

碱性条件下山楂叶总黄酮的提取工艺研究

焦 镛¹, 柴梦颖¹, 石明生¹, 曹乐民¹, 赵运华²

(1. 河南农业职业学院, 河南 郑州 451450; 2. 辉县市九大聚仙农贸有限公司, 河南 新乡 453600)

摘 要:以山楂叶为试材,以液料比、pH 值、提取温度、提取时间为考察指标,进行单因素试验和正交实验,研究了碱性条件下山楂叶中总黄酮的最佳提取工艺。结果表明:最佳提取工艺条件为液料比 25:1 mL/g、pH 8.5、提取温度为 90℃,用 60%的乙醇提取 3 h,此条件下得到的总黄酮提取率为 7.97 mg/g。

关键词:山楂叶;黄酮;碱性;工艺优化

中图分类号:S 661.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)08-0128-03

山楂又称红果、棠梨、绿梨、北山楂,是我国特有的药果兼用树种。在我国,山楂资源丰富,河北、北京、辽宁、河南、山东、山西、江苏、云南、广西等地区均有栽培^[1]。山楂树全身是宝,尤其是山楂叶富含的黄酮类化合物,具有降血压、降血脂、软化血管等功效^[2],且含量高于山楂果实中的含量^[3]。黄酮类化合物具有一定的弱酸性,易溶于碱性溶剂,故可用碱性溶剂提取^[4]。该试验以山楂叶为原料,在碱性条件用乙醇提取黄酮,以总黄酮含量为指标,研究山楂叶总黄酮的最佳提取工艺条件,以期开发新型保健品、食品和化妆品提供原料,提高山楂树的经济价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试山楂叶由辉县市九大聚仙农贸有限公司提供。

供试试剂:芦丁、60%乙醇、NaNO₂、Al(NO₃)₃、NaOH 均为分析纯。

供试仪器:紫外可见分光光度计(UV9060),北京莱伯泰科仪器有限公司;数显恒温水浴锅(HH-4),金坛市杰瑞尔电器有限公司;干燥箱(DHG-9101-25A),上海三发科学仪器有限公司;电子天平(Sartorius BS224S),赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的制备 精确称量已干燥的芦丁 10 mg,用少量 60%的乙醇溶解后转入 50 mL 容量瓶,并用 60%的乙醇定容至刻度,即为标准溶液(1 L 溶液含芦丁 0.2 g)^[4]。

1.2.2 芦丁标准曲线的测定 取配制好的标准溶液各 0、1、2、3、4、5、6 mL,分别置于 25 mL 容量瓶中,各加 60%乙醇至 6 mL,加 5% NaNO₂ 溶液 1 mL 混匀,静置 6 min;加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 1 mL 混匀,静置 6 min;加 4% NaOH 溶液 10 mL,再加 60%乙醇定容到刻度,静置 15 min,采用紫外可见分光光度计于 500 nm 波长下测定吸光度,并以芦丁含量为横坐标,吸光度为纵坐标做标准曲线^[5]。

1.2.3 山楂叶中总黄酮含量的测定方法 将山楂叶粉碎过筛,称 10 g 粉末置于锥形瓶中,在一定条件下用 60%乙醇提取,过滤转移到 250 mL 容量瓶中,并用 60%乙醇定容至刻度,摇匀作为待测液。取待测液 1 mL 至 25 mL 的容量瓶中,按 1.2.2 方法进行吸光度测定,根据回归方程,计算出山楂叶总黄酮的含量。

1.2.4 单因素试验 综合文献[6-8],采用 60%乙醇作为提取总黄酮的溶剂。液料比对总黄酮提取量的影响:称取 5 份 10 g 山楂叶粉,分别置于 500 mL 三角瓶中,液料比为 10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 mL/g,用 0.5% NaOH 调整 pH 值为 8,温度 70℃条件下回流 2 h,测定黄酮提取量。pH 值对总黄酮提取量的影响:称取 5 份 10 g 山楂叶粉,分别置于 500 mL 三角瓶中,分别加入 60%的乙醇 200 mL,并用 0.5% NaOH 分别将 pH 值调整为 7.0、7.5、8.0、8.5、9.0,温度 70℃条件下回流 2 h,测定总黄酮提取量。提取时间对总黄酮提取量的影响:称取 5 份 10 g 山楂叶粉,分别置于 500 mL 三角瓶中,分别加入 60%的乙醇 200 mL,用 0.5% NaOH 调整 pH 值为 8,在温度 70℃条件下分别回流 1、2、3、4、5 h,测定总黄酮提取量。提取温度对总黄酮提取量的影响:称取 5 份 10 g 山楂叶粉,分别置于 500 mL 三角瓶中,分别加入 60%的乙醇 200 mL,用 0.5% NaOH 调整 pH 值为 8.0,在温度 50、60、70、80、90℃条件下分别回流 2 h,测定总黄

第一作者简介:焦镛(1973-),男,河南内黄人,硕士,副教授,现主要从事功能性食品研究与开发等工作。

基金项目:河南省 2012 重点科技攻关资助项目(122102110164)。

收稿日期:2013-12-12

酮提取量。

1.2.5 正交实验 在单因素试验基础上,对影响山楂叶中总黄酮提取量的液料比、pH 值、提取时间、提取温度等因素进行正交实验,因素与水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

水平	因素			
	A 液料比/mL·g ⁻¹	B pH 值	C 提取温度/℃	D 提取时间/h
1	10:1	7.5	60	1
2	15:1	8.0	70	2
3	20:1	8.5	80	3
4	25:1	9.0	90	4

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 液料比对总黄酮提取量的影响 由图 1 可知,液料比在一定的范围内与总黄酮的提取量呈正相关,但液料比增大到一定值后,黄酮提取量趋于饱和,因而选择 25:1 mL/g 的液料比较适宜。

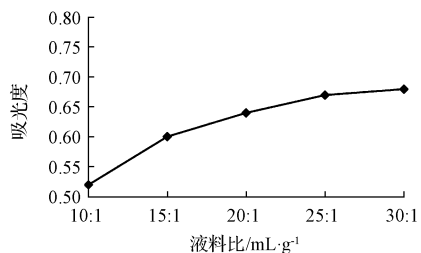


图 1 液料比对总黄酮提取量的影响

2.1.2 pH 值对总黄酮提取量的影响 由图 2 可知,pH 值在一定的范围内,总黄酮的提取量随 pH 值升高呈上升趋势,但 pH 值增大到一定值后,总黄酮提取量上升较慢,因而选择 pH 8.5 比较适宜。

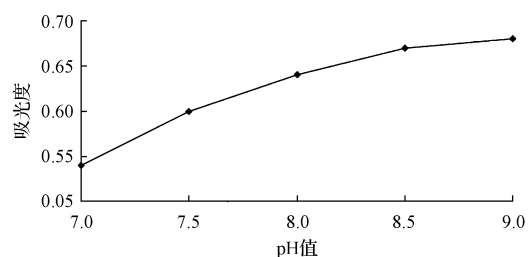


图 2 pH 值对总黄酮提取量的影响

2.1.3 提取时间对总黄酮提取量的影响 由图 3 可知,其它条件相同的情况下,提取时间在 3 h 时基本达到平衡。

2.1.4 提取温度对总黄酮提取量的影响 由图 4 可知,总黄酮提取量随提取温度的升高而增加。提取温度超过 80℃ 时,总黄酮提取量逐渐趋于饱和,因而提取温度在 80℃ 左右比较适宜。

2.2 正交实验结果

由表 2 可知,因素 A(液料比)的极差最大($R =$

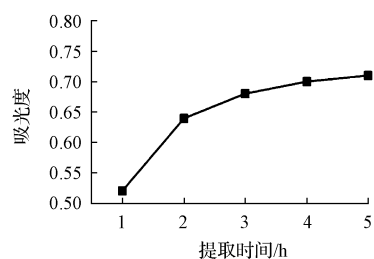


图 3 提取时间对总黄酮提取量的影响

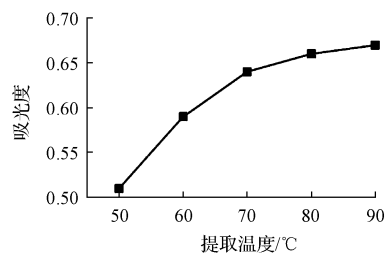


图 4 提取温度对总黄酮提取量的影响

0.323),是影响提取效果的主要因素,因素 C(浸提温度)对试验结果影响显著,因素 D(浸提时间)次之。其中, D_4 和 D_3 的值区别不大,考虑实际生产成本,该试验中选择 D_3 ,因而根据单因素试验和正交实验结果,确定山楂叶总黄酮的最佳提取工艺条件为 $A_4C_4D_3B_3$,即在液料比 25:1 mL/g、pH 8.5、提取温度为 90℃ 的条件下提取 3 h。并在此条件下进行验证,总黄酮的提取量达到 7.97 mg/g。

表 2 正交实验结果及极差分析

序号	A 液料比 /mL·g ⁻¹	B pH 值	C 浸提温度 /℃	D 浸提时间 /h	吸光 度值
1	1(10:1)	1(7.5)	1(60)	1(1)	0.41
2	1	2(8.0)	2(70)	2(2)	0.60
3	1	3(8.5)	3(80)	3(3)	0.70
4	1	4(9.0)	4(90)	4(4)	0.73
5	2(15:1)	1	2	3	0.68
6	2	2	1	4	0.58
7	2	3	4	1	0.71
8	2	4	3	2	0.75
9	3(20:1)	1	3	4	0.78
10	3	2	4	3	0.78
11	3	3	1	2	0.60
12	3	4	2	1	0.58
13	4(25:1)	1	4	2	0.85
14	4	2	3	1	0.63
15	4	3	2	4	0.77
16	4	4	1	3	0.68
K1	0.410	0.680	0.568	0.583	
K2	0.680	0.648	0.658	0.700	
K3	0.685	0.695	0.715	0.710	
K4	0.733	0.685	0.768	0.715	
R	0.323	0.047	0.200	0.132	

3 结论

该试验分别研究了液料比、pH 值、提取温度与提取时间对山楂叶总黄酮提取量的影响,在此基础上进行了正交实验,得到较优的黄酮提取工艺。经验证,得

利用黑木耳菌糠栽培双孢蘑菇新技术

鲁丽鑫¹, 姚方杰^{1,2}, 张友民¹

(1. 吉林农业大学 园艺学院, 长春 吉林, 130118; 2. 吉林农业大学 食药菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118)

摘要:文章从培养料发酵、发菌管理及出菇管理等方面阐述了利用黑木耳栽培废料即黑木耳菌糠栽培双孢蘑菇的新技术, 以期在黑木耳菌糠的利用提供新途径。

关键词:黑木耳菌糠; 双孢蘑菇; 栽培技术

中图分类号:S 646.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)08-0130-03

双孢蘑菇(*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) 是世界上栽培范围最广、生产规模最大、产量最高的一种食用菌, 具有“世界菇”的美誉^[1]。2009年, 我国双孢蘑菇产量达到 2.18×10^6 t, 占世界第1位^[2]。目前生产上栽培双孢蘑菇的原料多种多样, 一般都是充分利用当地丰富的资源, 就地取材。目前广泛应用的原料主要是农作物

秸秆和家畜禽粪等。而在以黑木耳为主栽食用菌的东北地区, 随着黑木耳产业的不断扩大, 其菌糠资源极其丰富, 对黑木耳菌糠的再利用已成为亟待解决的问题。有研究表明, 菌糠可以作为园艺生产的肥料^[3-4]、无土栽培基质等^[5-6]。因此, 利用黑木耳菌糠栽培双孢蘑菇, 既可为“南菇北移”提供充足的培养原料, 又能提高菌糠利用率, 减轻食用菌生产的废料污染, 实现废弃物的循环有效利用。现将黑木耳菌糠栽培双孢蘑菇的新技术总结如下, 以期在黑木耳菌糠作为新基质进行生产应用提供参考。

1 菌种培养基

1.1 母种培养基

PDA 培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g,

第一作者简介:鲁丽鑫(1988-), 女, 硕士, 现主要从事食用菌高效栽培等研究工作。

责任作者:姚方杰(1965-), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为设施环境调控及食用菌。E-mail: yaofj@aliyun.com

基金项目:吉林省重大科技攻关资助项目(10ZDGG003)。

收稿日期:2014-01-15

到山楂叶总黄酮的最佳提取工艺条件为液料比 25 : 1 mL/g、pH 值为 8.5、提取温度为 90℃ 的条件下用 60% 的乙醇提取 3 h。并在此条件下进行验证, 总黄酮的提取量达到 7.97 mg/g。

参考文献

- [1] 侯宽照. 中国种子植物科属辞典[M]. 北京: 科学出版社, 1958: 115.
- [2] 李志霞, 吕德国, 鲁巍巍, 等. 山楂叶总黄酮提取的主要影响因素研究[J]. 北方园艺, 2010(5): 24-26.
- [3] 郭永学, 李楠, 杨美燕, 等. 山楂属植物黄酮成分及其分析方法研究

进展[J]. 中成药, 2005, 27(1): 112-115.

[4] 姚新生. 天然药物化学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.

[5] 李宁, 李楚. 银杏叶总黄酮提取工艺的正交设计研究[J]. 山西农业大学学报, 2010, 30(1): 74-76.

[6] 鲁巍巍, 吕德国, 李志霞, 等. 山楂叶总黄酮三种提取方法的比较研究[J]. 辽宁农业科技, 2008(5): 9-12.

[7] 张元富, 刘志辉, 于行梅, 等. 山楂叶中黄酮类化合物的提取工艺研究[J]. 中国药业, 2009, 18(5): 42-43.

[8] 周海旭, 高晗, 曲良苗, 等. 响应面法优化山楂叶中黄酮提取工艺[J]. 河南农业大学学报, 2011, 45(6): 711-715.

Study on the Extraction Technology of Total Flavonoids From Hawthorn Leaf in Alkaline Conditions

JIAO Lei¹, CHAI Meng-ying¹, SHI Ming-sheng¹, CAO Yue-min¹, ZHAO Yun-hua²

(1. Henan Vocational College of Agriculture, Zhengzhou, Henan 451450; 2. Huixian Nine Ju Xian Nong Mao Co. Ltd., Xinxiang, Henan 453600)

Abstract: Taking hawthorn leaf as material, based on the different ratio of liquid to solid, pH, extraction temperature, extraction time, the single factor and orthogonal design experiments were conducted, and the optimal extraction process of total flavonoids from hawthorn leaves was obtained. The results showed that ratio of liquid to material was 25 : 1 mL/g, pH was 8.5, extraction temperature was 90℃ extracting with 60% ethanol in 3 h. Verifying in these conditions, flavonoids extracting reached 7.97 mg/g.

Key words: hawthorn leaves; flavonoids; alkaline; process optimization