

d. **Thế chất của dược liệu:** Quan sát bằng mắt thường ở ánh sáng ban ngày (ánh sáng thường): đặc điểm mặt gãy do bề mặt dược liệu, đặc điểm mặt cắt (dùng dụng cụ để cắt dược liệu) về màu sắc và độ bóng, mịn và cấu trúc bề mặt. Nếu các cấu trúc bề mặt vết bề khó quan sát do có các xơ sợi gỗ thì có thể cắt phẳng rồi quan sát.

e. **Mùi của dược liệu:** Dược kiểm tra bằng cách ngửi trực tiếp hoặc sau khi bề gãy và vò, giã nát mẫu thử. Nếu cần thiết có thể làm ẩm mẫu bằng nước nóng trước khi ngửi.

f. **Vị của dược liệu:** Dược kiểm tra bằng cách nếm trực tiếp một lượng nhỏ của mẫu thử hoặc ngâm mẫu thử vào nước nóng và nếm dịch chiết. *Nên cẩn thận khi nếm những dược liệu có độc.*

g. **Kiểm tra nấm mốc, côn trùng và các tạp nhiễm vi sinh vật:** Quan sát bằng mắt thường ở ánh sáng ban ngày. Không được quan sát thấy nấm mốc, côn trùng và các tạp nhiễm vi sinh vật khác trên dược liệu.

(5) **Định tính:** Gồm những phương pháp dùng để nhận biết dược liệu như phương pháp kinh nghiệm truyền thống, phương pháp vi học, các phương pháp vật lý, hóa học, hóa lý và sinh học.

a. **Phương pháp kinh nghiệm truyền thống:** Các phương pháp đơn giản, dễ sử dụng. Ví dụ: Sự thay đổi màu sắc, sự chìm hay nổi trong nước, âm thanh khi va chạm cọ sát, màu của ngọn lửa hay khói và mùi khi đốt cháy dược liệu,...

b. **Phương pháp vi học:** Quan sát đặc điểm của các mô, tế bào, đặc điểm các chất chứa trong tế bào của lát cắt, của bột hay của bề mặt dược liệu dưới kính hiển vi. Chuẩn bị các tiêu bản phù hợp và thực hiện theo hướng dẫn tại Phụ lục 12.18.

c. **Định tính bằng các phương pháp hóa lý:** Gồm các phép thử liên quan đến thành phần hóa học trong mẫu thử bằng các phương pháp vật lý và hóa học như sau:

Định tính bằng phản ứng hóa học: Phép thử một thành phần hoặc nhóm chất trong mẫu thử bằng các phản ứng hóa học. Phương pháp tiến hành được trình bày ở các chuyên luận riêng.

Định tính huỳnh quang: Quan sát trực tiếp sự phát huỳnh quang của mẫu thử (mặt cắt mẫu thử hoặc dịch chiết của mẫu thử) hoặc sau khi cho tác dụng với acid, kiềm hay thuốc thử. Trừ khi có quy định riêng trong chuyên luận, mẫu thử được quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, cách nguồn sáng khoảng 10 cm.

Định tính vi thăng hoa: Trừ quy định trong chuyên luận riêng, định tính vi thăng hoa thường được tiến hành như sau: Đặt một vòng kim loại đường kính khoảng 2 cm, cao khoảng 8 mm lên một tấm kim loại mỏng hoặc tấm kính có kích thước hơi lớn hơn. Đưa một lượng bột mẫu thử thích hợp vào trong vòng kim loại, trải đều, đặt kín vòng kim loại bằng một phiến kính (có thể đặt lên trên phiến kính đặt vòng kim loại một miếng bông tẩm nước lạnh). Đặt tấm kim loại hoặc tấm kính đã có mẫu thử lên một lưới

amiant. Đun nóng nhẹ bằng ngọn lửa đèn cồn phía dưới lỗ cho đến khi bột dược liệu bị cháy xém. Tắt lửa và để nguội, nhắc phiến kính đặt vòng kim loại ra và đem quan sát dưới kính hiển vi về hình dạng và màu sắc của tinh thể chất được thăng hoa đọng lại trên phiến kính hoặc thêm thuốc thử thích hợp lên chất đã thăng hoa trên phiến kính rồi quan sát sự thay đổi màu sắc.

Định tính bằng sắc ký hoặc quang phổ: Các phương pháp sắc ký lớp mỏng (nếu sử dụng dược liệu đôi chiều thì cần chú ý đúng loài cần xác định), sắc ký khí, sắc ký lỏng hiệu năng cao, phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến, phổ hồng ngoại được sử dụng để định tính.

d. **Định tính bằng PCR:** Định tính dược liệu bằng cách so sánh sự khác nhau của DNA.

(6) Các thử nghiệm liên quan đến phép thử tinh khiết như độ ẩm, tro, tạp chất, chất độc hoặc chất gây hại tồn dư trong quá trình chế biến, bảo quản dược liệu, kim loại nặng, các nguyên tố gây hại cho sức khỏe, tồn dư hóa chất bảo vệ thực vật, aflatoxin,...

Đối với các vị thuốc, nếu không có quy định trong chuyên luận riêng, chỉ tiêu mất khối lượng do làm khô hoặc hàm lượng nước không được quá 13 %; tỷ lệ vụn nát và tạp chất không được quá 3 % và hàm lượng lưu huỳnh dioxyd tồn dư không được quá 150 ppm.

Nếu không có quy định trong chuyên luận riêng, dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật trong dược liệu thô không được quá giới hạn quy định trong Phụ lục 12.17.

(7) **Xác định chất chiết được** là xác định hàm lượng các chất hòa tan trong dược liệu có thể chiết được bằng nước, ethanol hay một dung môi thích hợp khác.

(8) **Định lượng** là việc xác định hàm lượng của một hay một số chất có trong dược liệu bằng phương pháp hóa học, vật lý hoặc sinh học. Các phương pháp này được quy định trong chuyên luận riêng hoặc chuyên luận chung. Nếu dược liệu cần phải được làm thành bột trước khi định lượng thì phải nghiền hoặc tán sau đó rây và trộn đều bột dược liệu như mô tả trong chuyên luận riêng.

12.3 PHÉP THỬ XÁC ĐỊNH CHIẾT KIẾT ALCALOID

Các phép thử sau đây được dùng để xác định alkaloid đã được lấy kiệt hay chưa.

Các alkaloid được chiết bằng nước hoặc dung môi là ethanol - nước

Sau khi chiết ít nhất 3 lần, lấy 0,1 ml đến 0,2 ml của dịch chiết tiếp theo, acid hoá bằng *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*, thêm 0,05 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat (TT)* (thuốc thử Mayer) hoặc thêm 0,05 ml *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* (thuốc thử Dragendorff) đối với các alkaloid thuộc họ Cà. Không được có tủa hay tạo dung dịch đục. Trong trường hợp dung môi chiết có độ cồn lớn hơn 25 % trở lên thì sau khi acid hoá, cần bay hơi hết dung môi (bằng cách đặt khay sứ chứa dịch chiết lên nồi cách thủy nóng) rồi mới thêm thuốc thử tạo tủa.

Bảng 12.5.1

t_2 (°C)	% cineol (kl/kl)	t_2 (°C)	% cineol (kl/kl)
24	45,5	40	67,0
25	47,0	41	68,5
26	48,5	42	70,0
27	49,5	43	72,5
28	50,5	44	74,0
29	52,0	45	76,0
30	53,5	46	78,0
31	54,5	47	80,0
32	56,0	48	82,0
33	57,0	49	84,0
34	58,5	50	86,0
35	60,0	51	88,5
36	61,0	52	91,0
37	62,5	53	93,5
38	63,5	54	96,0
39	65,0	55	99,0

Các alcaloid được chiết bằng dung môi hữu cơ

Sau khi chiết ít nhất 3 lần, lấy 1 ml đến 2 ml dịch chiết tiếp theo, thêm 1 ml đến 2 ml dung dịch acid hydrochloric 0.1 M (TT), bay hơi hết dung môi hữu cơ, chuyển phần dịch lỏng còn lại vào một ống nghiệm và thêm 0,05 ml dung dịch kali tetraiodomercurat (TT) (thuốc thử Mayer) hoặc thêm 0,05 ml dung dịch kali iodobismuthat (TT) (thuốc thử Dragendorff) đối với các alcaloid thuộc họ Cà hoặc thêm 0,05 ml dung dịch iod-kali iodid (TT) (thuốc thử Bouchardat) đối với emetin. Không được thấy có tủa đục rõ tạo thành trong dung dịch.

12.4 ĐỊNH LƯỢNG ALDEHYD TRONG TINH DẦU

Cân chính xác khoảng 1 g tinh dầu cần xác định aldehyd vào một ống thủy tinh có nút mài (kích thước khoảng 150 mm × 25 mm), thêm 5 ml toluen (TT) và 15 ml dung dịch hydroxylamin trong ethanol (TT), lắc mạnh và định lượng ngay với dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ) cho tới khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và định lượng tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững của chi thị sau khi đã lắc mạnh 2 min và để yên cho tách lớp; phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng 15 min. Kết quả chuẩn độ cho một giá trị tương đối về hàm lượng aldehyd trong mẫu.

Lặp lại quy trình định lượng như trên, dùng dung dịch thử sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ) làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Tính hàm lượng aldehyd từ lần xác định thứ hai. Dùng đương lượng đã cho trong chuyên luận riêng.

12.5 ĐỊNH LƯỢNG CINEOL TRONG TINH DẦU

Cân 3,00 g mẫu thử vừa được làm khan bằng natri sulfat khan (TT) vào một ống nghiệm khô, thêm 2,10 g o-cresol (TT) đã chảy lỏng. Đặt ống nghiệm vào trong thiết bị xác định nhiệt độ đông đặc (Phụ lục 6.6) và làm lạnh, khuấy liên tục. Khi sự kết tinh bắt đầu, nhiệt độ hơi tăng lên một chút; ghi nhiệt độ cao nhất đạt được (t_1).

Làm chảy hỗn hợp trên nôi cách thủy nhưng không được để nhiệt độ vượt quá 5 °C so với nhiệt độ t_1 . Đặt lại ống nghiệm vào trong thiết bị đã được duy trì ở nhiệt độ dưới t_1 5 °C.

Khi sự kết tinh lại xảy ra hoặc khi nhiệt độ của hỗn hợp hạ xuống 3 °C dưới t_1 , khuấy liên tục; ghi nhiệt độ cao nhất mà hỗn hợp đông lại (t_2). Lặp lại quá trình này cho tới khi 2 giá trị cao nhất thu được (t_2) chênh nhau không quá 0,2 °C. Nếu xảy ra quá trình chậm đông, thêm 1 tinh thể nhỏ của hỗn hợp gồm 3,00 g cineol (TT) và 2,10 g o-cresol (TT) đã chảy lỏng, để tạo sự kết tinh. Nếu t_2 thấp hơn 27,4 °C, lặp lại thí nghiệm sau khi thêm 5,10 g hỗn hợp này.

Xác định phần trăm cineol (kl/kl) tương ứng với điểm đông (t_2) từ Bảng 12.5.1 và ta có các giá trị trung gian bằng phương pháp nội suy. Nếu có cho thêm 5,10 g hỗn hợp cineol và o-cresol, tính phần trăm (kl/kl) của cineol từ biểu thức $2 \times (A - 50)$; trong đó A là giá trị tương ứng cho một điểm đông của t_2 được lấy từ Bảng 12.5.1.

12.6 ĐỊNH LƯỢNG TANINOID TRONG DUỐC LIỆU

Có thể áp dụng 1 trong 2 phương pháp sau:

Phương pháp 1

Cân chính xác một khối lượng bột dược liệu đã rây qua rây số 355 và chứa khoảng 1 g taninoid, cho vào một bình nón, thêm 150 ml nước và đun trên cách thủy trong 30 min. Để nguội, chuyển hỗn hợp vào bình định mức 250 ml. Thêm nước vừa đủ tới vạch, để lắng, lọc phần dịch lỏng qua giấy lọc đường kính 125 mm, bỏ 50 ml dịch lọc đầu. Phần dịch lọc thu được dùng làm dung dịch thử.

Xác định chất chiết được trong nước toàn phần

Lấy chính xác 25 ml dung dịch thử đem bốc hơi đến khô, sấy cần ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T_1 (g).

Xác định chất chiết được trong nước không liên kết với bột da

Lấy chính xác 100 ml dung dịch thử, thêm 6 g bột da khô. Lắc đều trong 15 min và lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc đem bốc hơi đến khô, sấy cần ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T_2 (g).