

金银花中镉元素残留量测定能力验证研究

李耀磊, 金红宇*, 王丹丹, 赵萌, 高晓明, 项新华, 马双成* (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 评价参与能力验证实验室的镉元素残留量测定能力, 提高残留检测质量水平。方法: 根据CNAS相关文件要求, 对制备的能力验证用金银花样品进行均匀性和稳定性检验, 以参加实验室检测结果的中位值为指定值, 采用实验室的检测结果与指定值的百分相对差(D)对能力验证结果进行统计分析, 评价标准: $|D| \leq 16\%$, 评价结果为“满意”; $|D| > 16\%$, 评价结果为“不满意”。结果: 在252家参加实验室中, 有249家实验室按要求提交有效数据, 满意率为94.4%, 不满意率为5.6%。结论: 大多数参加实验室对标准的执行能力和质量保障体系均比较良好。根据收集到的信息, 对于产生偏离的原因, 从总体上对共性问题进行技术分析, 并给出相关的技术建议, 有助于提升参加实验室的检验能力。

关键词: 能力验证; 金银花; 镉; 电感耦合等离子体质谱法; 原子吸收法; 微波消解; 指定值

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2019)05-0568-07

doi:10.16153/j.1002-7777.2019.05.011

Study on Proficiency Testing of Determination Cadmium Residues in Honeysuckle

Li Yaolei, Jin Hongyu*, Wang Dandan, Zhao Meng, Gao Xiaoming, Xiang Xinhua, Ma Shuangcheng* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To evaluate the capacity of laboratories participated in the proficiency testing of determination Cadmium residues and improve the quality of residual testing. **Methods:** According to the requirements of CNAS related documents, the homogeneity and stability of the prepared honeysuckle samples for proficiency testing were evaluated. The median value of the test results of the laboratories participated in the proficiency testing was used as assigned value. Statistical analysis was carried out on the results of the proficiency testing using the relative difference between the test results of the laboratory and the assigned values (D). Evaluation criteria: if $|D| \leq 16\%$, the result was satisfactory; if $|D| > 16\%$, the result was unsatisfactory. **Results:** Of the 252 laboratories participated in the proficiency testing, 249 submitted valid data as required, with a satisfaction rate of 94.4% and an unsatisfactory rate of 5.6%. **Conclusion:** Most laboratories participated in the proficiency testing have a good performance and quality assurance system. According to the information collected, a technical analysis in general was carried out to find out the reasons for the deviation, hence relevant technical suggestions were given to help improve the testing ability of the laboratories

Keywords: proficiency testing; honeysuckle; cadmium; ICP-MS; AAS; microwave digestion; assigned value

基金项目: 国家十二五“重大新药创制”课题“中药质量安全检测和风险控制技术平台”(2014ZX09304307-002)

作者简介: 李耀磊; 研究方向: 中药及天然药物外源性有害残留物质分析; Tel: (010) 67095424; E-mail: 13161394594@163.com

通信作者: 金红宇, 主任药师; Tel: (010) 67095994; E-mail: jhyu@nifdc.org.cn

马双成, 研究员; Tel: (010) 67095272; E-mail: masc@nifdc.org.cn

能力验证 (proficiency testing, PT) 是指利用实验室间比对, 按照预先制定的准则评价参加者的能力^[1-2]。近年来, 随着CNAS对药品分析领域能力验证活动越来越多的关注, 重金属及有害元素残留分析作为保证中药质量安全的重要检测项目, 显得尤为重要。重金属及有害元素为公认的环境污染物, 是影响食品药品安全性的主要因素之一^[3-4]。镉为已知的肯定致癌物, 也是毒性最强的重金属元素之一^[5-6]。为了增加残留检测实验室间的技术交流, 提高检测质量水平, 按照实验室认可和实验室资质认可的有关要求, 中国食品药品检定研究院组织实施NIFDC-PT-141金银花中镉元素残留量测定能力验证计划, 该计划作为日常监督检查的辅助手段, 旨在有效提升实验室的检测能力, 促使参加实验室保持有效准确的检测结果, 同时帮助部分实验室及时发现自身的不足并加以改进。

金银花为常用中药, 也是药食两用品种, 由于种植过程中的环境影响, 有可能造成重金属超标, 在食品和药品方面均需对其重金属及有害元素残留进行评估, 对其安全性控制具有重要意义。《中国药典》自2010年版开始, 在金银花项下规定“重金属及有害元素”检查项^[7], 其中镉限量为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。目前, 《中国药典》品种检查项下重金属及有害元素以植物药居多, 因此金银花样品基质具有代表性, 可作为考察样品前处理过程中遇到问题时的解决手段 (如预消解等); 此外, 金银花样品易得到, 并且粉末流动性好, 吸湿性差, 由此可以得到均匀的PT样品。

NIFDC-PT-141计划是依据ISO/IEC 17043:2010《合格评定能力验证的通用要求》运作实施的能力验证计划, 主要提供全国相关实验室参加药品检测能力验证的机会, 面向各级食品药品检验机构、相关药品生产企业和第三方实验室等, 参加者自愿报名。本研究主要对NIFDC-PT-141能力验证样品前处理及检测方法、测定结果等方面进行整合, 根据收集到的信息, 对于产生偏离的原因, 从总体上对共性问题进行技术分析, 并给出相关的技术建议, 以便参加者正确认识检验过程中存在的问题, 提升检验能力。

1 方法

1.1 PT样品制备

本次能力验证计划采用单水平设计, 向每个

参加实验室发放1个目标样品。取金银花药材, 粉碎, 过四号筛, 以固相匀质机混合2小时, 使其均匀, 得到黄绿色的粉末。采用聚乙烯小瓶包装, 每瓶样品装量约为50 g, 常温储藏。按照预定的编码顺序进行编码和张贴标签。

1.2 PT样品均匀性和稳定性检验

1.2.1 均匀性检验

随机抽取本次能力验证样品15瓶, 按照《中国药典》2015年版一部“金银花”项下“重金属及有害元素”项规定的方法进行测定, 每瓶样品在重复条件下测定3次。采用单因素方差 (F检验法) 进行分析, $F < \text{自由度为}(f_1, f_2)\text{及显著性水平}\alpha = 0.05\text{的临界值}F_{\alpha}(f_1, f_2)$, 表明样品之间无显著性差异, 样品是均匀的。

1.2.2 稳定性检验

随机抽取包装箱内的样品4瓶, 按照《中国药典》2015年版一部“金银花”项下“重金属及有害元素”项规定的方法进行测定, 分别于0、1、2、3、8月进行测定。采用t检验评价样品分别在第1、2、3、8月与第0月测定结果的一致性, 当 $t < t_{0.05}$ (自由度)时, 表明样品稳定。

1.3 检测方法

NIFDC-PT-141能力验证试验考虑到各实验室仪器配备及检验能力的差异, 没有规定统一的检测方法。推荐各实验室按照《中国药典》2015年版一部“金银花”项下“重金属及有害元素”项规定的方法对样品进行检测, 也可采用其他经过验证的包含原子吸收分光光度法、电感耦合等离子体质谱法的方法进行检测。但是试剂盒、X射线荧光等快检方法获得的测试结果不予采纳。

1.4 统计分析方法

按照《能力验证的选择核查与利用指南》(CNAS-GL40)和《能力验证结果的统计处理和评价指南》(CNAS-GL02)等文件的要求^[8-10], 本次能力验证取参加实验室检测结果的中位值为指定值, 采用实验室的检测结果与指定值的百分相对差为本次能力验证结果统计分析方法, 计算公式如下:

$$D = \frac{x - X}{X} \times 100\%$$

公式中x为参加实验室的测定值; X为指定

值,得到的百分相对差D应符合预定要求。

1.5 评价原则

参照《中国药典》2015年版四部通则9101指导原则中对重现性数据的要求,确定本次能力验证结果判定原则为: $IDI \leq 16\%$, 评价结果为“满意”; $IDI > 16\%$, 评价结果为“不满意”。

2 结果与分析

2.1 均匀性检验结果

按照单因素方差分析方法^[11],采用Excel表格将均匀性测定结果进行计算,结果见表1, F值等于1.18, 小于显著性水平 $\alpha = 0.05$ 的临界值2.03, 表明样品瓶间与瓶内之间无显著性差异, 样品是均匀的。

表1 均匀性检验结果

| 差异源 | SS | df | MS | F | F crit |
|-----|--------|----|----------|------|--------|
| 组间 | 0.0013 | 14 | 8.94E-05 | 1.18 | 2.03 |
| 组内 | 0.0023 | 30 | 7.59E-05 | | |
| 总计 | 0.0035 | 44 | | | |

2.2 稳定性检验结果

按照 *t* 检验分析方法^[11], 采用Excel表格将稳定性测定结果进行计算, 样品分别在第1、2、3、8

月与第0月测定结果的 *t* 值分别为0.09、1.84、0.34、0.34, 均小于 $t_{0.05(44)} = 2.02$, 检验结果趋势见图1, 结果表明本品在8个月内稳定。

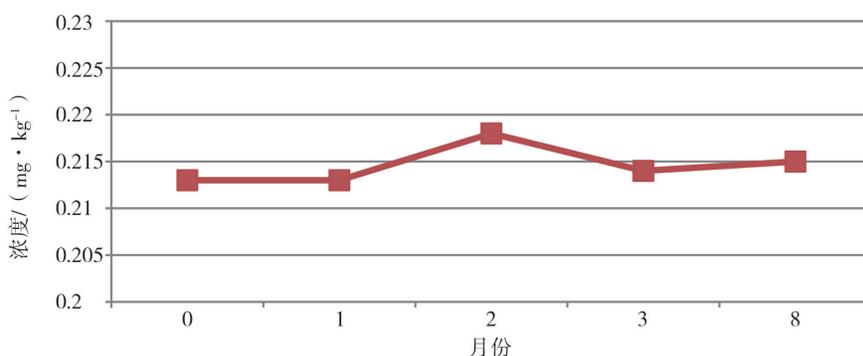


图1 稳定性检验结果

2.3 参加实验室情况

参加本次能力验证的实验室共有252家, 分布于全国除港、澳、台外的31个省(自治区)、直辖市, 主要包括各级食品药品检验机构、医疗器械检验所、药品生产企业及其他科研单位和实验室。其中各级食品药品检验机构和医疗器械检验所185家(占总参加实验室的73%); 企业QC实验室19家(占总参加实验室的8%); 其他科研单位和实验室48家(占总参加实验室的19%)。

2.4 能力验证结果

在252家参加实验室中, 有249家实验室按要求提交了结果报告, 经统计分析, 本次能力验证检

测结果不成正态分布, 中位值为0.214 mg · kg⁻¹。根据评价原则, 其中237家实验室的检测结果为“满意”($IDI \leq 16\%$); 结果为“不满意”($IDI > 16\%$)的实验室为12家, 其中地市(县区)级食品药品检验机构6家, 分别位于黑龙江、辽宁、甘肃、云南、山西和山东, 药品生产和检验检测企业及第三方检测机构6家。另外, 根据作业指导书要求, 对于没有上报能力验证结果的2家实验室, 评价结果均为“不满意”; 1家实验室申请退出, 不做评价。图2为参加实验室百分相对差面积图, 总体来看, 满意率为94.4%, 不满意率为5.6%。

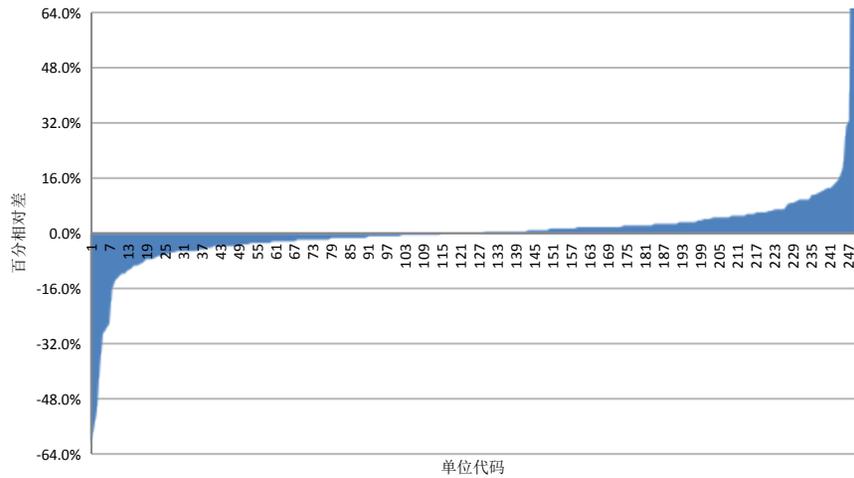


图2 百分相对差面积图

2.5 技术分析

2.5.1 镉元素对照品差异分析

本次能力验证实验没有向参加单位统一提供标准品。目前，中国食品药品检定研究院已开始发放铅镉砷汞铜混合标准品溶液，由统计结果可知，各实验室标准物质主要来源于中国计量科学研究院、国家有色金属及电子材料分析试剂中心、国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院等单位，也有部分

标准品购自国外公司。具体信息见表2。不同来源的标准物质，对测定结果没有表现出明显差异，但从各单位提供的原始记录中反映出如下问题应引起注意：①建议首选合法的标准物质；②所选用的标准物质应在效期以内， $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下浓度对照溶液必须临用新配；③残留检测中，一般均须使用标准物质贮备溶液，多数检验记录中缺乏贮备溶液的配制日期及保存条件等信息。

表 2 镉元素对照品信息

| 序号 | 镉对照品发放单位 | 实验室数 | 序号 | 镉对照品发放单位 | 实验室数 |
|----|-------------------|------|----|--------------------|------|
| 1 | 国家有色金属及电子材料分析试剂中心 | 100 | 12 | 环境保护部标准样品研究所 | 5 |
| 2 | 国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院 | 14 | 13 | 美国 inorganic | 1 |
| 3 | 中国计量科学研究院 | 85 | 14 | 美国 IV | 3 |
| 4 | 中国食品药品检定研究院 | 1 | 15 | 美国 O2Si | 4 |
| 5 | 北京坛墨质检科技有限公司 | 5 | 16 | Inorganic Ventures | 1 |
| 6 | 地球物理地球化学勘查研究所 | 7 | 17 | 上海市计量测试技术研究院 | 1 |
| 7 | 钢铁研究总院分析测试研究所 | 2 | 18 | 北京北方伟业计量技术研究院 | 2 |
| 8 | 国防科工委化学计量一级站 | 1 | 19 | 北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司 | 3 |
| 9 | 国家标准物质研究中心 | 8 | 20 | Agilent | 2 |
| 10 | AccuStandard | 1 | 21 | PerkinElmer | 1 |
| 11 | 国家环境部标准物质中心 | 1 | 22 | smart solutions | 1 |

2.5.2 检测方法及使用标准

从结果报告的原始记录中统计,本次能力验证试验检测方法涉及原子吸收法(AAS)和电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS),统计结果见图3。本次能力验证参加单位采用的标准经统计,主要涉

及3个标准:《中国药典》2015年版一部、国标食品方法GB 5009.15-2014、香港中成药注册安全性资料技术指引,统计结果见图4。另外,两种检测方法中涉及的不满意实验室数量统计见图5。

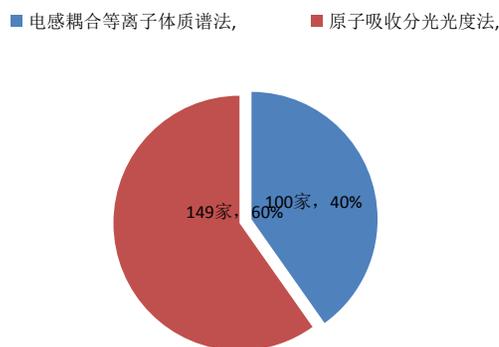


图3 检测方法

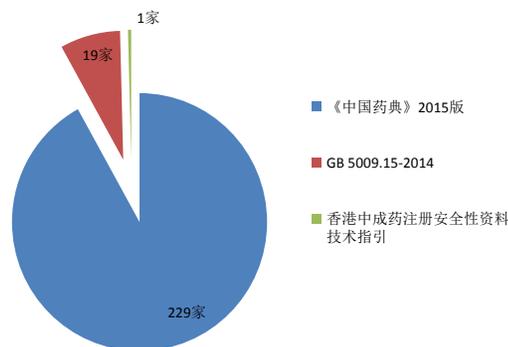


图4 检验标准

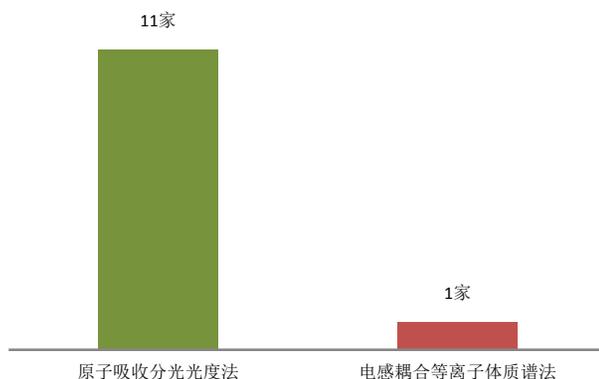


图5 不满意实验室数量

对上述统计结果分析如下:

1) 检测方法的选择。参加单位中,其中使用AAS法149家,占上报结果实验室的60%;使用ICP-MS法100家,占上报结果实验室的40%。从统计中可见,AAS法仍被绝大多数单位采用,为目前药品检验行业进行重金属及有害元素残留检测的主要方法。

2) 检测标准的选择。参加单位中,其中有229家单位采用《中国药典》2015年版一部标准,19家单位采用GB 5009.15-2014标准,1家单位采用香港中成药注册安全性资料技术指引。因金银花属于药食两用品种,采用食品和药品检测方法均可,

由参加者反馈的结果报告可以看出,3个标准方法差异并不大。

3) 不同方法能力验证试验结果比较。采用ICP-MS法的实验室中,有1家实验室结果不满意,占ICP-MS法的实验室1%;采用AAS法的实验室中,有11家实验室数据不满意,占AAS法的实验室7%。上述数据表明,采用ICP-MS法的实验室结果不满意率较低,而采用AAS法的实验室结果不满意率相对较高,从技术角度分析,由于检测原理不同,两种方法对环境的要求也不一样,在检测过程中不同检验人员的操作存在一定的偏差。

4) 不同方法能力验证数据比较。对镉元素测

定所有报送结果,按照不同分析方法分别统计平均值及相对标准偏差,统计后的平均值均为 $0.215 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,偏差为 0.001% ,结果表明镉元素检测结果平均值没有明显差异,误差也较小。

上述分析表明AAS、ICP-MS法均是中药中重金属和有害元素残留测定可供选择的方法,方法的差异对结果离散的作用较小。AAS法为经典方法,适用性广,检测成本适中,为多数实验室所采用。ICP-MS法为目前元素分析领域最先进的方法,具有多元素同时测定高效率、高灵敏度的特点。

5) 检测条件的优化。本次能力验证试验中,经检查原始记录表明,一些实验室采用的测定条件简单套用仪器推荐条件,缺乏系统优化,整个试验

过程中缺乏分析质量保证体系。这些问题提示我们先进的仪器只是必要的检测基础,专业人员的培养和科学合理的操作规程、质控体系更应成为残留分析获得满意结果的关键。

2.5.3 样品的前处理

重金属与有害元素检测中,样品需进行酸消解处理,破坏基质,使待测元素游离,并减少测定时的背景干扰。消解方式主要包括微波消解、干法消解、湿法消解等。约95%的参加单位选择了微波消解方式进行样品处理,另有9家单位采用湿法消解,还有3家单位采用了干法消解,详见图6。微波消解具有高效率、空白干扰低、待测元素损失少,回收率高的特点,《中国药典》将其列为第一法。

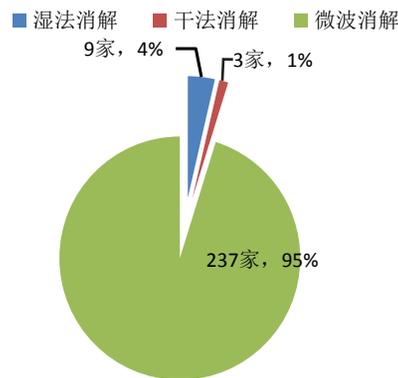


图6 样品前处理方法使用统计

微波消解法中,一般消解温度为最主要的参数,通常设定2~3个温度水平,各消解3~10分钟。不同品牌的微波消解仪,功率不同,控温方式也有差异;针对不同的中药样品,消解程序可能也有不同,因此难以给出一致的最佳消解程序,需各单位在实际工作中积累经验,试验后设定。消解用酸的选择是影响消解效果的另一个重要因素,多数单位采用单一的硝酸作为消解用酸,针对金银花样品,硝酸可以满足消解要求,但其他较难消解的中药样品,可能需要采用硝酸-盐酸、硝酸-高氯酸、硝酸-过氧化氢等体系,提高消解能力。当消解中采用硝酸-高氯酸、硝酸-过氧化氢等体系时,由于氧化能力大幅增强,建议采用预消化等方式,避免由于剧烈反应造成的安全隐患。

消解后的样品,通常需要赶酸。赶酸温度一般不得高于 130°C ,否则易挥发的元素可能有损失。赶酸至少应至红棕色蒸气挥尽,采用AAS作为

检测方法时,赶酸应尽可能完全,否则供试品溶液中高浓度的硝酸可能是测定中背景干扰的重要来源。供试品经过消解、赶酸、以水稀释定容后,应为无色或浅黄绿色澄明溶液,颜色较深或有混浊情况,通常代表着样品消解不完全,可能对测定结果带来无法预计的影响。

湿法消解与干法消解也是破坏植物药材有机基体的有效手段,是较常用的两种消化方式。两种方法也有优缺点,湿法消解在于适用性强、样品取样量可以较大,挥发损失或附着损失较小,其缺点是试剂用量大,空白值往往较高,处理所需时间较长;干法消解能取较大量的样品供测试,方法简便,试剂污染小,空白值低,其不足之处是较高的灰化温度容易造成挥发性元素的损失,使测定结果偏低^[12]。

2.5.4 分析过程的质量控制

重金属及有害元素残留分析属于痕量分析范

畴,由于待测成分通常处于极低含量水平,试剂、水、环境等对测定可能产生难以预计的影响,系统误差及偶然误差都不能忽视。残留分析区别于常规的常量分析、微量分析的最重要一点是在整个分析过程中,必须随行分析质量控制程序,以保证结果的可靠^[13]。在重金属及有害元素残留分析中,这些程序主要包括:线性范围与校准曲线、随行回收(或随行工作对照)、空白对照、检测限与报告限、分析误差允许范围、结果报告格式等。

对本次能力验证试验各实验室采取的分析质量控制措施进行了初步统计。所有参加实验室均制备并测定了随行空白,有部分实验室采用杨树叶、茶叶等标准物质作为随行工作对照,部分实验室进行了随行回收试验,大部分实验室同时进行了随行工作对照和随行回收试验。目前,在我国,中国计量科学研究院可提供多种一级标准物质作为元素分析用工作对照物,主要有杨树叶、茶叶、灌木叶、黄芪、人参等^[14]。对工作对照物进行分析是一种简便、有效的质量控制方法。

欧盟及美国等发达国家,对残留分析都有严格而细致的技术要求,对残留分析过程进行严格质量控制,是保证结果准确可靠的关键措施,也是世界各国残留分析工作者通过多年工作经验积累达成的共识。中国食品药品检定研究院已发布了《中药中有害物质痕量残留检测分析质量控制指导原则》,可供残留检测分析工作者参考。

3 结论

中药中的外源性有害残留物严重影响药用安全,以《中国药典》为代表的药品标准对有害残留物的规定日益严格,我国的检测工作相对而言处于逐步发展阶段。重金属有害元素残留检测是一个逐渐认识的过程,本次能力验证反映出近几年来药检系统各实验室对重金属及有害元素残留检测工作都高度重视,在硬件建设方面和质量管理方面已有了巨大投入,在省级、口岸所层面普遍具备了相应检验条件,药典标准的执行能力和质量保障体系均比较满意。在参加能力验证并上报结果的249家实验室中,所有检测结果均为满意的实验室共237家,占全部参加能力验证实验室数量的94.4%。但从本

次能力验证所反馈的信息上看,也有部分单位在人员培训、技术操作和结果分析、质量保证体系等方面存在一些薄弱环节,对这些单位在残留检测方面的检验能力建设我们将继续关注。

参考文献:

- [1] CNAS-RL02:2010 能力验证规则[S]. 2010: 5.
- [2] ISO/IEC 17043:2010 能力验证提供者认可准则[S]. 2010: 3.
- [3] 王桂安,梁春穗,黄琼,等.广东省居民主要膳食镉暴露风险的初步评估[J].中国食品卫生杂志,2012,24(4):353-357.
- [4] 滕葳,柳琪,李倩,等.重金属污染对农产品的危害与风险评估[M].北京:化学工业出版社,1996.
- [5] Jarup L, Akesson A. Current Status of Cadmium as an Environmental Health Problem [J]. Toxicol Appl Pharm, 2009, 238(3): 201-208.
- [6] Satarug S, Garrett SH, Sens MA, et al. Cadmium, Environmental Exposure, and Health Outcomes[J]. Cien Saude Colet, 2011, 16(5): 2587-2602.
- [7] 中国药典:一部[S]. 2015.
- [8] CNAS-GL40 能力验证的选择核查与利用指南[S]. 2015: 4.4.
- [9] CNAS-GL02 能力验证结果的统计处理和评价指南[S]. 2015: 4.4.
- [10] ISO 13528: 2015 实验室间比对能力验证用统计方法[S]. 2015: 8.5.
- [11] CNAS-G03: 2006 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 2015: 4.
- [12] 桑国卫. 中国药品检验操作规范[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [13] 左甜甜,李耀磊,金红宇,等. ICP-MS法测定18种动物药中重金属及有害元素的残留量及初步风险分析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(2): 237-242.
- [14] 左甜甜,李耀磊,陈沛,等. 西洋参、山楂、枸杞子中重金属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): 2016-2021.

(收稿日期 2018年10月18日 编辑 邹宇玲)