

DOI:10.14188/j.ajsh.2019.03.008

印度犀牛角的化学成分分析

宋华玲,谭红琳,祖恩东*

(昆明理工大学 材料科学与工程学院,云南 昆明 650093)

摘要: 本文以印度犀牛角为主要研究对象,利用傅里叶变换红外光谱仪、X射线荧光光谱仪、全自动氨基酸分析仪分析其红外光谱、化学成分等特征,旨在为犀牛角替代品、人工合成品的研究提供部分基础数据。结果表明:红外光谱中氨基酸、磷脂酸、牛磺酸等相关的吸收峰明显;犀牛角主要的无机成分为CaO、Fe₂O₃、K₂O、ZnO、SiO₂等;氨基酸含量为481.01 mg/g,药用氨基酸含量丰富,氨基酸组成与标准蛋白的贴度为0.74。结果表明犀牛角具有较高的营养价值。

关键词: 印度犀牛角;中红外光谱;近红外光谱;X射线荧光光谱;氨基酸

中图分类号: O656.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2019)03-0245-04

Analysis of chemical components in Indian rhino horn

SONG Hualing, TAN Honglin, ZU Endong*

(Faculty of Material Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, Yunnan, China)

Abstract: In this paper, Indian rhino horn is the main object of study. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) and automatic amino acid analyzer were used to analyze the infrared spectroscopy and chemical composition of rhinoceros horn, in order to provide basic data for the research of rhinoceros horn substitutes and synthetic products. The results showed that the absorption peaks of amino acids, phosphatidic acid and taurine were obvious in infrared spectra. The main inorganic components of rhinoceros horn are CaO, Fe₂O₃, K₂O, ZnO, SiO₂, etc. Amino acid content is 481.01 mg/g, medicinal amino acid content is rich, and the closeness of amino acid composition standard protein is 0.74. The result indicates that the rhino horn has high nutritional value.

Key words: Indian rhino horn; medium infrared spectrum; near infrared spectrum; X-ray fluorescence spectrum; amino acid

0 引言

犀牛角为一种名贵的中药材,号称“灵丹妙药”,具有重要的药理作用^[1],以犀牛角为原料的工艺在黑市市场上贵比黄金^[2],在其特殊的药用功能及黑市市场暴利的诱引下,非法捕猎活动使犀牛数量不断锐减,犀牛成为受国际保护的珍稀濒危动物。自1993年起,国务院发布了“关于禁止犀牛角和虎

骨贸易的通知”(国发(1993)39号),重申严禁犀牛角的进出口贸易,取消犀牛角药用标准并不得使用其制药^[3],犀牛角从此退出中药应用的历史舞台。研究合成品可以满足犀牛角工艺品的市场需求,利于物种保护。本文以印度犀牛角为研究对象,检测分析其光谱特征以及化学成分,同时也可寻找中药犀牛角的替代品、研发其合成品提供部分基础数据。

收稿日期:2019-04-14 修回日期:2019-05-02 接受日期:2019-05-19

作者简介:宋华玲(1993-),女,硕士生,主要研究方向为首饰材料。E-mail:2810958481@qq.com

*通讯联系人:祖恩东(1970-),男,副教授,博士,主要从事分子光谱学、宝石鉴定及优化处理研究。E-mail:zend88@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目资助(51662023)

引用格式:Song H L, Tan H L, Zu E D. Analysis of chemical components in Indian rhino horn [J]. Biotic Resources, 2019, 41(3): 245-249.
宋华玲,谭红琳,祖恩东. 印度犀牛角的化学成分分析[J]. 生物资源, 2019, 41(3): 245-249.

1 实验部分

1.1 材料与试剂

犀牛角样品为实验室标本印度犀牛角(来自私人收藏捐赠的老犀角)。

试剂:茚三酮、盐酸(均为分析纯),购买于国药集团化学试剂有限公司;17种氨基酸混合标品,购买于美国 Waters 公司。

1.2 仪器与参数

傅里叶变换红外光谱仪:德国布鲁克(Bruker) TENSOR27。测试条件:扫描范围 400~4 000 cm^{-1} 、4 000~8 000 cm^{-1} 扫描次数 16 次,分辨率 4 cm^{-1} ,探测器类型 DTGS KBr。

X 射线荧光光谱仪:荷兰帕纳科:Axios^{max} (PW4400/40)。超尖锐端窗 Rh 靶 X 光管,功率 4 kW, P10 气体,(SuperQ5.0 高级分析软件,Omnia 近似定量无标样软件包)。

全自动氨基酸分析仪:日本日立 L-8900。色谱柱尺寸 4.6 mm ID×60 mm,粒度 3 μm ,检测波长 440 nm、570 nm,交换树脂为日立专用离子交换树脂,柱温 50 $^{\circ}\text{C}$,反应温度为 135 $^{\circ}\text{C}$,进样体积 20 μL ,双通道检测,流速均为 1 mL/min。

1.3 样品制备

红外光谱测试:无损测试;X 射线荧光光谱测试:粉末测试;氨基酸测试样品前处理:准确称取 0.10 g 粉末样品于 15 mL 硬质玻璃水解管中,加入 6 mL 6 mol/L 盐酸溶液,110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 22 h。水解结束后完全冷却后转移到 50 mL 离心管中,调节 pH 至 2~2.5,定容至 25 mL,后稀释 10 倍,取 4 mL 水解液在 10 000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液过 0.45 μm 滤膜后,采用氨基酸分析仪的水解蛋白分析系统测定其氨基酸组成。

2 结果与分析

2.1 红外光谱表征

2.1.1 中红外光谱表征(图 1-a)

犀牛角中含有氨基酸、磷脂酸、牛磺酸等成分^[4],其红外光谱分析如下:

氨基酸:伯酰胺分子中 NH_2 变角振动与 C—N 伸缩振动发生耦合而分裂成两个谱带,其一位于 1 441 cm^{-1} ,归属于 C—N 伸缩振动(又称为酰胺 II 吸收),另一谱带位于 1 629 cm^{-1} 位置,主要为 NH_2 变角振动(也称酰胺 III 吸收)。1 536 cm^{-1} 归因为 C—N 伸缩振动与 N—H 面内弯曲振动。1 727 cm^{-1} 归因为 C=O 伸缩振动。2 849 cm^{-1} 为 C—H 对称伸

缩振动吸收峰。2 914 cm^{-1} 为 C—N 不对称伸缩振动吸收峰。以 3 161 cm^{-1} 为中心的吸收带归属于与羟基有关的吸收。

磷脂酸:820 cm^{-1} 归属于 P—O 伸缩振动,P—O 源自 P—O—C, P—O 的振动频率略低于 C—O,由于 P—O—C 的对称伸缩振动发生耦合作用,使得二者谱带分的更开,C—O 伸缩振动则位于 1 020 cm^{-1} 。1 282 cm^{-1} 为 P=O 伸缩振动吸收峰。521 cm^{-1} 可能为 PO_4^{3-} 不对称变角振动吸收。

牛磺酸:1 169 cm^{-1} 为 SO_2 对称伸缩振动吸收峰,1 215 cm^{-1} 为 S=O 伸缩振动吸收峰,469 cm^{-1} 可能为 SO_4^{2-} 对称变角振动吸收峰。

2.1.2 近红外光谱表征(图 1-b)

犀牛角的近红外吸收主要为角蛋白中 CH 、 NA 、 OH 等含氢基团的倍频与合频吸收峰。4052 cm^{-1} 归属于 CH_3 伸缩振动与 NH_2 摇摆振动的组合频;4 362 cm^{-1} 主要为 NH 反对称伸缩振动与 NH_2 摇摆振动的组合频;4 621 cm^{-1} 为酰胺 I 带中 N—H 面内弯曲振动的一级倍频与酰胺 III 带中 C—N 伸缩振动的组合频;4 863 cm^{-1} 归属于酰胺 II 与 NH 对称伸缩振动的组合频;5 150 cm^{-1} 为酰胺 II 与 NH 反对称伸缩振动的组合频峰;5 757、5 897 cm^{-1} 分别归因为 CH_2 、 CH_3 伸缩振动一级倍频,6 653 cm^{-1} 为 NH 伸缩振动的一级倍频峰。

2.2 X 射线荧光光谱(XRF)分析

为了解犀牛角中无机元素的分布,本文使用 XRF 对样品进行测试,测试范围为元素周期表中 F~U。

犀牛角中无机化学成分含量较少(为了统一,成分均以氧化物形式测试),其中主要成分为 CaO (0.59%)、 Fe_2O_3 (0.06%)、 K_2O (0.05%)、 ZnO (0.05%)、 SiO_2 (0.05%) 等,次要成分为 Na_2O (0.04%)、 MgO (0.03%)、 Al_2O_3 (0.02%)、 P_2O_5 (0.03%)、 MnO (0.01%)、 CuO (0.03%),其他微量元素主要有 S(4.42%)、Cl(0.47%)、Cr(4.8%) 等。硫元素含量较高,原因在于硫在反刍动物体内主要以有机硫的形式存在于角蛋白中含硫的甲硫氨酸、半胱氨酸、光氨酸中,犀牛角的主要成分为角蛋白,故硫元素有相对较高的含量。S、Cl 离子均为强力有效的杀菌剂,S 离子解毒功效明显,用于脓肿疮毒;Ca、K 离子清热效果明显^[5],P 离子有调节神经、催眠、镇痛等功效^[6];Mg 离子是细胞代谢中部分酶系统的激活剂^[7];Fe 离子与人体造血功能、免疫功能等密切相关。

2.3 氨基酸成分分析

为验证犀牛角中丰富的角蛋白含量,本文利用氨基酸全自动分析仪,对犀牛角蛋白水解液中氨基

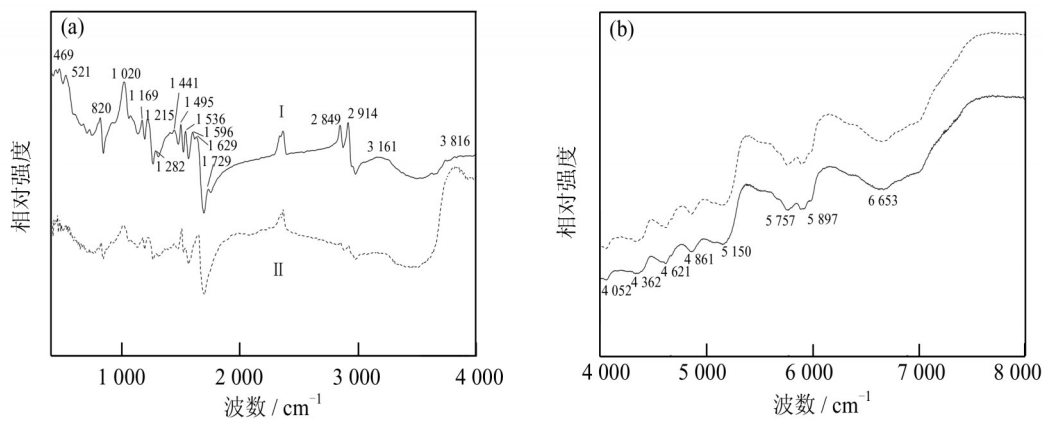


图1 犀牛角中红外(a)与近红外光谱(b)
Fig. 1 Medium infrared spectrum (a) and near infrared spectrum (b) of rhino horn

酸成分进行检测(酸水解法处理样品,色氨酸无法检测)。印度犀牛角氨基酸含量丰富、种类齐全,其中包括7种必须氨基酸(EAA)、8种非必须氨基酸(NEAA)(表1)与2种条件必须氨基酸(CEAA)。此外其药用氨基酸含量也相对较高。对比朱伟伟等^[1]对苏门答腊犀牛角氨基酸组分的研究结果发现,谷氨酸、半胱氨酸、酪氨酸这三种氨基酸含量差距较大,其次为组氨酸、脯氨酸,其他种类氨基酸含量及氨基酸总量结果较为接近,由此推测不同产地犀牛角角蛋白氨基酸组成或会出现明显的差异。

表1 犀牛角氨基酸分析				
Table 1 Amino acid analysis of rhino horn				
氨基酸 类型	氨基酸名称	含量/ mg·g ⁻¹	鸡蛋白 模式	CS(× 100)
EAA	Met蛋氨酸+Gys半 胱氨酸	38.04	57	66.73
	Lys赖氨酸	18.33	70	26.18
	Ile异亮氨酸	17.54	54	32.46
	Leu亮氨酸	40.1	86	46.63
	Tyr酪氨酸+Phe苯 丙氨酸	22.54	93	24.23
	Thr苏氨酸	30.51	47	64.91
	Val缬氨酸	28.30	66	42.88
NEAA	Asp天冬氨酸	34.91		
	Ser丝氨酸	38.20		
	Glu谷氨酸	82.86		
	Gly甘氨酸	40.10		
	Ala丙氨酸	21.42		
	His组氨酸	6.09		
	Arg精氨酸	47.28		
	Pro脯氨酸	35.36		
	Asp天冬氨酸	34.91		
氨基酸总量/mg·g ⁻¹		481.01		

2.3.1 氨基酸营养价值分析

氨基酸营养价值评价选用化学评分与模糊识别法。化学评分CS为中国预防医学科学院与食品卫生研究所提出的以鸡蛋蛋白质模式为标准的营养价值评价,现代营养学研究认为,样品氨基酸模式与标准模式(CS=100)越贴近,其营养价值越高^[8];模糊识别法是以鸡蛋蛋白为标准,根据兰氏距离法^[9]的定义建模计算样品蛋白与标准蛋白的贴近度μ评价样品营养价值,贴近度越接近理想值(μ=1),表明其营养价值越高。

$$\mu(a,u) = 1 - c \sum_{n=1}^7 \frac{|a_i - u_i|}{a_i + u_i}$$

式中u_i、a_i分别代表样品与标准蛋白7种EAA的含量,c常取常数0.09使得计算结果处于区间[0,1],能增加分辨率、利于比较结果。

犀牛角样品中蛋氨酸+半胱氨酸的CS值较大,为66.73;酪氨酸+苯丙氨酸最小,为24.23,即酪氨酸+苯丙氨酸为犀牛角第一限制氨基酸;计算得到样品蛋白与标准蛋白的贴近度μ为0.74,表明印度犀牛角有相对较高的营养价值(表1)。

2.3.2 药用氨基酸分析

药用氨基酸是指有些在人体中不能合成,但又是维持机体氮平衡所必须的氨基酸,主要包括:天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、精氨酸9种氨基酸^[10]。印度犀牛角药用氨基酸种类齐全,含量丰富,其中谷氨酸含量较高,占总量的17.23%,其次为精氨酸(9.83%)、甘氨酸(8.33%)、天冬氨酸(7.26%)等。这些药用氨基酸在人体生命活动中有重要作用,谷氨酸与氨结合生成的谷氨酰胺具有解毒功能,能解除脑组织中氨毒^[11];精氨酸可通过强化肠外营养来调节结直肠癌患者的免疫功能^[12];天冬氨酸虽不是必须氨基酸,

但对机体三羧酸循环和尿素循环起重要作用,能增强肝脏功能、预防心脏病、高血压等疾病;甘氨酸具有抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌活性的能力^[13]。

3 结 论

本研究发现,印度犀牛角的红外光谱体现了氨基酸、磷脂酸、牛磺酸等成分,红外光谱可作为印度犀牛角无损鉴定的有效手段之一;利用X射线荧光光谱仪分析元素周期表中F~U的元素,结果显示,印度犀牛角中有无机物CaO、Fe₂O₃、K₂O、ZnO、SiO₂、Na₂O、MgO、Al₂O₃、P₂O₃、MnO、CuO,其他微量元素主要有S、Cl、Cr等;样品印度犀牛角中氨基酸总量为481.01 mg/g,氨基酸种类较齐全,其组成与比例与标准蛋白的贴度为0.75,其氨基酸具有相对较高的营养价值。此外,本实验样品印度犀牛角,与苏门犀角^[1]相比,氨基酸总量差距不大,谷氨酸、半胱氨酸、酪氨酸这三种氨基酸含量有较大区别,由此推测,不同产地的犀牛角蛋白氨基酸其组成可能出现明显的差异。

参考文献

- [1] Zhu W W, Lan J J. Amino acid composition analysis and nutritional value evaluation of rhinoceros horn [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(4): 289-290.
朱伟伟, 蓝建京. 犀牛角氨基酸组成分析与营养价值评价 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(4): 289-290.
- [2] Damian Carrington, Hai W. The exotic price of rhinoceros horn makes bloody all over the world [J]. University English, 2017(5): 30-34.
Damian Carrington, 海威. 犀牛角的离奇价格让血腥弥漫全球 [J]. 大学英语, 2017(5): 30-34.
- [3] Zhou J M. Study on identification methods of rhinoceros horn and its products [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2010.
周晶梅. 犀牛角及其制品鉴定识别方法的研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010.
- [4] Mu L Y. Analysis and identification of rhinoceros horn and its products by optical microscope and infrared spectrometry [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2014, 31(1): 1-6.
木丽云. 犀牛角及其制品的显微镜和红外光谱分析鉴定 [J]. 光谱实验室, 2014, 31(1): 1-6.
- [5] Fan W X, Zhu F K, He H L. Comparative study on trace elements in heat clearing Chinese medicinal herbs [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2010(2): 310-313.
范文秀, 朱芳坤, 郝海玲. 清热类中药中微量元素的比较研究 [J]. 药物分析杂志, 2010(2): 310-313.
- [6] Yao X, Zhou G S, Tang Y P, *et al.* Evaluation and analysis of inorganic elements in *Ginkgo biloba* leaves by microwave digestion-ICP-AES [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(3): 808-812.
姚鑫, 周桂生, 唐于平, 等. 采用微波消解-ICP-AES法对不同产地果用银杏叶无机元素分析与评价 [J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(3): 808-812.
- [7] Chen M H, Sun R H, Hu B C. The influence of serum magnesium level on the prognosis of critically ill patients [J]. Chinese Critical Care Medicine, 2015, 27(3): 213-217.
陈敏华, 孙仁华, 呼邦传. 重症患者血清镁水平对预后的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(3): 213-217.
- [8] Jiang P P, Han Y, Gu S H, *et al.* Determination of amino acids in five edible fungi and their nutritional evaluation [J]. Amino Acids and Biotic Resources, 2009, 31(2): 67-71.
姜萍萍, 韩烨, 顾赛红, 等. 五种食用菌氨基酸含量的测定及营养评价 [J]. 氨基酸和生物资源, 2009, 31(2): 67-71.
- [9] Jiang J Y, Zhao M, He Z, *et al.* Nutrition composition and evaluation of six edible dragonfly naiads [J]. Biotic Resources, 2017, 39(5): 42-49.
蒋筠雅, 赵敏, 何钊, 等. 六种食用蜻蜓稚虫营养成分分析和评价 [J]. 生物资源, 2017, 39(5): 42-49.
- [10] Jiang Z M, Wu Y T N, Wang S, *et al.* Amino acid composition and nutritional quality evaluation of wild *Amygdalus pedunculatus* Pall. Kernels from different growing regions [J]. Food Science, 2016, 37(4): 77-82.
姜仲茂, 乌云塔娜, 王森, 等. 不同产地野生长柄扁桃仁氨基酸组成及营养价值评价 [J]. 食品科学, 2016, 37(4): 77-82.
- [11] Wang J H. Medicinal Amino Acids [J]. Pharmaceuticals abroad. Synthetic Drugs. Biochemical Drugs. Catalogue of Preparations, 1982(4): 37-40.
王建华. 药用氨基酸 [J]. 国外医药. 合成药. 生化药. 制剂分册, 1982(4): 37-40.
- [12] Huang Q F, Deng Z J, Bi X X, *et al.* Meta analysis of the effect of arginine on immune function in patients with colorectal cancer [J]. Journal of Qiqihar University of Medicine, 2016, 37(2): 151-152.
黄秋芬, 邓卓娟, 毕晓霞, 等. 精氨酸强化肠外营养对结直肠癌患者免疫功能影响的Meta分析 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37(2): 151-152.
- [13] LiaO X Y, Huang X Y, Feng L M, *et al.* Analysis of antibacterial activity of glycine [J]. Food Safety Guide, 2016, 33: 152-154.
廖夏云, 黄小云, 冯丽敏, 等. 甘氨酸的抑菌作用分析 [J]. 食品安全导刊, 2016, 33: 152-154.

□