

干燥方式对香菇酚类物质 抗氧化活性的影响

王丽威,金佳慧,于 锦,崔国强,郭笑妍
(辽宁工程技术大学理学院,辽宁阜新 123000)

摘要:采用 Folin-Ciocalteu 比色法分别测定了 4 种干燥方式下香菇酚类物质的含量,并比较其超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除能力、羟自由基($\cdot OH$)清除能力、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力。结果表明,干燥方式对香菇酚类物质的含量具有显著影响($p < 0.05$)。其中,冷冻干燥、热风干燥、真空干燥和晒干香菇酚类物质含量分别为 32.35 ± 0.24 、 23.21 ± 0.12 、 22.80 ± 0.25 、 (14.72 ± 0.11) mg GAE/g。香菇酚类物质对超氧阴离子自由基、羟基自由基和 DPPH 自由基清除能力具有一定的清除能力,在 $0 \sim 10.00$ mg·mL⁻¹ 范围内,其清除能力与浓度呈正相关。不同干燥方式下香菇酚类物质抗氧化能力差异显著,对三种自由基的清除能力由大到小依次为冷冻干燥 > 热风干燥 > 真空干燥 > 晒干。

关键词:食用菌,香菇,酚类,自由基清除,干燥方式

Effect of drying method on antioxidant activity of phenolic compounds from *Lentinus edodes* (Berk.) sing.

WANG Li-wei, JIN Jia-hui, YU Jin, CUI Guo-qiang, GUO Xiao-yan

(College of Science Liaoning Technology University, Fuxin 123000, China)

Abstract: The contents of phenolic compounds from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. under four drying methods were determined by Folin-Ciocalteu method. The superoxide anion radicals, hydroxyl radicals and DPPH radicals scavenging capacities of phenolic compounds from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. were determined and compared. It was found that drying method had significant effect on the content of phenolic compounds from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. ($p < 0.05$). The contents of phenolic compounds in *Lentinus edodes* (Berk.) sing. dried by freeze drying, hot-air drying, vacuum drying and air drying were 32.35 ± 0.24 , 23.21 ± 0.12 , 22.80 ± 0.25 , (14.72 ± 0.11) mg GAE/g, respectively. Phenolic compounds of *Lentinus edodes* (Berk.) sing. had certain scavenging capacity for superoxide anion radicals, hydroxyl radicals and DPPH radicals. In $0 \sim 10.00$ mg/mL concentration range, scavenging capacity was correlated with concentration. Antioxidant activities of phenolic compounds from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. processed by different drying method were significantly different. The three radicals scavenging capacities of total phenolic compounds followed the decreasing order: freeze drying, hot-air drying, vacuum drying and air drying.

Key words: edible mushroom; *Lentinus edodes* (Berk.) sing.; phenolic compounds; free radicals scavenging capacity; drying method

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)09-0132-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.09.020

香菇(*Lentinus edodes* (Berk.) sing.),在分类学上属于担子菌纲、伞菌目、口蘑科、香菇属,又名香蕈、香菌、花菇等,是世界第二大食用菌。商品香菇主要有鲜品和干品两种形式。鲜香菇质地细嫩,贮运期间极易发生菇体萎缩、菌盖破裂和菌褶褐变的现象,严重影响了产品的营养、风味和商品价值。干品香菇水分含量少,呼吸作用和微生物生长活动受到抑制,不易腐烂变质,便于运输和贮藏。目前,香

菇干燥的方式主要有自然晒干、热风干燥、真空干燥和真空冷冻干燥等。研究香菇干燥方法,最大限度地保存香菇的营养成分和功能活性,提高香菇的食用价值和商品价值,有利于香菇产业的健康发展。Giri 等人^[1]研究了真空干燥和热风干燥对香菇组织结构的影响。徐晓飞等^[2]研究发现,热风干燥、微波干燥、真空干燥、冷冻干燥和远红外干燥对香菇营养成分和物理性质具有显著的影响。

收稿日期: 2014-06-30

作者简介: 王丽威(1977-),女,在读博士,副教授,研究方向:食品生物技术。

研究发现,植物多酚具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌消炎等多种生理活性作用^[3],已成为生物活性物质的研究热点。目前,对酚类物质抗氧化活性的研究很多,尤其是水果中酚类物质抗氧化能力的研究,但对食用菌酚类物质抗氧化能力的研究较少。据研究报告,食用菌中酚类物质主要有咖啡酸、阿魏酸、香豆酸、尿黑酸、槲皮素等^[4-10]。这些成分为食用菌抗氧化活性的发挥提供了物质基础。李利华^[11]采用75%乙醇提取剂对香菇的不同部位进行了提取,并对提取物的抗氧化活性进行了比较研究,结果表明,不同部位醇提物都具有较强的抗氧化性。并通过化学鉴定法证明了香菇不同部位醇提物中含有酚类及鞣质、多糖类、黄酮类化合物、植物甾醇等活性成分。但有关干燥方式对食用菌酚类物质抗氧化活性的研究还未见报道。而干燥方式对其它植物酚类物质含量及抗氧化活性的影响显著,且对不同来源的酚类物质的影响不同^[12-13]。实验研究以新鲜香菇为原料,采用不同干燥方法对香菇进行干燥处理,提取酚类物质并进行纯化,测定不同干燥方法香菇酚类物质的抗氧化活性,为深入挖掘香菇营养保健价值、促进香菇深加工产业的发展提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

市售新鲜香菇,去除表面杂质,切成4~5mm左右的碎块,分别进行日晒干燥、真空干燥(50℃,48h)、冷冻干燥(24h)和热风干燥(50℃,24h)处理,将干燥后的香菇粉碎,过60目筛,密封,4℃保存,备用。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、Folin-Ciocalteu试剂、没食子酸 购自Sigma公司;乙醇、碳酸钠、盐酸、V_c、双氧水、邻苯三酚、硫酸亚铁、水杨酸等 均为国产分析纯。

UV1810PC紫外可见分光光度计 上海欣茂仪器有限公司;RE-52A型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;SCIENTZ-12N型冷冻干燥机 宁波新芝生物科技股份有限公司。RE-201C数显恒温水浴锅 巩义市予华仪器有限公司;QZX-9140电热恒温鼓风干燥箱、DZF-6050真空干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 香菇酚类物质的制备

1.2.1.1 香菇酚类物质提取 称取香菇干粉5.00g置于250mL三角瓶中,加入100mL70%乙醇,置于50℃水浴中提取1.5h,6000r/min离心15min,取上清,沉淀用70%乙醇水溶液洗涤2次,合并三次离心得到的上清,得酚类物质提取液。定容后测定酚类物质的含量。

1.2.1.2 香菇酚类物质纯化 按文献^[14]采用AB-8大孔树脂对酚类物质进行纯化。将预处理好的AB-8大孔树脂装入玻璃层析柱中(1.0cm×60cm)中,将香菇酚类提取液以2mL/min的流速上样,用60%(v/v)乙醇水溶液洗脱,流速1mL/min,收集洗脱液。

1.2.1.3 香菇酚类物质浓缩和干燥 纯化后得到的酚类物质洗脱液于50℃下旋转蒸发浓缩,得到酚类物质浓缩液。浓缩液经真空冷冻干燥,得酚类物质精制样品。

1.2.2 香菇酚类物质含量测定 采用Folin-Ciocalteu比色法^[15]:以没食子酸为标准品,得到标准曲线回归方程为: $y = 0.054x - 0.0185$ ($R^2 = 0.9965$)。根据标准曲线和公式(1)计算出香菇酚类物质含量,其结果表示为没食子酸的当量毫克数(gallic acid equivalent, GAE),即mg GAE。

$$C = \frac{c \times V \times D}{m \times 10^3} \quad \text{式(1)}$$

式中,C为香菇干粉中酚类物质含量(mg·g⁻¹),c为标准曲线计算得到的酚类物质含量(μg·mL⁻¹),V为提取液定容后的总体积(mL),D为测定时提取液稀释的倍数,m为香菇干粉质量(g)。

1.2.3 抗氧化能力测定

1.2.3.1 清除超氧阴离子(O₂⁻)能力测定 采用邻苯三酚自氧化法测定^[16]。比色管中加入50mmol·L⁻¹的Tris-HCl缓冲溶液(pH8.2)4.5mL,去离子水4.2mL,混匀后在25℃水浴中保温20min,取出后立即加入3mmol·L⁻¹的邻苯三酚0.3mL,摇匀后在325nm波长处每隔30s测定吸光度,绘制邻苯三酚自氧化曲线,计算线性范围内吸光度的增加速率。按上述方法操作,用香菇酚类物质样品代替去离子水,测定加样后邻苯三酚自氧化速率。根据公式(2)计算清除率。

$$O_2^- \text{清除率}(\%) = (V - V_0) / V_0 \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中:V₀为邻苯三酚的自氧化速率;V为加入样品后邻苯三酚的氧化速率。

1.2.3.2 清除羟基自由基(·OH)能力测定 Fronton反应法^[17]:取6mmol·L⁻¹的FeSO₄ 1mL、6mmol·L⁻¹的水杨酸2mL于6只比色管中,分别加入0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0mg·mL⁻¹香菇酚类物质溶液各2mL,混匀后加入6mmol·L⁻¹ H₂O₂ 1mL,摇匀后37℃水浴保温60min,在510nm下测定其吸光度,记为A₁;用70%乙醇代替香菇酚类样品,测定吸光度,记为A₀;用70%乙醇代替样品组中的H₂O₂,用70%乙醇溶液作参比,测定吸光度,记为A₂,根据公式(3)计算·OH清除率。以同样的方法测定V_c的·OH清除能力,作为对照。

$$\cdot OH \text{清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.3.3 清除DPPH自由基能力测定 此法是根据DPPH自由基有单电子,在517nm处有一强吸收,其醇溶液呈紫色的特性^[18]。取0.2mmol·L⁻¹ DPPH乙醇溶液2mL和70%乙醇溶液2mL于比色管中,分别加入0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0mg·mL⁻¹香菇酚类物质溶液各1mL,混匀,室温避光反应30min,以乙醇溶剂作参比于517nm下测定吸光度,记为A₁;为消除样品本身的颜色影响,将上述样品组中的DPPH用70%乙醇溶液代替,测定吸光度,记为A₂;将样品组中的1mL香菇酚类样品用70%乙醇溶液代替,测定吸光

表1 不同干燥方式下香菇酚类物质含量

Table 1 Phenolic compounds content in *Lentinus edodes* (Berk.) sing. processed by different drying method

干燥方式	晒干	真空干燥	冷冻干燥	热风干燥
酚类物质含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	14.72 ± 0.11^d	22.80 ± 0.25^c	32.35 ± 0.24^a	23.21 ± 0.12^b

注:以干基计,标有不同字母表示数据差异显著 $p < 0.05$ 。

度,记为 A_0 。根据公式(4)计算每种提取液对 DPPH 自由基的清除率。同时,测定相同质量浓度梯度的 V_c 水溶液的清除率,作为阳性对照。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100 \quad \text{式(4)}$$

1.2.4 数据处理 每个处理重复3次,取平均值,采用 Excel 进行数据统计分析。多重比较采用 SSR 法。

2 结果与讨论

2.1 干燥方式对香菇酚类物质含量的影响

经测定,不同干燥方式下香菇酚类物质含量如表1,由表1可以看出,干燥方式对香菇酚类物质的含量影响显著($p < 0.05$)。冷冻干燥的香菇酚类物质含量最高,其次为热风干燥和真空干燥,晒干香菇酚类物质含量最低。这可能是由于不同干燥方式对香菇组织结构、多酚氧化酶的活性造成影响,从而影响酚类物质的溶出和酚类物质的含量。

2.2 干燥方式对香菇酚类物质抗氧化活性的影响

2.2.1 干燥方式对香菇酚类物质清除超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)能力的影响 由图1可知,不同干燥方法对香菇酚类清除超氧阴离子自由基能力具有显著影响($p < 0.05$)。在 $0 \sim 5.0 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内,不同干燥方式下香菇酚类物质对超氧阴离子自由基的清除能力随着浓度的增加而增大。经计算, V_c 和不同干燥方法得到的香菇酚类物质清除超氧阴离子自由基的 EC_{50} 分别为: $0.36 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (V_c)、 $2.10 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (冷冻干燥)、 $3.52 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (热风干燥)、 $4.31 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (真空干燥)、 $6.86 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (晒干)。说明四种干燥方法处理的香菇酚类物质对超氧阴离子自由基的清除能力大小为:冷冻干燥 > 热风干燥 > 真空干燥 > 晒干,但均小于 V_c 。

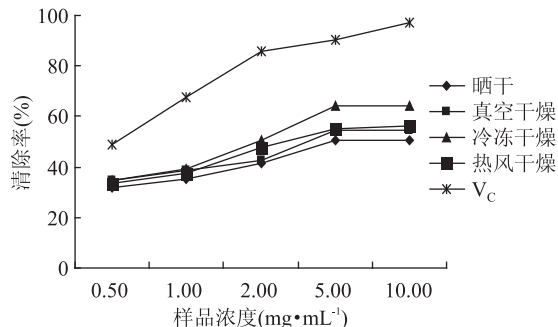


图1 样品清除超氧阴离子自由基能力

Fig.1 Superoxide anion radicals scavenging capacity of test sample

2.2.2 干燥方式对香菇酚类物质清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)能力的影响 由图2可知,不同干燥方法对香菇酚类清除羟基自由基能力具有显著影响($p < 0.05$)。在 $0 \sim 5.0 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内,不同干燥方式

下香菇酚类物质对羟基自由基的清除能力随着浓度的增加而增大。经计算, V_c 和不同干燥方法得到的香菇酚类物质清除羟基自由基的 EC_{50} 分别为: $0.05 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (V_c)、 $0.35 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (冷冻干燥)、 $1.17 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (热风干燥)、 $3.99 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (真空干燥)、 $10.8 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (晒干)。说明四种干燥方法处理的香菇酚类物质对羟基自由基的清除能力大小为:冷冻干燥 > 热风干燥 > 真空干燥 > 晒干。但与 V_c 相比,各种干燥方法的香菇酚类物质对羟基自由基的清除能力都比 V_c 弱。

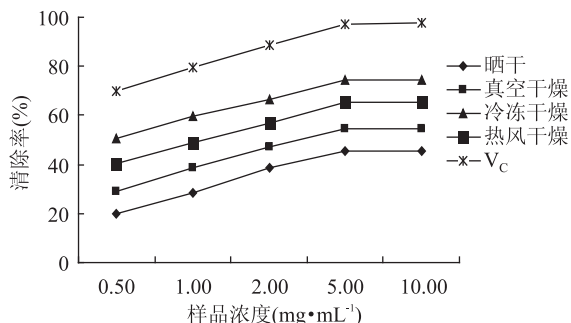


图2 样品清除羟基自由基能力

Fig.2 Hydroxyl radicals scavenging capacity of test sample

2.2.3 干燥方式对香菇酚类物质清除 DPPH 自由基能力的影响 由图3可知,不同干燥方法对香菇酚类清除 DPPH 自由基能力具有显著影响($p < 0.05$)。在 $0 \sim 10.0 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内,不同干燥方式下香菇酚类物质对 DPPH 自由基的清除能力随着浓度的增加而增大。经计算, V_c 和不同干燥方法得到的香菇酚类物质清除 DPPH 自由基的 EC_{50} 分别为: $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (V_c)、 $2.89 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (冷冻干燥)、 $3.61 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (热风干燥)、 $4.51 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (真空干燥)、 $5.35 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (晒干)。说明四种干燥方法处理的香菇酚类物质对 DPPH 自由基的清除能力大小为:冷冻干燥 > 热风干燥 > 真空干燥 > 晒干。但与 V_c 相比,均弱于 V_c 。

3 结论

3.1 干燥方式对香菇酚类物质的含量影响显著($p < 0.05$)。冷冻干燥的香菇酚类物质含量最高,达 $(32.35 \pm 0.24) \text{mg GAE/g}$;其次为热风干燥和真空干燥,晒干香菇酚类物质含量最低。

3.2 不同干燥方式下香菇酚类物质抗氧化能力差异显著。香菇酚类物质对超氧阴离子自由基、羟基自由基和 DPPH 自由基清除能力具有一定的清除能力。在 $0 \sim 10.00 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,其清除能力随浓度的增加而增强。根据计算得出的 EC_{50} 数值可知,对三种自由基的清除能力由大到小依次为冷冻干燥 > 热风

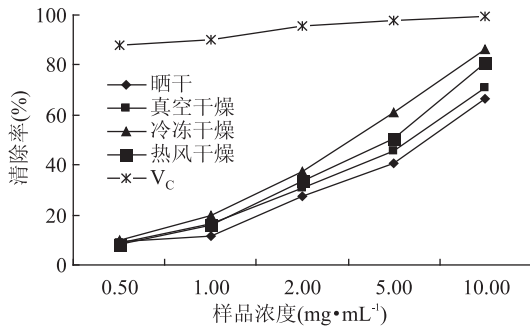


图3 样品清除 DPPH 自由基能力

Fig.3 DPPH radicals scavenging capacity of test sample

干燥 > 真空干燥 > 晒干。说明四种干燥方式中真空冷冻干燥后的香菇酚类物质含量较高,对多酚抗氧化活性破坏最小。因此,真空冷冻干燥为保持香菇较高抗氧化活性的方式。

参考文献

- [1] Giri S K, Prasad S. Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushroom[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78: 512-521.
- [2] 徐晓飞, 向莹, 张小爽, 等. 不同干燥方式对香菇品质的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 259-262.
- [3] Dai J, Mumper R J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties[J]. Molecules, 2010, 15: 7313-7352.
- [4] Palacios I, Lozano M, Moro C, et al. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms [J]. Food Chemistry, 2011, 128: 674-678.
- [5] Barros L, Ferreira M J, Queiros B, et al. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2007, 103: 413-419.
- [9] LIESKE B, Konrad G, Faber W. Effects of succinylation on the renneting properties of raw milk[J]. Milchwissenschaft, 2000, 55(2): 71-74.
- [10] Gruener L, Ismond M A H. Effects of acetylation and succinylation on the functional properties of the canola 12S globulin[J]. Food chemistry, 1997, 60(4): 513-520.
- [11] Ali N A, Ahmed S H, Mohamed E S A, et al. Effect of transglutaminase cross linking on the functional properties as a function of NaCl concentration of legumes protein isolate [J]. 2010.
- [12] Vidal V, Marchesseau S, Lagaude A, et al. Influence of chemical agents on casein interactions in dairy products: chemical modification of milk proteins [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1998, 12(1): 7-14.
- [13] Vidal V, Marchesseau S, Cuq J L. Physicochemical properties

- [6] Yang J H, Lin H C, Mau J L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms [J]. Food Chemistry, 2002, 77: 229-235.
- [7] Woldegiorgis A Z, Abate D, Haki G D, et al. Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia [J]. Food Chemistry, 2014, 157: 30-36.
- [8] Isabel C F R Ferreira, Paula Baptista, Miguel Vilas-Boas, et al. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal Individual cap and stipe activity [J]. Food Chemistry, 2007, 100: 1511-1516.
- [9] Eliana Pereira, Lillian Barros, Anabela Martins, et al. Towards chemical and nutritional inventory of Portuguese wild edible mushrooms in different habitats [J]. Food Chemistry, 2012, 130: 394-403.
- [10] 胡淑琴, 赵晓丽, 陈智毅, 等. 我国 15 种食用菌酚类物质质谱研究 [C]. 第九届全国食用菌学术研讨会摘要集, 上海: 中国菌物学会、中国农学会食用菌分会, 2010.
- [11] 李利华. 香菇不同部位醇提物的抗氧化活性 [J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(10): 199-202.
- [12] 王玉婷, 陈奕, 李雨波. 干燥方式对香蕉片总多酚含量及其抗氧化性的影响 [J]. 食品科学, 2013, 34(23): 113-117.
- [13] 吕爽, 田呈瑞, 石慧. 不同干燥方法对薄荷多酚总黄酮及抗氧化性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(5): 112-116.
- [14] 冯进, 李敏, 曾晓雄, 等. 大孔树脂纯化蓝莓叶多酚及其组成分析 [J]. 食品科学, 2013, 34(10): 86-91.
- [15] 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, 34(8): 253-256, 261.
- [16] Yu-Ling Lee, Ming-Tsung Yen, Jeng-Leun. Antioxidant properties of various extracts from Hypsizigus marmoreus [J]. Food Chemistry, 2007, 104: 1-9.
- [17] 陈龙, 李文峰, 令博, 等. 金耳、银耳、木耳多酚提取及其抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2011, 32(20): 52-56.
- [18] 张尊昕, 杨伯伦, 刘谦光, 等. 野葛根异黄酮成分的超声萃取及抗氧化作用 [J]. 食品科学, 2002, 23(5): 31-33.
- of acylated casein micelles in milk [J]. Journal of food science, 2002, 67(1): 42-47.
- [14] O'sullivan M M, Lorenzen P C, O'Connell J E, et al. Short communication: influence of transglutaminase on the heat stability of milk [J]. Journal of dairy science, 2001, 84(6): 1331-1334.
- [15] Huppertz T, de Kruif C G. Ethanol stability of casein micelles cross-linked with transglutaminase [J]. International dairy journal, 2007, 17(5): 436-441.
- [16] Partschfeld C, Schwarzenbolz U, Richter S, et al. Crosslinking of casein by microbial transglutaminase and its resulting influence on the stability of micelle structure [J]. Biotechnology journal, 2007, 2(4): 456-461.
- [17] 杨敏, 史莹, 梁琪, 等. 酰化修饰对牦牛乳酪蛋白结构及部分理化性质的影响 [J]. 现代食品科技, 2014, 30(5): 6-11.
- [18] 杨敏, 梁琪, 杨继涛, 等. 牦牛乳酪蛋白胶束琥珀酰化修饰研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 200-204.

(上接第 131 页)

48(2): 129-136.