

比色—等导数值导数光谱法测定 “补气升提片”中人参总皂甙含量

梁艺英 贾宜军(广东省药品检验所 广州 510180)

摘要 本文采用以人参皂甙 Rg1 为对照品,香草醛硫酸显色的比色—等导数值导数光谱法测定了“补气升提片”中人参总皂甙的含量,平均回收率为 96.6% ($n=5$),RSD 为 1.60%。

关键词 人参皂甙 Rg1 人参总皂甙 等导数值导数光谱法

Determination of General Ginsenosides in Buqi Shengti Tablet by Colorimetric-Equivalent Valuation of Derivation Derivative Spectrophotometry

Liang Yiyong, Jia Yijun

(Guangdong Provincial Institute for Drug Control, Guangzhou, 510180)

Abstract: With ginsenoside Rg1 as the reference substance and vanillin sulphuric acid for coloration, the content of general ginsenoside in "buqi shengti tablet" was determined by colorimetric-equivalent valuation of derivation derivative spectrophotometry, and the average recovery was 96.6% ($n=5$); RSD was 1.60%.

Key words: general ginsenoside, ginsenoside Rg1, equivalent valuation of derivation derivative spectrophotometry

“补气升提片”是由人参芦、党参、黄芪、甘草、阿胶等七味药材组成的复方制剂,具有益气升阳的作用。而其中几个主要药味均含有皂甙或与皂甙结构相近的其他成分,显色后其吸收光谱严重重叠,干扰测定。本文通过一般的皂甙提取方法把皂甙富集后,采用比色等导数值导数光谱法使人参皂甙以外的干扰成分的导数值之和为零消除干扰^[1],然后以人参皂甙 Rg1 为对照测定人参总皂甙的含量。此法一经确定 K 值后有准确、快速的优点,相对薄层扫描法而言,仍不失为一个可供参考的方法之一。

1 仪器与试药

U-3210 型紫外分光光度计;硫酸、无水乙醇、乙醚、甲醇、碳酸氢钠、正丁醇均为分析纯试剂;人参皂甙 Rg1 对照品由中国药品生物制品检定所提供;补气升提片样品、缺人参芦药材的阴性群药均由佛山制药一厂

提供。

2 测定条件的选择

2.1 对照品溶液及阴性对照溶液制备 精密称取五氧化二磷存在下,真空干燥 24h 的人参皂甙 Rg1 对照品(含量以 100%计)约 5mg,置 50ml 量瓶中,加甲醇使溶解,并稀释至刻度,摇匀制成每 ml 含 100 μ g 的溶液,作为对照品溶液。再精密称取约相当于 5 片量的缺人参芦药材的阴性群药粉。照供试品溶液制备法制成阴性对照溶液。

2.2 供试品溶液制备 取本品 20 片,除去糖衣,精密称定,研细,精密称取约 5 片量,加乙醚 30ml,加热回流 1h,放冷,滤过,弃去乙醚液并挥干残留乙醚,残渣及滤纸放回瓶中,加甲醇 30ml,回流 1.5h,放冷,滤过,加少许甲醇洗净过滤器及容器,合并洗液与滤液,置水浴上蒸干,残渣加水 50ml 溶解,以水饱和的正丁醇提取 6 次(25、25、25、25、20、15ml),

合并醇层,加 5%碳酸氢钠溶液洗 3 次(20、20、15ml),弃去碱液,再用正丁醇饱和水洗至水层呈中性,醇层置水浴上蒸干,残渣加甲醇使溶解,并移置 25ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取此溶液 2ml 置 20ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.3 测定条件 选择狭缝 2nm、 $\Delta\lambda$ 为 1nm、灵敏度为 2、扫描速度为 120nm/min,在 450nm~600nm 波长范围内分别绘制供试品溶液,对照品溶液及测定时供试品溶液浓度相近的三个高、中、低浓度的阴性对照溶液的零阶导数光谱图和一阶导数光谱图(见图 1、图 2)。

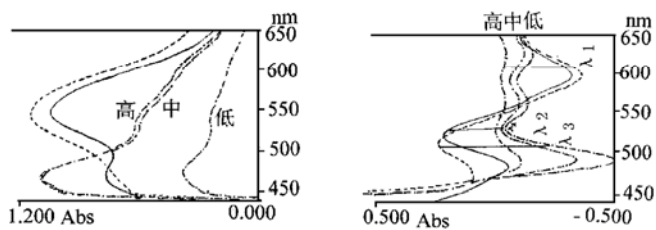


图 1 零阶导数光谱图

图 2 一阶导数光谱图

图例: —— 对照品溶液 - - - - 供试品溶液
- · - · - 阴性对照液(高、中、低浓度)

从图中可见以上 5 种溶液的紫外吸收光谱在人参皂甙 Rg1 的吸收峰附近有较强的吸收,对 Rg1 的定量测定带来很大的干扰,而它们的一阶导数光谱则显示可通过采用三波长组合等导数值法,使干扰组分的导数值为零,以排除干扰,进行测定。在选择 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 三个波长位置分别测定待测组分与干扰组分的导数值 D_1 、 D_2 、 D_3 和 D_1^f 、 D_2^f 、 D_3^f 时,使 $(D_3^f + D_2^f) \doteq D_1^f$, 则 $(D_3^f + D_2^f) / D_1^f \doteq 1$, 亦即 $D_3^f + D_2^f - D_1^f = 0$, 此时干扰排除, 以此作为定量依据, 待测组分的导数值 $\Delta D = (D_3 + D_2) - D_1$, 当 D_1 为负值时, 则 ΔD 等于三波长导数值的绝对值之和, 从而既可获得较大的 D 值, 又可使 $K = 1$, 而测得待测组分的含量。^[2]

2.4 组合波长的选择及重现性试验^[3] 用

同一组浓度(即相同的高、中、低浓度)的阴性对照液,使在满足 $(D_3^f + D_2^f) / D_1^f \doteq 1$ 的条件下,以变化 $\pm 1\text{nm}$ 波长所得的多个不同组合波长下(如 609、530、511nm 和 608、530、512nm……等)测定 K 值,选择 K 最接近 1 时的组合波长,确定了其最佳组合波长 λ_1 为 608nm、 λ_2 为 530nm、 λ_3 为 511nm。然后设定 n 组不同浓度的阴性对照液,在最佳组合波长下测其 ΔD 值,考察其重现性,结果当 $\bar{K} = D_3^f + D_2^f / D_1^f = 1.0207$ 时 $RSD = 1.48\%$ ($n = 3$)。

3 标准曲线制备

取每 ml 含 100 μg 的经干燥处理的人参皂甙 Rg1 对照品溶液 0.3、0.6、0.9、1.2、1.5、1.8ml 置 25ml 的纳氏比色管中,置水浴上蒸干,放冷,分别精密加入甲醇 0.5ml,8% 香草醛无水乙醇液 0.5ml,冰浴冷却后精密加入 67% 硫酸液 5ml,继续置冰浴冷却,摇匀,片刻后置 60 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴中显色 10min,取出,迅速置冰浴中冷却 10min,以相应的试剂为空白,按确定的条件测定其三波长的一阶导数值,以导数值的绝对值之和为横坐标, Rg1 的微克数为纵坐标作标准曲线,得回归方程: $Y = 4.30 \times 10^{-3}x + 2.14 \times 10^{-2}$; 相关系数 $r = 0.9999$ 。

4 稳定性试验:

于上述的显色反应中止后,每隔 15min 以相同的条件重复测定 ΔD 值,共测 4h,(见表 1)。结果表明在显色后 1h 内测定值最高,而且稳定,在以后 2h~3h 内有下降的趋势,但不严重,故选定在冷却 10min 后测定,并于 2h 内完成,则被测溶液的稳定性良好。

5 回收试验

准确称取已测知含量的样品 5 份,加入一定量的标准品,按供试品溶液制备和测定一阶导数光谱的方法提取处理及显色测定,计算回收率,(见表 2),平均回收率为 96.6% ($n = 5$), RSD 为 1.6%。

表1 冷却后间隔不同时间测得的 ΔD 值变化情况

测定时间	10'	25'	50'	65'	80'	95'	110'	125'	140'	155'	170'	185'	200'	215'	230'	245'
ΔD 值	0.418	0.415	0.415	0.416	0.414	0.409	0.407	0.407	0.403	0.403	0.402	0.402	0.402	0.399	0.398	0.386

表2 回收率测定结果

样品已知含量(mg)	加入对照品量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	3.46	3.70	7.08	97.8	
2	3.48	4.39	7.61	94.1	
3	3.96	4.26	8.06	96.2	1.60
4	3.07	2.23	5.25	97.8	
5	3.13	3.40	6.43	97.1	

6 样品测定

精密吸取对照品溶液及供试品溶液各2ml,按上述方法显色测定,结果见表3。

表3 样品含量测定结果

批号	每片含总皂甙(mg)			平均含量(mg/片)	RSD%
	1	2	3		
921107	6.90	6.84	6.80	6.85	0.73
9305001	6.60	6.65	6.63	6.63	0.38
9308002	7.12	7.10	7.16	7.13	0.43

7 小结与讨论

7.1 实验结果表明正丁醇提取6次已达完全,醇层以5%碳酸氢钠溶液洗涤后必须以正丁醇饱和水洗至水层呈中性,使醇层颜色尽量浅,以免影响显色测定。

7.2 对比实验结果表明选用67%硫酸显色,放热及反应速度适中,操作较易掌握,其 ΔD 值较稳定。选择在60℃恒温水浴中显色10min的条件,其相应的空白试剂所显颜色与样品底色基本一致,误差抵消较完全。

7.3 实验中曾对人参芦药材的质量进行了初步考核,选用不同产地及不同进货期的多批人参芦按实验条件测得含总皂甙平均约为3%~4%,实测3批样品的结果为同批药材理论含量的90%以上。

参考文献

- 1 李同芬. 比色—导数光谱法测定万氏牛黄清心丸中胆酸的含量. 中成药, 1989, 11(9): 17
- 2 林黎明. 等导数值导数光谱法测定万氏牛黄清心丸中黄连总生物碱的含量. 中国中药杂志, 1990, 15(1): 32~34
- 3 王宝琴主编. 中成药质量标准与标准物质研究. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 63

(收稿: 1997-12-05)