

# 黔产夜关门的显微特征与其微量元素测定\*

王东艳<sup>1</sup>, 唐 超<sup>1</sup>, 廖彬汛<sup>2</sup>, 罗 俊<sup>1</sup>, 潘年松<sup>3\*\*</sup>

(1. 贵州医科大学 药理学教研室, 贵州 贵阳 550004; 2. 黔西南州人民医院, 贵州 兴义 562400; 3. 遵义医药高等专科学校, 贵州 遵义 563002)

**[摘要]** 目的: 对夜关门的显微特征及其微量元素含量进行测定, 为其开发和研究提供理论依据。方法: 采用显微鉴别的方法, 对夜关门的根、茎、叶、种子的组织结构进行鉴别, 同时利用微波消解技术-电感耦合发射光谱(ICP-OES)法对其 Ca、K、Mg、Zn、Sn、Cu、Pb、As、Hg、Cd、Mn、Fe、Ag、Al、Ba、Ga、Mo、Ge、Co、Sb、Ni、Cr 等元素进行含量测定。结果: 鉴定出黔产夜关门的显微特征, 且夜关门中含有丰富的微量元素, 元素含量由高到低依次为 K、Ca、Mg、Ag、Fe、Al、Mn、Zn 等元素, 精密度试验的 RSD 为 0.244% ~ 2.681%, 回收率 89.9% ~ 107.0%。结论: 黔产夜关门符合截叶铁扫帚的显微特征, 重金属元素及微量元素的含量均符合《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》, 为黔产夜关门的综合开发利用及质量控制提供了科学依据。

**[关键词]** 夜关门; 显微鉴定; 微波消解技术; 电感耦合发射光谱; 微量元素; 重金属元素

**[中图分类号]** R282.5; R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)08-0899-05

**DOI:** 10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.08.007

## Microscopic Identification and Detection of Microelement in Guizhou Lespedeza

WANG Dongyan<sup>1</sup>, TANG Chao<sup>1</sup>, LIAO Binxun<sup>3</sup>, LUO Jun<sup>1</sup>, PANG Niansong<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Qianxinan People's Hospital, Xingyi 562400, Guizhou, China; 3. Department of Pharmacology, Zunyi Medical College, Zunyi 563002, Guizhou, China)

**[Abstract] Objective:** To systematically study the Microscopic features and detect the microelement content of Guizhou Lespedeza, which provide theoretical basis for future development and research of Guizhou Lespedeza. **Methods:** To use microscopic identification method to identify the tissue structure of the roots, stems, leaves and seeds of Guizhou Lespedeza. and microwave digestion technology-inductively coupled emission spectroscopy (ICP-OES) method to detect the content of its Ca, K, Mg, Zn, Sn, Cu, Pb, As, Hg, Cd, Mn, Fe, Ag, Al, Ba, Ga, Mo, Ge, Co, Sb, Ni, Cr, etc respectively according to the "Green Industry Standards for Import and Export of Medicinal Plants and Preparations". **Results:** Identified the microscopic features of Guizhou Lespedeza, And it contained rich microelement. The order of element content from high to low was: K, Ca, Mg, Ag, Fe, Al, Mn, Zn and so on. The RSD of the precision test was from 0.244% to 2.681%, and the recovery rate was from 89.9% to 107.0%. **Conclusions:** The microscopic features of Guizhou Lespedeza are in line with Lespedeza cuneata, the content of heavy metal elements and microelement is in line with the "Green Industry Standard for Import and Export of Medicinal Plants and Preparations". It provides a scientific basis for the comprehensive development and utilization and quality control of Guizhou Lespedeza.

**[Key words]** lespedeza; microscopic identification; microwave digestion; technology-inductively coupled emission spectroscopy; microelement; heavy element

\*[基金项目] 贵州省科技厅、遵义市科技局、遵义医药高等专科学校联合项目[黔科合 LH 字(2015)7580 号]; 遵义市汇川区科技计划项目[遵社科合(2015)02 号]; 遵义医药高等专科学校博士科研启动经费项目(遵医专科合 BS2016002)

\*\* 通信作者 E-mail: 783044500@qq.com

网络出版时间: 2018-08-21 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180821.0759.006.html>

夜关门为豆科胡枝子属植物截叶铁扫帚[*Lespedeza cuneata* (Dum. -Cours.) G. Don]的干燥全草,又名铁扫帚,其性凉、苦,归肾、肝经,具有清热利湿、消食除积、祛痰止咳之功效<sup>[1-2]</sup>,用于治疗糖尿病、血症和失眠症等<sup>[3-5]</sup>。《中华草本》<sup>[6]</sup>中分别对夜关门性状鉴定及显微鉴定进行了系统的描述说明,但并未对夜关门的其他药用部分显微特征进行描述,这有待进一步完善。夜关门是贵州董酒生产的重要原料,并且在江南一带也有将其入曲酿造黄酒<sup>[7]</sup>,因此,对其药食两用的安全性评价极为重要。本实验对黔产夜关门的根茎叶种子的显微特征进行鉴别,并建立微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)对夜关门中22种微量元素的含量进行测定,且参照《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》<sup>[8]</sup>对其微量元素进行评价,为其开发利用提供理论依据。

# 1 材料与方法

## 1.1 药材、试剂与仪器

夜关门采集于遵义市湄潭县复兴镇遵义绿普森农业有限公司种植基地。水合氯醛、丙三醇、硝酸及过氧化氢为优级纯,均购于国药集团化学试剂有限公司;多元素标准溶液(100 mg/L),批号16D3176,购于国家有色金属及电子材料分析测试中心)。数码显微镜 BA310Digital(麦克奥迪实业集团有限公司),WX-8000 微波快速消解仪(上海屹尧微波化学技术有限公司),iCAP-7000 电感耦合等离子体发射光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),SAGA 超纯水处理机(南京易普易达科技发展有限公司),ZNHW 型电热套(巩义市予华仪器厂),万分之一电子天平及十万分之一电子分析天平(梅特勒托利多公司)。

## 1.2 显微方法

选取新鲜夜关门的根、茎、叶及种子徒手切片法制片,置载玻片上滴加水合氯醛试液在酒精灯上加热透化后,滴加甘油乙醇试液,制成临时切片,于显微镜下观察显微特征。

## 1.3 ICP-OES 仪器工作参数

ICP 射频功率 1 200 W,等离子体气(氩气)流速 15 L/min,雾化气流速 0.6 L/min,低波范围 10,高波范围 7,辅助气流速 0.5 L/min,样品冲洗 30 s,重复测定次数为 3 次,分析泵速为 50 r/min,雾化器压力 0.2 MPa,等离子观测方式:水平观测。

## 1.4 样品处理及微波消解

将 5、8、11 月份的夜关门全草分别用自来水,双蒸水,去离子水清洗干净,烘干,粉碎,过筛,备用。精密称取 0.210 0 g 的待测样品于 50 mL 密闭式聚四氟乙烯的微波消解罐中,加入 3 mL 硝酸在智能控温电加热器中预消解 3 h 后,再加入 1 mL 过氧化氢,置于设定的微波消解条件下进行消解。消解完毕后,冷却至室温,打开消解罐,用少量超纯水冲洗上盖内壁,合并至罐中。置消解罐中于 140~160 ℃ 智能控温电加热器中赶酸,待赶酸完全后,再用超纯水洗涤消解罐 3~5 次,洗液合并于 50 mL 塑料容量瓶中,用水定容至 25 mL,同法制备空白溶液备用。微波消解程序指标与条件见表 1。

表 1 微波消解程序指标与条件  
Tab.1 Microwave digestion procedure

步骤	温度(℃)	保温时间(min)	压力(atm)	功率(kW)
1	80	2	8	1.2
2	120	2	15	1.2
3	140	3	15	1.2
4	160	5	20	1.2
5	180	5	25	1.2

## 1.5 标准曲线的制备及线性关系

精密吸取 2 mL 含有多元素标准溶液(100 mg/L),用 10% 的硝酸定容至 200 mL,制成 1 mg/L 的多元素标准品贮备液。精密量取多元素标准品贮备液适量,用 2% 硝酸溶液稀释制成每 1 mL 含 K、Ca、Na、Mg、Zn、Sn、Cu、Hg、As、Cd、Ba、Ag、Al、Mn、Mo、Sb、Ni、Cr 及 Fe 0、50、100、200、500 μg/L 系列浓度的混合溶液。按 1.3 步骤仪器工作条件测定,绘制标准曲线,得各痕量元素的回归方程和相关系数(r),在各元素的最佳分析波长下,对空白试液溶液连续测定 10 次,将标准偏差的 3 倍作为各元素的检出限,结果见表 2。

## 1.6 样品加标回收实验

取夜关门样品按照 1.4 步骤消解后,分别加入一定已知浓度待测元素的标准溶液,按照 1.3 条件进行测定,各元素加标回收试验结果见表 2。

# 2 结果

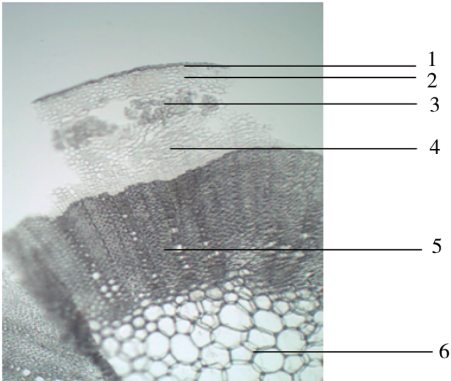
## 2.1 夜关门显微特征

2.1.1 夜关门茎的横切面 如图 1,夜关门茎表皮为一列长方形、扁平、排列整齐的细胞,外壁较厚,角质化形成角层;皮层较窄,为薄壁细胞,含草

表 2 夜关门中各元素线性关系考察结果及  
加标回收试验结果( $n=10$ )

Tab. 2 The test results of the linear relationship and the standard recovery of each element in Lespedeza				
元素	线性方程	$r$	检出限 (mg/L)	回收率 (%)
Ag	$Y=0.953X+7.871$	0.999 2	0.005	91.1
Al	$Y=0.976X+5.241$	0.999 1	0.004	97.5
As	$Y=1.004X-0.768$	0.999 9	0.002	101.9
Ba	$Y=1.001X-0.196$	1	0.001	98.0
Ca	$Y=1.0164X-15.789$	0.996 3	0.045	100.9
Cd	$Y=1.019X-3.262$	0.999 8	0.001	100.3
Co	$Y=1.001X-0.209$	1	0.000 8	97.6
Cr	$Y=1.002X-0.357$	1	0.001	101.4
Cu	$Y=1.007X-1.297$	0.999 9	0.002	99.4
Fe	$Y=0.973X+4.491$	0.999 8	0.002	100.8
Ga	$Y=1.009X-1.492$	0.999 9	0.003	107.0
Ge	$Y=1.008X-1.430$	0.999 8	0.004	104.6
Hg	$Y=1.012X-2.101$	0.999 9	0.001	99.5
K	$Y=0.999X+0.085$	0.998 4	0.006	97.3
Mg	$Y=1.004X-0.736$	1	0.005	89.9
Mn	$Y=0.999X+0.131$	1	0.002	102.7
Mo	$Y=1.001X-0.168$	1	0.002	100.0
Ni	$Y=1.008X-1.286$	0.999 9	0.000 8	101.2
Pb	$Y=0.971X+4.782$	0.998 8	0.000 7	98.4
Sb	$Y=1.014X-2.356$	0.999 8	0.004	99.8
Sn	$Y=1.000X-0.086$	1	0.003	96.7
Zn	$Y=1.007X-2.117$	0.999 0	0.002	102.2

酸钙方晶;维管束为外韧型,成环状排列;韧皮部明显;木质部是由导管、木薄壁细胞和木纤维组成,木射线宽 2~5 列;髓部细胞大,不甚规则。



注:1 为表皮,2 为皮层,3 为中柱鞘纤维,  
4 为韧皮部,5 为木质部,6 为髓部

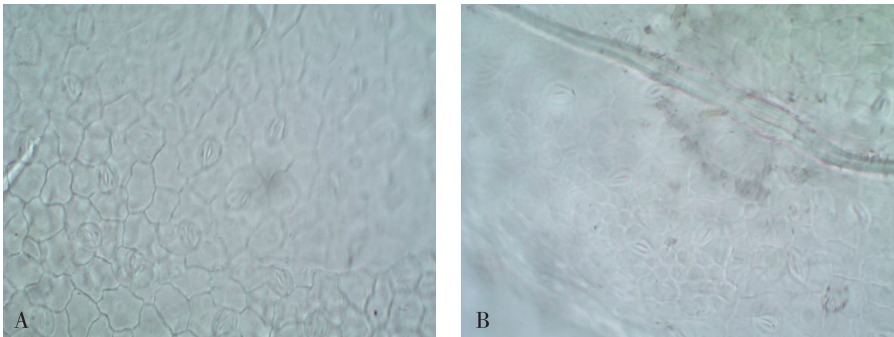
图 1 夜关门茎横切面(40×)

Fig. 1 Cross section of the Lespedeza stem

**2.1.2 夜关门叶表面观** 上表皮细胞垂周壁弯曲或稍弯曲,细胞多角形;下表皮细胞垂周壁波状弯曲,非腺毛较多,气孔为平轴式或不定式;叶脉薄壁细胞含草酸钙方晶。见图 2。

**2.1.3 夜关门叶横切面** 表皮细胞近方形,外壁较厚,外被角质层,上、下表皮均具有气孔和非腺毛;栅栏组织由 1~2 层栅栏细胞组成,约占叶横切面的 1/2,叶肉细胞中含草酸钙方晶;主脉维管束外韧型,上下两侧具有微木化的纤维束。见图 3。

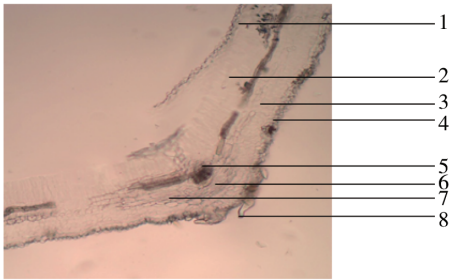
**2.1.4 夜关门根横切面** 木栓层为数层棕色细胞,表皮由排列整齐、紧密、无细胞间隙的单层细胞组成;韧皮部纤维成束或单个散在,壁厚,木化或微木化;木质部导管单个散在或 2~3 个相集,导管间有木纤维束,射线宽 2~4 列细胞,呈放射状排列。见图 4。



注:A 为叶上表面观,B 为叶下表面观

图 2 夜关门叶表面观(100×)

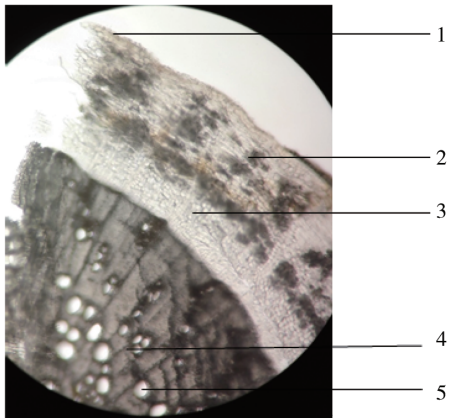
Fig. 2 Leaf surface view of Lespedeza



注:1 为上表皮,2 为栅栏组织,3 为海绵组织,4 为下表皮,5 为木质部,6 为韧皮部 7 为中柱鞘纤维,8 为非腺毛

图 3 夜关门叶横切面(100 ×)

Fig. 3 Transverse section of Lespedeza leaf

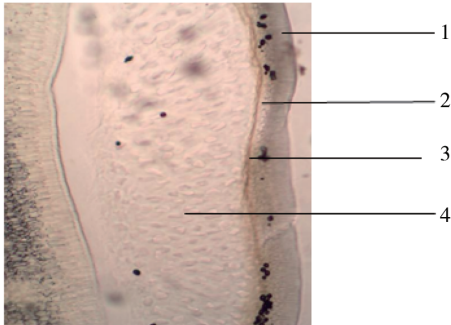


注:1 为木栓层,2 为栓内层,3 为韧皮部,4 为木质部,5 为导管

图 4 夜关门根横切面(40 ×)

Fig. 4 Transverse section of Lespedeza root

**2.1.5 种子横切面** 如图 5,夜关门种子横切面:表皮为一列细长的栅栏状细胞,光辉带明显,内含棕色物;支持细胞一列哑铃状细胞,内含黄棕色物;数层形状不规则的色素细胞,含棕色色素;胚乳角质含棕色物。



注:1 为表皮,2 为支持细胞,3 为色素细胞,4 为胚乳

图 5 夜关门种子横切面(100 ×)

Fig. 5 Transverse section of Lespedeza seed

**2.2 5 月份、8 月份和 11 月份的夜关门微量元素含量测定**

称取 5、8、11 月份夜关门的中草药粉末(过 3 号筛)约 0.2 g,精密称取,按 1.4 方法制备供试品溶液,按 1.3 的 ICP-OES 测定条件进行测定,在测定过程中,每测完一个样品,用 5% 硝酸雾化冲洗后再进行下一个样品的测定,重复检测 3 次。在同样的分析条件下进行空白扣减试验,根据仪器要求扣除空白干扰,得到各元素的含量。结果见表 3。

表 3 不同月份夜关门中 22 种微量元素含量

Tab. 3 Determination of 22 kind of microelement content in Lespedeza collected in different months			
元素	夜关门(mg/kg)		
	5 月份	8 月份	11 月份
Ag	134. 814	127. 094	146. 365
Al	231. 172	87. 736	39. 326
As	0. 096	0. 246	0. 264
Ba	12. 687	13. 227	14. 176
Ca	1 370. 011	1 611. 962	1 267. 026
Cd	0. 118	0. 131	0. 294
Co	0. 204	0. 184	0. 047
Cr	5. 260	4. 085	3. 298
Cu	12. 031	7. 343	8. 764
Fe	183. 377	124. 797	94. 273
Ga	0. 114	0. 142	0. 165
Ge	0. 268	0. 132	0. 227
Hg	0. 072	0. 145	0. 156
K	10 704. 547	9 752. 127	9 684. 958
Mg	1 460. 844	1 323. 302	1 476. 145
Mn	18. 857	21. 656	39. 505
Mo	1. 619	0. 597	0. 484
Ni	0. 526	1. 039	0. 925
Pb	0. 505	0. 364	0. 513
Sb	0. 161	0. 154	0. 245
Sn	0. 752	0. 542	0. 923
Zn	50. 667	17. 665	19. 435

**3 讨论**

铁扫帚,学名 *hexapetala* Pall. var. *tchefouensis* (Debeaux) S. Y. Hu,具有清热利湿、消食除积、祛痰止咳之功效,主产于甘肃东部、陕西、四川、山西、河北及贵州等地<sup>[9-10]</sup>。在贵州,夜关门是董酒生产的重要原料,但其药食两用的安全性尚未有报道。川产铁扫帚横切面显微特征:根的本栓细胞数列,

皮层散有纤维束,木质部呈放射状排列,且木纤维排列紧密;茎的横切面呈类圆形,略呈波状,中柱鞘纤维束呈头盔状,排列成环状,外韧型维管束;叶的上下表皮细胞呈长方形或类方形,下表皮可见非腺毛,主脉维管束外韧型<sup>[11]</sup>。从显微鉴别上看,本研究结果与之比较,黔产夜关门符合铁扫帚的显微结构特点。

中药中重金属元素的含量是中药质量控制的重要指标之一,重金属在人体内代谢缓慢,容易积累,危害人体健康<sup>[12]</sup>,因此对于中药材等原料应严格监控其重金属含量。本研究还采用了 HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 微波消解方法对夜关门样品进行预处理,其不仅具有快速消解,减少损失的优势,而且有对环境污染小,操作简便的优点<sup>[13-14]</sup>。并采用电感耦合等离子体原子发射光谱法对黔产夜关门的多种重金属的元素含量进行检测,测定方法简便、高效、灵敏<sup>[15]</sup>,具有操作简便,灵敏度高,重现性好,方便可行的特点,完善了黔产夜关门质量控制研究。根据我国对外贸易经济合作部颁布的《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中各元素的限量指标 (Hg≤0.2 μg/g、As≤2 μg/g、Pb≤5 μg/g、Cd≤0.3 μg/g、Cu≤20 μg/g) 进行评价,本实验结果表明,所测定的 5、8、11 月份的夜关门中草药中 Pb、As、Cu、Hg、Cd 含量均符合标准,并测定了夜关门中 K、Ca、Na、Mg、Zn、Sn、Cu、Hg、As、Cd、Ba、Ag、Al、Mn、Mo、Sb、Ni、Cr、Fe 等 22 种元素的含量,这为黔产夜关门的综合开发利用及质量控制提供参考依据。

## 4 参考文献

[1] 王国强. 全国中草药汇编[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2014:674-675.

[2] 佚名. 夜关门治疗慢性气管炎的研究概况[J]. 医学研究通讯, 1973(10):31-32.

[3] 苏绥和. 截叶铁扫帚治疗Ⅱ型糖尿病 30 例[J]. 医学理论与实践, 1999,12(6):333-334.

[4] 刘杰书, 李泳锋. 补肝汤加夜关门治疗失眠 153 例[J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(5):5-6.

[5] 曹文富, 潘年松. 夜关门单味水煎治疗儿童遗尿症 12 例[J]. 内蒙古中医药, 2015,34(6):7.

[6] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:546-548.

[7] 刘亮, 冯华, 刘英波, 等. 苗族药夜关门的质量标准[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016,22(6):58-60.

[8] 中华人民共和国商务部. 药用植物及制剂外经贸绿色行业标准:WM/T2-2004[S]. 北京:中国标准出版社出版, 2005:1-2.

[9] 周健, 张创峰, 吕燕妮, 等. 截叶铁扫帚化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1):228-234.

[10] 曹平. 截叶铁扫帚的化学成分及抗糖尿病肾病活性研究[D]. 大理:大理大学, 2017.

[11] 刘文啟. 铁扫帚显微鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 2007,32(23):2549-2551.

[12] 胡秋芬, 黄齐林, 周元清, 等. 用电感耦合等离子体质谱法测定中草药中重金属元素[J]. 理化检验(化学分册), 2008,44(12):1213-1214.

[13] 吴优, 王莹, 孟庆竹. 微波消解 ICP-AES 测定东北大米中微量元素[J]. 食品工业, 2018,39(2):324-327.

[14] 苏海芳, 戴森, 翟永恒, 等. 微波消解-ICP-OES 测定土壤中重金属元素[J]. 中国资源综合利用, 2018, 36(1):29-31.

[15] 何恬叶, 张颖红, 胡子文. 微波消解 ICP-OES 法测定土壤样品中 22 种元素[J]. 分析试验室, 2018,37(1):84-87.

(2018-05-08 收稿,2018-07-12 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:冉海勇

(上接第 898 页)

[18] 周琴, 钱文艳, 朱艳, 等. 1 081 例患者宫颈 HR-HPV 感染情况分析[J]. 现代肿瘤医学, 2018,26(6):917-919.

[19] BZHALAVA D, EKLUND C, DILLNER J. International standardization and classification of human papillomavirus types[J]. Virology, 2015, 476(3):341-344.

[20] MATSUKURA T, SUGASE M. Pitfalls in the epidemio-

logic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer using polymerase chain reaction: driver and passenger [J]. International Journal of Gynecological Cancer, 2010, 18(5):1042-1050.

(2018-05-10 收稿,2018-07-14 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:乐 萍