

The Fluorescence Spectra of the Boiling Liquid of *Scutellaria baicalensis* Georgi

Xiaoting Liu¹, Lexin Wang^{2*}, Chang Wang², Xinyan Zhang²

¹Information Institute, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang

²Science Institute, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang

Email: 838820676@qq.com, wanglexin@126.com

Received: Jul. 22nd, 2018; accepted: Aug. 6th, 2018; published: Aug. 13th, 2018

Abstract

The fluorescence spectra of the three-dimensional fluorescence spectra of the boiling liquid of *Scutellaria baicalensis* Georgi in 450 - 530 nm and the relationship between the fluorescence intensity and the concentration and temperature were studied, with the fluorescence photometer RF5301 (SHIMADZU) made in Japan. It's found that there is a kind of fluorescent component in the boiling liquid, and the best excitation wavelength is 492 nm/534 nm. The fluorescence intensity increased with the concentration of *Scutellaria baicalensis* Georgi boiling. The regression equation between fluorescence intensity and concentration was $y = 0.213x + 145.68$, and the linear correlation coefficient was $R^2 = 0.9746$. The fluorescence intensity decreased with the increase of temperature, and the location of fluorescence peak did not change. The regression equation between fluorescence intensity and temperature was $y = -2.3428x + 442.89$, and the linear correlation coefficient was $R^2 = 0.9976$. The results show that there may be a fluorescent or fluorescence component in the baicalein solution. With the increase of temperature, the fluorescence intensity of the fluorophore is reduced. This experiment provides experimental basis for qualitative detection and analysis of *Scutellaria baicalensis* Georgi, and has a certain reference value for the selection of excitation wavelength in the diagnostic technology of light induced fluorescence.

Keywords

Scutellaria baicalensis Georgi, Three-Dimensional Fluorescence Spectrum, Concentration, Temperature

中药黄芩煮沸液的荧光光谱

柳晓婷¹, 王乐新^{2*}, 王 畅², 张欣艳²

¹黑龙江八一农垦大学信息学院, 黑龙江 大庆

²黑龙江八一农垦大学理学院, 黑龙江 大庆

*通讯作者。

Email: 838820676@qq.com, wanglexin@126.com

收稿日期: 2018年7月22日; 录用日期: 2018年8月6日; 发布日期: 2018年8月13日

摘要

利用日本岛津(Shimadzu) RF-5301PC荧光光度计,研究了激发波长在450~530 nm内黄芩煮沸液的三维荧光光谱,以及荧光强度与浓度、温度之间的关系。实验发现煮沸液中主要存在一种荧光组分,该组分最佳激发波长为 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 492 \text{ nm}/534 \text{ nm}$;荧光强度随着黄芩煮沸液浓度的增大逐渐增强,荧光强度与浓度之间所得回归方程为 $y = 0.213x + 145.68$,线性相关系数为 $R^2 = 0.9746$;荧光强度随着温度的增大而逐渐减小,荧光峰位置未发生改变,荧光强度与温度回归方程为 $y = -2.3428x + 442.89$,线性相关系数为 $R^2 = 0.9976$ 。实验表明,黄芩溶液中可能存在一种荧光型体或荧光组分,随温度的增大,荧光型体荧光强度降低。本实验为黄芩的定性检测分析提供了实验依据,对光诱导荧光光谱诊断技术中激发光波长的选择具有一定的参考价值。

关键词

黄芩, 三维荧光光谱, 浓度, 温度

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

黄芩(Huangqin, *Scutellaria baicalensis* Georgi)为唇形科草本植物黄芩的干燥根。该属植物约 300 多种,世界广布,我国有 100 种以上,其中可作为黄芩药用者约有 7 种左右[1]。它是我国传统常用中药材,应用历史悠久,需求数量很大,是全国中药材大品种之一。中医药典载本黄芩味苦性寒,入肺、心、胆、大肠经,有清热燥湿、泻火解毒、安胎的功能,对暑湿胸闷呕吐、肺热咳嗽、血热妄行、高热烦渴、湿热下痢等有良好功效。现代研究证明,黄芩主要含黄芩甙、黄芩素、汉黄芩素,汉黄芩甙、黄芩新素、 β -谷甾醇等成分。它的抗菌谱较广,对多种细菌、皮肤真菌、钩端螺旋体等都有抑制作用。黄芩还有降血压、镇静、利尿、保肝、利胆、抗过敏、解除平滑肌痉挛等作用。临床上用黄芩治疗小儿急性呼吸道感染、传染性肝炎、慢性气管炎、急性菌痢、肾盂肾炎等,均可获良效。研究中药黄芩煮沸液的荧光光谱可以了解黄芩发光规律,对中药饮用提供实验参考,为进一步研究黄芩与血液作用规律提供实验基础。

现已报道的检测黄芩的方法主要有比色法、薄层色谱(TLC)法、高效液相色谱法(HPLC)、毛细管胶束电泳色谱法(MECC)及毛细管电泳色谱法(CEC)等[2]。色谱方法通常需要较长的分析分离时间,与之相比,光谱法具有显而易见的快速特点,同时荧光分光光度法具有灵敏度高、选择性强、试样量少和方法简便等优点,因此在药物定性定量尤其是中药有效成分检测上的应用日趋广泛[3]。王丹等[4]采用 HPLC 指纹图谱方法对不同产地及生长方式的黄芩药材中的化学成分进行检测,该方法利用指纹图谱轮廓特征可对道地与非道地黄芩药材进行鉴别区分;陈影等[5]采用红外光谱与二维相关红外光谱技术,比较黄芩不同炮制饮片的红外图谱,发现其变化规律,多级红外特征图谱法可用于快速有效地分析和鉴定黄芩不同饮片,为深入诠释黄芩饮片的炮制原理提供参考;文春先等[6]利用 FT-IR 表征研究了黄芩药材及水提

物的化学组分,选择7个产地的黄芩药材,采用傅里叶红外光谱(FT-IR)测定其药材以及水提物的化学组分表征。目前,国内外已有许多关于中药光谱研究的报道,但有关中药黄芩煮沸液相关方面的研究报道还很少。本文利用荧光光谱选择合适激发和发射波长的方法[7]观测到沸水提取液中有一种荧光组分,可以用于黄芩的定性鉴别和荧光成分定量分析,这可为黄芩的鉴别和药理研究提供基础资料。

2. 实验样品与方法

2.1. 实验样品与仪器

样品:黑龙江省大庆市产(野生)黄芩、实验室自制蒸馏水。

仪器:RF-5301PC 荧光光度计(日本岛津 Shimadzu)、电子天平、温度计、酒精灯。

2.2. 实验方法

1) 取清洁过表面的大庆黄芩切片5 g,研磨成粉后置于烧杯中,加入100 ml蒸馏水,加热煮沸20 min,冷却后取上层清液作为标准溶液,使用时适当稀释。

2) 取2 ml标准溶液,稀释浓度为3.33 g/L的待测液,测定450~530 nm激发波长的荧光光谱。

3) 对黄芩的标准溶液依次进行稀释,用移液管移取1、2、3、4、5、6 ml分别溶于5 ml蒸馏水中(浓度依次为1.67、2.86、3.75、4.44、5.00、5.45 g/L),分别测定荧光光谱。

4) 在100 ml的容量瓶中分别加入一定浓度的黄芩煮沸液,用酒精灯水浴加热,分别测定20℃、25℃、30℃、35℃、37.5℃、40℃、45℃的荧光光谱。

5) 取被测样品5 mL,采用日本岛津荧光光度计RF-5301进行检测。激发波长范围450~530 nm,接收范围为450~530 nm,采样间隔0.5 nm,扫描速度:super,扫描缝宽均为5 nm。

3. 结果与分析

3.1. 黄芩三维荧光光谱

图1是大庆产黄芩水溶液的荧光光谱,实验选取450~530 nm范围,扫描缝宽均为5 nm。图1(a)可以看出,大庆黄芩的荧光主要分布在一个明显的区域,波长范围是490~650 nm。在450~464 nm范围内,分别用不同波长的激发光照射大庆黄芩水溶液,观察到光激发大庆黄芩水溶液只有一个荧光峰。可以看出534 nm处的光谱峰不随着激发波长的变化而变化,荧光强度随着激发波长的不同而改变,可以确定534 nm处为荧光峰。

在450~492 nm范围内,随着激发波长的增大,荧光峰位置不变,荧光强度逐渐增强。当激发波长为492 nm时,534 nm处的荧光峰强度较强;在492~500 nm范围内,随着激发波长的增大,荧光强度逐渐减小。

图1为中药黄芩煮沸液的三维荧光光谱及等高线光谱图,其中纵坐标为激发波长(λ_{ex}),范围在450 nm~530 nm;横坐标为发射波长(λ_{em}),范围在450~650 nm;荧光强度范围在0~1200,最大荧光峰对应的荧光强度为548.66,等高线表示荧光强度。图1中出现一个明显的荧光峰,可能由一种荧光组分产生的,此处荧光强度最大,激发波长位于492 nm,发射波长位于534 nm,荧光强度为548.669。

从大庆产黄芩水溶液荧光激发光谱可以得到:在400~525 nm内的光可以激发出荧光,强度较大的范围为450~500 nm。结果显示在492 nm出现吸收最大值,可知波长为534 nm的荧光发射对应的最佳激发光波长为492 nm。即最佳激发波长为 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 492 \text{ nm}/534 \text{ nm}$ 。

三维荧光光谱是一种形象的指纹图谱,其中包含物质组成和含量的信息,具有特征性,可以用于黄芩的定性鉴别。三维荧光等高线光谱很像人的指纹,正像每一个人都有不同特征的指纹一样,每一种物

质都有不同的化学组成,因而有不同特征的三维荧光指纹图谱。通过比较三维荧光指纹图谱的形状、荧光峰的位置和荧光强度,可以对中药材的真伪进行鉴别或对其品质优劣作出评价。三维荧光光谱同时反映了荧光强度随激发波长和发射波长的变化情况,因而能提供比常规荧光光谱和同步荧光光谱更完整的光谱信息[8],因此可以利用该性质对中草药进行鉴定。

实验为黄芩的定性检测分析提供了基础实验依据,对光诱导荧光光谱诊断技术中激发光波长的选择具有一定的参考价值。

3.2. 荧光强度与浓度之间的关系

按实验方法制得6份不同浓度(浓度依次为1.67、2.86、3.75、4.44、5.00、5.45 g/L)的黄芩煮沸液,分别对其进行荧光扫描。

如图2(a)为不同浓度黄芩煮沸液的激发光谱,接收范围510 nm~660 nm;图2(b)为黄芩煮沸液的发射光谱,接收范围460 nm~520 nm。从图2(a)可以看到,随着浓度的增大荧光峰位置不变,荧光强度明显增强,但浓度5.00 g/L和5.45 g/L的差别较小。图2(b)验证了,不同浓度黄芩溶液在固定激发波长492 nm处,荧光范围的波长分布基本相同。荧光强度与黄芩煮沸液浓度数据,如表1。

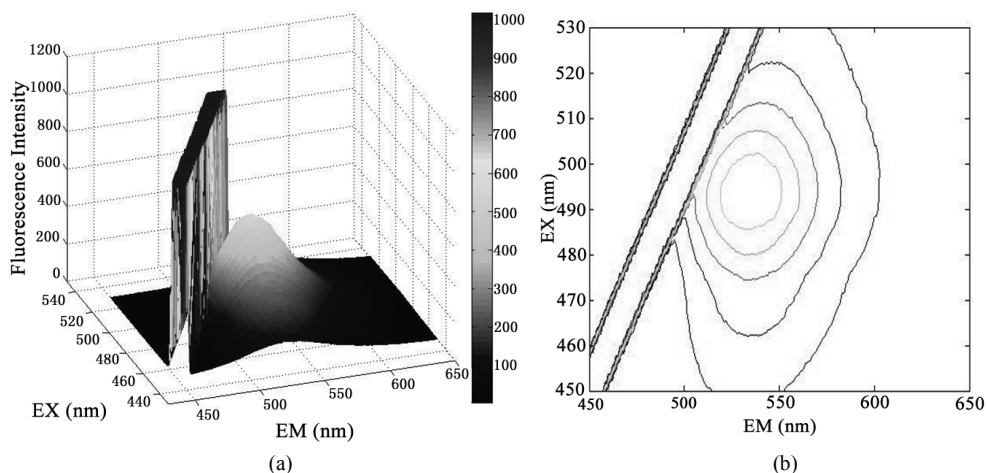


Figure 1. Three-dimensional fluorescence spectrum of *Scutellaria baicalensis* boiling liquid

图1. 黄芩煮沸液的三维荧光光谱

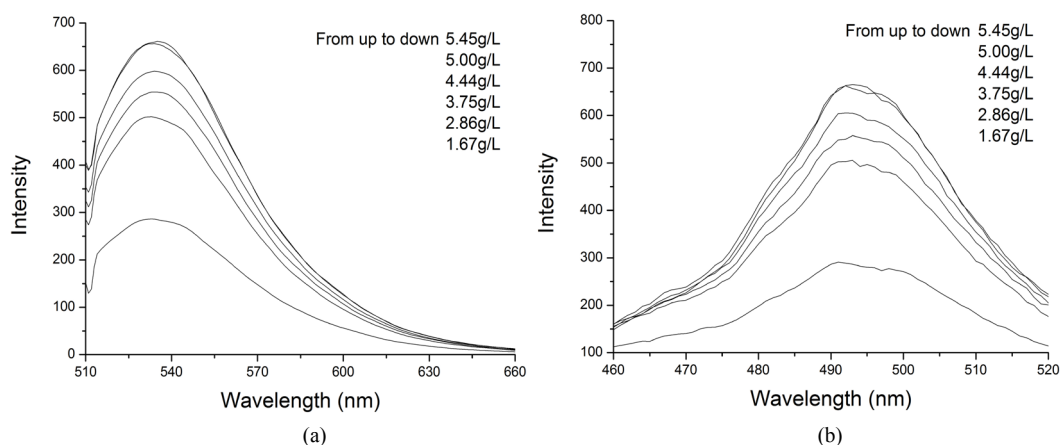


Figure 2. Excitation and emission spectra of *Scutellaria baicalensis* boiling liquid at different concentrations

图2. 不同浓度黄芩煮沸液的激发和发射光谱

Table 1. Excitation, emission wavelength and fluorescence intensity of *Scutellaria baicalensis* boiling liquid at different concentrations**表 1.** 不同浓度黄芩煮沸液的激发、发射波长和荧光强度

浓度 g/L	激发波长 λ_{ex} (nm)	发射波长 λ_{em} (nm)	荧光强度
1.67	495	533	286.49
2.86	495	533	469.97
3.75	495	534	545.47
4.44	495	534	597.68
5.00	495	535	660.61
5.45	495	534	680.18

根据实验数据及图 2 可知,随着黄芩煮沸液浓度的升高,荧光强度也逐渐增大,其荧光强度与黄芩煮沸液浓度呈线性关系。根据表 1,荧光强度与黄芩煮沸液浓度数据所得回归方程为 $y = 102.13x + 145.68$,线性相关系数为 $R^2 = 0.9746$ 。

在相同激发波长激励下,黄芩的荧光峰形、峰值不随浓度的增大而发生变化,但荧光强度发生浓度淬灭。溶液浓度的增大即荧光分子增多,荧光分子与其他分子之间相互作用,使荧光强度减弱,即发生荧光猝灭。溶液浓度的改变也会造成发光团浓度的变化,发射的荧光强度也相应改变。

荧光强度与浓度之间的线性关系为黄芩的定量分析提供了实验基础,但要具体测定黄芩中该组分的含量,需要该组分的标准溶液作对照,这就需要知道这种组分究竟是何种物质,并且获得这种物质的纯品,有关研究有待深入进行。

3.3. 荧光强度与温度之间的关系

在 100 ml 的容量瓶中分别加入一定浓度的黄芩煮沸液(温度实验选取 3.33 g/L 的黄芩溶液),用酒精灯水浴加热,用温度计测定选取温度在 20℃、25℃、30℃、35℃、37.5℃、40℃、45℃ 的黄芩溶液,测定荧光光谱。

实验选定黄芩溶液的最佳激发波长 492 nm,接受范围 510~640 nm,荧光强度范围 0~450。如图 3(a),黄芩水溶液随着温度的升高,荧光峰位置不变,峰形变化不大,荧光强度逐渐减小。图 3(b),是温度与荧光强度的线性关系图。

根据实验数据表 2 及图 3(b)可知,在相同激发波长下,随着黄芩煮沸液温度的升高,荧光强度逐渐减小,其荧光强度与温度呈线性关系。根据表 2,荧光强度与黄芩煮沸液温度数据所得回归方程为 $y = -2.3428x + 442.89$,线性相关系数为 $R^2 = 0.9976$ 。实验选取 40℃ 作为验证点,代入回归方程,荧光强度为 349.96,与表 2 数据相差不大。

随着温度的升高,黄芩的荧光峰峰形和峰位均不发生变化,但其荧光强度逐渐减弱。荧光强度随温度的升高而下降,说明经高温处理的黄芩中某些组分有可能发生了变化。温度降低会降低分子碰撞的概率,导致荧光产率增加,即荧光强度增大,而温度升高会使光照射物质时所诱发的荧光强度减小[9]。温度是分子平均动能的度量。温度升高,分子的平均动能增加,从而增大了荧光分子与溶剂分子碰撞猝灭的机会;温度降低,分子的平均动能减小,荧光分子与溶剂分子碰撞猝灭的几率减小。但荧光组分的变化没有造成荧光激发或发射波长的改变,仅仅是荧光强度的变化,其结构方面的原因有待进一步思考。想要具体知道组分是什么物质,还需要进一步的深入研究。

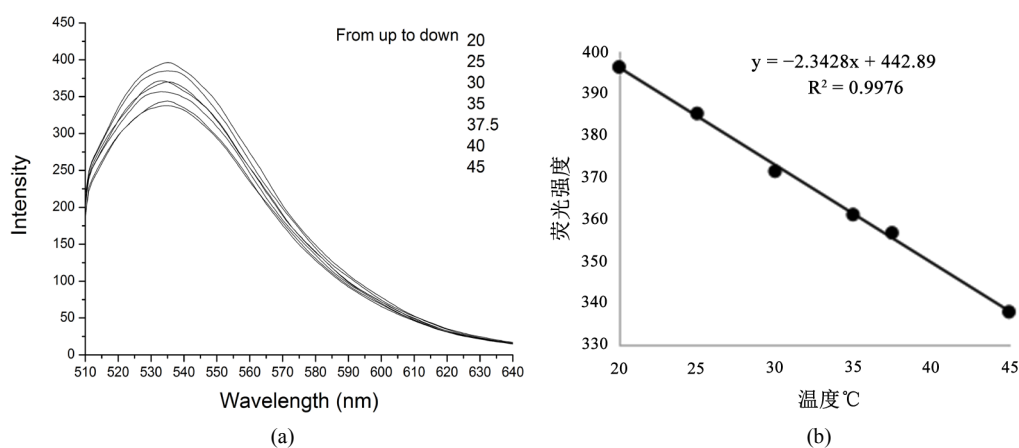


Figure 3. Fluorescence spectrum and linear relation of *Scutellaria baicalensis* boiling liquid at different temperatures
图 3. 不同温度黄芩煮沸液的荧光光谱和线性关系

Table 2. Excitation, emission wavelength and fluorescence intensity of *Scutellaria baicalensis* boiling liquid at different temperatures

表 2. 不同温度黄芩煮沸液的激发、发射波长和荧光强度

温度(°C)	激发波长 λ_{ex} (nm)	发射波长 λ_{em} (nm)	荧光强度
20	492	534	396.07
25	492	534	385.00
30	492	534	371.24
35	492	534	360.91
37.5	492	534	356.56
40	492	534	347.99
45	492	534	337.74

4. 结论

实验研究了 450~530 nm 范围内大庆产黄芩煮沸液的荧光光谱, 以及荧光强度与浓度、温度之间的关系; 实验可以用于黄芩的定性鉴别和荧光成分定量分析, 这对于黄芩的鉴别和药理研究有一定意义。得到如下结论:

1) 中药黄芩煮沸液中含有一种荧光组分。该组分在 450~492 nm 激发波长范围内, 随着激发波长的增大, 荧光峰位置不变, 荧光强度逐渐增强。当激发波长为 492 nm 时, 534 nm 处的荧光峰强度较强; 在 492~500 nm 激发波长范围内, 随着激发波长的增大, 荧光峰位置同样未发生改变, 但荧光强度逐渐减小。即最佳激发波长为 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 492 \text{ nm}/534 \text{ nm}$ 。

2) 荧光强度与溶液浓度之间的关系。不同浓度黄芩溶液在固定激发波长 492 nm 处, 荧光范围的波长分布基本相同, 但荧光强度随着黄芩浓度的增大而增大, 荧光强度与黄芩煮沸液浓度呈良好的线性关系 $y = 0.213x + 145.68$, 线性相关系数为 $R^2 = 0.9746$ 。

3) 荧光强度与溶液温度之间的关系。溶液温度在 20°C、25°C、30°C、35°C、37.5°C、40°C、45°C 时, 随着温度的增大, 荧光强度逐渐减小, 荧光峰位置不变, 其荧光强度与温度呈线性关系, $y = -2.3428x + 442.89$, 线性相关系数为 $R^2 = 0.9976$ 。表明, 温度升高, 分子的平均动能增加, 从而增大了荧光分子与溶剂分子碰撞猝灭的机会, 荧光强度降低; 温度降低, 分子的平均动能减小, 荧光分子与溶剂分子碰撞

猝灭的几率减小，荧光强度就高。

基金项目

黑龙江省自然科学基金资助项目(项目编号: F201427)。

参考文献

- [1] 康杰芳, 任婷婷. 中药黄芩的研究进展[J]. 陕西农业科学, 2016(4): 128-133.
- [2] 孟晓彩. 中药草豆蔻、黄芩活性成分的光谱性质及荧光分析法研究[D]: [硕士学位论文]. 石家庄: 河北师范大学, 2008.
- [3] 顾春峰, 兰秀凤, 于银山, 等. 牛奶水溶液的荧光光谱研究[J]. 光子学报, 2012, 41(1): 107-110.
- [4] 王丹, 张秋燕, 杨兴鑫, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的黄芩道地药材与非道地药材的鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 2013(12): 1951-1960.
- [5] 陈影, 刘慧, 李普玲, 等. 黄芩不同炮制饮片的红外光谱特征分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015(22): 77-81.
- [6] 文春先. 黄芩药材及水提物化学组分 FT-IR 表征的研究[C]//第三届中国中药商品学术年会暨首届中药葛根国际产业发展研讨会论文集. 北京: 中国商品学会中药商品专业委员会, 2012.
- [7] 陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 等. 荧光分析法[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1990.
- [8] 许金钩, 王尊本. 荧光分析法[M]. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2006: 154-159.
- [9] 王乐新. 人体血样的光谱特征探索与研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京航空航天大学, 2009.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2160-7567, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: app@hanspub.org