

紫外光谱估测贵州天麻中的天麻素

张芙蓉 唐延林 辛荣 王志平 贾秀丽

(贵州大学理学院 贵阳市贵州大学花溪北校区 550025)

摘 要 采用高效液相色谱法和紫外光谱法测定名贵中药材贵州天麻样品中天麻素的含量, 选择在最大吸收波长 223nm 处, 分析天麻素含量与紫外光谱的吸光度数值之间的相关性。采用先聚类后回归的分析法进一步估测天麻中天麻素的含量。结果表明: 在 223nm 处, 天麻素含量与紫外光谱的吸光度数值呈显著相关, 其相关系数均达到 0.98 以上。对回归模型进行检验, 预测值与实测值吻合。这表明紫外光谱法可为系统评价贵州天麻等级提供理论依据和相关技术手段。

关键词 紫外光谱, 贵州天麻, 天麻素, 统计分析。

中图分类号: O 657. 32 文献标识码: B 文章编号: 1004-8138(2008)06-1112-04

1 引言

天麻(英文名为: *Gastrodia elata*, 拉丁学名为: *GasTCMLIB odiaelata Bl*) 是一种常用的名贵中药材, 以其块茎入药, 含有天麻素(对羟基苯甲醇- β -D-吡喃葡萄糖甙, *Gastrodia*), 并含有对羟基苯甲酸、对羟基苯甲醛、琥珀酸等多种化学成分。天麻的主要有效成分是天麻素($C_{13}H_{18}O_7$), 天麻素含量是天麻品质的一个重要指标。现代医学研究证明, 天麻素有明显的抗惊厥、镇痛作用, 主治头痛、眩晕、失眠、肢体麻木、癫痫抽搐、小儿惊风、高血脂、高血压等症。至今已有三千年的临床史。用以息风止痉, 平肝潜阳。天麻主产于贵州、四川、云南、湖北、陕西等地。其中以贵州者为地道药材, 习称“贵天麻”^[1-4]。目前可用荧光检查、化学定性、光谱鉴别等理化方法对天麻的真伪进行鉴别。其中荧光检查是利用天麻的乙醇提取液在紫外灯(365nm)下, 显碧绿色荧光; 化学定性是利用天麻乙醇提取液与硝酸盐作用, 加热, 溶液呈玫瑰红, 并发生黄色沉淀; 光谱鉴定根据天麻与伪品的特征峰位置不同来鉴别天麻的真伪^[2]。紫外光谱法是光谱鉴别中的一种, 有文献[5, 6]记载用紫外光谱法鉴别天麻的真伪, 以及用高效液相色谱法测定天麻素和紫外光谱法测定多糖来评价天麻的质量, 但还未见用此方法测定天麻素来鉴定天麻的优劣。

本研究采用高效液相色谱法测定贵州天麻中天麻素的百分含量, 同时测定样品的紫外光谱, 选择在天麻素的吸收峰且最大吸收波长 223nm 处, 分析天麻素含量与紫外光谱之间的相关性, 采用先聚类后回归的分析方法, 进一步估测天麻中天麻素的含量。为系统评价天麻的品质提供理论依据和控制技术。

国家自然科学基金项目(10664001)、贵州省自然科学基金项目(200507)、贵州省高层次人才特助项目(TZJF200609)和贵州大学博士启动项目

联系人, 手机: (0)13765102273; E-mail: frzhang0804@163.com

作者简介: 张芙蓉(1983), 女, 贵阳市人, 硕士研究生, 主要从事聚合物的混合光谱工作。

收稿日期: 2007-12-26; 接受日期: 2008-10-05

2 实验部分

2.1 实验材料

从贵阳市药材公司购买 4 种等级家种贵州天麻样品和一个野生贵州天麻样品, 分别记为 T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , T_5 。分析溶剂为乙醇。

2.2 测量方法

2.2.1 测量仪器

UV-V is Agilent 8453 型紫外分光光度计(美国安捷伦公司)。

2.2.2 样品制备

用精确度为万分之一的电子天平称取通过 60 目粉碎机粉碎的天麻试样 T_1 60mg, T_2 90.4mg, T_3 62.6mg, T_4 180mg, T_5 48mg, 分别加入 80% 乙醇, 浸一夜。过滤, 滤液分别置于 100mL 容量瓶中, 加 80% 乙醇至刻度。精密量取滤液 25、20、16、12、8、5mL 分别置于 25mL 容量瓶中, 用 80% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 备用。

2.2.3 光谱测定

用 1cm 吸收池, 以 80% 乙醇作空白。由于溶剂本身在紫外光区有吸收峰, 选择溶剂时, 组分的测定波长必须大于溶剂的极限波长^[7]。有文献记载乙醇的极限波长为 204nm^[8]、210nm^[9,10]、215nm^[7,11-13]、220nm^[14], 以及天麻素在紫外可见光区的吸收峰为 221nm 和 268nm (也有 270nm)^[15]、224nm 和 272nm^[16]。对样品在 220—400nm 范围内扫描, 在紫外光区有两个吸收峰, 分别为 223nm 和 270nm, 且 223nm 处的吸光度明显强于 270nm 处, 见图 1。于 223nm 左右波长处分别测定上述制备好的 30 个样本溶液的吸光度。

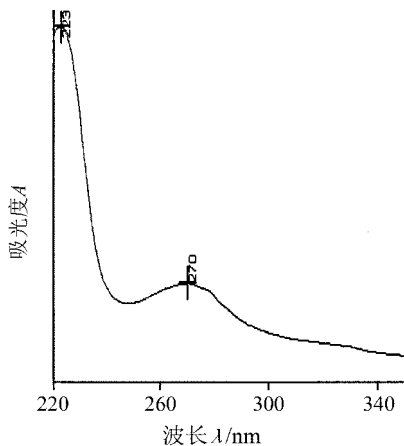


图 1 天麻的紫外吸收光谱

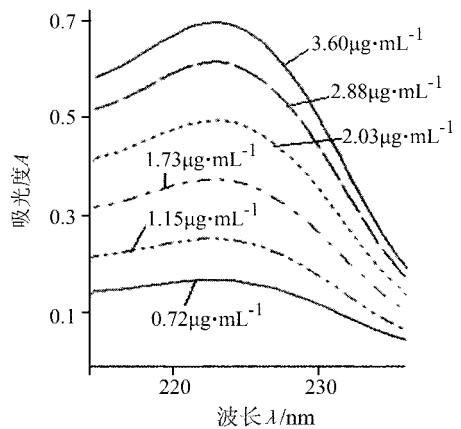


图 2 天麻素的一系列梯度浓度的紫外光谱

2.2.4 天麻素含量的测定

用高效液相色谱法^[17]测定 5 种天麻样品 T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , T_5 的天麻素百分含量分别为 0.60%、0.695%、0.52%、0.35%、1.085%。根据天麻素的含量高低, 野生天麻 T_5 的品质最好, 其次是家种天麻 T_1 , T_2 , T_3 , 最次的是家种天麻 T_4 。

3 结果与讨论

3.1 数据处理与分析

利用数据处理系统DPS(v8.01版)对上述实验所采集到的紫外光谱吸光度数值进行数据处理。

3.1.1 天麻素的可见紫外光谱

从图2中可知,天麻素吸收光谱的特征值基本相同,都在223nm左右处有最大吸收波长,且吸光度随着天麻素的浓度升高而增大。当发生电子能级之间的跃迁时,不可避免地要发生振动和转动能级之间的跃迁,因此紫外可见光谱不只是一条谱线,而是一系列的谱线^[8]。天麻的最大吸收波长也就出现在222nm,223nm,224nm处,即紫外光谱是宽带吸收光谱。根据紫外光谱测得的吸光度数值来估测天麻素的含量。

3.1.2 天麻素含量的回归模型建立

在建立模型之前,先对数据进行预处理。第一,将配制的溶液浓度除以吸光度所得数值作为系统聚类分析数据。第二,根据高效液相色谱方法测定的天麻素百分含量,将天麻的浓度换算成天麻素的含量 C ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。天麻素的含量 C 和紫外光谱的吸光度作为建立回归模型的依据。第三,在223nm左右处对天麻 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 、 T_5 的系列浓度进行测定,共采集样本30个。因样本服从正态分布,故用DPS系统中的3S法检测,显著水平 P 值取0.01,无异常值。随机挑选出具有代表性的22个样本(分别标记为1—22)作为校正集,其余8个样本(分别标记为23—30)作为检验集。

系统聚类分析采用欧氏距离作为距离系数计算方法,比较离差平方和法、类平均法、重心法和最短距离法,从聚类分析的结果来看,离差平方和的聚类分析效果最好。它把校正集中的22个样本分成4类:第一类包含8个样本(1、2、3、4、9、10、11、12、13),第二类包含4个样本(5、6、7、8),第三类包含5个样本(13、14、15、16、17),第四类包含5个样本(18、19、20、21、22)。由天麻素的含量及其对应的吸光度分别对四类样本建立回归模型,见表1。其中 C 表示天麻素的浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$), A 是紫外光谱吸光度。

表1 天麻素含量的回归模型

类型	回归模型	相关系数
第一类	$C = 4.9451A - 0.0619$	0.99
第二类	$C = 8.6695A + 0.2709$	1.00
第三类	$C = 8.6294A - 0.2693$	0.99
第四类	$C = 9.3357A - 0.7557$	0.98

3.2 模型检验

依然采用欧氏距离作为距离系数计算方法,离差平方和的聚类分析法。把检验集(8个样本)和22个校正集一起作聚类分析。分析结果表明,检验集中的4个样本属于第一类,3个样本属于第二类,1个样本属于第四类。将8个检测样本分别代入各自对应的回归模型,得检验集的8个样本的天麻素浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)的预测值。8个样本天麻素浓度的实测值($\mu\text{g}/\text{mL}$)和预测值($\mu\text{g}/\text{mL}$)见表2。

表2 天麻素浓度的预测值与实测值比较

	($\mu\text{g}/\text{mL}$)							
编号	23	24	25	26	27	28	29	30
实测值	2.030	1.152	4.021	1.257	2.604	1.562	1.260	4.166
预测值	2.396	1.188	4.099	1.441	2.652	1.496	2.865	4.241

4 结论

从以上分析可知,样品的天麻素含量与其最大吸收峰处吸光度具有显著相关,紫外吸光度数值随着天麻素浓度的增加而增大。理论上可以通过紫外光谱的特征值来估测天麻中天麻素的含量,但

当样品浓度过大时(有文献[7]记载浓度 $> 0.01\text{mol/L}$),或浓度偏小时(如检验集中的第29号样本),线型关系将发生偏离。理论上物质浓度与吸光度数值成正比,这是将配制的溶液浓度除以吸光度所得数值作为聚类分析数据的依据。之所以建立多个回归方程,是因为不同品种的天麻所含成分略有不同和成分含量的高低差异,这将影响天麻素的紫外光谱吸光度数值,即不同种天麻的回归方程会略有不同,故采用先聚类后回归的方法是合理的。对于多种成分,即多变量的情况,如何处理原始数据得到合理的聚类分析数据,有待进一步的研究。

中药本身是复杂的混合物体系,要建立中药质量的科学评价体系,需借助于先进和尖端的仪器分析技术相互印证、相互补充^[18],单以天麻素含量评价天麻的质量远远不够。本实验仅是通过天麻的可见紫外光谱来估测天麻素的含量作为初试,但可作为贵州天麻品质定量分析的依据和控制技术之一。

参考文献

- [1] 杨世林, 兰进, 徐绵常. 天麻的研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(1): 66—69.
- [2] 张贵君. 现代实用中药鉴别技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 98—100.
- [3] 王琦. 现代中药炮制与质量控制技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 100—101.
- [4] 刘金龙, 赵梅轩, 彭应国. 天麻营养素对天麻产量及天麻素、硒含量的影响[J]. 特产研究, 2004, 26(4): 11—13.
- [5] 方淘, 朱开贤. 用紫外光谱鉴别天麻真伪[J]. 山西中药, 1991, 7(1): 28—29.
- [6] 吴刚, 秦民坚, 康继川等. 不同产地天麻质量评价[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(1): 40—43.
- [7] 陈玉英. 药学实用仪器分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 69, 59.
- [8] Williams D H, Fleming I. 有机化学中的光谱方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 2001. 2.
- [9] 朱淮武. 有机光谱分析[M]. 贵阳: 贵州教育出版社, 1997. 14.
- [10] 李昌厚. 紫外可见分光光度计[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 125.
- [11] 孙凤霞. 仪器分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004. 22.
- [12] 冯金城. 有机化合物结构与鉴定[M]. 北京: 国防工业出版社, 2003. 6.
- [13] 朱明华. 仪器分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 278.
- [14] 石杰. 仪器分析[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2003. 59.
- [15] 沈卫华, 顾雪中. 天麻素紫外分光光度法定量探讨[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(9): 666.
- [16] 周娟, 贾恩礼, 刘福堂. 天麻中天麻素含量的测定方法[J]. 实用医药杂志, 2002, 19(9): 713.
- [17] 国家药典委员会. 2005版药典第一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [18] 孙素琴, 周群, 郁鉴源等. 分子振动光谱与中药研究的最新进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(2): 199—202.

Study on the Quality of *Gastrodia Elata* from Guizhou by UV Spectrum

ZHANG Fu-Rong TANG Yan-Lin XN Rong WANG Zhi-Ping JIA Xiu-Li
(College of Science, Guizhou University, Guiyang 550025, P. R. China)

Abstract Gastrodine in *gastrodia elata*, a common and valuable traditional Chinese drug (TCD), from guizhou were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and UV spectrometry at 223nm. Gastrodine contents in *gastrodia elata* were studied by cluster analysis and regression analysis. The results are evidently correlative to their absorbency at the point of 223nm wavelength, and all square of correlation coefficients are more than 0.98. The predicted value coincides with measured value. UV spectrum can be used for evaluating the quality of *gastrodia elata* in Guizhou.

Key words UV Spectrum, *Gastrodia Elata* in Guizhou, Gastrodine, Statistical Analysis