

人工养殖赤子爱胜蚓中重金属及有害元素的测定

张彬, 成晓英(山西省食品药品检验所, 太原 030001)

摘要: 目的 建立人工养殖赤子爱胜蚓中铅、镉、砷、汞、铜含量测定的方法, 并测定 6 批赤子爱胜蚓药材中铅、镉、砷、汞、铜的含量。方法 采用微波消解样品, 用石墨炉原子吸收法测定铅、镉的含量; 火焰原子吸收法测定铜的含量; 原子荧光光谱法测定砷、汞含量。结果 铅的回收率为 103.6%(RSD=6.4%), 镉的回收率在 92.0%(RSD=7.7%), 铜的回收率在 101.6%(RSD=8.1%), 砷的回收率在 94.4%(RSD=4.7%), 汞的回收率在 93.6%(RSD=5.4%)。结论 本方法操作简便、快速, 且准确度和精密度高, 适合于赤子爱胜蚓药材中铅、镉、铜、汞和砷的含量测定。

关键词: 赤子爱胜蚓; 重金属; 有害元素; 石墨炉原子吸收法; 原子荧光光谱法;

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)09-1248-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.09.007

引用本文: 张彬, 成晓英. 麸炒白术配方颗粒特征图谱及白术内酯Ⅲ含量测定研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(9): 1248-1251.

Determination of Heavy Metal and Deterious Elements in Breeding State of *Eisenia Foetida* Savigny

ZHANG Bin, CHENG Xiaoying(Shanxi Provincial Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a determination method of Pb, Cd, Cu, As and Hg in breeding state of *Eisenia foetida* Savigny, and the contents of Pb, Cd, Cu, As and Hg were quantitatively determined in 6 batches of *Eisenia foetida* savigny..

METHODS The sample was digested by microwave, the content of Pb and Cd was measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS), the content of Cu was measured by flame atomic absorption spectrometry (FAAS); the content of As and Hg was measured by atomic fluorescence spectrometry. **RESULTS** The recovery of Pb was 103.6%(RSD=6.4%), the recovery of Cd was 92.0%(RSD=7.7%), the recovery of Cu was 101.6%(RSD=8.1%), the recovery of As was 94.4%(RSD=4.7%) and the recovery of Hg was 93.6%(RSD=5.4%). **CONCLUSION** These methods are simple and rapid for operating. Moreover, the accuracy of these methods is high. Experiments show the method is suitable for the determination of the contents of Pb, Cd, Cu, As and Hg in *Eisenia foetida* Savigny.

KEY WORDS: *Eisenia foetida* Savigny; heavy metal; deterious elements; atomic absorption spectrometry; atomic fluorescence

赤子爱胜蚓为正蚓科爱胜蚓属的 *Eisenia foetida* Savigny, 俗称红蚯蚓。它是繁殖率高、适应性强的良种, 适宜人工养殖, 是目前世界上养殖最普遍的蚯蚓良种。其性咸寒, 归肝、脾、膀胱经, 具有清热定惊、通络、平喘、利尿之功效。用于高热神昏, 惊痫抽搐, 关节痹痛, 肢体麻木, 半身不遂, 肺热喘咳, 水肿尿少等症^[1-2]。赤子爱胜蚓近年来在医药上有着愈加广泛的用途, 是山西中远威药业有限公司生产的溶栓胶囊的原料药, 《山东省中药材标准》中已有收载。随着工业化大规模发展, 环境污染日益严重, 由于赤子爱胜蚓对周围环境中的重金属离子有富集作用^[3], 作为药材其重金属及有害元素的含量可能会超过允许水平, 极大地影响其药材质量及用药安全。经查阅, 仅见一篇 UV 测定赤子爱胜蚓中重金属含量的有关报道^[4]。随着近年来检验技术及检测水平的

提高, 建立原子吸收法和原子荧光光谱法测定赤子爱胜蚓中重金属及有害元素的含量, 灵敏度更高, 精确度更好, 可以更加有效地保证其药材质量与用药安全, 并且根据本研究所获得的基础数据, 动态追踪污染源, 为防治污染提供科学依据。

本研究采用梯度升温微波消解样品, 建立了用石墨炉原子吸收法测定铅(Pb)和镉(Cd), 火焰原子吸收法测定铜(Cu), 用原子荧光光谱法测定砷(As)和汞(Hg)的方法, 并测定 6 批赤子爱胜蚓药材中 Pb、Cd、Cu、As、Hg 的含量, 该测定方法快速、简便、准确、试剂消耗少、污染和损失少。

1 仪器与试剂

AA-M6-MK2 原子吸收分光光度计(美国热电); CEM MARS5 密闭微波消解系统(美国 CEM); AFS-3100 双道原子荧光光度计(北京科创海光仪器有限公司)。

作者简介: 张彬, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: (0351)2021302

E-mail: binzhang2008sx@163.com:

硝酸、硫酸、盐酸、磷酸二氢铵均为优级纯(北京化学试剂厂);所用其他试剂均为分析纯。水:二次蒸馏水。Pb、Cd、Cu、As、Hg 单元素标准溶液、国家一级标准物质对虾(批号:GBW08572)均购自国家标准物质研究中心。6 个批号的药材均来自北京绿环泰和生物科技有限公司,批号分别为 20130901,20130902,20130903,20131001,20131002,20131003。

2 方法与结果

2.1 供试品及空白对照溶液的制备

取待测样品,100℃下烘干,粉碎成粗粉,精密称取 0.5 g,置微波消解罐中,加 HNO₃ 5 mL,按操作规程安装好装置,分三步程序消解,第一步温度 120℃,保持 3 min;第二步温度 150℃,保持 3 min;第三步温度 190℃,保持 8 min。消解结束后,冷却,缓缓放气,取出内罐,置于电热板上,120℃加热约 60 min,浓缩至 1~2 mL,放冷。溶液用水转移至 25 mL 比色管中,定容,摇匀,作为供试品母液备用。同时,随行制备工作空白、对照品溶液。

2.1.1 Pb, Cd, Cu 测定液的制备 直接取母液,作为 Pb, Cd, Cu 测定液。

2.1.2 As 测定液的制备 精密量取母液 1 mL,置 10 mL 纳氏比色管中,加入 25%碘化钾溶液 1 mL,混匀,然后再加入 10%抗坏血酸溶液 1 mL,盐酸溶液(1:1)1 mL,加水稀释至刻度,摇匀,放置 1 h,作为 As 测定液。

2.1.3 Hg 测定液的制备 取供试品储备溶液,精密量取母液 1 mL,置 10 mL 纳氏比色管中,加入盐酸溶液(1:1)1 mL,加水稀释至刻度,摇匀,作为 Hg 测定液。

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 Pb 对照品溶液 取 Pb 单元素标准溶液,用 2%硝酸稀释制成每 1 mL 含 Pb 100 ng 的溶液,即得。

2.2.2 Cd 对照品溶液 取 Cd 单元素标准溶液,用 2%硝酸稀释制成每 1 mL 含 Cd 10 ng 的溶液,即得。

2.2.3 Cu 对照品溶液 取 Cu 单元素标准溶液,用 2%硝酸稀释制成每 1 mL 含 Cu 10 ng 的溶液,即得。

2.2.4 As 对照品溶液 取 As 单元素标准溶液,用 2%硝酸稀释制成每 1 mL 含 As 100 ng 的溶液,精密量取 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL,分别加入

25%碘化钾溶液 1 mL, 10%抗坏血酸溶液 1 mL,盐酸溶液(1:1)1 mL,用 2% HNO₃ 溶液定容至 100 mL,制成每 1 mL 分别含 As 0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 ng 的溶液,即得。

2.2.5 Hg 对照品溶液 取 Hg 单元素标准溶液,用 2% HNO₃ 稀释制成每 1 mL 含 Hg 10 ng 的溶液,精密量取 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL,分别加入盐酸溶液(1:1)1 mL,用 2% HNO₃ 溶液定容至 100 mL,制成每 1 mL 分别含 Hg 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ng 的溶液,即得。

2.3 测定条件

2.3.1 Pb、Cd 采用石墨炉原子吸收法,分别精密吸取空白溶液、对照品溶液及 Pb, Cd 样品测定液 10 μL,精密加含 1%磷酸二氢胺和 0.2%硝酸镁的溶液 5 μL,混匀,注入石墨管,分别测定 Pb、Cd,测定条件见表 1。

表 1 石墨炉原子化条件

Tab. 1 The condition of graphite furnace

阶段	Pb			Cd		
	温度/ ℃	时间/ s	升温速率/ ℃·s ⁻¹	温度/ ℃	时间/ s	升温速率/ ℃·s ⁻¹
干燥	120	20.0	10	120	20.0	10
灰化	900	15.0	150	850	15.0	150
原子化	1 300	3.0	0	1 300	3.0	0
清除	2 400	2.0	0	2 400	2.0	0

2.3.2 Cu 采用火焰原子吸收法,仪器自动吸取进样,分别精密吸取空白溶液、对照品溶液及 Cu 样品测定液,测定,测定条件为波长: 324.8 nm;灯电流: 5.0 mA;狭缝: 0.5 nm;燃气流量: 1.2 L·min⁻¹;燃烧器高度: 7.6 mm;雾化提升: 4 s;采用空气-乙炔火焰。

2.3.3 As 采用原子荧光法,以氩气为载气,分别精密吸取空白溶液、对照品溶液及 As 样品测定液,测定。测定条件为波长: 193.7 nm;灯电流: 60 mA;负高压: 300 V;载气流量: 400 mL·min⁻¹;屏蔽载气: 900 mL·min⁻¹。

2.3.4 Hg 采用原子荧光法,以氩气为载气,分别精密吸取空白溶液、对照品溶液及 Hg 样品测定液,测定。测定条件为波长: 253.7 nm;灯电流: 30 mA;负高压: 270 V;载气流量: 400 mL·min⁻¹;屏蔽载气: 900 mL·min⁻¹。

2.4 标准参考物质的测定结果

测定结果显示被测标准物质 Pb、Cd、Cu、As、Hg 5 种元素含量均在推荐值范围内,验证了本方

法准确度较高, 结果见表 2。

表 2 对虾标准样品的测定结果

Tab. 2 The determination result of prawn standard sample

元素	推荐值/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	测得值/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
Pb	0.298±0.01	0.297
Cd	0.023±0.002	0.021
Cu	4.66±0.12	4.68
As	1.42±0.03	1.39
Hg	0.201±0.002	0.202

2.5 标准曲线绘制

取上述 Pb、Cd 对照品溶液, 采用仪器自动稀释功能稀释为系列标准溶液, Cu、As、Hg 系列标准溶液, 分别制备标准曲线, 结果在分析浓度系列范围内, 各元素分析信号值与浓度均呈良好线性关系, 结果见表 3。

表 3 各元素标准曲线

Tab. 3 The standard cure of each element

元素	标准曲线	相关系数
Pb	$Y=0.000\ 06X^2+0.0071\ 1X+0.009\ 8$	0.998 5
Cd	$Y=0.001\ 984X^2+0.085\ 197X+0.016\ 8$	0.999 7
Cu	$Y=0.092\ 83X+0.002\ 7$	0.998 3
As	$Y=177.373X+94.030$	0.999 0
Hg	$Y=982.860X-22.713$	0.998 5

2.6 仪器精密度试验

取同一供试品溶液(批号: 20130901), 连续测定 6 次, 计算分析信号值相对标准偏差(RSD), 结果 Pb 为 1.2%, Cd 为 1.5%, Cu 为 1.3%, As 为 1.0%, Hg 为 4.6%(n 均为 6), 上述结果表明, 仪器分析精密度良好。

2.7 检出限

取各元素对照品溶液, 用 2% HNO_3 逐级稀释后, 按“2.3”项下方法测定吸收值, 以 $S/N=3$ 计算检测限, 结果 Pb、Cd、Cu、As、Hg 的检测限分别为 0.051 2, 0.017, 0.067 6, 0.016 1, 0.005 3 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, 符合对测定灵敏度的要求。

2.8 重复性试验

取同一批赤子爱胜蚓 6 份(批号: 20130901), 使用上述供试品溶液制备方法分别配制供试品溶液, 测定, 计算, Pb、Cd、Cu、As、Hg 含量分别为: 1.702 4, 0.085 12, 0.425 6, 0.021 3, 0.106 4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; RSD 分别为 2.40%, 6.15%, 3.89%, 1.70%, 2.55%; 结果表明本方法重复性良好。

2.9 回收率试验

采用加样回收法, 精密称取各品种已知含量

的同一批样品(批号: 20130901)0.5 g, 平行操作 6 份; 分别精密量取 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Pb 标准溶液、5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的隔标准溶液、25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Cu 标准溶液、5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 As 标准溶液、5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Hg 标准溶液各 1 mL, 置入 50 mL 的量瓶中, 加水定容至刻度, 配置成混合标准溶液, 各精密量取此混合标准溶液 1 mL, 分别加入到各个已称好回收率样品的消解罐中, 即得。按“2.1”项下方法消解, 即得供试品溶液, 测定, 计算各元素回收率。结果见表 4。

表 4 回收率测定结果($n=6$)

Tab. 4 Recovery of the method($n=6$)

元素	样品中 含量/ μg	加标量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
Pb	0.855 1	1.0	1.941 2	108.608 4	103.6	6.4
	0.853 2	1.0	1.823 3	97.005 7		
	0.850 9	1.0	1.950 4	109.954 0		
	0.853 1	1.0	1.951 2	109.812 7		
	0.857 3	1.0	1.812 6	95.527 1		
	0.858 7	1.0	1.867 8	100.910 9		
Cd	0.042 8	0.1	0.142 3	99.544 2	92.0	7.7
	0.042 7	0.1	0.135 7	93.037 9		
	0.042 5	0.1	0.141 4	98.857 0		
	0.042 7	0.1	0.130 4	87.746 4		
	0.042 9	0.1	0.123 6	80.733 6		
	0.042 9	0.1	0.135 2	92.265 5		
Cu	0.213 8	0.5	0.771 3	111.504 2	101.6	8.1
	0.213 3	0.5	0.734 2	104.177 9		
	0.212 7	0.5	0.685 5	94.557 0		
	0.213 3	0.5	0.692 3	95.806 4		
	0.214 3	0.5	0.678 9	92.913 6		
	0.214 7	0.5	0.766 5	110.365 5		
As	0.053 4	0.1	0.154 2	100.755 3	94.4	4.7
	0.053 3	0.1	0.151 0	97.672 3		
	0.053 2	0.1	0.148 2	95.021 3		
	0.053 3	0.1	0.146 0	92.683 0		
	0.053 6	0.1	0.145 6	92.017 0		
	0.053 7	0.1	0.142 0	88.331 8		
Hg	0.010 7	0.1	0.102 3	91.601 0	93.6	5.4
	0.010 7	0.1	0.100 5	89.824 4		
	0.010 6	0.1	0.105 6	94.954 3		
	0.010 7	0.1	0.103 3	92.626 6		
	0.010 7	0.1	0.100 3	89.573 3		
	0.010 7	0.1	0.113 9	103.156 3		

2.10 样品测定

6 批赤子爱胜蚓药材中 5 种元素的测定结果, 见表 5。

表5 赤子爱胜蚓药材中5种元素的测定结果

Tab. 5 The determination results of five elements in Eisenia foetida Savigny

序号	批号	Pb	Cd	Cu	Hg	As
1	20130901	1.702 4	0.085 12	0.425 6	0.021 3	0.106 4
2	20130902	1.246 9	0.062 34	0.311 7	0.155 9	0.077 9
3	20130903	0.904 2	0.045 21	0.226 0	0.113 0	0.056 5
4	20131001	0.490 6	0.024 53	0.122 7	0.061 3	0.030 7
5	20131002	0.855 1	0.042 76	0.213 8	0.106 9	0.053 4
6	20131003	1.790 6	0.089 53	0.447 6	0.022 4	0.111 9

3 讨论

3.1 测定结果

蚯蚓对土壤重金属元素有很强的生物富集能力,其富集量与蚯蚓的种类、重金属类型,土壤理化性质以及污染浓度有密切关系。邓继福等^[5]研究发现蚯蚓体 Cd、Pb、As 的含量与土壤中含量呈显著的正相关。由本次试验测定结果计算可以得出:6 批赤子爱胜蚓药材中,Pb 检出的平均含量为 $1.165\ 0\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;Cd 检出的平均含量为 $0.058\ 2\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;Cu 检出的平均含量为 $0.291\ 2\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;As 检出的平均含量为 $0.072\ 8\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;Hg 检出的平均含量为 $0.080\ 1\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;参考中国药典 2015 年版新增的牡蛎、珍珠、蛤壳(Pb 不得过 $5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cd 不得过 $0.3\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cu 不得过 $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,As 不得过 $2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Hg 不得过 $0.2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);昆布、海藻(Pb 不得过 $5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cd 不得过 $4\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cu 不得过 $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Hg 不得过 $0.1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);海螵蛸(Pb 不得过 $5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cd 不得过 $5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cu 不得过 $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,As 不得过 $10\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Hg 不得过 $0.2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);水蛭(Pb 不得过 $10\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Cd 不得过 $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,As 不得过 $5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,Hg 不得过 $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);蜂胶(Pb 不得过 $8\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)等 8 种动物类中 5 种元素的限度,所测值均未超过相应的规定,分析其原因可能因为样品为人工养殖环境,饲养基土所受污染较少,因而不同于自然环境中生长的个体,这一结果有待于进一步收集饲养基土样品加以验证。

3.2 样品取样量的选择

样品取样量和消化后的定容体积,需要根据国家卫生标准限量值的要求和样品消解难易的特性来确定;过大的样品量在微波炉内消解时,罐内的压力会很快上升,这时 Hg、As 蒸气会随气体一起溢出而损失,也可能造成安全事故。微波消解的样品一般取 $0.5\ \text{g}$,极易消化的样品才可取 $1.0\sim 2.0\ \text{g}$ 。

3.3 样品消解条件

微波消解程序中压力的设定应根据不同的样品类型设定不同的最大压力和持续时间,易消化的样品可设置相对低的最大压力和较短的持续时间。复杂不易消化的样品,可适当加大压力及延长时间。因 Hg、As 为易挥发性元素,温度过高时 Hg、As 容易损失。

3.4 样品消化过程

袁利杰^[6]等研究发现,样品消化过程引起的测定结果不确定度最大,其次是仪器的重复性。样品的消化在整个试验过程中至关重要,选择合适的消解程序及赶酸条件等操作可提高测定的准确性。

3.5 残留 HNO_3 和氮氧化物的去除

样品在微波炉内消化好后,溶液中必定存在有少量未反应的 HNO_3 和残余的氮氧化物,当样品溶液中有残余氮氧化物时,这对 Hg 含量的准确测定有严重影响。不去除剩余的硝酸,对定容后样品中酸度的保持一致也会产生影响。因此样品消解结束后,将消解罐放置在 $120\ ^\circ\text{C}$ 电热板(温度 $\leq 130\ ^\circ\text{C}$,否则会有损失)上赶酸,罐内溶液只剩约 $1.0\sim 2.0\ \text{mL}$ 为止,保证不完全蒸干。

3.6 基体改进剂的使用

本样品介质较复杂,会产生强烈的背景干扰,因此要尽可能多地除掉基体物质,减少基体干扰。Pb、Cd 属于低温挥发性元素,在灰化阶段易损失,加基体改进剂后,可以提高 Pb、Cd 的灰化温度,在原子化阶段分解为金属原子而不致损失,图形上反映为吸收峰形尖而窄,平行测定吸光值相对标准偏差降低,标准曲线线性相关更佳,特征浓度降低一半。同时适合 Pb、Cd 最常用的基体改进剂是磷酸二氢铵。

REFERENCES

- [1] 山东省中药材标准[S]. 2002: 115-116.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2015: 122-123.
- [3] KOU Y G, FU X Y, HOU P Q, et al. The study of lead accumulation of earthworm in lead pollution soil [J]. Environ Sci Manage(环境科学与管理), 2008, 33(1): 62-64.
- [4] SHEN N G, ZHOU L, ZHU L L, et al. Determination of heavy metals in Dilong by UV method [J]. Guangdong Trace Elem Sci(广东微量元素科学), 2005, 12(7): 48-51.
- [5] 邓继福,王振中,张友梅,等. 重金属污染对土壤动物群落生态的影响研究[J]. 环境科学, 1996, 17(2): 1-5.
- [6] YUAN L J, ZHENG Z D, SONG H M, et al. Evaluation of uncertainty for determination of As, Pb, Cd, Hg in Mylabris by ICP-MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(11): 1383-1387.

收稿日期: 2016-12-27

(本文责编:李艳芳)