

姬松茸总黄酮提取条件的优化

于明星 楚建芝 崔琪 张蕊*

山东省食用菌技术重点实验室, 鲁东大学农学院

[摘要]本研究以姬松茸子实体为研究材料, 采用超声波法提取姬松茸中的黄酮类化合物, 探索了超声波法提取姬松茸中黄酮类化合物的主要影响因素, 在单因素试验的基础上, 采用正交试验法确定最佳提取工艺, 试验结果表明: 料液比1:20, 超声时间40min, 超声温度50℃, 乙醇浓度60%, 此时黄酮的总提取率可达3.446%。本研究为姬松茸的综合利用及功能性食品的深入研究提供了可靠的依据。

[关键词]超声波; 姬松茸; 总黄酮; 鉴别

[DOI] 10.12252/j.issn.2096-6288.2021.09.777

1 引言

本文采用超声波法提取姬松茸中的黄酮类化合物, 探索了超声时间、超声温度、料液比和乙醇浓度对姬松茸中黄酮类物质提取率的影响, 在单因素的基础上采用正交试验对提取工艺进行优化, 为今后继续研究姬松茸中黄酮类化合物的活性及产品研发提供一定的理论基础和参考价值。

2 材料与仪器

2.1 材料与试剂

材料: 本实验所用的实验材料为市售姬松茸子实体, 姬松茸在45℃烘箱中烘干, 用粉碎机粉碎后过40目筛, 4℃条件下保存备用。

试剂: 无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、氨水、浓硫酸、盐酸、镁粉: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 芦丁标准品(纯度>98%): 分析纯, 酷尔化学科技有限公司。

2.2 仪器

DHT-450A高温鼓风干燥箱(上海岛韩实业有限公司)、2500C型粉碎机(永康市红太阳机电有限公司)、SQP型电子天平(赛多利斯科学仪器)、KQ-500DE型超声提取仪(昆山市超声仪器有限公司)、HHS-21-6型恒温水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、T6新悦可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

3 实验方法

3.1 标准曲线的建立

3.1.1 黄酮全波长扫描

取芦丁标准液1mL, 在0.30ml 5%亚硝酸钠溶液存在的碱性条件下, 经硝酸铝显色后, 以试剂为空白对照在420~700 nm波长范围测定黄酮的吸光度, 结果于510nm波长处有最大吸收, 故测定时选用此波长。

3.1.2 标准曲线的绘制

准确称取芦丁的标准品20.00mg, 用无水乙醇定容至50mL棕色容量瓶中备用。分别取1.0mL, 2.0mL, 3.0mL, 4.0mL, 5.0mL母液于5个25 mL容量瓶中, 配置成浓度为0.016、0.032、0.048、0.064、0.08mg/mL的系列标准溶液, 取1mL标准液于10mL容量瓶中, 分别加入0.7mL的质量分数为5%的NaNO₂溶液,

摇匀, 放置5min后加入0.7mL的质量分数为10%的Al(NO₃)₃溶液, 放置6min后再加入5mL浓度为1 mol/L的NaOH溶液, 摇匀后, 用浓度为60%的乙醇定容至10mL, 静置10 min后以试剂空白为参比, 在510nm处测定各标准溶液的吸光度。

3.2 姬松茸黄酮提取与测定

准确称量姬松茸子实体粉末2g, 按料液比为1:20, 加入浓度为60%的乙醇, 超声波提取20min, 提取温度为30℃, 提取完成后过滤, 得样品液。按照3.1.2的方法进行测定。

3.3 超声波法提取姬松茸黄酮的单因素试验

3.3.1 提取时间对姬松茸黄酮提取率的影响

称取样品2g, 乙醇浓度60%, 按料液比为1:10, 超声波提取温度30℃, 并在不同的超声时间下做单因素试验, 按标准芦丁吸光度测定法, 以试剂作空白对照, 在510nm波长下, 测其吸光度, 确定适宜的超声时间。

3.3.2 提取温度对姬松茸黄酮提取率的影响

称取样品2g, 乙醇浓度60%, 按料液比为1:10, 超声时间为20min, 并在不同的温度下做单因素试验, 按标准芦丁吸光度测定法, 以试剂作空白对照, 在510nm波长下, 测其吸光度, 确定适宜的提取温度。

3.3.3 料液比对姬松茸黄酮提取率的影响

称取样品2g, 乙醇浓度60%, 超声波提取温度30℃, 超声时间为20min, 并在不同的料液比下做单因素试验, 按标准芦丁吸光度测定法, 以试剂作空白对照, 在510nm波长下, 测其吸光度, 确定适宜的料液比。

3.3.4 乙醇浓度对姬松茸黄酮提取率的影响

称取样品2g, 按料液比为1:10, 超声波提取温度30℃, 超声时间为20min, 并在不同的乙醇浓度做单因素试验, 按标准芦丁吸光度测定法, 以试剂作空白对照, 在510nm波长下, 测其吸光度, 确定适宜的超声时间。

3.4 正交试验优化姬松茸黄酮提取工艺

在单因素试验分析的基础上, 选择超声时间、超声时间、料液比和乙醇浓度为四个主要的影响因素进行L₉(3⁴)的正交试验设计。以黄酮提取率为试验因素水平考察指标。

4 实验结果与分析

4.1 超声时间对黄酮提取率的影响

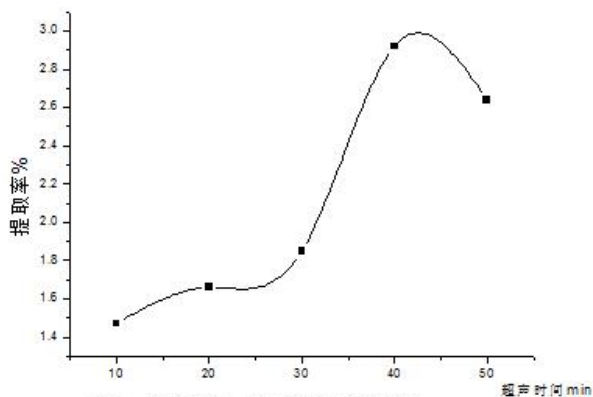


图1: 超声时间对黄酮提取率的影响

由图1可知,在其他因素一定的条件下,不同的超声时间对吸光度的影响波动频率较大,超声波加速黄酮的溶出,一定范围内,超声时间越长,黄酮类物质溶解的越完全,时间过短,溶解不充分;超声时间过长,导致部分黄酮类化合物的结构改变,所以在给定的范围内可知,超声时间在40min~45min范围内较适宜。

4.2 超声温度对黄酮提取率的影响

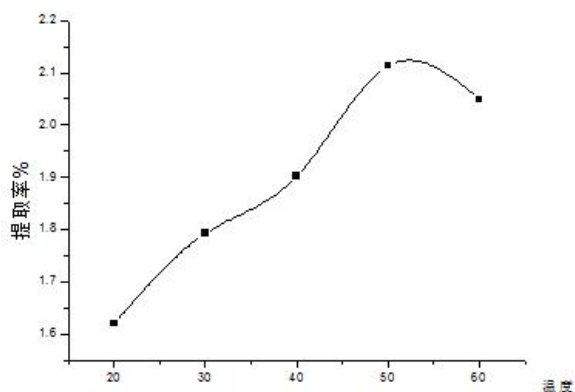


图2: 超声波提取温度对黄酮提取率的影响

黄酮的提取率开始随提取温度的增加而增加,温度达到50°C时黄酮的提取率开始下降,可能是温度过高使黄酮类化合物结构发生崩解,导致提取率下降,因此,姬松茸中黄酮类物质提取时温度最好控制在50°C。

4.3 料液比对黄酮提取率的影响

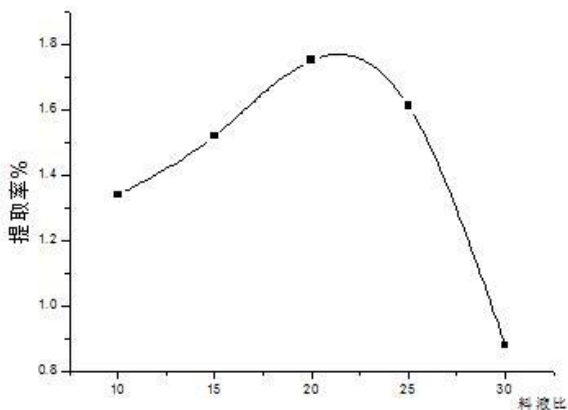


图3: 料液比对黄酮提取率的影响

如图3,料液比过小,黄酮类物质浓度过低,不易测出;料液比过高,会造成黄酮类物质溶解不完全,有效成分溶解量相应减少,所以料液比应控制在合适的范围内。由图3可知,在其他因素一定的条件下,料液比在1:20~1:22范围内较适宜。

4.4 乙醇的浓度对黄酮提取率的影响

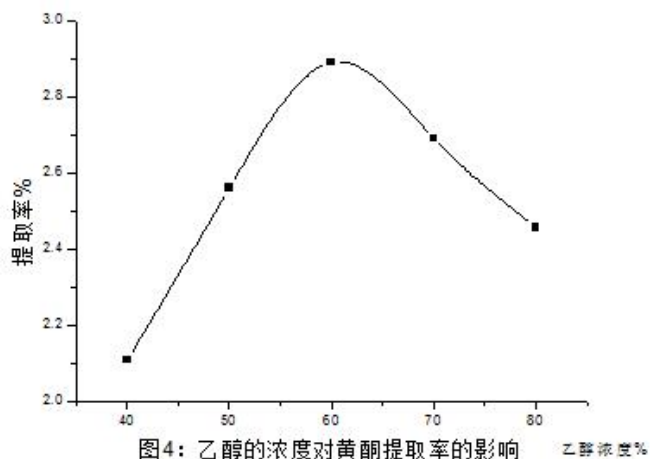


图4: 乙醇的浓度对黄酮提取率的影响

由图4可见,黄酮的提取率开始随乙醇浓度的增加而增加,乙醇浓度达到60%时黄酮的提取率开始下降,因此,姬松茸中黄酮类物质提取时乙醇浓度最好控制在60%。

5 总结

本文对姬松茸中的黄酮类化合物进行了初步探究,探索了超声波法提取姬松茸中黄酮类化合物的主要影响因素。在单因素试验的基础上,采用正交试验法确定最佳提取工艺。根据正交试验分析,各因素对姬松茸中黄酮的提取率影响的主次顺序为:液料比>乙醇浓度>超声时间>超声温度。超声波法提取姬松茸中黄酮类化合物的最佳条件是料液比1:20,超声时间40min,超声温度50°C,乙醇浓度60%,此时黄酮的总提取率可达3.446%。本试验对超声波法提取姬松茸中黄酮类化合物的最佳工艺的探究提供了可靠依据。

参考文献

- [1] 李青. 姬松茸化学成分及药理作用研究现状[J]. 重庆中草药研究, 2007, (6): 40-42.
 - [2] 李芮芃, 杨晶, 洪亮, 马吉飞. 姬松茸多糖的修饰改造与抗病性的研究进展[J]. 饲料研究, 2021, 44(15): 144-147.
 - [3] 张艳荣. 姬松茸综合利用关键技术研究与应用[D]. 吉林: 吉林大学农学院, 2008.
- 基金项目: 烟台市重点研发计划(2019XDHZ092), 国家自然科学基金项目(31200048), 山东省重点研发计划(2019GSF107063)。

*通讯作者: 张蕊, 女, 博士, 副教授, 主要从事药用菌生物学研究。