

微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定复方丹参滴丸中的重金属及有害元素的含量

官 辉*(辽宁省肿瘤医院药学部,沈阳 110042)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1258-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.38

摘 要 目的:建立测定复方丹参滴丸中的重金属及有害元素含量的方法。方法:样品经微波消解法处理后,采用电感耦合等离子体质谱法同时测定复方丹参滴丸中铬、锰、钴、镍等13种金属元素及有害元素的含量。结果:13种元素的质量浓度均在各自范围内与测定值呈良好线性关系($r>0.999\ 4$),检出限为 $0.012\sim 0.911\ \mu\text{g/L}$;重复性试验的 $\text{RSD}<3\%$;加样回收率为 $80.10\%\sim 106.70\%$, RSD 为 $0.55\%\sim 2.92\%$ ($n=3$)。结论:该方法灵敏、快速、准确,适用于复方丹参滴丸中的重金属及有害元素的测定。

关键词 微波消解;电感耦合等离子体质谱法;复方丹参滴丸;金属元素

Determination of the Content of Heavy Metals and Harmful Elements in Compound Danshen Dripping Pills by Microwave Digestion and ICP-MS

GONG Hui(Dept. of Pharmacy, Liaoning Cancer Hospital, Shenyang 110042, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of heavy metals and harmful elements in Compound danshen dripping pills (CDDP). METHOD: Microwave digestion-inductively coupled plasma-mass spectrometric (ICP-MS) method was established to determine the content of 13 heavy metals and harmful elements in CDDP, including Cr, Mn, Co, Ni, etc. RESULTS: There was a good linear relationship between the quality concentration of elements and measured values of the standard curves of 13 elements($r>0.999\ 4$). Detection limit was in the range of $0.012\sim 0.911\ \mu\text{g/L}$. The RSD of repeatability test was lower than 3% ; the recovery was in the range of $80.10\%\sim 106.70\%$ and the RSD was in the range of $0.55\%\sim 2.92\%$ ($n=3$). CONCLUSIONS: The method is sensitive, fast and accurate. It can be used for determination of heavy metals and harmful elements in CDDP.

KEYWORD Microwave digestion; ICP-MS; Compound danshen dripping pills; Metal elements

复方丹参滴丸由丹参、三七、冰片等组成,具有活血化瘀、理气止痛的功效,临床常用于血瘀气滞所致的胸痹、胸闷及心区刺痛。由于疗效较好,该药使用量不断上升,为临床常用药之一^[1-3]。目前,对复方丹参滴丸的研究主要集中在其药理活性及有效成分等方面^[4-5],但对于其重金属含量的研究尚未见报道。重金属元素在人体内累积到一定量会对人体的正常生理功能产生明显影响^[6-7]。因此,准确测定复方丹参滴丸中的重金属含量对于保证药物使用安全性、提高其质量品质及维护消费者健康都有重要意义。

随着检测技术的不断进步,以往原子荧光、原子吸收等方法已不能满足实验室的检测要求^[8-9],电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法具有检出限低、测量速度快、测量元素多等特点,在医药、地质、食品卫生等行业有着广泛的应用^[10-13]。本研究结合微波消解及ICP-MS法,建立了同时测定复方丹参滴丸中13种重金属及有害元素含量的方法,以为复方丹参滴丸的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

MW3000型微波消解仪(奥地利 Anton Paar公司);7500 cc

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:024-31916178。
E-mail: jiajunnv@163.com

型ICP-MS仪(美国安捷伦公司),工作气体为氩气;LabTech EH20B 数控电热板;Milli-Q 型超纯水处理系统(美国 Millipore公司);AG245 型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司,精度: $0.1\ \text{mg}$)。

1.2 药品与试剂

复方丹参滴丸(天津天士力制药,批号:130619、130819、130916、131001、140422);硝酸和盐酸均为优级纯;过氧化氢为mos级;标准溶液:Agilent 多元素混标(Part# 5183-4688),Agilent 内标(Part# 5183-4681),Agilent 调谐液(Part# 5185-5959),Agilent Hg 标液(Part# 8500-6941);灌木枝叶标准物质GBW07603购于国家标准物质网(批号:05066)。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 标准溶液 精密量取Agilent 多元素混标(Part# 5183-4688)溶液适量,用3%的稀硝酸溶液配制制成每1 ml 各含铬(Cr)、锰(Mn)、钴(Co)、镍(Ni)、砷(As)、硒(Se)、镉(Cd)、铈(Sb)、钡(Ba)、铅(Pb) $0.5\ 1.0\ 2.0\ 5.0\ 10.0\ 20.0\ 50.0\ \text{ng}$,各含铜(Cu)、锌(Zn) $2\ 5\ 10\ 20\ 50\ \text{ng}$,含汞(Hg) $0.1\ 0.5\ 1.0\ 2.0\ 5.0\ \text{ng}$ 的系列浓度标准混合溶液,即得。本液临用前配制。

2.1.2 内标溶液 精密量取锂(Li)、钪(Sc)、锆(Ge)、钇(Y)、铟(In)、铋(Bi)、铽(Tb)各内标元素标准溶液适量,用1%硝酸

稀释成每1 ml 各含1 ng 的混合溶液,即得。

2.2 样品前处理

精密称取样品 0.5 g(精确至 0.000 1 g),置于酸煮洗净的聚四氟乙烯(PTFE)密闭消解罐中,加入 6 ml 硝酸和 2 ml 过氧化氢,置微波消解炉中,密闭并按微波消解仪的要求及相应消解程序消解(微波消解参数见表 1)。消解完全后,待温度降至室温后取出消解罐,用少量超纯水洗涤消解罐 3 次,洗液合并于量瓶中,超纯水稀释,定容至 50 ml,备用。

表 1 微波消解参数

Tab 1 Parameters of microwave digestion

功率,W	变化速率,W/min	保持时间,min
800	5	10
1 400	10	30
0	0	15

2.3 分析仪器的参数

联机前使用 Agilent 调谐液(Part# 5185-5959, Li、Mg、Y、Co、Ce 和 Ti 的质量浓度均为 1 μg/L)对 ICP-MS 进行调谐,以保证仪器的最佳灵敏度和仪器状态的稳定性。分析仪器的参数见表 2。

表 2 仪器工作参数

Tab 2 Parameters of instrument operating

仪器参数	参数值
射频功率,W	1 500
射频电压,V	1.70
雾化室温度,℃	2
载气流速,L/min	0.90
补偿气流速,L/min	0.25
选择气,L/min	0.0
蠕动泵提升速率,rps	0.3

2.4 试验条件的优化

2.4.1 干扰和基体效应的校正 采用 ICP-MS 进行元素分析时的干扰主要来自氧化物、多原子离子和同质异位素。样品溶液中元素间的含量差异会引起基体效应,采用在线内标和校正方程可有效监控和校正分析信号的短期和长期漂移,对基体效应有明显的补偿作用。本研究采用 Li、Sc、Ge、Y、In、Bi、Tb 混合溶液作为内标,质量浓度均为 1.0 μg/L。

2.4.2 消解方法的优化 电热板消解法与微波消解法的效果均较理想,消解后样品的 ICP-MS 测定值基本相当。但就可操作性而言,电热板消解样品耗时多、重现性较差,1 批样品消解完需要 1 d 以上;需要多次加酸并经常摇动坩埚,赶酸至近干时很容易出现蒸干现象,影响测定结果;且定容时试液浑浊,须静置或离心后才能上机测定。而微波消解是一种内加热的消解方法,样品与试剂接触面积大,密闭系统能避免待测元素的损失,保证测试结果的准确性;且程序可自动升温,消解时间短,1 h 左右即可消解完成;消解液澄清,试液可直接上机测定。因此,本研究采用微波消解法对样品进行前处理。

2.4.3 消解溶液的优化 笔者分别考查了以浓硝酸、浓硝酸-双氧水(3:1, V/V)、浓硝酸-双氧水(1:1, V/V)、浓硝酸-双氧水(1:3, V/V)作为消解溶液进行微波消解时各元素的回收率。

结果显示,采用浓硝酸-双氧水(3:1, V/V)作为消解溶液时各分析元素的回收率均在 80.1%~106.7% 之间,可满足分析要求。故最终采用浓硝酸-双氧水(3:1, V/V)进行样品消解。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系及检出限 取“2.1”项下系列标准工作溶液以及空白溶液(3% 硝酸溶液)各适量,分别按上述工作条件进行测定。以测量值(y)为纵坐标、质量浓度(x, μg/L)为横坐标,绘制标准曲线,得各元素的线性回归方程;以空白溶液所产生的信号响应的标准偏差(σ)的 3 倍所对应的待测元素质量浓度作为仪器的检出限,结果见表 3。

表 3 线性方程回归及检出限

Tab 3 Linear regression equations and the detection limit

编号	元素	线性范围, μg/L	回归方程	相关系数	检出限, μg/L
1	⁵¹ Cr	0.5~50	y=9.365×10 ⁻³ x+2.478×10 ⁻²	0.999 9	0.025
2	⁵⁵ Mn	0.5~50	y=1.253x+3.913×10 ⁻¹	0.999 9	0.038
3	⁵⁹ Co	0.5~50	y=1.304x+1.105×10 ⁻¹	0.999 9	0.013
4	⁶⁰ Ni	0.5~50	y=2.582×10 ⁻³ x+1.091×10 ⁻¹	0.999 9	0.040
5	⁶⁵ Cu	2~50	y=7.140×10 ⁻³ x+6.924×10 ⁻¹	0.999 8	0.401
6	⁶⁶ Zn	2~50	y=4.279×10 ⁻³ x+1.599	0.999 4	0.911
7	⁷⁵ As	0.5~50	y=1.854×10 ⁻³ x+6.648×10 ⁻²	0.999 9	0.004
8	⁸² Se	0.5~50	y=7.405×10 ⁻³ x+8.823×10 ⁻⁴	0.999 9	0.056
9	¹¹² Cd	0.5~50	y=6.752×10 ⁻³ x+7.354×10 ⁻³	0.999 9	0.012
10	¹²¹ Sb	0.5~50	y=2.428×10 ⁻³ x+4.656×10 ⁻³	0.999 9	0.048
11	¹³⁷ Ba	0.5~50	y=8.834×10 ⁻³ x+3.437×10 ⁻²	0.999 9	0.072
12	²⁰¹ Hg	0.1~5	y=6.985×10 ⁻³ x+7.564×10 ⁻⁴	0.999 9	0.044
13	²⁰⁸ Pb	0.5~50	y=5.547×10 ⁻³ x+8.499×10 ⁻²	0.999 8	0.051

2.5.2 准确性试验 本研究采用灌木枝叶标准物质 GBW07603 作为参考,来评价方法的准确性。结果表明,测定结果均在标准参考值范围内,说明该方法准确可靠,详见表 4(“-”表示未检出)。

表 4 方法准确性测定结果(n=6)

Tab 4 Results of determination of method accuracy(n=6)

测定元素	理论值, μg/g	测定平均值, μg/g	测定元素	理论值, μg/g	测定平均值, μg/g
⁵¹ Cr	2.6±0.2	2.299	⁷⁵ As	1.25±0.15	1.206
⁵⁵ Mn	61±5	60.231	⁸² Se	0.12±0.02	0.121
⁵⁹ Co	0.41±0.05	0.406	¹¹² Cd	0.38	0.41
⁶⁰ Ni	1.7±0.3	1.488	²⁰¹ Hg	-	-
⁶⁵ Cu	6.6±0.8	5.977	²⁰⁸ Pb	47±3	49.3
⁶⁶ Zn	20.6±2.2	21.198			

2.5.3 重复性试验 取同一样品共 6 份,分别按“2.2”项下微波消解法消解后进样分析,计算各元素的平均含量。结果, RSD<3%,表明该方法重复性较好。

2.6 样品回收率的测定

精密称取已知含量的样品 0.5 g(精确至 0.000 1 g),加入 Cr、Co、Ni、Cu、As、Ba、Pb 标准溶液各适量(含待测元素 250 ng),Mn、Zn 标准溶液各适量(含待测元素 500 ng),Se、Cd、Sb、Hg 标准溶液各适量(含待测元素 50 ng),按“2.2”项下方法进行样品前处理,重复 3 次,测定含量并计算加样回收率,结果见表 5(“-”表示未检出)。

2.7 样品中各元素的含量测定

取 5 批次样品各适量,按“2.2”项下方法进行样品前处理,

并进行检测,重复3次。结果,5批次复方丹参滴丸中共检出13种元素,其中⁵⁵Mn元素的含量均最高,其次为⁶⁶Zn。样品中各元素含量测定结果见表6(“-”表示未检出)。

表5 加样回收率试验结果(n=3)

Tab 5 Results of recovery test(n=3)

待测元素	本底值,ng/ml	加标量,ng/ml	测得值,ng/ml	加样回收率,%	RSD,%
⁵³ Cr	89.39	250	344.61	101.54	2.92
⁵⁵ Mn	1 384.56	500	1 900.67	100.86	2.21
⁵⁹ Co	44.98	250	289.97	98.30	0.75
⁶⁰ Ni	225.88	250	480.56	100.98	1.16
⁶³ Cu	65.65	250	309.87	98.17	1.59
⁶⁶ Zn	409.88	500	892.17	98.05	2.13
⁷⁵ As	80.46	250	315.96	95.61	1.17
⁸² Se	-	50	45.55	91.10	0.94
¹¹¹ Cd	-	50	53.35	106.70	1.28
¹²¹ Sb	-	50	40.05	80.10	1.76
¹³⁷ Ba	44.90	250	286.46	97.14	0.55
²⁰² Hg	-	50	46.20	92.40	0.91
²⁰⁸ Pb	84.52	250	335.06	100.16	1.78

表6 样品中各元素的含量测定结果(ng/g)

Tab 6 Results of the content determination of the elements in samples(ng/g)

元素	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5
⁵³ Cr	178.76	180.25	182.31	198.39	154.59
⁵⁵ Mn	2 769.11	2 770.54	2 978.90	2 575.91	2 985.13
⁵⁹ Co	89.96	91.58	102.20	74.90	70.90
⁶⁰ Ni	451.76	459.68	485.71	492.30	447.67
⁶³ Cu	121.29	135.25	160.19	120.90	159.01
⁶⁶ Zn	819.76	825.36	828.74	865.28	783.21
⁷⁵ As	160.91	164.55	188.91	180.01	161.12
⁸² Se	-	-	-	-	-
¹¹¹ Cd	-	-	-	-	-
¹²¹ Sb	-	-	-	-	-
¹³⁷ Ba	89.79	91.02	103.33	90.01	86.78
²⁰² Hg	-	-	-	-	-
²⁰⁸ Pb	169.04	175.56	175.99	199.41	139.72

3 讨论

中药复方中的金属元素可能来源于中药材本身、加工辅料或是来自制造过程中的污染等。《香港中成药注册安全性要求》中规定,凡申请注册的中成药,不论是固有药、非固有药还是新药,都必须提供“重金属及有毒元素质量分数的测试报告”;其中,As、Cd、Pb、Hg按照《香港中成药注册安全性要求》必须提交化验方法及报告。2010年版《中国药典》及《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》也对重金属含量作出了规定,其中重金属总量不得高于20 mg/kg,并对Cu、Pb、Cd、Hg及As的含量也制定了相应标准。但目前,复方丹参滴丸有效成分复杂、质量控制指标难以规范,同时药典中规定检测金属元素数目偏少,因此开发一种灵敏、快速、准确的质谱分析方法具有重要意义。

本研究结果表明,复方丹参滴丸含有一定的重金属成分,但其含量远远低于国家《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中规定的重金属总值(20 mg/kg)及各单元素的限量标准,

质量符合要求。

参考文献

[1] Jun Y, Chunju Y, Qi A, *et al.* The effects of compound danshen dripping pills and human umbilical cord blood mononuclear cell transplant after acute myocardial infarction[J]. *Exp Clin Transplant*, 2014, 12(2): 123.

[2] 易远明,李冬华.波立维联合复方丹参滴丸早期干预对急性心肌梗死远期预后的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(14): 3 304.

[3] 李桂云,邓晓邑,牛毓茜,等.复方丹参滴丸与西药联合治疗外伤性癫痫[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(11): 185.

[4] 胡东华,王宇光,陈志武,等.复方丹参滴丸对大鼠肝细胞色素P₄₅₀酶的影响[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2013, 27(4): 678.

[5] 李晓强,李平,魏琴,等.凹凸棒石对中药水煎液中丹参酮Ⅰ、丹参酮Ⅱ_A的吸附作用考察[J]. *中国生化药物杂志*, 2010, 31(2): 114.

[6] 袁迎.3种中药重金属成分铅、镉的含量分析[J]. *中国药房*, 2007, 18(6): 447.

[7] 杨云,刘洋洋,陈波,等.不同来源沉香药材中重金属含量及其安全性分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(20): 72.

[8] 牟仁祥,陈铭学,应兴华,等.微波消解-氢化物-原子荧光光谱法测定大米中痕量硒[J]. *中国粮油学报*, 2003, 18(5): 80.

[9] 王艳艳,时志强,张彪,等.氢化物发生-原子荧光法测定污泥中的痕量汞[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(3): 826.

[10] 罗雯,马金晶,张龙旺,等.微波消解-ICP-MS测定傣药嘎哩啰树皮中的11种无机元素[J]. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(9): 2 562.

[11] Fu QL, Liu Y, Li L, *et al.* A survey on the heavy metal contents in Chinese traditional egg products and their potential health risk assessment[J]. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 2014, 7(2): 99.

[12] 钟洪兰,王晶,胡军高,等.电感耦合等离子体质谱法测定五味治肝片中的12种元素含量[J]. *中国药房*, 2011, 22(29): 2 753.

[13] Harrington JM, Young DJ, Essader AS, *et al.* Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2014, 160(1): 132.

(收稿日期:2014-12-15 修回日期:2015-01-29)

(编辑:孙 冰)