

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.

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

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 cân 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 cân ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T_2 (g).

Xác định bột da tan trong nước

Lấy chính xác 100 ml nước cất, thêm 6 g bột da khô. Lắc đều trong 15 min và lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc bốc hơi đến khô, sấy cân ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T₀ (g). Hàm lượng phần trăm (X %) taninoid trong dược liệu được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{(T_1 - T_2 + T_0) \times 10}{a} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng dược liệu (g).

Phương pháp 2

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg acid galic chuẩn vào một bình định mức 100 ml màu nâu, thêm nước để hòa tan và vừa đủ đến vạch. Hút chính xác 5 ml dung dịch trên vào bình định mức 50 ml màu nâu, thêm nước vừa đủ, lắc đều (dung dịch có nồng độ acid galic khoảng 0,05 mg/ml).

Xây dựng đường chuẩn: Hút chính xác lần lượt 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml dung dịch chuẩn vào các bình định mức 25 ml riêng biệt màu nâu, thêm vào mỗi bình 1 ml thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT), sau đó thêm lần lượt 11 ml, 10 ml, 9 ml, 8 ml, 7 ml nước vào các bình tương ứng, thêm dung dịch natri carbonat 29 % (TT) đến vạch, lắc đều, để yên 30 min. Đo độ hấp thụ của các dung dịch thu được ở 760 nm (Phụ lục 4.1), chuẩn bị song song một mẫu trắng. Xây dựng đường chuẩn với độ hấp thụ là trục tung và nồng độ dung dịch là trục hoành.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột dược liệu (theo quy định của chuyên luận riêng) vào bình định mức 250 ml màu nâu, thêm 150 ml nước, để qua đêm, sau đó lắc siêu âm trong 10 min, để nguội, thêm nước vừa đủ, lắc đều, để lắng. Lọc, bỏ 50 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 20 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml màu nâu, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Tiến hành

Hàm lượng polyphenol toàn phần: Hút chính xác 2 ml dung dịch thử vào bình định mức 25 ml màu nâu. Thêm 1 ml thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT), trộn đều, thêm 10 ml nước, thêm dung dịch natri carbonat 29 % (TT) đến vạch, lắc đều, để yên 30 min, đo độ hấp thụ của dung dịch thu được như phương pháp trên và tính toán hàm lượng polyphenol theo acid galic trong dung dịch thử dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein: Hút chính xác 25 ml dung dịch thử vào bình nón nút mài 100 ml đã có 0,6 g casein, đậy kín. Đặt bình trong cách thủy ở nhiệt độ 30 °C trong 1 h, lắc đều, để nguội. Lọc, loại bỏ khoảng 5 ml dịch lọc đầu tiên, hút chính xác 2 ml dịch lọc sau cho vào bình định mức 25 ml màu nâu. Thêm 1 ml

thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT), trộn đều, thêm 10 ml nước và pha loãng bằng dung dịch natri carbonat 29 % đến vạch, lắc đều, để yên 30 min, đo độ hấp thụ của dung dịch thu được như phương pháp trên và tính toán hàm lượng polyphenol theo acid galic trong dung dịch dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

Tính kết quả

Hàm lượng taninoid tính theo acid galic trong dược liệu được tính theo công thức:

Taninoid toàn phần = (Hàm lượng polyphenol toàn phần) - (Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein).

12.7 ĐỊNH LƯỢNG TINH DẦU TRONG DƯỢC LIỆU

Tinh dầu trong dược liệu được định lượng bằng cách cất kéo hơi nước trong dụng cụ cất như mô tả ở Hình 12.7. Dịch cất được hứng vào một ống chia độ, sử dụng xylen để giữ lại tinh dầu, pha nước được chảy tự động trở lại bình cất.

Dụng cụ

Dụng cụ định lượng tinh dầu bao gồm các bộ phận sau:

a) Một bình cầu thủy tinh đáy tròn có cổ ngắn với đường kính trong khoảng 29 mm.

b) Bộ phận ngưng cất (xem hình 12.7) nối kín được với bình cất, được làm từ thủy tinh có hệ số giãn nở thấp, bao gồm các bộ phận sau:

Khóa K' có một lỗ thông khí, nhánh K có một lỗ đường kính khoảng 1 mm trùng khớp với lỗ thông khí, bề mặt cuối của nhánh K là thủy tinh mài có đường kính trong 10 mm.

Bầu hình quả lê J có thể tích 3 ml.

Ống JL chia vạch đến 0,01 ml.

Bầu tròn L có thể tích khoảng 2 ml.

M là một vòi 3 nhánh.

Điểm nối B cao hơn 20 mm so với vạch chia độ trên cùng.

c) Bộ phận đốt nóng có thể điều chỉnh được nhiệt độ.

d) Giá đỡ thẳng đứng với vòng đỡ nằm ngang có gắn vật liệu cách điện.

Tiến hành

Cho một thể tích dung môi cất theo quy định vào bình cất, thêm vài mảnh đá bọt và lắp bộ ngưng cất vào. Thêm nước qua phễu N tới mức B. Mở khóa K', dùng pipet cho vào 0,5 ml xylen (TT) trừ khi có chỉ dẫn khác (tựa đầu pipet vào phía cuối của nhánh K). Đóng khóa K' sao cho lỗ thông trùng khớp. Đun bình cho đến sôi, sau đó nếu không có chỉ dẫn gì khác thì điều chỉnh tốc độ cất sao cho cất được 2 ml/min đến 3 ml/min.

Xác định tốc độ cất như sau:

Mở vòi 3 nhánh M để hạ mức dịch cất trong ống đến vạch (a) của bầu (J), khóa vòi M lại và xác định thời gian cần thiết để cất được đến vạch (b).