



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106596766 A

(43)申请公布日 2017.04.26

(21)申请号 201611146426.3

(22)申请日 2016.12.13

(71)申请人 中山大学

地址 510000 广东省广州市南沙区环市大道南8号科创中心B区A栋206室

申请人 广州中大南沙科技创新产业园有限公司

(72)发明人 张易 马晋芳 葛发欢 张陈
彭银 叶静 周飞贤

(74)专利代理机构 广州凯东知识产权代理有限公司 44259

代理人 陈晓清

(51)Int.Cl.

G01N 30/02(2006.01)

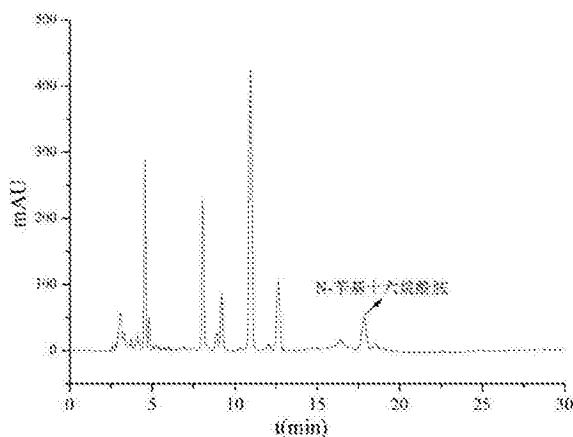
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法

(57)摘要

本发明涉及玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,包括以下步骤:溶液的配制、标准线的绘制以及浓度计算。通过N-苄基十六烷酰胺标准品溶液的浓度与峰面积,拟合出标准线,再根据标准线计算出玛咖超临界提取物中N-苄基十六烷酰胺的含量。本发明的分析方法不仅精密度高、重复性好,而且稳定性优异,回收率高。另外,本发明所述液相色谱测试N-苄基十六烷酰胺的峰面积,N-苄基十六烷酰胺峰的分度大,选择性好,灵敏度高。



1. 玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 溶液的配制:包括N-苄基十六烷酰胺标准品溶液和玛咖测试品溶液,N-苄基十六烷酰胺标准品溶液通过将N-苄基十六烷酰胺溶解在甲醇中制得,玛咖测试品溶液通过将玛咖超临界CO₂提取物溶解在甲醇中过滤后得到;

(2) 标准线的绘制:测定不同浓度的N-苄基十六烷酰胺标准品溶液的液相色谱,得出不同浓度的N-苄基十六烷酰胺的峰面积,并根据N-苄基十六烷酰胺的浓度与峰面积,拟合标准线;

(3) 浓度计算:测定玛咖测试品溶液的液相色谱,得出玛咖测试品中N-苄基十六烷酰胺的峰面积,通过标准线,从而计算出玛咖超临界提取物中N-苄基十六烷酰胺的含量。

2. 根据权利要求1所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述玛咖测试品溶液将玛咖超临界提取物溶解在甲醇中,采用0.45μm微孔滤膜进行过滤。

3. 根据权利要求1所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述液相色谱采用反相C₁₈色谱柱。

4. 根据权利要求1所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述液相色谱的流动相为乙腈-水或者乙腈-酸,其中酸的体积分数为0.5%-1.0%。

5. 根据权利要求4所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述酸为甲酸、冰乙酸、三氟乙酸、磷酸中的一种或多种。

6. 根据权利要求1所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述液相色谱的检测波长为210-260nm。

7. 根据权利要求1所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述液相色谱的柱温为25-40℃。

8. 根据权利要求1所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,其特征在于:所述液相色谱的流速为0.6-1.0ml/min。

玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种玛咖酰胺B含量的分析方法,尤其涉及玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法。

背景技术

[0002] 玛咖是十字花科独行菜属一年生或两年生草本植物。玛咖块根中含有丰富的营养物质及次生代谢产物。研究表明,玛咖具有抗疲劳、改善性功能、提高生育能力、减少前列腺增生、缓解更年期综合症、等多种功效,超临界CO₂萃取能较好的富集玛咖酰胺。玛咖酰胺是玛咖中特有的功效成分,N-苄基十六烷酰胺是一种玛咖酰胺类成分,N-苄基十六烷酰胺又名玛咖酰胺B,N-苄基十六烷酰胺具有延长小鼠负重游泳时间、增强小鼠抗疲劳作用。然而,目前没有对玛咖提取物中N-苄基十六烷酰胺含量准确分析方法。

发明内容

[0003] 针对上述背景中的问题,本发明提供一种准确性高的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法。

[0004] 本发明的目的将通过以下技术方案实现:玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,包括以下步骤:

[0005] (1) 溶液的配制:包括N-苄基十六烷酰胺标准品溶液和玛咖测试品溶液,N-苄基十六烷酰胺标准品溶液通过将N-苄基十六烷酰胺溶解在甲醇中制得,玛咖测试品溶液通过将玛咖超临界CO₂提取物溶解在甲醇中过滤后得到;

[0006] (2) 标准线的绘制:测定不同浓度的N-苄基十六烷酰胺标准品溶液的液相色谱,得出不同浓度的N-苄基十六烷酰胺的峰面积,并根据N-苄基十六烷酰胺的浓度与峰面积,拟合标准线;

[0007] (3) 浓度计算:测定玛咖测试品溶液的液相色谱,得出玛咖测试品中N-苄基十六烷酰胺的峰面积,通过标准线,从而计算出玛咖超临界提取物中N-苄基十六烷酰胺的含量。

[0008] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述玛咖测试品溶液将玛咖超临界提取物溶解在甲醇中,采用0.45μm微孔滤膜进行过滤。

[0009] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述液相色谱采用反相C₁₈色谱柱。

[0010] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述液相色谱的流动相为乙腈-水或者乙腈-酸,其中酸的体积分数为0.5%-1.0%。

[0011] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述酸为甲酸、冰乙酸、三氟乙酸、磷酸中的一种或多种。

[0012] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述液相色谱的检测波长为210-260nm。

[0013] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述液相色谱

谱的柱温为25-40℃。

[0014] 优选的,所述的玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,所述液相色谱的流速为0.6-1.0ml/min。

[0015] 本发明的有益效果是:本发明的分析方法不仅精密度高、重复性好,而且稳定性优异,回收率高。另外,本发明所述液相色谱测试N-苄基十六烷酰胺的峰面积,N-苄基十六烷酰胺峰的分度大,选择性好,灵敏度高。

附图说明

[0016] 图1为本发明实施例2中玛咖测试品的液相色谱图;

[0017] 图2为本发明实施例3中N-苄基十六烷酰胺标准品溶液的液相色谱图。

具体实施方式

[0018] 为更好地理解本发明,下面通过以下实施例对本发明作进一步具体的阐述,但不可理解为对本发明的限定,对于本领域的技术人员根据上述发明内容所作的一些非本质的改进与调整,也视为落在本发明的保护范围内。

[0019] 实施例1

[0020] 玛咖超临界CO₂提取物中玛咖酰胺B含量的分析方法,包括以下步骤:

[0021] (1) 溶液的配制:包括N-苄基十六烷酰胺标准品溶液和玛咖测试品溶液,N-苄基十六烷酰胺标准品溶液通过将N-苄基十六烷酰胺溶解在甲醇中制得,玛咖测试品溶液将玛咖超临界提取物溶解在甲醇中,采用0.45μm微孔滤膜进行过滤得到;

[0022] (2) 标准线的绘制:测定不同浓度的N-苄基十六烷酰胺标准品溶液的液相色谱,得出不同浓度的N-苄基十六烷酰胺的峰面积,并根据N-苄基十六烷酰胺的浓度与峰面积,拟合标准线;

[0023] (3) 浓度计算:测定玛咖测试品溶液的液相色谱,得出玛咖测试品中N-苄基十六烷酰胺的峰面积,通过标准线,从而计算出玛咖超临界提取物中N-苄基十六烷酰胺的含量(即每克玛咖超临界提取物中N-苄基十六烷酰胺的质量,单位mg/g)。

[0024] 液相色谱采用反相C₁₈色谱柱。液相色谱的流动相为乙腈-水或者乙腈-酸,其中酸的体积分数为0.5%-1.0%,酸为甲酸、冰乙酸、三氟乙酸、磷酸中的一种或多种。液相色谱的检测波长为210-260nm,液相色谱的柱温为25-40℃。液相色谱的流速为0.6-1.0ml/min。

[0025] 液相色谱的型号为:UltiMate 3000高效液相色谱仪(包括梯度泵SR-3000、自动进样器WPS-3000、柱恒温系统TCC-3000、检测器DAD-3000、色谱工作站变色龙7.2)(赛默飞世尔科技公司);色谱柱的型号为:Diamonsil Plus C18(4.6mm×250mm,5μm)。

[0026] 乙腈(色谱纯,德国默克公司);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);其他试剂均为分析纯。

[0027] 实施例2

[0028] 在实施例1的基础上,玛咖测试品通过取玛咖超临界提取物0.1g,加10ml甲醇超声溶解,采用0.45μm微孔滤膜过滤得到。液相色谱的流动相为磷酸(A)-乙腈(B),其中,磷酸的体积分数为1.0%,流速为1.0ml/min,柱温为35℃,检测波长210nm,梯度洗脱(如下表1),得到了玛咖测试品的液相色谱图(如图1)。

[0029] 表1

[0030]

时间(min)	A相%	B相%
0	15	85
26	15	85
30	5	95

[0031]

[0032] 并且根据N-苄基十六烷酰胺标准品溶液的浓度与峰面积的关系,得到了线性拟合方程, $y=3.9049x-0.0063$,相关系数为0.9995,其中,x表示N-苄基十六烷酰胺标准品溶液中N-苄基十六烷酰胺的浓度,y表示对应N-苄基十六烷酰胺的峰面积。

[0033] 实施例3:精密度实验

[0034] 在实施例2的基础上,N-苄基十六烷酰胺标准品溶液中N-苄基十六烷酰胺的浓度为0.21mg/ml,采用该浓度连续进样6次,得到其液相色谱图(如图2)并记录N-苄基十六烷酰胺的峰面积,求出对应的平均值(Average)及相对标准偏差(RSD%),其结果如下表2:

[0035] 表2

[0036]

组别	1	2	3	4	5	6
峰面积	21.1458	21.2218	21.4694	21.4996	21.1989	21.1989
Average	21.3186					
RSD%	0.70					

[0037] 由表2可知,平均值(Average)为21.3186,相对标准偏差(RSD%)为0.70,精密度高。

[0038] 实施例4:重复性实验

[0039] 在实施例2的基础上,同一批次的玛咖超临界提取物,重复制备六份玛咖测试品溶液,测定其液相色谱,并且根据实施例2中的线性拟合方程,计算6份样品中N-苄基十六烷酰胺的含量(w),并求出对应的平均值(Average)及相对标准偏差(RSD%),其结果如表3所示。

[0040] 表3

[0041]

组别	7	8	9	10	11	12
W(mg/g)	10.6977	10.9589	10.6707	10.8313	10.8291	10.7632
Average	10.7918					
RSD%	0.97					

[0042] 由表3可知,平均值(Average)为10.7918,相对标准偏差(RSD%)为0.97,符合规定,重复性好。

[0043] 实施例5:稳定性实验

[0044] 在实施2的基础上,取同一批次的玛咖测试品溶液,进行液相色谱仪分析,分别于0、2、4、8、12、24h测定其液相图谱,记录N-苄基十六烷酰胺的峰面积(w),并求出平均值(Average)及相对标准偏差(RSD%),其结果如表4所示。

[0045] 表4

[0046]	组别	13	14	15	16	17	18
	w (mg/g)	8.4445	8.8356	8.4739	8.4553	8.4208	8.2363
	Average	8.4777					
	RSD%	2.31					

[0047] 由表4可知,平均值 (Average) 为8.4777,相对标准偏差 (RSD%) 为2.31,符合规定,稳定性好。

[0048] 实施例6:回收率实验

[0049] 在实施例2的基础上,计算出玛咖测试品溶液中N-苄基十六烷酰胺的含量,为初始量,并加入初始量80%、100%、120%的N-苄基十六烷酰胺标准品溶液(加入量),再测试溶液中N-苄基十六烷酰胺的含量,为实测量。其中,每组含量设置3次平行实验,考察N-苄基十六烷酰胺的平均值 (Average) 及相对标准偏差 (RSD%),结果如表5所示。

[0050] 其中,回收率= $\frac{\text{实测量} - \text{初始量}}{\text{加入量}} \times 100\%$

[0051] 表5:

[0052]

含量	实测量	加入量	初始量	回收率	Average	RSD%
80%	0.3521	0.1568	0.1987	97.83	98.76	1.62
	0.3521			97.85		
	0.3564			100.60		
100%	0.4083	0.2016		103.98	103.23	1.67
	0.4093			104.44		
	0.4028			101.26		
120%	0.4392	0.2408		99.89	98.78	1.10
	0.4340			97.71		
	0.4365			98.74		

[0053] 由表5可知,三组实验的平均值 (Average) 分别为98.76、103.23、98.78,相对标准偏差 (RSD%) 分别为1.62、1.67、1.10,符合规定,回收率高。

[0054] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

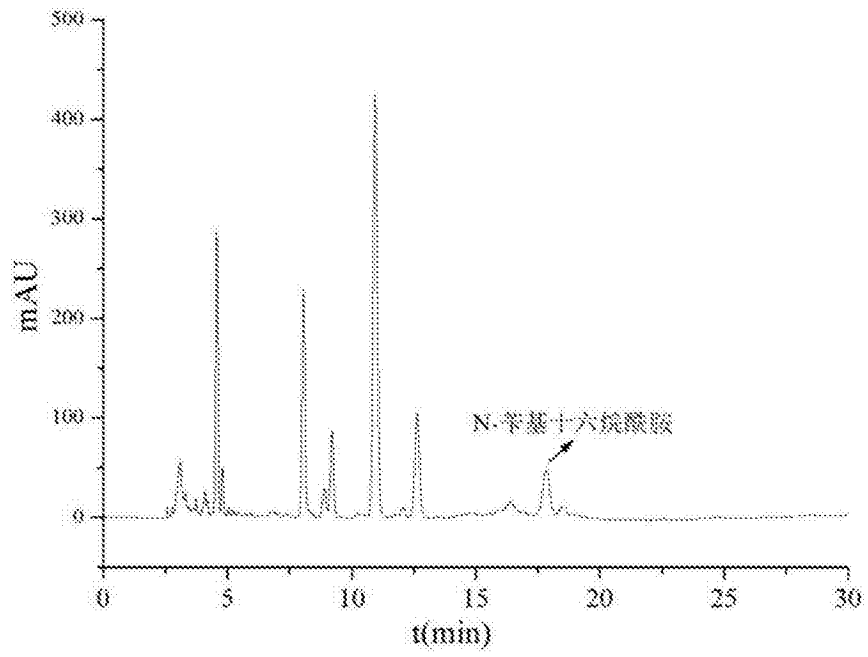


图1

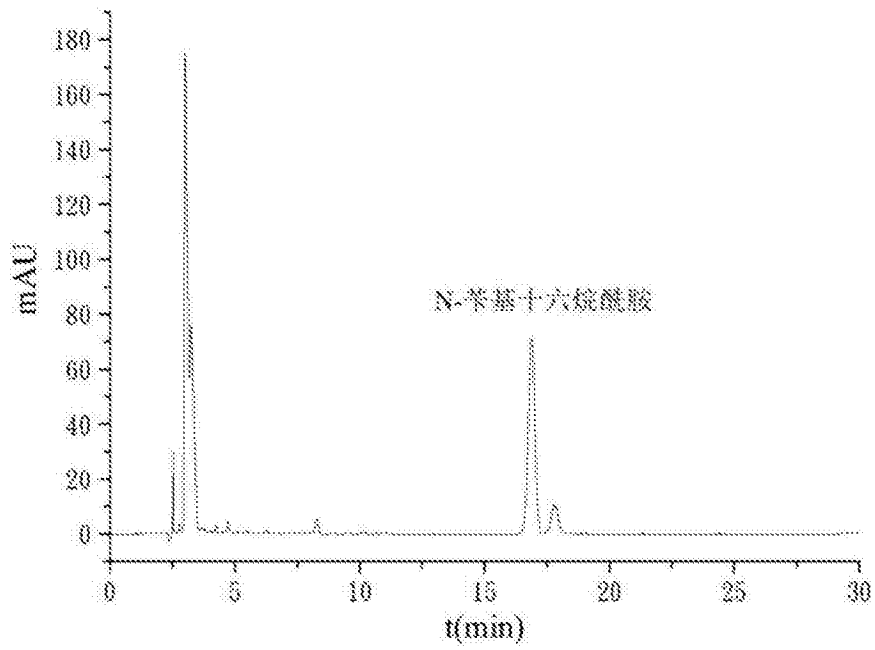


图2