

两种真姬菇不同溶剂提取物的 抗氧化活性研究

刘继攀¹, 张紫华¹, 关振华¹, 刘文君¹, 李佳欢^{1,2}, 金文松^{1,2,*}, 胡开辉^{1,2,*}

(1.福建农林大学生命科学学院, 福建福州 350002;

2.福建农林大学(古田)菌业研究院, 福建宁德 352200)

摘要:研究两种真姬菇不同溶剂提取物的抗氧化活性和多酚含量。制备真姬菇粗提物、正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物与水萃取物,分析它们的抗氧化活性与测定它们的多酚含量。结果表明:闽真2号正己烷萃取物的总抗氧化能力最好,乙酸乙酯萃取物清除 DPPH 自由基能力最强,正丁醇萃取物清除 ABTS 自由基能力最强;闽真3号乙酸乙酯萃取物的总抗氧化能力、清除 DPPH 与 ABTS 自由基能力均最好。相关性分析结果表明,真姬菇多酚含量与 DPPH 自由基清除能力具有一定的相关性。综合考虑抗氧化活性与萃取率,正己烷萃取物与乙酸乙酯萃取物可被作为天然抗氧化剂应用于食品科学领域。

关键词:真姬菇,天然抗氧化剂,多酚含量,相关性

Study on evaluation of the antioxidant properties of various solvent extracts from two *Hypsizygus marmoreus* strains

LIU Ji-pan¹, ZHANG Zi-hua¹, GUAN Zhen-hua¹, LIU Wen-jun¹,

LI Jia-huan^{1,2}, JIN Wen-song^{1,2,*}, HU Kai-hui^{1,2,*}

(1.College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2.Edible Fungi Research Institute(Gutian) of Fujian Agriculture and Forestry University, Ningde 352200, China)

Abstract: The antioxidant properties and total polyphenol contents of various solvent extracts from two *Hypsizygus marmoreus* strains were investigated. Crude extract, hexane fraction, ethyl acetate fraction, butanol fraction and aqueous fraction of *Hypsizygus marmoreus* were prepared. Their antioxidant properties were studied and their total polyphenol contents were determined. Results obtained in this study showed that, as for MinZhen No.2, the highest total antioxidant activities, DPPH radical scavenging activities and ABTS radical scavenging activities were found for hexane fraction, ethyl acetate fraction and butanol fraction, respectively. As to MinZhen No.3, the highest total antioxidant activities, DPPH radical scavenging activities and ABTS radical scavenging activities were exhibited by ethyl acetate fraction. Correlation analysis results showed that total polyphenol contents had a relation with DPPH radical scavenging activities. Hexane fraction and ethyl acetate fraction of *Hypsizygus marmoreus* could be used as a source of natural antioxidant applied in food science when taking into account the combination of antioxidant properties and extraction yields.

Key words: *Hypsizygus marmoreus*; natural antioxidant; total polyphenol content; correlation

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)11-0056-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.11.011

引文格式: 刘继攀, 张紫华, 关振华, 等. 两种真姬菇不同溶剂提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 56-61.

自由基、化学反应和各种化合物的氧化还原反应可能导致蛋白质的变性、DNA 损伤以及肝细胞中的脂质过氧化作用^[1], 而这些反应与许多慢性疾病, 如糖尿病、癌症、动脉粥样硬化、心血管疾病等密切

相关^[2]。天然抗氧化剂广泛存在于水果、茶叶、蔬菜、谷物与药用植物中。天然抗氧化剂具有清除自由基的能力, 更为重要的是, 相较于合成型抗氧化剂, 比如丁基羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)

收稿日期: 2017-10-30

作者简介: 刘继攀(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食用菌次级代谢产物的分离与生物学功能分析, E-mail: 1413672293@qq.com。

* 通讯作者: 金文松(1983-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 食用菌次级代谢产物的分离与生物学功能分析, E-mail: Jinws@fafu.edu.cn。

胡开辉(1962-), 男, 本科, 教授, 研究方向: 食用菌的应用、开发与工厂化栽培, E-mail: Hukh@fafu.edu.cn。

基金项目: 福建省产业技术重大研发平台建设计划项目(2014N2001); 福建农林大学科技创新专项基金(114/KFA17322A)。

与叔丁基对苯二酚(TBHQ),天然抗氧化剂被认为是一种低毒,甚至无毒型的抗氧化剂。因此,从各种食用菌中发掘天然抗氧化剂成为食品科学领域的一个研究热点。

真姬菇(*Hypsizygus marmoreus*),学名斑玉蕈,是一种高蛋白、低脂肪、低热量的食药兼用菌^[3]。Yu等^[4]采用共轭二烯、DPPH 自由基清除能力、还原力、羟基自由基清除能力、亚铁离子螯合能力及铜离子螯合能力的方法分别对真姬菇甲醇、冷水与热水粗提物的抗氧化活性进行了分析,发现真姬菇的三种粗提物均具有一定的抗氧化活性。另外一项研究成果同样来自于 Yu 等^[5],他们分析了真姬菇白色变种的甲醇与热水粗提物的抗氧化活性,研究发现真姬菇白色变种的甲醇与热水粗提物也均具有一定的抗氧化活性。通过测定甲醇与热水粗提物中 β -胡萝卜素、 α -生育酚、 δ -生育酚、 γ -生育酚与多酚的含量,结合甲醇与热水粗提物的抗氧化活性数据,分析了粗提物中 β -胡萝卜素、 α -生育酚、 δ -生育酚、 γ -生育酚与多酚含量分别与抗氧化活性之间的相关性。同时,这两项研究结果表明真姬菇不同品种之间所含的抗氧化物质种类、抗氧化物质含量可能存在很大的差异。王丽威等^[6]通过提取真姬菇多酚粗提物,发现真姬菇多酚具有清除 DPPH 自由基的能力。前人的研究成果表明尽管不同品种的真姬菇所含的抗氧化物质可能存在较大差异,但都具有一定的抗氧化活性。

本课题组应用原生质体融合技术融合真姬菇与凤尾菇的原生质体,基于漆酶筛选体系,获得一株新的真姬菇高产菌株^[7]并命名为闽真2号。应用白玉菇和灰蟹菇作为亲本,结合分子标记和原生质体单核化杂交育种技术选育出生产性状优良的真姬菇新菌株并命名为闽真3号。本研究采用80%甲醇分别对闽真2号真姬菇与闽真3号真姬菇进行浸提,再分别用正己烷、乙酸乙酯、正丁醇对粗提物进行萃取。应用DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力与总抗氧化能力的方法分析闽真2号真姬菇与闽真3号真姬菇各种萃取物的抗氧化活性。研究结果将为闽真2号真姬菇与闽真3号真姬菇作为天然抗氧化剂的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

闽真2号真姬菇、闽真3号真姬菇 由福建古田福泉鑫生物科技有限公司提供,烘干、粉碎后装于密封袋中备用;没食子酸(纯度 $\geq 99.0\%$) 上海麦克林生化科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,纯度 $\geq 97.0\%$) 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS,纯度 $\geq 98.0\%$) 北京索莱宝科技有限公司;甲醇、十二水合磷酸钠、浓硫酸、无水碳酸钠、Folin-Ciocalteu 试剂、四水合钼酸铵等药品 均为国产分析纯。

N-1300D 型旋转蒸发仪 上海爱朗仪器有限公司;3020 型多功能酶标仪 赛默飞世尔科技公司;

CA-1115A 型冷却水循环装置 上海爱朗仪器有限公司;LGJ-12 型真空冷冻干燥机 北京松源华兴科技有限公司;DK-S24 型电热恒温水浴锅 上海一恒科技仪器有限公司;HZC-250 型全温振荡培养箱 苏州培英实验设备有限公司;AL204 型电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 提取物的制备 真姬菇鲜品在 50℃ 条件下,烘 24 h 使其干燥,粉碎,过 60 目筛,制得真姬菇干粉。通过预实验可知 80% 甲醇作为提取剂时,抗氧化活性比较强;液料比为 8:1 (mL:g) 时,提取率较高。为此,称取 100 g 干粉,放入 1 L 的三角瓶中,加入 800 mL 体积分数为 80% 的甲醇,液料比 8:1 (mL:g),置于 40℃ 的恒温摇床(180 r/min) 浸提 8 h,抽滤得到提取液,浸提操作重复 3 次,合并提取液,旋蒸浓缩,浸膏置于真空冷冻干燥机中冷冻干燥,制得真姬菇粗提物。

将粗提物用适量蒸馏水悬浮,将其倒入分液漏斗中,按体积比 1:1 加入正己烷,振荡,静止 12 h,分液,上层液体倒入烧杯中,得到正己烷萃取液,下层液体按体积比 1:1 加入新的正己烷,正己烷萃取操作重复 3 次,合并正己烷萃取液,旋蒸浓缩,浸膏置于真空冷冻干燥机中冷冻干燥得到正己烷萃取物。采用相同的技术路线制备乙酸乙酯萃取物与正丁醇萃取物;正丁醇萃取物为水萃取物^[8]。最后称取各种萃取物的质量,并计算不同溶剂提取物的提取率,计算公式如下:

$$\text{萃取物提取率}(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

式中: m_1 为不同溶剂萃取物的质量(mg); m_2 为粗提物的质量(mg)。

1.2.2 抗氧化活性的测定

1.2.2.1 总抗氧化能力的测定 按照梁引库等^[9]的测定方法,磷钼试剂的配制:分别称取 1.064 g 十二水合磷酸钠、0.494 g 四水合钼酸铵、3.335 mL 浓硫酸共同溶于 100 mL 水中,混合均匀,使其浓度依次为 28, 4 mmol/L 和 0.6 mol/L。配制不同质量浓度的萃取物,将 0.2 mL 待测样品加入到 1.8 mL 磷钼试剂中,将混合液混匀并置于 95℃ 恒温水浴锅中水浴 90 min,反应液冷却后取 200 μ L 置于 695 nm 处测定吸光值,平行测定 3 次,取其平均值。

1.2.2.2 DPPH 自由基清除能力的测定 测定方法参考 Ma,Ke 等^[10]文献的报道,稍作改动。将 100 μ L 不同质量浓度的萃取物与 100 μ L 的甲醇-DPPH 自由基(终浓度为 0.1 mmol/L)充分混匀后,避光处反应 30 min,最后用多功能酶标仪在 517 nm 处测定反应体系的吸光值,平行测定 3 次,取其平均值。DPPH 自由基清除率的计算公式为:清除率(%) = $[(A_{517 \text{ nm 空白对照}} - A_{517 \text{ nm 样品}}) / A_{517 \text{ nm 空白对照}}] \times 100$ 。

1.2.2.3 ABTS 自由基清除能力的测定 根据 Ksouri R 等^[11]的方法进行测定,稍作改动。吸取 5 mL, 14 mmol/L 的 ABTS 和 5 mL, 4.9 mmol/L 的过硫酸钾溶液,振荡混匀,使其终浓度分别为 7.0, 2.45 mmol/L 的储备液,并将该储备液于室温下暗处静置 12~16 h。将生成的储备液用 80% 甲醇稀释至 734 nm 处吸光

表1 不同溶剂萃取物的提取率(%)

Table 1 The extraction yields of various solvent extracts(%)

品种	粗提物	正己烷萃取物	乙酸乙酯萃取物	正丁醇萃取物	水萃取物
闽真2号	46.30	9.93	0.34	1.11	83.84
闽真3号	51.33	8.12	0.24	1.34	86.85

值为 0.7 ± 0.02 的工作液。反应体系于 96 孔板中加入 $20 \mu\text{L}$ 不同质量浓度的萃取物,再加入 $180 \mu\text{L}$ ABTS 工作液,于室温下避光反应 10 min,测定反应液在 734 nm 处的吸光值,平行测定 3 次,取其平均值。计算 ABTS 自由基清除率,公式如下:ABTS 自由基清除率(%) = $(1 - A_{734 \text{ nm样品}} / A_{734 \text{ nm空白对照}}) \times 100$ 。

1.2.3 多酚含量的测定 测定方法参照张梅梅等^[12]的文献,准确配制 0.08 mg/mL 没食子酸标准液,分别吸取没食子酸标准液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mL,加入 0.3 mL 1.0 mol/L Folin-Ciocalteu 试剂,避光反应 8 min,再加入 0.6 mL 10% (M/V) Na_2CO_3 溶液,混匀后室温下避光反应 30 min,用去离子水定容至 5.0 mL,于 750 nm 处测定吸光值。平行测定 3 次,取其平均值。以反应体系中没食子酸标准品溶液的浓度为横坐标、吸光值为纵坐标作标准曲线,回归方程为: $y = 0.1047x + 0.0153$, $R^2 = 0.9986$ 。取不同溶剂萃取物测定多酚含量,根据标准曲线回归方程式计算多酚含量,其结果表示为每克萃取物中没食子酸的当量毫克数 (gallic acid equivalent, GAE),即 mg GAE。

1.2.4 数据处理 采用 Origin 8.5 和 SPSS 21.0 数据处理软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 真姬菇不同溶剂萃取物提取率

由表 1 可知,闽真 2 号与闽真 3 号粗提物的提取率分别为 46.30%、51.33%,粗提物经正己烷、乙酸乙酯与正丁醇萃取后,不同极性的物质在不同的有机萃取剂中呈现相同的分布趋势,萃取率由大到小为:水萃取物 > 正己烷萃取物 > 正丁醇萃取物 > 乙酸乙酯萃取物。闽真 2 号与闽真 3 号水萃取物的萃取率分别达到 83.84%、86.85%,说明真姬菇粗提物主要由大极性的物质构成。

2.2 真姬菇不同溶剂萃取物抗氧化活性的测定

2.2.1 总抗氧化能力的测定 由图 1 可知,闽真 2 号和闽真 3 号粗提物与四种萃取物的浓度在 1.25 ~ 20 mg/mL 范围内,它们的总抗氧化能力随着粗提物或萃取物浓度的增加而增加。闽真 2 号粗提物、正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物与水萃取物总抗氧化能力的 IC_{50} 值分别为 13.94 ± 0.19 、 2.18 ± 0.14 、 2.47 ± 0.09 、 11.48 ± 0.08 与 23.98 ± 0.45 mg/mL (表 2),其中,正己烷萃取物与乙酸乙酯萃取物的总抗氧化能力之间差异不显著 ($p > 0.05$),但与粗提物、正丁醇萃取物与水萃取物的总抗氧化能力之间差异均达显著水平 ($p < 0.05$)。闽真 3 号粗提物、正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物与水萃取物总抗氧化能力的 IC_{50} 值分别为 14.44 ± 0.17 、 4.10 ± 0.21 、 3.12 ± 0.05 、 11.97 ± 0.10 与 19.76 ± 0.75 mg/mL,且萃

取物之间的总抗氧化能力差异均达显著水平 ($p < 0.05$) (表 2)。阳性对照维生素 C 的 IC_{50} 值为 0.16 ± 0.002 mg/mL (表 2)。闽真 2 号正己烷萃取物的总抗氧化能力最强,而闽真 3 号乙酸乙酯萃取物的总抗氧化能力最强。在总抗氧化能力方面,闽真 2 号稍微优于闽真 3 号,但都明显弱于维生素 C。此外,实验结果也表明闽真 2 号和闽真 3 号发挥总抗氧化能力的物质主要是中小极性的物质,较大极性物质的总抗氧化能力弱。

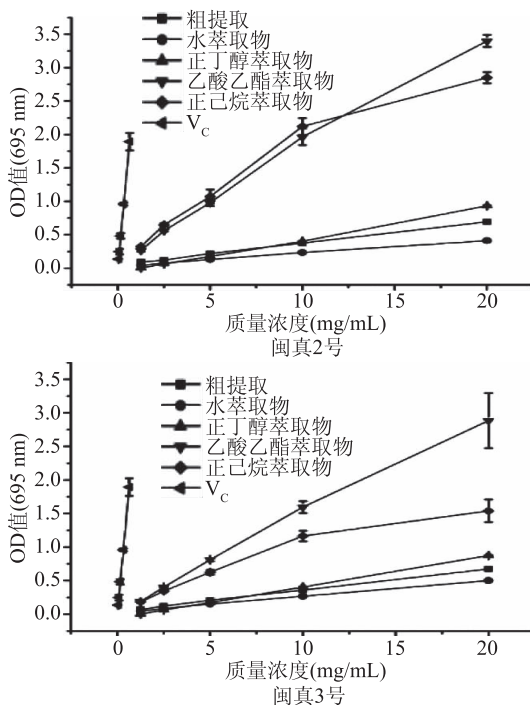


图1 闽真2号和闽真3号各萃取物的总抗氧化能力分析

Fig.1 Assays for total antioxidant activities of various solvent extracts of MinZhen No.2 and MinZhen No.3

2.2.2 DPPH 自由基清除能力的测定 由图 2 可知,除正丁醇萃取物之外,粗提物、正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物与水萃取物清除 DPPH 自由基的能力均随着测试物浓度的增加而增加。闽真 2 号粗提物、正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物与水萃取物清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 5.84 ± 0.17 、 4.97 ± 0.15 、 3.46 ± 0.25 与 6.94 ± 0.10 mg/mL,在测试的浓度范围之内,正丁醇萃取物对 DPPH 自由基的清除率未达 50%,各种萃取物清除 DPPH 自由基能力之间的差异性均达显著水平 ($p < 0.05$),其中乙酸乙酯萃取物清除 DPPH 自由基的效果最好 (表 2)。闽真 3 号粗提物、正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物与水萃取物清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 6.07 ± 0.31 、 4.74 ± 0.02 、 0.83 ± 0.01 、 1.96 ± 0.11 与 3.57 ± 0.06 mg/mL,乙酸乙酯萃取物清除 DPPH 自由基的

效果最好(表2)。与总抗氧化能力分析结果相同,闽真2号清除 DPPH 自由基的能力强于闽真3号清除 DPPH 自由基的能力(表2),但是两者清除 DPPH 自由基的能力都弱于维生素 C。然而,闽真2号和闽真3号各种萃取物清除 DPPH 自由基能力的趋势不同,闽真2号各种萃取物清除 DPPH 自由基能力的趋势为:乙酸乙酯萃取物>正己烷萃取物>粗提物>水萃取物>正丁醇萃取物,闽真3号各种萃取物清除 DPPH 自由基能力的趋势为:乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>水萃取物>正己烷萃取物>粗提物。实验结果表明闽真2号和闽真3号中具有清除 DPPH 自由基的物质都是中小极性的化合物。

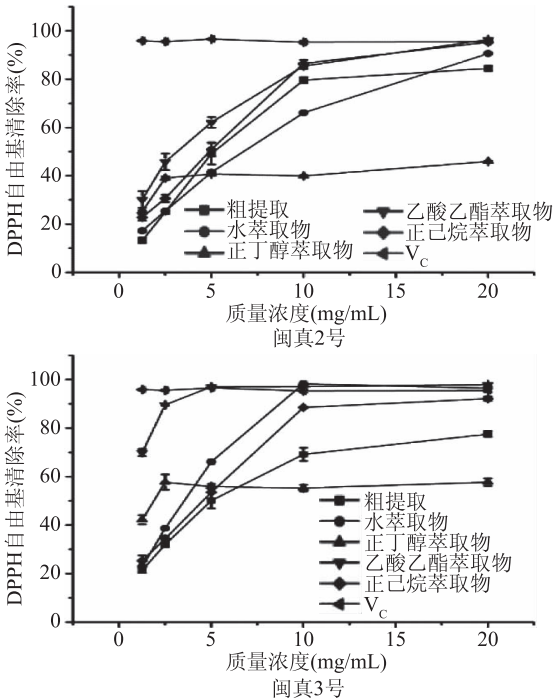


图2 闽真2号和闽真3号各萃取物清除 DPPH 自由基的能力分析

Fig.2 Assays for DPPH radical scavenging activities of various solvent extracts of MinZhen No.2 and MinZhen No.3

2.2.3 ABTS 自由基清除能力的测定 如图3所示,

表2 不同溶剂萃取物抗氧化活性的 IC₅₀ 值 (mg/mL)

Table 2 IC₅₀ values of antioxidant properties of various solvent extracts (mg/mL)

品种	萃取物	总抗氧化能力	清除 DPPH 自由基能力	清除 ABTS 自由基能力
闽真2号	粗提物	13.94 ± 0.19 ^b	5.84 ± 0.17 ^b	4.23 ± 0.07 ^{bc}
	正己烷萃取物	2.18 ± 0.14 ^d	4.97 ± 0.15 ^c	10.45 ± 1.54 ^a
	乙酸乙酯萃取物	2.47 ± 0.09 ^d	3.46 ± 0.25 ^d	5.70 ± 1.02 ^b
	正丁醇萃取物	11.48 ± 0.08 ^c	—	2.25 ± 0.01 ^d
	水萃取物	23.98 ± 0.45 ^a	6.94 ± 0.10 ^a	4.01 ± 0.10 ^c
闽真3号	粗提物	14.44 ± 0.17 ^b	6.07 ± 0.31 ^a	3.65 ± 0.09 ^b
	正己烷萃取物	4.10 ± 0.21 ^d	4.74 ± 0.02 ^b	8.71 ± 0.85 ^a
	乙酸乙酯萃取物	3.12 ± 0.05 ^c	0.83 ± 0.01 ^e	1.57 ± 0.30 ^c
	正丁醇萃取物	11.97 ± 0.10 ^c	1.96 ± 0.11 ^d	1.87 ± 0.03 ^c
阳性对照	V _c	0.16 ± 0.002	5.58 ± 0.12 μg/mL	0.16 ± 0.002

注:同列中不同字母表示均值之间的显著差异性($p < 0.05$);—:检测浓度范围之内清除率未达 50%。

各种萃取物对 ABTS 自由基均表现出良好的清除能力,且清除能力成量效正相关。闽真2号各种萃取物清除 ABTS 自由基能力的趋势为:正丁醇萃取物>水萃取物>粗提物>乙酸乙酯萃取物>正己烷萃取物;闽真3号各种萃取物清除 ABTS 自由基能力的趋势为:乙酸乙酯萃取>正丁醇萃取物>水萃取物>粗提物>正己烷萃取物(表2)。就清除 ABTS 自由基能力而言,闽真3号优于闽真2号,但是两者都弱于维生素 C。实验结果表明闽真2号和闽真3号中具有清除 ABTS 自由基的物质主要为中大极性的物质,小极性物质清除 ABTS 自由基的能力较弱。

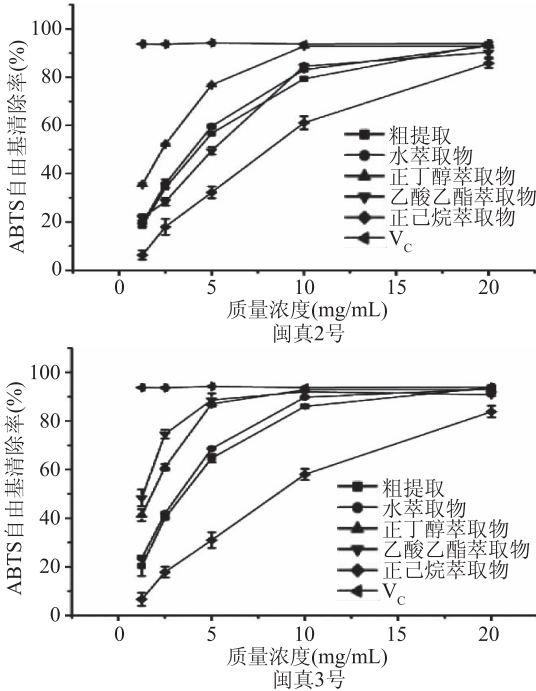


图3 闽真2号和闽真3号各萃取物清除 ABTS 自由基的能力分析

Fig.3 Assays for ABTS radical scavenging activities of various solvent extracts of MinZhen No.2 and MinZhen No.3

2.3 真姬菇不同溶剂萃取物多酚含量

可食用或者不可食用的真菌通常发现包含多种

类型的多酚。据报导多酚具有多种生物学功能,包括抗氧化活性,多酚的抗氧化活性主要由于它们的氧化还原特性决定的^[13]。本研究以没食子酸为标准物,Folin-Ciocalteu 法分别测定闽真 2 号与闽真 3 号各种萃取物中多酚的含量,以期分析萃取物多酚含量与萃取物的抗氧化活性之间的相关性。闽真 2 号各种萃取物多酚含量的趋势为:正丁醇萃取物>乙酸乙酯萃取物>正己烷萃取物>粗提物>水萃取物;闽真 3 号各种萃取物多酚含量的趋势为:乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>粗提物>正己烷萃取物>水萃取物(表 3)。闽真 3 号多酚含量稍微多于闽真 2 号多酚含量。

表 3 不同溶剂萃取物的多酚含量(mg/g 萃取物)

Table 3 Total polyphenol contents of various solvent extracts(mg/g extracts)

萃取物	闽真 2 号	闽真 3 号
粗提物	5.88 ± 0.12 ^d	7.53 ± 0.04 ^c
正己烷萃取物	6.90 ± 0.29 ^c	7.08 ± 0.16 ^{cd}
乙酸乙酯萃取物	22.54 ± 0.70 ^b	37.79 ± 0.10 ^a
正丁醇萃取物	24.76 ± 0.35 ^a	25.74 ± 0.55 ^b
水萃取物	5.24 ± 0.01 ^d	6.72 ± 0.01 ^d

注:同列中不同字母表示均值之间的显著差异性($p < 0.05$)。

2.4 抗氧化活性与多酚含量的相关性

线性回归分析萃取物多酚含量与萃取物的抗氧化活性之间的相关性,结果表明闽真 2 号多酚含量和总抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力的相关系数分别为 0.1665、0.7701、0.1386;闽真 3 号多酚含量和总抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力的相关系数分别为 0.2743、0.7954、0.4230。相关性分析结果表明多酚含量与清除 DPPH 自由基能力之间具有较好的相关性,说明萃取物中多酚是发挥清除 DPPH 自由基的主要成分;然而,多酚含量与总抗氧化能力、清除 ABTS 自由基能力之间的相关性较差(表 4),说明萃取物中发挥总抗氧化能力与清除 ABTS 自由基能力可能主要是非多酚物质,如萜类化合物、生育酚等。

表 4 抗氧化活性的 IC₅₀ 值与多酚含量的相关性

Table 4 Correlation between IC₅₀ values of antioxidant properties and total polyphenol contents

抗氧化活性实验 IC ₅₀ 值	相关性 R ²	
	闽真 2 号 多酚含量	闽真 3 号 多酚含量
总抗氧化能力(IC ₅₀)	0.1665	0.2743
DPPH 自由基清除能力(IC ₅₀)	0.7701	0.7954
ABTS 自由基清除能力(IC ₅₀)	0.1386	0.4230

3 讨论与结论

本研究应用 80% 甲醇浸提真姬菇两个新品种(闽真 2 号、闽真 3 号)中的功能性物质,再用正己烷、乙酸乙酯、正丁醇分别对粗提物进行萃取,分别制得正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物

与水萃取物。由于食用菌提取物的活性物质具有多种成分,粗提物或萃取物的抗氧化活性不能仅仅通过单一方法进行评估,因此本研究采用 3 种分析方法,包括总抗氧能力、DPPH 自由基清除能力和 ABTS 自由基清除能力,分析闽真 2 号与闽真 3 号各种萃取物的抗氧化活性。研究结果表明中小极性的物质比中大极性的物质具有较强的总抗氧化能力与清除 DPPH 自由基能力;而中大极性的物质清除 ABTS 自由基的能力略优于中小极性的物质清除 ABTS 自由基能力。尽管水萃取物占总萃取物的比例达 80% 以上,但其抗氧化活性明显比正己烷萃取物、乙酸乙酯萃取物与正丁醇萃取物的抗氧化活性弱,表明真姬菇中主要的抗氧化物质成分是中小极性物质。通过测定闽真 2 号与闽真 3 号各种萃取物中的多酚含量,结合萃取物的抗氧化活性数据(IC₅₀),分析多酚含量与抗氧化活性之间的相关性。相关性分析结果表明多酚含量仅与清除 DPPH 自由基能力之间具有较好的相关性,本研究结果与 Yu 等^[5]的研究结果相矛盾,他们分析的真姬菇品种中多酚含量与清除 DPPH 自由基能力之间不具有相关性,结果差异性可能源自于不同的真姬菇品种所含的多酚类型可能存在差异性。多酚含量与总抗氧化能力之间相关性差,这与 Sahreen 等^[14]的研究结果相一致。据报导,植物提取物中多酚含量与抗氧化活性成正相关^[14-17]。然而,多酚含量与抗氧化活性之间的相关性一直存在争议,正如 Maria A 等^[18]报道的一样,他们发现甜橙皮不同提取物多酚含量不与它们清除自由基的能力成正比,类似的现象也存在于其他研究成果^[5,19]。真姬菇粗提物与四种萃取物中多酚含量与抗氧化活性之间的关系呈现复杂性,导致这种现象的原因可能有以下两个:不同的萃取溶剂会萃取不同的活性物质,从而导致它们的抗氧化活性呈现差异性;由于用于分析抗氧化活性的方法基于不同的机理与条件,方法之间可能会呈现不同的结果,每一种方法也许只能够部分地反应测试物的抗氧化活性。

总体而言,闽真 2 号真姬菇与闽真 3 号真姬菇的粗提物与四种萃取物都具有一定的抗氧化活性,特别是正己烷萃取物与乙酸乙酯萃取物的抗氧化活性较好,具有开发成天然抗氧化剂的潜能。

参考文献

[1] Morrissey P A, O' brien N M. Dietary antioxidants in health and disease [J]. International Dairy Journal, 1998, 8 (5): 463-472.

[2] Wan C, Yu Y, Zhou S, et al. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different temperatures[J]. Pharmacogn Mag, 2011, 7(25): 40-45.

[3] 郑峻, 林友照, 胡开辉. 真姬菇工厂化栽培关键技术[J]. 福建农业, 2006(8): 18-19.

[4] Lee Y-L, Yen M-T, Mau J-L. Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizigus marmoreus* [J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 1-9.

[5] Lee Y-L, Han S-Y, Lian P-Y, et al. Antioxidant properties of

extracts from a white mutant of the mushroom *Hypsizygus marmoreus* [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21(2):116-124.

[6] 王丽威, 岳喜庆, 刘政, 等. 真姬菇多酚的微波辅助提取及清除 DPPH 自由基活性的研究 [J]. 食品工业科技, 2013(8): 253-256, 261.

[7] Sun S, Li X, Ruan L, et al. A novel breeding strategy for new strains of *Hypsizygus marmoreus* and *Grifola frondosa* based on ligninolytic enzymes [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2014, 30(7):2005.

[8] Kil H Y, Seong E S, Ghimire B K, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract [J]. Food Chemistry, 2009, 115(4):1234-1239.

[9] 梁引库, 王琦, 李新生. 黑米花青苷胶囊体外清除自由基及抗氧化作用的研究 [J]. 食品科技, 2012(8):243-246.

[10] Ma K, Han J, Bao L, et al. Two sarcoviolins with antioxidative and alpha-glucosidase inhibitory activity from the edible mushroom *Sarcodon leucopus* collected in Tibet [J]. J Nat Prod, 2014, 77(4):942-947.

[11] Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents [J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(8):2083-2091.

[12] 张梅梅, 魏志文, 刘玉冰, 等. Folin-Ciocalteu 比色法测定桦褐孔菌多酚的条件优化 [J]. 菌物学报, 2011(2):295-304.

(上接第 55 页)

[27] GB 2762-2012 食品安全国家标准, 食品中污染物限量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[28] 张敏. 蕨甘菊中黄酮的提取分离及生物活性研究 [D]. 广州: 广东工业大学. 2014.

[29] 沈爱喜, 叶德胜, 刘卫东, 等. 金福菇的引种与驯化研究 [J]. 江西农业学报, 2007, 19(1):88-89.

[30] 刘月廉, 吕庆芳, 潘颂民, 等. 富贵竹废料培养食用菌实验 [J]. 中国林副特产, 2005, 74(1):33-35.

[31] 李学明. 金福菇高产栽培技术 [J]. 福建农业, 2006(10):48.

[32] 孟庆国, 陈超, 赵杰, 等. 2009. 金福菇高产栽培技术 [J]. 山东蔬菜, (3):43-46.

[33] 刘克全, 周帅, 李素华. 金福菇高产栽培技术 [J]. 中国食用菌, 2003, 23(2):35-36.

[34] 陈成娣. 金福菇优质高产栽培技术 [J]. 食用菌, 2002(1):21.

[35] 王灿琴, 吴圣进, 陈振妮, 等. 金福菇高产栽培技术 [J]. 广

[13] Ajila C M, Brar S K, Verma M, et al. Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends [J]. Crit Rev Biotechnol, 2011, 31(3):227.

[14] Sahreen S, Khan M R, Khan R A. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits [J]. Food Chemistry, 2010, 122(4):1205-1211.

[15] Yikling C, Jookheng G, Yauyan L. Assessment of *in vitro* antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia [J]. Food Chem, 2009, 116(1):13-18.

[16] Liu S C, Lin J T, Wang C K, et al. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers [J]. Food Chem, 2009, 114(2):577-581.

[17] Gheldof N, Engeseth N J. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(10):3050-3055.

[18] Anagnostopoulou M A, Kefalas P, Papageorgiou V P, et al. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*) [J]. Food Chem, 2006, 94(1):19-25.

[19] Yu L, Haley S, Perret J, et al. Free radical scavenging properties of wheat extracts [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(6):1619-1624.

西农业科学, 2005, 36(1):69-70.

[36] 莫美华, 高亿波, 马紫英, 等. 蕨甘菊栽培的巨大口蘑营养成分研究 [J]. 现代食品科技, 2018, 34(1):1-7.

[37] 王元忠, 汤洪敏, 虞泓, 等. 野生与栽培巨大口蘑子实体营养成分比较 [J]. 中国食用菌, 2005, 24(3):46-47.

[38] GB7096-2014 食品安全国家标准, 食用菌及其制品 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

[39] GB 2762-2012 食品安全国家标准, 食品中污染物限量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[40] 王元忠, 李涛, 曹玉娟, 等. 微波消化——氢化物原子吸收法测定巨大口蘑中砷的含量 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(6):48-49, 61.

[41] 谢宝贵, 刘洁玉. 重金属在三种食用菌中的累积及其生长的影响 [J]. 中国食用菌, 2005, 24(2):35-38.

[42] 李涛, 王元忠. 第三液相富集-石墨炉原子吸收光谱法分析巨大口蘑中的痕量铅 [J]. 玉溪师范学院学报, 2008, 24(8):20-24.

欢迎订阅《食品工业科技》