

不同提取方法对当归饮片中阿魏酸含量测定的影响

郑立龙¹, 杨仁婧²

(1. 甘肃省农业科学院农业经济与信息研究所, 甘肃 兰州 730070;

2. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 通过测定不同提取方法下当归饮片中阿魏酸的含量来确定其最佳提取方法。采用浸渍法、回流提取法、超声法、水提法4种常规提取方法制备样品, 选用高效液相色谱法(HPLC)测定不同提取方法制成当归提取样品中的阿魏酸含量, 并以当归中阿魏酸的提取率为评价指标, 对4种方法的提取效果进行比较。结果表明, 使用浸渍法在室温70%乙醇溶剂中浸渍7d提取当归饮片中阿魏酸的提取率最高, 为0.081%, 可在实验中优先考虑。

关键词: 当归; 阿魏酸; 提取工艺; 含量测定; HPLC

中图分类号: S567.239

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2024)12-1153-04

doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2024.12.014

Effects of Different Extraction Methods on the Determination of Ferulic Acid Content in *Angelicae Sinensis* Pieces

ZHENG Lilong¹, YANG Renjing²

(1. Institute of Agricultural Economics and Information, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China;

2. Agronomy College, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: By measuring the content of ferulic acid using different extraction methods for *Angelica sinensis* pieces, the optimum extraction method was identified. Four conventional extraction methods were used to make samples in this experiment, including impregnation method, reflux extraction method, ultrasonic method and water extraction method, contents of ferulic acid in *Angelica sinensis* pieces prepared by different extraction methods were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) method. The extraction rate of ferulic acid from *Angelica sinensis* was used as evaluation index, the extraction effects of the four methods were compared. The results showed that the extraction rate of ferulic acid from *Angelica sinensis* pieces was the highest (0.081%) by immersion method in 70% ethanol solvent at room temperature for 7 days, which could be given priority in the experiment.

Key words: *Angelicae sinensis*; Ferulic acid; Extracting technology; Determination of content; HPLC

当归是伞形科当归属植物当归[*Angelica sinensis* (Oliv.)Diels]的干燥根^[1-4], 主要分布于甘肃、云南、四川、湖北、陕西、宁夏、青海、贵州、山西等地^[5]。当归能补血活血, 调经止痛, 润肠通便, 具有“妇科调经之要药”“血中之圣药”的美誉。产于甘肃岷县的当归为道地药材, 又称“岷归”, 其质量上乘, 疗效最佳^[6-9]。

阿魏酸是当归含有的非挥发性成分, 是当归所含有机酸的一种, 也是当归质量检测的重要指标之一^[10]。阿魏酸的提取方法主要有有机溶剂提

取法、超声提取法、超临界CO₂萃取法等^[11-13]。近年来, 关于当归传统提取工艺的研究成果相继报道^[14-16]。金汝城等^[17]对传统的提取方法加以改进, 使用超声提取法提取阿魏酸, 并对工艺进行了优化, 其研究表明超声法是一种较为理想的提取工艺。陈象青等^[18]采用正交试验法, 运用水提法, 优选当归提取工艺, 得到了水提效率最高的方法。王萍等^[19]采用单因素试验设计与正交试验设计, 以阿魏酸为测定指标, 优选出了阿魏酸回流提取的最佳工艺。我们采用浸渍提取法、回

收稿日期: 2024-09-10

作者简介: 郑立龙(1972—), 男, 山西万荣人, 副研究员, 主要从事农业科技信息及作物抗旱及生理生化研究工作。
Email: 369973058@qq.com。

流提取法、超声提取法、水提法等 4 种方法, 选用高效液相法测定不同提取方法所得当归提取样品中阿魏酸的含量及提取率, 对不同方法的提取效果进行比较研究, 以期为今后当归饮片中阿魏酸的提取工艺提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津)、HX-203T 电子天平(浙江省慈溪市天东衡器厂)、超声波清洗机(东莞市科桥超声波设备有限公司)。

1.2 供试材料

当归饮片(批号: 20230803, 购自兰州安泰堂中药饮片有限公司)、阿魏酸对照品(批号 1135-24-6, 购自宝鸡市辰光生物科技有限公司)。无水乙醇、甲醇均为市售分析纯。

1.3 试验方法

1.3.1 当归提取样品的制备 浸渍提取法: 分别称取 3 份当归饮片, 每份 10.0 g, 置于带塞锥形瓶中, 准确加入 10 倍量 70%乙醇, 摇匀后静置, 室温避光放置, 分别浸渍 7、15、30 d, 收集浸渍液并过滤。精密吸取各滤液 1 mL 3 份, 用甲醇定容至 5 mL, 保存待测。回流提取法: 称取当归饮片 50.0 g, 加入 5 倍量 70%乙醇, 第 1 次回流 1.5 h, 第 2 次回流 1.5 h, 合并提取液并过滤。精密吸取滤液 1 mL 3 份, 甲醇定容至 5 mL, 保存待测。超声提取法: 取当归饮片制成粗粉, 称取 20.0 g, 加入 6 倍量 70%乙醇, 在 60 °C 下超声 0.5 h, 频率为 40 KHz, 收集提取液^[19]; 第 2 次超声加 4 倍量 70%乙醇, 60 °C 下超声 0.5 h, 频率为 40 KHz, 收集提取液。合并两次超声提取滤液后过滤, 精密吸取滤液 1 mL 3 份, 甲醇定容至 5 mL, 保存待测。水提法: 称取当归饮片 30.0 g, 加入 6 倍量的蒸馏水, 回流水提 1.5 h, 收集提取液。滤渣继续加 6 倍量的蒸馏水, 水提 1.5 h, 收集提取液。第 3 次回流时加 4 倍量的水, 水提 1.0 h, 合并提取液, 抽滤, 滤液水浴加热浓缩至相对密度约 1.1 g/cm³, 加入无水乙醇使其含醇量达 60%, 静置 24h 后过滤, 滤液于蒸发皿中水浴蒸干后得到提取物粉末。精密称取 0.1g 提取物粉末 3 份, 加入甲醇并定容于 10 mL 容量瓶, 保存待测。

1.3.2 对照品溶液的制备及 HPLC 前处理 称取阿

魏酸对照品 1.0 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解后, 稀释至 50 mL 备用, 制备阿魏酸标准品色谱图。分别精密吸取 5 个浓度水平(621.089、307.255、133.847、57.747、10.322 μg/mL)的阿魏酸对照品溶液各 20 μL, 在 HPLC 色谱条件下进样: 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶, 流动相为乙腈-0.085%磷酸溶液(17:83), 检测波长为 316 nm, 柱温为 35 °C, 理论板数按阿魏酸峰面积计算应不低于 5 000, 流速 1 mL/min。得到阿魏酸标准品的色谱图。并以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算得到阿魏酸标准曲线。

1.3.3 阿魏酸的含量测定 将 4 种待测样品溶液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 分别各精密吸取 20 μL, 注入色谱仪后根据标准曲线计算阿魏酸含量。各提取法均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 阿魏酸标准品色谱图及标准曲线

分别精密吸取 5 个浓度水平(621.089、307.255、133.847、57.747、10.322 μg/mL)的阿魏酸对照品溶液各 20 μL, 在 HPLC 色谱条件下进样, 得到阿魏酸标准品的色谱图(图 1)。并以浓度为横坐标, 峰面积(AU)为纵坐标, 得到阿魏酸标准曲线(图 2)。

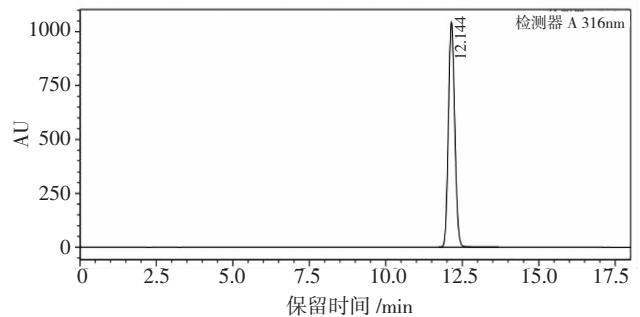


图 1 阿魏酸标准品色谱图

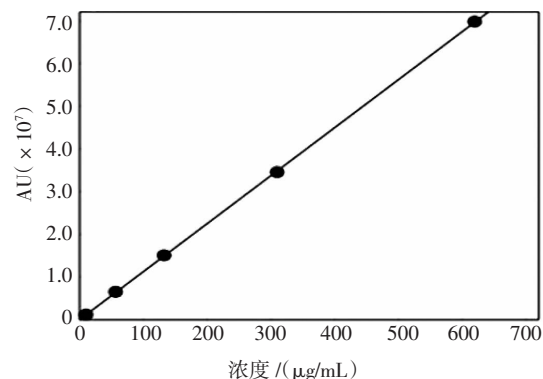


图 2 阿魏酸标准曲线

以色谱峰面积对阿魏酸含量进行回归分析, 结果表明, 阿魏酸在 0.200 ~ 12.400 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内与色谱峰面积线性关系表现良好, 回归方程为 $y=112\ 295x+30\ 165.3$ ($R=0.999\ 9$)。

2.2 阿魏酸含量测定结果

试验发现, 浸渍提取法所得当归提取液为浅黄色, 浸渍时间不同的提取液颜色无明显差异; 超声提取法所得当归提取液颜色也呈浅黄色, 但较浸渍提取液颜色暗; 回流提取法所得当归提取液为黄棕色。各提取方法所得当归提取液在静置的过程中不同程度地出现了沉淀, 其中以回流提取法所得当归提取液的沉淀最多, 为浅黄色; 其余提取方法出现的沉淀较少, 且均为奶白色。根据阿魏酸标准曲线和样品的 HPLC 色谱图, 计算各测定样品的阿魏酸的含量及提取率, 结果表明 (表 1), 阿魏酸的含量以回流提取法最高, 为 24.151 $\mu\text{g/mL}$; 水提法次之, 为 21.276 $\mu\text{g/mL}$; 超声提取法最低, 为 12.491 $\mu\text{g/mL}$ 。而折合药材中阿魏酸的提取率以浸渍提取法浸渍 7 d 最高, 为 0.081%; 回流提取法次之, 为 0.079%; 水提法最低, 为 0.009%。由此可见, 以浸渍提取法浸渍 7 d 当归中阿魏酸的提取率最高, 回流提取法和浸渍提取法浸渍 15、30 d 条件下对当归中阿魏酸的提取率较高; 超声提取法的提取率较低, 水提法的最低。浸渍提取法中, 随浸渍时间延长阿魏酸的提取率呈递减趋势。

表 1 不同提取方法的当归阿魏酸含量

提取方法	峰面积	供试样品中阿魏酸含量 / ($\mu\text{g/mL}$)	折合药材中阿魏酸的提取率 / %
浸提法(7 d)	2 171 178	19.066	0.081
浸提法-14 d	1 995 416	17.501	0.074
浸提法-30 d	1 901 771	16.666	0.071
回流法	2 742 195	24.151	0.079
超声法	1 432 833	12.491	0.049
水提法	2 419 432	21.276	0.009

3 讨论与结论

在本研究中, 浸渍提取法、超声提取法、回流提取法、水提法的当归提取液在静置的过程中不同程度地出现了沉淀, 其中以回流提取法所得当归提取液的沉淀最多, 为浅黄色, 其余提取方法所得当归提取液均为奶白色沉淀。究其原因,

可能是当归样品存放于室温条件下, 未进行冷藏, 排除由于低温影响当归某些成分的溶解度而出现沉淀; 使用滤纸过滤较为精密, 排除有沉淀物未过滤干净进入提取液中; 另外, 提取剂均为 70% 乙醇, 有一定的防腐作用, 排除样品在存放过程中出现腐败现象产生沉淀物。目前该沉淀产生的原因及具体情况有待进一步探索。在水提法中, 在提取液中加入乙醇后分离了当归多糖, 剩余提取液蒸干后得到黄白色粉末。

用浸渍提取法(室温、70%乙醇提取)浸渍 7、15、30 d, 当归饮片中阿魏酸的提取率呈依次递减趋势, 可能是由于饮片中的阿魏酸在溶剂中被提取, 达到一定溶解度后便不会再继续溶出。另外, 阿魏酸见光易分解, 静置提取的时间越长, 阿魏酸分解的越多, 导致提取率下降。在本试验中, 浸渍提取法和回流提取法所提取的样品中阿魏酸的含量均超过了《中华人民共和国药典》(2020版)规定的最低标准, 为合格品。超声提取法所得当归饮片中阿魏酸的含量稍低于《中华人民共和国药典》(2020版)规定, 可能有以下几点原因, 一是试验中操作不严谨, 有部分提取液外漏, 导致阿魏酸的含量有所偏差; 二是超声时间过短, 没有完全将当归中的阿魏酸提取出来; 三是超声提取的功率固定, 不能调整设置^[19-21]。水提法所得当归饮片中阿魏酸的含量也低于《中华人民共和国药典》(2020版)规定, 分析原因如下, 一是由于阿魏酸见光易分解, 应该用棕色瓶避光保存, 待测样品未能及时测定、存放时间过长; 二是提取过程中操作不严谨; 三是阿魏酸在水中的溶解度较小^[22-25]。

综上所述, 在选择当归饮片中阿魏酸的传统提取工艺时, 可优先考虑浸渍提取法(室温、70%乙醇提取)浸渍 7 d 的提取工艺, 该方法操作简单, 成本低廉, 且阿魏酸的提取率也较高, 为 0.081%。综合考虑认为浸渍提取法(室温、70%乙醇提取)浸渍 7 d 为当归饮片提取阿魏酸的最佳工艺。

参考文献:

- [1] 柳利龙, 张爱琴, 张环, 等. 当归根际土壤中木霉菌的分离鉴定及拮抗作用[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(8): 774-778.
- [2] 李爱堂, 杨希文, 张金霞, 等. 覆膜方式和移栽密度

- 对当归生长及产量的影响[J]. 寒旱农业科学, 2023, 2(7): 645-648.
- [3] 李丽, 王富胜, 杨荣洲, 等. 品种及种苗规格对当归成药期质量和经济效益的影响[J]. 寒旱农业科学, 2023, 2(3): 239-245.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [5] 张宏意, 罗连, 余意, 等. 当归种质资源调查研究[J]. 中药材, 2009, 32(3): 335-337.
- [6] 顾志荣, 王亚丽, 孙宇靖, 等. 当归中5种成分同时测定与产地质量评价[J]. 中成药, 2014, 36(10): 2135-2140.
- [7] 卫亚洁, 王佳宇, 王安冬, 等. 当归的道地性评价研究现状[J]. 中医药导报, 2017, 23(5): 96-98.
- [8] 李曦, 张丽宏, 王晓晓, 等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [9] 薛文新, 华永丽, 郭延生, 等. 当归不同药用部位化学成分变化规律研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2012, 47(1): 149-154.
- [10] 曹颜冬. 当归化学成分及药理作用的分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(2): 93-95.
- [11] 岳宏坤, 贾会珍, 王俊. 基于超临界CO₂萃取技术的当归中挥发油提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2010(14): 7318-7320.
- [12] 田苏阳. 当归多糖的提取、化学修饰、抗氧化活性及其结构的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2016.
- [13] 赵雪娇, 王海峰, 赵丹奇, 等. 当归化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(3): 182-185; 221.
- [14] 欧阳广娜. 当归药效成分提取研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(8): 569-570.
- [15] 黄保驾. 不同提取工艺对当归中阿魏酸含量的影响[J]. 临床研究, 2013(12): 54-55.
- [16] 张建强. 药食同源—岷县当归产业发展的新突破点[J]. 甘肃高师学报, 2019(2): 125-127.
- [17] 金汝城, 李贵文, 马素丽, 等. 当归中阿魏酸提取工艺的优化研究[J]. 中成药, 2008(4): 516-519.
- [18] 陈象青, 刘圣, 方焱, 等. 多指标正交试验优选当归提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 25-28.
- [19] 王萍, 赵生俊, 张红, 等. 当归中阿魏酸提取工艺的研究[J]. 新疆中医药, 2006, 24(3): 49-51.
- [20] 周伶俐, 董永成, 申德堰, 等. 两种不同制备方法对斑秃搽剂质量的影响[J]. 湖北医药学院学报, 2015, 34(2): 170-172.
- [21] 易延遼, 陈志良. 当归提取成分种类与提取工艺相关性的探究[J]. 山西医科大学学报, 2010, 41(4): 335-338.
- [22] 韩瑞亭, 宋新丽. 超声法水提当归中阿魏酸的工艺研究[J]. 黑龙江医药, 2006, 19(1): 14-15.
- [23] 蒋伟, 王长虹, 王峰涛. 当归提取物的制备工艺及其质量控制[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1): 87-89.
- [24] 李建英, 丛利利. 当归的提取工艺研究[J]. 黑龙江科技信息, 2012(6): 9.
- [25] 秦晓宇, 李丹. 多指标正交试验优选当归提取工艺[J]. 黑龙江科技信息, 2014(32): 61.