doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2020.21.014

虎杖药材中 5 种重金属及有害元素含量测定及风险探讨*

李 莹,胡玉英△
(三二〇一医院药学部,陕西 汉中 723000)

摘要:目的 测定虎杖药材中铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)5 种重金属及有害元素的含量,并对有害元素进行风险评估。**方法** 采用微波消解法对样品进行前处理,电感耦合等离子体质谱(ICP－MS)法对虎杖中 5 种重金属及有害元素进行测定,并采用相关限量标准对有害元素潜在的风险进行探讨。**结果** 虎杖药材中 Pb,Cd,As,Hg,Cu 的含量分别为 0.8～1.6 mg/kg,0.2～0.5 mg/kg,0.04～0.2 mg/kg,0～0.05 mg/kg,2.4～4.4 mg/kg;参照 2015 年版《中国药典》植物药重金属及有害元素的限量标准,Cd 残留量超标,其他元素均合格。风险评价结果表明,虎杖中 5 种重金属及有害元素的每周平均摄入量均小于世界卫生组织(WHO)规定的理论值。**结论** 虎杖药材重金属及有害元素整体污染水平较低,不存在安全风险。

关键词:虎杖;重金属;有害元素;电感耦合等离子体质谱;风险评价
中图分类号:R932;R927.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1006－4931(2020)21－0049－04

Content Determination and Health Risk of Five Heavy Metals and Harmful Elements in *Polygonum Cuspidatum*

LI Ying, HU Yuying
(*Department of Pharmacy, The 3201 Hospital, Hanzhong, Shaanxi, China 723000*)

Abstract: Objective To determine the contents of heavy metals and harmful elements(Pb, Cd, As, Hg and Cu) in *Polygonum cuspidatum*, and to evaluate the risk of the harmful elements. **Methods** The samples were pretreated by microwave digestion. The contents of five heavy metals and harmful elements in *Polygonum cuspidatum* were determined by inductively coupled plasma－mass spectrometry (ICP－MS), and the potential risks of harmful elements were investigated by using relevant limit standards. **Results** The contents of Pb, Cd, As, Hg and Cu in *Polygonum cuspidatum* were 0.8－1.6 mg/kg, 0.2－0.5 mg/kg, 0.04－0.2 mg/kg, 0－0.05 mg/kg, 2.4－4.4 mg/kg, respectively. According to the limit standards for heavy metals and harmful elements of botanicals in the *Chinese Pharmacopoeia*(2015 edition), the residual content of Cd exceeded the standard, and other elements were qualified. The results of risk assessment showed that the average weekly intake of five heavy metals and harmful elements in *Polygonum cuspidatum* was less than the theoretical value specified by the World Health Organization(WHO). **Conclusion** The overall pollution level of heavy metals and harmful elements in *Polygonum cuspidatum* is low, and there is no safety risk.

Key words: *Polygonum cuspidatum*; heavy metals; harmful elements; inductively coupled plasma－mass spectrometry; risk assessment

虎杖 *Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc.* 广泛分布于中国南部和日本[1－2],用于治疗炎症、感染、黄疸、皮肤烧伤和高脂血症等疾病[3]。自 1977 年以来,虎杖药材列入《中国植物志》《中国药典》。现代研究表明,虎杖的药理作用包括调脂、抗休克、抗炎、抗氧化、抗癌、保肝、抗病毒、抗真菌等[4－6]。目前已从其中分离鉴定出 67 种化合物,主要是醌类、二苯乙烯类、黄酮类、皂苷类等[7－8]。2015 年版《中国药典(一部)》以大黄素和虎杖苷为指标化合物,对其质量进行控制。外源性有害残留污染是影响中药安全的重要因素之一,其中重金属残留污染是主要的有害因素[9－11]。参考文献[12],有害元素如铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)等会在人体内蓄积,其中 Pb 能引起各种炎症发生,导致人体贫血,影响人体发育;Cd 会致使人体机体免疫功能下降,导致全身疼痛;As 是已知的强致癌物质,特别是无机 As,具有较强的原浆毒作用,导致人体神经功能紊乱及引起肾毒性和肝毒性;Hg 在人体内会发生转化,易转化为毒性较强的甲基汞,且易进入脑组织,蓄积和破坏神经功能[13－16]。虎杖药材主要来源于野生,其重金属污染的风险评估研究却几乎是空白,以往的研究主要是对虎杖中的部分元素进行测定,但均未对其存在的风险进行描述和评估[17－18]。本研究中采用微波消解结合电感耦合等离子体质谱(ICP－MS)法对虎杖药材中的 Pb,Cd,As,Hg,Cu 5 种重金属及有害元素进行测定,同时对有害元素的风险进行评估,为虎杖药材的安全性及质量评价提供数据支持。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

MARS 5 型微波消解系统(美国 CEM 公司);安捷伦 7700 型电感耦合等离子质谱仪(美国安捷伦公司);Milli－Q 型超纯水处理系统(美国密理博公司);

*基金项目:陕西省自然科学基础研究计划项目[2017JM8036]。
第一作者:李莹,女,大学本科,主管药师,研究方向为中药制剂开发与质量控制,(电子信箱)1281891426@qq.com。
△通信作者:胡玉英,女,大学本科,主任药师,研究方向为中药制剂开发与质量控制,(电子信箱)2003470693@qq.com。

BSA124S型电子天平(德国赛多利斯公司,精度为万分之一);所有实验容器均采用20%硝酸浸泡,洗净晾干后使用。

1.2 试药

去离子水;Pb,Cd,As,Hg,Cu混合标准溶液(中国食品药品检定研究院,批号为610014-201701),Pb,Cd,As,Hg,Cu标准溶液质量浓度分别为198.7,10.0,103.2,10.0,1 007.5 μg/mL;质量浓度为100 μg/mL的混合内标(In,Tb,Lu,Bi,Li,Sc,Ge,Rh)溶液(美国安捷伦公司,批号为5188-6525);调谐混合标准溶液(美国安捷伦公司,Ce,Ti,Li,Y,Co,质量浓度为10 μg/mL);硝酸(美国赛默飞世尔公司,色谱级);虎杖药材(市售,编号为HZ 1~HZ 10),经胡玉英主任药师鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 质谱条件

等离子气流量:15.0 L/min;雾化室温度:2 ℃;辅助气流量:1.0 L/min;蠕动泵:0.2 r/s;载气流量:1.0 L/min;He流量:5 mL/min;射频功率:1 550 W;数据采样模式:跳峰采集模式;采样周期:0.3 s;采样深度:8 mm;重复次数:3次;扫描次数:100次。

2.2 溶液制备

精密量取混合标准溶液,用5%硝酸制成含Pb元素质量浓度分别为2,4,10,20,40,100 ng/mL,含Hg和Cd元素质量浓度分别为0.1,0.2,0.5,1.0,2.0,5.0 ng/mL,含As元素质量浓度分别为1,2,5,10,20,50 ng/mL,含Cu元素质量浓度分别为10,20,50,100,200,500 ng/mL系列混合标准溶液。精密量取含^{6}Li,^{72}Ge,^{115}In,^{209}Bi的混合内标溶液适量,置容量瓶中,用5%硝酸溶液稀释至刻度制成含^{6}Li,^{115}In,^{72}Ge,^{209}Bi各1 μg/mL的混合内标溶液。取待测样品,粉碎,精密称定0.5 g,置微波消解罐中,加硝酸8.0 mL,消解程序为3 min升温至110 ℃保持3 min,2 min升温至160 ℃保持3 min,2 min升温至190 ℃保持12 min,消解结束后冷却至50 ℃以下,将消解罐置120 ℃的电热板上,赶酸至无棕色酸雾,取出消解罐,放冷,将消解液转至50 mL量瓶中,用少量水洗涤消解罐3次,洗液合并,用水定容,摇匀,即得供试品溶液。同法制备空白溶液。

2.3 方法学考察

线性回归方程、相关系数及检出限:取2.2项下系列混合标准溶液进样,以各元素响应值(Y)为纵坐标、相应检测浓度(X,ng/mL)为横坐标绘制标准曲线。结果表明,5个元素的线性关系良好($r>0.999$)。按供试品前处理方法,分别制备15份空白样品溶液,测定后计算15份结果的标准偏差(SD),以其3倍SD除以斜率作为检测限。结果见表1。

表1 线性范围及检测限

元素	线性回归方程	线性范围(ng/mL)	r	检测限(ng/mL)
Pb	$Y=0.008\,0X+0.001\,4$	2~100	0.999 2	0.01
Cd	$Y=0.004\,1X+3.038\,4\times10^{-5}$	0.1~5	0.999 5	0.01
As	$Y=0.007\,6X+1.334\,3\times10^{-4}$	1~50	0.999 9	0.04
Hg	$Y=0.001\,9X+4.693\,3\times10^{-5}$	0.1~5	0.999 1	0.007
Cu	$Y=0.060\,7X+0.022\,9$	10~500	1.000 0	0.11

精密度试验:取标准曲线第5点连续进样6次。结果Pb,Cd,As,Hg,Cu的RSD分别为2.21%,3.13%,3.15%,2.12%,2.83%,表明精密度良好。

重复性及回收试验:分别精密称定待测样品(HZ 1)6份,每份0.5 g,置消解罐中,分别加入混合标准贮备液(每1 mL含Cu 10 μg,Pb 2 μg,As 1 μg,Cd 0.1 μg,Hg 0.1 μg)0.5 mL,置消解罐中,分别加硝酸8.0 mL,按供试品前处理方法处理。结果,样品中部分元素含量很低,故方法重复性以回收率的RSD表示。详见表2。

表2 加样回收试验及重复性试验结果($n=6$)

元素	样品含量(ng/mL)	加入量(ng/mL)	平均测得量(ng/mL)	平均回收率(%)	RSD(%)
Pb	2.2	20	22.2	100.00	5.01
Cd	0.1	1	1.1	97.7	4.83
As	1.2	10	10.8	95.8	4.16
Hg	0.0	1	0.8	80.3	4.73
Cu	11.1	100	107.4	97.1	5.27

2.4 样品含量测定

采用同位素^{63}Cu,^{75}As,^{114}Cd,^{202}Hg,^{208}Pb,其中^{63}Cu和^{75}As以^{72}Ge作为内标,^{114}Cd以^{115}In作为内标,^{202}Hg和^{208}Pb以^{209}Bi作为内标,依次进行对照品溶液和供试品溶液的含量测定。10批次虎杖Pb,Cd,As,Hg,Cu含量检测结果见表3。其中,Pb检测结果为0.8~1.6 mg/kg,Cd检测结果为0.2~0.5 mg/kg,As检测结果为0.04~0.2 mg/kg,Hg检测结果为0~0.05 mg/kg,Cu检测结果为2.4~4.4 mg/kg。

表3 样品中Pb,Cd,As,Hg,Cu检测结果(mg/kg)

编号	Pb	Cd	As	Hg	Cu
HZ 1	1.0	0.3	0.04	0.05	3.6
HZ 2	1.4	0.2	0.1	0.03	3.2
HZ 3	1.1	0.3	0.1	0.03	4.4
HZ 4	1.3	0.5	0.1	0.01	3.6
HZ 5	1.2	0.3	0.2	0.01	3.6
HZ 6	0.8	0.3	0.1	未检出	2.4
HZ 7	1.3	0.4	0.1	0.01	3.7
HZ 8	0.9	0.2	0.2	0.01	3.8
HZ 9	1.6	0.4	0.1	未检出	2.7
HZ 10	1.1	0.4	0.1	未检出	4.1

2.5 重金属及有害元素风险确定

Pb，Cd，As，Hg，Cu 5 种待测元素在虎杖样品中含量差异较大，含量差异相对较小的元素有 Hg，As，其他元素存在一定的差异，含量波动较大。参照 2015 年版《中国药典(一部)》对植物药规定的部分有害元素限量：Pb≤5 mg/kg，Cd≤0.3 mg/kg，As≤2 mg/kg，Hg≤0.2 mg/kg，Cu≤20 mg/kg，4 批次(编号分别为 HZ 4，HZ 7，HZ 9，HZ 10)虎杖中 Cd 存在超标现象，其他元素均未超标。

虎杖中 Pb 的均值为 1 mg/kg，按 2015 年版《中国药典(一部)》规定的虎杖服用剂量 15 g，人体平均体质量以 60 kg 计，可得虎杖中 Pb 的每周平均摄入量为 1.75 μg/kg [(1 mg/kg×15 g×7)/60 kg=1.75 μg/kg]，小于世界卫生组织(WHO)规定的铅 PTWI(25 μg/kg)的 10%[19-20]。虎杖中 Cd，As，Hg 的每周平均摄入量均小于 WHO 规定的 PTWI 的 10%，结果显示风险较小。详见表 4。

表 4 虎杖中 Pb，Cd，As，Hg 安全风险

项目	Pb	Cd	As	Hg
测定均值(mg/kg)	1.0	0.3	0.1	0.01
每周平均摄入量(μg/kg)	1.75	0.53	0.18	0.02
PTWI 值的 10%(μg/kg)	2.5	0.6	1.5	0.4
安全风险	无	无	无	无

2.6 标准适用性探讨

目前，2015 年版《中国药典(一部)》规定 19 种中药材重金属及有害元素限量标准(见表 5)，但未对虎杖药材中重金属及有害元素进行限量。参照植物药重金属及有害元素限量标准，根据 2020 年版《中国药典(一部)》相关内容，扩大对植物类药材重金属及有害元素的安全性风险控制。可见，从药品监管的角度出发，应高度重视中药中的重金属及有害元素的安全性风险。因此，针对全面筛查中药中重金属及有害元素的趋势，药典标准的适用性显得尤为重要。另外，标准限度的制订应综合考虑各方面的因素，如药用方法、市场经济、药用安全风险、检测方法、中药材本身特性等，合理的限度标准制订往往需要结合大量基础研究与调查。中药中的重金属及有害元素不仅涉及其元素总量，有的元素还涉及具体的形态价态，如 As 元素。目前已知可以测定的 As 元素形态有 6 种，但并不是 6 种元素形态均有较大的毒性，有机 As 如砷糖、砷脂等是无毒的，而存在风险的是无机 As 中的亚砷酸和砷酸，故制订重金属及有害元素的标准时，往往还需结合药材中本身的残留量。根据 2015 年版《中国药典(一部)》现行的重金属及有害元素限量规定(见表 5，Pb≤5 mg/kg，Cd≤0.3 mg/kg，As≤2 mg/kg，Hg≤0.1 mg/kg，Cu≤20 mg/kg)，本研究结果显示，虎杖中重金属及有害元素的残留整体较少，安全性风险较小。从风险评估角度出发考虑其适用性，现行的限度标准可控制虎杖药材中的重金属及有害元素带来的安全性风险，保证用药安全。

表 5 2015 年版《中国药典(一部)》中药材重金属及有害元素限量标准(mg/kg)

中药材品种	Pb	Cd	As	Hg	Cu
水蛭	10	1	5	1	-
牡蛎、蛤壳、珍珠	5	0.3	2	0.2	20
昆布、海藻	5	4	-	0.1	20
海螵蛸	8	5	10	0.2	20
甘草、丹参、山楂、枸杞子、阿胶、黄芪、金银花、西洋参、白芍	5	0.3	2	0.2	20
蜂胶	8	-	-	-	-

3 讨论

本研究中采用 ICP-MS 法对虎杖药材中 Pb，Cd，As，Hg，Cu 5 种重金属进行研究，通过方法学考察确定了样品检测方法的适用性，并对样品含量进行测定。通过对检测结果风险的探讨，结合测定结果及药典限量标准，发现 10 批虎杖药材中 5 种有害重金属元素除 Cd 存在超标现象外，其他元素的含量较低，不存在安全风险。本研究中建立的方法简便、快速、准确，可为虎杖药材的安全性及质量评价提供可靠的数据支持。

参考文献：

[1] PENG W，QIN R，LI X，et al. Botany，phytochemistry，pharmacology，and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc：A review[J]. Journal of Ethnopharmacology，2013，148(3)，729-745.

[2] ZHOU SY，LIU YM，ZHANG QZ，et al. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Polygonum cuspidatum* against Ichthyophthirius multifiliis in grass carp[J]. Veterinary Parasitology，2018，253，22-25.

[3] 时圣明，潘明佳，王文倩，等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究，2016，39(2)：317-321.

[4] 曹 扬. 虎杖化学成分及其抑制 α-葡萄糖苷酶活性研究[D]. 吉林：吉林农业大学，2015.

[5] 吕玲玉. 甘薯叶与虎杖化学成分的分离及抑菌剂的跟踪和筛选[D]. 兰州：兰州理工大学，2009.

[6] 马东卫. 从虎杖中提取分离大黄素和白藜芦醇工艺研究[D]. 天津：天津大学，2007.

[7] 张彩宁. 中药虎杖雌激素活性成分及其物质基础研究[D]. 大连：中国科学院研究生院(大连化学物理研究所)，2006.

[8] 俸灵林. 虎杖的化学成分及其质量研究[D]. 沈阳：沈阳药科大学，2003.

[9] 张春盛，吴舜芳，林炳国，等. 西洋参等 8 种中药的重金属检测[J]. 中国药业，2009，18(17)：20-21.

[10] 孙 艳，赵余庆. 药食同源品中重金属的检测方法与思考[J]. 中草药，2011，42(11)：2351-235

[11] 舒 凤，张远志，王宏磊，等. ICP-MS 测定汞的记忆效应的