

忍冬茶及其加工过程中氨基酸和微量元素分析

李金玲¹, 王永胜¹, 马强¹, 张继芬¹, 陈刚², 徐晓玉^{1,*}

(1.西南大学药学院,重庆市药效评价工程技术研究中心,重庆 400716;

2.重庆工商大学药物研究中心,重庆 400067)

摘要:目的:考察忍冬茶及其加工过程中氨基酸、微量元素含量的变化情况。方法:采用 L-8800 型全自动氨基酸分析仪分析忍冬茶及其加工过程中氨基酸种类及其含量的变化情况;采用火焰原子吸收光谱法测定铜、锌、铁等 9 种微量元素的含量。结果:忍冬茶中含有 17 种氨基酸且含量丰富,加工前后 17 种氨基酸的种类没有变化但含量都有所增加;加工后微量元素锌、铁、锰的含量增加,铜、铅、铬、镍、砷的含量降低。忍冬茶经过冲泡后有害金属元素铅、镉、镍、砷含量均符合 GB2762—2005《食品中污染物限量》中规定的标准。结论:忍冬茶的加工过程增加了氨基酸和多种有益微量元素的含量,降低了多种有害金属元素的含量,有害金属元素含量均符合 GB2762—2005《食品中污染物限量》中规定的标准,表明忍冬茶加工工艺可行,饮用安全。

关键词:忍冬茶,氨基酸,微量元素,火焰原子吸收光谱法

Analysis of amino acids and trace elements in the processing and finished product of Lonicera tea

LI Jin-ling¹, WANG Yong-sheng¹, MA Qiang¹, ZHANG Ji-fen¹, CHEN Gang², XU Xiao-yu^{1,*}

(1. College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Pharmacological Evaluation Engineering Research Center of Chongqing, Chongqing 400716, China; 2. Research Center of Medical Chemistry and Chemical Biology, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: Objective: To analysis the amino acids and trace elements in processing and finished product of Lonicera tea. Methods: Automatic amino acid analyzer was used to detect the content of amino acid in the processing and finished product of Lonicera tea. Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Cr, Ni, Cd, As were determined by flame atomic absorption spectroscopy. Results: 17 amino acids were abundant in Lonicera tea. The processing of Lonicera tea did not change the kinds of amino acid, increased the content of Zn, Fe, Mn and reduced the content of Cu, Pb, Cr, Ni, Cd, As. After the tea was brewed, the content of harmful metals was comlyed with Limitation Standard of Contaminants in Food(GB2762—2005). Conclusion: The processing of Lonicera tea could increase the content of amino acids and beneficial trace elements, and reduce the content of harmful metals which was in line with Limitation Standard of Contaminants in Food(GB2762—2005). The experiment showed that Lonicera tea was safe to drink, and the processing of Lonicera tea was advanced and reliable.

Key words: lonicera tea; amino acids; trace elements; flame atomic absorption spectrometry

中图分类号:TS272.7

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2012)12-0075-04

灰毡毛忍冬(*Lonicera macranthoides* Hand-Mazz.)俗称大花忍冬,是中国药典规定的山银花项下的品种之一。目前,灰毡毛忍冬的花蕾已经得到了充分利用^[1-2],具有清热解毒、凉散风热的功效,现代药理研究发现其有抗炎、抗菌、抗病毒、保肝、免疫调节、降血脂作用。灰毡毛忍冬的藤也具有药用价值^[3],有

祛风除湿,通络止痛的功效,常用于治疗风湿痹痛。关于灰毡毛忍冬的花、茎、叶中化学成分研究过去已有很多报道^[4-6]。但到目前为止尚未发现关于灰毡毛忍冬鲜芽中氨基酸和微量元素含量的研究报道。微量元素是维持人体物质代谢的重要化学元素,中药药效与微量元素密切相关^[7-10]。氨基酸是影响茶滋味的重要成分,也是重要的营养物质^[11-12]。研究忍冬茶中的氨基酸和微量元素含量对指导开发忍冬茶有重要意义。本研究分析了忍冬茶及其加工过程中氨基酸、微量元素的含量变化,既有利于我们了解忍冬茶中有益微量元素和氨基酸的含量,又为预防过量摄入有害重金属元素,将忍冬嫩芽开发成为新资

收稿日期:2011-10-20 * 通讯联系人

作者简介:李金玲(1986-),女,硕士研究生,研究方向:药用资源综合开发与利用。

基金项目:国家科技支撑计划课题(2006BAC01A16)专项;重庆市“十一五”规划项目;秀山县政府资助。

源食品“忍冬茶”提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

忍冬芽 重庆秀山坝芒基地灰毡毛忍冬嫩芽；忍冬茶 西南大学药学院分子药理实验室提供；硝酸、高氯酸、硫酸 成都科龙化工试剂厂；碘基水杨酸 天津市大茂化学试剂厂；17 种氨基酸混合标准溶液 $1\text{nmol}/\mu\text{L}$, Agilent Technologies; Cu、Zn、Fe、Mn、Pb、Cr、Ni、Cd、As 的标准溶液 $1.000\text{mg}/\text{mL}$, 均购自国家标准物质研究中心。

L-8800 型全自动氨基酸分析仪 日本 Hitachi 公司; TAS-990 型原子吸收分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; JA2003N 电子天平 上海精密科学仪器有限公司; 移液器 艾本德中国有限公司; Milli-Q Century 纯水系统 美国 Millipore 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸的测定

1.2.1.1 分析条件 分离柱: $(4.6\text{mm} \times 60\text{mm})$, 洗脱液流速 $0.4\text{mL}/\text{min}$, 柱温 70°C , 柱压 9.627MPa ; 反应柱: 苄三酮及茚三酮缓冲液流速 $0.35\text{mL}/\text{min}$, 柱温 135°C , 柱压 0.982MPa , 分析周期 32min 。

1.2.1.2 标准液的配制 取 1.0mL $1\text{nmol}/\mu\text{L}$ 的氨基酸标准品溶液用 0.02nmol 的 HCl 溶液定容到 10mL 容量瓶中即得氨基酸标准溶液。

1.2.1.3 样品溶液的制备 称取 5.000g 样品, 加适量水研磨至匀浆, 倒入 150mL 三角瓶中, 加入沸蒸馏水 45mL , 置 100°C 水浴中提取 45min , 浸提完毕后立即趁热减压过滤, 残渣用少量热蒸馏水洗涤 $2\sim 3$ 次, 滤液定容至 50mL 。吸取样品溶液 2.0mL 于 50mL 烧杯中, 加 0.4mL 4% 的碘基水杨酸溶液, $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 全自动氨基酸分析仪分析滤液中氨基酸的种类与含量。

1.2.1.4 方法验证 取氨基酸标准溶液重复进样 5 次进行精密度实验, 计算 RSD; 在一定量的样品溶液中加入定量的标准溶液进行加样回收率实验, 计算回收率; 计算最小检出量。

1.2.2 微量元素的测定方法

1.2.2.1 仪器工作条件 负高压为 300.0V , 预热灯电流 2.0mA , 测定各元素含量最佳工作条件见表 1。

表 1 原子吸收光谱仪工作条件

Table 1 Working condition of the instrument

元素	波长 (nm)	光谱宽度 (nm)	电流 (mA)	燃烧器高度 (mm)	乙炔流量 (L/min)
Cu	324.7	0.4	3.0	5.0	1.0
Zn	213.9	0.4	3.0	6.0	1.0
Fe	248.3	0.2	4.0	8.0	1.0
Mn	279.5	0.2	2.0	6.0	1.0
Pb	283.3	0.4	2.0	5.0	1.0
Cr	357.9	0.4	4.0	8.0	1.0
Ni	232.0	0.2	4.0	6.0	1.0
Cd	228.8	0.4	2.0	5.0	1.0
As	193.8	0.4	6.0	6.0	1.0

1.2.2.2 标准溶液的配制 将 9 种微量元素 Cu、Zn、

Fe、Mn、Pb、Cr、Ni、Cd、As $1.000\text{mg}/\text{mL}$ 的标准溶液按表 3 进行稀释得到系列标准溶液。

1.2.2.3 茶待测液的制备 称取 1.000g 粉碎后的样品于锥形瓶中, 分别依次加入硝酸 10mL , 高氯酸 5mL , 混匀, 置于电炉上加热消解。当消解液剩余约 1.0mL 时停止加热, 冷却后转移到容量瓶中用 2% 硝酸定容至 25mL , 即得茶叶微量元素待测液, 并同法制备 3 个空白液(不加样品), 采用火焰原子吸收光谱法分析样品中的微量元素。

1.2.2.4 茶汤待测液的制备 称取 2.000g 成品忍冬茶样品各 3 份, 加入 45mL 沸水, 冲泡 10min 后倒出, 定容至 50mL 的容量瓶中, 得第 1 道茶水。重复上面操作 2 次, 得到第 2、第 3 道茶水。取 1.0mL 至锥形瓶中, 按 1.2.2.3 的方法对其进行处理, 分析茶水样品中的微量元素。

1.2.2.5 精密度与加样回收实验 取各微量元素标准溶液重复进样 5 次进行精密度实验, 在一定量的样品溶液中加入定量的标准溶液进行加样回收率实验, 计算 RSD 与回收率。

1.2.2.6 样品测定 按“1.2.2.1”的条件分别测定忍冬茶加工过程中和茶汤中的微量元素含量。

2 结果与分析

2.1 氨基酸的测定结果

2.1.1 氨基酸的测定色谱图

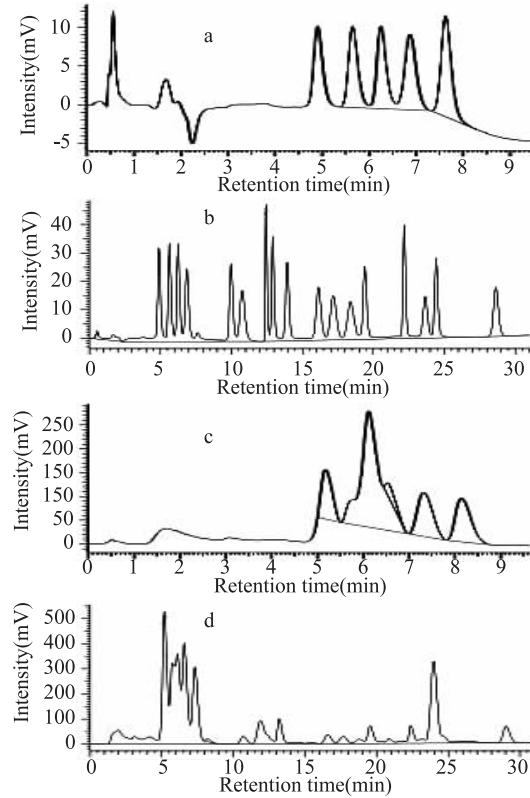


图 1 氨基酸色谱图

Fig.1 The spectrum of amino acids

注:a:标准品脯氨酸图谱;b:其余 16 种氨基酸标准品图;c:样品脯氨酸图谱;d:其余 16 种氨基酸样品图。

2.1.2 精密度与加样回收测定结果 取氨基酸标准溶液重复进样 5 次, RSD 为 0.36% 。方法回收率为

表3 各元素的线性回归方程和线性范围($n=5$)Table 3 Linear range and linear regression equation of each element ($n=5$)

元素	线性回归方程	标准溶液的系列浓度(μg/mL)	相关系数
Cu	$Y = 0.1559x - 0.0007$	0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00	0.9999
Zn	$Y = 0.1266x + 0.0001$	0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00	0.9982
Fe	$Y = 0.0155x - 0.0008$	0.00, 1.00, 2.00, 5.00, 7.00	0.9997
Mn	$Y = 0.0557x + 0.0030$	0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 5.00, 7.00	0.9995
Pb	$Y = 0.0292x + 0.0022$	0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 5.00, 7.00	0.9992
Cr	$Y = 0.0317x + 0.0014$	0.00, 0.05, 1.00, 3.00, 5.00, 7.00	0.9995
Ni	$Y = 0.0767x - 0.0158$	0.00, 0.50, 1.00, 3.00, 5.00, 7.00	0.9831
Cd	$Y = 0.2528x - 0.0036$	0.00, 0.05, 0.10, 0.30, 0.70	0.9981
As	$Y = 0.0269x + 0.0021$	0.00, 1.00, 3.00, 5.00, 7.00, 10.00	0.9994

99.5%, RSD 为 0.92%, 最小检出量为 $3\text{pmol}/20\mu\text{L}$ 。说明采用 L-8800 型全自动氨基酸分析仪测定氨基酸含量精密度高、稳定性好,能够达到检测要求。

2.1.3 氨基酸种类和含量测定结果 如表 2 所示忍冬茶中含有 17 种氨基酸,忍冬芽经过杀青之后除酪氨酸、脯氨酸外其余 15 种氨基酸含量都增加;成品忍冬茶中除天门冬氨酸、脯氨酸的含量增加外,其余 15 种氨基酸的含量均下降;但比鲜芽氨基酸的含量还是有明显的增加,而氨基酸种类没有变化。

表2 忍冬茶加工过程中氨基酸的种类和含量检测

Table 2 The test results of amino acids in lonicera tea

氨基酸	鲜芽 (%)	忍冬芽杀青后 (%)	忍冬茶 (%)
天门冬氨酸	0.108 ± 0.070	0.167 ± 0.051	0.228 ± 0.088
苏氨酸	0.040 ± 0.008	0.665 ± 0.114	0.140 ± 0.024
丝氨酸	0.072 ± 0.011	0.378 ± 0.042	0.143 ± 0.054
谷氨酸	0.166 ± 0.047	0.202 ± 0.196	0.175 ± 0.033
甘氨酸	0.004 ± 0.002	0.017 ± 0.010	0.010 ± 0.001
丙氨酸	0.028 ± 0.019	0.120 ± 0.069	0.050 ± 0.012
半胱氨酸	0.008 ± 0.003	0.027 ± 0.012	0.012 ± 0.009
缬氨酸	0.022 ± 0.010	0.134 ± 0.016	0.038 ± 0.011
蛋氨酸	0.001 ± 0.001	0.006 ± 0.003	0.001 ± 0.001
异亮氨酸	0.010 ± 0.002	0.067 ± 0.007	0.024 ± 0.011
亮氨酸	0.010 ± 0.007	0.042 ± 0.024	0.020 ± 0.010
酪氨酸	0.019 ± 0.007	0.016 ± 0.006	0.016 ± 0.014
苯丙氨酸	0.032 ± 0.011	0.092 ± 0.026	0.043 ± 0.026
赖氨酸	0.013 ± 0.004	0.063 ± 0.021	0.026 ± 0.005
组氨酸	0.007 ± 0.003	0.043 ± 0.004	0.012 ± 0.001
精氨酸	0.022 ± 0.008	0.067 ± 0.019	0.059 ± 0.011
脯氨酸	0.059 ± 0.004	0.018 ± 0.003	0.164 ± 0.001
总量	0.622 ± 0.218	2.124 ± 0.408	1.161 ± 0.600

在由忍冬芽加工成忍冬茶的过程中,忍冬芽经过杀青后氨基酸的含量会有所增加有可能是由于蛋白质在酶作用下的水解和湿热作用下的热解所致。而经过烘干之后含量又有所降低可能由于氧化、水解、转化或与糖、多酚等结合导致的。氨基酸含量的增加能使茶香气的鲜爽度和茶汤滋味的鲜醇度得到提高。氨基酸的种类和含量决定着蛋白质品质的高低,必需氨基酸是评价食品营养水平的重要指标^[13-17];忍冬茶中的必需氨基酸含量较高,因此忍冬茶中蛋白质的含量也较高,所以忍冬茶的营养价值相对也较好。

2.2 微量元素测定结果

2.2.1 标准曲线的绘制 采用火焰原子吸收光谱法测定 9 种微量元素的含量,绘制各微量元素的标准曲线见表 3。

2.2.2 精密度与加样回收测定结果 取 9 种微量元素 Cu、Zn、Fe、Mn、Pb、Cr、Ni、Cd、As 标准溶液,重复进样 5 次,根据标准曲线计算各元素含量。结果,各元素的 RSD 分别对应是 1.19%、1.89%、1.49%、1.12%、1.08%、1.58%、1.53%、1.48%、1.41%,结果显示:精密度良好。另在一定量的样品溶液中加入定量的标准溶液,最后定容在 25mL 容量瓶中,并用此样品溶液进行加样回收率实验,结果 Cu、Zn、Fe、Mn、Pb、Cr、Ni、Cd、As 9 种元素的回收率都在 96.7%~106.4% 之间,RSD 均小于 2%,说明采用火焰原子吸收光谱法测定这 9 种微量元素稳定性好,能够达到检测要求。

2.2.3 忍冬茶加工过程中 9 种微量元素含量测定结果 从表 4 可以看出,忍冬茶在加工过程中锌、铁、锰这三种对人体有益的微量元素的含量一直处于增加状态。另外忍冬茶中铜、铅、铬、镍、砷等重金属元素的含量明显低于鲜芽中的,除铅含量偏高外,镉、镍、砷含量均低于 GB2762-2005《食品中污染物限量》中的规定。

表4 忍冬茶加工过程中微量元素含量($n=3$)Table 4 The trace elements content of Lonicera tea ($n=3$)

元素	鲜芽 (μg/g)	忍冬芽杀青后 (μg/g)	忍冬茶 (μg/g)
Cu	54.708 ± 0.226	50.333 ± 0.011	23.542 ± 0.011
Fe	107.042 ± 0.079	359.125 ± 0.176	429.542 ± 0.251
Zn	88.083 ± 0.027	90.500 ± 0.190	115.833 ± 0.027
Mn	182.125 ± 0.014	189.458 ± 0.013	231.375 ± 0.233
Cr	2.875 ± 0.017	2.292 ± 0.020	2.567 ± 0.015
Pb	11.375 ± 0.049	5.708 ± 0.006	8.542 ± 0.008
Cd	6.292 ± 0.003	6.000 ± 0.002	6.433 ± 0.004
Ni	19.000 ± 0.009	16.958 ± 0.003	13.542 ± 0.022
As	3.777 ± 1.885	1.796 ± 1.547	1.981 ± 1.785

2.2.4 茶汤中微量元素含量检测结果 表 4 的检测结果显示忍冬茶的加工过程可使重金属含量降低,但各含量仍然较高,由于茶叶通常是饮用品,所以我们又对冲泡过后的茶汤中的微量元素进行分析,检测结果见表 5。

由表 5 可以看出,忍冬茶经过冲泡过后的茶汤中的各种微量元素的含量丰富,忍冬茶在冲泡过程中

铁的含量有所升高,这说明冲泡有利于有益元素铁含量的增加;铜、锌、锰、铬、镍等微量元素的含量依次减少,锌、锰这两种有益元素的含量虽然减少但仍含量较高;铬、镍这两种重金属的含量的减少对人体是有利的^[18-22],有害金属元素铅、镉、镍、砷含量均符合GB2762-2005《食品中污染物限量》的规定,铅在加工过程中含量则增加,表明忍冬茶在饮用时不宜冲泡次数过多,应控制在3次以内。因此,本研究表明,忍冬茶能补充人体必需的微量元素,长期饮用具有一定保健功效。

表5 茶汤中微量元素含量(n=3)

Table 5 The trace elements content in leachate of tea(n=3)

元素	一道茶 (μg/g)	二道茶 (μg/g)	三道茶 (μg/g)
Cu	0.142 ± 0.002	-	-
Fe	0.092 ± 0.054	8.300 ± 0.487	5.750 ± 0.450
Zn	12.283 ± 0.116	2.600 ± 0.025	0.183 ± 0.027
Mn	40.100 ± 0.084	26.508 ± 0.098	10.250 ± 0.073
Cr	0.817 ± 0.018	0.575 ± 0.004	0.525 ± 0.005
Pb	0.300 ± 0.064	0.242 ± 0.020	1.333 ± 0.023
Cd	0.333 ± 0.003	0.342 ± 0.007	0.333 ± 0.003
Ni	1.117 ± 0.009	0.517 ± 0.006	0.400 ± 0.023
As	0.053 ± 0.550	0.423 ± 0.661	0.582 ± 0.799

注:-表示未检出。

3 结论与讨论

3.1 氨基酸^[11-12]是茶叶鲜爽味的主体物质,是决定茶叶香、口感的重要生化成分。氨基酸的组分不同则其呈现的味特性也不同,因此能够影响茶叶的品质。忍冬茶含有17种氨基酸,氨基酸是构成生物体蛋白质并同生命活动有关的最基本的物质,忍冬茶中丰富的氨基酸含量在发挥其食疗作用和药用价值方面有较高的开发价值。

3.2 忍冬茶加工前后均含有17种氨基酸和9种微量元素,且含量均较高。忍冬茶的原材料忍冬芽主产区分布于重庆秀山,这里常年雨水充沛,土壤肥沃。这些良好的生长环境使忍冬芽能含有丰富的氨基酸和微量元素等营养成分,具有优良的品质。

3.3 中国国家标准GB2762-2005《食品中污染物限量》中只对茶叶中的铅含量规定了其限度,其余金属元素含量未做限定。本研究表明忍冬茶及其加工过程中有害金属元素铅含量偏高,但本加工过程能显著降低重金属的含量。由于茶叶通常是饮用品,故本研究又对冲泡过后的茶汤中的微量元素含量进行检测,检测结果表明忍冬茶中的铅含量符合GB2762-2005《食品中污染物限量》的规定;其余重金属含量也均符合中国农业部2003年制定的茶叶重金属元素限量的规定^[23]。因此,忍冬茶能安全饮用。

3.4 通过上述工艺加工制成的灰毡毛忍冬嫩芽茶(忍冬茶)含有丰富的氨基酸和微量元素,食用对人体有益,可以作为新资源食品食用。

参考文献

[1]陈君,许小方,柴兴云,等.灰毡毛忍冬花蕾的化学成分[J].中国天然药物,2006,4(5):347-351.

- [2]许小方,李会军,李萍,等.灰毡毛忍冬花蕾中的化学成分[J].中国天然药物,2006,4(1):454-461.
- [3]贾晓东,冯煦,董云发.灰毡毛忍冬中皂苷类成分的研究[J].中草药,2007,38(10):1452-1455.
- [4] Yu C, Feng X, Xiaodong J, et al. Triterpene glycosides from Lonicera. Isolation and structural determination of seven glycosides from flower buds of Lonicera macranthoides [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2008, 44(1):392-431.
- [5]陈敏,吴威巍,沈国强,等.灰毡毛忍冬化学成分研究[J].药学学报,1994,29(8):6172-6201.
- [6]茅青,曹东,贾宪生.灰毡毛忍冬化学成分的研究[J].药学学报,1993,28:2732-2811.
- [7]霍仕霞,闫明,刘晓东,等.白花丹中微量元素的测定[J].中国药房,2010,21(11):1008-1010.
- [8]王勇健.微量元素与疾病的关系[J].家庭医学:新健康,2007,5(1):7-10.
- [9] Iqbal S, Haleem S, Akhtar M, et al. Efficiency of pomegranatepeel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions[J].Food Research International, 2008, 41(2):194-200.
- [10]张举成,刘卫,严和平,等.野山茶抗氧化活性研究及微量元素测定[J].食品科技,2007(4):267-271.
- [11]朱尚同.关于茶树中氨基酸代谢研究的若干进展和问题[J].茶叶通报,1980(1):43-47.
- [12]徐琪寿.氨基酸药理学研究进展[J].氨基酸与生物资源,1996,18(1):30-32.
- [13]李泽鸿,姚玉霞,王全凯,等.二杠鹿茸和三权鹿茸中营养元素含量的差异[J].微量元素和健康研究,2003,20(4):30-31.
- [14] Matsuura H, Hokura A, Katsuki F, et al. Multielement determination and speciation of major-to-trace elements in black tea leaves by ICP-AES and ICPMS with the aid of size exclusion chromatography[J].Analytical Sciences,2001,17(3):391-398.
- [15]曾琦斐.微量元素与人体健康[J].中国科技信息,2008(3):158-159.
- [16]FitzGerald R J, Murray B A, Walsh D J. Hypotensive peptides from milk proteins[J].J Nutr,2004,134:980-988.
- [17]宋念艺.微量元素锌与眼病[J].微量元素与健康研究,2006,23(6):73-75.
- [18]Abua I, Nosa O E. Assessment of trace elements in canned fishes(mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama(United States of America)[J].Journal of Food Composition and Analysis, 2005, 18(8):771-787.
- [19]王婕.浅谈微量元素铁与人体健康[J].贵州教育学院学报,2005,21(4):35-36.
- [20]江元汝.微量元素与健康[M].北京:中国建材工业出版社,2004:103-119.
- [21] Goldhaber S B. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity[J].Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2003, 38(2):232-242.
- [22]周利兵,姜紫勤,吴启勋.青海地区白刺叶中微量元素的主成分分析和聚类分析[J].安徽农业科学,2010,38(13):6694-6650.
- [23]中华人民共和国农业部标准.茶叶中铬、镉、汞、砷及氟化物限量标准(NY659-2003)[S].