

何首乌中外源性有害残留物的风险评估与其致肝毒相关性初评

王莹[#], 金红宇[#], 李耀磊, 刘荒汐, 杨建波, 辜冬琳, 左甜甜, 魏锋, 马双成^{*}
(中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要 目的: 了解何首乌饮片(包括生品和制品)中外源性有害物质的残留状况, 并对其进行风险评估, 以对外源性物质可能引起的何首乌药用安全风险进行初步评价。方法: 采用气相色谱-三重四极杆质谱联用仪和液相色谱-三重四极杆质谱联用仪检测何首乌中187种农药的残留量(包括33种禁用农药), 采用电感耦合等离子体质谱法测定5种重金属及有害元素, 以高效液相色谱-柱后光化学衍生法测定4种黄曲霉毒素; 同时采用危害指数法及暴露边界比法对何首乌中检出的有害残留物进行风险评估。结果: 53批样品中4种黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2和33种禁用农药均未检出, 检出的其他农药有多菌灵、啉虫脒及吡唑醚菌酯, 检出残留量均低于0.01 mg/kg; 重金属检测中均未检出Hg, Pb、Cd、As、Cu的检出值均低于《中华人民共和国药典》2020年版四部通则0923规定限度。通过危害指数法对何首乌中检出的农药和重金属进行风险评估, 得到风险商远小于1。结论: 何首乌中外源性有害残留所引起的药用风险很低, 尤其并未检出可致肝损伤的外源性有害指标, 初步表明何首乌肝损伤与外源性污染相关性不大。

关键词: 何首乌; 外源性有害残留物; 风险评估; 农药; 肝损伤

中图分类号: R95; R28 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)10-1134-13

doi:10.16153/j.1002-7777.2022.10.006

Risk Assessment of Exogenous Harmful Residues in *Polygonum Multiflorum* Thunb and Its Correlation with Liver Injury

Wang Ying[#], Jin Hongyu[#], Li Yaolei, Liu Yuanxi, Yang Jianbo, Gu Donglin, Zuo Tiantian, Wei Feng, Ma Shuangcheng^{*} (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To study the exogenous harmful residues and carry out risk assessment in the decoction pieces of *Polygonum multiflorum* Thunb (*P. multiflorum*) in order to preliminarily evaluate the medicinal safety risk of *P. multiflorum* caused by exogenous substances. **Methods:** The residues of 187 pesticides (including 33 banned pesticides) in *P. multiflorum* were determined by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS-MS) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Five heavy metals and harmful elements were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method, and four aflatoxins were determined by high performance liquid chromatography with column photochemical

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号 81973476)

作者简介: 王莹 Tel: (010) 53852484; E-mail: wayi_1986@163.com

共同第一作者: 金红宇 Tel: (010) 53852484; E-mail: nifdc.org.cn

通信作者: 马双成 Tel: (010) 53852076; E-mail: masc@nifdc.org.cn

derivatization. Meanwhile, the hazard index method and exposure boundary ratio method were used to evaluate the risk of harmful residues detected in *P. multiflorum*. **Results:** Aflatoxin B1, B2, G1, G2 and 33 banned pesticides were not detected in 53 batches of samples. The other detected pesticide indexes included carbendazim, acetamiprid and pyraclostrobine, and the detected residues were less than 0.01 mg/kg. Hg was not found in the heavy metal detection, and the detection values of Pb, Cd, As and Cu were lower than the limit specified in the general rules 0923 of Part IV of *Chinese Pharmacopoeia* 2020. The risk quotient of pesticides and heavy metals detected in *P. multiflorum* was far less than 1 by the hazard index method. **Conclusion:** The risk caused by exogenous harmful residues in *P. multiflorum* is low, especially the exogenous harmful indexes that can cause liver injury are not detected, indicating that there is little correlation between liver injury and exogenous pollution.

Keywords: *Polygonum multiflorum* Thunb; exogenous harmful residue; risk assessment; pesticide; liver injury

何首乌 (*Polygonum multiflorum* Thunb.) 为蓼科多年生草本植物, 块根是其主要的药用部位, 具有抗衰老、降血脂、抗癌、抗炎、促进免疫调节、保护神经等作用^[1]。何首乌作为滋补中药广泛应用于临床和保健, 但近年来有关何首乌及其制品导致肝损伤的报道不断增加, 引起社会和监管部门的重点关注^[2-4]。国家药品监督管理局 (原国家食品药品监督管理局) 于2014年正式发布公告, 提示关注口服何首乌及其成方制剂可能有引起肝损伤的风险。据报道, 何首乌引发的药物性肝损伤已经占到全部药物肝损害病例的前15位, 为全部中药肝损害病例排名第1位^[5-6]。

一般情况下, 认为中草药产品中潜在的肝毒素可能与内源性有害成分 (植物源肝毒素) 以及外源性有害成分 (非植物源肝毒素) 的存在有关^[7-9]。内源性有害成分是指由药用植物合成的潜在的肝毒性化合物, 其中大多数是为保护药用植物免受外部攻击而产生的次生代谢产物, 其中以生物碱和萜类化合物居多。中药中外源有害污染物一般包括农药残留、重金属、真菌毒素、二氧化硫、多环芳烃等^[10]。外源性有害污染物的引入, 主要是中草药在生长、加工、炮制、运输、储藏等环节上受到污染或发生变质或农药的使用。由于这些外源性有害物质本身具有肝毒性, 长期使用受污染的中草药可能导致肝损伤^[11]。故有研究指出在研究中草药致肝损伤 (Herb-induced Liver Injury, HILI) 时, 应首先对其中农药残留、重金属和微生物毒素等有害物质进行检测, 以证明此品种中草药肝毒性

存在的客观性^[12]。在关于何首乌致肝毒的报道中亦有研究人员提出应首先排除重金属、农药残留、真菌毒素污染等导致肝中毒的可能性^[13]。为探索何首乌中外源性有害残留污染情况, 本研究拟对市场收集的53批何首乌 (包括10批制品和43批生品) 中的外源性有害残留 (包括187种农药指标、重金属及黄曲霉毒素) 进行检测和风险评估, 初步对何首乌药用安全性进行评价, 以分析何首乌致肝损伤与外源性有害污染之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

从市场及种植基地共收集何首乌样品53批, 包括10批制品和43批生品, 其中编号Z1~Z10为制品, S1~S43为生品。样品经中国食品药品检定研究院中药民族药检定所杨建波副研究员鉴定, 均为正品, 见表1。

1.1.2 仪器

QP-8040气相色谱-三重四极杆串联质谱仪 (岛津公司); TQ-S Micro液相色谱-三重四极杆串联质谱仪 (Waters公司); 7700电感耦合等离子体质谱仪 (Agilent公司); 高效液相色谱仪, 配有荧光检测器 (Thermo公司); Mars 6微波消解仪 (CEM公司); Milli-Q型超纯水处理系统 (Millipore公司); KQ3200DB型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 电子分析天平 (上海越平); 离心机 (HERMBLE Z260A); 高速全自动匀浆仪 (睿科AH30)。

表1 何首乌的样品信息

编号	产地	品种	编号	产地	品种
Z1	安徽亳州市市场	制品	S18	四川宜宾	生品
Z2	安徽亳州市市场	制品	S19	四川宜宾	生品
Z3	安徽亳州市市场	制品	S20	四川宜宾	生品
Z4	安徽亳州市市场	制品	S21	四川宜宾	生品
Z5	安徽亳州市市场	制品	S22	广东高州	生品
Z6	河南禹州市市场	制品	S23	广东高州	生品
Z7	河北安国市场	制品	S24	广东高州	生品
Z8	陕西西安万寿市场	制品	S25	广东高州	生品
Z9	陕西西安万寿市场	制品	S26	广东高州	生品
Z10	广西百色	制品	S27	安徽阜阳	生品
S1	安徽亳州市市场	生品	S28	安徽阜阳	生品
S2	安徽亳州市市场	生品	S29	安徽阜阳	生品
S3	安徽亳州市市场	生品	S30	安徽阜阳	生品
S4	安徽亳州市市场	生品	S31	安徽阜阳	生品
S5	安徽亳州市市场	生品	S32	广东德庆	生品
S6	安徽亳州产地	生品	S33	广东德庆	生品
S7	安徽亳州产地	生品	S34	广东德庆	生品
S8	安徽亳州产地	生品	S35	云南文山	生品
S9	安徽亳州产地	生品	S36	云南文山	生品
S10	河北安国市场	生品	S37	云南文山	生品
S11	河南禹州市市场	生品	S38	云南文山	生品
S12	广西百色	生品	S39	云南文山	生品
S13	四川达州	生品	S40	云南曲靖	生品
S14	四川达州	生品	S41	云南曲靖	生品
S15	四川达州	生品	S42	云南曲靖	生品
S16	四川达州	生品	S43	云南曲靖	生品
S17	四川宜宾	生品			

1.1.3 试剂与耗材

免疫亲和色谱柱（华安麦科，3 mL），HLB固相萃取柱（安捷伦500 mg，6 mL），D-山梨醇（批号CAS50-70-4，美国Sigma公司）和D-核糖酸内酯（批号CAS53336-08-3，东京化成工业株式会社）。色谱纯乙腈（Thermo Fisher），色谱纯甲醇（Thermo Fisher），氯化钠、硝酸等其他试剂均为分析纯（国药集团），水为屈臣氏蒸馏水。黄曲霉

毒素混合对照品及铅镉汞铜混合对照溶液均源于中国食品药品检定研究院，禁用农药混合对照溶液源于中国食品药品检定研究院，其他农药购于中国计量科学院或Ehrenstorfer，详细清单见表2。除禁用农药外，其他农药单标储备溶液的配制为精密称取或量取农药对照品适量，用乙腈配制成浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液，并于 -20°C 密封避光保存。

表2 本研究何首乌农药多残留测定法中包括的农药品种列表

编号	农药名称	测定方法	编号	农药名称	测定方法
1	二溴氯丙烷	GC-MS/MS	114	灭蝇胺	LC-MS/MS
2	溴菌腈	GC-MS/MS	115	吡蚜酮	LC-MS/MS
3	敌敌畏	GC-MS/MS	116	甲胺磷*	LC-MS/MS
4	氯唑灵	GC-MS/MS	117	氧化乐果	LC-MS/MS
5	禾草敌	GC-MS/MS	118	涕灭威亚砷*	LC-MS/MS
6	氟乐灵	GC-MS/MS	119	霜霉威盐酸盐	LC-MS/MS
7	灭线磷*	GC-MS/MS	120	呋虫胺	LC-MS/MS
8	杀虫脒*	GC-MS/MS	121	久效磷*	LC-MS/MS
9	六氯苯	GC-MS/MS	122	涕灭威砷*	LC-MS/MS
10	甲拌磷*	GC-MS/MS	123	多菌灵	LC-MS/MS
11	α -六六六*	GC-MS/MS	124	烯效唑	LC-MS/MS
12	特丁硫磷*	GC-MS/MS	125	敌百虫	LC-MS/MS
13	五氯硝基苯	GC-MS/MS	126	杀虫脒*	LC-MS/MS
14	莠去津	GC-MS/MS	127	噻虫胺	LC-MS/MS
15	γ -六六六*	GC-MS/MS	128	3-羟基克百威*	LC-MS/MS
16	久效磷*	GC-MS/MS	129	吡虫啉	LC-MS/MS
17	啉霉胺	GC-MS/MS	130	啉虫脒	LC-MS/MS
18	氟甲腈	GC-MS/MS	131	硫环磷*	LC-MS/MS
19	草除灵	GC-MS/MS	132	啉啉磺草胺	LC-MS/MS
20	乐果	GC-MS/MS	133	霜脲氰	LC-MS/MS
21	β -六六六*	GC-MS/MS	134	咪唑乙烟酸	LC-MS/MS
22	2,4-滴丁酯	GC-MS/MS	135	苯线磷亚砷*	LC-MS/MS
23	八氯二丙醚	GC-MS/MS	136	啉啉磺隆	LC-MS/MS
24	五氯苯胺	GC-MS/MS	137	噻虫啉	LC-MS/MS
25	乙炔菌核利	GC-MS/MS	138	氟啉虫胺腈	LC-MS/MS

续表 2

编号	农药名称	测定方法	编号	农药名称	测定方法
26	乙草胺	GC-MS/MS	139	乙硫苯威	LC-MS/MS
27	异丙草胺	GC-MS/MS	140	磷胺*	LC-MS/MS
28	甲草胺	GC-MS/MS	141	涕灭威*	LC-MS/MS
29	δ -六六六*	GC-MS/MS	142	野燕枯	LC-MS/MS
30	艾氏剂*	GC-MS/MS	143	噻苯隆	LC-MS/MS
31	百菌清	GC-MS/MS	144	灭草松	LC-MS/MS
32	甲基毒死蜱	GC-MS/MS	145	噻吩磺隆	LC-MS/MS
33	敌稗	GC-MS/MS	146	西草净	LC-MS/MS
34	甲基五氯苯基硫醚	GC-MS/MS	147	苯线磷砒*	LC-MS/MS
35	甲基立枯磷	GC-MS/MS	148	甲磺隆*	LC-MS/MS
36	甲基对硫磷*	GC-MS/MS	149	醚磺隆	LC-MS/MS
37	仲丁灵	GC-MS/MS	150	硫双威	LC-MS/MS
38	甲基嘧啶磷	GC-MS/MS	151	双氟磺草胺	LC-MS/MS
39	莠灭净	GC-MS/MS	152	克百威*	LC-MS/MS
40	甲霜灵	GC-MS/MS	153	氯磺隆*	LC-MS/MS
41	异丙甲草胺	GC-MS/MS	154	砒嘧磺隆	LC-MS/MS
42	草克净	GC-MS/MS	155	胺苯磺隆*	LC-MS/MS
43	三唑酮	GC-MS/MS	156	粉唑醇	LC-MS/MS
44	禾草丹	GC-MS/MS	157	甲拌磷亚砒*	LC-MS/MS
45	氟虫腈亚砒*	GC-MS/MS	158	异丙隆	LC-MS/MS
46	杀螟硫磷	GC-MS/MS	159	异丙威	LC-MS/MS
47	马拉硫磷	GC-MS/MS	160	内吸磷*	LC-MS/MS
48	氟虫腈*	GC-MS/MS	161	苄嘧磺隆	LC-MS/MS
49	对硫磷*	GC-MS/MS	162	苯磺隆	LC-MS/MS
50	三氯杀螨醇*	GC-MS/MS	163	特丁硫磷亚砒*	LC-MS/MS
51	二甲戊灵	GC-MS/MS	164	多效唑	LC-MS/MS
52	甲基异柳磷*	GC-MS/MS	165	甲拌磷砒*	LC-MS/MS
53	倍硫磷	GC-MS/MS	166	烯酰吗啉	LC-MS/MS
54	氟节胺	GC-MS/MS	167	仲丁威	LC-MS/MS
55	异柳磷	GC-MS/MS	168	扑草净	LC-MS/MS
56	噻菌环胺	GC-MS/MS	169	吡嘧磺隆	LC-MS/MS

续表 2

编号	农药名称	测定方法	编号	农药名称	测定方法
57	水胺硫磷*	GC-MS/MS	170	乙霉威	LC-MS/MS
58	丁草胺	GC-MS/MS	171	螺虫乙酯	LC-MS/MS
59	三唑醇	GC-MS/MS	172	亚胺硫磷	LC-MS/MS
60	腐霉利	GC-MS/MS	173	苯线磷*	LC-MS/MS
61	α -硫丹*	GC-MS/MS	174	腈菌唑	LC-MS/MS
62	菌核净	GC-MS/MS	175	噻虫嗪	LC-MS/MS
63	丙草胺	GC-MS/MS	176	氟环唑	LC-MS/MS
64	氟虫腈*	GC-MS/MS	177	环酰菌胺	LC-MS/MS
65	噁草酮	GC-MS/MS	178	灭线磷*	LC-MS/MS
66	噻呋酰胺	GC-MS/MS	179	特丁硫磷砒*	LC-MS/MS
67	p,p'-滴滴伊*	GC-MS/MS	180	戊唑醇	LC-MS/MS
68	狄氏剂*	GC-MS/MS	181	除虫脲	LC-MS/MS
69	吡氟禾草灵	GC-MS/MS	182	氟硅唑	LC-MS/MS
70	乙氧氟草醚	GC-MS/MS	183	异稻瘟净	LC-MS/MS
71	氟酰胺	GC-MS/MS	184	己唑醇	LC-MS/MS
72	丙溴磷	GC-MS/MS	185	氯唑磷*	LC-MS/MS
73	o,p'-滴滴涕*	GC-MS/MS	186	戊菌唑	LC-MS/MS
74	虫螨腈	GC-MS/MS	187	咪鲜胺	LC-MS/MS
75	甲基硫环磷*	GC-MS/MS	188	敌瘟磷	LC-MS/MS
76	异狄氏剂	GC-MS/MS	189	虫酰肼	LC-MS/MS
77	烯唑醇	GC-MS/MS	190	氟霜唑	LC-MS/MS
78	除草醚*	GC-MS/MS	191	杀铃脲	LC-MS/MS
79	苯氧菌酯	GC-MS/MS	192	炔草酯	LC-MS/MS
80	p,p'-滴滴涕*	GC-MS/MS	193	十三吗啉	LC-MS/MS
81	稻瘟灵	GC-MS/MS	194	苯酰菌胺	LC-MS/MS
82	咯菌腈	GC-MS/MS	195	硫线磷*	LC-MS/MS
83	β -硫丹*	GC-MS/MS	196	氟菌唑	LC-MS/MS
84	p,p'-滴滴涕*	GC-MS/MS	197	二嗪农	LC-MS/MS
85	丙环唑	GC-MS/MS	198	吡唑醚菌酯	LC-MS/MS
86	抑食肼	GC-MS/MS	199	四螨嗪	LC-MS/MS
87	联苯菊酯	GC-MS/MS	200	蝇毒磷*	LC-MS/MS

续表 2

编号	农药名称	测定方法	编号	农药名称	测定方法
88	硫丹硫酸酯*	GC-MS/MS	201	地虫硫磷*	LC-MS/MS
89	倍硫磷亚砷	GC-MS/MS	202	治螟磷*	LC-MS/MS
90	倍硫磷砷	GC-MS/MS	203	戊菌隆	LC-MS/MS
91	三唑磷	GC-MS/MS	204	茚虫威	LC-MS/MS
92	噁霜灵	GC-MS/MS	205	甲氨基阿维菌素 苯甲酸盐	LC-MS/MS
93	溴螨酯	GC-MS/MS	206	吡丙醚	LC-MS/MS
94	甲氰菊酯	GC-MS/MS	207	噻嗪酮	LC-MS/MS
95	异菌脲	GC-MS/MS	208	毒死蜱	LC-MS/MS
96	胺菊酯	GC-MS/MS	209	氟啶脲	LC-MS/MS
97	三氟氯氰菊酯	GC-MS/MS	210	乙螨唑	LC-MS/MS
98	灭蚁灵	GC-MS/MS	211	炔螨特	LC-MS/MS
99	环嗪酮	GC-MS/MS	212	双甲脒	LC-MS/MS
100	氰氟草酯	GC-MS/MS	213	啶螨灵	LC-MS/MS
101	乙羧氟草醚	GC-MS/MS			
102	氯菊酯	GC-MS/MS			
103	精噁唑禾草灵	GC-MS/MS			
104	氟氯氰菊酯	GC-MS/MS			
105	蝇毒磷*	GC-MS/MS			
106	氯氰菊酯	GC-MS/MS			
107	醚菊酯	GC-MS/MS			
108	精喹禾灵	GC-MS/MS			
109	氰戊菊酯	GC-MS/MS			
110	啶酰菌胺	GC-MS/MS			
111	溴氰菊酯	GC-MS/MS			
112	苯醚甲环唑	GC-MS/MS			
113	啉菌酯	GC-MS/MS			

注：*为禁用农药指标。

1.2 方法

1.2.1 样品测定方法

(1) 重金属及有害元素检测：取何首乌药材，采用电感耦合等离子体质谱法，参照《中华人民共和国药典》2020年版四部通则“2321 铅、

镉、砷、汞、铜测定法第二法”对53批样品进行测定^[14]。

(2) 农药残留检测：取何首乌药材，采用GC-MS-MS法和LC-MS/MS法，参照本课题组前期建立的方法^[15-16]，对187个农药指标（213个农药单

体)进行测定。其中包括《中华人民共和国药典》2020年版四部通则“0212药材和饮片检定通则”中所包括的33种禁用农药指标。前处理步骤简单叙述,即精密称取供试品粉末5 g,置100 mL试管中,加氯化钠1 g,精密加乙腈50 mL,匀浆处理3 min,离心,分取上清液,沉淀再加乙腈40 mL,匀浆2 min,离心,合并两次提取的上清液,50℃减压浓缩至约3~5 mL,用乙腈转移并定容至25 mL量瓶中,摇匀,即得供试品溶液。

(3)黄曲霉毒素检测:取何首乌药材,参照《中华人民共和国药典》2020年版四部通则“2351真菌毒素测定法”下黄曲霉毒素测定法第一法液相色谱法对53批样品进行测定^[14],并采用第二法液相色谱-串联质谱法对结果进行验证。

1.2.2 风险评估方法

中药中有害残留物的风险评估程序与食品、农产品的风险评估方法基本一致,包括危害识别、危害特征描述、暴露评估和风险描述四个步骤。目前常用的风险评估方法包括点评估和概率评估法。近些年来随着中药中有害残留风险评估研究工作的不断深入,已初步根据中药使用特点形成了中药中有害残留风险评估方法及指导原则^[17]。本研究通过上述四个步骤,采用点评估模式对何首乌中有害残留进行分析。

(1)何首乌中农药残留风险评估

暴露评估是对风险的量化分析,也是风险评估中的核心步骤。暴露评估是指通过此类产品消费而摄入农药的量,具体计算是以检出此品种中的农药残留量值乘以此品种的摄入量。农药的暴露评估一般分为急性暴露评估和慢性暴露评估,本研究考虑何首乌服用特点,主要对其农药残留进行慢性暴露评估,且根据本课题组已建立的风险评估模式,在慢性暴露评估中考虑了中药服用频率及服用年限^[18],最终提出暴露量计算方式,见公式(1):

$$EXPc = \frac{EF \times Ed \times I \times R \times t}{AT \times bw} \quad \text{公式(1)}$$

在公式(1)中:EXPc为慢性膳食暴露量(mg/kg bw·d);EF为服用频率,中药材或饮片服用频率的P₉₅值暂定为90天/年;Ed为一生的暴露年限,中药材(饮片)累积服用年限一般不超

过20年;I为平均日消费量(kg·d⁻¹),推荐使用《中华人民共和国药典》何首乌项下日用量平均值,以何首乌生品和制品日用量的较高值代入计算,即0.009 kg;R为样品中检出此农药的平均值(mg·kg⁻¹);t为经中药提取加工后农药的转移率。因农药指标较多,目前尚未对不同中药加工方式下农药转移率进行全面研究,故基于风险最大化考虑,农药风险评估中的t均以1计算,即假设为农药全部转移至产品;AT为平均寿命天数=365天/年×70年;bw为人体体重,一般按63 kg计。

风险描述主要是指对检出农药危害发生的概率进行定性和定量的估计,最终形成风险管理的决策建议。对于有健康指导值的农药,以风险商,即暴露量与健康指导值(Reference Dose, RfD)的比值,再乘以一定安全系数(Safety Factor, SF)以评价其风险。在农残风险描述中,RfD为检出农药的每日允许摄入量(Acceptable Daily Intake, ADI),安全因子SF为100。慢性风险商(Chronic Hazard Quotient, HQc)计算方式见公式(2):

$$HQc = EXPc \times SF / RfD \quad \text{公式(2)}$$

(2)重金属风险评估方法^[19]

由于重金属及有害元素半衰期较长,在人体中积蓄,对于其暴露评估通常为慢性暴露评估。对于中药材中重金属的暴露评估,同样按照公式(1)计算其暴露量。但不同于农药转移率研究,重金属因指标相对单一,研究较为成熟。根据已有文献报道结合课题组前期研究,总结得出在水煎煮条件下,Pb、Cd、As、Hg、Cu的t值分别为14%、14%、35%、24%、14%^[17],故在本次风险评估中将其代入计算暴露量值。重金属的风险描述同样以暴露量与健康指导值的比值来表示,同公式(2)。不同于农药的风险描述,鉴于重金属为一种普遍污染物,在环境中自然背景值较高,故在已形成的指导原则中设定其安全因子为10。根据已有报道,各元素的健康指导值若按每千克体重每日允许摄入量折算,则Pb、Cd、As、Hg、Cu的RfD分别为1.3、0.8、3、0.6、500 μg/kg bw·d^[19]。

(3)黄曲霉毒素风险评估

黄曲霉毒素B1被国际癌症研究机构定义为致癌物质,其风险评估同样遵守四个基本步骤。但不同于农残和重金属,黄曲霉毒素的风险评估多采用暴露边界比法(Margin of Exposure, MoE)^[20]。此

法由对人或者动物产生很小但可测量作用的剂量与估计的人的暴露量之间的比率来表示风险程度, 见公式(3)。

$$\text{MoE} = \text{BMDL}/\text{EXP} \quad \text{公式(3)}$$

公式(3)中: BMDL为待评估化合物的基准剂量(Benchmark Dose Lower Limit, BMDL), EXP为摄入量。对于遗传毒性致癌物, 欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)认为当MoE值 >10000 时, 待评估化合物的致癌风险已经很低^[21], 不会对人体健康产生威胁; 当MoE值 ≤ 10000 时, 则待评估化合物的摄入量可能对人体健康产生威胁; 同时可以根据MoE法所得比率值来将产生类似危害的农药进行风险分级。

2 结果

2.1 农药残留测定结果及风险评估

对53批何首乌中的187种农药指标进行了筛查, 其中包括采用GC-MS/MS法测定的113个农药

单体, 以及LC-MS/MS法测定的100个农药单体。各农药定量下限在 $0.001 \sim 0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 加标回收率在 $60\% \sim 120\%$, RSD均低于 15% 。结果表明: 187个农药指标(213个农药单体)中共有3种农药检出, 分别为多菌灵、啶虫脒和吡唑醚菌酯, 其检出率分别为 5.6% 、 3.7% 和 1.9% , 残留量均低于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 具体数值见表3。

2.2 重金属测定结果

对53批何首乌样品中的5种重金属元素进行分析, Pb、Cd、As、Hg、Cu的定量下限分别为 0.05 、 0.005 、 0.03 、 0.01 、 $0.003 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 加标回收率在 $70\% \sim 110\%$, RSD均低于 10% 。结果表明: 53批样品中Hg均未检出, Pb的检出范围为 $0.05 \sim 1.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Cd的检出范围为 $0.01 \sim 0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, As的检出范围为 $0.02 \sim 0.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Cu的检出范围为 $1.02 \sim 4.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 具体数值见表3。

表3 何首乌农药及重金属测定结果

编号	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$							
	Cu	As	Cd	Hg	Pb	吡唑醚菌酯	多菌灵	啶虫脒
Z1	2.99	0.10	0.02	< 0.01	0.16	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z2	2.62	0.09	0.01	< 0.01	0.12	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z3	2.58	0.05	0.01	< 0.01	0.08	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z4	2.88	0.08	0.01	< 0.01	0.13	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z5	2.57	0.06	0.02	< 0.01	0.10	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z6	3.94	0.08	0.07	< 0.01	0.22	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z7	2.46	0.11	0.11	< 0.01	0.33	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z8	2.61	0.06	0.01	< 0.01	0.10	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z9	1.73	0.36	0.30	< 0.01	0.37	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
Z10	3.15	0.11	0.05	< 0.01	0.75	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S1	1.02	0.06	0.04	< 0.01	0.05	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S2	1.14	0.05	0.02	< 0.01	0.11	< 0.001	0.001	< 0.0005
S3	2.28	0.06	0.01	< 0.01	0.23	< 0.001	0.001	< 0.0005
S4	2.05	0.04	0.04	< 0.01	0.05	< 0.001	0.001	< 0.0005
S5	2.13	0.08	0.01	< 0.01	0.11	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005

续表 3

编号	Cu	As	Cd	Hg	Pb	吡唑醚菌酯	多菌灵	啶虫脒
S6	1.83	0.07	0.09	< 0.01	0.08	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S7	2.65	0.06	0.03	< 0.01	0.06	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S8	2.89	0.05	0.04	< 0.01	0.12	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S9	1.59	0.04	0.05	< 0.01	0.19	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S10	4.41	0.13	0.03	< 0.01	0.23	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S11	3.92	0.20	0.02	< 0.01	0.41	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S12	3.17	0.05	0.01	< 0.01	0.10	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S13	2.21	0.10	0.05	< 0.01	0.19	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S14	2.38	0.04	0.05	< 0.01	0.39	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S15	1.05	0.05	0.10	< 0.01	0.08	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S16	2.28	0.06	0.10	< 0.01	0.11	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S17	1.23	0.07	0.10	< 0.01	0.23	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S18	1.06	0.10	0.08	< 0.01	0.06	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S19	1.55	0.05	0.12	< 0.01	0.12	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S20	1.02	0.04	0.15	< 0.01	0.15	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S21	1.45	0.03	0.06	< 0.01	0.17	< 0.001	< 0.0005	0.001
S22	1.58	0.02	0.01	< 0.01	0.08	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S23	1.87	0.04	0.02	< 0.01	0.16	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S24	2.05	0.07	0.03	< 0.01	0.21	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S25	1.98	0.08	0.04	< 0.01	0.25	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S26	2.45	0.03	0.02	< 0.01	0.28	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S27	3.12	0.05	0.04	< 0.01	0.31	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S28	3.32	0.14	0.03	< 0.01	0.23	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S29	2.08	0.03	0.05	< 0.01	0.19	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S30	2.32	0.04	0.02	< 0.01	0.17	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S31	2.56	0.18	0.02	< 0.01	0.34	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S32	1.85	0.12	0.01	< 0.01	0.25	0.0096	< 0.0005	< 0.0005

续表 3

编号	Cu	As	Cd	Hg	Pb	吡啶醚菌酯	多菌灵	啶虫脒
S33	2.47	0.15	0.04	< 0.01	0.42	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S34	2.98	0.15	0.19	< 0.01	1.36	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S35	3.02	0.20	0.02	< 0.01	0.32	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S36	2.20	0.09	0.03	< 0.01	0.26	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S37	2.43	0.24	0.03	< 0.01	0.47	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S38	1.74	0.12	0.02	< 0.01	0.36	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S39	1.61	0.05	0.03	< 0.01	0.28	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S40	1.29	0.08	0.01	< 0.01	0.31	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S41	2.34	0.05	0.07	< 0.01	0.08	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S42	2.63	0.25	0.01	< 0.01	0.35	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005
S43	1.71	0.06	0.02	< 0.01	0.13	< 0.001	< 0.0005	0.003

2.3 黄曲霉毒素测定结果

黄曲霉毒素测定方法学结果显示：4种黄曲霉毒素的回收率为82.3%~105.5%，RSD均低于7.2%，4种黄曲霉毒素检出下限均为0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。采用HPLC法对53批样品中4种黄曲霉毒素进行测定，并采用HPLC-MS/MS法对疑似检出样品进行验证，结果表明何首乌生品和制品中均未检出黄曲霉毒素。

3 讨论

3.1 何首乌中农药残留风险分析

根据样品测定结果，53批样品中33种禁用农药均未检出，检出的其他农药包括吡啶醚菌酯、多菌灵和啶虫脒。鉴于现行中药相关标准尚未建立此类常用的限度值，故参考了《食品中农药最大残留限量 GB 2763-2021》标准对检出农药是否超标进行判断^[22]。根据食品中农药最大残留量标准规定，吡啶醚菌酯的最大残留限量（Maximum Residue Limits, MRL）范围为0.02（马铃薯）~30（芹菜） $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，其中对药用植物人参的规定为0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；多菌灵的MRL范围为0.02（豌豆）~20（干辣椒） $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，其中药用植物三七块根和须根的MRL值为1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；啶虫脒的MRL范围为

0.02（玉米）~10（茶叶） $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，其中药用植物百合的MRL值为0.05 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。参考此限度值，则53批样品均未出现农药超标现象。同时，根据“1.2.2”项中风险评估方法对农药产生的风险进行分析，结果得出吡啶醚菌酯、多菌灵和啶虫脒的慢性风险商分别为0.00004、0.00002、0.000008，均远低于1，即初步认为通过服用何首乌药材摄入农药的健康风险很低。

3.2 何首乌中重金属风险分析

重金属限度检查参考《中华人民共和国药典》2020年版“9302 中药有害残留物限量制定指导原则”，此原则制定了植物类药材及饮片的重金属及有害元素一致性限度指导值，分别为铅不得过5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，镉不得过1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，砷不得过2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，汞不得过0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，铜不得过20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。根据上述规定，53批何首乌则均未出现重金属超标现象。同时，根据风险评估结果也表明，Pb、Cd、As、Hg、Cu的风险商分别为0.0025、0.0021、0.0004、0.0004、0.00006，均远远低于1，初步认为不造成健康风险。

3.3 外源性有害污染与肝损伤相关性分析

一般认为外源性有害残留包括农药残留、重

金属及有害元素、黄曲霉毒素、二氧化硫、多环芳烃及多氯联苯等。中药中的外源性有害物质主要来源于土壤、水、大气等环境污染,以及种植、加工过程中人为引入的有害物质,外源性有害物质是影响药材安全性的主要因素之一。本研究在对何首乌进行有害残留检测时,鉴于何首乌致肝损伤已有报道,重点关注了可能会引起肝损伤的指标。如一般认为黄曲霉毒素有严重的肝损伤,尤其是黄曲霉毒素B₁的毒性是氰化钾的10倍,砒霜的68倍,1993年被世界卫生组织国际癌症研究机构列为I类致癌物质。当人体摄入量较大时,可引起急性中毒,出现急性肝炎、出血性坏死等^[23]。而重金属及有害元素能损害动物肝脏、肾脏、脾、骨骼、胃肠道、生殖系统等^[24],有研究通过建立Cd暴露的肝损伤模型,发现随着镉暴露时间的增长,小鼠肝脏组织出现严重的坏死及气球样变,同时镉暴露与肝癌的发生密切相关^[25]。在农药指标方面,除了高毒的禁用农药指标外,部分农药如有机磷类可引起明显的肝损伤,其在肝脏进行生物转化,代谢产物常会进一步加重肝细胞的损伤,进而引起肝功能障碍^[26]。口服有机磷农药经胃肠道吸收,由于肝系门静脉循环的参与,加之肝、肠循环的存在,致使肝损害更为明显^[27]。

本研究通过对市场收集的53批何首乌样品(包括11批制品和43批生品)中的187个农药指标、4种黄曲霉毒素以及5种重金属元素进行检测,同时采用危害指数法和暴露边界比法对检出的有害残留物进行风险评估。测定数据表明何首乌中的外源性有害残留量较低,均符合现行标准限度规定;风险评估结果显示何首乌中外源性有害物质所产生的健康风险值很低。最终初步得出结论:认为何首乌中的外源性有害物质不是导致其肝脏毒性的主要因素。

参考文献:

- [1] 辜冬琳,王莹,杨建波,等.何首乌多糖的提取分离与结构分析研究进展[J].中国药事,2021,35(10):1166-1172.
- [2] 李妍怡,张玉杰,汪祺,等.基于产地和炮制工艺探讨何首乌化学成分变化[J].中国药物警戒,2022,19(7):799-802.
- [3] 于瑞丽,门伟婕,周昆,等.何首乌毒性物质基础

及肝毒性机制研究进展[J].中国药物警戒,2019,16(8):496-503.

- [4] 朱云,刘树红,王伽伯,等.何首乌及其制剂导致药物性肝损伤的临床分析[J].中国中西医结合杂志,2015,35(12):1442-1447.
- [5] 肖秀英,张弋.169例中草药致药物性肝损伤的文献分析[J].时珍国医国药,2017,28(4):1022-1024.
- [6] 葛斐林,郭玉明,曹俊岭,等.中药药源性肝损伤评价方法及风险因素研究进展[J].中国现代中药,2019,21(3):284-290.
- [7] Quan NV, Dang XT, Teschke R. Potential Hepatotoxins Found in Herbal Medicinal Products: A Systematic Review[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(14): 1-18.
- [8] 马双成,王莹,魏锋.中药质量控制未来发展方向思考[J].中国药学杂志,2021,56(16):1273-1281.
- [9] 马双成,金红宇,刘丽娜,等.中药中外源性有害物质残留风险控制初探[J].中国药学杂志,2015,50(2):99-103.
- [10] Steinhoff B. Challenges in the Quality of Herbal Medicinal Products with a Specific Focus on Contaminants[J]. Phytochemical Analysis, 2021, 32(2): 117-123.
- [11] Efferth T, Kaina B. Toxicities by Herbal Medicines with Emphasis to Traditional Chinese Medicine[J]. Curr Arug Jetab, 2011, 12(10): 989-996.
- [12] 肖小河,郭玉明,王伽伯,等.中草药相关肝损伤的科学评价与防控-以何首乌为例[J].中西医结合肝病杂志,2021,31(3):193-196.
- [13] 郭玉明,王伽伯,朱云,等.《中草药相关肝损伤临床诊疗指南》诊疗策略解读[J].中草药,2016,47(20):3551-3559.
- [14] 中华人民共和国药典:四部[S].2020.
- [15] 王莹,刘莞汐,范晶,等.GC-MS/MS法测定何首乌中100种农药多残留[J].中国现代中药,2022,doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220129004.
- [16] 王赵,金红宇,李耀磊,等.金银花配方颗粒中农药多残留筛查研究[J].中国中药杂志,2019,44(15):3287-3296.
- [17] 左甜甜,王莹,张磊,等.中药中外源性有害残留物安全风险评估技术指导原则[J].药物分析杂志,2019,39(10):1902-1907.
- [18] 王莹,张磊,左甜甜,等.中药中农药残留风险评估指导原则的形成及其研究思路[J].中国药物警戒,

- 2021, 18 (7): 645-648.
- [19] 聂黎行, 陈佳, 张烨, 等. 板蓝根中外源性有害残留的全面检查及风险评估[J/OL]. 中国药物警戒, 2021, <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5219.R.20210818.1740.008.html>.
- [20] EFSA Scientific Committee. Scientific Opinion on the Applicability of the Margin of Exposure Approach for the Safety Assessment of Impurities Which Are Both Genotoxic and Carcinogenic in Substances Added to Food/Feed[J]. EFSA Journal, 2012, 10 (3): 2578, 66.
- [21] 许莉, 黄晓婧, 罗霄, 等. 使君子中22种真菌毒素UHPLC-MS/MS同步检测与风险评估[J]. 时珍国医国药, 2021, 32 (4): 984-987.
- [22] 国家卫生和计划生育委员会, 农业部. GB2763-2021 食品中农药最大残留限量[S]. 2021.
- [23] Rushing BR, Selim MI. Aflatoxin B1: A Review on Metabolism, Toxicity, Occurrence in Food, Occupational Exposure, and Detoxification Methods[J]. Food and Chemical Toxicology, 2019, 124: 81.
- [24] 谢黎虹, 许梓荣. 重金属镉对动物及人类的毒性研究进展[J]. 浙江农业学报, 2003, 15 (6): 376-381.
- [25] 刘红双, 李亚兰, 孔靖玮, 等. 慈姑多糖调节Nrf2/HO-1改善多种重金属所致肝损伤的体内外实验研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47 (7): 1913-1920.
- [26] 李军尧, 刘利波, 李力军. 急性有机磷农药中毒患者外周血C反应蛋白IL-18水平与肝损伤的相关性[J]. 安徽医学, 2017, 38 (8): 1008-1011.
- [27] 郭晋平, 李勇, 桑珍珍. 脂肪乳用于急性重度有机磷农药中毒所致肝损伤的疗效分析[J]. 临床急诊杂志, 2015, 16 (5): 358-361.

(收稿日期 2022年3月30日 编辑 王雅雯)