

分类号：TP212.3
学 号：20212307215

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

博士学位论文



元素掺杂碳纳米复合材料用于电化学传感器的 构建及对甘草中活性成分的检测

学 位 申 请 人	陈妍冰
指 导 教 师	魏忠教授 孙世国教授
申请学位门类级别	工学博士
学 科 、 专 业 名 称	化学工程与技术
研 究 方 向	生物传感
所 在 学 院	化学化工学院

中国·新疆·石河子
2024年12月

分类号：TP212.3
学号：20212307215

密级：公开
单位代码：10759

石河子大学

博士学位论文



元素掺杂碳纳米复合材料用于电化学传感器的 构建及对甘草中活性成分的检测

学位申请人	陈妍冰
指导教师	魏忠教授 孙世国教授
申请学位门类级别	工学博士
学科、专业名称	化学工程与技术
研究方向	生物传感
所在学院	化学化工学院

中国·新疆·石河子
2024年12月

**Construction of element doped carbon nanocomposites for
electrochemical sensor and detection of active ingredients in licorice**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Doctor of Engineering

By

Yanbing Chen

(Pharmaceutical analysis)

Dissertation Supervisor: Prof. Zhong Wei and Prof. Shiguo Sun

Dec., 2024

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。基于元素掺杂的碳纳米复合材料构建电化学传感器用于甘草的检测研究。

研究生签名：陈妍冰

时间：2024 年 10 月 21 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：陈妍冰

时间：2024 年 10 月 21 日

导师签名：陈世周

时间：2024 年 10 月 21 日

摘要

甘草作为食品和药物的同源物质，是著名的中草药。其优异的治疗作用包括抗氧化应激、抗炎、免疫调节、抗纤维化和抗癌等。到目前为止，通过化学和药学研究已经鉴定出约 200 余种化学成分，其中三萜类和黄酮类化合物被认为是具有显著生物活性的成分。但由于甘草中成分含量丰富，不同的地理来源、植物种类、以及不同的采收和加工方式等，可能会导致甘草中的有效成分含量有很大差异，从而影响其治疗效果。并且由于甘草生长年限周期长，种植甘草往往需要等到成熟后方可检测其含量成分。针对这一现象，研究一种能够实现即时监测，来达到及时反馈，及时纠正种植方式的分析方法显得尤其重要。电化学分析技术可以确定一些能产生氧化还原反应的物质，提供有关这类物质的药理学信息，大大降低分析成本，有望为即时测定甘草中的活性成分提供关键技术。这项技术主要在于利用改性电极材料，以构建高选择性、高灵敏度和良好稳定性的检测平台。其中，碳纳米材料由于其独特的空间结构、快速电子转移及良好的导电性能，在电化学传感器的构建中占据越来越重要的地位。碳纳米材料构建的电化学传感器可用于药物及生物分子的监测分析，是一种经济、高效的分析工具。而元素掺杂可以改善碳纳米材料的性能，这对于提升碳材料的电导率、电催化活性以及稳定性至关重要。基于此，本文将围绕以元素掺杂碳纳米复合材料来构建电化学传感器的设计理念，满足甘草中不同成分的监测要求。具体研究工作和内容如下：

(1) 利用 S、P 共掺杂氧化石墨烯 (S、P-GO) 结合电化学分析技术，制备了一种用于新甘草苷 (NLQ) 灵敏检测的电化学传感器。S、P-GO 是由浓 H_2SO_4 、植酸和 GO 的混合物通过温和的水热法合成的，在 GO 中掺杂元素可以提高电极的电子传递能力，以实现 NLQ 的定量分析。最佳条件下，NLQ 浓度在 $0.3 \mu M$ - $120 \mu M$ 范围内与电流强度呈现出良好的线性关系。该传感器对 NLQ 的检测限较低，为 $0.075 \mu M$ ($S/N=3$)。此外，所制备的传感器还具有良好的稳定性和选择性等优点，可用于甘草中 NLQ 的含量监测。

(2) 利用甘草根、茎、叶为原料制备了纳米多孔碳，并对其进行了元素掺杂改性。然后，采用超声分散技术将氮、硫共掺杂的甘草碳 (N、S-LC) 和功能化多壁碳纳米管 (f-MWCNTs) 进行分散，制备了二元纳米复合材料。N、S-LC 在二元纳米复合材料的形成和电化学效率中起着关键作用，相比于 (1) 中简单的 S、P 共掺杂碳材料，该二元纳米复合材料可用于甘草查尔酮 A (LicA) 和甘草苷 (LQ) 的同时检测。采用差分脉冲伏安法 (DPV) 和循环伏安法 (CV) 研究了 N、S-LC/f-MWCNTs 二元纳米复合材料修饰电极对 LicA 和 LQ 的电化学行为，其中 LicA 与 LQ 的峰间电位差为 $0.48 V$ 。最后分别在 0.4 - $70 \mu M$ 和 0.1 - $150 \mu M$ 范围内建立了 LicA 和 LQ 的标准曲线，检测限分别为 $0.033 \mu M$ 和 $0.025 \mu M$ ($S/N=3$)。

(3) 为了在 (2) 的研究基础上进一步提高传感器的抗干扰能力和选择性，构建了一种新型分子印迹比率型电化学传感器。首先通过一锅溶剂热反应制备了二茂铁/ZIF-8 (Fc/ZIF-8) 复合材料，

并将其涂覆在玻璃碳电极（GCE）表面，以 Fc 的氧化作为内部参考信号，构建了比率信号策略。接着将高电导率的氮掺杂碳（NOC）进一步负载在改性的 GCE 上。最后基于密度泛函理论（DFT）的理论探索和计算机定向模拟，筛选出了最佳功能单体（多巴胺）和双模板分子与功能单体的最佳配比。在最佳条件下，以光甘草定（GLA）和异甘草苷（ISL）为双模板分子，多巴胺为功能单体，通过电聚合法合成了分子印迹聚合物（MIP）。当传感器暴露于含有 GLA 和 ISL 的溶液时产生电化学曲线，且随着 GLA 和 ISL 浓度的增加，GLA 和 ISL 的峰值电流强度（ I_{GLA} 和 I_{ISL} ）逐渐增大，而作为参考信号的 Fc 的峰值电流强度（ I_{Fc} ）保持相对恒定。 I_{GLA}/I_{Fc} 和 I_{ISL}/I_{Fc} 分别在 0.1-160 μM 和 0.5-150 μM 范围内与 GLA 和 ISL 浓度呈良好的线性关系。检测限分别为 0.052 μM 和 0.27 μM （ $S/N=3$ ）。由于 MIP 的印迹效应和参比信号的存在，该传感器具有良好的选择性和抗干扰能力，成功应用于光果甘草的质量评估。

（4）在之前的研究基础上，为了实现在一个电极上同时测定电活性与非电活性成分，并进一步提高传感器的灵敏度，开发了一种用于乌拉尔甘草质量监测的新型传感器。该传感器基于一种全新的功能单体，协同分子印迹技术与比率传感技术，可用于乌拉尔甘草中三种活性成分的同时测定。乌拉尔甘草的主要活性成分甘草酸（GA）及其关键黄酮类化合物甘草素（LG）和甘草苷（LQ）具有多种药理作用，在临床应用中至关重要。其中 LG 和 LQ 可以直接在电极表面上被氧化而 GA 是非电活性的。为了实现在一个传感器上同时灵敏地检测三种分析物，构建了一种以 GA、LG 和 LQ 为模板的多模板分子印迹聚合物（MIP）修饰电极。在检测过程中，由于 MIP 与靶标的重新结合， $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的峰值电流显示出明显的抑制作用。同时，出现了两个新的峰值，这归因于 LG 和 LQ 的氧化。然而，在目前正在开发的传感器中，MIP 通常是使用传统的的功能单体构建的，由于缺乏足够的结合基团，这可能会导致亲和力及灵敏度降低。为了解决这个问题，我们使用密度泛函理论（DFT）和计算机模拟进行了理论探索，以确定最佳功能单体（多巴胺）及其最有效的改造结构。与传统的功能单体相比，衍生自多巴胺的改构功能单体显示出更强的结合能力，显著提高了 MIP 的灵敏度。在此之前，为了提高电化学传感性能，使用 N、P 共掺杂的纳米多孔碳（N、P-CNS）作为改性材料。相比于（3）中的单元素掺杂碳材料，N、P-CNS 表现出更优异的电催化性能和更低的电子转移电阻。此外，为了减少其他因素的干扰，采用 UiO-66-NH₂ 吸附亚甲基蓝（MB）并滴涂在 GCE 上形成 MB@UiO-66-NH₂/GCE，以开发比率传感策略。该传感器对 GA、LG 和 LQ 浓度之和的检测范围为 0-150 μM ，检测限为 0.011 μM （ $S/N=3$ ），对 LG 和 LQ 的线性范围为 0-60 μM ，检测限分别为 0.027 μM 和 0.021 μM （ $S/N=3$ ）。该电化学传感器具有优秀的选择性，抗干扰能力以及灵敏度，并成功应用于乌拉尔甘草中 GA、LG 和 LQ 的实际检测。

关键词：碳材料；元素掺杂；电化学传感器；甘草；含量监测

Abstract

Glycyrrhiza uralensis, as a homologous substance of food and medicine, is a famous Chinese herbal medicine. Its excellent therapeutic effects include anti oxidative stress, anti-inflammatory, immune regulation, anti-fibrosis and anti-cancer. So far, about 200 chemical constituents have been identified through chemical and pharmaceutical research, among which triterpenoids and flavonoids are considered to have significant biological activities. However, due to the rich content of ingredients in licorice, different geographical sources, plant species, and different harvesting and processing methods may lead to great differences in the content of effective ingredients in licorice, thus affecting its therapeutic effect. And because of the long growth cycle of licorice, the content of licorice can be detected only after it is mature. In view of this phenomenon, it is particularly important to study an analysis method that can realize real-time monitoring to achieve timely feedback and timely correct planting patterns. Electrochemical analysis technology can identify some drugs that can produce redox reaction, provide pharmacological information about such drugs, greatly reduce the analysis cost, and is expected to provide key technology for the real-time determination of active ingredients in licorice. This technology mainly relies on the use of modified electrode materials to build a detection platform with high selectivity, high sensitivity and good stability. Among them, carbon nanomaterials play an increasingly important role in the construction of electrochemical sensors due to their unique spatial structure, rapid electron transfer and good conductivity. The electrochemical sensor based on carbon nanomaterials can be used for the monitoring and analysis of drugs and biomolecules. It is an economical and efficient analysis tool. Element doping can improve the performance of carbon nanomaterials, which is essential to improve the conductivity, electrocatalytic activity and stability of the materials. Based on this, this thesis will focus on the design concept of building electrochemical sensors with element doped carbon nanocomposites to meet the monitoring requirements of different components in licorice. The specific research work and contents are as follows:

(1) An electrochemical sensor for sensitive detection of neoliquiritigenin (NLQ) was prepared by using S, P Co-doped oxygraphene (S, P-GO) and electrochemical analysis technology. GO was synthesized by a mild hydrothermal method from a mixture of concentrated H_2SO_4 , phytic acid and GO. Doping elements in GO can improve the electron transfer ability of the electrode to achieve the quantitative analysis of NLQ. Under the optimal conditions, the concentration of NLQ showed a good linear relationship with the current intensity in the range of 0.3 μM -120 μM . The detection limit of NLQ was 0.075 μM (S/N=3). In addition, the sensor has good stability and selectivity, and can be used for the content monitoring of NLQ content in licorice.

(2) Nano porous carbon was prepared from root, stem and leaf of licorice and modified by element doping.

Then, nitrogen and sulfur co-doped licorice carbon (N, S-LC) and functional multi walled carbon nanotubes (f-MWCNTs) were dispersed by ultrasonic dispersion technology to prepare binary nanocomposites. N, S-LC plays a key role in the formation and electrochemical efficiency of binary nanocomposites. Compared with the simple S and P co-doped carbon materials in (1), the binary nanocomposites can be used for the simultaneous detection of licochalcone A (LicA) and liquiritin (LQ). The electrochemical behavior of N, S-LC/f-MWCNTs binary nanocomposite modified electrode for LicA and LQ was studied by differential pulse voltammetry (DPV) and cyclic voltammetry (CV). The peak to peak potential difference between LicA and LQ was 0.48 V. Finally, the standard curves of LicA and LQ were established in the range of 0.4-70 μM and 0.1-150 μM , respectively. The detection limits were 0.033 μM and 0.025 μM (s/N=3), respectively.

(3) In order to further improve the anti-interference ability and selectivity of the sensor based on the research of (2), a novel molecularly imprinted ratiometric electrochemical sensor was constructed. Ferrocene/ZIF-8 (Fc/ZIF-8) composites were prepared by one pot solvothermal reaction and coated on the surface of glassy carbon electrode (GCE). The oxidation of Fc was used as the internal reference signal to construct the ratiometric signal strategy. Then nitrogen doped carbon (NOC) with high conductivity was further loaded on the modified GCE. Finally, based on the theoretical exploration of density functional theory (DFT) and computer-oriented simulation, the optimal functional monomer (dopamine) and the optimal ratio of double template molecule to functional monomer were selected. Under the optimal conditions, molecularly imprinted polymer (MIP) was synthesized by electropolymerization using glabridin (GLA) and isoliquiritigenin (ISL) as double template molecules and dopamine as functional monomer. When the sensor was exposed to the solution containing GLA and ISL, the electrochemical curve was generated. With the increased of the concentration of GLA and ISL, the peak current intensity of GLA and ISL (I_{GLA} and I_{ISL}) gradually increased, while the peak current intensity of Fc (I_{Fc}) as the reference signal remains relatively constant. The value of $I_{\text{GLA}}/I_{\text{Fc}}$ and $I_{\text{ISL}}/I_{\text{Fc}}$ showed a good linear relationship with the concentration of GLA and ISL in the range of 0.1-160 μM and 0.5-150 μM , respectively. The detection limits were 0.052 μM and 0.27 μM (S/N=3), respectively. Due to the imprinting effect of MIP and the existence of reference signal, the sensor has good selectivity and anti-interference ability, and has been successfully applied to the quality evaluation of *Glycyrrhiza glabra L.*

(4) Based on the previous research, a novel sensor for quality monitoring of *Glycyrrhiza uralensis* was developed in order to achieve the simultaneous determination of electroactive and non-electroactive components on one electrode and further improve the sensitivity of the sensor. The sensor was based on a novel functional monomer, synergistic molecular imprinting technology and ratiometric sensing technology, which can be used for the simultaneous determination of three active components in *Glycyrrhiza uralensis*. The main active ingredient, glycyrrhizic acid (GA), along with the key flavonoids liquiritigenin (LG) and liquiritin (LQ) in *Glycyrrhiza uralensis*, have various pharmacological effects that are essential in clinical

applications. wherein LG and LQ can be oxidized directly on the electrode surface, while GA is non-electroactive. To realize the simultaneous and sensitive detection of three analytes on one sensor, a multi-template molecularly imprinted polymer (MIP) modified electrode with GA, LG, and LQ as templates was constructed. During the detection process, the peak current of $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ displayed obvious suppression due to the re-binding of MIP with the target. Meanwhile, two new peaks emerged, which were attributed to the oxidation of LG and LQ. However, in the sensors currently under development, MIPs are typically created using classical functional monomers, which may lead to lower affinity and reduced sensitivity due to a lack of sufficient binding groups. To address this, we conducted theoretical exploration using density functional theory (DFT) and computer simulations to identify the best functional monomer (dopamine), and its most effective modified structure. The modified functional monomer derived from dopamine has shown stronger binding capabilities compared to traditional functional monomers, significantly enhancing the sensitivity of MIP. Before that, in order to enhance the electrochemical sensing performance, N, P co-doped nanoporous carbon (N, P-CNS) was utilized as modified material. Compared with the single element doped carbon material in (3), N, P-CNS shows better electrocatalytic performance and lower electron transfer resistance. In addition, in order to reduce the interference of other factors, the ratiometric sensing strategy was developed by using UiO-66-NH₂ adsorbing methylene blue (MB) and coating it on GCE to form MB@UiO-66-NH₂/GCE. The detection range of the sensor for the sum of the concentrations of GA, LG and LQ was 0-150 μM , and the detection limit was 0.011 μM (S/N=3). The linear range for LG and LQ was 0-60 μM , and the detection limits were 0.027 μM and 0.021 μM (S/N=3), respectively. The electrochemical sensor has excellent selectivity, anti-interference ability and sensitivity, and has been successfully applied to the practical detection of GA, LG and LQ in *Glycyrrhiza uralensis*.

Key words: Carbon materials; Element doping; Electrochemical sensor; Licorice; Content monitoring

目录

摘要	I
Abstract	III
中英文对照表.....	X
第 1 章 绪论.....	1
1.1 课题背景.....	1
1.1.1 甘草的活性成分及检测的必要性.....	1
1.2 甘草活性成分的化学分析方法概况.....	1
1.2.1 色谱分析方法.....	2
1.2.2 光谱分析方法.....	2
1.3 电化学分析方法	3
1.3.1 伏安法	4
1.3.2 电位法	5
1.3.3 电化学阻抗法.....	5
1.3.4 提高电化学（生物）传感器性能的方法	6
1.4 纳米材料在电化学（生物）传感器的应用	6
1.4.1 金属纳米粒子.....	7
1.4.2 碳基纳米材料.....	8
1.4.3 纳米结构金属氧化物	12
1.4.4 导电聚合物.....	14
1.5 电化学传感器在甘草检测中的应用.....	17
1.6 课题的研究目的及主要内容	19
第 2 章 基于硫、磷共掺杂石墨烯构建电化学传感器用于新甘草苷的灵敏检测	22
2.1 引言.....	22
2.2 实验部分	23
2.2.1 试剂及仪器.....	23
2.2.2 S、P-GO/GCE 的制备.....	23
2.2.3 电化学测试及实际样品的制备.....	24
2.3 结果及讨论	24
2.3.1 碳纳米复合材料的表征及分析.....	24
2.3.2 电化学表征及分析	26

2.3.3 实验条件优化.....	28
2.3.4 NLQ 的定量分析.....	30
2.3.5 选择性、重现性、稳定性.....	30
2.3.6 真实样品分析.....	31
2.4 本章小结.....	32
第 3 章 基于氮、硫共掺杂甘草碳/功能化 MWCNTs 构建电化学传感器用于甘草查尔酮 A 和甘草苷的同时检测.....	33
3.1 引言.....	33
3.2 实验部分.....	34
3.2.1 试剂及仪器.....	34
3.2.2 N、S-LC 的制备.....	34
3.2.3 N、S-LC/f-MWCNTs/GCE 的制备.....	35
3.2.4 电化学测试及实际样品的制备.....	35
3.3 结果及讨论.....	36
3.3.1 碳纳米复合材料的表征及分析.....	36
3.3.2 电化学表征及分析.....	38
3.3.3 实验条件优化.....	42
3.3.4 LicA 和 LQ 的定量分析.....	43
3.3.5 选择性、重现性、稳定性.....	45
3.3.6 真实样品分析.....	47
3.4 本章小结.....	47
第 4 章 基于氮掺杂碳协同双模板分子印迹比例型电化学传感器对光甘草定和异甘草苷的灵敏检测.....	49
4.1 引言.....	49
4.2 实验部分.....	53
4.2.1 试剂及仪器.....	53
4.2.2 Fc/ZIF-8 的合成.....	53
4.2.3 NOC 的合成.....	53
4.2.4 MIP/Fc/ZIF-8/NOC@GCE 的制备.....	54
4.2.5 电化学测试及实际样品的制备.....	54
4.2.6 计算模拟研究.....	54
4.3 结果及讨论.....	55
4.3.1 碳纳米复合材料的表征及分析.....	55
4.3.2 MIPs 的计算模拟研究.....	58

4.3.3 电化学表征及分析	60
4.3.4 实验条件优化.....	66
4.3.5 GLA 和 ISL 的定量分析.....	68
4.3.6 MIP 传感器的性能研究	70
4.3.7 重现性、重复性和稳定性.....	72
4.3.8 真实样品分析.....	72
4.4 本章小结	73
第 5 章 基于新型功能单体协同氮、磷共掺杂纳米多孔碳的比率型分子印迹电化学传感器对甘草酸、甘草素以及甘草苷的同时检测.....	75
5.1 引言.....	75
5.2 实验部分	79
5.2.1 试剂及仪器.....	79
5.2.2 N、P-CNS 的合成.....	79
5.2.3 MB@UiO-66-NH ₂ 的合成	80
5.2.4 DA-1 的合成.....	80
5.2.5 MIP/MB@UiO-66-NH ₂ /N、P-CNS/GCE 的制备.....	81
5.2.6 电化学测试及实际样品的制备.....	81
5.2.7 计算模拟研究.....	82
5.3 结果及讨论	82
5.3.1 碳纳米复合材料的表征及分析.....	82
5.3.2 MIPs 的计算模拟研究.....	85
5.3.3 电化学表征及分析	88
5.3.4 实验条件优化.....	93
5.3.5 GA、LG 和 LQ 的定量分析.....	94
5.3.6 MIP 传感器的性能研究	97
5.3.7 重现性、重复性和稳定性.....	99
5.3.8 真实样品分析.....	99
5.4 本章小结	100
第 6 章 结论、创新点与展望	101
6.1 结论.....	101
6.2 创新点.....	102
6.3 展望.....	103
参考文献	104
致谢	121

作者简介	122
附录	123
石河子大学博士研究生学位论文	126

中英文对照表
(Abbreviation)

缩写	英文名称	中文名称
LSV	Linear sweep voltammetry	线性扫描伏安法
CV	Cyclic voltammetry	循环伏安法
DPV	Differential pulse voltammetry	差分脉冲伏安法
EIS	Electrochemical impedance spectroscopy	电化学阻抗谱
CS	Chitosan	壳聚糖
GCE	Glassy Carbon Electrode	玻碳电极
GO	Graphene oxide	氧化石墨烯
MWCNT	Multi-walled carbon nanotubes	多壁碳纳米管
SWCNT	Single-walled carbon nanotubes	单壁碳纳米管
PANI	Polyaniline	聚苯胺
PEDOT	Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)	聚(3,4-乙烯二氧噻吩)
PPY	Polypyrrole	聚吡咯
LG	Liquiritigenin	甘草素
LQ	Liquiritin	甘草苷
LicA	Licochalcone A	甘草查尔酮 A
NLQ	Neoliquiritin	新甘草苷
Fc	Ferrocene	二茂铁
MIP	Molecularly Imprinted Polymer	分子印迹膜
DFT	Density functional theory	密度泛函理论
GLA	glabridin	光甘草定
ISL	isoliquiritin	异甘草苷
GA	Glycyrrhizic Acid	甘草酸
MB	Methylene Blue	亚甲基蓝
MOFs	Metal-organic frameworks	金属有机框架
IF	Imprinting factor	印记因子

第 1 章 绪论

1.1 课题背景

甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), 是乌拉尔甘草、光果甘草和胀果甘草的干燥根或根茎, 甘草作为食品和药物的同源物质, 是著名的中草药^[1]。其具有很多优异的治疗作用, 包括抗脂肪变性、抗氧化应激、抗炎、免疫调节、抗纤维化和抗癌等^[2, 3]。因此在很多欧洲和欧亚国家 (包括中国、日本、英国和其他国家) 的药典中都包括了甘草的记载, 在世界各地广受关注^[4]。

1.1.1 甘草的活性成分

甘草拥有着悠久的历史, 同时也含有丰富的化学成分, 到目前为止, 通过化学和药学研究已经鉴定出约 200 余种化学成分, 其中三萜类和黄酮类化合物被认为是具有显著生物活性的成分^[5]。但由于甘草中成分含量丰富, 不同的地理来源、植物种类、以及不同的采收和加工方式等, 都可能会导致甘草中的有效成分含量存在差异, 从而影响其治疗效果^[6]。

1.1.2 定量甘草中活性成分的必要性

近年来, 药材市场上发现一些栽培甘草虽按《药典》质量标准, 甘草酸、甘草苷含量达标, 但总体较野生甘草偏低。并且由于甘草生长年限周期长, 加上野生甘草的产量日趋下降, 种植甘草往往需要等到成熟后方可检测其含量成分^[7]。而面对如此漫长的品质监控盲区, 技术人员也无能为力。风险大, 煎熬期长, 农户种植积极性不高, 又进一步制约了甘草改良品种的试种推广。此外, 由于甘草中化学成分的复杂性, 需要建立灵敏、准确、高分辨率的分析方法, 以实现甘草中主要化学成分的定性和定量分析。除了国家标准中的甘草酸以及甘草苷, 其余几种活性成分, 包括甘草素、甘草查尔酮 A、甘草酚以及异甘草黄酮醇等也具有优异的药理学活性, 但其含量往往较低, 更加需要灵敏的化学测定方法。

1.2 甘草活性成分的化学分析方法概况

迄今为止, 已开发出多种针对甘草活性成分的化学分析方法, 包括色谱分析方法 (高效液相色谱法、薄层色谱法, 高速逆流色谱法和液相色谱/质谱法) 以及光谱分析

方法（紫外、红外和近红外）等。

1.2.1 色谱分析方法

传统的色谱分析方法，包括高效液相色谱法、薄层色谱法、高速逆流色谱法和液相色谱/质谱法等，在中草药及其制剂的化学分析中表现出灵敏度高、应用范围广、分析速度快、载流速度快、能分析多种成分、易于自动化等优点。并且已广泛应用于甘草皂苷、黄酮类等化学成分的定性和定量分析，是甘草成分分析的主要方法。Kim 等人^[8]利用高效液相色谱-二极管阵列检测法同时检测甘草中的提取物，并对草药煎药中的 16 种标记化合物进行了定量，并取得了良好的结果。

为了更全面，客观地评价药物的质量，Cui 等人^[9]开发了微乳液薄层色谱对甘草的水提物进行指纹分析。优化了该方法的分离条件和操作过程，其色谱特性与常规薄层色谱法相比，微乳液薄层色谱系统更易于操作，并且具有更高的分辨率和更好的重现性，这项研究证实了微乳液薄层色谱技术作为一种快速指纹识别工具的潜力，也可用于其他草药的鉴定和质量评估。

高速逆流色谱法的流动相和固定相都是液体，因此不可逆性吸附是不存在的，它具备多项优点，包括样品零损耗、零污染、效率高、速度快以及可以进行分离的剂量范围较大等。Han 等人^[10]基于斑马鱼模型和高速逆流色谱的快速制备性分离，采用生物测定指导的分离策略与生物活性筛选相结合，从甘草中识别新型血管生成抑制剂。他们的实验表明，斑马鱼生物测定结合高速逆流色谱法可能为生物活性天然产物的快速分离提供另一种途径。

考虑到甘草成分的复杂性和常规分析的便利性，许多研究者正在寻求在一次运行中同时定量多种化合物，包括黄酮类化合物。例如，Shen 等人^[11]通过使用超高效液相色谱结合三重四极杆电喷雾串联质谱仪和带有多比例设计的模糊化学识别技术，建立了一种新颖且普遍适用的草药-草药相互作用分析方法，这种新颖的方法已成功地应用于甘草之间的相互作用分析。

虽然上述方法取得了良好的准确度和灵敏度，但由于预处理技术繁琐、仪器价格和运行成本高等原因，增加了分析时间和成本。因此，无法满足即时且快速检测甘草活性成分的需求。

1.2.2 光谱分析方法

对甘草的光谱学方法通常包括紫外、红外和近红外等多种光谱分析方法。这些方法在没有色谱分离的情况下，分辨率通常是比较低的，主要用来测定甘草中总皂苷和黄酮的含量，或者是建立光谱指纹图谱以区别不同物种和不同地理位置的甘草。