

牛黄及其伪品的鉴别

★ 柯荣勋 (福建省晋江市食品药品监督管理局 晋江 362200)

关键词:牛黄;鉴别

中图分类号:R 282.5 文献标识码:A

牛黄为牛科动物牛(*Bos taurus domesticus* Gmelin)的干燥胆结石。牛黄始载于《神农本草经》,列为上品。《名医别录》载:“牛黄生陇西及晋地,特牛胆中得之,即阴干百日使燥,无令见日月光。”由此可见,古代所用牛黄与现今相符。牛黄有很高的药用价值,具清心,豁痰,开窍,凉肝,息风,解毒功效。由于用途广泛,来源稀缺,故价格昂贵,掺假现象严重。现将牛黄及几种伪品的性状、显微、理化鉴别方法简介如下:

1 性状鉴别

本品多呈卵形,类球形,三角形或四方形,大小不一,直径 0.6~3 cm,少数呈管状或碎片。表面黄红色至棕黄色,有的表面挂有一层黑色光亮的薄膜,习称“乌金衣”;有的粗糙,

具疣状突起;有的具龟裂纹。体轻,质酥脆,易分层剥落,断面金黄色,可见细密的同心层纹,有的夹有白心。气清香,味苦而后甘,有清凉感,嚼之易碎,不粘牙。

1.1 经验鉴别

1.1.1 水试法 取本品少量,投入清水中,可吸水变潮湿但不变形、不溶解、不脱色、不浑浊;加少许清水调和,涂于指甲上,能将指甲染成黄色,习称“挂甲”。若加水煮沸,静置,真者全部溶化,水不混浊,无沉淀及漂浮物。

1.1.2 舌试法 取本品用舌尖舔之,味先苦而后转甜,有清凉感直达舌根及喉部,嚼之不粘牙,可慢慢溶化,无杂味及臭味。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验设计及结果分析

实验号	因 素				大黄酚含量 /mg·片 ⁻¹
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.0482
2	1	2	2	2	0.0614
3	1	3	3	3	0.0894
4	2	1	2	3	0.0488
5	2	2	3	1	0.0800
6	2	3	1	2	0.0844
7	3	1	3	2	0.0563
8	3	2	1	3	0.0667
9	3	3	2	1	0.0754
K_1	0.1990	0.1534	0.1993	0.2036	
K_2	0.2132	0.2081	0.1856	0.2021	
K_3	0.1984	0.2491	0.2257	0.2049	
R	0.0049	0.0319	0.0134	0.0009	

从以上实验可以看出,各因素对实验结果的影响顺序是 $B > C > A$,最佳选择是 $A_2B_3C_3$,即甲醇回流 30 分钟,加盐酸三氯甲烷水解 90 分钟,三氯甲烷萃取 5 次。

3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液于 0、1、2、4、6、8 小时分别测定,结果表明,供试品溶液在 8 小时内稳定。

3.6 重复性试验 精密称取同一批号千柏鼻炎分散片,照样品含量测定方法,重复测定 5 次,计算, RSD 为 1.05%。

3.7 回收率试验 精密称取已知含量的千柏鼻炎分散片适量,共 5 份,精密加入一定量的大黄酚对照品,按样品含量测定方法测定,结果平均回收率为 97.45%, RSD 为 1.29%。

3.8 样品测定 按样品含量测定方法对 10 批样品进行测定,结果见表 3。根据测定结果,暂定本品每片含大黄酚不

得少于 60 μg 。

表 3 千柏鼻炎分散片样品测定实验结果 $\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$

批号	大黄酚的含量	批号	大黄酚的含量
060601	75.3	060701	88.6
060602	76.9	060702	92.1
060603	78.6	060703	85.7
060604	80.4	060704	78.2
060605	82.3	060705	79.6

4 讨论

(1)采用 HPLC 法,以甲醇-0.1% 磷酸(85:15)为流动相,检测波长为 254 nm,测定本品中大黄酚的含量,线性范围 4.011~100.280 $\mu\text{g}/\text{ml}$, $r = 0.9999$ ($n = 6$);方法精密度 RSD 为 1.11%;平均回收率为 97.45%, RSD 为 1.29% ($n = 5$)。说明本方法准确,重现性良好。

(2)在样品前处理方法研究中,首先,我们参照药典中决明子中大黄酚的前处理方法对样品进行前处理,结果发现,加盐酸在水浴中水解不能将大黄酚完全水解出来,因此参考文献[1,2]的方法加盐酸和三氯甲烷同时水解,实验结果表明大黄酚能被完全水解出来。

参考文献

- [1]张莲莲. 高效液相色谱法测定千柏鼻炎胶囊中大黄酚的含量[J]. 海峡药学, 2004, 16(3): 61-62.
- [2]同利琪,朱长福. 千柏鼻炎片质量标准研究[J]. 中华实用中西医结合杂志, 2004, 4(17): 1881-1882.

(收稿日期:2007-06-07)

1.1.3 针刺法 取小针烧红,刺入牛黄中,若牛黄分裂,裂片呈层状,质细密酥脆,内心有白点,气清香者则为真品。

2 显微鉴别

2.1 粉末

呈黄棕色小颗粒或不规则团块,团块内有大小不等类方形晶体。

2.2 粉末水合氯醛试液装片

不加热。呈不规则团块由多数黄棕色或棕红色小颗粒集成,稍放置,色素迅速溶解,并显鲜明金黄色,久置后变绿色。

2.3 粉末50%甘油乙醇装片

可见大量大小不等的不规则形团块,大的团块呈云朵状、絮状、可破碎的泥块状,直径可达100 μm左右;棕褐色至褐黑色,不透明或边缘微透明。小块的呈不规则形或类圆形、长圆形,以不规则形者多见,最小的直径仅数微米;淡黄棕色或棕色、半透明。

2.4 千粉制片

取样品少许置载玻片上,压成粉末状,并向四周摊开,在200~400倍显微镜下观察:呈深浅不一的黄色,并密布着无数有规律黑色或暗灰色网状结构、形似鱼网,黄色的颗粒在一个网孔之中。这种结构镜下越多,说明胆红素含量越高。如镜下颗粒较大,且能看到层次结构,亦是牛黄的另一特征。

3 理化鉴别

有以下数种方法:(1)取本品粉末10 mg,加三氯甲烷20 ml,超声处理30分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取胆酸,去氧胆酸对照品,加乙醇制成每1 ml各含2 mg的混合溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各2 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以异辛烷-乙酸乙酯-冰醋酸(15:7:5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

(2)取本品粉末10 mg,加三氯甲烷-冰醋酸(4:1)混合溶液5 ml,超声处理5分钟,滤过,滤液作为供试品溶液。另取胆红素对照品,加三氯甲烷-冰醋酸(4:1)混合溶液制成每1 ml含0.5 mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸(10:3:0.1:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

(3)取粉末0.1 g,加60%醋酸4 ml,研磨,滤过,取滤液1 ml,加新制的糠醛(新蒸馏至几乎无色)溶液(1→100)1 ml与硫酸液(取硫酸50 ml,加水65 ml混合)10 ml,置70℃水浴中加热10分钟,即显蓝紫色。(检查胆酸)

(4)取粉末少量,加氯仿1 ml,摇匀,再加硫酸与30%过氧化氢溶液各2滴,振摇,即显绿色。(检查胆红素)

(5)取少许粉末,分别放入比色盘中(白色的),分别加入下列试剂0.5 ml,微热,则见有显色反应。加硫酸呈绿色;

加硝酸呈血红色;加氨水呈黄褐色。(检查胆红素)

(6)取粉末0.1 g,加盐酸1 ml及氯仿10 ml,充分振摇,混匀,氯仿层呈黄褐色;分取氯仿层,加氢氧化钡试液5 ml,振摇,即生成黄褐色沉淀;分离除去水层和沉淀,取氯仿层约1 ml,加醋酐1 ml,硫酸2滴,摇匀,放置,溶液呈绿色。(检查结合型胆红素)

(7)荧光法。取少许粉末,加水0.5 ml,振摇10分钟,静置,取上清液3~4滴点于滤纸上,待干。然后置紫外光灯(365 nm)下观察,显绿色荧光。本品的乙醇液为浅棕色,在紫外光灯下观察显紫色乳浊荧光。

4 伪品及鉴别要点

伪品及鉴别有以下数种。

(1)掺其他动物胆结石牛黄。如骆驼黄,特征为:个大或有切成薄片者,质粗糙,无光泽,味不苦而咸,气微臭,本品有微毒。熊胆黄,特征为:无明显层纹,不具牛胆气味。如:①掺人胆结石。以50%甘油装片观察,可见众多不规则形、大小不等的胆结石块状物,胆囊内壁组织的剥离块片,少量油滴。②掺牛肠结石。显微观察可见:植物性纤维众多,植物导管,毛茸,胆酸盐等结晶,细砂粒。

(2)用黄连、大黄及姜黄粉末,加蛋黄、胆汁等物伪制。此伪品断面无层纹,无清香气,味苦,嚼之粘牙。加水湿润,涂指甲染色易擦掉,无“挂甲”现象。显微观察:可见植物组织和淡黄色半透明的卵圆形及圆球形油滴。

(3)用马铃薯块茎的加工品伪制。此伪品断面有加工成的同心层纹,气微腥,不“挂甲”。显微观察:有大量淀粉粒、无色半透明片块和红色片块状物。

另有掺淀粉牛黄,多掺在牛黄碎片中,用显微镜可检出淀粉粒,用碘试液呈蓝色。

(4)掺糖牛黄。不同点:表面呈褐黑色或暗棕黄色,深浅不一,细腻无光泽,很少有裂纹。体沉重,质不酥脆,不能分层剥离,断面色棕黄(具紧密细腻的同心层纹),手搓发粘。无清香气,味甜不苦,无清凉感。理化鉴别:加5%α-萘酚溶液及硫酸,呈紫红色;加入碱性酒石酸铜溶液有棕红色沉淀生成;加入氨制硝酸银溶液有银镜生成。

(5)掺铁粉牛黄。在牛黄碎片中,有时混有褐色片状或不规则颗粒,可用磁铁吸附出来。

(6)掺黄连素粉牛黄。取本品细粉少许,以50%酒精甘油制成粉末观察片:可见众多由不规则形的细小碎块集聚而成的团块,即小蘖碱之粗提物。可见少数类圆形的淀粉粒。

用水合氯醛透化制片观察。可见少许木纤维之断节,系小蘖属植物根及茎木质部中的纤维;多已碎断,但可见两端呈钝圆形或渐尖。还可见少数薄壁细胞碎块。

(7)用黄泥土加工品伪制:表面粗糙,质重易掰断,断面颗粒性,不平坦,无层纹。

5 讨论

通过对牛黄药材及其伪品的性状、显微、理化鉴别,笔者认为上述的方法完全可作为鉴别它们的依据,且方法简便易行,快速准确,保证了临床安全用药。

(收稿日期:2007-05-15)