

中藥(材)中微量元素之檢驗方法及規格研訂IV—礦物中藥(材)中微量元素(銅、汞、鎘、鉛、砷、鈷、錳)檢驗方法及規格研訂之研究

Analysis and specification of trace elements in Chinese herbal medicines.—Analysis and specification of trace elements (Cu, Hg, Cd, Pb, As, Co, Mn) in the minerals of Chinese herbal medicine.

郭宗禮

國立台灣大學醫學院法醫學科

摘要

由於中藥生產地之不同，因土壤成份、重金屬農藥之使用、環境污染之差異或是人為加工等，皆會造成各地中藥材重金屬含量之差異。由於重金屬所造成急性、慢性中毒之事件，時有所聞，也有一些研究報告。因此，中藥材某些微量元素，是否與藥效有關？如長期使用是否也具有慢、急性毒性？特別是中藥材所含重金屬之量是否會危害人體健康，實有深入研究，及廣泛檢驗之必要。

目前台灣中藥材之品質管制，尚未建立完整的科學化之重金屬質量標準。而大陸方面，有關中藥材之重金屬定量，不但項目有限，且其方法也不夠嚴謹，未能達到現代化之國際水準。近來，由於儀器分析之進展及微量分析方法之開發，許多元素之定量可達到超微量之水準。

因此，本研究由開發最佳微波硝化之前處理方法、經不同之氫

化儀器、再聯接到傳統之原子吸光儀，克服了由礦物性中藥材定量砷、汞之難題。此定量法之標準曲線之線性相當良好，當砷濃度在 0.2- 2.0ppb，汞濃度為 2.0-20 ppb 時，其線性之相關係數 $r= 0.999$ 以上，且其準確性及回收率亦相當理想，其標準誤差小於 3% 以下。利用此方法分析中藥材之砷汞含量，也獲得很好之結果。此方法應可推廣應用到其它中藥材之砷汞定量，並進一步探討這些含砷、汞之中藥對生物體之影響，以作為政府將來訂定中藥材規格時，所需建立檢驗方法之標準檢驗流程(SOP, standard operation protocol)之參考。

關鍵詞：礦物性中藥材、微量元素、砷及汞定量、氫化原子吸光光譜法

ABSTRACT

Chinese herbal medicine, the most important part of traditional medicine, has been used by people since antiquity for the prevention and treatment of illness, is less well known in the West. It has been known that many herbs can be helpful and others might be potentially harmful. In the last decade, the herbal preparation, resources, identification, physiochemical evaluation, active principles and pharmacological activities have been studied. However, little knowledge is available about the role of trace elements in Chinese herbals.

On the other hand, some cases of intoxication with arsenic, mercury and lead resulted from the ingestion of Chinese herbals have been reported recently. Therefore, in order to clarify the role of trace elements and to monitor the safety of herbal remedies, the analysis of trace elements is very important for the pharmacological and toxicological evaluation of Chinese herbals. However, it is still a challenging task due to the matrix interferences of herbs.

In this study, we developed a simple, sensitive and accurate method to determine and mercury in mineral and animal Chinese herbs. The specimens were pretreated with microwave digestion using nitric acid, and subsequently determined with hydride generation-atomic absorption spectrophotometry (HG-AAS) in conjunction with a flow injection analysis system (FIAS). The linearity of standard curves of these elements was excellent with correlation coefficients, $r > 0.999$. The detection limits are 0.2 ng/mL. On the other hand, the precision and recovery tests of arsenic and mercury by the proposed method are acceptable with coefficient of variations less than 3%. Some specimens of mineral and animals Chinese herbs were quantificated by the proposed method. Arsenic and mercury concentrations of these herbs were found in the ranges of 75.3 to 31,053.4 ng/g. The proposed method could be applied to analyzed other species of Chinese herbs and to evaluate their pharmacological and toxicological effects.

Key words: Mineral and animal Chinese herbs, trace elements, arsenic and mercury determination, hydride generation atomic absorption spectrophotometry

壹、前言

國人對中藥有著根深蒂固的信賴，雖然是前人累積數千年臨床經驗之寶貴遺產，但我們也不可墨守成規，一直停留在祖先對原藥材的認識及了解。我們應該利用現代科技來加以評鑑，創新並將其發揚光大。亦即對於各種中藥及其方劑，包括民間驗方，祖傳秘方等等，必需有客觀的，能被重複証實的証據；且需對其有效性及安全性加以衡量，使其能造福人類。

過去對中藥的研究，幾乎都集中在有機活性成分之分離及作用機轉之探討上。如果有效成分的毒性太大或治療效果不高時，則修飾其化學結構式，藉以提昇療效，減低毒性，這方面研究的成果甚

為可觀。但對中藥材中微量元素之探討，則甚為缺乏(1-14)。台灣民間常用藥材有上千種，包括動物性、植物性和礦物性(15)。由於有些中藥含有相當高量的重金屬，一方面是由污染而來，另一方面則是中藥的活性成分之一部份。在含量過高時，這兩者也都會造成病人的中毒。

近年來，國內外雜誌不斷有服用中藥導致中毒之報導(16-20)，例如：硃砂引起慢性汞中毒；因長期服用含硃砂的安宮牛黃丸而導致汞中毒性腎病；小兒服用八寶牛黃散導致鉛中毒(21)；冬蟲夏草中加鉛條；魚翅中含汞等中毒事件層出不窮，在在顯示中藥材或成藥中微量元素對健康的影響。可是翻遍規範國內藥物的寶典－中華藥典，卻不見有關微量元素含量之規定，也凸顯出國內有關這方面法令之缺乏。既使像美、日等先進國家之藥典中亦無此規範，致使藥材商或中藥界人士無從瞭解藥材或成藥中究竟含有何種微量元素及其服用之安全量為何。此問題若不解決，則類似八寶牛黃散及硃砂中毒事件將一再重演。

西醫藥物拜現代醫學科技之賜，皆有一套嚴格的品管制度，藥品的供需管道有固定規則可循。有一套動物及人體實驗來評估醫療效果的客觀方法，因此對藥物療效及副作用也做了明確的規格設計，以便利醫師開立處方，使醫師及病人雙方皆蒙受其益。相形之下，中藥在藥物管理及調製上，就顯得粗糙許多。因此儘速訂定藥材或成藥中微量元素之含量標準，乃當務之急。

對於礦物性及動物性中藥的前處理及分析方法，到目前為止尚無文獻報導。由於微量元素之分析有其困難性。因此發展靈敏、簡易、可靠的定量方法，才能準確的評估中藥材之微量元素成份及其作用機轉，並進一步建立藥材中微量元素的安全值，作為政府訂定規格的標準。本研究乃是由台大醫學院、清華大學、中國醫藥及高醫等四個學校合作之三年期整合型計畫，本子計畫為第一年之計畫，其重點為開發礦物中藥(材)微量元素之檢驗方法之研究。由於礦物中藥材之鉛、鎘、鉻、銅及鋅之含量較高，其定量方法也有較多之文獻可供參考。而砷、汞之含量則相對的較低且其毒性較強。因此，各國飲用水中砷、汞含量之安全值都規定在ppb (ng/mL)之濃

度。所以要分析中藥材砷、汞之含量，必需開發高靈敏度之定量方法，屬於較高難度之工作。所以本研究乃將重點集中在有關礦物中藥材及動物中藥材之砷、汞檢驗方法之研究。同時為了考量分析儀器之普遍性，本研究以最簡單之原子吸光儀(Atomic Absorption Spectrophotometer)加上氫化法，使砷、汞之定量能達到ppb之水準。

貳、材料與方法

I. 化學試劑: 砷及汞之標準液購自 Merck, 超純之 HNO₃, HCl, KI, Ascorbic Acid, BH₄Na 等亦購自 Merck. 並配製 10% Ascorbic Acid, 10% KI, 12 mol/L HCl, 10 % HCl, 0.2% BH₄Na 備用。

II. 儀器: 原子吸光儀(Atomic Absorption Spectrophotometer, Perkin-Elmer Model 2389); 砷、汞氫化儀(Hydride Generation Accessory, Varian model VGA-76); Flow Injection Analysis System, Perkin-Elmer model 400; 微波硝化器 (Microwave Digestion Oven, CEM Model MDS-81D)。

III. 實驗步驟:

A) 礦物及動物中藥材之前處理: 利用原子吸光儀分析微量元素時，必需先將樣品處理成為可溶性融液。因此，本研就究乃利用微波硝化法，將三種礦物中藥石膏、五彩龍、自然銅及兩種動物中藥石決明、牡蠣，找出可共同使用之樣品與硝酸之最佳比例，以及最適當之微波功率，硝化時間等，以達到最佳且簡化之前處理效果。

B) 砷、汞氫化法之定量比較: 將砷之標準溶液，利用 KI 將其還原，或將汞之標準溶液，以 Varian VGA Hydride Generator 氫化之後，經原子吸光儀以 193.9 nm 定量砷，以 253.7 nm 定量汞。另外，將同樣之砷、汞標準溶液，經 Flow Injection Analysis System 氫化之後，再經原子吸光儀定量之，並比較此二種儀器之差異。

參、結果與討論

中藥材前處理方法之選擇:

本研究使用由中國醫藥學院所提供之三種礦物中藥石膏、五彩龍、自然銅及兩種動物中藥石決明、牡蠣，分別嘗試各種硝化之條件，結果發現最佳之硝化條件如下：將0.25公克之上述中藥材，放入硝化瓶，加入1.0 mL之蒸餾水及2.0 mL之超純濃硝酸，經混合後置於MSD-81D之微波爐，先以43%功率硝化4分鐘，然後再以26%功率硝化15分鐘，冷卻後以蒸餾水洗出硝化瓶中之酸液，並稀釋至10 mL備用。在此條件下可將上述中藥材溶解。

砷、汞氫化法之比較:

連續性吸入氫化法：此為傳統常用之方法。如利用Varian VGA Hydride generator，硝化後之溶液連續被吸入與BH₄Na作用，所產生之氣相再被送到原子吸光儀定量。圖一顯示當所測溶液連續被吸入時，其吸光值連續被記錄，且其值連續變化，因此必需以其平均值作為定量。由圖二之標準曲線，可發現當砷之濃度為5-20 ppb時，此定量法之線性相當良好，其相關係數 $r = 0.9992$ 。

定量吸入氫化法：此為改良式之裝置。即Flow Injection Analysis System，簡稱FIAS。因為是只有固定量之溶液被吸入，因此，其吸光圖只有一個波峰，如圖三左邊之吸光圖。所以其準確性更好，而所需之樣品也更少。圖四顯示當砷之濃度0.5-5.0 ppb時，其線性之相關係數為0.9995，且其靈敏度比傳統之氫化法高出約四倍，更適合於分析低濃度之砷及汞。因此本研究乃以此方法從事中藥材砷汞之定量。

中藥材砷之定量:

中藥材經上述之微波硝化法之後，利用FIAS氫化，並以原子吸光儀定量其砷之含量時，發現與定量標準溶液之砷有很大之差異。如圖三右邊之吸光圖，所有樣品之吸光值皆很高無法定量。原以為是中藥材中其它雜質之干擾，並嘗試各種去除干擾物之方法，皆無法克服此問題。經花了相當多時間之試驗之後，終於發現乃是由於

HNO₃之影響所引起。因此將中藥材硝化之後，先以 NaOH 中和，然後再加以氫化，則可獲得理想之結果。圖五為不同濃度之砷經 HNO₃ 硝化後，經 NaOH 中和，並以原子吸光儀定量之結果，其吸光值與標準水溶液之砷一致。且其中和後之標準曲線之線性仍非常良好，其相關係數 $r = 0.9998$ (圖六)。至此，總算解決了利用 FIAS 定量中藥材砷所遭遇之難題。

中藥材汞之定量:

中藥材經上述之微波硝化法之後，利用 FIAS 氫化，並以原子吸光儀定量其汞之含量時，發現與定量標準溶液之汞相當接近，與上述砷之情況完全不同，並不受 HNO₃ 之影響(圖七)。同時不論汞是在水溶液或是在硝酸液，其標準曲線之線性都很好 $r > 0.9998$ (圖八)。

為了同時測定中藥材之砷及汞，在前處理方法上如能相同，則較方便也可節省許多時間，因此乃同時探討中藥材經硝化之後，先以 NaOH 中和，然後再加以氫化時，是否會影響汞之定量。圖九說明汞在 2.8 mol/L 之硝酸液或是經中和後再加入 HCl，其定量結果皆不受影響，圖十之定量曲線也證明相當一致。因此在實驗設計上可將中藥材經硝化後，先以 NaOH 加以中和，然後再以 HCl 加以酸化，此液體可分為 2 瓶，其一作為砷之定量，另一瓶可做為汞之定量之用。

砷、汞定量之品管:

由於中藥材之參考品，由中國醫藥學院負責採購，但因市面上皆無此產品，因此我們乃以砷、汞之標準品作此方法準確性之探討。圖十為 5 ng/mL 之砷、汞經重複 20 次分析之結果 其相對標準差 (RSD) 都在 2.5% 以下，也都再可接受之範圍。

圖十一為回收率之結果。5 ng/mL 之砷及汞各經重複 12 次及 20 次經硝化之過程，再定量之結果，顯示其回收率之誤差在 3% 之內。說明，本方法之可行性。

中藥材砷、汞含量之分析:

應用上述所建立之方法，定量由中醫學院所提供之三種礦物中藥石膏、五彩龍、自然銅及兩種動物中藥石決明、牡蠣之砷、汞含

量，表一為定量之結果。此結果證明可以應用此方法分析部份礦物及動物中藥材砷及汞之含量。

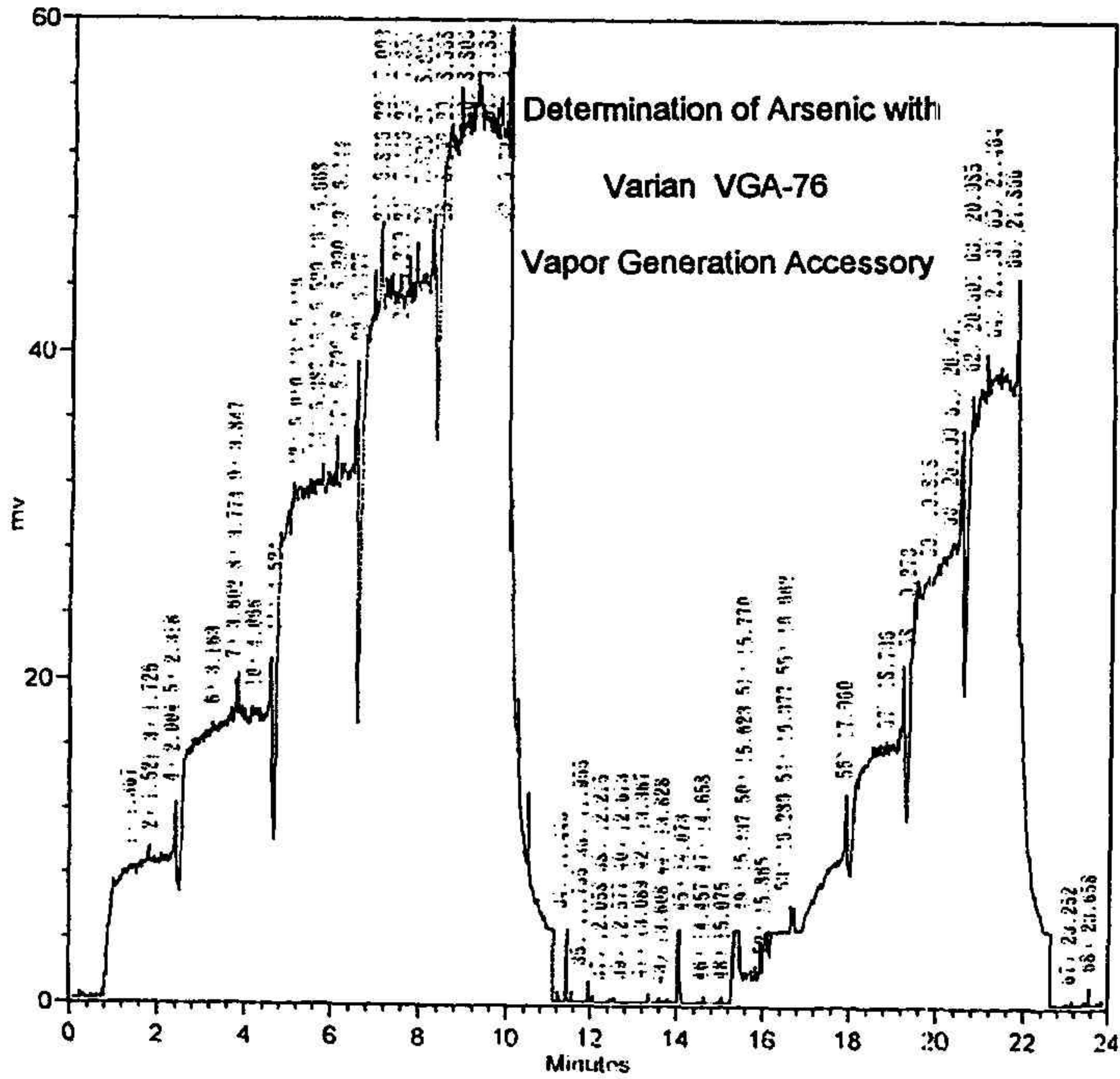
肆、結論

本研究建立了由礦物及動物中藥材定量砷、汞之方法。包括微波硝化之前處理，砷、汞之氫化及原子吸光光譜之定量等。克服了種種之難題，而完成了可行之定量法。此方法之靈敏度達到 ppb (ng/g)之超微量水準，其準確性及回收率都相當良好。經應用於幾種礦物及動物中藥材之分析，也證明此法之實用性。將來應可進一步推廣應用到其它中藥材之砷、汞分析，以探討其是否適用於所有之中藥材，以及如何克服所遭遇之新問題。另外，也可應用此法從事研究中藥材中砷、汞對生物體之作用，作為政府將來訂定中藥材規格時之參考。

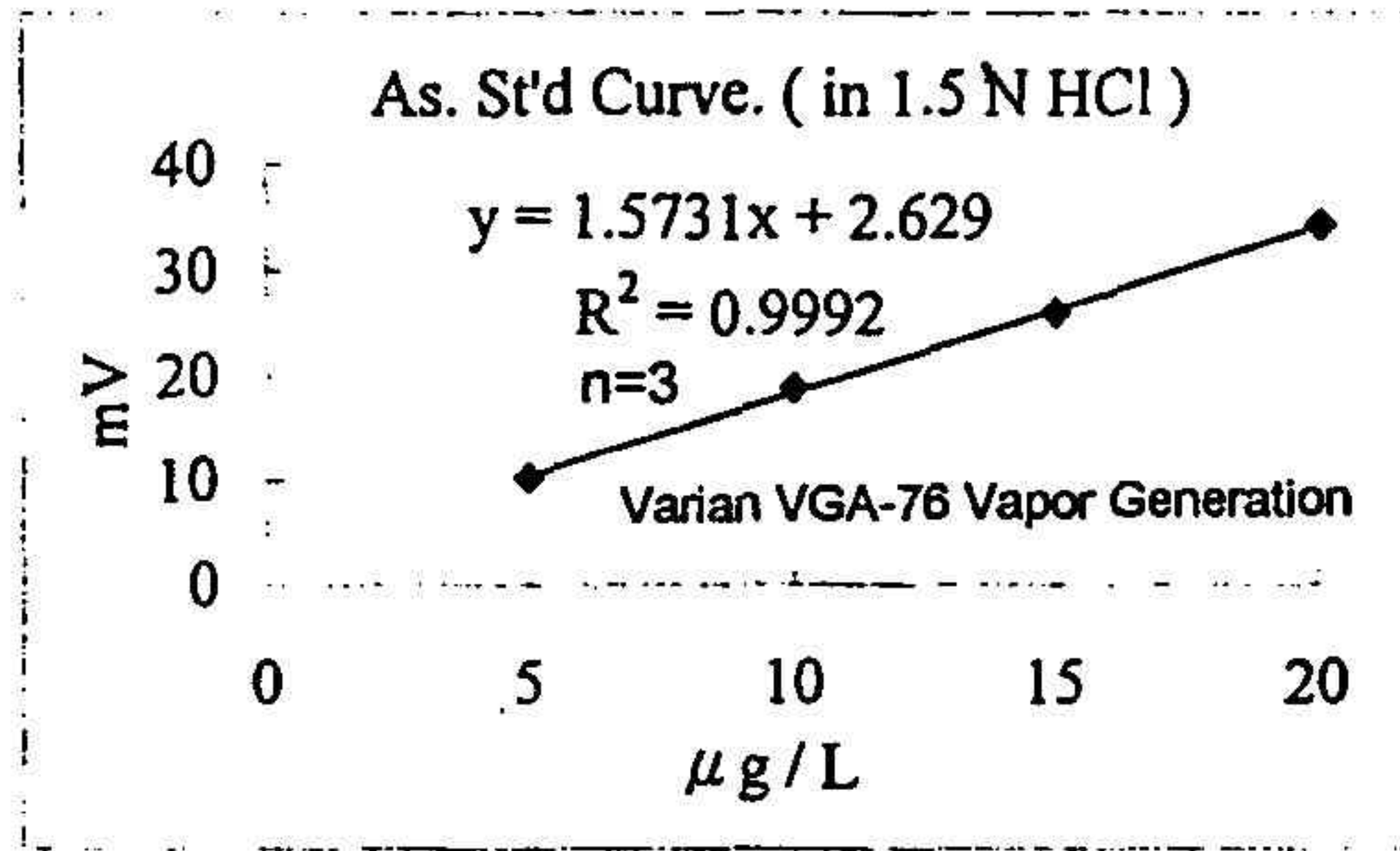
伍、文獻

1. 劉福春：微量元素，1987，(1):62
2. 汪坤等：中西醫結合雜誌，1983，(3):171
3. 王冠庭：中西醫結合雜誌，1982，(3):145
4. 邱保國等：中醫雜誌，1985，(1):59
5. 秦俊法等：微量元素，1986，(4):28
6. 楊玲玲等：北醫學報，1983，(13):27
7. Chen, H. C., Lin, S. M., Kaohsiung J. Med. Sci., 4, 259 (1988)
8. Chen, K. S., Teseng, C. L., Lin, T. H., Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles, 1, 265 (1993)
9. Suzuki, A., et al., Shoyakugaku Zasshi, 36, 190 (1982)

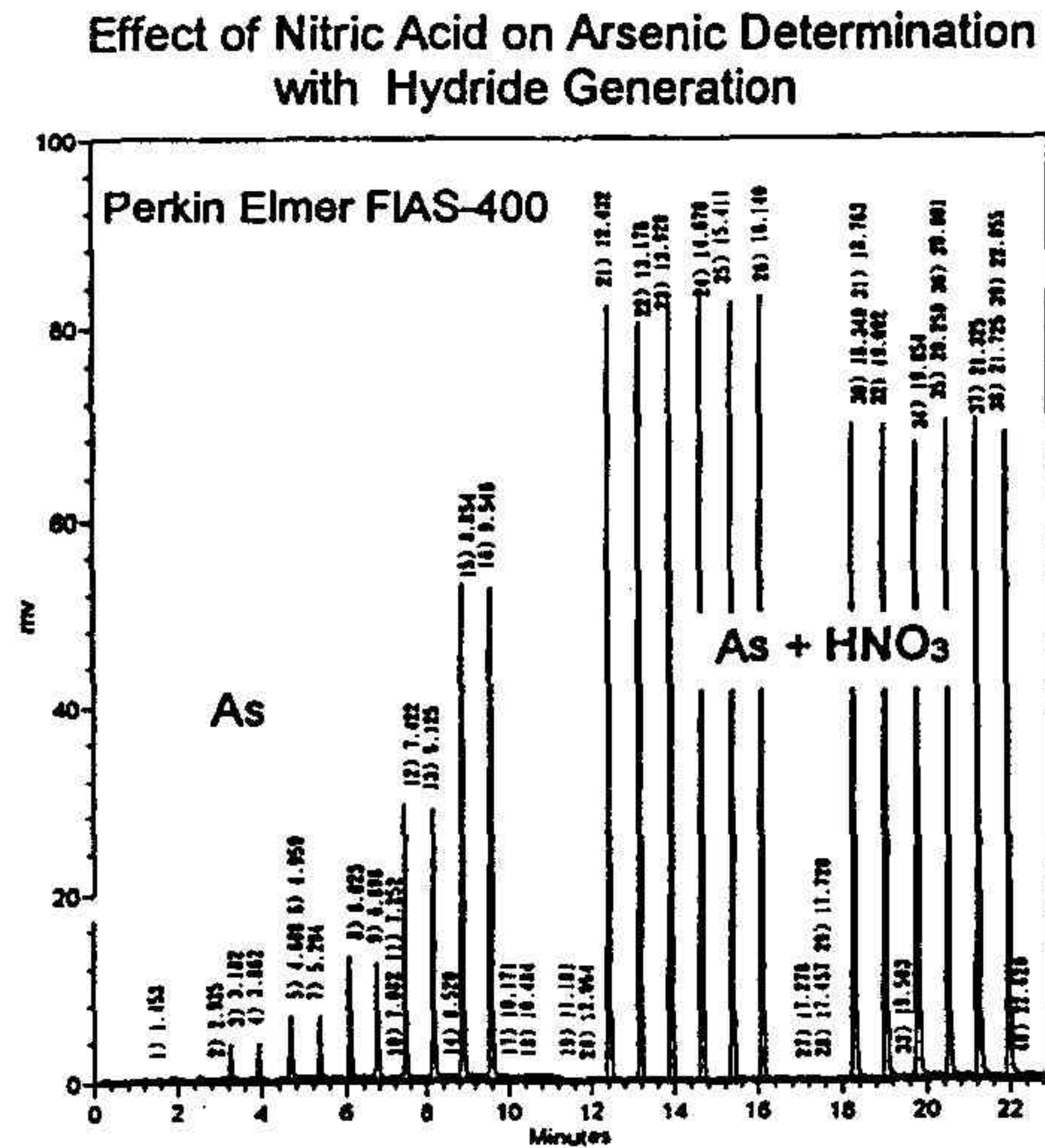
10. Chi, Y. W., Chen, S. L., Yang, M. H., Hwang, R. C., Chu, M. L.,
Acta Paediatrica Sinica, 34, 181 (1993)
11. Chi, Y. W., Chen, S. L., Yang, M. H., Hwang, R. C., Chu, M. L.,
Chung Hua I Hsueh Tea Chih-Chinese Medical Journal, 50, 400
(1992)
12. Chen, J. Y., Lin, C. C., Namba, T., *American Journal of Chinese
Medicine*, 20, 51 (1992)
13. Yen, J. C., Bei, Z. Y., Su, D. S., Zhu, M., *Chung-Kuo Chung Yao Tea
Chih-China Journal of Chinese Materia Medica*, 14, 23 (1989)
14. Wong, M. K., Koh, L. L., *Biological Trace Element Research*, 10, 91
(1986)
15. 謝伯舟：1996年大陸中藥與相關事物考察報告書
16. Markowitz SB, Nunez CM, Klitzman S, Munshi AA, Kim WS,
Eisinger J, Landrigan PJ. *JAMA* 271, 932-4, 1994.
17. Dunbabin DW, Tallis GA, Poppiewell PY, Lee RA. *Med. J. Australia*
157, 835-6, 1992.
18. Smitherman J, Harber P. *Am J Indust Med.* 20, 795-8, 1991.
19. Mitchell-Huggs GA, Conway M, Cassar J. *Human Exp Toxicol* 9,
195-6, 1990.
20. McElvaine MD, Harder EM, Johnson L, Baer RD, Stazger RD.
JAMA 264, 2212-3, 1990.
21. 謝伯舟等：Ann Rept FDB 1994 ,4:45



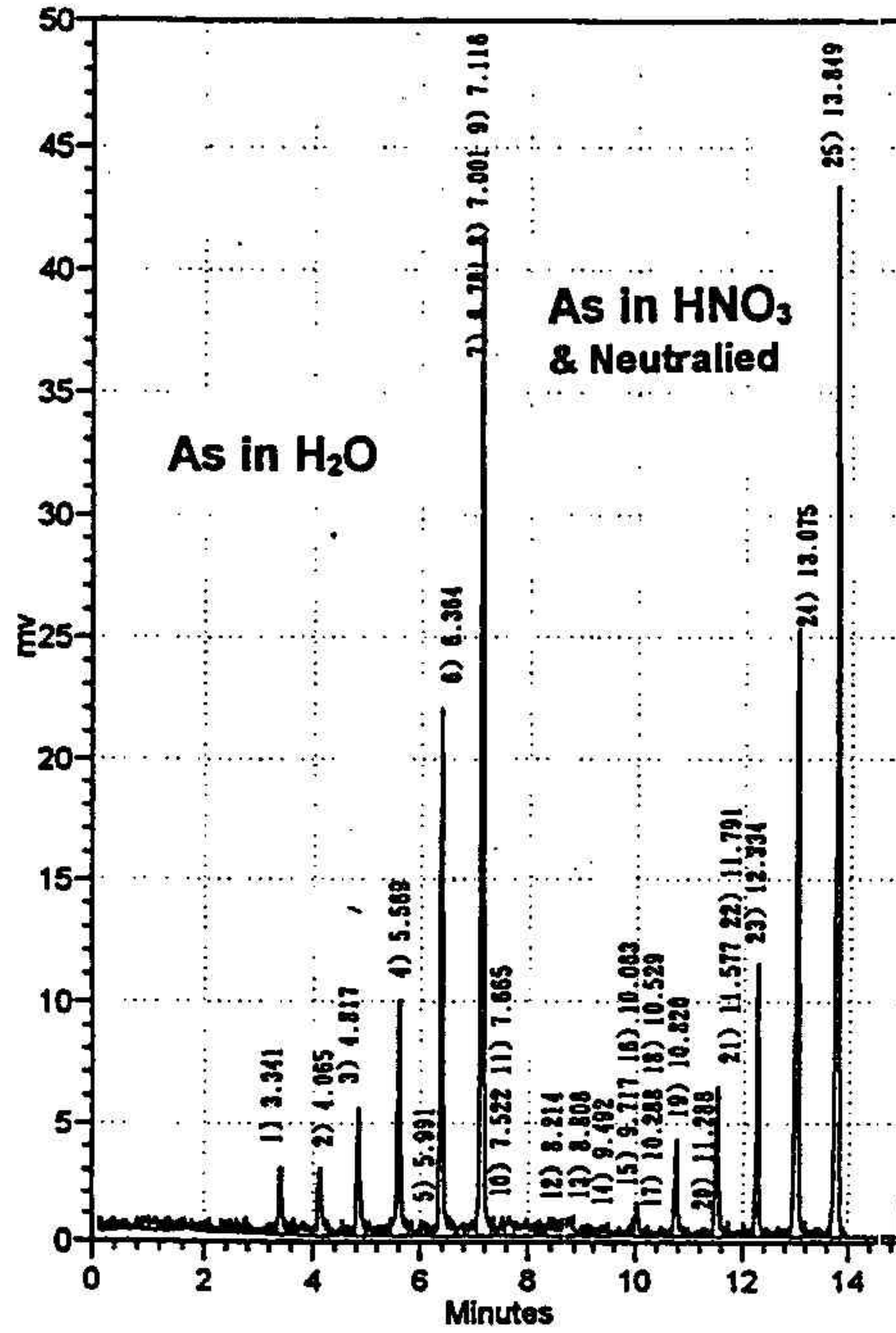
圖一、連續吸入氫化法定量砷之吸光圖



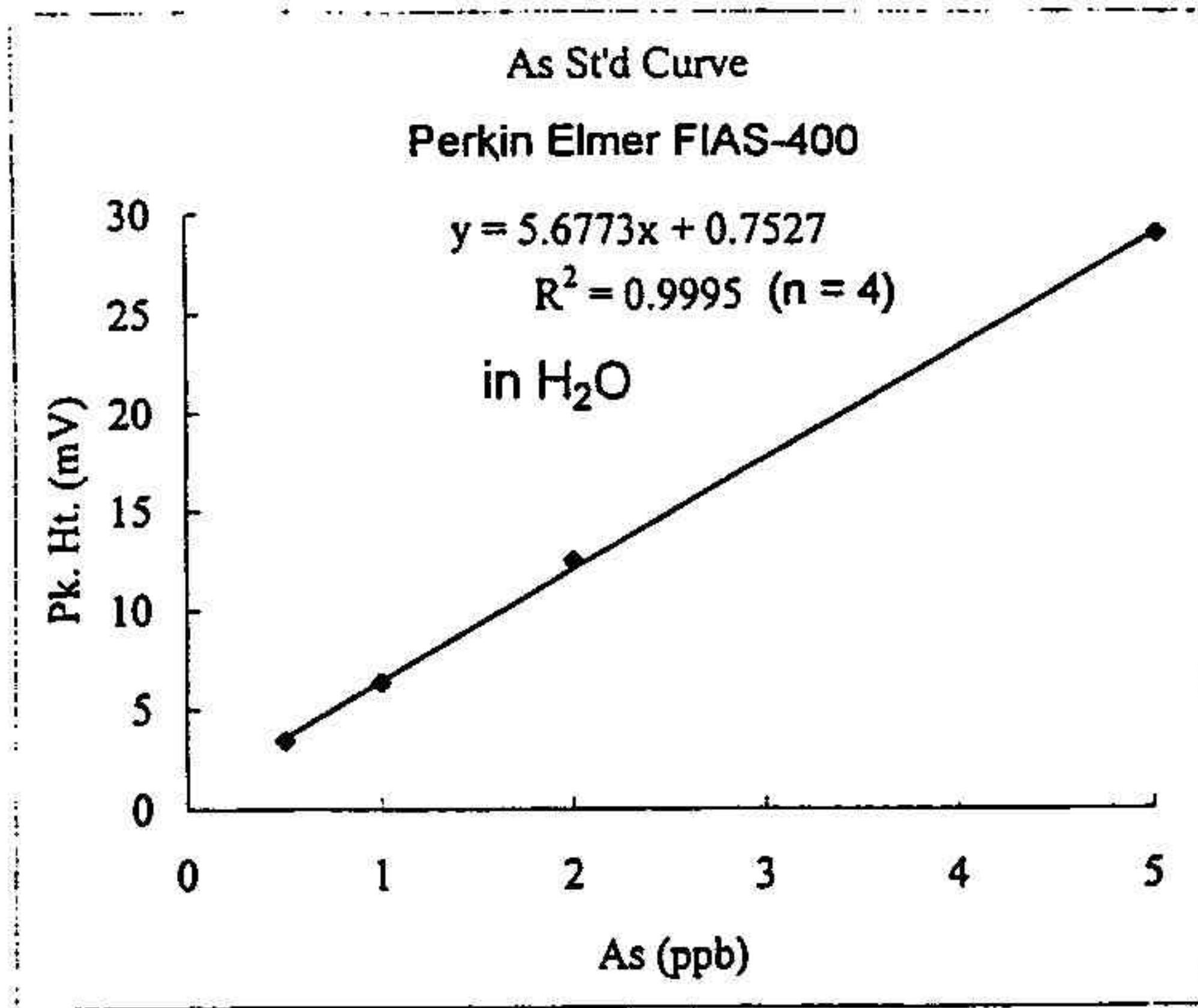
圖二、連續吸入氫化法定量砷之標準曲線



圖三、定量吸入氫化法定量水溶液及硝酸溶液中砷之吸光圖

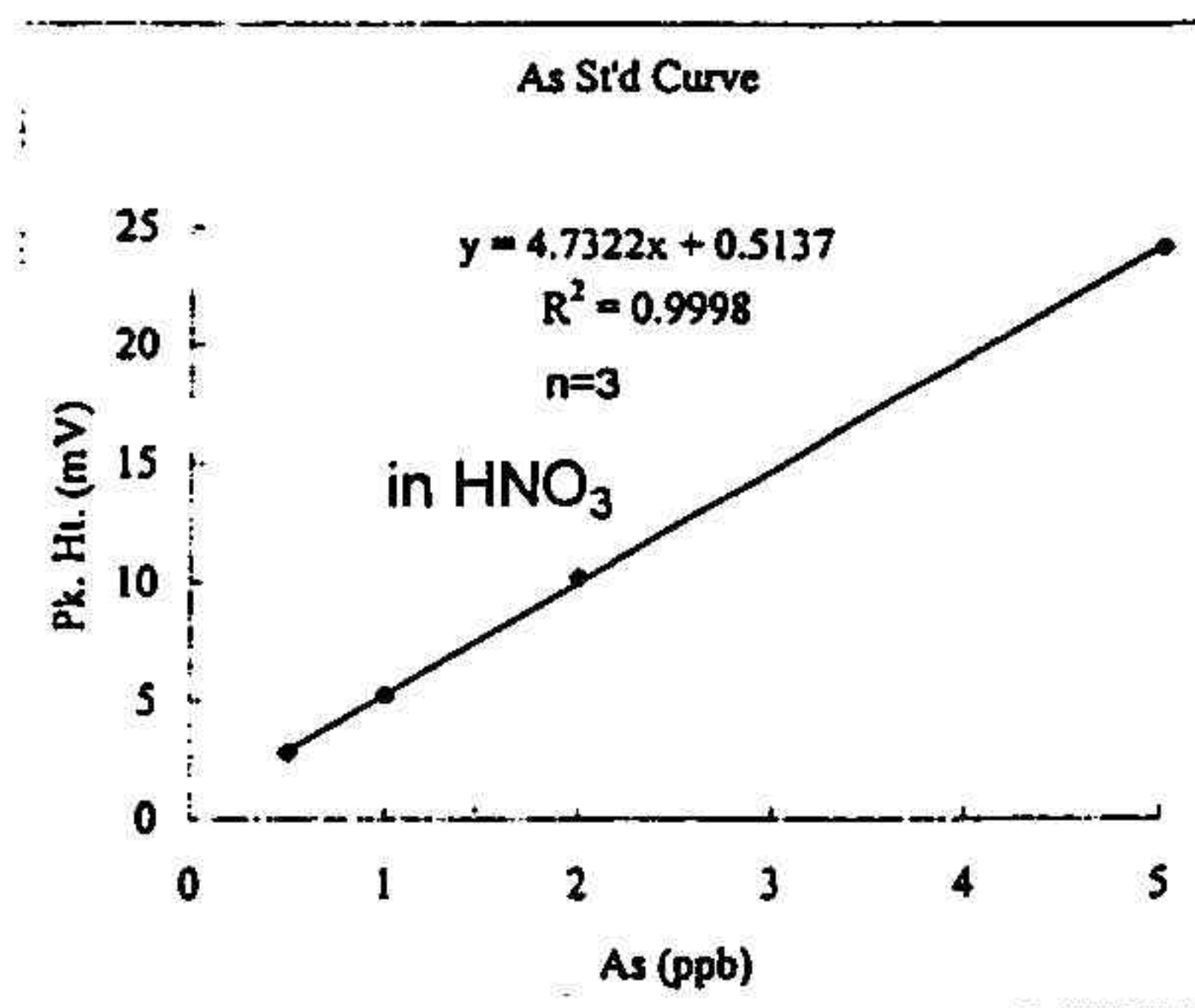


圖四、硝酸溶液中砷經中和後與水溶液中砷之吸光圖比較

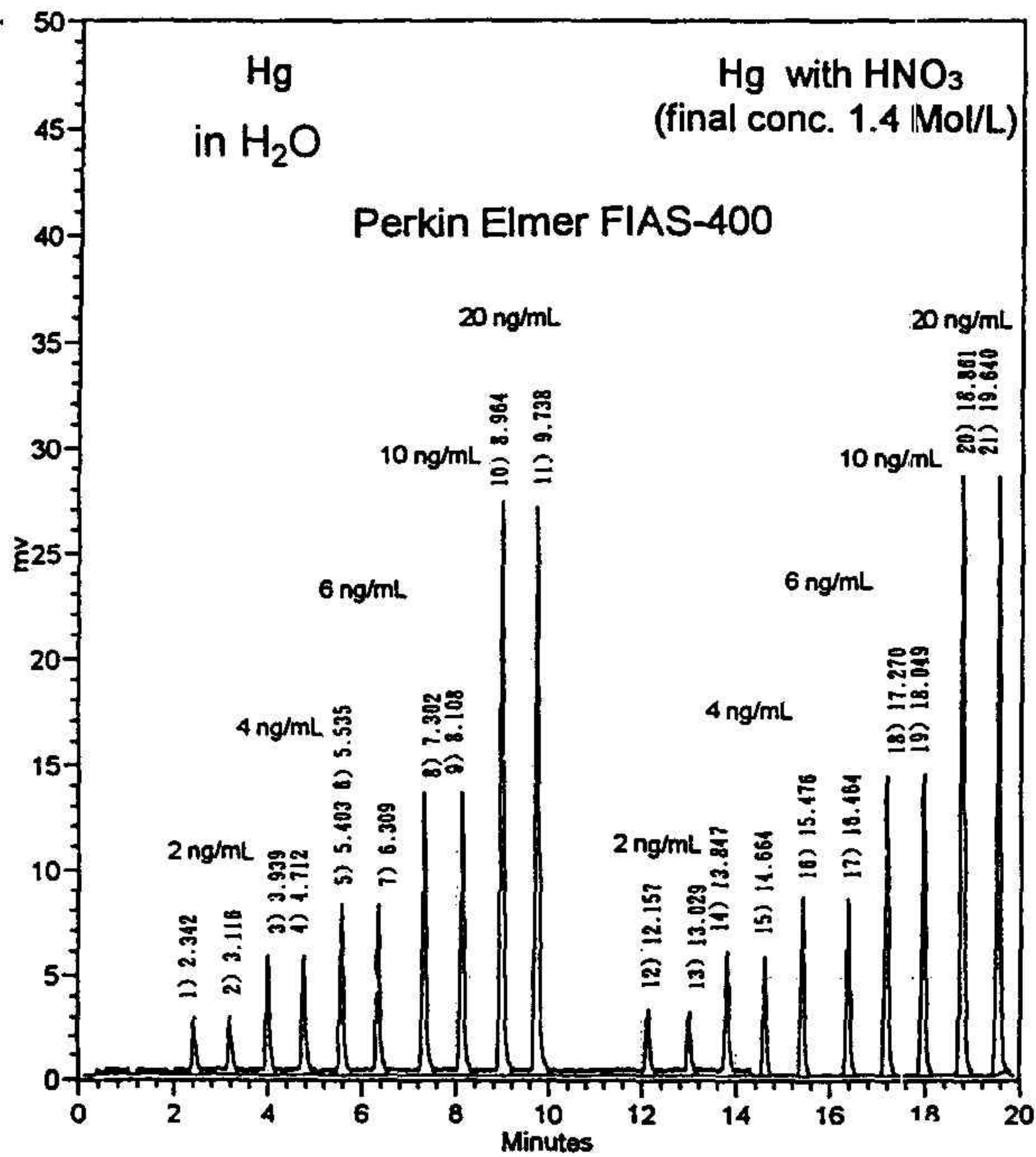


圖五、水溶液砷經定量吸入氫化法之標準曲線

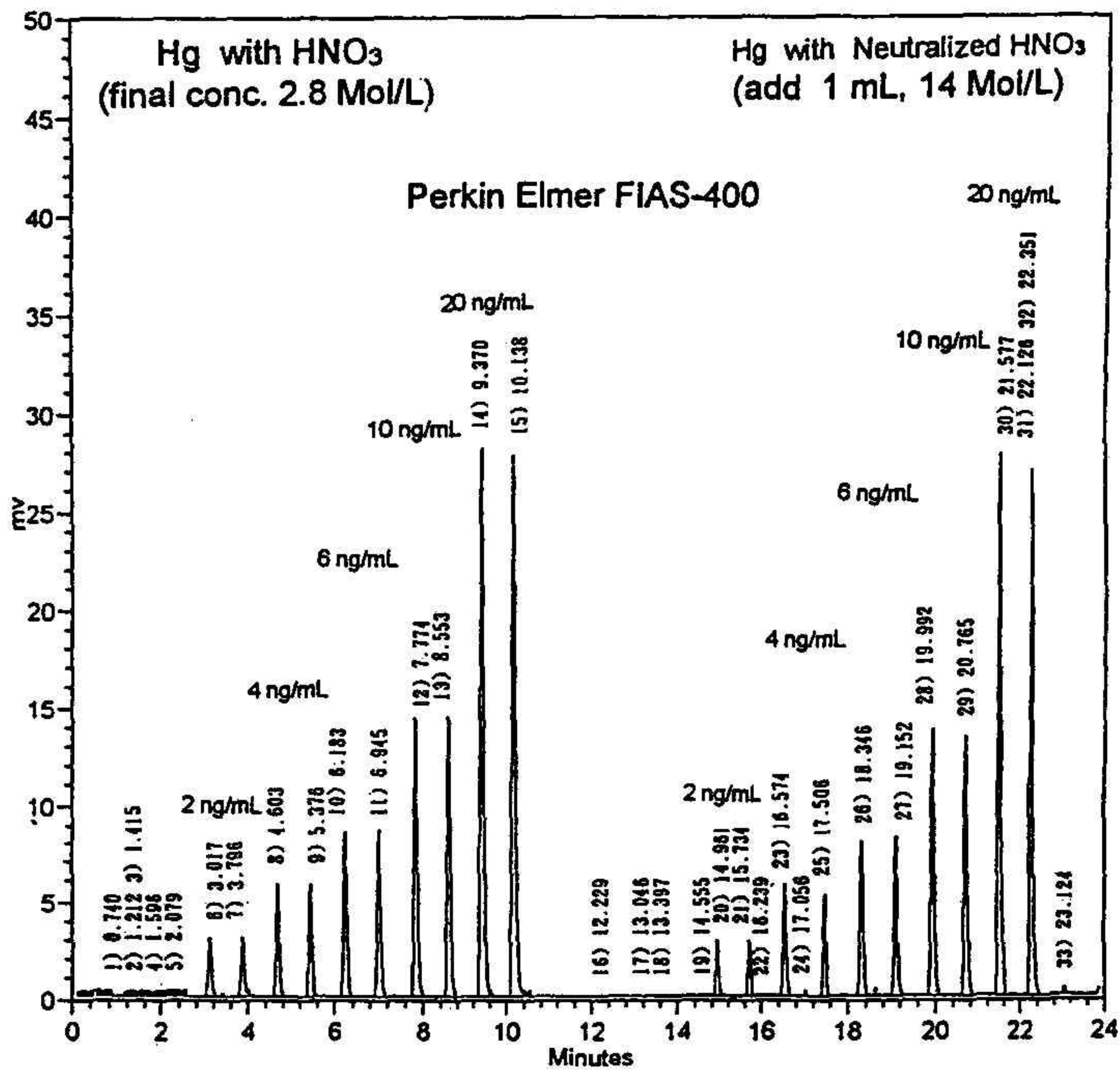
Standard Curve of Arsenic with FIAS-400
after the Neutralization of Nitric Acid



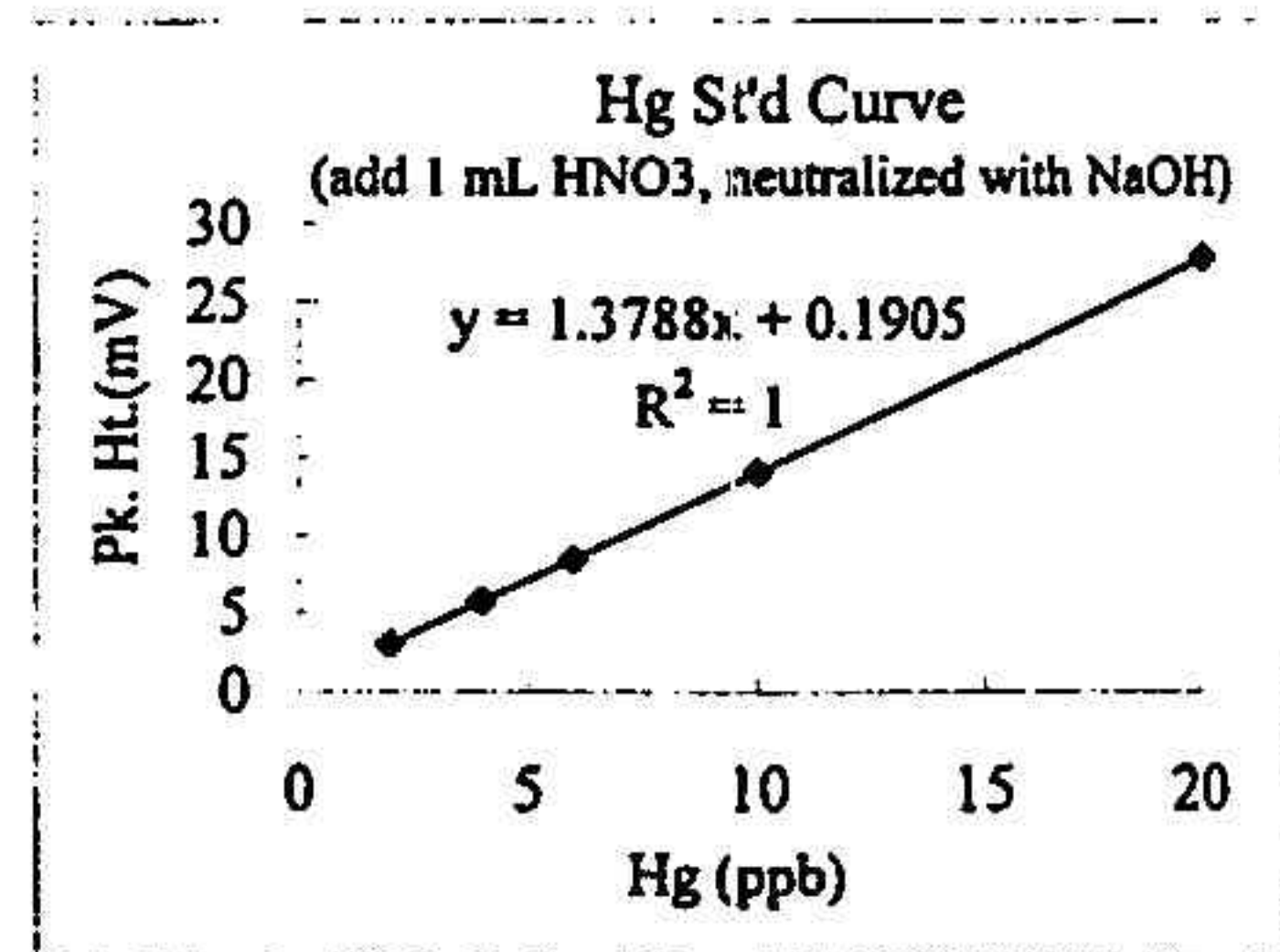
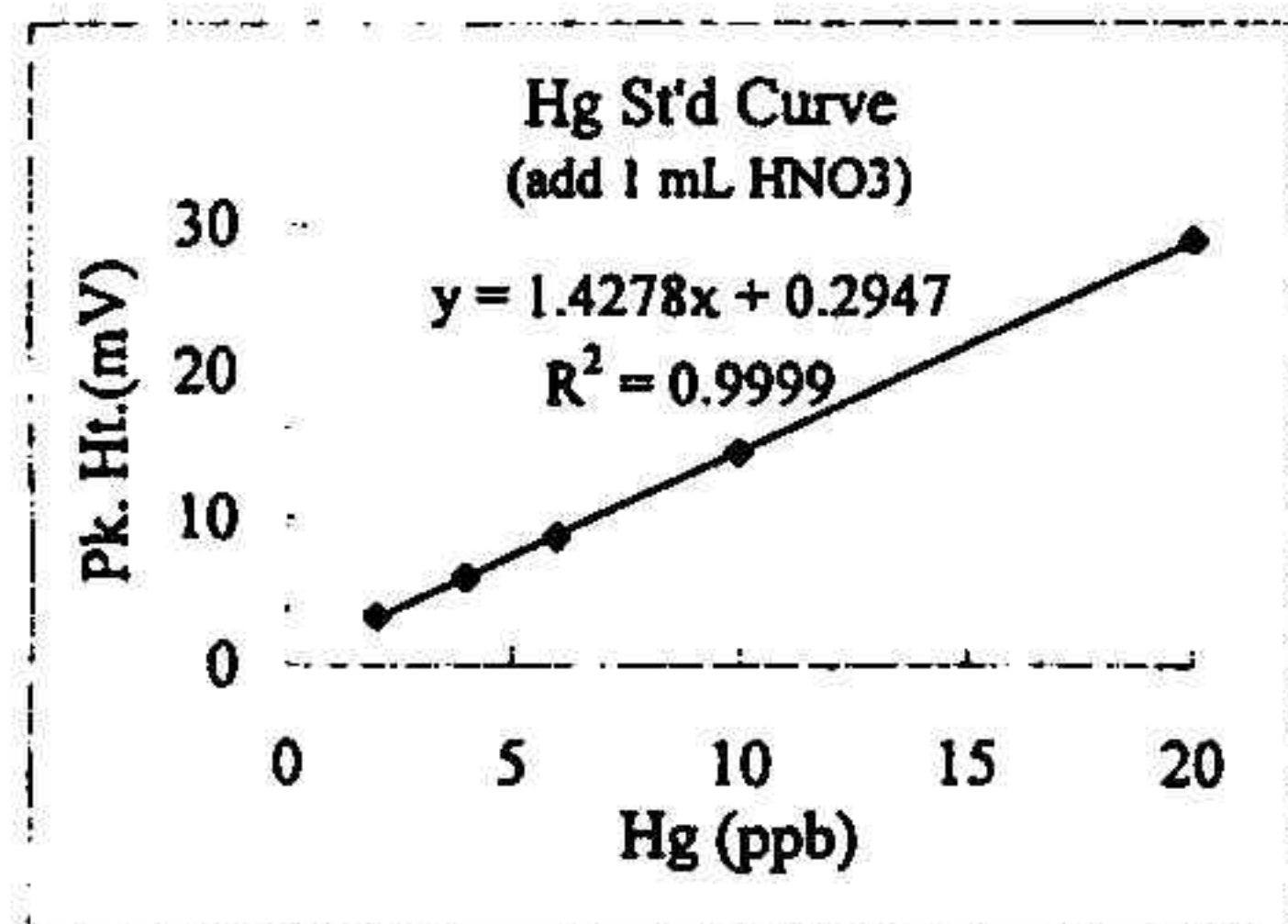
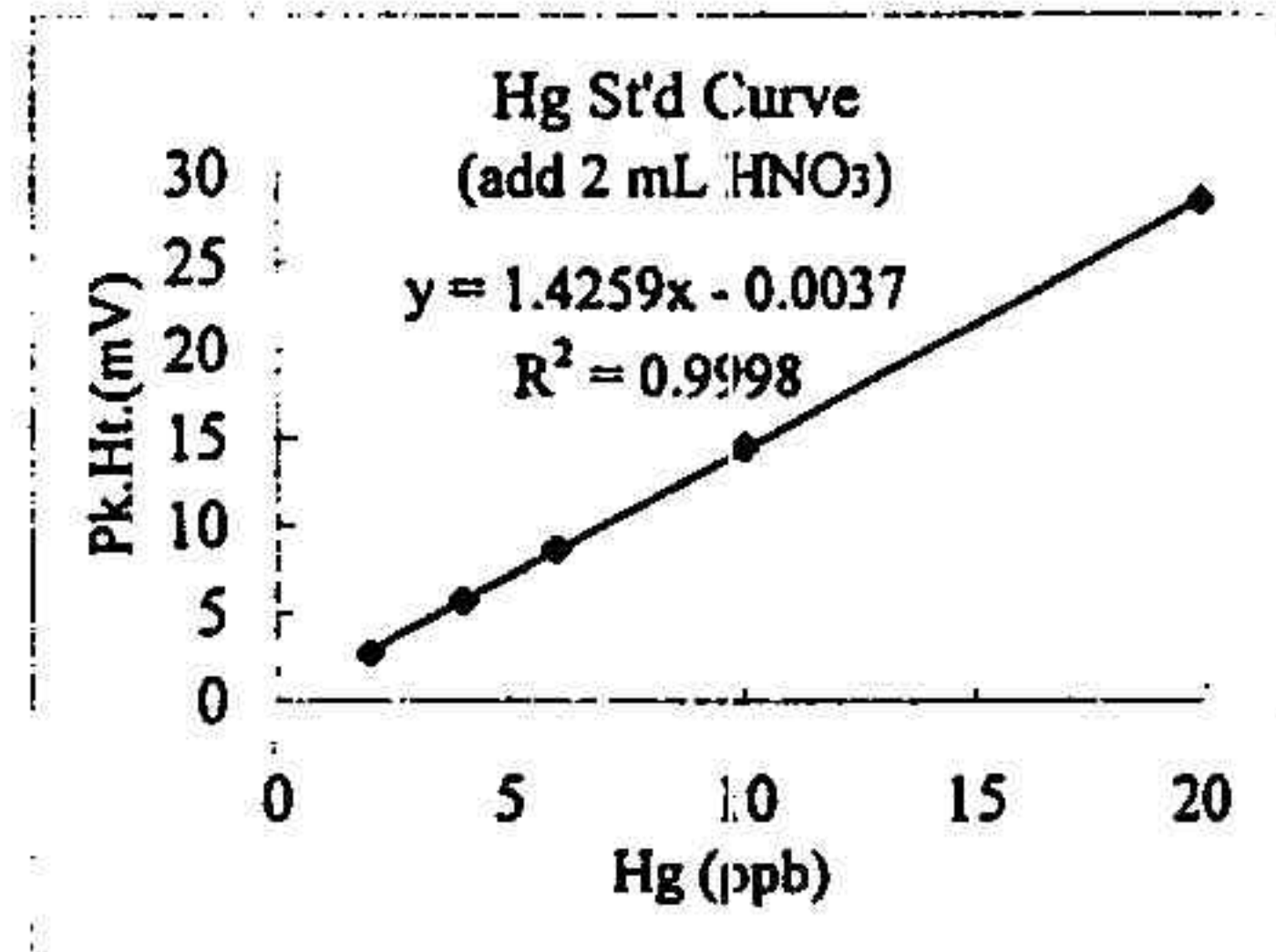
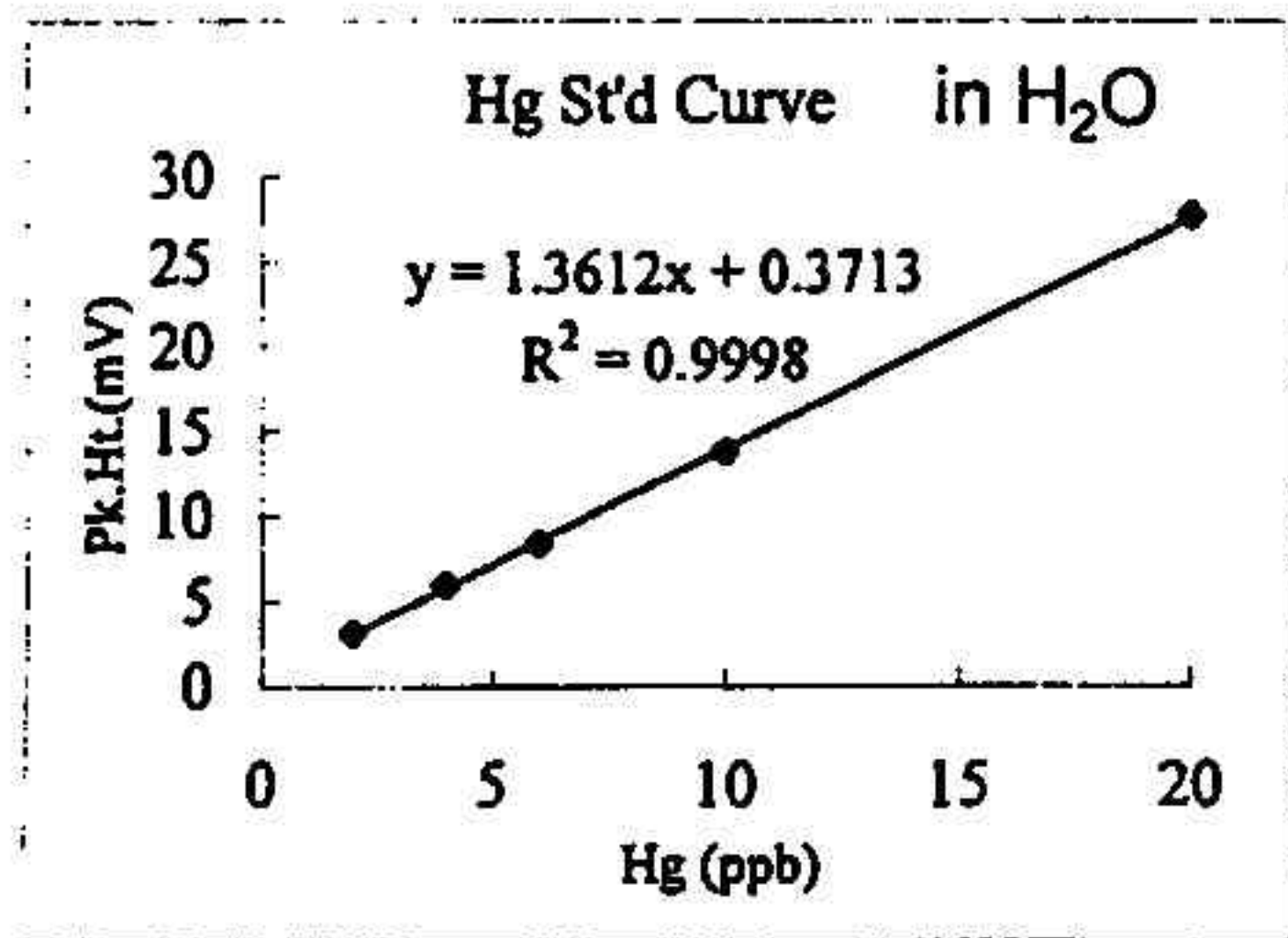
圖六、硝酸溶液中砷經中和後以定量吸入氫化法定量之標準曲線



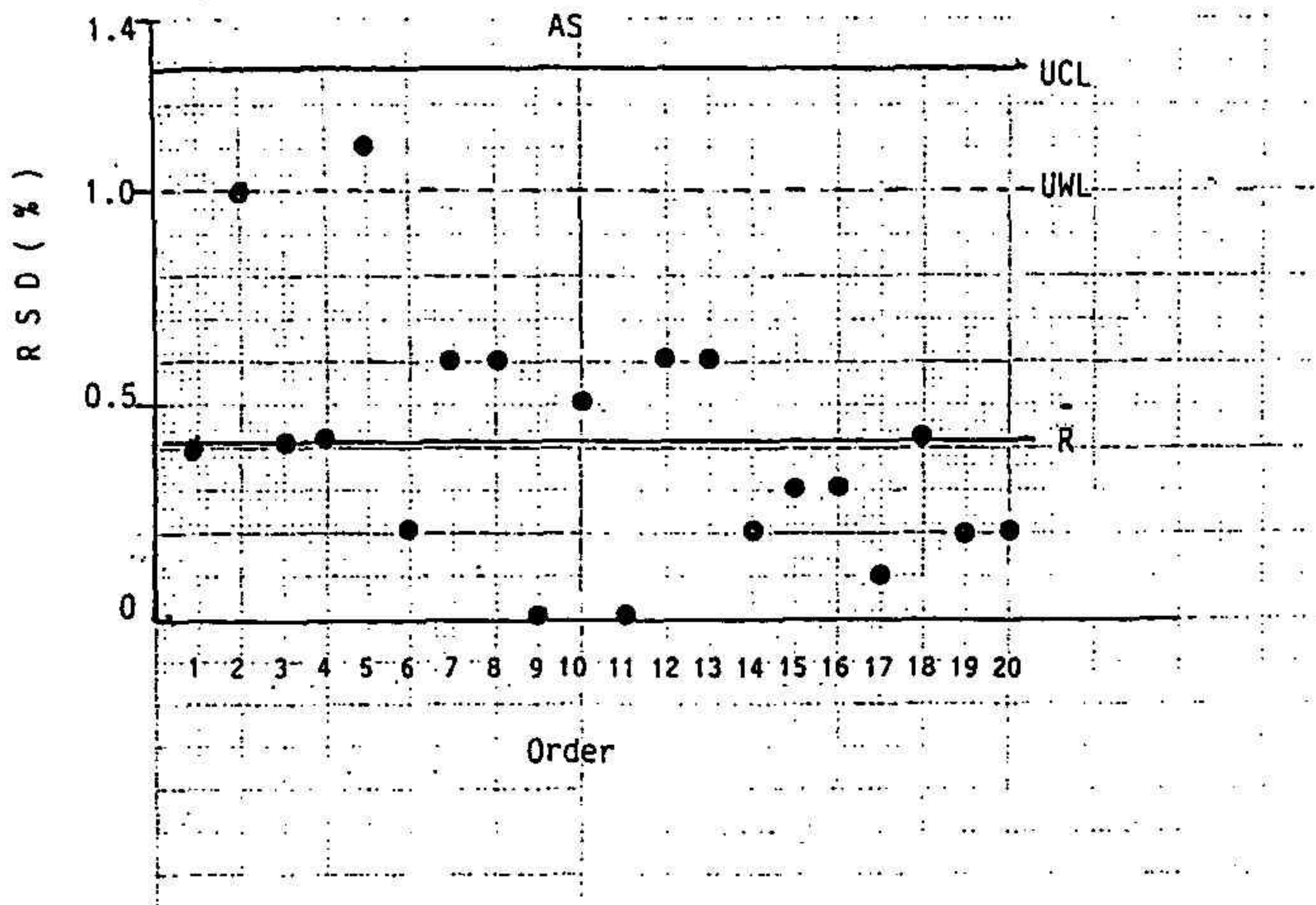
圖七、定量吸入氫化法定量水溶液及硝酸溶液中汞之吸光圖



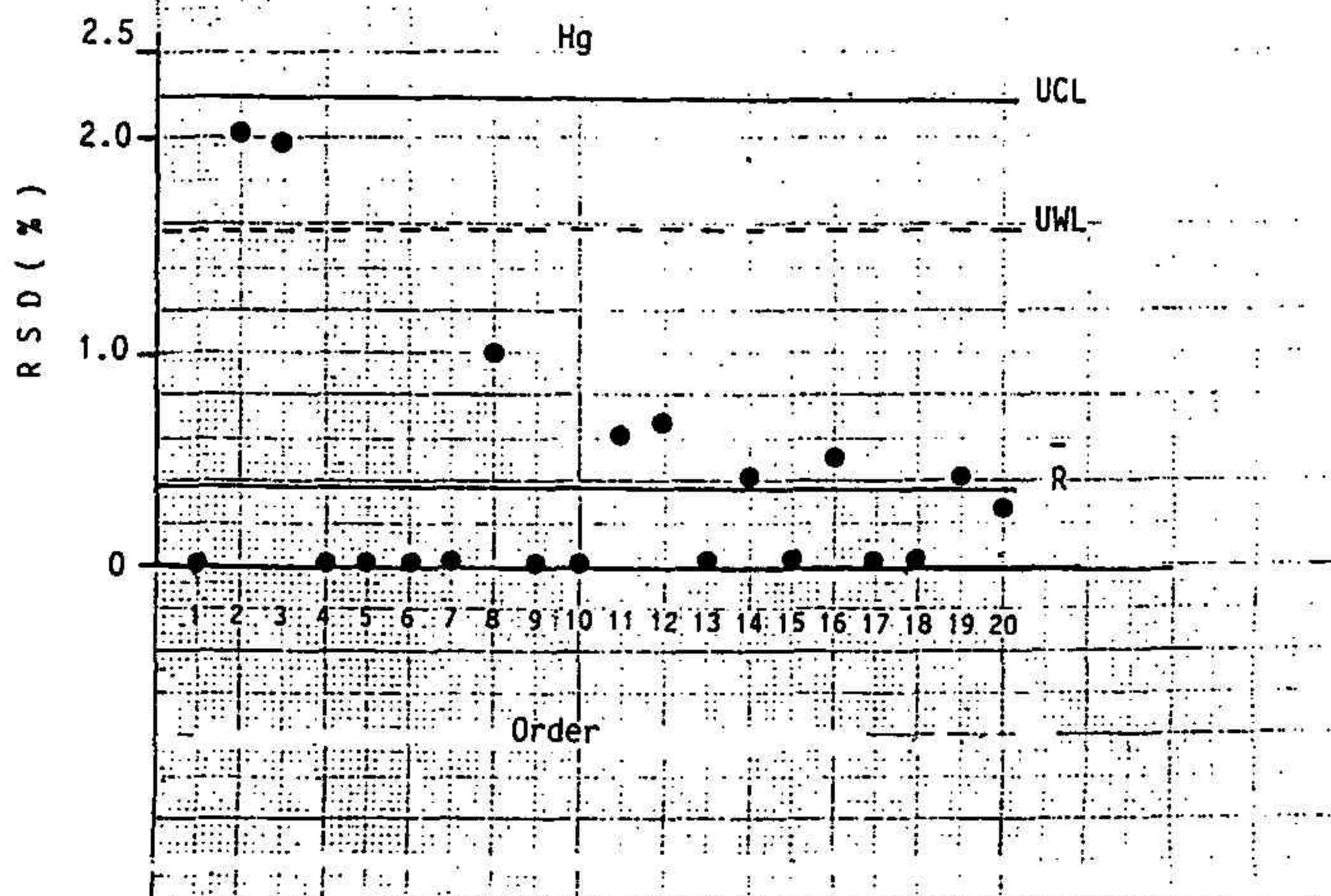
圖八、硝酸溶液中汞未中和與經中和之吸光圖比較

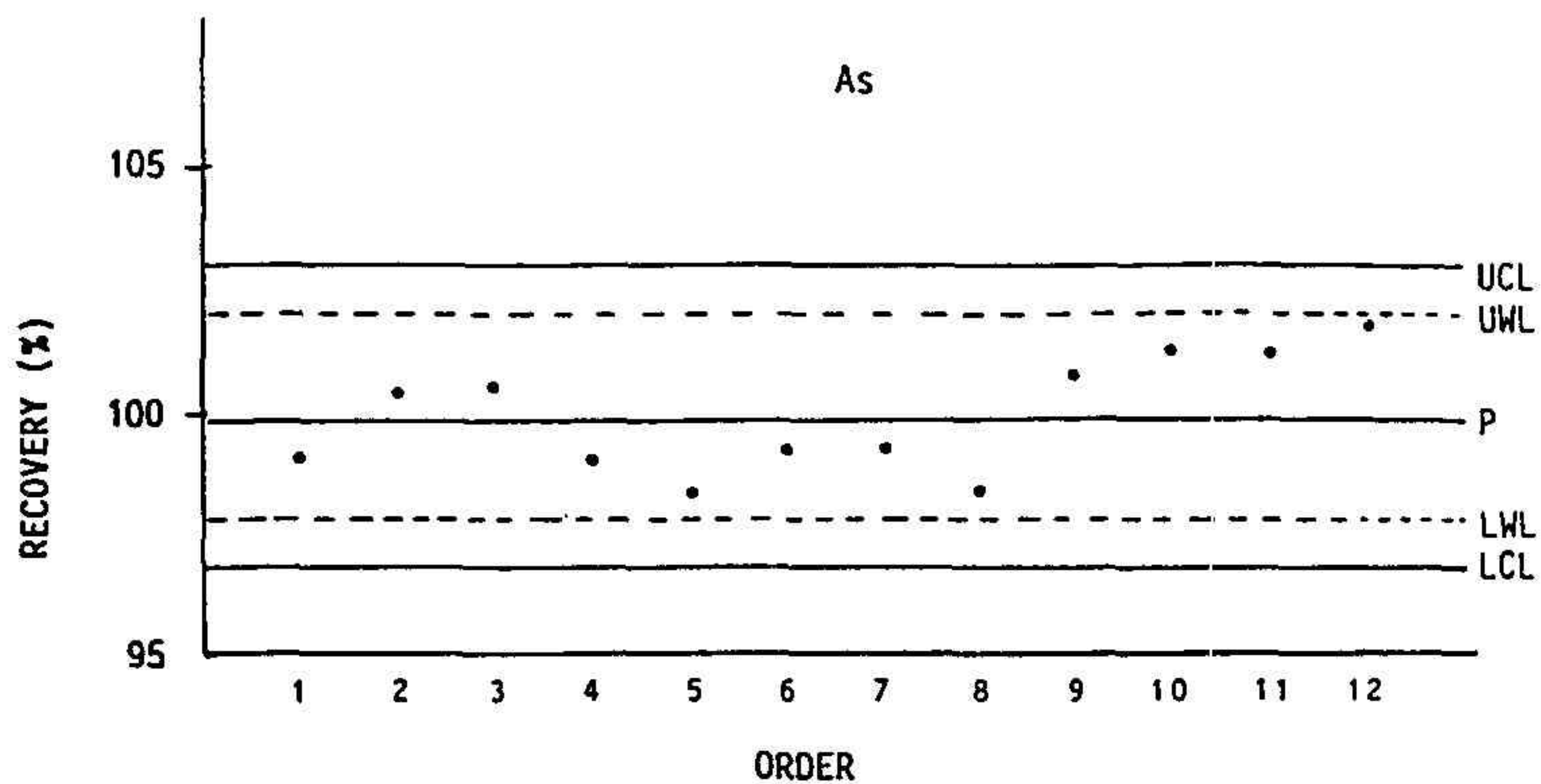


圖九、水溶液、硝酸溶液及中和後汞之標準曲線比較

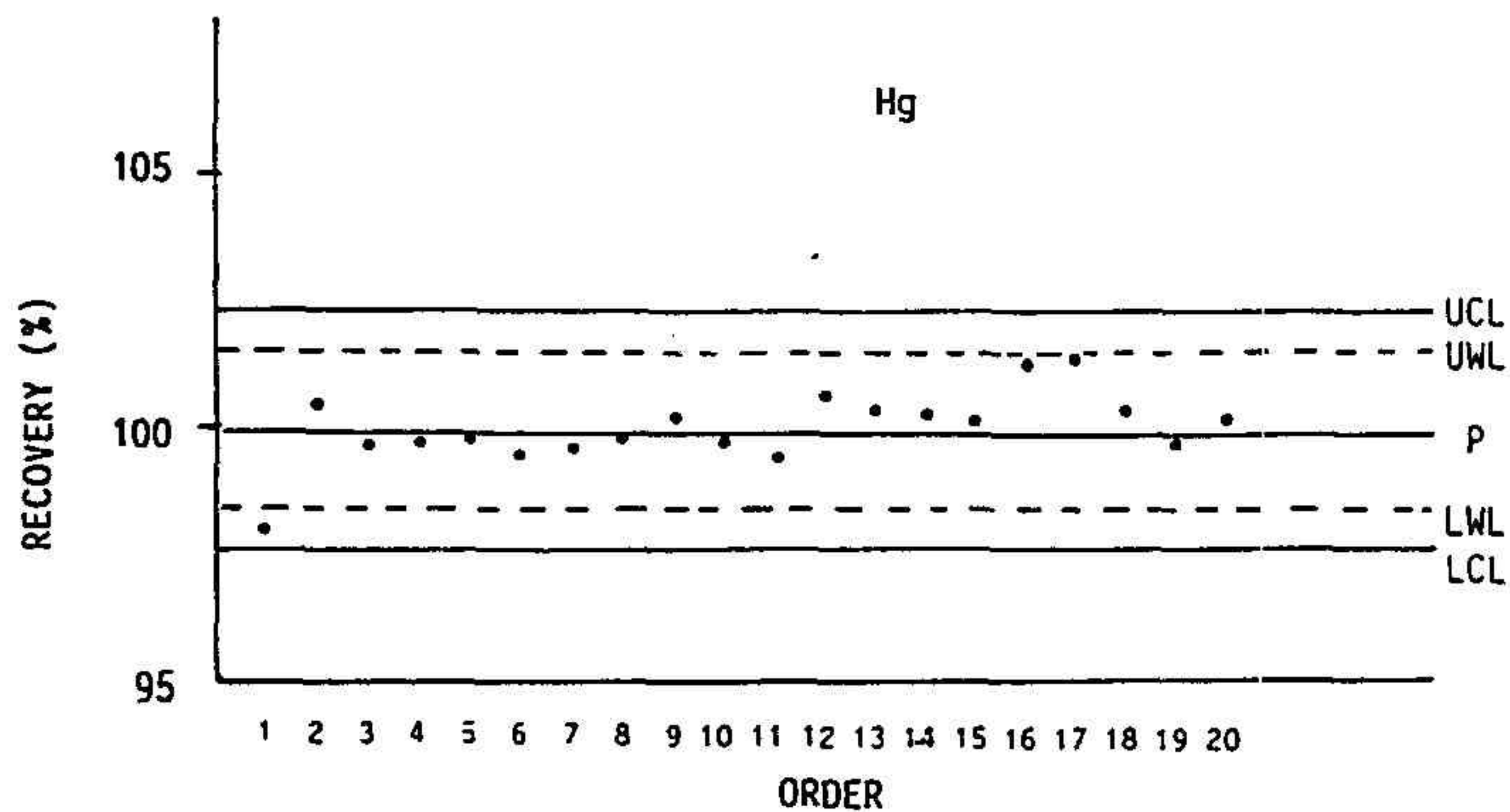


圖十、砷及汞定量之標準誤差





圖十一、砷及汞之回收率



**Table 1. Arsenic Concentration
in the Mineral Chinese Herbals**

石膏	:	451.2	±	6.0	ng/g	(n = 4)
五彩龍	:	2295.1	±	121.4	ng/g	(n = 4)
自然銅	:	5083.1	±	510.1	ng/g	(n = 4)

表一、礦物中藥材砷之含量

**Table 2. Arsenic Concentration
in the Animal Chinese Herbals**

石決明	:	266.9	±	11.8	ng/g	(n = 4)
牡蠣	:	718.1	±	25.1	ng/g	(n = 4)

表二、動物中藥材砷之含量

**Table 3. Mercury Concentration
in the Mineral Chinese Herbals**

石膏	:	75.3	±	0.14	ng/g	(n = 4)
五彩龍	:	76.8	±	0.15	ng/g	(n = 4)
自然銅	:	31053.4	±	510.13	ng/g	(n = 4)

表三、礦物中藥材汞之含量

**Table 4. Mercury Concentration
in the Animal Chinese Herbals**

石決明	:	1336.8	±	34.8	ng/g	(n = 4)
牡蠣	:	284.7	±	10.8	ng/g	(n = 4)

表四、物動中藥材汞之含量