

3 种野生真菌子实体脂溶性成分的研究

刘存芳, 危冲, 辜天琪, 田光辉, 赖普辉 (1. 陕西理工学院, 陕西汉中 723001; 2. 汉中市公安局, 陕西汉中 723000)

摘要 [目的] 为综合利用灰树花、云芝和香菇中的脂溶性物质提供参考。[方法] 以无水乙醚作溶剂, 利用 Soxhlet 提取器回流提取陕西南部野生的灰树花、云芝和香菇子实体中的脂溶性物质, 定性分析后进行清除·OH 试验, 研究它们的抗氧化活性。[结果] 获得的3种脂溶性物质均以萜类物质为主, 还含有少量的黄酮类物质, 但活性成分存在较大差异。灰树花、云芝和香菇子实体中的脂溶性物质对 H_2O_2/Fe^{2+} 体系通过 Fenton 反应产生的·OH 都具有清除作用, 且随着加入量的增加, 清除率均呈上升趋势。云芝中的脂溶性物质对·OH 的清除作用最为显著, 香菇中的脂溶性物质清除·OH 的作用相对较差。[结论] 灰树花、云芝和香菇子实体中的脂溶性物质对·OH 均有清除作用。

关键词 灰树花; 云芝; 香菇; 脂溶性物质; 抗氧化活性

中图分类号 S567.3⁺9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)21-09126-02

Study on Fat-soluble Components from Fruit Bodies of Three Wild Fungi

LIU Cun-fang et al (Shaanxi College of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723001)

Abstract [Objective] The study aimed to provide reference for comprehensive utilization of fat-soluble substance from the *Gifola frondosa*, *Coriolus versicolor* and *Lentinus edodes*. [Method] With diethyl ether as solvent, the Soxhlet extractor was utilized to make the reflux extraction on the fat-soluble substance from the fruit bodies of wild *G. frondosa*, *C. versicolor* and *L. edodes* in the south Shaanxi, the scavenging·OH test was done after qualitative analysis and their anti-oxidation activity was researched. [Result] Three kinds fat-soluble substance obtained were all terpenoid substance mainly, with a small amount of flavonoids, but the obvious difference existed in their active components. The fat-soluble substance from the fruit bodies of *G. frondosa*, *C. versicolor* and *L. edodes* all had scavenging effect on·OH that generated by H_2O_2/Fe^{2+} system through Fenton reaction, and each clearance rate was risen up with the increase of adding amount. The fat-soluble substance from *C. versicolor* had most significant scavenging effect on·OH, and the fat-soluble substance from *L. edodes* had relatively worse scavenging effect on·OH. [Conclusion] The fat-soluble substance from the fruit bodies of *G. frondosa*, *C. versicolor* and *L. edodes* all had scavenging effect on·OH.

Key words *Gifola frondosa*; *Coriolus versicolor*; *Lentinus edodes*; Fat-soluble substance; anti-oxidation activity

灰树花 *Gifola frondosa* (Dieks, ex Fr) S. F. Gray] 为多孔菌科树花菌属的一种真菌, 又名千佛菌、栗子蘑、云覃、莲花菌等^[1]。云芝 (*Coriolus versicolor*) 是多孔菌科革盖菌属的一种杂色菌, 是珍贵的药用真菌, 又称为采绒革盖菌、千层蘑、彩云革盖菌等^[2]。香菇 (*Lentinus edodes*) 是侧耳科香菇属的一种真菌^[3]。由于菌类具有独特的营养价值和药理活性, 受到人们的广泛关注, 已经研发出多种保健食品^[4]。对野生灰树花、云芝和香菇中生物活性成分的利用主要集中在多糖、纤维素、矿物质元素、氨基酸和蛋白质等方面^[5-6], 而对它们脂溶性成分开发与利用的报道较少^[6], 对它们脂溶性成分的生物活性的研究更未见具体的报道。笔者对陕西南部野生的灰树花、云芝和香菇子实体粉末分别利用 Soxhlet 提取器以乙醚作为提取溶剂提取脂溶性成分, 经鉴定均主要以萜类物质为主, 并对这3种脂溶性物质进行了抗氧化试验, 探讨其抗氧化活性, 为开发和综合利用这3种真菌中的脂溶性物质提供有益的参考。

1 材料与方 法

1.1 真菌材料 野生灰树花和云芝子实体采自陕西省留坝县, 野生香菇采自陕西省南郑县山区, 它们均由陕西理工学院生物学院赵桦教授鉴定。将野生的灰树花、云芝和香菇子实体置于 50℃ 烘箱中烘干至恒重, 分别粉碎过筛, 密封备用。

1.2 试剂与仪器 试剂: 无水乙醚、乙醇、丙酮、氯仿、浓硫酸、邻二氮菲、硫酸亚铁、过氧化氢、磷酸氢二钠(含结晶水)、磷酸二氢钠(含结晶水)等试剂均为分析纯(西安化学试剂

厂); 薄层硅胶(青岛海洋化工厂); 水为蒸馏水。150 mmol/L 的 pH 值为 7.4 的 PBS 溶液的配制: 准确称取磷酸氢二钠 7.164 g 和磷酸二氢二钠 3.121 g 定容于 100 ml 容量瓶中, 分别吸取磷酸氢二钠溶液 81.0 ml 和磷酸二氢钠溶液 19.0 ml, 定容于 150 ml 的容量瓶中备用。仪器: 7550 紫外-可见分光光度计(上海分析仪器厂); 普通培养箱; Soxhlet 提取器。

1.3 脂溶性物质的提取 分别准确称取灰树花、云芝和香菇子实体粉末, 用无水乙醚作为溶剂在 Soxhlet 提取器中回流提取 10 h, 水浴蒸馏回收乙醚得到 3 种脂溶性物质。灰树花的脂溶性物质为淡黄色, 云芝和香菇的脂溶性物质为浅褐色, 分别称重。

1.4 脂溶性物质的定性 薄层色谱法(TLC法)分析3种脂溶性物质的组成, 不同体积比的丙酮和氯仿溶液作为展开剂, 硫酸显色, 并对脂溶性物质进行三氯化铝、盐酸镁粉、香草醛-盐酸和浓硫酸试验检验3种脂溶性物质中的活性成分。

1.5 体外清除·OH 作用试验 将灰树花、云芝和香菇子实体的脂溶性物质分别配成浓度为 2 mg/ml 的溶液备用, 用时稀释, 体外抗氧化试验采用 H_2O_2/Fe^{2+} 体系法。每次试验都取 8 支试管, 分别加入 0.75 mmol/L 邻二氮菲溶液 1 ml、150 mmol/L pH 值为 7.4 的 PBS 1.5 ml, 充分混匀后再加 0.75 mmol/L $FeSO_4$ 溶液 1 ml, 立即混匀。然后向 6 支试管分别加入不同梯度的脂溶性物质的溶液, 混匀; 另 2 支分别为损伤和未损伤管, 不加脂溶性物质的溶液, 而在损伤管中加入浓度 0.01% H_2O_2 1 ml, 未损伤管不加 H_2O_2 , 用蒸馏水补充 8 支试管到相同体积, 将 8 支试管置于普通培养箱在 37℃ 保温 1 h, 测 A_{536} 值。对 3 种脂溶性物质均平行重复 3 次, 取平均值。计算·OH 清除率公式为:

$$\cdot OH \text{ 清除率} = (A_2 - A_1) / (A_0 - A_1) \times 100\%$$

基金项目 陕西理工学院和实习基地联合项目(LHXMI6)。

作者简介 刘存芳(1971-), 女, 陕西合阳人, 硕士, 讲师, 从事绿色食品化学方面的研究。

收稿日期 2008-05-12

式中, A_0 为未损伤管的吸光度, A_1 为损伤管的吸光度, A_2 为加脂溶性物质溶液的吸光度。

2 结果与分析

2.1 3 种脂溶性物质的定性分析 灰树花脂溶性物质占灰树花干重的7.63%, 在灰树花脂溶性物质中加入适量甲醇, 加热溶解迅速冷却, 有大量白色的萜类物质析出, 得率为灰树花干重的1.12%, 用TLC法检测出灰树花脂溶性物质中有5种萜类物质。云芝脂溶性物质占云芝干重的6.75%, 在云芝脂溶性物质中加入适量甲醇, 微热溶解冷却后有灰白色的萜类物质析出, 得率为云芝干重的0.89%, 利用TLC法检测出云芝脂溶性物质中有3种萜类物质, 将溶液挥去乙醇, 主要是油脂类物质。野生香菇脂溶性物质占香菇干重的5.67%, 利用TLC法检测出香菇脂溶性物质中有4种萜类物质, 在香菇脂溶性物质中加入适量甲醇, 微热溶解, 冷却有米黄色的萜类物质析出, 得率为香菇干重的0.97%。

灰树花、云芝和香菇子实体的脂溶性物质定性鉴定结果见表1, 结合TLC法分析可知, 3种脂溶性物质中均以萜类物质为主, 还含有少量的黄酮类物质, 3种脂溶性物质的组分存在着较大差异。

表1 3种真菌脂溶性物质的定性分析结果

Table 1 Results of qualitative analysis of oil-soluble components from three fungi

| 野生 真菌 Wild fungus | 萜类物质 Terpenoid component | | 黄酮类物质 Flavonoid component | |
|----------------------------|--|--|--------------------------------------|---------------------------|
| | 香草醛 酸试验 Vanillin HClO ₄ test | 高氯 浓硫酸试验 H ₂ SO ₄ test | 三氯化铝 试验 AlCl ₃ test | 盐酸镁 粉试验 HCl-Mg test |
| | 灰树花 Gifola frondosa | + | + | + |
| 云芝 Coridus versicolor | + | + | + | + |
| 香菇 Lentinus edodes | + | + | + | + |

注: “+”表示试验检测出对应物。

Note: + stands for corresponding object detected in the test.

2.2 3 种脂溶性物质对·OH的清除作用 由表2可知, 灰树花、云芝和香菇子实体脂溶性物质对H₂O₂/Fe²⁺体系通过Fenton反应产生的·OH都具有清除作用, 随着加入量的增加清除率均呈上升趋势, 清除率和脂溶性物质的用量存在一定的量效关系。3种脂溶性物质对·OH的清除作用不同, 云芝脂溶性物质对·OH的清除作用最为显著, 这可能和云芝脂溶性物质中复杂多样的组成有关系, 云芝脂溶性物质中有粗脂肪、萜类以及黄酮类等物质, 一般认为萜类物质都有好的药理活性^[5]。香菇脂溶性物质清除·OH的作用相对较差, 但也表现出明显的清除·OH的作用。在人体内活性氧中·OH是化学性质最活泼的一种, 几乎能和所有生物大分子发生各种类型的反应, 许多疾病的产生和引发都和·OH有关系, 如肿瘤、组织损伤、炎症、癌症、冠心病、衰老、动脉粥样硬化等都是因自由基得不到及时消除而引起。3种脂溶性物质对·OH有明显的清除作用, 均是重要的保健活性成分。该研究对灰树花、云芝和香菇子实体的脂溶性物质做了清除羟基自由基

的初步试验, 其具体的抗氧化机制以及其他活性试验还有待研究。

表2 3种脂溶性物质对·OH的清除率

| 样品 Sample | 0.2 ml | 0.6 ml | 1.0 ml | 1.4 ml | 1.8 ml | 2.2 ml |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 灰树花脂溶性成分 Oil-soluble component of Gifola frondosa | 0.9 | 4.8 | 11.2 | 21.8 | 30.2 | 40.1 |
| 云芝脂溶性成分 Oil-soluble component of Coridus versicolor | 1.2 | 5.4 | 14.6 | 25.1 | 34.7 | 42.4 |
| 香菇脂溶性成分 Oil-soluble component of Lentinus edodes | 0.5 | 2.4 | 5.1 | 10.6 | 18.2 | 24.2 |

3 结论与讨论

(1) 灰树花、云芝和香菇都是药食同用的真菌, 有营养保健和治疗疾病的功能, 对它们的应用主要集中在多糖、蛋白质和微量元素方面^[5-7], 往往忽视了对它们脂溶性物质的综合利用, 该文对灰树花、云芝和香菇中的脂溶性物质进行提取, 进行清除·OH的试验尚属首例。

(2) 利用 Soxhlet 提取器以有机溶剂进行提取可以得到脂溶性物质, 对脂溶性物质进行再分离可以得到萜类和其他脂溶性成分, 对提取后的粉末可直接提取多糖等其他活性成分, 并且能提高多糖的得率^[8], 这提供了一个提取和分离生物活性成分的新思路, 为探寻更适合工厂化生产或研究新的适宜工厂化生产的提取纯化工艺提供了有益的借鉴。深入探讨灰树花、云芝和香菇脂溶性物质的生理活性, 能充分认识它们脂溶性物质的营养价值和药用价值, 可为其深加工提供有益的参考。

(3) 灰树花、云芝和香菇的脂溶性物质对H₂O₂/Fe²⁺体系通过Fenton反应产生的·OH有好的清除作用, 灰树花和云芝的脂溶性物质清除·OH的效果要好一些, 可能是灰树花、云芝和香菇脂溶性物质中的成分不同而引起的, 3种脂溶性物质中的生物活性成分的确定有待进一步研究。

参考文献

- [1] SAIF ASHRAF, LINDEQUIST ULRIKE, WENDE KRISTIAN. Simulating effects of Gifda frondosa (Maitake) on human osteoblastic cell cultures [J]. *Journal of Natural Medicines*, 2007, 61(3): 231-238.
- [2] 田光辉, 孟春玲, 徐映红. 野生与栽培云芝中多糖含量测定及提取的研究 [J]. *汉中师范学院学报*, 2003, 21(2): 68-72.
- [3] TAKEUCHI AISUKO, OKANO TOSHO, TERACKA SUMKO, et al. Identification and determination of vitamin D₂ in shiitake (Lentinus edodes) [J]. *Btarian*, 1984, 58(9/10): 439-447.
- [4] SEKIUCHI AKIHIRO, NISHINA AISUYOSHI. Lysophosphatidylethanolamine: Neurotropic substance in Gifda frondosa [J]. *New Food Industry*, 2006, 48(12): 11-20.
- [5] TABATA TAKEO, TOMIOKA KAZUKO, IWASAKA YUMIKO, et al. Comparison of chemical compositions of shiitake [Lentinus edodes (Berk.) Sing] cultivated on logs and sawdust substrate [J]. *Food Science and Technology Research*, 2006, 12(4): 252-255.
- [6] 田光辉. 香菇多糖提取工艺的优化 [J]. *延安大学学报*, 2002, 21(1): 46-47.
- [7] 郑炯, 张甫生, 黄明发. 云芝多糖生物活性及其提取纯化研究进展 [J]. *粮食与油脂*, 2007, 20(2): 44-46.
- [8] 田光辉, 孟春玲, 刘存芳. 茶树中茶多糖含量测定及提取研究 [J]. *汉中师范学院学报*, 2002, 20(2): 69-72.