

中药两面针不同入药部位金属元素的含量测定*

冯洁¹, 王冬梅^{2**}, 周劲帆¹, 魏涌标¹

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 广西医科大学第三附属医院, 南宁 530031)

摘要 目的: 测定中药两面针植物根、茎和叶中 20 种金属元素的含量。方法: 通过硝酸-高氯酸消解体系, 有效地彻底消解样品中的有机物; 而对于易挥发元素 Hg、Se, 则通过控制样品的消解量、消解温度和消解时间, 从而达到最佳的消解效果, 应用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)和原子荧光光谱法(ASF)进行元素分析。结果: 中药两面针不同入药部位金属元素含量有别, Na 在根中的含量比茎、叶高, 而 K、Ca、Mn 和 Mg 在叶中的含量较根、茎高, 20 种元素回收率为 93.9% ~ 102.2%, RSDs 均小于 2.0%。结论: 此方法简单、快速、准确, 结果可为研究扩大中药两面针药用植物资源及综合开发利用提供科学依据。

关键词: 两面针; 金属元素; ICP-AES; ASF

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)12-2232-04

Determination of metal elements in different clinical parts of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.*

FENG Jie¹, WANG Dong-mei^{2**}, ZHOU Jing-fan¹, WEI Yong-biao¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. The Third Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530031, China)

Abstract Objective: To determine and analyze the contents of twenty metal elements in different medicinal parts of *Zanthoxylum nitidum*. **Methods:** The organic compounds were completely decomposed effectually by HNO₃-HClO₄ mixed acid digested system. As to the highly volatile microelements such as Hg and Se, the digested time, digested temperature and digested quantity were under controlled to get the satisfactory decomposed. **Results:** There are rich metal elements such as Na, Mg, K and Ca in different medicinal parts of *Zanthoxylum nitidum*. The recovery of 20 elements were 93.9% ~ 102.2% with RSDs all lower than 2.0%. **Conclusion:** The method is simple, rapid and accurate. This research was provided scientific information for study to expand the medicinal plant of *Zanthoxylum nitidum*.

Key words: *Zanthoxylum nitidum*; metal element; ICP-AES; ASF

中药发挥作用是多成分协同起作用, 金属元素是中药归经和药性物质基础的重要组成部分, 是药效的重要物质基础之一, 其元素的种类、形态、含量及含量比例的改变对药效均有影响^[1]。两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 为芸香科(Rutaceae)花椒属多年生木本植物, 别名野花椒、入地金牛、蔓椒、双面针等, 广西为主产区, 有优良的栽培技术和悠久的药用历史, 也因品质优良产量大而享誉国内外。近年较多的药理研究表明, 两面针药材有抗肿瘤、诱导白血病细胞分化、强心^[2-4]及抗炎等多方面的生物活性。随

着人们对两面针活性和功能研究的不断深入, 用途不断拓宽, 加上两面针植物为多年生木本植物, 常用入药部位的根已基本不能适应人们对两面针药材的用量需求, 而非药用部位如茎及叶则在采收中常被当成废物处理。因此寻找两面针药材的替代品或扩大新药源的基础研究迫在眉睫。关于两面针药材无机元素的含量测定, 目前已有文献报道了中药两面针中 Fe、Cu、Zn、Mg、Ca、Pb、Sn^[5]和 Se 的含量^[6]。本研究应用 ICP-AES 和 ASF 进行分析, 测定两面针根、茎、叶不同部位 20 种金属元素的含量, 通过研究, 为两面针

临床合理用药、评价两面针非法定入药部位的茎和叶是否可能成为中药新药源、变废为宝、发展地方经济提供科学实验依据。

1 仪器、试剂和样品

1.1 仪器 CEM 高压密闭微波消解系统,美国培安公司;美国热电公司 IRIS Intrepid II XSP 型全谱直读等离子体光谱仪(ICP-AES);北京吉天仪器有限公司 AFS-920 型原子荧光光度计。

1.2 材料 两面针根、茎和叶于 2010 年 10 月采于广西南宁市邕宁县,生药标本经广西医科大学药学院冯洁副教授鉴定为芸香科(Rutaceae)花椒属植物两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 植物的根、茎及叶,凭证样本存放于广西医科大学药学院。

1.2 试剂 国家标准物质:钾(K)、钠(Na)、钙(Ca)、镁(Mg)、锰(Mn)、铜(Cu)、铁(Fe)、锌(Zn)元素标准溶液浓度均为 $\rho(M) = 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,多元素混合标准(GSB04-1767-2004)溶液浓度为 $\rho(M) = 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准使用液由元素标准溶液临用前逐级稀释,水为超纯水,硝酸和高氯酸均为优级纯。

2 仪器工作条件

2.1 AFS-920 原子荧光光度计测 Hg 工作条件

光电倍增管负高压 270 V,原子化器高度 8 mm,汞空心阴极灯灯电流 30 mA,载气流量 400 mL · min⁻¹,屏蔽气流量 800 mL · min⁻¹,读数时间 5 s,延时时间 0.5 s,测量方式 Std. Curve,读数方式 Peak Area。

2.2 AFS-920 原子荧光光度计测 Se 工作条件

光电倍增管负高压 270 V,原子化器高度 8 mm,硒空心阴极灯灯电流 80 mA,载气流量 400 mL · min⁻¹,屏蔽气流量 800 mL · min⁻¹,读数时间 5 s,延时时间 0.5 s,测量方式 Std. Curve,读数方式 Peak

Area。

2.3 ICP-AES 仪的工作条件 高频发射器功率 1.15 kW 雾化压力 170 kPa,积分时间长波 20 s,短波 5 s,观察高度 14 mm,冷却气流量 14 L · min⁻¹,辅助气流量 0.5 L · min⁻¹,样品溶液进样速率 1.8 mL · min⁻¹,高纯氩气。

3 样品处理

分别精确称取干燥粉碎的根、茎、叶样品 0.5000 g 各 3 份,置 125 mL 锥形瓶中,各加入浓硝酸 10 mL 和高氯酸 0.5 mL,放置过夜,置可调温电热板上低温加热,温度控制在 150 °C 以内,加热至样品冒大量黄烟尽后,将温度升至 180 °C 继续加热至黄烟冒尽,约 2 h 后刚产生高氯酸白烟时:(1) 如此时取出,样品可用于 Hg、Se 的含量测定;(2) 如此时再继续加热约 4 h 后至产生大量高氯酸白烟时,样品可用于其他元素的含量测定。消解过的样品冷却后用 5% 硝酸充分溶解,滤入 25 mL 量瓶中(用少量水洗涤,洗涤液一并滤入量瓶中),用超纯水定容,混匀,即得样品备用液。按上述消解样品处理方法做空白试液,按优化的最佳工作条件,进行样品含量测定。

4 结果

4.1 分析波长的选择和各元素的检出限

ICP-AES 法对每个元素分别预选 2~4 条谱线进行谱线扫描测定,综合分析稳定性、强度、干扰等因素,选择无干扰或干扰少且分解强度较强的谱线为本试验的分析谱线,各元素分析谱线见表 1。

应用优化的仪器条件,对空白试剂进行 7 次连续测定,计算每种元素的标准偏差,按公式 $DL = 3S_b/m$ (S_b : 空白标准偏差, m : 分析标准曲线范围内的斜率) 得出各元素检出限,Se 为 0.0039 ng · mL⁻¹,Hg 为 0.1026 ng · mL⁻¹,其余元素见表 1。

表 1 元素分析波长及最低检出限

Tab 1 Analytical wavelengths and lower limit of detector of trace elements

元素 (element)	波长 (wavelength) /nm	检出限 (lower limit of detection) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	元素 (element)	波长 (wavelength) /nm	检出限 (lower limit of detection) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Na	589.5	0.0269	Cu	324.7	0.0085
Mg	279.5	0.0008	Zn	213.8	0.0020
Al	396.1	0.0457	As	189.0	0.0341
K	766.4	0.1493	Sr	407.7	0.0011
Ca	184.0	0.0333	Mo	202.0	0.008
V	309.3	0.0262	Sn	189.9	0.0037
Cr	283.5	0.0244	Pb	220.3	0.0245
Mn	257.6	0.0086	Cd	228.8	0.0019
Fe	238.2	0.0125	Ni	231.6	0.0132

4.2 标准工作曲线 标准储备液的配制 ,Hg 用 10% 硝酸、Se 用 20% 盐酸、其余元素用 5% 盐酸逐级稀释 ,配制成系列标准工作溶液。回归方程及相关系数见表 2。

表 2 元素的回归方程和相关系数(Hg 和 Se 单位为 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,其余单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Tab 2 The regression equation and correlation coefficient of different elements(unit of element Hg and Se is $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,unit for the rest elements is $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

元素 (element)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)
Na	$Y = 18.779X + 2.3884$	0.9998	0.70 ~ 70.00
Mg	$Y = 67.816X + 11.493$	0.9993	0.20 ~ 20.00
K	$Y = 3.2155X + 1.807$	0.9998	0.50 ~ 50.00
Ca	$Y = 4.3153X + 0.7044$	1.000	0.70 ~ 70.00
Fe	$Y = 1.7005X + 0.3122$	0.9994	0.10 ~ 10.00
Se	$Y = 18.871X - 23.683$	0.9999	5.00 ~ 80.00
Hg	$Y = 18.871X - 23.683$	0.9995	0.20 ~ 4.00
其他(others)		0.9993 ~ 1.000	0.10 ~ 10.00

4.3 精密度考察和加标回收率试验 精确称取两面针根样品 0.5000 g ,按上述方法硝解处理 ,依本文条件测定 ,1 d 内连续进样 5 次 ,对仪器精密度进行考察 ,计算精密度。另精确称取两面针根、茎和叶样品各 3 份 ,根据相应元素溶液的浓度分别向样品中加入各标准溶液 ,按元素的硝解方法进行样品硝解处理 ,依测定值与加入标准含量计算回收率 ,各元素加标回收率在 93.9% ~ 102.2% 之间 ,准确度良好 ,结果见表 3。

表 3 两面针根、茎和叶中各元素精密度和加标回收率(n = 3)

Tab 3 Precision and recovery of the trace elements in *Z. nitidum*

元素 (element)	RSD /%	回收率 (recovery) /%	元素 (element)	RSD /%	回收率 (recovery) /%
Na	0.98	103.7	Zn	1.3	103.3
Mg	1.8	98.4	As	1.5	101.7
Al	1.6	101.4	Se	1.2	94.5
K	1.9	99.2	Sr	0.89	93.2
Ca	1.6	95.1	Mo	1.9	95.0
V	0.89	94.0	Sn	1.4	94.5
Cr	1.2	102.4	Pb	1.3	102.4
Mn	1.4	99.2	Cd	0.95	100.1
Fe	0.93	95.5	Ni	1.7	102.2
Cu	0.99	93.9	Hg	1.8	98.2

4.4 样品分析 采用最佳实验条件 ,应用 ASF - 920(对 Se 和 Hg) 及 ICP - AES 对两面针的根、茎和

叶 3 个部位进行金属元素分析测定 ,平行测定 3 份样品 ,取平均值 ,结果见表 4。

表 4 两面针根、茎和叶中各元素的含量测定 (除 Se 和 Hg 单位为 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 外 ,其余元素单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,n = 3)

Tab 4 Determination results of the trace elements in *Z. nitidum* (except the unit of Se and Hg ,which is $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$,the rest elements unit is $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,n = 3)

元素 (element)	根 (root)	RSD /%	茎 (caulis)	RSD /%	叶 (leaf)	RSD /%
Na	108.88	1.6	126.82	1.3	119.33	0.94
Mg	395.11	1.7	752.89	2.1	1748.62	0.79
Al	396.31	1.7	411.82	1.3	387.71	1.7
K	25.29	1.3	27.80	1.7	71.82	0.79
Ca	111.66	0.95	61.41	1.5	116.31	1.4
V	2.33	0.65	5.20	0.95	20.53	1.5
Cr	-	-	-	-	-	-
Mn	46.22	1.1	1.85	1.1	292.69	1.5
Fe	1.71	0.56	2.86	0.64	2.32	0.72
Cu	0.18	0.48	0.45	0.59	1.46	1.1
Zn	19.18	2.0	11.77	0.42	42.74	0.54
As	-	-	-	-	-	-
Se	24.21	1.1	18.16	0.19	59.54	1.9
Sr	8.43	1.8	5.77	1.5	14.56	1.1
Mo	0.26	0.74	0.05	0.30	0.21	0.33
Sn	53.85	1.2	20.71	1.4	78.54	1.9
Pb	1.62	0.86	2.40	1.6	1.42	0.67
Cd	1.75	0.63	0.53	0.30	0.75	0.57
Ni	3.95	1.2	3.33	0.89	2.55	1.0
Hg	7.94	0.72	9.71	1.1	16.03	0.94

注(note): “ - ”表示未检出(not detected)

5 结果与讨论

本试验对比 2 种消解方法 ,干法消解操作简单 ,但因灰化造成含量测定结果偏低;湿法消解进行了多种消解体系 [如 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ (5: 1,10: 1 和 20: 1 ν/ν) 等] 和消解时间(2,4,6,8,12 h) 优化 ,实验发现 $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ (20: 1 ν/ν) 为本试验的最佳消解体系 ,消化 2 h 和消化 6 h 分别为测定 Se 及 Hg 和其他元素的最佳消解时间。在反复优化的实验条件下 ,元素回收率在 93.9% ~ 102.2% 之间 ,RSDs 小于 2.0% ,说明分析样品达到检测要求 ,实验方法准确可靠。

两面针根、茎、叶对金属元素的富集程度各不相同 ,其根、茎、叶富含的 Na、K、Ca、Mg 是人体含量丰富的元素 ,在维持人体渗透压平衡、肌肉应激、神经冲动传递等生理过程中起着非常重要的作用。Mg 在叶中的含量较根、茎高得多 ,这是由于叶中含有大

量叶绿素,而 Mg 是叶绿素的主要成分。Na 在根中含量明显高于茎和叶。K、Ca 和 Mn 在叶中含量高于根和茎,特别是 Mn 在叶中高达 $292.69 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,根中含 $46.22 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,茎中仅含 $1.85 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,Mn 为正常骨结构所必需,影响体内多种酶的活性,可清除超氧化物,是公认的抑癌元素,这可能是两面针药材有抗肿瘤活性的原因之一。Zn 在叶中含量也最高,Zn 不但参与上百种酶的合成与激活,并直接参与生长发育、性机能神经、内分泌、免疫遗传功能,还可抗衰老、抗肿瘤,抗菌、抗菌毒等作用^[7]。文献^[8]报道微量元素铜和锌与肝癌发生密切相关,实验肝癌组 Cu/Zn 含量比值 1.35 显著高于对照组 0.78,血清中 Cu/Zn 含量比值升高可作为肝癌的重要标志之一。本研究的两面针根、茎、叶均表现出 Zn 高 Cu 低的趋势,Cu/Zn 含量比值均远小于 1,这与两面针的抗肿瘤作用相吻合。Al 在根、茎、叶含量均较高,Al 过量时主要危害人的中枢神经系统,对体内磷代谢及酶活性产生不良影响,使用两面针时应注意剂量。因此与常用入药的两面针根相比,两面针叶也具有广阔的应用前景。

Pb、Cd、Hg 等重金属元素在体内不能降解,容易蓄积,从而使蛋白质变性,酶失去活性,组织细胞出现结构和功能上的损害而抑制人的正常生理作用的发挥,对人体造成危害^[9]。根据^[10,11]相关标准,两面针根、茎、叶的 Pb、As、Cu 含量均未超过安全标准,但 Cd 含量均超过 $0.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,特别是根中的 Cd 含量高达 $1.75 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。本研究的两面针产地邕宁是广西重要矿区之一,有文献^[12]研究发现,广西矿区土壤中铅在国家土壤环境质量标准下几乎无污染,Cd 的含量不管就环境质量标准,还是单项污染指数,都属于严重污染级别。因此应引起相关部门的重视,及时采取措施控制污染源或减轻污染程度。

6 结论

本研究通过对两面针根、茎、叶中金属元素的含量测定结果表明,具有重要生物活性的元素中,叶中 Mg、Zn、K、Ca 和 Mn 的含量均比茎和根的含量高;Na 在茎中含量明显高于叶和根;各药用部位重金属元素的含量,除 Cd 外其余均是安全的。根具有良好的抗肿瘤和强心活性,从上述无机元素含量测定结果推测,叶和茎可能也有抗肿瘤和强心作用,特别是叶部位,关于活性方面,还得有待进一步深入研究。此研究结果为两面针的合理用量及评价非法定入药部位的叶和茎是否可以成为两面针药材的新药源提供科学实验依据。

参考文献

- MIAO Jian (苗健),GAO Qi (高琦),XU Si-lai (许思来). Trace Element and Related Disease (微量元素与相关疾病). Zhengzhou (郑州): Henan Medical University Press(河南医科大学出版社),1997. 239
- LIU Li-min (刘丽敏),LIU Hua-gang (刘华钢). Anti-hepatoma activity of nitidine chloride and its effect on topoisomerase (氯化两面针碱的抗肝癌活性及对 DNA 拓扑异构酶的影响). *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报) 2010 26 (4):497
- WANG Bo-long (王博龙),LIU Hua-gang (刘华钢),YANG Bin (杨斌) *et al.* Anticancer activity of nitidine chloride from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. on multidrug resistant KBV200 cells in vitro (氯化两面针碱体外对人口腔鳞癌多药耐药细胞 KBV200 的抗癌活性). *Chin J Pharmacol Toxicol*(中国药理学与毒理学杂志) 2007 18 (9):2104
- YAO Rong-cheng (姚荣成),HU Jiang (胡疆). Review of the study on the constituents and pharmacology of *Zanthoxylum nitidum* (两面针化学成分及其药理活性研究概况). *J Pharm Pract* (药学实践与杂志) 2004 22 (5):264
- CAO Yi-fan (曹一帆),ZHENG Qi-lai (程齐来),XU Xian-yun (徐仙贇). Determination of trace elements in *Zanthoxylum nitidum* by atomic absorption spectrometry (原子吸收法测定中药两面针微量元素含量). *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学) 2009 48 (11):2849
- REN Xiang-li (任向丽),GUO Quan-hai (郭全海),CHEN Qiong-xia (陈琼霞) *et al.* Determination of selenium in Chinese herbal medicine (中草药中微量元素硒的测定). *J Jiangnan Univ (Nat Sci)* [江汉大学学报(自然科学版)] 2010 38 (3):68
- NIU Ying-feng (牛迎凤),SHAO Yun (邵贇),TAO Yan-duo (陶燕铎) *et al.* Determination of eight trace elements in seven Tibetan medicines (7 种藏药材中 8 种微量元素的测定). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志) 2009 29 (6):915
- ZHENG Mei-rong (郑美容),YUAN You-bing (阮幼冰),WU Zhong-bi (武志弼). Significance of trace elements copper and zinc change in experimental hepatocarcinoma (微量元素铜和锌在实验性肝癌中的变化及意义). *Stud Trace Elements Health* (微量元素与健康研究) 2000 17 (1):6
- LU Wei (鲁伟),WANG Yan-hong (王艳红),ZHAO Chang (赵畅) *et al.* Effect of genes expression by heavy metals (重金属对基因表达的影响). *Bull Biol* (生物学通报) 2003 38 (9):18
- ChP(中国药典). 2010. Vol I (一部):154
- Ministry of Foreign Trade and Economic Cooperation ,PRC (中华人民共和国对外贸易经济合作部). Green Trade Standard for Importing and Exporting Medicinal Plant and Preparation (药用植物及制剂进出口绿色行业标准). VM2-2001 ,GTSIEMPP
- WANG Su-juan (王素娟),LI Zheng-wen (李正文),LIAO Qiu-jia (廖秋佳) *et al.* A study on contamination status of the Cd and Pb in the mines soil of Guangxi (广西矿区土壤镉、铅污染状况研究). *Ecolog Sci* (生态科学) 2008 27(1):50

(本文于 2011 年 6 月 10 日收到)