

# 不同产地土牛膝中重金属元素的含量及分析

付 璨<sup>1</sup> 李长喜<sup>2\*</sup>

1 中南大学湘雅药学院 长沙 410013 2 湖南省药品检验研究院 410001

**摘要** 目的 测定18批不同产地的土牛膝药材中铅、镉、砷、汞、铜的含量。方法 土牛膝样品经微波消解后,以Ge、In、Bi为内标,以柑橘叶成分分析标准物质为质控,采用ICP-MS法进行测定。结果 5种待测元素的线性关系良好( $r^2 \geq 0.995$ ),回收率在97.32%~103.78%(RSD $\leq 2.25\%$ ),方法检测限在1.31~45.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。18批样品中均不同程度的检出了铅、砷、汞、镉、铜。结论 该方法准确,灵敏度高,适用于土牛膝中重金属的含量测定。

**关键词** 土牛膝; 重金属; 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)

中图分类号 O657.3

文献标识码 A

文章编号 1672-4356(2021)03-002-03

## Content and Analysis of Heavy Metals in *Achyranthes aspera* from Different Origin

Luo Shi, Hu Liang, Qiu Jing, Li Ruilian, Wang Xiangbo

Hunan Institute for Durg Control(Hunan Pharmaceutical Excipients Testing and Inspection), Changsha 410001; Hunan Engineering & Technology Research Center for Pharmaceutical Quality Evaluation, Changsha 410001

**Abstract Objective** To determine the contents of Pb, Cd, As, Hg and Cu in 25 batches of *Achyranthes aspera*. **Methods** The samples of *Achyranthes aspera*, digested via microwave, calibrated by internal standard elements, such as Ge, In, Bi, with CRM Citrus leave as the controlled reference standard, were inlet into ICP-MS to analyze. **Results** T5 kinds of harmful metals showed the good linearity in the selected concentration ranges ( $R^2 \geq 0.995$ ), with the average recovery from 97.32% to 103.78%, while their RSD was below  $\leq 2.25\%$ . The detection limits of the method were range from 1.31 ~ 45.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . The 18 batch of samples contained different levels of Pb, As, Hg, Cd and Cu. **Conclusion** The method was accurate and high sensitive, which was suitable for resident determination of 5 kinds of harmful metals in *Achyranthes aspera*.

**Key words** *Achyranthes aspera*; heavy metals; ICP-MS

中国药典2015年版四部规定土牛膝为苋科植物粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L. 的干燥根及根茎<sup>[1]</sup>, 具有活血散瘀、祛湿利尿、清热解毒的功效, 为我国西南苗族、瑶族、壮族、傣族、白族、彝族等多个少数民族常用的药材。土牛膝主要涉及野生牛膝 *Achyranthes bidentata* Blume、粗毛牛膝 *Achyranthes aspera* L.、柳叶牛膝 *Achyranthes longifolia* (Makino) 等多种植物基原, 由于生长环境如土壤、水源等因素的影响, 有受到重金属及有害元素污染的风险。2010年, 马文杰等<sup>[2]</sup>采用石墨炉原子吸收光谱法测定不同产地土牛膝中铅、镉含量; 魏得良等<sup>[3]</sup>采用湿法消解氢化物-原子吸收光谱法, 测定不同产地土牛膝中砷、汞的含量; 同年, 魏得良等<sup>[4]</sup>采用火焰原子吸收法测定4个不同产地土牛膝中铜的含量。而本文采用电感耦合等离子体质谱法, 能同时测定不同产地土牛膝药材5种重金属的含量, 建立的方法简便, 高效, 专属性强, 灵敏度高, 能为进一步控制土牛膝质量, 降低其安全风险提供的科学参考。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Thermo iCAPQ 电感耦合等离子体质谱仪(赛默飞公司); UV-TOC/UF 超纯水系统(赛默飞公司); MARS Xpress 微波消解仪(美国培安公司); AE240 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司, 分度值0.01mg)。

### 1.2 试剂

Pb (GBW08619, 批号: 16027), As (GBW08611, 批号: 16031), Cu (GBW08615, 批号: 16053), Cd (GBW 08612, 批号: 16041), Hg (GBW08617, 批号: 16056) 单元素标准溶液, 均购自中国计量科学研究院, 浓度均为 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。柑橘叶 [国家一级标准物质, GBW10020 (GSB-11)], 购自地球物理地球化学勘查研究所。内标溶液为 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Li, Sc, Ge, Rh, In, Tb, Lu, Bi 混合内标溶液(批号: 19-72VY2), 购自美国 Agilent 公司。硝酸为优级纯 (MERCK 公司); 水为超纯水。土牛膝样品 (28 批, 湖南省野生动植物司法鉴定中心进行鉴定, 并出具鉴定报告书)。

## 2 方法与结果

### 2.1 ICP-MS 工作条件

表 1 各元素采集质量数与积分时间

元素	质量数	积分时间 (s)
Cu	63	0.2
As	75	0.2
Cd	114	0.2
Hg	202	0.2
Pb	208	0.2
Ge	72	/
In	115	/
Bi	209	/

使用调谐液调谐 ICP-MS 各项指标, 使仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标达到测定要求。等离子体功率 1550W; 提取电压 108 V; 离子透镜 1, 2, 3 分别为 1.2, -21, -269V; 四级杆频率 2.0MHz; 等离子体气体、辅助气体、

\* 通讯作者: 李长喜, 副主任药师, 主要从事药品质量评价及审评。

雾化器、碰撞气体流量分别为14, 0.8, 1, 5L·min<sup>-1</sup>; 采集模式为KED模式; 定量分析; 数据采集重复次数3次。各元素采集质量数与积分时间见表1。

## 2.2 微波消解条件

采用功率程序消解, 参数见表2。

表2 微波消解程序

起始温度(°C)	升温时间(min)	终点温度(°C)	保持时间(min)
室温	5	100	5
100	5	130	5
130	5	160	5
160	10	190	20

## 2.3 溶液配制

### 2.3.1 对照品溶液

分别精密量取Pb, As, Cu, Cd和Hg单元素标准溶液, 用2%硝酸溶液分别稀释成含Pb, As, Cu, Cd和Hg为1, 1, 10, 1, 0.5 μg·mL<sup>-1</sup>的标准储备溶液。精密量Pb, As, Cu, Cd标准储备液适量, 用2%硝酸溶液稀释成含Pb, As为0, 1, 5, 10, 20, 50 ng·mL<sup>-1</sup>, 含Cu为0, 5, 50, 100, 200, 500 ng·mL<sup>-1</sup>, 含Cd为0, 0.5, 2.5, 5, 10, 50 ng·mL<sup>-1</sup>的系列浓度混合溶液。另精密量取汞标准储备溶液适量, 用2%硝酸溶液稀释成含Hg为0, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 ng·mL<sup>-1</sup>的系列浓度溶液(使用前临时配制)。

### 2.3.2 内标溶液

精密量取浓度为100 mg·L<sup>-1</sup>的6Li, Sc, Ge, Rh, In, Tb, Lu, Bi混合内标溶液适量, 用2%硝酸溶液稀释成含6Li, Sc, Ge, Rh, In, Tb, Lu, Bi 0.5 mg·L<sup>-1</sup>的混合内标溶液。

### 2.3.3 供试品溶液的制备<sup>[5]</sup>

供试品粉碎成粗粉, 分别取约0.3g, 精密称定, 置聚四氟乙烯密闭消解罐中。精密加入6mL硝酸, 预消解放置过夜, 放入微波消解仪中按设定程序消解。消解完全后, 取出消解罐, 放冷, 小心开启后, 将消解罐置于赶酸器110°C将硝酸挥发至约2mL, 冷却至室温, 用硝酸溶液(2→100)转入50mL聚四氟乙烯量瓶中, 并洗涤消解罐3~4次, 加入金单元素标准溶液(1 μg·mL<sup>-1</sup>) 200 μL, 用硝酸溶液(2→100)稀释至刻度, 摇匀, 即得。不加样品, 同法制备相应的试剂空白。

### 2.3.4 标准物质溶液制备

精密称取柑橘叶(批号: GBW10020)成分分析标准物质, 同供试品溶液制备方法进行处理, 定容置50mL量瓶备用。

## 2.4 测定法

定量分析方法采用内标法, 待测元素测定同位素选择分别为<sup>75</sup>As、<sup>114</sup>Cd、<sup>202</sup>Hg、<sup>63</sup>Cu、<sup>208</sup>Pb, 按照内标同位素质量数与待测元素质量数相近的原则, <sup>63</sup>Cu、<sup>75</sup>As以<sup>72</sup>Ge作为内标, <sup>114</sup>Cd以<sup>115</sup>In作为内标, <sup>202</sup>Hg、<sup>208</sup>Pb以<sup>209</sup>Bi作为内标; 在电感耦合等离子质谱最优化的条件下, 分别对标准曲线、空白样品及待测样品进行分析, 采用标准曲线法定量。

## 2.5 线性关系考察

取标准系列混合溶液, 依法测定, 以各元素与内标计数值的比值为纵坐标, 各元素质量浓度(mg·kg<sup>-1</sup>)为横坐标, 绘制标准曲线, 结果(见表3), 各元素的线性关系良好。

## 2.6 检出限及标准物质的测定

在试验条件下, 用2%硝酸空白溶液连续测定11次, 计算标准偏差, 按标准偏差3倍计算, 并结合取样量求得各个分析元素的检出限, 对标准物质菠菜进行测定, 结果测定值在规定范围内, 结果见表4。

表3 线性关系考察结果

元素	回归方程	线性范围 (μg·L <sup>-1</sup> )	r
Cu	Y=13242.1793X-108647.8041	0~500	0.9980
As	Y=2462.6561X+1310.4600	0~50	0.9996
Cd	Y=6786.7845X-210.5569	0~50	0.9995
Hg	Y=2566.6732X+1749.8938	0~5	0.9998
Pb	Y=20391.3135X-36.6560	0~50	0.9988

表4 检出限及标准物质测定结果

元素	检出限(μg·kg <sup>-1</sup> )	规定值(mg·kg <sup>-1</sup> )	测定值(mg·kg <sup>-1</sup> )
Cu	0.2721	6.1~7.1	6.2
As	0.0109	0.9~1.3	1.0
Cd	0.0124	0.15~0.19	0.16
Hg	0.0079	0.130~0.170	0.133
Pb	0.0472	8.8~10.6	9.0

## 2.7 精密度试验

取同一浓度的混合标准溶液和汞标准溶液, 重复测定6次, 记录测定值, 结果Cu, As, Cd, Hg和Pb测量值的RSD分别为1.02%, 1.64%, 0.98%, 0.74%, 1.78%(n=6)。

## 2.8 重复性试验

精密称取1号样品, 按“2.3.3”项下方法操作, 平行试验6份, 计算各元素含量, 结果Cu, As, Cd, Hg和Pb含量的平均值分别为3.624, 0.158, 1.614, 0.0637, 1.072 mg·kg<sup>-1</sup>; RSD分别为2.32%, 1.68%, 1.21%, 3.64%, 2.76%(n=6)。

## 2.9 回收率试验<sup>[9]</sup>

精密称定样品约0.15g, 分别精密加入多元素混合标准溶液(用于Cu, As, Cd, Hg和Pb的回收率试验), 按“2.3.3”项下步骤操作, 制得加样回收溶液, 进样测定, 平行操作6次, 计算回收率, 结果Cu, As, Cd, Hg和Pb的平均回收率分别为98.28%, 100.06%, 97.32%, 103.78%, 99.61%; RSD分别为1.42%, 1.74%, 0.98%, 2.25%, 1.82%(n=6)。

## 2.10 样品的测定

取18批土牛膝, 按“2.3.3”项下方法操作, 制得的供试品溶液注入ICP-MS内, 用内标校正的标准曲线法计算各批样品中Pb, As, Cu, Cd和Hg的含量, 结果见表6。

## 3 讨论

3.1 目前的元素测定的主流方法有AAS, ICP-AES<sup>[6]</sup>、ICP-OES<sup>[7]</sup>及ICP-MS<sup>[8]</sup>等, 他们各有所长, 相互补充, 共同组成了无机元素分析的完整体系。本研究运用的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)具有灵敏度高、检测限低、动态线性范围宽、谱线简单、干扰少、分析精度高、可同时快速检测多元素的优点, 被广泛地应用于植物样品中无机元素的分析。

3.2 根据我国《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》及中国药典2015年版中重金属及有害元素的限度(铅: 5mg/kg; 镉: 0.3mg/kg; 砷: 2mg/kg; 汞: 0.2mg/kg; 铜: 20mg/kg)要求, 本次检测的18批样品结果中, 铅超标数为4批, 超标率为22.2%, 镉超标数为5批, 超标率为27.7%, 铜、砷、汞均未超标。以上结果表明土牛膝药材存在部分重金属超标的现象, 分析其原因可能是由栽培土壤、周围的空气、水源以及使用的化肥和农药导致, 且镉和铅明显超出规定的限度标准。刘杰等<sup>[9]</sup>在冬虫夏草人工繁育品和野生冬虫夏草中5种重金属及有害元素含量的比较中指出野生冬虫夏草由于受到生存环境变化的影响以及地域性的差异, 其重金属的含量

检测值浮动较大, 体现为标准差的值较大, 而冬虫夏草人工繁育品的生存环境相对野生冬虫夏草可控性高, 在控制重金属含量方面具有一定的优势。因此, 推行 GAP 栽培技术, 严格控制基地的土壤、水中重金属及有害元素的含量, 是保障中药材不受重金属及有害元素污染的重要条件, 也是中药质量稳定可靠的重要技术保障。

#### 参考文献

- [1] 中国药典: 四部 [S]. 2015:418-418
- [2] 马文杰, 黄志红, 刘伟, 等. 石墨炉原子吸收分光光度法测定不同产地土牛膝中铅、镉的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21 (27): 2541-2543.
- [3] 魏得良, 黄志芳, 黄志红, 等. 氢化物-原子吸收光谱法测定不同产地土牛膝中砷、汞的含量 [J]. 福建分析测试, 2010, 19 (4): 29-32.
- [4] 魏得良, 黄志红, 黄秀英, 等. 火焰原子吸收法测定

不同产地土牛膝中铜含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30 (10): 823-825.

- [5] 刘亚轩, 李晓静, 白金峰, 等. 植物样品中无机元素分析的样品前处理方法和测定技术 [J]. 岩矿测试, 2013, 32(5): 681-693.
- [6] 王琳, 王娟. ICP-AES 法在食品微量元素测定中的应用 [J]. 微量元素与健康研究, 2015, 32 (1): 55-56.
- [7] 杨开放, 黎莉, 郭卿. 电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-OES) 法在非金属材料测定中的应用 [J]. 中国无机分析化学, 2016, 6 (4): 15-19.
- [8] 孙少杰, 韩红玉, 王光辉. 电感耦合等离子体质谱及其技术研究进展 [J]. 山西化工, 2015, 3: 46-47.
- [9] 刘杰, 李耀磊, 咎珂, 郑健, 马双成等. 冬虫夏草人工繁育品和野生冬虫夏草中 5 种重金属及有害元素含量的比较 [J]. 中国药事, 2016, 9 (30): 912-918.

表 6 样品测定结果 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $n=3$ )

编号	产地	元素含量				
		Cu	As	Cd	Hg	Pb
1	湖南省永州马鞍岭	3.62	0.15	1.61	0.064	1.07
2	湖南省永州道县	2.35	0.05	0.27	0.053	0.89
3	湖南省永州宁远县	2.80	0.81	0.21	0.038	2.69
4	湖南省永州江华县	16.10	1.18	2.03	0.096	14.90
5	湖南省永州双牌县	4.08	0.13	112	0.066	4.61
6	湖南省永州竹瓦村	5.60	0.11	0.25	0.031	8.83
7	湖南省永州江华县基地	5.99	0.14	0.16	0.046	0.49
8	湖南省永州鹿鸣塘	5.81	0.12	4.05	0.026	9.51
9	湖南省永州东安县	2.98	0.03	0.18	0.174	0.75
10	湖南省永州零陵区	2.88	0.29	0.10	0.054	0.75
11	江苏省睢宁县	4.65	0.94	0.15	0.094	3.01
12	江苏省邳州市	10.72	0.19	0.21	0.063	4.60
13	安徽省灵璧县	11.91	0.23	0.27	0.048	4.33
14	安徽省萧县	3.69	0.26	1.21	0.072	7.87
15	安徽省五河县	2.41	0.08	0.24	0.022	0.38
16	安徽省亳州	5.39	0.44	0.10	0.017	2.32
17	山东省平邑县	3.82	0.13	0.04	0.010	0.36
18	山东省单县	3.70	0.24	0.05	0.012	0.61

(上接第 1 页)

感染, 激活慢性伤口内修复细胞, 增强其活性和炎性反应, 促进伤口愈合<sup>[5]</sup>。

而本研究实验结果也发现, 相比于常规治疗, VAC 技术治疗的愈合情况更好, 能良好控制感染率, 比常规治疗平均高出约 26.67%, 平均缩短愈合时间约 24d, 平均降低疼痛评分约 1.64 分, 平均降低手术费约 1200 元, 平均减少换药次数约 1 次/d, 且平均提高治疗有效率约 31% ( $P<0.05$ ), 说明 VAC 技术具有较大的推广价值。

#### 参考文献

- [1] 夏月. 简易封闭负压辅助闭合技术治疗严重压疮的效果 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020,

8(18):124+139.

- [2] 陈小霞. 负压辅助闭合技术用于 IV 期压疮的疗效观察 [J]. 首都食品与医药, 2017, 24(14):129-130.
- [3] 姜阿利. 湿润烧伤膏联合负压辅助愈合治疗系统治疗 III~IV 期压疮疗效观察 [J]. 中国烧伤创疡杂志, 2017, 29(04):276-279.
- [4] 须月萍, 吴文洁, 金葵. 简易负压封闭辅助伤口闭合技术在 IV 期压疮患者治疗中的应用 [J]. 护理实践与研究, 2017, 14(02):135-136.
- [5] 周筱翔, 蒋延美, 李娟. 负压辅助封闭技术联合新型敷料治疗难愈性压疮的临床效果观察 [J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12(05):219-221.

表 3 疗效 [ $n$  (%) ]

组别	n	治愈	好转	有效	无效	总有效率
对比组	45	12 (26.67)	10 (22.22)	6 (13.33)	17 (37.78)	28 (62.22)
负压辅助组	45	19 (42.22)	18 (40.00)	5 (11.11)	3 (6.67)	42 (93.33)
$\chi^2$						12.600
P						0.000