

# 不同生产工艺蜂胶中重金属含量分析比较

徐鲁翔\*, 吕斌, 叶慧

(江山市检验检测研究院, 江山 324100)

**摘要:** **目的** 了解不同加工工艺的蜂胶加工品对去除原胶中有害重金属的效果。**方法** 采用微波消解, 石墨炉原子吸收光谱法和氢化物发生原子荧光光谱法测定两种蜂胶加工品中的 4 种有害重金属(铅、镉、总汞、总砷)含量并测定 3 个浓度的加标回收率。**结果** 4 种元素标准曲线相关系数均在 0.999 以上, 加标回收率乙醇萃取法在 83.8%~114.2%, 超临界萃取法在 72.6%~108.5%之间, 采用超临界萃取法加工蜂胶中铅、镉、总砷含量明显低于采用乙醇萃取法加工蜂胶, 总汞含量在两种加工工艺中均未检出。**结论** 在有害重金属含量的食品安全性上超临界萃取法的加工工艺优于乙醇萃取法。

**关键词:** 蜂胶; 重金属; 乙醇萃取法; 超临界萃取法

## Analysis and comparison of heavy metal content in propolis with different processing technologies

XU Lu-Xiang\*, LV Bin, YE Hui

(Jiangshan Inspection and Testing Research Institute, Jiangshan 324100, China)

**ABSTRACT: Objective** To understand the effect of propolis processed products with different processing technologies on removing harmful heavy metals from raw glue. **Methods** Microwave digestion, graphite furnace atomic absorption spectrometry and hydride generation atomic fluorescence spectrometry were used to determine the contents of four harmful heavy metals (lead, cadmium, total mercury and total arsenic) in 2 propolis processed products and the recovery rates of 3 concentrations were determined. **Results** The correlation coefficients of the standard curves of the 4 elements were all above 0.999, the recovery rates of standard addition were 83.8%–114.2% by ethanol extraction and 72.6%–108.5% by supercritical fluid extraction. The contents of lead, cadmium and total arsenic in propolis processed by supercritical extraction were significantly lower than those processed by ethanol extraction, and the total mercury content was not detected in both processing technologies. **Conclusion** Supercritical extraction is better than ethanol extraction in food safety of harmful heavy metal content.

**KEY WORDS:** propolis; heavy metals; ethanol extraction; supercritical fluid extraction

## 1 引言

蜂胶是蜜蜂从植物芽孢或树干上采集的树脂, 混入其上颚腺、蜡腺的分泌物加工而成的一种具有芳香气味的

胶状固体物, 是蜜蜂用来防护、抵御病虫害和病原微生物入侵巢房的御敌物质<sup>[1]</sup>, 蜂胶含有丰富而独特的生物活性物质, 具有抗菌<sup>[2]</sup>、抗炎<sup>[3]</sup>、抗氧化<sup>[4]</sup>、增强免疫<sup>[5]</sup>、降血脂<sup>[6]</sup>等多种功能, 对人体有着广泛的医疗和保健作用, 被

基金项目: 2014 年江山市第二批科技计划项目(2014F01)

Fund: Supported by the Second Batch of Science and Technology Projects of Jiangshan in 2014(2014F01)

\*通讯作者: 徐鲁翔, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 390204846@qq.com

\*Corresponding author: XU Lu-Xiang, Assistant Engineer, Jiangshan Inspection and Testing Research Institute, No.5 Jiangcheng North Road, Jiangshan 324100, China. E-mail: 390204846@qq.com

誉为“紫色黄金”。蜂胶现已成为各国科学研究的热点, 成为一种新兴的保健品<sup>[7]</sup>。但由于粗放管理或者外部环境污染, 蜂胶的原胶重金属污染比较严重, 直接服用会对人体健康产生较大危害, 需要对蜂胶的原胶有效成分进行提取, 目前主要的提取方式有有机溶剂萃取法、水提取法、索氏提取法、超临界萃取法和硼高分子电解质法 5 种, 本研究对比了有机溶剂(乙醇)萃取法和超临界萃取法的蜂胶制品的重金属含量并通过加标来确定结果的准确性, 以期对蜂胶制品在质量控制和方法选择上提供参考。

## 2 材料与方 法

### 2.1 实验设备

ME204 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司); 24HV750 微波消解仪(奥地利 Anton Paar 公司); BHW-09A2424 位石墨加热器(上海博通化学科技有限公司); PinAAle-900T 原子吸收分光光度计(珀金埃尔默股份有限公司); AFS-9780 原子荧光分光光度计(北京海光仪器有限公司)。

### 2.2 实验试剂

铅、镉、砷、汞标准储备液(1000  $\mu\text{g/mL}$ , 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 硝酸(优级纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 盐酸、磷酸二氢铵、硫脲(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司); 双氧水(优级纯, 永华化学股份有限公司); 氢氧化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 硼氢化钾(分析纯, 南开允公药业有限公司); 抗坏血酸(优级纯, 上海吉至生化科技有限公司); 重铬酸钾(优级纯, 天津市大茂化学试剂厂)。

### 2.3 样 品

由浙江福赐德生物科技有限公司使用江山林师傅蜂业专业合作社提供的同批次蜂胶原胶, 分别使用乙醇萃取法和超临界萃取法得到蜂胶制品。

### 2.4 实验方法

#### 2.4.1 铅含量测定样品处理及加标

称取 0.3 g 样品共 12 份, 其中 3 份作为平行样, 其余 9 份样品做加标试验, 每个加标梯度 3 个平行, 分别加入浓度为 500  $\text{ng/mL}$  的铅标准溶液 0.20、0.40、0.60 mL 用以测定加标回收率, 在 12 份样品中加入 5 mL 硝酸在石墨加热器上用 120  $^{\circ}\text{C}$  加 30 min 预消解, 预消解完成后冷却加入 1 mL 浓硝酸和 2 mL 双氧水再进行微波消解, 消解程序如表 1 所示, 消解完成后在石墨加热器上以 140  $^{\circ}\text{C}$  赶酸至近干, 等温度降至常温后将剩余液体倒入容量瓶并用少量 5% 硝酸溶液 3 次洗涤消解罐, 洗液合并倒入容量瓶用 5% 硝酸溶液定容至 25.0 mL。

表 1 微波消解程序  
Table 1 Microwave digestion procedure

序号	温度/ $^{\circ}\text{C}$	功率/W	升温/保持时间/min
1	130	1200	10/5
2	180	1200	10/30

#### 2.4.2 镉含量测定样品处理及加标

称取 0.3 g 样品共 12 份, 其中 3 份作为平行样, 其余 9 份样品做加标试验, 每个加标梯度 3 个平行, 分别加入浓度为 50  $\text{ng/mL}$  的铅标准溶液 0.20、0.40、0.60 mL 用以测定加标回收率, 在 12 份样品中加入 5 mL 硝酸在石墨加热器上用 120  $^{\circ}\text{C}$  加 30 min 预消解, 预消解完成后冷却加入 1 mL 浓硝酸和 2 mL 双氧水再进行微波消解, 消解程序如表 1 所示, 消解完成后在石墨加热器上以 140  $^{\circ}\text{C}$  赶酸至近干, 等温度降至常温后将剩余液体倒入容量瓶并用少量 5% 硝酸溶液 3 次洗涤消解罐, 洗液合并倒入容量瓶用 5% 硝酸溶液定容至 25.0 mL。

#### 2.4.3 总砷含量测定样品处理及加标

称取 0.3 g 样品共 12 份, 其中 3 份作为平行样, 其余 9 份样品做加标试验, 每个加标梯度 3 个平行, 分别加入浓度为 100  $\text{ng/mL}$  的砷标准溶液 0.50、1.00、2.00 mL 用以测定加标回收率, 在 12 份样品中加入 5 mL 硝酸后静置 30 min, 补加 2 mL 硝酸再进行微波消解, 消解程序如表 2 所示, 消解完成后在石墨加热器上以 130  $^{\circ}\text{C}$  赶酸至近干, 等温度降至常温后将剩余液体倒入容量瓶并用少量去离子水 3 次洗涤消解罐, 洗液合并倒入容量瓶加入 5 mL 混合液(0.1  $\text{g/mL}$  硫脲+0.1  $\text{g/mL}$  抗坏血酸)(V/V)用去离子水定容至 25.0 mL。

表 2 微波消解程序  
Table 2 Microwave digestion procedure

序号	温度/ $^{\circ}\text{C}$	功率/W	升温/保持时间/min
1	120	1200	5/6
2	180	1200	5/10
3	190	1200	5/15

#### 2.4.4 总汞含量测定样品处理及加标

称取 0.3 g 的样品共 12 份, 其中 3 份作为平行样, 其余 9 份样品做加标试验, 每个加标梯度 3 个平行, 分别加入浓度为 10  $\text{ng/mL}$  的砷标准溶液 0.50、1.00、2.00 mL 用以测定加标回收率, 在 5 份样品中加入 5 mL 硝酸后静置过夜, 补加 2 mL 硝酸再进行微波消解, 消解程序如表 3 所示, 消解完成后在石墨加热器上以 130  $^{\circ}\text{C}$  赶酸至棕色气体消失, 等温度降至常温后将剩余液体倒入容量瓶并用少量去离子水 3 次洗涤消解罐, 洗液合并倒入容量瓶用去离子水定容至 25.0 mL。

表 3 微波消解程序  
Table 3 microwave digestion procedure

序号	温度/°C	功率/W	升温/保持时间/min
1	80	800	30/5
2	120	1200	30/7
3	160	1600	30/5

## 2.5 标准溶液配制

### 2.5.1 铅标准溶液的配制

按照 GB 5009.12-2017《食品安全国家标准 食品中铅的测定》<sup>[8]</sup>第一法中的标准溶液配制方法配制,标准曲线中各浓度见表 4。

### 2.5.2 镉标准溶液的配制

按照 GB 5009.15-2014《食品安全国家标准 食品中镉的测定》<sup>[9]</sup>中的标准溶液配制方法配制,标准曲线中各浓度见表 4。

### 2.5.3 总砷标准溶液的配制

按照 GB 5009.11-2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》<sup>[10]</sup>第一篇第二法中的标准溶液配制方法配制,标准曲线中各浓度见表 4。

### 2.5.4 总汞标准溶液的配制

按照 GB 5009.17-2014《食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定》<sup>[11]</sup>第一篇第一法中的标准溶液配制方法配制,标准曲线中各浓度见表 4。

表 4 各元素标准曲线中浓度

元素	浓度/(ng/mL)				
Pb	0	4.00	8.00	12.00	20.00
Cd	0	0.50	1.00	1.50	2.00
As	0	1.00	4.00	8.00	10.00
Hg	0	0.10	0.20	0.40	0.80

## 2.6 仪器条件

### 2.6.1 铅测定仪器条件

波长: 283.31 nm; 狭缝: 0.7 nm; 灯电流 10 mA; 干燥: 120 °C 升温时 1s, 保持时间 35s, 150 °C 升温时间 15 s, 保持时间 40 s, 灰化: 750 °C 升温时间 10 s, 保持时间 20 s, 原子化: 1750 °C 保持时间 5 s。

### 2.6.2 镉测定仪器条件

波长: 228.80 nm; 狭缝: 0.7 nm; 灯电流 4 mA; 干燥: 120 °C 升温时间 1 s, 保持时间 30 s, 140 °C 升温时间 15 s, 保持时间 35 s, 灰化: 680 °C 升温时间 10 s, 保持时间 20 s, 原子化: 1600 °C 保持时间 5 s。

### 2.6.3 总砷测定仪器条件

负高压 300 V, 总灯电 500 mA, 主/辅阴极 25 mA, 原子化器高度 8 mm, 载 300 mL/min, 屏蔽气 9000 mL/min。

### 2.6.4 总汞测定仪器条件

负高压 270 V, 灯电流 15 mA, 原子化器高度 10 mm, 载气 400 mL/min, 屏蔽气 9000 mL/min。

## 3 结果与分析

### 3.1 各元素标准曲线相关系数

各元素标准曲线见图 1~图 4, 各元素相关系数见表 5, 各元素标准曲线相关系数均 > 0.999, 对各个浓度和其对应信号值所呈现的线性关系是良好的。

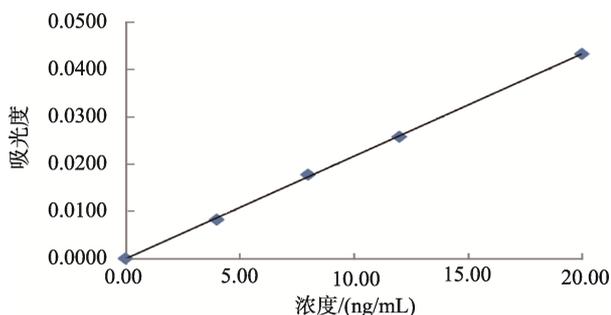


图 1 铅含量标准曲线

Fig.1 Standard curve of lead content

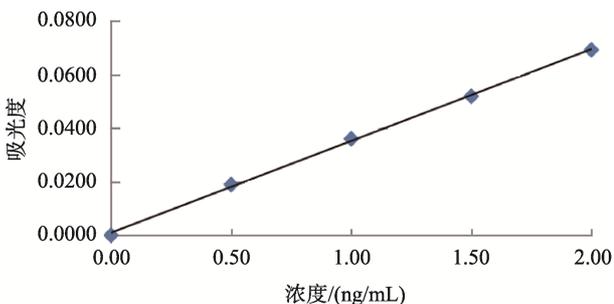


图 2 镉含量标准曲线

Fig.2 Standard curve of cadmium content

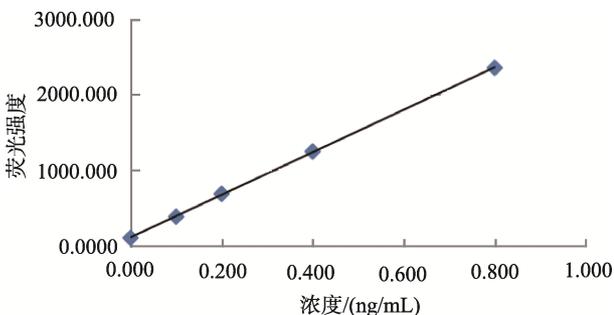


图 3 汞含量标准曲线

Fig.3 Standard curve of mercury content

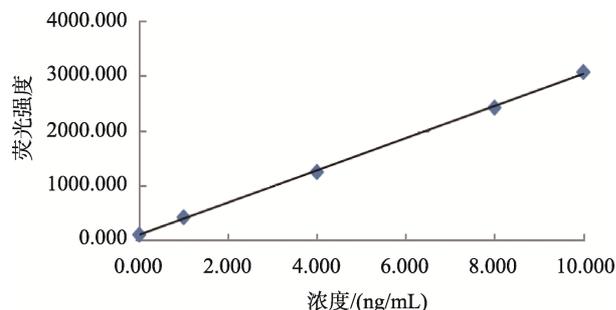


图 4 砷含量标准曲线

Fig.4 Standard curve of arsenic content

表 5 各元素标准曲线相关系数

Table 5 Correlation coefficient of standard curve of each element

元素	相关系数
铅(Pb)	0.9998
镉(Cd)	0.9995
总砷(As)	0.9995
总汞(Hg)	0.9998

### 3.2 样品结果

每种萃取方法的蜂胶制品取 3 个样品作为平行样, 根据标准浓度曲线加以计算, 所得结果的平均值作为该样品的分析结果见表 6。

表 6 样品分析结果(mg/kg)

Table 6 Results of sample analysis (mg/kg)

萃取方法	铅(Pb)	镉(Cd)	总砷(As)	总汞(Hg)
乙醇	0.16	0.011	0.11	/
超临界	/	/	/	/

注: “/”为未检出或低于检出限, 方法检出限均为 0.005 mg/kg。

### 3.3 加标回收率

加标样品根据标准浓度曲线加以计算, 所得结果减去样品自身含量取平均值除以标准加入量作为该样品在该元素的加标回收率, 分析结果见表 7。采用乙醇萃取, 回收率在 83.8%~114.2%之间, 采用超临界萃取, 回收率在 72.6%~108.5%之间。较好地支持了测定结果。

表 7 加标回收率结果

Table 7 Results of standard addition recovery rate

萃取方法	加标元素	标准物质加入量/ng	标准物质平均检出量/ng	加标回收率/%	
乙醇	Pb	100	107.38	107.4	
		200	217.76	108.9	
		300	342.57	114.2	
	Cd	10	10.96	109.6	
		20	20.41	102.1	
		30	26.45	88.2	
	As	50	47.27	94.6	
		100	98.16	98.2	
		200	220.20	110.1	
	超临界	Hg	5	4.19	83.8
			10	11.04	110.4
			20	21.61	108.1
Pb		100	98.65	98.7	
		200	184.17	92.1	
		300	325.46	108.5	
Cd	10	10.02	100.2		
	20	19.69	98.5		
	30	29.18	97.3		
As	50	45.70	91.4		
	100	91.82	91.8		
	200	185.21	92.6		
Hg	5	3.91	78.1		
	10	7.26	72.6		
		20	14.54	72.7	

## 4 结论

本研究各元素标准曲线相关系数均在 0.999 以上, 标准物质回收率乙醇萃取法在 83.8%~114.2%, 超临界萃取法在 72.6%~108.5.4%, 都较好地支持了两种不同方式萃取的蜂胶制品中重金属含量的测定结果。从样品的分析结果来看, 4 种有害重金属在超临界萃取法加工蜂胶中均未检出, 在乙醇萃取法加工蜂胶中除了总汞其他 3 种有害重金属均有检出。虽然在蜂胶的最新国标 GB/T 24283-2018<sup>[12]</sup>中没有提及重金属含量的要求, 但长食用乙醇萃取法加工蜂胶还是会对人体健康产生一定的危害。从生产工艺看乙醇萃取法根据溶剂与目标产物极性相似能够相容的原理, 将蜂胶中的有效成分充分溶解到溶剂中<sup>[13]</sup>, 但是部分蜂胶原胶中的重金属也会残留在溶剂中。而超临界萃取法主要利用二氧化碳作为超临界流体, 提取蜂胶原胶中易挥发性物质<sup>[14]</sup>, 二氧化碳作为大气成分, 无毒无害, 在实验过程和工业化生产过程中, 不存在有机溶剂的残留问题, 极大

的提高了目标析出物的纯净度,防止有机溶剂对食品、人体、环境 3 方面的不良影响<sup>[15]</sup>。说明萃取的介质会对蜂胶中重金属含量产生影响,本研究结果为蜂胶生产企业利用萃取工艺排除有害重金属对食品安全的影响提供了一定的科学依据。

### 参考文献

- [1] 王宗伟. 蜂胶的药理作用[J]. 国外医药植物药分册, 1997, 12(4): 151-153.  
Wang ZW. Pharmacological action of propolis [J]. Foreign Med Phytomed Vol, 1997, 12(4): 151-153.
- [2] 周建新, 姚明兰, 岳文倩, 等. 蜂胶的抗菌性及其影响因素的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, (3): 41-43.  
Zhou JX, Yao ML, Yue WQ, *et al.* Study on the antimicrobial activity and influencing factors of propolis [J]. Food Ferment Ind, 2007, (3): 41-43.
- [3] 王凯, 张江临, 胡福良. 蜂胶抗炎活性及其分子机制研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2321-2329.  
Wang K, Zhang JL, Hu FL. Research progress in anti-inflammatory activity of propolis and its molecular mechanism [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2013, 44(16): 2321-2329.
- [4] Rajibul AL, Ismail S, Nayan R, *et al.* Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents [J]. Food Chem, 2010, 122(1): 233-237.
- [5] 段霖. 蜂胶提取物对 IBD 疫苗的免疫增强作用和抗 IBDV 作用的研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2015.  
Duan L. Research on immune enhancement on IBD vaccine and antiviral effect against IBDV of propolis extracts [D]. Chongqing: Chongqing University, 2015.
- [6] 孙小玲, 曹炜, 于荣贤, 等. 蜂胶的降脂作用研究进展[J]. 中国蜂业, 2019, 70(8): 52-53.  
Sun XL, Chao W, Yu RX, *et al.* Research progress of propolis in reducing lipid [J]. Apic Chin, 2019, 70(8): 52-53.
- [7] 王树清, 申树芳, 张英锋, 等. 蜂胶的有效成分和功效[J]. 渤海大学学报(自然科学版), 2000, 31(3): 221-224.  
Wang SQ, Seng SF, Zhang YF, *et al.* Prop OLIS' validingredients and effect [J]. J Bohai Univ (Nat Sci Ed), 2000, 31(3): 221-224.
- [8] GB 5009.12-2017 食品安全国家标准 食品中铅的测定[S].

GB 5009.12-2017 National food safety standard-Determination of lead in food [S].

- [9] GB 5009.15-2014 食品安全国家标准 食品中镉的测定[S].  
GB 5009.15-2014 National food safety standard-Determination of cadmium in food [S].
- [10] GB 5009.11-2014 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定[S].  
GB 5009.11-2014 National food safety standard-Determination of total arsenic and inorganic arsenic in food [S].
- [11] GB 5009.17-2014 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定[S].  
GB 5009.17-2014 National food safety standard-Determination of total mercury and organic mercury in food [S].
- [12] GB/T 24283-2018 蜂胶[S].  
GB/T 24283-2018 Propolis [S].
- [13] 张文文, 王凯, 孙丽萍, 等. 蜂胶提取工艺研究进展[J]. 中国蜂业, 2018, 69(7): 51-53.  
Zhang WW, Wang K, Sun LP, *et al.* Research progress of propolis extraction technology [J]. Apic Chin, 2018, 69(7): 51-53.
- [14] 李丹, 沈艾彬. 超临界萃取技术在食品工业中的应用[J]. 宁夏农林科技, 2013, 54(1): 122-124.  
Li D, Shen AB. Application of supercritical fluid extraction technology in food industry [J]. Ningxia J Agric Forest Sci Technol, 2013, 54(1): 122-124.
- [15] 李雪萌, 姜宝杰, 张雅, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术在食品中的应用[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(1): 18-20.  
Li XM, Jiang BJ, Zhang Y, *et al.* Application of supercritical CO<sub>2</sub> extraction technology in food [J]. Cere Oils, 2020, 33(1): 18-20

(责任编辑: 王 欣)

### 作者简介



徐鲁翔, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测  
E-mail: 390204846@qq.com