

# 跌打生骨胶囊中酸可溶性重金属和总重金属的含量测定

邓亚利<sup>1\*</sup>, 林芳花<sup>2</sup>, 郭颖娟<sup>3</sup>

(1. 华南农业大学制药工程系, 广州 510642; 2. 惠州学院生命科学系, 广东 惠州 516007;  
3. 陕西省中医药研究院汉唐制药有限公司, 西安 710018)

**[摘要]** 目的: 测定跌打生骨胶囊中酸可溶性重金属和总重金属的含量。方法: 选用人工胃液对跌打生骨胶囊进行前处理, 采用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-MS)全定量模式测定跌打生骨胶囊中酸可溶性重金属和总重金属的含量。结果: 总金属回收率试验中镉、铅、铜、砷、汞的回收率均在89%~95%, 酸可溶性重金属回收率试验中镉、铅、铜、砷、汞的回收率均在95%~105%。3批大生产样品中重金属含量均 $<10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 砷盐含量 $<2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 同批样品中酸可溶性重金属含量与总重金属含量相当, 无显著性差异。结论: 跌打生骨胶囊中砷、铅、汞、镉、铜5种重金属的含量测定可不列入标准。

**[关键词]** 跌打生骨胶囊; 酸可溶性重金属; 总重金属; 电感耦合等离子体原子发射光谱法; 自然铜

**[中图分类号]** R284.1; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0094-05

**[doi]** 10.11653/syjf2014010094

## Determination of Total Heavy Metals and Acid-Soluble Heavy Metals in Dieda Shenggu Capsules

DENG Ya-li<sup>1\*</sup>, LIN Fang-hua<sup>2</sup>, GUO Ying-juan<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;  
2. Department of Life Science, Huizhou University, Huizhou 516007, China;  
3. Hantang Pharmaceutical Co. Ltd, Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710018, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine contents of total heavy metals and acid-soluble heavy metals in Dieda Shenggu capsules. **Method:** Dieda Shenggu capsules were pretreated with artificial gastric juice, contents of total heavy metals and acid-soluble heavy metals from Dieda Shenggu capsules were determined by ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) full quantitative model. **Result:** Recoveries of As, Pb, Hg, Cd and Cu were in range of 89%-95% in total metal recovery test, but there were 95%-105% in acid-soluble heavy metal recovery test. Contents of total heavy metals from three batches of samples were less than  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , the content of arsenic salt was less than  $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , contents of acid-soluble heavy metals and total heavy metals were appropriate in the same batch of sample without significant difference. **Conclusion:** Contents of As, Pb, Hg, Cd and Cu were not necessary to be included within quality standards of Dieda Shenggu capsules.

**[Key words]** Dieda Shenggu capsules; acid-soluble heavy metals; total heavy metals; ICP-MS; pyritum

中成药(含矿物药)所含重金属成分的作用具

有两重性,既可作为药物的有效成分,又会对人体有一定毒性,如朱砂中汞、雄黄中砷等。口服给药时,矿物药中所含重金属并非全部被人体吸收,只有从制剂中溶出,被人体吸收后才可能产生毒性,故总重金属和酸可溶性重金属的含量比较研究对中成药(含矿物药)的安全应用具有重要意义<sup>[1]</sup>。

跌打生骨胶囊处方源自《国家中成药标准汇编》,由肿节风、自然铜、丹参、延胡索、牛膝、杜仲等

**[收稿日期]** 20130612(006)

**[基金项目]** 广东省自然科学基金项目(S2012010010288);广东省科技计划项目(2013B061700094);华南农业大学大学生科技创新项目(201030220314)

**[通讯作者]** \* 邓亚利,博士,副主任药师,从事药物新剂型及新技术研究, Tel: 13580399281, E-mail: xiyuandeng@scau.edu.cn

7味中药组成,具有散瘀止痛、续筋接骨的功效。原生自然铜常含少量或微量 Fe, Ag, Au, Hg, Bi, Sb, Ge 等元素,故本实验以砷、铅、汞、镉、铜 5 种重金属的含量为检测指标,采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)技术<sup>[2-5]</sup>对跌打生骨胶囊 3 批大生产样品进行测定,并对照世界卫生组织推荐的有害元素限量标准(WHO 推荐的有害元素限量标准),为本品的临床安全应用提供依据。

## 1 材料

7700C 型电感耦合等离子质谱仪[美国 Agilent, 雾化器为 Agilent 400  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  PFA Micro Flow Nebulizer, 雾化室为石英双通道, Pihier 半导体控温于  $(2\pm 0.1)$   $^{\circ}\text{C}$ , 炬管为石英一体化, 2.5 mm 中心通道, 采样锥与截取锥材料为镍, 功率 1 550 W, 载气流速 1.01  $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ , 采样深度 10 mm, 采样锥孔径 1.0 mm, 截取锥孔径 0.4 mm, 分析模式全定量], Multiwave 3000-solve 型微波消解仪(奥地利 Anton Paar 公司), Mill-Q 纯水器(美国 Millipore 公司)。

铜单元素[GBW(E), 08615]、砷单元素[GBW(E), 08611]、镉单元素[GBW(E), 08612]、汞单元素[GBW(E), 08617]、铅单元素[GBW(E), 08619]对照溶液(均购自国家标准物质研究中心, 质量浓度均为 1 000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 批号分别为 12104, 12072, 12022, 12044, 12074), 锂、钷、锆、铟、铋混合内标储备液(10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 美国 Agilent 公司), 跌打生骨胶囊(陕西省中医药研究院汉唐制药有限公司, 规格 0.45 g/粒, 批号分别为 110901, 120301, 120701), 胃蛋白酶(国药集团化学试剂有限公司), 硝酸为优级纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 总重金属测定用** 精密称取供试品约 0.5 g, 置耐压耐高温微波消解罐中, 加硝酸 8 mL, 密闭, 装入微波消解仪中, 按设定程序进行消解(经 5 min, 温度从室温升至 75  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min; 经 3 min, 温度从 75  $^{\circ}\text{C}$  升至 100  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 3 min; 经 7 min, 温度从 100  $^{\circ}\text{C}$  升至 150  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 3 min; 经 5 min, 温度从 150  $^{\circ}\text{C}$  升至 170  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 3 min; 经 5 min, 温度从 170  $^{\circ}\text{C}$  升至 190  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 10 min), 消解完毕后, 冷却消解液至  $< 60$   $^{\circ}\text{C}$ , 取出, 放冷, 将消解液转移至 50 mL 量瓶中, 用水洗涤消解罐数次, 洗液并入量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀, 即得。取相同体积的硝酸, 同法制备空白溶液。

**2.1.2 酸可溶性重金属测定用** 精密称取供试品

约 0.5 g, 加入人工胃液(按《中国药典》2010 年版一部附录 XII A 制备)100 mL, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴振荡提取 1 h, 4 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清液 5 mL, 加硝酸 8 mL, 密闭, 装入微波消解仪中, 按 2.1.1 项下程序消解, 消解完毕后, 冷却消解液至  $< 60$   $^{\circ}\text{C}$ , 取出, 放冷, 将消解罐中液体转移至 25 mL 量瓶中, 用水洗涤消解罐数次, 洗液并入量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀, 即得。取相同体积人工胃液, 同法制备空白溶液<sup>[6]</sup>。

**2.1.3 内标溶液** 取锆、铟、铋混合内标储备液, 用水稀释, 制成 3 种元素质量浓度均为 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的混合溶液。

**2.1.4 混合对照品溶液** 分别精密吸取铜、砷、镉、汞、铅单元素对照溶液适量, 用 5% 硝酸溶液制成每 1 L 含铜 0 ~ 500  $\mu\text{g}$ , 砷 0 ~ 20  $\mu\text{g}$ , 镉 0 ~ 10  $\mu\text{g}$ , 铅 0 ~ 20  $\mu\text{g}$  的系列混合溶液; 同法另行配制每 1 L 含汞 0 ~ 5  $\mu\text{g}$  的溶液。

**2.2 元素的含量测定** 选取各元素合适的同位素质量数(铜 63, 砷 75, 镉 114, 汞 202, 铅 208), 铜、砷以锆作为内标, 镉以铟作为内标, 汞和铅以铋作为内标。仪器的内标进样管在仪器分析工作过程中始终插入内标溶液中, 依次将仪器的样品管插入各个质量浓度的混合对照溶液中进行测定(质量浓度依次递增), 以每一质量浓度测得的 3 次读数与内标读数比值的平均值为纵坐标, 相应质量浓度为横坐标, 作标准曲线。另将仪器的样品管插入供试品溶液中, 测定, 取 3 次读数的平均值, 根据标准曲线计算相应质量浓度, 扣除相应的样品空白, 即得各元素含量。

**2.3 线性关系考察** 精密吸取铅、砷、镉、铜对照溶液 1, 1, 1, 10 mL, 分别置于 100 mL 量瓶中, 各加 5% 硝酸定容至刻度, 得铅、砷、镉、铜储备液, 分别精密吸取铅、砷储备液 10, 50, 100, 200  $\mu\text{L}$ , 镉储备液 5, 25, 50, 100  $\mu\text{L}$ , 铜储备液 50, 100, 200, 500  $\mu\text{L}$ , 分别置于 4 个 100 mL 量瓶中, 得系列质量浓度的混合对照品溶液。精密吸取汞对照溶液 1 mL 至 100 mL 量瓶中, 加 5% 硝酸定容得汞储备溶液, 分别精密吸取汞储备液 10, 20, 30, 50  $\mu\text{L}$  置于 100 mL 量瓶中, 得系列质量浓度的汞对照溶液。按 2.2 项下方法测定, 得砷、铜、铅、汞、镉的线性方程分别为  $Y = 0.7101X + 0.0283$  ( $r = 1$ ),  $Y = 10.756X + 10.506$  ( $r = 1$ ),  $Y = 0.6175X + 0.079$  ( $r = 1$ ),  $Y = 0.1387X + 0.0058$  ( $r = 1$ ),  $Y = 0.2045X + 0.0055$  ( $r = 1$ ), 线性范围分别为 0 ~ 20, 0 ~ 500, 0 ~ 20, 0 ~ 5, 0 ~ 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.4 精密度试验** 取 2.1.1 项下供试品溶液, 分别

在同天和隔日进行日内、日间精密度测定 ( $n = 5$ ), 结果镉、铟、铅、铋、铜、锗、砷、汞的日内精密度 RSD 分别为 1.44%, 0.87%, 1.19%, 0.94%, 0.55%, 2.50%, 2.07%, 3.21%, 日间精密度 RSD 分别为 1.18%, 0.96%, 0.45%, 1.36%, 1.21%, 1.61%, 1.15%, 2.26%。

**2.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 置冰箱 0 ~ 5 °C 保存, 每间隔一定时间 (0, 1, 3, 5, 8 d) 测定 1 次, 共测定 5 次, 结果镉、铟、铅、铋、铜、锗、砷、汞响应值的 RSD 分别为 1.88%, 0.93%, 1.20%, 1.42%, 1.30%, 1.83%, 2.37%, 3.69%, 表明供试

品溶液至少在 8 d 内稳定性良好。

**2.6 最低检测限测定** 以 5% 硝酸溶液为空白, 连续测定 11 次, 分别计算各元素的空白信号平均值 ( $S_0$ ) 空白信号的标准偏差 ( $\sigma$ ), 按公式  $S_d = S_0 + K\sigma$  ( $K = 3$ ) 计算检出限, 结果镉、铅、铜、砷、汞的检出限分别为 0.002, 0.001, 0.017, 0.001, 0.003  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.7 回收率试验** 取已知含量的样品 (批号 120301), 研细, 精密称取 12 份 (每份约 0.25 g), 分别按 2.1.1 和 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 处理前分别加入不同量对照品, 按 2.2 项下方法测定, 计算回收率, 结果见表 1, 2。

表 1 跌打生骨胶囊中总重金属的加样回收率试验

No.	取样量/g	样品中质量/ng	加入量/ng	测得量/ng	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	
Cd	1	0.249 6	68.71	25	85.62	91.36	92.29	4.62
	2	0.251 1	69.13	25	90.90	96.57		
	3	0.250 9	69.07	25	80.70	85.78		
	4	0.249 8	68.77	50	109.36	92.08		
	5	0.251 2	69.16	50	113.96	95.64		
	6	0.252 5	69.51	50	107.51	89.96		
Pb	1	0.249 6	1 699.88	500	2 119.80	96.36	95.49	3.67
	2	0.251 1	1 710.09	500	2 030.41	91.87		
	3	0.250 9	1 708.73	1 000	2 645.62	97.67		
	4	0.249 8	1 701.24	1 000	2 481.90	91.88		
	5	0.251 2	1 710.77	1 500	3 199.86	99.66		
	6	0.252 5	1 719.63	1 500	3 218.34	99.96		
Cu	1	0.249 6	964.18	500	1 425.09	97.33	99.4	2.68
	2	0.251 1	969.97	500	1 439.40	97.92		
	3	0.250 9	969.20	500	1 440.70	98.06		
	4	0.249 8	964.95	1 000	2 040.60	103.85		
	5	0.251 2	970.36	1 000	1 967.60	99.86		
	6	0.252 5	975.38	1 000	2 156.72	109.18		
As	1	0.249 6	322.31	200	515.26	98.65	99.39	1.96
	2	0.251 1	324.25	200	514.23	98.09		
	3	0.250 9	323.99	200	515.29	98.34		
	4	0.249 8	322.57	300	640.12	102.82		
	5	0.251 2	324.37	300	618.51	99.06		
	6	0.252 5	326.05	300	640.01	102.23		
Hg	1	0.249 6	0.15	25	22.98	91.36	89.89	2.47
	2	0.251 1	0.15	25	21.77	86.57		
	3	0.250 9	0.15	25	22.33	88.78		
	4	0.249 8	0.15	50	46.18	92.08		
	5	0.251 2	0.15	50	45.46	90.64		
	6	0.252 5	0.15	50	45.12	89.96		

表 2 跌打生骨胶囊中酸可溶性重金属的回收率试验

No.	取样量/g	样品中质量/ng	加入量/ng	测得量/ng	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	
Cd	1	0.255 5	99.31	50	147.48	98.77	96.73	1.64
	2	0.254 6	98.96	50	146.12	98.09		
	3	0.258 8	100.60	50	144.36	95.86		
	4	0.259 8	100.98	100	191.50	95.28		
	5	0.250 6	97.41	100	188.84	95.66		
	6	0.249 5	96.98	100	196.90	99.96		
Pb	1	0.255 5	1 471.63	500	1 894.93	96.11	96.39	2.04
	2	0.254 6	1 466.45	500	1 874.61	95.33		
	3	0.258 8	1 490.64	1 000	2 437.83	97.88		
	4	0.259 8	1 496.40	1 000	2 342.87	93.85		
	5	0.250 6	1 443.41	1 500	2 906.91	98.76		
	6	0.249 5	1 437.07	1 500	3 189.66	108.6		
Cd	1	0.255 5	1 005.83	500	1 555.52	103.3	100.4	2.48
	2	0.254 6	1 002.28	500	1 480.50	98.55		
	3	0.258 8	1 018.82	500	1 494.21	98.38		
	4	0.259 8	1 022.75	1 000	2 080.40	102.85		
	5	0.250 6	986.54	1 000	1 961.11	98.72		
	6	0.249 5	982.21	1 000	2 005.00	101.15		
As	1	0.255 5	313.96	200	509.44	99.12	99.53	1.36
	2	0.254 6	312.85	200	503.06	98.09		
	3	0.258 8	318.01	200	514.54	99.33		
	4	0.259 8	319.24	300	630.20	101.77		
	5	0.250 6	307.94	300	604.05	99.36		
	6	0.249 5	306.59	300	613.78	101.19		
Hg	1	0.255 5	0.00	25	24.14	96.54	95.74	2.65
	2	0.254 6	0.00	25	24.08	96.32		
	3	0.258 8	0.00	25	24.45	97.78		
	4	0.259 8	0.00	50	48.39	96.78		
	5	0.250 6	0.00	50	45.66	91.32		
	6	0.249 5	0.00	50	44.93	89.86		

总金属回收率试验结果表明,镉、铅、铜、砷的回收率均在 92% ~ 95%,汞的平均回收率 89.89%,满足了痕量分析加样回收率的要求。酸可溶性重金属回收率试验结果表明,镉、铅、铜、砷、汞的回收率均在 95% ~ 105%,满足了痕量分析加样回收率的要求,加样回收率良好。

**2.8 样品测定** 取 3 批跌打生骨胶囊,分别按 **2.1.1** 和 **2.1.2** 项下方法制备供试品溶液,按 **2.2** 项下方法测定,结果见表 3 ~ 5,确定跌打生骨胶囊每粒装 0.45 g,一次 5 粒,一日 1 次,日服剂量 2.25 g。

表 3 批号 110901 跌打生骨胶囊中总重金属及酸可溶性重金属含量测定

金属元素	总重金属		酸可溶性重金属		限度
	平均质量分数 /μg·g <sup>-1</sup>	人均日摄入量 /μg	平均质量分数 /μg·g <sup>-1</sup>	人均日摄入量 /μg	人均日摄入量 /μg
Cd	0.295 8	0.665 6	0.289 3	0.650 8	60
Pb	6.012 1	13.527 2	5.321 9	11.974 3	214
Cu	2.662 9	5.991 5	2.505 8	5.638 2	4 286
As	1.201 3	2.702 9	0.767 9	1.727 8	128
Hg	0.000 3	0.000 7	0.000 1	0.000 2	13.7

表 4 跌打生骨胶囊中总重金属及酸可溶性  
重金属含量测定(批号 120301)

金属 元素	总重金属		酸可溶性重金属		限度
	平均质量 分数	人均日 摄入量	平均质量 分数	人均日 摄入量	人均日 摄入量
	$/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\mu\text{g}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\mu\text{g}$	$/\mu\text{g}$
Cd	0.275 3	0.619 3	0.388 7	0.874 6	60
Pb	6.810 4	15.323 4	5.759 8	12.959 5	214
Cu	3.862 9	8.691 4	2.936 7	6.607 7	4 286
As	1.291 3	2.905 3	1.228 8	2.764 8	128
Hg	0.000 6	0.001 3	0.000 0	0.000 0	13.7

表 5 跌打生骨胶囊中总重金属  
及酸可溶性重金属含量测定(批号 120701)

金属 元素	总重金属		酸可溶性重金属		限度
	平均质量 分数	人均日 摄入量	平均质量 分数	人均日 摄入量	人均日 摄入量
	$/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\mu\text{g}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\mu\text{g}$	$/\mu\text{g}$
Cd	0.317 5	0.714 4	0.107 9	0.242 8	60
Pb	7.588 3	17.073 6	4.937 2	11.108 8	214
Cu	3.405 2	7.661 7	1.186 4	2.669 3	4 286
As	1.530 0	3.442 5	0.993 9	2.236 3	128
Hg	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	13.7

### 3 讨论

现行跌打生骨胶囊标准(YBZ08782008)由国家食品药品监督管理局发布,陕西省药品检验所复核,陕西省中医药研究院汉唐制药有限公司提出,原质量标准起草时,检查项下分别参照《中国药典》2000年版一部附录VIII H 第一法检查法和附录IX F 砷盐检查法第一法,对重金属、砷盐进行了考察,结果显示 3 批大生产样品重金属含量均  $<10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,砷盐含量  $<2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,故未列入标准。

通过比较跌打生骨胶囊中总重金属和酸可溶性重金属的含量,发现同批样品中酸可溶性重金属含量与总重金属含量相当,无显著性差异;且日均人服用酸可溶性重金属含量与总重金属含量均未超出世界卫生组织(WHO)推荐的有害元素限量标准,故跌打生骨胶囊中砷、铅、汞、镉、铜 5 种重金属的含量测定可不列入标准。

跌打生骨胶囊中自然铜采用煎煮提取工艺,故成品中总重金属与酸可溶性重金属含量相当。与文献报道<sup>[1-2]</sup>的酸可溶性重金属含量低于总重金属含量不一致,原因可能是文献研究的中成药处方中矿

物质多采用直接加入形式,即重金属体内吸收情况与中成药制备工艺有关,是否列入质量标准应因产品而异。

中成药中重金属元素的生物活性只有被人体吸收后才能表现出来<sup>[7]</sup>。单纯以制剂中总重金属量作为评价中成药(特别是含有矿物类的口服中成药)的毒性限度指标存在一定的不合理性。建议可将酸可溶性重金属含量限度作为含重金属矿物中成药的质控指标之一,拟订合适的安全性限度标准;同时应考察重金属在小肠的吸收,因为小肠是药物吸收的主要部位,可采用离体外翻肠囊模型或大鼠在体单向肠灌流模型研究重金属在小肠的吸收,为其在消化系统的吸收作出全面评价<sup>[8]</sup>;同时应开展重金属在体内的代谢动力学研究及组织分布研究<sup>[9]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 王欣美,李丽敏,王柯,等.关于含矿物中成药中总重金属和酸可溶性重金属含量的比较研究[J].药物分析杂志,2006,26(11):1578.
- [2] 罗艳,黄文琦,龙智翔,等.ICP-MS测定中药煎制前后 8 种重金属元素的含量及溶出率[J].光谱实验室,2012,29(2):925.
- [3] 贾薇,江滨,曾元儿.ICP-MS法测定 5 种中药材中 4 种重金属的含量[J].中药新药与临床药理,2009,20(2):150.
- [4] 郭宏伟,高广慧,吴琼,等.ICP-MS法测定红花注射剂中 5 种重金属的残留量[J].中南药学,2011,9(11):833.
- [5] 刘育强,毕美静,董权,等.电感耦合等离子体质谱法测定尿毒清颗粒中 5 种重金属元素的含量[J].临床合理用药,2012,5(9A):15.
- [6] 何平,孙巍,孙玉侠,等.微波消解-ICP-MS法测定丹参和三七药材中 18 种重金属元素[J].中成药,2011,33(12):2110.
- [7] 吴艳萍,林旭楷.胃舒散中重金属铋在大鼠体内药代动力学研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(22):108.
- [8] 邓亚利,林芳花,何秀华,等.羧基化碳纳米管负载羟基喜树碱的制备、表征及肠吸收特性考察[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(4):5.
- [9] 杜珍,次仁巴珠,贡布,等.七十味珍珠丸中有毒重金属在比格犬体内的分布和排泄[J].解放军药学报,2011,27(6):487.

[责任编辑 全燕]