTMI)代替每日允许摄入量(ADI)。对于有权威数据的重金属及有害元素(包括Cd、Hg、Cu)的ADI,主要参考WHO、联合国粮食及农业组织、食品添加剂联合专家委员会等国际权威机构最新的评估报告及数据。对于尚未建立或已撤销健康指导值的重金属及有害元素(包括Pb、As),通过利用文献资料或试验获得的无可见有害作用水平(NOEL)或基准剂量下限(BMDL)等毒理学剂量参数,根据上述风险评估关键点中所确定的不确定系数,推算出健康指导值。将各元素的健康指导值统一折算为每千克体质量的ADI, Pb、Cd、As、Hg、Cu具体分别为1.3、0.833、3、0.571、500 μg/kg。按以下公式计算其最大限量理论值(L)。L=(A×W)/(M×10)。

其中L为最大限量的理论值(mg/kg);A为每日允许摄入量(mg/kg);W为人体平均体质量(kg),按60 kg计;M为明目上清片的日服用量,为4.8×10⁻³ kg;10为风险系数。计算得出Pb、Cd、As、Hg、Cu的拟订限量分别为1.6、1.0、3.8、0.7、625 mg/kg,据此对34批样品进行风险评估。结果有2批样品存在超标现象,不合格率为5.88%,涉及2家生产企业(企业B和企业D),其中有1批样品(企业D)As和Hg超标较严重。

3 讨论

本研究中对4家生产企业共34批明目上清片样品进行了重金属及有害元素的安全性检查,并对测定结果进行了风险评估。结果表明,该制剂的重金属及有害元素存在一定的安全风险,部分样品残留量较高。本次共抽到企业B 22批样品,仅1批(S10)Pb超出拟订限量,说明该现象属个别现象,可能是由不同批次投料用的原药材或饮片不同引起。另外,来自企业D有1批样品As和Hg超过拟订限量,特别是As,超过限量的3倍,有可能是由于共线生产时,部分含有矿物药处方的成药清场不彻底引起后续产品的重金属及有害元素残污染引起的。

综上所述,本研究中建立了测定明目上清片中Pb、Cd、As、Hg、Cu 5种元素的ICP-MS法,该方法操作简单、快速、灵敏,结果准确,可为进一步完善明目上清片的质量标准及相关的风险评估提供参考。

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: 1134-1135.
- [2] 翟媛媛, 师永清. HPLC法同时测定清心明目上清片中栀子苷、连翘苷、黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2016, 37(1): 13-17.