

Bogdan Suchacz, Marek Wesołowski

OCENA ZAWARTOŚCI CYNKU I MIEDZI W ROŚLINNYCH SUROWCACH LECZNICZYCH ZA POMOCĄ WOLTAMPEROMETRII INWERSYJNEJ

Katedra i Zakład Chemii Analitycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. *M. Wesołowski*

W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono, że zastosowana metoda woltamperometrii inwersyjnej z wiszącą kroplową elektrodą rtęciową może mieć zastosowanie do oznaczania Zn i Cu w materiale roślinnym. Cechuje ją duża szybkość wykonania analizy oraz wysoka dokładność – odzysk 99,56% (Zn), 98,79% (Cu) i precyzja – RSD 3,11% (Zn), 3,44% (Cu). Wykazano ponadto, że badany materiał roślinny zawierał Zn w ilości 8,62–263,67 mg/kg oraz Cu na poziomie 1,79–33,30 mg/kg. Stężenie Zn na poziomie powyżej 200 mg/kg zaobserwowano w owocu anyżu, ziele świetlika i kłączu pięciornika. Najwyższą zawartość Cu, przekraczającą 20 mg/kg, stwierdzono w sześciu surowcach: koszyczkach rumianku i arniki, liściu pokrzywy, owocu kolendry, korzeniach łopianu i rzewienia.

Hasła kluczowe: zioła, metale ciężkie, cynk, miedź, woltamperometria.
Key words: herbs, heavy metals, zinc, copper, voltammetry.

Pomimo ważnych ról jakie pełnią Zn i Cu w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka (1, 2, 3), należy pamiętać, że w nadmiernych ilościach wykazują one działanie toksyczne (4, 5). Efekt kumulacji metali ciężkich w materiale roślinnym, będący wynikiem m.in. stanu środowiska naturalnego, jest powszechnie znanym problemem (6, 7). Znaczna ilość pierwiastków szkodliwych w glebie, wodach i atmosferze wpływa na ich wysokie stężenie w roślinach będących cennym źródłem roślinnych surowców leczniczych (8, 9). W związku z tym, przyjmowanie preparatów ziołowych o wysokim stężeniu metali ciężkich może stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia człowieka, np. może powodować uszkodzenie nerek, wątroby, OUN (10).

Uwzględniając zagrożenie dla zdrowia człowieka, jakie może wynikać z obecności metali ciężkich w roślinnych surowcach leczniczych, postanowiono określić zawartość dwóch z nich – Zn i Cu, w ziołach powszechnie dostępnych w Polsce w aptekach i sklepach zielarskich. Z braku stosowanych norm określających dopuszczalne ilości Zn i Cu w surowcach leczniczych i uzyskiwanych z nich przetworach roślinnych ograniczono się do wskazania surowców odznaczających się zdolnością do kumulacji szczególnie dużych ilości pierwiastków z uwzględnieniem pochodzenia badanych ziół.

Zawartość Zn i Cu oznaczano za pomocą woltamperometrii inwersyjnej, która odznacza się bardzo wysoką czułością wynikającą z procesu zateżnienia analitu na

wiszącej kroplowej elektrodzie rtęciowej (ang. *hanging mercury drop electrode*, HMDE) (11). Względnie niskie koszty aparatury i eksploatacji wraz z łatwą obsługą sprawiają, że woltamperometria dobrze sprawdza się w analizie pierwiastków śladowych w złożonych matrycach takich, jak materia roślinna (12).

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano 343 próbki surowców roślinnych, których producentami były następujące zakłady zielarskie: Boguccy (Kraków, 9 próbek), Herbalux (Warszawa, 163 próbek), Flos (Mokrsko, 20 próbek), Herbapol (Lublin, 108 próbek) i Kawon (Gostyń, 43 próbki). Surowce reprezentowały różne części morfologiczne roślin – kłącza (18), kory (19), korzenie (41), koszyczki (9), kwiatostany (10), kwiaty (39), liście (86), owoce (55) oraz zioła (67). Liczbę badanych próbek podano w nawiasach. Surowce zakupiono w sklepach zielarskich i aptekach na terenie Trójmiasta.

Próbki surowców homogenizowano za pomocą młynka Knifetec Mill (Foss-Tecator, Dania), następnie odważyli o masie ok. 0,5 g mineralizowano mikrofalowo przy zastosowaniu mineralizatora Uniclever (Plazmotronika, Wrocław) w naczyniach teflonowych w mieszaninie kwasu azotowego(V) (65%, Selectipur, Merck), nadtlenku wodoru (30%, Suprapur, Merck) i wody redestylowanej uzyskanej przez podwójną destylację wody destylowanej w aparacie Heraeus Quarzglas (Destamat, Niemcy). Mineralizacja przebiegała jednoetapowo przez 8 min przy 100% mocy magnetronu. Głowica mineralizatora przez cały czas mineralizacji była chłodzona wodą, dzięki czemu jej temp. zewnętrzna nie przekraczała 50°C. Cały proces mineralizacji przebiegał przy zaprogramowanych wartościach progowych dopuszczalnego ciśnienia ($P_{\max} = 45 \text{ atm.}$, $P_{\min} = 40 \text{ atm.}$). Po mineralizacji roztwór przenoszono do kolbki miarowej za pomocą wody redestylowanej.

Zawartość Zn i Cu oznaczono metodą woltamperometrii inwersyjnej w aparacie model 757 VA Computrace (Metrohm, Szwajcaria) w układzie trójelektrodowym złożonym z HMDE, elektrody chlorosrebrowej i platynowej elektrody wspomagającej. Pomiaru woltamperometrycznego dokonano przy potencjale $-0,97 \text{ V}$ dla Zn i $0,04 \text{ V}$ dla Cu metodą dodawania wzorca w buforze amonowo-octowym przy pH 4,6.

Dokładność oznaczeń oceniono analizując materiał referencyjny – liście tytoniu o symbolach *CTA-OTL-1* oraz *CTA-VTL-2* (Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa). Dla Zn uzyskano średni odzysk na poziomie 99,56%, zaś dla Cu 98,79%. Względne odchylenie standardowe wykonanych oznaczeń dla Zn wyniosło 3,11%, dla Cu 3,44%.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki woltamperometrycznego oznaczania zawartości Zn i Cu w dziewięciu grupach roślinnych surowców leczniczych zestawiono w tab. I i II w postaci zakresu stężeń analizowanego pierwiastka w przeliczeniu na mg/kg suchej masy surowca (s.m.), średniej arytmetycznej oraz mediany. Największym poziomem Zn odznaczają się koszyczki, kwiaty oraz w dalszej kolejności zioła i kwiatostany. W przypadku

Cu surowcami o najwyższym stężeniu tego pierwiastka są koszyczki i kwiatostany. Największe różnice pomiędzy medianą i średnią arytmetyczną dla Zn w analizowanych ziołach zaobserwowano dla kłączy, kor, liści i owoców. Świadczy to o istnieniu w tych grupach surowców różniących się kilkukrotnie zawartością Zn od wartości średnich. W tab. II przedstawiającej zawartość Cu nie zaobserwowano znacznych różnic pomiędzy medianą i średnią arytmetyczną. Natomiast próbki o zawartości Cu kilkukrotnie wyższej od wartości średniej stwierdzono w korzeniach i liściach.

Tab e l a I. Zawartość Zn w badanych grupach surowców leczniczych (mg/kg)

Tab l e I. Content of zinc in various groups of raw herbal products (mg/kg)

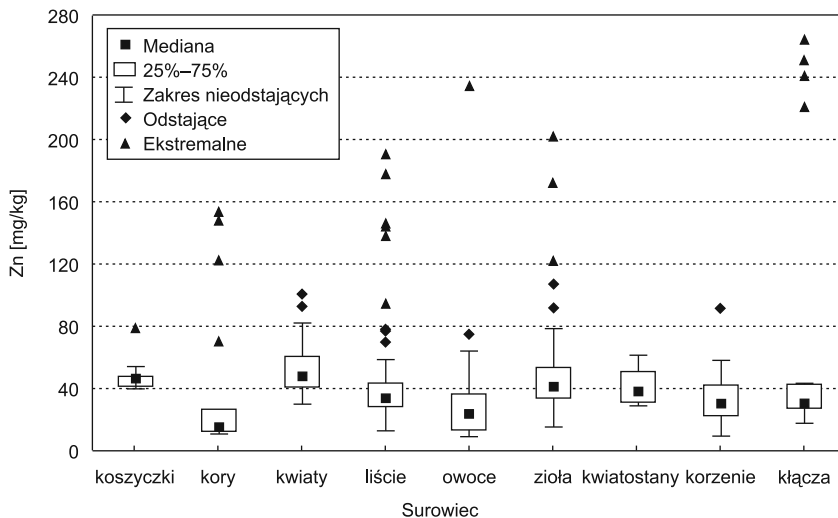
Surowce	Zakres	Średnia arytmetyczna	Mediana
Kłącza	17,98–263,67	77,00	30,13
Kory	10,97–153,15	38,38	14,70
Korzenie	9,14–91,54	34,08	30,13
Koszyczki	39,79–78,03	48,54	46,33
Kwiatostany	29,13–60,99	41,72	39,57
Kwiaty	29,84–99,88	51,51	47,66
Liście	13,13–190,52	43,37	33,29
Owoce	8,62–233,67	29,97	20,97
Zioła	15,07–201,67	49,09	41,14

Tab e l a II. Zawartość Cu w badanych grupach surowców leczniczych (mg/kg)

Tab l e II. Content of copper in various groups of raw herbal products (mg/kg)

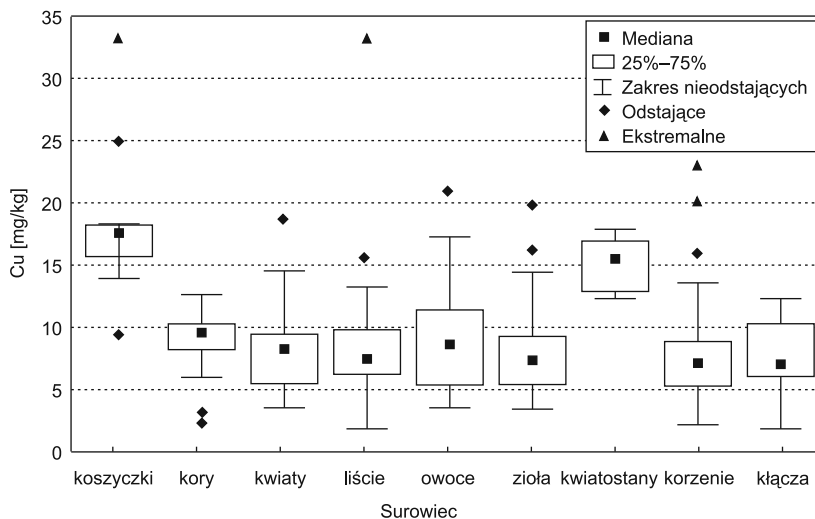
Surowce	Zakres	Średnia arytmetyczna	Mediana
Kłącza	1,79–12,32	7,53	7,05
Kory	2,36–12,57	8,87	9,54
Korzenie	2,12–23,13	7,72	7,08
Koszyczki	9,42–33,30	18,65	17,59
Kwiatostany	12,25–17,83	15,25	15,49
Kwiaty	3,51–18,69	8,09	8,29
Liście	1,79–33,10	8,10	7,44
Owoce	3,46–21,04	8,97	8,61
Zioła	3,45–19,79	7,64	7,33

Powyższe spostrzeżenia znalazły potwierdzenie na ryc. 1 i 2, gdzie zawartość Zn i Cu przedstawiono w postaci rozstępu kwartylowego. Jest on obliczany jako różnica pomiędzy 25-tym a 75-tym percentylem, a szerokość przedziału wokół mediany obejmuje 50% analizowanych próbek. Wspomniane próbki o znacznie różniących się stężeniach Zn i Cu zostały zdefiniowane jako odstające i ekstremalne. Próbki odstające oddalone są od brzegu ramki rozstępu kwartylowego o wartość od półtorej do trzech jego wysokości, zaś ekstremalne o wartości przekraczającej trzy wysokości rozstępu kwartylowego.



Ryc. 1. Rozstęp kwartyłowy zawartości Zn w roślinnych surowcach.

Fig. 1. Interquartile range and median of Zn content in raw herbal products.



Ryc. 2. Rozstęp kwartyłowy zawartości Cu w roślinnych surowcach.

Fig.2. Interquartile range and median of Cu content in raw herbal products.

Wśród kor najwyższe stężenie Zn, w granicach od 121,50 do 153,15 mg/kg, zaobserwowano we wszystkich analizowanych próbkach kory wierzby. W pozostałych surowcach tej grupy stężenie pierwiastka nie przekroczyło 30 mg/kg, z wyjątkiem kory kaliny koralowej o zawartości Zn wynoszącej ok. 70 mg/kg. Poziom Cu powyżej 10 mg/kg stwierdzono w przypadku trzech próbek (z siedmiu) kory dębu oraz w korze kasztanowca i kaliny koralowej. Do surowców o najniższym stężeniu Cu, poniżej 6 mg/kg, należały wspomniane wcześniej próbki kory wierzby.

Porównując zawartość pierwiastków w korzeniach i kłączach wykazano, że wszystkie próbki kłącza pięciornika zawierają kilkukrotnie więcej Zn w stosunku do pozostałych surowców tej grupy, w granicach od 221,05 do 263,67 mg/kg. W przypadku Cu stężenie tego pierwiastka przekroczyło poziom 20 mg/kg w korzeniu łopianu i rzewienia. Najniższą zawartość Cu, wynoszącą 1,79 mg/kg, stwierdzono jedynie w jednej (z czterech) próbce kłącza tataraku.

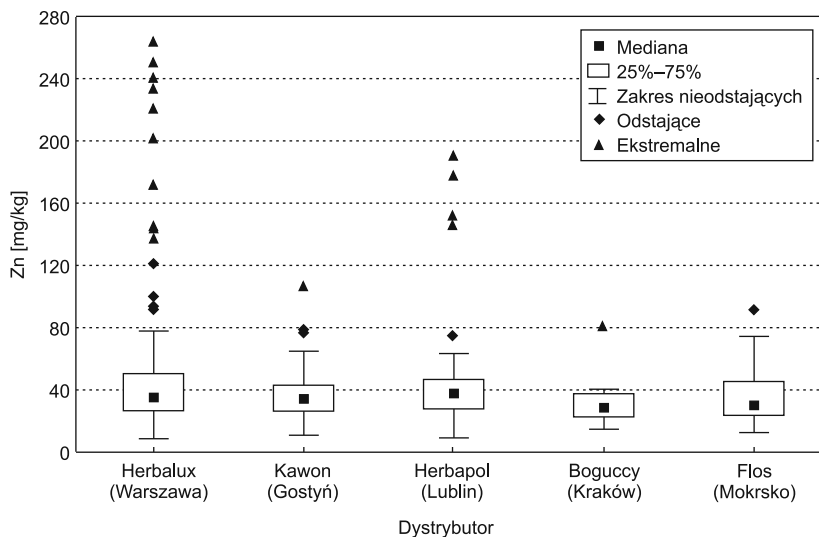
Kolejne grupy surowców – koszyczki i kwiatostany, nie zawierały próbek o szczególnie wysokiej zawartości Zn. Najwyższe stężenie pierwiastka wykryto w kwiatostanie głogu i koszyczku rumianku, odpowiednio 60,99 i 78,03 mg/kg. W pozostałych surowcach zawartość tego pierwiastka wahała się w granicach od ok. 29 do 58 mg/kg. W przypadku Cu, większość surowców wykazała zbliżony poziom, pomiędzy 12,25 a 18,27 mg/kg. Surowce, w których zawartość pierwiastka przekroczyła opisaną granicę należały: koszyczek arniki i rumianku – 25,00 i 33,30 mg/kg. Najniższe stężenie Cu stwierdzono również w koszyczku rumianku (9,42 mg/kg).

Analizując zawartość Zn w kwiatach stwierdzono, że jego najwyższe stężenie wykazały cztery z pięciu próbek kwiatu wiałówki, wahające się w granicach od ok. 77 do 100 mg/kg, zaś surowcami o najniższym poziomie tego pierwiastka okazały się dwie badane próbki kwiatu wrzosu, odpowiednio 29,84 i 32,45 mg/kg. Najniższą zawartością Cu cechowały się kwiat malwy czarnej i wrzosu, poniżej 4 mg/kg. Do surowców o najwyższej zawartości Cu zaliczono kwiat bzu czarnego, jasnoty białej oraz kasztanowca. W dwóch pierwszych surowcach zawartość Cu przekroczyła 14 mg/kg, zaś w ostatniej 18 mg/kg.

Wśród liści na szczególną uwagę zasługują próbki liści brzozy, w których stwierdzono najwyższe stężenie Zn, od 137,77 do 190,52 mg/kg. Najniższe stężenie, które nie przekroczyło 20 mg/kg wykryto w dwóch z pięciu próbek liści senesu. Do próbek o wysokiej zawartości Cu zaliczono liść pokrzywy, w którym oznaczono 33,10 mg/kg. Surowcami o najniższym stężeniu tego pierwiastka, poniżej 3,3 mg/kg, były trzy z czterech próbek liścia bobrka.

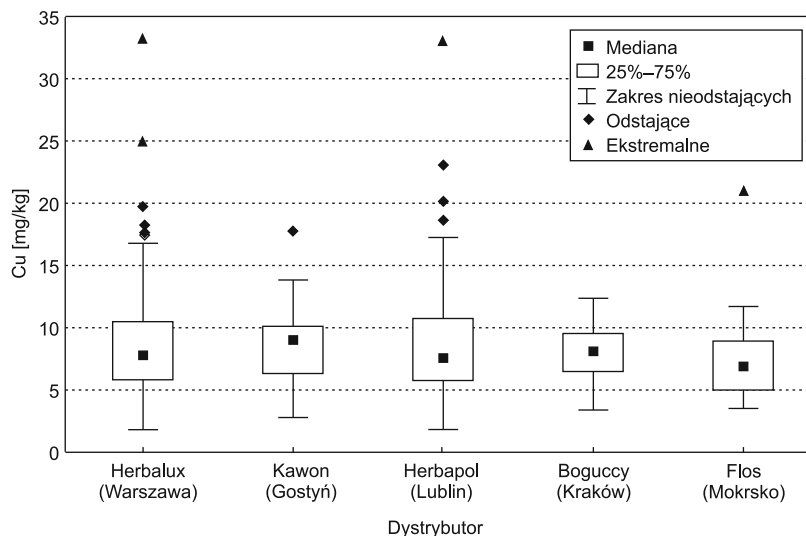
Większość owoców odznaczała się zawartością Zn poniżej 30 mg/kg. W owocu borówki czernicy, anyżu i dwóch z trzech próbek kolendry stężenie Zn wahało się w granicach od 54,13 do 74,22 mg/kg, zaś tylko w jednej z sześciu próbek owocu anyżu pierwiastek ten osiągnął poziom 233,67 mg/kg. Najniższe stężenie Cu zaobserwowano w owocu jałowca i trzech z siedmiu próbek naowocni fasoli, w granicach od 3,46 do 3,90 mg/kg. Do surowców o najwyższym poziomie Cu w tej grupie, przekraczającym 16 mg/kg, należały owoc anyżu i dwie z trzech próbek owocu kolendry.

Do próbek ziół o wysokiej zawartości Zn należy zaliczyć surowce, w których ilość pierwiastka przekroczyła 105 mg/kg, tj. ziele rdestu ostrogorzkiego, świetlika i rdestu ptasiego. Próbki ziela nostrzyka i krwawnika zawierały najmniej Zn, na poziomie odpowiednio – 15,07 i 18,82 mg/kg. Dla dziewięciu surowców zawartość drugiego oznaczanego pierwiastka – Cu, przekroczyła 10 mg/kg. Są nimi: trzy z sześciu próbek ziela dziurawca, dwie z czterech próbek ziela świetlika oraz po jednej próbce ziela miodunki, skrzypu, glistnika oraz bukwicy. Wspomniane ziele glistnika zawierało najwięcej Cu – 19,79 mg/kg. Prawie połowa badanych próbek ziół cechowała się zawartością Cu poniżej 7 mg/kg, a w trzech z czterech próbek ziela fiołka trójbarwnego oraz w ziele pokrzywy, nostrzyka i krwawnika, wartość ta nie przekroczyła 4 mg/kg.



Ryc. 3. Rozstęp kwartyłowy zawartości Zn w roślinnych surowcach dla poszczególnych producentów.

Fig. 3. Interquartile range and median of Zn content in raw herbal products vs. suppliers.



Ryc. 4. Rozstęp kwartyłowy zawartości Cu w roślinnych surowcach dla poszczególnych producentów.

Fig. 4. Interquartile range and median of Cu content in raw herbal products vs. suppliers materials.

Na ryc. 3 i 4 przedstawiono zawartość Zn i Cu w badanych surowcach roślinnych postaci rozstępu kwartyłowego uwzględniając pochodzenie ziół. Najwięcej surowców, w których wykryto wartości odstające i ekstremalne pochodziły od dwóch producentów – Herbalux (Warszawa) i Herbapol (Lublin). W przypadku pierwszego producenta ekstremalne zawartości Zn (powyżej 137 mg/kg) stwierdzono w dzie-

więciu surowcach – w trzech z czterech próbek liścia brzozy, dwóch z sześciu próbek liści świetlika, trzech z czterech próbek kłącza pięciornika i w owocu anyżu. W ofercie drugiego producenta znalazły się dwa surowce o wysokiej zawartości Zn – dwie z trzech próbek kory wierzby i dwie z czterech próbek liścia brzozy.

Analiza zawartości Cu wykazała z kolei, że w przypadku producenta Herbalux (Warszawa), zakres wartości odstających i ekstremalnych wahał się od 17,59 do 33,30 mg/kg i objął koszyczek arniki, nagietka, trzy z pięciu próbek koszyczka rumianku, kwiatostan głogu i ziele glistnika. Natomiast, surowcami produkowanymi przez Herbapol (Lublin) o najwyższej zawartości Cu (powyżej 18 mg/kg) okazały się: kwiatostan kasztanowca, korzenie rzewienia i łopianu oraz liść pokrzywy. Pozostałych producentów reprezentowały pojedyncze próbki o skrajnych zawartościach Zn lub Cu, np. liść wiązówki (81,40 mg Zn/kg), czy ziele rdestu ostrogorzkiego (106,77 mg Zn/kg), pochodzących odpowiednio z Boguccy (Kraków) i Kawon (Gostyń). Surowcem o zawartości Cu powyżej 20 mg/kg okazał się owoc kolendry, Flos (Mokrsko).

WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania wskazały, że voltamperometria inwersyjna jest użyteczną metodą do oznaczania śladowych ilości Zn i Cu. Analzy wykazały, że badany materiał roślinny zawierał Zn w ilości 8,62–263,67 mg/kg oraz Cu na poziomie 1,79–33,30 mg/kg.

2. Stwierdzono, że w owocu anyżu, ziele świetlika i kłączu pięciornika, poziom Zn przekroczył 200 mg/kg. W przypadku Cu, stężenie powyżej poziomu 20 mg/kg oznaczono w koszyczkach rumianku i arniki, liściu pokrzywy, owocu kolendry, korzeniach łopianu i rzewienia. Surowce wproduktowane zostały głównie przez Herbalux (Warszawa) i Herbapol (Lublin).

3. Analizując poszczególne grupy surowców okazało się, że najwyższy poziom obu pierwiastków stwierdzono w kwiatostanach i koszyczkach, zaś najwyższa zawartość cynku obecna jest przede wszystkim w kwiatach. W związku z tym, należy monitorować pod względem zawartości Zn i Cu przede wszystkim te grupy surowców.

B. Suchacz, M. Wesołowski

EVALUATION OF THE CONCENTRATION OF ZINC AND COPPER IN RAW HERBAL PRODUCTS BY INVERSE VOLTAMMETRY

Summary

The contents of zinc and copper were determined using inverse voltammetry in raw herbal products generally available in drug stores and herbal shops all over Poland. The raw products included rhizomes, barks, roots, anthodia, inflorescences, flowers, leaves, fruits and herbs obtained from different suppliers. First, the analyzed samples were homogenized and microwave mineralised in the mixture of nitric acid, hydrogen peroxide and redistilled water. Voltammetric measurement was conducted by standard addition method in pH 4.6 ammonium acetate buffer by means of a 757 VA Computrace (Metrohm, Switzerland)

apparatus on a hanging mercury drop electrode (HMDE). It was found that inverse voltammetry on the HMDE is suitable for the determination of the concentrations of Zn and Cu in vegetable materials. The method is characterized by a high rapidity, accuracy - recovery 99.56% (Zn), 98.79 (Cu) and precision - RSD 3.11% (Zn), 3.44% (Cu). In addition, it was also demonstrated that Zn content in the analysed herbal product was 8.62 mg/kg to 263.67 mg/kg and Cu levels ranged between 1.79 mg/kg and 33.30 mg/kg. The concentration of Zn below 10 mg/kg was observed in *Rosae Fructus* and *Glycyrrhizae Radix*, whereas in *Anisi Fructus*, *Euphrasiae Herba* and *Tormentillae Rhizoma* the levels of Zn exceeded 200 mg/kg. The highest concentration of Cu, above 20 mg/kg, was found in six raw herbal products: *Chamomillae Anthodium*, *Arnicae Anthodium*, *Urticae Folium*, *Coriandri Fructus*, *Bardanae Radix* and *Rhei Radix*. The raw products with the lowest Cu contents, below 3 mg/kg, were: *Salicis Cortex*, *Menyanthidis Folium*, *Saponariae Radix*, *Cichorii Radix* and *Calamii Rhizoma*.

PIŚMIENNICTWO

1. *Reilly C.*: The nutritional trace metals. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2004. – 2. *Nogowska M., Jelińska A., Muszalska I., Stanisław B.*: Funkcje biologiczne makro- i mikroelementów. W: *Zajac M. (red.)*: Witaminy i mikroelementy, s. 91-152. Wydawnictwo Konteks, Poznań, 2002. – 3. *Brewer G.J.*: Copper in medicine. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2003; 7: 207-212. – 4. *Tapiero H., Tew K.D.*: Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed. Pharmacother.* 2003; 57: 399-411. – 5. *Gaetke L.M., Chow C.K.*: Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2003; 189: 147-163. – 6. *Zheljzskova V.D., Jeliżkova E.A., Kovacheva N., Dzurmanski A.*: Metal uptake by medicinal plant species grown in soils contaminated by a smelter. *Environ. Exp. Bot.* 2008; 64: 207-216. – 7. *Chan K.*: Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere* 2003; 52: 1361-1371. – 8. *Meena A.K., Bansal P., Kumar S., Rao M.M., Garg V.K.*: Estimation of heavy metals in commonly used medicinal plants: a market basket survey. *Environ. Monit. Assess.* 2010; 170: 657-660. – 9. *Sahoo N., Manchikanti P., Dey S.*: Herbal drugs: standards and regulation. *Fitoterapia* 2010; 81: 462-471. – 10. *Chmielnicka J.*: Toksyczność metali i półmetali (metaloidów). W: *Seńczuk W.*: Toksykologia współczesna, s. 360-446, PZWL, Warszawa, 2006.
11. *Economou A.*: Recent developments in on-line electrochemical stripping analysis – An overview of the last 12 years. *Anal. Chim. Acta* 2010; 683: 38-51. – 12. *Mamani M.C.V., Aleixo L.M., de Abreu M.F., Rath S.*: Simultaneous determination of cadmium and lead in medicinal plants by anodic stripping voltammetry. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 2005; 37: 709-713.

Adres: 80-416 Gdańsk, Al. Gen. J. Hallera 107.