

γ -巯丙基硅键合胶脱除黄连药液中重金属

邝才志^{1,2,3}, 陈两绵^{2,3}, 高慧敏^{2,3}, 王智民^{2,3*}, 张启伟^{2,3}, 梁日欣^{2*}, 赵良^{2,3}, 尹元元^{2,4}
(1. 首都医科大学 中医药学院, 北京 100069; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700; 4. 河南中医学院 药学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 评价 γ -巯丙基键合硅胶(MPS)脱除含生物碱类成分的中药提取液中重金属的可行性。方法: 以黄连为研究对象, 通过考察 MPS 用量、流速、径高比及温度对镉脱除效果的影响, 优选脱除实验条件; 以黄连药液重金属脱除前后 HPLC 指纹图谱相似度及含固量变化为指标, 评价黄连药液重金属脱除前后化学成分的变化。结果: 药材量与 MPS 用量比 40:1, 径高比 1:3, 流速 10 BV·h⁻¹, 室温下, MPS 对黄连药液中镉、铜的脱除率分别为 81.3%, 35.9%, 镁、锌等金属元素的含量基本未发生变化; 重金属脱除前后黄连药液 HPLC 指纹图谱相似度达 0.99, 含固量减小 1.3%。结论: MPS 可以有效地脱除黄连药液中重金属, 且化学成分未发生明显变化。

[关键词] γ -巯丙基键合硅胶; 黄连; 重金属; 镉

[中图分类号] R286.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0020-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120711.1158.006.html>

[网络出版时间] 2012-7-11 11:58

Removal of Heavy Metals from Aqueous Solution of Coptidis Rhizoma by γ -Mercaptopropyl-Modified Silica Gel

KUANG Cai-zhi^{1,2,3}, CHEN Liang-mian^{2,3}, GAO Hui-min^{2,3}, WANG Zhi-min^{2,3*},
ZHANG Qi-wei^{2,3}, LIANG Ri-xin^{2*}, ZHAO Liang^{2,3}, YIN Yuan-yuan^{2,4}

(1. College of Pharmacy of Chinese Medicine, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100069, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
3. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines,
Beijing 100700, China; 4. School of Pharmacy, Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the feasibility of removing heavy metal ions from the extract of Chinese herbal medicines containing alkaloids by γ -mercaptpropyl-modified silica gel (MPS). **Method:** Some influence factors on removal of cadmium ion in the aqueous extract of Coptidis Rhizoma were studied, such as the amount of MPS, flow velocity, ratio of column diameter to height and temperature. The chemical changes were evaluated by the HPLC fingerprint profiles and dried extract content, before and after the removal of cadmium ion. **Result:** The optimum parameters were as follows: the ratio of medicinal herb to MPS 40:1, 1:3 of ratio of diameter to height, 10 BV·h⁻¹ flow velocity, and the room temperature. The removing rate of cadmium ion and copper ion reached 81.3% and 35.9%, respectively. The content of magnesium and zinc ion hardly changed. Dried extract content of aqueous solution of Coptidis Rhizoma decreased by 1.3%, and the similarity of HPLC fingerprint profiles was 0.99. **Conclusion:** MPS can remove efficiently heavy metal ions and there was no significant change on the

[收稿日期] 20120507(330)

[基金项目] 国家“重大新药创新”科技重大专项(2009ZX09031-005, 2009ZX09308-003); 中国中医科学院中药研究所自选课题(zz20090201)

[第一作者] 邝才志, 研究生, 从事中药质量控制研究, Tel:15210279008, E-mail:kuangcaizhi@126.com

[通讯作者] * 王智民, 研究员, 从事中药化学与中药质量控制研究, Tel/Fax:010-84014128, E-mail:zhmw123@263.net;

* 梁日欣, 研究员, 从事中药代谢与心血管药理研究, Tel:010-64014411-2948, E-mail:liangrixin2009@sina.com

chemical components of aqueous solution of *Coptidis Rhizoma*.

[Key words] γ-mercaptopropyl-modified silica gel; *Coptidis Rhizoma*; heavy metals; cadmium

中药重金属污染已成为影响中药质量和国际化的关键问题之一。本课题组前期从中药重金属脱除角度进行了重金属含量控制的思考与研究,合成了γ-巯丙基键合硅胶(MPS),并分别以金银花、清茶复方为示范研究对象,评价MPS脱除中药中重金属的技术可行性^[1-2],MPS在金银花及清茶复方中均表现出较好的铅脱除效果。

汞、铅、镉、砷、铜5种元素在中药中的超标率大小顺序依次为镉>铜>铅>砷>汞^[3-4]。超标率位居前三的重金属中,铜的生物毒性相对小于镉、铅。MPS对Cd²⁺,Pb²⁺,Cu²⁺的吸附能力大小^[5]依次为Cd²⁺>Pb²⁺>Cu²⁺,课题组前期已完成MPS脱除中药提取液中铅^[1-2]的实验研究,但MPS对于中药药液中镉的脱除能力尚待考察。

实验选择了富含生物碱类成分且镉超标严重的黄连^[3]为研究对象,以镉的脱除率为指标优选脱除实验条件,以镉脱除前后黄连药液HPLC指纹图谱相似度、药液含固量为指标评价化学成分的变化,为该材料在中药重金属脱除方面的应用提供更进一步的证明。

1 材料

ZEEnit700型原子吸收光谱仪(德国耶拿分析仪器股份公司),MARS微波消解仪[培安·GEM微波化学(中国)技术中心],Shimadzu 20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司),BT-100型恒流泵(上海沪西分析仪器厂),DB-3型不锈钢控温电热板,常州国华电器有限公司。

黄连(*Coptis chinensis* Franch.,产地重庆石柱,王智民研究员鉴定),盐酸药根碱(批号0733-200005)、盐酸巴马汀(批号110732-200506)、盐酸小檗碱(110733-200609)均购自中国药品生物制品检定所,表小檗碱和黄连碱为自制,纯度为98%(HPLC峰面积归一法);乙腈(色谱纯,Dikma Technologies),硝酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司),γ-巯丙基键合硅胶(20~60目,自制)。

2 方法与结果

2.1 黄连药液制备 取黄连药材粗粉适量,加7倍去离子水煎煮3次,每次1h,合并煎液,滤过,滤液减压浓缩至0.2g·mL⁻¹(按药材量计),备用。

2.2 样品消解 精密移取黄连药液5mL,置50mL烧杯中于电热板上浓缩至近干。加入10mL硝酸,

加热预消解至不再冒浓烟,盖上表面皿,继续加热至溶液颜色基本不再变化。取下表面皿,加热浓缩至1~2mL,以6mL硝酸分3次将消解液转移至微波消解罐,进行微波消解。消解程序如表1。

表1 微波消解程序

阶段	升温时间/min	温度/℃	保持/min
1	5	120	5
2	5	160	10
3	10	180	20

微波消解完成后,以纯净水洗涤消解罐,洗涤液与消解液合并,加热至红棕色蒸气挥尽,并浓缩至1~2mL,用2%硝酸转移至10mL量瓶,并以2%硝酸定容,得供试品溶液。同法制作样品空白。

2.3 动态吸附脱除法影响因素考察

2.3.1 MPS用量考察 取4.0gMPS装于玻璃柱(以去离子水湿法装柱)。取黄连药液利用恒流泵以10BV·h⁻¹的流速过柱,收集过柱后药液。第1倍柱体积(10mL)洗脱液为死体积,去掉,从第2倍柱体积开始,每200mL收集一份流出液(相当于40g药材),共收集4份,测定药液中镉的含量。结果显示,药材量/MPS量分别为10,20,30,40时,镉的累积脱除率分别为90.4%,79.5%,66.9%,61.3%。

当镉脱除率为61.3%时,黄连药液中镉含量(按黄连干膏计)已达到《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》对中药重金属镉的限量要求(Cd≤0.3μg·g⁻¹),故药材量与MPS用量比选择为40:1。

2.3.2 柱床径高比考察 分别取2.0gMPS装于内径分别为1.0,1.2,1.4cm的玻璃柱(对应径高比分别为1:5,1:3,1:2)。取400mL黄连药液,室温下利用恒流泵以10BV·h⁻¹的流速过柱,收集流出液,测定药液中镉的含量。结果径高比分别为1:5,1:3,1:2时,黄连药液中镉的脱除率分别为71.3%,70.3%,67.5%。径高比为1:5和1:3时,镉的脱除率接近,但在MPS粒径一定的条件下,径高比过小,柱子压力大,故选择径高比为1:3。

2.3.3 流速考察 取2.0gMPS,以去离子水湿法装柱。取黄连药液400mL,室温下利用恒流泵分别以10,20,40BV·h⁻¹的流速过柱,收集流出液,测定药液中镉的含量。结果黄连药液中镉的脱除率分别

为 70.3% ,69.2% ,65.2% 。虽然流速为 20 BV·h⁻¹ 时镉的脱除率与 10 BV·h⁻¹ 的脱除率无明显差异,提高流速可以降低脱除时间,但流速增大导致柱压升高,填料被压得更实,可能致使柱子在脱除实验后期堵塞,故流速选择 10 BV·h⁻¹。

2.3.4 温度考察 分别取 2.0 g MPS 装于定制的夹套玻璃柱(通循环水保温)。分别取 400 mL 黄连药液,在 15,25,50 ℃ 下利用恒流泵以 10 BV·h⁻¹ 的流速过柱,收集流出液测定药液中镉的含量。结果温度分别为 15,25,50 ℃ 时,黄连药液中镉的脱除率分别为 71.3% ,68.3% ,44.7% 。随着过柱温度的升高,镉的脱除率逐渐降低。虽然 15 ℃ 比 25 ℃ 时镉的脱除率稍高,但考虑到操作方便程度及生产实际条件,脱除温度选择为 25 ℃。

2.4 脱除方法验证 为了验证脱除方法的可靠性及稳定性,按动态吸附实验条件考察下各因素的最佳水平组合进行 3 次脱除实验验证。

取 2.0 g MPS 装于内径为 1.2 cm 的玻璃柱。取黄连药液(质量浓度为 0.2 g·mL⁻¹)400 mL,在室温下,利用恒流泵以 10 BV·h⁻¹ 的流速过柱,收集流出液,再取 40 mL 纯净水以同样流速洗涤 MPS 柱,收集洗涤液与过柱后黄连药液合并,测定药液中镉的含量。黄连原液中镉的质量浓度 12.66 ng·mL⁻¹,流出液中镉的含量为 2.37 ng·mL⁻¹,镉脱除率为 81.3%。根据《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》对中药重金属镉的限量要求(Cd≤0.3 μg·g⁻¹),黄连原药液中镉的含量为 0.35 μg·g⁻¹(按干膏计),属于镉超标。重金属脱除后黄连药液中镉的含量为 0.10 μg·g⁻¹,达到该标准的要求。此外,对铜、锌、镁 3 种元素的含量测定结果显示铜的质量浓度降低 35.89%,镁、锌的质量浓度基本没变化。可见,该脱除条件下 MPS 不仅对黄连药液中镉的脱除效果较好,对铜也有一定脱除能力,且基本不吸附镁、锌等有益金属元素,方法可行。

2.5 黄连药液重金属脱除前后化学成分变化评价

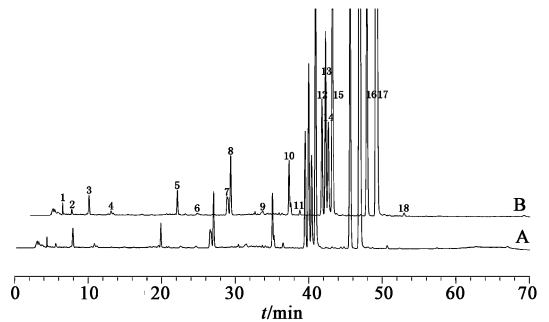
2.5.1 含固量变化 分别精密移取重金属脱除前后黄连药液 50 mL 于已恒重的蒸发皿,水浴浓缩至干后转移至烘箱于 105 ℃ 干燥至恒重。结果显示,重金属脱除前后黄连药液含固量分别为 0.038 2,0.037 7 g·mL⁻¹,含固量减小 1.3%,变化较小。

2.5.2 重金属脱除前后 HPLC 指纹图谱的相似度考察

2.5.2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-50

mmol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(磷酸调 pH 3.0)(B)梯度洗脱(0~10 min,8% A;10~16 min,8%~13% A;16~25 min,13%~22% A;25~40 min,22%~30% A;40~60 min,30%~40% A;60~70 min,40%~8% A,检测波长 270 nm,柱温 30 ℃,流速 0.8 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。

2.5.2.2 HPLC 指纹图谱 分别精密移取过柱前黄连药液、过柱后黄连药液 1.00 mL,置 100 mL 量瓶中,加纯净水稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,按上述色谱条件进行 HPLC 测定,色谱图如图 1,色谱峰数据见表 2。



A. 过柱前黄连药液;B. 过柱后黄连药液;
13,14,15,16,17 号峰分别为表小檗碱、
药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱

图 1 黄连药液过柱前后 HPLC 指纹图谱

表 2 黄连药液过柱前、过柱后主要色谱峰峰面积比较
(占总峰面积 2% 以上色谱峰)

峰号	保留时间 /min	过柱前	过柱后	峰面积变化 /%
8	27.14	138 672	139 938	0.91
10	34.98	148 200	148 511	0.21
12	39.39	299 829	301 751	0.64
13	40.07	483 522	487 354	0.79
14	40.42	254 229	258 261	1.6
15	40.97	918 371	913 832	-0.49
16	45.58	915 863	927 046	1.2
17	46.75	3 624 695	3 658 142	0.92

结果表明,黄连药液重金属脱除前后 HPLC 指纹图谱的色谱峰峰数及峰面积均无明显变化。采用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2008 版)对黄连药液过柱前后 HPLC 图进行相似度计算。过柱后黄连药液与过柱前黄连药液 HPLC 相似度为 0.99。此外,主要色谱峰在重金属脱除后峰面积相对重金属脱除前峰面积变化均小于 2%,黄连药液重金属脱除后化学成分基本未发生变化。

3 讨论

目前中药重金属脱除方法主要有超临界 CO₂ 萃取法、大孔螯合树脂吸附法、壳聚糖类吸附法、乙醇沉淀等,各自都有一定的局限性,如超临界 CO₂ 萃取法缺乏高效的络合剂^[6];大孔螯合树脂吸附法可能吸附中药化学成分;壳聚糖类吸附法和乙醇沉淀法对于不与高分子物质结合的重金属离子可能效果不佳,且壳聚糖类吸附法不宜使用于含水溶性小的有效成分的药液^[7],乙醇沉淀法不适用于某些含强亲水性有效成分的药液等。因此寻找适用于中药重金属脱除的新材料很有必要。

消解体系与方法的选择是影响重金属含量测定准确度的重要因素之一。本文考察了 HNO₃, HNO₃-H₂O₂ 混合体系、HNO₃-HClO₄ (3:1) 混合体系、HNO₃ (微波消解) 4 种方法对黄连药液的消解效果。结果表明,微波消解法样品消解完全,溶液基本无色或略显浅黄色,在 4 种消解方法中消解效果最好。但也有其不足,如取样量不能过大,过夜放置的预消解效果不佳且时间长。为此,本文以硝酸为介质,先将样品置烧杯中于电热板加热进行预消解,当大部分有机物被消解后,再将预消解所得溶液转移到消解罐进行微波消解。该法样品处理时间短,消解效果好,且可显著提高取样量而不致发生冲罐现象。

本课题组前期研究表明,MPS 对硝酸镉溶液中镉的饱和吸附容量为 70.6 μg·g⁻¹^[5]。本研究优选的脱除条件下,MPS 实际吸附量为 4.12 μg·g⁻¹,相当于理论吸附容量的 2.9%,差异很大。这可能是由于在本实验脱除条件下,MPS 并未达到吸附饱和,以及两次研究试验条件的不同(如 MPS 对镉的吸附容量研究中,镉离子浓度为本研究的近 100 倍)、镉离子的存在形态差异、黄连中共存离子的吸附干扰(如 MPS 对铜离子的吸附)、黄连药液中化学成分等因素影响所致。

本文色谱条件在文献中条件^[8]的基础上进行了适当调整,并以表小檗碱、盐酸药根碱、黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱为对照品确定了黄连指纹图

谱中的 13,14,15,16,17 号峰,分别为表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱。重金属脱除后黄连药液中此 5 个主要生物碱成分峰面积减小均 < 2%,可见生物碱类成分含量未发生明显变化。

相比于工业废水中重金属的脱除,中药重金属的脱除有其特殊要求:脱除重金属的同时,需保证中药化学成分基本不损失且几乎不引入新杂质或新杂质无毒副作用、不干扰中药的药效作用等。MPS 脱除黄连药液中重金属后,镉、铜的脱除率分别为 81.3%,35.9%,镁、锌等有益元素含量基本没变化,且干膏含量减小 1.3%,HPLC 指纹图谱相似度达 0.99,表明 MPS 对黄连中镉、铜有较好的脱除效果,且基本不吸附或改变黄连药液中化学成分。可见,MPS 可以有效地脱除黄连药液中重金属。

[参考文献]

- [1] 赵良,高慧敏,王智民,等. γ-巯丙基键合硅胶脱除金银花提取液中的铅离子[J]. 中国中药杂志,2011,36(9):1179.
- [2] 赵良,高慧敏,王智民,等. γ-巯丙基键合硅胶用于脱除清茶复方水提液中的铅离子[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):55.
- [3] 韩小丽,张小波,郭兰萍,等. 中药材重金属污染现状的统计分析[J]. 中国中药杂志,2008,33(18):2041.
- [4] 李凤霞,欧阳荔,刘亚琼,等. 466 份中药材无机元素测定及结果分析[J]. 中国中药杂志,2011,36(21):2994.
- [5] 赵良. 键合硅胶的合成及选择性脱除中药提取液中重金属的技术适应性研究[D]. 北京:中国中医科学院中药研究所,2011.
- [6] 梁成满,黄少烈,李琼. 超临界 CO₂ 配合萃取中药中重金属的研究进展[J]. 化工进展,2005,24(6):607.
- [7] 张彤,徐连英,陶建生,等. 壳聚糖用于部分单味中药浸提液澄清效果的研究[J]. 中草药,1999,30(10):744.
- [8] 蒋合众,马超英,刘军,等. 峨眉产味连指纹图谱研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(7):1667.

[责任编辑 仝燕]