

中草药益母草中 5 种微量元素的含量测定

李生芳¹, 赵青山², 张秀英¹ (1. 青海大学农牧学院, 青海西宁 810016; 2. 青海省家畜改良中心, 青海西宁 810003)

摘要 [目的]通过测定中草药益母草中 5 种微量元素含量,以期阐明益母草的作用机理及其鉴定提供依据。[方法]采用微波消解-火焰原子吸收光谱法测定益母草中 5 种微量元素 Fe、Cu、Mn、Zn 和 Pb 的含量。[结果]在各自的浓度范围内,各元素浓度与吸光度均呈良好的线性关系,相关系数 R 均大于 0.999 1;益母草中 Fe、Cu、Mn、Zn 和 Pb 的含量分别为 4.18、4.13、8.49、8.34 和 2.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。[结论]该方法准确,可靠,可用于中草药益母草中 5 种微量元素的含量测定。

关键词 微波消解;火焰原子吸收光谱法;益母草(HERBA LEONURI);微量元素

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)06-01667-02

Determination of 5 Trace Elements Concent in *Leenurus Heterophyllus Sweet*

LI Sheng-fang et al (Faculty of Agriculture and Animal Sciences, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract [Objective] The determination of trace elements in *Leenurus Heterophyllus Sweet*, to provide a basis to elucidate the action mechanism and identification of *Leenurus Heterophyllus Sweet*. [Method] 5 kinds of trace element Fe, Cu, Mn, Zn, Pb were determined in *Leenurus Heterophyllus Sweet* by Microwave digestion treatment and flame atomic absorption spectrophotometry. [Result] Fe, Cu, Mn, Zn, Pb content in *Leenurus Heterophyllus Sweet* were 4.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 8.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 8.34 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively.

Key words Microwave digestion; Flame atomic absorption spectrophotometry; *Leenurus Heterophyllus Sweet*; Trace element

益母草(HERBA LEONURI)为唇形科(Lamiaceae)植物益母草(*Leenurus heterophyllus Sweet*)的新鲜或干燥地上全草,始载于《神农本草经》。其味辛、微苦、性微寒,具有活血调经、利尿消肿和清热解暑之功效,常用来治疗冠心病、心肌缺血、高黏血症和急性脑梗塞等^[1-2]。田柱萍等认为,中草药的药效与所含微量元素有一定的相关性^[3]。因此,笔者采用微波消解-火焰原子吸收光谱法测定益母草中微量元素的含量,以期阐明益母草的作用机理,并为益母草的鉴定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。中草药益母草,购自青海大学农牧学院家畜病院药房,经鉴定为唇形科(Lamiaceae)植物益母草(*Leenurus heterophyllus Sweet*)的干燥地上全草。

1.1.2 主要仪器。ZEE nit 700P 火焰原子吸收分光光度计,购自德国耶拿分析股份公司;MARS 型微波消解仪,购自美国 CEM 公司;BDW1-FW200 型告诉微型粉碎机,购自中西远大科技有限公司;TDZ4-WS 低速台式离心机,购自长沙湘仪离心机仪器有限公司;电子天平,购自赛多利斯科学仪器有限公司;EH20A 型电热板,购自莱伯泰科有限公司。

1.1.3 主要试剂。Fe、Cu、Zn、Mn 和 Pb 的单标准储备液,均购自国家标准物质研究中心;其他试剂均为国产分析纯,市售。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理。将所购的 100.00 g 益母草样品用自来水冲洗干净,再用蒸馏水和重蒸馏水各冲洗 3 遍,置于烘箱 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干恒重后,剪碎,粉碎,60 目过筛,装入自封袋,标记备用。

1.2.2 样品处理。用电子天平精确称取 0.200 g 益母草样

品,置于聚四氟乙烯消解罐中,加入 5 ml 浓硝酸和 1.0 ml 浓度 30% 过氧化氢溶液,消化管壁用少量去离子水将中草药冲入管底,静置 10 min,上盖,拧紧,插入到微波消解转盘中,设置分布消解程序(见表 1)。消解完成后取出消解罐,冷却,旋松盖帽,将溶液转移至 50 ml 容量瓶中用去离子水定容到刻度,标记备用,同时作空白试验。

表 1 微波消解程序

程序	功率	时间	温度	压力
	W	min	$^{\circ}\text{C}$	atm
1	1 200	5	120	12.0
2	1 600	5	150	15.0

1.2.3 对照品溶液的制备及线性关系的考察。将浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 Fe、Cu、Zn、Mn 和 Pb 的单标准储备液,分别用浓度 1% HNO_3 稀释并配制相应标准溶液,在仪器最佳工作条件下进行测定,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,火焰原子吸收仪自动绘制工作曲线,计算线性回归方程。

1.2.4 益母草中 5 种微量元素的含量测定。取适量消解好的样品溶液,采用空气-乙炔火焰原子吸收光谱法测定益母草中的 5 种微量元素(Fe、Cu、Mn、Zn、Pb)。仪器工作条件见下表 2,同一样品平行测定 3 次。

表 2 火焰原子吸收光谱测定的工作条件

元素	波长 λ	电流 I	乙炔流量	乙炔压力	燃气高度
	nm	mA	L/min	MPa	mm
Fe	248.3	1.0	1.0	0.09	5
Cu	324.8	1.0	1.0	0.09	5
Mn	279.5	1.0	1.0	0.09	5
Zn	213.9	1.0	1.0	0.09	5
Pb	283.3	1.0	1.0	0.09	5

2 结果与分析

2.1 线性关系的考察 由表 3 可知,在各自的浓度范围内,各元素浓度与吸光度均呈良好的线性关系,相关系数 R 均大于 0.999 1。

作者简介 李生芳(1963-),女,青海民和人,畜牧师,从事动物疾病诊断及预防的研究。

收稿日期 2014-01-27

表3 线性回归方程和相关系数

元素	标准溶液// $\mu\text{g}/\text{ml}$					线性方程		相关系数 R
Fe	0	0.25	0.50	1.00	2.00	4.00	$Y=0.0033+0.0805X$	0.9904
Cu	0	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	$Y=0.0072+0.0056X$	0.9996
Mn	0	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00	$Y=0.0016+0.1553X$	0.9999
Zn	0	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	$Y=0.0042+0.1664X$	0.9992
Pb	0	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	$Y=0.0021+0.1011X$	0.9943

2.2 益母草中5种微量元素测定 由表3可知,益母草中Mn和Zn含量较高,分别为8.49和8.34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其次为Fe和Cu,含量分别为4.18和4.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$;Pb的含量最低,为2.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表4 益母草中各元素的含量测定结果

元素	样品均值// $\mu\text{g}/\text{kg}$	RSD//%
Fe	4.18	2.81
Cu	4.14	1.04
Mn	8.49	0.54
Zn	8.34	2.27
Pb	2.92	2.07

3 结论与讨论

目前,测定微量元素方法主要有火焰原子吸收光谱法、石墨炉原子吸收光谱法和二硫脲比色法^[5-6],试验采用微波消解处理样品,与传统的方法比较,不仅缩短了消解时间,提高了效率,而且节约了试剂,降低了成本^[4]。试验采用火焰原子吸收光谱法测定微量元素,元素浓度与吸光度均呈良好的线性关系,具有快速、灵敏、准确、抗干扰能力强、稳定性好

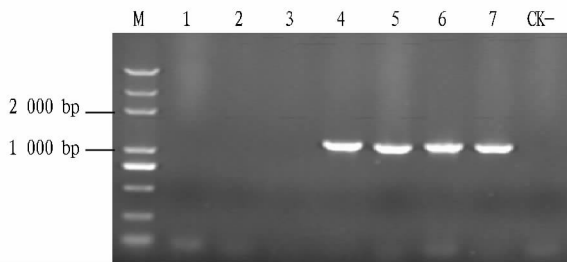
等优点。

益母草中Mn和Zn含量较高,益母草之所以能去瘀生新、活血调经、利尿消肿等功效,是否与这些有益元素有关,有待于进一步研究。益母草被列为具有肾毒性的中药,长期应用易造成肾组织损伤^[7]。试验所测定的益母草中Pb的含量为2.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$,因此对于一些特殊人群如孕妇、儿童、老年人等在使用益母草时需酌情考虑益母草剂量。

参考文献

- [1] 阮金兰,杜俊蓉,曾庆忠. 益母草的化学,药理和临床研究进展[J]. 中草药,2003,34(11):15-19.
- [2] 谢崇宣,杨育群,卢健沛,等. 益母草注射液治疗急性脑梗塞的临床研究[J]. 中国医药导报,2006,3(24):33-34.
- [3] 田柱萍,何邦平,王小燕. 中药材的药效与其含微量元素关系的研究进展[J]. 微量元素与人体健康,2005,22(4):54-56.
- [4] 袁晓玲,应惠芳,梅光泉. 微量元素铁及铁超氧化物歧化酶的模拟化学[J]. 微量元素与健康研究,2005,22(6):59-61.
- [5] 李盛亮. 原子吸收光谱法[M]. 上海:上海科学技术出版社,1989:118-119.
- [6] 谢华林,刘宏伟,张萍. 微波消解-原子荧光光谱法测定蘑菇中痕量硒的研究[J]. 食品科学,2002,23(11):108-110.
- [7] 蔡浙毅,周锦明,葛缘仁. 益母草对肾功能及其组织形态影响的动物实验研究[J]. 上海中医药杂志,2000,34(11):37-39.

(上接第1611页)



注:M为DNA marker,DL2000 plus 1;1~7为再生植株;CK-为野生型拟南芥。

图5 PCR检测拟南芥再生植株

具有发夹结构的RNAi载体pART-S-A使紫花苜蓿的*MsCOL1*基因表达量有所下降^[9]。张威威等构建了银杏pCAMBIA1304-GbCoab表达载体,用转基因来研究CO基因功能是一种常用的方法,该方法已经在很多实验中得到应用^[10]。

试验为了构建*MsCOL1*基因超表达载体,通过PCR扩增的方式在目的基因开放阅读框两端分别引入*Xba*I和*Bam*HI酶切位点,保证了连接方向的准确性。将分离到的基因构建表达载体转入拟南芥中进行过量表达,得到成功转化的转基因苗,进一步研究了*MsCOL1*基因及*NCED4*基因的功能。试验采用农杆菌介导的方法转化拟南芥,并通过PCR反应与未转化的植株对比验证,结果显示所转化的4株全部为阳性,证实目的基因已转入拟南芥基因组中。研究将构建的

*MsCOL1*基因过量表达载体导入拟南芥中,得到转基因植株,对该基因功能的研究具有重要的价值。

参考文献

- [1] ROBSON F, COSTA M M R, HEPWORTH S R, et al. Functional importance of conserved domains in the flowering-time gene *CONSTANS* demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants[J]. The Plant Journal, 2001, 28(6):619-631.
- [2] SUAREZ-LOPEZ P, WHEATLEY K, ROBSON F, et al. *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2001, 410(6832):1116-1120.
- [3] LEE H, SUH S S, PARK E, et al. The *AGAMOUS-LIKE 20* MADS domain protein integrates floral inductive pathways in *Arabidopsis* [J]. Genes Dev, 2000, 14(18):2366-2376.
- [4] LEDGER S, STRAYER C, ASHTON F, et al. Analysis of the function of two circadian-regulated *CONSTANS-LIKE* genes [J]. Plant J, 2001, 26(1):15-22.
- [5] CHENG X F, WANG Z Y. Overexpression of *COL9*, a *CONSTANS-LIKE* gene, delays flowering by reducing expression of *CO* and *FT* in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2005, 43(5):758-768.
- [6] DATTA S, HETTIARACHCHI G H C M, DENG X W, et al. *Arabidopsis* *CONSTANS-LIKE3* is a positive regulator of red light signaling and root growth [J]. The Plant Cell Online, 2006, 18(1):70-84.
- [7] GONZÁLEZ-SCHAIN N, SUÁREZ-LÓPEZ P. *CONSTANS* delays flowering and affects tuber yield in potato [J]. Biologia Plantarum, 2008, 52(2):251-258.
- [8] KIM S K, YUN C H, LEE J H, et al. *OscO3*, a *CONSTANS-LIKE* gene, controls flowering by negatively regulating the expression of *FT*-like genes under SD conditions in rice [J]. Planta, 2008, 228(2):355-365.
- [9] 周光辉,杨青川,张铁军,等. 紫花苜蓿*MsCOL1*基因RNAi表达载体的构建及转化[J]. 中国草地学报, 2013, 35(4):7-12.
- [10] 张威威,宁迎昆,陈柳吉,等. 银杏*CONSTANS*基因植物表达载体构建[J]. 生物技术, 2010, 20(6):8-10.