

白芷地上部分总香豆素的提取及其体外抗氧化活性考察

叶 敏, 陈林鑫, 杨华贵, 陈正勇, 彭 洋

贵州工程应用技术学院化学工程学院, 贵州 毕节

收稿日期: 2025年6月13日; 录用日期: 2025年7月26日; 发布日期: 2025年8月7日

摘 要

通过单因素试验结合正交试验, 采用纤维素酶辅助提取白芷地上部分总香豆素, 实验结果表明, 总香豆素最佳提取工艺条件为纤维素酶浓度2.5 mg/mL、乙醇体积分数50%、提取温度55℃, 提取时间60 min, 此条件下的提取率为1.59%; 对总香豆素进行体外抗氧化试验, 结果显示, 白芷地上部分总香豆素浓度1.2 mg/mL时, 对DPPH自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基的清除率最大, 分别为62.21%、74.55%、66.95%, 说明白芷地上部分总香豆素具有一定的抗氧化活性。

关键词

白芷地上部分, 总香豆素, 正交实验, 抗氧化活性

Extraction of Total Coumarins from the Above-Ground Parts of *Angelica dahurica* and Their *in Vitro* Antioxidant Activities

Min Ye, Linxin Chen, Huagui Yang, Zhengyong Chen, Yang Peng

School of Chemical Engineering, Guizhou University of Engineering Science, Bijie Guizhou

Received: Jun. 13th, 2025; accepted: Jul. 26th, 2025; published: Aug. 7th, 2025

Abstract

Through single factor test combined with orthogonal test, cellulase-assisted extraction of total coumarins from the aboveground parts of *Angelica dahurica* was carried out. The experimental results showed that the optimal extraction conditions of total coumarins were cellulase concentration of 2.5

文章引用: 叶敏, 陈林鑫, 杨华贵, 陈正勇, 彭洋. 白芷地上部分总香豆素的提取及其体外抗氧化活性考察[J]. 药物化学, 2025, 13(3): 219-228. DOI: 10.12677/hjmce.2025.133023

mg/mL, ethanol volume fraction of 50%, extraction temperature of 55°C, and extraction time of 60 min. Under this condition, the extraction rate was 1.59%. The total coumarin was subjected to *in vitro* antioxidant test. The results showed that when the total coumarin concentration in the above-ground parts of *Angelica dahurica* was 1.2 mg/mL, the scavenging rates of DPPH free radical, hydroxyl radical and superoxide anion radical were the highest, which were 62.21%, 74.55% and 66.95%, respectively, indicating that the total coumarin in the aboveground part of *Angelica dahurica* had certain antioxidant activity.

Keywords

Above-Ground Parts of *Angelica dahurica*, Total Coumarins, Orthogonal Experiment, Antioxidant Activity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.) Benth.et Hook.f.或杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth.et Hook.f.var.formosana (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根, 具有解表散寒, 祛风止痛等功效[1]。现代研究表明, 白芷的化学成分复杂, 包括香豆素类、苷类、挥发油类、多糖类、生物碱类以及氨基酸类, 其中的香豆素类化合物是白芷的主要活性成分, 具有抗炎、镇痛、抗癌和抗氧化等多种药理活性[2]。白芷传统的入药部位是其根部, 在临床治疗中应用广泛。目前, 对非传统的药用部位即白芷地上部分的研究和利用很少。白芷地上部分占整株植物的 70 %以上, 采收加工过程中地上部分常作为农业废弃物直接焚烧或填埋。根据植物体内次生代谢产物的分布规律, 具有生物活性的成分一般在植物的根、茎、叶等多个器官都有分布[3], 而且《本草经注集》和《本草纲目》都记载白芷叶可以入药, 能治疗蜂蜇[2], 因此, 直接焚烧或填埋白芷地上部分不仅浪费资源, 还会造成环境污染。

本试验以白芷地上部分总香豆素的提取率为考察指标, 采用单因素结合正交实验的方法, 借助纤维素酶研究白芷地上部分总香豆素的最佳提取工艺, 并考察总香豆素对 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基的清除能力, 为白芷地上部分的开发利用提供基础数据。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料与试剂

白芷地上部分, 采集自安徽省亳州市谯东镇。欧前胡素(南京源植生物科技有限公司, 纯度 $\geq 98\%$), 纤维素酶(400 U/mg, 福州飞净生物科技有限公司), 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH, 福州飞净生物科技有限公司), 其余试剂均为国产分析纯。

2.2. 仪器与设备

AUY220 电子分析天平(岛津国际贸易上海有限公司), V-5800 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司), DHG-9070A 电热恒温鼓风干燥箱(上海秣马恒温设备厂), RE-2800B 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), HH-4 恒温水浴锅(金坛市晶玻实验仪器厂)。

2.3. 方法

2.3.1. 白芷地上部分总香豆素含量的测定 采用紫外分光光度法测定

(1) 标准曲线的绘制

精密称取欧前胡素 20 mg, 用无水乙醇定容于 50 mL 容量瓶中, 得浓度为 0.4 mg/mL 的标准品溶液。取 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL 的标准品溶液, 用 60% 的乙醇分别定容于 50 mL 的容量瓶中, 于 313 nm 波长处测定吸光度值, 以吸光度 y 为纵坐标, 标准品溶液浓度 x 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $y = 0.0228x - 0.0093$ ($R^2 = 0.9993$)。

(2) 白芷地上部分总香豆素的提取

白芷地上部分自然晾晒干, 粉碎, 过 40 目筛。按 1:20 g/mL 加入石油醚超声脱脂脱色处理, 抽滤, 弃去提取液, 药渣烘干即得预处理后的白芷地上部分粉末, 待用。

准确称取 2.0 g 预处理过的白芷地上部分粉末, 置于具塞锥形瓶中, 加入 60 mL 乙醇溶液, 按不同实验设计, 以不同的纤维素酶浓度、不同乙醇体积分数、在不同提取温度下提取一定时间, 提取结束灭酶 10 min, 抽滤、滤液减压浓缩, 用 60% 乙醇定容于 50 mL 容量瓶中, 得总香豆素提取液。

(3) 提取率的测定

准确吸取总香豆素提取液 1.0 mL, 用 60% 乙醇定容于 50 mL 容量瓶中, 于 313 nm 处测定吸光度值, 根据回归方程计算出总香豆素质量浓度, 按下式计算总香豆素的提取率。

$$\text{提取率}\% = \frac{C \times N \times V \times 10^{-6}}{M} \times 100\%$$

上式中: C 为利用回归方程求出的总香豆素质量浓度($\mu\text{g/mL}$); N 为稀释倍数; V 为提取的总香豆素提取液的定容体积(mL); M 为白芷地上部分的质量(g)。

2.3.2. 方法学考察

(1) 精密度试验 准确吸取“2.3.1.”项下(1)配制的欧前胡素标准品溶液 5.0 mL, 用无水乙醇定容于 50 mL 的容量瓶中, 在 313 nm 波长处测定吸光度值, 重复测定 5 次[4]。结果 $\text{RSD} = 0.4\%$ ($n = 5$), 表明该方法的精密度良好。

(2) 稳定性试验 准确称取白芷地上部分粉末 2.0 g, 按照“2.3.1.”项下(2)的方法制备总香豆素提取液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 时, 313 nm 波长处测定吸光度值[4]。结果 $\text{RSD} = 1.4\%$ ($n = 6$), 说明总香豆素提取液的吸光度在 24 h 内稳定。

(3) 重复性试验 准确称取白芷地上部分粉末 5 份, 每份 2.0 g, 按照“2.3.1.”项下(2)的方法制备总香豆素提取液, 在 313 nm 波长处测定吸光度值[4]。结果 $\text{RSD} = 2.0\%$ ($n = 5$), 说明此方法重复性良好。

(4) 加样回收率试验 准确称取已测定总香豆素含量的白芷地上部分粉末 6 份, 每份 2.0 g, 每份分别加入“2.3.1.”项下(1)配制的欧前胡素标准品溶液 5.0 mL, 按照“2.3.1.2”项下方法制备总香豆素提取液, 在 313 nm 波长处测定吸光度值, 根据“2.3.1.3”项下方法计算总香豆素的提取率, 进而计算加样回收率[4]。结果平均加样回收率 = 99.18 %, $\text{RSD} = 2.3\%$ ($n = 6$), 说明加样回收率符合试验要求。

2.4. 单因素实验

称取预处理过的白芷地上部分粉末 2.0 g, 加入 60 mL 乙醇溶液, 以总香豆素提取率为指标, 分别考察不同的纤维素酶浓度、乙醇体积分数、提取温度和提取时间对总香豆素提取率的影响。

2.5. 正交试验

以 A (酶浓度)、B (乙醇体积分数)、C (提取温度)和 D (提取时间)为主要影响因素, 以总香豆素提取率为考察指标, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 试验因素水平见表 1。

Table 1. Factor level table of extraction process
表 1. 提取工艺因素水平表

水平	A 酶浓度(mg/mL)	B 乙醇体积分数(%)	C 提取温度(℃)	D 提取时间(min)
1	2.0	40	45	50
2	2.5	50	50	60
3	3.0	60	55	70

2.6. 验证试验

称取白芷地上部分粉末 3 份, 每份 2.0 g, 分别以最佳提取工艺进行提取, 根据标准曲线及提取率计算公式计算总香豆素提取率。

2.7. 抗氧化活性研究

取预处理过的白芷地上部分粉末于锥形瓶中, 按上述最佳提取工艺条件提取, 提取结束抽滤、回收溶剂得浸膏, 将浸膏干燥, 即得白芷地上部分总香豆素。用无水乙醇将其配制为浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL 的供试品溶液进行抗氧化活性测定。

2.7.1. DPPH 自由基清除率的测定

准确吸取 2.0 mL 不同浓度的供试品溶液和 2.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液, 摇匀后室温下暗处静置 30 min, 在 517 nm 波长处测定吸光度值 A_1 ; 用无水乙醇代替供试品溶液, 测得吸光度 A_0 , 用无水乙醇代替 DPPH 溶液, 测得吸光度 A_2 。以 VC 为阳性对照; 平行测定 3 次, 取平均值, 按下式计算 DPPH 自由基清除率[5]。

$$\text{清除率}\% = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

2.7.2. 羟自由基清除率的测定

准确吸取 2.0 mL 不同浓度的供试品溶液, 依次加入 6 mmol/L FeSO_4 、6 mmol/L 水杨酸 - 乙醇溶液和 6 mmol/L 过氧化氢溶液各 2.0 mL, 放置在 37℃ 恒温水浴中 30 min, 在 510 nm 波长处测定其吸光度 A_1 。同法操作, 测定用蒸馏水替代过氧化氢溶液的吸光度 A_2 , 用蒸馏水替代供试品溶液的吸光度 A_0 。以 VC 为阳性对照; 平行测定 3 次, 取平均值, 按“2.7.1”中的公式计算清除率[6]。

2.7.3. 超氧阴离子自由基清除率的测定

准确吸取 Tris-HCl (pH 8.2, 0.05 mol/L) 缓冲液 4.5 mL, 依次加入不同浓度的供试品溶液 1.0 mL, 3 mmol/L 邻苯三酚溶液 0.4 mL, 混合均匀后于 25℃ 水浴中反应 5 min 后加入 0.5 mL 10 mmol/L HCl 终止反应, 在 325 nm 波长处测定吸光度 A_1 ; 同法操作, 测定用蒸馏水替代供试品溶液的吸光度 A_0 , 用蒸馏水替代邻苯三酚溶液的吸光度 A_2 ; 以 VC 为阳性对照; 平行测定 3 次, 取平均值, 按“2.7.1”中的公式计算清除率[7]。

3. 结果与讨论

3.1. 单因素实验

3.1.1. 酶浓度对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

在料液比为 1:30 g/mL、乙醇体积分数 60%、提取温度 50℃、提取时间 60 min 的条件下, 考察不同酶浓度对总香豆素提取率的影响, 结果如图 1 所示。

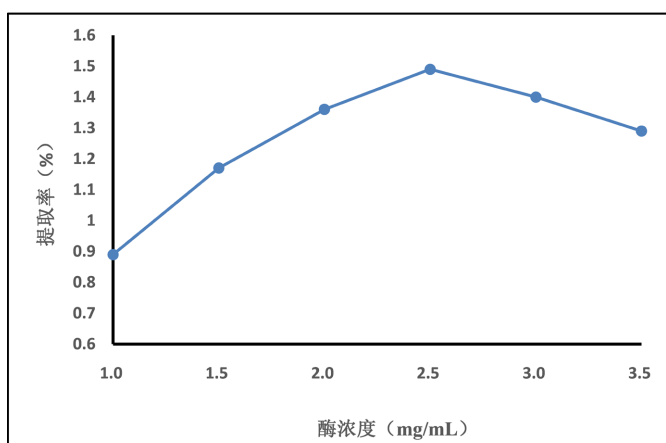


Figure 1. Effect of enzyme concentration on the extraction rate of total coumarins from the aerial parts of *Angelica dahurica*
图 1. 酶浓度对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

由图 1 可知, 纤维素酶浓度在 1.0~2.5 mg/mL 范围内, 随着酶浓度的增加, 总香豆素的提取率逐渐增加, 当纤维素酶浓度为 2.5 mg/mL 时, 总香豆素的提取率最高, 为 1.49%; 当酶浓度超过 2.5 mg/mL 时, 总香豆素提取率反而下降。这是因为随着酶浓度的增加, 底物与酶充分结合, 促进香豆素类化合物不断溶出, 提取率逐渐增加; 当纤维素酶浓度超过 2.5 mg/mL 时, 体系中纤维素酶量达到饱和状态[8], 不利于香豆素类化合物的释放。故纤维素酶的浓度 2.5 mg/mL 为宜。

3.1.2. 乙醇体积分数对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

在料液比 1:30 g/mL、酶浓度 2.5 mg/mL、提取温度 50℃、提取时间 60 min 的条件下, 考察不同乙醇体积分数对总香豆素提取率的影响, 结果如图 2 所示。

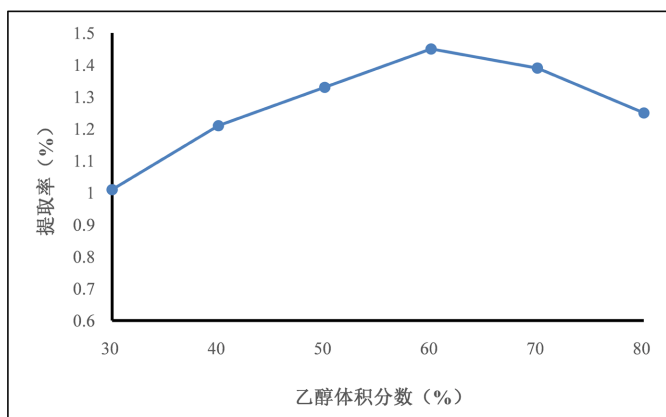


Figure 2. Effect of ethanol volume fraction on the extraction rate of total coumarins from the aerial parts of *Angelica dahurica*
图 2. 乙醇体积分数对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

由图2可知,乙醇体积分数在30%~60%范围内,随着乙醇体积分数的增加,总香豆素的提取率逐渐增加,当乙醇体积分数为60%时,总香豆素的提取率最高,为1.45%;继续增加乙醇体积分数,总香豆素提取率反而下降,原因可能是随着乙醇体积分数越大,极性越低,极性降低可能导致白芷地上部分其他脂溶性成分溶出,从而影响香豆素类成分的溶出[9],导致提取率下降。因此,乙醇体积分数60%为宜。

3.1.3. 提取温度对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

在料液比1:30 g/mL、乙醇体积分数60%、酶浓度2.5 mg/mL、提取时间60 min的条件下,考察不同提取温度对总香豆素提取率的影响,结果如图3所示。

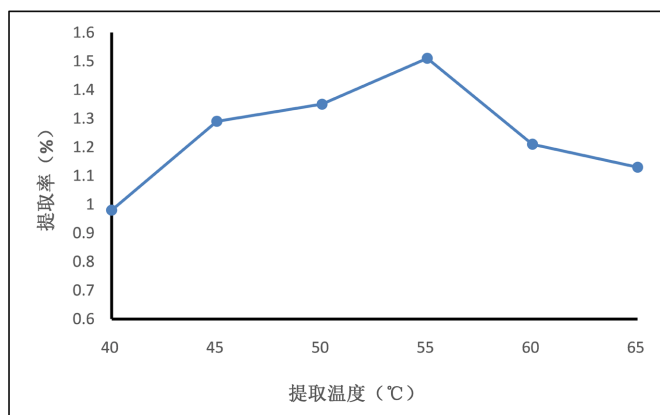


Figure 3. Effect of extraction temperature on the extraction rate of total coumarins from the aerial parts of *Angelica dahurica*
图3. 提取温度对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

由图3可知,在40°C~65°C范围内,总香豆素提取率呈先上升后下降趋势,在55°C时达到最高,为1.51%。原因可能是在一定温度范围内,随着温度的升高,酶活性逐渐增加,有利于香豆素类化合物的溶出,提取率增加;当温度超过纤维素酶的最适温度后,酶蛋白发生变性,纤维素酶的活性迅速下降,提取率也随温度的升高而下降[10]。因此提取温度以55°C为宜。

3.1.4. 提取时间对提取率的影响

在料液比1:30 g/mL、乙醇体积分数60%、酶浓度2.5 mg/mL、提取温度55°C的条件下,考察不同提取时间对总香豆素提取率的影响,结果如图4所示。

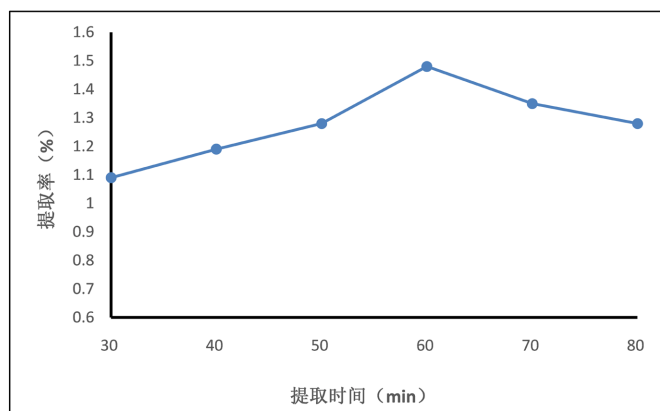


Figure 4. Effect of extraction time on the extraction rate of total coumarins from the aerial parts of *Angelica dahurica*
图4. 提取时间对白芷地上部分总香豆素提取率的影响

由图 4 可知, 在 30~60 min 内, 总香豆素的提取率随提取时间的延长不断提高, 当提取时间为 60 min 时提取率为 1.48%; 当提取时间进一步延长时, 提取率则呈现下降趋势。这是由于随着提取时间的增加, 总香豆素逐渐被浸出, 但提取时间过长可能会导致香豆素类化合物氧化分解, 导致提取率降低。因此提取时间以 60 min 为宜。

3.2. 正交实验

正交试验结果见表 2。

Table 2. Results of orthogonal test
表 2. 正交试验结果

试验号	A 酶浓度(mg/mL)	B 乙醇体积分数(%)	C 提取温度(℃)	D 提取时间(min)	提取率(%)
1	1 (2.0)	1 (40)	1 (45)	1 (50)	0.98
2	1 (2.0)	2 (50)	2 (50)	2 (60)	1.23
3	1 (2.5)	3 (60)	3 (55)	3 (70)	1.08
4	2 (2.5)	1 (40)	2 (50)	3 (70)	1.46
5	2 (2.5)	2 (50)	3 (55)	1 (50)	1.58
6	2 (2.5)	3 (60)	1 (45)	2 (60)	1.42
7	3 (3.0)	1 (40)	3 (55)	2 (60)	1.25
8	3 (3.0)	2 (50)	1 (45)	3 (70)	1.37
9	3 (3.0)	3 (60)	2 (50)	1 (50)	1.13
K1	1.097	1.230	1.223	1.230	
K2	1.487	1.360	1.273	1.300	
K3	1.217	1.210	1.303	1.270	
R	0.390	0.150	0.080	0.070	

由表 2 可知, 各因素对白芷地上部分总香豆素提取率的影响主次顺序为: 酶浓度 > 乙醇体积分数 > 提取温度 > 提取时间, 其中酶浓度对白芷地上部分总香豆素提取率具有显著影响。总香豆素的最佳提取工艺条件为酶浓度 2.5 mg/mL、乙醇体积分数 50%、提取温度 55℃, 提取时间 60 min。按上述优化工艺进行 3 批验证试验, 测得总香豆素提取率分别为 1.61%、1.59%、1.58%, 平均为 1.59%。

3.3. 体外抗氧化活性分析

3.3.1. DPPH 自由基清除能力

在质量浓度为 0.2~1.2 mg/mL 时, 测定白芷地上部分总香豆素和 VC 对 DPPH 自由基的清除能力, 结果如图 5 所示。

由图 5 可知, 随着总香豆素和 VC 质量浓度的增加, 两者对 DPPH 自由基的清除能力逐渐增强。当总香豆素溶液的质量浓度为 1.2 mg/mL 时, 对 DPPH 自由基的清除率达到最大, 为 62.21 %, 结果表明, 白芷地上部分总香豆素具有一定的清除 DPPH 自由基的能力, 但其效果弱于 VC。

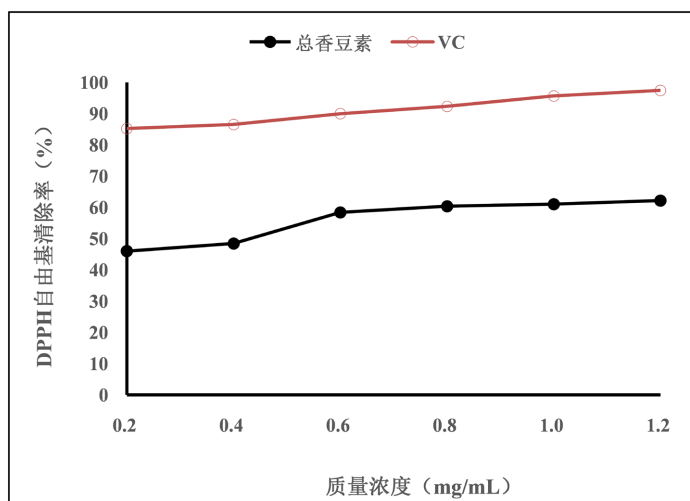


Figure 5. The scavenging rate of DPPH free radicals

图 5. 对 DPPH 自由基的清除率

3.3.2. 羟自由基清除能力

在质量浓度为 0.2~1.2 mg/mL 时, 测定白芷地上部分总香豆素和 VC 对羟自由基清除能力, 结果如图 6 所示。

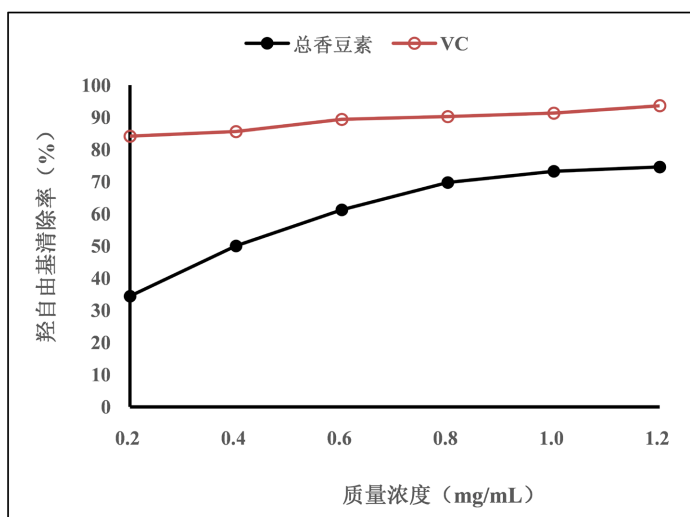


Figure 6. The scavenging rate of hydroxyl radicals

图 6. 对羟自由基的清除率

由图 6 可知, 随着总香豆素和 VC 质量浓度的增加, 两者对羟自由基的清除能力逐渐增强, 当质量浓度为 1.2 mg/mL 时, 总香豆素和 VC 对羟自由基的清除率分别为 74.55% 和 93.58%, 说明在相同浓度下总香豆素对羟自由基的清除能力低于 VC。结果表明, 白芷地上部分总香豆素具有一定的清除羟自由基的能力。

3.3.3. 超氧阴离子自由基清除能力

在质量浓度为 0.2~1.2 mg/mL 时, 测定白芷地上部分总香豆素和 VC 对超氧阴离子自由基清除能力, 结果如图 7 所示。

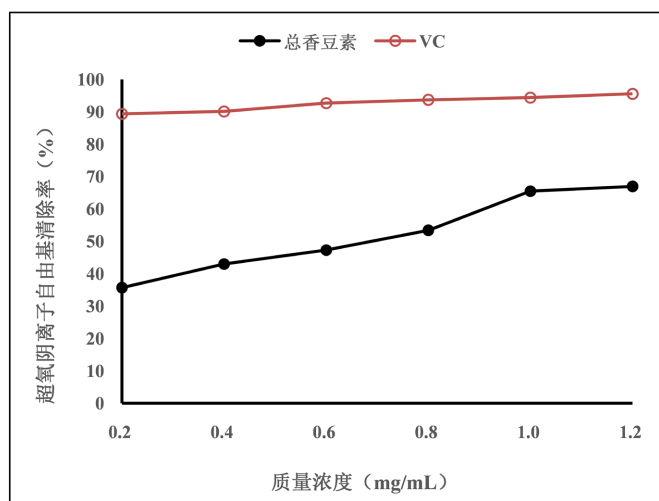


Figure 7. The scavenging rate of superoxide anion free radicals

图 7. 对超氧阴离子自由基的清除率

由图 7 可知,随着总香豆素和 VC 质量浓度的增加,对超氧阴离子自由基的清除能力逐渐增强,当质量浓度为 1.2 mg/mL 时,总香豆素和 VC 对超氧阴离子自由基的清除率分别为 66.95%和 95.55%,说明在相同浓度下总香豆素对羟自由基的清除能力低于 VC。结果表明,白芷地上部分总香豆素具有一定的清除超氧阴离子自由基的能力。

4. 结论

采用单因素试验结合正交试验设计优化白芷地上部分总香豆素的提取工艺,通过体外抗氧化试验探究总香豆素的抗氧化能力。结果表明总香豆素的最佳提取工艺条件为纤维素酶浓度 2.5 mg/mL、乙醇体积分数 50%、提取温度 55℃,提取时间 60 min,此条件下总香豆素的提取率可达 1.59%。体外抗氧化试验结果显示白芷地上部分总香豆素对 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基有不同程度的清除作用,总香豆素质量浓度为 1.2 mg/mL 时,对 3 种自由基的清除能力大小次序为:羟基自由基 > 超氧阴离子自由基 > DPPH 自由基。综上,白芷地上部分总香豆素具有一定的抗氧化活性。

基金项目

毕节市科技局、贵州工程应用技术学院联合基金项目(毕科联合[2023]47 号);贵州工程应用技术学院大学生创新创业训练计划项目(S2024106680726)。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 年版)一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 109.
- [2] 朱艺欣, 李宝莉, 马宏胜, 等. 白芷的有效成分提取、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(31): 159-162, 166.
- [3] Abdelrahman, M., Hirata, S., Ito, S., Yamauchi, N. and Shigyo, M. (2014) Compartmentation and Localization of Bio-active Metabolites in Different Organs of *Allium roylei*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **78**, 1112-1122. <https://doi.org/10.1080/09168451.2014.915722>
- [4] 薛天乐. 白芷叶总香豆素提取工艺和清除羟自由基活性的研究[J]. 安徽科技学院学报, 2017, 31(2): 45-50.
- [5] 张婷阳, 张伶, 蒋雨秦, 等. 玫瑰花渣多糖提取工艺优化及体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(2): 192-199.
- [6] 黄丽华, 梁敏钰, 侯婷华, 等. 水蓼叶黄酮的提取及抗氧化活性分析[J]. 肇庆学院学报, 2024, 45(2): 9-15.

- [7] 于纯淼, 廖贤, 陈小倩, 等. 复合酶法提取诺丽多糖的工艺优化及其体外抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(3): 142-151.
- [8] 景磊, 王婷婷, 胡晨曦, 等. 超声辅助纤维素酶法提取小麦硒多糖工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 河南城建学院学报, 2024, 33(2): 122-128.
- [9] 牛青源, 高青青, 潘兰. 新疆藁本总香豆素提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中成药, 2025, 47(3): 753-758.
- [10] 杨帆, 郑佳欣, 杨腾彬, 等. 纤维素酶辅助超声波提取桑叶多酚的工艺研究[J]. 广州化工, 2025, 53(3): 92-94.