

## · 中药与天然药 ·

## 中药无花果及其口服液中微量元素硒的测定

中国药科大学(南京, 210009) 董善士 祝 昱 安登魁

江苏省肿瘤研究所(南京, 210009) 王伯先 高 凌 张琴芬

**提要** 本文采用2,3-二氨基萘荧光分光光度法测定无花果的果实、叶子及其口服液中微量元素硒的含量。此法最低检出量( $S/N=2$ )为2ng, 重复实验 $C\cdot V=1.9\%$ ,  $n=6$ ; 平均回收率: 口服液100.5%,  $C\cdot V=2.7\%$ ; 果实90.2%,  $C\cdot V=8.0\%$ ; 叶子90.8%,  $C\cdot V=9.8\%$ 。测定方法准确可靠。

**关键词** 无花果; 荧光分光光度法; 硒

中药无花果系桑科植物无花果(*Ficus carica* L)的聚花果。据文献报道, 本品具有抗癌和提高免疫功能的作用。国内外都在进行研究。本文从微量元素的角度进行了考察, 发现本品含较高浓度的微量元素硒(Se), 目前, 国内文献尚未见报道。硒为人体必需的微量元素, 它能选择性的作用于肿瘤细胞的许多生化代谢过程和阻止人体中过氧化物和自由基的形成, 而达到抗癌作用<sup>[1,2]</sup>。成年人每天硒的摄入量以100 $\mu$ g为宜, 长期低于50 $\mu$ g可能会引起癌症。

本文采用2,3-二氨基萘荧光分光光度法测定无花果的果、叶子及其口服液中硒的含量, 平均回收率分别为90.2%, 90.8%, 100.5%。最低检出量为2ng。

## 实验部分

## 一、仪器和试剂

1. 仪器 MPF-4 荧光分光光度计(日本日立)。

## 2. 试剂

(1) 标准硒溶液 精密称定元素硒10mg, 溶于少量硝酸中, 加70~72% $HClO_4$

0.2ml置沸水浴中加热3小时, 冷却后加0.9ml盐酸, 再置沸水浴中煮2分钟, 加高纯水稀释至100ml, 摇匀, 即得(每1ml相当于100 $\mu$ g的Se)储备液。精确吸取1ml, 置1升量瓶中, 加0.1mol/L的盐酸液稀释至刻度, 摇匀, 即得(每1ml相当于0.1 $\mu$ gSe)。

(2) 消化液 称取2.5g  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , 溶于50ml高纯水中, 加67ml 70~72% $HClO_4$ 和50ml去硒硫酸, 混匀, 即得。

(3) EDTA混合液 0.2mol/L EDTA-2Na液—10%盐酸羟胺液—0.02% 甲酚红液—水(10:2:0.5:87.5)。

(4) 0.1%2,3-二氨基萘(2,3-diaminonona Phthalene, 简称DAN)试液 称取0.1g DAN, 加0.1mol/L  $HCl$ 100ml, 转入分液漏斗中, 振摇15min, 用脱脂棉过滤, 然后, 每次加10ml环己烷振摇4分钟, 萃取杂质, 共进行8次, 置棕色瓶中避光低温保存, 临用前再纯化1~2次。

(5) 样品 无花果(鉴定为紫果1号和布兰瑞克*Ficus carica* L.)及其口服液制剂(相当于生药干品0.1g/ml, 江苏省肿瘤研究所提供鉴定人: 江苏省药品检验所滕建昌)。

## 二、测定方法<sup>[8]</sup>

取果实和叶子,清洁并烤干,制成粉末。

1. 样品消解 精密称定约0.5 g的果实或叶子或精密量取10ml口服液,置100ml三角烧瓶中,加消化液5 ml,放置过夜。置石棉网电炉上缓慢消化,直到溶液发生激烈反应并有浓白烟出现,溶液由清亮无色变成黄绿色即达终点。

2. 测定方法 于消解液中加入EDTA混合液10ml,摇匀(呈粉红色),用氨水调节溶液的pH为 $2 \pm 0.2$ ,加入DAN试液3ml,摇匀,置沸水浴中加热5 min,置冷水中冷却至室温,加环己烷8ml,定量转移至60ml梨形分液漏斗中,用力振摇4 min,弃去水相,收集环己烷于比色杯中,置荧光分光光度计上( $\lambda_{ex} = 376\text{nm}$ ,  $\lambda_{em} = 520\text{nm}$ ),测定苾硒脑的荧光强度。每次测定均需同时做试剂空白。

## 三、标准曲线的绘制

精密量取含0.00、0.02、0.03、0.05、0.10、0.15和0.20 $\mu\text{g}$ 的硒标准液,按上述方法操作,以 $\mu\text{g}(x)$ 对荧光强度( $y$ )进行回归,方程为

$$y = -6.248 + 520.5x$$

$$r = 0.9997 (n = 6)$$

## 四、灵敏度

以0.05 $\mu\text{g}$  Se用上述方法重复测定3次,平均荧光读数为 $38.1 \pm 0.5$ ,以信噪比(S/N)为2,计算最低检出量为2 ng。

## 五、重现性

取样品制成6份供试液按上述方法测定,平均荧光读数为15.6,  $SD \pm 0.3$ ,  $C.V = 1.9\%$ 。

## 六、干扰试验

取0.1 $\mu\text{g}$ 标准Se分别添加100PPm $\text{Cu}^{2+}$ , 100PPm $\text{Mn}^{2+}$ 和600PPm $\text{Fe}^{3+}$ ,所测荧光值与0.1 $\mu\text{g}$ 标准Se的荧光值相比较,经T检验无显著性差异。

## 七、加量回收率

精密称定果实或叶子各0.5 g或精密量取口服液10ml,分别添加0.05 $\mu\text{g}$ 硒,按上述方法操作,结果见表1。

## 八、样品分析

取样品,按上述方法测定,结果见表2,3。每次测定均需做随行标准曲线,其相关系数 $r$ 不得小于0.999。

表1 回收率实验结果( $n = 6$ )

| 样 品 | 添加量<br>(ng) | 回收量<br>(ng) | 平均回收率<br>(%) | CV % |
|-----|-------------|-------------|--------------|------|
| 口服液 | 50          | 50.2—51.8   | 100.5        | 2.7  |
| 果 实 | 50          | 41.4—46.2   | 90.2         | 3.0  |
| 叶 子 | 50          | 41.4—45.4   | 90.8         | 9.8  |

表2 同一批号的样品测定结果

| 批 号 | 号 码      | 含硒量<br>(ng/ml) | 平均值<br>(ng/ml)<br>( $\bar{x} \pm SD$ ) | CV % |
|-----|----------|----------------|----------------------------------------|------|
| 口服液 | 1        | 0.27           | $0.26 \pm 0.021$                       | 7.9% |
|     | 891218-2 | 0.24           |                                        |      |
|     | 3        | 0.23           |                                        |      |
|     | 4        | 0.24           |                                        |      |
|     | 5        | 0.29           |                                        |      |
|     | 6        | 0.26           |                                        |      |

表3 不同批号的样品测定结果( $n = 4$ )

| 样 品   | 批 号      | 含硒量(ng/ml)<br>( $\bar{x} \pm SD$ ) |
|-------|----------|------------------------------------|
| 口 服 液 | 891204-1 | $0.47 \pm 0.030$                   |
|       | 891204-2 | $0.27 \pm 0.021$                   |
|       | 891209-1 | $0.54 \pm 0.047$                   |
|       | 891209-2 | $0.28 \pm 0.019$                   |
|       | 891218-1 | $0.43 \pm 0.031$                   |
|       | 891218-2 | $0.28 \pm 0.021$                   |
|       |          | 含硒量(ng/g)<br>( $\bar{x} \pm SD$ )  |
| 果 实   |          | $54.7 \pm 1.6$                     |
| 叶 子   |          | $189.3 \pm 12.1$                   |

## 九、稳定性试验

按上述方法制备样品测定液,置暗处。分别在0、1、2、3、4和12h测定荧光

强度,实验结果表明,本品在4 h内测定基本稳定,12 h测定变化较大。

## 讨 论

一、实验结果表明无花果的叶子中含硒量最高,果实次之。因此无花果属一种能浓集硒的植物。其抗癌作用与含硒量存在某种相关性<sup>[1,2,4]</sup>。

二、 $\text{Se}^{4+}$ 与DAN反应生成的苯硒脑,在水溶液中不稳定,故在加入DAN试液后,操作应尽量在暗处进行,并尽快转入环己烷中,比较稳定。

另外,消化温度不宜过高,时间不宜过长,消化至终点后,应立即停止加热,否则会使硒挥发而损失。

三、本法测定结果的误差小于国家技术监督局批准的《茶叶成份分析标准物质》中规定的 $\text{Se} = 0.041 \pm 0.010$ ,  $\text{C}\cdot\text{V} = 24\%$ 的误差<sup>[8]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] 夏献民,于树玉:中华肿瘤杂志1987;9(4):255
- [2] 竺际舜:元素硒与人体健康 百科知识1985;(5):78
- [3] 林似兰,赵陆华,董善士:中国药科大学学报1989;20(1):46~47
- [4] 上海科学技术文献出版社:国外科技消息 1985;(3):24
- [5] 中国科学院生态环境研究中心:标准物质证书一茶叶成份分析标准物质 国家技术监督局批准 GBW 08505

# Determination of Amount of Trace Element Selenium in Traditional Chinese Drug Wuhuaguo (Fruit and Leaf of Ficus Carica) and Its Oral Liquid

DONG Shanshi, Zhu Yu and An Dengkui

(China Pharmaceutical University, Nanjing, 210009)

Wang Yiuxian, Gao Ling and Zhang Qinfen

(Jiangsu institute of cancer Research, Nanjing)

## Abstract

A fluorescence spectrophotometric method for determining selenium in traditional Chinese drug Wuhuaguo (fruit and leaf of Ficus carica) and its oral liquid was taken by using 2, 3-diaminonaphthalene as fluorescent reagent. The average recoveries were 90.2%(n=6), CV=8.0% in fruit, 90.8%(n=6), CV=9.8% in leaf and 100.5%(n=6), CV=2.7% in oral liquid.

**Key words** traditional Chinese drug Wuhuaguo; Fluorescence spectrophotometry; Selenium.