DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260519004
引用格式: 石豪, 毛琼丽, 李先芝, 等. 复杂基质保健酒中低含量总蒽醌的检测方法优化及验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 249–256.
Shi Hao, Mao Qiongli, Li Xianzhi, et al. Optimization and validation of detection method for low-content total anthraquinones in complex matrix health wine [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 249–256. (in Chinese with English abstract).

复杂基质保健酒中低含量总蒽醌的检测方法优化及验证

石　豪[1*], 毛琼丽[1], 李先芝[1,2], 熊晓通[1], 杨　峰[1], 朱　艳[1], 严　玲[1], 刘　洋[1], 李　强[1,2], 杨　强[1,2]

(1. 劲牌有限公司, 黄石　435100; 2. 中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 黄石　435100)

摘　要: 目的　建立一种适用于复杂基质保健酒中低含量总蒽醌的准确、灵敏、抗干扰的检测方法。**方法**　以《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020 年版)》分光光度法为基础, 通过优化取样量、全量萃取、缩小定容体积、离心净化等前处理步骤, 降低基质干扰并提高灵敏度; 以 2025 版《中国药典》何首乌项下高效液相色谱法为参比方法进行验证, 采用 Bland-Altman 分析评价结果的一致性。**结果**　优化后的方法在 0~0.0162 mg/mL 范围内线性关系良好, 线性决定系数为 0.99998, 检出限为 0.009 mg/100 g, 定量限为 0.026 mg/100 g; 3 个浓度水平的平均加标回收率为 98.94%, 相对标准偏差为 1.58%。选取 10 批样品分别使用优化后的分光光度法与高效液相色谱法参比方法进行测定, Bland-Altman 一致性分析结果表明, 两种方法检测结果趋势一致。**结论**　该方法操作简便、灵敏度高、抗基质干扰能力强、结果准确可靠, 适用于复杂基质保健酒中低含量总蒽醌的快速测定与质量控制。

关键词: 总蒽醌; 保健酒; 分光光度法; 方法优化; 何首乌
中图分类号: TS262.7; TS207.3　　**文献识别码:** A　　**文章编号:** 2095–0381(2026)15–0249–08

Optimization and validation of detection method for low-content total anthraquinones in complex matrix health wine

SHI Hao[1*], MAO Qiong-Li[1], LI Xian-Zhi[1,2], XIONG Xiao-Tong[1], YANG Feng[1], ZHU Yan[1], YAN Ling[1], LIU Yang[1], LI Qiang[1,2], YANG Qiang[1,2]

(1. *Jing Brand Co*., *Ltd*., *Huangshi* 435100, *China*; 2. *Hubei Key Laboratory of Quality and Safety of Traditional Chinese Medicine Health Food*, *Huangshi* 435100, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish an accurate, sensitive and anti-interferential method for the determination of low-content total anthraquinones in health wine with complex matrix. **Methods**　Based on the spectrophotometry method specified in 2020 *Edition of the technical guiding principles for inspection and evaluation of physicochemical*

收稿日期: 2026-05-19
基金项目: 湖北省重点研发计划项目(2024BBB030)
第一作者/*通信作者: 石豪(1989—), 男, 工程师, 主要研究方向为产品质量控制。E-mail: 522918182@qq.com

and hygienic indicators of health food, the sample pretreatment was optimized by adjusting sample weight, performing full-volume extraction, reducing the constant volume and adopting centrifugal purification to minimize matrix interference and enhance detection sensitivity. The optimized method was verified using the high performance liquid chromatography method under the item of *Polygoni multiflori Radix* in the 2025 edition of the *Chinese pharmacopoeia* as the reference method, and the consistency of the results was evaluated by Bland-Altman analysis. **Results** The optimized method exhibited good linearity in the range of 0–0.0162 mg/mL with a determination coefficient of 0.99998. The limit of detection was 0.009 mg/100 g, and the limit of quantitation was 0.026 mg/100 g. The average spiked recovery at 3 concentration levels was 98.94%, with a relative standard deviation of 1.58%. The 10 batches of samples were determined by the optimized spectrophotometry and the high performance liquid chromatography reference method. The Bland-Altman consistency analysis indicated that the detection results of the 2 methods exhibited consistent trends. **Conclusion** The method is simple, sensitive, robust against matrix interference and accurate. It is suitable for the rapid determination and quality control of low-content total anthraquinones in health wine with complex matrix.

KEY WORDS: total anthraquinones; health wine; spectrophotometry; method optimization; *Polygoni multiflori Radix*

0 引 言

随着国民健康意识的不断提升，兼具传统酒文化底蕴与健康调节功能的功能性保健酒，日益成为保健食品领域的研究热点，受到广泛关注[1–2]。某款以黄芪、枸杞、五味子、人参、黄精、制首乌、酸枣仁、夜交藤等药材为组方的保健酒，经动物实验验证，具有改善睡眠、延缓衰老的保健功能。该产品组方含有制首乌(*Polygoni multiflori radix preparata*)、夜交藤(*Polygoni multiflori caulis*)两味何首乌属(*Polygonum*)药材，总蒽醌作为产品特征性成分，其含量是评价产品质量与安全的关键指标[3–6]。

总蒽醌为一类具有三环共轭体系的酚性化合物[7]，广泛存在于蓼科、豆科等植物中[8]，其药理活性与潜在毒性作用已被大量研究证实。总蒽醌是何首乌属药材发挥药理作用的核心物质基础[9–10]，具有润肠通便[11–12]、调节免疫[13]、抗氧化[14–15]、改善微循环[16]等药理活性，但过量摄入可能引发腹泻、腹痛等胃肠道刺激症状[17–18]，长期蓄积还可能对肝脏、肾脏等器官造成损伤[19–24]。因此，准确定量并严格控制保健酒中总蒽醌含量，是平衡产品保健功效与安全性的关键。

目前，总蒽醌的测定主要参照《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020 年版)》收录的分光光度法[25]，以及《中国药典》收载的高效液相色谱法[26]。分光光度法基于 Borntrager 显色反应，操作简便、成本低，但易受基质颜色及浑浊度等干扰[27]；高效液相色谱法特异性强、准确度高，但仪器昂贵、检测耗时较长[28]。基于保健食品成分检测与评价的合规性以及检测方法的普适性，宜采用指导原则方法。然而，现行指导原则方法主要针对固体基质样品，直接应用于液态基质的保健酒时，因提取不完全、背景干扰大导致测定结果偏差大、重现性不佳。保健酒基质复杂，含有大量糖类、醇类、色素及多种植物浸出物，对成分的定量分析干扰明显[29–30]；加之配方与工艺限制，酒体中总蒽醌含量较低，对方法的灵敏度与抗干扰能力提出了更高要求。

本研究以含有何首乌属药材的保健酒为研究对象，在《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020 年版)》中的总蒽醌检测方法原理基础上，系统优化前处理条件，重点解决基质差异、提取效率低、背景干扰大等问题，建立优化的分光光度测定方法，通过完整的方法学验证考察方法可靠性，并以《中国药典》高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)为参比进行比对及 Bland-Altman 一致性评价，旨在为保健酒中总蒽醌的准确检测及产品质量控制提供科学、可行的分析技术方案。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

保健酒样品来自劲牌有限公司。

1,8-二羟基蒽醌(纯度 99.7%)、大黄素(纯度 98.5%)、大黄素甲醚(纯度 98.9%)标准品(中国食品药品检定研究院)；盐酸(纯度 36%~38%)、氨水、二氯甲烷、氢氧化钠、甲醇(分析纯，国药集团化学试剂有限公司)；甲醇、磷酸(色谱纯，美国赛默飞世尔科技公司)。

1.2 仪器与设备

TU-1901 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)；AB135-S 电子天平(精度 0.01 mg，瑞士梅特勒-托利多公司)；DZKW-D-6 电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司)；SB-2000 旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社)；3K15 高速离心机(德国 SIGMA 公司)；Votex-3 涡旋混合器(上海嘉鹏科技有限公司)；Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司)；Sepax HP C_{18} 色谱

柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, 美国赛分科技有限公司); ELGA Option-Q 超纯水机(法国威立雅环境集团)。

1.3 实验方法

1.3.1 试剂与标准溶液的配制

4%氨溶液: 取氨水 16 mL, 加水稀释至 100 mL; 10%氢氧化钠溶液: 称取氢氧化钠 10 g, 加水溶解并定容至 100 mL; 混合碱溶液: 取等体积的 10%氢氧化钠溶液和 4%氨溶液混合; 甲醇-盐酸(10:1, *V*:*V*, 下同)混合溶液: 取甲醇 100 mL, 加盐酸 10 mL, 混合均匀; 1,8-二羟基蒽醌标准储备液: 精密称取 1,8-二羟基蒽醌标准品 10 mg(精确至 0.01 mg), 置于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀, 得质量浓度为 0.4 mg/mL 的 1,8-二羟基蒽醌标准储备液。大黄素、大黄素甲醚标准品溶液的制备: 分别精密称量大黄素、大黄素甲醚标准品各 10.00 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解定容, 配制成质量浓度为 200 μg/mL 的标准贮备溶液, 再将混合标准储备液进一步稀释, 得到质量浓度分别为 1、2、5、10、20 μg/mL 混合标准使用液。

1.3.2 标准曲线的制作

分别精密吸取 1,8-二羟基蒽醌标准溶液 0.00、0.02、0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加混合碱溶液至刻度, 混匀, 于暗处放置 30 min。以混合碱溶液为空白, 在 525 nm 波长处, 分别测定吸光度。以质量浓度为横坐标(*X*, mg/mL), 吸光度为纵坐标(*Y*), 进行线性回归, 绘制标准曲线。

1.3.3 供试品溶液的制备

精密称取混合均匀的保健酒约 25 g, 置 150 mL 圆底烧瓶中, 精密加入甲醇-盐酸混合溶液 25 mL, 称重, 在 80 ℃水浴中加热回流 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀。将水解液全部转移至分液漏斗中, 加 25 mL 水润洗烧瓶并转移至分液漏斗中。用二氯甲烷萃取 3 次(50、40、30 mL), 合并提取液, 并用水洗涤 3 次, 每次 40 mL, 洗涤至中性, 弃去水洗液, 二氯甲烷层转移至蒸发皿中, 于 80 ℃水浴上蒸干, 残渣加甲醇使溶解并转移至 5 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 得供试品储备液。精密量取此储备液 2 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 加混合碱溶液至刻度, 混匀, 作为待测液。该溶液于暗处放置 30 min, 以 8000 r/min 离心 5 min 后取上清液, 以混合碱溶液为空白, 在 525 nm 波长处, 测定吸光度。

酒样中总蒽醌含量计算如公式(1)所示:

$$X = C \times \frac{V_1 \times V_3 \times 100}{V_2 \times M} \quad (1)$$

式中: X 为酒样中总蒽醌的含量, mg/100 g; C 为由标准曲线查得测定试样中总蒽醌的质量浓度, mg/mL; V_1 为残渣溶解后的体积, mL; V_2 为混合碱显色时吸取的甲醇溶液的体积, mL; V_3 为混合碱显色的定容体积, mL; M 为酒样的称样质量, g; 100 为单位转换因子。

1.3.4 测定条件考察优化实验

《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020 年版)》中总蒽醌测定方法[25]主要针对固体基质。原方法为: 取适量试样, 加甲醇-盐酸溶液回流处理, 取滤液 15 mL 进行萃取, 萃取液蒸干后使用甲醇溶解定容至 10 mL, 再取 2 mL 样品进行显色。为使其适用于复杂基质保健酒中低含量总蒽醌的检测, 在核心实验操作步骤与指导原则方法保持一致的基础上, 对指导原则中的方法进行优化。

(1)浓缩方式考察

方法一: 酒样水浴蒸干后加水复溶再提取。取保健酒适量, 水浴蒸干, 加水溶解定容至 10 mL, 全部转移至圆底烧瓶, 再加甲醇-盐酸混合溶液分次润洗容量瓶并转移至圆底烧瓶, 后续按照指导原则方法处理。

方法二: 酒样旋蒸后直接加酸性甲醇提取。取 100 mL 酒样, 于 50 ℃下旋转蒸发至干, 直接在瓶中加入甲醇-盐酸溶液超声溶解, 后续按照指导原则方法处理。

方法三: 直接取酒样并富集目标成分。直接取酒样不进行蒸干, 加入甲醇-盐酸混合溶液 25 mL 加热回流, 将样品水解液全部转移至分液漏斗萃取, 加水 25 mL 润洗圆底烧瓶并入分液漏斗, 二氯甲烷萃取液蒸干后, 使用甲醇溶解定容, 其他步骤按指导原则方法进行。

(2)定容体积考察

指导原则方法中甲醇定容体积为 10 mL, 按 1.3.3 项下方法, 固定其他前处理条件不变, 分别称取保健酒样品 25 g 回流提取, 经二氯甲烷萃取、水浴蒸干获得固体残渣后, 分别使用 10 mL、5 mL 甲醇溶解定容, 制备得到不同定容体积的供试品溶液, 考察定容体积对测定结果的影响。

(3)取样量考察

分别称取保健酒样品 15、25、50、100 g, 按 1.3.3 项下方法制备供试品溶液, 确定最佳取样量。

(4)蒸干方式及蒸干温度考察

二氯甲烷沸点约 40 ℃, 蒸干温度过高样品溶液容易沸腾[31], 分别采用 60、80、100 ℃水浴蒸干及 40 ℃减压蒸干处理萃取液, 对比不同条件下的测定结果差异, 确定萃取液蒸干方式。

(5)待测液离心澄清考察

以 25%乙醇为空白样品, 将空白样品与保健酒样品分别按照 1.3.3 项下方法制备, 加混合碱溶液所得待测液于暗处放置 30 min 后, 分别考察直接测定与 8000 r/min 离心 5 min 后取上清液测定两种方式, 对比吸光度及加标回收率差异, 确定待测液是否需要进行离心澄清处理。

(6)最大吸收波长确认

分别将 1,8-二羟基蒽醌标准溶液和保健酒供试品溶液在 200~800 nm 范围内进行全波长扫描, 考察验证分光光度法的最大吸收波长。

1.3.5 HPLC 参比方法

2025 版《中国药典》何首乌项下, 采用 HPLC 检测何

首乌药材中的游离蒽醌和总蒽醌，并以此计算结合蒽醌(均以大黄素和大黄素甲醚的总量计)的含量[26]。总蒽醌检测的样品制备方法为：样品溶液蒸干后加盐酸溶液超声，再加三氯甲烷加热回流提取，再用三氯甲烷萃取，萃取液蒸干后使用甲醇溶解定容。指导原则方法中的总蒽醌检测的样品制备原理与《中国药典》基本一致，但使用的萃取溶剂是二氯甲烷。为验证分光光度法考察优化效果及优化方法的结果准确性，将分光光度法所得残渣甲醇溶解的供试品储备液，按照 2025 年版《中国药典》何首乌项下总蒽醌测定的液相色谱条件进行检测，以外标法计算大黄素与大黄素甲醚总量，作为总蒽醌的参考值。

色谱条件: Sepax HP-C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(80:20，*V*:*V*)等度洗脱；流速 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 254 nm；进样量 10 μL。

1.3.6 分光光度法方法学考察

(1)线性范围

按 1.3.2 项下方法制备系列 1, 8-二羟基蒽醌标准溶液，分别测定吸光度，以质量浓度为横坐标(*X*，mg/mL)，对应的吸光度为纵坐标(*Y*)，进行线性回归分析。

(2)检出限与定量限

以 25%乙醇代替保健酒，按照 1.3.3 项下方法制备空白样品，连续测定 11 份空白样品溶液的吸光度，计算其标准偏差 *s* 值，以 3 *s*/*k* 为检出限，10 *s*/*k* 为定量限，其中 *k* 为标准曲线斜率。

(3)精密度实验

取同一保健酒供试品溶液，连续测定 6 次，计算吸光值的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

(4)稳定性实验

取同一保健酒供试品溶液，分别在 0、5、10、20、40、60 min 时测定吸光值，计算吸光值的 RSD。

(5)重复性实验

按 1.3.3 项下方法平行制备 6 份保健酒供试品溶液，分别测定并计算含量结果的 RSD。

(6)加标回收实验

取已知含量的保健酒样品约 25 g，分别加入低、中、高三个质量浓度水平的 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液，每个水平 3 份，按 1.3.3 项下方法制备并测定，计算回收率及 RSD。

1.4 数据处理

采用 SPSS 29.0、Origin 2026、WPS Office 12. 1. 0 进行数据处理与绘图，每组实验重复测定 3 次。

2 结果与分析

2.1 前处理条件考察优化结果

2.1.1 浓缩方式考察结果

(1)酒样水浴蒸干后加水复溶再提取

由表 1 可知，该样品处理方式下，不同取样量下的分光光度法结果存在一定差异，而 HPLC 结果无明显差异，且分光光度法测定值高于 HPLC。由于酒样含糖量高，蒸干加水复溶耗时较长，且存在溶解起泡严重、转移过程样品残留等问题，测得加标回收率约 80%，表明使用该样品浓缩方法存在基质干扰。

表 1 酒样蒸干后加水复溶的考察结果(*n*=3)

Table 1 Investigation results of water reconstitution after wine sample evaporation (*n*=3)

取样量/g	吸光度	分光光度法测得总蒽醌含量/(mg/100 g)	HPLC 测得总蒽醌含量/(mg/100 g)
50	0.0691	7.53	5.46
100	0.1210	6.79	5.41
150	0.1759	6.65	5.50

(2)酒样旋蒸后直接加酸性甲醇提取

该处理方式下，分光光度法测得吸光度为 0.6105，总蒽醌含量为 25.19 mg/100 g, HPLC 参比方法测得总蒽醌含量为 4.39 mg/100 g，分光光度法测得结果远高于 HPLC。样品萃取蒸干后的甲醇溶解液颜色较深，不经混合碱显色直接测定吸光度高达 0.2075，说明基质干扰严重。此外，保健酒含有皂苷等成分，取样量较大时，即使采用分次浓缩、加入玻璃珠等方式[32]，旋蒸蒸发过程仍易发生起泡喷出问题。

(3)直接取酒样并富集目标成分

水浴蒸干复溶与旋蒸直接提取两种方式均存在基质干扰大、回收率不理想、操作耗时及萃取易乳化等问题。因此，本研究采用直接取样并富集目标成分的方式，并以此为基础进行后续优化。

2.1.2 定容体积考察结果

在定容体积考察实验中，甲醇定容体积分别为 10 mL 与 5 mL 时，分光光度法测得酒样中总蒽醌的含量差异不大，但定容体积 10 mL 时，测得吸光度为 0.0682，平行测定 3 次结果的 RSD 为 3.25%；而定容体积 5 mL，测得吸光度为 1.1313，平行测定 3 次结果的 RSD 为 1.51%。结果表明，定容体积由 10 mL 调整至 5 mL，仪器吸光度响应显著提高，测得平行样品重复性更好，为适配保健酒中低含量总蒽醌的检测需求，确定甲醇定容体积为 5 mL。

2.1.3 取样量考察结果

由表 2 可知，取样量在 15~100 g 范围内，分光光度法与 HPLC 参比方法测得酒体中总蒽醌含量变化趋势一致，均随取样量增加而降低。特别是当取样量增大到 100 g 时，水解液被过度稀释，回流过程中未见明显冷凝液生成，水解反应不充分，导致目标成分提取效率下降，最终测定结果显著偏低。对比低取样量组，取样量为 25 g 与 15 g 的检测结果相近，但取样量 25 g 时，仪器吸光度响应更高。综合考虑检测灵敏度与结果准确性，确定最佳取样量为 25 g。

2.1.4 蒸干方式及蒸干温度考察结果

由表 3 可知, 60、80、100 ℃水浴蒸干及 40 ℃减压蒸干 4 种条件下测得结果无显著性差异(RSD<1%)，分光光

度法与 HPLC 结果趋势一致。从操作便利性和检测效率考虑, 选择 80 ℃水浴蒸干。

表 2　取样量考察结果(*n*=3)

Table 2　Investigation results of sample volume (*n*=3)

取样量/g	吸光度	分光光度法测得总蒽醌含量/(mg/100 g)	HPLC 测得总蒽醌含量/(mg/100 g)
15	0.0622	5.05	4.45
25	0.1018	4.98	4.38
50	0.1652	4.01	3.82
100	0.2842	3.44	2.95

2.1.5　待测液离心澄清考察结果

待测液直接测定, 空白样品吸光度为 0.0378, 而保健酒样品吸光度仅约 0.0900, 空白样品加标回收率约 138%, 保健酒样品加标回收率约 135%, 背景干扰显著。待测液经 8000 r/min 离心 5 min 后取上清液测定, 空白溶剂吸光度降至 0.0025, 空白样品加标回收率约 105%, 保健酒样品加标回收率约 99%, 干扰显著降低。结果表明, 待测液浑浊是造成背景干扰与回收率偏高的主要原因, 因此供试品待测液需经离心澄清后再进行测定。

2.1.6　最大吸收波长确认

1,8-二羟基蒽醌标准品溶液和保健酒供试品溶液紫外-可见光谱扫描结果见图 1。结果显示, 1,8-二羟基蒽醌标准溶液显色后在 525 nm 处有最大吸收峰, 保健酒供试品溶液显色后在 525 nm 处响应良好, 无杂峰干扰。因此确定分光光度法检测波长为 525 nm, 与指导原则保持一致。

表 3　蒸干方式及蒸干温度考察结果(*n*=3)

Table 3　Investigation results of evaporation methods and temperatures(*n*=3)

蒸干方式及温度	吸光度	分光光度法测得总蒽醌含量/(mg/100 g)	HPLC 测得总蒽醌含量/(mg/100 g)
60 ℃水浴蒸干	0.0905	4.39	4.29
80 ℃水浴蒸干	0.0893	4.33	4.26
100 ℃水浴蒸干	0.0902	4.38	4.33
40 ℃减压蒸干	0.0894	4.34	4.28

2.2　HPLC 参比方法典型色谱图

在 1.3.5 色谱条件下, 典型色谱图见图 2。从 HPLC 图可以看出, 大黄素、大黄素甲醚峰形良好, 分离度符合要求, 样品中无明显干扰峰, 可作为可靠参比方法。

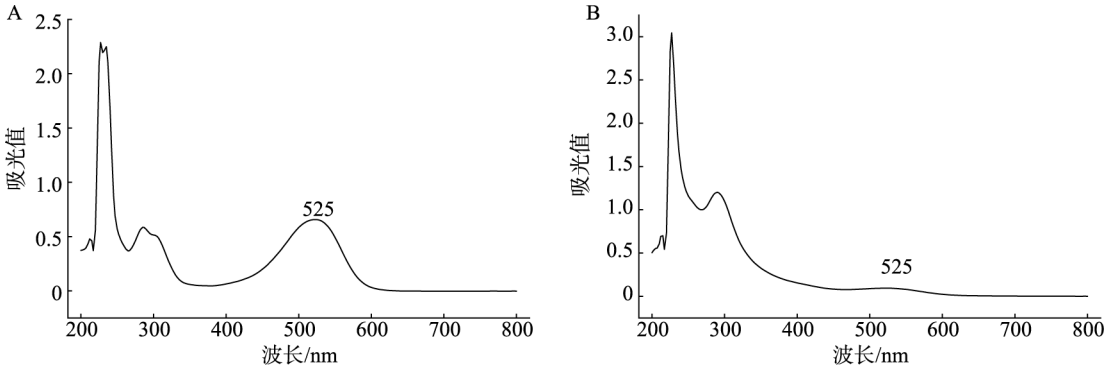
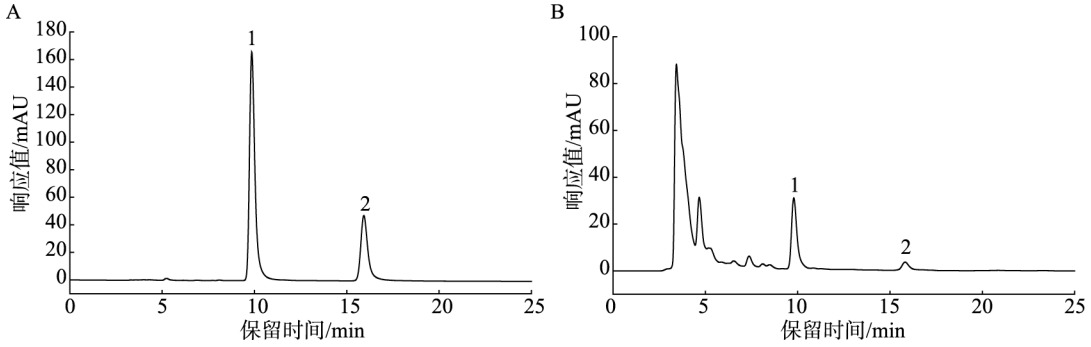


图 1　1,8-二羟基蒽醌标准溶液(A)与保健酒供试品溶液(B)光谱图

Fig.1　Spectrum of 1,8-dihydroxyanthraquinone standard solution (A) and the health wine test solution (B)



注: 1. 大黄素; 2. 大黄素甲醚。

图 2　标准品溶液(A)与保健酒供试品溶液(B)色谱图

Fig.2　Chromograms of the standard solution (A) and the health wine test sample solution (B)

2.3 分光光度法方法学考察结果

2.3.1 线性范围结果

由于保健酒中总蒽醌含量较低，在指导原则标准方法的基础上增加了两个低浓度点。总蒽醌显色后的质量浓度分别为 0、0.0003、0.0008、0.0016、0.0032、0.0065、0.0097、0.0130、0.0162 mg/mL，对应吸光度分别为 0、0.0153、0.0405、0.0825、0.1686、0.3381、0.5089、0.6792、0.8545。以质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标进行线性回归，得到线性回归方程为 Y=52.62764X–0.00211，决定系数 r^2=0.99998，表明总蒽醌在 0~0.0162 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3.2 检出限与定量限结果

按照检出限和定量限试验方法，计算得到本方法中总蒽醌显色后的最低检测浓度和最低定量浓度分别 0.034 mg/L 和 0.103 mg/L，按照优化后的方法，当取样量为 25 g 时，检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)分别为 0.009 mg/100 g 和 0.026 mg/100 g，满足低含量总蒽醌的检测要求。

2.3.3 精密度、稳定性及重复性结果

样品溶液连续测定 6 次吸光度的 RSD 为 0.20%；1 h 内吸光度的 RSD 为 2.90%；6 份样品总蒽醌平均含量为 0.4671 mg/100 g，RSD 为 1.96%。结果表明：本方法精密度、稳定性与重复性均符合定量分析要求，适用于保健酒样品的批量检测。

2.3.4 加标回收率试验结果

低、中、高 3 个浓度水平的平均加标回收率为 98.94%，RSD 为 1.58%，表明方法准确度良好，检测结果可靠。

2.4 样品测定

抽取 10 批保健酒，分别采用优化后的分光光度法与 HPLC 参比方法进行测定，结果见表 4。分光光度法检测结果均值为 4.61 mg/100 g，HPLC 检测结果均值为 4.44 mg/100 g。结果显示，优化后的分光光度法检测保健酒中总蒽醌的含量略高于 HPLC 法，主要原因是：分光光度法基于 Borntrager 反应测定总蒽醌，该方法与所有羟基蒽醌类物质显色；而 HPLC 法仅特异性测定大黄素和大黄素甲醚两种主要蒽醌类成分。

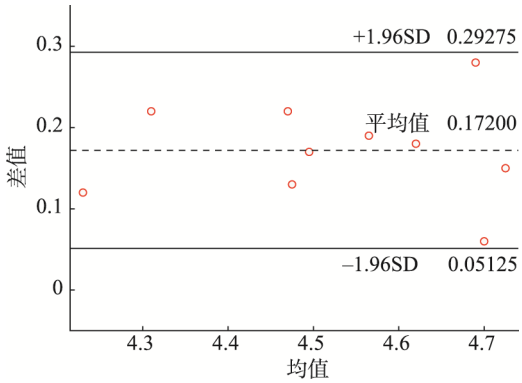
2.5 一致性评价

进一步采用 Bland-Altman 方法统计分析优化后的分光光度法与 HPLC 法测定结果是否具有一致性。Bland-Altman 一致性分析(图 3)结果显示，两种方法结果的平均偏差为 0.172 mg/100 g，95%一致性界限(±1.96SD)为 0.05~0.30 mg/100 g，所有数据点均落在该界限内，表明两种方法测得结果具有良好的一致性。

表 4 样品测定结果

Table 4 Results of sample test

编号	分光光度法测得总蒽醌含量/(mg/100 g)	HPLC 法测得总蒽醌含量/(mg/100 g)
1	4.58	4.36
2	4.58	4.41
3	4.29	4.17
4	4.71	4.53
5	4.54	4.41
6	4.66	4.47
7	4.80	4.65
8	4.73	4.67
9	4.83	4.55
10	4.42	4.20



注：SD 为标准偏差(standard deviation)。

图 3 两种测定方法的 Bland-Altman 分析图

Fig. 3 Bland-Altman analysis diagram of 2 kinds of determination methods

3 讨论与结论

现有同类分光光度法多数仅适用于药材或固体基质保健食品的总蒽醌检测[33–34]，缺乏针对保健酒这类液体基质的检测方案，此类方法常采用乙醚、乙酸乙酯等作为萃取溶剂，存在易燃易爆或乳化等风险，难以适配复杂基质保健酒检测；此外，多采用醋酸镁显色体系，反应后生成橙红色络合物，对特定结构蒽醌灵敏度较高，但易受酚羟基杂质干扰。

本研究基于《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020 年版)》，采用官方推荐的二氯甲烷萃取与混合碱显色体系，反应后呈现特征红-紫色，将原适用于固体基质的总蒽醌分光光度法进行系统优化，通过增设标准曲线低浓度点、富集目标物、样品净化等关键改进，成功应用于复杂液体基质保健酒的定量检测，有效提升了低含量液态样品测定的灵敏度与准确性。优化后的分光光度法精密度、稳定性、重复性及准确度较高，均满足定量分

析要求。与《中国药典》HPLC 参比方法的比对及一致性分析表明两种方法检测趋势一致, 进一步证实了本方法的可靠性与准确性。本方法操作简便、结果稳定, 适用于保健酒产品的日常质量监测, 同时也为同类液体基质保健食品中总蒽醌检测方法的优化提供了参考, 对保障含蒽醌类成分保健食品的食用安全具有重要意义。

本研究仅针对含有特定药材组方的常规乙醇体系保健酒开展方法学验证, 对高糖、高油脂等极端复杂酒类基质的适用性仍需进一步考察。后续可进一步拓宽方法适用基质范围, 完善不同配方酒类样品的适用性验证, 优化前处理参数, 建立通用性更强、适用范围更广的液态保健食品总蒽醌检测方法。

参考文献

[1] 李雅新, 梁慧珍, 张文生, 等. 保健酒制作工艺的研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 23–27.
Li Yaxin, Liang Huizhen, Zhang Wensheng, et al. Research progress on health wine production technology [J]. China Brewing, 2022, 41(5): 23–27.

[2] 胡杨, 李先芝, 毛琼丽, 等. 高效液相色谱法测定人参保健酒中 11 种人参皂苷含量[J]. 中国酿造, 2024, 43(3): 229–233.
Hu Yang, Li Xianzhi, Mao Qiongli, et al. Determination of 11 ginsenosides in ginseng health wine by HPLC [J]. China Brewing, 2024, 43(3): 229–233.

[3] 任玉泊, 张勃, 金辉, 等. 广义蓼属植物化学成分及其活性研究进展[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(4): 864–874.
Ren Yubo, Zhang Bo, Jin Hui, et al. Research progress on chemical constituents and activities of generalized *Polygonum* plants [J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2025, 42(4): 864–874.

[4] 张宝虎. 何首乌有效物质的研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2025: 6–16.
Zhang Baohu. Research on the effective substances of *Polygonum multiflorum* [D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2025: 6–16.

[5] 王冯瑞, 唐子龙, 王宇轩, 等. 何首乌属化学成分与药理作用研究进展[J]. 陕西中医药大学学报, 2024, 47(3): 136–150.
Wang Fengrui, Tang Zilong, Wang Yuxuan, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Polygonum multiflorum* genus [J]. Journal of Shaanxi University of Chinese Medicine, 2024, 47(3): 136–150.

[6] Li Yanyi, Wang Qi, Yang Yanrong, et al. Integrated chemometric evaluation of morphological traits, chemical composition, and hepatotoxicity of *Polygonum multiflorum* [J]. Frontiers in Pharmacology, 2025, 16: 1666300.

[7] 卢婧, 郭宇姝, 师超. 药用植物蒽醌类化合物来源和药理活性研究进展[J]. 中医药导报, 2024, 30(1): 111–116.
Lu Jing, Guo Yushu, Shi Chao. Research progress on the sources and pharmacological activities of anthraquinone compounds from medicinal plants [J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2024, 30(1): 111–116.

[8] 闫玮. 蒽醌衍生物 C2 对结肠癌裸鼠移植瘤生长的抑制作用[D]. 太原: 山西大学, 2022: 2–3.
Yan Wei. Inhibitory effect of anthraquinone derivative C2 on growth of colon cancer xenograft tumor in nude mice [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2022: 2–3.

[9] 沈建梅, 陈敬然, 杜微波, 等. 基于性状与质量相关性对何首乌商品规格等级划分研究[J]. 中医药学报, 2023, 51(9): 51–55.
Shen Jianmei, Chen Jingran, Du Weibo, et al. Study on classification of commercial specification grade of *Polygonum multiflorum* based on correlation between character and quality [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2023, 51(9): 51–55.

[10] 杨茗铄, 孙艳涛, 吴继婷, 等. 基于网络药理学探究何首乌有效成分含量与抗肿瘤活性[J]. 广东药科大学学报, 2024, 40(3): 44–53.
Yang Mingshuo, Sun Yantao, Wu Jiting, et al. Study on the correlation between the bioactive constituents of *Polygonum multiflorum* Thunb. and its antitumor properties based on network pharmacology [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2024, 40(3): 44–53.

[11] 郑凯帆, 冷泓旭, 徐凯旋, 等. 蒽醌类泻剂肠道安全性研究进展[J]. 中国药物警戒, 2025, 22(6): 708–713.
Zheng Kaifan, Leng Hongxu, Xu Kaixuan, et al. Research progress on intestinal safety of anthraquinone laxatives [J]. Chinese Journal of Pharmacovigilance, 2025, 22(6): 708–713.

[12] 杨玉涛, 张冠宇, 杨丹凤, 等. 中药有效成分调节机体脂代谢作用的研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(9): 3127–3136.
Yang Yutao, Zhang Guanyu, Yang Danfeng, et al. Effects of active compounds of traditional Chinese medicine in regulating lipid metabolism in body [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(9): 3127–3136.

[13] 路启伟. 糖基转移酶 YjiC 和 UGT74AN3 对蒽醌类化合物的生物转化研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2024: 100–101.
Lu Qiwei. Investigation on the biotransformation of anthraquinones by glycosyltransferases YjiC and UGT74AN3 [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2024: 100–101.

[14] Yang Juanjuan, Pei Zerong, Yang Hongyi, et al. Novel extraction and purification technologies for anthraquinones: towards sustainable food preservation solutions [J]. Process Biochemistry, 2025, 150: 328–341.

[15] 黄安琪. 基于长链烷醇的疏水低共熔溶剂及其在提取纯化生物活性化合物中的应用研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2021: 62–97.
Huang Anqi. Long chain alkanol-hydrophobic deep eutectic solvents and their applications in extraction and purification of bioactive compounds [D]. Wuhan: Wuhan University, 2021: 62–97.

[16] 沈婷, 王成立, 杨皓莹. 何首乌中蒽醌、二苯乙烯苷对大鼠肝功能的影响[J]. 四川中医, 2020, 38(12): 47–50.
Shen Ting, Wang Chengli, Yang Haoying. Effect of anthraquinone and stilbene glycoside in *Polygonum multiflorum* on liver function for rats [J]. Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine, 2020, 38(12): 47–50.

[17] Wang Dongpeng, Wang Xianhe, Yu Xiongjie, et al. Pharmacokinetics of anthraquinones from medicinal plants [J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 638993.

[18] 付琼怡, 齐玉濮, 郇宇, 等. 何首乌毒性特点探讨及合理用药分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(3): 222–231.
Fu Qiongyi, Qi Yupu, Huan Yu, et al. Analysis of toxicity characteristics and rational drug use of *Polygoni multiflori* radix [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2026, 32(3): 222–231.

[19] Wu Qi, Hou Zong, Liu Zhiqiang, et al. The difference of composition between *Polygoni Multiflori Radix* and *Rhei Radix et Rhizoma* revealed their primary hepatotoxicity components [J]. Journal of

Ethnopharmacology, 2025, 351: 120106.

[20] 黄依婷, 磨宁芳, 秦秋云, 等. 基于中药系统毒理学数据库探讨中药致肝毒性的作用特点及规律[J]. 世界中医药, 2025, 20(5): 776–784.
Huang Yiting, Mo Ningfang, Qin Qiuyun, et al. Characteristics and rules of hepatotoxicity induced by Chinese medicine based on traditional Chinese medicine system toxicology database [J]. World Chinese Medicine, 2025, 20(5): 776–784.

[21] Du Xiaolei, Xu Lili, Zhang Zhe, et al. Analyze the effect of steaming on the chemical constituents, defecation and liver injury of *Polygonum Multiflorum Radix* (Heshouwu) by multiple analysis techniques combined with multivariate statistics [J]. Molecules, 2022, 27(19): 6284.

[22] Yan Yan, Shi Ning, Han Xuyang, et al. UPLC/MS/MS-based metabolomics study of the hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats induced by *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. ACS Omega, 2020, 5(18): 10489–10500.

[23] 杨立国, 乌日拉嘎, 萨其拉吐, 等. 中药肾毒性成分及其毒性机制研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(23): 7934–7952.
Yang Liguo, Wurilaga, Saqilatu, et al. Research progress on nephrotoxic components in traditional Chinese medicine and its toxic mechanisms [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(23): 7934–7952.

[24] Rao Jinqiu, Peng Ting, Li Na, et al. Nephrotoxicity induced by natural compounds from herbal medicines–a challenge for clinical application [J]. Critical Reviews in Toxicology, 2022, 52(9): 757–778.

[25] 国家市场监督管理总局. 关于发布《保健食品及其原料安全性毒理学检验与评价技术指导原则(2020 年版)》等 3 项指导原则的通告[EB/OL]. (2020-10-31) [2025-05-19]. https: //www. samr. gov. cn/tssps/zcwj/art/2023/art_fc451604b4e141a59009d184a49305cd. html.
State Administration for Market Regulation. Notice on issuing three guidelines including technical guidelines for safety and toxicological testing and evaluation of health foods and their raw materials (2020 edition) [EB/OL]. (2020-10-31) [2025-05-19]. https: //www. samr. gov. cn/tssps/zcwj/art/2023/art_fc451604b4e141a59009d184a49305cd. html.

[26] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 189–190.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volume I) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2025: 189–190.

[27] 翟晓霏. 紫外可见分光光度法在食品检测中的应用研究进展[J]. 山东化工, 2021, 50(7): 76–78, 80.
Zhai Xiaofei. Research progress on application of ultraviolet and visible spectrophotometry in food detection [J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(7): 76-78, 80.

[28] 郑丽丽. 高效液相色谱法在食品添加剂检测中的应用及方法优化[J]. 食品安全导刊, 2025(4): 152-155.
Zheng Lili. Application and method optimization of high performance liquid chromatography in the detection of food additives [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(4): 152–155.

[29] 石豪, 毛琼丽, 胡杨, 等. 超高效液相色谱法测定淫羊藿保健酒中 6 种黄酮醇苷[J]. 中国酿造, 2025, 44(1): 277–281.
Shi Hao, Mao Qiongli, Hu Yang, et al. Determination of 6 flavonol glycosides in epimedium health wine by ultra-high performance liquid chromatography [J]. China Brewing, 2025, 44(1): 277–281.

[30] 杨晓聪, 刘正才, 吕佳乐, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定保健酒中紫杉醇的含量[J]. 食品工业科技, 2020, 41(17): 248–252, 257.
Yang Xiaocong, Liu Zhengcai, Lv Jiale, et al. Determination of paclitaxel in health care wine by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(17): 248–252, 257.

[31] 吴亚平, 韩陈, 孙多志. 气相色谱-质谱法快速测定塑料制品中 28 种高关注物质[J]. 化学分析计量, 2024, 33(8): 44–50.
Wu Yaping, Han Chen, Sun Duozhi. Rapid determination of 28 substances of very high concern in plastic products by GC-MS [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2024, 33(8): 44–50.

[32] 蒋文静. 吡喃并吡啶及吡啶并嘧啶衍生物的设计合成以及生物活性与分子对接研究[D]. 成都: 西华大学, 2023: 75.
Jiang Wenjing. Design and synthesis of pyranopyridine and pyridopyrimidine derivatives and their researches on biological activity and molecular docking [D]. Chengdu: Xihua University, 2023: 75.

[33] 阎勤, 苏华, 黄玉玲, 等. 响应曲面法研究百眼藤总蒽醌的提取工艺研究[J]. 医学信息, 2025, 38(2): 76–81.
Yan Qin, Su Hua, Huang Yuling, et al. Study on the extraction process of total anthraquinones from *Caulis Marsdeniae* by response surface methodology [J]. Journal of Medical Information, 2025, 38(2): 76–81.

[34] 李钦青, 董虹玲, 张海, 等. 桑杞胶囊中总蒽醌含量测定的研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(24): 99–102.
Li Qinqing, Dong Hongling, Zhang Hai, et al. Study on determination of total anthraquinones in Sangqi Capsules [J]. Chinese Medicine Modern Distance Education of China, 2019, 17(24): 99–102.

(责任编辑: 曹岱琳 安香玉)