

曲札芪苷原料中铅、镉、铜、砷、汞残留量的测定^{*}

董爱利^{1,2}, 陈云建^{2△}, 方芳², 张元杰³, 郭毅新³

(1. 云南中医学院, 云南 昆明 650500; 2. 昆药集团药物研究院, 云南 昆明 650100;

3. 云南省食品药品检验所, 云南 昆明 650100)

摘要: **目的** 建立曲札芪苷原料中铅、镉、砷、汞、铜检测方法, 测定不同批次中铅、镉、砷、汞、铜残留量。 **方法** 采用微波消解样品, 以石墨炉原子吸收分光光度法测铅、镉含量, 以火焰原子吸收分光光度法测铜含量, 以氢化物发生-原子荧光光谱法测砷、汞含量, 并对方法进行方法学考察。 **结果** 铅、镉、铜、砷、汞的回收率($n=9$)分别为 95.18%、96.29%、101.32%、97.88%、86.76%。 **结论** 本法简单、快速、准确, 可用于原料中铅、镉、铜、砷、汞残留量的测定。

关键词: 曲札芪苷; 微波消解; 原子吸收分光光度法; 原子荧光光谱法; 残留量

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)03-0030-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.03.008

曲札芪苷是从蓼科植物拉萨大黄根或根茎中提取的有效成份, 是一种二苯乙烯苷类化合物。已有研究表明曲札芪苷具有多种药理活性, 如抗氧化、清除自由基^[1], 改善微循环障碍^[2], 神经保护^[3]等, 使其在防治心脑血管缺血方面具有潜在的临床应用价值。随着人类对天然药物的进一步认识, 作为中华民族传统文化的瑰宝-中药也受到各国的重视, 在国际天然药物市场上发展前景良好, 然而从目前国际市场的现状来看, 中药的国际竞争力并不高^[4]。究其原因, 除了与中药产业的外部因素有关外, 中药自身的质量问题也是重要原因之一。尤其是中药的重金属问题, 已成为制约我国中医药发展及国际化的瓶颈^[5-6]。过量的重金属在人体的某些器官中积蓄起来, 与酶蛋白上的-SH 和-S-S 键结合、使蛋白质变性酶失去活性、组织细胞出现结构和功能上的损害, 导致各种疾病的发生^[7]。国内外的研究表明儿童的智力低下发病率随体内铅含量的增加而升高^[8]。因此, 必须严格控制中药中的有害元素。中药中痕量有害元素的分析方法目前主要有原子吸收法(AAS)、原子荧光法(AFS)、电感耦合等离子体质

谱法(ICP-MS)和电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)等^[9-12]。本文采用微波消解样品, 以石墨炉原子吸收分光光度法测铅、镉含量, 以火焰原子吸收分光光度法测铜含量, 以氢化物发生-原子荧光光谱法测砷、汞含量。该测定方法简单、快速、准确, 为原料药中重金属及砷元素的测定提供了参考。

1 仪器与试剂

仪器: Thermo M6 原子吸收光谱仪(美国热电); AF-640 原子荧光光谱仪(北京瑞利); ETHOS ONE 微波消解仪(意大利 Milestone); ED16 加热板(美国 LabTech); Ulupure 超纯水制备系统(成都超纯)。

试剂: 铅、镉、铜、砷、汞标准溶液(中国计量科学研究院国家标准物质); 硝酸(Optima 级); $Mg(NO_3)_2$ 基体改进剂; $NH_4H_2PO_4$ 基体改进剂; 盐酸(优级纯); 硼氢化钾(分析纯); 抗坏血酸(ACS 级); 碘化钾(优级纯); 氢氧化钾(优级纯); 重铬酸钾(优级纯); 全部实验用水均为超纯水制造系统制备的电阻率大于 $18.25 M\Omega \cdot cm$ 的超纯水。

^{*} 基金项目: 云南省重大新产品开发计划资助项目(2013BC001)

收稿日期: 2016-03-20

作者简介: 董爱利(1989-), 女, 河南新乡人, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药新剂型的研究及其质量评价。

△通信作者: 陈云建, E-mail: chyjkm@163.com

2 供试品溶液的制备

2.1 样品预处理

取待测样品 2 份,每份 0.5g,精密称定,置微波消解罐内,加硝酸 10mL,密闭并按表 1 所列程序消解。

表 1 微波消解仪工作参数

阶段	升温时间/min	功率/W	温度/℃	保持时/min
1	10	1400	130	10
2	10	1400	190	10

2.2 溶液制备

取已消解的样品 1 份,待消解液冷却至 60℃以下,将消解罐内罐移至电热板上缓缓加热至红棕色蒸气挥尽,并继续浓缩至 2~3mL,放至室温,用水转入 25mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得铅、镉、铜测定液。

取另 1 份已消解的样品,待消解液冷却至 60℃以下,将消解罐内罐移至电热板上缓缓加热至红棕色蒸气挥尽,并继续浓缩至 2~3mL,放至室温,用水转入 25mL 容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 10mL,置 25mL 量瓶中,加 25%碘化钾溶液 1mL,摇匀,加 10%抗坏血酸溶液 1mL,摇匀,用 5%盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,80℃加热 3min,取出,放至室温,即得砷测定液;精密吸取 10mL,置 25mL 量瓶中,用含 0.5g·L⁻¹重铬酸钾的 5%硝酸水溶液(v/v)稀释至刻度,摇匀,即得汞测定液。

各测定元素的试剂空白溶液制备方法同上。

3 标准溶液的制备

铅标准储备液的制备:精密量取 100μg·mL⁻¹铅单元素标准溶液 5mL,置 500mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,摇匀。再精密量取铅标准储备液 10mL,置 100mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,制成每 1mL 含铅 100ng 的溶液,作为铅标准储备液。

镉标准储备液的制备:精密量取 1 000μg·mL⁻¹镉单元素标准溶液 1mL,置 1 000mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,摇匀。再精密量取镉标准储备液 1mL,置 100mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,制成每 1mL 含镉 10ng 的溶液,作为镉标准储

备液。

铜标准储备液的制备:精密量取 1 000μg·mL⁻¹铜单元素标准溶液 5mL,置 500mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,制成每 1mL 含铜 10μg 的溶液,作为铜标准储备液。

砷标准储备液的制备:精密量取 1 000μg·mL⁻¹砷单元素标准溶液 1mL,置 1 000mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,制成每 1mL 含砷 1μg 的溶液,作为砷标准储备液。

汞标准储备液的制备:精密量取 1 000μg·mL⁻¹汞单元素标准溶液 1mL,置 1 000mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,制成每 1mL 含汞 1μg 的溶液,作为汞标准储备液。

铜、砷、汞系列标准溶液的制备:精密量取铜标准储备液 0,0.5,2.0,4.0,6.0,8.0mL,置 100mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,制成每 1mL 含铜 0,0.05,0.2,0.4,0.6,0.8μg 的铜系列标准溶液;精密量取砷标准储备液 0,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0mL,置 100mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,再分别精密吸取 10mL,置 25mL 量瓶中,加 25%碘化钾溶液 1mL,摇匀,加 10%抗坏血酸溶液 1mL,摇匀,用 5%盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,置 80℃水浴中加热 3min,取出,放冷,即得每 1mL 含砷 0,2,4,8,12,16ng 的砷系列标准溶液;精密量取汞标准储备液 0,0.5,1.5,2.5,3.5,4.5mL,置 100mL 量瓶中,加 2%硝酸溶液稀释至刻度,分别精密吸取 10mL,置 25mL 量瓶中,用含 0.5g·L⁻¹重铬酸钾的 5%硝酸稀释至刻度摇匀,即得每 1mL 含汞 0,2,6,10,14,18ng 的汞系列标准溶液。

4 测定条件

参照《中国药典》2015 年版四部通则 2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法第一法进行灰化、原子化温度考察,确定测定条件。

4.1 铅

采用石墨炉原子吸收法,分别精密吸取空白溶液与供试品溶液各 10μL,精密加含 1%磷酸二氢铵和 0.2%硝酸镁的溶液 5μL,注入石墨炉原子化器。测定条件为:波长 283.3nm,塞曼背景校正,信号类型为峰高;干燥温度 110℃,持续 25s;灰化温度

750℃,持续 25s;原子化温度 1 700℃,持续 4s。

4.2 镉

采用石墨炉原子吸收法,分别精密吸取空白溶液与供试品溶液各 10 μ L,注入石墨炉原子化器。测定条件为:波长 228.8nm,四线氙灯背景校正,信号类型为峰高;干燥温度 110℃,持续 20s;灰化温度 450℃,持续 20s;原子化温度 1 600℃,持续 4s。

4.3 铜

采用火焰原子吸收法,分别吸取空白溶液与供试品溶液适量,喷入火焰。测定条件为:波长 324.7nm,四线氙灯背景校正,信号类型为连续;火焰类型空气-乙炔,燃气流量 1.1L $\cdot$ min⁻¹,雾化器提升 4s,燃烧器高度 7.0mm。

4.4 砷

采用原子荧光法,使用蠕动泵吸取空白溶液与供试品溶液,连续注入原子荧光光谱。测定条件为:10g $\cdot$ L⁻¹ 硼氢化钾为还原剂,2%盐酸溶液为载流;火

焰原子化,分析信号为峰面积;原子化器温度 200℃,载气流量 800mL $\cdot$ min⁻¹,PMT 电压 270V。

4.5 汞

采用原子荧光法,使用蠕动泵吸取空白溶液与供试品溶液,连续注入原子荧光光谱。测定条件为:0.05%(w/v) 硼氢化钾为还原剂,5%盐酸溶液为载流;原子化方式为冷原子,分析信号为峰面积;原子化器温度 200℃,载气流量 400mL/min,辅助气流量 400mL $\cdot$ min⁻¹,PMT 电压 260V。

5 结果

5.1 标准曲线与回归方程

分别取上述铅、镉标准储备液(铅、镉标准储备液采用自动稀释功能稀释。铅:0,5,20,40,60,80ng $\cdot$ mL⁻¹;镉:0,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0ng $\cdot$ mL⁻¹)及铜、汞、砷系列标准溶液,按上述参数条件测定,以浓度为横坐标 X,吸光度或荧光强度为纵坐标 Y,绘制标准曲线。检测结果见表 2。

表 2 标准曲线方程

储备液浓度/(ng $\cdot$ mL ⁻¹)	标准曲线方程	相关系数
Pb 5,20,40,60,80	$Y = -0.000016X^2 + 0.00607X + 0.0089$	0.9995
Cd 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0	$Y = -0.004040X^2 + 0.10072X + 0.0032$	0.9989
Cu 0,50,200,400,600,800	$Y = 0.13978X + 0.0001$	1.0000
As 0,2,4,8,12,16	$Y = 160.254X + 21.570$	0.9999
Hg 0,2,6,10,14,18	$Y = 5437.150X - 1472.357$	0.9995

5.2 检出限

根据国际纯化学与应用化学联盟(IUPAC)光谱检出限计算方法,取同法同时制备的试剂空白溶液照“4”项下方法连续测定 11 次,吸光度值或荧光强度值标准偏差的 3 倍所对应的浓度即为方法检出限(以取样量 0.5g 计算)。铅、镉、铜、砷、汞的检出限分别为 0.061 96、0.000 81、3.102、0.414 0、0.342 8ng $\cdot$ mL⁻¹。

5.3 准确度试验

取曲杞苣荬原料 0.25g,精密称定,铅、镉、砷、铜按高、中、低水平分别精密加入每 1mL 含铅 1 000ng、镉 50ng、砷 500ng、铜 10 000ng 的标准溶液 1.5、1.0、0.5mL,每水平 3 份;汞按高、中、低水平分别精密加入每 1mL 含汞 500ng 的标准溶液 2.25、

1.5、0.75mL,每水平 3 份,按“2”项下方法处理后测定,结果见表 3。

表 3 回收率测定结果

元素	平均回收率/%	RSD(n=9)/%
Pb	95.18	2.4
Cd	96.29	4.4
Cu	101.32	0.8
As	97.88	1.2
Hg	86.76	4.8

5.4 精密度考察

因曲杞苣荬原料仅含痕量铅、镉、砷、铜(0.005~0.050 μ g $\cdot$ g⁻¹),故取 0.25g,精密称定,共 6 份,分别精密加入每 1mL 含铅 1 000ng、镉 50ng、砷 500ng、铜

10 000ng 的标准溶液 0.5mL; 汞需分别精密加入每 1mL 含汞 500ng 的标准溶液 0.75mL, 按“2”项下方法处理后测定, 结果铅、镉、铜、砷、汞的 RSD 分别为 1.8%、4.7%、1.1%、4.3%、4.7% ($n=6$), 精密度良好。

5.5 专属性

铅、镉、铜实验中使用对应的高强度空心阴极灯作为锐线光源, 较小的狭缝宽度, 避免了谱线重叠、光谱通带内非吸收线等光谱干扰, 并用不同的方法进行背景消除, 具有一定的专属性。砷、汞应用原子荧光光谱仪, 该技术是氢化物荧光光谱法。分别由 As、Hg 元素灯提供特征锐线光谱, 因特征锐线光谱特性, 具备较强专属性。实验条件所记录光谱图(如线性, 回收率光谱), 表现为相关对称性, 无不相关的变形, 专属性较好。

5.6 样品测定

表 4 曲札芪苣原料药中铅、镉、砷、汞、铜测定结果
($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $n=3$)

批号	Pb	Cd	Cu	As	Hg
20120402	0.04	0.01	0.05	0.03	0.09
20120403	0.03	0.00	0.09	0.02	0.08
20120404	0.13	0.00	0.16	0.02	0.08
201304001	0.07	0.00	0.15	0.03	0.094
201304002	0.06	0.00	0.07	0.02	0.06
201304003	0.08	0.00	0.24	0.08	0.06
20140101	0.06	0.00	0.16	0.03	0.05
20140102	0.07	0.00	0.17	0.02	0.04
20140103	0.06	0.00	0.03	0.02	0.05
20140104	0.08	0.00	0.43	0.01	0.05

6 讨论

通过对以上 10 批曲札芪苣原料测试结果分析显示, 重金属及有害元素(见表 4)远低于我国 2001 年对外贸易合作部制订的《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》^[13]中有关重金属和砷盐的限量指标: 重金属总量 $\leq 20.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 铅(Pb) $\leq 5.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 镉(Cd) $\leq 0.3\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 铜(Cu) $\leq 20.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 砷(As) $\leq 2.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 汞(Hg) $\leq 0.2\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。说明曲札芪苣原料药在重金属及砷盐等有害元素方面安全、可控。

实验还比较了微波消解与常规所用的干灰化法及湿消解法。常规方法试剂用量大, 样品易受污

染和损失, 测定时间较长, 影响因素较多, 测定的准确度不易控制^[14-15]; 本实验采用密闭的微波加热系统, 该方法消解速度快, 试剂用量少, 能减少挥发元素的损失以及对样品的污染。本研究在消解完成后, 还将消解液置于电热板上进行加热除去硝酸, 不仅可以避免腐蚀仪器, 而且提高了结果的灵敏度和准确度。

本实验建立的测定铅、镉、铜、砷、汞方法均能满足检测要求, 采用 AAS 与 AFS 相结合, 充分利用各自的优点。AAS、AFS 虽然检测效率不如 ICP-AES 和 ICP-MS, 但它的成本低, 比较能够满足目前重金属的检测需要^[16-17]。本实验建立的测定铅、镉、铜、砷、汞的方法, 为原料药中重金属及有害元素的检测提供了参考。

参考文献:

- [1] 胡琳, 何金星, 胡群, 等. 曲札芪苣在制备防治心脑血管疾病制剂中的应用及其制备方法[P]. 昆明: CN101787061B, 2013-07-03.
- [2] 陈云建, 刘一丹, 朱泽, 等. 曲札芪苣在制备改善微循环障碍药物中的应用[P]. 中国: CN103505468A, 2014-01-15.
- [3] 龚云麒, 刘一丹, 陈锦铨, 等. 芪类化合物的应用[P]. 北京: CN103417556A, 2013-12-04.
- [4] 李春华. 中药在国际市场上的现状及对策研究探讨[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2013, 34(4): 567-568.
- [5] 薛健. 中药农药残留、重金属问题研究[C]//第十届全国中药和天然药物学术研讨会论文集. 洛阳: 中国药学会中药与天然药物专业委员会, 2009.
- [6] 李敏, 刘渝, 周睿, 等. 国内外有关中药中重金属和砷盐的限量标准及分析[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11): 2859-2960.
- [7] 刘毅, 邱昌贵. 中药中重金属研究综述[J]. 微量元素与健康研究, 2008, 25(4): 56-58.
- [8] Brown LM, Kim D, Yomai A, et al. Blood lead levels and risk factors for lead poisoning in children and caregivers in Chuuk State, Micronesia [J]. Int J Hyg Environ Health, 2005, 208(4): 231-236.
- [9] 楼小红, 吴巧凤. 紫外分光光度法测定白芍中重金属的研究[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11(1): 38-40.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 205-207.
- [11] 任睿, 罗卓雅, 金红宇. 三种中成药中铅镉砷汞残留量测

- 定方法研究[J]. 中国药品标准, 2006, 7(6): 27-29.
- [12] 苏娟, 吴仪, 刘忠华. 电感耦合等离子体-原子发射光谱法测定 5 种止咳类中药材重金属含量 [J]. 光谱实验室, 2011, 28(6): 2898-2890.
- [13] 中华人民共和国商务部. 中华人民共和国外贸行业标准药用植物及制剂进出口绿色行业标准[J]. 中药研究与信息, 2001, 3(8): 9-10.
- [14] 倪小英. 稻米重金属检测及前处理方法研究 [D]. 长沙: 湖南大学, 2008.
- [15] 姜卫东, 贺亚玲, 杜刚. 益母草注射液中铅、镉、砷、汞、铜残留量的测定 [J]. 药物分析杂志 2008, 28 (9): 1540-1542.
- [16] 陈红梅, 张滨. ICP-MS 法测定茶叶中铅、铬、镉、砷、铜等重金属元素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2011, 2(4): 193-197.
- [17] 周秦, 黄剑林. ICP-MS 法与石墨炉原子吸收法测定水中重金属含量的比较[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 283-285.
- (编辑: 徐建平)

Determination of Residual Pb, Cd, Cu, As and Hg in Piceatannol-3'-O-β-D-glucopyranoside Pharmaceutical Raw Materials

DONG Aili^{1,2}, CHEN Yunjian², FANG Fang², ZHANG Yuanjie³, GUO Yixin³

(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medical, Kunming 650500, China;

2. Drug Research Institute of Kunming Pharmaceutical Company, Kunming 650100, China;

3. Yunnan Provincial Institute for Food and Drug Control, Kunming 650100, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish the methods for determination the content of Pb, Cd, Cu, As and Hg in Piceatannol-3'-O-β-D-glucopyranoside from different batches so as to determine the residue of five elements. **Methods** Samples were digested with microwave digestion system; the content of Pb and Cd was measured by GFAAS (graphite furnace atomic absorption spectrometry), the content of As and Hg was measured by HG-AFS (atomic fluorescence spectrometry), the content of Cu was measured by FAAS (flame atomic absorption spectrometry), and the measurement methods were methodologically evaluated. **Results** The recoveries ($n=9$) of Pb, Cd, Cu, As, and Hg were 95.18%, 96.29%, 101.32%, 97.88%, 86.76%, respectively. **Conclusion** These methods are simple and rapid for operating and can be used for the determination of total Pb, Cd, Cu, As and Hg in pharmaceutical raw materials.

KEY WORDS: piceatannol-3'-O-β-D-glucopyranoside; microwave digestion; atomic absorption spectrometry; atomic fluorescence spectrometry; residue