

# 正交试验法优选艾叶总黄酮提取工艺研究

龚珍林<sup>1</sup>, 闫克玉<sup>2</sup>, 贾玉红<sup>2</sup>

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

(2. 郑州轻工业学院食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 本文为测定艾叶中总黄酮的含量采用, 设计正交设计优选艾叶中总黄酮的提取条件, 用芦丁作对照品, 硝酸铝作显色剂, 测定波长在 510 nm 处, 比色法测定艾叶总黄酮的吸光度。实验结果获得优选提取条件是: 用 70 mL 60% 的乙醇浸泡 1.000 g 左右的艾叶粉末 24 h, 在超声波功率为 200 W 的条件下, 辅助萃取 40 min。结论: 艾叶中含有丰富的黄酮类化合物, 具有很强的抗氧化活性, 认为艾叶有很强的开发应用价值。

**关键词:** 艾叶; 总黄酮; 超声波

中图分类号: TQ028; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)09-0062-04

## Research on Ultrasonic Wave Extraction of Total Flavones from *Folium Artemisiae Argyi*

GONG Zhen-lin<sup>1</sup>, YAN Ke-yu<sup>2</sup>, JIA Yu-hong<sup>2</sup>

(1. School of Food Science and Bioengineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

(2. School of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract: Object:** To investigating the optimum extracting conditions of the total flavones in *Folium artemisiae argyi*. **Methods:** The extracting conditions of the total flavones in folium artemisiae argyi by ultrasonic waves were optimized by the single-factor and orthogonal experiments. Using rutin as control reagent and aluminium nitrate as colorimetric reagent, the absorbency of total flavones was determined with colorimetric wavelength at 510 nm. **Results:** The best dipping time in 60% alcohol, ultrasonic wave power and extraction time were 24 h, 200 W and 40 min, respectively. **Conclusions:** The flavonoid compounds were in abundance in *Folium Artemisiae Argyi* and had strong anti-oxidant activity. The results also indicated a promising prospect for development of *Folium Artemisiae Argyi*.

**Key words:** *Folium Artemisiae Argyi*; total flavones; ultrasonic waves

黄酮类是广泛存在于植物中的一大类化合物, 在植物中大多与糖结合成黄酮甙类, 或以游离状态存在, 在食品和医药工业上有着广泛的应用<sup>[1]</sup>。艾叶, 别名萎蒿, 为菊科植物艾的叶<sup>[2]</sup>, 是一种分布广泛的多年生草本植物。艾叶中含有丰富的黄酮类化合物, 其生物活性有抗菌、抗溃疡、抗过敏、抗菌、抗炎、抗氧化、抗衰老、降血脂等<sup>[3]</sup>。因此, 对艾叶中黄酮类化合物的研究具有十分重要的现实意义。超声波法是利用了超声波的空化作用, 加速植物有效成分的提取, 与传统方法相比, 具有提取时间短, 效率高, 无需加热等优点, 且超声波萃取不会破坏芦丁的成分结构<sup>[4]</sup>。为有效开发和利用药材资源, 充分提取艾叶总黄酮类化合物, 本文采用超声波法萃取艾叶中黄酮类化合物,

收稿日期: 2007-06-01

作者简介: 龚珍林 (1974 -), 男, 工程师, 在读硕士研究生, 主要从事烟草产品开发和卷烟工艺学研究。

在单因素试验的基础上, 采用正交试验方法对超声波萃取艾叶总黄酮工艺进行研究。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器、试剂与原料

SP-2100 型可见分光光度计 (上海光谱仪器有限公司)、JY-96-II 超声波细胞粉碎机 (宁波新芝生物科技股份有限公司)、SHB-III 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); 芦丁 (Rutin, 生化试剂, 上海药品检验所); 亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇均为分析醇; 艾叶购于河南省医药药材有限公司, 产地河南, 将干燥的艾叶用粉碎机粉碎过 40 目筛, 放入磨口瓶中备用。

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 芦丁标准溶液的制备

准确称取 10 mg 芦丁标准品, 用 95% 乙醇定容至

25 mL, 摇匀。精密吸取 2.5 mL, 再次以 95%乙醇定容于 5 mL, 摇匀, 即得芦丁标准溶液, 浓度为 0.2 mg/mL。

### 1.2.2 芦丁标准曲线的绘制<sup>[5]</sup>

精密量取 0.0 mL, 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL 芦丁标准溶液, 加入 30%的乙醇补至 2.5 mL, 加入 140  $\mu$ L 5%亚硝酸钠, 放置 5 min, 再加入 140  $\mu$ L 10%硝酸铝, 放置 6 min 后, 加入 1 mL 氢氧化钠混匀, 用 30%乙醇定容至 5 mL, 10 min 后于 510 nm 处比色测定吸光度, 以浓度 (X) 为横坐标, 吸光值 (Y) 为纵坐标, 得标准曲线方程:  $Y=10.992X+0.0001$ ,  $R^2=0.9988$ , 浓度与吸光值有良好的线性关系。

### 1.2.3 样品溶液的制备

称取 1.000 g 左右艾叶粉末, 用一定浓度的乙醇浸泡 24 h。作为待测液。在超声波功率为 200 W 的条件下, 所有的样品溶液均将探头插入液面以下 10 mm, 并将样品置于冰水浴中。处理后减压抽滤, 用相应浓度的乙醇定容于 100 mL 容量瓶中, 作为待测液。

### 1.2.4 待测样品测定

吸取 0.1 mL, 按照 1.2.2 法测定吸光度, 代入方程, 求出浓度, 计算总黄酮得率。总黄酮得率=(待测液中总黄酮的质量/艾叶质量) $\times$ 100%。

## 2 结果与分析

在材料粉碎度一定的情况下, 所用的溶剂、溶剂的浓度、超声时间和溶剂用量等都对艾叶总黄酮得率有影响。用水浸提, 提取物杂质多产物不易保藏, 后处理比较麻烦, 而甲醇、乙醇和丙酮作为提取剂, 总黄酮得率较高, 但甲醇和丙酮有毒, 考虑到安全性, 选择乙醇作为提取剂, 考察乙醇浓度、超声时间和乙醇体积对总黄酮得率的影响, 为正交试验选择最佳的试验范围。

### 2.1 单因素对总黄酮得率的影响

#### 2.1.1 乙醇浓度对总黄酮得率的影响

在 1.000 g 样品中, 分别加入 40 mL 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%乙醇, 浸泡 24 h, 在超声波功率 200 W 的条件下, 萃取 15 min, 抽滤, 定容, 测定吸光度值, 计算总黄酮得率, 得总黄酮得率与乙醇浓度的关系 (图 1)。

从图 1 可知, 随着乙醇浓度的增加, 总黄酮得率增加, 当乙醇浓度达到 60%时, 黄酮类化合物溶解度最大, 总黄酮得率最高; 乙醇浓度再增加, 黄酮类化合物溶解度降低, 这是由于一些醇溶性的杂质, 叶绿素的溶出量增加, 这些成分与黄酮类化合物竞争同乙

醇-水分子的结合, 从而导致黄酮类化合物的减少。当乙醇浓度为 40%~80%时, 总黄酮得率较高。

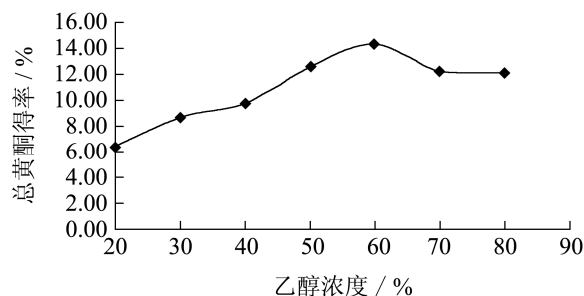


图 1 乙醇浓度对总黄酮得率的影响

#### 2.1.2 超声时间对总黄酮得率的影响

在 1.000 g 样品中, 加入 40 mL 60%乙醇溶液, 浸泡 24 h, 在超声波功率为 200 W 的条件下, 分别用超声波辅助萃取 15 min、30 min、45 min、60 min, 抽滤, 定容, 测其吸光度值, 计算总黄酮得率, 得总黄酮得率与超声时间的关系 (图 2)。

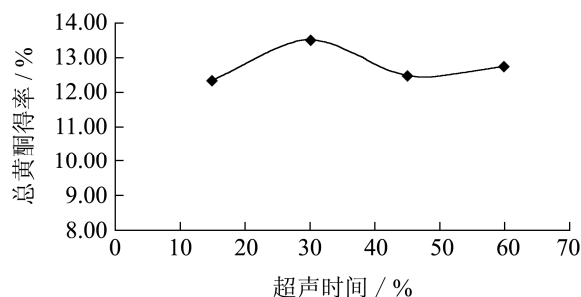


图 2 超声时间对总黄酮得率的影响

从图 2 可以看出, 随着超声时间延长, 总黄酮得率增加, 当超声时间为 30 min 时, 总黄酮得率达到最大, 超声时间再延长, 总黄酮得率降低。这是由于超声连续作用时间较长时, 超声的空化作用、机械振动作用等导致植物细胞破裂越来越完全, 总黄酮得率随之提高, 但是随着时间的延长, 细胞内非有效成分进入提取液, 不但影响有效成分的溶出, 也降低总黄酮得率。因此超声时间在 20~40 min 为宜。

#### 2.1.3 乙醇体积对总黄酮得率的影响

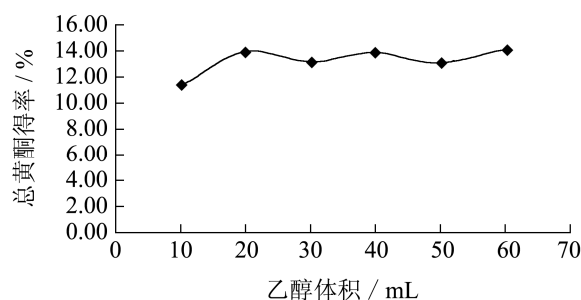


图 3 乙醇体积对总黄酮得率的影响

在 1.000 g 样品中, 分别加入 60% 的乙醇溶液 20 mL、30 mL、40 mL、50 mL、60 mL、70 mL, 浸泡 24 h, 在超声波功率为 200 W 的条件下, 用超声波萃取 15 min, 抽滤, 定容, 测其吸光度值, 得总黄酮得率与乙醇体积的关系 (图 3)。

从图 3 可以看出, 随着乙醇体积增大, 总黄酮得率增加, 乙醇体积再增加, 总黄酮得率在 13.50% 左右浮动。当乙醇体积为 30~70 mL 时, 总黄酮得率较高。

表 1 正交试验及其结果分析

编号	A	B	C	D	样品质量/g	吸光度值	总黄酮得率/%
	乙醇浓度/%	超声时间/min	溶剂体积/mL	空列			
1	40%(1)	20(1)	30(1)	(1)	1.007	0.262	11.84
2	40%(1)	30(2)	50(2)	(2)	1.003	0.272	12.32
3	40%(1)	40(3)	70(3)	(3)	1.004	0.274	12.39
4	60%(2)	20(1)	50(2)	(3)	1.005	0.283	12.80
5	60%(2)	30(2)	70(3)	(1)	1.004	0.291	13.17
6	60%(2)	40(3)	30(1)	(2)	1.004	0.281	12.73
7	80%(3)	20(1)	70(3)	(2)	1.004	0.251	11.37
8	80%(3)	30(2)	30(1)	(3)	1.006	0.244	11.05
9	80%(3)	40(3)	50(2)	(1)	1.003	0.256	11.62
K <sub>1</sub>	36.54	36.00	35.61	36.63			
K <sub>2</sub>	38.70	36.54	36.74	36.41			
K <sub>3</sub>	34.04	36.74	36.93	36.24			
k <sub>1</sub>	12.18	12.00	11.87	12.21			
k <sub>2</sub>	12.90	12.18	12.25	12.14			
k <sub>3</sub>	11.35	12.25	12.31	12.08			
R <sub>3</sub>	1.55	0.25	0.44	0.13			

从表 1 中可以看出, 通过极差分析, 乙醇浓度对总黄酮得率影响最大, 超声时间影响最小, 影响总黄酮得率的主次顺序为 A>C>B, 即乙醇浓度>超声时间>乙醇体积。超声波萃取艾叶中总黄酮最佳提取条件是 A<sub>2</sub>C<sub>3</sub>B<sub>3</sub>, 即在 1.000 g 样品中, 用 70 mL 60% 的乙醇浸泡 24 h 后, 超声 40 min, 总黄酮得率最高。

表 2 显著性分析

方差来源	偏差平方	自由度	方差	F 值
A	3.62	2	1.811	135.717
B	0.10	2	0.049	3.645
C	0.34	2	0.170	12.711
D	0.03	2	0.013	-
总和	4.09	8	-	-

从表 2 中可以看出, 通过方差分析, 乙醇浓度(A)对艾叶总黄酮得率的影响达到了极显著水平, 乙醇体积(C)对艾叶总黄酮得率影响次之, 超声时间(B)

## 2.2 正交试验设计确定最佳提取工艺

通过以上单因素分析, 总黄酮得率受以上三个因素的交叉影响, 为了全面考察这三个因素的综合影响, 设计了四因素三水平正交试验, 为了方便进行方差分析, 增加了空白列。正交试验及其结果分析见表 1, 为了确定显著性因子, 对表 1 进行了方差分析和显著性检验, 结果见表 2。

对艾叶总黄酮得率有一定的影响。显著性检验结果表明, 三种因素对总黄酮得率的影响主次顺序为 A>C>B, 即乙醇浓度>超声时间>乙醇体积, 与极差分析一致。

由于最佳提取条件在正交试验中未出现过, 所以需要进行验证实验, 在该最佳实验条件下, 重复三次萃取实验, 得到艾叶平均总黄酮得率为 13.42%。

## 3 结论

3.1 通过单因素和正交试验, 确定超声波萃取艾叶总黄酮最佳工艺为: 将过 40 目筛子的艾叶粉末, 用 70 mL 60% 的乙醇浸泡 24 h 后, 在 200 W 超声功率下萃取 40 min。

3.2 在影响艾叶总黄酮得率的 3 个因素中, 乙醇浓度影响最大, 为最显著因子, 其次为乙醇体积, 超声时间影响最小。

(下转第 70 页)