

连蒲胶囊中重金属及有害元素 与有机氯农药残留量测定[※]

● 陈雪梅^{1*} 陈惠玲² 汪建君² 李玲玲²

摘要 目的:检测连蒲胶囊中的重金属及有害元素与有机氯农药残留量。方法:应用原子吸收分光光度法(AAS)、原子荧光法(AFS)和气相色谱法(GC)分别测定连蒲胶囊制剂中重金属及有害元素和有机氯农药残留量。结果:检测显示制剂中含有微量铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)以及有机氯农药六六六(δ -BHC)。结论:近年来中药及制剂中重金属及有害元素与有机氯农药残留量问题备受关注,因此建立对中药制剂中这些微量成分的分析非常必要。

关键词 连蒲胶囊 重金属及有害元素 有机氯农药残留量

近年来,中药饮片、中成药含有的重金属及有害元素和农药残留量引起人们的广泛关注,出口的中药饮片及中成药首先被检测的就是此类成分。因此,对中药制剂中重金属及有害元素、农药残留量的安全监控十分必要。本文运用AAS、AFS和GC测定连蒲胶囊制剂中重金属及有害元素和有机氯农药残留的含量。实验数据显示:参考《中国药典》2005版一部甘草、黄芪、金银花等标准项下规定:铅 $\leq 5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、镉 $\leq 0.3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、铜 $\leq 20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、砷 $\leq 2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、汞 $\leq 0.2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有机氯农药六六六(总BHC) $\leq 0.2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、滴滴涕(总DDT) $\leq 0.2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、五氯硝基苯(PCNB) $\leq 0.1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,测得本品的重金属及有害元素和有机氯农药残留量,均低于该限度。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 热电 SOLAAR MQZZ 型原子吸收分光光度计(美国热电公司),AFS-930 双道原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司),WX-4000 微波快速消解系统(上海屹尧分析仪器有限公司),Agilent 6890N 型气相色谱仪(安捷伦科技有限公司)。

1.2 试剂 硝酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:T20080507);抗坏血酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20060609);硫脲(中国医药集团上海化学试剂公司,批号:F20030904);硼氢化钾(国药集团化学试剂有限公司,批号:T20080320);氢氧化钾(上海光华化学试剂厂,批号20000323);氯化钠(合肥工业大学化学试剂厂);二氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20080204);丙酮(国药集团化学试剂有限公司,批号:T20080512);石油醚(60~90℃)(上海光铎科技有限公司,批号:001108);无水硫酸钠(上海光铎科技有限公司,批号:000622);硫酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:T20070807)。除硝酸为优级纯外,其余试剂均为分析纯。

1.3 试药 杨树叶(国家一级标准物质,GBW07604,批号03056);Pb、Cd、Cu 标准溶液(国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院)(1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$);As、Hg 标准溶液(中国计量科学研究院)(1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$);六六六(总BHC)、滴滴涕(总DDT)农药对照品(国家标准物质研究中心)(0.05 mg/ml);五氯硝基苯(PCNB)农药对照品(国家标准物质研究中心)(0.1 mg/ml)。

2 实验方法

2.1 测定条件

2.1.1 铅的测定条件(石墨炉法) 波长283.3nm,干燥温度90℃,持续10秒,120℃,持续10秒;灰化温

[※]基金项目 厦门市2007年度科技计划指导性项目(No.3502Z2007067)

* 作者简介 陈雪梅,女,副主任药师。研究方向:医院药学。

• 作者单位 1. 福建中医药大学附属厦门市中医院(361009);
2. 福建省厦门市药品检验所(361012)

度 600℃,持续 10 秒;原子化温度 1800℃,持续 3 秒;除残温度 2600℃,持续 3 秒。背景校正为塞曼效应。

2.1.2 镉的测定条件(石墨炉法) 波长 228.8nm,干燥温度 90℃,持续 10 秒,120℃,持续 10 秒;灰化温度 500℃,持续 10 秒;原子化温度 1500℃,持续 3 秒;除残温度 2600℃,持续 3 秒。背景校正为塞曼效应。

2.1.3 砷的测定条件(原子荧光法) 采用适宜的氢化物发生装置,以 2% 硼氢化钾溶液为还原剂,氩气为载气,检测波长为 193.7nm,背景校正为塞曼效应。

2.1.4 汞的测定条件(原子荧光法) 采用适宜的氢化物发生装置,以 2% 硼氢化钾溶液为还原剂,氩气为载气,检测波长为 253.6nm,塞曼法背景校正。

2.1.5 铜的测定条件(火焰法) 检测波长为 324.7nm,采用空气-乙炔火焰法,选择塞曼效应进行背景校正。

2.1.6 有机氯类农药残留的测定条件(气相色谱质谱法) 弹性石英毛细管柱 DB1701(30m * 0.32mm * 0.25 μ m),63Ni-ECD 电子捕获检测器。进样口温度 230℃,检测器温度 350℃,不分流进样。程序升温。初始 100℃,每分钟 10℃ 升至 220℃,每分钟 8℃ 升至 250℃,保持 10 分钟。理论板数 α -BHC 峰计算应不低于 1×10^6 ,两个相邻色谱峰的分离度应大于 1.5。

2.2 重金属及有害元素标准曲线的绘制

2.2.1 铅 精密量取国家标准溶液铅(1000 μ g/ml) 适量,加 2% 硝酸溶液制成每 1ml 含铅 40ng 的溶液。用 2% 硝酸溶液稀释铅标准溶液(40ng/ml),制成每 1ml 分别含铅 0ng、10ng、20ng、30ng、40ng 的溶液,进行测定,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

2.2.2 镉 精密量取国家标准溶液镉(1000 μ g/ml) 适量,加 2% 硝酸溶液制成每 1ml 含镉 4ng 的溶液。用 2% 硝酸溶液稀释镉标准溶液(4ng/ml),制成每 1ml 分别含镉 0ng、0.5ng、1ng、2ng、3ng 的溶液,进行测定,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

2.2.3 砷 精密量取国家标准溶液砷(1000 μ g/ml) 适量,加水制成每 1ml 含砷 200ng 的溶液。精密量取 2.5ml 于 50ml 量瓶中,加入 5% (维生素 C + 硫脲) 的混合溶液 5ml,加 5% 硝酸稀释至刻度,摇匀,进行测定,以荧光强度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

2.2.4 汞 精密量取国家标准溶液汞(1000 μ g/ml) 1ml,加水制成每 1ml 含汞 100ng 的溶液,再取此溶液

2.5ml 于 50ml 量瓶中,加入 5% (维生素 C + 硫脲) 的混合溶液 5ml,用 5% 硝酸稀释至刻度,摇匀,进行测定,以荧光强度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

2.2.5 铜 精密量取国家标准溶液铜(1000 μ g/ml) 适量,加 2% 硝酸溶液制成每 1ml 分别含铜 0 μ g、0.050 μ g、0.100 μ g、0.200 μ g、0.300 μ g 的溶液。依次进行测定,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

2.3 农药对照品溶液的制备 精密量取六六六(总 BHC)、滴滴涕(总 DDT) 农药对照品(0.05mg/ml) 及五氯硝基苯(PCNB) 农药对照品(0.1mg/ml) 适量,加石油醚(60~90℃) 分别制成每 1ml 含 100ng 和 1ng 的混合对照品溶液。

2.4 样品的制备

2.4.1 重金属及有害元素供试品溶液的制备 取本品内容物约 0.25g,精密称定,置聚四氟乙烯消解罐内,加入优级纯硝酸 5ml,置微波消解仪内消解。消解完全后,将消解罐置 80℃ 电热板上缓缓加热,浓缩消解液至 2~3ml,放冷,转入 50ml 量瓶中,用水洗涤消解罐,洗液一并转入量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为 Pb、Cd、Cu 的供试品溶液。同时同法制备标准物质杨树叶溶液。

取本品内容物约 0.25g,精密称定,加入优级纯硝酸 5ml,置微波消解仪内消解。消解完全后,将消解罐置 80℃ 电热板上缓缓加热,浓缩消解液至 2~3ml,放冷,转入 50ml 量瓶中,用水洗涤消解罐,洗液一并转入量瓶中,加入 5% (维生素 C + 硫脲) 的混合溶液 5ml,用水稀释至刻度,摇匀,作为 As、Hg 的供试品溶液。同时取砷、汞混合标准溶液(200ng/ml、100ng/ml) 0.5ml 于消解罐中,同法操作,进行回收率试验。

2.4.2 有机氯农残供试品的制备 取供试品约 2g,精密称定,置 100ml 具塞锥形瓶中,加水 20ml 浸泡过夜,精密加丙酮 40ml,称定重量,超声处理 30 分钟,放冷,再称定重量,用丙酮补足减失的重量,再加氯化钠约 6g,精密加二氯甲烷 30ml,称定重量,超声处理 15 分钟,再称定重量,用二氯甲烷补足减失的重量,静置(使分层),将有机相迅速移入装有适量无水硫酸钠的 100ml 具塞锥形瓶中,放置 4 小时。精密量取 35ml,于 40℃ 水浴上减压浓缩近干,加少量石油醚(60~90℃) 如前反复操作至二氯甲烷及丙酮除净(约 3 次),用石油醚(60~90℃) 溶解并转移至 10ml 具塞刻度离心管中,加石油醚(60~90℃) 精密稀释至 5ml,

小心加硫酸1ml,振荡1分钟,离心(3000转/分)10分钟,取上清液,即得。同时,称取供试品约2g,精密称定,精密加入100ng/ml的农药混合对照溶液1ml,同法操作,进行回收试验。

3 测定

3.1 重金属及有害元素的测定 吸取空白溶液,供试品溶液及标准物质杨树叶溶液,依法测定(石墨炉法),从标准曲线上读出供试品溶液中Pb、Cd的含量,计算,即得。通过杨树叶的测定值判断测定的准确度。

吸取空白溶液,供试品溶液及加样回收溶液,依法测定(原子荧光法),从标准曲线上读出供试品溶液中As、Hg的含量,计算,即得。通过加样回收判断测

定的准确度。

吸取空白溶液,供试品溶液及标准物质杨树叶溶液,依法测定(火焰法),从标准曲线上读出供试品溶液中Cu的含量,计算,即得。通过杨树叶的测定值判断测定的准确度。

3.2 有机氯农药残留测定 分别精密吸取供试液和1ng/ml混合对照品溶液各1 μ l,分别进样,按外标法计算供试品中9种有机氯农药残留量。

4 实验结果

五种重金属及有害元素按相关条件依法测定,九种有机氯农药单体残留按GC测定条件依法测定,测得本品的重金属及有害元素和有机氯农药残留量,均低于限度^[1]。结果见下表1。

表1 5种重金属、有机氯农药残留测定结果

检测项目		样品批号		
		71109(n=3)	80902(n=3)	81216(n=3)
重 金 属 (mg·kg ⁻¹)	铅	1.10	1.47	1.60
	镉	0.18	0.201	0.194
	铜	2.6	8.8	11.9
	砷	-	0.31	0.34
	汞	0.041	0.078	0.079
有 机 氯 农 药 残 留 (mg·kg ⁻¹)	α -BHC	-	-	-
	β -BHC	-	-	-
	γ -BHC	-	-	-
	δ -BHC	0.001	-	0.003
	PP'-DDE	-	-	-
	PP'-DDD	-	-	-
	OP'-DDT	-	-	-
	PP'-DDT	-	-	-
	PCNB	-	-	-

5 讨论

中成药的原料主要来源于天然,其中植物药占绝大部分。植物在生长过程中从所接触的土壤、水、大气等自然环境中吸附或蓄积包括重金属及有害元素残留、农药残留等。欧美发达国家面对席卷全球的“回归天然”的植物药热潮,从没有放弃对安全性的重视,重金属及农药残留限量标准在世界范围内趋向于

越来越严格,很多风险分析事实上已经成为变相的强制性标准。近年来,我国的中药及其制剂屡有重金属、农残超标等因素而影响其进入国际市场,对中药的国际声誉产生了极大的负面影响,重金属及农药残留检测与限量标准已成为影响中药国际贸易的最重要技术壁垒,是制约中药走向世界的“瓶颈”之一。

中药中可能残留的重金属及有害元素主要包括:铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)等,其中

前4种为世界各国公认的毒性元素,铜本身虽然为人体必须元素之一,但过量亦有害,因为我国在农业生产中广泛使用硫酸铜制剂作为土壤消毒剂,因此,将铜也列为重金属残留监控指标。铅是有毒元素,主要损害造血系统、神经系统和肾脏。随着工业化水平的提高,自然环境中的铅污染越来越严重。镉在自然界分布广泛,但丰度较低,镉在人体内消除缓慢,容易在肝、肾蓄积,长期与镉接触也可能导致肾衰竭。镉及其部分化合物已被国际癌症研究会(IARC)列为I类致癌物^[2],砷及其部分化合物也被IARC列为I类致癌物^[2],可引起皮肤癌、肺癌、肝癌等,以及神经系统、心血管系统病变。我国由于六、七十年代大量使用砷制剂作为农药,因此砷对土壤及水源的污染比较普遍,是世界上地砷病最严重的国家之一^[3]。汞是目前已知毒性最强的元素之一,易与巯基、氨基、羧基、嘌呤基等结合,改变细胞的通透性,从而破坏细胞基本功能和代谢,其毒性以慢性神经毒性居多,对中枢神经系统有强烈毒害作用,对肝脏、肾脏、生殖系统也可造成损伤^[4]。

农药残留在现阶段影响最广,危害最大,也是研究的重点。自二十世纪50年代以来,化学合成农药在全世界范围内被广泛开发和利用。曾经广泛使用的有机氯类农药属于神经毒物和实质脏器毒物,可致癌,是一类高效广谱杀虫剂,由于其残留量大,毒性大,污染性强,造成农田严重污染,1983年我国停止了有机氯农药的生产,1984年停止使用。有机氯类农药较难降解,在环境中的残留半衰期为数年,最长可达十年^[5]。由于其残效期长,致使在禁用20余年后,至今在土壤、地下水等环境中仍有残存。药材的种植期长,尤其是根类药材,易受有机氯农药的污染,因此,有机氯农药残留分析是中药产业现代化的关键技术之一^[6]。首批列入《关于持久性有机污染物的斯得哥尔摩公约》的12种对人类健康和自然环境最具危害的有机化合物中就有9种有机氯类农药,国家外经贸部于2001年7月1日开始实施《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》(见表2),我国目前对中药材农药残留、重金属的检测大多采用此标准作为参考,药材中有机氯农药的检测,目前主要有六六六(hexa-

chlorocyclohexane, BHC)、滴滴涕(dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT),以及五氯硝基苯(penta chloronitrobenzene, PCNB)和艾氏剂(Aldrin)。由于艾氏剂在我国从未使用过,所以此次未作艾氏剂检测。

表2 药用植物及制剂重金属、农残限量(mg·kg⁻¹)

项 目	最高限量要求	项 目	最高限量要求
铅(Pb)	5.0	六六六(BHC)	0.1
镉(Cd)	0.3	滴滴涕(DDT)	0.1
汞(Hg)	0.2	五氯硝基苯(PCNB)	0.1
铜(Cu)	20.0	艾氏剂(Aldrin)	0.02
砷(As)	2.0		

在2005年版《中国药典》中,黄芪、甘草、白芍、金银花、丹参、西洋参等6种药材【检查】项下规定了5种有害重金属元素和有机氯类农药残留限量要求,标志着药品最高法典对中药材安全性的高度重视。

总而言之,目前国际、国内对中药安全的重视度空前提高,对中药的重金属和农药残留都有严格的限量要求。连蒲胶囊含贯叶连翘、石菖蒲、冰片等五味药,具有清心开窍、解郁安神的作用,临床用于治疗忧郁、焦虑、失眠、健忘等症,服用疗程较长,因此考虑其质量标准中有必要增加重金属及农药残留检测,以保证重金属及农药残留得到有效的监控,提高连蒲胶囊的质量水平,使之成为疗效稳定、质量可控的中药制剂。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
 [2] IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans [EB/OL]. <http://monographs.iarc.fr>, 2009-09-08.
 [3] 中国新闻[EB/OL]. <http://news.chinesewing.com>, 2004-11-30/2009-09-08.
 [4] 许 韪, 李积胜. 汞对人体健康的影响及其防治[J]. 国外医学卫生学分册, 2005, 32(5): 278.
 [5] 李 耿, 杨洪军, 边宝林. 中药农药残留的研究现状述评[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(4): 71.
 [6] 王素利, 马玉娥, 袁光耀. 中药农药残留分析研究进展[J]. 河北北方学院学报, 2007, 23(1): 24.