

高效液相色谱分析法测定几种煲汤药材金属元素含量

苏新国^{1,2}, 杨春燕³, 段俊², 段学武², 蒋跃明²

(1. 广东化工制药职业技术学院食品科学系, 广东 广州 510520)

2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650

3. 珠海真绿色技术有限公司, 广东 珠海 519060)

摘要: 采用四-(对氨基苯基)-吡啶(T4-APP)柱前衍生, 以固相萃取富集, 利用高效液相色谱法测定四种广东常用煲汤药材(五指毛桃、鸡骨草、海底椰和土茯苓)及其汤底中六种重金属元素: 镍、铜、锡、铅、镉、汞的含量。结果表明四种药材均含有一定量的重金属元素, 其中以铜含量最高, 浓度范围为12.96~37.28 μg/g, 而汞含量最低为0.07~0.73 μg/g; 经过长时间煲煮后, 汤底中的重金属元素残留比例有所差异, 其中镉(Cd)的残留量最

收稿日期: 2007-05-01

基金项目: 中国博士后科学基金项目(20060390720); 中国科学院农业办公室“十一五”项目(KSCX2-YW-N-44-02); 广东化工制药职业技术学院科研项目(2006017)

作者简介: 苏新国(1977-), 男, 副研究员, 博士, 主要从事食品科学研究。

含的化学成分不一致, 含量大多以花蕊中的稍高; 且一朵茶树花中花瓣和花蕊的质量比为1:1.25~1.67, 花蕊较花瓣要重, 因此从绝对含量来说, 茶树花中的化学成分多酚、总糖、多糖在花蕊中的含量更丰富。

由此可见茶树花中含有丰富的多酚、多糖, 适用于食品、医药行业开发利用, 加之其丰富的总糖, 更适宜开发天然茶树花保健品、饮料等。

3 结论

3.1 实验表明茶树花中也含有丰富的多酚, 含量为6.35%~8.19%, 多酚成分与茶叶相似。利用高效液相色谱法检测出茶树花多酚由表没食子儿茶素(EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素(EC)、没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)儿茶素类化合物组成。

3.2 茶树花总糖含量为20.97%~33.60%, 远远高于茶叶; 多糖含量为1.04%~1.84%, 比新茶叶高。气相色谱法检测出茶树花多糖单体有葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖、半乳糖醛酸、甘露糖、木糖、岩藻糖、鼠李糖。

参考文献:

[1] 伍锡岳, 熊宝珍, 何睦礼. 茶树花果利用研究总结报告[J]. 广东茶业,

1996(3): 11-23.

- [2] TATEYAMA C, HONMA N, NAMIKI K, et al. Polyphenol content and antioxidative activity of various flower petal[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 1997, 44(4): 290-299.
- [3] 凌彩金, 庞式. 茶树花制茶工艺技术研究报告[J]. 广东茶业, 2003(1): 16-20.
- [4] CHEN Rong-yi, ZHANG Xin-shen, SHEN Jin-shan, et al. Study on comprehensive extraction of tea polyphenols, caffeine, theanine and tea polysaccharides[J]. Shipin Kexue, 2005, 26(4): 174-177.
- [5] BHATIA I S, ULLAH M R. Polyphenols of tea. IV. Qualitative and quantitative study of the polyphenols of different plant parts and some cultivated varieties of tea plant[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1968, 19(9): 535-542.
- [6] LIN Y S, WU S S, LIN T K, et al. Determination of tea polyphenols and caffeine in tea flowers (*Camellia sinensis*) and their hydroxyl radical scavenging and nitric oxide suppressing effects[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 975-980.
- [7] HU Qiu-fen, LI De-liang, LI Hai-tao, et al. Study on microcolumn high performance liquid chromatography method for the determination of tea polyphenols[J]. Shipin Kexue, 2004, 25(6): 147-149.
- [8] YAO Li-hu, JIANG Yue-ming, DATTA Nivedita. HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea grown in Australia[J]. Food Chemistry, 2004, 84: 253-263.
- [9] COPELAND E L, CLIFFORD M N, WILLIAMS C M. Preparation of epigallocatechingallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition[J]. Food Chemistry, 1998, 61: 81-87.
- [10] 董瑞建, 梁文娟, 黄阿根. 茶花多酚提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(1): 83-86.
- [11] 许新德, 高荫榆, 陈才水. 茶叶多糖的纯化及组分研究[J]. 食品科学, 2000, 21(8): 13-15.

高, 达到 63.97%~76.32%, 而铜(Cu)的残留量最低, 仅为 26.56%~36.67%。土茯苓具有最高含量的铜元素为 37.28%, 但其锡、铅和汞元素的含量最低, 分别为 0.69、0.37 和 0.07 $\mu\text{g/g}$, 并且在汤底中的残留比例最高, 分别为 75.36%、91.89% 和 85.71%; 其它三种药材及其汤底中残留重金属含量相近, 没有明显差异。

关键词: 煲汤药材; 四-(对氨基苯基)-卟啉; 高效液相色谱; 重金属元素

Determination of Metal Elements in Hearty Chinese Soup Herb by High Performance Liquid Chromatography

SU Xin-guo^{1,2}, YANG Chun-yan³, DUAN Jun², DUAN Xue-wu², JIANG Yue-ming²

(1. Department of Food Science, Guangdong Vocational and Technical College of Chemical Engineering Pharmaceutics, Guangzhou 510520, China; 2. South China Botanic Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 3. Zhuhai Gengreen Technology Corporation, Zhuhai 519060, China)

Abstract: A new method for the determination of nickel, copper, tin, lead, cadmium and mercury elements in Hearty Chinese Soup herb (*Ficus simplicissima*, *Abrus cantoniensis*, *Polygonatum odoratum druce* and *Smilax glabra*) by solid phase extraction and high performance liquid chromatography was studied. The nickel, copper, tin, lead, cadmium and mercury ions were pre-column derived by tetra-(amidogenphenyl)-porphine (T4-APP). The results show that copper element has the highest content with 12.96~37.28 $\mu\text{g/g}$ and mercury has the lowest content with 0.07~0.73 $\mu\text{g/g}$ in those herb; and the decocted herb has a few of residues metal elements, cadmium had the highest rudimental proportion with 63.97%~76.32% and copper has the lowest with 26.56%~36.67%. *Smilax glabra* has the lowest content of tin, lead and mercury, separately 0.69, 0.37, and 0.07 $\mu\text{g/g}$.

Key words Hearty Chinese Soup herb; tetra-(amidogenphenyl)-porphine (T4-APP); high performance liquid chromatography (HPLC); heavy metal elements

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0403-04

老火靚汤一直是广东最有特色的汤类, 它以多种中药材与家禽、肉类一起煲制几个小时, 其营养价值较高, 同时还具有健脾化湿、行气化痰、清热解毒等保健功效, 经过煲煮之后的药材成为“汤底”^[1]。其中尤以五指毛桃(*Ficus simplicissima*)、鸡骨草(*Abrus cantoniensis*)、海底椰(*Polygonatum odoratum druce*)、土茯苓(*Smilax glabra*)四种药材最为常见^[2], 具有健脾化湿、行气化痰、舒筋活络、清热解毒, 舒肝止痛、滋润养颜等功效, 比较适合广东气候条件下的疾病预防和保健^[3]。随着人类健康意识的不断提高, 人们对食品安全的意识逐渐增强, 近几年来, 食品中重金属元素残留的安全问题也日益受到了人们的重视; 由于这些煲汤药材在广东食用广泛, 且经常直接与食物混合食用, 其质量好坏直接关系到人们的健康安全, 因此需要在注重其保健功效的同时, 对这些煲汤药材中的重金属含量进行分析研究。

当前食品中金属元素分析较为先进的方法以光谱分析为主, 如原子吸收光谱法(FAAS、GAAS)、电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP)、原子荧光法(AFS)、ICP-MS 联用、流动注射-原子吸收(原子发射、原子荧光)法联用等^[4]。近几年来高效液相色谱法(HPLC)在无机分析中的应用研究取得了迅速发展, 痕量金属离子与有机试剂形成稳定的有色衍生物, 再利用高效液相色谱

分离, 紫外-可见光度检测器测定金属离子, 可以实现多种金属离子直接分离、简单快速, 另外高效液相色谱法还具有固定相和流动相种类多, 可供选择的参数多等特点^[5-7]。

本实验采用高效液相色谱法, 对广东煲汤药材中镍、铜、锡、铅、镉、汞六种重金属元素含量及其在老火靚汤中的分布情况进行研究, 为广东老火靚汤的食用安全评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

五指毛桃、鸡骨草、海底椰和土茯苓均购于广州市药材公司, 经中国科学院华南植物园系统演化中心鉴定为 *Ficus simplicissima*, *Abrus cantoniensis*, *Polygonatum odoratum druce* 和 *Smilax glabra*, 每种药材 2kg 经低温(60℃)干燥 12h 后, 取 50g 粉碎, 过 60 目筛, 分别置于隔气塑料袋中待用; 再分别称取 20g 上述干燥药材, 加 500ml 重蒸水, 模拟老火靚汤制作条件, 大火煮开后, 小火保持微沸状态 4h, 之后将汤底(煲煮后的药材)取出, 低温(60℃)干燥 24h, 粉碎后过筛待用。

1.2 试剂与仪器

四-(对氨基苯基)-卟啉 Sigma 公司; 甲醇(色

谱纯) Merck 公司; 其他试剂均为国产分析或色谱纯。

1100 系列高效液相色谱仪(配自动进样器, 检测器为光电二极管阵列式紫外检测器) Agilent 公司; 预柱为 Security Guard C₁₈ 柱(4mm×2.0mm, 5μm) 美国 Phenomenex 公司; 色谱柱为 Alltima C₁₈ 柱(2.1×150mm, 5μm) 美国 Alltech 公司。

1.3 微波消解条件

准确吸取 0.2g 的干燥的药材粉末, 置于聚四氟乙烯溶样杯中, 加入浓硝酸 2ml, 高氯酸 0.5ml, 室温下放置 2h 进行预反应, 然后 0.5MPa 压力下微波消化 3min, 冷却后开启消解罐, 将聚四氟乙烯溶样杯置于电热板上加热, 以赶尽 NO₂ 和过剩的 HNO₃, 冷却后加入 20ml 重蒸水溶解, 并全部转移至 100ml 容量瓶中, 用重蒸水定容, 稀释一定倍数后, 待测定; 上述实验样品处理均设 4 组重复。

1.4 柱前衍生化条件

参照杨亚玲等人^[8]的方法略有改进, 准确量取 2ml 的镍、铜、锡、铅、镉、汞六种重金属元素标样或样品消化液于 50ml 棕色容量瓶中, 加入 1.0×10^{-3} mol/L 四-(对氨基苯基)-吡啶 (T4-APP) 溶液 2ml, pH 10.0 的硼砂-氢氧化钠缓冲溶液 5ml, 2% TritonX-100 溶液 2 ml, 用水稀释到近刻度, 于沸水浴中加热 15min, 流水冷却, 定容至 50ml; 再将反应完毕的显色液以 10ml/min 的流速通过 ZORBAX RP-18 固相萃取小柱, 富集完后以 2.0ml 四氢呋喃洗脱(流速为 10ml/min), 洗脱液以高纯氮吹至 0.6ml, 以甲醇定容到 1.0ml, 用 0.45μm 针头过滤器过滤, 进样 5.0μl 分析。

1.5 色谱条件

美国 Agilent 公司高效液相色谱仪(1100 系列四元泵, 自动进样器, DAD 检测器), 预柱为 Security Guard C₁₈ 柱, 色谱柱为 Alltima C₁₈ 柱; 流动相为甲醇-四氢呋喃(92/8)内含 0.05mol/L pH10.0 四氢吡咯-醋酸缓冲溶液, 进样体积为 5.0μl, 流速为 1.0ml/min, 由二极管阵列检测器所记录光谱图可知: Ni、Cu、Sn、Pb、Cd 和 Hg 的 T4-APP 络合物最大吸收波长均在 430~450nm 附近^[9-10], 因此本实验标样和样品的测定条件均选定在 440nm 波长处。

1.6 数据分析

采用 SAS 8.12, 结果以 Mean ± SD 表示。

2 结果与分析

2.1 工作曲线及其检测限

分别配制浓度为 1、10、50、100、200 和 500μg/L 的六种金属离子对照品溶液, 按上述实验方法进行衍生化显色后进样分析, 根据金属离子各浓度的峰

面积可得工作曲线; 当调整进样量为 10μl 时, 根据信噪比 S/N=3, 计算得各组份的检测限, 该方法对六种重金属元素的检测限均可达到 5ng/L 以下, 其线性范围可控制在 0.1~1200μg/L 范围内, 表现出较好的专一性和灵敏度, 结果如表 1 所示。

表 1 高效液相色谱法测定药材中镍、铜、锡、铅、镉和汞的回归方程、线性范围和检测限

Table 1 Regression equation, linear range and detect limit of six metal chelated-compounds content by HPLC

组分	回归方程	线性范围 (μg/L)	检测限 (ng/L)	RSD (%)
Ni-T4-APP	$A=8.98 \times 10^5 C-169$	0.2~600	3.0	1.6
Cu-T4-APP	$A=1.73 \times 10^6 C-378$	0.1~1000	2.1	2.1
Sn-T4-APP	$A=3.67 \times 10^6 C+127$	0.2~850	4.7	3.2
Pb-T4-APP	$A=6.87 \times 10^5 C+298$	0.3~1200	5.0	1.8
Cd-T4-APP	$A=2.69 \times 10^6 C-271$	0.2~1000	4.2	1.9
Hg-T4-APP	$A=1.67 \times 10^6 C-94$	0.2~1000	3.8	3.7

注: A 为峰面积; C 为金属离子浓度(μg/L); 回归方程的 r² 均大于 0.9500。

2.2 煲汤药材中六种重金属元素含量

四种药材中均含有一定量的重金属元素(表 2), 这四种药材中的重金属含量相近, 基本没有明显差异; 其中铜含量最高, 范围为 12.96~37.28μg/g; 而汞的含量最低为 0.07~0.73μg/g; 其它元素如镍的含量为 2.39~4.21μg/g; 锡的含量为 0.69~3.69μg/g; 铅的含量为 0.37~4.14μg/g; 镉的含量为 0.97~1.36μg/g; 特别是土茯苓中含有较高的铜元素, 且其所含的锡、铅和汞明显低于其它三种药材。但是这四种药材所含的铜和镉元素稍微超过国家食品卫生标准, 药材中有害微量元素含量主要取决于栽培的土壤、空气和水, 其中工业“三废”的污染及地质有害元素背景是其中最重要的因素^[11-12], 这一情况应在今后的食品安全监控中得到足够重视。

表 2 五指毛桃、鸡骨草、海底椰和土茯苓中镍、铜、锡、铅、镉和汞含量

Table 2 Six metal elements content in *Ficus simplicissima*, *Abrus cantoniensis*, *Polygonatum odoratum* druce and *Smilax glabra*

重金属 种类	药材中重金属含量(μg/g)			
	五指毛桃	鸡骨草	海底椰	土茯苓
镍(Ni)	4.15±0.57	3.69±0.81	2.39±0.62	4.21±1.03
铜(Cu)	12.96±1.37	18.39±2.67	17.36±1.37	37.28±4.69
锡(Sn)	2.39±0.47	1.87±0.38	3.69±0.57	0.69±0.27
铅(Pb)	1.37±0.36	2.87±0.29	4.14±1.08	0.37±0.11
镉(Cd)	1.31±0.28	1.36±0.17	0.97±0.18	1.14±0.27
汞(Hg)	0.12±0.06	0.10±0.04	0.73±0.09	0.07±0.04

2.3 煲汤后汤底中重金属元素含量

煲汤之后汤底中的重金属元素含量及其残留比例如表 3 所示, 经过长时间煲煎之后, 药材中所含的重金属

表3 煲汤后药材(汤底)中镍、铜、锡、铅、镉和汞含量及其残留比例

Table 3 Six metal elements content and relative proportion in residues of decocted herb

重金属种类	汤底中重金属含量($\mu\text{g/g}$)及其残留比例(%) [*]			
	五指毛桃	鸡骨草	海底椰	土茯苓
镍(Ni)	2.12 / 51.08	1.69 / 45.80	1.35 / 56.49	1.91 / 45.37
铜(Cu)	3.69 / 28.47	4.97 / 27.03	4.61 / 26.56	13.67 / 36.67
锡(Sn)	0.97 / 40.59	0.81 / 43.32	1.16 / 31.44	0.52 / 75.36
铅(Pb)	0.81 / 59.12	1.16 / 40.42	2.34 / 56.52	0.34 / 91.89
镉(Cd)	0.94 / 71.76	0.87 / 63.97	0.71 / 73.20	0.87 / 76.32
汞(Hg)	0.06 / 50.00	0.06 / 60.00	0.47 / 64.38	0.06 / 85.71

注: * 重金属残留比例=汤底中重金属含量/药材中重金属含量 $\times 100\%$ 。

元素逐渐溶入老火靓汤中,仅有部分残留在汤底之中。其中镉(Cd)的残留量最高,达63.97%~76.32%,而铜(Cu)的残留量最低仅为26.56%~36.67%,药材中高含量的铜元素经过高温煲煮后约有70%转移老火靓汤中,但镉元素仅有30%左右转移。土茯苓中的锡、铅和汞元素由于含量较低,因此较少被溶出,导致其残留比例最高。

3 结论

本实验以T4-APP为柱前衍生试剂,采用高效液相色谱法对煲制老火靓汤的四种常用药材(五指毛桃、鸡骨草、海底椰和土茯苓)中的镍、铜、锡、铅、镉、汞六种重金属元素含量及其汤中的分布状态进行快速分离和测定,结果表明该方法可以快速高效地通过分离这六种金属元素的衍生物,从而实现了多种金属离子直接分离,并且该方法对这些痕量元素还具有检测限低和专一性高的优点。

这四种药材及溶入老火靓汤中的铅、汞等危害较大的重金属的含量符合国家标准,这表明传统老火靓汤所采用的这四种药材可以安全地食用^[13-14]。在药材煲煮过程中,六种金属元素(镍、铜、锡、镉、铅和汞)按一定的比例溶入汤中,这些重金属元素在汤底中的残留比例也相近。

但是检测发现,四种药材中均有高含量的铜元素存在,中药所含的微量元素是体现中药功效的重要物质基础之一,中草药中除了有机类有效成分外,微量元素的治疗作用亦得到了人们的高度重视^[15];这些微量元素

具有多方面的生理功能,尽管在人体内含量甚微,但对人体健康起着重要作用^[16]。因此这些煲汤药材中的高含量铜元素具有怎样的功效,是否涉及到消费者食用安全,仍需进一步的调查和研究。

参考文献:

- [1] 徐曼. 煲汤给您好气色[J]. 食品与健康, 2006(4): 22-23.
- [2] 刘传明. 鸡骨草的种类与鉴别[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(4): 767-768.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 237-238.
- [4] 梁淑轩, 孙汉文. 痕量元素形态分析技术及其应用研究进展[J]. 理化检验: 化学分册, 2003(7): 434-437.
- [5] YANG G-Y, ZHANG C-M, HU Q-F, et al. Simultaneous determination of four heavy metal ions in tobacco and tobacco additive by online enrichment followed by RP-HPLC and microwave digestion[J]. Journal of Chromatographic Science, 2003, 41(4): 195.
- [6] HU Q-F, YAG G-Y, YIN J-Y, et al. Determination of trace lead, cadmium and mercury by online column enrichment followed by RP-HPLC as metal-tetra-(4-bromophenyl)-porphyrinchelates[J]. Talanta, 2002, 57(4): 751.
- [7] BYRDY F A, OLSON L K, VELA N P, et al. Chromium speciation by anion-exchange high-performance liquid chromatography with both inductively coupled plasma atomic emission spectroscopic and inductively coupled plasma mass spectrometric detection[J]. Journal of Chromatography A, 1995, 712: 311-320.
- [8] 杨亚玲, 杨国荣, 胡秋芬, 等. 固相萃取富集—高效液相色谱法测定4种中草药中的重金属元素[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(4): 441-443.
- [9] 吴献花, 林洪, 李海涛, 等. 用快速分离柱高效液相色谱法测定食品中的重金属元素的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 218-220.
- [10] HU Q-F, YANG G-Y, ZHAO Y-Y, et al. Determination of copper, nickel, cobalt, silver, lead, cadmium and mercury ions in water by solid phase extraction and the RP-HPLC with UV-Vis detection[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2003, 375(6): 831.
- [11] UEHARA N, JINNO K I, HASHIMOTO M, et al. Recent application of high performance liquid chromatography to the analysis of metal complexes[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 789: 395.
- [12] 朱兆仪, 郭艳文, 周远鹏, 等. 常用中草药品种整理和质量研究[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 1995: 528-535.
- [13] GB14935-1994 食品中铅限量卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.
- [14] GB4810-1994 食品中砷限量卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.
- [15] 樊祥嘉, 陈颖, 王淑英, 等. 中草药中微量元素形态分析方法研究[J]. 分析实验室, 1993, 12(4): 52-57.
- [16] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草精选本: 下册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1998: 1601-1607.

中国学术期刊文摘(英文版)收录期刊