

微波消解-电感耦合等离子体质谱法测冰黄肤乐软膏中的6种重金属的量

赵霞¹, 康帅², 梁瑞强², 邹迪新³, 孟雪丹¹, 顾念念¹, 吴怡青¹, 赵崇军^{1*}, 林瑞超^{1*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 中药品质评价北京市重点实验室, 北京 102488; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 3. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古呼和浩特 010110)

摘要: 目的 建立同时测定含硫制剂冰黄肤乐软膏中 Cr、As、Cu、Cd、Pb、Hg 6 种重金属元素的分析方法。方法 采用微波消解-电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法, 对样品进行前处理, 采用内标法监测待测溶液的基体效应, 补偿漂移值, 采用外标法对重金属元素的含量进行测定。结果 6 种元素在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.993 0$), 回收率符合痕量分析的要求。除 Cr 以外, 其余 5 种重金属含量均未超标, 符合《中国药典》标准。结论 该方法操作简单, 准确, 灵敏度高, 可用于含硫制剂软膏类 6 种重金属元素的含量检测。

关键词: 冰黄肤乐软膏; 重金属; 微波消解; ICP-MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)02-0514-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.02.044

冰黄肤乐软膏收载于《国家药品新药转正标准》第 33 册。是由大黄、姜黄、硫黄等中药制成的软膏, 具有清热燥湿、活血祛风、止痒消炎的功效。主要用于湿热蕴结或血热风燥引起的皮肤瘙痒; 神经性皮炎、湿疹、足癣、及银屑病等瘙痒性皮肤病^[1]。近年来, 环境污染日趋严重, 中药材重金属残留受到了人们越来越多的关注, 软膏中硫黄为矿物药, 有文献报道硫黄中含有较多的 As 元素, 冰黄肤乐软膏作为常用的外用制剂直接与皮肤接触, 与人体健康有直接关系, 因此, 实验组参考相关资料, 以 2020 年版

《中国药典》的相关重金属标准为依据, 建立冰黄肤乐软膏中重金属元素含量测定的电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法。ICP-MS 是目前重金属元素分析的常用技术之一, 具有分析速度快、精密度高、线性范围宽、检测限低等优点^[2-5]。本研究采用微波消解-ICP-MS 法对含硫制剂冰黄肤乐软膏中 Cr、As、Cu、Cd 等 6 种重金属元素的量进行测定, 以期为其质量评价和临床安全合理用药提供科学依据。

1 材料

1.1 药物 冰黄肤乐软膏购买于药店, 医院。样品信息见表 1。

表 1 样品信息

样品	厂家	批号	样品	厂家	批号
R1	西藏芝芝药业	170401	R13	西藏海容唐果药业	180701
R2	西藏芝芝药业	170601	R14	西藏海容唐果药业	180801
R3	西藏芝芝药业	170701	R15	武汉祥顺生物药业有限公司	180501
R4	西藏芝芝药业	170702	R16	武汉祥顺生物药业有限公司	180301
R5	西藏芝芝药业	170901	R17	武汉祥顺生物药业有限公司	170701
R6	西藏海容唐果药业	170902	R18	江西盖天灵药业有限公司	20180602
R7	西藏海容唐果药业	170903	R19	江西盖天灵药业有限公司	20190102
R8	西藏海容唐果药业	171101	R20	江西盖天灵药业有限公司	20181002
R9	西藏海容唐果药业	180301	R21	实验室自制	190523
R10	西藏海容唐果药业	180401	R22	实验室自制	190526
R11	西藏海容唐果药业	180503	R23	实验室自制	190524
R12	西藏海容唐果药业	180505			

收稿日期: 2019-07-09

基金项目: 中医药行业科研专项项目 (201507004)

作者简介: 赵霞 (1994—) 女, 硕士, 研究方向为中药化学与中药分析。E-mail: 1843382260@qq.com

* 通信作者: 林瑞超 (1954—) 男, 博士, 教授, 研究方向为中药质量分析和斑马鱼。E-mail: linrch307@sina.com

赵崇军 (1988—) 男, 博士, 研究方向为中药质量分析和斑马鱼。E-mail: 1014256537@qq.com

网络出版日期: 2019-10-25

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/31.1368.R.20191025.1024.002.html>

1.2 仪器 电感耦合等离子体质谱仪 (ICAP-RQ, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 微波消解仪 (CEM MARS, 美国 CEM 公司); H26841 电热赶酸仪 (北京恒奥德仪器仪表有限公司); Milli-Q 超纯水处理系统 (美国 Millipore 公司); MS105DU 梅特勒-托利多电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.3 试剂 68.8%~69.8% Trace Metal 级别硝酸 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 30% 过氧化氢 (AR) (中国医药集团有限公司); 超纯水 (Milli-Q 超纯水处理系统); 高纯氩气 (氩气体积分数>99.999%); ICP-MS 用调谐液 Li、Ba、Bi、Ce、Co、In (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 元素 [铬 (Cr)、砷 (As)、铜 (Cu)、镉 (Cd)、铅 (Pb)、汞 (Hg)] 标准溶液 (1 000 μg/mL) 由中国计量科学研究院提供。6 种重金属元素标准溶液批号分别为 铬 GBW08614、砷 GBW08611、铜 GBW08615、镉 GBW08612、铅 GBW08619、汞 GBW08617。

内标溶液, 铷 (GSB04-1745-2004)、钇 (GSB04-1788-2004)、铈 (GSB04-1746-2004)、铟 (GSB04-1731-2004)、钪 (GSB04-1750-2004) 均由国家有色金属及电子材料分析测试中心提供, 1 000 μg/mL。

2 方法

2.1 ICP-MS 仪器工作条件及参数 表 2 中测定条件的优化, 仪器工作之前, 进行自动调谐, 设定工作参数, 以灵敏度、背景、稳定性等各项指标对仪器的工作参数进行优化。在 ICP-MS 检测中, 以 Re、Rh、Y、In、Sc 为内标, 监测信号的变动情况, 能有效克服仪器信号的漂移和校正基体效应。

表 2 ICP-MS 主要工作参数

项目	参数	项目	参数
射频功率	1 550 w	雾化气体体积流量	1.064 1l/min
雾化室温度	2.5 ℃	蠕动泵速率	45 r/min
采样深度	5 mm	积分时间	0.02 s
冷却气流速	14.01/min	扫描次数	50 /e
辅助器流速	0.801 21/min		

2.2 供试品溶液制备 取冰黄肤乐软膏约 0.2 g, 精密称

表 4 各元素线性关系

元素	回归方程	r	检出限/(μg·kg ⁻¹)	线性范围/(μg·L ⁻¹)
Cr	Y=37 184.219X+83 798.641	0.998 0	0.057 6	0~50
Cu	Y=46 757.185X+50 235.403	0.999 0	0.308 8	0~500
As	Y=4 507.273X-111.234	1.000 0	0.027 2	0~50
Cd	Y=18 623.452X-117.180	0.999 0	0.004 3	0~50
Pb	Y=174 525.218X+474 883.390	0.999 0	0.089 2	0~50
Hg	Y=20 495.616X+399.745	0.993 0	0.005 4	0~2

2.8 重复性试验 取同一批样品 (R12), 平行制样 6 份, 按照表 2 的工作参数进行测定。测得各元素含量平均值分别为 Cr 1.485 1、Cu 0.343 5、As 0.021 0、Cd 0.020 0、Hg 0.009 8 μg/g, Pb 未检出, 各元素含量的 RSD 分别为 Cr 2.76%、Cu 3.68%、As 5.10%、Cd 3.61%、Hg 4.33, 表

明该方法重复性良好。

定, 将样品置于微波消解罐中, 精确加入硝酸 5 mL、双氧水 1 mL, 在赶酸仪中预消解 15 min, 静置室温后加盖密封, 装入微波消解仪中, 按照设计程序 (表 3), 对样品进行微波消解。待消解完成后, 冷却至室温, 取出消解罐, 在赶酸仪中 110 ℃ 赶酸, 赶酸至 1~2 mL 时, 转移至 25 mL 的量瓶中, 用超纯水洗涤微波消解罐数次, 将洗涤液与试液合并定容至 25 mL, 即得。

表 3 微波消解程序

步骤	功率/W	时间/min	温度/℃	时间/min
1	1 600	5	120	10
2	1 600	5	160	10
3	1 600	5	200	20

2.3 标准品溶液制备 外标, 精密量取 Cr、As、Cu、Cd、Pb、Hg 的标准品溶液适量, 用 2% 的硝酸溶液稀释配制成 Cr、As、Cd、Pb (1、5、10、30、50 μg/L); Cu 稀释成 (10、50、100、300、500 μg/L); Hg 稀释成 (0.1、0.2、0.5、1、2 μg/L) 的混标溶液。内标, 精密量取适量的铷 (Re)、钇 (Y)、铈 (Rh)、铟 (In)、钪 (Sc) 的标准溶液, 用 2% 的硝酸稀释配制成混标质量浓度为 10 μg/L 的内标溶液。

2.4 空白对照溶液制备 除不加软膏样品外, 其余制备方法方法与供试品溶液的制备方法相同, 制成空白对照溶液。

2.5 线性关系考察 通过蠕动泵线上随行加入内标溶液, 在 ICP-MS 工作条件下, 对 6 种重金属元素标准溶液进行测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 6 种元素的 3 次测量平均值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。6 种元素在各自范围内线性关系较好。见表 4。

2.6 检出限 取空白对照溶液进行测试, 进样 11 针, 以空白对照溶液测定值的 3 倍标准偏差除以相应元素标准曲线的斜率计算该方法的检出限, 结果见表 4。

2.7 精密度试验 取同一供试品溶液连续进样测定 6 次, 测得各元素测定值 RSD 分别为 Cr 2.37%、Cu 2.20%、As 2.08%、Cd 2.54%、Pb 未检出、Hg 1.78%, 表明仪器精密度良好。

明该方法重复性良好。

2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液 (R12), 在 0、1、2、3、4、5 h 测定 6 次, 测得各元素测定值 RSD 分别为 Cr 6.11%、Cu 4.27%、As 3.01%、Cd 3.68%、Hg 1.76%, Pb 未检出, 表明供试品溶液在 5 h 内稳定性良好。

2.10 加样回收率试验 精密称取冰黄肤乐软膏 (R12) 约 0.1 g, 将样品置于微波消解罐中, 除 Pb 加 1 μg, 其余元素均按照 1 : 1 比例精密加入 Cr 0.15、Cu 0.035、As 0.002 0、Cd 0.002 0、Pb 1、Hg 0.001 0 μg, 然后参照样品处理方法处理、测定, 平行试验 6 份, 以加标前后测定的含量平均值计算各元素的平均回收率。各元素的平均回收率分别为 Cr 85.98%、Cu 107.01%、As 108.81%、Cd 104.39%、Pb 88.78%、Hg 90.47%, 各元素含量的 RSD 分别 Cr 7.33%、Cu 9.90%、As 11.52%、Cd 10.82%、Pb 7.46%、Hg 7.77%, RSD 范围为 7.32% ~ 11.52%, 符合

《中国药典》标准。

2.11 样品含量测定 采用上述微波消解法前处理样品, 每个样品平行制样 2 份, 测定选取同位素为 ⁵²Cr、⁶⁴Cu、⁷⁵As、¹¹⁴Cd、²⁰⁸Pb、²⁰²Hg, 其中 ²⁰⁸Pb、²⁰²Hg 以 ¹⁸⁶Re 为内标, ⁵²Cr、⁶⁴Cu、⁷⁵As 以 ⁴⁵Sc、⁸⁹Y 为内标交叉校正, ¹¹⁴Cd 以 ¹¹⁵In 为内标, 对冰黄肤乐软膏中的 6 种重金属元素进行含量测定, 测定时每个样品测 3 次, 各元素含量测定平均值结果见表 5。根据《中国药典》《中医药-中药材重金属限量》ISO 国际标准、《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》除去 Cr 以外, 所有的批次重金属残留量均符合标准。

表 5 含量测定平均值结果

编号	元素/(mg·kg ⁻¹)					
	Cr	Cu	As	Cd	Pb	Hg
R1	1.495 5	0.250 8	0.020 6	0.014 2	N/A	0.009 8
R2	1.918 6	0.214 0	0.029 9	0.019 1	N/A	0.009 3
R3	1.171 5	0.310 0	0.018 1	0.018 8	N/A	0.009 7
R4	1.175 3	0.250 6	0.016 0	0.020 3	N/A	0.010 6
R5	1.273 7	1.622 8	0.023 1	0.030 9	N/A	0.009 7
R6	1.240 4	0.286 4	0.016 0	0.019 5	N/A	0.009 9
R7	1.253 3	0.309 1	0.017 1	0.020 5	N/A	0.009 9
R8	0.776 9	0.223 1	0.050 6	0.028 4	N/A *	0.010 5
R9	1.295 1	0.323 6	0.021 4	0.021 4	N/A	0.010 6
R10	1.470 4	0.304 7	0.015 3	0.015 6	N/A	0.010 8
R11	0.840 7	0.289 3	0.013 5	0.024 8	N/A	0.011 4
R12	1.485 1	0.343 5	0.021 0	0.020 0	N/A	0.009 8
R13	1.175 3	0.287 7	0.014 9	0.017 1	N/A	0.010 2
R14	1.227 4	0.334 1	0.018 5	0.021 1	N/A	0.011 1
R15	N/A	N/A	N/A	0.002 0	N/A	0.010 5
R16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.010 4
R17	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
R18	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
R19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
R20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
R21	N/A	0.259 0	0.021 0	0.063 8	N/A	0.009 3
R22	0.061 4	0.315 0	0.024 6	0.066 9	N/A	0.009 5
R23	N/A	0.325 7	0.020 3	0.052 1	N/A	0.009 3
2020 年版《中国药典》	-	20	2	0.3	5	0.2
《中医药-中药材重金属限量》	-	-	4	2	10	3
《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》	-	20	2	0.3	5	0.2

注: * N/A 表示未检出, - 表示未规定限量标准。

结果表明, 冰黄肤乐软膏中含有 6 种重金属元素, Cr 含量最高, 在 0.061 4~1.918 6 mg/kg 之间; 其次是 Cu, 质量浓度在 0.214 0~1.622 8 mg/kg 之间; 最后是 As、Cd、Pb、Hg, 质量浓度均在 0.1 mg/kg 以下。不同厂家生产的冰黄肤乐软膏重金属含量不同, 本实验对不同厂家、不同批的 23 个样品中 6 种重金属含量进行了比较, 可为初步确定冰黄肤乐软膏重金属限量提供参考, 以期药厂生产和临床安全用药提供依据。

3 讨论

前处理方法的选择, 本实验所采用的样品前处理方法是国内外公认的微波消解法, 该方法密闭高温消解, 处理

样品迅速, 操作简便, 程序升温可以精准控制温度, 以此方法处理样品较为理想^[6-7]。实验中微波消解所用酸主要是硝酸、高氯酸、盐酸, 后两者含有 Cl 元素易与载气中的氩结合产生多原子离子干扰从而影响 As 元素的含量测定, 硝酸对仪器的损害较小, 因此选择硝酸作为消解溶剂。消解用酸的量, 以样品消解程度为指标, 参考已发表文献^[8-10]选择硝酸 5、6、8 mL 进行考察, 结果发现 5 mL 硝酸即可消解完全无残渣, 因此选择 5 mL。测定样品时对 STD 模式和 KED 模式进行了比较, 结果显示 KED 模式较 STD 模式回收率高, 因此本实验选择 KED 模式为工作模式。内标元素的选择, 采用全扫半定量法扫描, 选择样品

中没有的元素(Re、Rh、Y、In、Sc)作为内标,在进行ICP-MS分析过程中,待测元素的信号由于基体效应出现降低或者增强的情况^[11],随行加入内标元素亦可消除基体效应的影响,补偿漂移值。

重金属及有害元素是评价中药饮片安全性的重要指标,也是评价复方制剂安全性的重要指标。2020年版《中国药典》一部中仅对冰黄肤乐软膏中冰片、薄荷脑、甘草做了规定,铅不得超过5 mg/kg、镉不得超过0.3 mg/kg、砷不得超过2 mg/kg、汞不得超过0.2 mg/kg、铜不得超过20 mg/kg。结合冰黄肤乐软膏生产工艺配方,该制剂中上述5种重金属元素含量尚未超标。铬元素含量未规定,参考GB 2762—2012食品标准中水产动物及乳制品Cr含量较高为2 mg/kg,《加拿大药典》规定草药材Cr不得超过0.2 mg/kg,《美国药典》规定^[12]饮食补充剂原料Cr⁶⁺不得超过2 mg/kg,相比较而言冰黄肤乐软膏制剂中Cr元素总含量相对较高,虽未超出中国限量标准,但出口相对困难,且Cr元素有毒^[13],应该重视Cr元素的限量标准的制定,本实验结果表明不同厂家,不同批次的冰黄肤乐软膏有害重金属含量符合2020年版《中国药典》《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》《中医药-中药材重金属限量》、美国NSF/ANSI 173-2010标准,表明不同厂家不同批次的冰黄肤乐软膏重金属合格,安全。

该方法稳定可靠、灵敏度高、重现性好、操作简单、准确快速,可同时用于测定冰黄肤乐软膏中的6种重金属元素的量。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
[2] 马冲先, 刘洁, 刘巍. 电感耦合等离子体质谱分析应

用的新进展[J]. 分析实验室, 2019, 38(6): 732-760.
[3] 李伟东, 张志杰, 陈逸君, 等. 电感耦合等离子体光谱法/质谱法测定自然铜不同炮制品中砷、铅、铜、镉、汞的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 181-186.
[4] 左甜甜, 李耀磊, 金红宇, 等. ICP-MS法测定18种动物药中重金属及有害元素的残留量及初步风险分析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(2): 237-242.
[5] 李菁, 张晓博, 邹童阳, 等. ICP-MS在矿物药质量评价中的应用研究综述[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(1): 90-94.
[6] 范桂强, 马国荣, 崔婧, 等. ICP-MS法测定六味颈康胶囊中的5种重金属元素含量[J]. 中国现代中药, 2018, 20(3): 337-340.
[7] 钟凌云, 潘亮亮, 马冰洁, 等. ICP-MS法测定10个产地葛根中6种重金属[J]. 中成药, 2014, 36(6): 1264-1267.
[8] 岳媛, 杨晓阳, 肖佳佳, 等. ICP-MS法测定川明参中6种重金属元素[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1595-1600.
[9] 谢莉. ICP-MS法测定不同产地知母中5种重金属[J]. 中成药, 2018, 40(9): 2104-2106.
[10] 左甜甜, 李耀磊, 李永鹏, 等. 电感耦合等离子体质谱法半定量快速筛查13种中药材中重金属及毒性元素[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2238-2244.
[11] 付娟, 张海霞, 杨素德, 等. 基于ICP-MS法分析九味熄风颗粒中25种重金属及微量元素[J]. 中草药, 2015, 46(21): 3185-3189.
[12] U. S. Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopoeia (38th) [S]. The United States Pharmacopeial Covention, 2015.
[13] 孔繁越. 中药材重金属限量标准和农残限量标准研究及标准制定相关建议[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.