

红参超微粉的质量标准研究[△]

李守信^{1,2,3*}, 邱新建^{1,2}, 贺凤成^{1,3}, 苏瑞强^{1,2,3}, 张则平^{1,2,3}, 赵志全^{1,2,3} (1. 鲁南制药集团股份有限公司, 山东临沂 276006; 2. 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东临沂 276006; 3. 山东省中药制药新技术重点实验室, 山东临沂 276006)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0256-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.21

摘要 目的: 建立红参超微粉的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法鉴别样品; 使用激光粒度分析仪对样品粒径进行检测; 以高效液相色谱法同时测定样品中人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁的含量; 色谱柱为Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 检测波长为203 nm。结果: 样品TLC图中斑点清晰, 可鉴别出与对照品对应的斑点; 红参超微粉的中位粒径在20 μm以下; 人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁的进样量分别在1.043~10.430、1.079~10.790、1.139~11.390 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系(r 均为0.999 9); 平均加样回收率分别为100.27%、100.52%、100.28%, RSD分别为1.44%、1.95%、1.08% (n 均为6)。结论: 所建立的方法简便、准确、重复性好, 可用于红参超微粉的质量控制。

关键词 红参超微粉; 粒径; 高效液相色谱法; 薄层色谱法; 质量标准

Quality Standard of Red Ginseng Ultra-micro Powder

LI Shou-xin^{1,2,3}, QIU Xin-jian^{1,2}, HE Feng-cheng^{1,3}, SU Rui-qiang^{1,2,3}, ZHANG Ze-ping^{1,2,3}, ZHAO Zhi-quan^{1,2,3} (1. Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Shandong Linyi 276006, China; 2. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of TCM, Shandong Linyi 276006, China; 3. Shandong Province Key Laboratory of Pharmaceutical New Technology of TCM, Shandong Linyi 276006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a quality standard for Red Ginseng ultra-micro powder. METHODS: Qualitative analysis of Red Ginseng ultra-micro powder was carried out by TLC. The particle diameter was detected with laser scattering particle size distribution analyzer. HPLC was used for the content determination of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁. Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution). The detection wavelength was set at 203 nm. RESULTS: TLC spots were clear and counterpart of substance control could be identified. Median particle size of Red Ginseng ultra-micro powder was below 20 μm. The linear ranges of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ were 1.043-10.430 μg ($r=0.999\ 9$), 1.079-10.790 μg ($r=0.999\ 9$), 1.139-11.390 μg ($r=0.999\ 9$). Average recoveries were 100.27% (RSD=1.44%, $n=6$), 100.52% (RSD=1.95%, $n=6$) and 100.28% (RSD=1.08%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and repeatable. It can be used for the quality control of Red Ginseng ultra-micro powder.

KEYWORDS Red Ginseng ultra-micro powder; Particle size; HPLC; TLC; Quality standard

中药超微粉碎技术是指中药的细胞级粉碎, 它可使中药材细胞破壁率达95%以上, 细胞粒径在0.1~75 μm之间^[1-2], 能够提高药材有效成分的溶出率和生物利用度^[3-4], 减少药材用量^[5-7]。由于减少了细胞壁的屏障作用, 因而比表面积大幅提高, 能够提高药材有效成分的溶出速率和生物利用度, 改善口感, 减少药材用量。红参是五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的栽培品经蒸制后的干燥根和根茎, 具有大补元气、复脉固脱、益气摄血的功效^[8], 主要含有人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁等成分^[9]。目前市场上的红参超微粉已经较为普遍^[10-11], 但对红参超微粉质量标准研究的文献报道较少。因此, 本课题组对红参超微粉进行了显微鉴别和薄层色谱(TLC)鉴别, 并使用激光粒度分析仪对本品的粒径进行检测,

同时采用高效液相色谱(HPLC)法测定了本品中人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re和人参皂苷Rb₁的含量。

1 材料

1.1 仪器

LRVM-MHS-BE型高频震动研磨机(山东龙脉科技发展有限公司); Winner 99C型静态颗粒图像仪, Winner2005、Winner3003型智能型激光粒度分析仪(济南微纳颗粒仪器股份有限公司); 1100型HPLC仪(美国Agilent公司); AG285型电子分析天平 [$d=0.01$ mg, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; FA1004型电子分析天平 ($d=0.1$ mg, 上海精科天平仪器厂); KQ5200DB型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为110703-200726、110754-200822、110704-200921); 乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 其他试

[△] 基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目资助课题(No.2010CB735604)

* 高级工程师, 硕士。研究方向: 中药新药研发。电话: 0539-8336639。E-mail: yihelaosou@163.com

剂均为分析纯。

1.3 药材

红参药材由鲁南制药集团股份有限公司提供,经该公司闫光军高级工程师鉴定为人参 *P. ginseng* C. A. Mey. 的栽培品经蒸制后的干燥根和根茎;红参超微粉是将红参药材采用高频震动研磨机于 5~10 °C 研磨制备所得。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别

本品粉末呈淡黄白色,多见黄绿色细小颗粒;完整导管不可见,梯纹或网纹导管碎片多见,长度小于 52 μm;完整草酸钙簇晶不可见,偶见碎片。红参超微粉的显微鉴别图见图 1。

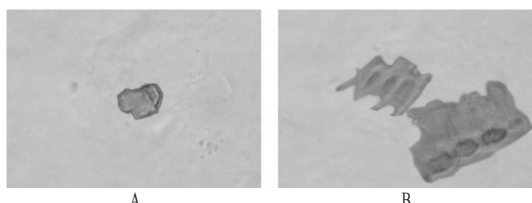


图 1 红参超微粉的显微鉴别图

A. 簇晶碎片(400×); B. 导管碎片(400×)

Fig 1 Microscopic identification of Red Ginseng ultra-micro powder

A. cluster crystal fragment(400×); B. vessel fragment (400×)

2.2 TLC 鉴别

取本品粉末 1 g,加三氯甲烷 40 ml,加热回流 1 h,弃去三氯甲烷液,药渣挥干溶剂,加水 0.5 ml 搅拌湿润,加水饱和的正丁醇 10 ml,超声(功率:160 W,频率:40 kHz)处理 30 min,吸取上清液,加入 3 倍量氨试液,摇匀,放置分层,取上层液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb_1 对照品各适量,加甲醇制成每 1 ml 各含 2 mg 的混合溶液,作为混合对照品溶液。照 TLC 法^[8]试验,吸取上述两种溶液各 1~2 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10, V/V/V/V) 10 °C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 105 °C 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与混合对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。红参超微粉的 TLC 图见图 2。

2.3 粒径检测

2.3.1 分散介质的选择 取红参超微粉约 0.03 g,分别以水、50% 乙醇、乙醇和空气作为分散介质,置激光粒度分析仪中测定粒径(D),结果见表 1(表中 D10、D50、D90 分别表示分布曲线中累积分布为 10%、50%、90% 时的最大颗粒的等效直径, D_{av} 表示平均粒径,下表同)和图 3。

表 1 和图 3 结果表明,以乙醇作分散介质, D50、D90 值偏大,分散性差;以水作分散介质,有一定溶解性, D50、D90 值偏小;以空气和 50% 乙醇作分散介质, D50、D90 值相近,但 50% 乙醇作分散介质分散得更好一些,故确定以 50% 乙醇作为分散介质进行粒度分布测定。

2.3.2 重复性试验 取红参超微粉样品(批号:20120311)适

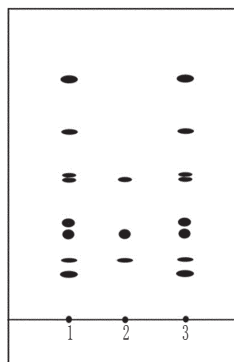


图 2 红参超微粉的 TLC 图

1、3.红参超微粉;2.人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 混合对照品

Fig 2 TLC chromatograms of Red Ginseng ultra-micro powder

1, 3.Red Ginseng ultra-micro powder; 2.mixed control of ginsenoside Rg_1 , ginsenoside Re and ginsenoside Rb_1

表 1 分散介质考察结果

Tab 1 Determination of disperse medium

分散介质	超声时间,s	仪器型号	D10, μm	D50, μm	D90, μm	D_{av} , μm
水	120	Winner2005	6.196	15.778	31.668	18.078
50%乙醇	120	Winner2005	3.571	17.054	36.408	18.726
乙醇	120	Winner2005	6.417	22.360	49.689	25.585
空气	-	Winner3003	8.699	18.903	35.885	21.337

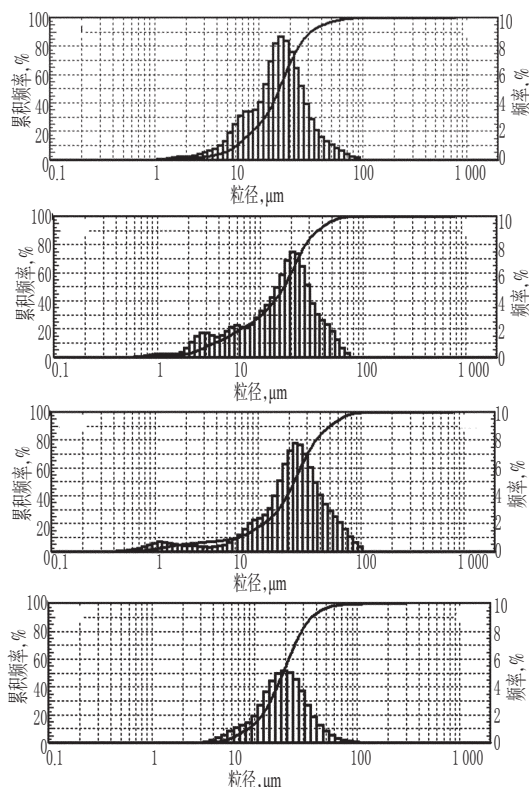


图 3 红参超微粉的粒径

A. 水为分散介质; B. 50% 乙醇为分散介质; C. 乙醇为分散介质; D. 空气为分散介质

Fig 3 Particle diameter of Red Ginseng ultra-micro powder

A. water as disperse medium; B. 50% alcohol as disperse medium; C. alcohol as disperse medium; D. air as disperse medium

量,平行 6 份,按上述方法进行粒径检测,结果见表 2。

2.3.3 样品粒径检测 取3个批次的红参超微粉样品各3份,按上述方法进行粒径检测,结果见表3。

表2 粒径检测重复性试验结果(n=6)

Tab 2 Results of reproducibility test of particle diameter (n=6)

编号	D10, μm	D50, μm	D90, μm	Dav, μm
1	3.617	16.455	34.987	18.224
2	3.429	16.896	33.742	17.943
3	3.563	17.103	36.419	18.731
4	3.349	16.658	35.443	18.564
5	3.523	16.987	35.392	18.445
6	3.466	16.911	35.249	18.421
RSD, %	2.77	1.41	2.46	1.50

表3 不同批号红参超微粉的粒径检测结果(n=3)

Tab 3 Determination of particle diameter in different batches of Red Ginseng ultra-micro powder (n=3)

批号	D10, μm	D50, μm	D90, μm	Dav, μm
20120311	3.463	16.834	34.538	18.213
20120312	3.125	14.223	32.089	16.768
20120313	3.559	17.356	36.238	19.065

2.4 样品含量测定

2.4.1 色谱条件^[6] 色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~35 min,19% A;>35~55 min,19%→29% A;>55~70 min,29% A;>70~100 min,29%→40% A);流速:1 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长:203 nm。精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各10 μl,按上述色谱条件进样分析。结果显示,各色谱峰的峰形和分离度均较好,可以准确测定待测成分的峰面积,并以峰面积进行定量分析。色谱见图4。

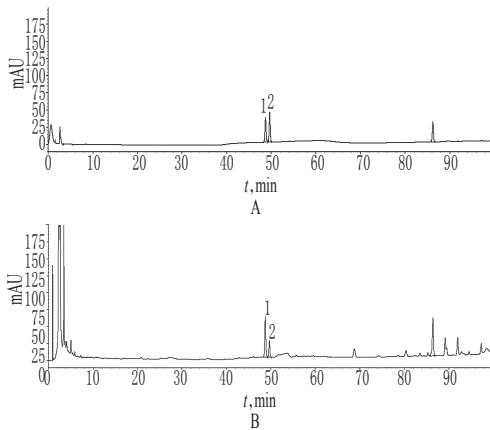


图4 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.红参超微粉;1.人参皂苷Rg₁;2.人参皂苷Re;3.人参皂苷Rb₁

Fig 4 HPLC chromatograms

A.mixed control;B.Red Ginseng ultra-micro powder;1.ginsenoside Rg₁;2.ginsenoside Re;3.ginsenoside Rb₁

2.4.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过四号筛)约1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入以水饱和的正丁醇50 ml,密塞,超声处理(功率:250 W,频率:50 kHz)30 min,滤过。精密量取续滤液25 ml,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移

至5 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4.3 混合对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁对照品适量,用甲醇制成质量浓度分别为1.043、1.079、1.139 mg/ml的混合对照品贮备液,备用;再取1 ml上述混合对照品贮备液,置5 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品贮备液1、2、4、8、10 μl,按上述色谱条件进样分析,各进样3次,取平均值。以对照品质量浓度(x, mg/ml)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,结果见表4。

表4 回归方程和线性范围

Tab 4 Regression equations and linear ranges

对照品	回归方程	线性范围/μg	r
人参皂苷Rg ₁	y=297.41x-0.83	1.043~10.430	0.999 9
人参皂苷Re	y=326.13x-2.23	1.079~10.790	0.999 9
人参皂苷Rb ₁	y=231.47x+1.51	1.139~11.390	0.999 9

2.4.5 精密度试验 取混合对照品溶液适量,按上述色谱条件连续进样5次,测定峰面积。结果显示,人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁的RSD分别为0.30%、0.44%、0.61%(n均为5),表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性考察 取同一批红参超微粉样品(批号:20120311)的供试品溶液适量,按上述色谱条件分别于制备后0、2、4、8、12、24 h进样分析,测定峰面积。结果显示,人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁的RSD分别为0.71%、0.81%、0.65%(n均为6),表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.4.7 重复性考察 取同一批红参超微粉样品(批号:20120311)适量,共6份,分别按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样分析,测定峰面积。结果显示,人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁的RSD分别为0.82%、1.02%、0.99%(n均为6),表明本方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 取已知含量的同一批红参超微粉(批号:20120311)6份,每份0.5 g,精密称定,分别精密加入混合对照品溶液适量,按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样分析,测定峰面积,计算加样回收率,结果见表5。

2.4.9 样品含量测定 精密称取3个批次的红参超微粉样品各3份,分别按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样分析,测定峰面积,以外标法计算样品中3种成分的含量,结果见表6。

3 讨论

中药材成分溶出传质的过程中,限速阶段主要是受细胞膜阻碍,药材细胞破壁后,失去了细胞膜的屏障,溶出就类似于普通的固体溶解,所以药材粉碎达到破壁要求即可,过细不仅增加了能量消耗,对成分的溶出也未必有利^[12]。笔者制备的红参超微粉,D90<40 μm,D50<20 μm,显微组织结构特征发生显著变化,见不到完整的细胞、导管、簇晶等鉴别特征,只能见到细小碎片,表明红参超微粉细胞破壁较完全。

在粒径测定方面,笔者考察了多种分散介质。由于红参

表5 加样回收率试验结果($n=6$)
Tab 5 Results of recovery tests($n=6$)

成分	取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
人参皂苷R _g	0.500 9	1.713	1.709	3.449	101.58		
	0.501 5	1.715	1.709	3.465	102.39		
	0.500 5	1.712	1.709	3.421	100.02	100.27	1.44
	0.502 1	1.717	1.709	3.401	98.53		
	0.501 2	1.714	1.709	3.414	99.47		
	0.502 3	1.718	1.709	3.420	99.60		
人参皂苷R _e	0.500 9	0.576	0.582	1.150	98.62		
	0.501 5	0.577	0.582	1.180	103.66		
	0.500 5	0.576	0.582	1.160	100.42	100.52	1.95
	0.502 1	0.577	0.582	1.170	101.82		
	0.501 2	0.576	0.582	1.150	98.56		
	0.502 3	0.578	0.582	1.160	100.06		
人参皂苷R _{b₁}	0.500 9	2.204	2.206	4.420	100.46		
	0.501 5	2.207	2.206	4.400	99.43		
	0.500 5	2.202	2.206	4.450	101.89	100.28	1.08
	0.502 1	2.209	2.206	4.440	101.12		
	0.501 2	2.205	2.206	4.390	99.04		
	0.502 3	2.210	2.206	4.410	99.72		

表6 不同批号红参超微粉中3种成分的含量测定结果(% , $n=3$)

Tab 6 Content determination of 3 components in different batches of Red Ginseng ultra-micro powder(% , $n=3$)

批号	人参皂苷R _g	人参皂苷R _e	人参皂苷R _{b₁}
20120311	0.342	0.115	0.440
20120312	0.339	0.116	0.442
20120313	0.320	0.111	0.408

超微粉吸水性强,在疏水性溶剂中虽溶解性差,但分散性不好。经多种介质筛选,发现在水中分散性好,但因溶解而致粒径偏小;以空气和50%乙醇作为分散介质,D50和D90值相近,分散较好,但粒径 $<10\mu\text{m}$ 的颗粒吸附作用强,在空气中不能分散开,所以在空气中测得的D10明显大于在50%乙醇中所测值,故选择50%乙醇作为分散介质,能够更好地反映实际粒度分布情况。

本研究在粒径控制上,不仅使用了激光粒度分析仪进行测定,还使用了扫描电镜观察超微粉粒径,结果发现超微粉粒

径均较小;但由于电镜在粒径大小的控制方面上有一定难度,故只作参考,不纳入本质量标准研究中。

在含量测定时,对供试品溶液的制备方法与《中国药典》所载方法进行了比较,发现本研究采用的方法更简便,所得结果与药典法比较差异无统计学意义,故确定了文中方法。

综上,本研究所建立的方法简便、准确、重复性好,可用于红参超微粉的质量控制。

参考文献

- [1] 杨海涵,李犹平,黄建国.中药超微粉概述及其防控猪病的研究进展[J].兽医导刊,2011(5):47.
- [2] 杨松,丁善磊.中药超微粉碎研究进展[J].黑龙江科技信息,2011(11):35.
- [3] 张水寒,邵怡,梁雪娟,等.番泻叶超微饮片与不同粉体溶出度的比较研究[J].中国药房,2012,23(11):989.
- [4] 吴艳萍,李渠筹,刘强.延胡索细粉与超微粉溶出度比较[J].中国药房,2010,21(19):1795.
- [5] 金毅.中药超微粉碎研究进展[J].山东中医杂志,2011,30(9):677.
- [6] 陈绪龙,赵国巍,廖正根,等.当归超微粉体和普通粉体的粉体学性质比较[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(18):1.
- [7] 易延遂,张璐,刘莉,等.超微粉与普通粉田七痛经胶囊比较研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):34.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:143、附录34.
- [9] 詹若挺,刘敏,严萍,等.红参破壁粉粒中人参皂苷成分的含量测定[J].广州中医药大学学报,2011,28(2):183.
- [10] 郭学东.比较红参普通粉碎和微粉化处理的溶出速率[J].首都医药,2000,7(9):47.
- [11] 杨丽玲,吴铁.不同粉碎度对人参皂苷3种不同单体提取率影响[J].长春中医药大学学报,2009,25(5):669.
- [12] 贺福元,邓凯文,罗杰英.中药复方成分提取动力学数学模型的初步研究[J].中国中药杂志,2007,32(6):490.

(收稿日期:2013-01-25 修回日期:2013-04-08)

第一届食品安全国家标准审评委员会第九次主任会议在京召开

本刊讯 2013年12月20日,第一届食品安全国家标准审评委员会第九次主任会议在北京召开。国家卫生和计划生育委员会主任、审评委员会主任委员李斌出席会议。会议由国家卫生和计划生育委员会副主任、审评委员会常务副主任委员陈啸宏主持。

李斌肯定了食品安全标准工作取得的成绩,强调要认真贯彻落实党中央、国务院决策部署,扎实做好食品安全标准各项工作。一是完善食品安全标准管理制度,加强部门协调配合,充实审评委员会专家队伍,完善审评工作机制;二是抓好食品安全国家标准整合工作,加强基础性技术研究,重点解决现行食品安全标准交叉、重复、矛盾等问题,确保标准的科学

性;三是全面推进食品安全国家标准制定、修订工作,补充急需的食品安全标准,同时要立足长远,提前谋划,研究“十三五”食品安全标准工作规划;四是做好食品安全标准宣传贯彻工作,作为服务百姓健康活动的重要内容,加强标准宣传和解读释义,推进标准有效实施。

目前,国家卫生和计划生育委员会会同相关部门建立健全食品安全标准管理制度,加强重点食品安全标准制定、修订工作,已公布实施407项食品安全国家标准,基本完成食品标准清理工作。会议还审议通过了审评委员会2013年度工作报告和18项食品安全国家标准草案。