基于 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸体系的中药 电化学指纹图谱

杜宝中, 屈敏佳, 马国营

西安理工大学应用化学系, 西安 710048

E-mail: bzhdu@xaut.edu.cn

2011-09-20 收稿, 2011-12-09 接受

陕西省工业攻关计划(2009K08-17)资助

摘要 提出了 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸化学振荡反应体系, 在考察各组分浓度对空白体系稳定性和振荡特征参数影响的基础上, 获得了黄芪、陈皮、葛根等 7 种中草药的电化学指纹图谱. 结果表明, 这些指纹图谱可以用于中草药的分析和鉴别, 且快速、准确. 并探讨了中草药振荡行为的原因及其机理.

关键词

化学振荡

中草药

电化学指纹图谱

中草药在我国已有数千年的历史, 在保证人类健康和治疗各种疾病中发挥着重要作用. 近年来, 随着人们对天然产物的信赖, 中草药越来越受到人们的重视. 但由于中草药化学成分的复杂性和多样性, 其有效或活性成分大多至今未能确认, 严重影响了使用效果的安全性和稳定性, 使得中草药的研究、应用和推广受到制约. 因此, 如何实现中草药的安全使用、有效治疗、质量保障及科学鉴别, 已成为中草药研究领域中亟待解决的课题.

目前, 中草药的鉴定与质量控制方法多采用仪器分析技术. 波谱分析方法可以鉴别中草药的化学成分^[1], 该法虽然可靠、准确, 但因分析成本高、操作手续繁杂、周期长而不适用于绝大多数成分复杂的中药. 色谱法因分离效能高, 既可定性定量、又具有信息多维的特点, 已成为国内外公认的评价和控制中药质量的有效方法和手段^[2]. 但色谱指纹图谱也存在一定的局限性, 如气相色谱法仅适用于中药挥发性成分的分析, 液相色谱法仅适用于真溶液体系; 而且色谱指纹图谱只能给出保留值和峰强度, 其峰形很少变化, 特征性和直观性不强, 在多数情况下需根据化学计量学方法处理后的结果来鉴别和评价中药; 特别是对中药成分提取、分离的预处理, 不仅耗时、还

易引入杂质, 所得指纹图谱实际上只是中药部分化学成分的信息集合. 因此, 探索无需分离和提纯预处理, 能适应于各种物相和剂型的中草药化学成分特征指纹图谱的技术, 已成为分析工作者面临的一项重要课题. 利用 B-Z(Belousov & Zhabotinsky)振荡反应建立的电化学指纹图谱技术旨在实现对中草药这一复杂体系化学成分群集的表征、鉴别和质量评价. 本文提出的 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸振荡体系用于 7 种中草药电化学指纹图谱的建立及其空白体系稳定性的探讨, 尚未见文献报道, 且与 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙酮振荡体系相比较^[3], 测试时间尤其诱导期明显缩短.

1 实验部分

(i) 仪器与试剂. CHI660b 电化学工作站(上海辰华仪器公司), JJ-1 型大功率电动搅拌器(常州国华电器有限公司), 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司), 217 型双液接饱和甘汞电极(上海精密科学仪器有限公司), 902 型铂电极(江苏江分电分析仪器有限公司).

黄芪(甘肃)、陈皮(四川)、葛根(广西)、白芍(安徽)、甘草(甘肃)、五加皮(陕西)、丹参(陕西). KBrO_3 ,

英文引用格式: Du B Z, Qu M J, Ma G Y. The electrochemical fingerprint of herbal medicines based on BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -malonic acid chemical oscillating system (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2012, 57: 904-909, doi: 10.1360/972011-1871

MnSO₄, H₂SO₄, 丙二酸均为分析纯, 所有溶液用二次蒸馏水配制。

(ii) 操作方法. 控温(37±1)℃, 溶液总体积 50 mL, 向 150 mL 玻璃反应器中依次加入中药试样(粒径小于 0.15 mm 粉末 1.00 g), H₂SO₄, MnSO₄, 丙二酸搅拌, 浸泡 20 min, 最后, 用注射器滴加 KBrO₃ 溶液, 同时计时. 以铂电极作指示, 双液接饱和甘汞电极(外盐桥充以饱和 KNO₃ 溶液)作参比, 电化学工作站记录电势 $E-t$ 图谱, 即可得到中草药的电化学指纹图谱。

2 结果与讨论

2.1 振荡指纹图谱

根据振荡化学原理, 酸性条件下, 在封闭的振荡体系中, 以 BrO₃⁻为氧化剂, 具有活泼亚甲基结构的有机物为底物, $M^{(n+1)+} + e \rightarrow M^{n+}$ 电极电位在 1.51~1.00 V 之间的过渡金属离子作为体系催化剂^[4]. 反应过程中生成的 HBrO₂ 具有自催化作用, 它的生成与消失影响着 BrO₃⁻的还原产物 Br⁻和金属离子氧化产物 $M^{(n+1)+}$ 浓度的变化, Br⁻浓度累积和 $M^{(n+1)+}$ 浓度消耗至一定值, 引发体系一系列氧化-还原反应的发生, 因而形成体系氧化还原值的周期性变化^[5]. 随着封闭体系能量不断耗散, 振荡最终停止^[6]. 以丙二酸为有机底物, Mn²⁺为催化剂($\varphi_{Mn^{3+}/Mn^{2+}}=1.49$ eV), 构成稳定的 BrO₃⁻-MnSO₄-H₂SO₄-丙二酸振荡体系, 作为测试空白体系。

中草药由多种有机成分组成, 将中草药加入此振荡体系中, 改变了有机底物的组分, 对原振荡体系会起到抑制或促进作用, 不同中草药因其化学成分的氧化还原性存在差异, 其抑制或促进作用不同, 因此可以获得形状各异的具有各自特征的振荡图谱。

2.2 空白体系稳定性

中草药电化学指纹图谱是建立在空白体系的振

荡谱图之上. 因此, 空白体系的稳定性至关重要. 本文讨论了振荡体系各组分浓度对空白体系稳定性的影响, 考察指标为诱导期(t_0)、周期标准偏差($S_{\text{周期}}$)、振幅标准偏差($S_{\text{振幅}}$)和振荡期(t_d), 每组平行测定 3 次取平均值, 结果见表 1。

由表 1 可知, 当 $c_{\text{丙二酸}}=0.05$ mol/L, 振荡谱图稳定性最佳. 同理, 通过单因素实验, 优选振荡体系其他组分浓度分别为: $c_{H^+}=1.1$ mol/L, $c_{Mn^{2+}}=0.015$ mol/L, $c_{BrO_3^-}=0.04$ mol/L. 在此条件下得到的空白体系振荡谱图如图 1 所示, 平行测定 3 次, 考察空白体系谱图稳定性, 结果见表 2(A_{max} 为最大振幅, τ 为周期, E_{max} 为最高电位, E_{min} 为最低电位, E_a 为平衡电位). 表 2 中 7 组参数 RSD 均小于 3.70%, 说明空白振荡体系具有良好的稳定性。

表 1 丙二酸浓度对空白体系振荡谱图稳定性的影响

$c_{\text{丙二酸}} \text{ (mol/L)}$	$t_0 \text{ (s)}$	$S_{\text{周期}}$	$S_{\text{振幅}}$	$t_d \text{ (s)}$
0.01	24	58.90	0.01270	1619
0.03	21	19.21	0.06685	2089
0.05	19	8.56	0.006082	715
0.07	16	12.56	0.004423	583
0.10	14	21.06	0.03516	974

图 1 空白体系振荡谱图

表 2 空白振荡图谱稳定性

	$t_0 \text{ (s)}$	$t_d \text{ (s)}$	$A_{\text{max}} \text{ (V)}$	$\tau \text{ (s)}$	$E_{\text{max}} \text{ (V)}$	$E_{\text{min}} \text{ (V)}$	$E_a \text{ (V)}$
1 [#]	18.3	715	0.202	66	1.129	0.689	0.953
2 [#]	19.2	721	0.201	67	1.118	0.677	0.964
3 [#]	17.9	714	0.206	64	1.139	0.692	0.932
RSD (%)	3.62	0.53	1.28	2.33	0.93	1.16	1.72

2.3 温度的影响

温度会影响体系中氧化还原反应速率,致使诱导期和振荡期发生明显变化,所以温度对振荡图谱影响明显.温度对振荡图谱特征参数的影响见表3.

由表3可知,温度对 $E_{\max}$, $E_{\min}$ 和 E_a 的影响不大,但对 τ , t_0 和 t_d 产生明显影响.随着温度的升高,反应速率加快,使诱导期和振荡周期缩短,同时中药化学成分的种类和溶出量亦随之增加,使体系组成有所改变,导致振荡图谱特异性降低;当温度较低时,诱导期和振荡期明显增长,致使测试时间增长.在29~37℃时,均可得到稳定的振荡图谱,考虑到人体温度,选择最佳测试温度为37℃.图2为黄芪的电化学指纹图谱.

2.4 搅拌速率的影响

搅拌下测试有利于中草药化学成分的浸出、扩散及参与振荡反应.实验表明,搅拌速率影响中草药电化学指纹图谱的振荡幅度和周期.搅拌速率也会影响振荡体系中溶解氧的量,而溶解氧作为体系中的一种物质与振荡反应相关,亦能导致指纹图谱中振荡幅度和周期发生变化.当搅拌速率过高体系溶解氧增大,同时产生大量气泡,导致体系不稳定,表现为振荡图谱出现毛刺,不利于分析研究.因此,控制搅拌速率120 r/min.

2.5 中药加入量

中药加入量不同,对振荡体系中氧化还原反应的促进及抑制作用会有差异;亦可反映中药用量与人体作用间的关系.黄芪不同加入量对其电化学指纹图谱的影响见表4.

由表4可以看出,当中药加入量增加时,诱导期延长,振荡期缩短,最大振幅、最大电位值和最小电位值都减小.这是因为随着加入量增大,中药对振荡

的抑制作用增强.同时,可以看到随着加入量继续增大,这种增加减缓甚至出现减小的情况,这可能是因为随着加入量增大,中药溶出不充分所致.而其平衡电位值变化不大,说明虽然中草药的加入量不同,但是具有相似平衡状态.

2.6 图谱重现性

在37℃,黄芪加入量为1.00 g, BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸振荡器中获取黄芪的电化学指纹图谱,测定3次,考察图谱的重现性,结果见表5.

表5中电化学指纹图谱7个参数的RSD<3.60%,说明对于同一来源的同种中药,因其化学成分及其含量相同,所以在相同实验条件下,电化学指纹图谱具有良好的重现性.

2.7 图谱特异性

在37℃时,分别以黄芪、陈皮、葛根、丹参、甘草、白芍、五加皮为有机底物,采用 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸振荡体系,获得特征各异的7种中草药的电化学指纹图谱,见图2和3.由图2和3可以看出,在相同振荡体系和测试条件下,不同种类的中药因化学成分及其浓度不同,相应的电化学指纹图谱中的特征参数和振荡图谱存在明显差异.所以可依此评价中药的品质、产地和鉴别真伪.同时,与色谱指纹图谱相比,电化学指纹图谱能给出中药中化学成分的群集和协同配伍的信息.另外,基于 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸振荡体系的振荡停止时间明显小于 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙酮振荡体系,缩短了分析鉴定时间.

2.8 不同产地中草药图谱

在37℃时,分别以不同产地的黄芪、陈皮为有机底物,采用 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸振荡体系,

表3 不同温度下黄芪振荡图谱信息比较

$T(^{\circ}\text{C})$	$t_0(\text{s})$	$t_d(\text{s})$	$A_{\max}(\text{V})$	$\tau(\text{s})$	$E_{\max}(\text{V})$	$E_{\min}(\text{V})$	$E_a(\text{V})$
25	229	2500	0.160	71	1.029	0.463	0.897
29	181	4225	0.166	55	1.016	0.438	0.877
33	155	2612	0.148	42	1.053	0.484	0.904
37	137	2067	0.146	28	1.033	0.472	0.893
41	97	1472	0.143	17	1.058	0.476	0.900

图2 黄芪的振荡图谱 (37)

获取电化学指纹图谱见图4.

由图4可以看出,不同产地的同种中草药其振荡图谱外形极其相似,但诱导期、周期、振幅有所差异.这可能是由于产地不同,阳光照射时间、强度、气温、降雨量、土壤状况各异,导致同种中草药组分及含量出现差异,可表现在电化学指纹图谱上,因此,电化学指纹图谱可用于同种中草药不同产地的鉴别.

2.9 振荡反应机理推测

以 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸为原始反应物的B-Z 振荡反应机理,尽管涉及诸多基元反应,但可归

表4 不同加入量黄芪振荡图谱信息比较

M (g)	t_o (s)	t_d (s)	$A_{\max}$ (V)	τ (s)	$E_{\max}$ (V)	$E_{\min}$ (V)	E_a (V)
0.50	108	1973	0.190	42	1.083	0.818	0.893
1.00	141	2078	0.136	28	1.050	0.463	0.907
1.50	182	1286	0.095	21	1.023	0.414	0.917
2.00	274	791	0.045	15	0.994	0.429	0.917
2.50	281	762	0.048	13	0.987	0.379	0.903

表5 振荡图谱重现性

	t_o (s)	t_d (s)	$A_{\max}$ (V)	τ (s)	$E_{\max}$ (V)	$E_{\min}$ (V)	E_a (V)
1 [#]	137.2	2067.4	0.146	28.3	1.033	0.472	0.865
2 [#]	132.0	2070.2	0.140	27.8	1.050	0.453	0.898
3 [#]	141.2	2078.4	0.136	27.2	1.050	0.463	0.907
RSD (%)	3.37	0.28	3.57	1.98	0.94	2.05	2.47

图3 不同中草药的振荡图谱

(a) 陈皮, (b) 葛根, (c) 丹参, (d) 甘草, (e) 白芍, (f) 五加皮

图4 不同产地同种中草药的振荡图谱

纳为诱导和振荡两大反应^[7]. 以中药为被氧化的反应底物参与振荡反应的可能机理如下:

诱导期反应:

振荡期反应:

由上述反应可知, 诱导期产生 Br^- , 丙二酸消除过量 Br_2 , 以保证在 Mn^{2+} 的催化作用下振荡反应顺利进行. 当 $c(\text{Br}^-) > c(\text{Br}^-)_{\text{临界}}$ 引发振荡反应(3), $c(\text{Br}^-) < c(\text{Br}^-)_{\text{临界}}$ 将引发振荡反应(4)和(5).

为了说明扰动机理, 借助 Br^- 选择性电极在线监测了空白和加药后振荡体系中 Br^- 浓度变化(图5和6).

图5 空白振荡体系 $c(\text{Br}^-)$ 变化循环图

由图5可以看出, 在 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸化学振荡中, Br^- 浓度的变化和典型的 B-Z 化学振荡体系相似, 即 Br^- 的浓度是反应的关键因素, 控制着反应的进程和振荡的循环过程. 图6表明中药(黄芪)的化学成分与 MnSO_4 发生反应, 改变了体系的基本组分

图6 加药振荡体系 $c(\text{Br}^-)$ 变化循环图

图7 振荡体系循环伏安图

的浓度比, 导致振荡图谱特征参数发生变化。

对比图 7 可以看出, 在空白体系的 CV 图上, 0.8 和 1.3 V(vs. SCE)分别为 Br^- 和 Mn^{2+} 的氧化峰; 加入黄芪(含蔗糖、葡萄糖醛酸等)后, 由于 Mn^{2+} 参与化学反应而使得 Br^- 的氧化峰(电流)值增加。另外在 0.48 V(vs. SCE)处还原电位负移且峰电流随着加药量增加而减小, 说明中药对该振荡体系的扰动是由于其化学成分和 MnSO_4 发生了反应, 改变了振荡体系的基本组分的浓度比。

3 结论

中草药成分复杂, 治病机理是由多种组分的协同作用所致, 而电化学指纹图谱恰好体现了中草药的这一特征。采用振荡体系进行中草药鉴定无需进行前处理, 可获得其群集信息, 是一种准确、简便、低成本的鉴别方法。本文提出的 BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -丙二酸振荡器其空白体系稳定, 不同中草药的电化学指纹图谱特征各异、重现性好。因此, 可实现从整体上分析中草药的电化学活性成分。

参考文献

- 1 江仁望, 吕扬. 现代中药鉴定方法研究进展. 中国中药杂志, 1998, 23: 757-759
- 2 Liu H X, Sun S Q, Lü G H, et al. Discrimination of extracted lipo-philic constituents of angelica with multi-steps infrared macro-fingerprint method. Vib Spectrosc, 2006, 40: 202-208
- 3 原春兰, 李宗孝, 陈淑宁, 等. 几种中药的化学振荡指纹图谱. 中国天然药物, 2004, 2: 42-44
- 4 高锦章. 化学振荡现象在分析化学中的应用. 西北师范大学学报(自然科学版), 2002, 38: 100-105
- 5 Field R J, Körös E, Noyes R M. Oscillations in chemical systems II thorough analysis of temporal oscillation in the bromate-cerium-malonic acid system. J Am Chem Soc, 1972, 94: 8649-8664
- 6 李如生. 非平衡态热力学和耗散结构. 北京: 清华大学出版社, 1986. 196-207
- 7 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: 356-358

The electrochemical fingerprint of herbal medicines based on BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -malonic acid chemical oscillating system

DU BaoZhong, QU MinJia & MA GuoYing

Department of Applied Chemistry, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048, China

In this article, BrO_3^- - MnSO_4 - H_2SO_4 -malonic acid chemical oscillating system was introduced. The concentration of various components of the effect on the stability of the blank system and oscillation characteristic parameters was discussed, then fingerprints waves of seven kinds of herbal medicines were obtained. They are Radix Astragali, Tangerine Peel, Radix Puerariae and so on. The results indicated these fingerprints waves could distinguish medicinal herbs, and this method is accurate and fast. The cause and possible mechanism of herbal medicine oscillatory behaviors were speculated.

chemical oscillating, herbal medicines, electrochemical fingerprint

doi: 10.1360/972011-1871