

苗琦,罗扬婧,方文娟,等. 利用一测多评法同时测定栀子中 6 种成分含量[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):292-295.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.097

利用一测多评法同时测定栀子中 6 种成分含量

苗琦,罗扬婧,方文娟,罗光明,邵坚,董艳凯,张兰,胡燕珍,周素娟

(江西中医药大学/江西省中药种质资源工程技术研究中心,江西南昌 330004)

摘要:以栀子中的 6 种成分为指标,建立其他指标成分与栀子苷的相对校正因子,计算各成分的含量,实现一测多评;同时采用回归方程法测定该 6 种成分含量,并比较 2 种方法所得计算值与实测值的差异,以验证一测多评法的准确性和可行性。结果表明:12 批栀子中 6 种成分的计算值与实测值间无显著差异,利用一测多评法控制栀子的质量是准确可行的。

关键词:一测多评;校正因子;HPLC;栀子

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0292-03

中药多成分定量和多指标质量控制中存在的对照品缺乏问题,是目前中药多指标质量控制和评价模式的主要瓶颈之一。仅以 1 种有效成分含量无法客观反映中药材的质量,在中药材对照品紧缺、价格高昂的背景下,为了能采用多指标客观反映中药材质量,王智民等率先提出了一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS)的中药质量评价新模式,该法通过测定中药材中固有成分含量,按照相对校正因子推算该药材中其他成分含量^[1]。QAMS 采用仅测定 1 种价廉、易得的成分含量,实现多成分同步测定的模式,克服了多指标质量控制面临的对照品短缺和高昂检测成本问题。虽然目前该方法已被成功应用于木通、黄连、人参等 20 种常用中药的质量评价研究^[2-4],但是该方法在栀子(*Gardeniae*)药材中的应用还鲜有报道。本研究探索了 QAMS 技术在栀子质量评价中应用的可行性,旨在为栀子质量评价提供新途径。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:Waters 2695 separations module 型高效液相色谱仪(Waters 2996 photodiode array detector 检测器、Waters empower 化学工作站,美国 Waters 公司);Agilent 1200 型高效液相色谱系统,Agilent 1260 型高效液相色谱系统,BP224S 型电子天平(Sartorius 公司);KQ-300E 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

试剂:甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 公司);乙腈(色谱纯,美国 ACS 公司);甲醇(分析纯,西陇化工股份有限公司);水

(娃哈哈牌);对照品:京尼平苷酸(编号 111828-201102,纯度按 96.0% 计算)、绿原酸(编号 110753-201314,纯度按 96.6% 计算)、栀子苷(编号 110749-201316,纯度按 97.5% 计算)、西红花苷-I(编号 111588-201202,纯度按 91.1% 计算)、西红花苷-II(编号 111589-201304,纯度按 92.4% 计算)购于中国药品生物制品检定所,京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷(批号为 ZM0501BA14,纯度 >98.0%)购于上海源叶生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原理 在一定线性范围内,成分的量(浓度, C)与检测器响应(峰面积, A)呈正比^[5]。在进行多成分(s, a, b, \dots, i, \dots)质量评价时,用中药材中某一有效成分(廉价、易得)作为内参物(s),建立内参物与其他成分(a, b, \dots, i, \dots)间的相对校正因子 $RCF(f_{sa}, f_{sb}, f_{sc}, \dots)$, 计算公式为:

$$f_{si} = f_s / f_i = (A_s / C_s) / (A_i / C_i)$$

式中: A_s 为内参物对照品 s 的峰面积; C_s 为内参物对照品 s 的浓度; A_i 为某待测成分对照品 i 的峰面积; C_i 为某待测成分对照品 i 的浓度。

1.2.2 色谱条件 Durashell C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相:乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B);梯度洗脱:0~18 min (8%~15% A), 18~25 min (15%~23% A), 25~40 min (23%~35% A), 40~50 min (35%~50% A);检测波长:238, 330, 440 nm;柱温 30 $^{\circ}$ C;流速 0.8 mL/min;进样量 10 μ L。

1.2.3 供试品溶液的制备 称取供试品粉末(过四号筛)约 0.1 g,置具塞锥形瓶中,加入 75% 甲醇 25 mL,称质量,超声处理 40 min(笔者前期分别考察了 50%、60%、75%、100% 甲醇作为提取溶剂进行超声提取,发现采用 75% 甲醇超声提取 40 min 条件下提取率高,因此本研究选用 75% 甲醇超声提取 40 min 作为提取条件),冷却后再称质量,用甲醇补足减失质量,摇匀,滤过。量取续滤液 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加 75% 甲醇至刻度,摇匀,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过即得。

1.2.4 对照溶液的制备 称取各对照品适量,分别置于 50 mL 棕色量瓶中,用适量 75% 甲醇溶液溶解并定容至刻度,分别制成含京尼平苷酸 10.176 μ g/mL、京尼平 1- β -D 龙胆

收稿日期:2014-09-28

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2011BAI04B01);中央本级重大增减支项目(编号:20603020110、20603020213);江西中医药大学校级研究生创新专项(编号:JZYC14C09)。

作者简介:苗琦(1989—),男,陕西宝鸡人,硕士研究生,主要从事中药资源开发与应用研究。E-mail:miaoqi6213963@126.com。

通信作者:罗光明,博士,教授,主要从事中药资源开发与应用研究。

Tel:(0791)7118982;E-mail:jzlgm11@163.com。

二糖苷 201. 292 $\mu\text{g/mL}$ 、绿原酸 4. 444 $\mu\text{g/mL}$ 、栀子苷 311. 610 $\mu\text{g/mL}$ 、西红花苷 - I 175. 276 $\mu\text{g/mL}$ 、西红花苷 - II 17. 371 $\mu\text{g/mL}$ 的 1#对照品储备液,备用。

2 结果与分析

2.1 一测多评法的检测结果

2.1.1 线性范围 将 1#混合对照品储备液,分别用 75% 甲醇稀释 2、4、8、16、32、64 倍,作为 2#~7#混合对照品溶液,备用。按照上述色谱条件进行测定,进样 10 μL ,以进样量 10 μL 中对照品质量为横坐标,最佳检测波长下的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得京尼平苷酸、京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷、绿原酸、栀子苷、西红花苷 - I、西红花苷 - II 的标准曲线。由表 1 可见,各化合物在相应范围内线性关系良好。

2.1.2 相对校正因子的计算 以栀子苷为内参物,分别计算京尼平苷酸、京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷、绿原酸、西红花

表 1 对照品质量与峰面积的线性关系

| 对照品名称 | 标准曲线 | 相关系数 (<i>r</i>) | 线性范围 (μg) |
|-------------------------|------------------------------|----------------------|---------------------------|
| 京尼平苷酸 | $y = 1\ 610\ 765x - 95$ | 0.999 9 | 0.001 59 ~ 0.101 76 |
| 京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷 | $y = 1\ 144\ 290x - 1\ 123$ | 0.999 9 | 0.031 45 ~ 2.012 92 |
| 绿原酸 | $y = 4\ 025\ 629x + 744$ | 0.999 7 | 0.000 69 ~ 0.044 44 |
| 栀子苷 | $y = 1\ 859\ 824x + 117$ | 0.999 9 | 0.048 68 ~ 3.116 10 |
| 西红花苷 - I | $y = 7\ 633\ 873x + 10\ 739$ | 0.999 9 | 0.027 38 ~ 1.752 76 |
| 西红花苷 - II | $y = 8\ 706\ 055x - 576$ | 0.999 9 | 0.002 71 ~ 0.173 71 |

苷 - I、西红花苷 - II 的相对校正因子。由表 2 可见,除绿原酸/栀子苷的 *RSD* 较大以外(原因可能是绿原酸含量较低,峰面积小,检测误差大导致),其他对照品相对校正因子的 *RSD* 均小于 1%。

表 2 各对照品的相对校正因子

| 编号 | $f_{\text{京尼平苷酸/栀子苷}}$ | $f_{\text{京尼平1-}\beta\text{-D龙胆二糖苷/栀子苷}}$ | $f_{\text{绿原酸/栀子苷}}$ | $f_{\text{西红花苷-I/栀子苷}}$ | $f_{\text{西红花苷-II/栀子苷}}$ |
|------------|------------------------|---|----------------------|-------------------------|--------------------------|
| 1# | 1.153 9 | 1.624 6 | 0.461 1 | 0.243 9 | 0.213 5 |
| 2# | 1.163 0 | 1.632 2 | 0.459 5 | 0.241 3 | 0.214 4 |
| 3# | 1.152 7 | 1.633 4 | 0.435 3 | 0.241 7 | 0.214 1 |
| 4# | 1.156 9 | 1.625 6 | 0.435 8 | 0.242 1 | 0.215 6 |
| 5# | 1.167 9 | 1.635 6 | 0.447 0 | 0.244 0 | 0.213 7 |
| 6# | 1.179 4 | 1.628 2 | 0.442 0 | 0.246 7 | 0.211 8 |
| 7# | 1.154 0 | 1.636 9 | 0.536 0 | 0.244 7 | 0.210 0 |
| 平均值 | 1.161 1 | 1.630 9 | 0.459 5 | 0.243 5 | 0.213 3 |
| <i>RSD</i> | 0.84% | 0.30% | 7.68% | 0.78% | 0.86% |

2.1.3 精密度试验 取 2#混合对照品溶液 10 μL ,在上述色谱条件下连续进样 5 次,测定峰面积。结果表明,栀子苷、西红花苷 - I、西红花苷 - II、绿原酸、京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷、京尼平苷酸的 *RSD* 分别为 0.55%、0.50%、0.41%、0.48%、0.49%、0.54%,表明仪器精密度良好。

2.1.4 稳定性试验 取 2#混合对照品溶液,分别于样品制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样 10 μL ,测峰面积。结果表明,栀子苷、西红花苷 - I、西红花苷 - I、绿原酸、京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷、京尼平苷酸的 *RSD* 分别为 1.21%、1.33%、0.97%、1.74%、1.51%、1.82%,表明供试品溶液在 1 d 内稳定。

2.1.5 重复性试验 取同一药材,按上述方法制成供试品溶液 5 份,测峰面积。结果表明,栀子苷、西红花苷 - I、西红花苷 - II、绿原酸、京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷、京尼平苷酸的 *RSD* 分别为 1.36%、1.89%、0.59%、1.30%、0.77%、1.43%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 加样回收率试验 称取已知含量的样品 5 份,加入 2 mL 混合对照品溶液,按照本研究方法制备供试品溶液,按照上述色谱条件进样 10 μL ,测定 6 种有效成分的峰面积,并计算平均加样回收率。结果表明,平均回收率分别为 99.32%、99.48%、99.19%、99.34%、99.51%、99.65%,表明该方法回收率较好。

2.2 校正因子的重现性考察

2.2.1 色谱柱及高效液相色谱仪考察 取 1#~7#混合对照品溶液,分别进样 10 μL ,计算京尼平苷酸、京尼平 1- β -D 龙胆二糖苷、绿原酸、西红花苷 - I、西红花苷 - II 的相对校正因子。并考察 Waters 2695 - 2996、Agilent 1200、Agilent 1260 等 3 种高效液相色谱系统和 Promosil C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm,5 μm)、Durashell C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm,5 μm)、Diamonsil C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm,5 μm) 等 3 种色谱柱下的相对校正因子。由表 3 中的 *RSD* 值可知,不同仪器及不同色谱柱下的相对校正因子差异并不明显。

表 3 不同仪器和色谱柱条件下测得的相对校正因子

| 仪器 | 色谱柱 | 相对校正因子 | | | | |
|-------------|---------------------------|------------------------|---|----------------------|-------------------------|--------------------------|
| | | $f_{\text{京尼平苷酸/栀子苷}}$ | $f_{\text{京尼平1-}\beta\text{-D龙胆二糖苷/栀子苷}}$ | $f_{\text{绿原酸/栀子苷}}$ | $f_{\text{西红花苷-I/栀子苷}}$ | $f_{\text{西红花苷-II/栀子苷}}$ |
| Waters2695 | Durashell C ₁₈ | 1.161 1 | 1.630 9 | 0.459 5 | 0.243 5 | 0.213 3 |
| | Promosil C ₁₈ | 1.157 8 | 1.612 4 | 0.450 3 | 0.240 6 | 0.216 6 |
| | Diamonsil C ₁₈ | 1.160 4 | 1.643 7 | 0.463 9 | 0.246 2 | 0.210 9 |
| Agilent1200 | Durashell C ₁₈ | 1.159 0 | 1.628 3 | 0.472 7 | 0.239 1 | 0.215 1 |
| Agilent1260 | Durashell C ₁₈ | 1.158 4 | 1.632 1 | 0.441 2 | 0.242 2 | 0.214 7 |
| | 平均值 | 1.159 3 | 1.629 5 | 0.457 5 | 0.242 3 | 0.214 1 |
| | <i>RSD</i> | 0.12% | 0.69% | 2.66% | 1.13% | 1.00% |

2.2.2 不同试验条件对比 用同一色谱柱 Durashell C₁₈ 的试验。结果表明,除实验室 1 中绿原酸/栀子苷差异较大(4.6 mm×250 mm,5 μm),在 2 个实验室进行一测多评方法外,其他相对校正因子差异较小,*RSD* 小于 1.5% (表 4)。

表 4 不同试验条件下测得的校正因子

| 编号 | $\int_{\text{京尼平苷酸/栀子苷}}$ | | $\int_{\text{京尼平1-}\beta\text{-D龙胆二糖苷/栀子苷}}$ | | $\int_{\text{绿原酸/栀子苷}}$ | | $\int_{\text{西红花苷-I/栀子苷}}$ | | $\int_{\text{西红花苷-II/栀子苷}}$ | |
|------------|---------------------------|---------|--|---------|-------------------------|---------|----------------------------|---------|-----------------------------|---------|
| | 实验室 1 | 实验室 2 | 实验室 1 | 实验室 2 | 实验室 1 | 实验室 2 | 实验室 1 | 实验室 2 | 实验室 1 | 实验室 2 |
| 1# | 1.153 9 | 1.143 9 | 1.624 6 | 1.611 6 | 0.461 1 | 0.453 1 | 0.243 9 | 0.252 1 | 0.213 5 | 0.209 1 |
| 2# | 1.163 0 | 1.149 5 | 1.632 2 | 1.620 1 | 0.459 5 | 0.454 5 | 0.241 3 | 0.251 4 | 0.214 4 | 0.205 6 |
| 3# | 1.152 7 | 1.146 6 | 1.633 4 | 1.617 7 | 0.435 3 | 0.458 1 | 0.241 7 | 0.258 3 | 0.214 1 | 0.211 1 |
| 4# | 1.156 9 | 1.147 1 | 1.625 6 | 1.614 3 | 0.435 8 | 0.457 0 | 0.242 1 | 0.257 0 | 0.215 6 | 0.206 8 |
| 5# | 1.167 9 | 1.143 3 | 1.635 6 | 1.616 5 | 0.447 0 | 0.456 3 | 0.244 0 | 0.257 3 | 0.213 7 | 0.208 6 |
| 6# | 1.179 4 | 1.145 0 | 1.628 2 | 1.618 4 | 0.442 0 | 0.459 2 | 0.246 7 | 0.250 8 | 0.211 8 | 0.210 2 |
| 7# | 1.154 0 | 1.143 6 | 1.636 9 | 1.617 2 | 0.536 0 | 0.452 7 | 0.244 7 | 0.254 9 | 0.210 0 | 0.213 5 |
| 平均值 | 1.161 1 | 1.145 6 | 1.630 9 | 1.616 5 | 0.459 5 | 0.455 8 | 0.243 5 | 0.254 5 | 0.213 3 | 0.209 2 |
| <i>RSD</i> | 0.84% | 0.20% | 0.30% | 0.17% | 7.68% | 0.55% | 0.78% | 1.22% | 0.86% | 1.27% |

2.2.3 待测色谱峰定位 对于其他待测指标成分峰的定位,时间的 *RSD* 均小于 5% (表 5),由此可知,通过相对保留时间普遍采用相对保留时间的定位方法,本试验利用峰的相对保留时间进行定位。试验发现,不同液相系统、色谱柱相对保留

时间的 *RSD* 均小于 5% (表 5),由此可知,通过相对保留时间进行峰定位是可行的。

表 5 不同仪器、色谱柱下的相对校正因子

| 仪器 | 色谱柱 | 相对校正因子 | | | | |
|-------------|---------------------------|------------------------|---|----------------------|-------------------------|--------------------------|
| | | $r_{\text{京尼平苷酸/栀子苷}}$ | $r_{\text{京尼平1-}\beta\text{-D龙胆二糖苷/栀子苷}}$ | $r_{\text{绿原酸/栀子苷}}$ | $r_{\text{西红花苷-I/栀子苷}}$ | $r_{\text{西红花苷-II/栀子苷}}$ |
| Waters2695 | Durashell C ₁₈ | 0.378 2 | 0.771 6 | 0.831 1 | 1.609 3 | 1.756 8 |
| | Promosil C ₁₈ | 0.360 3 | 0.803 2 | 0.880 9 | 1.620 6 | 1.798 9 |
| | Diamonsil C ₁₈ | 0.374 4 | 0.799 7 | 0.858 3 | 1.647 3 | 1.813 1 |
| Agilent1200 | Durashell C ₁₈ | 0.364 3 | 0.755 3 | 0.806 9 | 1.552 8 | 1.706 2 |
| Agilent1260 | Durashell C ₁₈ | 0.367 4 | 0.756 3 | 0.845 6 | 1.678 2 | 1.902 4 |
| | Mean | 0.3689 2 | 0.777 22 | 0.8445 6 | 1.621 64 | 1.795 4 |
| | <i>RSD</i> | 1.98% | 2.97% | 3.30% | 2.88% | 4.06% |

2.3 一测多评法与回归方程法测定结果的比较

按照供试品溶液处理方法制备了 12 批栀子药材样品,分别吸取各供试品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪测定。分别采用回归方程法和一测多评法测定栀子药材中京尼平苷酸、京尼平 1-β-D 龙胆二糖苷、绿原酸、栀子苷、西红花苷-

I、西红花苷-II 含量,结果见表 6。对 2 种方法所测含量值进行了 *t* 检验,结果显示,2 种方法所得栀子药材含量不存在显著差异(*P* > 0.05),且 2 种方法所得的含量值偏差都在 3% 以内,说明一测多评法用于栀子药材的多成分质量评价是可行的。

表 6 一测多评法和回归方程法测得栀子药材中各组分含量比较

| 样品 编号 | 组分含量(μg/g) | | | | | | | | | |
|----------|------------|---------|-----------------|---------|---------|-------|----------|----------|---------|---------|
| | 京尼平苷酸 | | 京尼平 1-β-D 龙胆二糖苷 | | 绿原酸 | | 西红花苷-I | | 西红花苷-II | |
| | 回归方程法 | QAMS | 回归方程法 | QAMS | 回归方程法 | QAMS | 回归方程法 | QAMS | 回归方程法 | QAMS |
| 1 | 3 408.8 | 3 424.0 | 6 467.8 | 6 428.0 | 715.1 | 695.8 | 8 513.5 | 8 596.2 | 964.3 | 958.6 |
| 2 | 2 608.8 | 2 619.5 | 6 676.4 | 6 637.3 | 805.1 | 781.9 | 7 700.5 | 7 783.6 | 829.0 | 823.5 |
| 3 | 245.5 | 243.1 | 3 596.5 | 3 547.0 | 140.5 | 145.6 | 10 306.5 | 10 387.8 | 1 109.1 | 1 103.1 |
| 4 | 225.4 | 222.9 | 4 739.6 | 4 693.9 | 141.4 | 146.5 | 10 410.5 | 10 491.8 | 1 647.1 | 1 640.3 |
| 5 | 211.0 | 208.5 | 4 903.4 | 4 858.1 | 98.4 | 105.3 | 9 910.4 | 9 991.9 | 1 614.0 | 1 607.2 |
| 6 | 375.3 | 373.7 | 6 164.0 | 6 123.1 | 107.8 | 114.3 | 11 041.3 | 11 122.3 | 1 610.3 | 1 603.6 |
| 7 | 279.4 | 277.3 | 8 351.6 | 8 318.3 | 1 020.1 | 987.9 | 11 916.9 | 11 997.8 | 904.8 | 899.2 |
| 8 | 395.5 | 393.9 | 8 766.0 | 8 733.5 | 150.9 | 155.5 | 7 661.8 | 7 744.6 | 1 652.9 | 1 646.1 |
| 9 | 660.8 | 660.7 | 7 299.7 | 7 261.7 | 150.4 | 155.0 | 5 670.3 | 5 754.0 | 1 143.5 | 1 137.4 |
| 10 | 262.9 | 260.7 | 4 386.0 | 4 339.1 | 103.3 | 110.0 | 7 788.5 | 7 871.4 | 913.3 | 907.6 |
| 11 | 300.6 | 298.6 | 3 966.7 | 3 918.5 | 492.9 | 483.0 | 10 502.3 | 10 583.8 | 1 314.7 | 1 308.4 |
| 12 | 232.3 | 229.9 | 4 400.3 | 4 353.5 | 35.9 | 45.4 | 8 309.2 | 8 392.0 | 917.9 | 912.3 |

3 讨论

栀子具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒等功效。栀子果

实的化学成分主要包括环烯醚萜苷类、二萜类(西红花苷类)、有机酸酯类及其他类化学成分^[6]。其中栀子苷具有抗炎、解热、利胆、轻泻作用;京尼平苷酸具有抗肿瘤和抗氧化作

凌 敏,杨秀莲,王良桂. 四唑染色法测定巨紫荆种子生活力[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):295-297.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.098

四唑染色法测定巨紫荆种子生活力

凌 敏,杨秀莲,王良桂

(南京林业大学风景园林学院,江苏南京 210037)

摘要:为探讨巨紫荆(*Cercis gigantea*)种子生活力的适宜测定方法,采用四唑染色法,以染色浓度、染色温度、染色时间设计正交试验,研究巨紫荆种子的生活力测定条件。结果表明,染色浓度、染色温度、染色时间 3 者之间存在一定的关系,TTC 浓度为 0.1%、温度为 35℃、染色时间为 8 h 是巨紫荆种子生活力测定的最佳条件。

关键词:巨紫荆种子;四唑染色;生活力

中图分类号:S339.3⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)01-0295-03

巨紫荆(*Cercis gigantea*)原产中国浙江、河南、湖北、广东、贵州等地,是现存极少的乡土树种。巨紫荆是高大落叶乔木,高达 15 m,胸径可达 40 cm。树干通直,生长整齐,枝展开张,树冠绿荫面积大,覆盖度高,园艺性状突出,适宜作行道树、庭荫树,艺术效果良好。巨紫荆春季满树开淡红或淡紫红花,先花后叶,灿若云锦,观赏效果极佳;夏季叶绿荚红,质浓厚;秋季彩叶如霞;冬季落叶后荚果仍然悬挂枝头,尽展生命之劲力。巨紫荆实乃春季观花、夏秋观叶、冬季观果的优良园林树种,是园林绿化中具有广阔应用前景的乡土树种^[1]。在小苗培育方面,巨紫荆的出苗率一直不高,播种前用浓硫酸酸蚀再用赤霉素浸泡,其发芽率最高仅有 25.5%^[2]。准确的

生活力测定方法能够真实反映种子的发芽能力,尤其对一些休眠期长的种子更为适用。四唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride,TTC)测定技术是通过鉴定种子内部活组织的染色情况测定种子活力,是国际上公认的测定种子生活力较好的方法,能够快速、有效、准确地反映出种子的生活力,是《国际种子检验规程》中用于测定发芽缓慢或有休眠种子的生活力、快速判断种子潜在发芽能力的一种有效方法^[3-5]。

本研究利用四唑染色法,设置不同的 TTC 浓度、染色温度和时间,研究巨紫荆种子生活力测定的适宜条件,探究巨紫荆种子生活力的快速测定方法,为客观评价巨紫荆的发芽能力,科学预测种子用量以及出苗率等提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

巨紫荆种子于 2013 年 11 月 12 日采自南京林业大学梁希广场前,种子的净度为 96.12%,千粒质量为 21.50g,含水量为 17.15%。

参考文献:

- [1]王智民,高慧敏,付雪涛,等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1925-1928.
- [2]朱晶晶,王智民,匡艳辉,等. 一测多评法同步测定人参和三七药材中多种人参皂苷的含量[J]. 药学学报,2008,43(12):1211-1216.
- [3]匡艳辉,朱晶晶,王智民,等. 一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量[J]. 中国药理学杂志,2009,44(5):390-394.
- [4]朱晶晶,王智民,张启伟,等. 一测多评法同时测定黄芩药材中 4 种黄酮类成分的含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(24):3229-3234.
- [5]王智民,钱忠直,张启伟,等. 一测多评法建立的技术指南[J]. 中国中药杂志,2011,36(6):656-658.
- [6]杨全军,范明松,孙兆林,等. 栀子化学成分、药理作用及体内过程研究进展[J]. 中国现代中药,2010,12(9):7-12.
- [7]孟祥乐,李红伟,李 颜,等. 栀子化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志,2011,20(11):959-967.

收稿日期:2014-03-05

基金项目:江苏省林业三新工程项目(编号:lysx[2013]24)。

作者简介:凌 敏(1990—),女,安徽滁州人,硕士研究生,研究方向为园林植物与应用。E-mail:974574883@qq.com。

通信作者:王良桂,教授,博士生导师。E-mail:wlg@njfu.com.cn。

用;有文献报道,京尼平 1-β-D 龙胆二糖苷能改善戊巴比妥钠引起的心力衰竭;绿原酸为栀子中主要有机酸酯类成分,具有显著的抗癌作用及保肝利胆作用;西红花苷-I、西红花苷-II 是西红花、栀子中共有的色素类成分,具有去黄疸、利胆及明显的降血脂作用^[7]。本研究通过一测多评的分析方法对栀子药材中 6 种成分进行测定,为栀子药材中活性成分的多成分、多指标质量控制提供了新模式。

环烯醚萜类化合物是已知栀子药材中的有效成分,238 nm 为京尼平苷酸、栀子苷、京尼平 1-β-D 龙胆二糖苷的最大吸收波长,330 nm 为酚酸类物质绿原酸常用检测波长,440 nm 为西红花苷类化合物西红花苷-I 和西红花苷-II 最佳检测波长,因此选用 238、330、440 nm 为检测上述 6 种成分的波长。

通过比较一测多评法和传统回归方程法所得栀子 6 种成分含量值,发现两者之间并没有显著差异,且不同实验室、仪器、色谱柱下各有效成分间的校正因子重现性良好,说明在对照品不足的情况下,将一测多评用于栀子中药材多指标质量评价与质量控制是可行的,该方法具有一定的发展前景。