

硫辛酸麦角甾醇酯的制备及抗氧化作用

Preparation and antioxidation of ergosteryl lipoate

唐小卉 纪苏萍 夏 雪 贾承胜

TANG Xiao-hui JI Su-ping XIA Xue JIA Cheng-sheng

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:为改善麦角甾醇的溶解性,通过化学法在常温条件下制备硫辛酸麦角甾醇酯,并研究硫辛酸麦角甾醇酯在油中的抗氧化性。通过单因素试验,确定反应的最佳工艺条件为:以 DMAP/EDC/Et₃N 为催化剂,麦角甾醇浓度 80 mmol/L,硫辛酸:麦角甾醇:DMAP:EDC:Et₃N 摩尔比 2.0:1.0:0.2:1.2:1.5,溶剂二氯甲烷,反应温度 25 ℃,反应时间 20 h;该条件下最终酯化率可达到 91% 以上。麦角甾醇硫辛酯在油中的溶解度约为麦角甾醇的 2 倍,抗氧化效果约为麦角甾醇的 1.5 倍。

关键词:麦角甾醇;酯化;麦角甾醇酯;油溶性;抗氧化

Abstract: To improve the solubility of ergosterol, the ergosteryl lipoate was prepared by a chemical method under ambient temperature, and the antioxidation of ergosteryl lipoate in oil was studied. By single factor experiments, the optimum conditions for the synthesis of ergosteryl lipoate were obtained. The conversion could be achieved 91% in the following conditions: DMAP/EDC/Et₃N as the catalyst, 80 mmol/L ergosterol, molar ratio of lipoic acid/ergosterol/DMAP/EDC/Et₃N 2.0:1.0:0.2:1.2:1.5, dichloromethane as the solvent, reaction temperature of 25 ℃, reaction time of 20 h. The solubility of ergosteryl lipoate in oil is about twice of ergosterol, and the antioxidant ability is about 1.5 times of ergosterol.

Keywords: ergosterol; esterification; ergosteryl lipoate; oil solubility; antioxidation

麦角甾醇是一种在麦角和真菌中发现的天然类固醇,存在于大部分真菌中^[1]。麦角甾醇是维生素 D₂ 的前体,在光解和热重排后可以转变为维生素 D₂^[2]。研究表明,麦角甾醇具有多种生理功能,如抗高血脂^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]、

抗氧化^[6]等。Hu 等^[3]发现榆黄菇的乙酸乙酯提取物和甲醇提取物在大鼠体内具有显著的抗高脂血症作用,而麦角甾醇是其主要成分之一。Schneider 等^[6]发现平菇能有效调节人体血液参数(甘油三酯、总胆固醇、氧化低密度脂蛋白),可能是由于亚油酸、麦角甾醇和麦角甾醇衍生物的存在。此外,麦角甾醇及其衍生物能够抑制黑素生成和表皮细胞增殖^[7]。但在实际使用过程中,麦角甾醇的油溶性差,应用范围有限。据报道^[8],通过与脂溶性成分(如脂肪酸)酯化,甾醇的亲脂性能够得到改善。

硫辛酸是一种非常重要的维生素 B 族化合物,主要存在于动物肝脏以及番茄和胡萝卜等植物中。在体内,硫辛酸可以被还原为有 2 个巯基的二氢硫辛酸,二者在脂溶性和水溶性环境中均能发挥抗氧化性,可以毫无障碍地在身体内游走,到达每一个细胞,被认为是天然的万能抗氧化剂。硫辛酸因强抗氧化性在国内外医药领域早已得到广泛使用,用于预防由身体中的自由基引起的衰老和一些其他疾病,如糖尿病、癌症、心血管疾病和炎症^[9-11]。

国内外对于麦角甾醇的改性研究已有报道。Chaibakhsh 等^[7]采用酶法合成了油酸麦角甾醇酯;He 等^[12]在无溶剂体系中通过直接酯化法合成了月桂酸麦角甾醇酯;Lin 等^[13]合成了糠酸麦角甾醇酯、水杨酸麦角甾醇酯和 2-萘甲酸麦角甾醇酯。但对麦角甾醇进行酯化改性增效以提高其抗氧化性未见有报道。本研究拟以麦角甾醇和硫辛酸为原料,通过化学法在常温条件下合成硫辛酸麦角甾醇酯,并考察硫辛酸麦角甾醇酯对食用油氧化稳定性的影响,旨在开拓麦角甾醇及其衍生物在食品、生物医药和化妆品中的应用。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

麦角甾醇:纯度>95%,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20161133);江苏省研究生科研创新计划项目(编号:KYCX17_1463)

作者简介:唐小卉,女,江南大学在读本科生。

通信作者:贾承胜(1968—),男,江南大学副教授,博士。

E-mail: chshjia@126.com

收稿日期:2018-03-02

硫辛酸:纯度>95%,西安常恒医药有限公司;
甾醇阿魏酸酯:纯度>95%,实验室自制;
4-二甲氨基吡啶(DMAP)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC):分析纯,中国医药(集团)上海化学试剂公司;
1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;
碘化钾:分析纯,无锡市展望化工试剂有限公司;
金龙鱼菜籽油、金龙鱼大豆油:上海益海嘉里食品工业有限公司;
薄层色谱硅胶板:5 cm×10 cm,青岛海洋化工厂;
柱层析硅胶:200~300 目,青岛海洋化工厂。

1.1.2 主要仪器设备

循环水式多用真空泵:SHB-D (III)型,科瑞仪器有限责任公司;
智能自动磁力恒温加热搅拌器:DF-101S 型,科瑞仪器有限责任公司;
傅立叶变换红外光谱仪:Nicolet iS10 型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;
超声波清洗仪:SK5210HP 型,上海科岛超声仪器有限公司;
恒温数显水浴锅:HH-S2 型,常州市拓兴实验仪器厂;
高效液相色谱仪:Waters 1525 型,沃特世科技(上海)有限公司;
旋转蒸发仪:R210 型,瑞士步琦有限公司;
层析柱:100 cm×Φ 2.5 cm 型,上海市达丰有限公司;
可见光分光光度计:T6 型,北京普析通用仪器有限责任公司;
磁力搅拌器:IKA c-MAG HS-7 型,德国 IKA 公司。

1.2 方法

1.2.1 硫辛酸甾醇酯的制备 称取一定量的硫辛酸和甾醇于三角烧瓶中,向其中加入适量的二氯甲烷,再加入适量的催化剂,于室温 25 ℃下反应 20 h。待反应结束之后,使用旋转蒸发仪蒸干去除溶剂,所得反应物经柱层析(硅胶 200~300 目)分离后,得到纯化的硫辛酸甾醇酯。将制得的产物真空干燥后进行结构鉴定,确定其结构并证实产物为硫辛酸甾醇酯。

1.2.2 硫辛酸甾醇酯的反应条件优化 主要选取影响甾醇酯化的 5 个因素:催化剂种类(DMAP/EDC/Et₃N、DMAP/DCC、十二烷基硫酸、无水硫酸氢钠、对甲苯磺酸、十二烷基苯磺酸)、甾醇浓度(50, 60, 70, 80, 90, 100 mmol/L)、催化剂浓度(DMAP 浓度:8, 16, 24, 32, 40 mmol/L;EDC 浓度:80,88,96,104,112 mmol/L;Et₃N 浓度:96,104,112,120,128 mmol/L)、硫辛酸与甾醇的摩尔比(1.5,2.0,2.5,3.0,3.5)和反应时间(18,19,20,21,22 h)。固定参数:反应温度 25 ℃、溶剂二氯甲烷、复合催化剂种类 DMAP/EDC/Et₃N、甾醇浓度 80 mmol/L、甾醇与 DMAP/EDC/Et₃N 摩尔比 1.0 : 0.2 : 1.2 : 1.5、硫辛酸与甾醇的摩尔比 1.5、反应时间 18 h,分别改变其中一因素,

进行单因素试验,研究其对硫辛酸甾醇酯化率的影响,得出最优反应条件。

1.2.3 酯化率的测定

(1) 绘制标准曲线:将酯化反应所得的纯硫辛酸甾醇酯配制成 0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6,1.8,2.0 mg/mL 的石油醚/正己烷(体积比 1 : 1)溶液,通过高效液相色谱法(HPLC)测定各浓度的硫辛酸甾醇酯的峰面积,将峰面积对数值和浓度对数值进行线性拟合,得标准曲线、线性拟合常数和方程式。将反应液进样之后,将产品峰面积代入标准曲线方程式(1)计算反应液中产品的浓度。

$$\lg A = 1.558 \times \lg C + 6.91(R^2 > 0.99), \tag{1}$$

式中:
A——相应的组分峰面积;
C——组分的浓度,mg/mL。

(2) 酯化率的测定:酯化率是酯化反应实际生成的产物量和理论上应生成产物量的百分比,按式(2)计算。

$$K = \frac{c_1}{c_2} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:
c₁——硫辛酸甾醇酯的浓度,mol/L;
c₂——反应开始甾醇的浓度,mol/L;
K——硫辛酸甾醇酯的酯化率,%。

1.2.4 产物的 HPLC 分析 分析方法:使用 C₁₈ 色谱柱,流动相是体积分数 0.1%的甲酸-甲醇溶液(色谱纯),样品溶于甲醇和正己烷的混合溶液(体积比 8 : 1),流动相的流速为 1.0 mL/min,色谱柱温度为 30 ℃,进样量为 10 μL,柱压为 0.5 MPa。蒸发光检测器的检测条件:载气为 N₂,流速为 1.5 L/min,温度为 55 ℃,喷雾级别为 75%,增益为 1。

1.2.5 产物的结构鉴定 采用傅立叶变换红外光谱(FTIR)分析法,具体方法为:采用 KBr 压片法制片,扫描范围 600~4 000 cm⁻¹,扫描次数 32 次,分辨率 4 cm⁻¹。

1.2.6 产物的溶解性和抗氧化作用的研究

(1) 油溶性的测定:精确称取 200 mg 的硫辛酸、甾醇、甾醇阿魏酸酯和硫辛酸甾醇酯于三角烧瓶中,30 ℃油浴并搅拌,每 30 min 加入 1 mL 大豆油,观察其溶解状态。至未溶解的悬浮颗粒开始减少时,每 30 min 加入大豆油的量改为 0.5 mL。待未溶解的悬浮颗粒明显减少时,加入大豆油的速度改为 0.1 mL/30 min,直至悬浮颗粒完全溶解。记录完全溶解 200 mg 样品所用大豆油的量。各物质 30 ℃时的油溶性可通过加入大豆油的量来计算,单位为 g/L。

(2) 过氧化值的测定:按 GB 5009.227—2016 的滴定法。根据食品添加剂使用标准(GB 2760—2014),按 0.2 g/kg 分别将硫辛酸、甾醇、甾醇阿魏酸酯、硫辛酸甾醇酯添加到适量的菜籽油中,将无添加的菜籽油作为空白对照组。当过氧化值超过 0.25 g/100 g 时,停止测定,计算结果处理数据。

测定不同浓度硫辛酸甾醇酯过氧化值:分别按照 0.1,0.2,0.3,0.4 g/kg 将硫辛酸甾醇酯添加到适量的菜籽油中,使用上述方法测定其过氧化值。按式(3)计算过氧化值。

$$X_1 = \frac{(V - V_0) \times c \times 0.1269}{m} \times 100, \quad (3)$$

式中:

X_1 ——过氧化值,g/100 g;

V ——试样消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积,mL;

V_0 ——空白试验消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积,mL;

c ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,mol/L;

0.1269——与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=1.000\text{ mol/L}$]相当的碘的质量;

m ——试样质量,g;

100——换算系数。

(3) DPPH·清除活性的测定:分别测定麦角甾醇、甾醇阿魏酸酯和硫辛酸麦角甾醇酯的 DPPH·清除率。具体方法:将待测样品分别配制成 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 g/L 的甲醇/正己烷(体积比 8:1)溶液,然后将 1 mL 的待测样品溶液和 5 mL 的 0.1 mmol/L DPPH·乙醇溶液分别加入同一试管中,摇匀,盖上塞子,于 25℃避光反应 15 min,于 517 nm 波长下测定样品的吸光值;同时取 1 mL 待测样品溶液与 5 mL 无水乙醇的混合溶液,于 517 nm 波长下测定其吸光值;取 1 mL 甲醇/正己烷溶液与 5 mL 0.1 mmol/L DPPH·的乙醇溶液混匀后测定吸光值。按式(4)计算 DPPH·清除率。

$$C = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

C ——DPPH·清除率,%;

A_i ——待测样品溶液反应后的吸光值;

A_j ——待测样品溶液与无水乙醇混合溶液的吸光值;

A_c ——甲醇/正己烷溶液与 DPPH·的乙醇溶液混合溶液的吸光值。

2 结果与分析

2.1 产物分析和结构鉴定

2.1.1 高效液相色谱分析 如图 1 所示,反应液的组分被分离且分离效果较好,硫辛酸、麦角甾醇、硫辛酸麦角甾醇酯的保留时间分别为 1.63,3.33,6.08 min。经分离纯化后的产物纯度为 94%。

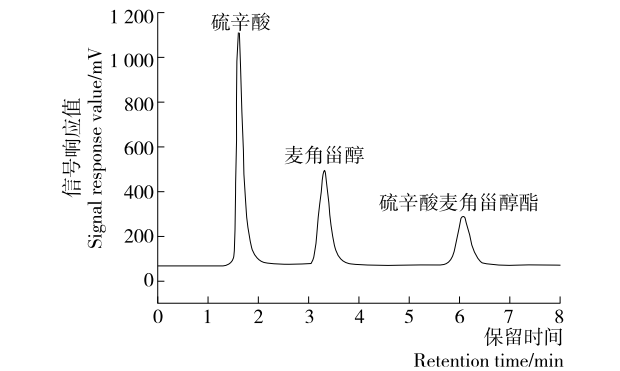


图 1 酯化反应混合物 HPLC 图

Figure 1 HPLC chromatograms of esterification reaction mixture

2.1.2 傅里叶变换红外线光谱分析 红外光谱主要用来检测分子的振动类型并确定分子内所含基团及化学键的类型。对比文献[12]中的麦角甾醇 FTIR 图,由图 2 可知,在 1 732 cm⁻¹ 处出现 C=O 伸缩震动峰,1 173 cm⁻¹ 处出现 C—O—C 伸缩震动峰,确定有酯键生成,由此可判断有硫辛酸麦角甾醇酯生成。

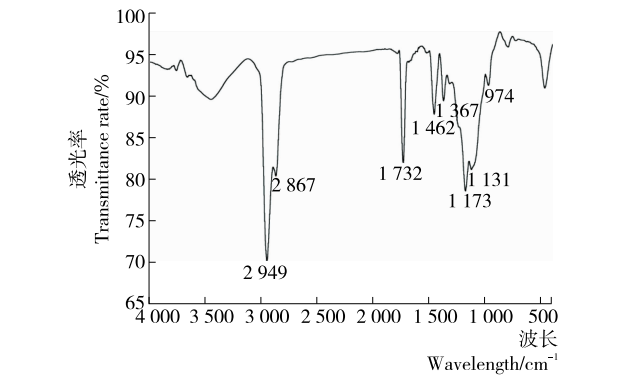
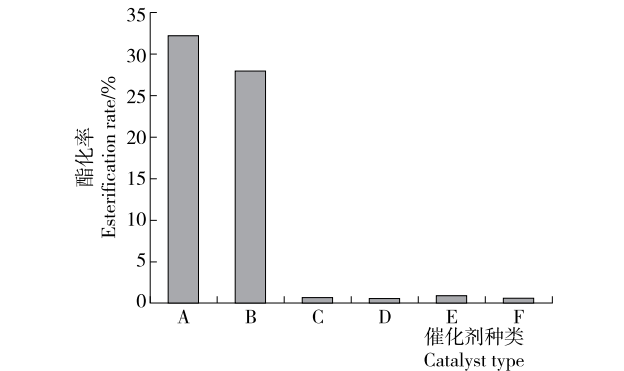


图 2 硫辛酸麦角甾醇酯的傅立叶变换红外光谱图
Figure 2 FT-IR spectra of ergosteryl lipoate

2.2 酯化条件优化

2.2.1 催化剂种类的影响 由图 3 可知,在所选的 6 种催化剂中,只有 DMAP/EDC/Et₃N 和 DMAP/DCC 具有较高的催化活性,酯化率分别达到了 32.1% 和 27.9%,而其它无机催化剂酯化率均小于 1%。虽然在此反应中 DMAP/EDC/Et₃N 的催化效率与 DMAP/DCC 相差不大,但 DCC 吸水后生成的 DCU 固体颗粒抽滤时不易去除,且溶解性差,增加了后期分离纯化的难度。相比之下,EDC 转化成的 EDU 在有机溶剂和水中溶解性都非常好,柱层析时可溶于洗脱剂中,经柱层析分离后便可完全除去。因此,选择 DMAP/EDC/Et₃N 作为催化剂。

2.2.2 麦角甾醇浓度的影响 由图 4 可知,麦角甾醇浓度低于 80 mmol/L 时,酯化率随麦角甾醇浓度的增加而显著增大;高于 80 mmol/L 时,酯化率随麦角甾醇浓度的增加而略有减小。可能是麦角甾醇浓度低于 80 mmol/L 时,其浓度增加,反应物与催化剂间碰撞几率增大,促进反应的进行;而高



A. DMAP/EDC/Et₃N B. DMAP/DCC C. 十二烷基硫酸 D. 无水硫酸氢钠 E. 对甲基苯磺酸 F. 十二烷基苯磺酸

图 3 催化剂种类对酯化率的影响
Figure 3 Effect of catalyst type on esterification rate

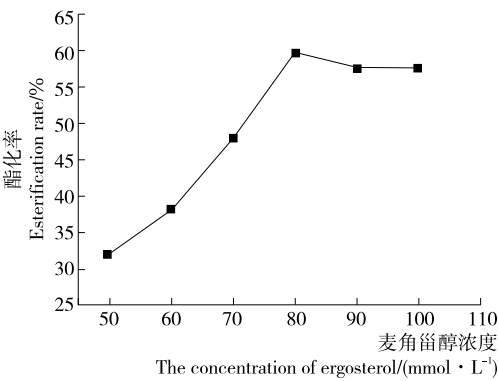


图 4 麦角甾醇浓度对酯化率的影响

Figure 4 Effect of ergosterol concentration on esterification rate

于 80 mmol/L 时,反应物浓度的增加使得体系黏度增大,反应物与催化剂间碰撞几率减小,导致酯化率降低。因此,麦角甾醇的浓度选择 80 mmol/L。

2.2.3 催化剂用量的影响 由图 5~7 可知:

(1) 随着 DMAP 浓度的增加,酯化率先增后减,DMAP 浓度为 16 mmol/L 时,酯化率最高。原因可能是 DMAP 的浓度小于 16 mmol/L 时,麦角甾醇与 DMAP 的碰撞几率会随 DMAP 浓度的增加而增大,促进反应的进行;而大于 16 mmol/L 时,生成大量的中间产物,影响反应的进行,导致酯化率的下降。

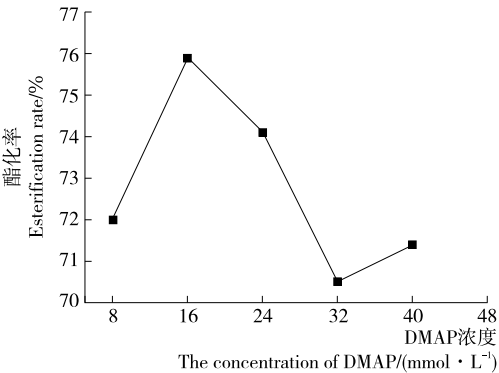


图 5 DMAP 浓度对酯化率的影响

Figure 5 Effect of DMAP concentration on esterification rate

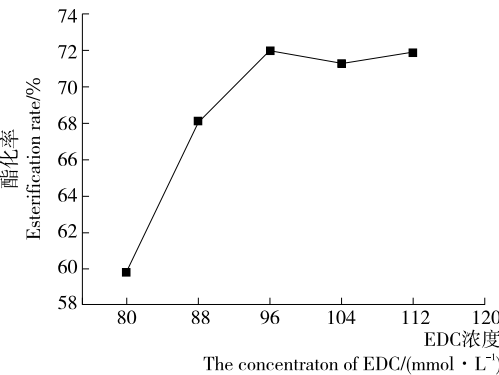


图 6 EDC 浓度对酯化率的影响

Figure 6 Effect of EDC concentration on esterification rate

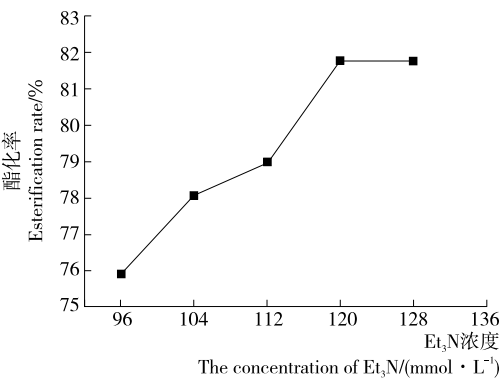


图 7 Et₃N 浓度对酯化率的影响

Figure 7 Effect of Et₃N concentration on esterification rate

(2) 随着 EDC 浓度的增加,酯化率明显增加,当 EDC 浓度大于 96 mmol/L 后,酯化率基本无变化。原因可能是原反应溶剂水分去除不彻底,中间产物也可能产生一部分水,需过量的 EDC 加以去除。

(3) 随着 Et₃N 浓度的增加,酯化率增加,当 Et₃N 浓度大于 120 mmol/L 后,酯化率不变。

综上所述,DMAP、EDC、Et₃N 的最佳用量分别为 16, 96, 120 mmol/L,即麦角甾醇与 DMAP/EDC/Et₃N 的最佳用量摩尔比为 1.0 : 0.2 : 1.2 : 1.5。

2.2.4 酸醇摩尔比的影响 由图 8 可知,当硫辛酸与麦角甾醇的摩尔比为 2 : 1 时,反应酯化率达到最大,可能是在适当的浓度下,酸醇摩尔比的增加可以使 2 种反应物分子的碰撞几率增加,有利于反应平衡的正向移动;但当硫辛酸的浓度过高时,反应体系黏度增加,降低了反应物之间、反应物与催化剂之间的接触效率,导致酯化率的降低。因此,酸醇摩尔比选择 2 : 1。

2.2.5 反应时间的影响 由图 9 可知,随着反应时间的延长,硫辛酸麦角甾醇酯的酯化率先增后不变,可能是反应时间低于 20 h 时,溶液中的麦角甾醇并未被完全消耗;而反应进行到 20 h 左右时,麦角甾醇完全转化为硫辛酸麦角甾醇酯或中间产物,酯化率趋于稳定。因此,反应时间选择 20 h。

根据以上优化结果,得到酯化最优工艺条件为:以 DMAP/EDC/Et₃N 为催化剂,麦角甾醇浓度 80 mmol/L,硫辛酸 : 麦角甾醇 : DMAP : EDC : Et₃N 摩尔比 2 : 1 :

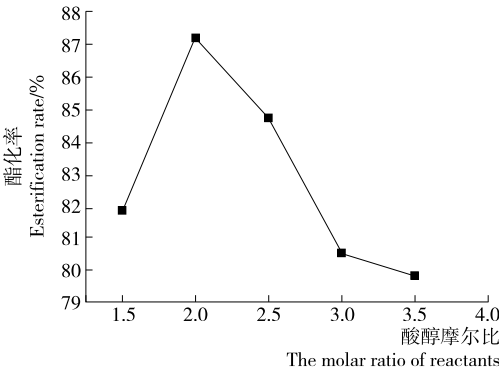


图 8 酸醇摩尔比对酯化率的影响

Figure 8 Effect of molar ratio of reactants on esterification rate

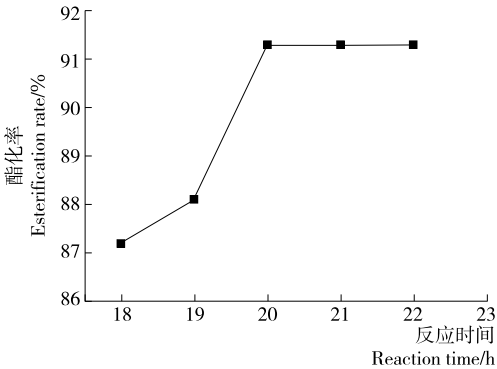


图 9 反应时间对酯化率的影响

Figure 9 Effect of reaction time on esterification rate

0.2 : 1.2 : 1.5, 溶剂二氯甲烷, 反应温度 25 ℃, 反应时间 20 h。采用以上条件进行酯化反应, 分别经 3 次平行试验得到硫辛酸麦角甾醇酯的平均酯化率为 91.3%。

2.3 产物性质的研究

2.3.1 油溶性 研究了在 30 ℃ 时, 麦角甾醇和硫辛酸麦角甾醇酯在大豆油中的溶解度。由于阿魏酸、硫辛酸同为强抗氧化剂, 甾醇阿魏酸酯具有良好的油溶性和抗氧化性, 且国内外对甾醇阿魏酸酯的研究较多, 因此本试验选取甾醇阿魏酸酯作为参照物。由表 1 可知, 进行酯化反应后, 产物硫辛酸麦角甾醇酯的油溶性相较于麦角甾醇提升明显, 与甾醇阿魏酸酯相当, 可能是与硫辛酸发生酯化反应, 引入了亲脂基团, 在很大程度上改善了麦角甾醇的油溶性, 扩大了其应用范围。这与以前报道^[14]的植物甾醇脂肪酸酯的试验结果一致。

表 1 反应物、产物与甾醇阿魏酸酯在大豆油中的溶解度

Table1 Solubility of reactants, product and sterol ferulatein soybean oil

添加物	溶解度/(g · L ⁻¹)
硫辛酸	29.85
麦角甾醇	9.76
甾醇阿魏酸酯	20.35
硫辛酸麦角甾醇酯	19.81

2.3.2 抗氧化性

(1) 添加不同物质的菜籽油过氧化值测定: 本研究考察了硫辛酸、麦角甾醇、硫辛酸麦角甾醇酯、甾醇阿魏酸酯的添加对菜籽油氧化过程的影响, 选取甾醇阿魏酸酯作为参照物。由图 10 可知, 菜籽油的过氧化值与时间基本呈线性相关; 试验所用添加物可明显延缓菜籽油的氧化过程, 经过酯化改性的麦角甾醇抗氧化功能明显高于麦角甾醇, 略低于硫辛酸, 略高于甾醇阿魏酸酯。硫辛酸具有强抗氧化性, 且其抗氧化性高于麦角甾醇, 因此硫辛酸麦角甾醇酯的抗氧化性应高于麦角甾醇但低于游离硫辛酸本身。

(2) 添加不同浓度硫辛酸麦角甾醇酯的菜籽油过氧化值测定: 由图 11 可知, 随着添加硫辛酸麦角甾醇酯浓度的增大, 菜籽油过氧化值有明显降低, 且添加量在 0.3 g/kg 左右时, 提升较为明显, 这可为其在食用油中的添加提供一定参考。

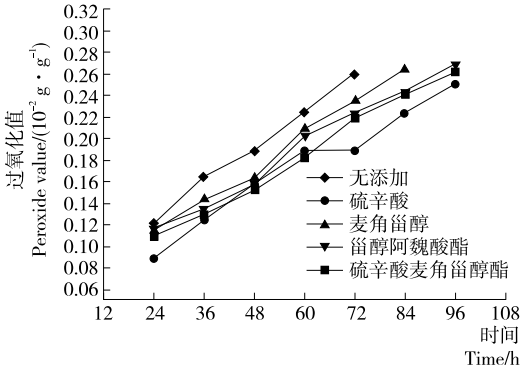


图 10 添加不同抗氧化剂的菜籽油的过氧化值

Figure 10 The peroxide value of rapeseed oil with different antioxidants

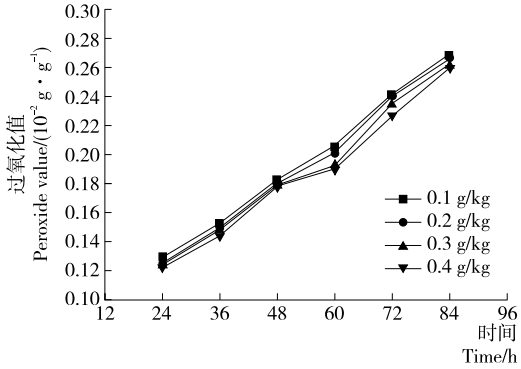


图 11 添加不同浓度硫辛酸麦角甾醇酯菜籽油的过氧化值

Figure 11 The peroxide value of rapeseed oil with different concentration of ergosteryl lipoate

(3) DPPH · 清除能力的测定: 考察了不同浓度的麦角甾醇和麦角甾醇硫辛酸酯对 DPPH · 的清除能力, 选取甾醇阿魏酸酯作为参照物。由图 12 可知, 在试验浓度范围内 (0.2~1.0 g/L), 麦角甾醇对 DPPH · 的清除能力随浓度变化较小, 硫辛酸麦角甾醇酯对 DPPH · 的清除能力较麦角甾醇有较大提升, 且随着浓度的增加明显增强, 当浓度在 1.0 g/L 时, 其抗氧化能力接近甾醇阿魏酸酯。

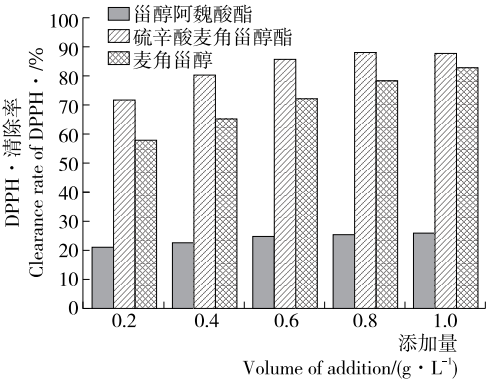


图 12 不同浓度的麦角甾醇、甾醇阿魏酸酯、硫辛酸麦角甾醇酯对 DPPH · 清除率

Figure 12 The DPPH radical clearance rates of ergosterol, sterol ferulate and ergosterol lipoate at different concentrations

3 结论

通过麦角甾醇与硫辛酸的酯化对麦角甾醇进行了改性,提高了其在食用油中的溶解度和抗氧化性,从而扩大了麦角甾醇在食品工业中的应用范围。产物硫辛酸麦角甾醇酯在菜籽油中的溶解度为 19.81 g/L,相较于麦角甾醇的 9.76 g/L 有了很大改善,表明甾醇酯化后其脂溶性成分能改善甾醇的亲脂性。硫辛酸和麦角甾醇均具有一定的抗氧化性,酯化后的产物硫辛酸麦角甾醇酯抗氧化能力优于改性前的麦角甾醇,与甾醇阿魏酸酯处在同一水平。通过对添加不同浓度硫辛酸麦角甾醇酯的菜籽油的过氧化值测定,得到 0.3 g/kg 为较好的添加量,可明显提高食用油的抗氧化性,可为实际应用提供一定依据。目前,对于麦角甾醇改性国内外研究较少,这意味着将改性麦角甾醇应用于食品工业还很遥远,麦角甾醇的改性和品质优化还有待进一步研究。

参考文献

[1] OREP J U, WALTER R, KORTEKAMP A, et al. Ergosterol as an objective indicator for grape rot and fungal biomass in grapes[J]. Food Control, 2014, 37(1): 77-84.

[2] VILLARES A, GARCIA-LAFUENTE A, GUILLAMON E, et al. Identification and quantification of ergosterol and phenolic compounds occurring in Tuber spp. Truffles[J]. Food Composition and Analytical, 2012, 26(1/2): 177-182.

[3] HU Shu-hu, LIANG Zeng-chin, CHIA Yi-chen, et al. Antihyperlipidemic and antioxidant effects of extracts from *Pleurotus citrinopileatus*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(6): 2 103-2 110.

[4] KUO Chia-feng, HSIEH Chin-hsuan, LIN Wun-yuan. Proteomic response of LAPactivated RAW 264.7 macrophages to the anti-inflammatory property of fungal ergosterol[J]. Food Chemistry, 2011, 126(1): 207-212.

[5] 高虹, 史德芳, 杨德, 等. 巴西菇麦角甾醇抗肿瘤活性及作用机

理初探[J]. 中国食用菌, 2011, 30(6): 35-39.

[6] SCHNEIDER I, KRESSE G, MEYER A, et al. Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans[J]. Functional Foods, 2011, 3(1): 17-24.

[7] CHAIBAKHSH N, BASRI M, RAHMAN M B A, et al. Lipase-catalyzed synthesis of ergosterol ester[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2012, 1(1): 51-56.

[8] HE Wen-sen, MA Yuan, PAN Xiao-xia, et al. Efficient solvent-free synthesis of phytostanyl esters in the presence of acid-surfactant-combined catalyst[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(38): 9 763-9 769.

[9] NG Z K, KHERADA N, FARRAR B, et al. Lipoic acid effects on established atherosclerosis[J]. Life Sciences, 2010, 86(3/4): 95-102.

[10] MOURA F A, DE ANDRADE K Q, DOS SANTOS J C F, et al. Lipoic acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2015, 15(5): 458-483.

[11] TSUJI-NAITO K, ISHIKURA S, AKAGAWA M, et al. alpha-Lipoic acid induces collagen biosynthesis involving prolyl hydroxylase expression via activation of TGF-beta-Smad signaling in human dermal fibroblasts[J]. Connective Tissue Research, 2010, 51(5): 378-387.

[12] HE Wen-sen, YIN Ji, XU Han-shan, et al. Efficient synthesis and characterization of ergosterol laurate in a solvent-free system[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(48): 11 748-11 755.

[13] LIN Ming-zhu, LI Hai-jun, YAN Zan, et al. 2-Naphthoic acid ergosterol ester, an ergosterol derivative, exhibits anti-tumor activity by promoting apoptosis and inhibiting angiogenesis[J]. Steroids, 2017, 122: 9-15.

[14] 贾承胜, 黄晓爱, 董涛, 等. 植物甾醇脂肪酸酯的抗氧化作用研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(6): 80-82.

(上接第 128 页)

[24] SAGU S T, NSO E J, HOMANN T, et al. Extraction and purification of beta-amylase from stems of *Abrus precatorius* by three phase partitioning [J]. Food Chemistry, 2015, 183: 144-153.

[25] ÖZER, B, AKARDERE E, CELEM E B, et al. Three-phase partitioning as a rapid and efficient method for purification of invertase from tomato [J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, 50(3): 110-115.

[26] 张仲欣, 杜双奎. 食品试验设计与数据处理[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2011: 227-228.

[27] LIAO Ning-bo, ZHONG Jiang-jun, YE Xing-qian, et al. Ultrasonic-assisted enzymatic extraction of polysaccharide from *Corbiculafluminea*: Characterization and antioxidant activity [J]. LWT-Food Science & Technology, 2015, 60(2): 1 113-1 121.

[28] 蔡为荣, 孙元琳, 汤坚. 果胶多糖结构与降血脂研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 307-311.

[29] PERCIVAL E, WOLD J K. The acid polysaccharide from the green seaweed *ulva lactuca*. Part II. The site of the ester

sulphate[J]. J. Chem. Soc, 1963, DOI: 10.1039/jr9630005459.

[30] 潘峰, 姚芸欣, 唐鑫, 等. 瓦布贝母内生真菌 *Fusarium redolens* 6WBY3 多糖的理化性质及抗氧化活性[J]. 微生物学报, 2017, 57(2): 240-253.

[31] NA Y S, KIM W J, KIM S M, et al. Purification, characterization and immunostimulating activity of water-soluble polysaccharide isolated from *capsosiphon fulvescens*[J]. International Immunopharmacology, 2010, 10(3): 364-370.

[32] 李炳奇. 天然产物化学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 201-202.

[33] 西尔弗斯坦. 有机化合物的波谱解析[M]. 药明康德新药开发有限公司分析部, 译. 上海: 华东理工大学出版社, 2007: 139-142.

[34] XING Xiao-hui, STEVE W Cui, NIE Shao-ping, et al. Study on *Dendrobium officinale*, *O*-acetyl-glucomannan (*Dendronan*®): Part I. Extraction, purification, and partial structural characterization[J]. Bioactive Carbohydrates & Dietary Fibre, 2014, 4(1): 74-83.