

煅石膏中无水硫酸钙拉曼光谱定量分析方法研究

彭 艳¹, 张丽颖¹, 金 阳¹, 杨 钊², 陆兔林³, 金传山⁴, 都述虎^{1*}

1. 南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166

2. 九州天润中药产业有限公司, 湖北 武汉 430040

3. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

4. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 建立拉曼光谱内标法快速测定煅石膏中无水硫酸钙的含量。方法 内标物为硝酸钠, 波长为 780 nm, 激光功率为 24 mW, 光阑为 50 μm slit, 物镜为 10 倍, 曝光时间为 2 s, 累积次数为 2 次, 扫描范围为 300~1700 cm^{-1} 。结果 无水硫酸钙质量分数在 5%~35% 与无水硫酸钙和硝酸钠的拉曼特征峰强度比 (I_{1016}/I_{1068}) 线性关系良好; 低、中、高 3 个质量分数的平均加样回收率分别为 101.4%、100.9%、100.6%, RSD 分别为 1.7%、0.8%、0.9%。结论 该方法简便、快速、重复性好, 可用于煅石膏药材的质量评价。

关键词: 煅石膏; 拉曼光谱; 内标; 无水硫酸钙; 硝酸钠

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)21-6683-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.21.027

Study on quantitative analysis method of anhydrous calcium sulfate in calcined gypsum by Raman spectroscopy

PENG Yan¹, ZHANG Li-ying¹, JIN Yang¹, YANG Zhao², LU Tu-lin³, JIN Chuan-shan⁴, DU Shu-hu¹

1. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

2. Joinative Traditional Chinese Medicine Industry Co., Ltd, Wuhan 430040, China

3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

4. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: **Objective** To establish an internal standard method for rapid determination of anhydrous calcium sulfate in calcined gypsum by Raman spectroscopy. **Method** Internal standard: sodium nitrate; excitation wavelength: 780 nm; laser power: 24 mW; aperture: 50 μm slit; lens: 10 $\times$ objective; exposure time: 2 s; accumulation: 2 times; scanning range: 300—1700 cm^{-1} . **Results** The peak intensity ratio (I_{1016}/I_{1068}) was used for the quantitative evaluation of calcined gypsum level and showed a good linear relationship with mass fraction of anhydrous calcium sulfate in the range of 5%—35%. The average recoveries at low, medium and high concentrations were 101.4%, 100.9% and 100.6%, with RSD of 1.7%, 0.8% and 0.9%, respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid and reproducible. It can be used for the quality evaluation of calcined gypsum.

Key words: Calcined gypsum; Raman spectroscopy; internal standard; anhydrous calcium; sodium nitrate

矿物药是传统中医药的重要组成部分, 具有悠久的历史。煅石膏是临床常用的止血矿物药, 是石膏经过照明煅法煅至酥松、失去 2 个结晶水后的炮制品, 其主要成分为无水硫酸钙, 具有收湿、生肌、敛疮、止血的功效, 常外用于治疗溃疡不敛、湿疹瘙痒、水火烫伤、外伤出血^[1-5], 与石膏外观相

似, 但功效差异较大, 为保证临床用药安全, 有必要对煅石膏与石膏进行区分, 并进行定量测定。目前, 煅石膏与石膏的鉴别方法主要有化学鉴别法^[6]、X-射线衍射法^[7]、红外光谱法^[8]及拉曼光谱法^[9], 但定量分析的报道较少。《中国药典》2020 年版一部煅石膏的含量测定采用乙二胺四乙酸二钠

收稿日期: 2021-06-06

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2018YFC1707000)

作者简介: 彭 艳 (1984—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药质量控制研究。Tel: (025)86868245 E-mail: yanpeng@njmu.edu.cn

*通信作者: 都述虎 Tel: (025)86868476 E-mail: shuhudu@njmu.edu.cn

(EDTA-2Na) 配位滴定法^[1]对钙离子的含量进行测定。虽然配位滴定法精密度高, 但此方法操作过程繁琐、分析时间长, 较难满足煅石膏快速测定的需求。

拉曼光谱技术基于光的非弹性散射, 通过激光与物质的相互作用产生拉曼位移来提供分子振动的相关信息, 具有快速、简便、无损和准确等优点, 在矿物类中药的研究中已取得一定成果^[10-11]。周兴志等^[9]研究表明, 常温常压下石膏、半水石膏、无水石膏中硫酸根离子基团的特征峰(对称伸缩振动)分别在 1008、1026、1016 cm^{-1} 附近。石膏经炮制后, 特征峰从低波数向高波数移动这一特点为拉曼光谱法测定煅石膏中无水硫酸钙的含量提供了可能, 且具有极强的专属性。Wopenka 等^[12]和 Pasteris 等^[13]的研究认为, 在同一相态中, 选择合适的内标做比值可以消除拉曼激发光强度、仪器效率因子等部分实验条件变量带来的影响。本实验采用拉曼光谱内标法对煅石膏进行定量分析, 具有操作简单快速, 专属性好, 准确性高等优势, 以期为止血矿物药煅石膏的质量控制提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

DXR 激光共聚焦拉曼光谱仪(配备 CCD 检测器和数据处理软件, 美国赛默飞公司), AUV220D 十万分之一电子天平(日本岛津公司), YP-12 红外压片机(上海弋翔仪器有限公司)。

1.2 材料

无水硫酸钙(上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号 C2018058, 质量分数 $\geq 99.99\%$), 氧化锌(基准试剂), 氯化钠、硝酸钠、无水碳酸钠、无水乙酸钠、EDTA-2Na、钙黄绿素、甲基红、甲基橙、铬黑 T、浓盐酸、氢氧化钾、氨水、氯化铵均为分析纯, 水为超纯水。6 个批次的煅石膏样品(表 1)经南京医科大学陈立娜教授鉴定为硫酸盐类矿物药煅石膏。

表 1 煅石膏样品信息

Table 1 Sample information of calcined gypsum

编号	来源地	批号
1	九州天润中药产业有限公司	20201002
2	湖北天济药业有限公司	20210191
3	安国市远光药业有限公司	20181107
4	安国市远光药业有限公司	20181101
5	河北楚风中药饮片有限公司	20150125
6	河北楚风中药饮片有限公司	20150204

2 方法与结果

2.1 拉曼光谱测定条件

激发波长 780 nm, 激光功率 24 mW, 光阑 50 μm slit, 10 倍物镜, 曝光时间 2 s, 累积 2 次, 扫描范围 300~1700 cm^{-1} 。检测时将样品平面置于载玻片上, 使其位于拉曼光谱仪载物台的物镜下测定, 随机选择 6 个不同的点, 按上述测定条件记录拉曼光谱图, 每个点重复测定 3 次, 取平均光谱作为该样品的拉曼光谱图。

2.2 对照样品的制备

分别取不同质量分数(5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%)的无水硫酸钙, 各加入 20% 质量分数的硝酸钠(内标物)和适量的氯化钠(填充物), 使其总质量为 200 mg, 混合后研磨均匀, 压片, 即得 7 个不同质量分数的对照样品。

2.3 供试品的制备

分别取各批次煅石膏约 40 mg, 硝酸钠约 40 mg, 氯化钠约 120 mg, 精密称定, 混合后研磨均匀, 压片即得。

2.4 内标物的选择

分别取适量无水硫酸钙对照品、硝酸钠、无水碳酸钠和无水乙酸钠, 按“2.1”项下方法进行操作, 得到拉曼光谱图(图 1)。如图 1 所示, 硝酸钠的最强特征峰位移与无水硫酸钙的最强特征峰位移接近但互不干扰, 基线平稳, 并且峰强度强、峰形好。因此, 选硝酸钠为定量分析内标物。

2.5 专属性考察

分别取无水硫酸钙对照品、1 号煅石膏样品(20201002)、硝酸钠和氯化钠适量(各约 200 mg),

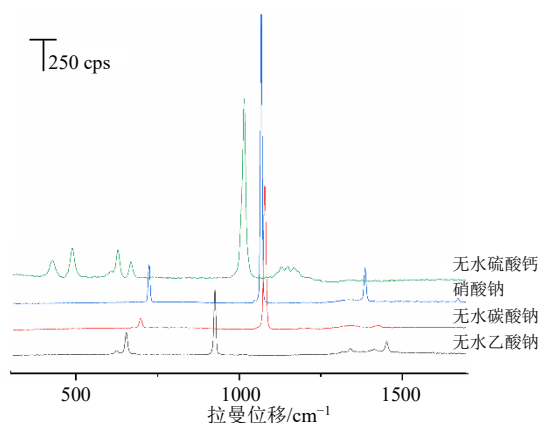


图 1 无水硫酸钙对照品和 3 种内标物的拉曼光谱图

Fig. 1 Raman spectra of anhydrous calcium sulfate reference substance and three internal standards

精密称定, 研磨均匀后压片, 按“2.1”项下进行拉曼检测, 得到各物质拉曼图谱(图 2)。从图 2 中可以发现煅石膏样品在 416、499、609、627、675、1016、1128 和 1159 cm^{-1} 处有明显的拉曼特征峰, 与文献报道一致^[10], 其中 1016 cm^{-1} 处(SO_4^{2-} 的对称伸缩振动)特征峰位移与无水硫酸钙对照品保持一致, 且峰强度较强, 而其他的拉曼峰位移和峰形都有一定程度的变化, 因此, 将 1016 cm^{-1} 选作定量指标峰。图中氯化钠无拉曼特征峰, 适合做填充物, 硝酸钠在 1068 cm^{-1} 处拉曼峰信号响应值最强, 将其选作内标峰。

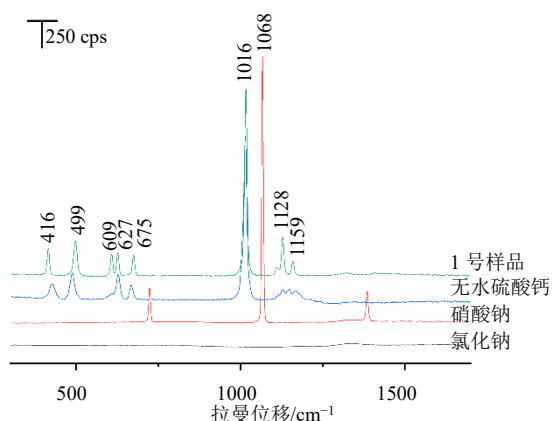


图 2 专属性实验拉曼光谱图

Table 2 Raman spectra from specificity test

2.6 线性关系考察

按“2.1”项下方法对 7 个对照样品进行拉曼光谱测定, 得到不同质量分数的无水硫酸钙对照品拉曼光谱图, 分别将无水硫酸钙的特征峰(1016 cm^{-1})强度与内标物硝酸钠的特征峰(1068 cm^{-1})强度作比, 得到峰强度比(I_{1016}/I_{1068})。以无水硫酸钙质量分数为横坐标(X), 以峰强度比为纵坐标(Y)绘制标准曲线, 线性回归方程为 $Y=3.580\ 6\ X-0.090\ 8$, $R^2=0.999\ 4$ 。结果表明无水硫酸钙质量分数在 5%~35%与峰强度比呈良好线性关系。

2.7 精密度试验

按“2.1”项下方法分别将 7 个对照样品于 1 d 内重复测定 6 次和 6 d 内每天测定 1 次, 即得日内精密度和日间精密度。结果 7 个对照品中无水硫酸钙与硝酸钠的峰强度比的日内 RSD 分别为 1.3%、1.2%、1.4%、0.95%、1.1%、0.88%、1.0%, 日间 RSD 分别为 1.5%、1.6%、1.2%、1.7%、1.8%、1.9%、1.1%, 表明该方法精密度良好。

2.8 重复性试验

取 1 号煅石膏样品(20201002) 6 份, 分别按

“2.3”项制备供试品, 按“2.1”项下方法测定 1 号煅石膏样品中无水硫酸钙的含量, 无水硫酸钙的质量分数 RSD 为 0.95%, 表明该方法重复性良好。

2.9 稳定性试验

取 1 号煅石膏(20201002)样品, 按“2.3”项制备供试品, 分别在室温条件下放置 0、2、4、6、8、10 h 后, 按“2.1”项下方法测定, 1 号煅石膏供试品中无水硫酸钙与硝酸钠的峰强度比的 RSD 为 1.0%, 表明供试品在 10 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验

取已知含量的 1 号煅石膏样品(20201002)适量(约 20 mg), 研细, 精密称定, 共 9 份, 3 份为 1 组, 每组分别加入无水硫酸钙对照品(相当于每组已知量的 80%、100%、120%)、内标物(约 40 mg)和填充物适量使总质量为 200 mg, 混合后研磨均匀, 压片, 按照“2.1”项下方法进行拉曼光谱测定并计算无水硫酸钙的回收率, 无水硫酸钙低、中、高 3 个质量分数的加样回收率分别为 101.4%、100.9%、100.6%, RSD 分别为 1.7%、0.8%、0.9%。表明该方法在测定条件下准确度良好。

2.11 煅石膏样品含量测定

取 6 批煅石膏样品, 按“2.3”项下方法制备供试品和“2.1”项下方法测定 6 批煅石膏样品中无水硫酸钙的含量。同时为了验证本方法的可靠性, 将以上拉曼光谱法测定结果与《中国药典》2020 年版^[1]中 EDTA-2Na 滴定法检测结果进行 t 检验, 2 种方法测定的结果(表 2)无显著性差异($P>0.05$), 表明本法可用于煅石膏中无水硫酸钙的含量测定。

3 讨论

3.1 内标法的优势

煅石膏在水中溶解度低, 采用 EDTA-2Na 滴定

表 2 拉曼光谱法与 EDTA-2Na 滴定法测定样品含量结果比较
Table 2 Comparison of sample detection results in Raman spectroscopy and EDTA-2Na titration methods

编号	无水硫酸钙/%	
	拉曼光谱法	EDTA-2Na 滴定法
1	98.6	98.4
2	95.5	94.8
3	98.1	97.5
4	99.1	98.1
5	97.2	96.4
6	96.9	96.3

法测定钙离子含量时,需加入稀盐酸并加热煮沸才能溶解,其溶解过程非常缓慢,且时常解离不完全造成滴定终点提前,同时在测定过程中还要排除纯化水、试剂和其他因素的干扰。钙黄绿素指示剂与钙离子结合显黄绿色荧光,当到达滴定终点指示剂被释放显橙色荧光,颜色突变不明显,这给终点判定带来困难;另一方面,对于无水硫酸钙而言,在其溶解条件下仍无法检测到拉曼特征峰信号,这就无法用拉曼光谱法直接测定煅石膏水溶液中无水硫酸钙的含量。1986 年 Wopenka 等^[12]简化了拉曼散射强度的影响因素,认为拉曼散射强度与激光发光强度、单位体积内拉曼活性分子数(可以理解为浓度)、拉曼散射系数及仪器效率因子等变量有关。另有研究^[13]表明在同一相态中,选择合适的内标做比值可以消除部分变量的影响,即待测物与内标的浓度的比值与其拉曼散射强度的比值成正比关系。在本研究中,以固体硝酸钠作为内标校正强度参数可以消除实验条件带来的影响,以固体氯化钠为填充物充当稀释剂,建立无水硫酸钙质量分数的拉曼校准曲线,进而实现对煅石膏中无水硫酸钙的含量测定。

3.2 煅石膏拉曼特征峰分析及定量指标峰确定

煅石膏由生石膏经高温炮制而得,生石膏失去 2 个结晶水后, SO_4^{2-} 的振动峰位移动发生了变化,总体向高波数移动,对称弯曲振动峰 414 、 493 cm^{-1} 变为 416 、 499 cm^{-1} ; 反对称弯曲振动峰 619 、 670 cm^{-1} 变为 627 、 675 cm^{-1} ; 对称伸缩振动峰 1007 cm^{-1} 变为 1016 cm^{-1} 。反对称伸缩振动峰 1135 cm^{-1} 向低波数移动为 1128 cm^{-1} 。除此之外煅石膏在 609 cm^{-1} 和 1159 cm^{-1} 处出现了 2 个新的拉曼特征峰,与无水硫酸钙对照品的拉曼光谱图一致。其中 1016 cm^{-1} 处的拉曼特征峰有最强的拉曼散射强度,峰形尖锐,位移稳定,实验误差对其影响较小,且与内标物硝酸钠特征峰 1068 cm^{-1} 处峰强度相近,所以被选择作为定量分析指标峰。

本研究采用拉曼光谱内标法测定煅石膏中无水硫酸钙的含量,6 批次煅石膏中无水硫酸钙含量测

定结果与 EDTA-2Na 滴定法测定结果经 t 检验无明显统计学差异,说明建立的内标法准确度高,可用于矿物药煅石膏的质量评价。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 99.
- [2] 刘广余. 煅石膏甘草麻油膏治疗皮肤溃疡 [J]. 中国民间疗法, 2016, 24(6): 12.
- [3] 熊良淦. 海螵蛸与煅石膏联合康惠尔敷料对糖尿病足的治疗分析 [J]. 中国医药指南, 2019, 17(12): 190-191.
- [4] 徐韬, 徐雅君, 徐先祥, 等. 生、煅石膏与赛霉安散促进创伤愈合作用研究 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(36): 251-252.
- [5] 李心亮, 李珂, 刘月平, 等. 煅石膏外用对急性软组织损伤的治疗作用及其机制研究 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(7): 1176-1178.
- [6] 张钦德. 中药鉴定技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 263.
- [7] 李晓明, 邵爱娟, 陈敏, 等. 生、煅石膏的粉晶 X-射线衍射分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 75-78.
- [8] 刘元芬, 李祥, 高锦飏, 等. 石膏炮制前后红外光谱的特征分析与鉴定 [J]. 内蒙古中医药, 2007, 26(5): 27-29.
- [9] 周兴志, 郑海飞, 孙樯. 高温高压下石膏脱水相变的原位拉曼光谱研究 [J]. 岩石学报, 2006, 22(12): 3047-3051.
- [10] 雷鸣, 陈龙, 黄必胜, 等. 6 种含硫酸盐的矿物类中药及其部分炮制品的拉曼光谱鉴别研究 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7): 2811-2814.
- [11] 明晶, 陈龙, 黄必胜, 等. 7 种毒性矿物类中药拉曼光谱解析 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(10): 2423-2426.
- [12] Wopenka B, Pasteris J D. Raman intensities and detection limits of geochemically relevant gas mixtures for a laser Raman microprobe [J]. *Anal Chem*, 1987, 59(17): 2165-2170.
- [13] Pasteris J D, Wopenka B, Seitz J C. Practical aspects of quantitative laser Raman microprobe spectroscopy for the study of fluid inclusions [J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1988, 52(5): 979-988.

[责任编辑 时圣明]