

NGHIÊN CỨU HOÀN THIÊN QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ANTHRAQUINONE TỔNG SỐ TRONG DƯỢC LIỆU BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO QUANG

Vũ Thị Ánh*, Trần Phú Cường, Nguyễn Thị Duyên
Viện Khoa học Sự sống - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Nhóm tác giả đã nghiên cứu hoàn thiện được quy trình phân tích hàm lượng anthraquinone tổng số trong dược liệu bằng phương pháp đo quang Dùng acid acetic thủy phân anthraglycosid thành aglycon rồi chiết bằng ether ethylic, làm phản ứng Bomtraeger với dịch chiết, đo mật độ quang ở bước sóng $\lambda = 455$ nm để xác định hàm lượng anthraquinone tổng số Qua thực nghiệm đã xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,2834x + 0,0092$ với $R^2 = 0,995$ ở khoảng nồng độ 0 - 1,8 mg% Giới hạn phát hiện là 0,004%, giới hạn định lượng là 0,015%. Độ thu hồi của phương pháp xác định theo Emodin nằm trong khoảng $(94,00 \pm 0,06)\% \pm (98,50 \pm 0,07)\%$. Hàm lượng anthraquinone tổng số trong một số loại dược liệu: Đại hoàng 1,33% với RSD là 1,21%, Ba kích 0,32% với RSD là 2,81% và Muồng trâu 0,28% với RSD là 3,48% Các thông số nghiên cứu đều phù hợp với TCVN 6910.2001 về độ chính xác của phương pháp và kết quả đo

Từ khoá: Anthraquinone, phương pháp đo quang, dược liệu, thủy phân, mật độ quang

ĐẶT VẤN ĐỀ

Anthraquinone hay Anthranoid là những dẫn chất của 9, 10-dixeton-anthracen. Anthraquinon là sản phẩm thủy phân anthraglucosit Hợp chất anthraglucosit có trong nhiều loại dược liệu quý như: Đại hoàng, Hoàng tinh, Hà thủ ô, dây Thia canh, Muồng trâu, Ba kích, ... với các hoạt tính sinh học khác nhau [2].

Hỗn hợp các anthraquinone tác dụng giảm đau, trị viêm da, ngăn ngừa tối đa sự xâm nhập của các độc tố, vi khuẩn, nhuận tràng, hạ hỏa, giải độc, kháng khuẩn, lợi tiểu, bảo vệ gan và giảm cholesterol máu Một số chất trong nhóm Anthranoid như emodin và rhein trực tiếp ức chế sự sinh trưởng của tế bào ung thư của hắc lưu (melanoma), ung thư vú và ung thư gan như cây Đại hoàng. Một số chất khác có tác dụng thanh nhiệt, hạ hỏa, giải độc, ích thận, cường gân cốt như Ba kích [3].

Ngành khai thác dược liệu nước ta đang trên đà phát triển, đặc biệt là việc chiết xuất các hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên. Anthraquinone là một hợp chất quý với nhiều hoạt tính sinh học khác nhau, việc nghiên cứu về hàm lượng của nó trong các dược liệu trên

sẽ là tiền đề cho việc khai thác và chế biến dược liệu phát triển

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Xác định được hàm lượng Anthraquinon toàn phần trong một số loại dược liệu quý

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Một số loại dược liệu. Ba kích, Muồng trâu, Đại hoàng được thu thập tại một số xã thuộc huyện Bắc Sơn - Tỉnh Lạng Sơn

Nội dung nghiên cứu:

- Thẩm định một số thông số để hoàn thiện quy trình phân tích: Xác định khoảng tuyến tính và đường chuẩn, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ thu hồi, độ lặp lại

- Xác định hàm lượng anthraquinone tổng số trong một số dược liệu

Phương pháp nghiên cứu

- Lấy mẫu: Theo Dược điển Việt Nam IV [1]

- Thẩm định quy trình phân tích: Việc lựa chọn các thông số thẩm định, cách thực hiện được áp dụng theo hướng dẫn của TCVN ISO/IEC 17025:2005 và TCVN 6910:2001 [4], [5].

- Phân tích mẫu: Áp dụng theo Dược điển Việt Nam IV [1]

* Tel: 0982 892699, Email: vuhtianh@tnuaf.edu.vn

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

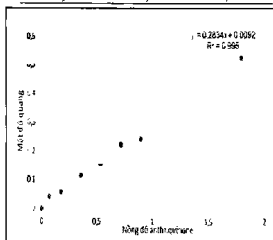
Xác định khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Đồ thị chuẩn được lập từ dung dịch Cobalt clorid. Cân chính xác 5,00 g Cobalt clorid tinh khiết. Hoà tan bằng nước cất trong cốc thủy tinh có mỏ. Dung dịch chuyển vào bình định mức 100,0 ml. Pha loãng dung dịch Cobalt clorid thu được bằng nước cất để có các nồng độ từ 0,2 - 5%.

Đo mật độ quang (A) của các dung dịch này. Thành lập đồ thị chuẩn với trục tung là mật độ quang đã đo được, trục hoành là nồng độ mg% của các dẫn chất anthraquinone tương ứng. Mật độ quang của dung dịch Cobalt clorid 1% bằng mật độ quang của dung dịch 0,36 mg 1,8 dihydroxy anthraquinone trong 100,0 ml dung dịch kiềm amoniac. Kết quả đo được như sau:

Bảng 1. Khoảng nồng độ và mật độ quang

C_{Co} (%)	C_{An} (mg%)	A
0,0	0,00	0,000
0,2	0,07	0,043
0,5	0,18	0,059
1,0	0,36	0,117
2,0	0,72	0,226
2,5	0,90	0,244
5,0	1,80	0,525



Hình 1. Đồ thị chuẩn anthraquinone tổng số

Xác định giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp

Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng là 2 thông số quan trọng để đánh giá độ nhạy của phương pháp.

Để xác định LOD, LOQ chúng tôi dựa vào giá trị độ lệch chuẩn SD của nền mẫu. Theo đó, chúng tôi tiến hành phân tích trên nền mẫu là mẫu trắng có thêm một lượng chuẩn nhất định từ thấp đến cao, mỗi ngưỡng nồng độ phân tích 10 lần song song, sau đó tính giá trị SD, tính giá trị chấp nhận R để từ đó tính toán LOD, LOQ.

Bảng 2. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Lần phân tích	Kết quả
Lần 1	0,020
Lần 2	0,019
Lần 3	0,022
Lần 4	0,018
Lần 5	0,019
Lần 6	0,021
Lần 7	0,020
Lần 8	0,018
Lần 9	0,022
Lần 10	0,021
Trung bình	0,020
Độ lệch chuẩn SD	0,001
Giá trị R	4,472
LOD	0,004
LOQ	0,015

Qua bảng trên ta thấy: Ở ngưỡng nồng độ thêm chuẩn 0,02% qua 10 lần phân tích, kết quả thu được ta thấy giá trị R = 4,47 nằm trong giới hạn $4 < R < 10$ [4]. Vậy kết quả này là chấp nhận được. Theo đó, giá trị LOD của phương pháp là 0,004%, LOQ là 0,015%.

Xác định độ thu hồi của phương pháp

Chúng tôi sử dụng Emodin như một nội chuẩn để xác định độ thu hồi của phương pháp. Emodin là một anthraquinone dạng tự do, có trong các loại dược liệu. Để xác định được độ thu hồi của phương pháp chúng tôi thêm một lượng Emodin nhất định vào các nền mẫu khác nhau để tính độ thu hồi của phương pháp.

Bảng 3. Độ thu hồi của phương pháp

Nền mẫu	C_m (%)	C_c (%)	C_m+c (%)	R (%)
Ba kích	0,314	0,2	0,502	94,00±0,06
		0,7	0,997	97,52±0,03
		1,2	1,491	98,11±0,03
Đại hoàng	1,328	0,2	1,519	95,50±0,05
		0,7	2,002	96,24±0,03
		1,2	2,510	98,50±0,07

Hệ số thu hồi ở các nồng độ trong khoảng tuyến tính có sự khác nhau. Trên nền mẫu là Ba kích, ở nồng độ thêm chuẩn 0,2% độ thu hồi trung bình đạt $94,00 \pm 0,06\%$, ở nồng độ thêm chuẩn 0,7% độ thu hồi trung bình đạt $97,52 \pm 0,03\%$, ở nồng độ thêm chuẩn 1,2% độ thu hồi trung bình đạt $98,11 \pm 0,03\%$. Trên nền mẫu là Đại hoàng, ở nồng độ thêm chuẩn 0,2% độ thu hồi trung bình đạt $95,50 \pm 0,05\%$, ở nồng độ thêm chuẩn 0,7% độ thu hồi trung bình đạt $96,24 \pm 0,03\%$, ở nồng độ thêm chuẩn 1,2% độ thu hồi trung bình đạt $98,50 \pm 0,07\%$. Các thông số thu được về độ thu hồi phù hợp với tiêu chuẩn của AOAC.

Xác định hàm lượng anthraquinone trong một số dược liệu và đánh giá độ lặp của phương pháp

Bảng 4. Độ lặp lại của phương pháp trên các nền mẫu

Lần phân tích	Đại hoàng	Ba kích	Muồng trâu
Lần 1	1,329	0,324	0,285
Lần 2	1,332	0,302	0,277
Lần 3	1,315	0,316	0,284
Lần 4	1,357	0,332	0,298
Lần 5	1,312	0,317	0,279
Lần 6	1,313	0,305	0,263
Lần 7	1,327	0,321	0,295
Lần 8	1,335	0,318	0,279
Lần 9	1,357	0,310	0,281
Lần 10	1,336	0,319	0,277
TB (%)	1,33	0,32	0,28
SD (%)	0,016	0,009	0,010
RSD (%)	1,21	2,81	3,48
AOAC	2,7	3,7	3,7
Đánh giá	Đạt	Đạt	Đạt

Độ lặp là một khái niệm định tính và được biểu thị định lượng bằng độ lệch chuẩn, nó phản ánh độ chụm của các kết quả thử

thực nghiệm trên cùng một nền mẫu ở các lần thử nghiệm khác nhau.

Để đánh giá được độ lặp, chúng tôi thực hiện trên 3 nền mẫu thử có các mức nồng độ khác nhau. Mỗi nền mẫu lặp lại 10 lần. Sau đó tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn SD, độ lệch chuẩn tương đối (RSD), đối chiếu với giá trị yêu cầu của AOAC để đánh giá. Kết quả được thể hiện qua bảng 4

Qua bảng 4 ta thấy, hàm lượng Anthraquinone tổng số trong các mẫu với giá trị RSD tương ứng là. Đại hoàng 1,33% với RSD = 1,21%, Ba kích 0,32% với RSD = 2,81%, Muồng trâu 0,28% với RSD = 3,48%. Các giá trị RSD thu được ở cả 3 nền mẫu đều nhỏ hơn giá trị RSD đối chiếu theo AOAC ở khoảng nồng độ tương ứng

KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu hoàn thiện được quy trình phân tích hàm lượng anthraquinone tổng số trong một số loại dược liệu bằng phương pháp đo quang. Các thông số kỹ thuật, độ chính xác đều phù hợp với TCVN 6910:2001 và nằm trong giới hạn cho phép của AOAC [5].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ y tế (2009), *Dược điển Việt Nam II*, Nxb Hà Nội
- Đỗ Huy Bích (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội
- Đỗ Tất Lợi (1995), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb Khoa học và kỹ thuật Hà Nội
- Trần Cao Sơn (2010), *Thẩm định phương pháp phân tích trong hóa học và vi sinh vật*, Nxb Khoa học và kỹ thuật Hà Nội
- Tổng cục đo lường chất lượng, TCVN 6910:2001, *Độ chính xác của phương pháp và kết quả đo*

SUMMARY

RESEARCH BUILDING THE ANALYSIS PROCESS OF ANTHRAQUINONE
TOTAL IN MEDICAL MATERIALS BY PHOTOMETRIC METHODVu Thi Anh*, Tran Phu Cuong, Nguyen Thi Duyen
Institute of Life Science – TNU

The authors have been studied and perfected the analytical process of anthraquinone total of medical materials by photometric method. Using acid acetic hydrolysis anthraglycosid to aglycon, then extracted with ethylic ether, react Borntraeger with extracts, measure the optical density at wavelength of 455nm to determine to content of anthraquinone total. Through experimental build regression equation is $y = 0,2834x + 0,0092$ with $R^2 = 0,995$ at a range of độ 0 – 1,8 mg%. The limit of detection LOD 0,004%, The limit of quantification LOQ 0,015%. The sample average recovery rate with Emodin in the range 94,00% - 98,50%. Content of anthraquinone total in some medical materials Rhizoma Rhei 1,33% with RSD 1,21%, Morinda officinalis 0,32% with RSD 2,81%; Cassia alata 0,28% with RSD 3,48%. The parameters of the study are in line with TCVN 6910 2001 certification for the accuracy of the method and results.

Keywords: Anthraquinone, photometric method, medical materials, hydrolysis, optical density

Ngày nhận bài: 17/12/2016; Ngày phân biện: 10/01/2017; Ngày duyệt đăng: 31/5/2017

* Tel: 0982 892699, Email: vuthianh@tnuaf.edu.vn