

中药电化学指纹图谱的检测方法和条件因素

张泰铭 梁逸曾 袁斌 丁峰 张亚朋 魏满琼 陈旭

(中南大学化学化工学院, 中药现代化研究中心, 长沙 410083. E-mail: taimingzhang@163.com)

摘要 分析了适用于中药成分群集电化学表征的热力学体系和动力学模型, 讨论了远离平衡态热力学封闭体系和无耗散物补充的敞开体系中阻尼振荡反应对中药化学成分分析与群集表征的重要意义. 利用以丙二酸作为耗散物的B-Z振荡体系详细研究了反应物种及其浓度、电极类型、温度、搅拌速率、中药种类、用量和粒度等影响电化学指纹图谱的因素, 并对中药化学成分定量信息等进行了研究. 成功提出了鉴别与评价中药的电化学指纹图的检测方法和条件.

关键词 电化学指纹图谱 检测方法 条件因素 真伪鉴别 质量评价 中药

中药市场以假乱真、以次充好的现象屡屡发生, 严重制约了中药使用效果的安全性和稳定性, 也限制了中药研究和应用的发展. 为实现中药的安全、有效、稳定、可控, 并为中药走向世界提供质量保证, 科学鉴别和评价中药已成为当前极富挑战性的课题之一^[1]. 中药是化学成分极其复杂的体系, 其有效或活性成分大多未定. 因此, 仅凭其中若干成分分析指标来判定其真伪或评价其质量, 不仅缺乏科学严谨性, 而且往往为假冒伪劣产品进入市场提供可乘之机. 借助通过分离、提纯、波谱技术及其他分析方法等逐个分析每种中药所有化学成分所得的结果来鉴别或评价中药是一种最可靠的分析方法, 但因分析成本高、操作周期长、工作量繁重等原因而不适用于绝大多数成分复杂中药的鉴别与评价. 利用化学计量学多元分辨和校正技术, 结合波谱数据库检索, 可大大降低分析成本和缩短分析时间, 但该方法应用的程度和范围决定于波谱数据的积累, 而目前可供检索的波谱数量还远远少于实际存在的已知化学物质的数量, 况且许多中药大部分化学物质的种类和结构尚未确定. 因此, 建立快速鉴别和评价中药的方法已成为亟待解决的问题. 用于中药这一复杂体系化学成分群集表征的中药指纹图谱则应运而生, 其在中药鉴别和质量评价方面的作用也越来越被人们重视. 作为当前研究的热点, 中药指纹图谱已有不少成果报道. 如高效液相色谱指纹图谱^[2-7]、气相色谱指纹图谱^[8]、薄层色谱指纹图谱^[5,6,9]、高速逆流色谱指纹图谱^[7,10,11]、毛细管电泳指纹图谱^[11,12]和红外光谱指纹图谱^[13,14]等, 但电化学指纹图谱的研究还未见报

道. 在中药指纹图谱中, 色谱指纹图谱因既可定性又可定量, 且具有信息多维的特点, 其研究和应用最为深入和广泛, 但也有不可忽视的局限性. 如液相色谱仅适用于真溶液体系; 气相色谱仅适用于中药挥发性成分分析; 色谱指纹图谱因其定性和定量参数一般只有保留值和峰强度, 色谱峰形也很少变化, 因而其特征直观性不强. 在多数情况下需利用数学方法处理后的结果来鉴别和评价中药^[8]; 色谱技术不能直接用于占绝大多数中药的“膏、汤、丸、散”成药和固体天然药物指纹图谱的测定, 测定前必须对其成分进行提取、分离等预处理, 因而烦琐、费事、操作流程长, 试剂消耗量大, 分析费用高, 不仅会引入杂质, 而且提取的部分已不能代表中药的全部成分, 其指纹图谱实际上只是中药部分化学成分的信息集合^[8], 故色谱指纹图谱作为中药中所有化学成分的群集表征, 仅适用于中药注射液和口服真溶液. 因此, 本文就无须分离提纯等预处理技术、能适用于各种相态和剂型中药化学成分群集表征的电化学指纹图谱及其热力学体系、动力学模型、影响因素、检测条件和方法, 以及有关中药成分定量信息等进行研究和讨论.

1 实验

() 主要仪器. 研究电化学指纹图谱所用仪器由超级恒温器(501型, 上海实验仪器厂有限公司)、恒温磁力搅拌器(78HW-3型, 杭州仪表电器有限公司)、配以复合甘汞电极(217型)和金属铂电极(213-01型, 上海精密科学仪器有限公司)的毫伏计(PHS-10B

型, 萧山市分析仪器厂)、数据采集装置(自制)和计算机等单元仪器或设备自组装而成. 如图 1 所示. 自行设计制作了其中的数据采集转换装置, 并用 VC++6.0 编写了数据采集软件. 实验数据保存为文本文件格式(.txt)后用 Matlab 6.0 绘图.

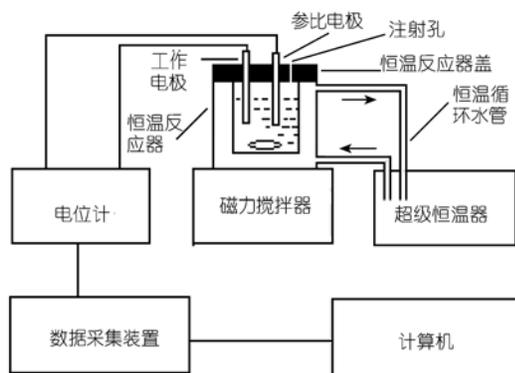


图 1 电化学指纹图谱检测装置示意图

() 主要试剂和材料. 1.0 mol/L 硫酸; 1.0 mol/L 丙二酸 (以 1.0 mol/L H₂SO₄ 溶液配制); 0.80 mol/L 溴酸钠; 1.0×10⁻³ mol/L 溴化钠; 0.010mol/L 硫酸铈氨(以 1.0 mol/L 硫酸溶液配制). 试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水. 将上述试剂置于 37.0 恒温槽中待用. 所用中药样本均购自湖南长沙老百姓大药房.

() 实验方法. 加入适量筛分后干燥至恒重的中药粉末(注射液与口服液则直接量取适量体积)、40 mL H₂SO₄ 溶液、20 mL 丙二酸溶液和 2.0 mL 溴化钠溶液于反应器中, 盖好带温度计、注射孔和电极的反应器盖. 开启通过数据采集装置相连的计算机和毫伏计, 以及磁力搅拌器(转速 500 r/min), 并开始计时. 开启超级恒温仪调节反应器内温度为 37.0 时, 恒温恒速搅拌 1.0 min 时, 通过注射器迅速加入 3.0 mL 硫酸铈铵和 2.0 mL 溴酸钠溶液, 即刻点击菜单采集数据, 记录 E-t 曲线至电位振荡消失为止.

2 结果与讨论

2.1 适用于电化学指纹图谱研究的化学热力学体系和动力学模型

自发现 Belousov-Zhabotinsky (B-Z) 振荡反应体系以来, 许多学者用不同动力学模型来解释其反应机理, 其中最著名的是 Field 等人 [15,16] 提出的 FKN 模型. FKN 模型成功地解释了 B-Z 化学振荡反应, 从而使化学振荡反应被人们普遍接受. 然而, 关于化学振

荡反应的热力学研究却相对较少 [17]. 本文从时空有序结构体系变化过程的热力学研究入手, 结合 FKN 动力学模型, 讨论适合电化学指纹图谱研究的化学热力学和动力学条件.

(1) 化学体系的熵变率. 在一定条件下, 一个由普通化学物质组成的体系, 经过某些反应机制后最终产生周期性变化的化学振荡反应, 即体系状态从无序变得有序. 根据熵的统计意义, 这一过程意味着体系的“混乱度”变小, 即体系的熵在变小, 出现负熵增. 20 世纪 60 年代, Prigogine 研究小组 [18] 提出了“耗散结构理论”后, 产生化学振荡反应的热力学原因才被人们初步认识. 该理论认为化学振荡反应必然是一种耗散结构, 其反应动力学具有非线性微分速率公式. Prigogine 等人把那种在敞开和远离平衡的条件下, 体系在与环境交换物质和能量的过程中, 通过采用适当的有序结构状态耗散环境传来的能量和物质, 并以内部非线性动力学机理来形成和维持的宏观时空有序结构称为“耗散结构”. 根据该理论, 任一体系在平衡态有一状态函数熵(S)的确定值. 因熵具有广度性质, 故体系状态发生变化时, 其熵变可视为外熵变和内熵变之和. 外熵变由体系与环境进行热和物质交换时进入或流出体系的熵流所引起, 而内熵变由体系内部的不可逆过程所引起. 当体系发生微小过程时, 则产生微小熵变:

$$dS = d_e S + d_i S, \quad (1)$$

式(1)中 $d_e S$ 是外熵变, $d_i S$ 为内熵变. dS 和 $d_e S$ 可以是正值、负值或零; 根据熵增原理, 不可逆过程中 $d_i S$ 为正值, 而可逆过程中 $d_i S$ 等于零. 当用 S 对时间 t 的导数表示时, 式(1)写成

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d_e S}{dt} + \frac{d_i S}{dt}, \quad (2)$$

式(2)中 dS/dt 是 S 随时间 t 的变化速率; $d_e S/dt$ 是 S 流入或流出体系的速率(流入为正, 流出为负, 下同), $d_i S/dt$ 是体系内部 S 随时间的变化速率. 因只有热和物质交换产生熵流, 而作功时无论内功和外功均只引起熵产生, 不引起熵流, 故熵流项的一般形式为

$$\frac{d_e S}{dt} = \sum_i \frac{\delta Q_i}{T_i} + \sum_i S_i \frac{dn_i}{dt}, \quad (3)$$

式(3)中 S_i 是物质 i 的偏摩尔熵, dn_i/dt 是物质 i 流入或流出体系的速率, $\delta Q_i/dt$ 是在温度 T_i 时热量通过物质 i 流入或流出体系的速率. 因此, 式(2)可写成:

$$\frac{dS}{dt} = \sum_i \frac{\delta Q_i}{T_i \cdot dt} + \sum_i S_i \frac{dn_i}{dt} + \frac{d_i S}{dt}, \quad (4)$$

式(4)不仅适用于典型敞开体系熵变化率的描述,而且也适用于其他任何热力学体系.

(2) 适用于电化学指纹图谱研究的热力学体系. 电化学指纹图谱不仅具有相应复杂化学体系成分的群集特征,而且与色谱指纹图谱一样,这种特征必须以适当大小的形式体现,即电化学指纹图谱信息必须在相应化学体系中有关反应物质浓度在时间和空间上呈现有限周期性变化的基础上产生. 简言之,获取电化学指纹图谱信息依赖于具有适当寿命的时空有序结构体系的化学变化过程. 利用式(4)来分析.

平衡体系. 对于平衡体系,因 $dS/dt = 0$, 而 $dt > 0$, 即 $dS = 0$, 说明动态平衡过程的“混乱度”不变,难以出现该体系的时空有序化,即非平衡态是体系呈周期性变化的化学振荡反应的必要条件之一. 显然平衡体系不适用于电化学指纹图谱的研究.

孤立体系. 对于孤立体系,因 $\delta Q_i/dt = 0$, $dn_i/dt = 0$, 则式(4)可写成:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d_i S}{dt}. \quad (5)$$

因 $dt > 0$, $d_i S \geq 0$, 则 $dS/dt \geq 0$. 即孤立体系的熵永不减少,其状态变化不可逆过程“混乱度”增加,而可逆过程“混乱度”不变,体系难以出现时空有序结构. 孤立体系不适用于电化学指纹图谱研究.

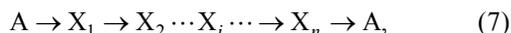
敞开体系. 对于敞开体系,熵变化率直接用式(4)来描述. 此时若负熵流绝对值大于熵产生,即 $\left| \frac{d_e S}{dt} \right| = \left| \sum_i \frac{\delta Q_i}{T_i \cdot dt} + \sum_i S_i \frac{dn_i}{dt} \right| > \frac{d_i S}{dt}$, 则 $\frac{dS}{dt} < 0$, 即体系的熵减少,“混乱度”变小,有可能变得有序化,即有可能出现时空有序化结构. 此时体系若处在非平衡态并能耗散环境传来的物质和能量而可形成有序化的耗散结构,即产生化学振荡反应. 持续的化学振荡反应可在远离平衡态的敞开体系,即能耗散从环境持续传来的物质和能量的体系中发生. 因振荡反应寿命的长短可直接体现为记录相应具有周期性变化的电位-时间曲线(即 $E-t$ 曲线)所需的时间,而这种时间长短又直接影响记录一个具有必要而丰富信息的完整电化学指纹图谱所需的时间. 如前所述,检测一个完整的电化学指纹图谱必须在适当短的时间内完成,故从环境持续传来耗散反应物的敞开体系也非适用于电化学指纹图谱研究的理想体系.

封闭体系. 对于封闭体系,因 $dn_i/dt = 0$, 则式(4)可写成:

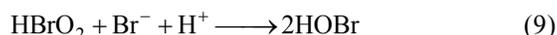
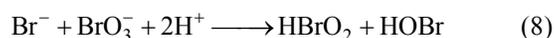
$$\frac{dS}{dt} = \sum_i \frac{\delta Q_i}{T_i \cdot dt} + \frac{d_i S}{dt}. \quad (6)$$

如果在初始条件下该体系远离平衡态,而且负熵流绝对值大于熵产生,即 $\left| \frac{d_e S}{dt} \right| = \left| \sum_i \frac{\delta Q_i}{T_i \cdot dt} \right| > \frac{d_i S}{dt}$, 则 $dS/dt < 0$, 即体系的熵减少,“混乱度”变小,有可能变得有序化,出现某些反应物或反应中间体浓度随时间的振荡. 但因 $dn_i/dt = 0$, 最后由于某种起始反应物被消耗,使负熵流绝对值由大于熵产生趋向等于熵产生,即振荡体系趋于平衡,振荡现象最终消失. 这恰恰满足了化学体系中物质浓度在时空上呈现有限周期性变化的条件. 因此,远离平衡的封闭体系适用于电化学指纹图谱的研究.

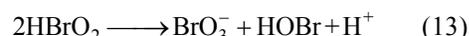
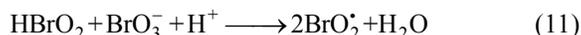
(3) 适用于电化学指纹图谱研究的动力学模型. 发生振荡反应除必须满足相应热力学条件之外,还必须满足下式所示的体系反应物或中间体(A)自催化“消耗-再生”循环的动力学模型:



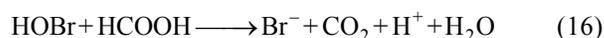
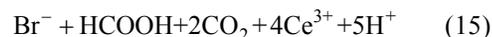
式(7)中 X_i 表示反应物或中间体的第 i 种过渡态物质. 现以丙二酸作为耗散物的B-Z化学振荡反应为例来说明反应物或中间体的自催化循环. 该反应涉及 20 余个基元反应 [15,19], 但反应中的周期振荡被归纳为由 A, B和C 3 个主要过程组成 [20]. 当体系中 $[Br^-]$ 高于其临界浓度 $[Br^-]_{crit}$ 时,则发生过程A:



当体系中 $[Br^-]$ 低于临界浓度 $[Br^-]_{crit}$ 时,则发生过程B:



Br^- 通过过程 C 得到再生:



由上述反应可见,该体系中只有 $CH_2(COOH)_2$ 及其反

应产物 CO₂ 和 H₂O 在整个反应过程中没有形成自催化“消耗-再生”循环, 而其他各种反应物或中间体都形成了“消耗-再生”循环.

如果 B-Z 体系是非平衡态的封闭体系, 体系中耗散物丙二酸未及时补给, 这将使式(14)表示的反应越来越慢, 从而直接或间接导致式(8)至式(16)所示的各反应也越来越慢, 最终使反应体系达到平衡, 即该振荡反应是在有限时间内终止的阻尼振荡反应. 这有利于在较短时间内完整记录具有化学振荡特征的 $E-t$ 曲线. 当然, 对于不补给耗散物丙二酸的非平衡态 B-Z 敞开体系, 其化学振荡也是阻尼振荡, 与非平衡态 B-Z 封闭体系一样, 也可用于电化学指纹图谱研究.

2.2 电化学指纹图谱检测条件

(1) 电化学指纹图谱. 一个复杂反应涉及的基元反应越多, 就越易受到外来化学物质的影响. 化学振荡反应涉及众多(多达数十个)的基元反应, 因而其体系是一种对外来化学物质十分敏感的体系. 中药十分复杂的化学成分中任一成分对任一基元反应产生影响即相当于对整个化学振荡反应产生影响, 因而化学振荡体系对中药成分十分敏感; 不同种类或不同质量的中药, 由于其化学成分或其成分含量不同, 对振荡反应产生的干扰或与振荡反应体系中组分发生的作用不同, 引起诱导和振荡反应各种特征信息的改变也不同, 故获得的 $E-t$ 曲线的形状或信息参数不同. 显然, 通过在具有振荡重现性的化学体系中加入中药获得的 $E-t$ 曲线可看作中药化学成分或电活性物质的群集表征, 利用其信息可从整体上分析该中药的化学成分, 从而对该中药进行鉴别或评价. 故这种 $E-t$ 曲线, 可称为中药电化学指纹图谱. 如绵茵陈电化学指纹图谱见图 2. 由图 2 可见, 中药电化学指纹图谱不仅与纯 B-Z 振荡体系的 $E-t$ 曲线形状(见图 3)完全不同, 而且还含有丰富的可量化信息(如诱导时间($t_{\text{诱导}}$)、振荡寿命($t_{\text{振荡}}$)、振荡周期($\tau_{\text{振荡}}$)、最大振幅(ΔE_{max})、最高电位(E_{max})、最低电位(E_{min})等)和直观信息(如诱导曲线($e-f-g$)、振荡曲线($g-h$)和周期振荡波形状等). B-Z 振荡反应具有良好的重现性, 其应用领域日趋广泛^[15-21]. 实验结果表明利用 B-Z 体系获得的中药电化学指纹图谱也具有较好的重现性. 本文利用以丙二酸作为主要耗散物的 B-Z 化学振荡体系研究中药电化学指纹图谱, 并对其检测条件进行详细讨论.

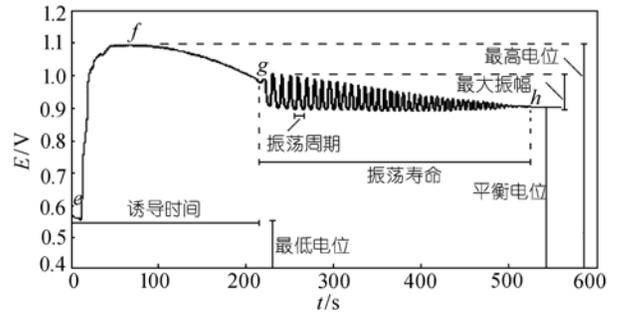


图 2 绵茵陈的电化学指纹图谱

用量: 1.000 g; 平均粒度: 0.10 ~ 0.15 mm; 产地: 湖南

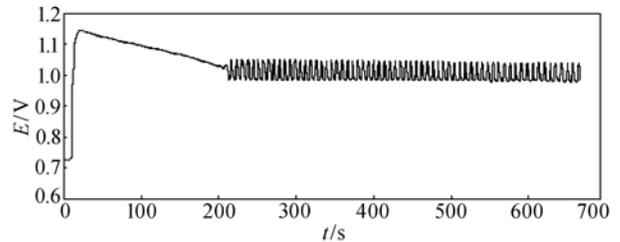
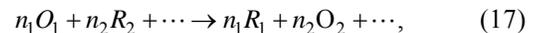
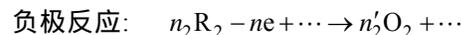
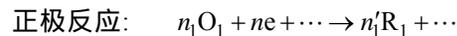


图 3 不加入中药时获得的纯 B-Z 振荡体系的 $E-t$ 曲线
因持续振荡超过 4 h, 故只截取部分 $E-t$ 曲线

(2) 振荡反应体系物种及其浓度和电极的影响. 利用振荡反应体系测定指纹图谱时, 若体系各物种及其浓度一定, 其 $E-t$ 曲线也呈现一定形状(见图 3); 当体系中组分或其浓度改变时, $E-t$ 曲线的形状也随之改变. 利用 Nernst 方程可对自发不可逆电极过程中电位和有关物质浓度(或活度)之间的定量关系进行描述. 任何自发氧化还原反应可用通式表示为



设 $n = n_1 n_2$, 当设计成原电池时, 该反应可分解为两个半反应, 即正、负电极反应:



其中 n_i ($i=1, 2$) 不一定与 n_i' 相等. 正极电位 φ_R 和负极电位 φ_O 可分别表达为

$$\varphi_R = \varphi_R^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{O_1}^{n_1} \dots}{a_{R_1}^{n_1} \dots}, \quad (18)$$

$$\varphi_O = \varphi_O^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{O_2}^{n_2} \dots}{a_{R_2}^{n_2} \dots}, \quad (19)$$

在振荡氧化还原反应的电极过程中, 反应物和生成物活度都是时间 t 的非线性函数, 可能出现随时间变化的活度极值, 也可能导致电位极值, 因而电位也是

时间的非线性函数. 当作为工作电极的铂电极为负极时, 其电位与时间的关系一般式可表示为

$$\varphi_0(t) = \varphi_0^\circ(t) + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{O_2}(t))^{n_2} \dots}{(a_{R_2}(t))^{n_2} \dots}, \quad (20)$$

从式(20)可见, 氧化还原振荡反应中物种及其活度的变化, 将引起任一时刻相应电极电位的变化. 这些变化将在 $E-t$ 曲线中表现为可量化信息和直观形状的改变. 如 B-Z 振荡体系中各组分加入量对 $E-t$ 曲线振荡周期与诱导时间的影响见表 1. 由表 1 可见, 该振荡体系中各物种对 $E-t$ 曲线形状均有不同程度的影响. 其中溴酸钠对振荡周期的影响较显著, 硫酸铈铵对诱导时间的影响较显著, 丙二酸对两者的影响均很明显. 此外, 丙二酸是选用的 B-Z 振荡体系的耗散物, 加入量越大, 在远离平衡态条件下耗散所需的时间就越长, 因而 $E-t$ 曲线中振荡寿命就越长; 当在该 B-Z 体系中增加一个初始物种 Br^- 时, 会影响诱导过程中电位随时间的变化, 而且还会影响诱导时间.

实验还表明, 电极对 $E-t$ 曲线也会产生影响. 实验测定的电位实际上是工作电极相对于参比电极的电位. 工作电极和参比电极种类及规格的变化, 都将引起电位值测定的变化, 从而引起电化学指纹图谱中一些可量化的定性和定量参数以及整个曲线形状的变化. 故检测该类指纹图谱时, 必须选用同一种类、规格的工作电极和参比电极. 本研究采用 213-01 型铂电极作为工作电极, 217 型复合甘汞电极作为参比.

(3) 溴化钠的影响. 从式(8)~(16)可以看出, 在 B-Z 振荡体系中增加 Br^- 将减少图 3 所示 $E-t$ 曲线的诱导时间. Br^- 增加的量越大, $E-t$ 曲线中诱导时间就越短. 当添加的 $[Br^-] > [Br^-]_{crit}$ 时, B-Z 体系将无须

诱导过程而直接发生振荡反应, 该空白体系的诱导时间趋近于零, 即诱导时间与中药成分含量 x 之关系式 $t_{诱导} = kx + b$ 中截距 b 趋近于零, 这对利用诱导时间定量分析中药化学成分和评价中药质量有利, 但不利于作为中药电化学指纹图谱重要组成部分诱导曲线的测定. 然而, 诱导曲线对于中药鉴定和质量评价特别重要. 因此, 测定中药电化学指纹图谱时, Br^- 又不可添加过多. 本实验在 B-Z 振荡体系中添加 $2.0 \text{ mL } 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 溴化钠, 以适当缩短空白体系的诱导时间 b .

(4) 温度的影响. 按实验方法, 加入 0.1000 g 干燥至恒重、平均粒度为 $0.10 \sim 0.15 \text{ mm}$ 的金银花粉末, 改变温度测其电化学指纹图谱. 结果见表 2. 可见, 平行测定值的相对标准偏差 0.80% , 指纹图谱基本特征信息中最高电位、最大振幅受温度影响不大, 但诱导时间和振荡周期对温度很敏感. 两者与温度的关系可分别用线性回归方程 $t_{诱导} = -20.4T + 986$ 和 $\tau_{振荡} = -1.12T + 49.8$ 表示. 温度升高使诱导过程中各基元反应速度加快, 诱导过程^[19]产生 Br^- 的速度加快, $[Br^-]$ 将在更短时间内超过临界浓度 $[Br^-]_{crit}$, 使诱导过程提前结束而进入振荡过程(见过程 A, B, C); 温度升高同样使振荡过程各基元反应加快, 振荡循环速度加快, 振荡频率增大. 故中药指纹图谱中诱导时间与振荡周期随温度升高而缩短. 因此, 检测指纹图谱的温度必须严格控制. 实验选择 37°C (接近人体温度) 作为检测温度, 用超级恒温器控制.

(5) 搅拌速率的影响. 搅拌有利于中药浸出成分扩散, 提高中药浸出速率. 但实验表明, 搅拌速率也影响中药电化学指纹图谱的振荡幅度 (ΔE) 与周期. 除了影响浸出速率外, 搅拌速度也可能影响氧在反

表 1 体系各组分与诱导时间及振荡周期的关系

体系编号	$V_{丙二酸}/\text{mL}$	$V_{硫酸铈}/\text{mL}$	$V_{溴化钠}/\text{mL}$	$V_{溴酸钠}/\text{mL}$	$V_{硫酸铈铵}/\text{mL}$	$\tau_{振荡}/\text{s}$	$t_{诱导}/\text{s}$
1	20.00	40.00	2.00	2.00	3.00	6.7	207.1
2	10.00	40.00	2.00	4.00	3.00	7.0	326.8
3	20.00	20.00	2.00	4.00	3.00	3.5	214.6
4	20.00	40.00	1.00	4.00	3.00	3.4	238.3
5	20.00	40.00	2.00	4.00	1.00	4.1	337.2

表 2 温度对中药电化学指纹图谱的影响(平行测定 3 次)

$T/^\circ\text{C}$	E_{max}/V		$\Delta E_{max}/\text{mV}$		$t_{诱导}/\text{s}$		$\tau_{振荡}/\text{s}$	
	平均值	RSD (%)	平均值	RSD (%)	平均值	RSD (%)	平均值	RSD (%)
25	1.12	0.14	80.0	0.22	487	0.36	22.2	0.43
29	1.12	0.13	81.8	0.21	378	0.42	17.4	0.52
33	1.13	0.15	79.4	0.23	330	0.41	12.4	0.61
37	1.12	0.12	79.6	0.24	240	0.67	9.20	0.68
41	1.12	0.13	81.1	0.20	187	0.80	4.01	0.76

应液中的溶解量, 溶解氧作为体系中的一种物质有可能影响振荡反应, 导致指纹图谱中振荡幅度和周期发生变化. 另外, 当搅拌速度超过 600 r/min 时, 反应体系中的气泡量增大, 体系的稳定性降低, 使指纹图谱曲线上出现无规律的毛刺, 不利于指纹图谱分析研究. 实验选用搅拌速度为 500 r/min.

(6) 中药用量的影响. 按实验方法, 分别加入粒度为 0.10~0.15 mm 的不同量的白芷和金银花粉末, 测定两种中药相应的指纹图谱. 白芷用量对指纹图谱的影响见图 4; 金银花用量对指纹图谱主要信息参数的影响见表 3. 可见, 中药用量不仅影响电化学指纹图谱的形状和信息参数(主要是定量信息), 而且并非任意用量都可产生完整的电化学指纹图谱, 故测定指纹图谱时用量须适当. 大部分中药成分对体系振荡反应呈抑制作用, 当中药加入量太少时, 诱导时间较短, 振荡周期和振荡幅度较大, 振荡寿命($t_{寿命}$)很长, 检测电化学指纹图谱所需时间也很长, 不利于指纹图谱检测和研究. 随着用量增加, 中药化学成分对

振荡反应的抑制作用增强, 体系振荡时间、振荡幅度和振荡周期逐渐变小, 而诱导时间逐渐变长; 当用量增大到某一值(即检测中药电化学指纹图谱的用量限)时, 体系振荡反应完全被抑制, 所得 $E-t$ 曲线中振荡部分完全消失, 故不能产生包含丰富定性和定量信息的完整电化学指纹图谱(见图 4(d)). 检测不同中药电化学指纹图谱的用量限不同, 利用这一特点, 通过选择合适的用量, 可对种类繁多的中药电化学指纹图谱分成许多类, 使指纹图谱库中按检测用量获得的每一类指纹图谱所包含的中药种类或数目大大减少, 即在检测条件下, 当用量大于某一值时, 一般只有某些中药可产生电化学指纹图谱. 这样不仅可提高指纹图谱检索速率, 更有利于提高鉴别和评价中药的准确度. 例如, 检测图 5 中所示的石斛、当归、辛夷花和红花等中药的电化学指纹图谱时, 如果适当增加检测用量, 可获得其更理想的指纹图谱, 而其它中药如锁阳、黄芩、淮牛膝和合欢皮等在此检测用量时很可能不产生完整的电化学指纹图谱. 这样可

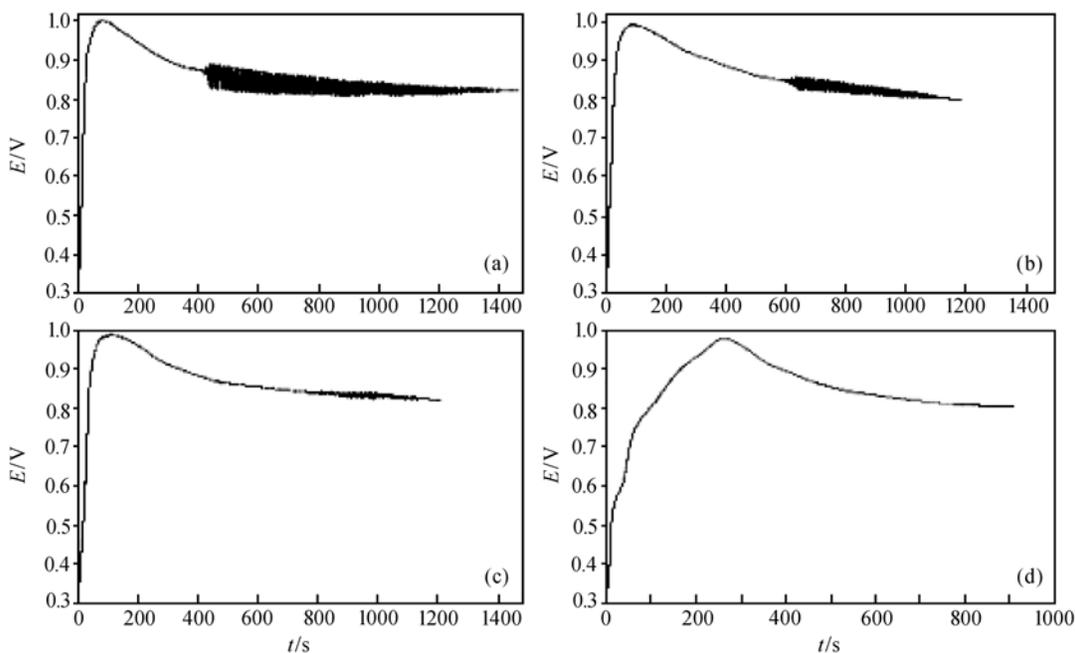


图 4 白芷用量对指纹图谱的影响

(a) 1.000 g; (b) 2.000 g; (c) 3.000 g; (d) 4.000 g

表 3 金银花用量与电化学指纹图谱中一些信息的关系

m/g	E_{max}/mV	$T_{诱导}/s$	$\tau_{振荡}/s$	$t_{振荡}/s$	$\Delta E_{max}/mV$
0.5	1.100	289	6.17	1556	0.054
0.7	1.081	329	6.06	1221	0.048
1.0	1.068	388	5.94	882	0.043
1.2	1.052	430	5.77	680	0.039
1.4	1.045	449	5.44	606	0.034

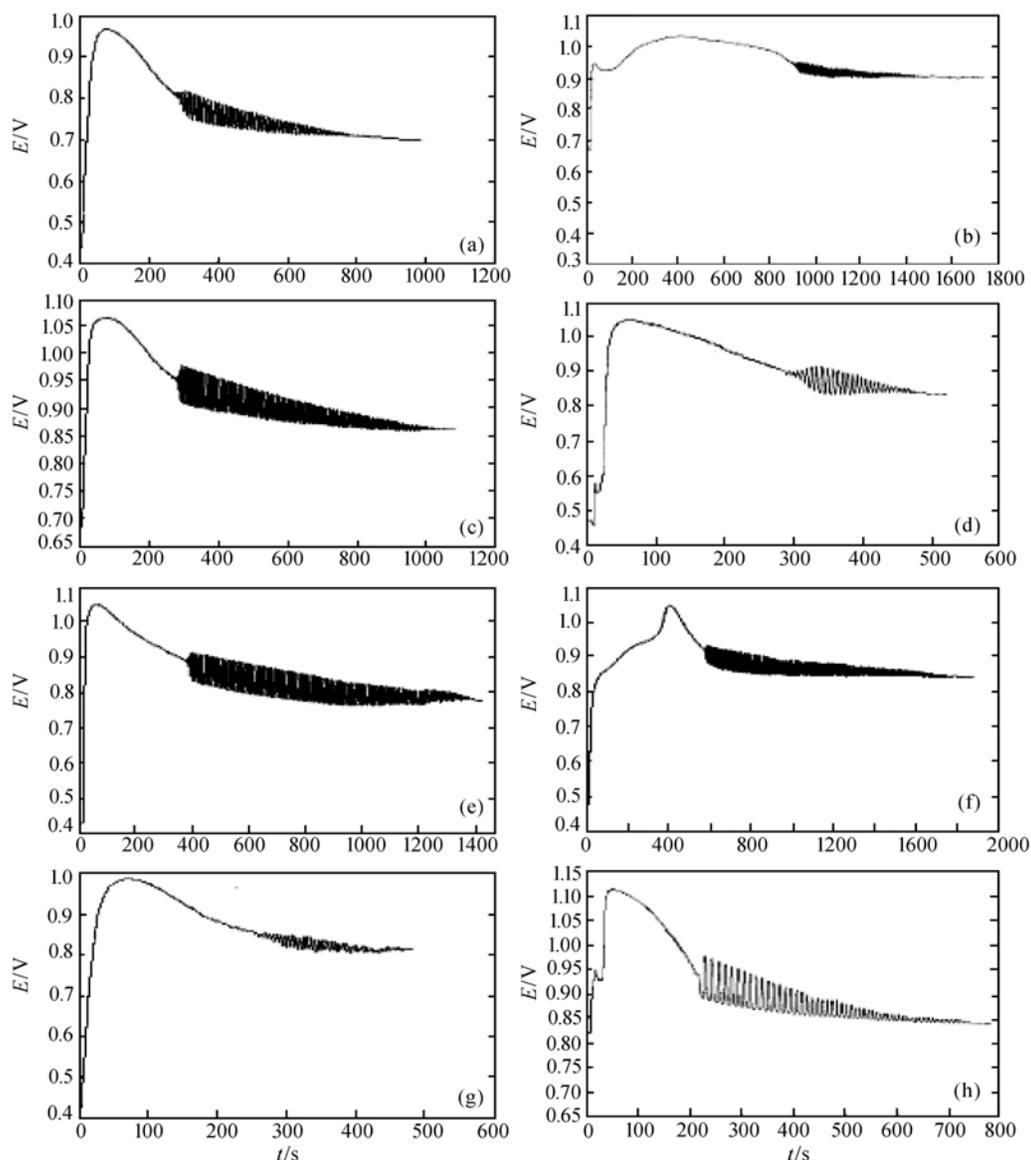


图5 一些中药的电化学指纹图谱

(a) 石斛; (b) 锁阳; (c) 当归; (d) 黄芩; (e) 辛夷花; (f) 红花; (g) 淮牛膝; (h) 合欢皮

将相关中药的电化学指纹图谱按检测用量分成若干类, 更有利于通过指纹图谱方便地对这些中药进行准确鉴定. 中药用量对电化学指纹图谱影响的研究还揭示出许多对评价同类中药质量非常有用的定量信息. 根据表3中测定数据, 以金银花用量 m 与各定量信息之间的关系为例来进行讨论. 表3中实验数据回归结果表明, 诱导时间、振荡周期、振荡寿命和最大振幅等均与金银花用量呈线性关系(见图6), 线性回归方程分别为 $t_{\text{诱导}} = 184m + 205(\text{s})$, $\tau_{\text{振荡}} = -0.748m + 6.95(\text{s})$, $t_{\text{振荡}} = -1068m + 2014(\text{s})$ 和 $\Delta E_{\text{max}} = -0.0212m + 0.0640(\text{V})$. 可见, 同一振荡反应体系中中药用量不

同, 即溶液中中药化学成分浓度不同时, 对电化学指纹图谱中定量信息的影响也不同, 而且这些定量信息与中药化学成分的浓度或含量之间存在线性关系. 除诱导时间、振荡周期、振荡寿命和最大振幅等定量信息外, 按照文献介绍^[21], 面积积分信息(即振荡周期中 $E-t$ 曲线与振荡中心轴所含面积)也可作为中药化学成分浓度或含量的定量信息. 在本文所研究的定量信息中, 大部分与中药成分的浓度或含量呈负线性关系, 仅诱导时间随中药成分浓度增大而线性增长. 由图6中(a)和(b)可见, 诱导时间和最大振幅与中药成分或活性成分浓度的线性关系最好, 其相关

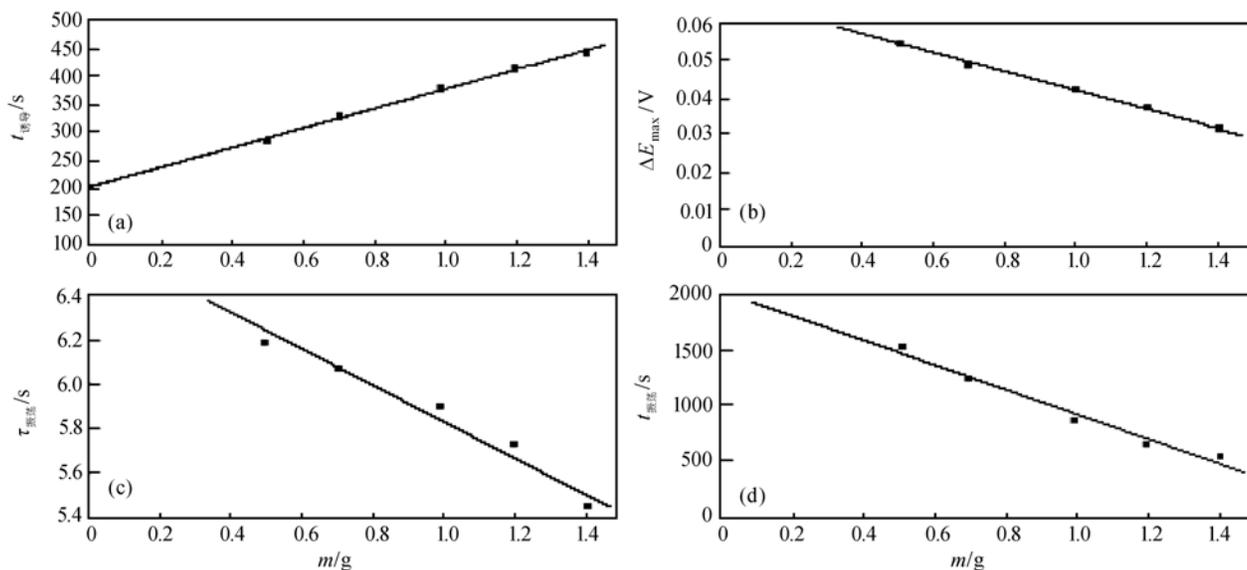


图 6 金银花用量与各定量信息之间的关系曲线
(a) $t_{诱导}-m$ 曲线; (b) $\Delta E_{max}-m$ 曲线; (c) $\tau_{振荡}-m$ 曲线; (d) $t_{振荡}-m$ 曲线

系数分别为 0.9991 和 0.9995. 在所有定量信息与中药用量关系曲线中, $t_{诱导}-m$ 曲线不仅线性关系很好, 而且线性斜率最大, 即分析灵敏度最高. 因此, 电化学指纹图谱中诱导时间是分析中药成分或电活性成分的含量, 乃至评价中药质量首选的定量指标或评价参数. 在中药用量与电化学指纹图谱定量信息关系曲线的回归方程中各常数也有其明确的物理意义. 例如各曲线斜率表示检测相应定量信息时仪器对中药成分的灵敏度; 各曲线截距也有其物理意义, 如检测金银花的电化学指纹图谱时, 选用的 B-Z 振荡体系诱导时间约为 207 s (见图 3 和表 1), 而实验获得的金银花 $t_{诱导}-m$ 曲线的截距为 205 s 左右. 由此可见中药 $t_{诱导}-m$ 曲线的截距可看作测定电化学指纹图谱选用的 B-Z 振荡体系(即空白体系)的诱导时间.

(7) 中药粒度的影响. 加入 3.000 g 干燥至恒重、粒径范围不同的湖南产薄荷粉末至振荡反应器. 相应的指纹图谱见图 7. 由图 7 可见, 中药粒度对指纹图谱有明显影响. 一般规律是随着中药粉末粒度的减小, 指纹图谱中诱导时间变长、振荡寿命缩短、振荡幅度和振荡周期变小. 中药粒度越小, 其成分浸出速率越大, 在一定时间内对振荡反应能产生干扰或与振荡反应体系中某些组分发生作用的中药化学成分浓度越大, 因而使 $E-t$ 曲线中一些信息发生规律性变化. 实验还表明, 当中药粉末粒度小到一定程度(如薄荷粒度 < 0.075 mm)时, 由于中药成分浸出速

率太快, 即体系中中药化学成分的浓度太大, 已完全抑制了振荡反应的发生, 使 $E-t$ 曲线中振荡曲线完全消失(与用量过大的影响相同, 见图 4(d)). 利用这种 $E-t$ 曲线作为中药指纹图谱, 其包含的特征信息减少, 只含有部分定性信息, 定量信息已基本消失. 因此, 欲获得一个完整而具有特征的固体中药电化学指纹图谱时, 必须确定合适的粒度范围(如测定薄荷指纹图谱时, 在 0.075~0.15 mm 粒度范围内较合适, 见图 7), 对一般固体中药, 实验选用 0.10~0.15 mm 粒径粉末. 若粒度较小, 适当减少中药粉末用量也可获得理想的电化学指纹图谱.

3 结论

中药电化学指纹图谱技术是一种通用、经济、简便、易行和有效的科学鉴别和评价中药的技术. 在一定检测条件下, 不同种类的中药因其化学成分及其含量的差别, 具有不同特征的电化学指纹图谱, 因而可利用该图谱对中药进行鉴别. 中药电化学指纹图谱中诱导时间、振荡周期、振荡寿命和最大振幅等定量信息与中药化学成分的浓度或含量之间呈线性关系, 可作为评价中药质量的信息指标. 中药电化学指纹图谱的测定必须借助远离平衡态的热力学封闭体系或无耗散物补充的敞开体系中阻尼振荡反应来进行. 当利用 B-Z 振荡体系测定中药电化学指纹图谱时, 振荡体系中的物种及其浓度、电极类型、温度、搅拌

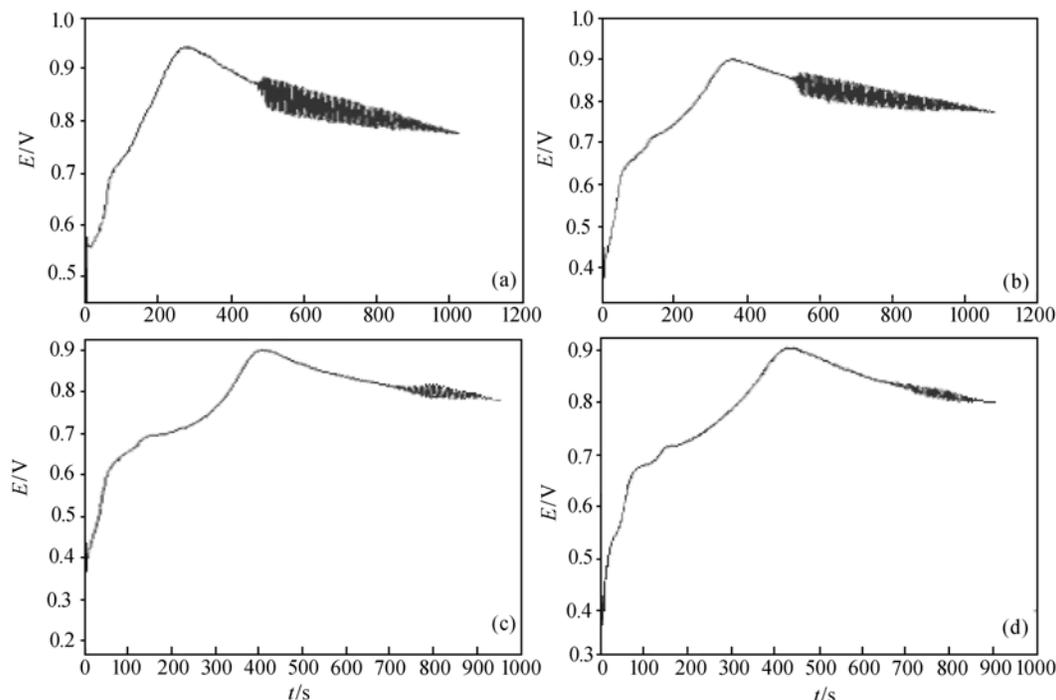


图7 不同粉末粒度的薄荷电化学指纹图谱

(a) 0.20~0.45 mm; (b) 0.15~0.20 mm; (c) 0.10~0.15 mm; (d) 0.075~0.10 mm

速率、中药用量和粒度等必须严格控制。本文成功地提出了测定中药电化学指纹图谱的实验方法。

参 考 文 献

- Daniel K W M, Chau F T. Chemical information of Chinese medicines: A challenge to chemist. *Chemometr Intell Lab Syst*, 2006, 82: 210—217[DOI]
- Pavel D, Jitka M. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. *J Chromat B*, 2004, 812: 3—21[DOI]
- Zhang J L, Cui M, He Y, et al. Chemical fingerprint and metabolic fingerprint analysis of Danshen injection by HPLC-UV and HPLC-MS methods. *J Pharm B*, 2005, 36: 1029—1035[DOI]
- Yang L W, Wu D H, Tang X, et al. Fingerprint quality control of Tianjihuang by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection. *J Chromat A*, 2005, 1070: 35—42[DOI]
- Xie P S, Chen S B, Liang Y Z, et al. Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. *J Chromat A*, 2006, 1112: 171—180
- Cao Y H, Wang L C, Yu X J, et al. Development of the chromatographic fingerprint of herbal preparations of Shuang-Huang-Lian oral liquid. *J Pharm B*, 2006, 41: 845—856[DOI]
- Gu M, Fan O Y, Su Z G. Comparison of high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography on fingerprinting of Chinese traditional medicine. *J Chromat A*, 2004, 1022: 139—144[DOI]
- 郭方道, 梁逸曾, 黄兰芳, 等. 茵陈挥发油 GC-MS 指纹图谱分析. *高等学校化学学报*, 2005, 26(11): 2027—2030
- Cui S F, Fu B Q, Frank S C L, et al. Application of microemulsion thin layer chromatography for the fingerprinting of licorice (*Glycyrrhiza* spp). *J Chromat B*, 2005, 828: 33—40[DOI]
- Gu M, Zhang G F, Su Z G, et al. Identification of major active constituents in the fingerprint of *Salvia Miltiorrhiza* Bunge developed by high-speed counter-current chromatography. *J Chromat A*, 2004, 1041: 239—243[DOI]
- Gu M, Zhang S F, Su Z G, et al. Fingerprinting of *Salvia Miltiorrhiza* Bunge by non-aqueous capillary electrophoresis compared with high-speed counter-current chromatography. *J Chromat A*, 2004, 1057: 133—140[DOI]
- Sun Y, Guo T, Sui Y, et al. Fingerprint analysis of *Flos Carthami* by capillary electrophoresis. *J Chromat B*, 2003, 792: 147—152[DOI]
- Liu H X, Sun S Q, Lv G H, et al. Discrimination of extracted lipophilic constituents of *angelica* with multi-steps infrared macro-fingerprint method. *Vib Spectr*, 2006, 40: 202—208[DOI]
- Xu C H, Sun S Q, Guo C Q, et al. Multi-steps infrared macro-fingerprint analysis for thermal processing of *Fructus Viticis*. *Vib Spectr*, 2006, 41: 118—125[DOI]
- Field R T, Körös E, Noyes R M. Oscillation in chemical system. Thorough analysis of temporal oscillation in the bromate-cerium-malonic acid system. *J Am Chem Soc*, 1972, 94(25): 8649—8664[DOI]
- Field R J, Schneider F W. Oscillating chemical reaction and nonlinear dynamics. *J Chem Educ*, 1989, 66: 195—204
- 傅献彩, 沈文霞, 姚天扬. 物理化学(下册). 第4版. 北京: 高等教育出版社, 1990. 867—886
- 李如生. 非平衡态热力学与耗散结构. 北京: 清华大学出版社, 1986. 24—31
- 张业中, 安从俊, 丁宗洲, 等. NO_2^- -三乙醇胺对 B-Z 振荡反应的影响. *化学研究与应用*, 2004, 16(3): 356—358
- 辛厚文. 非线性化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999. 4—7
- 王俊, 蔡汝秀, 林智信. 生物酶振荡分析研究咖啡因抗氧化性能的新方法. *科学通报*, 2003, 48(8): 797—801