

· 研究论文 ·

# GAP 质控下栽培丹参重金属内控标准物的制备和表征

黄志勇<sup>1,3</sup>, 庄峙厦<sup>1</sup>, 王小如<sup>1</sup>, Frank S C Lee<sup>2</sup>

(1. 厦门大学 化学系 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005;

2. 香港浸会大学 化学系, 香港;

3. 集美大学 生物工程学院, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 目的: 用 GAP 质控下栽培的中药丹参作为重金属内控标准物, 研究其制备和表征方法。方法: 采用四川中江 GAP 栽培条件下的丹参制备标准物, 经浓硝酸-过氧化氢微波消解体系处理后用 ICP-MS 测量其重金属含量, 方法准确、可靠。结果: 用国家一级标准参考物质检验测量方法的准确性和精密度, 回收率大部分在 90% ~ 110%, 精密度小于 5%。结论: 经过不同实验室测试和不同时期稳定性测试的实验结果表明, 丹参内控标准重金属含量的数据准确可靠, 稳定性好, 可作为丹参中药材重金属质量控制的参考标准, 也可作为其他中药 GAP 规范管理中有毒元素的内部质量控制的参考标准。

**[关键词]** 丹参; GAP; 重金属; 内控标准物

**[中图分类号]** S 567 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5302(2003)09-0808-04

丹参系唇形科植物 *Salvia miltiorrhiza* Bge., 其根、茎有活血化瘀、理气止痛和改善微循环的作用。但药理研究主要针对其有机成分如脂溶性的丹参酮和水溶性的丹参素等, 对丹参中无机元素的研究相对较少, 事实上, 丹参等中药材的质量不仅与有机成分的含量和组成有关, 与无机元素也有密切的关系。一方面, 中药的微量元素有些是人体必须的, 参与人体的各种代谢活动, 如参与人体中各种酶的作用, 促进人体的生理代谢过程; 与人体中的激素作用等。另一方面, 有些微量元素是人体非必须的, 甚至是有毒的, 如镉、铅、汞、砷等<sup>[1-3]</sup>。这些有害元素是中药优良农业生产规范(GAP)管理中的重要控制对象, 也是中药走向国际市场的重点检验项目。由于中药中微量元素的含量极低, 因此, 如何准确、快速测量中药的微量元素是中药材质量控制的关键步骤之一。

电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)技术是近 20 年来发展起来的一种新的分析测定技术, 它具有极低的检测限、宽的动态线性范围、干扰少、分析精密度高、速度快和可同时测定多元素等优点, 自 1984 年第一台商品仪器问世以来, 已广泛应用于地质、冶金、石油、环境、生物、医学、半导体和核材料分析等领域, 尤其它能在复杂基体中准确地分析微量、痕量元素, 使它在生命科学、材料科学和环境科学得到更广泛的应用<sup>[4]</sup>。

针对一般的分析手段对中药材微量元素难以直接准确测量的问题, 用 ICP-MS 法能同时准确测定中药中的微量元素含量, 它不仅可为中药微量元素作用机理的进一步研究提供可靠的实验数据, 同时也为 GAP 质量控制的中药生产中有毒微量元素的安全性分析提供了科学依据。鉴于目前对中药重金属含量的质控还没有统一的标准、中药材的重金属标准物质极其匮乏及中药 GAP 质控中的重金属元素的测定方法还有待规范, 本文报道了以 GAP 质控下栽培的中药丹参重金属内控标准物质的制备、ICP-MS 测定及其表征方法。

## 1 仪器、试剂及试验材料

**[收稿日期]** 2002-06-30

**[基金项目]** 国家自然科学基金重点项目(20235020); 福建省中药标准化项目资助(2000F001)

**[通讯作者]** Tel: (0592) 2186401 E-mail: xrwang@xmu.edu.cn

1.1 仪器和试剂 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, HP4500 型)分析仪(Agilent 公司); MK-II 型光纤控压密闭微波熔样炉(上海新可微波技术应用研究所); 用国家一级标准物质灌木枝叶 GBW07603 和茶叶 GBW07605(地矿部物化探研究所)进行方法验证; 本实验所用标准储备液(100 g · L<sup>-1</sup>): No. QCS19(美国), 用于制作标准工作曲线的标准溶液浓度为 0, 5, 10, 50, 100, 200 mg · L<sup>-1</sup>; 所用化学试剂均为优级纯或分析纯, 实验用水为 2 次去离子水经 Milli-Q50 型净化器处理所得超纯水(18.2 m $\Omega$ ·cm)。

1.2 丹参内控标准物的制备方法 丹参药材选自四川中江的丹参 GAP 生产基地, 在 GAP 规范条件下栽培的中药材, 不论产地及药材品种, 其重金属质量标准具有普遍性, 因此本文采集四川中江的丹参作为重金属内控标准物的材料是可行的。由于在每一丹参 GAP 实验田, 丹参都是以一固定的行距株距种植的, 在其采收期(2001 年)于每一实验田随机抽取约 10% 的丹参植株, 先切弃植株露出地面的部分再将地下部分整体挖出, 去除泥土及须根后留药用的主根材料, 然后按规格等级分为 3 类。按《中国药典》(2000 年版一部)附录 A“药材取样法”再抽取各类丹参药材共 60 株, 用自来水洗净再用超纯水清洗。将样品自然阴干至约失重 80%, 然后在 60

下烘干至恒重。在洁净实验室里取恒重的丹参根, 用食品用粉碎机粉碎并过 80 目呢绒网筛, 样品装入棕色玻璃瓶并置于干燥、阴凉处。丹参内控样品一次性制备应大于 500 g, 每次使用时应摇匀后再取样。

1.3 样品消解方法 准确称取 0.5 g 的样品于 Teflon 消解罐中, 加入 5 mL 浓 HNO<sub>3</sub> 作为消解酸体系, 加盖密闭后于微波消解炉中消解 5 min(分 3 档, 即: 5 atm, 1 min; 10 atm, 2 min; 15 atm, 2 min), 冷却取出后, 再加入 1 mL 浓 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 于微波炉中消解(10 atm, 2 min), 冷却后取出, 消解后溶液澄清透明, 用超纯水定容至 50 mL。以 5 mL 浓 HNO<sub>3</sub> 及 1 mL 浓 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 按同样消解方法做空白试验。每个样品、空白及标准物质平行做 6 份试验以计算其平均值和相对标准偏差。

1.4 ICP-MS 工作参数 为使仪器的灵敏度和精密密度达到最佳状态, 每天进行样品测试前应调谐 ICP-MS, 调谐用含 10 mg · L<sup>-1</sup> 锂、钇、铈、铊的 2% 硝酸调谐液, 调至仪器的灵敏度最高和 RSD% 最低。表 1 列出了调谐 ICP-MS 的基本工作参数。本实验拟测定的元素及其质量数为: <sup>53</sup>Cr, <sup>55</sup>Mn, <sup>57</sup>Fe, <sup>59</sup>Co, <sup>60</sup>Ni, <sup>63</sup>Cu, <sup>66</sup>Zn, <sup>75</sup>As, <sup>111</sup>Cd, <sup>208</sup>Pb。

## 2 实验方法

表 1 ICP-MS 基本工作参数

项目	参数	项目	参数
RF power	1200 W	Sample uptake rate	1.0 mL · min <sup>-1</sup>
Sampling depth	6.5 mm	Acquisition Mode	quantity
Plasma gas	16.0 L · min <sup>-1</sup>	Points/ mass	3
Auxiliary gas	1.00 L · min <sup>-1</sup>	Scan mode	jump
Carrier gas	1.00 L · min <sup>-1</sup>	Dwell time	30 ms
Diameter of Sampler	1.0 mm	No. of replicates	3
Diameter of Skimmer	0.8 mm	Integration time	0.100 0 s

2.1 标准工作曲线的制备 由于 ICP-MS 具有宽的响应线性范围, 本实验采用混合标准溶液中各元素含量分别为 0, 5, 10, 50, 100, 200 mg · L<sup>-1</sup> 做工作曲线, 介质为 2% HNO<sub>3</sub>, 测定各元素的线性方程及回归系数, 结果表明: 所有元素的线性回归系数均大于 0.999 以上。

2.2 检出限试验 用样品空白进行 11 次测量, 以其 3 作检出限(DL)的结果列于表 2, 从表 2 可看出, 除铁在测定时易受污染外, 其余各元素的检出限都很低, 但均能满足中药样品微量元素含量的准确测定。

表 2 元素的检出限测定结果(3) ng · g<sup>-1</sup>

元素	DL	元素	DL
Cr	0.654 6	Zn	0.608 5
Mn	0.040 30	As	0.207 4
Fe	17.57	Cd	0.035 40
Ni	0.057 10	Pb	0.012 12
Cu	0.048 38	Co	0.010 65

2.3 准确性试验 为检验本测定方法的准确性, 在选定条件下分析了国家一级标准物质灌木枝叶(GBW07603)和茶叶(GBW07605), 其测定结果和各元素的参考值列于表 3, 从表 3 中可见, 除个别元素外, 标准参考物质中大部分元素回收率都在 90% ~

110 % ,说明本实验的测量数据准确、可靠。

表 3 标准物质元素测定结果

元素	茶叶 (GBW07605)			灌木枝叶 (GBW07603)		
	测定值/ $\mu\text{g g}^{-1}$	标准参考值/ $\mu\text{g g}^{-1}$	回收率/ %	测定值/ $\mu\text{g g}^{-1}$	标准参考值/ $\mu\text{g g}^{-1}$	回收率/ %
Cr	1.20	0.80 $\pm$ 0.02	150	2.6	2.6 $\pm$ 0.1	100
Mn	1363	1240 $\pm$ 40	110	68	61 $\pm$ 3	111
Fe	288	264 $\pm$ 10	109	1051	1070 $\pm$ 40	98
Co	0.19	0.18 $\pm$ 0.02	104	0.43	0.41 $\pm$ 0.03	104
Ni	4.9	4.6 $\pm$ 0.3	108	1.6	1.7 $\pm$ 0.2	93
Cu	18.1	17.3 $\pm$ 1.0	105	7.0	6.6 $\pm$ 0.4	106
Zn	24.7	26.3 $\pm$ 0.9	94	48	55 $\pm$ 2	87
As	0.35	0.28 $\pm$ 0.03	125	1.61	1.25 $\pm$ 0.10	129
Cd	0.057	0.057 $\pm$ 0.008	100	0.32	0.38	84
Pb	4.1	4.4 $\pm$ 0.2	94	46	47 $\pm$ 2	99

2.4 丹参制备标准中重金属的测定结果 在选定的测量条件下,丹参制备内控标准物中重金属含量的测定结果及测量重现性的结果列于表 4。从表 4 可以看出,丹参制备标准中有毒重金属如镉、铅及砷的含量极少,说明在 GAP 质控下的中药产品中有毒元素的含量是可控的。而重现性的结果表明,用同一样品连续测定 6 次的重现性良好,说明用 ICP-MS 测定的数据准确、可靠。

表 4 丹参内控标准重金属的 ICP-MS 测定结果 ( $n=6$ )

元素	平均测定值/ $\mu\text{g g}^{-1}$	重现性 <sup>1)</sup>
Cr	2.426	0.059
Mn	14.68	0.21
Fe	293.6	4.5
Co	0.148 1	0.002 3
Ni	0.967	0.020
Cu	5.326	0.024
Zn	17.88	0.31
As	0.164	0.047
Cd	0.047 95	0.000 53
Pb	0.484 2	0.006 8

注:<sup>1)</sup>为  $s/\sqrt{n}$ ,其中  $s$  为 6 次测定结果的标准偏差

2.5 与其他分析实验室的比对结果 内控标准物丹参重金属含量的测定准确性检验,除了用国家一级标准物质进行校准外,还应进行不同分析仪器及不同分析实验室进行比对实验,由于丹参成分复杂及重金属含量少,能直接用于丹参内控标准物重金属准确测量的仪器必须具有较高的灵敏度和稳定性要求,因条件所限,本试验采用不同实验室:北京的 POEMS(美国热电公司)和香港浸会大学的 ICP-MS(PE 公司)进行比对测试,结果如表 5 所示。不同实验室的测定结果基本吻合,表明本实验的内控标准测定数据是准确可靠的。

表 5 不同实验室丹参内控标准

重金属的测定结果 ( $n=3$ )  $\mu\text{g g}^{-1}$

元素	本实验室 测定平均值	北京测定 平均值	香港浸会 测定平均值
Cr	1.9	<2	1.6
Mn	15.3	16.0	
Fe	323	353 <sup>1)</sup>	469
Co	0.15	0.19	0.20
Ni	0.97	<2	1.22
Cu	5.3	6.5	5.82
Zn	17.9	15.5	
As	0.16	0.18	0.12
Cd	0.048	0.067	0.058
Pb	0.48	0.30	0.33

注:<sup>1)</sup> ICP-AES 测定结果

2.6 稳定性试验 作为内控标准,内控物本身质量的稳定性和重金属测定的稳定性是中药 GAP 质控中内控标准物的基本要求。在相同的样品处理方法及相同的仪器测试条件下,实验用制备的丹参内控标准物每间隔 3 个月测定其重金属含量,计算其平均值及稳定性指标,实验时间为 18 个月,测定结果如表 6 所示。由表 6 可知,丹参标准物在各个不同时期的测量结果的重现性较好,用  $t$  检验法 ( $P>0.05$ ) 检验没有出现显著性的差异,表明测量仪器和标准物质量都较稳定。表 6 的实验数据即作为丹参内控标准物的重金属含量参考值。

### 3 适用范围

3.1 丹参内控标准制备物的适用范围 本标准物是选用在 GAP 条件下栽培的丹参制备而成的,其重金属含量符合我国绿色中药的质量标准。但由于取样条件有限,该标准物只适于丹参中药材重金属质量控制用的内部标准,即丹参的内控标准物,可作

为不同地区及不同方式栽培的丹参药材中重金属含量的参考标准,并可选择性地按照丹参内控标准对有害元素进行监测。此外,该内控标准物还可作为其它中药材有毒元素质量控制的参考依据。

表 6 丹参内控标准稳定性的测定结果 (n = 6)

元素	平均测定值/ $\mu\text{g g}^{-1}$	稳定性 <sup>1)</sup>
Cr	1.913	0.109
Mn	16.64	1.94
Fe	324.8	58.7
Co	0.121 2	0.063 5
Ni	1.228 8	0.075 9
Cu	6.108	0.296
Zn	15.44	1.88
As	0.174 0	0.047 9
Cd	0.053 34	0.008 82
Pb	0.443 1	0.035 1

注:<sup>1)</sup>为  $s/\sqrt{n}$ ,其中 s 为 6 次测定结果的标准偏差

3.2 实际样品分析中的使用 由于 GAP 质控下的中药重金属,尤其是有毒重金属的含量均偏低,要准确分析其中重金属含量需用灵敏度较高的分析仪器,而 ICP-MS 以其高灵敏度、抗干扰性强、具有极低的检测限和可同时测定多种元素等特点被认为是测定中药重金属含量最佳的分析设备。根据不同样品的特点,对被测样品的前处理方法、被测物称样

量、样品消解步骤和测量操作等应作适当的变化,以达到较理想的测量准确度和精密度的要求。

#### 4 结论

丹参重金属内控标准物的制备方法简便、可行,用浓硝酸-过氧化氢微波消解处理的 ICP-MS 法测定丹参内控标准重金属含量,其方法准确、可靠。用国家一级标准参考物质检验方法的准确性和精密度,其回收率大部分在 90% ~ 110%,精密度小于 5%。进行不同实验室测试和不同时期稳定性测定的实验结果表明,内控标准物丹参重金属含量的数据准确可靠,稳定性好,可作为丹参中药材重金属的分析方法及其质量控制的参考标准,也可作为其它中药材有毒重金属的参考标准。

#### [参考文献]

- [1] 郑成,黄开勋. 中药微量元素研究的内容、方法及进展简述. 广州化工, 2000, 24(4): 139.
- [2] 孔祥瑞. 必需微量元素的营养、生理及临床意义. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1982. 10.
- [3] 时元林, 于立潇, 郑永玲. 10 种清热类中药微量元素含量测定研究. 微量元素与健康研究, 1997, 14(2): 26.
- [4] K E Jarvis, A L Gray, R S Houk. 电感耦合等离子体质谱手册. 北京: 原子能出版社, 1997. 10.

## Preparation and Characterization of Radix Salvia Reference Material for Heavy Metals under GAP Control

HUANG Zhi-yong<sup>1,3</sup>, ZHUANG Zhi-xia<sup>1</sup>, WANG Xiao-ru<sup>1</sup>, Frank S. C. LEE<sup>2</sup>

(1. The Key Laboratory of Analytical Science of Ministry of Education of China, Xiamen University, Xiamen, 361005, Fujian, China;

2. Department of Chemistry, Hong Kong Baptist University, Hong Kong;

3. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen, 361021, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare and characterize the heavy metal reference material of radix salvia planted in Zhongjiang, Sichuan province under the good agricultural procedure (GAP). **Method:** After being prepared, the reference material was digested with 65% HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by microwave-assisted oven systems, and the heavy metals in Radix salvia reference material were accurately determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **Result:** The measuring method was validated by running certificated reference materials, including bush twigs and leaves (GBW07602) and tea twigs and leaves (GBW07605) under the same conditions. The recoveries of the elements mostly ranged from 90% to 110%, and the RSD was within 5%. The measurement of radix salvia reference material was carried out by different laboratories with ICP-MS and by several time intervals in one year for the stability. The results showed that the concentration of the heavy metals provided were accurate and the reference material was stable. **Conclusion:** The reference material is suitable to be the criterions of heavy metals for radix salvia in the qualities controlling, and is also suitable to be the criterion of poisonous heavy metals of other herbs in the administration of GAP.

[Key words] *Salvia miltiorrhiza*; good agriculture procedure (GAP); heavy metals; reference material

[责任编辑 袁桂京]