



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102539572 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 04

(21) 申请号 201210001665. 5

(22) 申请日 2012. 01. 05

(71) 申请人 浙江大学

地址 310027 浙江省杭州市西湖区浙大路
38 号

(72) 发明人 吴宏伟 朱岩 陈梅兰

(74) 专利代理机构 杭州中成专利事务所有限公
司 33212

代理人 唐银益

(51) Int. Cl.

G01N 30/02 (2006. 01)

G01N 30/08 (2006. 01)

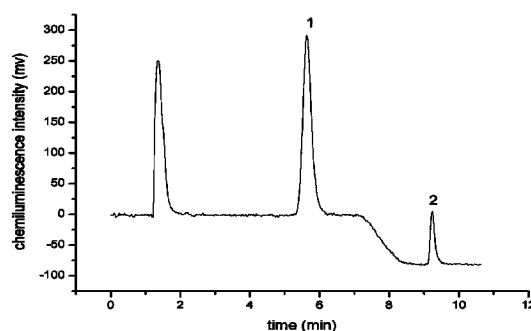
权利要求书 1 页 说明书 2 页 附图 1 页

(54) 发明名称

离子液体 - 加速溶剂萃取高效液相色谱化学
发光检测芦丁和槲皮素

(57) 摘要

本发明提供了一种易于自动化,绿色环保,测定结果准确可靠,灵敏度高的芦丁和槲皮素的提取及检测方法。该方法是用绿色环保的离子液体来代替有毒的有机溶剂,利用加速溶剂萃取技术中的高温高压条件,来快速萃取传统中药山楂中的有效成分芦丁和槲皮素,萃取后的提取液只需经简单处理后就可以直接进高效液相色谱分离系统,经 C18 柱完全分离后用化学发光检测器进行检测,出峰情况良好,可以得到很好的检测结果,检测限低。本方法可以应用于食品、保健品及其他含量极低固体样品中芦丁和槲皮素的检测。



1. 一种离子液体 - 加速溶剂萃取提取中药中芦丁和槲皮素及检测其含量的方法, 其特征在于, 该方法是用离子液体作为加速溶剂萃取法中的萃取剂来代替甲醇等对环境污染的有机提取剂, 在高温高压的外界条件下, 快速高效的提取中药中的芦丁和槲皮素, 提取后的液体经高速离心简单处理后, 取上清液直接进入高效液相色谱系统, 完全分离后利用化学发光检测器检测。

2. 根据权利要求 1 所述的离子液体 - 加速溶剂萃取提取中药中芦丁和槲皮素及检测其含量的方法, 其特征在于, 所述的离子液体用于加速溶剂萃取过程中, 方法绿色环保, 离子液体的萃取效率高, 整个过程比传统的加热回流提取法大大缩短时间, 自动化程度极高, 方法回收率好, 稳定可靠, 化学发光作为检测手段, 不需要内部光源, 其灵敏度要远远高于紫外和荧光检测器, 能成功测定提取液中极微量的芦丁和槲皮素。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的离子液体 - 加速溶剂萃取提取中药中芦丁和槲皮素及检测其含量的方法, 其特征在于, 可应用于其他能被离子液体 - 加速溶剂萃取化学发光检测的中药中的有效成分或其它固体及半固体样品的分析测定。

离子液体 - 加速溶剂萃取高效液相色谱化学发光检测芦丁和槲皮素

技术领域

[0001] 本发明提供了一种检测芦丁和槲皮素的方法,具体得说,是一种利用离子液体 - 加速溶剂萃取高效液相色谱化学发光检测芦丁和槲皮素的新方法。

背景技术

[0002] 芦丁和槲皮素都是天然黄酮类化合物,具有很强的抗氧化活性,可以延缓人体细胞衰老,对于人体健康有着重要的生理作用和药用价值。很多种中药当中都含有芦丁和槲皮素,目前常见的提取方法主要有索氏提取、超声辅助提取或者微波辅助提取法等,但是这些方法往往不是提取时间过长就是提取效率不高,或者是操作麻烦,提取后的萃取液需要繁琐的进一步处理。而常用的检测手段主要是紫外检测法,这种方法检测限较高,对于一些药物中极微量的组分难以很好的测定。

发明内容

[0003] 本发明目的是提供一种新的芦丁和槲皮素的提取及测定方法。该法首先用离子液体作为萃取溶剂,将中药样品适当处理后装入加速溶剂萃取装置内,然后在高温高压条件下对待测样品进行快速自动萃取。得到的提取液经简单离心处理后直接进入色谱系统分离后用化学发光检测器进行分析。

[0004] 本发明的具体技术方案如下:

[0005] 本发明是一种利用离子液体 - 加速溶剂萃取法提取中药中芦丁和槲皮素及检测其含量的方法,该方法是用离子液体作为加速溶剂萃取法中的萃取剂来代替甲醇等对环境污染的有机提取剂,在高温高压的外界条件下,快速高效的提取中药中的芦丁和槲皮素,提取后的液体经高速离心简单处理后,取上清液直接进入高效液相色谱系统,完全分离后利用化学发光检测器检测。

[0006] 本发明所述的离子液体 - 加速溶剂萃取提取中药中芦丁和槲皮素及检测其含量的方法,离子液体用于加速溶剂萃取过程中,方法绿色环保,离子液体的萃取效率高,整个过程比传统的加热回流提取法大大缩短时间,自动化程度极高,方法回收率好,稳定可靠,化学发光作为检测手段,不需要内部光源,其灵敏度要远远高于紫外和荧光检测器,能成功测定提取液中极微量的芦丁和槲皮素。

[0007] 本发明的方法可应用于其他能被离子液体 - 加速溶剂萃取化学发光检测的中药中的有效成分或其它固体及半固体样品的分析测定。

[0008] 本发明的有益效果如下:

[0009] 本发明测定时首先用离子液体 - 加速溶剂萃取系统对中药样品中的芦丁和槲皮素进行萃取,然后用 C18 柱进行分离后用化学发光检测器进行检测。利用离子液体代替有机溶剂,使得本方法绿色环保,而且加速溶剂萃取的高温 and 高压条件大大提升了离子液体的萃取能力;同时,化学发光检测器的使用使得检测的灵敏度大大提高,而且由于化学发光

检测本身具有一定的选择性,这就使得其谱图要比紫外检测的谱图干扰少,非常适合用于像中药这样复杂基体中痕量有效组分的测定;本法测定简单,自动化程度高,准确灵敏,经济环保,可广泛应用于食品,保健品以及医药领域,该方法可以高效提取并灵敏测定传统中药中的芦丁和槲皮素,国内外尚无同类检测方法的报告。

附图说明

[0010] 图 1 为离子液体-加速溶剂萃取高效液相色谱化学发光检测芦丁槲皮素标准色谱(1 μ g/mL);

[0011] 图 1 中标记为:1-芦丁,2-槲皮素;

[0012] 图 2 为中药山楂的色谱图;

[0013] 图 2 中标记为:1-芦丁,2-槲皮素。

具体实施方式

[0014] 下面结合具体实施例对本发明的技术方案作进一步说明:

[0015] 离子液体-加速溶剂萃取高效液相色谱化学发光检测山楂中芦丁槲皮素具体步骤如下:

[0016] 1、标准溶液的配制:精确称取芦丁槲皮素标样各 10mg,分别置于两个 10ml 容量瓶中,震荡溶解后,定容到刻度;

[0017] 2、标准曲线的制作:采用逐级稀释的方法配制不同浓度标准溶液;

[0018] 3、离子液体-加速溶剂萃取:将药店买来山楂去核后洗净晒干并用粉碎机粉碎,然后过 40 目筛子并收集,取一定量的山楂样品放入加速溶剂萃取仪的 34mL 萃取池中,同时加入适量的硅藻土作为分散剂,将水溶性离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐配成一定浓度的溶液,作为萃取剂,在设定好的温度和压力条件下进行自动萃取。萃取后的液体流入收集瓶中收集,将此萃取液 10000 转/分离心 10 分钟后稀释一定倍数直接进色谱系统分析;

[0019] 4、标准溶液及样品的测定:进样量 50 μ L,分别取 1 μ g/mL 芦丁和槲皮素的混标及稀释一定倍数后的山楂实际样品提取液注入色谱分析系统,得到标样色谱图(附图 1)及样品色谱图(附图 2)。附图 1 中我们可以看到芦丁出峰时间大约为 5.8 分钟,槲皮素出峰时间大约为 9.3 分钟,二者可以很好的分离,而且峰型好。附图 2 中可以看出芦丁和槲皮素在实际样品中都可以测得,并且没有受到实际样品中复杂基质的干扰,可以很好的定量分析。

[0020] 5、发光试剂的选择:试验不同体系的发光试剂,以求达到最佳的测定效果,最终该实例选择 0.5mM 高锰酸钾和 5×10^{-5} M 铁氰化钾作为发光试剂;

[0021] 6、流动相的选择:试验不同的流动相配比,最后确定为:43%甲醇,0-8 分钟,8-9 分钟增加甲醇至 65%,然后保持这一比例到 13 分钟;

[0022] 7、泵流速为 1mL/min,蠕动泵流速为 23 转/分,负高压,800V。

[0023] 上述实施例用来解释说明本发明,而不是对本发明进行限制,在本发明的精神和权力要求保护范围内,对本发明做出的任何修改和改变,都落入本发明的保护范围。

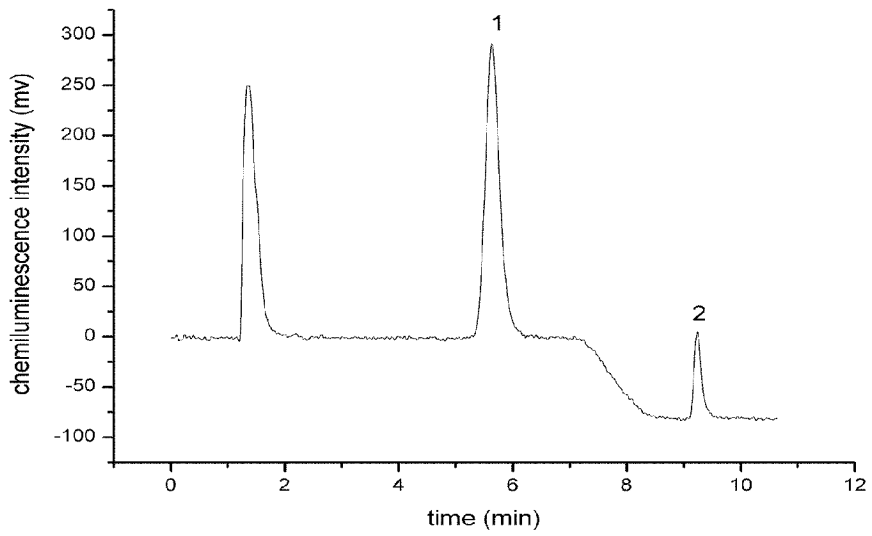


图 1

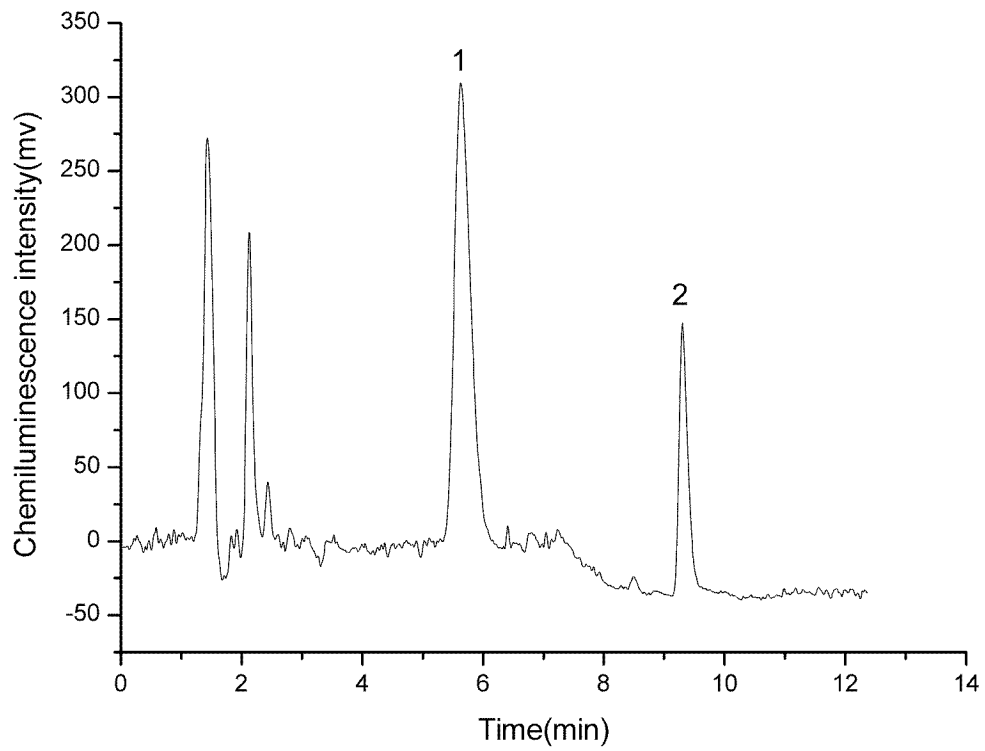


图 2