

续断酒炙前后无机元素含量及其灰关联度对比分析

罗君¹, 卿娟², 赵琳璐^{3,4}, 张丽艳^{3*}, 张培琴^{1*}

(1. 贵阳中医学院 第一附属医院, 贵阳 550001; 2. 贵州省修文县疾病预防控制中心, 贵阳 550200;
3. 贵阳中医学院, 贵阳 550001; 4. 贵阳新天社区卫生服务中心, 贵阳 550008)

[摘要] 目的:研究续断酒炙前后样品中多种无机元素的含量,并用灰关联度法对其无机元素含量进行对比分析。方法:采用原子吸收光谱法和原子荧光光谱法测定续断片和酒续断中无机元素的含量。结果:续断酒炙前后样品中所含铁(Fe),锰(Mn),铜(Cu),锌(Zn),铅(Pb),铬(Cd),砷(As),汞(Hg)无机元素的含量各有不同,炮制后较炮制前不存在整体上升或下降趋势。结论:续断经炮制后无机元素的含量及分布发生了改变,酒炙后 Fe,Mn 和 Zn 含量增加,尤以 Mn 特别显著,这可能是酒炙品补肝肾的原因之一。

[关键词] 续断; 炮制品; 无机元素; 灰关联度

[中图分类号] R284.1;R283.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2015)05-0079-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015050079

Comparative Analysis of Inorganic Elements on Dipsaci Radix Before and After Processed by Grey Relational Grade Analysis LUO Jun¹, QING Juan², ZHAO Lin-jun^{3,4}, ZHANG Li-yan^{3*}, ZHANG Pei-qin^{1*}
(1. First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guiyang 550001, China; 2. Chinese Center for Disease Control and Prevention of Xiuwen City, Guiyang 550200, China; 3. Guiyang College of TCM, Guiyang 550001, China; 4. Community Health Service of Xintian in Guiyang, Guiyang 550008, China)

[Abstract] Objective: Study on the content of several inorganic elements in Dipsaci Radix before and after stir frying with wine, and analyzed by grey relational grade analysis. Method: The content of inorganic elements were determined by atomic absorption spectroscopy and atomic fluorescence spectrometry. Result: The content of inorganic elements, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd, As, and Hg, are different in the Dipsaci Radix before and after stir frying with wine, and with no overall upward or downward trend. Conclusion: The content and distribution of inorganic elements in Dipsaci Radix has changed after processed. The content of Fe, Mn and Zn has increase, especially the content of Mn. This may be one reason why wine fried Dipsaci Radix with the activity of nourishing liver and kidney.

[Key words] Dipsaci Radix; processed products; inorganic elements; grey relational grade

续断始载于《神农本草经》,现收载于 2010 年版《中国药典》^[1];主要分布于四川、湖北、湖南、贵州等地。具补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏之功效。临床以酒续断和盐续断运用最为广泛。近年,形成了如“仙灵骨葆”等一批疗效确切的中成药,其需求量呈逐年递增趋势。中药的药理活性表现为多种组分的协同效应,不仅与所含的有机成分有关,还与无

机元素密切相关^[2-3]。不同的炮制方法将改变药材中所含元素的种类及其含量,研究中药中无机元素对揭示药材中各元素与炮制方法的关系,以及中药的功效,药理活性及其机制具有重要意义^[4-6]。续断酒炙前后药材无机元素的差异性研究鲜有涉及^[7]。灰关联度是灰色系统理论和方法的一种,通过研究对象的“部分信息已知,部分信息未知”的

[收稿日期] 20140722(027)

[基金项目] 贵阳市科学技术计划项目([2010]筑科合同字第 1-中-16 号);贵州省科技厅贵阳中医学院联合基金项目黔科合中药字([2012]LKZ7059)

[第一作者] 罗君,硕士,主管中药师,从事中药、民族药质量控制与新药研究,E-mail:53011402@qq.com

[通讯作者] * 张丽艳,教授,硕士生导师,从事中药、民族药质量控制与新药研究,E-mail:zly1964@163.com;
* 张培琴,主任药师,硕士生导师,从事中药制剂研究与开发,E-mail:93343673@qq.com

“小样本”、“贫信息”不确定性系统去了解、认识现实世界,实现对系统运行行为和演化规律的正确把握和描述^[8-9]。目前已运用于中药的质量评价和谱效关系。为揭示续断片及其炮制品中微量元素、重金属之间的内在联系,笔者引入了灰关联度分析,以期科学评价药材中各元素与炮制方法的关系,以及炮制品质量和重金属含量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器 AAnalyst-800 型原子吸收分光光度计(美国 PE 公司),AFS-930 型双道原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司),铅、铬、铁、锰、铜、锌、砷、汞空心阴极灯,MARS6 型微波消解仪(美国培安公司),BHW-09C 型 Heating 恒温消解仪(上海博通),AE-240 型双量程电子分析天平(梅特勒-托利多上海有限公司)。

1.2 试剂与试药 浓硝酸、高氯酸、浓盐酸、硫脲等均为优级纯。水为去离子水。铁(Fe)(批号 GSB04-1726-2004),铜(Cu)(批号 GSB04-1725-2004),锰(Mn)(批号 GSB04-1736-2004),锌(Zn)(批号 GSB04-1761-2004),铅(Pb)(批号 GSB04-1742-2004),铬(Cd)(批号 GSB04-1721-2004),汞(Hg)(批号 GSB04-1742-2004),砷(As)(批号 GSB04-1714-2004)均购于国家有色金属及电子材料分析测试中心。燃气乙炔、高纯氩气。续断药材经贵阳中医学院魏升华副教授鉴定为续断科植物川续断 *Dipsacus asper* 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 Fe,Mn,Cu,Zn 的含量测定

2.1.1 供试品溶液制备 分别精密称取样品 0.5 g,置微波消解罐中,加入浓硝酸 8 mL,摇匀,静置过夜,放入微波消解仪中消解。消解完毕,冷却至室温,开罐转移至赶酸器上,将酸挥发至 1~2 mL,用去离子水转移至 25 mL 聚四氟乙烯量瓶中,定容至刻度,摇匀,即得 Fe,Mn,Cu,Zn 供试品溶液,同法制得样品空白溶液。

2.1.2 标准溶液的配制 精密吸取适量的 Fe,Mn,Cu,Zn 元素对照品,加入 2% HNO₃,按照标准曲线所需浓度进行稀释。同法制得空白溶液。

2.1.3 测定条件 按照仪器推荐和实验优选的测定条件运行,见表 1。

2.1.4 线性关系考察 配制相应浓度标准溶液,按上述测定条件,绘制各元素标准曲线。见表 2。

2.1.5 样品测定结果 分别取 10 批续断片及其酒炙品 0.5 g,精密称定,按 2.1.1 项下方法和 2.1.3

表 1 原子吸收分光光度法火焰法测定条件

Table 1 Flame atomic absorption Spectrophotometric method for the determination of conditions

元素	波长	灯电流
Fe	248.3	30
Mn	279.5	18
Cu	213.9	15
Zn	248.3	25

注:狭缝宽度均为 0.7 mm,乙炔流量均为 2.0 L·min⁻¹,空气流量均为 17.0 L·min⁻¹。

表 2 无机元素的标准曲线

Table 2 The standard curve of Inorganic element

元素	回归方程	线性范围 /μg·L ⁻¹	相关系数
Fe	$A = 0.0026C - 0.00003$	0~5	0.9992
Mn	$A = 0.04235C + 0.00142$	0~5	0.9983
Cu	$A = 0.0279C + 0.0001$	0~0.8	0.9986
Zn	$A = 0.1210C + 0.0005$	0~1600	0.9995
Pb	$A = 0.0019C + 0.0013$	0~50	0.9982
Cd	$A = 0.00032C + 0.00002$	0~50	0.9996
As	$A = 3.6566C - 4.9745$	0~50	0.9965
Hg	$A = 906.4229C - 126.4185$	0~4	0.9978

项下方法进行样品处理和微量元素测定,结果见表 3。

2.2 Pb,Cd 元素的含量测定 参照《中国药典》2010 年版附录 IX B 铅、铬测定法(石墨炉法)。

2.2.1 供试液的制备 按 2.1.1 项下制备 Pb 和 Cd 供试液,加入 0.1% 的磷酸二氢铵和 0.2% 的硝酸镁溶液制成的混合液,即得到 Pb 和 Cd 的供试品溶液。

2.2.2 标准溶液制备及标准曲线的绘制 分别精密吸取 Pb 和 Cd 标准溶液适量,按标准溶液所需浓度用 0.2% HNO₃ 进行稀释,分别精密量取 1 mL,精密加入含有 1% 磷酸二氢铵和 0.2% 硝酸镁的溶液 0.5 mL,混匀后吸取 20 μL 注入原子化器,测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,见表 2。

2.2.3 测定条件 Cd 测定波长 228.8 nm,狭缝宽度 0.7 nm,灯电流 6 mA,氩气流量 2 L·min⁻¹;Pb 测定波长 283.3 nm,灯电流 10 mA 外,其余测定条件与 Cd 所用条件相同。

2.2.4 Pb 和 Cd 测定结果 分别精密吸取各供试品溶液 20 μL,注入石墨炉原子化器中,测得吸光

表 3 10 批续断片及其酒炙品无机元素的含量 (n = 3)

Table 3 Content of inorganic elements of ten batches Dipsaci Radix and processed (n = 3)									μg·g ⁻¹
No.	产地	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd	As	Hg
1	四川广安	1.086 8	69.28	11.683	43.259	7.485	0.136 9	0.854	0.090
2	云南保山 1#	0.800 7	98.59	12.499	35.734	5.136	0.088 4	0.836	0.051
3	重庆巫山	2.306 9	132.08	23.435	48.984	6.851	0.149 3	1.090	0.067
4	四川成都	1.278 2	104.84	13.885	41.365	4.703	0.135 3	3.409	0.035
5	四川攀枝花	1.925 5	123.36	20.442	43.784	6.778	0.068 2	3.210	0.067
6	湖北武汉	0.726 8	104.56	11.153	38.872	1.88	0.063 9	0.846	0.071
7	湖北荆州	1.532 9	142.23	14.906	40.807	3.116	0.217 0	1.354	0.109
8	云南昭通	1.601 7	102.13	14.254	31.418	3.798	0.046 0	2.347	0.084
9	云南保山 2#	1.359 8	178.42	15.433	35.482	6.533	0.136 3	1.694	0.119
10	四川达州	1.813 1	124.32	16.556	46.696	4.025	0.077 9	0.951	0.045
11	四川广安(酒炙)	1.173 3	82.654	14.299	37.791	8.761	0.121 3	0.757	0.230
12	云南保山 1#	1.002 1	109.42	13.271	41.697	4.862	0.086 2	0.719	0.031
13	重庆巫山(酒炙)	2.962 7	161.54	27.264	49.666	6.792	0.147 2	1.631	0.051
14	四川成都(酒炙)	1.259 4	124.94	15.146	39.098	4.78	0.127 4	5.194	0.053
15	四川攀枝花(酒炙)	1.712 4	154.76	21.162	46.727	6.606	0.083 3	5.191	0.073
16	湖北武汉(酒炙)	0.851 2	102.18	14.552	38.917	2.041	0.063 5	0.865	0.050
17	湖北荆州(酒炙)	1.581 5	181.93	17.922	43.066	2.889	0.210 0	2.225	0.060
18	云南昭通(酒炙)	1.718 1	101.60	17.864	30.990	3.796	0.047 3	2.227	0.083
19	云南保山 2#(酒炙)	1.603 8	182.60	23.732	48.031	5.926	0.134 1	4.959	0.120
20	四川达州(酒炙)	1.907 3	101.38	14.889	39.883	4.201	0.076 3	1.726	0.056

度,计算含量。见表 3。

2.3 As,Hg 的含量测定

2.3.1 As,Hg 元素供试品溶液制备 分别称取样品 0.2 g,至微波消解罐中,加入浓硝酸 4 mL,高氯酸 1 mL,摇匀,静置过夜后,放入消化炉中消化。待消解完毕,冷却至室温,开罐,升温至 180 ℃,将酸挥发至 1~2 mL,用去离子水转移至 25 mL 聚四氟乙烯量瓶,定容至刻线,摇匀。精密量取各样品 8 mL 于比色管中,加盐酸 3 mL,立即加入还原剂(0.3 g 硫脲和 0.3 g 抗坏血酸),即得。同法做样品空白溶液。

2.3.2 标准溶液的配制 按照标准曲线所需浓度精确吸取适量的 As,Hg 元素对照品于 25 mL 聚四氟乙烯量瓶,加入 2% HNO₃ 定容至刻度,精密量取各样品 8 mL 于比色管中,加盐酸 3 mL,立即加入还原剂,即得。同法做试剂空白。

2.3.3 测定条件 As 测定所用负高压 270 V,原子化器高度 8 mm,灯电流 60 mA,载气流量 400 mL·min⁻¹,屏蔽器流量 800 mL·min⁻¹,读数时间 7 s,延迟时间 1.5 s;Hg 测定所用灯电流 30 mA,其余测定

条件与 As 所用条件相同。

2.3.4 线性关系考察 配制相应浓度标准溶液,按上述测定条件,绘制各元素标准曲线。见表 2。

2.3.5 测定结果 10 批续断片及其酒炙品中 As,Hg 的测定结果见表 3。

3 灰关联度分析^[8-9]

3.1 参考序列 设有 n 个药材样品,每个样品测定 m 种微量元素,由此得到一个由微量元素的含量测定数据组成一个样品序列{X_{ik}}。

3.2 原始数据规格化处理 由于评价指标间存在测度单位不统一的问题,因此需要原始数据做均值化处理。Y_{ik} = X_{ik}/X_k。式中 Y_{ik}为规格化处理后的数据,X_{ik}为原始数据,X_k为 n 个样品 k 个指标的均值。

3.3 计算关联系数

3.3.1 相对于最优参考序列 关联系数:ξ_{ik}(s) = (Δmin + ρ Δmax)/(| Y_{ik} - Y_{sk} | + ρΔmax),式中 Δmin = min | Y_{ik} - Y_{sk} |,Δmax = max | Y_{ik} - Y_{sk} | (i = 1,2,……n;k = 1,2,……m)。

3.3.2 相对于最差参考序列 关联系数 ξ_{ik}(t) =

$(\Delta'_{\min} + \rho\Delta'_{\max}) / (|Y_{ik} - Y_{tk}| + \rho\Delta'_{\max})$, 式中 $\Delta'_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{tk}|$, $\Delta'_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{tk}| (i = 1, 2, \dots, n; k = 1, 2, \dots, m)$ 。 $(\rho$ 为分辨系数, 一般取值 0.5)。

3.4 关联度计算 相对于最优参考序列, 关联度: $ri(s) = 1/n \sum_{k=1}^n \xi_{ik}(s)$ 。相对于最差参考序列, 关联度 $ri(t) = 1/n \sum_{k=1}^n \xi_{ik}(t)$ 。

3.5 结果 本试验采用 DPS 数据处理系统, 采用均值化法进行数据序列转换, 令 $\Delta_{\min}$ 为 0, 分辨系数为 0.5, 对 8 个微量元素的含量进行数据无量纲化处理后再做灰关联度分析, 并计算各评价单元序列相对最优(差)参考序列差值; 续断片及其酒炙品中微量元素的关联度见表 4。

表 4 续断片、酒续断无机元素关联度
Table 4 Inorganic element connection diagram of Dipsaci Radix and processed

元素	续断片		酒续断	
	最优序列	最差序列	最优序列	最差序列
Fe	0.472 4	0.647 0	0.528 3	0.586 7
Mn	0.568 2	0.583 0	0.514 9	0.571 4
Zn	0.482 0	0.672 7	0.482 5	0.657 1
Cu	0.593 3	0.512 9	0.567 1	0.538 7
Pb	0.522 8	0.579 4	0.601 0	0.524 8
Cd	0.491 3	0.623 4	0.493 7	0.626 4
As	0.615 0	0.707 9	0.493 0	0.718 9
Hg	0.372 5	0.669 0	0.538 2	0.579 5

无机元素的相对最优参考序列的关联序: 续断片为 As > Cu > Mn > pb > Cd > Zn > Fe > Hg; 酒续断为 Pb > Cu > Hg > Fe > Mn > Cd > As > Zn。无机元素的相对最差参考序列的关联序: 续断片为 As > Zn > Hg > Fe > Cd > Mn > Pb > Cu; 酒续断为 As > Zn > Cd > Fe > Hg > Mn > Cu > Pb。续断经酒炙后的关联序完全不同, 反应出续断微量元素含量及分布上存在差异, 8 种无机元素的关联序发生了变化, 表明炮制和辅料能改变元素含量, 可为其炮制工艺提供一定依据。

4 讨论

续断经酒炙后, Fe, Cu, Zn, Mn, Pb, Cd, AS, Hg 无机元素的含量存在差异, 但不明显; 有研究报道续

断经酒炙后, Zn, Mn 的含量较生品有所上升, 但仅一个样品做出结论有待商榷, 本文通过 10 批样品的 8 种无机元素的测定, 结果发现炮制后较炮制前不存在整体上升或下降趋势。

运用灰关联度对续断酒炙后的 Fe 等 8 种微量元素进行分析, 得出续断片酒炙前后 8 种微量元素的关联序发生了变化, 揭示续断经炮制后微量元素的含量及分布发生了改变, 这也可能是其与有效成分发挥协同作用的原因之一。

目前, 众多学者认为 Zn 和 Mn 等是归肾经的物质基础^[7]。实验结果表明, 续断酒炙后 Fe, Mn 和 Zn 含量增加, 尤其是 Mn 含量增加特别显著, 这与续断及其酒炙品补肝肾功效相吻合。

10 批续断饮片样品中, 部分样品 Pb, Cd, As, Hg, Cu 超标, 需在续断的种植, 加工, 流通等各环节对其加以控制。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 309-310.

[2] 赵爱东, 翟学良, 常丽新, 微波消解-FAAS 法测定野菜中的微量元素[J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2007(1): 90-92.

[3] 刘芙蓉. 两种微量元素测定方法的比较[J]. 医学理论与实践, 2011, 24(8): 952-953.

[4] 石松利, 钮树芳, 王登奎, 等. ICP-AES 法测定蒙古扁桃药材中微量元素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 74-77.

[5] 徐皓, 竺丽霞, 赵桦. 微量元素对延胡索有效成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 90-92.

[6] 朱玉梅, 许静, 张学良, 等. 菟丝子及其 3 种炮制品的微量元素分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 74-77.

[7] 侯以付, 汪建平, 张长弓, 等. 续断及其炮制品中微量元素含量测定[J]. 医药导报, 2004, 23(10): 769-770.

[8] 邓聚龙. 灰色系统理论教程[M]. 武汉: 华中理工大学出版社, 1990: 33-84.

[9] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 615-622.

[责任编辑 顾雪竹]