

## 蛹虫草子实体中类胡萝卜素的提取工艺优化

陈银岳<sup>1</sup>, 孙叶<sup>1,2</sup>, 霍永久<sup>1</sup>, 占今舜<sup>1</sup>, 刘明美<sup>1</sup>, 詹康<sup>1</sup>, 赵国琦<sup>1\*</sup>

(1.扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009; 2.扬州循天岭生物科技有限公司, 江苏 扬州 225009)

**摘要:**以蛹虫草中类胡萝卜素的提取得率为考察指标, 分别运用酸热提取法、超声提取法、酸热超声提取法、微波提取法、酸热微波提取法、丙酮提取法提取类胡萝卜素, 比较6种方法的提取得率, 得出酸热超声提取法是最好的提取方法。采用酸热超声提取法, 设盐酸浓度、酸浸时间、沸水浴时间、超声功率、超声温度和超声时间等6个单因素试验, 结合 $L_{27}(3^{13})$ 正交试验设计, 优化提取工艺参数。得出酸热超声提取法最优提取条件为盐酸浓度2.25 mol/L, 酸浸时间30 min, 沸水浴时间6 min, 超声功率400 W, 超声温度25 °C, 超声时间25 min, 类胡萝卜素提取得率可达1 134.88  $\mu\text{g/g}$ ; 影响提取得率大小的因素依次为超声功率、酸浸时间、盐酸浓度、沸水浴时间、超声温度、超声时间。

**关键词:** 蛹虫草; 类胡萝卜素; 酸热超声提取法; 工艺优化

中图分类号: S567.3+90.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2015)04-0416-07

## Process optimization for carotenoids extraction from fruit bodies of *Cordyceps militaris*

Chen Yinyue<sup>1</sup>, Sun Ye<sup>1,2</sup>, Huo Yongjiu<sup>1</sup>, Zhan Jinshun<sup>1</sup>, Liu Mingmei<sup>1</sup>, Zhan Kang<sup>1</sup>, Zhao Guoqi<sup>1\*</sup>

(1.College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 2.Yangzhou Shuntianling Biotechnology Company, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

**Abstract:** By taken extraction efficiency of carotenoids from *Cordyceps militaris* as an index, six different extraction approaches were compared for selecting the best one, they were heat acid extraction technique, ultrasonic wave extraction technique, heat acid-ultrasonic wave extraction technique, microwave extraction technique, heat acid microwave extraction technique and acetone extraction technique. The results showed that heat acid-ultrasonic wave extraction technique was the better one for extract carotenoids in *C.militaris*. The optimum approach was adopted to conduct six single-factor experiments, including HCl concentration, time of soaking in HCl, heating time, ultrasonic power, ultrasonic extraction temperature and ultrasonic extraction time, then the  $L_{27}(3^{13})$  orthogonal test was designed to optimize the extraction conditions. Results indicated that the extraction efficiency could reach up to 1 134.88  $\mu\text{g/g}$  under these conditions, they were the 2.25 mol/L concentration of HCl, 30 min of soaking time in HCl, 400 W of ultrasonic power, 6 min heating time, 25 °C ultrasonic extraction temperature and 25 min ultrasonic extraction time; These conditions ranked as follows in turn: ultrasonic power, time of soaking in HCl, HCl concentration, heating time, ultrasonic extraction temperature, ultrasonic extraction time.

**Keywords:** *Cordyceps militaris*; carotenoids; heat acid-ultrasonic wave extraction technique; process optimization

蛹虫草(*Cordyceps militaris*), 又名北冬虫夏草、北蛹虫草等, 属于麦角菌科真菌属子囊菌种<sup>[1]</sup>。蛹虫草含有多种生物活性物质, 包括虫草素、虫草多

糖、甘露醇(虫草酸)、类胡萝卜素以及多种氨基酸等<sup>[2-3]</sup>, 其中对虫草多糖、虫草素、虫草酸等的研究报道较多<sup>[4-6]</sup>, 而涉及虫草类的胡萝卜素相关报

道较少。类胡萝卜素是一类由8个异戊二烯单位连接而成的亲脂化合物<sup>[7]</sup>,可用作天然色素添加剂,应用于食品、化妆品等领域<sup>[8]</sup>。有研究指出,化工合成的类胡萝卜素不具有抗病效果<sup>[9]</sup>,而天然类胡萝卜素具有较好的抗癌、抗氧化功效<sup>[10-11]</sup>,所以开展天然类胡萝卜素的提取工艺研究很有必要。Dong等<sup>[12]</sup>从蛹虫草中提取出一类新的类胡萝卜素,并指出这种类胡萝卜素具有一定的水溶性,更易于机体吸收,这引发了天然类胡萝卜素研究领域的又一次激烈讨论。

常用类胡萝卜素的提取方法包括溶剂萃取法、酶反应法、微波提取法、超声提取法以及超临界流体萃取法等<sup>[13]</sup>。酶反应法需要使用价格昂贵的酶,而超临界流体萃取法需要专门的仪器设备,考虑到现有的设备条件以及试验成本,计划采用溶剂萃取法,并在前人成果的基础上设计不同的试验处理方法,提取蛹虫草类胡萝卜素,对比提取得率,得出较好的提取方法并对该方法的提取条件进行优化,以提高提取得率,为蛹虫草类胡萝卜素生物活性的研究及其产品开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

蛹虫草子实体品种为‘cm-20’,由扬州市农科院辐照中心提供,常温保存。 $\beta$ -类胡萝卜素标准品购自Sigma公司。丙酮、氯仿、石油醚、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)等购自国药集团,为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

LyoQUEST-55冷冻干燥机(德菲科学仪器有限公司);FW80高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);KQ-500DE超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);EM720微波炉(美的集团);FA2004万分天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);UV7502c紫外可见分光光度计(上海垒固仪器有限公司);SpectraMax M5酶标仪(美谷分子仪器有限公司)。

### 1.3 方 法

由于类胡萝卜素遇高温、光照、氧气环境易降解,故试验的所有操作都在弱光或无光条件下进行。

#### 1.3.1 蛹虫草粉末的制备

首先将所获得的蛹虫草子实体置于冷冻干燥

机内进行干燥,然后将冻干至恒重的蛹虫草子实体放入粉碎机中粉碎,过孔径为0.25 mm的筛,将过筛后的样品放入锡箔纸包裹的广口瓶中密封,保存于-30℃冰柜中。

#### 1.3.2 $\beta$ -胡萝卜素标准曲线方程的建立

称取4.6 mg  $\beta$ -胡萝卜素标准品,加入2 mL氯仿,然后用石油醚定容至50 mL。取定容好的石油醚溶液1 mL用丙酮定容至10 mL,再分别取定容好的丙酮溶液0、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL,用丙酮定容至2 mL,用分光光度计在450 nm处测吸光度值。以吸光度值为纵坐标,标准 $\beta$ -胡萝卜素浓度为横坐标,作标准曲线,得出线性回归方程为 $y=0.129x-0.09$ , $R^2=0.9993$ ,类胡萝卜素含量计算公式: $c=x \cdot V/m$ 。式中 $x$ 为根据标准曲线计算出的提取液中类胡萝卜素含量( $\mu\text{g/mL}$ ); $V$ 为丙酮提取液体积(mL); $m$ 为称取的粉末样品质量(g)。

#### 1.3.3 不同提取方法试验

在溶剂萃取的基础上,设计不同的试验处理方法,比较不同方法的提取效果,得出较好提取方法。具体如下:

1) 酸热提取法。参考张志军等<sup>[14]</sup>优化的酸热提取法(下称“优化法”)试验方案进行蛹虫草类胡萝卜素的提取。称取0.200 g蛹虫草粉末,按料液比1:10加入2 mol/L盐酸,浸泡40 min,沸水浴4 min,迅速冷却,加入蒸馏水洗涤,3 000 r/min离心10 min,弃上清液,重复洗涤1次。加入15 mL丙酮和适量抗氧化剂,室温下浸提30 min,3 000 r/min离心10 min,得上清液,即为类胡萝卜素提取液,之后用相同体积丙酮清洗沉淀2次,合并收集上清液,重复3次。

2) 超声提取法。称取0.200 g蛹虫草粉末,加入15 mL丙酮和适量抗氧化剂,室温下超声处理30 min(时刻监控水温,超声功率300 W),之后3 000 r/min离心10 min,得上清液,即为类胡萝卜素提取液,之后用相同体积丙酮清洗沉淀2次,合并收集上清液,重复3次。

3) 酸热超声提取法。称取0.200 g蛹虫草粉末,按料液比1:10加入2 mol/L盐酸,浸泡40 min,沸水浴4 min,迅速冷却,加入蒸馏水洗涤,3 000 r/min离心10 min,弃上清液,重复洗涤1次。加

入 15 mL 丙酮和适量抗氧化剂,室温下超声处理 30 min(时刻监控水温,超声功率 300 W),之后 3 000 r/min 离心 10 min,得上清液,即为类胡萝卜素提取液。用相同体积的丙酮清洗沉淀 2 次,合并收集上清液,重复 3 次。

4) 微波提取法。称取 0.200 g 蛹虫草粉末,加入 15 mL 丙酮和适量抗氧化剂,微波功率 70 W 处理 3 min,室温下浸提 27 min,3 000 r/min 离心 10 min,得上清液,即为类胡萝卜素提取液。用相同体积的丙酮清洗沉淀 2 次,合并收集上清液,重复 3 次。

5) 酸热微波提取法。称取 0.200 g 蛹虫草粉末,加 2 mol/L 盐酸 2 mL,浸泡 40 min,沸水浴 4 min,迅速冷却,加入蒸馏水,3 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,重复洗涤 1 次。加入 15 mL 丙酮和适量抗氧化剂,微波功率 70 W 处理 3 min,室温下浸提 27 min,3 000 r/min 离心 10 min,得上清液,即为类胡萝卜素提取液。用相同体积丙酮清洗沉淀 2 次,合并收集上清液,重复 3 次。

6) 丙酮提取法。称取 0.200 g 蛹虫草粉末,加入 15 mL 丙酮和适量抗氧化剂,研磨 3 min,室温下浸提 27 min,3 000 r/min 离心 10 min,得上清液即为类胡萝卜素提取液。用相同体积的丙酮清洗沉

淀 2 次,合并收集上清液,重复 3 次。

分别取等量上述 6 种方法提取得到的类胡萝卜素丙酮溶液,并加等体积蒸馏水混匀,在酶标仪上进行光谱扫描,扫描波长为 400~600 nm,扫描间隔 5 nm,得吸收光谱图。

收集经酸热处理后的 2 次水洗液,在酶标仪上进行光谱扫描,扫描波长范围为 400~600 nm,扫描间隔 5 nm,得吸收光谱图。

#### 1.3.4 酸热超声提取法单因素试验

比较 6 种不同提取方法的结果,得出酸热超声提取法为较好的提取方法。针对盐酸浓度(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mol/L),酸浸时间(20、30、40、50、60、70 min),沸水浴时间(3、5、7、9、11 min),超声功率(250、300、350、400、450 W),超声温度(10、20、30、40、50、60 °C),超声时间(10、20、30、40、50 min)6 个因素按 1.3.3 中酸热超声提取法进行单因素试验,以此来确定正交试验中因素的水平范围。

#### 1.3.5 正交试验

根据单因素试验的结果,设计正交试验方案并进行正交试验,以确定最优提取条件。

表 1 正交试验因素及水平

Table 1 Orthogonal factor level table

水平	A(盐酸浓度)/(mol·L <sup>-1</sup> )	B(酸浸时间)/min	C(沸水浴时间)/min	D(超声功率)/W	E(超声温度)/°C	F(超声时间)/min
1	2.25	25	4	350	15	15
2	2.50	30	5	400	20	20
3	2.75	35	6	450	25	25

#### 1.3.6 验证性试验

分别以蛹虫草粉末和新鲜蛹虫草子实体为材料,按照正交试验结果中最佳提取工艺进行试验,测定类胡萝卜素的提取得率。

#### 1.4 数据分析方法

采用 Excel 2003 进行绘图分析,利用 SPSS16.0 进行一元线性相关分析及正交试验的方差分析和 Duncan 多重比较分析。

## 2 结果与分析

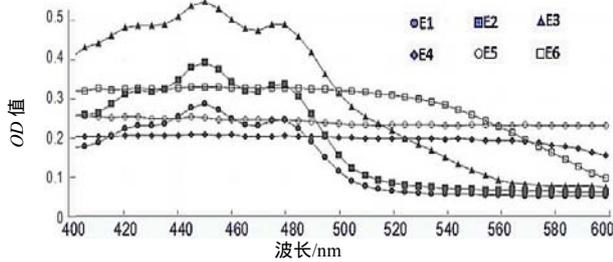
### 2.1 不同提取方法提取蛹虫草类胡萝卜素比较

酸热提取法的平均得率为 986.05 μg/g,远没有

张志军等以此法提取得到 2 158 μg/g 的高。分析原因,可能是提取方法不适宜或者菌种及来源的不同所导致类胡萝卜素提取得率的差别,因此,在提取本品种蛹虫草类胡萝卜素时,有必要进一步探究不同的处理方法并且优化提取条件。

提取液扫描光谱如图 2 所示,3 条光谱曲线(E1、E2、E3)呈现明显的三峰状(三峰状谱线为类胡萝卜素特征谱线<sup>[14-16]</sup>),由此可知,酸热提取法、酸热超声提取法以及酸热微波提取法都能从蛹虫草中提取到类胡萝卜素。蛹虫草类胡萝卜素的吸收峰在 450 nm 处。E3(酸热超声提取法)所得蛹虫草类胡萝卜素提取液的吸收值最大,所以酸热超声法是较好的提取方法。后 3 条谱线(E4、E5、E6)没有明显特征,

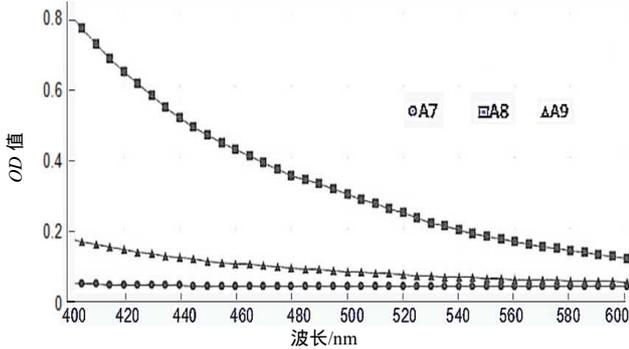
这表明超声提取法、微波提取法以及丙酮提取法不能明显从蛹虫草中提取到类胡萝卜素。



E1 酸热提取法；E2 酸热微波提取法；E3 酸热超声提取法；E4 超声提取法；E5 微波提取法；E6 丙酮提取法。

图 1 6 种不同方法所得丙酮提取液的光谱扫描图谱  
Fig.1 Spectrum chart of extracting solution from different extraction methods

收集酸热处理后的水洗液在 450 nm 波长下扫描，结果如图 2 所示。2 次水洗液的扫描曲线均未呈现特征图谱，故认为废弃的水洗液中不含有类胡萝卜素。



A7 蒸馏水；A8 第 1 次洗液；A9 第 2 次洗液。

图 2 水洗液扫描光谱

Fig.2 Spectrum chart of water

## 2.2 单因素试验结果

从表 2 可以看出，随着盐酸浓度增加，蛹虫草类胡萝卜素提取得率逐渐增加，当盐酸浓度为 2.5 mol/L 时，得率最高，为 1 030.81  $\mu\text{g/g}$ ，进一步增加盐酸浓度，得率迅速下降，确定较适宜的盐酸浓度为 2.5 mol/L。当酸浸时间为 30 min 时，蛹虫草类胡萝卜素提取得率最高，为 1 070.93  $\mu\text{g/g}$ ，随酸浸时间延长，得率逐渐降低，确定较适宜的酸浸时间为 30 min。当沸水浴时间为 5 min 时，蛹虫草类胡萝卜素提取得率达到最高，为 1 090.12  $\mu\text{g/g}$ ，水浴时间延长，提取得率下降，确定较适宜的沸水浴时间为 5 min。超声功率在 250~350 W 时，提取得率变化不大，当功率达到 400 W 时，提取得率升至最高，为 994.19  $\mu\text{g/g}$ ，随着超声功率的增大，提取得率下降，确定较适宜的超声功率为 400 W。当温度为 10  $^{\circ}\text{C}$  时，由于温度较低，类胡萝卜素的溶解度不够，所以得率较低。当温度提高到 20  $^{\circ}\text{C}$  时，提取得率最高，为 1 161.63  $\mu\text{g/g}$ ，之后随超声温度升高，得率逐渐下降，当温度达到 50  $^{\circ}\text{C}$  时，得率下降明显，确定较适宜的提取温度为 20  $^{\circ}\text{C}$ 。当超声时间为 20 min 时，提取得率最高，为 1 090.86  $\mu\text{g/g}$ ，之后随时间延长，得率稍有降低，确定较适宜的超声时间为 20 min。

表 2 单因素试验结果

Table 2 Requirements and Results of Single Factor

单因素试验	盐酸浓度/(mol·L <sup>-1</sup> )	酸浸时间/min	沸水浴时间/min	超声功率/W	超声温度/ $^{\circ}\text{C}$	超声时间/min	提取得率/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )
盐酸浓度	0.5	40	4	300	25	30	900.00
	1.0	40	4	300	25	30	919.19
	1.5	40	4	300	25	30	943.60
	2.0	40	4	300	25	30	957.56
	2.5	40	4	300	25	30	1 030.81
	3.0	40	4	300	25	30	971.51
酸浸时间	2.0	20	4	300	25	30	931.40
	2.0	30	4	300	25	30	1 070.93
	2.0	40	4	300	25	30	1 051.74
	2.0	50	4	300	25	30	1 027.33
	2.0	60	4	300	25	30	1 027.33
	2.0	70	4	300	25	30	1 004.65

表 2(续)

单因素试验	盐酸浓度/(mol·L <sup>-1</sup> )	酸浸时间/min	沸水浴时间/min	超声功率/W	超声温度/°C	超声时间/min	提取得率/(μg·g <sup>-1</sup> )
沸水浴时间	2.0	40	3	300	25	30	973.26
	2.0	40	5	300	25	30	1 090.12
	2.0	40	7	300	25	30	1 039.53
	2.0	40	9	300	25	30	1 023.84
	2.0	40	11	300	25	30	994.19
超声功率	2.0	40	4	250	25	30	952.33
	2.0	40	4	300	25	30	959.30
	2.0	40	4	350	25	30	961.05
	2.0	40	4	400	25	30	994.19
	2.0	40	4	450	25	30	992.44
超声温度	2.0	40	4	300	10	30	1 067.44
	2.0	40	4	300	20	30	1 161.63
	2.0	40	4	300	30	30	1 116.28
	2.0	40	4	300	40	30	1 101.74
	2.0	40	4	300	50	30	1 097.09
	2.0	40	4	300	60	30	1 026.16
超声时间	2.0	40	4	300	25	10	1 043.02
	2.0	40	4	300	25	20	1 091.86
	2.0	40	4	300	25	30	1 030.81
	2.0	40	4	300	25	40	1 023.84
	2.0	40	4	300	25	50	1 002.91

综上所述,确定盐酸浓度梯度为2.25、2.50、2.75 mol/L,酸浸时间梯度为25、30、35 min,沸水浴时间梯度为4、5、6 min,超声功率梯度为350、400、450 W,超声温度梯度为15、20、25 °C,超声时间梯度为15、20、25 min作为正交试验各因素的水平。

### 2.3 正交试验结果

从表3和表4可知,6个试验因素中,盐酸浓度、酸浸时间和超声功率对提取得率的影响达到显著水平,而沸水浴时间、超声温度和超声时间对试验结果的影响没有统计学意义;对提取得率大小的影

响因素顺序为超声功率、酸浸时间、盐酸浓度、沸水浴时间、超声温度、超声时间。Duncan多重比较分析结果表明,盐酸浓度2.25 mol/L提取效果较好,酸浸时间30 min和超声功率400 W提取效果较好,沸水浴时间、超声温度和超声时间的3个水平间无显著差异,沸水浴时间6 min和超声时间25 min提取效果较好,超声温度选择25 °C更利于试验操作,所以最优水平组合为盐酸浓度2.25 mol/L,酸浸时间30 min,沸水浴时间6 min,超声功率400 W,超声温度25 °C,超声时间25 min。

表 3 正交试验结果

Table 3 The project of orthogonal test and the results of extraction

试验编号	A(盐酸浓度)/(mol·L <sup>-1</sup> )	B(酸浸时间)/min	C(沸水浴时间)/min	D(超声功率)/W	E(超声温度)/°C	F(超声时间)/min	得率/(μg·g <sup>-1</sup> )
1	2.25	25.00	4.00	350.00	15.00	15.00	994.19
2	2.25	25.00	4.00	350.00	20.00	20.00	1 022.09
3	2.25	25.00	4.00	350.00	25.00	25.00	1 001.16
4	2.25	30.00	5.00	400.00	15.00	15.00	1 051.74
5	2.25	30.00	5.00	400.00	20.00	20.00	1 093.60
6	2.25	30.00	5.00	400.00	25.00	25.00	1 098.84
7	2.25	35.00	6.00	450.00	15.00	15.00	964.53
8	2.25	35.00	6.00	450.00	20.00	20.00	969.77

表 3(续)

试验编号	A(盐酸浓度)/ (mol·L <sup>-1</sup> )	B(酸浸时间)/ min	C(沸水浴时间)/ min	D(超声功率)/W	E(超声温度)/°C	F(超声时间)/ min	得率/ (μg·g <sup>-1</sup> )
9	2.25	35.00	6.00	450.00	25.00	25.00	1 029.07
10	2.50	25.00	5.00	450.00	15.00	20.00	971.51
11	2.50	25.00	5.00	450.00	20.00	25.00	1 074.42
12	2.50	25.00	5.00	450.00	25.00	15.00	1 058.72
13	2.50	30.00	6.00	350.00	15.00	20.00	957.56
14	2.50	30.00	6.00	350.00	20.00	25.00	1 036.05
15	2.50	30.00	6.00	350.00	25.00	15.00	922.67
16	2.50	35.00	4.00	400.00	15.00	20.00	931.40
17	2.50	35.00	4.00	400.00	20.00	25.00	887.79
18	2.50	35.00	4.00	400.00	25.00	15.00	905.23
19	2.75	25.00	6.00	400.00	15.00	25.00	995.93
20	2.75	25.00	6.00	400.00	20.00	15.00	976.74
21	2.75	25.00	6.00	400.00	25.00	20.00	1 027.33
22	2.75	30.00	4.00	450.00	15.00	25.00	1 030.81
23	2.75	30.00	4.00	450.00	20.00	15.00	1 009.88
24	2.75	30.00	4.00	450.00	25.00	20.00	994.19
25	2.75	35.00	5.00	350.00	15.00	25.00	1 037.79
26	2.75	35.00	5.00	350.00	20.00	15.00	1 016.86
27	2.75	35.00	5.00	350.00	25.00	20.00	1 043.02

表 4 方差分析结果

Table 4 The table of variance analysis

来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A(盐酸浓度)	14 389.76	2	7 194.88	5.77	0.015*
B(酸浸时间)	19 208.83	2	9 604.42	7.70	0.006*
C(沸水浴时间)	8 673.11	2	4 336.56	3.48	0.060
D(超声功率)	25 538.10	2	12 769.05	10.23	0.002*
E(超声温度)	2 409.20	2	1 204.60	0.97	0.405
F(超声时间)	1 213.82	2	606.91	0.49	0.625
误差	1 7471.74	14	1 247.98		

“\*”示差异显著( $P < 0.05$ )。

## 2.4 验证试验结果

按照优化后的提取条件,得到蛹虫草类胡萝卜素的平均提取得率为1 105.53 μg/g,新鲜子实体类胡萝卜素平均提取得率为1 134.88 μg/g。

## 3 讨论与结论

蛹虫草属于寄生真菌,表面覆盖有坚实细胞壁,用盐酸处理可以使细胞壁中原来结构紧密的某些成分(多糖和蛋白质等)变得疏松,同时配合沸水浴处理以及快速冷却处理,使细胞壁得以破坏,胞内类胡萝卜素才更容易释放出来<sup>[17]</sup>。另外,在酸热处理基础上,利用超声波产生的空化效应使胞内

形成空腔,使类胡萝卜素更容易从细胞中释放出来,而利用微波处理虽然也有利于胞内类胡萝卜素释放,但提取效果不及超声波处理的效果好。

提取过程中涉及到的各因素都会对类胡萝卜素的提取得率产生影响。盐酸浸泡配合沸水浴快速冷处理可以疏松蛹虫草子实体的细胞壁,便于类胡萝卜素从胞内释放,但盐酸浓度、酸浸时间以及沸水浴时间都需取值适当,不可过长,否则类胡萝卜素一旦释放出来后很快会被酸和热破坏,导致提取得率下降。用超声波处理酸浸后的虫草粉末将更有利于类胡萝卜素的释放,但同时也需要控制好超声处理的功率、时间和水温,恰当的酸热处理和超声波振荡能最大程度上保证类胡萝卜素在提取过程

中的稳定性。

蛹虫草收获后,保藏条件如光照、湿度以及温度等对类胡萝卜素的稳定性有一定影响,采用新鲜的蛹虫草子实体进行试验能最大程度上提取到更多的类胡萝卜素。本试验中新鲜子实体的提取得率为1 134.88 μg/g,低于张志军、王陶<sup>[18]</sup>报道的蛹虫草类胡萝卜素提取得率,原因可能是所使用的蛹虫草品种不同所致。针对这一问题,未来可以通过菌种筛选以及采用转基因技术等手段选育蛹虫草品种,以提高蛹虫草类胡萝卜素提取得率。

综合整个试验结果,得出以下结论:

- 1) 酸热超声提取法为本品种蛹虫草类胡萝卜素提取的较好方法。
- 2) 酸热超声提取法中对提取得率影响从大到小的因素依次为超声功率、酸浸时间、盐酸浓度、沸水浴时间、超声温度、超声时间。
- 3) 优化后的提取工艺为盐酸浓度2.25 mol/L,酸浸时间30 min,超声功率400 W,沸水浴时间6 min,超声温度25 ℃,超声时间25 min,新鲜蛹虫草类胡萝卜素的提取得率达1 134.88 μg/g。

参考文献:

- [1] Zheng Peng ,Xia Yongliang ,Xiao Guohua ,et al .Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris* , a valued traditional Chinese medicine[EB/OL]. [2011-12-11] . <http://genomebiology.com/2011/12/11/R116> .
- [2] Dong J Z , Ding J , Yu P Z , et al . Composition and distribution of the main active components in selenium-enriched fruit bodies of *Cordyceps militaris* link[J] . Food Chemistry , 2013 , 137(1) : 164-167 .
- [3] Dong J Z , Lei C , Ai X R , et al . Selenium enrichment on *Cordyceps militaris* link and analysis on its main active components[J] . Applied Biochemistry and Biotechnology , 2012 , 166(5) : 1215-1224 .
- [4] 高峰,于亚莉,刘静波,等.超声波提取北冬虫夏草多糖的工艺[J].食品研究与开发 2010,31(6):107-110.
- [5] 郭涛,张龙,王兵,等.不同培养基培育蛹虫草中的虫草素和腺苷含量测定[J].蚕业科学,2011,37(6):1117-1122.
- [6] 邓黎,韩涛,王晓虹,等.响应面法优化人工蛹虫草子实体中虫草酸微波提取工艺[J].天然产物研究与开发,2013,25(9):1249-1254.
- [7] 姜建国,王飞,陈倩.类胡萝卜素功效与生物技术[M].北京.化学工业出版社,2008:3-5.
- [8] 张晓斌,高仰哲.β-胡萝卜素的应用及研究进展[J].中国畜禽种业,2003(3):22-24.
- [9] Rock C L . Carotenoids : Biology and treatment[J]. Pharmacology & Therapeutics , 1997 , 75(3) : 185-197 .
- [10] Lu S , Li L . Carotenoid metabolism : Biosynthesis , regulation and beyond[J] . Journal of Integrative Plant Biology , 2008 , 50(7) : 778-785 .
- [11] Boeira S P , Del'Fabbro L , Roman S S , et al . Lycopene treatment prevents hematological , reproductive and histopathological damage induced by acute zearalenone administration in male swiss mice[J] . Experimental and Toxicologic Pathology , 2014 , 66(4) : 179-185 .
- [12] Dong J Z , Wang S H , Ai X R , et al . Composition and characterization of cordyxanthins from *Cordyceps militaris* fruit bodies[J] . Journal of Functional Foods , 2013 , 5(3) : 1450-1455 .
- [13] 姬小明,邵惠芳,刘金霞,等.类胡萝卜素的提取及分离方法研究进展[J].河南科学,2008,26(11):1337-1339.
- [14] 张志军,江晓路,牟海津,等.蛹虫草类胡萝卜素提取工艺的研究[J].食品科技,2007,32(4):99-103.
- [15] 孙军德,曹婧.不同北虫草菌株产类胡萝卜素分析[J].微生物学杂志,2012,32(3):95-97.
- [16] 付鸣佳.蛹虫草产类胡萝卜素的研究[J].食品与生物技术学报,2005(5):107-110.
- [17] 王岁楼.红酵母类胡萝卜素高产菌株的筛选及其发酵生理学条件研究[J].工业微生物,2001,31(1):19-22.
- [18] 王陶,李文,杨克.蛹虫草类胡萝卜素的热酸-超声复合提取工艺的研究[J].食品工业,2011(9):54-58.

责任编辑:尹小红

英文编辑:王 库