

萱草中微量元素含量的测定及其 重金属安全性评价

黄红焰, 李玉白

(湖南环境生物学院 医药系, 湖南 衡阳 421005)

摘要: 为了评价萱草的食用安全性, 为萱草的综合开发利用提供科学依据, 对萱草中微量元素和重金属的含量进行了测量。将萱草经微波消煮后, 用原子吸收分光光度计测定其矿物质和微量元素的含量, 测试结果表明萱草中的矿物质和微量元素含量较丰富。并以砷为研究对象, 进行了急性经口毒性、大鼠骨髓细胞微核、大鼠精子畸形、180 d 喂养等安全性毒理学评价试验研究。试验结果表明: 所测定的 45 批萱草样品中, 其水溶出物中的砷、汞、镉含量分别为 $w(\text{砷}) \leq 0.0618 \mu\text{g/g}$, $w(\text{汞}) \leq 0.0183 \mu\text{g/g}$, $w(\text{镉}) \leq 0.0165 \mu\text{g/g}$, 均极其微小; 遗传毒性试验结果无显著相关性, 180 d 喂养试验结果显示, 在本试验剂量范围内无毒副作用。研究结果表明: 萱草中的微量元素含量丰富, 且具有较好的食用安全性。

关键词: 萱草; 微量元素; 安全性毒理学评价

中图分类号: R994.4

文献标志码: A

文章编号: 1673-9833(2011)04-0041-04

The Microelements Determination and the Safety Assessment of Heavy Metals for *Hemerocallis Fulva*

Huang Hongyan, Li Yubai

(Department of Medicine, Hunan Environment Biology College, Hengyang Hunan 421005, China)

Abstract: To evaluate the food safety and provide a scientific basis for comprehensive development and utilization of *hemerocallis fulva*, the contents of microelements and heavy metals in *hemerocallis fulva* were measured by atomic absorption spectro-photometer after wave digestion. The results show that *hemerocallis fulva* is rich in minerals and trace elements. With arsenic as the research object, the toxicological safety evaluation tests were conducted, including acute oral toxicity test, rats bone marrow micronucleus test, rats sperm abnormality test and 180 d feeding test. The results show that water-soluble materials of arsenic, mercury, cadmium levels in the samples of 45 batches *hemerocallis fulva* are: $w(\text{As}) \leq 0.618 \mu\text{g/g}$, $w(\text{Hg}) \leq 0.183 \mu\text{g/g}$ and $w(\text{Cd}) \leq 0.165 \mu\text{g/g}$. The genetic toxicity test showed no significant correlation, 180 d feeding test showed that there was non-toxic and no side effects in the experimental dose range. The experiments indicate that the contents of microelements in *hemerocallis fulva* are rich and it has good food safety.

Keywords: *Hemerocallis fulva*; microelement; toxicological safety evaluation

收稿日期: 2011-05-09

基金项目: 衡阳市科技局基金资助项目 (2007KS16)

作者简介: 黄红焰 (1963-), 男, 湖南湘潭人, 湖南环境生物学院讲师, 主要研究方向为环境毒理,

E-mail: 395030890@qq.com

通信作者: 李玉白 (1963-), 女, 湖南湘潭人, 湖南环境生物学院教授, 硕士, 主要研究方向为环境健康,

E-mail: lyb8268838@163.com

0 引言

萱草 (*Heimerocallis fulva* L.) 属多年生草本植物。据测定, 萱草营养丰富, 具较高的药用价值^[1]。其性味甘凉, 有止血、消炎、消食、明目、安神、清热、利湿等功效, 对吐血、大便带血、小便不通、失眠、乳汁不下等有较好的疗效^[2]。《本草正义》载: “萱草花, 今为恒食之品, 亦稟凉降之性, 《日华》谓治小便赤涩, 身体烦热; 苏颂谓利胸膈, 安五脏; 濒湖谓消食利湿热, 其旨皆同。又今人恒以治气火上升, 夜少安寐, 其效颇著”。

长期以来, 国内外对萱草的研究主要集中在其营养保健功能和加工技术方面^[3]。而笔者在近年的研究中发现, 萱草的活性成分提取物可以作为活性添加剂广泛地应用于医药、化妆品、饮品等生产领域^[4]。故本文拟对萱草中的微量元素和重金属含量进行测定, 以便对其食用安全性进行评价, 为萱草的综合开发利用提供一定的理论依据。

1 实验材料和方法

1.1 材料与仪器

萱草, 采摘自湖南省衡阳市祁东县梅塘镇管家村; SD 大鼠, 由南华大学实验动物学部提供, 许可证号为 SYXK (湘) 2008—0011; 环磷酰胺, 分析纯, 上海荣盛生物技术有限公司生产。

原子吸收分光光度计 (atomic absorption spectrophotometer, AAS), 上海第三分析仪器厂生产; 显微摄影显微镜, BH2BHS-313 型, 日本 Olympus 公司生产; 捣碎机, 上海第三分析仪器厂生产; 全自动血球计数仪, 上海求精生化试剂仪器有限公司生产; 全自动生化分析仪, 7150 型, 美国康仁公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 矿物质和微量元素测定

所有指标测定均在中南大学测试中心进行, 萱草采回摘除杂物, 洗净后在 105 °C 条件下烘干备用^[5-6]。将萱草经光波消煮后, 用 AAS 测定其矿物质和微量元素含量^[7-8]。矿物质和微量元素的测定依据中华人民共和国卫生部《食品卫生检测方法》进行, 且 Hg 的测定按照 GB/T 5009 17—2003 的要求进行, Pb 的测定按照 GB/T 5009 12—2003 的要求进行, As 的测定按照 GB/T 5009 11—2003 的要求进行, 水分的测定按照 GB/T 5009 3—2003 的要求进行。

1.2.2 安全性毒理学评价试验

通过测试萱草样品中砷、汞、镉的含量, 最后确定以砷为研究对象进行如下安全性毒理学评价研究。

1) 急性经口毒性试验

取体质量为 80~100 g 的大鼠 10 只 (雌雄各半) 进行急性经口毒性试验。在进行经口毒性实验前, 先将大鼠禁食 24 h, 然后将受试物砷以每千克体质量 0.15 μg 的注入量一次性经口灌胃。其后观察动物的活动情况并记录。

2) 大鼠骨髓细胞微核试验

取体质量为 80~100 g 的 SD (sprague dawley) 大鼠 30 只 (雌雄各半) 进行大鼠骨髓细胞微核试验, 并将其随机分为 6 组, 每组 5 只。采用 2 次 (中间间隔 24 h) 经口进行鼠骨髓细胞微核试验。并以蒸馏水为阴性对照组, 以每千克体质量灌 40 mg 剂量的环磷酰胺为阳性对照组。4 个试验组灌胃剂量分别为每千克体质量灌 0.751, 0.535, 0.268, 0.134 μg。末次给药 6 h 后, 采取颈椎脱臼的方法处死动物。

取各试验动物的胸骨骨髓, 将其进行稀释、涂片处理后, 以甲醇固定, 并用 Giemsa 染色。使用光学显微镜进行观察, 每只动物计数 1 000 个嗜多染红细胞 (polychromatic erythrocytes, PEC), 以其含微核的 PEC 千分率计算其微核发生率, 并按 Poisson 分布统计处理。

3) 大鼠精子畸形试验

取体质量为 80~100 g 的雄性 SD 大鼠 25 只进行大鼠精子畸形试验, 并随机分为 5 组, 每组 5 只。试验时以灌蒸馏水的雄性 SD 大鼠为阴性对照组, 以每千克体质量灌 40 mg 环磷酰胺灌胃的雄性 SD 大鼠为阳性对照组。3 个试验组采用高 (每千克体质量灌 0.750 μg)、中 (每千克体质量灌 0.535 μg)、低剂量 (每千克体质量灌 0.268 μg) 分别处理, 每日灌胃 1 次, 连续 5 d, 并于末次灌胃后的第 30 d 处死动物, 取其副睾涂片, 以伊红染色后用光学显微镜进行观察, 每只动物计数 1 000 个结构完整的精子, 计算其畸变精子率, 并按 χ^2 检验统计。

4) 180 d 喂养试验与指标检测

取 SD 大鼠 20 只 (雌雄各半) 进行喂养试验, 并将其随机分为 4 个组, 每组 5 只。用捣碎机将受试物萱草捣碎, 按配置剂量要求加入饲料中充分拌匀。共配成萱草添加质量分数为 6.68%, 9.98%, 13.33% 的 3 种饲料 (约相当于人体剂量的 50, 75, 100 倍)。3 个试验组喂饲配制饲料, 且按动物体质量的 10% 计算动物的进食量; 对照组喂以普通饲料。连续喂养 180 d。实验期间, 动物自由活动、饮水和摄食。每天观察并记录动物的进食、活动和生长情况, 并且每周称 1 次体重。

将经 180 d 喂养后的大鼠禁食 16 h 后取血。实验

中期取尾血,分离血清;实验末期摘眼球取血,分离血清。用全自动血球计数仪测定所采样品的血红蛋白、红细胞总数、白细胞总数、红细胞压积、血小板总数。用7150全自动生化分析仪分别测定所采样品的总蛋白、清蛋白、胆固醇(cholesterol, Chol)、甘油三酯(triglyceride, TG)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、血糖和白/球(albumin/globulin, A/G)比值、尿素氮、肌酐(creatinine, Cr)。解剖大鼠,取其肝、肾、脾,称重,并计算脏/体比值,同时作病理切片检查。

2 实验结果与分析

2.1 矿物质和微量元素含量

通过对45批萱草样品进行测定,得出萱草水溶出物中的砷、汞、镉质量分数极其微小,各物质的溶出值分别为 $w(\text{砷})\leq 0.0618\text{ }\mu\text{g/g}$, $w(\text{汞})\leq 0.0183\text{ }\mu\text{g/g}$, $w(\text{镉})\leq 0.0165\text{ }\mu\text{g/g}$ 。

萱草中所含的矿物质和部分微量元素情况如表1所示,其中各元素的质量为每100 g干萱草中所含的矿物质或微量元素的质量,以mg计。

表1 100 g干萱草中矿物质和微量元素的质量										
Table1 Contents of minerals and trace elements										mg
in dry <i>hemerocallis fulva</i>										
元素符号	K	Na	Ca	Fe	Cu	Mn	Zn	Se	P	
质量	83.1	514	1 169	6.85	0.27	0.81	1.03	0.005 2	116	

分析表1中的实测数据,可得每100 g萱草中含钙1 169 mg,与含钙量最为丰富的10种食品平均含钙量(每100 g中含钙756 mg)相比较,萱草的含钙量较高;且每100 g萱草中含铁6.85 mg,与蛋黄中铁的含量(每100 g中含铁6.5 mg)相当;每100 g萱草中含铜0.27 mg,与100 g薯片含铜量(0.28 mg)相当;每100 g萱草中含锰0.81 mg,与100 g菜干中锰平均含量(0.81 mg)一致;每100 g萱草中含硒0.005 2 mg,接近面粉的平均含量(每100 g面粉中含硒0.0055 mg)。根据以上分析,同时参照国家食品卫生标准,我们可得出如下结论:萱草中的矿物质含量较高,且微量元素的种类较为丰富。

2.2 安全性毒理学试验结果

2.2.1 急性经口毒性试验结果

通过对进行了经口毒性灌胃实验的老鼠的活动情况进行为期2周的观察,发现所有受试老鼠的活动程度均无明显改变,实验大鼠的活动及进食情况正

常,未见明显中毒症状,也无死亡现象发生。

根据萱草中砷含量的实测数据($0.0618\text{ }\mu\text{g/g}$),参照国家食品卫生标准允许限量($0.15\text{ }\mu\text{g/g}$)和世界卫生组织规定的日摄入量(砷的每日安全摄入量是每千克体质量 $2\text{ }\mu\text{g}$ 以下),说明萱草中的微量砷在安全摄入范围内,对动物毒性作用较小。

2.2.2 骨髓细胞微核率统计与分析

通过对SD大鼠的骨髓细胞微核率进行测试,所得结果如表2所示。

表2 大鼠骨髓细胞微核率						
Table 2 The micronucleus rate of SD rat marrow cell %						
对照组		实验组				
阴性	阳性	1	2	3	4	
1.02	1.86	1.16	1.13	1.26	1.35	

注:与阴性对照组比较,差异无统计学意义($P>0.01$);
与阳性对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。

由表2可看出,4个剂量试验组的微核率分别为:1.16‰, 1.13‰, 1.26‰, 1.35‰, 将它们与阴性对照组(微核率为1.02‰)比较,可得其差异无统计学意义($P>0.01$);将他们与阳性对照组(微核率为1.86‰)比较,可得其差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2.3 精子畸形率统计与分析

试验所得大鼠精子畸形试验结果见表3。

表3 大鼠精子畸形率					
Table 3 The SD rat sperm malformation rate %					
对照组		实验组			
阴性	阳性	高剂量	中剂量	低剂量	
2.18	2.57	2.23	2.48	1.96	

注:与阴性对照组比较,差异无统计学意义($P>0.01$);
与阳性对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。

从表3可看出,3个剂量试验组的精子畸形率分别为2.23‰, 2.48‰, 1.96‰, 均接近阴性对照组(精子畸形率为2.18‰),其差异无统计学意义($P>0.01$),与阳性对照组(精子畸形率为2.57‰)比较,其差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2.4 喂养试验与指标检测分析

喂养试验过程中,未见动物死亡。该试验表明,在本试验剂量范围内,砷的180 d喂养试验对大鼠无毒性作用,萱草中的微量砷在安全摄入范围内,对动物无显著毒性作用。

喂养试验后,大鼠的各指标检测结果见表4。

从表4可以看出,各组受试动物的各项生化指标、脏/体比值与对照组相比较,其差异均无统计学意义($P>0.01$)。

表4 大鼠各项生化指标

Table 4 The biochemical indicators of SD rat

组 别	生 化 指 标								
	总蛋白 / 清蛋白 / (g·L ⁻¹) (g·L ⁻¹)	Chol/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	ALT/ 卡门氏单位	AST/ 卡门氏单位	血糖 / (mmol·L ⁻¹)	A/G	尿素氮 / (mmol·L ⁻¹)	Cr / (μmol·L ⁻¹)
对照组	57.0	35.8	2.51	5.16	9.12	3.13	1.20	3.15	45.0
试验组	56.8	38.6	2.34	4.98	9.25	3.18	1.26	4.01	46.3

注：试验组与对照组比较 ($P>0.01$)。

病理切片检查未见病理改变。根据萱草中砷、汞、镉的含量实测数据，参照国家食品卫生标准允许限量和世界卫生组织规定的周摄入量，萱草中微量砷没有产生致突变作用，未引起蓄积中毒。

3 结论

通过以上研究，可得出如下结论：

1) 萱草中的矿物质含量丰富，微量元素种类较多，对人体有很好的保健作用；

2) 参照国家卫生标准和世界卫生组织规定，并经安全性毒理学试验研究，结果表明，萱草具有较好的食用安全性。

此外，已有研究表明^[7-10]，萱草的活性成分提取物富含天然水溶性黄酮浓缩物，经提取后可以作为活性添加剂广泛应用于医药、化妆品、饮品等各生产领域。

以上的结论表明，萱草的综合开发利用将大有可为。

参考文献：

- [1] 冉先德. 中华药海[M]. 哈尔滨：哈尔滨出版社，2000：1688-1694.
Ran Xiande. Chinese Drugs[M]. Harbin：Harbin Publishing House，2000：1688-1694.
- [2] 彭欣莉，郑鸿雁，昌友权. 松针黄酮抗氧化和降血脂作用研究[J]. 食品工业科技，2005，26(12)：175-176.
Peng Xinli, Zhen Hongyan, Chang Youquan. Antioxidation and Blood Lipid Reducing Effects of Pineneedle Flavonoid (PF) [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 26(12): 13-25.
- [3] 刘志城，于守洋. 营养和食品卫生学[M]. 2版. 北京：人民卫生出版社，2010：45-58.
Liu Zhicheng, Yu Shouyang. Nutrition and Food Hygiene [M]. 2nd ed. Beijing：People's Health Publishing House，2010：45-58.
- [4] 黄红焰，李玉白. 萱草活性成分黄酮干对糖尿病大鼠抗动脉粥样硬化活性的研究[J]. 湖南环境生物职业技术学院学报，2010，16(4)：26-28.
Huang Hongyan, Li Yubai. The Effect of Flavone of Active Ingredient in Hemerocallis Fulva Anti-Atherosclerotic to Diabetic Rats[J]. Journal of Hunan Environment-Biological Polytechnic, 2010, 16(4): 26-28.
- [5] 秦小微，苏建伟，戈峰，等. 马尾松、湿地松、萱草挥发物中手性单萜的组成与相对含量[J]. 分析测试学报，2006，25(2)：6-9.
Qin Xiaowei, Su Jianwei, Ge Feng, et al. Enantiomeric Composition and Relative Abundance of Monoterpene Hydrocarbons in Volatiles of *Pinus Massoniana* Lamb, *Pinus Tabulaeformis* Carr., and *Pinus Elliottii* Engelm[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2006, 25(2): 6-9.
- [6] 刘晓庚，鞠兴荣，茆旭东，等. 酶法提取松针精油的实验室研究[J]. 林产化学与工业，2005，25(3)：111-114.
Liu Xiaogeng, Ju Xingrong, Mao Xudong, et al. Studies on Enzymic Extraction of Essential Oil From Pine Needles [J]. Chemistry & Industry of Forest Products, 2005, 25(3): 111-114.
- [7] 陈长武，昌友权，曲红光，等. 松针提取物抗衰老氧化作用研究[J]. 食品科学，2005，26(9)：465-467.
Chen Changwu, Chang Youquan, Qu Hongguang, et al. Experimental Study of Pineneedle on Anti-Aging[J]. Food Science, 2005, 26(9): 465-467.
- [8] He Caiyun, Zhang Jianguo, Duan Aiguo, et al. Comparison of Methods for Protein Extraction from Pine Needles[J]. Forestry Studies in China, 2005, 7(4): 20-23.
- [9] Ahn J S, Hellenas L, Clarke DB. Verification of the Findings of Acrylamide in Heated Foods[J]. Food Additives & Contaminants, 2003, 19: 1116-1124.
- [10] Svensson K, Abramsson L, Backer W, et al. Dietary Intake of Acrylamide in Sweden[J]. Food and Chemical Toxicology, 2003, 41(11): 1581-1586.

(责任编辑：廖友媛)