

# 当归总黄酮提取方法比较及工艺条件优化

刘芳, 杨跃震, 杨王霖

(四川理工学院生物工程学院, 四川 自贡 643000)

**摘要:**对当归总黄酮进行提取,比较其提取方法,优化其最适提取方法的工艺条件。试验分别采用水煎煮法、乙醇回流法、超声波提取法对当归总黄酮进行提取,采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠法测定总黄酮含量,采用正交试验优化提取工艺条件。试验结果表明:乙醇回流法为当归总黄酮的最适提取方法,当提取温度 85 ℃、提取时间 2.0 h、料液比 1:30、乙醇浓度 80% 时,得当归总黄酮含量为 10.066 mg·g<sup>-1</sup>,比优化前提高了 59.52%。试验较为完整的对当归总黄酮的提取方法和提取条件进行了研究,可为开发和利用当归总黄酮提供理论依据。

**关键词:**当归;总黄酮;提取

**中图分类号:**R284.2

**文献标志码:**A

## 引言

当归(*Angelica sinensis*)的化学成分主要有多糖类、苯酞类、香豆素类、阿魏酸钠、黄酮类、挥发油类化合物及其他成分<sup>[1-2]</sup>。研究表明,从当归中分离到的黄酮类化合物具有抑制 NO 生成、抗氧化和抑菌杀菌等作用<sup>[3-5]</sup>。黄酮类化合物的提取方法众多,主要有溶剂提取法、微波提取法、超声波提取法、酶解法、超临界流体萃取法、双水相萃取分离法、半仿生提取法等<sup>[6-10]</sup>。日前已有研究者开始探索当归总黄酮提取工艺,如王芙蓉<sup>[4]</sup>、李谷才<sup>[5]</sup>等,但均采用醇提法。本研究分别采用水煎煮法、乙醇回流法、超声波提取法对当归总黄酮进行提取,比较其提取方法,优化其最适提取方法的工艺条件,旨在为进一步开发和利用当归总黄酮提供理论依据。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

#### 1.1.1 原料与试剂

当归粉:市售;其他试剂:均为分析纯。

#### 1.1.2 主要设备及仪器

DK-98-1 水浴锅:天津市泰斯特仪器有限公司;RE52CS/B-220 旋转蒸发仪:上海亚荣生化仪器厂;UP400S 手提式超声波细胞粉碎机:宁波新芝生物科技股份有限公司;WFJ7200 紫外可见风光光度计:上海无尼柯仪器有限公司;回流装置、圆底烧瓶、容量瓶、移液管、试管等:均为微生物实验室常规仪器。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 当归总黄酮提取液的制备

**水煎煮法:**称取 1 g 当归粉于圆底烧瓶,加入 25 mL 蒸馏水于其中,浸泡 20 min 后,保持沸腾回流 1 h,冷却后抽滤得滤液,滤渣再次加入 25 mL 蒸馏水浸泡 20 min 后沸腾回流 1 h,冷却抽滤,合并滤液。将滤液旋转蒸发浓缩至仅剩 5 mL,转入 100 mL 容量瓶中,用 60% 乙醇稀释定容至刻度,得提取液。

**乙醇回流法:**采用 75% 的乙醇,提取温度 70 ℃,其他方法和条件同水煎煮法。

**超声波提取法:**超声波功率 50 W,其他方法和条件同乙醇回流法<sup>[11]</sup>。

### 1.2.2 提取液中总黄酮含量的测定

采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠法测提取液中总黄酮含量,用芦丁标准品绘制标准曲线<sup>[5]</sup>,按标准曲线制备步骤操作,测定提取液的吸光度,根据吸光度在芦丁标准曲线上查找对应的芦丁浓度,计算出提取液总黄酮浓度。1 g 当归中所含总黄酮量计算公式为:

$$\text{总黄酮含量}(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}) = \frac{C \times 100}{m}$$

式中: $C$ —总黄酮浓度( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

100—提取液的总体积( $\text{mL}$ )

$m$ —提取所用原料质量( $\text{g}$ )

### 1.2.3 当归总黄酮最适提取方法的确定

比较水煎煮法、乙醇回流法、超声波提取法提取液中总黄酮含量,确定出当归总黄酮的最适提取方法。

### 1.2.4 最适提取方法工艺条件的优化

通过单因素试验和正交试验,对最适提取方法的工艺条件进行优化,确定出最佳工艺参数。

### 1.2.5 验证试验

考察最佳工艺的稳定性和合理性,在优化组合条件下进行3次平行试验,分别测定当归中总黄酮含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 测定波长的选择和标准曲线的绘制

在紫外分光光度计的波长范围内扫描,得在509 nm处吸光度最大,因此试验所用吸光度测定波长为509 nm。芦丁标准曲线如图1所示。

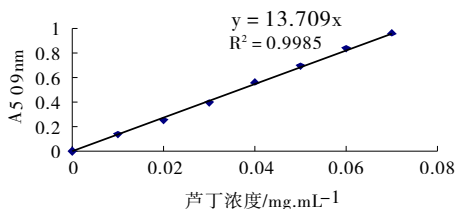


图1 芦丁标准曲线

### 2.2 最适提取方法的确定

分别测定三种提取方法提取液中当归总黄酮含量,每种方法平行三次,取平均值,测定结果见表1。

表1 三种提取方法当归总黄酮含量

提取方法	吸光度	总黄酮含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
水煎煮法	0.119	4.340
乙醇回流法	0.173	6.310
超声波提取法	0.096	3.501

由表1可知,提取方法不同,提取效果也不一样,采用乙醇回流提取当归中总黄酮,其总黄酮含量最高,故确定乙醇回流法为当归总黄酮的最适提取方法,并优化

其提取条件。

### 2.3 单因素试验

乙醇回流提取过程中,对提取效果影响较大的因素主要有乙醇浓度、料液比、提取温度和提取时间等。以乙醇浓度75%、料液比1:25、提取温度70℃、提取时间1h为初始提取条件。

#### 2.3.1 乙醇浓度对提取液中总黄酮含量的影响

分别测定乙醇浓度为70%、75%、80%、85%、90%、95%时当归总黄酮含量,其他因素为初始水平。测定结果如图2所示。

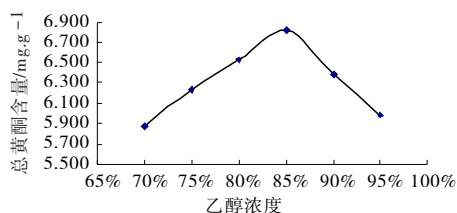


图2 乙醇浓度对总黄酮含量的影响

由图2可知,随着乙醇浓度的增加,当归总黄酮含量增加,乙醇浓度为85%时总黄酮含量达到峰值,但随着乙醇浓度的进一步增加,总黄酮含量反而降低,可能是由于不同浓度的乙醇所提取的黄酮种类和含量不同,也可能是高浓度的乙醇更利于当归中其他成分的提取,从而影响了吸光度的测定值。因此初步确定乙醇浓度为85%。

#### 2.3.2 料液比对提取液中总黄酮含量的的影响

分别测定料液比为1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45时当归总黄酮含量,乙醇浓度85%,提取温度和提取时间不变。测定结果如图3所示。

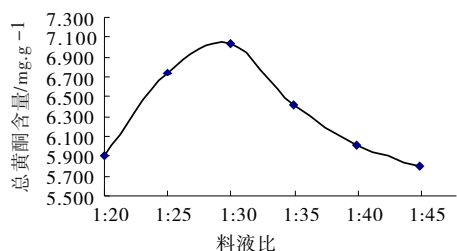


图3 料液比对总黄酮含量的影响

由图3可知,随着料液比的增加,当归总黄酮含量增加,料液比为1:30时总黄酮含量达到峰值,但随着料液比的进一步增加,总黄酮含量反而降低,这可能是料液比增加到1:30时,当归中总黄酮与溶剂乙醇之间已达到平衡,当料液比进一步增加反而使溶质中的其他物质溶解增加,而使相应的吸光度降低。因此初步确定料液比为1:30。

### 2.3.3 提取温度对提取液中总黄酮含量的影响

分别测定提取温度为 65 ℃、70 ℃、75 ℃、80 ℃、85 ℃、90 ℃时当归总黄酮含量,乙醇浓度 85%,料液比 1:30,提取时间不变,测定结果如图 4 所示。

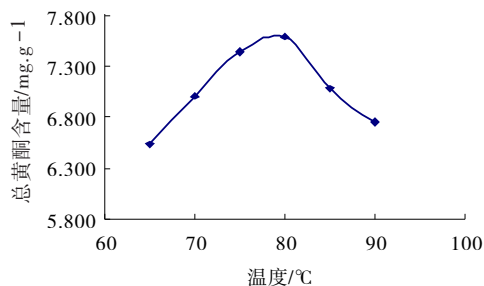


图4 提取温度对总黄酮含量的影响

由图 4 可知,随着提取温度的增加,当归总黄酮含量增加,提取温度为 80 ℃时总黄酮含量达到峰值,但随着提取温度的进一步升高,总黄酮含量反而降低,可能是由于温度过高导致总黄酮结构遭到破坏,也可能是高温更有利于当归中其他成分溶出,而影响了吸光度的测定结果。因此初步确定提取温度为 80 ℃。

### 2.3.4 提取时间对提取液中总黄酮含量的影响

分别测定提取时间为 0.5 h、1.0 h、1.5 h、2.0 h、2.5 h、3.0 h 时当归总黄酮含量,乙醇浓度 85%,料液比 1:30,提取温度 80 ℃。测定结果如图 5 所示。

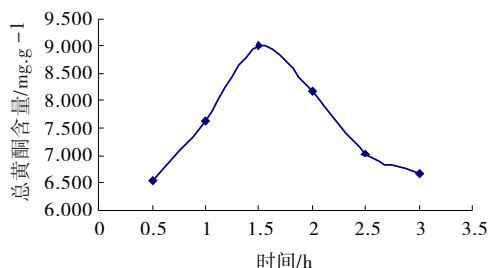


图5 提取时间对总黄酮含量的影响

由图 5 可知,随着提取时间的增加,当归总黄酮含量增加,提取时间为 1.5 h 时总黄酮含量达到峰值,但随着提取时间的进一步增加,总黄酮含量反而降低,可能是由于提取时间过长导致当归总黄酮被氧化,也可能是当归中其他成分被溶出,干扰了吸光度的测定。因此初步确定提取时间为 1.5 h。

### 2.4 正交试验

以提取温度、提取时间、料液比、乙醇浓度为 4 个因素,以单因素试验的最适值和左右值设置 3 个水平进行  $L_9(3^4)$  的正交试验,通过正交试验最终确定乙醇回流提取当归总黄酮的最佳工艺条件。 $L_9(3^4)$  因素水平见表 2,试验结果见表 3。

表2 正交试验因素和水平

水平	因素			
	A - 温度/℃	B - 时间/h	C - 料液比/g:mL	D - 乙醇浓度/%
1	75	1.0	1:25	80%
2	80	1.5	1:30	85%
3	85	2.0	1:35	90%

表3 正交试验结果

试验号	因素				总黄酮含量/mg·g <sup>-1</sup>
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	6.711
2	1	2	2	2	7.440
3	1	3	3	3	7.987
4	2	1	2	3	7.185
5	2	2	3	1	7.258
6	2	3	1	2	8.133
7	3	1	3	2	7.185
8	3	2	1	3	7.039
9	3	3	2	1	10.066
$k_1$	7.379	7.027	7.294	8.012	
$k_2$	7.525	7.246	8.230	7.586	
$k_3$	8.097	8.729	7.477	7.404	
R	0.718	1.702	0.936	0.608	

由表 3 的极差 R 可知,四因素对当归总黄酮含量的影响大小是  $B > C > A > D$ ,即提取时间影响最大,其次是料液比,再次是提取温度,而乙醇浓度对当归总黄酮含量的影响最小。从 k 值可以看出,乙醇回流提取当归总黄酮的最佳工艺条件为:  $A_3B_3C_2D_1$ ,即提取温度 85 ℃、提取时间 2.0 h、料液比 1:30、乙醇浓度 80%。

### 2.5 验证试验

在最佳工艺条件下采用乙醇回流法提取当归总黄酮,平行操作三次,求平均值,测定结果见表 4。

表4 最佳提取工艺条件下当归总黄酮的含量/mg·g<sup>-1</sup>

试验次数	总黄酮含量	平均含量
第1次	10.103	10.066
第2次	9.993	
第3次	10.103	

由表 4 可知,在最佳工艺条件下对当归总黄酮进行提取,得当归总黄酮平均含量为 10.066  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,与正交试验结果一致,比优化前提高 59.52%。三次验证试验说明此最佳工艺条件具有合理性和稳定性。

### 3 结束语

试验采用水煎煮法、乙醇回流法、超声波提取法对当归总黄酮进行提取,得乙醇回流法为当归总黄酮的最适提取方法,其最佳工艺条件为:提取温度 85 ℃、提取时间 2.0 h、料液比 1:30、乙醇浓度 80%。在最佳工艺条件下提取当归总黄酮,得当归总黄酮含量为 10.066  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,

比优化前提高 59.52%, 比文献[4]提高 6.39%。验证试验表明此最佳工艺条件具有合理性和稳定性。试验较为完整的对当归总黄酮的提取方法和提取条件进行了研究, 可为开发和利用当归总黄酮提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 宋萍萍, 孙明毅, 徐增莱. 三种当归属植物的化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(6): 833-835.
- [2] 马瑞君, 王钦, 陈学林, 等. 当归的研究进展[J]. 中草药, 2002, 33(3): 280-282.
- [3] 田景祥. 当归的有效成分及其药理作用的研究进展[J]. 工企医刊, 2013, 26(4): 364-365.
- [4] 王芙蓉, 吴冬青, 安红钢. 当归总黄酮提取工艺及体外抗氧化性研究[J]. 中兽医医药杂志, 2010(5): 11-15.
- [5] 李谷才, 魏文亭, 高堂杰, 等. 当归总黄酮提取及其体外抑菌活性研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(22): 310-

311.

- [6] 李凤林, 李青旺, 冯彩宁, 等. 天然黄酮类化合物提取方法研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2008(5): 60-64.
- [7] 冯涛. 竹叶总黄酮提取及纯化工艺的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2003.
- [8] 陈丛瑾, 黄克瀛, 李德良, 等. 植物中黄酮类化合物的提取方法研究概况[J]. 生物质化学工程, 2007, 41(3): 42-44.
- [9] 刘羽中, 杨洋. 生物类黄酮提取研究进展[J]. 中外食品, 2004(10): 48-49.
- [10] 朱英, 裘德胜, 陈民, 等. 金银花叶总黄酮的水提取工艺研究[J]. 中成药, 2007(1): 60-63.
- [11] 植物材料中总黄酮分离提取. 百度文库[EB/OL]. (2010-12-23) <http://wenku.baidu.com/view/3e04f980e53a580216fcfe1e.html>.

## A Comparison of the Extraction Methods of Total Flavonoids From *Angelica Sinensis* and the Optimization of Processing Conditions

LIU Fang, YANG Yuehuan, YANG Wanglin

(School of Bioengineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

**Abstract:** The total flavonoids is extracted from *Angelica sinensis*, the extraction methods are compared, and the processing conditions of the optimum extraction method are optimized. Tests are carried out by using boiling water extraction method, ethanol refluxing method and ultrasonic extraction method to extract total flavonoids from *Angelica sinensis*, and the concentration of total flavonoids is determined by sodium nitrite-aluminum nitrate and sodium hydroxide method, then the processing conditions of extraction are optimized by orthogonal test. The test results show that the ethanol refluxing method can get the highest total flavonoids content from *Angelica sinensis* when extraction temperature is 85 °C, extraction time is 2.0 h, ratio of solid to liquid is 1:30, alcohol concentration is 80% and the content of total flavonoids extracted from *Angelica sinensis* at this time is 10.066 mg·mL<sup>-1</sup>, which is 59.52% higher than that before optimization. The tests are studied relatively well on extraction method and extraction conditions of total flavonoids of *Angelica sinensis*, which can provide a theoretical basis for the development and utilization of the total flavonoids of *Angelica sinensis*.

**Key words:** *Angelica sinensis*; total flavonoids; extraction