

山楂丸中 Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种有害元素的残留量和形态分析

张 赞, 张 慧, 姚 力, 罗 轶*

广西壮族自治区食品药品检验所, 广西南宁 530021

摘要: 目的 研究全国4个不同生产企业的52批山楂丸样品中Cu、As、Cd、Hg、Pb 5种有害元素。方法 采用微波消解-电感耦合等离子体质谱技术(ICP-MS)进行残留量测定, 采用高效液相色谱联合电感耦合等离子体质谱技术(HPLC-ICP-MS)分析受污染样品中As、Hg的价态形态, 应用单项污染指数(P_i)和综合污染指数(P)法对样品污染程度进行评价。结果 5种有害元素的线性关系良好($r \geq 0.9994$), 检出限为0.4~5.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 加样回收率为92.54%~102.79%, RSD值 $< 3.5\%$; 所测样品中Cu、Cd、Pb均符合《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》限量规定, 但来自吉林的1个生产企业的部分样品(S30、S37)中As超出限量、全部样品中Hg超出限量。样品中的As、Hg主要以亚砷酸(三价As)、砷酸(五价As)和二价Hg的形态存在。经污染指数评价, 52批样品中污染程度达安全级有32批; 警戒级有2批(S17、S25), 均来自天津的生产企业, 占该企业样品的7.41%; 轻度污染有1批(S38), 中度污染有1批(S40), 重度污染有16批(S28~S37、S39、S41~S45), 污染样品均来自吉林的生产企业, 该企业样品全部存在污染。结论 我国市售的山楂丸的重金属污染情况因生产企业不同而差异极大, 应引起高度重视; 以上研究为进一步开展中药制剂安全性研究提供参考。

关键词: 山楂丸; 重金属元素; 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS); 残留量; 形态; Cu; As; Cd; Hg; Pb

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)15-3077-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.010

Quantitative and morphological analysis of five heavy metal elements Cu, As, Cd, Hg, and Pb in hawthorn pill

ZHANG Zan, ZHANG Hui, YAO Li, LUO Yi

Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China

Abstract: Objective To study Cu, As, Cd, Hg, and Pb in 52 batches of hawthorn pill samples from four different production enterprises in China. **Methods** The residues of five heavy metal elements were determined with microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The valence of As and Hg in the contaminated samples was analyzed with HPLC-ICP-MS. The heavy metal pollution in hawthorn pill was evaluated with the single and comprehensive pollution index method. **Results** The method had good linear correlation ($r \geq 0.9994$). The detection limit ranges of five heavy metal elements were from 0.4 to 5.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recovery values ranged from 92.54% to 102.79%. The relative standard deviations for all elements were less than 3.5%. Green Standards of Foreign Trading Medicinal Plants & Preparations was used as the standard to evaluate the pollution status of Cu, As, Cd, Hg, and Pb in hawthorn pill. The results showed that the residues of Cu, Cd, and Pb were all below the limit of the standard, however, the As of some samples (S30, S37) from the production enterprise in Jilin exceeded the limit, Hg in all samples exceeded the limit. The As and Hg mainly existed in the form of arsenous acid (3), arsenic acid (5) and bivalent mercury. After the evaluation, there were 32 batches of safety level samples, two batches of warning level samples (S17, S25) from the production enterprise in Tianjin, which was occupied 7.41% of their samples, one batch of mild level polluted sample (S38), one batch of moderate level polluted sample (S40), and 16 batches of high level polluted samples (S28—S37, S39, S41—S45) from the production enterprise in Jilin, all samples from that enterprise were contaminated. **Conclusion** The heavy metal pollution levels of hawthorn pill sold in China shows distinct difference since the different production enterprises, which should attach great importance to it. The study

收稿日期: 2017-04-07

基金项目: 国家科技重大专项课题“重大新药创制”项目: 中药质量安全检测和风险控制技术平台(2014ZX09304307-002); 广西重大专项计划项目: 壮药质量标准及质量控制技术规范研究(桂科重1598005-10)

作者简介: 张 赞(1982—), 主管药师, 在读硕士, 研究方向为药品检验和药物质量。Tel: 13877189040 E-mail: 25716990@qq.com

*通信作者 罗 轶, 主任药师, 本科, 研究方向为中药质量控制和外源性污染物。Tel: 13877171269 E-mail: luoyi20010211@163.com

provides a reference for further research on safety of Chinese medicine.

Key words: hawthorn pill; heavy metal element; inductively coupled plasma mass spectrometry; residue; form; Cu; As; Cd; Hg; Pb

山楂丸为山楂的单方制剂, 由山楂、白糖、炼蜜制成的大蜜丸, 具有消积化滞之功效, 用于食积、肉积、停滞不化、痞满腹胀、饮食减少^[1]。该品种为非处方药, 于 1994 年载入《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第九册。山楂是我国特有的果品和传统中药, 为药食两用品种, 以其为原料入药的中药药方多达 500 多种^[2-3]。山楂丸由于能缓解症状, 并且口味较好, 受到人们的广泛使用。近年来随着我国产业发展需要, 土壤、空气、水质等环境资源的重金属及有害元素污染日益严重, 直接影响中药材的质量安全, 中药材受有害元素污染的情况时有发生, 成为人们普遍关注的问题^[4-6]。本研究采用微波消解-电感耦合等离子体质谱技术^[7-9] (ICP-MS), 对 52 批山楂丸样品以《中国药典》2015 年版一部“山楂”项下规定的 Cu、As、Cd、Hg、Pb 5 种有害元素为测定指标进行了测定^[2], 分析了样品中 As、Hg 元素存在的形态价态, 应用单项污染指数 (P_i) 和综合污染指数 (P) 法对其污染程度进行评价, 同时, 为进一步控制山楂丸的安全性提供参考。

1 仪器与材料

Mars 6 微波消解仪, CEM 公司; ICP-MS 8800、Agilent1260 高效液相色谱仪, Agilent 公司; CP224S 电子天平, 精度 0.1 mg, 赛多利斯仪器公司; 超纯水系统, Millipore 公司。

ICP-MS 调谐液 (1 $\mu\text{g/L}$ 的 Ce、Co、Li、Mg、Tl、Y)、PA 调谐液 (20 $\mu\text{g/mL}$ As、Be、Cd、Zn, 10 $\mu\text{g/mL}$ Mg、Ni、Pb, 5 $\mu\text{g/mL}$ Al、Ba、Bi、Co、Cr、Cu、In、⁶Li、Lu、Mn、Na、Sc、Sr、Th、Tl、U、V, 2.5 $\mu\text{g/mL}$ Y、Yb) 购于美国 Agilent 公司; Cu、As、Cd、Pb 等 27 种多元素混合标准溶液购于美国 Agilent 公司, 规格 10 $\mu\text{g/mL}$, 批号 1-78MKBY2; ⁶Li、Sc、Ge、Y、In、Tb、Bi 等多元素混合内标溶液购于美国 Agilent 公司, 规格为 10 $\mu\text{g/mL}$, 批号 1-39MKBY2; Hg 单元素标准溶液购于国家标准物质中心, 规格: 1 000 $\mu\text{g/mL}$, 批号 16063; 二价汞及甲基汞、乙基汞标准溶液均购买中国计量科学研究院, 规格: 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 及 69.5、70.9 $\mu\text{g/g}$, 批号 16063、1601、1601。亚砷酸、二甲基砷、一甲基砷、砷酸溶液标准物质均购买中国计量

科学研究院, 规格 (质量分数以 As 计): 75.7、52.9、25.1、25.1 $\mu\text{g/g}$, 批号 16071、16072、16072、16071。柑橘叶购于中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所, 批号 GBW10020。胰酶购于国药集团, 批号 20160413; 磷酸二氢钾、氢氧化钠为分析纯, 盐酸、硝酸为优级酸, 水为超纯水。

山楂丸样品来自全国 16 个省 (区、市) 的生产经营企业, 涉及生产企业 4 家, 生产企业分别为天津 (同一企业 27 批, 编号 S1~S27)、吉林 (同一企业 18 批, 编号 S28~S45)、河南 (同一企业 3 批, 编号 S46~S48) 和内蒙古 (同一企业 4 批, 编号 S49~S52)。

2 方法与结果

2.1 5 种有害元素的残留量测定

2.1.1 供试品溶液制备 取本品适量, 剪碎, 取 0.5 g, 精密称定, 置聚四氟乙烯消解罐中, 加入硝酸 7.0 mL, 80 $^{\circ}\text{C}$ 预消解 0.5 h, 放冷, 置微波消解仪内, 按消解程序: 功率 1 030~1 800 W, 升温时间 25 min, 到达温度 190 $^{\circ}\text{C}$, 保持时间 30 min 进行消解。消解完毕后, 使消解罐自然冷却至室温, 放冷, 用水转移至 50 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 得到供试品溶液。随行做试剂空白。

2.1.2 调谐溶液的制备 ICP-MS 调谐液直接使用, PA 调谐液用 5% 硝酸稀释 100 倍后使用。

2.1.3 内标溶液的制备 吸取多元素的混合内标溶液 (⁶Li、Sc、Ge、Y、In、Tb、Bi, 各元素质量浓度均为 10 $\mu\text{g/mL}$) 2.5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用 5% 硝酸稀释至刻度, 制成各元素质量浓度均为 500 ng/mL 的内标储备液。

2.1.4 外标溶液的制备 精密量取混合标准溶液及 Hg 单元素标准溶液适量, 置量瓶中, 用 5% 硝酸稀释成 Cu、As、Cd、Pb 质量浓度为 0.1、0.5、1、5、10、50、100、500 ng/mL 的系列混合标准溶液。Hg 质量浓度为 0.1、0.5、1、5、10、20 ng/mL 的系列标准溶液。

2.1.5 质谱条件 射频功率 1 550 W, 载气体积流量 1.05 L/min, 雾化室温度 2 $^{\circ}\text{C}$, 蠕动泵 0.10 r/min, He 碰撞模式: He 气体积流量 4.2 mL/min, 采样深度 10 mm。

2.1.6 标准曲线的绘制和检出限确定 取“2.1.4”

项下系列外标溶液进行测定, 根据样品中各元素残留量情况, 选取标准曲线中合适的质量浓度范围, 以相应元素质量浓度为横坐标 (X), 比率即相应元素质量浓度的 CPS (每秒的计数) 和对应内标 CPS 的比值为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 所测元素在一定线性范围内线性关系良好 ($r \geq 0.999 4$); 取“2.1.1”项下试剂空白溶液, 重复测定 20 次并计算检出限。结果分别为 Cu $Y=11 233.050 4 X+2 158.013 3$, $r=0.999 4$, 线性范围 $0.5 \sim 100.0 \mu\text{g/L}$, 检出限 $4.0 \mu\text{g/kg}$; As $Y=1 031.516 0 X+173.403 3$, $r=0.999 9$, 线性范围 $0.1 \sim 500.0 \mu\text{g/L}$, 检出限 $5.6 \mu\text{g/kg}$; Cd $Y=10 545.686 8 X-1.196 7$, $r=1.000 0$, 线性范围 $0.5 \sim 50.0 \mu\text{g/L}$, 检出限 $1.1 \mu\text{g/kg}$; Hg $Y=0.002 8 X+5.171 9 \times 10^{-5}$, $r=0.999 9$, 线性范围 $0.1 \sim 20.0 \mu\text{g/L}$, 检出限 $0.4 \mu\text{g/kg}$; Pb $Y=139 871.813 2 X+25 728.670 0$, $r=1.000 0$, 线性范围 $0.5 \sim 50.0 \mu\text{g/L}$, 检出限 $2.1 \mu\text{g/kg}$ 。

2.1.7 精密度试验 取山楂丸样品 (S8) 1 份, 按“2.1.1”项方法制备供试溶液, 重复进样测定 6 次, 计算 Cu、As、Cd、Hg、Pb 的 RSD 分别为 0.8%、1.2%、1.1%、1.6%、1.5%, 表明仪器精密度良好。

2.1.8 稳定性试验 取山楂丸样品 (S8) 1 份, 按“2.1.1”项方法制备供试品溶液, 分别在 0、3、6、9、12、24 h 6 个时间点进样分析, 计算 Cu、As、Cd、Hg、Pb 的 RSD 分别为 1.3%、1.6%、1.5%、1.8%、2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.9 重复性试验 取山楂丸样品 (S8) 6 份, 各 0.5 g, 按“2.1.1”项方法制备供试溶液并进行测定, 计算 Cu、As、Cd、Hg、Pb 的 RSD 分别为 1.1%、2.3%、1.9%、2.5%、1.2%, 表明方法重复性良好。

2.1.10 加样回收率试验 取山楂丸样品 (S8) 6 份, 各 0.5 g, 精密加入一定量的标准溶液, 按“2.1.1”项方法制备供试品溶液并进行测定, 计算加样回收率。结果表明, 各元素加样回收率平均值为 92.54%~102.79%, RSD 值为 1.8%~3.5%, 符合痕量分析要求。

2.1.11 准确性试验 取国家标准物质柑橘叶按“2.1.1”项下制备供试品溶液, 进样分析, 结果所测元素的测定值均在标准值范围内, 表明测定方法和仪器的准确性良好, 结果见表 1。

2.1.12 样品测定及结果分析 取 52 批山楂丸样品, 按照“2.1.1”项下方法进行制备后测定, 参照中华人民共和国对外贸易经济合作部《药用植物及

表 1 准确性试验结果
Table 1 Accuracy test results

元素	标准值/(mg·kg ⁻¹)	测定值/(mg·kg ⁻¹)
Cu	6.1~ 7.1	6.8
As	0.9~ 1.3	1.1
Cd	0.15~ 0.19	0.18
Hg	0.130~ 0.170	0.163
Pb	8.8~10.6	10.5

制剂进出口绿色行业标准》中有害元素限量标准, 即 Cu $\leq 20 \text{ mg/kg}$ 、As $\leq 2 \text{ mg/kg}$ 、Cd $\leq 0.3 \text{ mg/kg}$ 、Hg $\leq 0.2 \text{ mg/kg}$ 、Pb $\leq 5 \text{ mg/kg}$ ^[10], 结果 2 批 (S30、S37) 样品中 As 残留量、18 批 (S28~S45) 样品中 Hg 残留量超过规定, 残留量超过规定样品均来自吉林的同一生产企业, 分别占该企业样品的 11.11%、100%。结果见表 2。

2.2 As 元素形态及价态分析

2.2.1 供试品溶液制备 取本品适量, 剪碎, 取 5 g, 精密称定, 置已经过酸处理过的三角瓶中, 精密加入人工肠液 (取磷酸二氢钾 6.8 g, 加水 500 mL 使其溶解, 用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.8; 另取胰酶 10 g, 加水适量使溶解, 将两液混合后, 加水稀释至 1 000 mL, 即得) 50 mL, 涡旋 1 min, 37 °C 水浴震荡 2 h, 37 °C 超声 (功率 640 W, 频率 40 kHz) 2 h, 摇匀, 取约 25 mL, 静置 24 h, 吸取中间液适量, 用 10 μm 微孔滤膜滤过, 精密吸取续滤液 5 mL 置 20 mL 量瓶, 用 0.02 mol/L EDTA 溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。随行做试剂空白。

2.2.2 对照品溶液制备 分别精密吸取亚砷酸、二甲基砷、一甲基砷、砷酸溶液标准物质适量, 用 0.02 mol/L EDTA 溶液稀释成各含 1、5、10、20、50、100、500 ng/mL (均以 As 计) 系列质量浓度对照品溶液, 摇匀, 即得。

2.2.3 色谱条件 Hamilton PRP-X100 色谱柱 (250 mm \times 4.1 mm, 10 μm); 流动相为 0.025 mol/L 磷酸二氢铵溶液 (氨水调节 pH 值至 8.0) -水, 梯度洗脱: 0~15 min, 100%~0 水; 15~20 min, 0~100% 水; 20~25 min, 100% 水; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样量 100 μL 。测定时选取同位素 ⁷⁵As, 选择碰撞池模式。混合对照品、样品和试剂空白的 As 形态色谱图见图 1。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 100 μL , 注入液相色谱仪测定。以对照

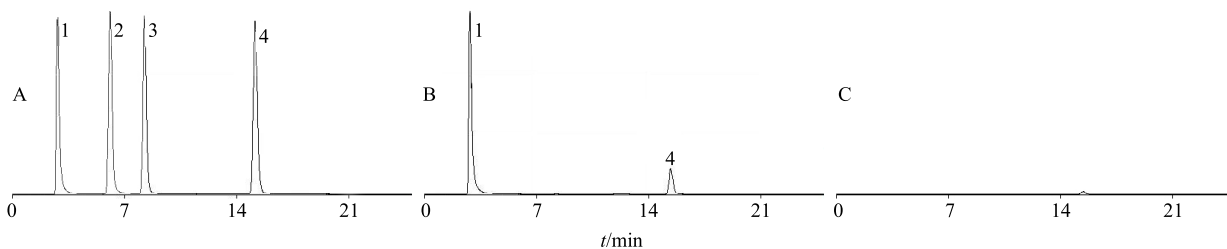
表 2 样品中 5 种重金属及有害元素的残留量

Table 2 Five kinds of heavy metal element residues in samples

样品	各元素残留量/(mg·kg ⁻¹)					样品	各元素残留量/(mg·kg ⁻¹)					样品	各元素残留量/(mg·kg ⁻¹)				
	Cu	As	Cd	Hg	Pb		Cu	As	Cd	Hg	Pb		Cu	As	Cd	Hg	Pb
S1	1.30	0.018	0.012	0.076	0.206	S19	1.26	0.026	0.012	0.022	0.326	S37	1.56	57.902	ND	7.095	0.023
S2	1.26	0.025	0.012	0.021	0.439	S20	1.17	0.026	0.012	0.019	0.243	S38	1.67	0.229	0.031	0.311	0.357
S3	1.22	0.058	0.012	0.040	0.186	S21	1.27	0.032	0.012	0.015	0.359	S39	1.67	1.932	ND	32.752	0.022
S4	1.30	0.047	ND	0.019	0.205	S22	1.28	0.027	0.012	0.029	0.215	S40	1.33	0.219	0.031	0.413	0.319
S5	1.20	0.027	0.013	0.036	0.331	S23	1.92	0.025	0.013	0.028	0.650	S41	1.76	1.495	0.008	32.711	0.302
S6	1.15	0.022	ND	0.020	0.258	S24	1.80	0.028	0.013	0.029	0.448	S42	1.84	1.581	0.011	29.854	0.329
S7	1.18	0.024	0.027	0.030	0.259	S25	1.49	0.031	0.013	0.162	0.447	S43	1.89	0.148	0.023	1.233	0.330
S8	1.20	0.039	0.055	0.041	0.421	S26	1.49	0.024	0.013	0.026	0.286	S44	1.99	0.130	0.007	1.301	0.233
S9	1.18	0.025	0.021	0.020	0.285	S27	1.31	0.038	0.013	0.063	0.267	S45	1.86	1.389	0.018	33.043	0.487
S10	1.19	0.023	0.014	0.016	0.515	S28	1.54	1.006	ND	33.850	0.031	S46	1.74	0.027	0.014	0.003	0.189
S11	1.62	0.044	0.010	0.025	0.133	S29	1.45	1.596	ND	31.758	0.031	S47	1.67	0.031	0.021	0.002	0.284
S12	1.24	0.027	0.011	0.018	0.395	S30	1.97	213.041	ND	13.085	0.323	S48	1.43	0.029	0.036	0.018	0.261
S13	1.31	0.030	0.070	0.080	0.738	S31	2.07	1.903	ND	37.056	0.032	S49	1.59	0.063	0.033	0.044	0.553
S14	1.30	0.031	0.013	0.025	0.244	S32	1.39	1.784	ND	36.963	0.031	S50	1.56	0.062	0.031	0.063	0.547
S15	1.30	0.026	0.015	0.029	0.393	S33	1.20	0.173	0.024	0.614	0.295	S51	1.42	0.032	0.019	0.012	0.395
S16	1.67	0.033	0.012	0.036	0.263	S34	1.68	1.736	ND	32.477	0.032	S52	1.66	0.050	0.016	0.056	0.334
S17	1.18	0.026	0.012	0.233	0.310	S35	1.76	1.942	ND	37.255	0.376						
S18	1.26	0.025	0.013	0.026	0.219	S36	1.44	1.701	ND	32.477	0.025						

ND 表示低于检出限

ND indicated the index under the detection limit



1-亚砷酸 2-二甲基砷 3-一甲基砷 4-砷酸

1-arsenious acid 2-dimethyl arsenic 3-monomethylated arsenic 4-arsenic acid

图 1 混合对照品溶液 (A)、山楂丸样品 (B) 和试剂空白 (C) 中 As 形态色谱图

Fig. 1 Arsenic form chromatograms of mix standards (A), hawthorn pill sample (B), and blank solvent (C)

品峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程分别为亚砷酸 $Y = 113\ 185.012\ 3\ X$, $r = 1.000\ 0$; 二甲基砷 $Y = 130\ 522.451\ 8\ X$, $r = 1.000\ 0$; 一甲基砷 $Y = 62\ 357.396\ 8\ X$, $r = 1.000\ 0$; 砷酸 $Y = 113\ 185.012\ 3\ X$, $r = 1.000\ 0$; 结果表明线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 取样品 (S37) 1 份, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 分别测

得样品中亚砷酸和砷酸质量分数的 RSD 为 1.9% 和 1.7%, 二甲基砷和一甲基砷未检出。

2.2.6 稳定性试验 取样品 (S37) 1 份, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0、3、6、9、12、24 h 进样分析, 分别测得样品中亚砷酸和砷酸质量分数的 RSD 为 3.1% 和 3.5%, 二甲基砷和一甲基砷未检出。结果表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取样品 (S37) 6 份, 每份 5 g,

精密称定,按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,依次进样分析,分别测得样品中亚砷酸和砷酸质量分数的 RSD 为 7.3%和 4.8%,二甲基砷和一甲基砷未检出。

2.2.8 加样回收率试验 取样品(S37)6份,每份5g,精密称定,置已经过酸处理过的三角瓶中,精密加入标准物质稀释液(取亚砷酸、二甲基砷、一甲基砷、砷酸溶液标准物质适量置量瓶中,用人工肠液稀释即得)50 mL,使得瓶中亚砷酸、二甲基砷、一甲基砷、砷酸的加入量(以 As 计)分别为 150.0、2.6、1.3、8.7 μg。按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,依次进样分析,测得样品中亚砷酸、二甲基砷、一甲基砷和砷酸的平均加样回收率分别为 88.0%、85.6%、83.1%、91.3%,RSD 分别为 6.2%、1.2%、1.1%、3.2%,表明方法符合痕量分析要求。

2.2.9 样品测定 取受 As 污染样品(S30 和 S37),按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,依次进样分析,测得样品(S30 和 S37)中含亚砷酸分别为 16.71、7.00 mg/kg,含砷酸分别为 2.85、0.82 mg/kg。结果表明受污染样品中的 As 主要以三价和五价的形态存在。

2.3 Hg 元素形态及价态分析

2.3.1 供试品溶液制备^[11] 精密称取 0.3 g 样品置消解罐中,加入 6 mL 萃取剂[5 mol/L 盐酸-3% L-半胱氨酸(5:1)]涡旋 1 min 后,按萃取程序(最大功率 1 200 W,反应 10 min,温度 80 °C,保持 60 min)加热萃取,萃取程序结束后,冷却至常温,打开密闭消解罐,样品萃取液用水转移至 20 mL 量瓶,4 000 r/min 离心 10 min 后,过 0.45 μm 滤膜,即得。随行做试剂空白。

2.3.2 对照品溶液制备 分别精密吸取二价汞、甲基汞、乙基汞标准溶液适量,用溶液(取“2.3.1”项下 6 mL 萃取剂稀释至 20 mL)稀释成各含 0.5、1、5、10、20 ng/mL(均以 Hg 计)系列质量浓度对照品溶液,摇匀,即得。

2.3.3 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6, 10 μm);以甲醇-0.01 mol/L 乙酸铵溶液(含 0.12% L-半胱氨酸,氨水调节 pH 值至 7.5)(8:92)为流动相,体积流量为 1 mL/min;柱温 25 °C,进样量 100 μL。测定时选取同位素 ²⁰²Hg,选择碰撞池模式。混合对照品、样品和试剂空白的 Hg 形态色谱图见图 2。

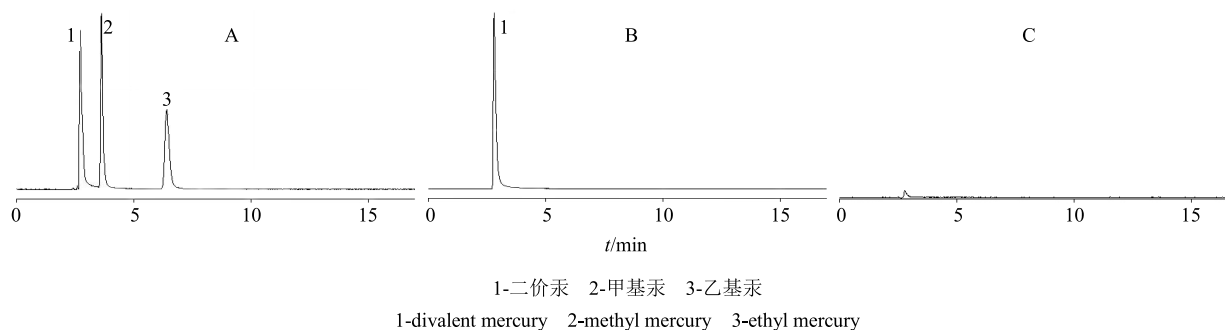


图 2 混合对照品(A)、样品(B)和试剂空白(C)中 Hg 形态色谱图

Fig. 2 Mercury form chromatograms of mix standards (A), sample (B), and blank solvent (C)

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项下对照品溶液 100 μL 注入液相色谱仪测定。以对照品峰面积为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X)进行线性回归,得回归方程分别为 Hg(二价) $Y=92\ 758.844\ 0\ X+25\ 537.000\ 0$, $r=0.999\ 7$; 甲基汞 $Y=94\ 428.868\ 7\ X$, $r=1.000\ 0$; 乙基汞 $Y=95\ 139.641\ 8\ X$, $r=1.000\ 0$, 结果表明线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 取样品(S34)1份,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,连续进样 6 次,测得样品中二价汞峰面积的 RSD 为 1.6%,甲基汞和乙基汞未检出。

2.3.6 稳定性试验 取样品(S34)1份,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,分别在 0、3、6、9、12、24 h 6 个时间点进样分析,测得样品中二价汞峰面积的 RSD 为 2.9%,甲基汞和乙基汞未检出。结果表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 取样品(S34)6份,每份 0.3 g,精密称定,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,依次进样分析,测得样品中二价汞质量分数的 RSD 为 6.5%,甲基汞和乙基汞未检出。

2.3.8 加样回收率试验 取样品(S34)6份,每份 0.3 g,精密称定,置消解罐中,精密加入标准溶液

稀释液（取二价汞、甲基汞、乙基汞标准溶液适量置容量瓶中，用水稀释即得）适量，使得消解罐中二价汞、甲基汞、乙基汞的加入量（以 Hg 计）分别为 150、100、100 ng。按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液，依次进样分析，分别测得样品中二价汞、甲基汞和乙基汞的平均加样回收率分别为 83.60%、85.30%、86.10%，RSD 分别为 6.1%、3.6%、2.9%，表明方法符合痕量分析要求。

2.3.9 样品测定 取受 Hg 污染样品（S28~S45），按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液，依次进样分析，样品中二价汞的质量分数分别为 2.399、3.185、0.342、1.654、3.209、0.224、3.815、1.321、2.425、0.305、0.042、1.836、0.122、3.602、2.478、0.193、0.480、2.908 mg/kg，甲基汞和乙基汞均未检出。

2.4 有害元素的污染评价^[12]

采用单项污染指数（ P_i ）及综合污染指数（ P ），参照《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中有害元素限量标准即 $Cu \leq 20$ mg/kg、 $As \leq 2$ mg/kg、 $Cd \leq 0.3$ mg/kg、 $Hg \leq 0.2$ mg/kg、 $Pb \leq 5$ mg/kg，来评价样品受有害元素污染的程度。

P_i 计算公式为 $P_i = C_i/S_i$ ， P_i 为样品中某种有害元素的污染指数， C_i 为样品中某种有害元素质量分数， S_i 为样品中某种有害元素的限量标准。当 $P_i \leq 1.0$ 时表示样品未受污染， $P_i > 1.0$ 时表示样品已受污染，且 P_i 越大表示污染越严重。52 批样品中，受 As 污染的有 2 批（S30、S37），受 Hg 污染的有 18 批（S28~S45），均未受 Cu、Cd、Pb 污染。

P 计算公式为 $P = [(P_{ave}^2 + P_{max}^2)/2]^{1/2}$ ， P_{ave} 为样品中各 P_i 的平均数， P_{max} 为各 P_i 的最大值。当 $P \leq 0.7$ 时表示为安全级， $0.7 < P \leq 1.0$ 时表示为警戒级， $1.0 < P \leq 2.0$ 表示为轻度污染， $2.0 < P \leq 3.0$ 表示为中度污染， $P > 3.0$ 表示为重度污染。

结果见表 3。52 批样品中，污染程度达安全级有 32 批；警戒级有 2 批（S17、S25），均来自天津的生产企业，占该企业样品的 7.41%；轻度污染有 1 批（S38），中度污染有 1 批（S40），重度污染有 16 批（S28~S37、S39、S41~S45），污染样品均来自吉林的生产企业，轻度、中度、重度污染样品分别占该企业样品的 5.56%、5.56%、88.89%，即该企业样品全部存在污染。

3 讨论

参照《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》，52 批山楂丸样品中 Cu、Cd、Pb 的残留量均符合规

定，但部分样品中 As、Hg 残留量严重超标。1988 年联合国粮农组织和世界卫生组织（FAO/WHO）推荐食品添加剂联合专家委员会（JECFA）提出无机砷的暂定每人每周允许摄入量（PTWI）为 0.015 mg/kg·BW（体质量），以体质量 60 kg/人计，即每人每日允许摄入量（ADI）为 0.128 mg^[13]。2010 年 JECFA 第 72 次会议建议取消了总膳食砷的限量标准，定为无限量标准，认为人体对 As 的暴露量越低越好；无机汞的 PTWI 为 0.004 mg/kg·BW，即 ADI 为 0.034 mg^[14]。根据山楂丸的用法用量（1 次 1 丸，1 日 3 次），以每日最大服用量为 27 g 计算，2 批 As 超限样品的无机砷日摄入量为 0.197 mg 和 0.528 mg，均大于安全限量，且最高的达限量 4 倍。15 批 Hg 超限样品的无机汞日摄入量为 0.001~0.103 mg，共有 8 批大于安全限量，最高的达限量 3 倍，需引起高度重视。

As、Hg 的毒性与其化学形态密切相关。本实验对受污染样品进行 As、Hg 的价态形态分析，无机砷主要以毒性较强的三价砷及五价砷的形态存在，其中三价砷的毒性最大，五价砷的毒性略有降低^[15]，主要对肝肾、泌尿系统、皮肤、血液、骨髓等造成损伤，并对神经系统和胎儿发育产生影响。在 Hg 形态分析的实验中，本研究依据《中国药典》2015 年版四部通则用人工胃液和肠液未能将汞从结合态中完全解离出来，而采用微波萃取的方法提取样品，可较好地分离出二价汞。由于人体系统的复杂性，不同形态的汞通过食物链进入人体后，可能转变成毒性较大形态的汞，并经过生物富集作用，进而对人体的肾脏和各大系统造成影响。

由于有害元素超限摄入的危害性，我国中药材和中药制剂受有害元素污染的报道日益增多。赵连华等^[16]对我国 30 个省、市的中药材受有害元素污染情况进行了统计，As、Hg、Pb、Cd、Cu 的超标率分别为 9.32%、13.0%、9.66%、26.35%、16.09%。林龙勇等^[17]对三七及其中药制剂进行研究，As、Pb 的平均超标率分别为 41%和 78%。郭素华等^[18]对闽产 47 种中成药进行测定，As、Hg 的超标率达 2.13%和 53.23%。

经文献研究及工艺过程分析，中药制剂中有害元素主要来自于原药材及其加工炮制过程、工艺设备、制剂生产以及储存、运输等环节。左甜甜等^[19]对全国 31 个省的 306 批山楂药材和饮片进行了测定，As 和 Hg 的测定均值分别为 0.1 mg/kg 和 0.02

表 3 52 批山楂丸样品的 P_i 和 P
Table 3 P_i and P values of 52 batch samples of hawthorn pill

样品	P_i					P	污染程度	样品	P_i					P	污染程度
	Cu	As	Cd	Hg	Pb				Cu	As	Cd	Hg	Pb		
S1	0.07	0.01	0.04	0.38	0.04	0.4	安全级	S27	0.07	0.02	0.04	0.32	0.05	0.3	安全级
S2	0.06	0.01	0.04	0.11	0.09	0.1	安全级	S28	0.08	0.50	0.00	169.25	0.01	172.4	重度污染
S3	0.06	0.03	0.04	0.20	0.04	0.2	安全级	S29	0.07	0.80	0.00	158.79	0.01	162.2	重度污染
S4	0.07	0.02	0.00	0.10	0.04	0.1	安全级	S30	0.10	106.52	0.00	65.43	0.06	112.4	重度污染
S5	0.06	0.01	0.04	0.18	0.07	0.2	安全级	S31	0.10	0.95	0.00	185.28	0.01	188.7	重度污染
S6	0.06	0.01	0.00	0.10	0.05	0.1	安全级	S32	0.07	0.89	0.00	184.82	0.01	188.7	重度污染
S7	0.06	0.01	0.09	0.15	0.05	0.2	安全级	S33	0.06	0.09	0.08	3.07	0.06	3.1	重度污染
S8	0.06	0.02	0.18	0.21	0.08	0.2	安全级	S34	0.08	0.87	0.00	162.39	0.01	165.3	重度污染
S9	0.06	0.01	0.07	0.10	0.06	0.1	安全级	S35	0.09	0.97	0.00	186.28	0.08	189.7	重度污染
S10	0.06	0.01	0.05	0.08	0.10	0.1	安全级	S36	0.07	0.85	0.00	162.39	0.01	165.3	重度污染
S11	0.08	0.02	0.03	0.13	0.03	0.1	安全级	S37	0.08	28.95	0.00	35.48	0.00	37.3	重度污染
S12	0.06	0.01	0.04	0.09	0.08	0.1	安全级	S38	0.08	0.11	0.10	1.56	0.07	2.0	轻度污染
S13	0.07	0.02	0.23	0.40	0.15	0.4	安全级	S39	0.08	0.97	0.00	163.76	0.00	167.3	重度污染
S14	0.07	0.02	0.04	0.13	0.05	0.1	安全级	S40	0.07	0.11	0.10	2.07	0.06	2.1	中度污染
S15	0.07	0.01	0.05	0.15	0.08	0.1	安全级	S41	0.09	0.75	0.03	163.56	0.06	167.3	重度污染
S16	0.08	0.02	0.04	0.18	0.05	0.2	安全级	S42	0.09	0.79	0.04	149.27	0.07	152.0	重度污染
S17	0.06	0.01	0.04	1.17	0.06	1.0	警戒级	S43	0.09	0.07	0.08	6.17	0.07	6.1	重度污染
S18	0.06	0.01	0.04	0.13	0.04	0.1	安全级	S44	0.10	0.07	0.02	6.51	0.05	7.1	重度污染
S19	0.06	0.01	0.04	0.11	0.07	0.1	安全级	S45	0.09	0.69	0.06	165.22	0.10	168.3	重度污染
S20	0.06	0.01	0.04	0.10	0.05	0.1	安全级	S46	0.09	0.01	0.05	0.02	0.04	0.1	安全级
S21	0.06	0.02	0.04	0.08	0.07	0.1	安全级	S47	0.08	0.02	0.07	0.01	0.06	0.1	安全级
S22	0.06	0.01	0.04	0.15	0.04	0.1	安全级	S48	0.07	0.01	0.12	0.09	0.05	0.1	安全级
S23	0.10	0.01	0.04	0.14	0.13	0.1	安全级	S49	0.08	0.03	0.11	0.22	0.11	0.2	安全级
S24	0.09	0.01	0.04	0.15	0.09	0.1	安全级	S50	0.08	0.03	0.10	0.32	0.11	0.3	安全级
S25	0.07	0.02	0.04	0.81	0.09	0.8	警戒级	S51	0.07	0.02	0.06	0.06	0.08	0.1	安全级
S26	0.07	0.01	0.04	0.13	0.06	0.1	安全级	S52	0.08	0.03	0.05	0.28	0.07	0.3	安全级

mg/kg, 测定极大值分别为 1.7 mg/kg 和 0.2 mg/kg, 表明目前我国山楂药材中 As、Hg 量基本符合国家药典标准。金鹏飞等^[20]采用 HPLC-ICP-MS 方法研究冬虫夏草中 As 形态以及大黄、黄芪、黄芩、地黄、何首乌 5 种药材炮制前后 As 形态的变化, 结果表明无机砷(三价和五价)在中药中占大多数, 并且中药材炮制后无机砷量均出现了上升。周妍等^[21]对中成药采用传统工艺原粉入药和提取有效成分入药 2 种制剂方式对有害元素的影响进行了研究, 结果表明有效成分入药的方式中 As、Cu、Pb 等明显下降。韩敏^[22]对 4 种浓缩丸和 3 种蜜丸中有害元素进行了测定, 结果显示浓缩丸中 As 等的量

普遍高于蜜丸。以上表明, 不同的生产工艺、不同的制剂类型和炮制过程均会对中药中有害元素量产生影响。

本研究中 3 家生产企业样品的 5 种有害元素限量均符合规定, 而另 1 家企业全部样品 18 批 Hg 超标严重, 2 批样品 As 超标严重。由于山楂丸原料、生产工艺和加工炮制过程均较简单, 经分析, 笔者认为该企业样品中 2 种有害元素超标的原因极有可能是来自其生产线的交叉污染。为保证药品安全, 应对其生产过程进行严格监控, 以防出现交叉污染; 对该企业已上市产品应特别监控, 召回发现有有害元素污染的各批次产品。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药成方制剂第九册 [S]. 1994.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 范文秀, 杨素兰, 郝海岭, 等. 山楂及其中药制剂中无机元素的光谱测定 [J]. 广东微量元素科学, 2005, 12(8): 60-62.
- [4] 郑礼胜, 刘学中, 崔艳丽, 等. 中药里Fe元素的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(4): 677-685.
- [5] 杨咪咪, 王旗. 我国中药中重金属毒理学研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 31(12): 1359-1368.
- [6] 杨毅, 田侃, 田虹. 中药资源外源性污染问题管控研究 [J]. 中国药房, 2016, 27(34): 4885-4888.
- [7] 王小平. 电感耦合等离子体质谱技术在元素分析中的应用 [D]. 苏州: 苏州大学, 2009.
- [8] 汤卫国, 王奇志, 印敏, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定脉络宁注射液中25种矿物质元素 [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2172-2177.
- [9] 张英. 电热蒸发钨丝捕获电感耦合等离子体质谱技术测定农产品中锌和镉的研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [10] 药用植物及制剂进出口绿色行业标准 [S]. 2001.
- [11] 张兰, 陈玉红, 王英峰, 等. 微波辅助萃取-高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法联用测定生物样品中的汞形态 [J]. 环境化学, 2013, 32(11): 2219-2222.
- [12] 赵蓉, 杨惠霞, 蒲瑾, 等. 中药重金属污染及其评价方法研究现状 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 2(23): 134-136.
- [13] FAO/WHO. Codex Alimentarius, General Standards Programme Codex Committee Additives and Contaminants [S]. 1988.
- [14] World Health Organization technical report series. Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-third report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives [R]. Geneva: WHO, 2010. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_960_eng.pdf.
- [15] 支兴蕾, 郭立玮. 中药中砷、汞等无机元素的体内存在形态及影响其生物药剂学特征的若干因素 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(16): 1933-1936.
- [16] 赵连华, 杨银慧, 胡一晨, 等. 我国中药材重金属污染现状分析及对策研究 [J]. 中草药, 2014, 45(9): 1199-1206.
- [17] 林龙勇, 于冰冰, 廖晓勇, 等. 三七及其中药制剂中砷和重金属含量及健康风险评估 [J]. 生态毒理学报, 2013, 8(2): 244-249.
- [18] 郭素华, 余波, 杨培坤, 等. 闽产47种中成药中重金属的含量测定 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(4): 305-307.
- [19] 左甜甜, 李耀磊, 陈沛, 等. 西洋参、山楂、枸杞子中重金属及有害元素残留量测定及初步风险评估 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(11): 2016-2021.
- [20] 金鹏飞, 吴学军, 邹定, 等. HPLC-ICP-MS 研究炮制对中药砷形态的影响 [J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(3): 816-819.
- [21] 周妍, 黄文耀, 张颖, 等. 两种不同制剂工艺对中成药中重金属含量的影响 [J]. 公共卫生与预防医学, 2013, 24(6): 100-102.
- [22] 韩敏. 中成药丸剂中重金属含量的测定及评价 [J]. 洛阳理工学院学报, 2015, 25(1): 10-15.