

· 研究报告 ·

基于多元统计分析的食用槟榔及药用槟榔主要化学成分的含量对比研究

贾哲, 韩婷, 刘欢, 高岩, 李向日

(北京中医药大学中药学院, 北京 102488)

摘要: 目的: 研究食用槟榔及药用槟榔中主要化学成分的含量差异。方法: 采用高效液相色谱法(HPLC)和磷钼钨酸/干酪素紫外-可见分光光度法(UV)分别测定药用槟榔饮片、食用槟榔中槟榔碱和鞣质的含量, 并采用方差分析和主成分分析法对主要成分的含量进行多元统计分析。结果: 针对槟榔碱和鞣质的含量, 药用槟榔3种制品均与食用槟榔存在显著差异($P<0.05$), 且食用槟榔中槟榔碱和鞣质含量均明显低于药用槟榔。食用槟榔及药用槟榔可以进行区分, 但无法对药用槟榔的不同炮制组进行区分。结论: 被认定为一级致癌物的食用槟榔中槟榔碱和鞣质成分的含量明显低于药用槟榔, 因此, 针对毒效成分含量更高的药用槟榔饮片, 其是否会对人体造成潜在性损害的问题应得到重视。

关键词: 食用槟榔; 药用槟榔; 槟榔碱; 鞣质; 主成分分析; 含量; 多元统计分析; 方差分析

基金资助: 2015年公益性科研专项项目(No.201507004), 北京中医药大学研究生自主课题(No.2016-JYB-XS061)

Comparative analysis of the determination of principal chemical components in edible betel nut and semen arecae based on multivariate statistical analysis

JIA Zhe, HAN Ting, LIU Huan, GAO Yan, LI Xiang-ri

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China)

Abstract: Objective: To study the difference of contents of the principal chemical components between the edible betel nut and arecae semen. Methods: To make a contrastive study about comparing the principal chemical contents of arecoline and tannins in the edible betel nut and arecae semen. HPLC was used to determine the arecoline of the edible betel nut and arecae semen. Phosphomolybdenum Tungstic Acid-Casein Reaction was used to determine the tannins of the edible betel nut and arecae semen. The variance analysis and the PCA were used to analyze the principal contents. Results: The results of analysis of variance showed that the contents of arecoline and tannins in arecae semen were significantly different from those of the edible betel nut ($P<0.05$), and the contents of the edible betel nut were significantly lower than those of arecae semen. The consumption of the edible betel nut and arecae semen can be distinguished, but it can not distinguish between different processing groups of arecae semen. Conclusion: The content of arecoline and tannins in the edible betel nut, which were identified as 'first-class carcinogens', were significantly lower than that of arecae semen. Therefore, the issue of whether or not arecae semen with higher toxic ingredients were potentially harmful to human body should be given more attention.

Key words: Edible betel nut; Arecae semen; Arecoline; Tannins; PCA; Content; Multivariate statistical analysis; ANOVA

Funding: Special Funds of Scientific Research Project of Public Welfare Industry in 2015 (No.201507004), Autonomous Subject of Beijing University of Chinese Medicine (No.2016-JYB-XS061)

槟榔(*Areca catechu* L.)为棕榈科槟榔属常绿乔木,原产马来西亚,主要分布于亚洲与美洲的热带地区^[1-2],中国引种栽培槟榔已有2 100多年历史,主要种植在海南和台湾两省,另外在广东、广西、福建及云南部分地区也有少量栽培^[3],其主要加

工地为湖南省。目前根据全球嗜好槟榔人群食用槟榔习惯,可将食用槟榔分为两种:①鲜槟榔,有文献报道,印度和中国台湾是世界槟榔鲜果的最大消费国和地区,巴基斯坦和尼泊尔也是主要消费国^[4]。世界各地食用鲜槟榔的方法也有差异:在台

通讯作者: 李向日,北京市房山区良乡高教园区北京中医药大学中药学院,邮编: 102488,电话: 010-84738616

传真: 010-84738610, E-mail: lixiangri@sina.com

湾和海南,食用方法多为将七至八成熟的鲜槟榔果切成几瓣,用荖叶包着白灰混在口里嚼^[5];在泰国和柬埔寨的山地部落则常在槟榔中加入丁香和桂皮;而在印度,槟榔里可能会包着小豆蔻、果子冻、食糖或磨碎的椰肉^[4]。②干槟榔,即鲜槟榔用石灰水浸泡后用强碱性、刺激性强的香精、香料等特殊处理^[6],也有采取熏烘法加工的槟榔干。咀嚼干槟榔是一种传统习俗,主要流行于南亚地区、南太平洋地区、南非地区以及中国湖南、广东、江西等省^[7]。流行病学调查显示,常嚼食槟榔可致口腔癌病变,因此,2003年槟榔被世界卫生组织属下的国际癌症研究中心(IARC)认定为一级致癌物。

药用槟榔与食用槟榔存在很大差异,后者是幼果,包括皮壳一起嚼食用;前者是成熟种子,多加工为中药饮片水煎服用,目前常见生品、炒黄品、炒焦品3种炮制品规格。槟榔被《中华人民共和国药典》(2015年版)(以下简称为《药典》)记载为棕榈科植物槟榔*Areca catechu* L.的干燥成熟种子,始载于晋代李当之《药录》。在我国有一千多年的药用历史,功效为杀虫、消积、行气、利水、截疟,用于绦虫病、蛔虫病、姜片虫病、虫积腹痛、里急后重、积滞泄痢、水肿脚气、疟疾的治疗^[8]。《名医别录》记载槟榔有“消谷逐水,除痰,杀三虫,伏尸,疗寸白”的功效。清代严西亭的《得配本草》记载槟榔可用于“治泻痢,破滞气,攻坚积,止诸痛,消痰癖,杀三虫,除水胀,疗瘴疟”。但目前未见历代本草记载槟榔具有毒性,按《药典》记载临床剂量配伍使用槟榔饮片也未见不良反应报道。

槟榔化学成分主要为生物碱、缩合鞣质、脂肪及槟榔红色素^[9]。目前研究表明其主要活性成分为生物碱和鞣质,其中,生物碱中的槟榔碱作为主要有效成分^[10],可兴奋M-胆碱受体,引起腺体分泌增加,也可兴奋N-胆碱受体,表现为兴奋骨骼肌、神经节及颈动脉等,还具有增加肠蠕动,灭螺、驱虫作用^[11]。除此外,生物碱还包括槟榔次碱、去甲基槟榔碱、去甲基槟榔次碱、异去甲基槟榔次碱等。槟榔中的缩合鞣质,即黄烷醇衍生物,与槟榔碱结合存在,对莖色毛癣菌、许兰氏黄癣菌、奥杜昂氏小芽孢癣菌、抗流感病毒PR3等均有不同程度的抑制作用^[12]。

目前,未见对药用槟榔和食用槟榔中主要化学成分含量对比研究的相应报道。因此,本文采用《药典》方法对食用槟榔与不同饮片规格的药用槟榔中槟榔碱和鞣质的含量进行对比研究,并采用多元统计分析对其进行进一步分析,找出区别。

材料

1. 样品 收集市售生槟榔饮片10批,均经北京中医药大学张贵君教授鉴定,为槟榔*Areca catechu* L.的种子。食用槟榔(干槟榔)5批,均经北京中医药大学张贵君教授鉴定,由槟榔*Areca catechu* L.的幼果加工而成。

炒槟榔、焦槟榔为本实验室按照中药炮制规范,对生槟榔饮片进行炮制所得。具体炮制工艺如下:①炒槟榔:取生槟榔饮片,置热锅中,用文火炒至黄色时,取出,放凉。②焦槟榔:取生槟榔饮片,置热锅中,用武火炒至表面焦黄色,有焦斑,内部深黄色,透出焦香气时,取出,放凉。

槟榔不同炒制品工序均为取同一批槟榔饮片,分别炮制成炒品、焦品样品,各炮制品的炮制工艺参数及评判指标的选择在前期研究中已确定,可保证每批次炮制品的一致性。

药用槟榔样品信息见表1,食用槟榔样品信息见表2。

表1 药用槟榔样品信息

产地	收集时间	规格(编号)	规格(编号)	规格(编号)
海南	2016年3月18日	生品(1)	炒黄品(11)	炒焦品(21)
海南	2016年3月28日	生品(2)	炒黄品(12)	炒焦品(22)
海南	2016年3月19日	生品(3)	炒黄品(13)	炒焦品(23)
广西	2016年3月17日	生品(4)	炒黄品(14)	炒焦品(24)
海南	2016年3月24日	生品(5)	炒黄品(15)	炒焦品(25)
广东	2016年3月27日	生品(6)	炒黄品(16)	炒焦品(26)
广东	2016年3月27日	生品(7)	炒黄品(17)	炒焦品(27)
广西	2016年3月11日	生品(8)	炒黄品(18)	炒焦品(28)
海南	2016年3月18日	生品(9)	炒黄品(19)	炒焦品(29)
广西	2016年3月10日	生品(10)	炒黄品(20)	炒焦品(30)

表2 食用槟榔样品信息

产地	收集时间	样品	编号
湖南	2016年3月18日	干槟榔	31
湖南	2016年3月28日	干槟榔	32
湖南	2016年3月19日	干槟榔	33
湖南	2016年3月17日	干槟榔	34
湖南	2016年3月27日	干槟榔	35

2. 试剂 磷酸、盐酸、溴水、碳酸钠、碳酸氢钠(北京化工厂),钨酸钠、硫酸锂(天津福晨化学试剂厂),钼酸钠(天津市化学试剂四厂),乙醚(天津天智精细化工有限责任公司),干酪素(北京奥博星生物技术有限责任公司)。以上试剂均为分析纯。氢溴酸槟榔碱标准品(上海诗丹德生物技术有限公司,批号:1344/18868,含量>99.0%),乙腈为色谱纯,水为超纯水。没食子酸对照品(天津市光复精细化工研究所,批号:20121107,含量:99.0%)

3. 仪器 Waters2695高效液相色谱仪,紫外-可见分光光度仪(北京普析通用仪器有限公司),FA-1004电子分析天平(上海

天平仪器厂), 恒温水浴锅(长风XMTD-6000), SB25-12DTDN型数控超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

方法

1. 高效液相色谱法(HPLC) 分别精密称取35批槟榔样品各0.3g, 每批平行2份, 按照《药典》中槟榔项下的“含量测定”方法对槟榔碱含量进行测定。实验所用色谱柱: Ultimate XB-SCX, 5μm, 4.6mm×250mm。柱温: 25℃, 流速: 1.0mL/min。

2. 磷钼钨酸/干酪素紫外-可见分光光度法(UV) 分别精密称取35批槟榔样品各0.25g, 每批平行2份, 按照《药典》中鞣质的含量测定法(通则2202)进行测定。

3. 多元统计分析 用SPSS 20.0软件, 对药用槟榔(生品、炒黄品、炒焦品)及食用槟榔的槟榔碱和鞣质含量进行单因素方差分析和T3检验; 用SIMCA-P+12.0(Umetrics AB, Sweden)软件进行主成分分析, 比较研究食用槟榔和药用槟榔以及不同药用槟榔组之间的差异。

结果

1. 槟榔碱测定结果 见表3。药用槟榔生品中槟榔碱含量最高, 为0.51%, 炒槟榔为0.44%, 焦槟榔为0.37%, 而食用槟榔中槟榔碱平均含量为0.19%。

表3 槟榔样品中槟榔碱含量测定结果(n=2, %)

生品		炒黄品		炒焦品		食用槟榔	
编号	含量	编号	含量	编号	含量	编号	含量
1	0.46	11	0.46	21	0.36	31	0.22
2	0.45	12	0.43	22	0.36	32	0.16
3	0.46	13	0.40	23	0.35	33	0.19
4	0.41	14	0.35	24	0.32	34	0.20
5	0.39	15	0.36	25	0.31	35	0.20
6	0.41	16	0.38	26	0.35	平均	0.19
7	0.47	17	0.46	27	0.42		
8	0.76	18	0.46	28	0.36		
9	0.47	19	0.44	29	0.42		
10	0.83	20	0.67	30	0.42		
平均	0.51	平均	0.44	平均	0.37		

注: 生品、炒黄品、炒焦品为药用槟榔。下表同。

2. 鞣质测定结果 见表4。其中, 药用槟榔中炒槟榔中鞣质含量最高, 为10.98%, 生槟榔为10.33%, 焦槟榔为8.61%, 而食用槟榔中鞣质含量为3.64%。

3. 多元统计分析结果

3.1 方差分析结果 见图1。针对槟榔碱和鞣质含量, 药用槟榔3个组与食用槟榔均存在显著性差异, 食用槟榔中槟榔碱

表4 槟榔样品中鞣质含量测定结果(n=2, %)

生品		炒黄品		炒焦品		食用槟榔	
编号	含量	编号	含量	编号	含量	编号	含量
1	12.09	11	12.51	21	12.01	31	3.24
2	10.74	12	11.63	22	8.97	32	3.51
3	11.69	13	11.84	23	9.95	33	3.82
4	15.69	14	15.38	24	12.98	34	3.74
5	8.02	15	8.81	25	7.00	35	3.88
6	11.02	16	11.45	26	8.83	平均	3.64
7	7.41	17	9.59	27	5.02		
8	5.97	18	6.07	28	3.46		
9	13.69	19	15.07	29	11.49		
10	6.94	20	7.48	30	6.43		
平均	10.33	平均	10.98	平均	8.61		

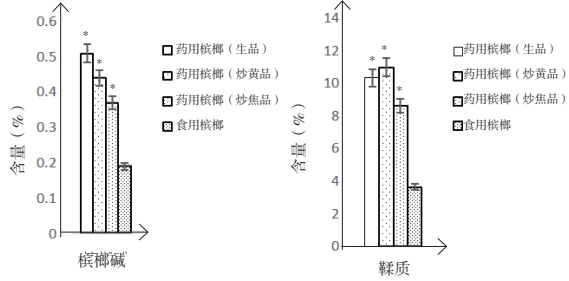


图1 药用槟榔与食用槟榔中槟榔碱和鞣质含量比较
注: 与食用槟榔比较, *P<0.05。

及鞣质的含量均明显低于药用槟榔(P<0.05)。

药用槟榔组中, 生槟榔中槟榔碱含量均高于《药典》中生槟榔项下规定的0.20%, 炒槟榔、焦槟榔中槟榔碱含量均高于《药典》中焦槟榔项下规定的0.10%, 均为合格饮片。且槟榔碱含量呈现以下规律: 生槟榔>炒槟榔>焦槟榔。

药用槟榔组中, 生槟榔不同产地间的鞣质含量差异较大, 饮片质量参差不齐。且鞣质含量呈现以下规律: 炒槟榔>生槟榔>焦槟榔。

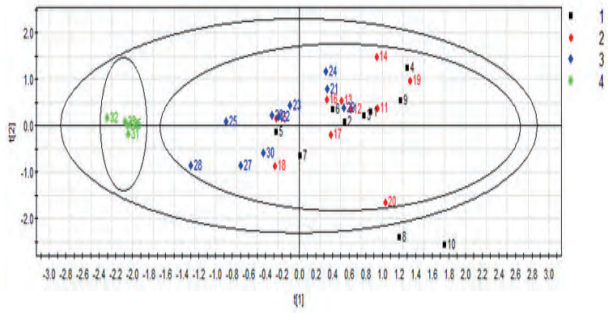


图2 药用槟榔及食用槟榔中槟榔碱和鞣质含量的主成分分析图

注: 1. 药用槟榔(生品); 2. 药用槟榔(炒黄品); 3. 药用槟榔(炒焦品); 4. 食用槟榔。

3.2 主成分分析结果 见图2。由主成分分析图发现,可以对食用槟榔及药用槟榔进行区分,但无法对药用槟榔的不同炮制品规格组进行区分。

讨论

本实验采用HPLC和UV对药用及食用槟榔的槟榔碱和鞣质含量进行测定,结果表明,针对两种主要成分,药用槟榔与食用槟榔之间差异性较显著,前者含量明显高于后者。说明槟榔碱和鞣质的变化与加工过程关系密切,槟榔碱为小分子化合物,具有水溶性且易挥发,鞣质为多酚类化合物,见光受热均不稳定。本实验中所用食用槟榔(干槟榔)的加工以加水煮沸后以湿柴火熏烘为主,此过程势必造成槟榔碱和鞣质的大量减少,可解释食用槟榔含量明显低于药用槟榔饮片。

“槟榔入药”和“嚼食槟榔”存在很大差异,后者所用槟榔为幼果,用强碱性和刺激性较强的致癌性辅料进行加工,无限时无限量的长期咀嚼会刺激口腔黏膜,对其造成机械性损伤。有学者认为,咀嚼槟榔之所以能导致口腔癌,可能因为槟榔中含多酚类化合物,在碱性(与红灰或白灰混合)环境下,会产生一些能致癌的含氧自由基,且槟榔中的槟榔生物碱、槟榔鞣质、槟榔特异性亚硝胺(ASNA)和活性氧(ROS)及其代谢产物有细胞毒性、遗传毒性甚至致癌性^[13]。而“槟榔入药”则为成熟种子经过炮制后小剂量短期煎服,仅在驱虫时才多为大剂量入药。

根据本实验结果,药用槟榔毒效成分含量更高,其作为常用消食化积药,历代本草均未记载具有毒性,目前按《药典》记载临床剂量配伍使用也未见不良反应。某品牌“四磨汤”为小儿消食化积常用药,因处方含槟榔,而引起广大消费者的质疑和关注。因此,槟榔饮片煎服是否存在潜在的毒副作用应得到高度重视。目前未见有学者对槟榔的长期毒性进行实验研究,因此,笔者认为对药用槟榔饮片水煎液进行长期毒性试验很有研究意义。

药用槟榔饮片中,针对每批槟榔样品,其中槟榔碱含量为生槟榔>炒槟榔>焦槟榔;鞣质含量:炒槟榔>生槟榔>焦槟榔。符合以下规律:槟榔碱随炮制时间的延长而含量减少,鞣质在炮制火候适中时含量增加,之后随时间延长而含量逐渐减少。

本实验采用UV对槟榔样品中鞣质的含量进行测定,取样量0.25g为考察后的结果。前期确定取样量时分别用0.10、0.25、0.50g进行考察,试验后发现,0.10g的取样量过小,浓度过低,在线性范围外;而0.50g时取样量过大,易出现提取不完全的情况,因此,最终确定取样量为0.25g。

目前,海南槟榔99%以上是以鲜果或干果供应湖南槟榔加工企业加工为干槟榔嚼食,供药用及其他加工产品的槟榔不足1%。台湾的槟榔栽培历史比海南晚,作为台湾重要产业的槟榔,也以嚼食为主^[6]。槟榔是海南除橡胶外的第二大经济作物,同时作为四大南药之首,目前的开发利用现状是深加工不足,特别是在挖掘槟榔的药用价值方面未进行深入研究,其增值效应不能得到充分发挥。

随着对槟榔研究的深入,槟榔在医药和食品工业上的应用必将有所突破,其在医药和食品行业的开发具有广阔的前景。因此,对药用槟榔饮片的深入研究并探讨其综合开发利用很有必要性。通过本实验的研究,笔者认为对药用槟榔饮片的服用是否会对人体造成潜在性毒副作用的问题应得到关注,对其进行更加深入的长期毒性试验势在必行。

参考文献

- [1] 王丹,庞玉新,胡璇,等.海南省槟榔种植业发展现状及其动力分析.广东农业科学,2013,40(15):207-209
- [2] 任军方.利用ISSR标记对海南保亭槟榔遗传多样性的研究.海口:海南大学,2010
- [3] 郭声波,刘兴亮.中国槟榔种植与槟榔习俗文化的历史地理探索.中国历史地理论丛,2009,24(4):5-15
- [4] 温剑,张亚宁.中药槟榔加工使用与毒副作用研究.中国现代中药,2014,16(7):604-607
- [5] 杜永秀,孙东业,翦新春,等.咀嚼槟榔种类与口腔黏膜疾病的流行病学调查分析.华西口腔医学杂志,2016,34(4):391-394
- [6] 谢龙莲,张慧坚,方佳.我国槟榔加工研究进展.广东农业科学,2011,38(4):96-98
- [7] 赵国祥,岳建伟,张光勇.槟榔的研究开发状况及市场发展前景.中国热带农业,2006(6):17-19
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.北京:中国医药科技出版社,2015:365
- [9] 刘东林,王小莹,杨冰,等.槟榔药理毒理研究进展.中国中药杂志,2013,38(14):2273-2275
- [10] 赵振东,谢艳丽,牛成,等.毛细管电泳法分析槟榔中槟榔碱和槟榔次碱.海南师范大学学报(自然科学版),2009,22(2):170-172
- [11] 倪依东,王建华,王汝俊.槟榔的药理研究进展.中药新药与临床药理,2004,15(3):224-226
- [12] 张春江,吕飞杰,陶海腾.槟榔活性成分及其功能作用的研究进展.中国食物与营养,2008(6):50-53
- [13] 王光,胡弼.槟榔碱的研究进展.临床与病理杂志,2010,30(2):171-175

(收稿日期:2016年10月30日)