

实验技术与方法

紫外分光光度法测定保健食品中总蒽醌的含量

蔡晓李宏

(四川省疾病预防控制中心,四川成都 610041)

摘要:目的 建立保健食品中总蒽醌含量的紫外分光光度测定方法。方法 利用蒽醌类化合物遇碱显红色或紫红色的反应原理(Borntragers 反应),直接测定试样溶液在 525 nm 波长处的吸收度。结果 对照品 1,8-二羟基蒽醌浓度在 0.002 ~ 0.016 mg/ml 范围内吸收度与浓度呈良好的线性关系, $r = 0.9998$, 平均回收率 99.83%, RSD 为 2.47%。结论 紫外分光光度法灵敏、快速、准确、成本低,适用于保健食品中总蒽醌的测定。

关键词:分光光度法,紫外线,营养保健品,蒽醌类

Determination of Total Anthraquinones in Health Foods by Direct Ultraviolet Spectrophotometry

CAI Xiao, LI Hong

(Sichuan Provincial Center for Disease Prevention and Control, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of total anthraquinones in health foods. **Method** Color reaction (Borntragers reaction) occurs sensitively when anthraquinones meet alkalis, producing stable red or purple-red color. The absorption value of the colored sample solution was measured at 525 nm. **Results** The calibration curve indicated that the absorptivity was linearly correlated with the concentration of 1,8-dihydroxy anthraquinone in the range of 0.002 ~ 0.016 mg/ml ($r = 0.9998$). The average recovery of 1,8-dihydroxy anthraquinone was 99.83% and the RSD was 2.47%. **Conclusion** The method is accurate, sensitive, quick and cost-effective and can be used to determine total anthraquinones in health foods.

Key word: Spectrophotometry, Ultraviolet; Dietary Supplements; Anthraquinones

蒽醌类化合物是决明子、大黄、何首乌、芦荟等的主要活性成分,其中包括大黄酸(rhein)、大黄素(emodin)、土大黄素(chrysaron)、芦荟大黄素(alae-emodin)、大黄素甲醚(phycion)、异大黄素(iso-emodin)、大黄酚(chrysophanol)以及与葡萄糖形成的苷等^[1]。蒽醌及其苷具有多方面的生理活性,主要表现为降血糖^[2]、降胆固醇、利尿通便、抗氧化和抗过氧化,促智、抗衰老^[3,4]等。但是蒽醌类化合物,也有一定的副作用,剂量过大会引起胃肠的各种不适。严重的可能会导致胃肠出血、呼吸困难、心悸。近年来含有蒽醌类化合物的保健食品增多,蒽醌类成分保健食品的质量控制十分重要。目前蒽醌类成分含量测定方法有分光光度法^[5]、高效液相色谱法^[6]、毛细管电泳法(CZE)^[7]、毛细管电色谱法(CEC)^[8]、还有气质谱法联用法(GC-MS)^[9]等,这些方法大多数仪器较昂贵,用于分离纯化植物化学成分成本较高,本实验选用紫外分光光度法对保健食品中总蒽醌进行测定。

1 材料与方法

1.1 材料 UV-1501 分光光度计(日本岛津)、

METTLER TOLEDO AG135 型十万分之一电子天平(德国)、METTLER AJ100 型万分之一电子天平(德国)。

1,8-二羟基蒽醌(中国药品生物制品检定所,批号为 9702,供含量测定),其他试剂均为分析纯。

标准溶液 精密称取 1,8-二羟基蒽醌 2 mg,置 25 ml 容量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,摇匀(浓度为 80 $\mu\text{g/ml}$),备用(低温保存)。

样品供试液 准确称取样品 1.00 ~ 5.00 g(依样品中总蒽醌的含量确定取样量),加水(10 ~ 50 ml),溶解(必要时加热溶解),加入盐酸或混合酸(25%盐酸 2 ml,冰醋酸 18 ml)调至 pH 1,在沸水浴回流水解 30 min,冷却,于分液漏斗中,用氯仿 30、20、20 ml 分次萃取,合并氯仿萃取液。用水 30、20 ml 分次洗涤氯仿萃取液,弃去水液,氯仿萃取液用蒸发皿在水浴上蒸干,用甲醇溶解定量 25 ml,备用。

2 结果

2.1 检测波长的选择 精密吸取 1,8-二羟基蒽醌标准溶液、试样、阴性对照液各 2 ml,置具塞试管中,分别用混合碱溶液定容至 10 ml,暗处放置 30 min。以混合碱溶液为空白,在 400 ~ 700 nm 波长范围内扫描,结果,1,8-二羟基蒽醌最大吸收峰波长为

525 nm,试样的最大吸收波长与1,8-二羟基蒽醌标准相同,其阴性供试液在此波长处无吸收,故选择525 nm波长作为总蒽醌含量的测定波长。

2.2 校正曲线制备 精密吸取1,8-二羟基蒽醌标准溶液(80 μg/ml)0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 ml分别置于10 ml具塞比色管中,加甲醇至2.0 ml,再加混合碱溶液(等体积10%NaOH和4%NH₄OH混合)至刻度,于暗处放置30 min,用混合碱溶液为空白,在525 nm波长处测定吸光度,以浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,绘制校正曲线,计算回归方程为: $A = 38.0123C + 0.03628$, $r = 0.9998$,结果表明1,8-二羟基蒽醌浓度在0.002~0.016 mg/ml范围内线性关系良好。

2.3 稳定性试验 精密吸取1,8-二羟基蒽醌标准溶液1 ml及试样2 ml,按方法操作,显色后放置0、0.5、1.0 h后分别测定吸光度,结果表明,显色产物的颜色在1 h内稳定,RSD分别为0.28%和0.67%。

2.4 回收率试验 精密称取已知含量的样品1.447 g,按试样配制法配制各供试液备用,取试样(163.27 μg/ml)2 ml。分别加入1,8-二羟基蒽醌标准溶液(80 μg/ml)0.1、0.25、0.5 ml,依法测定,结果见表1。

表1 回收率试验结果

样品含量 (μg/ml)	加入标准品 量(μg/ml)	测得量 (μg/ml)	回收率 (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
1.891	0.80	2.678	98.43		
1.891	0.80	2.676	98.18		
1.891	2.00	3.860	98.45	99.84	2.47
1.891	2.00	3.850	97.95		
1.891	4.00	6.004	102.83		
1.891	4.00	6.019	103.19		

2.5 精密度试验 精密吸取1,8-二羟基蒽醌标准溶液1 ml,按2.2操作,结果分别为:7.97、7.95、7.95、7.95、7.95、7.95 μg/ml,RSD为0.103%($n=6$)。

2.6 重复性试验 精密吸取试样2 ml,按2.2操作,结果分别为:163.27、164.99、163.27、163.27、164.99、163.27 μg/ml,RSD为:0.54%($n=6$)。

2.7 试样含量测定 试样分析结果见表2。

表2 5种试样的总蒽醌含量测定结果($n=5$)

样品编号	批号	总蒽醌含量(μg/ml)	RSD(%)
1	20050122	361.61	0.38
2	20050508	587.69	0.62
3	20051015	78.91	0.45
4	20050203	813.34	0.37
5	20060401	182.82	0.25

3 讨论

3.1 保健食品中含蒽醌类成分的产品渐多,其配方

组成也较复杂,本法利用蒽醌类化合物遇碱显红色或紫红色的反应原理(Borntragers反应)^[10],直接测定样品中总蒽醌的含量,其显色灵敏且稳定,多种样品测定结果均表明,本方法测定准确,重现性好,省时、快速、成本低,为制定保健食品中总蒽醌的含量及质量标准提供了简便、实用的方法。

3.2 蒽醌类化合物常以葡萄糖苷结合形式存在于植物中,因此测定总蒽醌必须水解成游离型。样品的水解用酸量和水解时间,因为各种样品中的蒽醌类成分含量不一致,难以确定用酸的准确量,所以采用盐酸或混合酸调节提取液pH值至1较适合^[11],实验表明,沸水回流30 min,结合型蒽醌完全水解为游离型、参加显色反应。

3.3 相关资料介绍,在配制1,8-二羟基蒽醌标准液时,用冰醋酸配制制成含蒽醌0.8 mg/ml,临用时再用冰醋酸稀释10倍使用。在本实验中曾用此方法配制,但在加标准液为0.6、0.8、1.0 ml后,用混合碱液定容至10 ml显色时,出现无色实验表明标准液中的酸中和了混合碱,而至羟基蒽醌不能在碱性环境中产生显色反应,本方法改用甲醇配置标准溶液,避免了酸度带来的影响。

参考文献

- [1] 阴健,郭力弓.中药现代研究与临床应用[M].北京:学苑出版社,1994,61:316,369.
- [2] 郭丹杰,徐成斌,陈源泉.大黄对血管平滑骨细胞增殖影响的实验研究[J].中华内科杂志,1996,35(3):157-159.
- [3] 陈万生,徐红平,李力,等.大黄素-8-O-D吡喃葡萄糖苷的促智活性及其机制[J].中草药,2001,32(1):39-41.
- [4] 王庆利,林茂,刘耕陶.异位大黄素的体外抗氧化作用[J].中国药理学杂志,2001,36(12):810-811.
- [5] 陈军,方芸,刁西辉.比色法测定逐瘀扶正胶囊中蒽醌类成分的含量[J].药学实践杂志,2002,20(5):298-300.
- [6] 文岛俊幸,本山总良,齐藤文孝,等.高效液相色谱法测定何首乌和夜交藤中蒽醌类成分的含量[J].药物分析杂志,1996,16(4):219-221.
- [7] 纪松岗,柴逸峰,吴玉田,等.超临界流体萃取-胶束电动毛细管色谱法分离测定大黄中蒽醌类组分的含量[J].分析化学研究简报,1998,26(11):1388-1390.
- [8] 颜流水,王宗花,罗国安,等.梯度加压毛细管电色谱同时分离大黄提取液中5种蒽醌类化合物[J].高等学校化学学报,2004,25(5):827-830.
- [9] 唐成国.气相色谱-质谱联用分析蒽醌工作液的组成[J].化学研究与利用,2000,12(3):278-281.
- [10] 肖崇厚.中药化学[M].上海:上海科学技术出版社,1998:203.
- [11] 韩生银,代海香.降脂灵冲剂总黄酮及总蒽醌的测定[J].宁夏医学院学报,2001,23(2):106-107.

[收稿日期:2006-10-20]