

# 褐蘑菇总三萜类化合物提取工艺的研究

黄 静, 沈 芳, 闫 晗, 常 兴

(辽宁工程技术大学, 辽宁 阜新 123000)

**摘要:**以褐蘑菇为原料研究了提取温度、提取时间、有机溶剂种类及料液比对总三萜类化合物提取量的影响。单因素试验结果表明:提取温度、提取时间、有机溶剂种类及料液比均对总三萜提取量有影响。正交试验结果表明:有机溶剂种类是影响褐蘑菇总三萜提取量的主要因素;褐蘑菇总三萜的最佳提取温度为 70℃, 有机溶剂为乙醇, 提取时间 1.5 h, 料液比 1:20。该工艺操作简单, 重复性好。

**关键词:**褐蘑菇; 三萜; 提取

**中图分类号:** S646.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2010)10-0139-03

三萜类化合物具有促进智力、延缓衰老、改善记忆力的作用, 同时还具有溶血、抗癌、抗炎、抗菌<sup>[1]</sup>等活性。褐蘑菇是双孢蘑菇的近缘种, 是欧美市场最畅销的食用菌名贵品种, 除具备一般蘑菇所具有的高蛋白、低脂肪、低胆固醇特点外, 还具有提高人体免疫力、防癌抗癌、保肝护肝、美容驻颜<sup>[2]</sup>等作用。褐蘑菇易于获取, 但目前对其研究主要集中在多糖、多肽等方面, 而对其三萜类化合物的研究极少<sup>[3-5]</sup>。为充分利用资源优势, 选取褐蘑菇为原料, 对其中总三萜类化合物的最佳提取工艺进行研究, 以利于褐蘑菇的研究应用及进一步推广。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试材料 褐蘑菇(辽宁田园实业有限公司)、熊果酸( $\geq 98\%$  HPLC)(大连博迈科技发展有限公司), 其余试剂均为国产分析纯。

1.1.2 仪器 电动粉碎机(上海嘉定粮油仪器有限公司)、电子天平 FA2104N(上海精密科学仪器有限公司)、恒温水浴锅(上海科折试验仪器厂)、752 紫外可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 标准曲线的绘制 准确称取熊果酸标准

品 0.25 mg, 甲醇定容至 25 mL, 配制成 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> 标准溶液。分别取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL 标准液, 水浴加热, 除去溶剂后, 加入 0.2 mL 新配制的 5% 香草醛-冰乙酸及 1 mL 高氯酸, 60℃ 恒温水浴加热 10 min, 取出流水冷却至室温, 再加入 5 mL 冰乙酸, 摇匀, 于 548 nm 处测定吸光度, 绘置标准曲线<sup>[6]</sup>。

1.2.2 原材料处理 采摘于辽宁田园实业有限公司生产的新鲜褐蘑菇, 洗净后于 80℃ 烘箱内干燥 20 h, 取出后用粉碎机充分粉碎, 并过筛(40 目)制成褐蘑菇粉备用。

1.2.3 单因素试验 准确称量 5 份褐蘑菇粉(每份 1.00 g)于 5 个锥形瓶中, 标号为 1~5。分别加入不同料液比、不同种类的有机溶剂, 在不同温度水浴锅中回流不同时间。之后过滤、定容到 30 mL, 再稀释 10 倍, 分别取 2 mL 于小试管中按 1.2.1 测定吸光度, 计算总三萜的提取量。

$$X = \frac{m \times C}{M} \times 10^{-3}$$

其中 X 为样品中总三萜含量/mg·g<sup>-1</sup>; m 为测得的吸光度值在总三萜标准线上显示的总三萜含量/ $\mu$ g, C 为稀释倍数; M 为样品质量/g。

1.2.4 正交试验 在单因素试验的基础上, 以提取温度、提取时间、有机溶剂种类、料液比为考察因素, 以测得的褐蘑菇中总三萜含量为指标, 选用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表对褐蘑菇中总三萜的提取工艺进行研究(见表 1), 每组试验重复 2 次。

收稿日期: 2010-07-09

基金项目: 辽宁工程技术大学优秀青年基金资助项目(09-272)

第一作者简介: 黄静(1978-), 女, 辽宁省沈阳市人, 在读博士, 讲师, 从事天然产物提取及活性研究。E-mail: 15918893@qq.com。

表 1 正交试验因素水平

水平	因素			
	A 温度/℃	B 时间/h	C 有机溶剂种类	D 料液比
1	65	1.0	乙醇	1:15
2	70	1.5	甲醇	1:20
3	75	2.0	异丙醇	1:25

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 温度对提取量的影响 由图 1 可知,随着温度的升高,总三萜提取量呈先上升后下降的趋势;当温度达到 70℃ 时,提取量最大。温度升高有助于传质过程,能够加快溶质的扩散及溶剂的渗透作用,增加总三萜的提取量;但随着温度升高,会显著加快醇溶性杂质的溶解速度,从而与总三萜竞争溶解于溶剂中,干扰总三萜的浸出速率;另外,温度过高可能会破坏部分三萜类化合物的结构。因此,提取温度选择 70℃ 为宜。

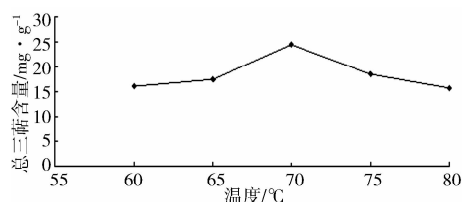


图 1 温度对提取量的影响

2.1.2 时间对提取量的影响 由图 2 可知,随着时间的延长,总三萜提取量呈逐渐上升的趋势,但上升幅度不大,而且时间过长可能会导致抽提的杂质增加。因此,从节能和省时角度考虑,选择时间 1.5 h 为宜。

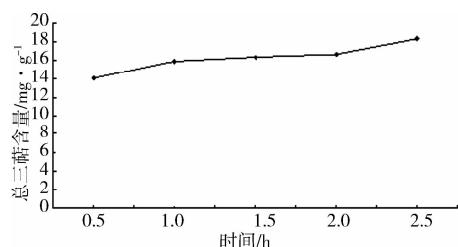


图 2 时间对提取量的影响

2.1.3 有机溶剂种类对提取量的影响 由图 3 可知,乙醇作为提取溶剂对褐蘑菇中总三萜的提取量最大,其次是异丙醇、甲醇,氯仿与乙酸乙酯对褐蘑菇总三萜提取量较小。有机溶剂对总三萜提取量的大小应与提取溶剂的极性大小有关,根据相似相容原理,极性越接近三萜化合物,提取效

果越好<sup>[7]</sup>。由试验可知乙醇的极性最接近褐蘑菇总三萜,作提取溶剂效果最佳。

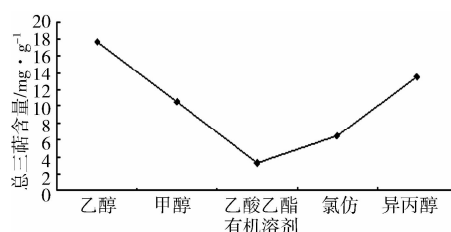


图 3 有机溶剂种类对提取量的影响

2.1.4 料液比对提取量的影响 由图 4 可知,褐蘑菇总三萜的提取量随料液比的增加而增加,但当料液比达到 1:20 时,增加幅度开始降低。由此可见,料液比过少会造成总三萜溶解不充分,影响总三萜的提取量;随着料液比增加,褐蘑菇中总三萜与溶液本体间的浓度差增大,有利于传质的进行,从而总三萜的提取量随之增加<sup>[8]</sup>;但料液比过大又会造成溶剂的浪费,并增加下一步浓缩工序的难度及能耗。因此,从经济及节约成本的角度考虑,选择料液比 1:20 为宜。

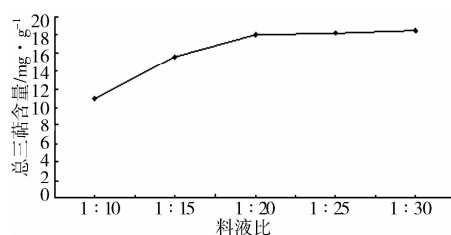


图 4 料液比对提取量的影响

### 2.2 正交试验结果

由表 2 极差分析结果可知,各因素影响先后次序为 C>B>A>D,即有机溶剂种类>时间>温度>料液比,最佳条件为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>,即选定提取温度为 70℃、时间为 1.5 h、有机溶剂为乙醇、料液比为 1:20 为最优工艺条件组合。按此最佳工艺条件进行 3 次验证试验,褐蘑菇总三萜的平均提取量可达到 35.01 mg·g<sup>-1</sup>。该工艺操作简单,重复性好。

表 2 正交试验结果分析

试验号	因素				总三萜平均 含量/mg·g <sup>-1</sup>
	A 提取温度/℃	B 提取时间/h	C 有机溶剂种类	D 料液比	
1	1	1	1	1	22.84
2	1	2	2	2	22.96
3	1	3	3	3	27.72
4	2	1	2	3	15.08
5	2	2	3	1	32.39
6	2	3	1	2	33.22
7	3	1	3	2	18.53
8	3	2	1	3	24.97
9	3	3	2	1	17.75
$\overline{k_1}$	24.51	18.82	27.01	24.32	
$\overline{k_2}$	26.90	26.78	18.60	24.91	
$\overline{k_3}$	20.42	26.23	26.21	22.59	
R	6.48	7.96	8.41	2.31	

3 结论

单因素试验结果表明,温度、时间、有机溶剂种类、料液比对褐蘑菇总三萜提取量均具有影响。正交试验结果表明,各因素对总三萜提取量的影响大小先后顺序为有机溶剂种类>时间>温度>料液比;最佳提取条件为温度 70℃、时间 1.5 h、有机溶剂乙醇、料液比 1:20。该工艺操作简单,重复性好,可为总三萜的提取工艺及褐蘑菇的开发应用提供科学依据。

参考文献:

[1] 罗莹,张志军,陈颖,等. 超声波法提取灵芝菌丝体总三萜的工艺[J]. 食品研究与开发,2009,30(6):76-78.  
[2] 刘莹,刘政,黄静,等. 褐蘑菇提取物对四氧嘧啶型糖尿病小

鼠降血糖活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2010,22(2):323-325.  
[3] 李娜. 褐蘑菇多糖提取及含量的测定[J]. 光谱实验室,2009,26(1):43-46.  
[4] 刘莹,赵富宝. 微波辅助法提取褐蘑菇多糖的研究[J]. 2009(1):13-15.  
[5] 刘莹. 褐蘑菇子实体活性多肽提取工艺[J]. 食用菌,2009(4):10-11.  
[6] 沈思. 茯苓皮中三萜的提取、分离纯化及其活性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2008.  
[7] 潘春丽,查勇,余晓斌. 桦褐孔菌三萜化合物提取工艺的优选[J]. 生物加工过程,2008(4):36-39.  
[8] 张瑞芬,范杰平,朱衷榜. 超声辅助提取柿叶中的总黄酮和总三萜[J]. 现代食品科技,2008,24(11):1133-1136.

Study on Extraction Process of Total Triterpenoid  
from Portabella Mushroom

HUANG Jing, SHEN Fang, YAN Han, CHANG Xing

(Science College of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000)

**Abstract:** The effects of extraction temperature and time, organic solvent, ratio of mushroom to liquid on extraction of total triterpenoid in portabella mushroom were studied. The results of single factor experiment showed: extraction temperature and time, organic solvent, ratio of mushroom to liquid all could affect extraction of total triterpenoid in portabella mushroom. The results of orthogonal experiment showed: organic solvent was the main factor that affected the extraction of triterpenoid in portabella mushroom. The best extraction condition was 70℃ (temperature), ethanol concentration (organic solvent), 1.5 h (time), 1:20 (the ratio of mushroom to liquid). The process was easy with good repeatability.  
**Key words:** portabella mushroom; triterpenoid; extraction