

潘俊, 刘秀徽, 石萍萍, 等. 白肉灵芝化学成分及体外抗氧化活性分析 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(9): 340-346. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070241

PAN Jun, LIU Xiuwei, SHI Pingping, et al. Chemical Constituents and Antioxidant Activities *in Vitro* of *Ganoderma leucocontextum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(9): 340-346. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070241

· 营养与保健 ·

# 白肉灵芝化学成分及体外抗氧化活性分析

潘俊<sup>1</sup>, 刘秀徽<sup>1</sup>, 石萍萍<sup>1</sup>, 周继伟<sup>1</sup>, 曲媛<sup>2</sup>, 田浩<sup>1,\*</sup>, 李宏<sup>1,\*</sup>

(1. 云南省农业科学院农产品加工研究所, 云南昆明 650223;

2. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南昆明 650504)

**摘要:** 为研究白肉灵芝的主要化学成分及抗氧化活性, 本研究以紫芝、赤芝为参照, 采用多种分析方法对白肉灵芝的营养成分、多糖、三萜、总皂苷、灵芝酸 A、氨基酸、微量元素进行分析, 并考察了不同品种灵芝提取物的 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基、羟基自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 的清除能力。结果表明, 白肉灵芝的粗蛋白含量、氨基酸总量分别为 18.02%~19.02%、113.61~163.51 mg/g, 明显高于紫芝、赤芝。白肉灵芝中主要活性成分多糖、三萜及灵芝酸 A 含量分别为 0.99%~1.42%、1.22%~1.40%、0.069%~0.084%, 明显高于紫芝、赤芝。白肉灵芝中总氨基酸含量为 113.61~163.51 mg/g, 其中谷氨酸和天门冬氨酸的含量较高。白肉灵芝甲醇提取物对 DPPH 自由基、羟基自由基清除率的  $\text{IC}_{50}$  值分别为 0.13~0.19 和 0.54~0.89 mg/mL, 并呈现良好的量效关系, 其抗氧化活性高于紫芝。本研究为白肉灵芝的综合开发提供了理论依据。

**关键词:** 白肉灵芝, 营养成分, 化学成分, 抗氧化性

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)09-0340-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070241

## Chemical Constituents and Antioxidant Activities *in Vitro* of *Ganoderma leucocontextum*

PAN Jun<sup>1</sup>, LIU Xiuwei<sup>1</sup>, SHI Pingping<sup>1</sup>, ZHOU Jiwei<sup>1</sup>, QU Yuan<sup>2</sup>, TIAN Hao<sup>1,\*</sup>, LI Hong<sup>1,\*</sup>

(1. Institute of Agro-Products Processing, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China;

2. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650504, China)

**Abstract:** To study the main chemical components and antioxidant activity of *Ganoderma leucocontextum*, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma sinense* were used as control, a variety of analysis methods were used to analyze the nutritional components, polysaccharides, triterpenes, total saponins, ganoderic acid A, amino acids, and trace elements of *G. leucocontextum*. The scavenging activities of 1, 1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) free radical and hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) of *G. leucocontextum* extracts from different varieties were investigated. The results showed that the crude protein content and total amino acid content of *G. leucocontextum* were 18.02%~19.02%, 113.61~163.51 mg/g, which were significantly higher than *G. lucidum* and *G. sinense*. The main activity contents of polysaccharides, triterpenoids and ganoderma acid A in *G. leucocontextum* were 0.99%~1.42%, 1.22%~1.40%, 0.069%~0.084%, respectively, which were significantly higher than in *G. lucidum* and *G. sinense*. The content of total amino acids in *G. leucocontextum* ranged from 113.61 mg/g to 163.51 mg/g, and the contents of glutamic acid and aspartic acid were high.  $\text{IC}_{50}$  value of methanol extract from *G. leucocontextum* on DPPH and hydroxyl free radical were 0.13~0.19 and 0.54~0.89 mg/mL, respectively, showing a good dose-response relationship, and its antioxidant activity was higher than that of *G. sinense*. This study provides a theoretical basis for the comprehensive development of *G. leucocontextum*.

**Key words:** *Ganoderma leucocontextum*; nutritional components; chemical composition; antioxidant activity

收稿日期: 2020-07-21

基金项目: 云南省农业联合基金重点项目 (2017FG001 (-013)); 云南省重大科技专项项目 (2018ZF013)。

作者简介: 潘俊 (1982-), 男, 本科, 副研究员, 主要从事天然产物研究与开发方面的研究, E-mail: 38435992@qq.com。

\* 通信作者: 田浩 (1982-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事农产品精深加工利用方面的研究, E-mail: 435587903@qq.com。

李宏 (1974-), 男, 硕士, 研究员, 主要从事农产品加工利用方面的研究, E-mail: ynveg@163.com。

灵芝(*Ganoderma lucidum*)属多孔菌科灵芝属大型真菌,为我国名贵中药材<sup>[1]</sup>。灵芝品种丰富,目前已鉴定的有 80 余种,其中紫芝 *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang 和赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 收录于 2015 版《中国药典》,具有补气安神、止咳平喘的功效。灵芝产地分布于全国各地,包括浙江省、山东省、黑龙江省、云南省等地。灵芝主要活性成分为多糖、三萜等<sup>[2]</sup>。除此之外,灵芝还含有蛋白质、氨基酸、多肽等成分<sup>[3-4]</sup>。现代药理研究表明,灵芝具有抗肿瘤、调节免疫、延缓衰老、保护肝脏、调节心血管等作用<sup>[5-9]</sup>。

白肉灵芝(*Ganoderma leucocontextum*)作为我国西南地区灵芝属的一个重要种类,主要分布于云南、西藏等地,已经实现人工栽培。目前,对于紫芝、赤芝的研究较为广泛、深入,而对于白肉灵芝的研究较少,主要集中于生物学鉴定<sup>[10]</sup>、化学成分<sup>[11]</sup>及神经保护作用<sup>[12]</sup>等研究。Zhao 等<sup>[11]</sup>从白肉灵芝子实体中分离得到 18 个三萜类化合物,但这些成分均为微量成分,未对白肉灵芝的主要成分进行研究。据报道,灵芝具有显著的延缓衰老的作用,具有潜在的抗氧化应激的作用<sup>[13]</sup>,但白肉灵芝抗氧化作用尚属空白。

因此,本研究以白肉灵芝为对象,赤芝、紫芝为参考,对比分析白肉灵芝中化学成分及抗氧化活性,为白肉灵芝的综合开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

白肉灵芝、赤芝及紫芝样品 采自云南,样品来源见表 1,白肉灵芝、赤芝及紫芝样品分别经云南省农业科学院药用植物研究所张金渝研究员鉴定为多孔菌科真菌白肉灵芝 *Ganoderma leucocontextum*、赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.、紫芝 *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang 的干燥子实体;葡萄糖、齐墩果酸、灵芝酸 A、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 纯度 98% 以上 上海金穗生物科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;蒽酮、冰醋酸、香草醛、磷酸、硫酸亚铁、双氧水、水杨酸钠 分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乙腈 色谱纯,美国 Sigma 公司。

UPT-I-20T 优普系列超纯水器 成都超纯科技

有限公司;AX124ZH 型电子分析天平 上海奥豪斯仪器有限公司;BL10-250A 超声波清洗机 上海比朗仪器有限公司;岛津 LC-20AB 高效液相色谱仪 日本岛津公司;TD25-WS 台式低速离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;T6 新世纪紫外可见分光光度计 云南悦分环境检测有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 灵芝中营养成分含量测定 水分含量测定参照国标《GB 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定》<sup>[14]</sup>;灰分含量测定参照国标《GB 5009.4-2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定》<sup>[15]</sup>;粗蛋白含量测定参照国标《GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》<sup>[16]</sup>;粗脂肪含量测定参照国标《GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》<sup>[17]</sup>;总淀粉含量测定参照国标《GB 5009.9-2016 食品安全国家标准 食品中淀粉的测定》<sup>[18]</sup>;粗纤维含量测定参照国标《GB/T 5009.10-2003 植物类食品中粗纤维的测定》<sup>[19]</sup>;氨基酸含量测定参照国标《GB 5009.124-2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》<sup>[20]</sup>;矿物质元素锌、铁、锰、镁、钙、铜的测定参照国标《GB 5009.268-2016 食品安全国家标准 食品中多元素的测定》<sup>[21]</sup>。

1.2.2 灵芝中多糖含量测定 多糖含量测定参照《中华人民共和国药典 2015 年版 一部》中灵芝多糖的测定方法进行测定<sup>[22]</sup>。按干品计算,含灵芝多糖以无水葡萄糖(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)计。

1.2.3 灵芝中三萜及甾醇含量测定 三萜及甾醇含量测定参照《中华人民共和国药典 2015 年版 一部》中灵芝三萜及甾醇的测定方法进行测定。按干品计算,含三萜及甾醇以齐墩果酸(C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>)计<sup>[22]</sup>。

1.2.4 灵芝中总皂苷含量测定 总皂苷含量测定参考杨道强等<sup>[23]</sup>的测定方法。取人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 适量,精密称定,加 50% 乙醇制成浓度为 0.2 mg/mL 的人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 标准液。分别吸取 0.2、0.6、1.0、1.4、1.8 mL 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 标准液至试管,水浴挥干溶剂,加入新配制的 5% 香草醛-冰醋酸 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,摇匀,于 70 °C 水浴加热 20 min,取出置冰浴 5 min,加入冰醋酸 5 mL 摇匀,以相应试剂为空白,照紫外-可见分光光度法,在 548 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,对照品含量为横坐标。得到回归方程  $Y=0.0039x-0.0044(R^2=0.9995)$ 。测定样品时,取

表 1 样品的来源信息

Table 1 The source of samples

编号	品种	拉丁名	产地
GLC-1	白肉灵芝	<i>Ganoderma leucocontextum</i>	昆明市
GLC-2	白肉灵芝	<i>Ganoderma leucocontextum</i>	楚雄市
GLC-3	白肉灵芝	<i>Ganoderma leucocontextum</i>	怒江市
GL-1	赤芝	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. ex Fr.)Karst.	楚雄市
GS-1	紫芝	<i>Ganoderma sinense</i> Zhao, Xu et Zhang	楚雄市

适量待测溶液 1 mL, 加入 50% 乙醇 2 mL, 取 0.2 mL 样品溶液于试管中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“挥干”起, 同法操作, 测定吸光度, 从标准曲线上读出供试品溶液中人参皂苷  $Rb_1$  的含量, 计算, 即得。

**1.2.5 HPLC 法测定灵芝中灵芝酸 A 含量** 灵芝酸 A 的测定参考周丹英等<sup>[24]</sup>的测定方法。色谱条件: 色谱柱(YMC-Tridrt  $C_{18}$ , 4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m), 柱温 35  $^{\circ}$ C, 流速 1 mL/min, 检测波长 252 nm, 进样量 20  $\mu$ L。流动相 A-0.05% 磷酸水溶液, B-乙腈。梯度洗脱程序: 0~10 min, 5%~20%B; 10~15 min, 20%~30%B; 15~35 min, 30%~40%B; 35~55 min, 40%~60%B; 55~80 min, 60%~80%B。取灵芝酸 A 标准品 5 mg, 精密称定, 加甲醇配制成 5 mg/mL 灵芝酸 A 标准液。分别精密量取不同浓度灵芝酸 A 对照品溶液 20  $\mu$ L 进样, 绘制标准曲线。灵芝酸 A 的回归方程为  $Y=6000000X-10097(R^2=0.9991)$ , 灵芝酸 A 在 10~500  $\mu$ g/mL 间与峰面积具有良好线性关系。取灵芝样品粉末 0.5 g 于 10 mL 具塞锥形瓶中, 加入 5 mL 甲醇, 超声提取 30 min, 离心, 取上清液, 滤渣再提取, 合并上清液, 并转移至 10 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 取续滤液, 0.45  $\mu$ L 微孔滤膜滤过, 作为供试液。精密量取供试品溶液 20  $\mu$ L 进样测定, 外标法计算灵芝酸 A 的含量。

**1.2.6 灵芝提取物抗氧化活性的测定** 称定不同品种不同产地灵芝样品 10 g, 加入乙醇 200 mL, 超声处理 30 min, 离心, 滤渣再次提取, 合并滤液, 减压浓缩干燥后, 得灵芝甲醇提取物。分别将不同灵芝甲醇提取物、 $V_C$  配成浓度为 0.05、0.25、0.5、1.25、2.5 和 5 mg/mL 6 个浓度的溶液进行 DPPH 自由基及羟基自由基清除能力的测定。

分别取不同浓度灵芝、 $V_C$  样品 2 mL, 与 0.1 mmol/L DPPH 甲醇溶液按 1:1 的体积比例混合均匀; 室温避光反应 30 min, 照紫外-可见分光光度法, 于 517 nm 波长下测定吸光度<sup>[25-26]</sup>, 记为  $A_{\text{样品}}$ 。空白组取 2 mL 甲醇加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 甲醇溶液, 以同样方式操作得到的吸光度, 记为  $A_{\text{空白}}$ ; 本底组取 2 mL 待测品, 加入 2 mL 甲醇溶液, 以同样方式操作得到的吸光度, 记为  $A_{\text{本底}}$ 。DPPH 自由基清除率公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = (A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{本底}})) / A_{\text{空白}} \times 100$$

式中:  $A_{\text{空白}}$  表示空白组的吸光度;  $A_{\text{样品}}$  为样品组的吸光度;  $A_{\text{本底}}$  为本底组的吸光度。

分别取 2 mL 待测样品与 1.4 mL 6 mmol/L 的  $H_2O_2$  混匀, 再将 0.6 mL 20 mmol/L 水杨酸钠和 2 mL 1.5 mmol/L 硫酸亚铁加入其中, 振荡均匀, 于 37  $^{\circ}$ C 水浴反应 1 h。按照紫外-可见分光光度法, 在 562 nm 测量其吸光度<sup>[27]</sup>, 记为  $A_{\text{样品}}$ 。空白组用等量的超纯水代替样品, 以同样方式操作得到的吸光度, 记为  $A_{\text{空白}}$ ; 本底组用等量的超纯水代替  $H_2O_2$ , 以同样方式操作得到的吸光度, 记为  $A_{\text{本底}}$ 。羟基自由基清除能力具体计算公式如下:

$$\cdot\text{OH 清除能力}(\%) = (A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{本底}})) / A_{\text{空白}} \times 100$$

式中:  $A_{\text{空白}}$  表示空白组的吸光度;  $A_{\text{样品}}$  为样品组的吸光度;  $A_{\text{本底}}$  为本底组的吸光度。

### 1.3 数据处理

采用 SPSS Statistics 19.0 软件进行数据分析, 每组重复 3 次, 结果以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 实验数据采用 SPSS Statistics 19.0 进行方差分析,  $P < 0.05$  表明差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 白肉灵芝的营养成分分析

灵芝为食药两用真菌, 不同品种灵芝营养成分和活性成分之间有一定的差异, 可根据灵芝子实体中的主要活性成分和营养成分含量不同对其进行全面的功能评价<sup>[28]</sup>。由表 2 可以看出, 白肉灵芝的水分、灰分、粗纤维、粗脂肪、总淀粉的含量分别为 4.37%~6.68%、2.50%~2.78%、14.30%~20.05%、4.25%~6.49%、1.65%~2.03%, 与紫芝、赤芝相似。白肉灵芝中粗蛋白的含量为 18.02%~19.02%, 显著高于赤芝(8.96%)、紫芝(13.47%)( $P < 0.05$ ), 且与一些常见蘑菇中粗蛋白含量相当, 如香菇 20.3%、杏鲍菇 21.44%、美味蘑菇 22.75%<sup>[29-30]</sup>。白肉灵芝中粗纤维的含量虽与紫芝、赤芝相似, 但明显高于美味蘑菇 6.68%、香菇 4.5%, 略低于杏鲍菇 34.03%<sup>[31-32]</sup>。不同产地的白肉灵芝中水分、粗纤维、粗脂肪、总淀粉含量差异显著( $P < 0.05$ ), 其中楚雄地区白肉灵芝的水分、灰分含量最低, 分别为 4.37%、2.50%, 粗蛋白、粗纤维、粗脂肪、总淀粉含量最高, 分别为 19.02%、20.05%、6.49%、2.03%。因此, 白肉灵芝具有高蛋白、高纤维的特性, 是一种营养均衡的物质,

表 2 白肉灵芝的一般营养成分含量( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 2 Nutritional components of *G. leucocontextum* ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

编号	水分(%)	灰分(%)	粗蛋白(%)	粗纤维(%)	粗脂肪(%)	总淀粉(%)
GLC-1	5.08 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	2.78 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	18.80 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>	17.02 $\pm$ 0.68 <sup>c</sup>	4.25 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	1.79 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>
GLC-2	4.37 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	2.50 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	19.02 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>	20.05 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	6.49 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.03 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
GLC-3	6.68 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	2.68 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	18.02 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	14.30 $\pm$ 0.28 <sup>d</sup>	5.24 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	1.65 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>
GL-1	5.78 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	3.78 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	8.96 $\pm$ 0.67 <sup>c</sup>	22.47 $\pm$ 0.78 <sup>a</sup>	6.78 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	1.85 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
GS-1	4.65 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	2.96 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	13.47 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>	15.48 $\pm$ 0.44 <sup>d</sup>	3.25 $\pm$ 0.15 <sup>d</sup>	1.96 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>

注: 不同小写字母表示不同品种不同产地灵芝间存在显著差异( $P < 0.05$ ); 表 3~表 5 同。

可以应用于食品产品开发领域。

### 2.2 白肉灵芝的多糖、总皂苷、三萜及灵芝酸 A 含量分析

灵芝化学成分复杂, 其中多糖类、三萜类物质是灵芝的主要活性成分。云南白肉灵芝中多糖、总皂苷、三萜及灵芝酸 A 含量如表 3 所示。从表 3 可以看出, 白肉灵芝中三萜及灵芝酸 A 含量为 1.22%~1.40%、0.069%~0.084%, 显著高于紫芝、赤芝 ( $P<0.05$ ), 与文献报道一致<sup>[33-34]</sup>。楚雄和怒江地区的白肉灵芝多糖含量显著高于其它灵芝 ( $P<0.05$ )。而白肉灵芝中总皂苷含量与紫芝、赤芝差别不大。云南三个产地白肉灵芝三萜、灵芝酸 A 含量差异不显著 ( $P>0.05$ ), 其中怒江地区的白肉灵芝多糖含量最高, 为 1.42%; 楚雄地区的总皂苷、三萜及灵芝酸 A 含量最高, 分别为 2.83%、1.40%、0.084%。以上结果可以看出, 云南三个产地白肉灵芝中多糖及总皂

苷含量有一定差异, 而三萜、灵芝酸 A 含量差异不大, 这可能是栽培方式及多糖、三萜及皂苷的生物合成代谢途径不同所致<sup>[35]</sup>。

### 2.3 白肉灵芝的氨基酸成分分析

不同产地白肉灵芝中氨基酸含量如表 4 所示。由表 4 可以看出, 不同产地的白肉灵芝中共检出 17 种氨基酸, 总氨基酸含量为 113.61~163.51 mg/g, 显著高于赤芝 76.45 mg/g、紫芝 76.11 mg/g ( $P<0.05$ )。其中谷氨酸含量最高, 变幅为 16.12~22.62 mg/g, 显著高于赤芝 4.82 mg/g、紫芝 8.64 mg/g ( $P<0.05$ ); 其次为天门冬氨酸, 变幅为 12.02~15.61 mg/g, 显著高于赤芝 4.81 mg/g、紫芝 6.51 mg/g ( $P<0.05$ ); 含量最低的是胱氨酸和蛋氨酸, 分别为 0.68~1.25 mg/g、1.32~5.26 mg/g。3 个产地的白肉灵芝中总氨基酸含量最高的是怒江地区, 为 163.51 mg/g, 其含量为赤芝和紫芝的两倍。不同产地的白肉灵芝中必需氨基酸

表 3 白肉灵芝的多糖、总皂苷、三萜及灵芝酸 A 含量 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 The contents of polysaccharides, total saponins, triterpenes and ganoderic acid A of *G. leucocontextum* ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

编号	多糖 (%)	总皂苷 (%)	三萜 (%)	灵芝酸 A (%)
GLC-1	0.99±0.02 <sup>b</sup>	2.72±0.63 <sup>a</sup>	1.22±0.18 <sup>a</sup>	0.069±0.02 <sup>a</sup>
GLC-2	1.24±0.08 <sup>a</sup>	2.83±0.57 <sup>a</sup>	1.40±0.09 <sup>a</sup>	0.084±0.03 <sup>a</sup>
GLC-3	1.42±0.04 <sup>a</sup>	2.30±0.28 <sup>b</sup>	1.25±0.07 <sup>a</sup>	0.072±0.02 <sup>a</sup>
GL-1	0.90±0.06 <sup>b</sup>	2.84±0.61 <sup>a</sup>	1.01±0.07 <sup>b</sup>	0.054±0.04 <sup>b</sup>
GS-1	0.12±0.05 <sup>c</sup>	2.19±0.21 <sup>b</sup>	0.75±0.07 <sup>c</sup>	0.032±0.03 <sup>c</sup>

表 4 白肉灵芝的氨基酸含量 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Amino acids contents of *G. leucocontextum* ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

氨基酸	含量 (mg/g)				
	GLC-1	GLC-2	GLC-3	GL-1	GS-1
天门冬氨酸	12.02±0.54 <sup>b</sup>	14.92±1.45 <sup>a</sup>	15.61±0.99 <sup>a</sup>	4.81±0.59 <sup>d</sup>	6.51±0.37 <sup>c</sup>
苏氨酸*	5.82±0.24 <sup>b</sup>	7.43±0.98 <sup>a</sup>	7.84±0.36 <sup>a</sup>	3.79±0.16 <sup>c</sup>	4.03±0.26 <sup>c</sup>
丝氨酸	5.73±0.67 <sup>c</sup>	7.28±0.68 <sup>b</sup>	11.91±0.45 <sup>a</sup>	5.45±0.49 <sup>c</sup>	3.62±0.54 <sup>d</sup>
谷氨酸	16.12±1.57 <sup>c</sup>	20.41±0.79 <sup>b</sup>	22.62±0.68 <sup>a</sup>	4.82±0.29 <sup>e</sup>	8.64±0.48 <sup>d</sup>
甘氨酸	6.23±0.46 <sup>b</sup>	7.73±0.85 <sup>a</sup>	5.94±0.47 <sup>b</sup>	3.53±0.38 <sup>c</sup>	3.41±0.32 <sup>c</sup>
丙氨酸	7.87±0.35 <sup>c</sup>	9.72±0.47 <sup>b</sup>	11.38±0.35 <sup>a</sup>	7.25±0.46 <sup>c</sup>	4.75±0.27 <sup>d</sup>
胱氨酸	1.13±0.09 <sup>a</sup>	1.25±0.58 <sup>a</sup>	0.68±0.04 <sup>b</sup>	0.48±0.05 <sup>c</sup>	0.59±0.02 <sup>b</sup>
缬氨酸*	7.48±0.86 <sup>b</sup>	8.21±0.37 <sup>b</sup>	10.82±0.46 <sup>a</sup>	6.71±0.77 <sup>b</sup>	4.51±0.19 <sup>c</sup>
蛋氨酸*	1.32±0.36 <sup>b</sup>	1.58±0.57 <sup>b</sup>	5.26±0.79 <sup>a</sup>	0.82±0.04 <sup>c</sup>	0.81±0.06 <sup>c</sup>
异亮氨酸*	5.07±0.28 <sup>c</sup>	5.73±0.68 <sup>c</sup>	8.22±0.27 <sup>b</sup>	3.71±0.36 <sup>d</sup>	14.52±0.98 <sup>a</sup>
亮氨酸*	8.64±0.47 <sup>c</sup>	10.17±0.25 <sup>b</sup>	14.16±0.87 <sup>a</sup>	5.79±0.26 <sup>d</sup>	5.82±0.34 <sup>d</sup>
酪氨酸	2.34±0.24 <sup>c</sup>	2.52±0.35 <sup>c</sup>	6.94±0.45 <sup>a</sup>	4.61±0.38 <sup>b</sup>	3.61±0.28 <sup>b</sup>
苯丙氨酸*	5.27±0.25 <sup>c</sup>	6.56±0.17 <sup>b</sup>	8.98±0.26 <sup>a</sup>	4.44±0.36 <sup>d</sup>	3.62±0.88 <sup>d</sup>
组氨酸	8.32±0.35 <sup>b</sup>	14.06±1.57 <sup>a</sup>	5.16±0.37 <sup>c</sup>	7.41±0.58 <sup>b</sup>	1.82±0.36 <sup>d</sup>
赖氨酸*	6.51±0.32 <sup>c</sup>	8.13±0.26 <sup>b</sup>	11.52±0.27 <sup>a</sup>	3.74±0.84 <sup>d</sup>	3.61±0.26 <sup>d</sup>
精氨酸	7.75±0.45 <sup>c</sup>	8.83±0.57 <sup>b</sup>	10.44±0.19 <sup>a</sup>	7.22±0.48 <sup>c</sup>	3.62±0.57 <sup>d</sup>
脯氨酸	5.54±0.87 <sup>b</sup>	6.69±0.36 <sup>a</sup>	6.03±0.38 <sup>a</sup>	1.87±0.28 <sup>c</sup>	2.62±0.09 <sup>c</sup>
必需氨基酸总量	40.11±0.34 <sup>c</sup>	47.81±0.51 <sup>b</sup>	66.80±0.48 <sup>a</sup>	29.00±0.33 <sup>e</sup>	36.92±0.35 <sup>d</sup>
非必需氨基酸总量	73.05±0.56 <sup>c</sup>	93.41±0.77 <sup>b</sup>	96.71±0.44 <sup>a</sup>	47.45±0.40 <sup>d</sup>	39.19±0.33 <sup>c</sup>
氨基酸总量	113.16±0.47 <sup>c</sup>	141.22±0.66 <sup>b</sup>	163.51±0.46 <sup>a</sup>	76.45±0.37 <sup>d</sup>	76.11±0.34 <sup>d</sup>
药用氨基酸	66.20±0.54 <sup>c</sup>	80.85±0.66 <sup>b</sup>	101.47±0.60 <sup>a</sup>	39.78±0.35 <sup>d</sup>	39.65±0.35 <sup>d</sup>
必需氨基酸/氨基酸总量	0.35	0.34	0.41	0.38	0.49

注: \*为必需氨基酸。

与总氨基酸比值为 0.34~0.41,与紫芝和赤芝比例相似,接近于 FAO/WHO 所提出的 0.40 的比值<sup>[36]</sup>,3 个产地的白肉灵芝之间必需氨基酸与总氨基酸比值的差异不显著,说明白肉灵芝中必需氨基酸组成比例相对均衡。

药用氨基酸是由天门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、精氨酸组成,一般在植物中含量少,部分在人体不能合成,但又是维持机体氮平衡所必需的。不同产地白肉灵芝中药用氨基酸含量具有显著差异( $P<0.05$ ),变幅为 66.20~101.47 mg/g,显著高于赤芝 39.78 mg/g、紫芝 39.65 mg/g( $P<0.05$ ),其中怒江地区的白肉灵芝药用氨基酸含量最高,为 101.47 mg/g。白肉灵芝中药用氨基酸含量占氨基酸总量均高于 50%。其中天门冬氨酸和谷氨酸是白肉灵芝中含量较高的药用氨基酸,也是其中重要的鲜味物质<sup>[37-38]</sup>。天门冬氨酸有缓解疲劳,预防心脏病、高血压等疾病的功能<sup>[39]</sup>。谷氨酸是一种重要的功能性氨基酸,具有调节神经中枢及大脑皮质功能<sup>[40]</sup>。这些说明白肉灵芝氨基酸含量丰富,营养和药用价值高。

#### 2.4 白肉灵芝的矿质元素分析

矿物质元素对人体的细胞代谢及生理功能起着重要的作用,钙可参与新陈代谢,促进骨骼发育<sup>[41]</sup>;铁是血红蛋白的重要部分,可以预防和治疗缺铁性贫血<sup>[42]</sup>。白肉灵芝中矿质元素含量如表 5 所示。由表 5 可以看出,白肉灵芝中镁、钙、铁含量丰富,分别为 914.25~942.56、575.18~807.25、380.00~465.35 mg/kg,显著高于赤芝(659.14、496.15、285.65 mg/kg)、紫芝(835.92、378.82、325.68 mg/kg)( $P<0.05$ ),而不同品种灵芝中锌、锰、铜含量差异不显著( $P>0.05$ )。不同产地白肉灵芝中镁、钙、铁含量所有差异,其中昆明地区的白肉灵芝镁、钙含量最高,分别为 942.56、807.25 mg/g;楚雄地区的白肉灵芝铁含量最高,为 465.35 mg/g。白肉灵芝具有高钙、高镁、高铁的特点,营养价值丰富,可以作为食品进行开发利用。

#### 2.5 白肉灵芝的抗氧化活性

氧化应激反应对人体衰老和健康具有非常重大的影响,各种因素导致的过量自由基可以引发和加剧多种疾病,应用抗氧化剂来维持人体健康具有广泛的需求<sup>[43-44]</sup>。羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )作为最活泼、氧化性最

大的自由基,会造成细胞的突变或坏死<sup>[45]</sup>。DPPH 通常可以用来检测活性物质对自由基的清除能力<sup>[46]</sup>。白肉灵芝甲醇提取物对 DPPH 自由基、羟基自由基清除率如图 1 和图 2 所示。由图 1 可知,白肉灵芝、赤芝、紫芝均具有一定的清除 DPPH 自由基能力,其中在浓度低于 2.5 mg/mL 时,赤芝最强,白肉灵芝次之,紫芝最弱。当灵芝提取物浓度在 0.5 mg/mL 时,不同产地白肉灵芝甲醇提取物对 DPPH 自由基的清除率已经达到 65.02%~76.09%,高于紫芝(50.36%),低于赤芝(87.40%)及  $V_C$ (96.25%),说明 3 个产地白肉灵芝对 DPPH 自由基具有很好的清除作用。经计算得出不同产地白肉灵芝甲醇提取物对 DPPH 自由基清除率的  $IC_{50}$  值为 0.13~0.19 mg/mL,其中楚雄地区的白肉灵芝的  $IC_{50}$  值最低,为 0.13 mg/mL;赤芝的  $IC_{50}$  值为 0.07 mg/mL;紫芝的  $IC_{50}$  值为 0.46 mg/mL; $V_C$  的  $IC_{50}$  值为 0.01 mg/mL。

由图 2 可知,白肉灵芝对羟基自由基具有一定的清除能力,其活性强于紫芝,与赤芝相似,其清除能力与样品浓度呈现良好的剂量关系。当灵芝提取物浓度在 1.25 mg/mL 时,不同产地白肉灵芝甲醇提取物对羟基自由基的清除率已经达到 46.87%~59.98%,高于紫芝(39.86%),低于  $V_C$ (75.30%)。经计算得出不同产地白肉灵芝甲醇提取物对羟基自由基清除率的  $IC_{50}$  值为 0.54~0.89 mg/mL;赤芝的  $IC_{50}$  值为 0.60 mg/mL;紫芝的  $IC_{50}$  值为 1.70 mg/mL; $V_C$  的  $IC_{50}$  值为 0.15 mg/mL。以上结果说明白肉灵芝具有一定的抗氧化活性,其活性与赤芝相似。

### 3 结论

白肉灵芝含有丰富的营养物质,通过成分分析得到其粗蛋白含量为 18.02%~19.02%,粗纤维含量为 14.30%~20.05%。白肉灵芝中主要活性成分多糖、三萜及灵芝酸 A 含量分别为 0.99%~1.42%、1.22%~1.40%、0.069%~0.084%,明显高于紫芝、赤芝。白肉灵芝中总氨基酸含量为 113.61~163.51 mg/g,其中谷氨酸和天门冬氨酸的含量较高,分别为 16.12~22.62 mg/g、12.02~15.61 mg/g。白肉灵芝中药用氨基酸含量占氨基酸总量均高于 50%。白肉灵芝具有高钙、高镁、高铁的特点,营养价值丰富,其镁、钙、铁含量分别为 914.25~942.56、575.18~807.25、380.00~465.35 mg/kg。体外抗氧化活性实

表 5 白肉灵芝的矿质元素含量( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Table 5 Mineral elements contents of *G. leucocontextum* ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

微量元素	含量(mg/kg)				
	GLC-1	GLC-2	GLC-3	GL-1	GS-1
Zn	37.82±0.52 <sup>b</sup>	29.20±0.51 <sup>c</sup>	41.40±1.02 <sup>a</sup>	29.85±0.69 <sup>c</sup>	38.50±1.22 <sup>b</sup>
Fe	450.24±3.28 <sup>b</sup>	465.35±3.75 <sup>a</sup>	380.00±2.21 <sup>c</sup>	285.65±1.67 <sup>c</sup>	325.68±4.56 <sup>d</sup>
Mn	37.82±0.68 <sup>b</sup>	37.42±0.77 <sup>b</sup>	37.50±1.26 <sup>b</sup>	42.57±0.93 <sup>a</sup>	24.67±0.25 <sup>c</sup>
Mg	942.56±6.23 <sup>a</sup>	914.25±4.45 <sup>c</sup>	927.46±8.92 <sup>b</sup>	659.14±6.55 <sup>c</sup>	835.92±9.01 <sup>d</sup>
Ca	807.25±15.29 <sup>a</sup>	575.18±7.97 <sup>c</sup>	672.00±10.28 <sup>b</sup>	496.15±13.74 <sup>d</sup>	378.82±15.59 <sup>c</sup>
Cu	6.92±0.18 <sup>b</sup>	7.28±0.39 <sup>b</sup>	8.84±0.86 <sup>a</sup>	5.68±0.67 <sup>c</sup>	8.34±0.74 <sup>a</sup>

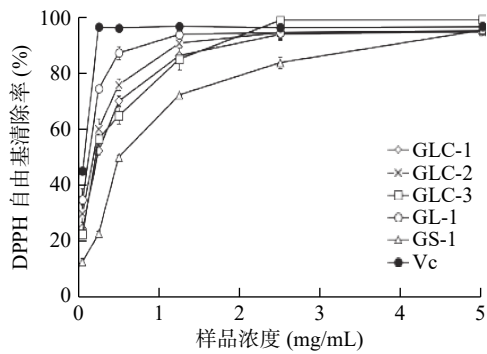


图 1 白肉灵芝对 DPPH 自由基的清除能力

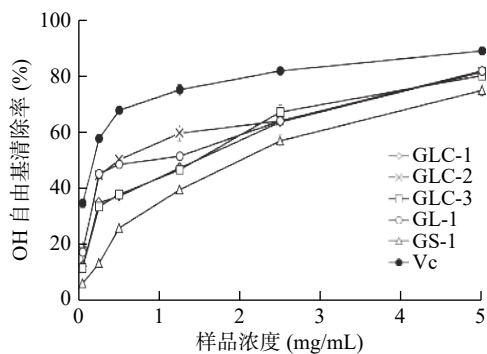
Fig.1 DPPH free radical scavenging ability of *Ganoderma leucocontextum*

图 2 白肉灵芝对羟基自由基的清除能力

Fig.2 Scavenging ability of hydroxyl radical in *Ganoderma leucocontextum*

验表明,白肉灵芝甲醇提取物对 DPPH 自由基、羟基自由基清除率的  $IC_{50}$  值分别为 0.13~0.19 和 0.54~0.89 mg/mL,并呈现良好的量效关系,其抗氧化活性高于紫芝。本研究为云南白肉灵芝食用价值提供了参考依据,为今后进一步开发利用白肉灵芝提供了数据支持。

### 参考文献

- [1] Cao Y, Wu S H, Dai Y C. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom "Lingzhi" [J]. *Fungal Diversity*, 2012, 56: 49-62.
- [2] 张汇, 最少平, 艾连中, 等. 灵芝多糖的结构及其表征方法研究进展[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(1): 290-301.
- [3] 周选围, 林娟, 周良. 灵芝主要营养成分的测定分析[J]. *陕西师范大学学报: 自然科学版*, 1998(S1): 219-222.
- [4] 林娟, 周选围. 三种灵芝主要营养成分的比较分析[J]. *中国林副特产*, 1999(3): 1-2.
- [5] Liu L Y, Chen H, Liu C, et al. Triterpenoids of *Ganoderma theaeacolum* and their hepatoprotective activities[J]. *Fitoterapia*, 2014, 98: 254-259.
- [6] Liu R M, Li Y B, Zhong J J. Cytotoxic and pro-apoptotic effects of novel ganoderic acid derivatives on human cervical cancer cells *in vitro* [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2012, 681: 23-28.
- [7] 谢怡琼, 王琪瑞, 孙思雅, 等. 灵芝的药理作用和临床应用研究进展[J]. *临床医学研究与实践*, 2020, 5(10): 191-193.

- [8] 郝萌萌, 王金艳, 冯娜, 等. 灵芝子实体中不同极性的三萜体外抗肿瘤及抗炎活性比较[J]. *菌物学报*, 2019, 38(6): 917-925.
- [9] Liu T, Zhou J C, Li W X, et al. Effects of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* on growth performance, antioxidant function and immune response of broilers[J]. *Animal Nutrition*, 2020, 6(1): 39-46.
- [10] Li T H, Hu H P, Deng W Q, et al. *Ganoderma leucocontextum*, a new member of the *G. lucidum* complex from southwestern China[J]. *Mycoscience*, 2015, 56(1): 81-85.
- [11] Zhao Z Z, Chen H P, Li Z H, et al. Leucocontextins A-R, lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma leucocontextum* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 109: 91-98.
- [12] 王昱, 何九军, 张宗舟. 白肉灵芝水提取物对衰老大鼠皮肤的作用研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(12): 2131-2136.
- [13] 沐华, 蔡铭, 徐靖, 等. 破壁与去壁灵芝孢子粉的化学成分与抗氧化活性比较[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(10): 32-37, 51.
- [14] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.3-2016 食品中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [15] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.4-2016 食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [16] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.5-2016 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [17] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.6-2016 食品中脂肪的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [18] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.9-2016 食品中淀粉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [19] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB/T 5009.10-2003 植物类食品中粗纤维的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [20] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.124-2016 食品中氨基酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [21] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.268-2016 食品中多元素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [22] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [23] 杨道强, 陆胜民, 夏其乐, 等. 灵芝酒浸提过程中主要功能成分的变化及抗氧化作用研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2016, 35(2): 205-210.
- [24] 周丹英, 胡云莉, 夏正燕, 等. 一测多评法定量分析灵芝及灵芝孢子粉中单体三萜成分的应用[J]. *亚太传统医药*, 2017, 13(14): 24-26.
- [25] 于晓丹, 王一菲, 姜霁航, 等. 狭长孢灵芝液体发酵上清液抗氧化活性研究(英文)[J]. *菌物学报*, 2020, 39(1): 84-98.
- [26] Larrauri J A, Nchez-Moreno C S, Saura-Calixto F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1998, 46(7): 2694.
- [27] 林海燕, 王珊珊, 孙珊, 等. 响应面法优化南极磷虾亚铁整合肽制备工艺及其理化性质[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(21): 166-173.

- [28] 郭金英, 朱优优, 刘贵巧, 等. 不同品种灵芝主要活性成分与营养物质比较分析[J]. 北方园艺, 2017(17): 177-180.
- [29] 王凤芳. 杏鲍菇中营养成分的分析测定[J]. 食品科学, 2002, 23(4): 132-135.
- [30] 周聪, 蔡盼盼, 陈青君. 美味蘑菇子实体营养品质分析[J]. 中国农学通报, 2019, 35(13): 140-145.
- [31] 靳羽慧, 邓楚君, 赵慧, 等. 3种常见食用菌营养成分和嘌呤物质含量分析[J]. 中国食用菌, 2018, 37(4): 62-65, 81.
- [32] 周晓华, 贺平, 刘冰杰, 等. 河南部分地区不同品种的香菇营养价值分析[J]. 农业与技术, 2020, 40(11): 8-10.
- [33] 唐明先, 陈杭, 罗孝贵, 等. 灵芝新品种康定灵芝选育研究[J]. 中国食用菌, 2018, 37(5): 84-86.
- [34] 金鑫, 周思菊, 李强, 等. 5种灵芝菌株的农艺性状、活性成分和功效分析[J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(1): 53-59.
- [35] 刘绍雄, 刘春丽, 李建英, 等. 白肉灵芝人工栽培及活性成分研究进展[J]. 中国食用菌, 2020, 39(4): 1-4, 16.
- [36] 云金虎, 江皓, 韩文学, 等. 不同品种海棠叶茶游离氨基酸组成分析与评价[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(19): 237-243.
- [37] Populin T, Moret S, Truant S, et al. A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate[J]. Food Chemistry, 2007, 104: 1712-1717.
- [38] Abeysinghe C P, Illeperuma C K. Formulation of an MSG (monosodium glutamate) free instant vegetable soup mix[J]. Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka, 2006, 34: 91-95.
- [39] Talmud P J, Bujac S R, Hall S, et al. Substitution of asparagine for aspartic acid at residue 9 (D9N) of lipoprotein lipase markedly augments risk of ischaemic heart disease in male smokers[J]. Atherosclerosis, 2000, 149(1): 75-81.
- [40] 秦颖超, 周加义, 朱敏, 等. 谷氨酸吸收转运及对肠道发育影响的研究进展[J]. 动物营养学报, 2019, 31(2): 544-552.
- [41] Yang L C, Zhang Q, Piao J H, et al. Association of estrogen receptor- $\alpha$  gene PvuII polymorphisms with the effect of calcium supplementation on skeletal development in Chinese pubertal girls[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2009(6): 480-487 (in Chinese).
- [42] Rubin K W. Iron & anemia[J]. Foodservice Director, 1998, 11(9): 106.
- [43] Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications[J]. Circulation Research, 2010, 107(9): 1058-1070.
- [44] Finkel T, Holbrook N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing[J]. Nature, 2000, 408(6809): 239-247.
- [45] Simon F. Hydroxyl radical activation of a  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive nonselective cation channel involved in epithelial cell necrosis[J]. AJP: Cell Physiology, 2004, 287(4): 963-970.
- [46] Taheri A, Bakhshizadeh G A. Antioxidant and ACE inhibitory activities of kawakawa (*Euthynnus affinis*) protein hydrolysate produced by skipjack tuna pepsin[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2020, 29(2): 148-166.