

## 电感耦合等离子体质谱法测定多种中药材中磷化物残留量\*

牛延菲, 游 燕<sup>△</sup>, 张晓南, 徐 怡, 和东阳

(云南白药集团创新研发中心 / 云南省药物研究所 / 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南 昆明 650111)

**摘要:** 目的 建立 ICP-MS 法测定中药材中磷化物残留量的方法。方法 中药材中残留的磷化物经前处理转化成磷酸, 然后用 ICP-MS 进行分析, 同时采用磷钼酸铵比色法进行检测比较。结果 仪器的检出限为 0.002  $\mu\text{g/L}$ , 回收率为 86.35%~94.78%, 对 10 个常见中药材样品的检测结果与磷钼酸铵比色法无显著差别, 但检出限低, 结果灵敏准确。结论 该方法可用于根、根茎类、叶类、果实及种子类和皮类等多种中药材中磷化物残留量的测定, 为中药材质量控制提供可靠依据, 为中药材安全监测提供参考。

**关键词:** 中药材安全监测; 磷化物; 电感耦合等离子体质谱法; 磷钼酸铵比色法

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)01-0038-05

**DOI:** 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.01.009

大部分中药材在储存过程中, 会使用磷化铝、磷化锌等磷化物进行害虫防治, 磷化物吸水后水解产生剧毒物质磷化氢而达到很好的杀虫效果, 但熏蒸过程中非常容易造成残留, 不仅危害人体健康, 而且影响中药材的质量和疗效, 因此药材保存过程中产生的磷化物残留存在着很大的安全隐患<sup>[1-4]</sup>。然而磷化物熏蒸保存的中药材中的残留量检测, 国内文献鲜见报道<sup>[5-6]</sup>, 也尚未制定对中药材磷化物残留量测定的标准, 随着人们对用药安全的重视, 迫切需要制定相应的标准。本文参考粮食中磷化物残留测定方法<sup>[7-8]</sup>, 采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定白芷、桔梗等 10 种中药材样品中磷化物残留量, 同时采用磷钼酸铵比色法(粮食中磷化物检测国标)进行检测结果的比较。结果表明 ICP-MS 法测定中药材中磷化物残留与磷钼酸铵比色法检测结果无显著差异, 且该方法检出限低, 简单、快速和准确, 适用于实验室日常分析, 满足中药材中磷化物残留量分析要求, 为中药材安全监测提供参考。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

Agilent 7700 电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent 科技有限公司); DHG-9037A 电热恒温干燥

箱(上海精宏实验设备有限公司); UV-2501PC 型紫外分光光度计(日本 Shimadzu 公司); Milli-Q 纯水处理系统(美国 Millipore 公司); AG285 型电子天平(梅特勒公司); TDL-40B 离心机(上海安亭); 磷化氢发生装置。

#### 1.2 试药

1 000  $\mu\text{g/mL}$  磷单元素标准溶液(GSB G 62009-90, 批号 14031112, 国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院); 内标溶液为 Sc 单元素内标溶液(浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$ , 美国 Agilent 科技有限公司); 调谐液为包含 Li、Y、Ce、TL、Co 多元素混合标准溶液(质量浓度均为 10  $\mu\text{g/L}$ , 美国 Agilent 科技有限公司); 硝酸(USP, J.T.Baker)、硫酸(优级纯, 重庆市川东化工有限公司化学试剂厂); 高锰酸钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 亚硫酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸二氢钾(基准试剂, 国药集团化学试剂有限公司); 氯化亚锡(分析纯, 四川西陇化工股份有限公司); 焦性没食子酸(A 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氢氧化钾(分析纯, 利安隆博华医药化学有限公司); 磷化铝标准品(纯度为 85%, 比利时 Acros 公司)。

白芷、党参、山药、枸杞、甘草、桔梗、柏子仁、七

\* 基金项目: 云南省科技计划项目——中药现代化科技产业基地建设(2013CG001)

收稿日期: 2015-12-09

作者简介: 牛延菲(1984-), 女, 山东德州人, 工程师, 主要研究方向: 药物分析和质量研究。

<sup>△</sup>通信作者: 游燕, E-mail: youwanyan@sohu.com

叶莲、薏苡仁、肉桂(各1批)均购自昆明市菊花园中药材专业市场。

## 2 ICP-MS 法测定药材中磷化物含量(以磷化氢计)

### 2.1 ICP-MS 工作条件及测定方法

本试验以灵敏度、氧化物和双电荷产率为主要考察指标,通过设置调谐程序,优化了仪器参数,经优化的 ICP-MS 工作条件如下:反射功率<15W;射频功率 1 450 W;等离子体气流速:15.0 L/min;辅助气流速:0.8 L/min;载气流速:0.8 L/min;采样深度:8 mm;蠕动泵:0.30 r/s,定量环容积 100  $\mu$ L;测量点数/峰:3;数据采样模式:跳峰采集模式;重复次数:3。 $^{31}\text{P}$  为同位素, $^{45}\text{Sc}$  作为内标。采用在线加入内标法进行定量分析,在优化的工作条件下,分别对标准溶液、试剂空白及供试品进行分析,利用标准曲线定量计算出磷浓度。再根据以下公式计算出供试品中磷化氢的含量<sup>[9]</sup>。

$$x = \frac{(c_1 - c_0) \times 50}{m \times 1\,000} \times \frac{34}{31}$$

式中:

$x$ —样品中磷化物的含量(以磷化氢计),mg/kg

$c_1$ —测定用样品中磷的浓度, $\mu\text{g/L}$

$c_0$ —测定用空白中磷的浓度, $\mu\text{g/L}$

$m$ —样品的质量,g

34/31—将磷换算成磷化氢之间的系数

### 2.2 溶液的制备

#### 2.2.1 标准溶液及内标溶液的制备

分别吸取浓度为 1 000  $\mu\text{g/mL}$  的磷标准溶液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中得 10  $\mu\text{g/mL}$  的磷化物标准使用液,使用移液枪分别精密吸取该磷化物标准使用液 0,0.2,0.4,0.8,1.6,3.2,4 mL 于 50 mL 容量瓶中,加入 3.3 g/L 高锰酸钾溶液 15 mL 和 5% 硝酸 3 mL,定容至刻度,制成标准曲线系列的浓度分别为 0,40,80,160,320,640,800  $\mu\text{g/L}$ 。另精密吸取多内标溶液 1 mL,加超纯水稀释成 1  $\mu\text{g/mL}$  的混合溶液,作为内标溶液。测定时标准溶液和内标溶液分别从蠕动泵的样品管和内标管进样。

#### 2.2.2 供试品溶液的制备

反应原理:供试品中磷化物遇水和酸,放出磷化氢,蒸出后吸收于酸性高锰酸钾溶液中并被氧化成磷酸,根据此原理进行供试品溶液的制备。

按照图 1 所示,连接好磷化氢蒸馏吸收装置,

在 3 个串联的气体吸收管(6、7、8)中各加 3.3 g/L 高锰酸钾溶液 5 mL 和 10% 硫酸溶液 1 mL。洗气瓶 1 中加入 100 mL 酸性高锰酸钾溶液(将 16.5 g/L 高锰酸钾溶液与 10% 硫酸溶液等量混合),洗气瓶 2 中加入新配制的碱性焦性没食子酸溶液(5 g 焦性没食子酸溶于 15 mL 水中,48 g 氢氧化钾溶于 32 mL 水中,冷却后将 2 溶液混合)。分液漏斗中加入 10% 硫酸 5 mL 和 80 mL 水。水浴锅中加入适量水,并加热至沸腾。打开抽气泵,检查装置的气密性。

取药材或饮片的细粉约 50 g,迅速投入预先通气 5 min 的反应瓶中,加大抽气速度使分液漏斗中的 10% 硫酸溶液 5 mL 和 80 mL 水加至反应瓶中,然后减慢抽气速度,将放置反应瓶的水浴加热至沸并保持 30 min。反应完毕后,取下 3 个气体吸收管,合并吸收管中的溶液至 50 mL 容量瓶中,用少量水洗涤,用纯水定容至刻度。

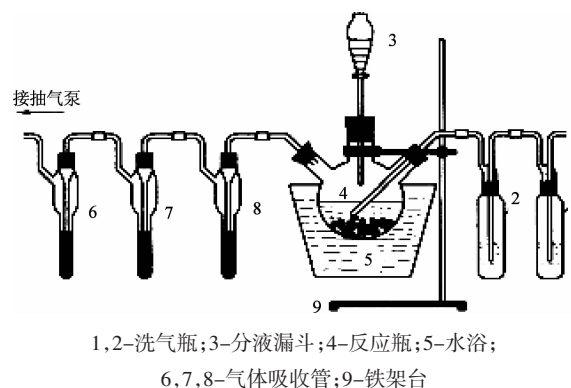


图1 磷化氢蒸馏吸收装置

### 2.3 线性关系考察测定

将系列标准混合溶液在“2.1”项下的仪器检测条件下进样,测定磷元素的浓度,分别以相应的标准浓度为横坐标,实际测得的浓度为纵坐标,绘制标准曲线,计算标准曲线方程和相关系数。标准曲线方程为: $y=0.981\,43x+80.341$ ,相关系数为 0.999 6。结果

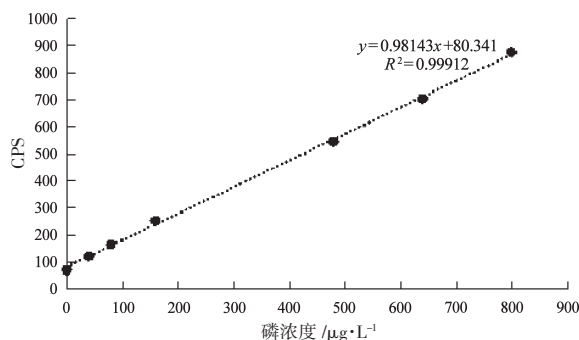


图2 标准曲线图

表明,在上述仪器条件下,呈良好的线性关系。(结果见图 2)

#### 2.4 加样回收率试验

准确称取磷化铝对照品(纯度 85%)10 mg,相当于磷化氢 4.98 mg,用蒸馏水溶解定容至 1 000 mL,即得磷化氢浓度为 4.98  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液。

取白芷药材细粉(已知磷化氢含量为 0.042 mg/kg)约 50.0 g,6 份,精密称定,分别加入磷化氢浓度为 4.98  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液 0.5 mL。按“2.1”项进行测定,计算其回收率。结果见表 1,回收率在 86.35%~94.78%之间, $RSD$  为 3.3%( $n=6$ )。

表 1 加样回收率试验测定结果

| 序号 | 称样量/g    | 样品中磷化氢含量/ $\mu\text{g}$ | 加入对照品量/ $\mu\text{g}$ | 测定结果/ $\mu\text{g}$ | 回收率/% | 平均值/% | $RSD$ /% |
|----|----------|-------------------------|-----------------------|---------------------|-------|-------|----------|
| 1  | 50.011 2 | 2.10                    | 2.49                  | 4.46                | 94.78 | 89.89 | 3.3      |
| 2  | 50.023 9 | 2.10                    | 2.49                  | 4.25                | 86.35 |       |          |
| 3  | 50.004 5 | 2.10                    | 2.49                  | 4.29                | 87.95 |       |          |
| 4  | 50.208 7 | 2.11                    | 2.49                  | 4.15                | 89.96 |       |          |
| 5  | 50.201 3 | 2.11                    | 2.49                  | 4.12                | 91.16 |       |          |
| 6  | 50.114 3 | 2.10                    | 2.49                  | 4.31                | 88.76 |       |          |

#### 2.5 精密度试验

取浓度为 25  $\mu\text{g/L}$  的磷标准溶液,按“2.1”项下的仪器检测条件进样,重复测定 6 次,计算各元素计数值(CPS)的  $RSD$ , $RSD$  为 2.4%,表明仪器精密良好。

#### 2.6 重复性试验

称取同一白芷药材 50.0 g,6 份,按“2.2.2”项制备供试品溶液,按“2.1”项下的仪器检测条件进样,计算磷元素含量的  $RSD$  值, $RSD$  为 4.2%,表明该方法的重复性良好,可满足分析要求。

#### 2.7 检出限测定

以样品空白测定 11 次,记录信号值,以 11 个

表 2 空白样品检测结果表

| 编号 | CPS   | 编号 | CPS   |
|----|-------|----|-------|
| 1  | 73.74 | 7  | 69.03 |
| 2  | 74.65 | 8  | 67.34 |
| 3  | 70.04 | 9  | 71.38 |
| 4  | 74.65 | 10 | 71.38 |
| 5  | 70.71 | 11 | 72.73 |
| 6  | 71.38 | sd | 2.29  |

信号值的标准差乘以 3,再除以标准曲线的斜率(标准曲线方程为: $y=0.981\ 43x+80.341$ ),计算得磷元素的检出限为 0.002  $\mu\text{g/L}$ 。见表 2。

### 3 不同检测方法的比较

使用磷钼酸铵比色法与 ICP-MS 法进行检测结果的比较,磷钼酸铵比色法的实验如下:

#### 3.1 标准曲线的制备

精密称取经 105  $^{\circ}\text{C}$  干燥的无水磷酸二氢钾 0.040 0 g,置于 100 mL 容量瓶中,加适量水溶解并稀释至刻度,制成每毫升相当于 0.10 mg 磷化氢的磷化物标准储备液。吸取该磷化物标准储备溶液 1.0 mL 置于 100 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,制成每毫升相当于 1.0  $\mu\text{g}$  磷化氢的磷化氢标准使用液。精密吸取磷化物标准使用液 0,1.00,2.00,4.00,8.00 mL(相当于 0,1,2,4,8  $\mu\text{g}$  磷化氢),分别加于 50 mL 比色管中,加水至 30 mL。各加入 30% 硫酸溶液 5.5 mL 摇匀,再加入 50 g/L 钼酸铵溶液 2.5 mL,摇匀,加水至 50 mL,摇匀,再各加入 0.1 mL 新配制的氯化亚锡溶液,迅速摇匀。放置 15 min 后,用 1 cm 比色皿,以零管调节零点,于 710 nm 处测吸光度,绘制标准曲线。标准曲线方程为  $y=0.013\ 0x-0.000\ 2$ ,相关系数  $r=0.999\ 8$ 。

#### 3.2 供试品溶液制备

样品处理和蒸馏仪器装置部分跟上述“2.2.2”方法相同,自“反应完毕后,取下 3 个气体吸收管”开始,改为分别滴加饱和亚硫酸钠溶液使高锰酸钾溶液褪色,合并吸收管中的溶液至 50 mL 比色管中,用少量水洗涤,洗液并入比色管中。加入 30% 硫酸溶液 4.5 mL 摇匀,再加入 50 g/L 钼酸铵溶液 2.5 mL,摇匀,再加水至 50 mL,摇匀,再加入 0.1 mL 新配制的氯化亚锡溶液,迅速摇匀。放置 15 min 后,用 1 cm 比色皿,以零管调节零点,于 710 nm 处测定吸光度,利用标准曲线求出磷化氢含量。同法制备空白样品。

### 4 样品测定

精密称取 10 批药材各 50.0 g,采用 ICP-MS 法进行测定:按“2.2.2”项制备供试品,按照“2.1”项仪器条件进样,测定其样品中的磷化物含量(以磷化氢计)。同时将该 10 批药材采用磷钼酸铵比色法进行测定:按“3.2”进行供试品溶液处理后采用标准曲线法定量,计算样品中的磷化物含量(以磷化氢计),2 种方法的检测结果比较见表 3。

表 3 10 批样品磷化氢含量测定结果

(mg/kg)

| 检测方法    | 药材名称  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|         | 白芷根   | 党参根   | 山药根茎  | 枸杞果实  | 甘草根茎  | 桔梗根   | 柏子仁种仁 | 七叶莲叶  | 薏苡仁种仁 | 肉桂皮   |
| ICP-MS  | 0.042 | 0.009 | 0.020 | 0.021 | 0.025 | 0.015 | 0.032 | 0.028 | 0.043 | 0.018 |
| 磷钼酸铵比色法 | 0.044 | 0.010 | 0.021 | 0.020 | 0.023 | 0.017 | 0.031 | 0.029 | 0.044 | 0.017 |

## 5 结论

实验采用了电感耦合等离子体质谱法测定多种中药材中磷化物残留量,此方法具有快速、准确、灵敏度高、检出限低等优点<sup>[10-14]</sup>。参考粮食中磷化物残留测定方法,用氢化物发生法先将磷化物变为 $\text{PH}_3$ ,用酸性高锰酸钾吸收后转化为磷酸,然后采用 ICP-MS 测定磷元素<sup>[15-16]</sup>。在测定过程中,为得到准确的结果,根据质量数接近的原则, $^{31}\text{P}$  采用  $^{45}\text{Sc}$  内标,插值法进行校正,校正仪器的漂移和补偿一般基体效应,碰撞反应池技术来消除质谱干扰,使测定结果更为准确。同时鉴于硫酸的杂质含量较高,沸点高不易去除,粘度高不利于雾化,对很多元素的测定存在干扰的缺点,将磷钼酸铵比色法中吸收液的稀硫酸更换为 5%稀硝酸。

实验结果表明,所测中药材中磷化物的含量均没有超过粮食标准中有关规定(磷化物最大残留限量  $0.05 \text{ mg/kg}$ )<sup>[7]</sup>,本方法可用于根、根茎类、叶类、果实及种子类和皮类等多种中药材中磷化物残留量的测定,为中药材安全监测提供参考。

## 参考文献:

- [1] 孙建国,马祖玲,李玉亮,等. 进境大宗粮食、饲料中磷化铝熏蒸剂残留的监管及处理 [J]. 口岸卫生控制,2003,8(4):35-36.
- [2] 张建中,陈发明,喻泽林,等. 烟草熏蒸散气过程中磷化氢暴露水平及危害特征研究 [J]. 现代预防医学,2012,39(2):284-289.
- [3] 顾明华,刘子梦,杨亚非,等. 成功救治磷化铝中毒 1 例体会[J]. 昆明医学院学报,2006,27(1):94-95.
- [4] 邵武英,孙晔. 吸入性磷化铝中毒患者的治疗与护理[J]. 河北医药,2011,33(18):2870.
- [5] 李萍,朱玉香,陈炜,等. 枸杞干果中磷化氢残留量的检测

方法研究 [J]. 宁夏农林科技,2011,52(9):64-65.

- [6] 张彬,李倩,田晨. 六种中药材中杀虫剂磷化铝残留量的顶空气相色谱法测定 [J]. 中国药事,2015,29(5):528-532.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 粮油检验 粮食中磷化物残留量的测定分光光度法:GB/T25222-2010 [S]. 北京:中国标准出版社,2011:1-4.
- [8] 彭荣飞,黄聪,于桂兰,等. 电感耦合等离子体质谱法测定粮食中磷化物[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(3):574-575.
- [9] 牛晓君,王彩虹,耿金菊,等. 气相色谱-氮磷检测器分析痕量磷化氢[J]. 分析测试学报,2004,23(3):70-72.
- [10] 姜玉梅,刘燕,熊朝东,等. 电感耦合等离子体质谱法测定钼精矿中的砷锡磷铜铅钙钨铋[J]. 现代测量与实验室管理,2007,15(1):17,33.
- [11] 刘虎生,邵宏翔. 电感耦合等离子体质谱技术与应用 [M]. 北京:化学工业出版社,2005:109-110.
- [12] 刘丽萍,张妮娜,周珊. 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定饮用水及水源水中 31 种元素[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(8):932-934.
- [13] 赖国新,庄峙厦,陈成祥,等. 电感耦合等离子体质谱法同时测定枇杷叶中多种无机元素 [J]. 理化检验-化学分册,2008,44(6):566-571.
- [14] 岳宇飞,杨小青,李瑞瑞,等. 菟丝子微量元素的测定分析[J]. 饮料工业,2014(7):44-47.
- [15] 高亦军,岳明祥,张亦红. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法同时检测配方乳粉中 14 种元素[J]. 解放军预防医学杂志,2012,30(4):271-273.
- [16] 郭静,曾静,闫赖赖,等. 精神分裂症患者血清 41 种微量元素定量检测及分析 [J]. 临床军医杂志,2013,41(1):44-46.

(编辑:杨阳)

## Determination of Phosphide in Chinese Herbal Medicines by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

NIU Yanfei, YOU Yan, ZHANG Xiaonan, XU Yi, HE Dongyang

(Yunnan Bai Yao Group Innovation and R&D Center/Yunnan Institute of Materia Medica/Yunnan Province  
Company Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, kunming 650111, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To develop a method to determine phosphide residue in Chinese herbal medicines by ICP-MS. **Methods** Transformed phosphide in Chinese herbal medicines into phosphoric acid, and used inductively coupled plasma mass spectrometry method to determine phosphorous amount while also using ammonium phosphomolybdate colorimetric method to compare test methods. **Results** The detection limit was higher than 0.002g/L, recoveries were 86.35%~94.78%. ICP-MS method result and the ammonium phosphomolybdate colorimetric results from 10 samples showed no significant differences with low detection limit. **Conclusion** The method can be used for determination of phosphide residue in roots, leaves, fruits and seeds and leather of Chinese herbal medicines and providing strong support for the quality control, and thus provide a reference for safety monitoring.

**KEY WORDS:** safety monitoring of Chinese herbal medicines; phosphide; inductively coupled plasma mass spectrometry; ammonium phosphomolybdate colorimetric