

采用微波消解 – 电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 测定法考察蚓激酶中有害元素的残留量 *

钟振华, 陈珍珍, 王鹏, 程奇珍 **

(江西省药品检验检测研究院, 江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心, 南昌 330029)

摘要 目的: 建立测定蚓激酶中铬 (Cr)、锰 (Mn)、铁 (Fe)、钴 (Co)、镍 (Ni)、铜 (Cu)、砷 (As)、银 (Ag)、镉 (Cd)、锑 (Sb)、钡 (Ba)、汞 (Hg)、铊 (Tl)、铅 (Pb) 14 个有害元素含量的方法。**方法:** 采用微波消解 – 电感耦合等离子体质谱法, 射频功率为 1 530 W, 冷却温度为 4 ℃, 碰撞气为氦气, 载气为氩气, 载气流量为 1.08 L · min⁻¹, 积分时间为 0.3 s, 等离子气流量为 15 L · min⁻¹, 四极杆真空度为 3.04 × 10⁻⁴ Pa, 采样锥孔径为 1.0 mm, 截取锥孔径为 0.4 mm, 数据采集重复次数为 3 次。**结果:** Mn、Ni 与 Cu 元素检测线性范围为 0~500 ng · mL⁻¹, Fe 元素检测线性范围为 0~10 000 ng · mL⁻¹, Hg 元素检测线性范围为 0~10 ng · mL⁻¹, 其余各元素检测线性范围均为 0~100 ng · mL⁻¹, *r* 均 ≥ 0.999 0; 检测下限为 0.004~0.7 ng · mL⁻¹; 精密度的 RSD < 2%, 重复性的 RSD < 8%; 各元素平均加样回收率为 95.4%~109.8% (RSD < 4%, *n* = 9)。**结论:** 该方法线性回归良好, 灵敏度高, 准确性好, 适用于蚓激酶原料药中有害元素的检测分析。

关键词: 蚓激酶; 电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS); 微波消解; 有害元素; 质量安全

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2019) 03-0477-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.03.15

Determination of harmful elements in lumbrokinase by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry *

ZHONG Zhen-hua, CHEN Zhen-zhen, WANG Peng, CHENG Qi-zhen **

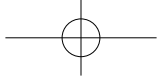
(Jiangxi Institute for Drug Control, Jiangxi Provincial Engineering Research Center for Drug and Medical Device Quality, Nanchang 330029, China)

Abstract Objective: To establish a determination method of Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, As, Ag, Cd, Sb, Ba, Hg, Tl and Pb in lumbrokinase. **Methods:** Microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry (MD-ICPMS) was adopted. RF power was 1 530 W, cooling temperature was 4 ℃, collision gas was He gas, the flow rate of the carrier gas (argon gas) was 1.08 L · min⁻¹, integration time was 0.3 s, plasma gas flow rate was 15 L · min⁻¹, the vacuum degree of quadrupole was 3.04 × 10⁻⁴ Pa, sampling cone aperture was 1.0 mm, interception cone aperture was 0.4 mm, and the data collection was repeated 3 times. **Results:** The linear ranges of Mn, Ni and

* 江西省重点研发计划项目 (项目编号: 20161BBG70237)

** 通信作者 Tel: (0791) 88158656 E-mail: cqz1110@sina.com

第一作者 Tel: (0791) 88158656; E-mail: zhongzhenhua_510@sina.com



Cu were $0\text{--}500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r \geq 0.999\ 0$), the linear range of Fe was $0\text{--}10\ 000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, the linear range of Hg was $0\text{--}10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the linear ranges of other elements were $0\text{--}100\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r \geq 0.999\ 0$). RSDs of precision tests were lower than 2.0% and RSDs of reproducibility tests were lower than 8.0%. Average recoveries were 95.4%–109.8% (RSD<4%, $n=9$). **Conclusion:** With good linear relationship, sensitivity and accuracy, the method is suitable for detection of harmful elements in lumbrokinase.

Keywords: lumbrokinase; inductively coupled plasma mass spectrometry; microwave digestion; harmful elements; quality and safety

蚓激酶(lumbrokinase)是从人工饲养的赤子爱胜蚓中分离纯化出的纤溶酶(酸性蛋白质),能在生理条件下将血液中的纤维蛋白直接降解以及将纤溶酶原激活为纤溶酶,加速血栓的溶解。蚓激酶为抗血栓药,临床上主要用于缺血性脑血管病,使过高的纤维蛋白原和血小板凝集率降低。1992年,蚓激酶作为药物在我国上市,目前,国内共有5家蚓激酶原料及制剂生产企业,均以赤子爱胜蚓为原材料,整体加水磨浆,离心,上清液经过阴离子纤维素交换层析纯化而成^[1-2]。

文献查阅发现,不同的有害元素对蚓激酶活性产生不同程度的影响,如铅(Pb)、铜(Cu)元素会严重影响蚓激酶活性^[3-4]。同时有害元素难以被生物降解,却能与酶或蛋白质结合,在食物链的生物放大作用下,成千百倍地富集,最后进入人体,严重损害人体的新陈代谢和正常的生理功能^[5]。故有必要监测并考察蚓激酶中有害元素的残留量,对保证蚓激酶的质量安全具有十分重要的意义。

本文采用微波消解-电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法^[6-11]建立测定蚓激酶中铬(Cr)、锰(Mn)、铁(Fe)、钴(Co)、镍(Ni)、铜(Cu)、砷(As)、银(Ag)、镉(Cd)、锑(Sb)、钡(Ba)、汞(Hg)、铊(Tl)、铅(Pb)等14个有害元素含量的方法,以期为该原料药的质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

CEM MARS-xpress 微波消解仪(CEM公司); Agilent 7700X 电感耦合等离子体质谱仪(安捷伦科技有限公司); Synergymillipore 超纯水制水机(密理博中国有限公司); 博通 GST25-20A 赶酸仪(上海博通化学科技有限公司)。

1.2 试剂与对照品

硝酸(Fluka, 批号 BCBP0680V)、超纯水(由超

纯水制水机制得),内标对照品溶液(ICP-MS Internal Std Mix, 含 Bi、Ge、In、Rh、Sc 等内标元素,质量浓度 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,安捷伦科技股份有限公司)。

混合对照标准溶液(包含 Pb、As、Cd、Cr、Cu、Ag、Mn、Tl、Ba、Co、Ni、Sb 等元素,质量浓度均为 $10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; Fe 元素质量浓度为 $1\ 000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,安捷伦科技有限公司); Hg 单元素标准溶液(质量浓度 $1\ 000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,中国计量科学研究院)。

1.3 样品信息

蚓激酶原料药共10批次(批号1405、1406、1407、1409、1506、1507、1508、1510、1610、1611),均由A公司提供;蚯蚓培养土壤样品4批,均为同一日期,在蚯蚓培养基地中随机抽取4块培养田分别取土壤样本,土壤样本阴干后, $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥,过筛弃去沙石和异物(5号筛,80目),即得。编号分别为土壤1~4。

2 方法与结果

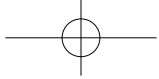
2.1 试验条件

2.1.1 ICP-MS 条件 射频功率: $1\ 530\text{ W}$; 冷却温度: $4\text{ }^{\circ}\text{C}$; 碰撞气: 氦气; 载气: 氩气; 载气流量: $1.08\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; 积分时间: 0.3 s ; 等离子气流量: $15\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; 四极杆真空度: $3.04\times 10^{-4}\text{ Pa}$; 采样锥孔径: 1.0 mm ; 截取锥孔径: 0.4 mm ; 数据采集重复次数: 3次; 入口温度: $33.8\text{ }^{\circ}\text{C}$; 出口温度: $41.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.2 微波消解程序 消解功率为 $1\ 600\text{ W}$, 30 min 内由室温升温至 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 5 min ,再以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 $190\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 45 min 。

2.2 测定法

测定时选取的同位素为 ^{52}Cr 、 ^{55}Mn 、 ^{56}Fe 、 ^{59}Co 、 ^{60}Ni 、 ^{63}Cu 、 ^{75}As 、 ^{107}Ag 、 ^{111}Cd 、 ^{121}Sb 、 ^{137}Ba 、 ^{202}Hg 、 ^{205}Tl 、 ^{208}Pb , 其中 ^{52}Cr 、 ^{55}Mn 、 ^{56}Fe 以 ^{45}Sc 作为内标, ^{59}Co 、 ^{60}Ni 、 ^{63}Cu 、 ^{75}As 以 ^{72}Ge 作为内标, ^{107}Ag 以 ^{103}Rh 作为内标, ^{111}Cd 、 ^{121}Sb 、 ^{137}Ba 以 ^{115}In 作为内标, ^{202}Hg 、 ^{205}Tl 、 ^{208}Pb 以 ^{209}Bi 作为内标。仪器的内标进样管在仪器分



析过程中始终插入内标溶液中,依次将仪器的样品管插入系列混合对照溶液中进行测定,以测量值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。之后将仪器的样品管依次插入样品溶液中,测定,从标准曲线上计算得相应的浓度。在同样的分析条件下进行空白试验进行空白校正。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合内标溶液($1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 精密量取内标对照品溶液 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用 2% 硝酸稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 Hg 单元素标准储备液($10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 精密量取 Hg 单元素标准溶液($1\text{ }000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 1 mL,置 100

mL 量瓶中,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.3 混合对照溶液 精密量取混合对照标准溶液 10 mL,置 100 mL 量瓶中,精密加入 Hg 单元素标准储备液($10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 1 mL,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得混合对照储备液(Fe 元素质量浓度为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,Hg 元素质量浓度为 $100\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,其余待测元素质量浓度为 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),精密量取 0、0.05、0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10.0、25.0 mL,分别置 50 mL 塑料量瓶中,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得系列浓度(详见表 1)的混合对照溶液。

表 1 混合对照溶液浓度

Tab. 1 Concentration of mixed reference solution

元素 (element)	$C/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$										
	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	C_7	C_8	C_9	C_{10}	C_{11}
Cr	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Mn	0	1	5	10	20	40	60	80	100	200	/
Fe	0	100	500	1 000	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000	/	/
Co	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Ni	0	1	5	10	20	40	60	80	100	200	500
Cu	0	1	5	10	20	40	60	80	100	200	500
As	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Ag	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Cd	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Sb	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Ba	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Hg	0	0.1	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	/	/
Tl	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/
Pb	0	1	5	10	20	40	60	80	100	/	/

2.3.4 蚓激酶样品溶液 精密称取蚓激酶样品 0.5 g,置微波消解罐中,精密加入硝酸 8 mL,100 ℃赶酸仪中预消解 1 h,盖好内盖,旋紧外套,置于微波消解仪中,按“2.1”项下微波消解程序进行消解,放冷,110 ℃赶酸仪中加热至红棕色蒸气挥尽,并继续挥发硝酸至样品约 0.5 mL,放冷,用水转移至 25 mL 塑料量瓶并稀释至刻度,摇匀,即得。同法制备样品空白溶液,对蚓激酶样品溶液做空白校正。

2.3.5 蚯蚓培养土壤样品溶液 精密称取蚯蚓培养土壤样品 0.1 g,置微波消解罐中,精密加入硝酸 8 mL 及氢氟酸 0.5 mL,100 ℃赶酸仪中预消解 1 h,盖好内盖,旋紧外套,置于微波消解仪中,按“2.1”项下微波消解程序进行消解,放冷,110 ℃赶酸仪中加热至红棕色蒸气挥尽,并继续挥发硝酸至样品约 0.5 mL,放冷,用水转移至 100 mL 塑料量瓶并稀释至刻度,摇匀,精密量取 25 mL,置 50 mL 塑料量瓶中,用 2% 硝酸溶液

稀释至刻度,摇匀,作为 Cr、Co、Ni、Cu、As、Ag、Cd、Sb、Hg、Tl、Pb 元素测定样品溶液;精密量取 5 mL,至 25 mL 塑料量瓶中,用 2% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,作为 Mn、Fe、Ba 元素测定样品溶液。同法制备样品空白溶液,对蚯蚓培养土壤样品溶液做空白校正。

2.4 线性关系考察

取混合内标溶液与混合对照溶液,按“2.1”项下 ICP-MS 条件同时进样测定,记录仪器响应值(CPS)。以混合对照溶液质量浓度($X, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标,仪器响应值(Y)为纵坐标进行线性回归,回归方程、线性范围详见表 2。

表 2 回归方程、线性范围与检测下限

Tab. 2 Regression equations, linear ranges and detection limits

元素 (element)	线性方程 (linear equation)	r	线性范围 (linear range) / ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	检测下限 (LOD) / ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Cr	$Y=3.808 \times 10^{-2}X-3.272 \times 10^{-3}$	0.999 8	0~100	0.2
Mn	$Y=1.097 \times 10^{-2}X-1.717 \times 10^{-5}$	0.999 9	0~500	0.4
Fe	$Y=2.728 \times 10^{-2}X-7.021 \times 10^{-3}$	0.999 8	0~10 000	0.7
Co	$Y=7.764 \times 10^{-2}X-6.431 \times 10^{-5}$	0.999 8	0~100	0.008
Ni	$Y=2.091 \times 10^{-2}X-2.322 \times 10^{-3}$	0.999 7	0~500	0.4
Cu	$Y=6.052 \times 10^{-2}X-4.888 \times 10^{-4}$	0.999 4	0~500	0.1
As	$Y=7.012 \times 10^{-4}X-2.721 \times 10^{-5}$	0.999 8	0~500	0.08
Ag	$Y=3.338 \times 10^{-3}X-1.710 \times 10^{-5}$	0.999 9	0~100	0.01
Cd	$Y=5.180 \times 10^{-4}X+2.911 \times 10^{-6}$	0.999 9	0~100	0.02
Sb	$Y=1.902 \times 10^{-3}X-5.351 \times 10^{-5}$	0.999 9	0~100	0.2
Ba	$Y=3.625 \times 10^{-4}X+1.759 \times 10^{-5}$	0.999 7	0~100	0.4
Hg	$Y=1.086 \times 10^{-3}X-1.517 \times 10^{-5}$	0.999 1	0~100	0.06
Tl	$Y=6.377 \times 10^{-3}X-6.645 \times 10^{-6}$	0.999 9	0~100	0.004
Pb	$Y=3.851 \times 10^{-3}X+3.307 \times 10^{-5}$	0.999 6	0~100	0.04

2.5 检测下限

取“2.3”项下空白样品溶液适量,按“2.1”项下试验条件连续进样测定 11 次,计算仪器响应值的标准偏差,3 倍标准偏差对应的各待测元素质量浓度即为检测下限,详见表 2。

2.6 精密度试验

取“2.3.3”项下混合对照溶液 C_7 ,按“2.1”项下试验条件连续进样测定 6 次,记录仪器响应值。结果 Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、As、Ag、Cd、Sb、Ba、Hg、Tl、Pb 各元素响应值的 RSD ($n=6$) 分别为 0.62%、1.3%、0.59%、0.59%、0.86%、1.1%、1.7%、1.0%、1.1%、0.58%、0.79%、0.93%、1.4%、1.2%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

称取同一批样品(批号 1611)约 0.5 g,精密称定,共取 6 份,按“2.3”项下方法制备样品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录仪器响应值。结

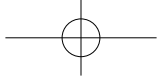
果,6 份样品中 Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、As、Ag、Cd、Sb、Ba、Hg、Tl、Pb 各元素平均含量($n=6$)分别为 0.6、19.8、139.0、0.7、5.7、7.6、0.8、0.01、1.2、0.06、4.2、0.02、0.002、0.3 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 分别为 0.86%、0.71%、0.81%、0.87%、0.86%、0.66%、1.3%、2.4%、1.3%、2.9%、1.4%、5.0%、7.6%、0.70%,表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取“2.3”项下蚓激酶样品溶液(批号 1611)适量,分别于室温下放置 0、4、8、12、16、20、24 h 进样测定,记录仪器响应值。结果 Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、As、Ag、Cd、Sb、Ba、Hg、Tl、Pb 各元素响应值的 RSD 分别为 3.9%、1.9%、2.8%、4.4%、1.6%、2.5%、4.4%、4.9%、3.1%、5.0%、2.4%、5.4%、8.2%、2.9%,表明样品溶在 24 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验

2.9.1 蚓激酶 称取同一批样品(批号 1611)约 0.5 g,



精密称定,共取9份,分别精密加入“2.3.3”项下混合对照储备液0.5、0.5、0.5、1.0、1.0、1.0、1.5、1.5、1.5 mL,按“2.3.4”项下方法制备Cr、Fe、Co、As、Ag、Cd、Sb、Ba、Hg、Tl、Pb元素加样回收溶液;称取同一批样品(批号1611)约0.5 g,精密称定,共取9份,分别精密加入“2.3”项下混合对照储备液0.15、0.15、0.15、0.25、0.25、0.25、0.5、0.5、0.5 mL,按“2.3”项下方法制备Mn、Ni、Cu元素加样回收溶液;再按“2.1”项下试验条件进样测定,计算各待测元素的量并计算加样回收率,结果详见表3。

表3 蚓激酶样品中各元素回收率试验结果

Tab. 3 Results of recovery test of elements in lumbrokinase

元素 (element)	加入量(added)/ (ng·mL ⁻¹)(n=3)			平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
	低 (low)	中 (middle)	高 (high)		
Cr	97.1	98.6	97.4	97.7	0.83
Mn	105.9	103.7	99.8	103.2	3.0
Fe	100.2	99.2	98.1	99.2	1.0
Co	99.8	99.9	97.9	99.2	1.1
Ni	94.8	98.7	98.0	97.2	2.1
Cu	92.2	96.0	97.9	95.4	3.0
As	112.3	107.0	106.9	108.7	2.9
Ag	100.0	100.3	100.2	100.2	0.17
Cd	108.2	107.4	103.6	106.4	2.3
Sb	102.9	101.1	102.1	102.0	0.90
Ba	101.2	101.8	101.8	102.4	1.6
Hg	110.1	108.9	110.2	109.8	0.65
Tl	104.6	104.0	103.0	103.9	0.79
Pb	100.7	100.4	99.6	100.2	0.59

2.9.2 蚯蚓培养土壤 称取同一批样品(土壤1)约0.1 g,精密称定,共取9份,分别精密加入混合对照标准溶液0.2、0.2、0.2、0.4、0.4、0.4、0.6、0.6、0.6 mL,分别精密加入Hg单元素标准储备液(10 μg·mL⁻¹)0.05、0.05、0.05、0.10、0.10、0.10、0.15、0.15、0.15 mL,按“2.3.5”项下蚯蚓培养土壤样品溶液制备方法制备Cr、Co、Ni、Cu、As、Ag、Cd、Sb、Hg、Tl、Pb元素加样回收溶液;称取同一批样品(土壤1)约0.1 g,精密称定,共取9份,分别精密加入混合对照标准溶液1.0、1.0、1.0、2.0、2.0、

2.0、3.0、3.0、3.0 mL,按“2.3”项下蚯蚓培养土壤样品溶液制备方法制备Mn、Fe、Ba元素加样回收溶液;再按“2.1”项下试验条件进样测定,计算各待测元素的量并计算加样回收率,结果详见表4。

表4 土壤样品回收率试验结果

Tab. 4 Results of recovery test of soil

元素 (element)	加入量(added)/ (ng·mL ⁻¹)(n=3)			平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
	低 (low)	中 (middle)	高 (high)		
Cr	96.3	95.0	96.7	96.0	0.95
Mn	107.0	103.4	99.0	103.1	3.9
Fe	95.1	96.4	97.7	96.4	1.4
Co	94.3	97.1	95.7	95.7	1.5
Ni	101.6	97.0	95.7	98.1	3.2
Cu	105.6	102.1	103.8	103.9	1.7
As	102.1	104.0	104.8	103.6	1.4
Ag	95.0	97.2	98.6	97.0	1.8
Cd	97.8	95.8	96.4	96.7	1.1
Sb	110.1	104.2	107.3	107.2	2.8
Ba	107.8	105.6	103.2	105.5	2.2
Hg	97.0	96.5	101.2	98.2	2.6
Tl	98.4	99.7	99.6	99.2	0.75
Pb	99.3	99.4	100.3	99.6	0.58

2.10 样品中有害元素的测定

蚓激酶原料药:称取样品约0.5 g,精密称定,按“2.3”项下方法制备样品溶液,再按“2.1”项下条件进样测定,每批次样品平行测定2份,计算样品有害元素含量,结果见表5。

土壤样品:称取样品约0.1 g,精密称定,按“2.3”项下方法制备样品溶液,再按“2.1”项下条件进样测定,每批次样品平行测定2份,计算样品中有害元素含量,结果见表6。

为方便比较蚓激酶原料与土壤中14种有害元素的分布特征,以有害元素为横坐标,以10批次蚓激酶原料药中有害元素含量平均值的自然对数值及4批次土壤中有害元素含量平均值的自然对数值为纵坐标,绘制元素含量特征分布图(图1)。

表 5 蚓激酶样品中元素的测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=2$)

Tab. 5 Determination results of harmful elements in lumbrokinase

批号 (lot No.)	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	As	Ag	Cd	Sb	Ba	Hg	Tl	Pb
1405	0.6	10.4	73.3	0.6	10.9	8.0	2.2	0.02	1.0	0.03	3.4	0.03	0.008	0.1
1406	1.0	10.3	75.5	0.6	10.8	8.0	2.3	0.01	0.9	0.02	3.4	0.02	0.007	0.1
1407	1.3	9.7	76.9	0.6	10.4	7.5	2.3	0.02	0.9	0.09	3.4	0.02	0.007	0.1
1409	0.7	10.9	71.5	0.6	10.5	8.3	1.4	0.01	1.1	0.03	3.0	0.02	0.008	0.1
1506	0.6	12.3	100.8	0.5	5.6	9.3	1.2	0.02	1.3	0.03	2.8	0.02	0.009	0.2
1507	0.6	12.0	98.5	0.5	5.8	9.6	1.2	0.02	1.2	0.05	2.7	0.01	0.009	0.2
1508	0.7	12.4	101.1	0.5	5.8	9.4	1.2	0.01	1.3	0.03	2.7	0.01	0.009	0.1
1510	0.6	11.8	100.3	0.5	5.7	9.3	1.2	0.01	1.1	0.03	2.8	0.01	0.009	0.1
1610	0.6	19.9	136.5	0.7	5.6	7.5	0.8	0.01	1.3	0.04	4.2	0.02	0.003	0.3
1611	0.6	19.9	139.3	0.7	5.6	7.5	0.8	0.01	1.2	0.06	4.2	0.02	0.002	0.3

表 6 土壤样品中有害元素的测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=2$)

Tab. 6 Determination results of harmful elements in soil

土壤样品编号 (No. of soil sample)	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	As	Ag	Cd	Sb	Ba	Hg	Tl	Pb
1	84.1	1 215.1	44 594.0	14.1	30.2	456.3	39.8	0.5	1.2	2.3	342.4	0.6	0.7	82.5
2	121.2	2 050.8	52 555.8	26.7	61.9	523.5	49.3	0.4	1.1	4.4	547.6	0.6	1.1	79.4
3	107.6	2 636.5	43 581.0	27.2	50.4	799.2	45.5	0.3	1.4	3.3	492.2	0.8	0.9	72.5
4	82.7	2 242.5	32 386.1	18.8	34.3	631.7	38.5	0.4	1.5	4.3	360.0	0.7	0.6	74.6

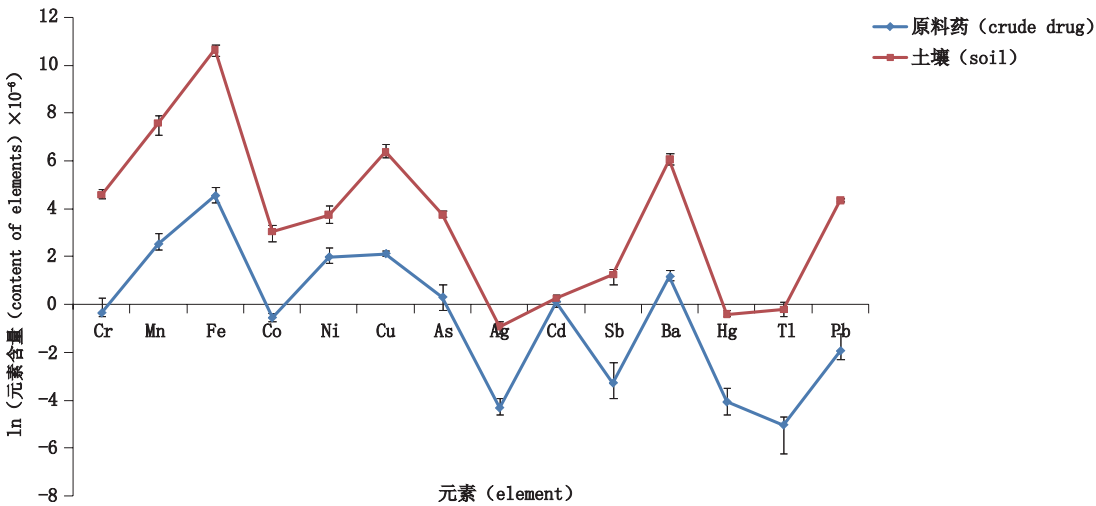
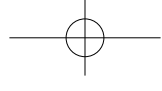


图 1 元素含量特征分布图
Fig. 1 Feature distribution diagram of elements

3 讨论

本研究 10 批次蚓激酶原料药样品从生产日期远近比较,同一年份生产的样品有害元素含量很接近,不同年份的样品有害元素的含量虽大体接近,但还是有细微差别:比如 Fe、Mn 元素含量从 2014 年

到 2016 年呈现递增的关系;Ni、As 元素含量从 2014 年到 2015 年均降低近 1 倍。从单个元素分析,蚓激酶原料药中有害元素 Fe 含量较高 ($70\sim140 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), Mn、Ni、Cu 含量次之 ($8.0\sim20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$),其余有害元素含量均低于 $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。《中华人民共和国药典》



2015年版对中药材及中药饮片有害元素和有害元素限度标准^[12]: Pb 不得过 $5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cd 不得过 $0.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Hg 不得过 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cu 不得过 $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, As 不得过 $2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。10 批次样品中 Pb、Hg、Cu 元素含量均在参考限度内;有 3 批次样品中 As 元素含量超出参考限度;10 批次样品中 Cd 元素含量均超出参考限度。样品中含量较高的 Fe、Mn 元素参考《中国居民膳食营养素参考摄入量》^[13]中相应的可耐受最高摄入量(UL)的规定: Fe 不得过 $42 \text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$; Mn 不得过 $11 \text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。按蚓激酶制剂说明书中用法用量要求折算,蚓激酶日口服量约为 150 mg 计算,10 批次样品中 Fe、Mn 元素含量均在参考限度内。

元素含量特征分布图(图 1)结果显示,样品中各有害元素含量比例与蚯蚓培养土壤中各有害元素含量比例接近,说明蚓激酶的生产从蚯蚓养殖到蚓激酶的提取净化过程存在有害元素迁移的可能,结果提示企业应更多关注对原材料(蚯蚓)养殖环境的监测。

回收率试验结果显示,各元素加样回收率均较理想,表明样品中基质对各元素干扰较小,但待测元素中 Hg 元素不稳定,样品溶液放置过久易造成 Hg 元素测定值偏低;稳定性试验显示,样品溶液在 24 h 内稳定,故建议样品溶液制备后当日测定,或在样品溶液中加入适量金(Au)元素标准溶液,使 Hg 元素与 Au 元素形成稳定的金汞合物,保证 Hg 的稳定性^[12]。微波消解法作为样品前处理,不仅耗时少,耗酸量小,而且能保证样品充分消解;ICP-MS 可同时测定多种金属元素,灵敏度高,精密度好,是分析金属元素的尖端仪器。方法学评价显示,此方法线性回归良好,灵敏度高,准确性好,适用于蚓激酶中有害元素的检测分析。

参考文献

- [1] 彭鑫. 蚓激酶活性及蛋白成分的研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016
PENG X. Study on Activity and Protein Ingredients of Lunbrokinase [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2016
- [2] 李秦晋, 符文卉, 魏宝阳, 等. 蚓激酶的抗菌作用研究[J]. 湖南农业科学, 2015(8): 8
LI QJ, FU WH, WEI BY, *et al.* Anti-microbial effects of lumbrokinase [J]. Hunan Agric Sci, 2015(8): 8
- [3] 徐兴, 索绪斌, 向兰, 等. 影响广地龙粗提液蚓激酶活力因素的研究[J]. 广东药学院学报, 2016, 32(2): 159
XU X, SUO XB, XIANG L, *et al.* Study on the factors on the activity of lumbrokinase in the crude extracts of lumbricus [J]. J Guangdong Pharm Univ, 2016, 32(2): 159
- [4] 闫峻, 汤立达. 蚓激酶的研究与临床应用[J]. 中草药, 2006, 37(2): 295
YAN J, TANG LD. Study and clinical application of lumbrokinase [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2006, 37(2): 295
- [5] 龚立科, 赵凯, 金铨, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定稻田土壤中的有害元素[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(5): 618
GONG LK, ZHAO K, JIN Q, *et al.* Determination of heavy metals in paddy soil by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2017, 27(5): 618
- [6] 陈莉, 黄丹, 陈盛, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定水溶性原料药中痕量镍[J]. 理化检验-化学分册, 2017, 53(5): 517
CHEN L, HUANG D, CHEN S, *et al.* ICP-MS determination of trace amount of nickel in water soluble raw pharmaceuticals [J]. Phys Test Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2017, 53(5): 517
- [7] 宋更申, 周丽, 刘浦, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定蛇床子中 16 种稀土元素[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(12): 2148
SONG GS, ZHOU L, LIU P, *et al.* Determination of 16 rare earth elements in Cnidii Fructus by ICP-MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(12): 2148
- [8] 左甜甜, 李耀磊, 陈沛, 等. 西洋参、山楂、枸杞子中有害元素及有害元素残留量测定及初步风险评估[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(11): 2016
ZUO TT, LI YL, CHEN P, *et al.* Determination and preliminary risk assessment of heavy metals and harmful elements in American ginseng, the fruit of Chinese wolfberry and hawthorn [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(11): 2016
- [9] 王梅, 郑晖. 布洛芬原料药中残留有机溶剂和微量金属杂质的检测研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(7): 1209
WANG M, ZHENG H. Study on determination of residual solvents and trace metal impurities in ibuprofen [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(7): 1209
- [10] 李颖, 刘雁鸣, 栗贵, 等. 采用 ICP-MS 法测定苯甲酸钠中 Mn、Co、As、Pb 元素的含量[J]. 中南药学, 2015, 13(7): 752
LI Y, LIU YM, SU G, *et al.* Determination of Mn, Co, As and Pb in sodium benzoate by ICP-MS [J]. Cent South Pharm, 2015, 13(7): 752
- [11] 雷超海, 张治军, 李沛, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定动物类中药中的 5 种有害元素[J]. 中国药师, 2017, 20(8): 1482
LEI CH, ZHANG ZJ, LI P, *et al.* Determination of 5 hazardous elements in animal traditional Chinese medicines by ICP-MS [J]. China Pharm, 2017, 20(8): 1482
- [12] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 131
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 131
- [13] WS/T 578. 3 中国居民膳食营养素参考摄入量[S]. 2017
WS/T 578. 3 Chinese Dietary Reference Intakes [S]. 2017

(本文于 2018 年 10 月 15 日修改回)