

采用扫描电镜-能谱仪比较水飞法、水洗法及干研法对雄黄饮片质量的影响

张慧, 高岩, 熊慧, 薛雪, 刘梦楠, 刘欢, 张颖, 李向日*
(北京中医药大学 中药学院 中药品质评价北京市重点实验室, 北京 102488)

[摘要] **目的:**比较雄黄水飞品、水洗品及干研品中二硫化二砷及各元素的含量,以阐明水飞法、水洗法及干研法对雄黄饮片质量的影响,并对雄黄水飞品、水洗品及干研品进行快速鉴别。**方法:**依据2015年版《中国药典》(一部)雄黄项下规定对3种炮制品进行含量测定;采用扫描电镜-能谱仪对雄黄3种炮制品进行形貌观察,对3种炮制品中的元素种类及含量进行分析。**结果:**3种炮制品的二硫化二砷含量排序为水飞品>水洗品>干研品;水飞品及水洗品的形貌相似,而干研品的形貌与其他2种炮制品不同;3种炮制品的氧元素含量排序呈现干研品>水洗品>水飞品的趋势。**结论:**采用扫描电镜-能谱仪可以对雄黄水飞品和干研品进行快速鉴别,为鉴别雄黄不同炮制品提供了一定的技术支持。水飞法的除杂减毒效果最好,水飞品质量优于水洗品和干研品,说明水飞法炮制雄黄具有一定的科学依据。

[关键词] 雄黄;水飞法;水洗品;干研品;扫描电镜-能谱仪

[中图分类号] R22;R289;R283;R284;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0022-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181103

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.1022.039.html>

[网络出版时间] 2018-03-15 16:30

Comparison of Effect of Water Grinding, Water Washing and Grinding on Quality of Realgar by Scanning Electron Microscopy-energy Dispersive Spectrometer

ZHANG Hui, GAO Yan, XIONG Hui, XUE Xue, LIU Meng-nan, LIU Huan, ZHANG Ying, LI Xiang-ri*
(Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Evaluation,
School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China)

[Abstract] **Objective:** To explain the effect of water grinding, water washing and grinding on the quality of Realgar by comparing the contents of As_2S_2 and elements in different processed products. At the same time, to identify water grinding products, water washing products and grinding products rapidly. **Method:** To determine the content of As_2S_2 in different processed products of Realgar by the method in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. Scanning electron microscopy-energy dispersive spectrometer (SEM-EDS) was used to observe the surface morphology of different processed products and determine the contents of elements in different processed products. **Result:** The content of As_2S_2 in different processed products ranked as water grinding products > water washing products > grinding products. The surface morphology of water grinding products was similar to the surface morphology of water washing products, but the surface morphology of grinding products was different from theirs. The content of oxygen in different processed products showed the trend of grinding products > water washing products > water grinding products. **Conclusion:** It can be distinguished between water grinding products and grinding products by SEM-EDS, it provides a certain technical support for the identification of different processed

[收稿日期] 20171014(002)

[基金项目] 国家公益性行业科研专项(2015070042)

[第一作者] 张慧,在读硕士,从事中药炮制与质量控制研究,E-mail:zh19930503@sina.com

[通信作者] *李向日,博士,教授,从事中药炮制与质量控制研究,Tel:010-84738616,E-mail:lixiangri@sina.com

products of Realgar. The effect of water grinding on removing impurities and reducing the toxicity is best, quality of water grinding products is better than the quality of water washing products and grinding products, which shows that water grinding for Realgar has scientific basis.

[Key words] Realgar; water grinding; water washing product; grinding product; scanning electron microscopy-energy dispersive spectrometer

雄黄又称黄食石、石黄、熏黄、鸡冠石等,入药始载于《神农本草经》,是硫化物类矿物雄黄族雄黄,主产于湖南、四川、贵州、云南、湖北等地,常与石英、方解石等共生,其次还与雌黄、白铁矿、毒砂、辰砂、方铅矿等共生。其性辛、温,味苦,有毒,归肝、大肠经,具有解毒杀虫、燥湿祛痰、截疟的功效^[1]。现代临床中将含雄黄的复方制剂或单方用于治疗血液系统疾病、恶性淋巴系统疾病甚至实体瘤^[2]。雄黄是一种含砷化合物,其主要化学成分为二硫化二砷,还含少量的三氧化二砷及其他矿物元素,属于毒性中药^[3]。

2015 年版《中国药典》(一部)规定雄黄的炮制方法为水飞法,该方法费时费水、成本较高,绝大多数企业采取了干研或水洗的方法代替水飞法,但不同炮制方法所制雄黄炮制品的质量优劣情况尚不清楚。雄黄的主要成分为二硫化二砷,其含量的高低与雄黄炮制品质量的优劣是相关的。雄黄属于矿物药,是具有药用价值的矿物。对于矿物药,可以借鉴地质学、矿物学的研究方法和手段,研究不同炮制方法炮制前后矿物的组成、结构、形态、元素分布及其元素赋存状态等^[4]。现观察矿物的形态及纹理多使用电子显微技术,电子显微技术包括透射电子显微镜、扫描电子显微镜等,可以用于分析固体表面形貌,扫描电镜与 X 射线能谱仪联用^[5],可实现矿物元素的快速定量。扫描电镜-能谱仪可用于金属、陶瓷、高分子、水泥、半导体、生物、化工、矿产等材料的显微形貌观察、相组织与晶体结构分析、微区化学成分检测等。在机械零件的失效分析、纳米材料的表征上,也有不可替代的功能。

本实验拟通过比较雄黄水飞品、水洗品及干研品中二硫化二砷的含量及元素的种类和含量,阐明上述 3 种方法对雄黄饮片质量的影响以及水飞法炮制雄黄的意义;比较雄黄水飞品、水洗品及干研品在扫描电镜下形貌的差别,以实现上述 3 种雄黄炮制品的快速鉴别,为区分不同方法炮制的雄黄粉提供相关技术支持。

1 材料

Quanta250 型扫描电镜(美国 FEI 公司),

Genesis 型能谱仪(美国伊达克斯有限公司),FA-1004 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。可溶性淀粉(北京博奥拓达科技有限公司,批号 20150120),水为去离子水,试剂均为分析纯。由于雄黄是有毒中药,因此雄黄药材的收集委托生产企业及亳州药材市场协助完成,收集了产地分别为甘肃、湖北、安徽、云南、湖南、贵州的雄黄药材共 8 个批次,经北京中医药大学中药学院李向日教授鉴定为硫化物类矿物雄黄族雄黄,具体信息见表 1。

表 1 雄黄药材的信息

Table 1 Information of Realgar

编号	产地	收集时间
R-1	甘肃	2015-06
R-2	湖北	2015-06
R-3	安徽	2015-07
R-4	云南	2015-05
R-5	湖南	2016-05
R-6	湖南	2016-06
R-7	贵州	2015-06
R-8	贵州	2016-07

2 方法与结果

2.1 炮制品的制备 将收集的 8 个批次雄黄药材按照 3 种方法进行炮制,得 3 种炮制品。

2.1.1 水飞品 取雄黄药材,除去杂石,置于研钵中,研磨,制成细粉;后取雄黄细粉 10 g,加水 5 mL,研磨 5 min 至糊状,加水 400 mL,搅拌 1 min,静置 2 min,倾取混悬液,残渣继续研磨,重复上述操作 10 次,合并混悬液,静置过夜,弃去上清液,抽滤,于 40 ℃ 恒温干燥过夜,研散,即得。药材 R-1 ~ R-8 的水飞品分别记为 R-1-1 ~ R-8-1。

2.1.2 干研品 取雄黄药材,置研钵中,研磨,使全部通过八号筛,并含能通过九号筛的粉末不少于 95%。药材 R-1 ~ R-8 的水飞品分别记为 R-1-2 ~ R-8-2。

2.1.3 水洗品 取干研法制得的雄黄粉末 1 g,加水 400 mL,于磁力搅拌器中搅拌 30 min,静置,弃去

上清液,抽滤,于 40 ℃ 恒温干燥过夜,研散,即得。
药材 R-1 ~ R-8 的水飞品分别记为 R-1-3 ~ R-8-3。

2.2 二硫化二砷的含量测定 将雄黄水飞品、水洗品及干研品分别按照 2015 年版《中国药典》(一部)“雄黄”项下含量测定方法对二硫化二砷含量进行测定,结果见表 2。

表 2 不同产地雄黄的 3 种炮制品中二硫化二砷质量分数(n=3)
Table 2 Content of As₂S₂ in three kinds of processing products of Realgar from different areas(n=3)

编号	规格	质量分数/%
R-1-1	水飞品	99.89
R-1-2	干研品	99.59
R-1-3	水洗品	99.68
R-2-1	水飞品	99.76
R-2-2	干研品	99.48
R-2-3	水洗品	99.58
R-3-1	水飞品	92.87
R-3-2	干研品	91.58
R-3-3	水洗品	91.99
R-4-1	水飞品	97.58
R-4-2	干研品	96.69
R-4-3	水洗品	97.02
R-5-1	水飞品	97.56
R-5-2	干研品	94.29
R-5-3	水洗品	95.43
R-6-1	水飞品	94.01
R-6-2	干研品	93.24
R-6-3	水洗品	93.78
R-7-1	水飞品	98.78
R-7-2	干研品	98.28
R-7-3	水洗品	98.46
R-8-1	水飞品	97.98
R-8-2	干研品	96.96
R-8-3	水洗品	97.12

2015 年版《中国药典》(一部)规定雄黄药材以二硫化二砷计质量分数不得少于 90%。由表 2 可知,3 种炮制方法自制的雄黄饮片中二硫化二砷均符合 2015 年版《中国药典》的规定;以安徽的 R-3-2 样品中含量最低,甘肃的 R-1-1 样品含量最高,说明雄黄药材来源对其二硫化二砷含量的影响较大。通过比较水飞法、水洗法及干研法所制雄黄炮制品中

二硫化二砷的含量,结果发现 3 种炮制方法所得雄黄饮片中二硫化二砷质量分数排序为水飞法 > 水洗法 > 干研法,说明水飞法和水洗法起到了除杂的作用,除杂效果水飞法 > 水洗法 > 干研法。

2.3 不同雄黄炮制品的扫描电镜-能谱仪检测

2.3.1 样品前处理 将导电胶粘贴于载物台上,把不同的样品粉末均匀分布于导电胶表面,用洗耳球吹去表面灰尘、小颗粒等,用于能谱仪测定元素含量;喷以钛铝合金膜,即得扫描电镜形态观察用样品。

2.3.2 仪器参数 仪器的加速电压 20 kV,工作距 9.9 mm,采集时间 100 ~ 200 s,死时间 20% ~ 40%,在一定倍镜下观察。

2.3.3 形貌观察 通过扫描电镜(SEM)对不同产地雄黄水飞品、水洗品及干研品于 10 000 倍镜下进行观察,以雄黄药材 R-5 制成的水飞品、干研品、水洗品为例,见图 1。结果发现雄黄 3 种炮制品的形貌是有区别的,水飞品及水洗品的形貌相似,其表面皆纹理清晰且平滑,呈钝圆状,表面附着细小粉末较多;而干研品则多呈多角状,边角呈锐尖状。不同产地的雄黄 3 种炮制品的形貌皆与图 1 相似,说明 3 种雄黄炮制品的形貌区别与雄黄的来源无关,但与炮制方法有关。综上所述,可以通过扫描电镜于 10 000 倍镜下观察水飞品、干研品、水洗品的形貌特征,以此区分干研品与水飞品、水洗品,但是不能区分水飞品与水洗品。

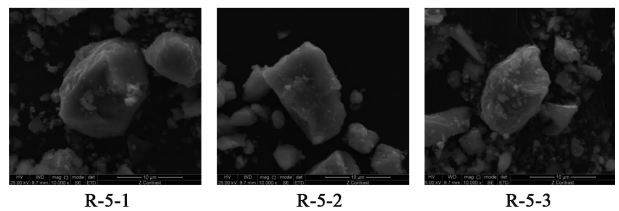
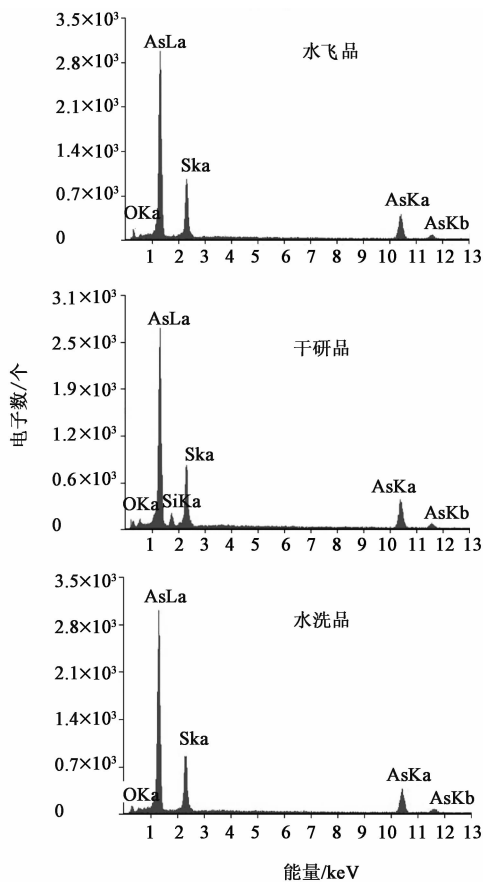


图 1 3 种雄黄炮制品形貌的 SEM 二次电子像(×10 000)
Fig.1 Secondary electron images of surface morphology of three kinds of processing products of Realgar(×10 000)

2.3.4 炮制品中的元素测定 在扫描电镜 10 000 倍镜下观察不同产地雄黄水飞品、水洗品及干研品的形貌特征时,联用能谱仪对此倍镜下的雄黄粉末进行表面的元素分析,以雄黄药材 R-5 制成的水飞品、干研品、水洗品为例,见图 2。

由图 2 可知,发现除 R-5-2(图 2 中的干研品,即产地为湖南的雄黄药材制得的干研品)外,其他雄黄炮制品均只检测出氧、硫、砷 3 种元素,而 R-5-2 中除了上述 3 种元素外,还检测出硅元素,这个结果



AsLa. 砷原子中跨越 1 个能级跃迁到 L 层的电子; AsKa. 砷原子中跨越 1 个能级跃迁到 K 层的电子; AsKb. 砷原子中跨越 2 个能级跃迁到 K 层的电子; OKa. 氧原子中跨越 1 个能级跃迁到 K 层的电子; SKa. 硫原子中跨越 1 个能级跃迁到 K 层的电子; SiKa. 硅原子中跨越 1 个能级跃迁到 K 层的电子

图 2 雄黄 3 种炮制品的能谱

Fig. 2 Energy spectra of three kinds of processed products of Realgar

说明这批雄黄中可能含有伴生矿二氧化硅, 而同批次雄黄药材的水飞品和水洗品中并没有检测出硅元素, 这进一步说明水飞法和水洗法的除杂作用要优于干研法。3 种雄黄炮制品的各个元素的质量分数见表 3。对 3 种雄黄炮制品中氧元素质量分数进行对比分析, 结果发现同一批次雄黄药材制得的 3 种炮制品中氧元素的质量分数排序基本呈现为干研法 > 水洗法 > 水飞法, 而氧元素的含量越高, 说明与氧结合的砷的含量越高, 而与氧结合的砷是雄黄中主要的毒性成分, 即氧元素含量的高低代表了雄黄毒性的 大小, 上述结果即可说明 3 种炮制方法的减毒效果不同, 减毒效果呈现水飞法 > 水洗法 > 干研法的趋势。

3 讨论

本研究采用 2015 年版《中国药典》收录的方法

表 3 不同雄黄炮制品中元素的质量分数 (n = 3)

Table 3 Determination of content of elements in different processing products of Realgar (n = 3)

编号	O	As	S	%
R-1-1	3.03	71.24	25.73	
R-1-2	3.57	71.15	25.18	
R-1-3	3.59	69.46	26.95	
R-2-1	2.57	72.74	24.69	
R-2-2	3.03	72.98	23.99	
R-2-3	2.83	69.64	27.53	
R-3-1	2.34	69.72	27.94	
R-3-2	2.63	72.05	25.32	
R-3-3	2.44	68.50	29.06	
R-4-1	2.20	72.81	24.99	
R-4-2	2.68	70.99	26.33	
R-4-3	3.04	71.29	25.67	
R-5-1	1.97	70.51	27.52	
R-5-2	2.38	74.60	23.02	
R-5-3	2.09	23.12	74.79	
R-6-1	3.48	73.09	23.43	
R-6-2	5.17	70.77	24.06	
R-6-3	3.60	70.61	25.79	
R-7-1	2.33	71.96	25.71	
R-7-2	3.09	67.87	29.04	
R-7-3	2.79	70.59	26.62	
R-8-1	2.01	74.02	23.97	
R-8-2	3.59	71.83	24.58	
R-8-3	2.16	69.43	28.41	

对雄黄水飞品、水洗品及干研品中二硫化二砷的含量进行测定, 发现雄黄经过水飞或水洗后二硫化二砷含量高于干研品, 且水飞品的含量高于水洗品; 采用扫描电镜-能谱仪对雄黄水飞品、水洗品及干研品的氧元素进行测定, 发现雄黄经过水飞或水洗后氧元素的含量低于干研品, 且水飞品的含量低于水洗品, 上述结果说明水飞法的除杂减毒效果最好, 水洗法其次, 符合 2015 年版《中国药典》雄黄项下规定的炮制方法为水飞法的要求。

从化学成分上看, 雄黄的主要化学成分是难溶于水的二硫化二砷, 还含少量的微溶于水的三氧化二砷及其他矿物元素。笔者认为雄黄水飞法炮制的原理是利用三氧化二砷等砷的氧化物微溶于水, 而二硫化二砷难溶于水的性质, 研磨起到减小粒度、增大水与雄黄的接触面积的作用, 共研磨 10 次, 每次

加定量水洗涤,少量多次地重复这一过程,是为了使三氧化二砷等砷的氧化物尽可能多地溶解于溶剂中,从而被除去,二硫化二砷在水飞过程中几乎没有损失,这与前人的研究结论相等^[6]。而水洗过程中部分三氧化二砷等砷的氧化物也能溶解在水中,那么出现上述实验结果的原因可能是由于水洗是大量水一次性洗涤,洗涤效果不如单次少量水多次洗涤的水飞法。

本研究采用扫描电镜对雄黄水飞品、水洗品及干研品于 10 000 倍镜下进行形貌观察^[7],结果表明通过比较 3 种雄黄炮制品的形貌,可以对雄黄水飞品和干研品进行快速鉴别,但不能对水飞品和水洗品进行区分,为区分不同雄黄炮制品提供了相关的技术支持;水飞法尽管费时费水,但是其除杂减毒的作用最好,3 种炮制品中水飞品的质量最优,所以建议相关企业对雄黄的炮制还应采用 2015 年版《中国药典》规定的水飞法。而上述雄黄水飞品、水洗品及干研品的药效和毒性是否一致,尚不清楚,相关的研究正在进行中,这将为雄黄的临床合理用药提供

依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中药医药科技出版社, 2015: 336-337.
- [2] 汤家铭, 顾祖曦, 赵源, 等. 不同来源牛黄与雄黄配伍的牛黄解毒片对小鼠毒性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 164-169.
- [3] 程佩佩, 方玉, 夏叶, 等. 纳米雄黄炮制方法的探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22): 22-25.
- [4] 李伟东, 高倩倩, 赵根华, 等. 矿物药炮制研究方法述评[J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(6): 596-600.
- [5] 闫晨曦, 黄伟. SEM/EDAX 对腐蚀青铜器的形貌与元素分析[J]. 光谱实验室, 2013, 30(6): 3356-3359.
- [6] 廖晴. 雄黄炮制前后化学组成变化情况及毒/效关系初探[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [7] 高双荣, 梁爱华, 戴宝强, 等. 雄黄肾脏毒性的病理形态学特征[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 297-301.

[责任编辑 刘德文]