

紫外分光光度法测定望江南种子中总蒽醌含量

梁永洁^{1,2}, 张玉红^{1,2*}

¹东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨

²东北林业大学化学化工与资源利用学院, 黑龙江 哈尔滨

Email: *pzhangyh@126.com

收稿日期: 2021年2月14日; 录用日期: 2021年3月11日; 发布日期: 2021年3月22日

摘要

望江南是我国民间常用中药植物, 蒽醌是其种子中的主要成分。因紫外分光光度法仪器操作简单, 检测速度快, 成本低而常常被使用。实验用标准品1,8-二羟基蒽醌为材料, 紫外分光光度法检测1,8-二羟基蒽醌的入射光波长, 绘制标准曲线, 确定线性回归方程, 为望江南中总蒽醌的提取工艺研究提供计算依据。结果显示: 1,8-二羟基蒽醌的入射光波长为512 nm, 线性回归方程为 $Y = 4.4663X + 0.0093$, 相关系数 $R^2 = 0.9963$, 线性关系较好。方法学考察结果也显示该方法是简单稳定、重复性较好, 回收率高, 测定结果准确, 操作简便, 可作为望江南种子中总蒽醌含量测定的一种方法。

关键词

紫外分光光度法, 望江南种子, 总蒽醌

Determination of Total Anthraquinones in Seeds of *Senna occidentalis* by Ultraviolet Spectrophotometry

Yongjie Liang^{1,2}, Yuhong Zhang^{1,2*}

¹Key Laboratory of Forest Plant Ecology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

²College of Chemistry, Chemical Engineering and Resource Utilization, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

Email: *pzhangyh@126.com

*通讯作者。

Abstract

Senna occidentalis is a commonly used traditional Chinese medicine plant in China, and anthraquinone is the main ingredient in its seeds. The UV spectrophotometer is often used because of its simple operation, fast detection speed and low cost. The experiment uses standard 1,8-dihydroxyanthraquinone as the material, detects the incident light wavelength of 1,8-dihydroxyanthraquinone by Ultraviolet Spectrophotometry, draws a standard curve, determines the linear regression equation, and provide calculation basis for the research on the extraction process of total anthraquinone in seeds of *S. occidentalis*. The results show that the incident light wavelength of 1,8-dihydroxyanthraquinone is 512 nm, the linear regression equation is $Y = 4.4663X + 0.0093$, the correlation coefficient $R^2 = 0.9963$, and the linear relationship is good. The methodological investigation results also show that the method is simple, stable, good reproducible, high recovery rate, accurate and easy to operate. It can be used for the determination of total anthraquinone content in *S. occidentalis* seeds.

Keywords

Ultraviolet Spectrophotometry, *Senna occidentalis* Seeds, Total Anthraquinones

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

望江南(*Senna occidentalis* L.), 拉丁文异名: *Cassia occidentalis* L. [1], 又称野扁豆、狗屎豆、羊角豆、羊角菜、山绿豆、黎茶、假决明、假槐花、喉白草、山咖啡等, 为豆科(Fabaceae)决明属(*Senna*)的直立、少分枝的亚灌木或灌木植物, 原产美洲热带地区, 现广布于全球热带和亚热带地区, 望江南在我国主要分布于东南部、南部及西南部各省区及长江以南地区, 主要以野生为主, 常生于河边、滩地、旷野或山地的灌木丛或稀疏树林中, 也是村边荒地、路边常见野生植物[2]。望江南也是我国民间常用中药, 其性寒, 食之味苦稍甘, 有消毒, 清湿热, 健脾胃, 清肝明目, 消肿毒的作用, 在医药上常常将此植物用作缓泻剂, 种子炒后治疟疾; 根有利尿功效; 鲜叶捣碎治毒蛇、毒虫咬伤。但有微毒, 牲畜误食过量可以致死[3] [4]。其主要成分为蒽醌类化合物, 也是含量最高的成分, 主要包括包含 β -谷甾醇、胡萝卜苷、大黄素甲醚吡喃葡萄糖苷、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素、豆甾醇、5,7-二聚大黄素甲醚、1-棕榈酸单甘油酯、豆甾醇-3- β -D-吡喃葡萄糖苷、1,8-二羟基蒽醌、决明素以及橙黄决明等[5]。现代研究表明, 望江南具有多种生物活性, 如抗过敏、抗炎和抗氧化[6], 在抗真菌、抗糖尿病[7]、保肝[8]、降血脂和抗动脉粥样硬化[9]等方面表现出优势。

紫外分光光度计在化学分析方法中具有重要的作用, 能够针对于物质进行定性或者是定量分析, 其运行的基本原理就是利用物质在一定波长照射下所产生吸光度的大小, 吸光度和物质具有一定的联系, 能够通过比较吸光度来确定和分析物质的量[10], 并且方法准确、可行、简便。本论文以 1,8-二羟基蒽醌为标准物质, 采用紫外分光光度法检测 1,8-二羟基蒽醌的入射光波长, 绘制标准曲线, 确定线性回归方程, 为以后望江南中蒽醌的提取工艺研究提供前期基础和方便可行的检测方法。

2. 材料与方法

2.1. 实验仪器与药品

UV-2250 紫外 - 可见分光光度计(日本岛津公司)、KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、CenLee20K 台式高速离心机(湖南湘立科学有限公司)。

望江南种子(江苏宿迁)、无水乙醇(天津市永大化学试剂有限公司)、乙醚(国药试剂)、纯净水(自制)、甲醇(HPLC GradeSk chemical)、四水乙酸镁(上海麦克林生物制药有限公司)、1,8-二羟基蒽醌标准品(源叶生物)。

2.2. 标准溶液的配制

精细称取 1,8-二羟基蒽醌对照品 6 mg, 用乙醚溶解并定容于 25 ml 容量瓶中, 得到 0.24 mg/ml 标准品母液(避光保存)。

2.3. 测定波长的确定

精密量取 0.5 mL 1,8-二羟基蒽醌标准品母液与 10 ml 容量瓶中, 在通风良好处挥干乙醚, 所得残渣加入 0.5%的醋酸镁甲醇溶液, 溶解并定容至刻度线, 可得 0.012 mg/mL 的 1,8-二羟基蒽醌标准品溶液以 0.5%的醋酸镁甲醇溶液为空白对照, 用紫外 - 可见分光光度计在 200 nm~800 nm 的范围内进行全波长扫描, 确定 1,8-二羟基蒽醌最大吸收波长。

2.4. 标准曲线的绘制

精密称取标准溶液 0、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5 ml 分别置于 10 ml 的容量瓶中, 在通风橱中挥干乙醚或在水浴锅、烘箱中烘干残渣, 选择用 0.5%醋酸镁甲醇溶液定容在 10 ml 容量瓶中, 以 0.5%醋酸镁甲醇溶液为空白对照, 在所确定的波长下测定其吸光度值, 以 1,8-二羟基蒽醌标准品浓度为横坐标、吸光度值为纵坐标绘制标准曲线, 进行线性回归。

2.5. 样品溶液的制备

参考文献[11]并改良: 精细称取望江南种子粉 5 g, 用 60%的乙醇溶液、以 1:20 的比例, 超声 40 min 温度 60℃、功率 400 W, 提取蒽醌成分得到样品液, 4℃冰箱冷藏备用。

2.6. 数据处理与分析

所有数据均采用 Excel 2007 软件进行处理和统计分析。

3. 结果与分析

3.1. 最大吸收波长的确定

按 2.3 的方法, 用 UV-2250 紫外 - 可见分光光度计在 300~900 nm 波长范围扫描 0.012 mg/mL 的 1,8-二羟基蒽醌标准溶液, 测定吸光度。从图 1 结果可知, 1,8-二羟基蒽醌最大吸收波长为 512 nm, 所以实验选择入射光波长为 512 nm。

3.2. 标准曲线的绘制

选择上述确定的入射光波长 512 nm, 按 2.4 的实验方法, 测定不同浓度标准溶液的吸光度值。以标

准品浓度为横坐标、吸光度值为纵坐标绘制标准曲线, 进行线性回归, 得到回归方程为: $Y = 4.4663X + 0.0093$ ($R^2 = 0.9963$), 结果表明 1,8-二羟基蒽醌含量在 0.0024 mg/mL~0.012 mg/mL 呈良好的线性关系(图 2)。

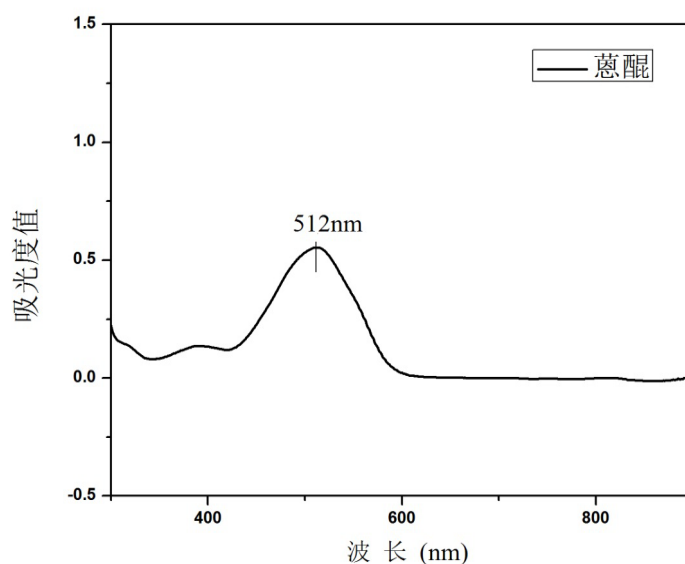


Figure 1. Absorption curve of 1,8-dihydroxyanthraquinone standard solution

图 1. 1,8-二羟基蒽醌标准溶液吸收曲线

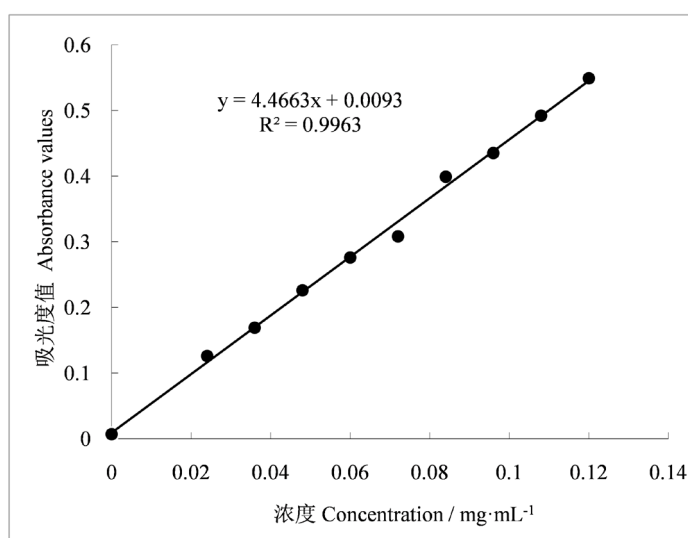


Figure 2. 1,8-Dihydroxyanthraquinone standard curve

图 2. 1,8-二羟基蒽醌标准曲线

3.3. 精密度考察

精密称取标准母液 0.3、0.4、0.5 ml 至 10 ml 容量瓶中, 挥发其中的乙醚, 用 0.5%醋酸镁甲醇溶液定容, 配置成浓度分别为 0.012 mg/ml、0.096 mg/ml 和 0.12 mg/ml 三个浓度的标准溶液, 在波长 512 nm 处分别重复测定其吸光度值 6 次, 结果显示 RSD 分别为 0.13%、0.08%和 0.08%, 说明仪器精密度良好(表 1)。

Table 1. Results of precision test**表 1.** 精密度实验结果

蒽醌含量 Anthraquinone content /mg·mL ⁻¹	吸光度值 Absorbance							平均值 Mean value	RSD %
	1	2	3	4	5	6	7		
0.012	0.387	0.387	0.387	0.386	0.386	0.387	0.387	0.386	0.13
0.096	0.521	0.520	0.521	0.521	0.521	0.521	0.521	0.520	0.08
0.12	0.647	0.648	0.648	0.647	0.647	0.647	0.647	0.647	0.08

3.4. 稳定性考察

按 3.3 中配置的分别为 0.012 mg/ml、0.096 mg/ml 和 0.12 mg/ml 三个浓度的标准溶液, 在波长 512 nm 处, 分别在 0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4 h 测定其吸光度值, 其 RSD 分别为 0.79%、0.98%和 0.83%, 说明供试品溶液在 4 h 内稳定性良好(表 2)。

Table 2. Results of stability test**表 2.** 稳定性实验结果

蒽醌含量 Anthraquinone content /mg·mL ⁻¹	不同时间(h)下的吸光度值 Absorbance at different time (h)									平均值 Mean value	RSD %
	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4		
0.012	0.389	0.387	0.387	0.386	0.390	0.391	0.394	0.393	0.394	0.390	0.79
0.096	0.529	0.525	0.529	0.529	0.524	0.537	0.538	0.534	0.536	0.531	0.98
0.12	0.653	0.657	0.655	0.659	0.651	0.666	0.665	0.665	0.60	0.659	0.83

3.5. 重复性考察

取 2 个批次望江南种子各 6 份, 按照 2.5 的方法制备样品溶液, 分别精密吸取 2.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用 0.5%醋酸镁甲醇溶液定容, 依次测定吸光度值, 其 RSD 分别为 0.87%和 0.90% ($n = 6$), 表明该方法的重复性较好(表 3)。

Table 3. Results of repeatability experiment**表 3.** 重复性实验结果

样品号 Sample No.	吸光度 Absorbance						平均值 Mean value	RSD %
	1	2	3	4	5	6		
1	0.702	0.706	0.710	0.717	0.712	0.718	0.710	0.87
2	0.733	0.728	0.720	0.726	0.739	0.732	0.729	0.90

3.6. 加样回收试验

精确量取 6 份已知浓度(0.0846 mg/L)的望江南蒽醌提取液 1.0 mL, 置入 10 ml 的容量瓶中, 分成 3 组, 分别加入浓度为 0.012 mg/mL 的标准品溶液 1.0 mL、2.0 mL 和 3.0 mL, 用 0.5%的醋酸镁甲醇溶液定容, 摇匀, 在 512 nm 处测定其吸光度值, 分别计算出加样回收率, 其平均值为 99.29%, RSD 为 0.58%, 说明该方法合理可行, 可用于望江南中蒽醌含量的测定(表 4)。

Table 4. Results of adding sample recovery rate
表 4. 加样回收率试验结果

组号 No.	原含量 Original content/mg	加入量 Added amount/mg	理论值 Theoretical value/mg	实测值 Measured value/mg	回收率 Recovery rate/mg	平均回收率 Mean recovery rate/mg	RSD %
1	0.0475	0.012	0.0595	0.0591	99.33		
	0.0475	0.012	0.0595	0.0586	98.49		
2	0.0475	0.024	0.0715	0.0709	99.16	99.29	0.58
	0.0475	0.024	0.0715	0.0708	99.02		
3	0.0475	0.036	0.0835	0.0831	99.52		
	0.0475	0.036	0.0835	0.0837	100.24		

4. 结论与讨论

蒽醌类化合物常存在于高等植物蓼科、豆科的决明属、百合科的芦荟属等植物中, 是植物中天然的次生代谢产物。根据文献报道, 蒽醌的提取方法有水蒸气蒸馏法、醇提取法、微波提取法、超声波法等[5]。对蒽醌的含量的测定有比色法、薄层色谱(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)和高效毛细管电泳法(HPCE)等方法[12]。比色法操作简单, 但显色液的稳定性往往较差, 也难以定量; 薄层色谱法操作相对复杂, 定量误差较大; 高效液相色谱法和高效毛细管电泳法虽分辨率高, 分离时间短, 进样量少, 但分析方法建立的探索相对不易且对分析工作者的实验技能要求也较高。本实验采用超声提取法, 以 1,8-二羟基蒽醌为对照品, 采用紫外分光光度法对 1,8-二羟基蒽醌的提取研究进行了入射光波长的测定, 标准曲线的绘制, 线性回归方程的确定, 结果为: 1,8-二羟基蒽醌的入射光波长为 512 nm, 线性回归方程为 $Y = 4.4663X + 0.0093$, 相关系数 $R^2 = 0.9963$, 线性关系良好。该方法精密度高, 稳定性强, 重复性较好, 回收率高, 操作简便, 测定结果准确, 可作为望江南种子中蒽醌含量测定的一种方法, 可用于望江南的后续实验研究中蒽醌含量分析及质量控制。

基金项目

国家科技支撑计划(2012BAD21B0501-07)资助。

参考文献

- [1] <http://www.iplant.cn/info/Cassia%20occidentalis?t=z>.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 39 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1988: 125.
- [3] 舒普荣. 中草药彩色图谱与验方[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1992: 230-231.
- [4] Silva, M.G.B., Aragão, T.P., Vasconcelos, C.F.B., Ferreira, P.A., Andrade, B.A., Costa, I.M.A., Costa-Silva, J.H., Wanderley, A.G. and Lafayette, S.S.L. (2011) Acute and Subacute Toxicity of *Cassia occidentalis* L. Stem and Leaf in Wistar Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **136**, 341-346. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.070>
- [5] 胡美群. 望江南有效成分的提取及抗哮喘活性研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江工业大学, 2018.
- [6] Sreejith, G., Latha, P.G., Shine, V.J., Anuja, G.I., Suja, S.R., Sini, S., Shyama, S., Pradeep, S., Shikha, P. and Rajasekharan, S. (2010) Anti-Allergic, Anti-Inflammatory and Anti-Lipidperoxidant Effects of *Cassia occidentalis*. *Indian Journal of Experimental Biology*, **48**, 494-498.
- [7] Prabh, S.S., Chetan, S. and Mann, A.S. (2011) Anti-Diabetic Activity of Leaves of *Cassia occidentalis*. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, **1**, 904-913.
- [8] Uzzi, H.O. and Grillo, D.B. (2013) The Hepato-Protective Potentials of Aqueous Leaf Extract of *Cassia occidentalis* against Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Adult Wistar Rats. *International Journal of Herbs and Pharmacological Research*, **2**, 6-13.
- [9] Fidèle, N., Barama, J., Emmanuel, T. and Théophile, D. (2017) Hypolipidemic, Antioxidant and Anti-Atherosclerogenic

Effect of Aqueous Extract Leaves of *Cassia occidentalis* Linn (Caesalpinaceae) in Diet-Induced Hypercholesterolemic Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **17**, Article No. 76. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1566-x>

- [10] 冉芳芳. 紫外可见分光光度计使用中的常见问题及处理[J]. 化工管理, 2020(12): 164-165.
- [11] 崔瀚元, 宋兆伟, 张越, 赵宪争. 响应面法优化决明子总蒽醌的超声辅助提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(21): 126-131.
- [12] 陈涵. 蒽醌类中药质量控制研究进展[J]. 临床荟萃, 2010, 25(22): 2018-2020.