

用高效液相色谱法测定单糖价格昂贵, 分析成本高^[7]; 文献^[8]首次将 1- 苯基 -3- 甲基 -5- 吡唑啉酮 (PMP) 用于糖类物质的衍生。PMP 是还原性糖的最好衍生生化试剂之一, 分析时不产生异构峰, 可与还原糖的醛基反应, 且在 250 nm 处有强烈的紫外吸收, 是近年来发展的单糖衍生化新方法。本研究所用的多糖提取方法和衍生化方法均参考此法, 结合灵敏度、选择性等方面的问题, 通过 PMP 柱前衍生化 HPLC 法, 使糖类物质带上发色基团, 用紫外检测器和 C₁₈ 柱分离分析椴栲多糖的单糖组成, 分析了椴栲多糖中单糖含量, 结果表明方法准确, 重复性好, 能够满足含量测定的要求。按照 2.4 色谱条件检测, 对比混合单糖标准品衍生化后的 HPLC 图谱(图 1)与椴栲多糖水解液衍生化后的 HPLC 图谱(图 2)进行分析, 从标准品的色谱图看, 色谱峰 4 (半乳糖) 与 5 (木糖) 分离度低, 需要色谱条件进一步优化。根据色谱峰峰位即保留时间确定椴栲多糖中含有甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖等 5 种中性单糖, 没有发现木糖。其中, 甘露糖的含量最少, 半乳糖和阿拉伯糖的含量较高, 分别为 16.62 % 和 20.44 %。椴栲多糖色谱图(图 2)中还有保留时间分别为 16.501, 24.540, 29.258, 33.640 和 51.508 min 的糖成分, 待进一步研究确定。根据分析和计算方法, 采用校正因子计算单糖组成比例, 求得椴栲多糖中甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖之间的摩尔比为 0.10 : 0.72 : 1.12 : 4.23 : 4.73。PMP 柱前衍生高效液相色谱法简单, 快速, 便捷, 稳定, 可应用于椴栲多糖的单糖组成分析。

3.2 椴栲多糖对 PTP1B 的抑制活性 取椴栲多糖,

按照 2.2 项下方法进行体外 PTP1B 抑制活性测试, 结果发现椴栲多糖在 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 工作浓度下抑制率达到 90 %, IC₅₀ 为 2.068 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。表明椴栲多糖具有较强的 PTP1B 抑制活性。PTP1B 抑制活性已被提议作为治疗 II 型糖尿病和肥胖的治疗, 因此, 椴栲多糖具有预防或治疗糖尿病潜力, 有待更深入地研究。本文为今后椴栲多糖的开发利用及进一步开发新型调节血糖的药物提供科学依据。

参考文献:

- [1] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志 (第二卷第二分册)[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1995: 287.
- [2] 帕丽达·阿不力孜, 阿孜古丽·依明, 买吾丽旦. 新疆椴栲果实化学成分初步研究(一)[J]. 中国民族民间医药, 2009, 12: 7-8.
- [3] 尼米吐拉·艾白都拉, 买买提江·马合木提, 木塔力甫·艾力. 维吾尔医常用药材 (维吾尔文)[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2005: 133.
- [4] 谭仁祥. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 363.
- [5] 张敬芳, 吴勇, 欧阳静萍, 等. 胰岛素信号转导调节分子 PTP1B 及其抑制剂研究的进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2006, 14 (3): 235-236.
- [6] Lehrfeld J. Structural studies of the D-glucomannan isolated from Aloe Vahombe[J]. Anal Biochem, 1981, 115(2): 410-418.
- [7] Fu D, O'Neill R A. Monosaccharide composition analysis of oligosaccharides and glycoproteins by high performance liquid chromatography [J]. Anal Biochem, 1995, 227(2): 377-384.
- [8] Honda S, Akao E, Suzuki S, et al. High performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives[J]. Anal Biochem, 1989, 180(2): 351-357.

(编辑: 宋威)

不同产地北沙参中重金属含量的测定

叶国华, 张钦德, 许一平, 吕方军(山东中医药高等专科学校, 山东 烟台 264199)

摘要: 目的 测定北沙参中重金属及有害元素含量, 比较不同产地北沙参中的铜、铅、砷、镉、汞 5 种元素的含量。**方法** 采用火焰原子吸收法测定铜, 采用石墨炉原子吸收法测定铅、镉, 采用原子荧光光谱法测定砷、汞, 并根据标准曲线计算其含量。**结果** 北沙参药材中铜、砷、汞含量均低于国家限量标准, 安国地区北沙参药材中铅、镉含量高于国家限量标准。**结论** 建立的方法为科学制定中药材北沙参中重金属限量标准, 提高北

收稿日期: 2013-03-12

作者简介: 叶国华, 女, 副教授, 研究方向: 中药分析与质量控制的教学与科研。Email: yeguohua_sd@126.com。

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2009-259)。

沙参药材的质量, 保证临床安全用药提供科学依据。

关键词: 北沙参; 重金属; 原子吸收光谱; 原子荧光光谱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0407-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.022

Determination of Heavy Metals in Radix Glehniae from Different Producing Areas

YE Guohua, ZHANG Qinde, XU Yiping, LV Fangjun (Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199 Shandong, China)

Abstract: Objective To determine the contents of heavy metals and harmful elements in Radix Glehniae from different producing areas and to compare the contents of Cu, Pb, As, Cd and Hg. **Methods** Cu was determined by flame atomic absorption spectrometry, Pb and Cd were determined by graphite atomic absorption spectrometry, and the contents of As, Hg were determined by atomic fluorescence spectroscopy. The contents were calculated simultaneously by calibration curves. **Results** The contents of Cu, As, Hg were lower than the national limit standard, but the contents of Pb, Cd in some areas were higher than the national limit standard. **Conclusion** This experiment provides the scientific basis for formulating the element limit standard, improving the quality of Radix Glehniae, and ensuring the clinical safety.

Keywords: Radix Glehniae; Heavy metals; Atomic absorption spectroscopy; Atomic fluorescence spectroscopy

北沙参(*Glehnia littoralis* Fr.Schmidt ex Miq)为伞形科植物珊瑚菜的干燥根, 属于中医临床常用药材之一, 性甘, 味微苦、微寒, 归肺、胃经, 具有养阴清肺、益胃生津之功效^[1]。除药用外, 常作为保健食品使用。近年来, 国内外学者对北沙参进行了大量研究, 主要集中在化学成分、炮制工艺、营养元素及药理作用等方面^[2], 对其中重金属含量研究较少。北沙参收载于《中国药典》2010年版, 其中, 有关药材安全性方面重金属限量未作规定。中药材质量的好坏, 直接影响到患者的安全和疗效, 重金属是中药的重要污染物之一, 一般包括铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、铜(Cu)、汞(Hg)等。目前, 国际上对药物中的有毒重金属含量限制也极为严格, 本文拟测定Cu、Pb、As、Cd、Hg等5种有害元素的含量, 为北沙参质量标准的进一步完善及临床合理用药提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 AA-6300型原子吸收分光光度计(P/N 206-51800), GFA-EX7i石墨炉, ASC-6100自动进样器, 日本岛津公司; Cu、Pb、Cd空心阴极灯, 北京有色金属研究院; PF6-2非色散原子荧光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; As、Hg空心阴极

灯, 威格拉斯仪器北京有限公司; FJY2002-E-UVF基因研究型超纯水机, 青岛富勒姆科技有限公司; MKX-HX1A3型微波消解仪, 青岛迈可威微波应用技术有限公司; 四氟乙烯恒压消解罐, 上海新仪微波化学科技有限公司; BAS224S-CW型电子天平, 德国赛多利斯公司; DHG-9140A型数显电热鼓风干燥箱, 上海鹏顺科学有限公司。

1.2 试剂 Cu、Cd、Pb、As、Hg单元素标准储备液1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 国家标准物质研究中心; 硫脲、抗坏血酸、高氯酸、硝酸及盐酸, 均为优级纯, 其余均为分析纯; 10 % $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液, 实验用水为超纯水, 电阻率18.3 $\text{m}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ 。

1.3 样品 北沙参药材于2011年10月采自山东莱阳高格庄镇胡城村、山东莱阳高格庄镇鲍村、内蒙古赤峰喀喇沁旗牛家营子镇牛家营子、河北安国。为人工栽培北沙参, 经山东中医药高等专科学校中药系张钦德教授鉴定为伞形科植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* Fr.Schmidt ex Miq 的块根(大红袍品种)。每种北沙参药材采集质量不少于1.0 kg。采回后用自来水洗净泥土, 再用去离子水漂洗3次。晾干后置于烘箱中以60 $^{\circ}\text{C}$ 烘至恒重。将烘干的样品用粉碎机粉碎, 过60目筛, 装入密封塑料袋待测。

2 方法与结果

2.1 仪器工作条件 铜采用火焰原子吸收法，测定条件见表 1；铅、镉采用石墨炉原子吸收法，测定条件

见表 2；砷、汞采用原子荧光法，以氩气为载气，2 %HCl 为载液，1.5 %NaBH₄(0.5 %NaOH)为还原剂，具体测定条件见表 3。

表 1 火焰法测定条件

Table 1 Dertermination conditions for FAAS(flame atomic absorption spectrometry)

元素	火焰类型	波长 /nm	灯电流 /mA	狭缝长度 /mm	燃烧高度 /mm	空气流量 /L·min ⁻¹	燃气流量 /L·min ⁻¹
Cu	Air-C ₂ H ₂	324.8	6.0	0.70	7	15	1800

表 2 石墨炉法测定条件

Table 2 Dertermination conditions for GFAAS(graphite furnace atomic absorption spectrometry)

元素	波长 /nm	灯电流 /mA	干燥 1		干燥 2		灰化		原子化	
			温度 /℃	时间 /s	温度 /℃	时间 /s	温度 /℃	时间 /s	温度 /℃	时间 /s
Pb	283.3	10	150	20	250	10	800	23	1800	2
Cd	228.8	8	120	20	250	10	700	23	1500	2

表 3 砷、汞原子荧光法测定条件

Table 3 Dertermination conditions for AFS(Atomic fluorescence spectrometry)

元素	波长 / nm	负高压 / V	灯电流 / mA	载气流量 /mL·min ⁻¹	屏蔽气流量 /mL·min ⁻¹	原子化高度 / mm	读数时间 /s
As	193.7	280	30	300	600	8	12
Hg	253.7	280	24	300	600	8	13

2.2 样品溶液的制备

2.2.1 铜、铅、镉样品溶液的制备 精密称定北沙参样品粉末 0.50 g，置于 250 mL 具塞锥形瓶中，先用少量蒸馏水润湿，再加入混合酸(硝酸：高氯酸 = 4：1)10 mL 盖好瓶塞过夜。次日在电热板上加热，先低温 110 ℃加热至棕色烟冒尽后调至高温 160 ℃加热，直至冒白烟，消化液呈无色透明或略带黄色，继续加热至近干，取下冷却，转移到 50 mL 容量瓶中，用 1 %的硝酸定容，待测。测 Pb、Cd 加入改进剂 10 %NH₄H₂PO₄ 溶液 1 mL，然后再定容。同法制备试剂空白溶液。

2.2.2 砷、汞样品溶液的制备 精密称定北沙参样品粉末 0.25 g 于消化罐中，加入硝酸与双氧水混合液(硝酸：双氧水 = 2：1)消化，微波消解，转移到 25 mL 容量瓶中，加入 10 %的硫脲-10 %抗坏血酸混合溶液 5 mL，用 2 %的盐酸定容至刻度。同法制备试剂空白溶液。

2.3 标准系列的制备

2.3.1 Cu 标准系列的制备 精密量取 Cu 标准储备液适量，用 1 %HNO₃ 溶液稀释成 10 μg·mL⁻¹，临用时配成 0，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0 μg·mL⁻¹ 标准系列。

2.3.2 Cd 标准系列的制备 精密量取 Cd 标准储备液适量，用 1 %HNO₃ 溶液稀释成 10 μg·L⁻¹，临用时

配成 2 μg·L⁻¹，仪器自动配成 0，0.2，0.4，0.8，1.2，1.6，2.0 μg·L⁻¹ 标准系列。

2.3.3 Pb 标准系列 精密量取 Pb 标准储备液适量，用 1 % HNO₃ 溶液稀释成 100 μg·L⁻¹，临用时配成 50 μg·L⁻¹，仪器自动配成 0，5，10，15，20，25，30 μg·L⁻¹ 标准系列。

2.3.4 As 标准系列 取砷单元素标准溶液，用 2 %盐酸稀释成 200 μg·L⁻¹，仪器自动稀释，分别精密吸取 0，1，2，4，6，8，10 mL，精密加入 10 %的硫脲-10 %抗坏血酸混合溶液 10 mL，用 2 %盐酸溶液定容至 100 mL，配成 0，2，4，8，12，16，20 μg·L⁻¹ 的标准系列。

2.3.5 Hg 标准系列 取汞单元素标准溶液，用 2 %盐酸稀释成 10 μg·L⁻¹ 仪器自动稀释，分别精密吸取 0，1，2，4，6，8，10 mL，用 2 %盐酸定容至 100 mL，配制成 0，0.1，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0 μg·L⁻¹ 的标准系列。

2.4 标准曲线绘制 按照 2.1 项下的仪器最佳工作条件进行测定，取上述铜、铅、镉标准系列溶液，分别测定吸光度；取砷、汞标准系列溶液，分别测定荧光度，仪器自动绘制校准曲线(以吸光度 A 或荧光度 IF 对质量浓度 C 进行线性回归)，见表 4。由表 4 可见，在工作范围内，各元素线性关系良好。

表 4 线性回归方程及相关系数

Table 4 Linear regression equation and correlation coefficient			
元素	线性回归方程	相关系数	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
Cu	$A=0.0687C-0.0223$	0.9994	0.0~1.0
Pb	$A=0.1689C+0.02441$	0.9991	0.0~30.0
Cd	$A=38.3141C+0.03531$	0.9990	0.0~2.0
As	$IF=197.1677C-41.0782$	0.9998	0.0~20.0
Hg	$IF=1228.1950C-4.2246$	0.9999	0.0~1.0

2.5 加样回收率试验 精密称取已知各元素含量的同一批北沙参样品 0.20 g, 平行操作 5 份, 分别精密量取 $5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的铅标准溶液、 $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的镉标准溶液、 $50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的铜标准溶液、 $2.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的砷标准溶液、 $50\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的汞标准溶液各 1 mL, 置于 50 mL 的容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 配制成混合标准溶液, 精密量取此混合标准溶液 1 mL, 分别加入到各个已称好样品的具塞锥形瓶中。按照同样方法进行消解测定, 计算各元素平均加样回收率。由表 5 可见, 5 种元素的平均加样回收率在 95.06 % ~ 108.23 % 之间, 表明本法的准确度较高。

表 5 北沙参样品的加样回收率试验($n=5$)

Table 5 Recovery test results for samples Radix Glehniae($n=5$)					
元素	样品平均含量 / μg	加入量 / μg	平均测得量 / μg	平均回收率 / %	RSD / %
Cu	1.0520	1.0000	2.0970	104.5	1.83
Pb	0.07201	0.1000	0.16707	95.06	2.01
Cd	0.02055	0.0200	0.04047	99.62	2.03
As	0.05273	0.0500	0.10326	101.06	2.43
Hg	0.0000	0.0010	0.00108	108.2	1.86

2.6 精密度试验 分别取铅、镉、砷、汞、铜元素的标准液按 2.1 项下的仪器条件, 连续测定 6 次。各元素的 RSD 分别为 0.96 %, 1.62 %, 2.16 %, 2.23 %, 1.05 %, 表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 精密称定取同一批北沙参样品 6 份, 每份 0.50 g, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液并测定。结果, 铅、镉、砷、汞、铜的含量计算 RSD 分别为 1.83 %, 2.01 %, 2.03 %, 2.43 %, 1.86 %, 结果表明该方法重复性良好。

2.8 样品测定 按照上述方法对采自山东莱阳、河北安国和内蒙古赤峰的北沙参样品中 Cu、Pb、Cd、As 及 Hg 进行测定并计算, 结果见表 6。

3 讨论

原子吸收光谱法和原子荧光光谱法具有检出限

表 6 不同产地北沙参 5 种重金属元素的检测结果($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=5$)

Table 6 Determining results of five heavy metals in Radix Glehniae from different areas					
样品来源	Cu	Pb	Cd	As	Hg
山东莱阳胡城	5.231	0.3581	0.1022	0.2622	0.0000
山东莱阳鲍村	3.702	0.7632	0.1541	0.0000	0.0000
河北安国	11.693	5.190	0.3753	0.3443	0.1763
内蒙古赤峰 1	5.561	2.753	0.2468	0.09068	0.0776
内蒙古赤峰 2	6.182	1.0086	0.2870	0.1047	0.0053

低、准确度高、选择性高、干扰少、分析速度快等优点, 适用于中药重金属含量的检测^[3]。为避免其他金属离子干扰, 试验采用 $\text{HNO}_3\text{--HClO}_4$ 作为消解剂, 所用器皿均为耐腐蚀的材料制成, 且经过 25 % 的硝酸浸泡过夜, 再经超纯水洗净。本法灵敏度较高, 易受干扰, 因此, 每次试验均应做随行空白对照^[4]。

根据《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中对有关重金属的规定量: 铅 $\leq 5.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 镉 $\leq 0.3\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 汞 $\leq 0.2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 砷 $\leq 2.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 铜 $\leq 20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 与测定结果相比较, 可得不同产地北沙参药材中 5 种重金属的含量以及超标情况。铜、砷、汞全部产地均在规定范围内, 铅超标的产地有 1 处, 含量达 $5.519\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 镉含量也有一个产地超标, 为 $0.3753\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 3 个产地 5 个北沙参样品中, 河北安国的铅、镉含量超标, 安国北沙参重金属含量均明显高于其他 2 个产地, 莱阳沙参重金属含量最低, 且没有测到汞。中药材中重金属含量不同可能与大气、土壤、水等地球化学背景有关。

本文为科学制定北沙参药材中重金属限量标准, 提高北沙参药材的质量, 为实现 GAP 规范化种植, 保证临床安全用药提供参考依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 92.

[2] 吕方军, 张钦德. 莱阳沙参的研究现状与思考[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(5): 146-148.

[3] 陈晋红, 刘大伟, 汤毅珊, 等. 中药材重金属和农药残留的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 187-190.

[4] 龚小见, 周婵媛, 陈华国, 等. 不同产地吉祥草中重金属的含量测定[J]. 光谱实验室, 2011, 3: 672.

(编辑: 宋威)