

响应面优化粗毛纤孔菌三萜提取工艺的研究

徐红云,王占斌*

(东北林业大学林学院,黑龙江哈尔滨 150040)

摘要:为提高粗毛纤孔菌三萜物质的得率,本研究首先通过单因素实验,确定影响提取的四个主要因子:溶剂体积分数、提取温度、料液比、提取时间的最佳条件。然后采用响应面分析法,研究各因子及它们的相互作用对三萜得率的影响。发现各因子对其三萜得率作用的先后顺序为:溶剂体积分数>提取温度>料液比>提取时间,且提取温度和提取时间的交互作用对三萜的得率存在显著性作用。并模拟二次回归方程,预测三萜最优的提取参数为:乙醇体积分数73%、提取温度67℃、料液比(g/mL)1:53.0、提取时间5.25h时,三萜的得率达4.59%。

关键词:粗毛纤孔菌,三萜化合物,提取,响应面分析

Optimization of the extraction technology of the triterpenoid from *inonotus hispidus* by response surface

XU Hong-yun, WANG Zhan-bin*

(Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In order to improve the extraction yield of triterpenoid from *inonotus hispidus*, the extraction technology of 4 main factors (ethanol concentration, temperature, solid-to-liquid ratio and time) were optimized based on single factor. Then the effects of the 4 factors and their interactions on triterpenoid extraction yield were studied by response surface. The most important factor influencing the extraction yield was ethanol concentration, followed by temperature, solid-to-liquid and extraction time. The interaction of extraction temperature and time had significant role in extraction yield of triterpenoid from *inonotus hispidus*. And quadratic regression equation was simulated, and the best extraction parameters were: ethanol concentration 73%, extraction temperature 67℃, solid-to-liquid ratio 1:53.0, extraction time 5.25h, and the extraction yield reached 4.59%.

Key words: *inonotus hispidus*; triterpenoids; extraction; response surface

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2013)23-0228-06

粗毛纤孔菌(*Inonotus hispidus*)是民间常见的一种药用真菌,其属于担子菌门,伞菌纲,锈革孔菌目,锈革孔菌科,纤孔菌属^[1-2]。粗毛纤孔菌主要分布于中国的西北至东北地带如新疆、甘肃、北京、山东、内蒙古、黑龙江等。由于其含有许多生物活性物质,在民间常用此菌治疗胃病、风湿、关节炎、糖尿病及癌症等各种疾病^[3-5],同时其还具有抗氧化^[6]、抗病毒^[7]等方面的作用。三萜类物质作为药用真菌的主要活性成份之一,广泛存在于自然界中。目前已从灵芝、

紫芝、樟芝、桦褐孔菌、层孔菌属阿里红和木蹄^[8]、牛肝菌等常见真菌中分离出三萜类化合物,其中包括四环三萜和五环三萜类^[9-11]。粗毛纤孔菌中含有丰富的生物活性物质,如:多糖类、萜类、皂苷类、酚类、和甾醇类等。Ali从粗毛纤孔菌中提取出化合物Hispidin和酚类化合物Hispolon,并且从其子实体中提取出3种黄褐色色素类成分Hispidin、Bis-noryangonin和Hypho-lomin^[12]。Casalicchio从粗毛纤孔菌中提取出许多氨基酸及脂类物质^[13-14]。然而国内对粗毛纤孔菌三萜类物质的提取研究相对较少。响应面优化法是一种有效地寻求最优工艺参数、解决多变量问题的统计方法^[15]。该方法广泛应

收稿日期:2013-06-03 *通讯联系人

作者简介:徐红云(1988-),女,硕士,研究方向:菌物学。

基金项目:黑龙江省攻关项目(WB10B107)。

445-449.

[16] 呼娜,李路宁,李雅松,等.磷酸酯板栗淀粉的工艺优化[J].食品工业科技,2013,34(7):281-285.

[17] 张维,李雪雁,张秀兰,等.响应面分析法优化菊芋渣中蛋白的提取工艺[J].食品工业科技,2012,33(1):305-307,

328.

[18] 李光磊,刘秀芳,曾洁.抗性淀粉分子结构特征研究[J].食品工业科技,2008,29(8):156-159.

[19] 高群玉,李素玲.绿豆抗性淀粉的制备及特性[J].华南理工大学学报:自然科学版,2011,39(4):88-93.

用于食品、化学、生物等领域的工艺配方设计和加工条件的优化。本研究使用水浴法提取粗毛纤孔菌三萜化合物,首先通过单因素确定各因子的最优条件,然后用响应面分析法对其三萜的提取参数进行优化,从而提高其三萜产量。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

粗毛纤孔菌(IH-69) 东北林业大学森林保护实验室分离保存;白桦脂醇标准品 天津一方试剂有限公司;甲醇、异丙醇、丙酮、氯仿、无水乙醇、乙酸乙酯、高氯酸、冰乙酸、丙酮、异丙醇、正己烷等 均为分析纯,伊事达试剂公司。

超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司;ZPQ-400 智能气候培养箱 哈尔滨市东明医疗仪器厂;Ultrospec 4300pro 紫外/可见分光光度计 Amersham 公司;STRATOS 高速冷冻离心机 Kendro;高压灭菌锅 日本 SANYO;恒温水浴箱 上海森信实验仪器有限公司;电热鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司;XT 220A 电子天平 Precisa 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的绘制 根据文献建立粗毛纤孔菌三萜含量的测定方法^[16],绘制标准曲线。

1.2.2 三萜得率的测定 称取 100mg 粗毛纤孔菌粉末于试管中,加入 5mL 70% 乙醇溶液于温度为 70℃ 的水浴锅中水浴 2h,后取 0.1mL 浸提液比色测定其三萜类物质的含量。

三萜得率(%) = 粗毛纤孔菌中三萜的含量/粗毛纤孔菌总质量 × 100

1.2.3 最佳提取溶剂确定实验 分别选择水、甲醇、异丙醇、丙酮、无水乙醇、氯仿、乙酸乙酯等溶剂 5mL,于 70℃ 水浴 2h 浸提样品后,比色计算三萜得率,确定最佳的提取溶剂。

1.2.4 单因素实验 本研究分别选择乙醇浓度,提取温度,提取时间和料液比为主要的的影响因子进行单因素实验,探讨此 4 个因素对粗毛纤孔菌三萜类物质得率的影响。溶剂体积分数的确定:称取粗毛纤孔菌样品 100mg,加入 5mL 体积分数分别为 50%、60%、70%、80%、90%、100% 乙醇溶液,于 70℃ 水浴浸提 2h。料液比的确定:称取粗毛纤孔菌样品 100mg,用 70% 乙醇,调节料液比为 (g/mL) 1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80 于 70℃ 水浴浸提 2h,按照 1.2.1 方法进行比色,计算总三萜得率。提取温度的确定:称取粗毛纤孔菌样品 100mg 用 70% 乙醇 5mL,分别在 30、40、50、60、70、80℃ 条件下水浴 2h,比色测定三萜含量。提取时间的确定:称取粗毛纤孔菌样品 100mg,用 70% 乙醇 5mL,在 70℃ 条件下分别水浴浸提 1、2、3、4、5、6h,比色测定三萜含量。

1.2.5 响应曲面法优化实验设计 在 1.2.4 的单因素实验基础上,筛选出最优的乙醇体积分数、料液比、提取温度、提取时间。根据中心组和实验设计原理,把上面 4 个因子作为变量,分别用 A、B、C、D 表示,以得率为响应值 Y,用 4 因素 5 水平的响应分析法求取优化的工艺参数,见表 1。

表 1 粗毛纤孔菌总三萜提取工艺
响应面实验因素水平编码表

Table 1 Factor and coded levels in Box-Behnken experimental design about triterpenoid yield of Inonotus hispidus

因素				
水平	A 溶剂 体积分数 (%)	B 提取温度 (℃)	C 料液比 (g/mL)	D 提取时间 (h)
-2	60	60	1:40	4.0
-1	65	65	1:45	4.5
0	70	70	1:50	5.0
1	75	75	1:55	5.5
2	80	80	1:60	6.0

2 结果与分析

2.1 三萜标准曲线的绘制

根据方法 1.2.1,得回归方程,如图 1 所示, $y = 0.009x + 0.0068$, $R^2 = 0.9992$,其中 x 为白桦脂醇的质量浓度(μg/mL),y 为吸光值。

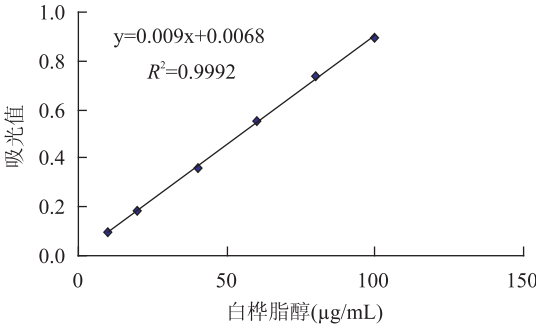


图 1 三萜标准曲线

Fig.1 The standard curve of the total triterpenoid

2.2 提取溶剂的确定

根据三萜类物质的性质,分别选择常见的甲醇、水、异丙醇、丙酮、乙醇、氯仿、乙酸乙酯等溶剂浸提,结果如图 2 所示,甲醇的三萜得率最高,其次为无水乙醇和水,异丙醇、乙酸乙酯、丙酮和氯仿等有机溶剂的得率相对低些。由于甲醇在实际操作及生产中含有毒性,且其残留对提取样品有一定污染性,所以决定选取无水乙醇作为最适合的提取溶剂。

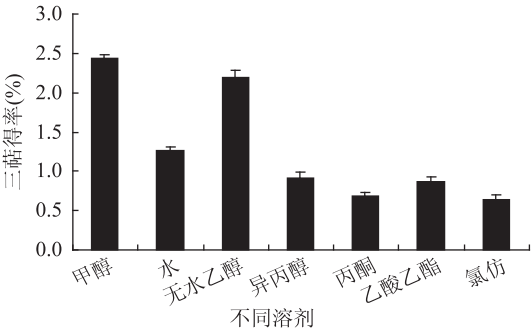


图 2 不同提取溶剂对三萜得率的影响

Fig.2 Effect of different extraction solvent on triterpenoid extraction yield

2.3 单因素对粗毛纤孔菌总三萜得率的影响

2.3.1 溶剂体积分数 粗毛纤孔菌三萜得率与溶剂

体积分数的关系如图3所示,随着乙醇体积分数的增大,粗毛纤孔菌三萜得率逐渐上升,当乙醇体积分数为70%时,得率最高为3.0%。但体积分数超过70%时,三萜得率呈下降趋势,一般三萜皂苷类物质极性较强,易溶于水和醇类物质,而合适的醇水比有利于三萜类物质的析出,所以以70%乙醇提取较佳。

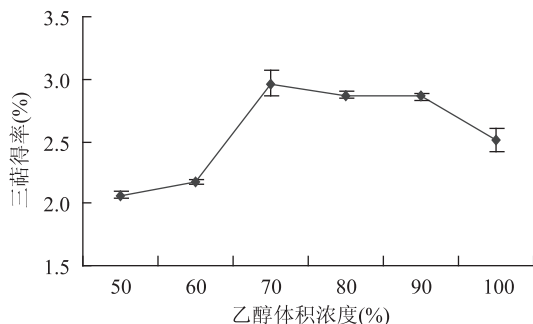


图3 溶剂体积分数对三萜得率的影响

Fig.3 Effect of ethanol concentration on triterpenoid extraction yield

2.3.2 料液比 粗毛纤孔菌三萜得率与料液比的关系如图4所示,随着料液比的增加,总三萜含量呈上升趋势,这是由于溶剂用量增加,可以使样品与溶剂接触面积增大,并且能够增大固液浓度差,有利于扩散速度的提高。当料液比为1:50时,三萜含量达到最高为2.98%。料液比大于1:50时,三萜得率增加不明显,甚至呈下降但逐渐趋于稳定,说明此时的浸提效果已达到饱和状态。为了最佳的三萜得率及节约原料成本,所以选择料液比为1:50。

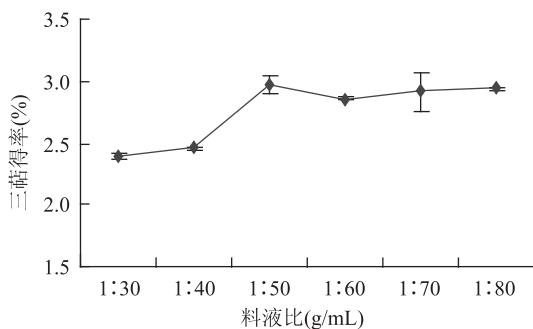


图4 料液比对三萜得率的影响

Fig.4 Effect of solid-to-liquid ratio on triterpenoid extraction yield

2.3.3 提取温度 三萜得率与提取温度的关系如图5所示,30~70℃范围内,随着温度的逐渐升高粗毛纤孔菌三萜得率不断上升,说明较高的温度有助于三萜类物质的溶出,但高于70℃时,三萜含量呈下降趋势,可能由于温度过高,溶剂易挥发且导致三萜类中挥发性的物质流失或降解,所以以70℃作为提取温度较佳。

2.3.4 提取时间 三萜得率与提取时间的关系如图6所示,水浴浸提时间越长,三萜得率越高;当浸提时间达到5h时,总三萜含量最高为3.19%。但超过5h后,随着时间的增加,三萜得率呈下降趋势,可能由于浸提时间过长了会导致三萜类物质的慢慢挥发及其它物质的慢慢析出阻碍提取效率,因此选择提

取时间为5h较好。

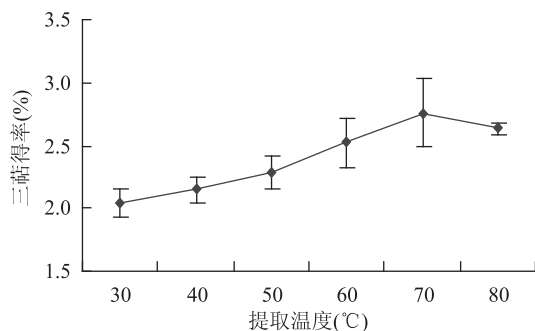


图5 提取温度对三萜得率的影响

Fig.5 Effect of temperature on triterpenoid extraction yield

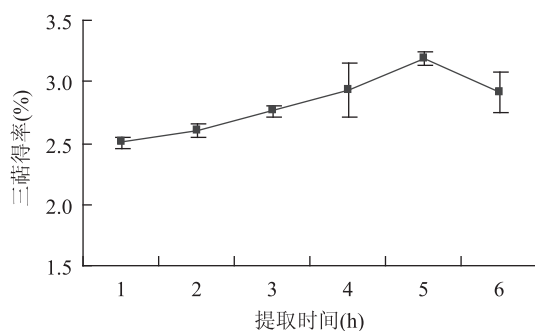


图6 提取时间对三萜得率的影响

Fig.6 Effect of time on triterpenoid extraction yield

2.4 响应面法优化粗毛纤孔菌总三萜类物质的提取工艺

2.4.1 响应面模型的建立与显著性检验 响应面优化法采用多元二次回归方程来拟合因素与响应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数。本实验采用 Design-expert 软件对实验数据进行二次多元回归分析,得到拟合模型为: $Y = 4.62095 + 0.067408A - 0.051567B + 0.049022C + 0.007708D - 0.010764AB + 0.020209AC - 0.006389AD - 0.011632BC - 0.10024BD + 0.013715CD - 0.070367A^2 - 0.094210B^2 - 0.073701C^2 - 0.071757D^2$ 。

对回归方程进行方差分析,结果见表3。从表3可以看出该二次回归模型的 p 值小于0.0001,表明该模型达到极显著水平,且 R^2 为0.9050, R_{Adj}^2 为0.8219,同时失拟项不显著,表明该方程对实验拟合度较好。由 F 值可知,各因素对三萜得率影响先后次序为: $A > B > C > D$ 。方程中 A 、 B 、 C 、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 、 BD 对响应值影响均表现出极显著,其它因素间的交互作用相对较小。

2.4.2 各因素的交互作用分析 为了考虑交互作用对三萜得率的影响,在其它因素条件固定不变的情况下,分析交互项对三萜得率的影响,通过 Design-expert 软件分析得响应面分析结果(图7~图12)。从图7~图12可以看出响应面与等高线的变化规律,随着各因素值的增大, Y 值逐渐升高;当 Y 值达到极值之后,随着各因素量的增大,响应值 Y 逐渐减小;且等高线可以直观反映变化趋势,等高线越圆,因素之间的相互作用对得率影响较小,等高线越扁,各因素之间的交互作用对三萜得率影响越大。从中可看出

表 3 回归方程方差分析表
Table 3 Variance analysis of the established regression equation

来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	p 值
A	0.11	1	0.11	17.69	0.0007 **
B	0.064	1	0.064	10.35	0.0054 **
C	0.058	1	0.058	9.35	0.0075 **
D	0.001426	1	0.001426	0.23	0.6371
A ²	0.14	1	0.14	22.97	0.0002 **
B ²	0.25	1	0.25	41.17	<0.0001 **
C ²	0.16	1	0.16	25.19	0.0001 **
D ²	0.15	1	0.15	23.88	0.0002 **
AB	0.001854	1	0.001854	0.3	0.5910
AC	0.000653	1	0.000653	1.06	0.3186
AD	0.006531	1	0.006531	0.11	0.7491
BC	0.002165	1	0.002165	0.35	0.5617
BD	0.16	1	0.16	26.08	0.0001 **
CD	0.003010	1	0.003010	0.49	0.4948
模型	0.94	14	0.067	10.89	<0.0001
残差	0.099	16	0.006165		
失拟项	0.081	10	0.008082	2.72	0.1166
误差项	0.018	6	0.002972		
离差项	1.04	30			

注：* .p < 0.05 显著；** .p < 0.01, 极显著。

表 2 粗毛纤孔菌总三萜提取工艺响应面实验设计与结果

Table 2 Box-Behnken CCD experimental design
and result of Triterpenoid extraction yield

实验号	A	B	C	D	Y 得率(%)
1	-1	-1	-1	-1	4.071
2	1	-1	-1	-1	4.246
3	-1	1	-1	-1	4.266
4	1	1	-1	-1	4.341
5	-1	-1	1	-1	4.093
6	1	-1	1	-1	4.355
7	-1	1	1	-1	4.303
8	1	1	1	-1	4.395
9	-1	-1	-1	1	4.361
10	1	-1	-1	1	4.416
11	-1	1	-1	1	4.116
12	1	1	-1	1	4.203
13	-1	-1	1	1	4.462
14	1	-1	1	1	4.609
15	-1	1	1	1	4.126
16	1	1	1	1	4.340
17	-2	0	0	0	4.246
18	2	0	0	0	4.501
19	0	-2	0	0	4.457
20	0	2	0	0	4.100
21	0	0	-2	0	4.232
22	0	0	2	0	4.688
23	0	0	0	-2	4.462
24	0	0	0	2	4.273
25	0	0	0	0	4.618

续表

实验号	A	B	C	D	Y 得率(%)
26	0	0	0	0	4.668
27	0	0	0	0	4.612
28	0	0	0	0	4.579
29	0	0	0	0	4.529
30	0	0	0	0	4.657
31	0	0	0	0	4.684

乙醇的体积分数对粗毛纤孔菌的三萜得率的作用最显著,其次为温度和料液比,而提取时间对其得率的影响不显著;并且从图 11 可以发现,提取温度和提取时间的相互作用的等高线较扁,说明其对三萜得率的影响显著;而其它因素之间的交互作用的等高线较圆,说明它们对三萜化合物的得率均无显著性效果,这与回归方程的方差分析表相一致。

2.4.3 最佳条件的确定及验证实验 为进一步确定提取工艺最佳点,对 2.4.1 中拟合的回归方程求最优解,得各因素的最佳取值分别为:乙醇体积分数为 72.85%、提取温度为 67℃、料液比为 1:52.55、提取时间为 5.25h 时,粗毛纤孔菌的理论三萜得率最高为 4.670%。为了实际操作的方便,选择乙醇浓度为 73%、提取温度为 67℃、料液比为 1:53.0、提取时间为 5.25h,在此条件下进行三次平行实验验证,得三萜得率为 4.59%,与理论值较为接近,说明此数学模型对优化粗毛纤孔菌三萜提取工艺可行。

3 结论

本实验首先筛选了最适合粗毛纤孔菌三萜提取的溶剂,发现甲醇和无水乙醇的提取效果相对接近,然而甲醇具有一定的毒性,所以确定无水乙醇为适

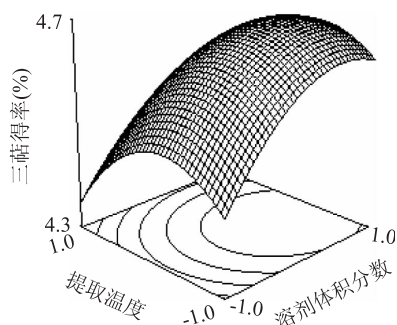


图7 溶剂体积分数与提取温度对三萜得率的影响

Fig.7 Effect of ethanol concentration and Temperature on triterpenoid extraction yield

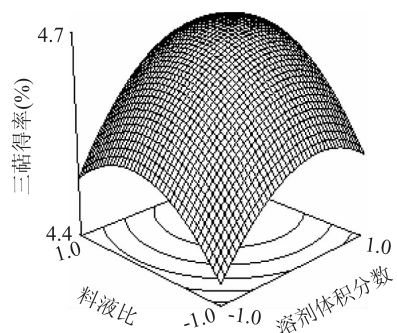


图8 溶剂体积分数与料液比对三萜得率的影响

Fig.8 Effect of ethanol concentration

and solid-to-liquid ratio on triterpenoid extraction yield

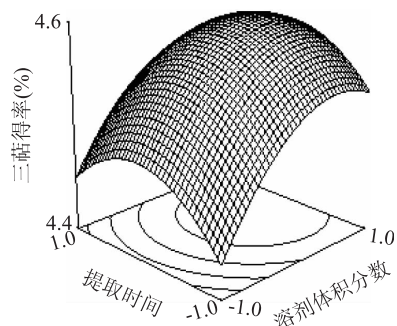


图9 溶剂体积分数与提取时间对三萜得率的影响

Fig.9 Effect of ethanol concentration and extraction time on triterpenoid yield

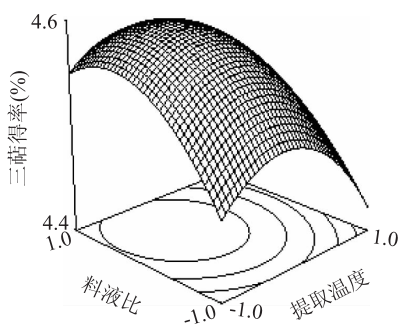


图10 提取温度与料液比对三萜得率的影响

Fig.10 Effect of extraction temperature and solid-to-liquid ratio on triterpenoid yield

合的提取溶剂。然后依据单因素实验的筛选结果,通过4因素5水平的响应面分析法对三萜提取参数

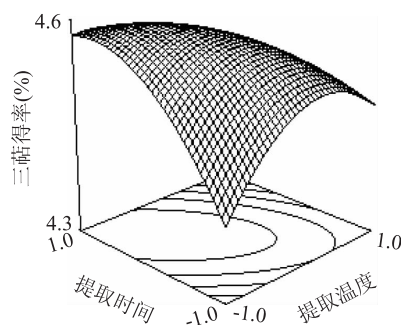


图11 提取温度与提取时间对三萜得率的影响

Fig.11 Effect of extraction temperature and time on triterpenoid yield

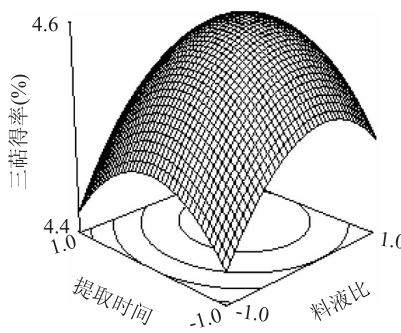


图12 料液比与提取时间对三萜得率的影响

Fig.12 Effect of solid-to-liquid ratio and extraction time on triterpenoid yield

进行优化,得到各主要提取因素变量的二次方程模型。该模型拟合度较好,通过对方程求解得出最佳优化参数为乙醇体积分数73%、提取温度67℃、料液比1:53.0、提取时间5.25h。其中乙醇浓度、提取温度和料液比对三萜得率均具有极显著的作用,并且提取温度与提取时间的交互作用对三萜化合物的得率也存在显著性作用。在此较优的条件下,粗毛纤孔菌三萜得率达到4.59%。且理论值与实际实验验证的结果较接近,说明应用Box-Behnken响应面分析方法对粗毛纤孔菌胞内三萜提取工艺具有重要的作用,为后期实验提供重要的参考价值。

参考文献

- [1] 张小青,戴玉成.中国真菌志(锈革孔菌科)[M].北京:科学出版社,2005.
- [2] 崔宝凯,戴玉成,杨宏.药用真菌粗毛纤孔菌概述[J].中国食用菌,2009,28(4):6-7.
- [3] 戴玉成,图力古尔.中国东北野生食药真菌图志[M].北京:科学出版社,2007.
- [4] Boulet B. Les champignons des arbres: Un aperçu de leur importance au sein des écosystèmes forestiers[J]. Les mousses et lichens, 2001, 125(3): 187-191.
- [5] 咎立峰,包海鹰.粗毛纤孔菌的研究进展[J].食用菌学报, 2011, 18(1): 78-82.
- [6] 李雨沁,胡建伟.粗毛黄褐孔菌多糖降血糖实验研究[J].中国食用菌,2010,29(1):49-51.
- [7] Awadh Naa, Mot Hana RAA, Lesnau A, et al. Antiviral activity

(下转第236页)

达到 95.24% ,但 6% 时的解吸效果与 9% 差异不显著,考虑生产成本选择 6% 作为最佳解吸液浓度。

2.3.6 正交实验优化 结果如表 3 所示,由极差分析可知,因素对庆大霉素吸附分离的影响大小为:样品浓度 > 氨水浓度 > 流速 > pH。在实验的水平范围内最优组合为 A₃B₂C₁D₃,与正交表中的 8 号实验一样,即 pH 为 7.6,样品浓度为 5.636g/L,流速为 0.6mL/min,氨水浓度为 7% ,在此条件下,平均回收率达到 94.80% 。

表 3 正交实验结果直观分析

Table 3 Visual analysis of the orthogonal experiment results

实验号	A	B	C	D	回收率(%)
1	1	1	1	1	92.40 ± 0.23
2	1	2	2	2	93.60 ± 0.38
3	1	3	3	3	93.63 ± 0.31
4	2	1	2	3	93.22 ± 0.29
5	2	2	3	1	92.68 ± 0.25
6	2	3	1	2	93.62 ± 0.33
7	3	1	3	2	92.40 ± 0.24
8	3	2	1	3	94.80 ± 0.42
9	3	3	2	1	93.61 ± 0.37
k ₁	93.21	92.67	93.60	92.90	
k ₂	93.17	93.69	93.48	93.21	
k ₃	93.60	93.62	92.90	93.88	
R	0.43	1.02	0.70	0.98	

3 结论

大孔弱酸性离子交换树脂 Amberlite FPC3500 适用于庆大霉素的分离提纯,且吸附性能优于国内常用的凝胶强酸性 732 树脂。最佳工艺条件为:室温,pH 为 7.6,样品浓度为 5.636g/L,进样流速为 0.6mL/min,氨水浓度为 7% ,此条件下回收率达 94.80% 。

参考文献

- [1] Davis D A, Lynch H C, Varley J. The application of foaming for the recovery of Surfactin from *B. subtilis* ATCC 21332 cultures [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2001, 28(4-5): 346-354.
- [2] 王丰莉, 孙小梅, 李逢雨, 等. 用牛血清白蛋白泡沫提取硫酸庆大霉素[J]. *分析科学学报*, 2005, 21(4): 405-407.
- [3] Lisa A Kaine, Karen A Wolnik. Forensic investigation of

gentamicin sulfates by anion-exchange ion chromatography with pulsed electrochemical detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 1994, 674(1-2): 255-261.

[4] Hu Z, Gulari E. Extration of aminoglycoside antibiotics with reverse micelles [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1996, 65(1): 45-48.

[5] Rautenbach R, Mellis R. Hybrid processes involving membranes for the treatment of highly organic/inorganic contaminated wastewater [J]. *Desalination*, 1995, 101: 105-117.

[6] Nystrom M, Kaipil L, Lupue S. Fouling and retention of nanofiltration membranes [J]. *J Membr Sci*, 1995, 98: 249-258.

[7] 范一文, 梁伟凡, 李嘉胜, 等. 庆大霉素发酵液的分离提取 [J]. *实验室研究与探索*, 2011, 30(8): 28-31.

[8] Curiel, Vanderaerden W, Hoogmartens J, et al. Analysis of underivatized gentamicin by capillary electrophoresis with UV detection [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 44(1): 49-56.

[9] Dan Li, Hao Li, Xianpu Ni, et al. Construction of a gentamicin C1a-overproducing strain of *Micromonospora purpurea* by inactivation of the *gacD* gene [J]. *Microbiological Research*, 2013, 168(5): 263-267.

[10] Sar F, Leroy P, Nicolas A, et al. Development and optimization of a liquid chromatographic method for the determination of gentamicin in calf tissues [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1993, 275(1-2): 285-293.

[11] Grote J, Himmelsbach R, Johnson D. Methodology for the rapid separation of gentamicin components and regiospecific synthesis of gentamicin conjugates [J]. *Tetrahedron Letters*, 2012, 53(50): 6751-6754.

[12] 许庆清, 杨欣, 翁连进. D113 弱酸性离子交换树脂吸附 L-组氨酸 [J]. *云南化工*, 2007, 34(6): 1-3, 9.

[13] 王鹏, 马莺. 732 阳离子交换树脂吸附蛋白质性能分析 [J]. *中国甜菜糖业*, 2005(2): 41-42.

[14] 叶发银, 杨瑞金, 华霄, 等. 大孔树脂 D392 对莱鲍迪苷 A 和甜菊苷的吸附选择性 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33(23): 206-210.

[15] 刘叶青, 周文龙, 邹行彦. 大孔弱酸 DK110 树脂提取庆大霉素的研究 [J]. *华东化工学院学报*, 1987, 13(3): 320-325.

(上接第 232 页)

of *Inonotus hispidus* [J]. *Fito terapia*, 2003, 74: 483-485.

[8] 冯薇. 层孔菌属药用真菌阿里红和木蹄的化学成分与生物活性研究 [D]. 北京: 中国医学科学院, 2010.

[9] 赵芬琴, 邓丽颖, 杨灿宇, 等. 桦褐孔菌中的活性化合物桦褐孔菌醇 [J]. *药学服务与研究*, 2009, 9(6): 455-460.

[10] Reiko Tanaka, Misaki Toyoshima, Takeshi Yamada. New lanostane-type triterpenoids, inonotsutriols D, and E, from *Inonotus obliquus* [J]. *Phytochemistry Letters*, 2011(4): 328-332.

[11] Nakamura S, Iwami J, Yoshikawa M, et al. Absolute stereo structures of inoterpenes A-F from the sclerotia of *Inonotus obliquus* [J]. *Tetrahedron*, 2009, 65: 2443-2450.

[12] Ali Naa, Jansen R, Pilgrim H, et al. Hispolon, a yellow pigment from *Inonotus hispidus* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(3):

927-929.1

[13] Casalicchio G, Paoletti C, Bernicchia A, et al. Research on the amino acid composition of some fungi [J]. *Micologia Italiana*, 1975, 4: 21-32.

[14] Casalicchio G, Paoletti C, Bernicchia A, et al. Extraction, separation and identification of several organic components of basidiomycetes carpophores. II. Unsaponifiable and hydrocarbon components [J]. *Micologia Italiana*, 1975, 4(2): 29-41.

[15] 范雷法, 潘慧娟, Soccol, 等. 响应面法优化姬松茸液体发酵培养基中红糖和酵母膏溶度 [J]. *中国食用菌*, 2005, 12(3): 27-31.

[16] 徐红云, 王占斌. 粗毛纤孔菌产三萜液体条件优化 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33(24): 206-214.