

离子色谱法测定栀子中 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 5种阴离子的含量

郭俊国, 毕宏生*

(1. 山东中医药大学眼科研究所, 济南 250002;
2. 山东省中西医结合眼病防治重点实验室, 济南 250002)

[摘要] 目的: 建立一种同时测定中药栀子药材中 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 阴离子的含量测定方法。方法: 采用离子色谱法, IonPac AS11-HC 阴离子色谱柱, 氢氧化钾梯度淋洗, 电导检测栀子中 5 种无机阴离子。结果: Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 的线性范围良好, 加样回收率介于 97% ~ 102%, 栀子中 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 重复性良好, 含量分别为 0.084%, 0.063%, 0.070%, 0.30%, 0.12%。结论: 离子色谱法可以同时检测栀子中 5 种阴离子, 灵敏度高, 结果准确可行, 为栀子的质量控制提供了一种简便快速的方法。

[关键词] 离子色谱法, 栀子, 无机阴离子, 含量测定, 超声波提取法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0090-04

[doi] 10.11653/syfy2013230090

Determination the Content of Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} in Chinese Herbal of Gardenia by Ion Chromatography

GUO Jun-guo, BI Hong-sheng*

(1. Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250002, China;
2. Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases of Shandong, Ji'nan 250002, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a simultaneous determination of Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}

[收稿日期] 20130528(017)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81072961)

[第一作者] 郭俊国, 硕士, 讲师, 从事中西医结合眼科学药研究, Tel:0531-58859696, E-mail: guojunguo111@163.com

[通讯作者] * 毕宏生, 教授、博士生导师, 从事中西医结合眼科研究, Tel:0531-58859696, E-mail: hongshengbi@126.com

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 219.
- [2] 李景丽, 胡本祥, 张琳. 茜草炭炮制前后显微鉴别研究[J]. 中药材, 2006, 29(8): 780.
- [3] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 629.
- [4] 中国科学院北京植物研究所. 中国高等植物图鉴. 第4册[M]. 北京: 科学出版社, 1975: 276.
- [5] 薛丽, 杨波, 索菲娅, 等. HPLC法测定茜草饮片中中大叶茜草素含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3): 363.
- [6] 杨宇婷, 康文艺. HPLC法测定茜草及不同炮制品中大叶茜草素[J]. 中成药, 2011, 33(12): 2125.
- [7] 苏静慧, 吕强三, 李红霞. 超声波法提取茜草中蒽醌成分[J]. 河北理工大学学报: 自然科学版, 2011, 33(4): 101.
- [8] 张金鸽, 代丽萍, 陈随清. 河南不同产地茜草的质量评价[J]. 中医学报, 2010, 25(2): 253.

[责任编辑 顾雪竹]

content of gardenia by ion chromatography. **Method:** The ICS-900 ion chromatography and IonPac AS11-HC inorganic anion exchange chromatography column, KOH gradient elution and conductivity detection were adapted to assay the five kinds of inorganic anion. **Result:** Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} were good in linearity. Samples recovery were between 97% -102%. The content of Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} were 0.084%, 0.063%, 0.070%, 0.30% and 0.12%. **Conclusion:** The method is sensitive, accurate and operational, provided a simple and quickly method to assay the content of Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} in gardenia.

[**Key words**] ion chromatography; gardenia; inorganic anion, ultrasonic extraction

栀子苦寒,长于清热凉血、泻火解毒,具有护肝、利胆、降压、镇静、止血、消肿等作用^[1]。《名医别录》谓其“疗目热赤痛”,《药性论》言能“明目,治目赤肿痛”^[2]。栀子在眼科主要用于热毒、实火所致的目赤肿痛、湿热眼病以及血热妄行所致的眼部出血等^[3]。栀子为眼科常用药材之一,在局部外用时栀子所含的阴阳离子对疗效和渗透压均可产生影响。离子色谱法具有简便、快速、灵敏度高、干扰少等特点,能实现多组分同时定量分离,被广泛应用于环境、食品及中药中阴阳离子的分析^[4-6]。本文采用去离子水超声处理栀子药材,建立一种同时测定栀子中 Cl^- 、 Br^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 5种阴离子的含量测定方法。

1 材料

ICS-900 RFC30 型离子色谱仪(包括 Chromeleon 色谱工作站,ASRS 300 4-mm CD 电导检测器,AS40 型自动进样器,美国戴安公司),EL204 型电子天平(德国梅特勒有限公司),MS205DU 型 1/10 万天平(德国梅特勒公司),KQ5200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),PURELAB OPTION-Q 型纯水机(ELGLA 公司),FW135 型高速粉碎机(北京市永光明医疗器械有限公司)。

栀子药材(山东建联盛嘉中药有限公司,批号 20121102,经山东中医药大学中药鉴定教研室周凤琴教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实)。水为去离子水(电阻率 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$), Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 标准溶液 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,购于国家标准物质研究中心,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

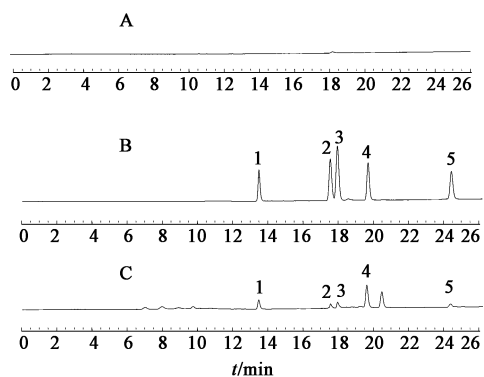
2.1 样品溶液的处理 将栀子药材在 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 的烘箱中干燥 8 h,高速粉碎机粉碎,过 40 目药筛。精密称取 1.0 g ,置三角烧瓶中,加水 25 mL ,称定质量,超声处理 20 min ,滤过,残渣继续加水 25 mL 超声处理 1 次,滤过,合并滤液并定容至 50 mL ,进样前稀释 20 倍后 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 滤头过滤。

2.2 色谱条件 IonPac AS11-HC ($4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$) 阴离子色谱柱, IonPac Ag11-HC ($4 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$) 保护柱, ASRS 300 4-mm CD 电导检测器;流动相为 KOH 溶液梯度洗脱,洗脱程序见表 1;检测方式为抑制电导检测,抑制电流为 120 mA ,柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$,进样量 $20 \text{ }\mu\text{L}$ 。

表 1 流动相梯度洗脱程序

t/min	KOH/%	曲率	流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$
0	0.005 6	3	1.2
6	0.005 6	3	1.2
16	0.112	3	1.2
23	0.28	3	1.2
26	0.005 6	3	1.2

2.3 专属性试验 按照 2.1 样品处理方法制备样品溶液,按照 2.2 项下色谱条件,分别取空白样品溶液、样品溶液和混合对照品溶液进样分析,结果见图 1。由图 1(A)和图 1(B)可见空白溶剂无干扰,由图 1(C)可见各阳离子分离度良好。



1. Cl^- ; 2. Br^- ; 3. NO_3^- ; 4. SO_4^{2-} ; 5. PO_4^{3-}

图 1 空白溶剂(A)、常见阴离子混合标准溶液(B)和栀子样品溶液(C)离子色谱

2.4 方法的线性范围 取适量 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 标准物质储备液,稀释成系列浓度的混合标样,在选定色谱条件下,测定不同阴离子的峰面积,得到标准曲线回归方程。 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 线性方程、线性范围和线性相关系数分别见表 2。

表 2 线性方程、检出限和定量限结果

峰号	阴离子	线性方程	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	相关系数	检出限/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	定量限/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	Cl^-	$Y=0.4138X+0.0039$	0.1~1.00	0.9997	0.005	0.020
2	Br^-	$Y=0.372X+0.0039$	0.1~1.00	0.9996	0.005	0.020
3	NO_3^-	$Y=0.504X-0.0049$	0.1~1.00	0.9999	0.005	0.020
4	SO_4^{2-}	$Y=0.7102X-0.0081$	0.1~1.00	0.9998	0.005	0.020
5	PO_4^{3-}	$Y=0.3146X-0.0019$	0.1~1.00	0.9999	0.005	0.020

2.5 方法的检出限和定量限 将混合对照品溶液依次稀释至不同浓度,按照 2.2 项的色谱条件分别检测。以信噪比 3:1 作为检测限,计算 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 检出限,见表 2。以信噪比 10:1 作为定量限,计算 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 定量限见表 2。

2.6 方法的精密性、重复性和稳定性试验 取浓度为 $0.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 混合对照品溶液重复进样 6 次, Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 峰面积 RSD 分别为 0.45%, 0.64%, 0.77%, 0.69%, 0.70%, 0.72%。表明仪器精密性良好。

取栀子样品,按照 2.1 项下的制备方法,平行制备 6 份供试品溶液进样分析, Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 峰面积 RSD 分别为 0.93%, 0.86%, 0.75%, 0.78%, 0.84%。表明方法的重复性良好。

取同一份供试品溶液,分别于 0, 2, 8, 16 和 24 h 进样测定, Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 峰面积 RSD 分别为 0.95%, 0.83%, 0.88%, 0.96%, 0.84%, 表明栀子溶液 24 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验 采用加入标准溶液法做回收率试验,称取 12 份 1.0 g 相同质量的栀子粉末,分别加入相当于样品含量 80% 和 120% 的不同体积阴离子标准溶液,按制备 2.1 项下的方法制备样品溶液,测定结果见表 3。

2.8 含量测定 按照 2.1 项下方法制备供试品溶液,并按照 2.2 项的色谱条件进样测定,计算栀子药材中 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 的含量,结果分别为 0.084 16%, 0.063 23%, 0.069 58%, 0.303 5%, 0.118 3%。从分析结果看栀子提取液中 SO_4^{2-} 的含量较高, Br^- 的含量较低, Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 5 种离子含量各不相同,可能对栀子的疗效和药理作用有一定的影响。

3 讨论

中药材中的微量元素含量是评价中药质量非常重要的基础数据,中药的药性和药效与中药中的无机元素密切相关,各种无机元素含量水平是决定植

表 3 栀子中 5 种阴离子加样回收率试验 ($n=6$)

阴离子	阴离子含量 /mg	阴离子加入量 /mg	测定值 /mg	回收率 /%
Cl^-	0.841	0.65	1.488	99.54
		1.05	1.867	97.71
Br^-	0.632	0.50	1.127	99.00
		0.80	1.425	99.13
NO_3^-	0.697	0.55	1.249	100.36
		0.85	1.551	100.47
SO_4^{2-}	3.035	2.50	5.551	100.64
		3.50	6.571	101.03
PO_4^{3-}	1.183	0.90	2.067	98.22
		1.35	2.512	98.44

物类中药四性(寒、热、温、凉)的主要因素之一,无机元素与药效的发挥存在协同作用关系。因此,研究药物中无机阴离子的提取与测定对于帮助人们认识中药药性与无机元素的相关性无疑是有益的^[7]。中药的药效不仅取决于药物中的有机成分,还与药物中无机元素的种类与含量息息相关,因此建立中药中痕量元素的分析方法是很有意义的。近些年来人们对药理或证候研究反思的基础上,不断认识到“性效关联”“药证相关”的重要性,提出将对药性与效用关系以及药与证相互关联的研究结合起来^[8]。根据中医辨证用药原则,与其临床应用中所体现出的功效作用相对应,进行药性与功效的关联性方面的研究探讨,对传统中药药性理论的重新升华具有重要意义。

栀子常见的提取方法主要有煎煮法、渗漉法、回流提取法、超声法和微波法、直接浸泡法等^[9-10],超声提取法利用空化效应、热效应、机械搅拌、强化扩散、乳化作用、凝聚作用等理化特性对目标产物进行提取,可以将栀子所含成分快速高效地提取出来,在 1 h 之内可以处理完样品,因此本实验采用超声波提取法提取栀子药材。提取液稀释 20 倍后经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤过

后测定栀子中阴离子的含量,栀子溶液中检出 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 5种阴离子。在实验中考察了10,20,30 min不同提取时间,15,25,40 mL不同加水量和提取次数对阴离子含量的影响,经3次单因素试验,最终确定栀子药材的超声提取工艺参数。

传统测定阴离子法操作繁琐、检出限高、不利于多种阴离子的同时测定分析等不足逐渐被离子色谱法取代。离子色谱法以分析速度快、检测灵敏度高、选择性好、多离子同时分析、稳定性高等优点成为常规阴离子的首选测定方法^[11-12]。本实验采用KOH溶液梯度洗脱,操作简便,重复性良好,常见5种阴离子 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 分离度良好,分析时间短,灵敏度高且各成分之间无干扰。IonPac AS11-HC可用来分析复杂样品大量的无机阴离子和有机酸阴离子,可以进样较高浓度的样品而不会担心进样量过载或色谱柱变宽。故笔者选择采用ICS-900离子色谱仪,IonPac AS11-HC阴离子色谱柱,KOH溶液梯度洗脱,抑制电导检测器分析栀子中的 Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 5种阴离子。该法操作简便快速,灵敏度高,测定结果准确可靠。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:231.
- [2] 吴承艳,赵国平. 本草古籍常用药物性味归经与功用主治对照[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:425.

- [3] 彭清华. 中西医结合眼科学[M]. 北京:中国中医药出版社,2010:219,234.
- [4] 饶毅,刘玲,刘琼,等. 离子色谱法测定大黄药材中二氧化硫残留量的不确定度评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22):32.
- [5] 包雪英,刘艳秦. 离子色谱法测定金莲花中多种阴离子研究[J]. 北方园艺,2012(23):168.
- [6] 刘冬莲,石洪凌,刘会媛,等. 离子色谱法测定中药当归中的无机阴离子成分研究[J]. 唐山师范学院学报,2007,29(2):26.
- [7] 杨树科. 七种阴离子的离子色谱法保留值建模研究及其在三种民族药阴离子测定中的应用[D]. 昆明:云南民族大学,2009:20.
- [8] 刘培勋,龙伟. 中药药性与中药药性物组学[J]. 中国中药杂志,2008,33(14):1769.
- [9] 游剑,邓青云,高丽,等. 不同工艺对栀子苷提取效果的比较研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(1):220.
- [10] 唐灿,王子雯,孙嘉婧,等. 多指标综合评价巴中产栀子的品质[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):115.
- [11] 袁天军,金航,王元忠,等. UAE-IC法测定滇龙胆中5种阴离子[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):65.
- [12] 甘盛,韩婷,施晓光,等. 探索用离子色谱测定玄明粉中硫酸钠的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):158.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅 2014 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。1994年创刊,2002年,被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已相继被《中国科学引文数据库》、波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等知名检索系统收录。

本刊是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、流行病学调查、临床论著、实验研究、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学、综述等。

本刊为月刊,大16开国际开本,136页,国内外公开发售,每册定价10元,全年120元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街16号《中国中医药信息杂志》编辑部,邮编:100700,电话:010-64014411-3278, E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn。