

猴头菇三萜提取工艺优化及其抗氧化活性分析

李英迪, 曹艳, 夏其乐, 杨开, 毛荣良

Optimization of Extraction Process of *Hericium erinaceus* Triterpenes and Its Antioxidant Activity

LI Yingdi, CAO Yan, XIA Qile, YANG Kai, and MAO Rongliang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040354>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同提取方法猴头菇粗多糖的表征及其抗氧化活性的比较

Characterization and antioxidant activity analysis on the crude *Hericium erinaceus* polysaccharides extracted by different methods
食品工业科技. 2017(03): 80-86

猴头菇醇提物及其不同极性部位的体外抗氧化活性

In vitro antioxidant activity of ethanol extract from *Hericium erinaceus* and its different polar fractions
食品工业科技. 2017(21): 16-20

桑树桑黄总三萜提取工艺优化及其降血脂、抗氧化活性研究

Optimization of Extraction Technology of Total Triterpenoids from *Inonotus sanghuang* and Their Hypolipidemic and Antioxidant Activities
食品工业科技. 2021, 42(7): 208-215

树舌灵芝化学成分分析及其多糖、三萜组分的抗氧化活性

Analysis of chemical constituents of *Ganoderma lucidum* and its antioxidant activity in polysaccharides and triterpenoids
食品工业科技. 2017(19): 63-66

尾巨桉树皮提取物抗氧化活性及其成分分析

Analysis of Antioxidant Activity and Active Components of *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* Bark Extracts
食品工业科技. 2019, 40(1): 23-28

猴头菇多糖的乙酰化修饰及其抗氧化活性研究

Acetylation modification of polysaccharides from *Hericium erinaceus* and its antioxidant activity
食品工业科技. 2018, 39(8): 50-55



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李英迪, 曹艳, 夏其乐, 等. 猴头菇三萜提取工艺优化及其抗氧化活性分析 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(22): 153-159. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020040354

LI Yingdi, CAO Yan, XIA Qile, et al. Optimization of Extraction Process of *Hericium erinaceus* Triterpenes and Its Antioxidant Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(22): 153-159. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020040354

· 工艺技术 ·

猴头菇三萜提取工艺优化及其 抗氧化活性分析

李英迪¹, 曹艳¹, 夏其乐^{1,*}, 杨开², 毛荣良³

(1. 浙江省农业科学院 食品科学研究所, 农业农村部果品采后处理重点实验室,
浙江省果蔬保鲜与加工技术研究重点实验室, 浙江杭州 310021;
2. 浙江工业大学食品科学与工程学院, 浙江杭州 310014;
3. 常山县豪锋农业发展有限公司, 浙江常山 324207)

摘要: 为确定猴头菇三萜最佳提取工艺参数, 通过 Box-Behnken 响应面法设计, 以乙醇浓度、提取温度、料液比为影响因素, 猴头菇三萜得率为响应值, 应用 Design expert 10.0.3 软件进行二次多项式拟合, 绘制等高线图和响应面图, 确定最佳提取条件, 并对其进行了抗氧化活性测定。结果表明, 最佳提取工艺条件为: 乙醇浓度 60%, 温度 55 ℃, 料液比 1:15 (g:mL), 验证试验显示猴头菇三萜得率为 0.28%, 与预测值接近, 说明响应曲面法建立的模型准确可靠, 能合理优化猴头菇三萜的提取工艺。DPPH·清除能力、还原力、ABTS⁺清除能力 3 种抗氧化体系综合评价表明, 提取物浓度与自由基清除力呈良好的剂量关系。猴头菇三萜提取物对 DPPH 和 ABTS⁺自由基半抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 (6.375±0.020) mg·mL⁻¹ 和 (0.355±0.040) mg·mL⁻¹, 其具有一定的抗氧化性。

关键词: 猴头菇, 三萜, 提取, 响应面法, 抗氧化性

中图分类号: S646.9

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)22-0153-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020040354

本文网刊:



Optimization of Extraction Process of *Hericium erinaceus* Triterpenes and Its Antioxidant Activity

LI Yingdi¹, CAO Yan¹, XIA Qile^{1,*}, YANG Kai², MAO Rongliang³

(1. Key Laboratory of Post-Harvest Handling of Fruits, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Fruits and Vegetables Postharvest and Processing Technology Research of Zhejiang Province, Institute of Food Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China;
2. Zhejiang University of Technology, College of Food Science and Technology, Hangzhou 310014, China;
3. Changshan Haofeng Agricultural Discovery Co., Ltd., Changshan 324207, China)

Abstract: In order to determine the optimal extraction process parameters of *Hericium erinaceus* triterpenes, the experiment was designed by Box-Behnken response surface method. Ethanol concentration, extraction temperature and material-liquid ratio were taken as the influencing factors, *Hericium erinaceus* triterpene yields were the response value. Design expert 10.0.3 software was used to establish quadratic polynomial fitting, draw contour map and response surface map. The best extraction conditions were screened out and the antioxidant activity was determined. The results showed that the optimal extraction process conditions were: Ethanol concentration 60%, temperature 55 ℃, material-liquid ratio 1:15(g:mL). Under this condition, the verification test showed that the yield of *Hericium erinaceus* triterpenes was 0.28%, close to the predicted value, indicating that the model established by the response surface method was accurate and reliable, and could

收稿日期: 2020-05-06

基金项目: 浙江省重点研发项目 (2019C02040)。

作者简介: 李英迪 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 农产品加工与综合利用, E-mail: 742051711@qq.com。

* 通信作者: 夏其乐 (1979-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 农产品精深加工与综合利用, E-mail: cookxql@163.com。

reasonably optimize the extraction process of *Hericium erinaceus* triterpenes. Through comprehensive evaluation of three antioxidant systems: DPPH-scavenging ability, reducing power, ABTS⁺ scavenging ability, as the concentration of the extract increased, there was a good dose relationship for free radical scavenging. The DPPH and ABTS⁺ free radical half-inhibitory concentrations(IC₅₀) were (6.375±0.020) mg·mL⁻¹ and (0.355±0.040) mg·mL⁻¹, respectively, and the triterpene of *Hericium erinaceus* had certain antioxidant properties.

Key words: *Hericium erinaceus*; triterpenoids; extraction; response surface analysis; antioxidant activity

猴头菇,又名猴头菌、刺猬菌等,属担子菌门、齿菌科、猴头属,是药食两用真菌和野生美味佳肴,是中国著名的四道菜之一^[1-2]。猴头菇中含多糖类、甾醇类、萜类、酚类等活性成分,具有抗氧化、降血脂、增强免疫力、抗癌、抗肿瘤、延缓衰老等功效^[3-5]。石凤敏等^[6]指出可以通过多糖和三萜类化合物的含量评价灵芝药用价值和品质。萜类化合物是由甲戊二羟酸衍生而成的天然产物,由多个异戊二烯结构单位构成,其中三萜类固醇和皂苷在细胞质中利用甲羟戊酸途径中的 IPP 合成^[7-8],是一类重要的次级代谢产物,除了具有抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗病毒、降血糖等功能外,还具有其他活性,如免疫调节、抗氧化、抗衰老、神经保护等生物学和药理学作用,具有广阔的开发应用前景^[7,9]。Bourgou 等^[10]从精油中分离出四种萜类化合物,通过氧自由基吸收能力评估萜类化合物的生物活性,发现其在体外均表现出抗氧化活性。凡芸等^[11]以杏鲍菇为原料,采用超声辅助法提取三萜化合物,最佳条件为:乙醇体积分数 70%、料液比 1:30 g·mL⁻¹、超声时间 25 min、提取温度 60 ℃,在此条件下,杏鲍菇中总三萜化合物的提取率达到 1.140%。邓春萌等^[12]研究牛樟芝固态发酵菌株体中三萜的最佳提取工艺条件为:浸提时间 3 h、料液比 1:30(g·mL⁻¹)、温度 70 ℃,在此条件下,得率为 3.43%。杨开等^[13]对牛樟芝总三萜超声辅助提取的最佳工艺条件为:提取时间 41 min、提取功率 80 W、料液比 1:20,总三萜得率为 3.84%±0.18%。牛樟芝三萜提取物具有较强的还原能力,并能有效清除 DPPH 自由基、ABTS 自由基和超氧阴离子自由基,其半清除浓度(EC₅₀)分别为 0.29、0.50、0.33 mg·mL⁻¹。邹思等^[14]采用回流提取法提取虎奶菇菌核总三萜最佳工艺参数为:乙醇浓度 95%、提取时间 2 h、提取温度 90 ℃、料液比 1:15(g·mL⁻¹),提取率为(2.29±0.06) mg·g⁻¹。菌核醇提取物对羟自由基、DPPH 自由基清除活性和 ABTS 自由基的清除能力半数抑制浓度(IC₅₀)分别为(0.425±0.01)、(3.25±0.05)和(18.35±2.32)mg·mL⁻¹,其表现出较强的羟自由基和良好的 DPPH 自由基清除活性,对 ABTS 自由基的清除能力相对较弱。萜类化合物具有非常好的应用前景,目前还没有关于猴头菇三萜类的研究。

本文以猴头菇为原料,利用响应面法优化猴头菇三萜提取工艺,以三萜得率为评价指标,并初步探索猴头菇三萜的体外抗氧化活性,以期开发天然抗氧化剂和功能性食品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

猴头菇 常山县豪锋农业发展有限公司提供干制品; 1, 1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)、2, 2'-氨基-双(3-乙基苯并噻唑胶-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、铁氰化钾 均购自上海源叶;乙醇、香草醛、冰乙酸、三氯乙酸、三氯化铁、高氯酸 均为分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司。

UV-1800 紫外/可见分光光度计 日本岛津公司; SCIENTZ-18N 冷冻干燥机 宁波新芝生物科技股份有限公司; R1002B 旋转蒸发器 上海申生科技股份有限公司; RE-52A 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; LXJ-HB 飞鸽低速大容量离心机 上海安亭科学仪器厂; BJ-300 多功能粉碎机 德清拜杰电器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 将猴头菇干制品粉碎机粉碎,过 100 目筛,密封后置于 4 ℃ 冷藏,备用。

1.2.2 三萜提取响应面实验 在前期预实验的基础上,进行提取工艺的优化。称取一定量的猴头菇干粉,按照不同料液比(1:10、1:20、1:30 g·mL⁻¹)和乙醇浓度(40%、60%、80%)进行超声辅助(40、60、80 ℃)提取 30 min(保鲜膜覆盖,防止挥发)。所得提取液 4000 r·min⁻¹ 离心 10 min,收集上清液,即猴头菇三萜提取液。将所得上清液旋蒸浓缩,冷冻干燥得提取物粉末。

采用 Design Expert 10.0.3 软件进行三因素三水平试验确定超声辅助(功率 500 W,频率 40 kHz,30 min)提取猴头菇三萜的最佳工艺参数,中心组合试验因素和水平见表 1。

表 1 猴头菇三萜提取试验的因素和水平
Table 1 Factors and levels of extraction experiment
triterpenoids from *Hericium erinaceus*

因素	符号	编码及水平		
		-1	0	1
乙醇浓度(% v/v)	X ₁	40	60	80
温度(℃)	X ₂	40	60	80
料液比(g:mL)	X ₃	1:10	1:20	1:30

1.2.3 猴头菇三萜含量的测定

1.2.3.1 标准曲线的绘制 参照王豪等^[15]方法,三萜测定以齐墩果酸为标准品,依次吸取 0.2 mg·mL⁻¹

齐墩果酸标准品溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 于 25 mL 比色管中,氮吹仪吹干溶剂,加入 0.5 mL $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的香草醛-冰乙酸和 1.0 mL 高氯酸,混合后 60°C 水浴 20 min,冰水冷却 15 min 后加入 3.0 mL 冰乙酸,室温反应 10 min,最后于 547 nm 处测吸光值,以齐墩果酸标准品浓度 $W(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ 为横坐标,吸光值 A 为纵坐标,绘制三萜含量标准曲线,并得线性回归方程。

1.2.3.2 三萜得率的计算 取 150 μL 提取液,用氮吹仪吹干样品,按 1.2.3.1 标曲操作测定样品浓度。根据标曲方程计算样品三萜含量。三萜得率可根据公式计算:

$$M = \frac{C \times N \times V}{m \times 1000} \times 100$$

式中: M 表示猴头菇三萜得率(%); C 表示齐墩果酸浓度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 表示提取液的总体积(mL); N 表示稀释倍数; m 表示猴头菇质量(g)。

1.2.4 抗氧化实验 抗氧化实验测定时,用 60% 乙醇将猴头菇三萜提取物配制成 $0.1 \sim 2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的样品待测液。

1.2.4.1 DPPH·清除能力测定 将猴头菇三萜提取液旋蒸浓缩并冷冻干燥成粉末,加 60% 乙醇配制成 0.5 、 1.0 、 1.5 、 2.0 、 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的样品待测液。参照杜丽娟等^[16]方法,并据实验情况稍作修改。取各浓度样品溶液 0.8 mL,加入 3.8 mL 浓度为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液(无水乙醇配制),摇匀后黑暗放置 30 min,并于 517 nm 处测吸光值。 V_C 为阳性对照,计算 DPPH·清除率公式如下:

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = (1 - (A_x - A_{x0}) / A_0) \times 100$$

式中: A_x 为不同浓度样品溶液的吸光值; A_{x0} 为 0.8 mL 不同浓度样品溶液和 3.2 mL 无水乙醇的吸光值; A_0 为 0.8 mL 蒸馏水和 3.2 mL DPPH 溶液的吸光值。

1.2.4.2 还原力测定 将猴头菇三萜提取液旋蒸浓缩并冷冻干燥成粉末,加 60% 乙醇配制成 0.5 、 1.0 、 1.5 、 2.0 、 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的样品待测液。参照林源等^[17]方法,并据实验情况稍作修改。取各浓度样品溶液 2.0 mL,加入 2.0 mL 浓度为 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液($\text{pH} 6.6$)和 2.0 mL 1% 铁氰化钾溶液混合均匀后于 50°C 水浴 20 min,再加入 2.0 mL 10% 三氯乙酸溶液后离心($3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 5 min),取 2.0 mL 上清液,加入 2.0 mL 蒸馏水、0.4 mL 0.1% FeCl_3 溶液混匀, 50°C 水浴 10 min 后在 700 nm 处测吸光值。蒸馏水代替样品溶液作为空白对照, V_C 为阳性对照。

1.2.4.3 ABTS⁺·清除能力测定 将猴头菇三萜提取液旋蒸浓缩并冷冻干燥成粉末,加 60% 乙醇配制成 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.4 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的样品待测液。

参照吴美媛等^[1]方法,并据实验情况稍作修改。将 $7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABTS⁺·溶液与 $2.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 过硫酸钾溶液等量混合反应,室温避光放置 12~16 h 得到 ABTS⁺·储备液。在 734 nm 波长处,用磷酸盐缓冲液($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} 7.4$)将 ABTS⁺·储备液稀释至吸光值达到 0.70 ± 0.02 , 得到 ABTS⁺·测定液。取各浓度样品溶液 1.0 mL 与 2.0 mL 上述 ABTS⁺·测定液混合均匀,室温避光反应 6 min 后于 734 nm 波长处测定吸光值。 V_C 为阳性对照,计算 ABTS⁺·清除率公式如下:

$$\text{ABTS}^+ \cdot \text{清除率}(\%) = (1 - (A_i - A_j) / A_0) \times 100$$

式中: A_i 为不同浓度样品溶液的吸光值; A_j 为不同浓度样品溶液和磷酸盐缓冲液的吸光值; A_0 为蒸馏水和 ABTS⁺·测定液的吸光值。

1.3 数据处理

平行实验 3 次,结果以均值 $\pm$ 标准差(means $\pm$ SD)表示,数据采用 SAS 8.1 进行显著性分析,使用 Microsoft Excel 绘图,Design Expert 10.0.3 软件得到响应面图。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

根据 1.2.3.1 标曲测定方法,分别以齐墩果酸标准品浓度为横坐标,547 nm 处吸光值为纵坐标绘制标准曲线,得线性回归方程为: $y = 0.0349x + 0.0018$, $R^2 = 0.9907$ 。结果表明三萜含量在 $0 \sim 25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。标准曲线如图 1 所示。

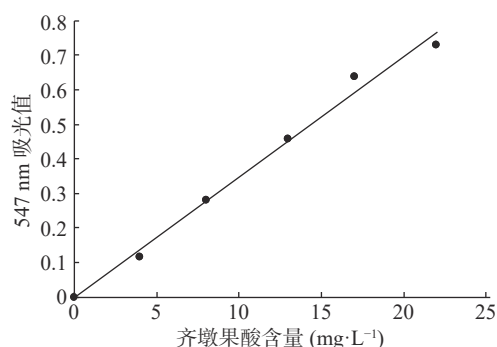


图 1 齐墩果酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of oleanolic acid

2.2 响应面优化结果

乙醇浓度、温度和料液比对三萜提取均有影响,为探究各因素之间的相互作用,确定最优条件,由 Box-Behnken 法设计试验^[18],有 5 个试验中心点,共 17 个试验点,以三萜得率为响应值,响应面法对猴头菇三萜类化合物提取工艺优化的试验方案及真实值如表 2 所示。与传统的多因素单变量优化实验相比,响应曲面法可以研究各因素之间的相互作用,具有试验次数少、省时省力、精确等优点^[19]。

对表 2 实验数据进行回归拟合,得到三萜得率的二次多项回归模型为:

表2 猴头菇三萜类化合物提取试验设计与试验结果

Table 2 Experimental design and results of triterpenoid extracts from *Hericium erinaceus*

试验号	X ₁ 乙醇浓度 (%, v/v)	X ₂ 温度 (℃)	X ₃ 料液比 (g:mL)	Y: 三萜得率 (%)
1	40	60	1:30	0.24±0.00
2	60	80	1:10	0.29±0.00
3	60	60	1:20	0.30±0.00
4	80	60	1:10	0.30±0.01
5	60	80	1:30	0.29±0.00
6	60	60	1:20	0.30±0.01
7	60	40	1:10	0.25±0.00
8	60	60	1:20	0.30±0.01
9	40	60	1:10	0.23±0.00
10	40	80	1:20	0.26±0.00
11	80	60	1:30	0.29±0.01
12	60	60	1:20	0.30±0.00
13	40	40	1:20	0.21±0.01
14	60	60	1:20	0.30±0.00
15	60	40	1:30	0.24±0.00
16	80	40	1:20	0.28±0.00
17	80	80	1:20	0.30±0.01

$$Y=0.30+0.029X_1+0.020X_2-1.250E-003X_3-7.500E-003X_1X_2-5.000E-003X_1X_3+2.500E-003X_2X_3-0.020X_1^2-0.018X_2^2-0.015X_3^2$$

其中, Y 代表三萜得率的预测响应值, X₁ 代表乙醇浓度(%)的编码值, X₂ 代表温度(℃)的编码值, X₃ 代表料液比(g/mL)的编码值。

对试验结果进行方差分析结果见表3, 回归模型具有较高的 F 值(150.87)和极低的 P 值(<0.0001), 表明该模型是高度显著的。复决定系数 R²=0.9949, 表明料液比、乙醇浓度和提取温度存在良好线性关

表3 三萜类化合物回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance in regression model of triterpenes

变异来源	平方和	自由度	均方和	F值	P值	显著性
模型	0.015	9	1.617E-003	150.87	<0.0001	**
X ₁	6.613E-003	1	6.613E-003	617.17	<0.0001	**
X ₂	3.200E-003	1	3.200E-003	298.67	<0.0001	**
X ₃	1.250E-005	1	1.250E-005	1.17	0.3159	
X ₁ X ₂	2.250E-004	1	2.250E-004	21.00	0.0025	*
X ₁ X ₃	1.000E-004	1	1.000E-004	9.33	0.0185	*
X ₂ X ₃	2.500E-005	1	2.500E-005	2.33	0.1705	
X ₁ ²	1.684E-003	1	1.684E-003	157.19	<0.0001	**
X ₂ ²	1.289E-003	1	1.289E-003	120.35	<0.0001	**
X ₃ ²	9.474E-003	1	9.474E-003	88.42	<0.0001	**
残差	7.500E-005	7	1.071E-005			
失拟项	7.500E-005	3	2.500E-005			
纯误差	0.000	4	0.000			
总变异	0.015	16				
R ²	0.9949					
R ² _{Adj}	0.9883					

注: *显著(P<0.05), **极显著(P<0.01)。

系, 模型误差小、拟合度较高。决定系数 R²_{Adj} 为 0.9883, 说明该模型可信度较高, 能够解释 98.83% 的响应值变化。信噪比 Adeq Precision 为 38.837>4, 表明方程的拟合度和可信度极高, 可用此模型对猴头菇三萜类化合物提取的影响因素进行可靠分析和预测。由表3各因素 F 值可知, 各个因素对三萜类化合物得率的影响程度为乙醇浓度(X₁)>温度(X₂)>料液比(X₃)。

2.3 三萜提取工艺的响应曲面分析、最佳工艺参数确定

Design Expert 10.0.3 软件得到响应面图(图2~图4)显示了不同试验因素(乙醇浓度、温度以及料液比)对猴头菇三萜类化合物提取的影响。由图2~图4可以看出各因素及其相互作用的影响, 在试验水平范围内出现了一个最高点, 即为三萜得率较高点, 响应面图所示最大响应值与回归方程所得结果一致。黑育荣等^[20]对桦菌芝三萜最佳提取工艺参数为: 乙醇浓度 70%, 超声温度 70℃, 时间 15 min, 料液比 1:15, 提取率为 3.87 mg·g⁻¹。温慧萍等^[21]对灵芝孢子粉三萜最佳提取条件: 乙醇浓度 80%, 固液比 1:23, 超声功率 540 W, 提取温度 40℃, 提取时间 15 min, 提取率 7.054 mg·g⁻¹。由于原材料不同, 最优提取条件下的得率也会有所差别。由 Design Expert 10.0.3 软件分析结果可知, 猴头菇三萜类化合物超声波辅助提取的最佳工艺参数为: 乙醇浓度 58.57%, 温度 57.25℃, 料液比 1:14.61(g:mL)。工艺参数预测的三萜得率为 0.28%。为了操作方便, 将

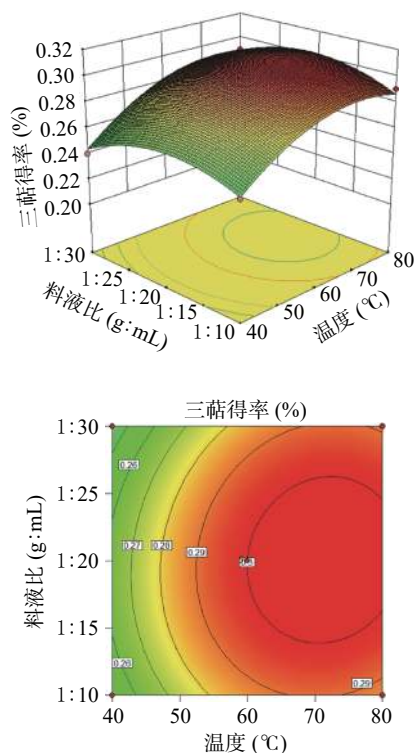


图2 提取温度与料液比对猴头菇三萜得率影响的响应曲面图和等高线图

Fig.2 Response surface graph and contour plot of the effect of extraction temperature and material-liquid ratio on the yield of *Hericium erinaceus* triterpenes

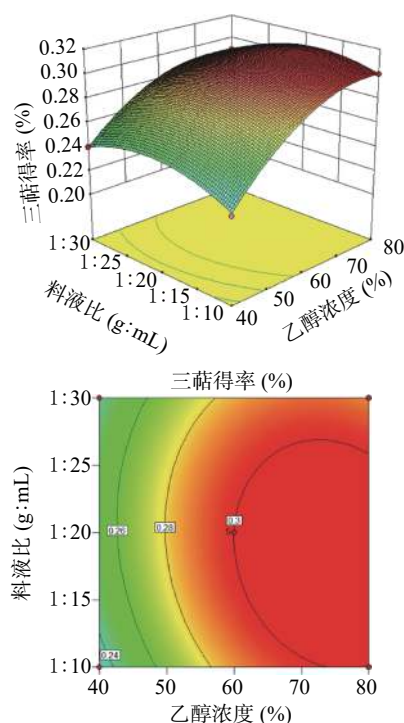


图 3 乙醇浓度与料液比对猴头菇三萜得率影响的响应曲面图和等高线图

Fig.3 Response surface graph and contour plot of the effect of ethanol concentration and material-liquid ratio on the yield of *Hericium erinaceus* triterpenes

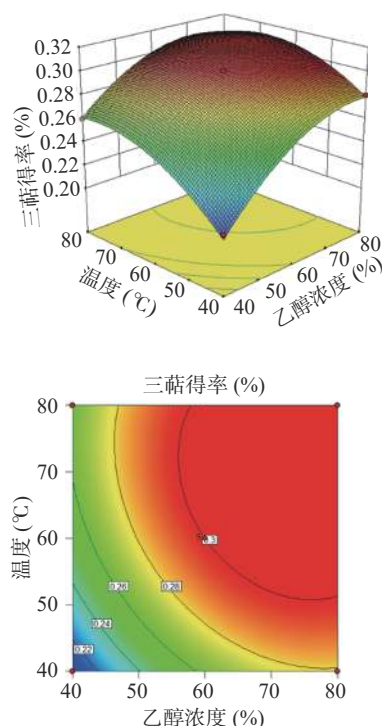


图 4 乙醇浓度与提取温度对猴头菇三萜得率影响的响应曲面图和等高线图

Fig.4 Response surface graph and contour plots of the effect of ethanol concentration and extraction temperature on the yield of *Hericium erinaceus* triterpenes

最佳工艺参数设定为乙醇浓度 60%, 温度 55 ℃, 料液比 1:15(g:mL)。为检验响应面分析法可靠性, 采

用上述最优条件 3 次重复试验得率为 0.28%, 与预测值较为接近, 表明该模型对猴头菇三萜类化合物的提取工艺参数准确可靠, 具有实际应用价值。

2.4 猴头菇三萜抗氧化活性

2.4.1 DPPH·清除能力 如图 5 所示, 当提取物浓度在 0.5~2.5 mg·mL⁻¹ 范围时, 随着提取物浓度的增加对 DPPH·清除率逐渐增加, 提取物浓度与 DPPH·清除率呈正相关量效关系。在质量浓度为 2.5 mg·mL⁻¹ 时, 对 DPPH·清除率为 25.4%, 清除率相对较低。帅良等^[22] 研究百香果果皮多糖对 DPPH·清除能力时, 也发现其清除率相对较低, 质量浓度为 2.0 mg·mL⁻¹ 时, 清除率为 32.8%。而 V_C 质量浓度在 0.01~0.05 mg·mL⁻¹ 范围内增加显著, 超过 0.03 mg·mL⁻¹ 时, 对 DPPH·清除率趋于平缓, 0.05 mg·mL⁻¹ 时达到 95.2%。由图 5 可知, 猴头菇三萜对 DPPH·具有一定的清除能力, 其中, IC₅₀ 值(6.375±0.020) mg·mL⁻¹ 明显高于 V_C 的 IC₅₀ 值(0.0194±0.0060) mg·mL⁻¹, 说明猴头菇三萜抗氧化能力相比 V_C 较弱, 这与张意笠等^[23] 研究结香花总黄酮对 DPPH·清除率弱于 V_C 的结果一致。

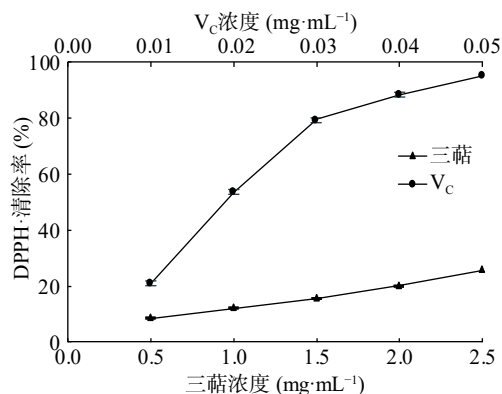


图 5 猴头菇三萜对 DPPH·清除率
Fig.5 DPPH· scavenging rate of *Hericium erinaceus* triterpenes

2.4.2 还原能力 样品的抗氧化能力与还原性有关, 还原力越强, 抗氧化能力越强。由图 6 可知, 样品浓度为 0.5~2.5 mg·mL⁻¹ 时, 提取物还原能力随样品浓度的增加呈明显的量效关系, 测得 700 nm 处的吸光

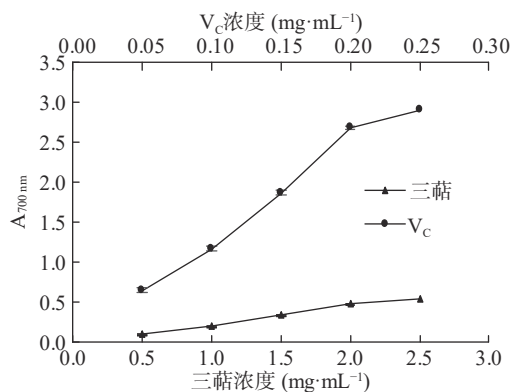


图 6 猴头菇三萜还原能力
Fig.6 Reducing power of *Hericium erinaceus* triterpenes

值由 0.107 增加到 0.553。其中, $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 提取物还原力与 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 V_C 相当, 虽然提取物还原力较 V_C 弱, 但也表现出一定的还原能力。

2.4.3 ABTS⁺清除能力 如图 7 所示, 当提取物浓度在 $0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围时, 对 ABTS⁺清除率随着提取物浓度的增加而增加, 具有良好的线性关系和剂量关系。当浓度达到 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 ABTS⁺清除率达到 64.4%, 其 IC_{50} 值为 $(0.355 \pm 0.040) \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 表明猴头菇三萜对 ABTS⁺具有良好的清除作用。结合参考文献 [24] 及前期实验浓度 V_C 浓度在 $0.01 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围时, 对 ABTS⁺清除率稳定在 97% 左右, 由此可见, 猴头菇三萜与 V_C 相比对 ABTS⁺清除能力较弱。

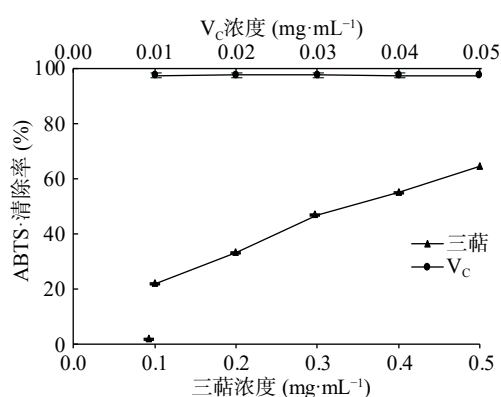


图 7 猴头菇三萜对 ABTS⁺清除率

Fig.7 ABTS⁺ scavenging rate of *Hericium erinaceus* triterpenes

3 结论

本研究通过 Box-Behnken 试验设计结合响应面法优化猴头菇三萜提取的影响因素乙醇浓度、提取温度、料液比, 最终确定最佳提取工艺条件为: 乙醇浓度 60%, 温度 55 °C, 料液比 1:15(g:mL), 三萜得率相对较高, 为 0.28%, 与预测值接近, 说明响应曲面法准确可靠, 能合理优化猴头菇三萜的提取工艺, 为进一步开发利用提供理论参考。以 DPPH·自由基清除率、还原力、ABTS⁺自由基清除率为指标测定抗氧化活性, DPPH 和 ABTS⁺的 IC_{50} 值分别为 (6.375 ± 0.020) 和 $(0.355 \pm 0.040) \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 说明猴头菇三萜具有一定的抗氧化性。

参考文献

[1] 吴美媛, 王喜周, 周英, 等. 猴头菇不同活性部位体外抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(17): 12-14. [WU M Y, WANG X Z, ZHOU Y, et al. *In vitro* antioxidant activity of different extracts of *Hericium*[J]. Food Research and Development, 2013, 34(17): 12-14.]

[2] JIANG S, WANG S, SUN Y, et al. Medicinal properties of *Hericium erinaceus* and its potential to formulate novel mushroom-based pharmaceuticals[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2014, 98(18): 7661-7670.

[3] 周春晖, 黄越, 刘婷婷, 等. 猴头菇醇提物乙酸乙酯萃取相组

分的分离与鉴定[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 32-37.

[ZHOU C H, HUANG Y, LIU T T, et al. Isolation and identification of the components of the fractions in ethyl acetate phase from ethanol extract of *Hericium erinaceus*[J]. Food Industry Technology, 2019, 40(21): 32-37.]

[4] LI H, PARK S, MOON B K, et al. Targeted phenolic analysis in *Hericium erinaceum* and its antioxidant activities[J]. Food Science & Biotechnology, 2012, 21(3): 881-888.

[5] CHAIYAVAT C, BHAGAVATHI S S. Anti-hyperglycemic property of *Hericium erinaceus*-A mini review[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2017, 7(11): 1036-1040.

[6] 石凤敏, 佟曦然, 丁自勉, 等. 三种灵芝不同部位的活性成分含量差异性分析[J]. 中国医药科学, 2013, 3(21): 33-35, 40.

[SHI F M, TONG X R, DING Z M, et al. Difference analysis of active components content in different medicinal parts of three species of *Ganoderma lucidum*[J]. Chinese Medical Science, 2013, 3(21): 33-35, 40.]

[7] 张建红, 刘琬菁, 罗红梅. 药用植物萜类化合物活性研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2018, 20(3): 419-430.

[ZHANG J H, LIU W Q, LUO H M. Advances in activities of terpenoids in medicinal plants[J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2018, 20(3): 419-430.]

[8] AUGUSTIN J M, KUZINA V, ANDERSEN S B, et al. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins[J]. Phytochemistry, 2011, 72(6): 435-457.

[9] KHALIDA M, RUFINO-PALOMARES E E, PÉREZ-JIMÉNEZ AMALIA, et al. Maslinic acid, a triterpene from olive, affects the antioxidant and mitochondrial status of B16F10 melanoma cells grown under stressful conditions[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015(2015-7-7): 11.

[10] BOURFOU S, PICHETTE A, LAVOIE S, et al. Terpenoids isolated from Tunisian *Nigella sativa* L. essential oil with antioxidant activity and the ability to inhibit nitric oxide production[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2012, 27(1): 69-74.

[11] 凡芸, 宋雅, 孙月, 等. 超声辅助乙醇提取杏鲍菇总三萜化合物工艺研究[J]. 食品工业, 2016, 37(08): 124-126. [FAN Y, SONG Y, SUN Y, et al. Research on the extraction technology of total triterpenes from *Pleurotus eryngii* by ethanol association with ultrasonic[J]. Food industry, 2016, 37(08): 124-126.]

[12] 邓春萌, 王哑倩, 吴美媛. 牛樟芝固态发酵菌丝体三萜及多糖提取工艺优化研究[J]. 生物技术进展, 2020, 10(3): 328-331.

[DENG C M, WANG Y Q, WU M Y. Study on Optimization of triterpene and polysaccharide extraction from solid fermentation mycelium of *Antrodia camphorate*[J]. Progress in Biotechnology, 2020, 10(3): 328-331.]

[13] 杨开, 徐梦婷, 王功紫, 等. 牛樟芝总三萜超声提取及体外活性研究[J]. 核农学报, 2018, 32(1): 112-122. [YANG K, XU M T, WANG Y Y, et al. Ultrasonic-assisted extraction and *in vitro* activity evaluation of total triterpenoids from *Antrodia camphorate*[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2018, 32(1): 112-122.]

[14] 邹思, 易骏, 吴岩斌, 等. 虎奶菇菌核总三萜提取工艺优化

- 及抗氧化活性研究[J]. *海峡药学*, 2020, 32(1): 25–29. [ZOU S, YI J, WU Y B, et al. Optimization of extraction process of total triterpenoids and antioxidant activity of the sclerotia from *Pleurotus tuber-regium*[J]. *Strait Pharmacy*, 2020, 32(1): 25–29.]
- [15] 王豪, 涂宗财, 罗亚林, 等. 七种坚果仁中多酚、三萜含量及其抗氧化活性比较[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(6): 219–224. [WANG H, TU Z C, LUO Y L, et al. Contents of polyphenols and triterpenoids in seven types of nuts and their antioxidant activities[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2019, 45(6): 219–224.]
- [16] 杜丽娟, 苏秀芳, 梁翠君. 樱花叶总黄酮的超声波法提取工艺优化及其抗氧化能力的研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(11): 221–225, 233. [DU L J, SU X F, LIANG C J. Study on the optimization of ultrasonic extraction technology and antioxidant capacity of total flavonoids from *Cerasus* leaves[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020, 41(11): 221–225, 233.]
- [17] 林源, 陈培, 周明明, 等. 天然居群青钱柳叶主要生物活性物质及抗氧化活性研究[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2020, 44(2): 10–16. [LIN Y, CHEN P, ZHOU M M et al. Key bioactive substances and their antioxidant activities in *Cyclocarya paliurus*(Batal.) Iljinskaja leaves collected from natural population[J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2020, 44(2): 10–16.]
- [18] FERREIRA S L C, BRUNS R E, FERREIRA H S, Et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 597(2): 179–186.
- [19] 陈新瑶, 董星, 陈景杰, 等. 响应曲面法优化猴头菇粗多糖的提取工艺[J]. *中国农业科技导报*, 2017, 19(3): 131–136. [CHEN X Y, DONG X, CHEN J J et al. Optimization of extraction process for crude polysaccharide from *Hericium erinaceus* by response surface methodology[J]. *China Agricultural Science and Technology Review*, 2017, 19(3): 131–136.]
- [20] 黑育荣, 陈胜发, 彭修娟, 等. 响应面法优化桦菌芝三萜超声提取工艺[J]. *陕西农业科学*, 2019, 65(9): 65–69. [HEI Y R, CHEN S F, PENG X J et al. Optimal supersonic extraction process for *Candida triterpene* by response surface method[J]. *Shaanxi Agricultural Sciences*, 2019, 65(9): 65–69.]
- [21] 温慧萍, 雷伟敏, 柯乐芹, 等. 灵芝孢子粉总三萜的提取优化及其体外生物活性[J]. *浙江农业学报*, 2020, 32(4): 705–713. [WEN H P, LEI W M, KE L Q et al. Optimization of total triterpenoids extraction from *Ganoderma lucidum* spore powder and evaluations of their biological capacities *in vitro*[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2020, 32(4): 705–713.]
- [22] 帅良, 廖玲燕, 段振华, 等. 百香果果皮多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J/OL]. *食品工业科技*: 1–12[2020-07-01]. [SHUAI L, LIOA L Y, DUAN Z H et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from passion fruit peel and its antioxidant activity[J/OL]. *Science and Technology of Food Industry*: 1–12 [2020-07-01].]
- [23] 张意笠, 程汝滨, 黄真, 等. 响应面法优化结香花总黄酮提取工艺及其抗氧化活性[J/OL]. *食品工业科技*: 1–20[2020-07-01]. [ZHANG Y Q, CHENG R B, HUANG Z et al. Optimization of the extraction technology of total flavonoids from *Edgeworthia chrysantha* Lindl. by response surface analysis and its antioxidant activities *in vitro*[J/OL]. *Science and Technology of Food Industry*: 1–20 [2020-07-01].]
- [24] 黄越. 猴头菇抗氧化活性成分的分离纯化及结构鉴定研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018. [HUANG Y. Study on the isolation, purification and structure identification of antioxidant constituents in *Hericium erinaceus*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.]