

茶叶氟化物提取方法对比与电位法测定条件优化

张显晨, 郅红建, 张正竹*, 宛晓春

(安徽农业大学茶叶生物化学与生物技术教育部重点实验室, 合肥 230036)

摘要: 对比茶叶氟化物提取方法, 并对氟化物电位法测定条件进行优化。结果表明, 不同提取方法对茶叶氟化物提取效率表现为水浴法(93.17%)>酸振荡提取(68.19%)>超声提取法(62.38%)。选用电位法测定茶叶氟化物线性范围在30~200 mg·kg⁻¹之间, 平均回收率为90.48%, 相关系数 R^2 为0.992 2, 方法LOQ和LOD分别为54 mg·kg⁻¹和18 mg·kg⁻¹。采用此法分析了安徽省4种茶叶氟化物含量在52.26~73.80 mg·kg⁻¹之间, 低于农业部茶叶氟含量安全限量标准(≤200 mg·kg⁻¹)。该研究结果为茶叶中氟化物含量的快速测定与茶叶质量安全性评价提供参考。

关键词: 茶叶; 氟化物; 提取方法; 电位法测定

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2011)01-0027-04

Comparison of extraction methods and potentiometric determination of fluoride in tea

ZHANG Xian-chen, GAO Hong-jian, ZHANG Zheng-zhu, WAN Xiao-chun

(Key Laboratory of Tea Biochemistry & Biotechnology, Ministry of Education, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: The different methods for extracting fluoride from tea were compared, and the potentiometric method for determining fluoride in tea liquid was optimized. The results showed that the recoveries with the boiling water extraction method (93.17%) were higher than those with the shaking extraction in acidic water (68.19%) and the ultrasonic extraction (62.38%). In this paper, the linear range of potentiometric determination of fluoride in tea was between 30 and 200 mg·kg⁻¹, and the mean recovery was 90.48% with the square of the correlation coefficient (R^2) of 0.992 2. The limit of quantification (LOQ) and limit of detection (LOD) were 54 mg·kg⁻¹ and 18 mg·kg⁻¹, respectively. The fluoride contents in four tea samples from Anhui province were ranged from 52.26 mg·kg⁻¹ to 73.80 mg·kg⁻¹, and the fluoride components in spring tea were lower than that in autumn tea, and both of them were lower than that of the national standard of fluoride in tea (200 mg·kg⁻¹). The results provide reliable methods for rapid determination and quality assessment of fluoride in tea.

Key words: tea; fluoride; extraction method; potentiometric determination

氟是人体必需微量元素, 适量氟有益于人体健康, 过量氟则会导致慢性氟中毒, 主要表现为氟斑牙和氟骨症^[1]。茶树是氟高积累植物, 叶部含量占富集总量90%, 尤以老叶最高。茶叶中的氟有40%~90%可溶解在茶汤中, 饮茶成为人体摄氟的重要途径, 茶叶中氟含量高低直接影响人体健康^[2]。

茶叶中氟化物的测定方法有色谱法^[3]、比色法^[4]和电位法^[5]等, 其中电位法以其操作简便、设备简单、精密度较高等优点, 得到广泛应用。茶叶氟化

物提取是测定必要的前处理步骤, 常用提取方法有水浴提取^[6]、超声提取^[7]、振荡提取^[8]等, 回收率从54%到103%不等^[7], 相差较大。因此, 可靠提取方法是准确测定茶叶氟化物含量的前提。

本试验对比不同方法对茶叶中氟化物提取效率, 并对茶汤中氟化物电位法测定条件进行优化, 以期对茶叶氟化物快速测定及茶叶质量评价提供参考。

收稿日期: 2010-04-28

基金项目: 安徽省自然科学基金(090411009), 教育部科学技术研究重点项目(210097), 中国博士后基金(20090450800)和安徽省博士后基金(090411009)共同资助。

作者简介: 张显晨, 男, 硕士研究生。

* 通讯作者: 张正竹, 男, 博士, 教授。E-mail: zzz@ahau.edu.cn

1 材料和方法

1.1 试验材料

国家一级标准物质的茶样(GBW 10010 GBW 10019)购自中国地球物理地球化学勘查研究所, 氟含量为 $57\sim 72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。奥立龙台式氟离子测量仪(包括 9609BNWP 氟离子选择电极)购自美国热电公司、KQ5200 型超声波清洗器(昆山市仪器有限公司)、电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)、恒温振荡器(金坛市杰瑞尔电器有限公司)等。

选择茶样: 霍山黄芽、黄山毛峰、黄山云尖(春茶)和黄山云尖(秋茶)。茶叶样品经 60°C 干燥 2 h, 粉碎过 40 目筛, 密封于聚乙烯塑料袋中。

1.2 试验方法

1.2.1 氟标液和 TISAB 的配制方法 氟标准液储备液($1\ 000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$): 准确称取 $2.210\ 0\text{ g}$ 烘干氟化钠, 溶解后定容至 1 L, 贮于聚乙烯瓶中备用。总离子强度缓冲液(TISAB): 准确称取二水柠檬酸钠三钠 68 g , 58 g 氯化钠, 溶解后加入冰醋酸 57 mL , 溶于 700 mL 纯水中, 用 $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠调节 pH 至 5.00, 定容至 $1\ 000\text{ mL}$, 贮于聚乙烯瓶中备用。

1.2.2 茶叶氟化物提取与测定方法 分别称取 $0.500\ 0\text{ g}$ 标准茶样置于 50 mL 离心管中, 按照下列方法提取: (1)水浴提取^[6], 加 30 mL 超纯水于离心管中, 在 100°C 沸水浴中静置提取 30 min ; (2)超声提取^[7], 加 30 mL 超纯水于离心管中, 在 25°C 下超声提取 30 min ; (3)酸振荡提取法^[8], 加 30 mL $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液于离心管中, 在常温下振荡 30 min , 振荡频率为 $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。提取结束后, 冷却至室温, 在 $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 15 min , 测定上清液氟化物含量。

按照郜红建等^[9]优化的方法测定茶汤中氟化物含量: 准确取 15 mL 茶汤提取液放于 50 mL 聚四氟乙烯烧杯中, 加入 15 mL TISAB, 充分搅拌混匀后, 在氟离子电位测量仪上测定氟离子浓度。

1.2.3 LOD(limit of detection)和 LOQ(limit of quantification)的确定方法 仪器 LOD 和 LOQ 参照美国 EPA^[10]的方法计算: 以浓度 0.5 、 1.0 、 1.5 和 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氟标准溶液做标准曲线, 计算曲线斜率(slope)和各浓度回收量的离均差平方和 ($\sum(x-y)^2$), 获得各浓度回收量的标准差 $SD = \sqrt{\frac{\sum(x-y)^2}{n-2}}$ 仪器 LOQ 和

LOD 分别根据公式 $LOD=3\times SD/Slope$ 和 $LOQ=3\times LOD$ 计算。其中 x 为设定浓度测定值, y 为同一设定浓度的平均测量值, n 为自由度。

测定方法的 LOD 或 LOQ 确定: 按照计算的仪器 LOD 和 LOQ, 根据茶样和提取溶液比例, 在黄山云尖(春茶)茶样中加入氟标液, 使氟化物提取液浓度达仪器的 LOQ, 则茶叶中氟化物的对应浓度分别为 $24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 并用 36 、 42 和 $54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的茶氟含量进行对比验证。通过优化方法提取, 电位法测定茶叶中氟化物含量, 计算回收率, 确定测定方法的 LOD 和 LOQ。

1.2.4 线性范围的确定方法 在黄山云尖(春茶)中加入氟离子标准溶液, 使茶叶中氟化物含量分别为 0 、 30 、 60 、 90 、 120 、 150 和 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 放在恒温箱中 50°C 烘干。按照上述优化的方法测定茶叶中氟化物含量, 以此计算方法的线性范围、回收率, 精密度等参数。

1.2.5 测定方法适用性的验证 称取粉碎过 40 目筛的霍山黄芽、黄山毛峰、黄山云尖(春茶)、黄山云尖(秋茶)样品 $0.500\ 0\text{ g}$, 按照最佳提取方法, 电位法测定茶样中氟化物含量。

1.2.6 数据的处理 茶中氟化物含量为 3 次重复分析的平均值, 试验数据采用 Excel 2003 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同方法对茶叶氟化物提取效率的比较

不同方法对茶叶氟化物的提取效率表现为: 水浴法 > 酸振荡提取 > 超声法(表 1)。其中以水浴法提取效果最好, 平均回收率达 93.17% (RSD 为 3.72%)。于光前^[11]等采用水浴法提取—离子选择电极法测定砖茶氟化物, 平均加标回收率为 94.00% (RSD 为 1.02%), 与本文结果一致。国标 GB/T 21728-2008^[12]方法中采用水浴法提取—电极法测定砖茶氟化物含量, 加标回收率为 97.20% (RSD 为 2.10%), 略高于本试验结果, 这是因为国标法氟化物添加浓度 ($333.3\sim 2\ 000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 远高于本研究所用茶叶氟化物含量 ($57\sim 72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。超声提取是近年发展较快的提取方法, 具有提取时间短、操作方便等优点^[7]。茶叶氟化物超声提取的平均回收率为 62.38% (RSD 为 12.45%)。杨扬等^[7]和汪婵娜等^[13]采用超声波提取、离子选择电极法测定茶叶氟化物, 平均回收率分别为 $97.50\%\sim 103.00\%$ (RSD $\leq 2.00\%$) 和 $92.00\%\sim 108.00\%$ (RSD $0.58\%\sim 1.92\%$), 高于本试验结果, 因其所用茶标样氟含量均为 $320\pm 31\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 远高于本研究所用茶叶氟化物含量 ($57\sim 72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。酸振荡提取也是茶叶氟化物提取常用方法, 平均回收率为 68.19% (RSD 为 12.55%), 略低于水浴提取和超声提取。

表 1 不同方法对茶叶氟化物的提取效率
Table 1 Efficiencies for extracting fluoride from tea with different methods

项目 Item	水浴法 Boiling water extraction	超声法 Ultrasonic extraction	酸振荡提取 Shaking extraction
回收率/% Recovery	93.17	62.38	68.19
标准差 SD	3.47	7.77	8.56
相对标准偏差/% RSD	3.72	12.45	12.55

表 2 茶叶氟化物电位分析法 LOQ 的验证
Table 2 Validation of LOQ in determining fluoride in tea by potentiometric method

添加浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Spiked concentration	均值±标准差/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Mean±SD	相对标准偏差/% RSD	回收率/% Recovery
24	17.28 ± 4.58	26.48	69.00
36	27.08 ± 2.75	10.14	74.63
42	34.82 ± 4.92	14.13	83.34
54	45.32 ± 4.36	9.60	90.25

表 3 茶叶氟化物不同添加浓度的回收率
Table 3 Recoveries of different spiked fluoride concentrations from tea samples

加氟量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Added amount	平均数±标准差 Mean±SD	相对标准偏差/% RSD	回收率/% Recovery
30	21.70 ± 7.04	32.40	73.23
60	52.93 ± 6.01	11.35	88.22
90	81.48 ± 1.27	1.22	90.53
120	111.78 ± 1.62	1.45	93.14
150	139.17 ± 3.28	2.35	92.78
200	211.87 ± 7.15	3.37	105.00

表 4 安徽省 4 种茶叶氟化物含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Table 4 Fluoride contents in four tea samples from Anhui province

茶样 Tea sample	最小值 Minimum	最大值 Maximum	均数 Mean	相对标准偏差/% RSD
霍山黄芽 Huoshanhuangya	69.00	73.80	71.20	3.39
黄山毛峰 Huangshanmaofeng	58.50	63.40	60.35	4.40
黄山云尖(秋茶) Huangshanyunjian(autumn tea)	69.60	71.40	70.40	1.29
黄山云尖(春茶) Huangshanyunjian(spring tea)	52.26	54.48	53.52	2.13

2.2 电位法测定茶叶氟化物的 LOD 和 LOQ

通过电位法测定标准溶液(0.5、1.0、1.5 和 2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)中氟化物含量,得到标准曲线 $y=0.8758x+0.157(R^2=0.9999)$,各浓度回收量的标准偏差 $SD=0.0386$ 。根据 1.2.3 中的公式计算电位法测定茶汤中氟化物的 LOD 和 LOQ 分别为 0.132 2 和 0.364 4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。用浓度为 0.20、0.30、0.40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 氟标准溶液进行验证,其回收率分别是 117.0%、94.3%和 97.2%。其中 0.40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氟标液测定回收率最接近真实值,故确定仪器的 LOQ 为 0.40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, LOD 为 0.133 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

根据茶样和提取溶液比例,在黄山云尖(春茶)茶样中加入氟标液,使氟化物提取液浓度达仪器的

LOQ 时茶叶氟化物含量为 24 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。试验验证结果表明(表 2),茶叶氟化物测定回收率在 69.00%和 90.25%之间,氟化物含量达到 54 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 回收率较高(90.25%),可以满足测定需要。本试验测定茶叶氟化物的 LOQ 为 54 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, LOD 为 18 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.3 电位法测定茶叶氟化物线性范围

水浴法提取-电位法测定茶叶氟化物不同添加浓度(30~200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的回收率在 73.23%~105.00%之间,平均回收率 90.48%,准确性较高。其回归方程为 $y=1.0796x-14.125$, $R^2=0.9922$,具有良好的精密度。孙卫萍^[16]采用相同方法,测定茶叶氟化物回收率在 99.00%~102.70%之间, $R^2=0.9987$,准确性和精密度均高于本文,分析原因,

可能因其测定氟化物添加浓度($100\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)高于本文($30\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)所致。汪婵娜和徐军^[13]采用超声萃取-离子电极法测定茶样含氟量范围为 $5\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $R^2 = 0.9997$, 回收率在 $92.00\%\sim 108.00\%$, 线性范围、准确度和精密度均与本文结果基本相当。

2.4 安徽省几种茶叶氟化物含量

产于安徽省的霍山黄芽、黄山毛峰、黄山云尖(春茶)和黄山云尖(秋茶)4种样品中氟化物的含量在 $52.26\sim 73.80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间, 其中霍山黄芽含氟量($71.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)高于黄山毛峰($60.35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。陈文军^[18]等分析霍山黄芽和黄山毛峰含氟量分别为 $44.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $23.00\sim 35.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 均低于本文结果, 这可能与其水浴提取茶样的时间($5\sim 10\text{ min}$)低于本试验(30 min), 茶叶中氟化物没有浸提充分有关^[11]。同种茶叶在不同季节含氟量也有差异, 其中春茶(黄山云尖 $53.52\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)含氟量低于秋茶(黄山云尖 $70.40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。杨晓弟^[15]等分析安徽不同季节茶叶含氟量, 得出秋茶含氟量($144.36\pm 20.55\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)大于春茶($102.93\pm 15.63\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 两者相差 $4.24\%\sim 47.02\%$, 这是因为春茶和秋茶加工所用的茶叶原料不同有关, 春茶以幼嫩叶片为主, 含氟量较低^[18]。本文分析的安徽省几种茶叶氟化物含量均低于农业部茶叶氟含量限量标准($\leq 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[17], 安全性较高。

3 小结

不同提取方法对茶叶氟化物的提取效果表现为: 水浴法(93.17%)>酸振荡提取法(62.38%)>超声法(68.19%), 其中水浴法效果最好。

本试验测定茶叶氟化物的 LOD 和 LOQ 分别是 $18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 线性范围在 $30\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间, 平均回收率 90.48% , 相关系数 R^2 为 0.9922 , 具有良好的准确性和精密度。

产自安徽4种茶叶样品氟化物含量在 $52.26\sim 73.80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间, 相同品种秋茶($70.40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)含氟量高于春茶($53.52\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 但均低于农业部茶叶氟化物限量($\leq 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 安全性较高。

参考文献:

- [1] Ozsvath D L. Fluoride and environmental health: a review[J]. Review of Environment Science Biotechnology, 2009, 8(1): 57-59.
- [2] Simpson A, Shaw L, Smith A J. The bio-availability of fluoride from black tea[J]. Journal of Dentistry, 2001, 29(1): 15-21.
- [3] 蔡梦华, 高素虹, 洪祥奇. 离子色谱法测定茶叶中氟的含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(1): 84-85.
- [4] GB/T 5009.18-1996[S]. 食品中氟的测定方法.
- [5] Brambilla E, Felloni A, Fadini B L, Strohmenger C L. A simplified micromethod for fluoride analysis[J]. Archives of Oral Biology, 1998, 43(10): 819-823.
- [6] 赵立达, 鲁成银. 茶叶中氟的检测方法[J]. 中国茶叶, 2003(1): 17-18.
- [7] 杨扬, 杜晓明, 金凤明, 等. 超声萃取—离子选择电极法测定茶叶中的氟含量[J]. 江苏工业学报, 2007, 19(4): 29-32.
- [8] 周定友, 胡梅, 宋秀英, 等. 砖茶中氟化物测定方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(3): 312-313.
- [9] 郇红建, 张显晨, 张正竹, 等. 水中氟化物测定过程中 TISAB 的对比分析与优化[J]. 环境化学, 2010, 29(4): 759-763.
- [10] U S EPA. Assigning values to non-detected/non-quantified pesticide residues in human health food exposure assessment[R]. U S Environmental Protection Agency, 2000, 3: 23.
- [11] 于光前, 石玉霞, 孙殿军. 砖茶含氟量测定方法实验研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2001, 6(2): 65-67.
- [12] GB/T 21728-2008[S]. 砖茶含氟量的检测方法.
- [13] 汪婵娜, 徐军. 超声萃取—离子综合测试仪法测定茶叶中氟含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(5): 1034-1035.
- [14] 黄文耀, 李阳, 李明健, 等. 三种不同方法测定砖茶中氟含量的比较[J]. 中国地方病学杂志, 2002, 21(1): 61-62.
- [15] 杨晓弟, 宗清文, 吴运军. 安徽茶叶中氟化物含量的分析研究[J]. 农业环境保护, 1995, 14(5): 224-226.
- [16] 孙卫萍. 离子选择电极改良法快速测定茶叶中氟[J]. 浙江化工, 1998, 29(2): 44-45.
- [17] NY659-2003[S]. 茶叶中铬镉汞砷及氟化物限量.
- [18] 陈文军, 李菁, 屈跃斌, 等. 合肥市市售部分茶叶含氟量的分析[J]. 安徽医科大学学报, 2003, 38(3): 242-243.