

ICS 11.120.10
CCS C23



团体标准

T/CACM ****—20**₄₄

动物药中甲基汞和无机砷的检测方法及限量

Detection methods and limits for methylmercury and inorganic arsenic in animal
medicines

（文件类型：公示稿）

（完成时间：2023 年 3 月）

20**-**-**发布

20**-**-**实施

中华中医药学会发布

目 次

目次.....	I
前言.....	II
动物药中甲基汞和无机砷限量	1
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 限量.....	1
5 检测方法.....	2
附 录 A（规范性）甲基汞和无机砷形态 LC-AFS 测定法	4
附 录 B（规范性）甲基汞和无机砷形态 HPLC-ICP-MS 测定法.....	6
参考文献	8

前 言

本文件按照GB/T1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国医学科学院药用植物研究所提出。

本文件由中华中医药学会归口。

本文件起草单位：中国医学科学院药用植物研究所、北京中医药大学、北京市药品检验研究院、中国中药公司、上海市药材有限公司、无锡中德伯尔生物技术有限公司、盛实百草药业有限公司、山西振东制药股份有限公司、北京振东光明药物研究院有限公司、亳州市沪谯药业有限公司、北京园禾方圆植物科技股份有限公司、上海复振科技有限公司、北京鸿测科技发展有限公司。

本文件主要起草人：杨美华、孙晓波、骆骄阳、翟华强、郭洪祝、兰青山、李琦、罗长财、李刚、李安平、秦文杰、张洪坤、王其丰、孟宪军、曹丽娟、陈涌、徐涛、张连中、豆小文、王玉丹、郭梦月、秦家安、孔丹丹、张磊、赵祥升、何春娇。

动物药中甲基汞和无机砷的检测方法及限量

1 范围

本文件规定了动物药中甲基汞、无机砷的限量指标和检测方法。
本文件适用于蕲蛇、地龙、乌梢蛇等14种动物药中汞、砷限量检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定
GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
《中华人民共和国药典》通则2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法
《中华人民共和国药典》通则2322 汞和砷元素形态及其价态测定法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 动物药 animal medicine

来源于动物的药物，可以是动物的全体、器官、组织、生理或病例产物、提取物或加工品等。

3.2 限量 limit

允许在动物药表面或内部残留的内源或外源性化学物质的最高含量(或浓度)，以mg/kg计。

4 残留限量

动物药中汞、砷残留限量指标：应符合表 1 的要求。

表1 动物药中汞、砷残留限量指标

动物药（名称）	汞限量 mg/kg		砷限量 mg/kg	
	总汞 （以 Hg 计）	甲基汞 ^a	总砷 （以 As 计）	无机砷 ^b
珍珠	0.2	—	2	—
阿胶	0.2	—	2	—

牡蛎	0.2	—	2	—
水蛭	1	—	5	—
海螵蛸	0.2	—	10	—
蛤壳	0.2	—	2	—
冬虫夏草	0.2	—	—	—
鹿角胶	—	—	2	—
土鳖虫	—	—	—	1
地龙	—	—	—	1
蜈蚣	—	0.2	—	—
乌梢蛇	—	0.2	—	0.5
蕲蛇	—	0.2	—	0.5
金钱白花蛇	—	0.2	—	0.5
<p>a: 动物药可先测定总汞, 当总汞水平不超过甲基汞限量值时, 不必测定甲基汞; 否则, 需再测定甲基汞。</p> <p>b: 无机砷指 As(III)和 As(V)的总和。对于制定无机砷限量的动物药可先测定其总砷, 当总砷水平不超过无机砷限量值时, 不必测定无机砷; 否则, 需再测定无机砷。</p> <p>—: 无相应限量要求。</p>				

5 检测方法

5.1 方法一 汞、砷总量测定法

参照《中华人民共和国药典》四部 2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法。

5.2 方法二 液相色谱-原子荧光光谱 (LC-AFS) 法

5.2.1 液相色谱-原子荧光光谱 (LC-AFS) 法测定动物药中的甲基汞, 参照 GB 5009.17, 见附录 A。

5.2.2 液相色谱-原子荧光光谱 (LC-AFS) 法测定动物药中的无机砷, 参照 GB 5009.11, 见附录 A。

5.3 方法三 高效液相色谱法-电感耦合等离子体质谱 (HPLC-ICP-MS) 法 (仲裁法)

5.3.1 高效液相色谱法-电感耦合等离子体质谱测定法测定动物药中的甲基汞, 参考《中华人民共和国药典》四部 2322 汞、砷元素形态及价态测定法, 见附录 B。

5.3.2 高效液相色谱法-电感耦合等离子体质谱测定法测定动物药中的无机砷, 参考《中华人民共和国药典》四部 2322 汞、砷元素形态及价态测定法, 见附录 B。

注: 在汞、砷形态测定时, 可根据待测样品特点及检测精度需求选择检测方法, 方法三适用于方法二

检测结果存疑样品的复核。

附录 A

(规范性)

甲基汞和无机砷形态 LC-AFS 测定法

A.1 概述

本法系采用液相色谱-原子荧光光谱 (LC-AFS) 法测定待测样品中甲基汞、无机砷元素形态。

A.2 甲基汞元素形态测定法

A.2.1 色谱条件与系统适用性试验 使用 C_{18} 反相色谱柱或等效柱, 柱长为 15 cm; 以甲醇-0.04 mol/L 乙酸铵溶液 (含 0.1% L-半胱氨酸) (3:97) 为流动相; 由原子荧光光谱仪进行检测。3 种不同形态汞的分离度应不小于 1.5 (图 A.1)。

A.2.2 对照品贮备溶液的制备 分别准确称取氯化甲基汞、氯化乙基汞对照品适量, 加入少量甲醇溶解, 再准确称取氯化汞对照品适量, 用重铬酸钾的硝酸溶液 (0.5 g/L) 溶解, 加流动相制成每 1 mL 各含 1 μ g (均以汞计) 的溶液, 即得。

A.2.3 标准曲线溶液的制备 准确吸取甲基汞标准贮备溶液适量, 加流动相分别制成每 1 L 各含 0 μ g、1 μ g、5 μ g、10 μ g、30 μ g、50 μ g (均以汞计) 系列浓度的溶液, 即得。

A.2.4 待测样品溶液的制备 称取待测样品粉末 (过三号筛) 0.2 g~1.0 g, 置于 15 mL 塑料离心管中, 加入 10 mL 盐酸溶液 (5 mol/L)。室温下超声水浴提取 60 min, 期间振摇数次。4 $^{\circ}$ C 下以 8000 r/min 离心 15 min。准确吸取 2.0 mL 上清液至 5 mL 容量瓶或刻度试管中, 逐滴加入氢氧化钠溶液 (6 mol/L), 至样液 pH 3~7。加入 0.1 mL 的 L-半胱氨酸溶液 (1%), 用水稀释定容至刻度。经 0.45 μ m 有机系滤膜过滤, 即得。

本制备方法系通用性的推荐方法, 实践中可根据样品基质的不同而进行参数的适当调整, 并在各品种项下另作详细规定, 同时进行必要的方法学验证。

A.2.5 检测 依次将系列标准曲线溶液和试样溶液注入液相色谱-原子荧光光谱联用仪, 测定。以系列标准溶液中目标化合物的浓度为横坐标, 以色谱峰面积为纵坐标, 制作标准曲线, 根据标准曲线得到待测样品溶液中甲基汞的浓度, 即得。

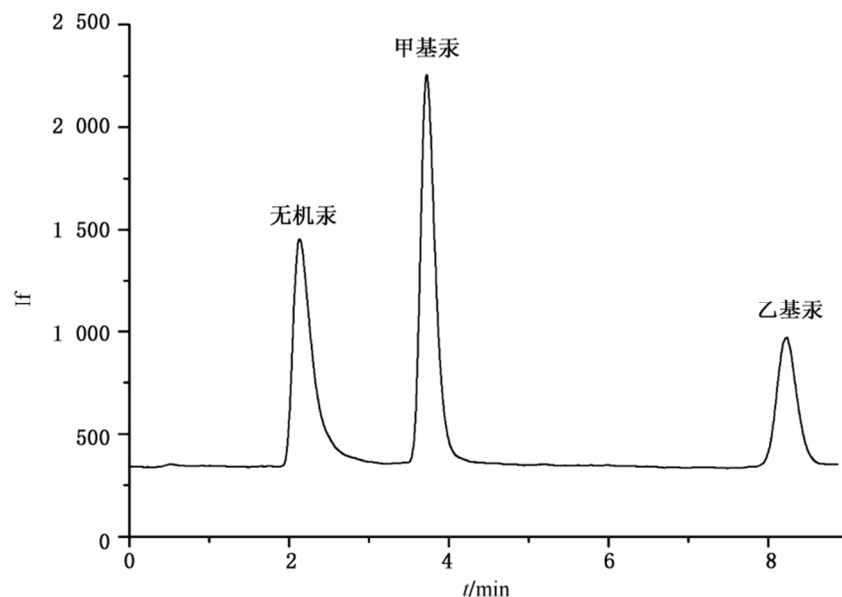


图 A.1 汞元素形态测定图谱

A.3 无机砷形态测定法

A.3.1 色谱条件与系统适用性试验 使用阴离子交换色谱柱或等效柱；以1 mmol/L磷酸二氢铵溶液（pH 9.0）为流动相A，20 mmol/L磷酸二氢铵溶液（pH 8.0）为流动相B，按表A.1进行梯度洗脱，流速1.0 mL/min；由原子荧光光谱仪进行测定。不同形态砷的分离度应不小于1.5（图A.2）。

A.3.2 对照品贮备溶液的制备 准确称取三氧化二砷、砷酸二氢钾标准品适量，加超纯水制成每1 L各含1 mg（均以砷计）的As(III)、As(V)对照品溶液，即得。

A.3.3 标准曲线溶液的制备 精密吸取对照品贮备溶液适量，加超纯水制成每1 mL各含0 ng、5 ng、10 ng、20 ng、30 ng、50 ng、100 ng（均以砷计）系列浓度的溶液，摇匀，即得。

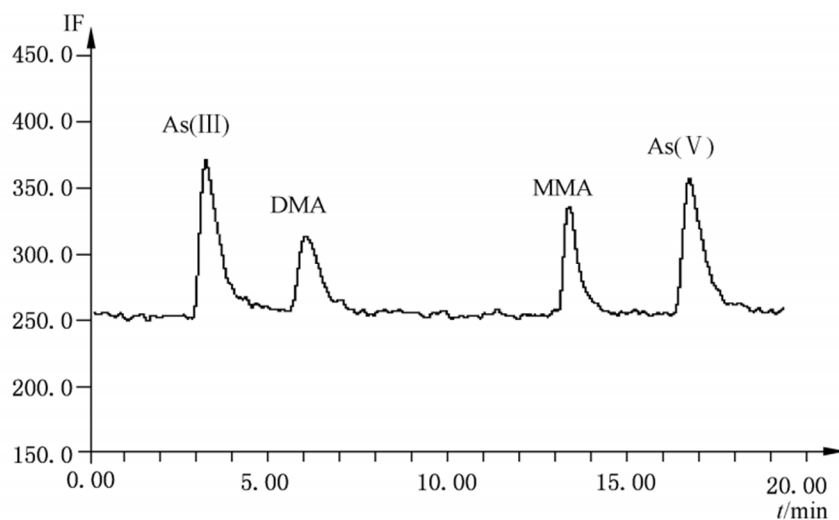
A.3.4 待测样品溶液的制备 称取约1.0 g待测样品（过三号筛，准确至0.001 g），置于50 mL塑料离心管中，加入20 mL 0.15 mol/L硝酸溶液，放置过夜。于90 °C恒温箱中热浸提25 h，每0.5 h 振摇1 min。提取完毕，取出冷却至室温，8000 r/min离心15 min。取5 mL上清液置于离心管中加入5 mL正己烷，振摇1 min后，8000 r/min离心15 min，弃去上层正己烷。按此过程重复一次。吸取下层清液，经0.45 μm有机系滤膜过滤及C₁₈小柱净化后进样。

本制备方法系通用性的推荐方法，实践中可根据样品基质的不同而进行参数的适当调整，并在各品种项下另作详细规定，同时进行必要的方法学验证。

A.3.5 检测 分别吸取系列标准曲线溶液和待测样品溶液各100 μL，注入液相色谱-原子荧光光谱仪，测定。以系列标准曲线溶液中色谱峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算待测样品溶液中As(III)、As(V)的含量，即得。

表A.1 流动相梯度洗脱程序

组成	时间/min					
	0	8	10	20	22	32
流动相 A/%	100	100	0	0	100	100
流动相 B/%	0	0	100	100	0	0



As(III)—亚砷酸；DMA—二甲基砷；MMA—一甲基砷；As(V)—砷酸

图 A.2 砷元素形态测定图谱

附录 B

(规范性)

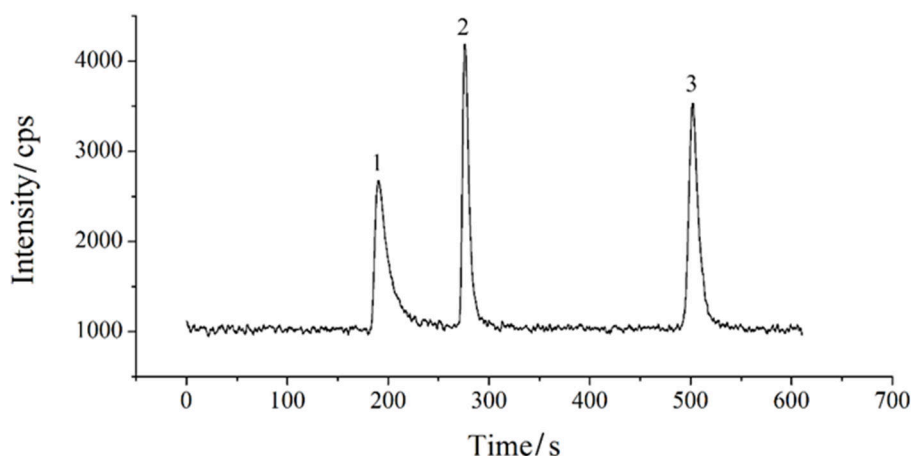
甲基汞和无机砷形态 HPLC-ICP-MS 测定法

B.1 概述

本法系采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱 (HPLC-ICP-MS) 法测定待测样品中甲基汞、无机砷形态。

B.2 汞元素形态测定法

B.2.1 色谱、质谱条件与系统适用性试验 使用 C_{18} 反相色谱柱或等效柱, 柱长为 15 cm; 以甲醇-0.01 mol/L 乙酸铵溶液 (含 0.12% L-半胱氨酸, 氨水调节 pH 值至 7.5) (8:92) 为流动相, 流速 0.8 mL/min。以同轴雾化器和碰撞反应池的电感耦合等离子体质谱进行检测; 测定时选取的同位素为 ^{202}Hg , 根据干扰情况选择正常模式或碰撞池反应模式。3 种不同形态汞的分离度应不小于 1.5 (图 B.1)。



1.氯化汞 (二价汞); 2.甲基汞; 3.乙基汞

图 B.1 汞元素形态测定图谱

B.2.2 对照品贮备溶液的制备 分别取氯化汞、甲基汞、乙基汞对照品适量, 精密称定, 加 8% 甲醇制成每 1 mL 各含 100 ng (均以汞计) 的溶液, 即得。

B.2.3 标准曲线溶液的制备 精密吸取对照品贮备溶液适量, 加 8% 甲醇分别制成每 1 mL 各含 0.0 ng、0.2 ng、0.5 ng、1 ng、5 ng、10 ng、20 ng (均以汞计) 系列浓度的溶液, 即得。

B.2.4 待测样品溶液的制备 取待测样品粉末 (过三号筛) 0.2~0.5 g, 精密称定, 加 0.1 mol/L 硝酸银溶液 200~600 μL , 精密加入硝酸人工胃液适量, 置 37~45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热约 20~24 h, 取出, 摇匀, 室温放置 2 h, 取上清液, 用 0.22 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。同法制备空白溶液。

本制备方法系通用性的推荐方法, 实践中可根据样品基质的不同而进行参数的适当调整, 并在各品种项下另作详细规定, 同时进行必要的方法学验证。

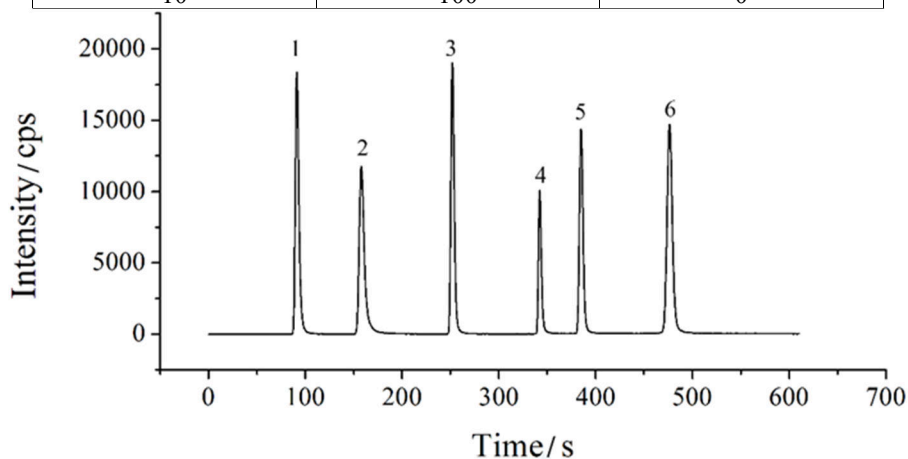
B.2.5 检测 分别吸取系列标准曲线溶液和待测样品溶液各 10~20 μL , 注入液相色谱仪, 测定。以系列标准曲线溶液中不同形态汞的峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 计算待测样品溶液中不同形态汞的含量, 即得。

B.3 砷元素形态测定法

B.3.1 色谱、质谱条件与系统适用性试验 以聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物载体键合三甲基铵阴离子交换材料或相当的材料为填充剂，柱长为 25 cm，以 2 mmol/L 碳酸铵溶液为流动相 A，以 100 mmol/L 碳酸铵溶液为流动相 B，按表 B.1 进行梯度洗脱，流速 1.0 mL/min。以同轴雾化器和碰撞反应池的电感耦合等离子体质谱进行检测；测定时选取的同位素为 ^{75}As ，选择碰撞池反应模式或根据不同仪器的要求选用适宜校正方程进行校正。6 种形态砷的分离度应不小于 1.5（图 B.2）。

表 B.1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	100	0
2	100	0
5	0	100
7	0	100
10	100	0



1.砷甜菜碱；2.亚砷酸（三价砷）；3.二甲基砷；
4.砷胆碱；5.一甲基砷；6.砷酸（五价砷）

图 B.2 砷元素形态测定图谱

B.3.2 对照品贮备溶液的制备 分别取亚砷酸、砷酸、一甲基砷、二甲基砷、砷胆碱、砷甜菜碱对照品适量，精密称定，加超纯水制成每 1 mL 各含 2 μg （均以砷计）的对照品溶液，即得。

B.3.3 标准曲线溶液的制备 精密吸取对照品贮备溶液适量，加超纯水制成每 1 mL 各含 0.0 ng、0.5 ng、1 ng、5 ng、20 ng、50 ng、100 ng、200 ng、500 ng（均以砷计）系列浓度的溶液，摇匀，即得。

B.3.4 待测样品溶液的制备 取待测样品粉末（过三号筛）0.2~0.5 g，精密称定，精密加入硝酸人工胃液适量，置 37~45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 20~24 h，取出，摇匀，放置 2 h，取上清液，用 0.22 μm 滤膜滤过，取续滤液，即得。同法制备空白溶液。

本制备方法系通用性的推荐方法，实践中可根据样品基质的不同而进行参数的适当调整，并在各品种项下另作详细规定，同时进行必要的方法学验证。

B.3.5 检测 分别吸取系列标准曲线溶液和待测样品溶液各 10~20 μL ，注入液相色谱仪，测定。以系列标准曲线溶液中不同形态砷的峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算待测样品溶液中不同形态砷的含量，即得。

参考文献

- [1] ISO 18664-2015 中医药-中草药中重金属含量测定(Traditional Chinese Medicine—Determination of heavy metals in herbal medicines used in Traditional Chinese Medicine)
- [2] GB 2762—2022食品安全国家标准 食品中污染物限量
- [3] 赵润怀, 贾海彬, 周永红, 朱悦, 刘睿, 郭盛, 段金赓. 我国动物药资源供给现状及可持续发展的思考[J]. 中国现代中药, 2020, 22(6): 835-839.
-