

热分析法在中药鉴别中的应用

赵 森¹, 许铁峰²(1. 第二军医大学药学本科 97 队, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院生药教研室, 上海 200433)

摘要:目的: 促进热分析法在中药鉴别研究中的应用。方法: 对 1992 年以来热分析法在中药鉴别中的应用情况进行了综述, 并对应用较广的三种方法的优缺点进行了评价。结果和结论: 热分析法是一种快速、简便、有效的鉴别中药的方法, 值得推广应用。

关键词: 热分析法; 中药鉴别

中图分类号: R282.5 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0111(2001) 01- 0029- 03

中药鉴别随着中药的发展而经历了一个长期的发展过程。近几十年来, 随着物理学、生物学等相关学科的迅速发展, 许多新技术、新方法被应用到中药鉴别中, 使中药鉴别从过去的以主观经验鉴别为主逐步过渡到客观、快速的鉴别方法上来, 大大促进了中药鉴别的新发展。其中热分析法是应用较多的一个新方法。热分析法(thermal analysis)产生于 1887 年, 是研究物质在加热或冷却过程中发生的熔化、凝固、晶型转变、分解、化合、吸附、脱吸附等物理变化或化学变化的分析技术。该技术经历了八、九十年, 特别是近二、三十年的迅速发展, 已成为一门涉及多种学科的通用技术和仪器分析的一个重要组成部分。热分析法根据原理和仪器的不同, 分为多种方法。其中差热分析法(differential thermal analysis, DTA), 差示扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)和热重法(thermogravimetry, TG), 已被应用于中药鉴别中, 并被证明效果良好, 下面分别予以介绍。

1 差热分析法在中药鉴别中的应用

根据国际热分析联合会(International Confederation for Thermal Analysis, ICTA)定义, 差热分析是指在相同的温度环境中, 将样品和参比物按一定的速度加热或冷却, 并采用特定的仪器记录样品及参比物的温差-时间(或温度的变化)关系的技术, 描述这种关系的曲线称为差热曲线(或 DTA 曲线)。将样品与参比物(惰性, 即对热稳定的物质)一同放入可按规定的速度升温或降温的电炉中然后分别记录参比物的温度以及样品与参比物的温差, 以 T 、 ΔT 对 t 作图, 即可得到差热图(或称热图谱)。差热曲线直接提供的信息主要有峰的位置、峰的面积、峰的形状和个数。峰的位置是由导致热效应变化的温度和热效应种类(吸热或放热)决定的; 前者体现在峰的起始浓度上, 后者体现在峰的方向上。不同物质的热性质不同, 相应的差热曲线上的峰的位置、峰的个数

和形状就不一样, 这是用差热分析对物质进行定性分析的依据。国外许多国家的药典已经记载这种方法。

国内目前用差热分析法鉴别中药时一般使用配备热分析数据处理系统的 CDR- 1 差动热分析仪, 检测的中药样品采用固体粉末。

林锦明等应用差热分析法对商陆属植物 5 种 17 个不同产地的样品及 2 种误用品进行热谱扫描研究^[1]。在差热量程 $\pm 50\mu\text{V}$, 升温速度 $20^\circ\text{C}/\text{min}$, 气氛为静态空气, 参比物为空铝坩埚的条件下, 每次用样品 3mg 置样品坩埚中进行扫描。实验结果重现性好, 获得 7 种各具特征的热图谱。不同产地的每一种商陆, 分别具有自己的特征峰形, 不同种商陆的热谱差较明显, 这些差异可作为种间鉴别的依据; 同时图中也显示了商陆属植物有共同的热特征, 表现在它们的第一个放热峰以前这段曲线的相似性, 这种信息可作为该属植物的热谱标志。该实验较好的实现了该属植物种间及误用品的鉴别, 解决了同属植物药材形态特征不明显且组织结构特征较为相似, 难于鉴别的难题。用该方法鉴别中药成功的例子还有琥珀及松香的鉴别^[2], 川黄柏和关黄柏的鉴别^[3], 榧子的鉴别^[4], 木犀木属药材的鉴别^[5], 珍珠粉及其常见伪品的鉴别^[6], 女贞子及其混淆品的鉴别^[7]等。

差热分析法中影响结果的因素较多, 有试样性质的因素, 如试样密度、比热容、导热性、反应类型、结晶、试样黏度等; 参比物性质的因素, 如比热容、密度、黏度、温度和装填方式、吸湿性、吸附性等。只有当参比物和试样的热性质、质量、密度等完全相等时才能测得精确结果, 但实际上不可能达到。另外试样量、升温速度、炉内气氛(如气氛组成、气氛压力、气氛类型)、样品预处理、仪器等因素也对分析结果造成影响。所以要求用差热分析法定性鉴定中药时

试样采用固体干燥粉末, 实验温度、时间变化率适当, 参照物适当, 试样和参照物与容器不发生化学反应, 定量鉴别要求则更高。

差热分析法鉴别中药的优点是操作简便, 快速, 用量少, 重现性高, 结果反映直观, 对性状鉴别困难的中药鉴别尤佳。本法缺点在于影响因素多, 仪器要求高。

2 差示扫描量热法在中药鉴别中的应用

根据 ICTA 定义: 差示扫描量热法是一种记录样品及参比物之间在 $\Delta T = 0$ 时所需的能量差~ 时间(或温度的变化)关系的技术, 测得的曲线称为差示扫描量热曲线(或 DSC 曲线)。该法由差热法发展而来, 具有与差热法相似的定性、定量原理和操作方法。但本法由于仪器的改进和所用试样量的减少, 更适用于定量分析。

陈栋华等用差示扫描量热法^[8], 将熊胆及其伪品(牛胆、猪胆、鸭胆)2 次压样(0.800~ 0.900mg 及 1.400~ 1.500mg)以 10 °C/min 的速率升温, 在 323K~ 773K 范围内扫描, 测得 DSC 曲线, 对 DSC 求一阶导数即得 FDDSC 曲线。结果表明, 同种动物的胆汁因其生长时期饲养条件不同, 所含成分的结构和含量可能存在差异, 造成同种胆汁的 DSC 和 FDDSC 曲线有相同的峰数而温度有所漂移。样品称量在 0.800~ 0.900mg 范围内时, 由于信息量不足, 出现误判, 误判率 10%; 样品称量在 1.400~ 1.500 范围内时, 熊胆的 DSC 和 FDDSC 曲线有明显特征, 判断正确率为 100%。证明在合适的称量范围内, 差示扫描量热法用于熊胆的真伪鉴别是可行的。

陈栋华等将该法同气相色谱法、高效液相色谱法和薄层扫描色谱法鉴别熊胆相比较, 证明差示扫描量热法具有样品用量少, 操作方便, 无需加辅助药品, 图谱简明易懂等优点。

另外, 尚有用差示扫描量热法成功鉴别阿胶及其伪品^[9]、珍珠粉和珍珠层粉^[10]及鉴别乳香、没药、和白胶香^[11]的报导。

由于差示扫描量热法同差热法原理相同, 而且两者在仪器的结构上又有许多相同之处, 因此影响差热法的因素同样会以相同或相似的规律对差示扫描量热法产生影响, 但影响的程度有所差别。影响差示扫描量热法的因素主要是样品、实验条件和仪器因素, 样品的因素主要是试样的性质、粒度及参比物性质; 实验条件的影响主要是升温速率。该法的优缺点基本与差热法相同, 但灵敏度更高。

3 热重法在中药鉴别中的应用

根据 ICTA 定义: 热重法测量样品在加热过程中的重量变化。该法在自动天平的基础上发展起来, 可测得 1 μ g 以下的变化。热重法得到以温度为横坐标, 以失重百分数为纵坐标的曲线即热重曲线(或 TG 曲线)。从热重曲线可以得到物质的组成、热稳定性、热分解及生成的产物等与质量相关的信息, 也可得到分解温度和热稳定的温度范围等信息。将热重曲线对时间求一阶导数即得到 DTG 曲线, 它反映试样质量的变化率和时间的关系。从 DTG 曲线可确定失重过程的特征点, 故对生药进行鉴别, 采用 DTG 曲线较 TG 曲线好。

陈黎等用热重法得到的人参和西洋参粉末及其浸出物的 TG 和 DTG 图谱, 由图谱易鉴别两者^[12]。

热重法可与差热法和差示扫描量热法等联用以提高鉴别的准确性。郑俊民等证明用热重法、差热法和红外光谱法联合可用以快速鉴定花鹿茸的组成^[13]。差热曲线显示花鹿茸的失水峰外延起始温度为 38.9 °C, 其含蛋白质的热解外延起始温度为 305 °C。热重曲线显示花鹿茸含水分 8.29%, 含蛋白质 40.28%, 含无机化合物 51.00%。应用差热法求花鹿茸细粉的热解活化能, 未角化的内部组织平均热解活化能为 13.13kJ/mol ($SD = 0.12$ kJ/mol, $n = 3$), 表皮层的平均热解活化能为 43.09kJ/mol ($SD = 6.28$ kJ/mol, $n = 3$), 表皮层的热解活化能比之未角化的内部组织的热解活化能大; 花鹿茸在 150 °C 以下有良好稳定性。

影响热重法的因素较多, 主要包括仪器、试样和实验条件等因素。该方法操作迅速简便, 灵敏度高, 可用于测定中药材尤其是矿物药的特性参数、纯度及反应参数等。

4 小结

热分析技术因其操作简便, 测量迅速, 图谱易分辨, 所需试样量少, 不需预处理等特点, 已越来越广泛的应用于中药鉴别中, 特别适用于性状不易区别固体粉末中药的鉴别。

参考文献:

- [1] 林锦明, 郑汉臣, 张剑春, 等. 差热分析法鉴别商陆类药材及其误用品[J]. 中药材, 1995, 18(12): 611.
- [2] 张汉明, 林锦明, 乔传卓. 琥珀和松香的差热分析法鉴别[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(9): 523.
- [3] 林锦明, 张汉明, 赵长文. 关黄柏与川黄柏的差热分析法鉴别[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(8): 457.
- [4] 林锦明, 陈振德, 郑汉臣, 等. 不同种榧子的差热分析鉴别[J]. 中药材, 1998, 21(8): 394.

分对盐酸黄连素的测定不影响。

2.4 溶液稳定性试验

吸取稀释至一定浓度的对照品溶液, 室温放置, 在上述色谱条件下于不同时间分别进样。测定结果见表 1。

表 1 溶液稳定性试验结果 ($n=6$)

	时 间(h)						平均值	SD	RSD
	0	4	8	16	20	24			
峰面积	35762	35987	35663	35457	34264	35426	6	677.3	1.91

2.5 标准曲线的绘制

用流动相将贮备液稀释成 2~100 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液, 进样分析, 外标法定量, 以盐酸黄连素的峰面积对浓度进行线性回归, 得曲线方程: $A = 18602C + 183$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。其中, A 为峰面积, C 为浓度, 单位为 $\mu\text{g/L}$, 在试验条件下, 线性范围为 3~100 $\mu\text{g/L}$ 。

2.6 加样回收率试验

按处方比例精密称量盐酸黄连素和对氨基水杨酸及适量基质, 制成模拟混合样品, 置 50ml 容量瓶中, 用甲醇定容, 在 40~50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴熔化, 立即取出置冰水浴中 15min, 取出, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 1.00ml 分别置 7 个 10ml 容量瓶中, 再分别加入盐酸黄连素贮备液各 0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.70ml 用流动相定容, 摇匀, 进样分析, 结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果

加入量 ($\mu\text{g/L}$)	测得量 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
0	5.400			
0.739	6.140	97.0		
1.478	6.810	99.0	99.4	1.49
2.217	7.590	99.6		
2.956	8.247	98.7		
3.695	9.186	100.9		
5.173	10.670	100.9		

(上接第 30 页)

- [5] 林锦明, 王忠壮, 郑汉臣. 差热分析法用于木犀属药材的鉴别[J]. 中药材, 1995, 18(11): 558.
- [6] 张汉明, 林锦明, 乔传卓. 珍珠粉及其伪品的差热分析研究[J]. 中成药, 1999, 21(4): 173.
- [7] 林锦明, 宓鹤鸣, 赵长文. 女贞子及其混淆品的差热分析鉴别[J]. 第二军医大学学报, 1996, 17(3): 293.
- [8] 陈栋华, 黄艳, 刘运英, 等. 差示扫描量热法在熊胆真伪鉴别中的应用[J]. 中国药学杂志, 1994, 29(8): 457.
- [9] 陈栋华, 刘雪峰, 黄艳, 等. 阿胶的差示扫描量热鉴别法研究

2.7 精密度试验

按处方比例精密称量制成 5 份模拟样品, 按上述方法处理测定, 其相对标准偏差为 1.27%。

2.8 样品测定

取优赛清栓剂 10 枚, 精密称定, 置一小烧杯中, 于 50~60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热使熔化, 摇匀, 放冷, 切成碎片, 精密称取适量约 50mg 置 50ml 容量瓶中, 用甲醇定容, 在 40~50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴熔化, 立即取出置冰水浴中 15min, 取出, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液 1.00ml 置 10ml 容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 进样分析, 3 批样品含量测定结果如下, 百分标示含量在 99.4%~100.6% 之间。

表 4 三批样品含量测定结果 ($n=3$)

批号	百分标示含量($X \pm SD\%$)	RSD%
971203	99.4 \pm 1.06	1.06
971205	101.2 \pm 0.56	0.55
971207	99.6 \pm 1.35	1.35

3 结果与讨论

样品溶液在 24h 内稳定, 测得峰面积相对标准偏差为 1.91%。采用反相高效液相色谱法, 流动相的 pH 值影响保留时间比较大, 浓度为 (0.01mol/L) 的磷酸: 甲醇 (AR) (65: 35) 作为流动相可使两组分得到很好的分离, 保留时间分别为 ($R_1 = 4.065\text{min}$, $R_2 = 7.647\text{min}$); 方法的准确度和精密度均好。在上述浓度范围内药物浓度与峰面积成良好的线性关系。色谱图表明: 在 279nm 波长处测定盐酸黄连素其它成分对测定不影响。

参考文献:

- [1] 王义明, 赵陆华, 林似兰, 等. 黄柏及中成药中小檗碱和巴马亭的高效液相色谱法测定[J]. 药学报, 1989, 24(4): 275.

收稿日期: 2000-07-08

[J]. 中草药, 1993, 24(6): 314.

- [10] 李成重, 刘午霞, 陈逸均. 差示扫描量热法鉴别珍珠粉和珍珠层粉[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(5): 379.
- [11] 李俊松, 陈逸均, 刘午霞. 乳香、没药和白胶香的差示扫描量热法鉴别[J]. 中药材, 1995, 18(2): 76.
- [12] 陈黎, 陈婉蓉. 人参和西洋参的热重分析法鉴别[J]. 中成药, 1997, 19(10): 15.
- [13] 郑俊民, 张连珠, 周晖. 用热分析技术和红外光谱法鉴别花鹿茸的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(3): 196.

收稿日期: 2000-07-16