

间接火焰原子吸收法测定二母宁嗽丸中芒果苷的含量

彭柳, 周俊*, 范开静

(三峡食品药品检验检测中心, 湖北 宜昌 443003)

[摘要] **目的:**建立原子吸收法间接测定芒果苷含量的新方法。**方法:**利用碱性环境中,芒果苷可与 Sr^{2+} 反应生成棕色沉淀的原理,采用原子吸收法间接测定芒果苷含量。以样品溶液中剩余 Sr^{2+} 为考察指标,考察了温度、时间、pH 及沉淀剂用量对反应的影响。在此基础上,进行了方法学考察。**结果:**沉淀反应宜在质量浓度为 $1.395 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 无水氯化锶溶液 1 mL, $40 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 为 9.0 的条件下反应 20 min。该方法线性范围为 $2.11 \sim 59.95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 检出限为 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 加样回收率为 96.74%, RSD 1.1%。稳定性、精密度和重复性良好。**结论:**建立的方法易于操作,线性范围宽,快速省时,可用于测定二母宁嗽丸中芒果苷含量。

[关键词] 火焰原子吸收光谱法; 间接; 芒果苷; 氯化锶

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0095-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010095

Determination of Mangifer in Ermu Ningsou Wan by an Indirect Flame Atomic Absorption Spectrometry
PENG Liu, ZHOU Jun*, FAN Kai-jing (Yichang Institute for Food and Drug Control, Yichang 443003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an indirect atomic absorption spectrometry method for determination content of mangifer in Ermu Ningsou Wan. **Method:** Based on the mangifer can be quantitatively generate brown precipitation with Sr^{2+} in alkaline environment, the content of mangifer in samples was determined indirectly by atomic absorption spectrometry. The effects of temperature, reaction time, pH value and amount of strontium chloride were studied. **Result:** The conditions of precipitate reaction were chosen as follow: 1.00 mL strontium chloride solutions ($1.395 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), $40 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 9.0, and react 20 minutes. Meanwhile, the linear range was 2.11 to $59.95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the detection limit was $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The recovery rate was $96.74\% \pm 1.07\%$. This method performed good stability, precision and repeatability. **Conclusion:** The proposed method is easy to control and allows the determination of mangifer in a wide range. The results for the analysis are satisfactory.

[Key words] Flame atomic absorption spectrometry; indirect; mangifer; strontium chloride.

二母宁嗽丸收载于卫生部药品标准《中药成方制剂》第一册^[1]和 2010 年版《中国药典》一部^[2],是由川贝母、知母、黄芩、石膏等十二味药制备而成的丸剂。方中川贝母、知母相须为用,共为君药,具有清肺润燥、化痰止咳之功效,用于治疗燥热蕴肺、痰黄而黏不易咳出、胸闷气促、久咳不止、声哑喉痛等症。在《中药成方制剂》中收载标准过于简单,无含量测定方法,2010 年版《中国药典》和现有报道^[3]则以臣药黄芩有效成分黄芩苷为控制指标,无法体现制剂的君药质量控制特征。为了提高本品的内在

质量,研究方向逐渐转向以君药知母为控制对象的新质量标准探索。芒果苷是知母清热作用的主要有效成分,为含知母制剂质量控制常用目标物,含量测定多利用高效液相色谱法^[4-5],然而,本制剂药味多,采用高效液相色谱法测定芒果苷的含量,除了繁琐的前处理外,还需 90 min 左右的色谱测定时间^[6],不太适合生产实践中的使用。本实验拟利用芒果苷的邻二酚羟基能与 Sr^{2+} 特异结合形成沉淀的性质,通过火焰原子吸收法测定上清液中反应剩余锶元素含量来间接测定制剂中芒果苷含

[收稿日期] 20140321(007)

[第一作者] 彭柳,本科,副主任药师,从事中药及制剂的质量标准研究工作, Tel:0717-6456925, E-mail: pengliu888@163.com

[通讯作者] * 周俊,本科,副主任药师,从事中药及制剂的质量标准研究工作, Tel:0717-6456925, E-mail: lisaliup@163.com

量。建立一种简单、快速测定二母宁嗽丸中芒果苷的新方法。

1 材料

1.1 仪器 AA-7000 型原子吸收分光光度计(日本岛津), ML204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 试药 芒果苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111607-201211), 氯化锶(国药化学试剂有限公司,批号 20120456), 去离子水实验室自制, 其他试剂均为分析纯。二母宁嗽丸(沈阳中药制药有限公司,规格:大蜜丸 9 g/丸,批号 120509,120943,111201,121009,131201,130799)。

2 方法与结果

2.1 工作条件 检测波长 460.7 nm, 灯电流 4 mA, 狭缝宽度 0.4 nm, 火焰台高度 9 mm, 空气流量 14 mL·min⁻¹, 乙炔流量 2 mL·min⁻¹。

2.2 方法原理 在碱性介质中,具有邻二酚羟基的芒果苷能与氯化锶发生络合反应生成难溶性的棕色沉淀。经离心分离后,通过原子吸收法测定上清液中过量的 Sr²⁺,从而间接测定出芒果苷的含量。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 精密称取芒果苷对照品 29.98 mg 于 10 mL 量瓶,用甲醇稀释至刻度,摇匀即得(临用时配制)。

2.3.2 氯化锶溶液的配制 精密称取无水氯化锶 13.95 mg 于 10 mL 量瓶,用甲醇稀释至刻度,摇匀即得。

2.3.3 样品溶液的制备 二母宁嗽丸,精密称重,研碎,取约 2 g,精密称定,置于 10 mL 量瓶中,甲醇定容,称定质量,超声提取 20 min,补足失重,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2.4 反应条件优化

2.4.1 实验步骤 精密移取一定量芒果苷对照品溶液或样品溶液于 10 mL 刻度离心管中,加入 1 mL 氯化锶溶液,用去离子水稀释至刻度,摇匀,在适宜温度和 pH 下反应一定时间后,于 2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,小心吸取上清液 5 mL 于 25 mL 量瓶中,用去离子水稀释至刻度。同法制备空白溶液(仅不加入芒果苷和氯化锶)。于 2.1 项下的仪器条件下测定吸光度。

2.4.2 反应温度的影响 取芒果苷对照品溶液 0.6 mL,按实验方法,在 pH 8.5,反应时间为 15 min 的条件下,分别于 20~90 °C 的 8 个不同反应温度进行试验,测定吸光度,结果见图 2。结果表明,随着

温度的升高,吸光度出现了先降后升的变化趋势。在低于 40 °C 时,吸光度随温度的升高逐渐降低,说明该沉淀反应为需热反应,提高温度有助于沉淀的形成。于 40 °C 时,达到稳定的最低值,表明此时形成的沉淀最多,且稳定。然而,当大于 40 °C 时,因芒果苷的邻二酚羟基的热不稳定性,在高温条件下逐渐被破坏,导致吸光度不断逆势增加,且不稳定。因此,后续实验中宜在 40 °C 进行。

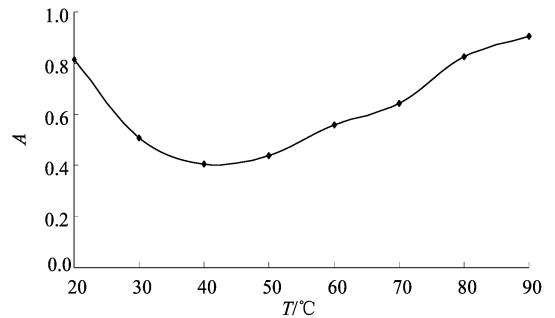


图 1 反应温度对沉淀反应的影响

Fig. 1 Effect of reaction temperature

2.4.3 反应时间的影响 取芒果苷对照品溶液 0.6 mL,按试验方法,在 pH 8.5,反应温度为 40 °C 的条件下,分别选择 5~40 min 的 8 个不同反应时间进行,测定吸光度,结果见图 3。结果表明,随着反应时间的延长,吸光度逐渐降低,然而,当反应时间达到 20 min 后,其吸光度趋于稳定,差异不具有显著性($P > 0.05$),提示此时反应已完全。因此,后续实验中宜选择反应时间为 20 min。

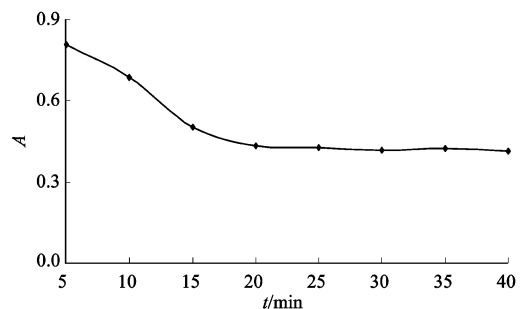


图 2 反应时间对沉淀反应的影响

Fig. 2 Effect of reaction time

2.4.4 反应溶液 pH 的影响 取芒果苷对照品溶液 0.6 mL,按实验方法,在反应时间为 20 min,反应温度为 40 °C 的条件下,分别选择 8.0~12.0 的 9 个 pH 进行试验,测定吸光度,见图 4。结果表明,在碱性溶液环境中,随着 pH 的增加,吸光度出现了先降后升的变化趋势。当 pH 为 9.0 时,吸光度小而稳定,提示该 pH 有利于沉淀的生成。当 pH 大于 9.0

时, 锶易形成 SrO_2^{2-} , 致使部分沉淀溶解, 沉淀量逐渐减少, 使测定的吸光度结果不断变大。因此, 后续实验宜选择溶液 pH 为 9.0。

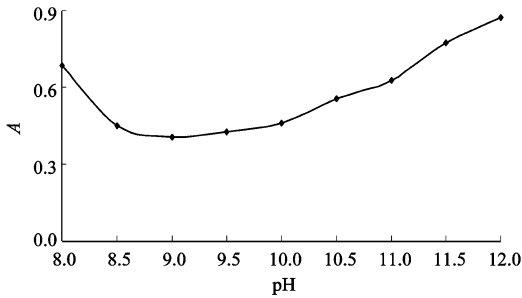


图 3 溶液 pH 对沉淀反应的影响
Fig. 3 Effect of pH

2.4.5 氯化锶用量的影响 本实验的关键是芒果苷与 Sr^{2+} 形成稳定的沉淀, 而沉淀的形成除依赖于物质本身的溶度积常数外, 还与溶液中离子的浓度有关, 因此, 氯化锶的用量对测定结果有一定影响。本实验选不同用量的氯化锶溶液进行考察, 结果表明, 氯化锶太少, 沉淀不易形成; 用量过大时, 除导致标准曲线的线性较差外, 还使部分未反应的 Sr^{2+} 包埋于沉淀之中, 引起测量结果偏大。此外, 本实验是测定上清液中 Sr^{2+} 的剩余量, 因此, 氯化锶试剂用量过多, 为了达到 Sr^{2+} 的原子吸收光谱仪检测线性范围, 需进行繁琐的稀释。因此, 本实验通过优化选择了 $1.395 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化锶溶液的用量为 1 mL。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围考察和检出限计算 配制芒果苷含量分别为 2.11, 16.57, 31.03, 45.49, 59.95 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液, 在 2.4 项最优条件下, 测定芒果苷含量, 以吸光度 (A) 为纵坐标, 芒果苷溶液质量浓度 (C) 为横坐标, 绘制工作曲线。得线性回归方程为 $A = -0.5126C + 0.0181$ ($r = 0.9993$), 表明在 2.11 ~ 59.95 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 本方法的线性关系良好; 在此基础上, 根据 IUPAC 建议, 采用校正曲线法求得其检出限 (LOD) 为 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5.2 精密度试验 对 $31.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的芒果苷对照品溶液连续进样测定 6 次, 得吸光度的 RSD 1.71%, 表明本方法测定芒果苷的精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 在 2.4 项下最优条件下, 6 h 内每隔 20 min 按本方法对同一供试品溶液进样测定 1 次。得各次测定含量的 RSD 1.76%, 表明本方法测定芒果苷含量在 6 h 内稳定性较好。

2.5.4 重复性试验 称取二母宁嗽丸 (批号 120943) 研碎粉末样品约 2.0 g, 共 6 份, 按 2.3.2 项

下样品溶液的制备的方法制备, 在 2.4 项最优条件下, 测定芒果苷含量, 平行操作, 按含量计算其 RSD 1.97%, 表明本方法测定芒果苷的重复性良好。

2.5.5 加样回收率 精密称取已知含量的二母宁嗽丸 (批号 120943) 粉末约 1.0 g, 加 3.32 mg 芒果苷, 按样品溶液制备方法处理并进行测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。结果显示利用该方法测定二母宁嗽丸中芒果苷的平均回收率为 96.74%, RSD 1.1%, 表明本方法测定芒果苷数据可靠。

表 1 二母宁嗽丸中芒果苷加样回收率测定
Table 1 Results of sample recovery rate

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.015 2	3.32	3.32	6.58	98.15	96.74	1.1
1.031 1	3.37	3.32	6.60	97.17		
0.995 6	3.25	3.32	6.41	95.11		
1.035 6	3.38	3.32	6.60	96.76		
1.017 6	3.33	3.32	6.55	97.12		
0.994 2	3.25	3.32	6.44	96.14		

2.5.6 共存物质的影响 在该制剂的实际测量中, 除含有知母外, 还含有其他 11 味中药及制剂成型过程中的辅料, 因此, 芒果苷通常与其他药味成分及辅料组分共存, 故向 $31.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 芒果苷工作溶液中分别加入不同量 (处方量的 1/10 至 10 倍) 的其他 11 药味提取物 (提取工艺条件与复方制备时的工艺条件保持一致) 及辅料成分, 测定回收率, 以考察共存物质对该方法测定芒果苷的影响。结果发现, 样液中存在上述共存物质时, 在所有的实验浓度范围内的回收率在 96.71% ~ 103.49% 之间, 表明共存物质对芒果苷测定的影响不大。

2.6 实际样品测定 按实验方法和优化的实验条件, 对二母宁嗽丸中芒果苷含量进行测定, 结果 6 批样品含量分别为 29.01, 29.52, 29.94, 29.18, 29.09, 29.99 mg/丸。并将测定结果与文献方法^[6] 的测定结果进行对比, 见表 2。结果表明, 相对文献方法, 实验建立的分析方法, 不仅操作时间 (前处理和仪器检测的总时间) 明显少于 HPLC 法, 且在二母宁嗽丸测定过程中的回收率、方法的检出限及精密度均较好, 与 HPLC 法差异不明显。表明本方法在实际分析中可行, 所得结果可靠, 完全能满足二母宁嗽丸中芒果苷的检测需要。

表 2 分析芒果苷时本方法与文献方法的比较

Table 2 Comparison of the present work with some recent studies on detection of mangifer

方法	操作时间 /min	芒果苷 /mg/丸	LOD /mg·L ⁻¹	回收率(RSD) /%
HPLC	100~120	29.18	0.18	97.19(2.6)
本方法	40~50	29.46	0.25	96.74(1.1)

3 讨论

利用火焰原子吸收法测定金属元素就方法本身而言,具有快速、稳定、准确的特点。然而,实际测试工作中,对于非溶液性样品,必须经过各种繁琐的消化前处理,除需消耗大量的时间和人力外,还常因操作者的主观情绪因素影响,易导致测定结果的准确性较差。本实验基于沉淀反应建立起来的间接原子吸收法,其测定金属元素来源于外加的无机金属盐溶液,其测定无需消化,能充分发挥原子吸收光谱法自身的特点,因此,该方法的普适性较强。

当前,以沉淀反应为基础的间接原子吸收法,其沉淀剂多为中性或碱性醋酸铅^[7-9],然而,该沉淀剂的专属性不强,有机酸、蛋白质、氨基酸、黏液质、鞣质、皂苷、树脂、黄酮等均能与其形成沉淀,因此,在成分复杂的中药复方制剂检测中,利用该沉淀剂进行实验,其准确性差,无法满足分析要求。本实验所用沉淀剂为具有邻二酚羟基的黄酮类化合物专用沉淀剂,其反应现象常作为该类黄酮化合物的检识反应特征,因此,本次实验在对具有邻二酚羟基的芒果

苷的检测中,首次将氯化铋作为沉淀剂,结果发现,其能与芒果苷定量、特异性的形成稳定棕色沉淀,基于该沉淀反应建立起来测定芒果苷的间接原子吸收法,测定结果的准确性高。

[参考文献]

- [1] 卫生部药典委员会. 中药成药制剂. 第一册 [S]. 北京:人民卫生出版社,1989:482-484.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:410-411.
- [3] 张秀丽,吴楠. HPLC 法测定二母宁嗽丸中黄芩苷的含量[J]. 中国医药导报,2009,6(11):45-46.
- [4] 周永刚,黄晨,谷莉,等. HPLC 法测定知母药材中芒果苷和新芒果苷的含量[J]. 药学实践杂志,2005,23(2):99-102.
- [5] 李玉娟,毕开顺. RP-HPLC 测定酸枣仁汤中芒果苷和甘草酸的含量[J]. 中成药,2004,26(10):801-804.
- [6] 吴进,孙新建,李志浩,等. 反相高效液相色谱法测定二母宁嗽丸中芒果苷的含量[J]. 湖北中医药大学学报,2012,14(3):29-31.
- [7] 刘咏,任凤莲,蔡震峰. 间接原子吸收法测定黄姜中的薯蓣皂甙元[J]. 广州化学,2006,31(4):32-36.
- [8] 郎惠云,廖晓玲,董发听,等. 间接原子吸收法测定茶叶中茶多酚的含量[J]. 西北大学学报:自然科学版,2003,33(6):683-685.
- [9] 马亚军,郎惠云. 原子吸收法间接测定葡萄籽提取物中的原花青素[J]. 分析实验室,2004,23(8):55-57.

[责任编辑 顾雪竹]