

离子色谱在中草药成分分析中的应用

张保鑫^{1,2}, 田景琴², 柴国柱², 贺文琪², 兰小中^{1,2}, 韩兴昊^{2*}

(1. 西藏大学医学院, 西藏 拉萨 850000; 2. 西藏农牧学院, 西藏中(藏)药资源中心,
西藏自治区藏药资源保护与利用重点实验室, 西藏 林芝 860000)

摘要:离子色谱是用于分离分析不同基质样品中离子性物质的一种新型高效液相色谱技术。自 1975 年发展至今, 已被广泛应用于环境、能源、食品、医药等多个领域, 具有操作简单、分析快速、灵敏度和选择性高, 且能同时分离测定多种组分等优点。近年来, 随着离子色谱技术自身迭代发展, 可测定分析的样品种类已包括离子、糖类、氨基酸、有机酸(碱)等, 同时离子色谱法也越来越成为针对中草药复杂组分中单个有效成分分析与鉴定的重要手段。本文介绍了离子色谱技术的不同类型、原理及研究进展, 整理了近几十年离子色谱在中草药糖苷类、氨基酸、蛋白质、无机盐以及有机酸、生物碱类和黄酮类等复杂成分中的应用情况; 检索文献发现, 离子交换色谱、电导检测法为离子色谱中最常用的技术类型和检测方式, 且目前离子色谱在生物碱类成分分析中的应用展现出较传统分析方法更好的优势, 但在无机阴离子的形态分析和黄酮类、苯丙素类、甾体类等主要活性物质中的直接应用研究报道较少。最后, 综述了离子色谱(联用)新技术及其在中草药中的最新进展, 并对该色谱方法未来在复杂组分分离分析方面的应用进行了探讨和展望, 为离子色谱技术分析中草药复杂化学成分的进一步发展提供理论参考。

关键词:离子色谱; 中草药; 复杂组分; 成分分析

中图分类号: O658 文献标识码: A

Applications of ion chromatography for the analysis of Chinese herbal medicine components

ZHANG Baoxin^{1,2}, TIAN Jingqin², CHAI Guozhu², HE Wenqi²,

LAN Xiaozhong^{1,2}, HAN Xinghao^{2*}

(1. Medicine College, Tibet University, Lhasa 850000, China; 2. Key Laboratory of Tibetan Medicine Resources Conservation and Utilization of Tibet Autonomous Region, Tibet Chinese (Tibetan) Medicine Resources Center, Tibet Agriculture and Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, China)

Abstract: Ion chromatography (IC) is a novel high performance liquid chromatographic technique that is suitable for the separation and analysis of ionic substances in different matrix samples. Since 1975, it has been widely used in many fields, such as the environment, energy, food, and medicine. IC compensates for the separation limitations of traditional gas chromatography and high performance liquid chromatography and can realize the qualitative analysis and quantitative detection of strongly polar components. This chromatographic technique features not only simple operations but also rapid analysis. The sensors used in IC are characterized by high sensitivity and selectivity, and the technique can simultaneously separate and determine multiple components. Several advances in IC instrumentation and chromatographic theories have been developed in recent years. IC can analyze various types of samples, including ions, sugars, amino acids, and organic acids (bases). Chinese herbal medicines are typically

收稿日期: 2023-10-11

* 通讯联系人. E-mail: hanxinghao@xza.edu.cn.

基金项目: 西藏农牧学院 2022 本科教学质量工程教学团队项目(XJJXTD-12250).

Foundation item: 2022 Undergraduate Teaching Quality Engineering Teaching Team Project of Tibet Agriculture and Animal Husbandry University (No. XJJXTD-12250).

本文为“离子色谱及其相关技术专辑”稿件。

characterized by highly complex chemical compositions and may contain carbohydrates, proteins, alkaloids, and other active components. They also contain toxic residues such as sulfur dioxide, which may be produced during the processing of medicinal materials. Therefore, the analysis and elucidation of the precise chemical constituents of Chinese herbal medicines present key problems that must be resolved in modern Chinese herbal medicine research. In this context, IC has become an important method for analyzing and identifying the complex components of Chinese herbal medicines because this method is suitable for detecting a single active ingredients among complex components.

This paper introduces the different types and principles of IC as well as research progress in this technique. As the applications of IC-based methods in pharmaceutical science, cell biology, and microbiology increase, further development is necessary to expand the applications of this technique. The development of innovative techniques has enabled IC technologies to achieve higher analytical sensitivity, better selectivity, and wider application. The components of Chinese herbal medicines can be divided into endogenous and exogenous components according to their source: endogenous components include glycosides, amino acids, and organic acids, while exogenous components include toxic residues such as sulfur dioxide. Next, the applications of IC to the complex components of Chinese herbal medicines in recent decades are summarized. The most commonly used IC technologies and methods include ion exchange chromatography and conductivity detection. The advantages of IC for the analysis of alkaloids have been demonstrated. This method exhibits better characteristics than traditional analytical methods. However, the applications of IC for the speciation analysis of inorganic anions are limited. Moreover, few reports on the direct application of the technique for the determination of the main active substances in Chinese herbal medicines, including flavonoids, phenylpropanoids, and steroids, have been reported.

Finally, this paper reviews new IC technologies and their application progress in Chinese herbal medicine, focusing on their prospects for the effective separation and analysis of complex components. In particular, we discuss the available sample (on-line) pretreatment technologies and explore possible technologies for the selective and efficient enrichment and separation of different components. Next, we assess innovative research on solid-phase materials that can improve the separation effect and analytical sensitivity of IC. We also describe the features of multidimensional chromatography, which combines the advantages of various chromatographic techniques. This review provides a theoretical reference for the further development of IC technology for the analysis of the complex chemical components of Chinese herbal medicines.

Key words: ion chromatography (IC); Chinese herbal medicine; complex components; component analysis

离子色谱(ion chromatography, IC)又称高效离子色谱(HPIC)、现代离子色谱,于1975年由

Dow 化学公司化学家 Small 等^[1]首次提出,是基于离子性化合物与固定相表面离子性功能基团之间的

引用本文:张保鑫,田景琴,柴国柱,贺文琪,兰小中,韩兴昊. 离子色谱在中草药成分分析中的应用. 色谱,2024,42(4):311-326.

ZHANG Baoxin, TIAN Jingqin, CHAI Guozhu, HE Wenqi, LAN Xiaozhong, HAN Xinghao. Applications of ion chromatography for the analysis of Chinese herbal medicine components. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(4): 311-326.

电荷相互作用,实现离子性物质分离和分析的高效液相色谱(HPLC)技术。IC发展初期,主要用于测定样品中的无机阴离子^[2],后来随着色谱仪器更新迭代及色谱理论深入发展,可测定分析的样品种类已增加至糖类、氨基酸、有机酸(碱)、金属离子等^[3-6],成为多种常见离子的标准检验方法^[7]。

中草药化学成分十分复杂^[8],包含自有的糖类、蛋白质类、生物碱类等有效成分及在药材处理过程中可能产生的二氧化硫等有毒残留物质,因此分析和阐明其精准化学成分一直是现代中草药研究中亟待解决的关键问题。IC弥补了传统气相色谱(GC)^[9]和HPLC^[10]的分离弱势,可实现对强极性成分的定性分离和定量检测,具有高灵敏度、高选择性、操作快速简单、能同时分离测定多种组分等优点^[11]。2010年,IC首次被《中国药典》收载入附录中,成为中草药成分分析及检验领域十分重要的分析手段。基于此,本文综述了近年来IC及其新技术在中草药成分分析领域的应用,为扩展其在中药、民族药复杂组分分析与鉴定方面的应用提供理论参考。

1 IC的理论概述及研究进展

1.1 IC理论概述

IC分析仪器的组成包括流动相输送系统、进样系统、分离系统、检测系统和数据采集分析系统等(见图1),依据分离机制不同,IC主要分为离子交换色谱(ion exchange chromatography, IEC)、离子对色谱(ion pair chromatography, IPC)和离子排斥色谱(ion exclusion chromatography, ICE)^[12,13]。其中IEC是IC中应用最广泛的分离方式,它利用离子交换的原理,通过不同离子与固定相

间的库仑力差异达到分离定性的目的^[11],适用于中草药中亲水性阴阳离子的分析^[14];IPC的分离原理是基于待测组分在分离柱上的吸附分配作用^[15],通常采用普通HPLC的分离体系,适用于分析具有表面活性的阴阳离子及金属络合物等强极性成分^[16,17];ICE主要依据Donnan排斥效应、空间排斥和吸附作用,利用待测组分与固定相之间的非离子性相互作用机制进行分离^[18,19],适用于有机酸、无机弱酸及醛、醇、氨基酸等成分的分析^[20,21]。

IC检测器分为两大类,即电化学检测器和光学检测器。使用电化学检测器的IC检测技术包括最通用的抑制电导检测法、直接电导检测法、电化学安培法(直流、脉冲、积分脉冲安培法)等;而紫外-可见吸收光度法、荧光法等是应用光学检测器的IC检测方式。此外,IC还可与质谱(MS)、电感耦合等离子体(ICP)等联用(IC-MS、IC-ICP-MS^[22,23])以适用更加广泛的分析领域。

电导检测法作为IC中最常用的检测方法,分为抑制电导和直接电导,是通过测量缓冲溶液中分析物离子与共存离子的摩尔电导率来产生响应信号^[24],常见的无机、有机阴阳离子^[25,26]和生物化学物质(如氨基酸)^[27]等都可用此种方法。电化学安培法是在工作电极上对分析物进行氧化还原反应,可选择性检测 SO_3^{2-} 、 NO_2^- 、 CN^- 、 I^- 、 S^{2-} 等无机阴离子以及有机胺、醛、醇、酚等有机离子。紫外-可见吸收光度法具有高灵敏度和高选择性,可测定在紫外或可见光区域内有吸收的 NO_2^- 、 IO_3^- 和 BrO_3^- ^[28];而间接紫外检测常用于自身不具有紫外吸收离子的分析,其流动相一般由具有强紫外吸收的苯多羧酸酯类化合物(benzenepolycarboxylates)组成^[29],检测信号为负值。荧光检测是另一种基于光发射的技

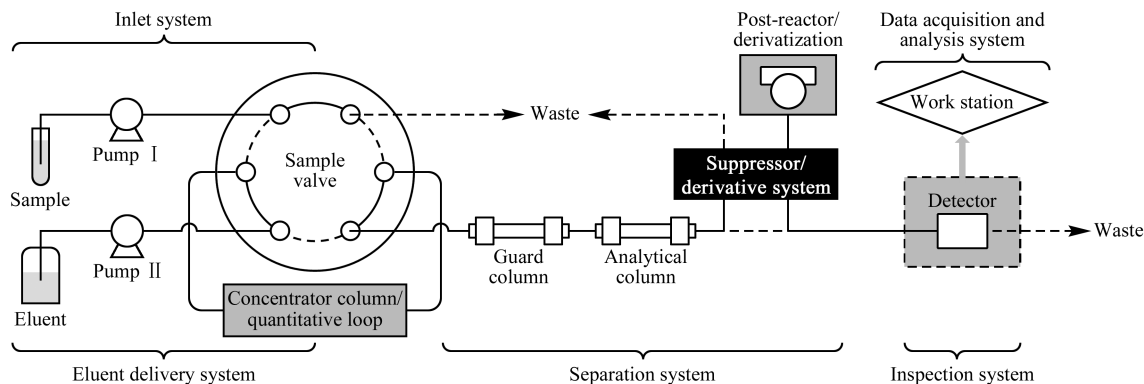


图1 IC技术流程示意图
Fig. 1 Schematic diagram of the process of ion chromatography (IC)

术,除可直接应用于具有天然荧光特性的分析物或经过适当柱前衍生化的分析物外,亦会以柱后反应模式进行分析物测定(柱后衍生光度法),可选择性检测氨基酸及 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cr^{6+} 等重金属和稀有金属离子^[30-32]。IC 与元素(结构)选择性检测器(如等离子体发射光谱(Plasma-OES)、原子吸收光谱(AAS)等)联用综合了分离性好、选择性高和灵敏度高的优势,为某些特定元素的形态分析提供了合适方法^[33]。

1.2 IC 研究进展

IC 作为现代实验室中重要的色谱分析技术,近年来在研究和应用领域得到了广泛关注,并取得显著进展。迄今为止,IC 除在环境、食品、材料科学等领域的应用外,在药物科学、细胞生物学、微生物学等领域的应用也越来越多,具有进一步发展和应用的空间(见图 2)。此外,IC 新技术的发展同时为复杂组分研究奠定了硬件基础,主要体现在以下方面:①IC-MS 技术。通过结合 IC 的分离能力和 MS 的检测灵敏度,IC-MS 能够实现对复杂离子混合物的高灵敏度和高选择性检测。②IC 的微流控技术。通过采用微流控芯片的样品制备方法,将分析物经处理、分离、检测等基本操作单元集成或基本集成到芯片中,实现了高效的分离、快速的分析和低样品消耗。③新型 IC 固定相材料。通过不断开发和改进具有较大表面积、高化学活性和更好稳定性的新型固定相材料,如金属有机骨架(metal-organic frameworks, MOFs)、离子液体和纳米材料等,可以提高 IC 的分离效果和分析灵敏度。④IC 的在线前处理技术。能够实现对分析物中的离子化合物进

行选择性富集和分离,提高 IC 的灵敏度和选择性。

IC-MS 联用技术的发展、微流控技术的应用、新型固定相材料的研究和在线前处理技术的创新等方面的进展,使 IC 具备了更高的分析灵敏度、更好的选择性和更广阔的应用领域。随着技术的不断发展和创新,IC 将扮演更重要的角色,为科学研究和实际应用提供更多可能。

2 IC 在中草药中的实际应用

中草药的化学成分极为复杂,以来源不同可分为内源性成分和外源性成分。在内源性成分中有些是一般药用植物普遍存在的^[34],如糖苷类、氨基酸、蛋白质、无机盐和微量元素;另一部分则是同科或同属植物某些器官中特殊共存的有机化合物^[35],如某种有机酸类、生物碱类、黄酮类等,并且大多具有显著的药理活性。此外,还包括中药材处理过程中可能产生的二氧化硫等有毒残留物质。本部分总结了 IC 发展至今在中草药内源性成分和外源性成分分析中的应用。

2.1 中草药内源性成分的分析

2.1.1 糖苷类物质的分析

中草药中富含的糖苷类化合物是中草药重要的生物活性物质之一。先前对于糖类物质的分析方法主要有 GC、HPLC、亲和色谱与 HPLC 联用、毛细管电泳法(CE)等,而后鉴于糖类成分在强碱溶液中可呈离子化状态且拥有电化学活泼性的原理^[36],IC 便发展成为其重要分析方法之一。例如, Sekiguchi 等^[37]使用 Dionex CarboPac PA1、CarboPac PA1 guard 色谱分析柱,以 75 mmol/L NaOH 和 75 mmol/L NaOH-500 mmol/L 乙酸钠为流动相梯度淋洗,流速为 1 mL/min,电化学脉冲安培法检测分析了药用植物拟南芥中的磷酸糖。该法同时使用 Titansphere TiO 柱富集纯化磷酸糖,提高了对磷酸糖的分辨率,减少了植物提取物中未知化合物的干扰,为测定复杂成分中的磷酸糖提供了简易方法。乐胜锋等^[38]采用 Dionex CarboPac PA10 色谱柱分离,14~20 mmol/L NaOH 以 1 mL/min 流速梯度洗脱,电化学积分脉冲安培法测定了芦荟多糖中岩藻糖、鼠李糖等 7 种单糖,使常见多糖与单糖的定性定量分析方法得到优化。许玮仪等^[39]使用 Dionex CarboPac PA210-Fast-4 μm 分析柱,以积分脉冲安培法测定了肉苁蓉多糖中单糖的组成和游离单糖的含量,该法较 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮柱前衍生

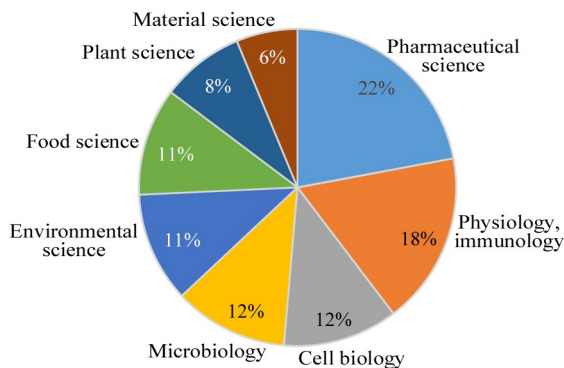


图 2 1975 年 9 月至 2023 年 11 月 IC 应用的不同研究领域及其相关论文发表比例(基于 Web of Science 检索)

Fig. 2 Different research fields of IC applications and proportion of related papers published from September 1975 to November 2023 (based on a Web of Science search)

HPLC 方法的前处理过程简单,在肉苁蓉果糖组成测定时更有优势。Wang 等^[40]在莲花多糖的提取纯化研究中提到离子交换色谱也是目前纯化和分离多糖物质的最常用技术。

另外,对于糖的衍生物-苷类物质的分析,IC 也展现出独特优势。例如,刘鹏等^[41]建立了反相离子对色谱,采用 Agilent Eclipse XDB-C18 色谱柱,以乙腈-0.15% 磷酸二氢钠溶液为流动相,在波长 203 nm 处测定了苍耳子中 2 种苍术苷毒性成分。该方法具有快速可靠、耐用性好、专属性强等特点,使羟基苍术苷、苍术苷在 20 min 内即得到了良好分离。

2.1.2 氨基酸的分析

氨基酸是生物大分子蛋白质和酶的基本组成单元,主要以游离态、结合态 2 种形式存在于自然界中。中草药中富含大量人体所需的氨基酸,它是为人类提供营养及发挥药效的关键组分,因此,氨基酸的分析也是中草药复杂成分分析中的重要部分^[42]。目前氨基酸的分析方法主要有化学分析法^[43]、光谱分析法^[44]、色谱分析法和 CE^[45]等,而色谱分析法中的 IEC 与 IPC 又是分析氨基酸组分通常使用的 2 种高效 IC。例如栾兰等^[46]选择日立 2622 SC 型阳离子交换树脂色谱柱,使用 5 种缓冲溶液以 0.28 mL/min 的流速梯度洗脱,以茚三酮为衍生显色剂,显色剂流速为 0.32 mL/min;检测波长设定为 570、440 nm(针对脯氨酸和羟脯氨酸),测定了金银花、连翘和黄芩 3 种药材中游离及水解后的氨基酸含量。该法(柱后衍生-阳离子交换色谱法)利用氨基酸自动分析仪建立其色谱分离方法,得到各药材中游离及总氨基酸的含量,检测结果准确。彭涛等^[47]将 LCA K 06/Na 阳离子分离色谱柱作为分析柱,以柠檬酸缓冲溶液(CPBS, pH 3.45)、柠檬酸硼酸缓冲溶液(CP-BBS, pH 10.85)和 0.02% 乙二胺四乙酸碱性溶液为流动相梯度洗脱,建立了氨基酸分析仪-柱后衍生离子交换色谱测定红芪中天冬氨酸、丝氨酸、组氨酸等 17 种氨基酸的方法。朱岩等^[48]研发了一种 IC-抑制电导检测白氨酸、牛磺酸、苯丙氨酸和苯酚等氨基酸类成分的方法,以 0.75 mmol/L KCl+NaOH (pH 11.5)为淋洗液在 2 mL/min 的流速下等度洗脱。而后刘春梅等^[49]又使用 IC-直接电导检测法测定了混合标样中的苏氨酸含量。该方法检测样品可不经衍生化处理,直接分析,具有操作简便、检测迅速及结果可靠等特点。

此外,Clarke 等^[50]提出的使用高效阴离子交换

色谱-积分脉冲安培法测定氨基酸的技术也成为氨基酸分析的常用方法,该方法具有灵敏性高、稳定性好等优点,对于大多数氨基酸的检出限通常能够达到 pmol 或 fmol 级^[51]。如钟添华等^[52]用 Dionex AminoPac PA10 型分析柱,以 H₂O、250 mmol/L NaOH 和 1 mol/L NaAc 为流动相进行梯度洗脱,流速为 0.25 mL/min,电化学积分脉冲安培法分析测定了药材金线莲中的 17 种氨基酸。

除 IEC 外,IPC 在中草药氨基酸的分离分析方面同样得到了广泛应用^[53]。例如, Moldoveanu 等^[54]采用离子对色谱法分离样品中的不同种氨基酸,然后再用质谱检测器分析测定了 18 种药用植物样品中的游离氨基酸含量。

2.1.3 蛋白质和酶的分析

蛋白质是自然界中的一类大分子化合物,广泛存在于生物体的各种组织和细胞中。研究已发现,中草药中的某些蛋白质(如天花粉蛋白、槲寄生凝集素、豆豉纤溶酶等)是其发挥抗病毒、抗肿瘤、抗氧化及免疫调节等药理活性的重要有效成分之一^[55]。酶作为一类催化生物化学反应的特殊蛋白质,也常存在于中草药中。目前在蛋白质的分析中,通常会采用电泳、光谱、色谱及质谱等技术,其中色谱技术是分离纯化植物中蛋白质类成分的主要分析方法^[56],而作为色谱技术之一的离子交换色谱也是最经典的一种蛋白质纯化分析手段。例如, Haq 等^[57]利用 DEAE Sephadex A50 离子交换色谱柱分离纯化了茴香叶黑种草中的全部蛋白质类组分。该法以 0.01~2.00 mol/L NaCl 和 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 6.4)为淋洗液线性梯度洗脱,于检测波长 280 nm 处测定分析得四组馏分,而后通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳对其进行分析,结果显示出许多(94±10) kDa 的蛋白质条带。Jiang 等^[58]亦采用 DEAE-Sephacryl S-100 凝胶过滤色谱等方法从中草药见血青的根茎中分离纯化甘露糖结合凝集素。经鉴定,纯化得到的 *L. nervosa* 凝集素(LNL)为一个单体蛋白(13 kDa)。Mulla 等^[59]通过超速离心过滤-离子交换色谱法提取疣柄魔芋块茎中的酪氨酸酶。该方法是依据 Balkrishnan 的酶提取法先将疣柄魔芋块茎切成小块,在 4 ℃ 下用搅拌器将其匀浆到 50 mmol/L PBS(pH 6.0)中,再经超速离心、过滤得到滤液部分后,采用 DEAE-cellulose 色谱柱,以 0~300

mmol/L NaCl 为流动相线性梯度洗脱,最终得到了高度纯净的酪氨酸酶(纯化倍数为 12.65,比活力为 60.25 U/mg)。

2.1.4 无机盐的分析

中草药中含有丰富的无机盐,它们一般是由金属阳离子与无机阴离子组成,其中金属阳离子的元素类型可分为常量元素(K、Ca、Mg等)和微量元素(Zn、Fe、Cu等),这些金属元素对中药材中多种生物分子的活性发挥起关键调控作用,可协同促进某些有效成分发挥药理作用^[60-62]。近年来,中药材中无机阴离子与其疗效的关系也日益受到关注,对其阴离子的分析测定可作为评价中药质量的重要参考。这些阴阳离子等无机元素与中草药的质量优劣及药性、药效都有着密切关系,因此研究其高效的分离分析方法具有重要意义^[63]。无机阴阳离子的分析方法主要有化学分析法、光度分析法、色谱分析法等,IC相较于以往传统的化学分析方法、仪器分析方法具有操作简便、分析快速和灵敏度高的优势^[64],已逐渐成为测定中药材中常见阴阳离子的首选方法。

首先,在金属阳离子的测定方面,田甜等^[65]使用 IonPac CS12A 分析柱、CSRS 4mm 抑制器,以 20 mmol/L 甲烷磺酸(MSA)水溶液为淋洗液,检测了石膏-知母组合物中 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} ,并建立了相应的指纹图谱。王宗花等^[66]以 ICS-C25 阳离子交换柱为分析柱,在 2.5 mmol/L 的均苯四甲酸淋洗液下等度洗脱,流速选择 0.6 mL/min,抑制电导检测快速分析了川芎和酸枣仁提取液中的 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 等 5 种常见金属阳离子的含量。该法中各离子的最低检出限为 0.001~0.013 mg/L,线性范围可达 3 个数量级。Yelampalli 等^[67]采用 Dionex® IonPac® CS16 为色谱柱,6.7% MSA 水溶液为流动相,流速为 1.2 mL/min,对口服制剂中的无机盐(Na_2SO_4 、 K_2SO_4 、 MgSO_4)进行定量分析。结果显示,钠、钾和镁硫酸盐的保留时间分别为 7.8、12.8 和 16.2 min,并通过 ICH(The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use,人用药品技术要求国际协调理事会)指南进行验证,得到良好的线性关系和准确度,钠、钾和镁硫酸盐的线性范围分别为 80.0~240.0、20.0~60.0 和 4.5~13.5 mg/L(ppm)。郭新苗等^[68]亦使用 IonPac CS12A 分析柱,以 20 mmol/L MSA 为淋洗液

对金银花提取物进行等度洗脱,准确测定了金银花中 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 等 4 种金属阳离子的含量,检出限分别为 0.025、0.020、0.050 和 0.015 mg/L。此方法快速、灵敏度高、结果可靠,为中药金银花中阳离子的含量测定提供了一种有效方法。其次,在无机阴离子测定中,展建丽等^[69]则采用 Dionex IonPac AS22 型色谱柱,以超纯水- NaHCO_3 (1.5 mmol/L)- Na_2CO_3 (4.5 mmol/L)溶液为流动相等度洗脱,抑制电导检测法测定了黄花草木犀中 Cl^- 、 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 等 3 种无机阴离子的含量,结果显示各离子浓度与峰面积具有良好的线性关系,适宜测定黄花草木犀中阴离子的含量。张元等^[70]利用 IC-抑制电导检测法测定了丹参注射剂中 F^- 等 6 种阴离子的含量。该方法以 IonPac AS11-HC 阴离子色谱柱为分析柱,KOH 溶液为淋洗液梯度洗脱(运行 0~13 min,浓度变化为 12~20 mmol/L),为丹参注射剂的质量控制研究提供了一种简便可靠的方法。李冰茹等^[71]将三七药材经水浴提取,正己烷净化,使用 IonPac AS15 型色谱柱为分析柱,以 30 mmol/L KOH 溶液为洗脱剂等度淋洗,通过抑制电导检测器分析测定了三七中 Cl^- 的含量,与高温干法灰化法相比精密度更优。除抑制电导检测方法外,王宗花等^[72]还采用非抑制型阴离子交换色谱法,以 Shim-pack IC-A1 为色谱柱,0.8 mmol/L 邻苯二甲酸氢钾溶液为淋洗液,快速分离分析了川芎提取液中的 H_2PO_4^- 等 3 种无机阴离子。该方法使 3 种离子得到了较好分离, Cl^- 、 NO_3^- 和 H_2PO_4^- 的检出限分别为 0.05、0.18、0.71 mg/L。

此外,IC 还可用于金属阳离子中某些微量元素(如砷、铬、锑等)的形态分析^[73]以及部分常见无机阴离子的初级形态分析。例如,侯逸众等^[74]建立了 IC-双阳极电化学氢化物发生-原子荧光光谱法测定当归中锑元素的形态,该法实用性较强,方法准确可靠。Yang 等^[75]采用 IC 测定了阿胶中的痕量六价铬(Cr(VI));他们首先基于聚合物的反相色谱预处理柱保留样品中复杂的有机化合物基质,之后通过阀切换技术将带有目标离子的样品溶液输送到 IonPac AS19 分析柱中,在波长 545 nm 处进行检测。王小平等^[76]通过建立 IC-ICP-MS 的方法对松茸等植物中 6 种砷的形态分布开展了分析,得知其生物体内总砷含量最高,而无机砷(亚砷酸+砷酸)占总砷比例最低(3.7%~6.8%),砷甜菜碱占比最高(75.8%~87.3%);该方法可在较短时间内实现各类

砷化合物的较好分离,且峰形较好,检出限和定量限均分别不超过 0.005 mg/kg 和 0.02 mg/kg。徐万帮等^[77]也通过 IC-ICP-MS 联用方法对沉香化气丸中的 6 种砷和铬开展形态分析。近年来,对金属元素形态分析的相关研究较为丰富,但针对中草药中非金属成分(无机阴离子)的分析研究相对缺失,时嵩年等^[78]首次采用 IC 对中草药中几种常见无机阴离子的形态进行了分析研究,但该研究也只包括了可溶态、悬浮态(中草药水煎液经 0.45 μm 滤膜过滤分离所得),是初级的形态分析。

2.1.5 有机酸的分析

有机酸指含有羧基($-\text{COOH}$)的化合物,是中草药中一类重要的组成成分,具有抗炎、抗氧化、抑菌及抗惊厥等多种药理作用^[79-81],常见的有机酸类物质有草酸、柠檬酸、苹果酸、绿原酸等,常用的分析方法包括 RP-HPLC、GC、薄层色谱(TLC)和 IC 等^[82]。在 IC 的 3 种类型中,有机酸的分离分析主要应用的是 IEC 与 ICE。有机酸的 IEC 是利用其在水溶液中的可解离性差异而达到分离目的,通常来说,越易离解的成分在离子交换色谱柱上的保留值越大。例如, Li 等^[83]开发了一种阴离子交换色谱柱同时分离测定黄连中 7 种有机酸的方法,其采用 IonPac AS11-HC 色谱柱,以 KOH 溶液为流动相梯度洗脱,采用抑制电导法检测了奎宁酸、乙酸、甲酸、酒石酸、苹果酸、琥珀酸和草酸,结果表明有机酸可作为黄连药材品质辅助鉴定的有效成分。夏雪琴等^[84]采用 Dionex IonPac AS19 分离柱,以 4~54 mmol/L KOH 为流动相梯度洗脱,同时测定了乌梅及其配方颗粒中的草酸、柠檬酸等 4 种有机酸类物质的含量。该方法中有机酸成分的分离度良好,可应用于快速检测乌梅等富含有机酸类物质的药材。华丰等^[85]用 Transgenomic IC Sep Ion 300 色谱柱分离,8 mmol/L H_2SO_4 溶液等度淋洗,流速为 0.5 mL/min,抑制电导检测法测定了灵芝提取物中的 4 种有机酸,结果显示在 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内具有较好的线性关系,加标回收率为 98.2%~100.4%,相对标准偏差(RSD)均小于 2%。

在 ICE 中,有机酸类的分离主要受溶液中 Donnan 排斥效应的支配,其在色谱柱上的保留情况恰与 IEC 相反。例如,刘瑞等^[86]使用 Transgenomic Sep-ION-300 分离柱,以 5 mmol/L H_2SO_4 -丙酮(95:5, v/v)为淋洗液等度洗脱,电导检测法分析了生脉注射液中的柠檬酸、苹果酸和琥

珀酸。该法所需样品前处理简单,具有可靠性高、重现性好的特点。林晓婕等^[87]采用 IC-Pak Ion Exclusion 色谱柱,以 H_2SO_4 -乙腈(98:2, v/v)混合液为流动相,并设定 H_2SO_4 浓度的线性梯度程序(0~40 min, 0.01~0.02 mol/L; 40~50 min, 0.01 mol/L),于 210 nm 处快速分离检测了黄酒中的草酸、酒石酸、抗坏血酸等 13 种有机酸,且在 0.001~1.000 g/L 范围内具有良好的线性关系。

2.1.6 生物碱类物质的分析

生物碱是广泛存在于茄科、毛茛科和小檗科等多种植物类中药材中的一类含氮天然有机化合物,多具有显著而特殊的生理活性^[88],如小檗碱、苦参碱等具有抗肿瘤作用^[89];阿托品、东莨菪碱等具有解痉作用^[90];吗啡、延胡索乙素等有镇痛作用^[91]。目前,针对中草药中生物碱类成分的检测方法主要有重量法、薄层扫描法、CE、HPLC 和 IC 等^[92,93],而 IC 在生物碱分析测定的众多方法中展现出更好的优势。例如,曾文芳等^[94]采用碳纳米管修饰电极离子交换色谱法测定从中药麻黄中提取的盐酸麻黄碱,该方法使用 Dionex AG9-HC 分析柱,以 8 mmol/L Na_2CO_3 -甲醇(9:1, v/v)混合液为淋洗液,电化学直流安培法检测;结果显示,当使用未修饰电极测定盐酸麻黄碱时检出限为 2.4 $\mu\text{g/L}$,而修饰后检出限降至 0.2 $\mu\text{g/L}$,方法灵敏度提高了 10 倍以上,为盐酸麻黄碱含量测定的新方法研究提供了参考。张晨光等^[95]用 WY-Cation-1 阳离子分析柱,以 2.0 mmol/L MSA 溶液为流动相等度淋洗,直接电导检测法测定糖蜜提取物中的甜菜碱。结果表明,甜菜碱在 0.5~50 mg/L 范围内具有良好的线性关系,检出限为 0.15 mg/L。除运用离子交换色谱法外,离子对色谱法也常用于生物碱类化合物的检测,鄢丹等^[96]采用反相离子对色谱法同时测定左金丸中盐酸小檗碱、吴茱萸碱、硫酸黄连碱等 7 种生物碱的含量。该方法以 Diamonsil C18 为分析柱,1.5 mmol/L 十二烷基硫酸钠溶液和乙腈为洗脱剂梯度淋洗,于紫外检测波长 265 nm 处分析测定,结果显示各生物碱进样浓度与色谱峰面积具有良好的线性关系,为含吴茱萸、黄连的复方制剂的质控提供参考。陈晨等^[97]亦运用此方法同时测定了复方苦参注射液中苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱和氧化槐果碱 4 种生物碱的含量。

此外,IC 与其他技术联用使得对中草药复杂成分的分析效率及灵敏度进一步提高,如 Feng 等^[98]

建立了一个 IEC、亲水相互作用色谱(HILIC)和反相色谱(RPC)相结合的三维液相色谱(3D-LC)系统测定药用植物白钩藤中复杂的生物碱类成分;在一维 IEC 系统中,该法采用 PhenoSphere™ SCX 色谱柱,以 20 mmol/L 乙酸铵-0.05% 甲酸(FA)水溶液和甲醇为流动相等度洗脱,紫外检测器设置在 254 nm 和 203 nm 处,分别检测生物碱和三萜酸,之后再通过二维 HILIC、三维 RPC 对各组分进行分离分析,结果共分离到 308 种成分,鉴定或初步表征了 128 种成分(其中生物碱 85 种、三萜酸类(TAs)29 种、其他 14 种)。这种 3D-LC 系统具有较高的精密度的(日内 RSD < 5%),优于传统的一维 LC-MS 系统。

2.1.7 黄酮类物质的分析

黄酮类化合物来源广泛,是自然界中以 C6-C3-C6 为基本碳骨架的多类型有机化合物,主要分布于唇形科、菊科、玄参科等植物中,大多以糖苷形式存在,部分以游离形式存在^[99]。同时,该类物质也是中草药中一类非常重要的有效成分,具有多方面的药理作用,如花青素、黄芩苷、槲皮素等具有抗炎、抗氧化作用,临床上可用于治疗心血管疾病^[100];水飞蓟素等具有肝保护作用,20 世纪 70 年代已被世界卫生组织列为治疗肝损伤疾病的官方药物^[101];川陈皮素、杜鹃素等还具有止咳化痰的作用。目前分析黄酮类物质的方法主要有薄层扫描法、分光光度法、HPLC 和 HPLC-MS 联用的方法等^[102]。通过大量的文献检索发现,IC 作为一种新型技术,有关其在黄酮类化合物中分析应用的报道很少,李清潭等^[103]也只是建立了一种以 D941 树脂为分离柱填料的连续离子交换色谱分离甘草提取液中甘草黄酮和甘草酸的最佳工艺,该方法初步探究了黄酮类物质分离的色谱柱类型,为后续 IC 在黄酮类化合物分析应用研究提供了参考。

2.2 中草药外源性成分的分析

中草药在加工处理过程中常会采用硫黄熏蒸技术,该方法在我国已实际应用了很长时间,不仅能够有效防止中药材腐烂、霉变和虫蛀,而且可以将药材漂白增艳,改善品质^[104]。但是依赖这种传统方法处理中草药,极易使熏蒸过程中产生的非自有成分(亚硫酸盐物质)残留在药材中,这些亚硫酸盐物质(也称二氧化硫残留)一方面会造成中药材中的某些有效成分(如苷类、生物碱等^[105,106])发生量变或

质变,另一方面过量摄入也会对人体造成一定的危害,如头痛、恶心,甚至神经系统损伤等^[107,108]。因此,探究建立精准高效检测中草药中二氧化硫残留的新方法,对中药质量、安全性评价及人类用药安全具有重要意义。目前检测中草药中二氧化硫残留量的常用方法主要有滴定法、分光光度法、GC 和 IC 等^[109],其中 IC 以高灵敏度和高准确性的特点在众多测定方法中凸显独特优势。例如,皮文霞等^[110]比较了滴定法与 IC 测定白术、山药、苦杏仁、金银花、熟党参等 5 种中草药中二氧化硫残留量的结果和适用性,选用 IonPac® AS11-HC 为分析柱,以 20 mmol/L KOH 溶液为淋洗液等度洗脱,抑制电导检测法测定样品中的二氧化硫残留量。结果显示滴定法的干扰因素较多,误差较大;而 IC 具有灵敏度高、专属性强等优点,可用于中药材二氧化硫残留量的准确测定,但在实际工作中还应根据处理条件及中草药品种差异选择不同方法检测。饶毅等^[111]使用 IonPac AS18 型离子交换柱,NaOH 水溶液为洗脱剂,流速为 0.25 mL/min,测得大黄中二氧化硫残留量为(189.92±7.14) μg/g,建立了适用于 IC 标准曲线法测定中草药中二氧化硫残留量的不确定度分析方法。谭聪等^[112]采用 Dionex Ionpac AS11A 型阴离子交换色谱柱测定中药苦杏仁和桃仁中的二氧化硫残留量,以 12 mmol/L KOH 溶液为洗脱剂,流速为 1.2 mL/min 等度淋洗,测得残留量为 24.78~88.57 μg/g。本法检测快速简单,能够避免假阳性干扰,可用于含有苦杏仁苷类成分的中药材中二氧化硫残留量的测定。此外,李继等^[113]还选择 3.2 mmol/L Na₂CO₃ 和 1.0 mmol/L NaHCO₃ 溶液作为淋洗液,以 0.7 mL/min 的流速等度淋洗,用 A-SUPP5-150 型 IC 柱测定中药天麻中的二氧化硫残留,测得其平均含量为 241.3 mg/kg,平均回收率为 98.0%,并通过单因素实验,探究了天麻经不同方法蒸煮所得的二氧化硫蒸出量差异,结果显示二氧化硫的蒸出量与 HCl 溶液浓度和蒸煮时间有关联。李耀磊等^[114]使用 IonPac AS-11-HC 阴离子交换柱为分析柱,以 20 mmol/L KOH 溶液为淋洗液,抑制电导检测法检测分析了菊苣根中的二氧化硫残留量(7.8~46.3 mg/kg),说明该中药材中二氧化硫残留风险整体较低,符合国家标准。

综上,离子色谱在中草药成分分析中的应用见表 1。

表 1 IC 在中草药成分分析中的应用
Table 1 IC applications for the analysis of Chinese herbal medicines

No.	Sources	Analytes	Columns	Eluents *	Detection	IC type	Ref.
1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	glucosides (sugar phosphates)	Dionex CarboPac PA1, CarboPac PA1 guard	E1: 75 mmol/L NaOH, E2: 75 mmol/L NaOH, 500 mmol/L NaAc	ECAM (PAD)	IEC	[37]
2	aloes	glucosides (fucose, rhamnose, arabinose, galactose, glucose, mannose, xylose)	Dionex CarboPac PA10	14–20 mmol/L NaOH	ECAM (integrated PAD)	IEC	[38]
3	<i>Cistanches herba</i>	glucosides (fucose, rhamnose, arabinose, galactose, glucose, mannose, xylose, fructose, ribose)	Dionex Carbopac PA210-Fast-4μm	20, 200 mmol/L NaOH	ECAM (integrated PAD)	IEC	[39]
4	<i>Xanthii Fructus</i>	glucosides (carboxyatractyloside, atractylodis)	Agilent Eclipse XDB-C18	ACN-0.15% NaH ₂ PO ₄ (containing 0. 12% TBAH, adjusted to pH 3.5 with H ₃ PO ₄)	UV-Vis (203 nm)	IPC	[41]
5	<i>Lonicerae Japonicae flos, Forsythiae fructus, Sectellariae radix</i>	amino acids	Hitachi 2622 SC	5 buffer solutions	UV-Vis (570, 440 nm)	IEC	[46]
6	<i>Hedysari Radix</i>	amino acids (aspartic acid, serine, histidine, etc.)	LCA K 06/Na	A: pH 3.45 CPBS, B: pH 10.85 CP-BBS, C: 0.02% EDTA alkaline solution	UV-Vis (570, 440 nm)	IEC	[47]
7	mixed standard solution	amino acids (leucine, taurine, phenylalanine)	AG4A-SC(DX-100T IC)	0.75 mmol/L KCl+ NaOH (pH 11.5)	suppressor CD	IEC	[48]
8	mixed standard solution	amino acid (threonine)	Metrosep C2-150	4 mmol/L tartaric acid, 1 mmol/L DPA	direct CD	IEC	[49]
9	mixed standard solution	amino acids	AminoPac PA10	60–200 mmol/L NaOH, 400 mmol/L NaAc	ECAM (PAD)	IEC	[50]
10	<i>Anoectochilus roxburghii</i>	amino acids (arginine, alanine, glycine, valine etc.)	Dionex AminoPac PA10	A: water, B: 250 mmol/L NaOH, C: 1 mol/L NaAc	ECAM (PAD)	IEC	[52]
11	18 medicinal plant samples	amino acids (19 species)	Dionex Acclaim™ RSLC Polar Advantage II	A: water containing 1% ACN-0.5% HFBA-0.02% TFA, B: ACN containing 0.1% TFA	IC-MS	IPC	[54]
12	<i>Nigella sativa</i>	proteins	DEAE-Sephadex A50	50 mmol/L PBS (pH 6.4) , 0.01–2 mol/L NaCl	UV-Vis (280 nm)	IEC	[57]
13	<i>Liparis nervosa</i>	protein (mannose-binding lectin)	DEAE-Sepharose	50 mmol/L PBS (pH 8.5) , 0–1 mol/L NaCl	UV-Vis (280 nm)	IEC	[58]
14	<i>Amorphophallus paeoniifolius</i>	protein (tyrosinase)	DEAE-cellulose	50 mmol/L PBS (pH 6.0) , 0–300 mmol/L NaCl	UV-Vis (280 nm)	IEC	[59]
15	<i>Gypsum-Anemarrhenae composite</i>	metal cations (Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺)	IonPac CS12A	20 mmol/L MSA	suppressor CD	IEC	[65]
16	<i>Rhizoma chuanxiong, Semen zizyphi spinosae</i>	metal cations (Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺)	ICS-C25	2.5 mmol/L pyromellitic acid	suppressor CD	IEC	[66]

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

No.	Sources	Analytes	Columns	Eluents *	Detection	IC type	Ref.
17	oral preparations	metal cations (Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺)	Dionex [®] IonPac [®] CS16	A: 6.7% MSA aqueous solution, B: water	suppressor CD	IEC	[67]
18	Jinyinhua	metal cations (K ⁺ , Na ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺)	IonPac CS12A	20 mmol/L MSA	suppressor CD	IEC	[68]
19	<i>Melilotus officinalis</i>	inorganic anions (Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻)	Dionex IonPac AS22	ultrapure water-NaHCO ₃ (1.5 mmol/L) - Na ₂ CO ₃ (4.5 mmol/L)	suppressor CD	IEC	[69]
20	Danshen injection	inorganic anions (F ⁻ , HCOO ⁻ , Cl ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻)	IonPac AS11-HC	12–20 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[70]
21	<i>Panax notoginseng</i>	inorganic anion (Cl ⁻)	IonPac AS15	30 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[71]
22	<i>Ligusticum chuansiong</i>	inorganic anions (H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , NO ₃ ⁻)	Shim-pack IC-A1	potassium hydrogen phthalate solution	direct CD	IEC	[72]
23	<i>Angelicae sinensis radix</i>	microelements (Sb(V, III))	IonPac AS14	50 mmol/L DAP-50 mmol/L tartaric acid (pH 6.5)	IC-BEChG-AFS	IEC	[74]
24	<i>Asini corii colla</i>	microelement (Cr(VI))	IonPac AS19	30 mmol/L KOH solution	UV (545 nm)	IEC	[75]
25	<i>Tricholomamat-sutake</i>	microelement (As)	Dionex IonPac AS7	A: 2.5 mmol/L (NH ₄) ₂ CO ₃ , B: 100 mmol/L (NH ₄) ₂ CO ₃	IC-ICP-MS	IEC	[76]
26	Chenxiang Huaqi pill	microelements (As(III, V), Cr(VI))	IonPac AS7, IonPac AG7	5–100 mmol/L (NH ₄) ₂ -CO ₃ , 0.76 mmol/L NH ₄ NO ₃ (pH 9.3)	IC-ICP-MS	IEC	[77]
27	<i>Jasminum sambac</i> , <i>Glycyrrhizae radix et rhizoma</i> , <i>Citri reticulatae pericarpium</i> , etc.	inorganic anions (F ⁻ , Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻)	self-assembly (YSA-4A model)	water, 4 mmol/L NaHCO ₃ -2 mmol/L Na ₂ CO ₃ solution	direct CD	IEC	[78]
28	<i>Coptis</i> herbs	organic acids (quinic acid, acetic acid, formic acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, oxalic acid)	IonPac AS11-HC	1–60 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[83]
29	<i>Fructus mume</i> herbs	organic acids (lmalic acid, oxalic acid, fumaric acid, citric acid)	Dionex IonPac AS19	4–54 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[84]
30	<i>Ganoderma lucidum</i>	organic acids (oxalic acid, tartaric acid, malic acid, glycolic acid)	Transgenomic ICSep Ion 300	8 mmol/L H ₂ SO ₄ solution	suppressor CD	IEC	[85]
31	Shengmai injection	organic acids (citric acid, malic acid, succinic acid)	Transgenomic Sep-ION-300	5 mmol/L H ₂ SO ₄ -acetone (95:5, v/v)	suppressor CD	ICE	[86]
32	rice wine	organic acids (13 kinds of oxalic acid, tartaric acid, ascorbic acid, etc.)	IC-Pak Ion Exclusion	H ₂ SO ₄ -ACN (98:2, v/v)	UV (210 nm)	ICE	[87]
33	<i>Ephedrae herba</i>	alkaloid (ephedrine hydrochloride)	Dionex AG9-HC	8 mmol/L Na ₂ CO ₃ -MeOH (9:1, v/v)	ECAM (DC amperometric detection)	IEC	[94]
34	molasses	alkaloid (betaine)	WY-Cation-1	2 mmol/L MSA	direct CD	IEC	[95]
35	Zuojin pill	alkaloids (13 kinds of berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride, evodiamine, rutaecarpine, etc.)	Diamonsil C18	A: 1.5 mmol/L SDS (adjust pH 5.0 with H ₃ PO ₄), B: ACN	UV (265 nm)	IPC	[96]

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

No.	Sources	Analytes	Columns	Eluents *	Detection	IC type	Ref.
36	compound Kushen injection	alkaloids (matrine, oxymatrine, sophocarpine, oxysophocarpine)	Diamonsil C18	A: 0.04% H ₃ PO ₄ -10 mmol/L sodium pentanesulfonate aqueous solution, B: ACN	UV (210 nm)	IPC	[97]
37	<i>Uncaria sessilifructus</i>	alkaloid (total alkaloids)	PhenoSphere SCX	A: 20 mmol/L NH ₄ OAc-0.05% formic acid aqueous solution, B: MeOH	UV (254, 203 nm)	IEC	[98]
38	<i>Atractylodis macrocephalae rhizoma</i> , <i>Dioscoreae rhizoma</i> , <i>Armeniacae semen amarum</i> , <i>Lonicerae flos</i> , etc.	sulfur dioxide residue	IonPac® AS11-HC	20 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[110]
39	<i>Rhei radix et rhizoma</i>	sulfur dioxide residue	IonPac AS18	NaOH solution	suppressor CD	IEC	[111]
40	bitter almond, <i>Persicae semen</i>	sulfur dioxide residue	Dionex Ionpac AS11A	12 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[112]
41	<i>Gastrodiae rhizoma</i>	sulfur dioxide residue	A-SUPP5-150	3.2 mmol/L Na ₂ CO ₃ solution, 1 mmol/L NaHCO ₃ solution	suppressor CD	IEC	[113]
42	chicory roots	sulfur dioxide residue	IonPac AS-11-HC	20 mmol/L KOH solution	suppressor CD	IEC	[114]

* A, B, E1 and E2: mobile phases of different systems; ACN: acetonitrile; TBAH: tetrabutylammonium hydroxide; CPBS: citric acid buffer solution; CP-BBS: citric acid boric acid buffer solution; EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid; DPA: 2,6-pyridinedicarboxylic acid; HFBA: heptafluorobutyric acid; TFA: trifluoroacetic acid; PBS: phosphate buffer; MSA: methanesulfonic acid aqueous solution; DAP: ammonium phosphate dibasic; SDS: sodium dodecyl sulfate. ECAM: electrochemical amperometric method; UV-Vis: ultraviolet-visible absorption spectrophotometry; PAD: pulsed amperometric detection; CD: conductivity detection; BEcHG: bianode electrochemical hydride generation; AFS: atomic fluorescence spectrometry; ICP: inductively coupled plasma; IEC: ion exchange chromatography; IPC: ion pair chromatography; ICE: ion exclusion chromatography; DC: direct current.

3 IC(联用)新技术及其在中草药分析中的最新应用进展

IC 目前已广泛应用于中草药中无机盐与微量元素、蛋白质与氨基酸和二氧化硫残留等物质的分析。但是,由于中草药中各种代谢物的酸碱性、极性、分子质量与含量跨度较大,单体成分的检测更具挑战性,这对 IC(联用)新技术的发展提出了更高要求。由此,本部分重点对现代 IC(联用)新技术的研究趋势及其在中草药领域的最新应用进行总结。

3.1 IC 与其他色谱方法的联用技术及其应用

IC 与其他检测技术联用能够极大地提高 IC 分析的准确性和灵敏度,以扩展其在中草药复杂成分中的应用,下面主要介绍 IC-MS、IC-ICP-MS 和 IEC-HILIC-RPC 等 3 种 IC 联用技术。首先,IC-MS 所用的主要分离方法为离子交换色谱,常与“IEC-MS”一词互为同义词。该方法可用于分离、鉴定和定量复杂组分中广泛的可离子化成分,包括来自无机、有机、环境和生物来源的化合物,目前大多应用于环境

科学、法医学、食品科学等领域,但在药物科学、微生物学和代谢组学等领域的研究也日益增长,有进一步发展和应用的空间^[115]。其次,IC-电感耦合等离子体质谱法是研究复杂基体中痕量元素形态分析的有效手段,已成为 As、Pb、Hg 等元素分析的优势方法^[116]。该法具备优于电导或 UV 检测器的高灵敏度,并可利用 IC 抑制器实现在线除盐,避免盐在锥口堆积造成堵塞。通过对 IC-MS 和 IC-ICP-MS 联用技术的应用方向进行关键词共现性分析(见图 3),可以看出目前这两种技术大多数应用于样品中无机盐或微量元素的检测及形态分析,且在中草药领域具备相似应用^[76,77]。第三种则是 Feng 等^[98]在多维色谱(multi-dimensional chromatography, MDC)处理复杂样品时所展现出的突出优势的启发下,首次建立的 IEC-HILIC-RPC, 3D-LC 色谱系统。他们整合了 3 种不同的色谱机制,实现了多种化学物质的充分分离,进而从药用植物白钩藤中分离得到 308 个化合物,鉴定或初步表征了 128 个化合物,为阐明含有复杂成分的中药材的化学基础提供

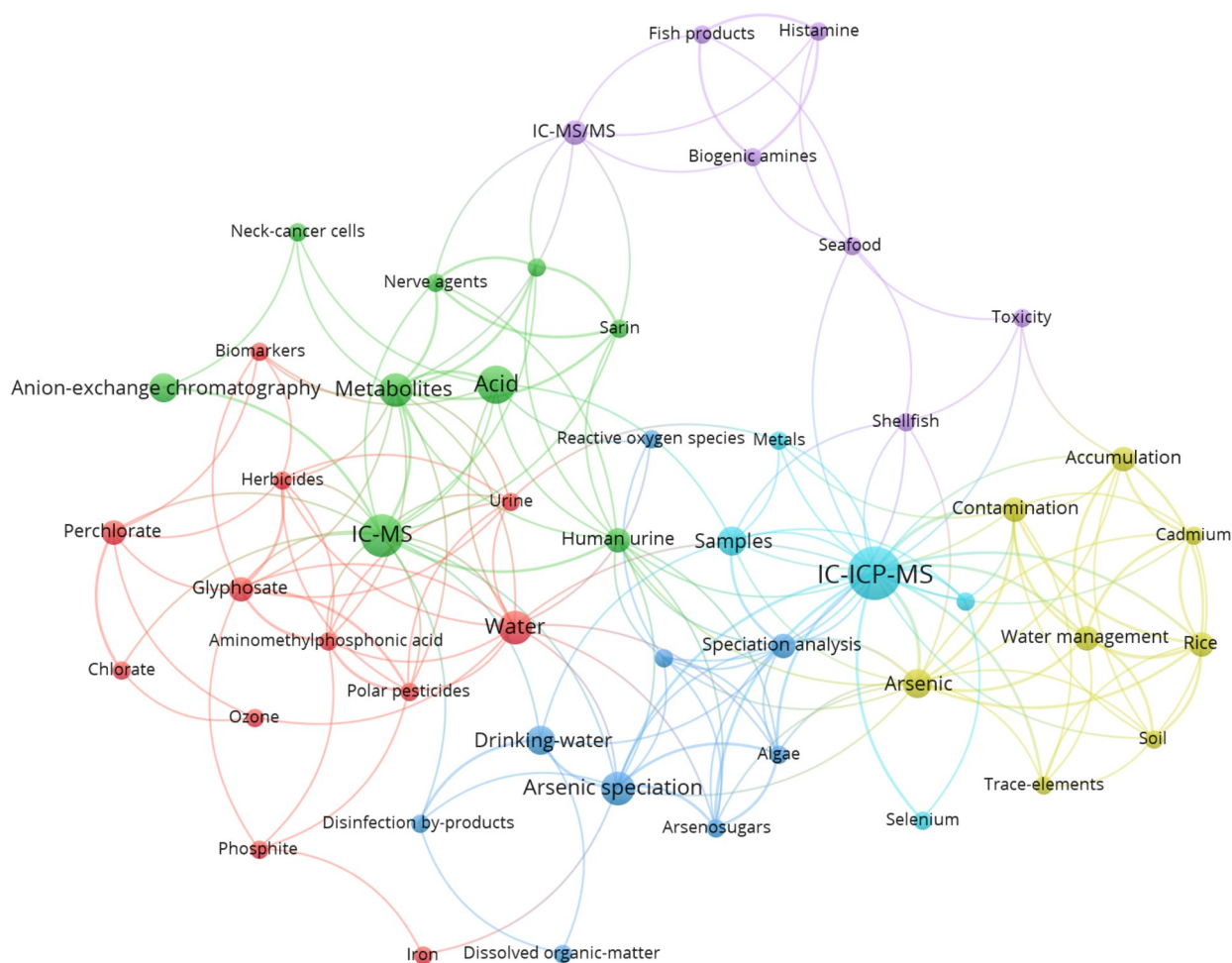


图 3 基于 IC-MS/IC-ICP-MS 研究方向的关键词共现性分析 (基于 Web of Science 检索)

Fig. 3 Keyword co-occurrence analysis based on IC-MS/IC-ICP-MS research directions (based on a Web of Science search)

了解决思路。总之,IC 与其他检测方法联用的分析思路已成为研究复杂基体成分的一种有效手段,能够表现出更高水平的稳定性、重现性、灵敏度和低检出限等,未来在中草药领域的应用也将进一步发展。

3.2 IC 系统部件 (在线前处理配置、抑制器、固定相等) 的发展及其应用

在线前处理配置是 IC 中进行样品前处理的重要部分,目的是减少或除去样品中的干扰杂质、调节 pH 值、降低基体浓度等,使之符合 IC 仪器的进样要求^[117]。一直以来,研究者不断改进发展适宜的在线样品前处理方法,林红梅等^[118]在 2012 年就利用戴安公司的在线除氯技术,结合 OnGuard Ba 柱,建立了一种柱前除去氯、硫酸盐的有效方法,解决了过去高盐基体对其他阴离子测定干扰的难题。在中草药领域,Yang 等^[75]建立了一种在线样品前处理的 IC 系统,首先采用聚合物基反相色谱柱(预处理柱)保留样品中复杂的有机化合物基质,之后通过阀切

换技术将带有目标离子的样品溶液输送到分析柱中,此方法可测定阿胶中的痕量 Cr(VI),方便,实用。

抑制器是 IC 系统的关键部件,当前抑制器经过几十年的改进和发展,通过创新设计和精致配置,解决了过去填充柱抑制器的某些局限性,如延迟体积太大、不具备足够的抑制能力等^[119]。此前,Yang 等^[120]建立了一种结合电渗膜抑制器与电荷检测器(CHD)的一体化集成装置(命名为 Sup-CHD),该装置能够简化系统复杂性,减少可能的柱外分散;它是一种流通式设计,由离子交换膜和离子筛隔离的 5 个腔室组成,并采用三通道夹层结构,该集成器件具有与单独电渗膜抑制器或 CHD 类似的功能,但其死体积和分散度比器件单独使用分别降低了 18% 和 37%。在实际应用中,Geerdink 等^[121]还开发了一种简单、稳定、灵敏的 IC-MS 联用方法,用于中低盐度地表水中草甘膦、草铵磷及其代谢物氨甲

基磷酸 (AMPA) 等的分析,该方法采用一种改良的化学抑制器,其交换膜转化为铵盐形式(由酸性膜转化为碱性膜),这种转换使得 AMPA 的灵敏度提高了 100 倍以上。但在检索文献资料时发现,当前尚无通过针对性改变抑制器以适应中药成分分析的研究,可应用于中草药复杂成分的检测中。

固定相(分析柱填料)作为 IC 系统中的核心部件,它的性质在很大程度上决定了 IC 的选择性和分离分析效率^[122],其制备方法对 IC 在中草药中的新发展也至关重要。例如 Zahirakha 等^[123]整理了莫斯科国立大学分析化学系色谱实验室在 IC 新型固定相开发方面的研究,该团队成功地改进了以聚合物和无机基质为基础的共价固定吸附剂全新方法,以确保阴离子交换剂的最高选择性和效率,适应更复杂的组分分析。同时,中草药又可作为新型生物固定相填料制备的原料,例如 Mojtaba 等^[124]通过对 14 种中草药药渣的预筛选实验,考察了中药菊苣废弃物及其用 CaCl_2 改性后对 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 的离子交换能力,结果显示改性后的菊苣药渣对 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 的最大吸附量分别从 103.1 mg/g 和 53.8 mg/g 提高到 123.5 mg/g 和 64.5 mg/g,以菊苣药渣为原料制备生物离子交换剂是一种有前景、低成本替代合成树脂去除废水中重金属的方法。综上,IC 的不断发展正推动中草药复杂成分的高效分离分析,同时 IC 系统的各部件也能够在中草药等生物相关领域的影响下更好发展。

4 总结与展望

近年来,IC 技术已发展成为中草药化学成分分析的重要方法,同时也越来越被广泛地应用于中药复杂组分的研究。通过对现有文献的检索分析,目前 IC 在中草药的应用主要包括糖苷类、蛋白质类、有机酸类物质和阴阳离子的测定以及某些金属阳离子的形态分析等,其中最常用的 IC 类型及检测方式为 IEC 和电导检测法,与传统的分析方法相比拥有独特优势。但有关 IC 在无机阴离子的形态分析,黄酮类、苯丙素类和甾体类等主要活性物质中的直接应用研究报道较少。这些活性成分虽大多不属于典型的离子型化合物,不具有明确电荷,但可在特定条件下,由于氢离子化和离子对形成等因素而表现出离子特性,由此利用 IC 便有可能实现对它们的有效分离分析。此外,类似于将菊苣药渣制备成生物离子交换剂的研究同步促进了 IC 的更好发展,样品

前/后处理方法与检验检测技术两大领域相辅相成、共同发展。

为提升对中草药中具有酸碱性、极性、分子质量与含量跨度大等特点的初级和次级代谢物的检测水平,未来对 IC 新技术的发展提出了更高要求。展望未来,为适用中草药复杂活性成分的研究,IC 技术预计将在以下三方面着力发展:一是样品(在线)前处理技术^[125]能够使待测物质转化制备为适合 IC 柱分析的组分,并针对不同组分实现选择性高效富集与分离;二是新型固相材料的创新研究亦可提高 IC 的分离效果和分析灵敏度,并为其更广泛应用提供支撑;三是 IC 与质谱等组成的多维色谱联用技术,可以结合各自的优点,为中草药主要活性物质的分析鉴定建立重要方法基础。

参考文献:

- [1] Small H, Stevens T S, Bauman W C. *Anal Chem*, 1975, 47 (11): 1801
- [2] Gjerde D T, Fritz J S, Schmuckler G. *J Chromatogr A*, 1979, 186: 509
- [3] Townsend R, Hardy M, Olechno J, et al. *Nature*, 1988, 335: 379
- [4] Arienzo M, De Martino A, Capasso R, et al. *Phytochem Anal*, 2003, 14(2): 74
- [5] Lü H T, Mou S F, Hou X P, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 1998, 16(2): 100
吕海涛,牟世芬,侯小平,等. 色谱, 1998, 16(2): 100
- [6] Sarzanini C, Bruzzoniti M C. 2001, 20(6/7): 304
- [7] Liu K N. *Environmental Chemistry*, 1994(5): 476
刘克纳. 环境化学, 1994(5): 476
- [8] Li C, Jia W, Yang J, et al. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43 (12): 3080
- [9] Nedeltcheva-Antonova D, Gechovska K, Bozhanov S, et al. *Plants*, 2022, 11(22): 3150
- [10] Dong J, Wang H, Wan L R, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2009, 27(4): 425
董静,王弘,万乐人,等. 色谱, 2009, 27(4): 425
- [11] Zhu C J. [MS Dissertation]. Chongqing: Southwest University, 2011
朱朝娟. [硕士学位论文]. 重庆: 西南大学, 2011
- [12] Mu S F, Zhu Y, Liu K N. *Ion Chromatography Methods and Applications*. 3rd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2018
牟世芬,朱岩,刘克纳. 离子色谱方法及应用. 3 版. 北京: 化学工业出版社, 2018
- [13] Song H. *Pharmacological Chromatography Technology*. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 250
宋航. 药色谱技术. 北京: 化学工业出版社, 2007: 250
- [14] Wu Y T, Huo Y F, Xu L, et al. *Int J Biol Macromol*, 2020, 165: 2116
- [15] Cecchi T. *Crit Rev Anal Chem*, 2008, 38(3): 161
- [16] Ganzera M, Lanser C, Stuppner H. *Talanta*, 2005, 66(4):

- 889
- [17] Sun X, Liu X, Feng J, et al. *Anal Chim Acta*, 2015, 880: 67
- [18] Peng J W, Chen J P, Bu R, et al. *Central South Pharmacy*, 2016, 14(3): 290
彭俊文, 陈建平, 布仁, 等. *中南药学*, 2016, 14(3): 290
- [19] Michalski R. *Curr Chromatogr*, 2014, 1(2): 90
- [20] Pacholec F, Eaton D R, Rossi D T. *Anal Chem*, 1986, 58(12): 2581
- [21] Ye M, Nesterenko P N, Yan Z, et al. *J Chromatogr A*, 2019, 1588: 169
- [22] Wang Y H. [MS Dissertation]. Beijing: People's Public Security University of China, 2023
王禹衡. [硕士学位论文]. 北京: 中国人民公安大学, 2023
- [23] Wang Y P, Guo Y F, Zhang L F. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2021, 40(7): 827
王艳萍, 郭于枫, 张玲帆. *分析试验室*, 2021, 40(7): 827
- [24] Lu Y Y. [MS Dissertation]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2010
卢艳艳. [硕士学位论文]. 郑州: 郑州大学, 2010
- [25] Zhang S F, Wang L S, Dang Z. *Chin Chem Lett*, 2006, 17(9): 1229
- [26] Liu Y Z, Yu H, Zhang R Q. *Chinese Journal of Chromatography*, 2012, 30(4): 384
刘玉珍, 于泓, 张仁庆. *色谱*, 2012, 30(4): 384
- [27] Ren T J, Qu J, Xu Z Q. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2017, 36(6): 693
任挺钧, 邱俊, 徐中其. *分析试验室*, 2017, 36(6): 693
- [28] Buchberger W W. *TrAC-Trends Anal Chem*, 2001, 20(6/7): 296
- [29] Buchberger W W. *J Chromatogr A*, 1997, 789(1/2): 67
- [30] Saurina J, Hernandez-Cassou S. *J Chromatogr A*, 1994, 676(2): 311
- [31] Wu X L, Chen Q F, Fu S J, et al. *Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry*, 2022, 12(5): 13
吴小龙, 陈琴放, 符锦锦, 等. *中国无机分析化学*, 2022, 12(5): 13
- [32] Ding X, Mou S, Liu K, et al. *Anal Chim Acta*, 2000, 407(1/2): 319
- [33] Xing C G, Wang J J, Huang J C, et al. *Journal of Analytical Science*, 2023, 39(2): 207
杏朝刚, 王娇娇, 黄锦春, 等. *分析科学学报*, 2023, 39(2): 207
- [34] Zeng B L, Chen Q X, Ju M Q. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2001(7): 658
曾白林, 陈启霞, 居明乔. *时珍国医国药*, 2001(7): 658
- [35] Zang E H, Li Q Y, Xu J F, et al. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2021, 46(17): 4344
臧二欢, 李沁瑜, 许谨帆, 等. *中国中药杂志*, 2021, 46(17): 4344
- [36] Liu Q S, Zhang P, Fan Z Y. *Modern Scientific Instruments*, 2005(1): 75
刘庆生, 张萍, 范志影. *现代科学仪器*, 2005(1): 75
- [37] Sekiguchi Y, Mitsuhashi N, Inoue Y, et al. *J Chromatogr A*, 2004, 1039(1/2): 71
- [38] Le S F, Wang W, Wang Y X, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(3): 319
- 乐胜锋, 王尉, 王雅萱, 等. *色谱*, 2019, 37(3): 319
- [39] Xu W Y, Jiang Z B, Fan J, et al. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2023, 58(8): 2476
许玮仪, 姜振邦, 范晶, 等. *药科学报*, 2023, 58(8): 2476
- [40] Wang M, Hu W J, Wang Q, et al. *Int J Biol Macromol*, 2022, 226: 562
- [41] Liu P, Liu Y H, Liu Y H, et al. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2016, 22(4): 61
刘鹏, 刘玉红, 刘云华, 等. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(4): 61
- [42] Luo X J, Wu Z P, Huang L Q, et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2005(4): 630
罗晓健, 吴志鹏, 黄璐琦, 等. *中草药*, 2005(4): 630
- [43] Hong B C. *Food Engineering*, 2013, 126(1): 11
洪炳财. *食品工程*, 2013, 126(1): 11
- [44] Jie Z S. [MS Dissertation]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2022
揭志顺. [硕士学位论文]. 上海: 上海师范大学, 2022
- [45] Wen J, Li W, Yang J. *Light Industry Science and Technology*, 2020, 36(2): 111
闻静, 李薇, 杨涓. *轻工科技*, 2020, 36(2): 111
- [46] Luan L, Ren J P, Wang G L, et al. *Applied Chemical Industry*, 2016, 45(2): 377
栾兰, 任嘉鹏, 王钢力, 等. *应用化工*, 2016, 45(2): 377
- [47] Peng T, Zhang Q Q, Zhang X Z, et al. *China Food Additives*, 2023, 34(1): 291
彭涛, 张菁菁, 张新中, 等. *中国食品添加剂*, 2023, 34(1): 291
- [48] Zhu Y, Wang S F. *Journal of Analytical Science*, 2000, 16(2): 176
朱岩, 王素芬. *分析科学学报*, 2000, 16(2): 176
- [49] Liu C M, Cong W, Zhang X, et al. *Food Science and Technology*, 2009, 34(8): 280
刘春梅, 丛威, 张栩, 等. *食品科技*, 2009, 34(8): 280
- [50] Clarke A P, Jandik P, Rocklin R D, et al. *Anal Chem*, 1999, 71(14): 2774
- [51] Martens D A, Loeffelmann K L. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(22): 6521
- [52] Zhong T H, Huang L Y, Fang J. *Analysis and Testing Technology and Instruments*, 2011, 17(2): 74
钟添华, 黄丽英, 房静. *分析测试技术与仪器*, 2011, 17(2): 74
- [53] Sun Y, Li B, Huang J, et al. *Pharmaceutical and Clinical Research*, 2014, 22(5): 433
孙月, 李博, 黄洁, 等. *药学与临床研究*, 2014, 22(5): 433
- [54] Moldoveanu S C, Zhu J, Qian N. *J Sep Sci*, 2015, 38(13): 2208
- [55] Li X B, Jin X, Li Y, et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2004(6): 111
李晓波, 金鑫, 李妍, 等. *中草药*, 2004(6): 111
- [56] Li C H, Chen C, Xia Z N, et al. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40(13): 2508
李春红, 陈岑, 夏之宁, 等. *中国中药杂志*, 2015, 40(13): 2508
- [57] Haq A, Lobo P I, Al-Tufail M, et al. *Int J Immunopharmacol*, 1999, 21(4): 283
- [58] Jiang N, Wang Y, Zhou J, et al. *Acta Biochim Biophys*

- Sin, 2020, 52(10): 1081
- [59] Mulla T, Patil S, Jadhav J. *Int J Biol Macromol*, 2018, 109: 399
- [60] Shen X F. [MS Dissertation]. Taiyuan: Shanxi University, 2005
沈晓芳. [硕士学位论文]. 太原: 山西大学, 2005
- [61] Dong X H, Gao W J, Kong W N, et al. *Exp Ther Med*, 2015, 9(4): 1319
- [62] Chen Z F, Mao L, Liu L M, et al. *J Inorg Biochem*, 2011, 105(2): 171
- [63] Pang X C. [MS Dissertation]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2016
庞小存. [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2016
- [64] Yang M, Feng F. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2008, 17(2): 56
杨梅, 冯芳. *药学进展*, 2008, 17(2): 56
- [65] Tian T, Xu J, Li M Z, et al. *Modern Chinese Medicine*, 2023, 25(10): 2093
田甜, 徐杰, 李美洲, 等. *中国现代中药*, 2023, 25(10): 2093
- [66] Wang Z H, Ding Y M, Chen P R. *Chinese Journal of Chromatography*, 1999(3): 303
王宗花, 丁明玉, 陈培榕. *色谱*, 1999(3): 303
- [67] Yelampalli S R, Gandla K, Reddy K T K, et al. *Separations*, 2023, 10(2): 99
- [68] Guo X M, Guo Q M, Zhou F Q. *Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2014, 33(9): 765
郭新苗, 郭庆梅, 周凤琴. *山东中医杂志*, 2014, 33(9): 765
- [69] Zhan J L, Jiang S, Chen M Z, et al. *Chemical Engineer*, 2022, 36(2): 18
展建丽, 姜珊, 陈穆芝, 等. *化学工程师*, 2022, 36(2): 18
- [70] Zhang Y, Li W Q, Zhou W E, et al. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, 21(17): 24
张元, 李伟青, 周伟娥, 等. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(17): 24
- [71] Li B R, Gao C, Li Y, et al. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2023, 59(2): 210
李冰茹, 高冲, 李杨, 等. *理化检验-化学分册*, 2023, 59(2): 210
- [72] Wang Z H, Ding M Y, Chen P R. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 1999(1): 20
王宗花, 丁明玉, 陈培榕. *药物分析杂志*, 1999(1): 20
- [73] Yao Q, [MS Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006
姚琪. [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2006
- [74] Hou Y Z, Shen T C, Fan Y C, et al. *The 12th National Symposium on Ion Chromatography*. Xiamen, 2008: 2. (2008-11-08). <https://www.instrument.com.cn/download/shhtml/84585.shtml>
侯逸众, 申屠超, 范云场, 等. 第十二届全国离子色谱学术报告会论文集. 厦门, 2008: 2. (2008-11-08). <https://www.instrument.com.cn/download/shhtml/84585.shtml>
- [75] Yang Y, He J, Huang Z, et al. *J Chromatogr A*, 2013, 1305: 171
- [76] Wang X P, Liu Z Y, Zhong Y, et al. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(7): 1
- 王小平, 刘忠莹, 钟洋, 等. *食品工业科技*, 2024, 45(7): 1
- [77] Xu W B, Lin T H, Tan C C. *Herald of Medicine*, 2019, 38(3): 359
徐万帮, 林铁豪, 谭昌成. *医药导报*, 2019, 38(3): 359
- [78] Shi S N, Shi J M, Dai Y Y, et al. *Journal of Analytical Science*, 1994(2): 26
时嵩年, 石济民, 戴咏嫫, 等. *分析科学学报*, 1994(2): 26
- [79] Yang Y T, Wang R, Qian C C, et al. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2023, 45(5): 1583
杨亚湑, 王瑞, 钱程程, 等. *中成药*, 2023, 45(5): 1583
- [80] Yuan Y, Zhang L L, Liu J T, et al. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2022, 47(7): 1730
袁悦, 张林林, 刘建庭, 等. *中国中药杂志*, 2022, 47(7): 1730
- [81] Tang X F, Liu J X, Li L. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2012, 18(5): 243
汤喜兰, 刘建勋, 李磊. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5): 243
- [82] Wang M, Wu H. *Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine*, 2004(3): 190
王媚, 吴皓. *南京中医药大学学报*, 2004(3): 190
- [83] Li D, Zhou L, Wang Q, et al. *3 Biotech*, 2018, 8: 1
- [84] Xia X Q, Luo Y Y, Lü S, et al. *Journal of Jiangxi University of Chinese Medicine*, 2022, 34(3): 68
夏雪琴, 罗钰颖, 吕尚, 等. *江西中医药大学学报*, 2022, 34(3): 68
- [85] Hua F. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2021, 19(1): 74
华丰. *生物加工过程*, 2021, 19(1): 74
- [86] Liu R, Nie L X, Sun H, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(3): 489
刘瑞, 聂黎行, 孙焕, 等. *分析化学*, 2012, 40(3): 489
- [87] Lin X J, Wei W, He Z G, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2014, 32(3): 304
林晓婕, 魏巍, 何志刚, 等. *色谱*, 2014, 32(3): 304
- [88] Bhambhani S, Kondhare K R, Giri A P. *Molecules*, 2021, 26(11): 3374
- [89] Liu X Y, Chen L L, Sun P, et al. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2023, 29(13): 264
刘新月, 陈乐乐, 孙鹏, 等. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(13): 264
- [90] Lakstygai A M, Kolesnikova T O, Khatsko S L, et al. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 10(5): 2144
- [91] Oleinichenko D, Ahn S, Song R, et al. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8872
- [92] Liu X X, Chao R B. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2006, 41(4): 365
刘秀秀, 晁若冰. *药学学报*, 2006, 41(4): 365
- [93] Fu D H, Feng Y, Liu Q Y, et al. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2014, 36(4): 873
符滇海, 冯叶, 刘秋雨, 等. *中成药*, 2014, 36(4): 873
- [94] Zeng W F, Wang X F, Wang J, et al. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2008, 44(12): 1219
曾文芳, 王小芳, 王菁, 等. *理化检验-化学分册*, 2008, 44(12): 1219
- [95] Zhang C G, Pan J, Huang W P, et al. *Food Science*, 2012,

- 33(2): 208
张晨光, 潘见, 黄文平, 等. 食品科学, 2012, 33(2): 208
- [96] Yan D, Liao Q W, Xiao X H, et al. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2008, 28(10): 1626
鄢丹, 廖庆文, 肖小河, 等. 药物分析杂志, 2008, 28(10): 1626
- [97] Chen C, Qu H B, Hao R C, et al. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2012, 32(6): 1006
陈晨, 瞿海斌, 郝润才, 等. 药物分析杂志, 2012, 32(6): 1006
- [98] Feng K, Wang S, Han L, et al. J Chromatogr A, 2021, 1649: 462237
- [99] Cao Y, Xie L, Liu K, et al. Pharmacol Res, 2021, 174: 105919
- [100] Khan J, Deb P K, Priya S, et al. Molecules, 2021, 26(13): 4021
- [101] Bijak M. Molecules, 2017, 22(11): 1942
- [102] Li W H. [PhD Dissertation]. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2016
李文红. [博士学位论文]. 石家庄: 河北师范大学, 2016
- [103] Li Q T, Ding Y, Ji L X, et al. Journal of Dalian Polytechnic University, 2019, 38(1): 24
李清潭, 丁燕, 籍立新, 等. 大连工业大学学报, 2019, 38(1): 24
- [104] Chen M X, Yang Q S, Jin J K, et al. Journal of Gansu University of Chinese Medicine, 2019, 36(4): 77
陈梦轩, 杨青山, 金捷凯, 等. 甘肃中医药大学学报, 2019, 36(4): 77
- [105] Wang Q, Liu R X, Guo H Z, et al. China Journal of Chinese Materia Medica, 2006(17): 1418
王巧, 刘荣霞, 郭洪祝, 等. 中国中药杂志, 2006(17): 1418
- [106] Duan J A, Zhao R H, Su S L, et al. Modern Chinese Medicine, 2011, 13(4): 3
段金廛, 赵润怀, 宿树兰, 等. 中国现代中药, 2011, 13(4): 3
- [107] Liu L, Tao S, Tang S M, et al. Jiangxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 43(11): 72
刘玲, 陶松, 汤韶明, 等. 江西中医药, 2012, 43(11): 72
- [108] Kumar A, Triquigneaux M, Madenspacher J, et al. Redox Biol, 2018, 15: 327
- [109] Hao Y J, Xu Q Y, Sang Y L, et al. China Journal of Chinese Materia Medica, 2012, 37(3): 335
郝延军, 徐秋阳, 桑育黎, 等. 中国中药杂志, 2012, 37(3): 335
- [110] Pi W X, Wei H Y, Cai L M, et al. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2014, 25(5): 1197
皮文霞, 韦汉燕, 蔡黎明, 等. 时珍国医国药, 2014, 25(5): 1197
- [111] Rao Y, Liu L, Liu Q, et al. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(22): 32
饶毅, 刘玲, 刘琼, 等. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 32
- [112] Tan C, Xia Y. Central South Pharmacy, 2017, 15(9): 1296
谭聪, 夏洋. 中南药学, 2017, 15(9): 1296
- [113] Li J, Xu C G, Meng X F, et al. Northwest Pharmaceutical Journal, 2012, 27(3): 212
李继, 徐长根, 孟新芳, 等. 西北药学杂志, 2012, 27(3): 212
- [114] Li Y L, Ju S S, Zhang B, et al. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(6): 2053
李耀磊, 巨珊珊, 张冰, 等. 中成药, 2022, 44(6): 2053
- [115] Judith B N, Kourosh H E, Rachel W, et al. Anal Chem, 2023, 95(1): 152
- [116] Liu W, Hu J D, Yang H X, et al. Rock and Mineral Analysis, 2021, 40(3): 327
刘崴, 胡俊栋, 杨红霞, 等. 岩矿测试, 2021, 40(3): 327
- [117] Hu Q R. [MS Dissertation]. Jinan: Shandong University, 2013
胡巧茹. [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2013
- [118] Lin H M, Lin Q, Zhang Y H, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(4): 374
林红梅, 林奇, 张远辉, 等. 色谱, 2012, 30(4): 374
- [119] Zhong Z X, Pan X H. Chromatographia, 2023, 86(6): 447
- [120] Yang B C, Chen Y J, M M, et al. Anal Chem, 2010, 82(3): 951
- [121] Geerdink R B, Hassing M, Ayarza N, et al. Anal Chim Acta, 2020, 1133: 66
- [122] Liu X Y, Wang Y, Cong H L, et al. J Chromatogr A, 2021, 1653: 462313
- [123] Zatirakha A V, Uzhel A S, Loshin A A, et al. J Anal Chem, 2019, 74(1): 12
- [124] Mojtaba J, Nourollah M, Mohsen S, et al. J Water Process Eng, 2019, 28: 88
- [125] Wang X X, Shi X Z, Chen P F. Development and Application of Chemical Sample Pretreatment Equipment. (2023-07-25) [2023-11-07]. <https://doi.org/10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2023.031501>
王晓香, 时雪钊, 陈鹏飞. 化学样品前处理设备的研制及应用. (2023-07-25) [2023-11-07]. <https://doi.org/10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2023.031501>