

山区的一些土质肥沃的微酸性森林腐殖土(种植龙胆),深翻整地,灭茬,做成宽 1.2 m 的畦床,早春时畦床的两侧种两行玉米作为遮荫作物,移栽季节以春季为好,春栽的时间为 5月 1日前龙胆草幼苗芽苞未萌动时。在畦床上开横沟,沟深 10~15 cm,每隔 7~10 cm栽一穴,每穴 2株,每行 13~14穴,放好苗后将土覆平压实再栽下一行。行距 15 cm,平均每平方米栽苗 160~200株。每栽出 5~10 m 的距离,用喷壶浇 1次水,使移栽的小苗与田间床土接墒,能提高成活率。

6 斑枯病的防治

龙胆草斑枯病 *Septoria gentianicola*^[1,2]危害较大,露地育苗苗床播后 60 d开始发病,在苗床上出现大量呈圆形的发病中心,且直径不断扩大,造成幼

苗成片死亡。

每年秋季采种时,大量菌丝体、分生孢子器或染病植株的落叶、病茎碎块混入种子中,导致育苗田病害流行,为育苗田的初浸染来源,田间发病高峰在 7~8月,最高气温在 25℃~28℃,降雨多,造成病害流行,此时是防治关键期。防治方法:7月初田间出现零星发病中心时,用 800倍液的甲基托布津喷施苗床的发病中心,7 d一次;对整个苗床用 1 000倍液的甲基托布津,每 15 d左右喷施一次。

References

- [1] Zhao M, Chen Z X, Han X. Study on control of *Septoria gentianicola* [J]. *Primary J Chin Meter Med* (基层中药杂志), 1990, 11: 31-33.
- [2] Li J F, Zhang Y F, Zhao M, et al. Cultivation of *Gentian* and control of *Septoria gentianicola* [J]. *J Northeast Forestry Univ* (东北林业大学学报), 2000, 28(2): 78-80.

黄花棘豆中微量元素的分析

赵燕燕^{1,2}, 杨更亮^{1,3}, 孙素芳¹, 范子琳^{1*}

(1. 河北省职工医学院实验中心, 河北 保定 071000; 2. 河北大学化学与环境科学学院, 河北 保定 071002; 3. 中国科学院化学研究所 分子科学中心, 北京 100080)

摘要:目的 测定黄花棘豆中的微量元素及其含量,分析微量元素的含量与其毒性的关系。方法 采用高频电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)进行测定,采用药理学方法进行分析。结果 黄花棘豆中含有 14种微量元素: K, Na, Ca, Mg, P, Cu, Fe, Zn, Mn, Sr, Al, Cr, Cd, Pb。测定结果的 *RSD* < 2.8% (*n* = 3)。各元素的加样回收率在 95.8%~100.0%,方法的 *RSD* < 2.0% (*n* = 5)。Fe的 *LD*₅₀为 128.3 mg/kg。结论 方法准确、稳定、操作简便、快捷。为中草药中微量元素的分析提供了一条很好的思路。

关键词: 电感耦合等离子体原子发射光谱; 黄花棘豆; 微量元素

中图分类号: R284.192 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)09-0000-00

Analysis of trace elements in *Oxytropis ochrocephala*

ZHAO Yan-yan^{1,2}, YANG Geng-liang^{1,3}, SUN Su-fang¹, FAN Zi-lin¹

(1. Experiment Center, Hebei Medical College for Continuing Education, Baoding 071000, China; 2. College of Chemistry and Environment Science, Hebei University, Baoding 071002, China; 3. Molecular Science Center, Institute of Chemistry, CAS, Beijing 100080, China)

Key words inductively coupled plasma spectrometer; *Oxytropis ochrocephala* Bunge; trace elements

黄花棘豆 *Oxytropis ochrocephala* Bunge 为豆科棘豆属的一种多年生草本植物,广泛分布于我国西北部牧区,是危害最严重的毒草之一,导致家畜中毒、死亡。严重妨碍牧区畜牧业发展,造成巨大经济

损失。国外将棘豆属和黄芪属中的一些有毒性植物统称为疯草(loco weed),其引起的中毒症状相似,统称为疯草中毒综合症。国内外专家对家畜疯草中毒的报道多集中在疯草的中毒症状的研究方面,及从

* 收稿日期: 2002-00-00

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20075005); 河北省自然科学基金资助项目(200077, 202096)

作者简介: 赵燕燕(1960-),女,天津市人,教授,河北职工医学院实验中心主任,分析化学博士生,主要从事药动学、药效学、药物分析和分离等研究工作。Tel 13833258631 E-mail yiwang@bdinfo.net

病理学角度探讨其对生殖器官及其他各种脏器的影响^[1-4];对疯草有毒成分进行了分析,将其归为 3 类,即脂肪族硝基化合物、硒化合物及生物碱。多数学者认为中毒成分主要为吲哚兹定生物碱(indolizidine alkaloid)苦马豆素(swainsonine)^[5,6]。至今尚未见到对疯草中微量元素的分析。本文用高频电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)对疯草黄花棘豆中的微量元素进行了分析,就各种微量元素的含量与其毒性的关系进行了探讨。

1 材料

1.1 样品来源:黄花棘豆样品来自甘肃天祝县购买,自然干燥后粉碎备用。

1.2 仪器和试剂:日本岛津 ICPS-7000 高频等离子体发射光谱仪;Sartorius BS210S 电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。硝酸为优级纯,枸橼酸铁为化学纯,14种元素的系列标准溶液均为标准储备液稀释而得;测定和分析用水为二次蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 样品处理:精密称取黄花棘豆 0.500 0 g 2个试样,分别放在石英坩埚中,在 300℃炭化 1 h,然后在 550℃灰化 3 h,分别加 7.5 mol/L HNO₃ 0.5 mL,在 550℃再灰化 10 min。冷却后分别加 7.5 mol/L HNO₃ 1.2 mL 溶解灰分,第 1 个试样转移到 25 mL 容量瓶中,用二次蒸馏水定容,分析 K, Na, Ca, Mg, P, Cu, Fe, Zn, Mn, Sr, Al 等 11 种元素;第 2 个试样转移到 10 mL 容量瓶中,用二次蒸馏水定容,分析 Cr, Cd, Pb 等元素。

2.2 微量元素测定方法:用 ICPS-7000 电感耦合高频等离子体发射光谱仪,采用标准曲线法进行测定。分析第 1 个试样工作条件:进样系统:气动雾化器;功率:1.0 kW;冷却气:Ar 14 L/min;等离子气:Ar 1.2 L/min;载气:Ar 1.0 L/min;观测高度:15 mm;冲洗时间:30 s;积分时间:5 s;测量次数:3次。分析第 2 个试样工作条件:进样系统:UAG-1 超声波雾化器,加热器 150℃,冷却器 5℃,蠕动泵容量 2.0 mL/min;功率:1.2 kW;冷却气:Ar 14 L/min;等离子气:Ar 1.2 L/min;载气:Ar 0.8 L/min;观测高度:15 mm;冲洗时间:90 s;积分时间:5 s;测量次数:3次。

2.3 线性关系的考察:配制 14 种分析元素的系列标准溶液,在 2.2 项条件下进行消化、测定,得到工作曲线和线性范围。以谱线强度(I)为纵坐标,浓度(C)为横坐标得回归方程(表 1)。

2.4 精密度试验:配制含 14 种分析元素的混合标

表 1 14 种元素的线性关系 (n=6)

Table 1 Analytical wavelength and linear range of 14 kind of trace elements in *O. ochrocephala* (n=6)

元素	分析线 λ/nm	回归方程	相关系数 r	线性范围 (μg·mL ⁻¹)
K	404.720	I=15.26188+0.04398C	0.9954	0.0~1000.0
Ca	393.366	I=0.00443+0.14097C	1.0000	0.0~250.0
Na	330.232	I=0.65436+0.69857C	0.9999	0.0~100.0
P	178.287	I=0.15427+0.08672C	0.9999	0.0~250.0
Cu	324.754	I=0.97675+7.24782C	0.9999	0.0~2.0
Mg	279.553	I=1.10064+0.18448C	0.9981	0.0~250.0
Mn	257.610	I=0.68603+8.38808C	0.9995	0.0~5.0
Sr	407.771	I=0.10303+7.48849C	1.0000	0.0~5.0
Fe	238.204	I=0.47726+2.75476C	0.9998	0.0~10.0
Zn	213.856	I=0.81935+7.46026C	0.9996	0.0~5.0
Al	396.153	I=1.70229+2.57683C	0.9999	0.0~10.0
Cr	267.716	I=2.13021+0.12228C	0.9997	0.0~500.0
Cd	226.502	I=0.34088+0.31424C	0.9999	0.0~50.00
Pb	220.351	I=0.67763+0.30547C	0.9986	0.0~200.0

准溶液(含 K 50.0 μg/mL; P, Mg 25.0 μg/mL; Ca 20.0 μg/mL; Na 5.0 μg/mL; Cu, Mn, Sr, Fe, Zn, Al, Cr, Cd, Pb 1.0 μg/mL),按“样品处理”方法进行消化,在 2.2 项下的工作条件下连续测定 5 次,各分析元素含量的 RSD 为 0.03%~1.87% (n=5)。

2.5 重现性试验:精密称取 0.5000 g 样品 5 份,按 2.2 项下方法进行消化、测定,14 种分析元素含量的 RSD 为 0.09~1.81% (n=5)。

2.6 稳定性试验:对重现性试验的样品每隔 2 h 测定 1 次,共测定 5 次,各分析元素含量的 RSD < 1.98% (n=5)。表明样品在 8 h 内基本稳定。

2.7 回收率试验:精密称取样品 0.500 2, 0.500 3 g,分别置于混合标准溶液(各元素含量同 2.4)中,按“样品处理”方法进行消化,在 2.2 项下的工作条件下测定。黄花棘豆中 14 种微量元素加标回收率在 95.8%~100.6%,方法的 RSD 为 0.03%~1.94% (n=5),均可保证测定结果的准确,满足分析要求。

2.8 黄花棘豆中微量元素的测定:在 2.2 项下的条件下,用该方法对黄花棘豆中微量元素进行了测定,并得到了相应的含量(μg/g): K 1.73×10⁴, Ca 1.14×10⁴, Na 259, P 2.2×10³, Cu 7.19, Mg 4.65×10³, Mn 78.0, Sr 57.9, Fe 1.59×10³, Zn 32.37, Al 1.42×10³, Cr 3.04, Cd 0.16, Pb 2.56。测定结果的 RSD 为 0.07~1.72% (n=3)。

2.9 黄花棘豆中微量元素毒性的考察

2.9.1 铁对小鼠的急性毒性反应:通过铁对小鼠的

急性毒性反应实验^[7],得到枸橼酸铁和铁的 ID₅₀分别为 561.3, 128.3 mg/kg 实验结果表明:黄花棘豆中铁含量为 1.59×10^3 mg/kg,动物给予枸橼酸铁 314.8 mg/kg(铁元素 71.9 mg/kg),相当于食用黄花棘豆 45.25 g/kg,会呈现明显的中枢神经系统的抑制状态,甚至导致呼吸抑制而死亡。文献报道的黄花棘豆中毒时所表现的精神抑郁、目光呆滞、反映迟钝、抑郁型神经症状是否与高铁对中枢神经系统的抑制有关^[8],有待进一步研究

2.9.2 高血钾对羊的心脏毒性及肌肉松弛作用:心脏在正常活动时,心肌细胞内 K^+ 浓度 ($[K^+]_i$)为 140 mmol/L,细胞外 ($[K^+]_o$)为 4 mmol/L,相差 35 倍。 ($[K^+]_o$)的变化会影响到心肌细胞的最大舒张电位 (E_K),以及心肌细胞膜对钾的通透性,而影响心脏的正常活动

实验表明,随着 $[K^+]_o$ 升高, E_K 绝对值变小。当体重为 30 kg 的羊食用黄花棘豆 100.0 g (3.3 g/kg) 以上时,其 E_K 绝对值小于阈电位 (-60 mV),而使整个心脏受到抑制,导致死亡^[9];同时,高 $[K^+]_o$ 使细胞膜对 K^+ 的通透性增高, K^+ 外流速度加快,竞争性抑制钙内流,使心肌收缩力降低^[9]。因此,文献中报道^[8]的黄花棘豆对心脏的毒性,甚至导致死亡的原因之一是否由高 $[K^+]_o$ 所致有待于研究

大量 K^+ 使骨骼肌细胞和平滑肌细胞钙内流减少,阻碍了神经末梢乙酰胆碱的释放,影响神经—肌肉接头的正常功能,导致骨骼肌松弛。文献中报道^[9]的动物食用黄花棘豆中毒时表现的四肢无力、麻痹、卧地不起、瘫痪^[9]的原因之一是否由高血钾引起有待于研究

2.9.3 镉、铅在体内蓄积产生的毒性: Cd、Pb 为重金属无机污染物,在黄花棘豆中的含量虽然很低,但在体内的蓄积产生的毒性是不可忽视的,能明显的导致人和动物的生殖系统等疾病。文献报道中黄花棘豆对线粒体的损伤、酶系统的破坏以及细胞功能紊乱^[8],是否与 Cd 蓄积中毒有关;动物出现的神经损伤等一系列神经症状^[10]是否与 Pb 蓄积中毒有关有待于研究

3 讨论

本方法用 ICP-AES 测定了黄花棘豆中的 14 种

微量元素及其含量。微量元素在机体内的含量虽然很少(低于体重 0.01%),但在生理功能方面起着极为重要的作用。机体内的微量元素无论是必须的还是非必须的都处于一个“隔室封闭状态系统”中,参与机体内的新陈代谢并起着调控作用,一旦这个系统被破坏便会产生疾病,甚至导致死亡。他们作为酶、激素、维生素、核酸的成分,参与生命的代谢过程。上述实验结果可以看出,微量元素与机体健康密切相关,他们的摄入、摄入过量、不足或缺乏都会不同程度地引起机体生理异常或发生疾病。

本文建立了用高频电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)测定疯草黄花棘豆中微量元素的方法,方法准确、稳定、操作简便、快捷,获得了令人满意的结果。该方法的建立为植物中微量元素的分析提供了一条很好的思路。首次提出疯草中微量元素的含量与其毒理学的关系,为探讨中草药中微量元素与其药效学和毒理学的关系奠定了良好的基础

References

- [1] Hartley W J, James L F. Fetal and maternal lesions in pregnant Ewes ingesting locoweed [J]. *Am J Vet Res*, 1975, 36 (6): 825-826.
- [2] Panter K E, James L F, Hartley W J. Transient testicular degeneration in rams fed locoweed [J]. *Vet Hum Toxicol*, 1983, 31(1): 42-46.
- [3] El-Hamidi M, Leipold H W. Poisoning of sheep by *Astragalus lusitanicus* in Morocco field and experimental studies [J]. *J Vet Med*, 1989, A36: 115-121.
- [4] Chen H T, Xiao Z G, Huang Y D. The experimental study on the pathology in toxicity of *Oxytropis ochrocephala* in sheep [J]. *Chin J Anim Vet Sci* (畜牧兽医学报), 1992, 23 (2): 135-140.
- [5] Cao G R, Li S J, Duan D X, et al. The analysis of toxic components from *Oxytropis ochrocephala*. [J]. *Chin J Vet Sci Technol* (中国兽医科技), 1988, 18(3): 41-43.
- [6] Cao G R, Li J, Duan D X, et al. The isolation and identification of toxic components from *Oxytropis ochrocephala* [J]. *Acta Agr Univ Northwest*. (西北农业大学学报), 1989, 17 (3): 1-8.
- [7] Zhang J T. *Modern Experimental Methods in Pharmacology* (现代药理实验方法) [M]. Beijing: Beijing Medical University & Peking Union Medical College anited Press, 1998.
- [8] Wang K, Cao G R, Duang D X, et al. A study on toxicity of *Oxytropis ochrocephala* in goats. [J]. *Chin J Anim Vet Sci* (畜牧兽医学报), 1999, 21(1): 80-86.
- [9] Xi F Y, Zhang J G. *Physiology of Human Body* (人体生理学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1989.
- [10] Ding B L, Wang J C, Xue D M, et al. A study on the pathology of *Oxytropis kansuensis* intoxication on testes and epididymis of goats. [J]. *Chin J Anim Vet Sci* (畜牧兽医学报), 1994, 25(4): 368-374.