

杏鲍菇多糖抗氧化作用研究

朱 月, 刘 春 艳, 毕 晓 丹

(赤峰学院 生命科学院, 内蒙 赤峰 024000)

摘 要:采用恒温水浴振荡方法提取杏鲍菇水溶性粗多糖,再经分离纯化得固体杏鲍菇多糖。以对氧自由基的清除率为评价指标,采用邻苯三酚自氧化法和邻二氮菲- Fe^{2+} - H_2O_2 氧化法研究了杏鲍菇多糖对氧自由基的清除能力。结果表明:杏鲍菇多糖对羟自由基和超氧阴离子自由基均有清除作用。在一定的多糖浓度范围内随着多糖浓度的增加对羟自由基和超氧阴离子自由基的清除作用亦增强,并呈良好的线性关系;杏鲍菇多糖浓度在 0.7 mg/mL 对羟自由基的清除率可达 98.65%,对超氧阴离子自由基的清除率可达 37.66%。

关键词:杏鲍菇;多糖;抗氧化作用

中图分类号:S 646.1⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0146-03

杏鲍菇是近年来开发栽培成功的集食用、药用、食疗于一体的新型食用菌品种,含有十分丰富的多糖类物质。已有研究表明,杏鲍菇多糖具有提高动物免疫力^[1-2]、抗病毒、抗癌等作用^[3]。但以杏鲍菇多糖对羟自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子自由基(O_2^-)清除作用为切入点,研究杏鲍菇多糖的抗氧化作用目前尚鲜见报道。现以杏鲍菇多糖对 $\cdot\text{OH}$ 和 O_2^- 的清除作用为指标,研究杏鲍菇多糖的抗氧化能力,以期提高杏鲍菇的食用、药用和经济价值,为杏鲍菇资源的开发与利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种为杏鲍菇。试验试剂:苯酚、浓硫酸、无水乙醇、三氯甲烷、正丁醇、木瓜蛋白酶、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、盐酸、邻苯三酚、 NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、邻二氮菲、 FeSO_4 、 H_2O_2 等试剂均为国产分析纯。主要仪器:UV-9100 紫外/可见光分光光度计(北京瑞利分析仪器公司);DZKW-4 电热恒温水浴锅(南昌市恒顺化验设备制造有限公司);旋转蒸发器、DD-5M 低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);SHA-C 恒温振荡器(常州国华电器有限公司);PL203 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)等。

1.2 试验方法

1.2.1 杏鲍菇粗多糖的提取^[4-5]、分离与纯化^[6] 将杏鲍菇洗净,烘干粉碎,过孔径为 150 μm 的细筛,收集粉

末。按每克杏鲍菇粉末加入 30 mL 去离子水的配比混匀,于 70℃、220 r/min SHA-C 恒温振荡器中浸提后,离心,收集上清液。将上清液用旋转蒸发器浓缩后定容至一定体积,即得杏鲍菇多糖粗提液。采用 1% 的木瓜蛋白酶和 Seveag 结合法脱蛋白。采用规格为 3 500 Da 的透析袋透析脱去小分子杂质,醇析得杏鲍菇多糖。于 70℃ 烘干箱内烘至恒重,备用。

1.2.2 杏鲍菇多糖对羟自由基($\cdot\text{OH}$)的清除作用^[4,7-8] 称取一定量烘至恒重的杏鲍菇多糖,配制成 0.2~0.7 mg/mL 的杏鲍菇多糖溶液,于 4℃ 培养箱内保存备用。取洁净干燥的试管编号,按表 1 加入所需试剂,置于 37℃ 恒温水浴锅中水浴保温 1.5 h,以去离子水管调零,在 536 nm 波长下测量各试管内体系的吸光度值并记录。依据体系构建的原理,计算不同浓度的杏鲍菇多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率。

表 1 杏鲍菇多糖溶液对羟自由基清除试验的加样顺序

Table 1 The sequence of the reactants in the test of scavenging hydroxyl radicals mL

试剂	未损伤管	损伤管	样品管
pH=7.4, 0.2 mol/L 磷酸缓冲液	1.0	1.0	1.0
2.5 mmol/L 邻二氮菲	0.2	0.2	0.2
7.5 mmol/L FeSO_4	1.0	1.0	1.0
不同浓度样品液	—	—	7.0
去离子水	7.8	7.0	—
0.1% H_2O_2	—	0.8	0.8

1.2.3 杏鲍菇多糖对 O_2^- 的清除作用^[4,7-8] 自氧化管 邻苯三酚自氧化速率的测定:取 2 支洁净的试管编号,分别加入 6 mL pH 为 8.2, 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液,然后向 1 支试管中加入 1 mL 去离子水,该管为空白管,向另 1 只试管中加入 0.4 mL 去离子水,该管为自氧

第一作者简介:朱月(1958-),女,本科,教授,现主要从事生物化学与多糖的教学与科研工作。E-mail:cfxy212@126.com.

收稿日期:2012-02-25

化管,将2支试管置于37℃恒温水浴锅中恒温10 min,再向自氧化管中加入0.6 mL 0.05 mol/L 邻苯三酚,准确反应4 min后,分别向2支试管内迅速加入4 mol/L的盐酸2.4 mL终止反应,摇匀,于320 nm的波长下测定光吸收值。依据邻苯三酚自氧化原理计算自氧化管邻苯三酚自氧化速率。样品管邻苯三酚自氧化速率的测定:按表2操作,准确反应4 min,立即加入4 mol/L浓度的HCl 2.4 mL终止反应,并分别以样品自氧化管所对应浓度的样品空白管调零,于320 nm波长下测定光吸收值。计算样品管邻苯三酚自氧化速率。依据自氧化管邻苯三酚的自氧化速率和不同浓度多糖溶液的样品管的邻苯三酚自氧化速率,计算杏鲍菇多糖对 O_2^- 的清除率。

表2 样品管邻苯三酚自氧化速率测定加样与操作

Table 2 The sequence of the reactants and operation of determining autooxidation rate of pyrogallol mL

试剂/mL	样品空白管	样品自氧化管
pH=8.2, 0.05 mol/L HCl-Tris	6	6
多糖溶液浓度	0.4	0.4
去离子水	0.6	—
置于37℃恒温水浴锅10 min		
7 mmol/L 邻苯三酚	—	0.6

2 结果与分析

2.1 杏鲍菇多糖对羟自由基($\cdot OH$)的清除作用

杏鲍菇多糖对羟自由基的清除作用是依据邻二氮菲- Fe^{2+} - H_2O_2 体系的反应机理进行设计的。从表3可以看出,未损伤管内的反应液在536 nm波长处测得的光吸收值最大,因为未损伤管体系中仅含 Fe^{2+} 、邻二氮菲,反应产物全部为 Fe^{2+} -邻二氮菲配合物。损伤管内反应液的光吸收值小于未损伤管,因为在未损伤管中加入 H_2O_2 后,反应产物中不但有 Fe^{2+} -邻二氮菲产生,还有羟自由基($\cdot OH$)的生成,其中的 Fe^{2+} -邻二氮菲配合物可被羟自由基($\cdot OH$)氧化,生成 Fe^{3+} -邻二氮菲,导致 Fe^{2+} -邻二氮菲生成减少,故光吸收值下降。当向损伤管内加入相同体积不同浓度杏鲍菇多糖时,其光吸收值小于未损伤管的光吸收值,大于损伤管的光吸收值,而且光吸收值随着多糖浓度的增加而增加。这说明杏鲍菇多糖作用于羟自由基($\cdot OH$),导致羟自由基($\cdot OH$)减少,对 Fe^{2+} -邻二氮菲的氧化作用减弱,致使 Fe^{2+} -邻二氮菲配合物又有增加,光吸收值增加,并且在一定浓度范围内随着多糖浓度的增加,多糖对羟自由基的作用也越强。多糖对羟自由基的作用表现为清除作用,杏鲍菇多糖对羟自由基的清除能力以清除率来表示。综合表3和图1,杏鲍菇多糖在0.2~0.7 mg/mL浓度范围内对 $\cdot OH$ 的清除能力是随着多糖浓度的增加而增强的。清除率可高达98.65%。多糖浓度与清除率有良好的线性关系,相关系数为0.9225。

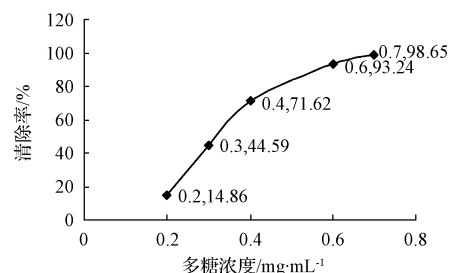


图1 杏鲍菇多糖对羟自由基的清除作用

Fig. 1 Scavenging activity of polysaccharide for hydroxyl radicals

表3 杏鲍菇多糖对羟自由基的清除率

Table 3 Scavenging rate of polysaccharide for hydroxyl radicals

试验管	样品多糖的浓度/mg · mL ⁻¹	光吸收值	清除率/%
未损伤管	—	0.185	—
损伤管	—	0.111	—
样品管	0.2	0.122	14.86
	0.3	0.144	44.59
	0.4	0.164	71.62
	0.6	0.180	93.24
	0.7	0.184	98.65

2.2 杏鲍菇多糖对超氧阴离子自由基(O_2^-)的清除作用

杏鲍菇多糖对超氧阴离子自由基的清除作用是依据邻苯三酚自氧化速率测定的机理进行设计。邻苯三酚在碱性条件下,能迅速自氧化,释放出 O_2^- ,生成带色的中间产物。且在320 nm波长处有强烈的光吸收值。中间产物的积累在滞留30~45 s后,在4 min范围内产物与时间成线性关系。在4 min内,计算单位时间内光吸收值的变化即为自氧化速率。表4表明,邻苯三酚自氧化管自氧化速率最大。如果在自氧化管内加入同体积不同浓度的杏鲍菇多糖,则随着多糖浓度的增加,自氧化速率降低,说明 O_2^- 较少,生成的显色中间化合物减少,证明杏鲍菇多糖对 O_2^- 有清除作用。

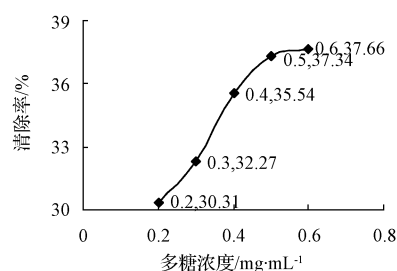


图2 杏鲍菇多糖对超氧阴离子自由基的清除作用

Fig. 2 Scavenging activity of polysaccharide for superoxide anion radicals

杏鲍菇多糖对 O_2^- 的清除能力也以清除率表示。清除率越高,清除能力越强。综合表4和图2,杏鲍菇多糖对 O_2^- 的清除能力也随着多糖浓度的增加而增强,也呈良好的线性关系,相关系数为0.93。但在相同浓度范

围内,与杏鲍菇多糖对羟自由基的清除能力相比,杏鲍菇多糖对 O_2^- 的清除能力相对较弱。其原因有待于进一步研究探讨。

表 4 杏鲍菇多糖对超氧阴离子自由基的清除率

Table 4 Scavenging rate of polysaccharide for super oxide anion radicals

试验管	浓度/mg · mL ⁻¹	自氧化速率 OD/min	清除率/%
样品氧化管	0.2	0.071	30.31
	0.3	0.069	32.27
	0.4	0.068	35.59
	0.5	0.064	37.34
	0.6	0.064	37.66
邻苯三酚自氧化管		0.103	

3 结论

该研究结果表明,杏鲍菇多糖与许多植物和食用菌多糖一样,对 $\cdot OH$ 和 O_2^- 均有清除作用。并在一定的浓度范围内,随着杏鲍菇多糖浓度的增加,对羟自由基($\cdot OH$)和超氧阴离子自由基(O_2^-)的清除能力增强。

并且在相同浓度下,杏鲍菇多糖对羟自由基的清除能力较强,而对超氧阴离子自由基的清除能力较弱。

参考文献

- [1] 章灵华,肖培根.药用真菌中生物活性多糖的研究进展[J].中草药,1992,23(2):95.
- [2] 周静.近年来国内植物多糖生物活性研究进展[J].中草药,1994,25(1):40.
- [3] 黄年来.中国大型真菌原色图鉴[M].北京:中国农业出版社,1998:201-202.
- [4] 朱月,袁树先,李冰.紫色秃马勃水溶性多糖对氧自由基的清除作用[J].安徽农业科学,2010,38(8):4053-4055.
- [5] 朱月,李彩霞,毕晓丹.猪苓多糖分级纯化及对羟自由基清除作用的研究[J].安徽农业科学,2011,39(30):18553-18555.
- [6] 孔凡利,张名位,于淑娟,等.荔枝粗多糖脱蛋白方法的研究[J].食品科技,2008(10):142-144.
- [7] 朱月,李金香.平车前多糖抗氧化作用研究[J].安徽农业科学,2010,30:16853-16854.
- [8] 张明.不同产地板蓝根多糖体外清除自由基活性的比较[J].中国酿造,2008,201(24):66-68.

Study on Antioxidant Effect of Polysaccharide form *Pleurotus eryngii*

ZHU Yue, LIU Chun-yan, BI Xiao-dan

(College of Life Sciences, Chifeng University, Chifeng, Inner Mongolia 024000)

Abstract: Soluble crude polysaccharide from *Pleurotus eryngii* were extracted by the method of constant temperature water bath shaking, and solid polysaccharide of *Pleurotus eryngii* was isolated and purified. Using scavenging percentage of polysaccharide of *Pleurotus eryngii* to oxygen free radical as index, scavenging activity was determined with pyrogallol autoxidation method and phenanthroline- Fe^{2+} reaction system. The results showed that polysaccharide of *Pleurotus eryngii* had significant effect on scavenging hydroxyl radicals and super oxide anion radicals. The scavenging activity of polysaccharide of *Pleurotus eryngii* clearance both superoxide anion radical and hydroxyl radical increased with the rise of polysaccharide concentration at a certain range, and there was a good linear relationship. When the concentration of polysaccharide was 0.7 mg/mL, the percentage of scavenging hydroxyl radicals could reach 98.65%, and the percentage of scavenging super oxide anion radicals was 37.66%.

Key words: *Pleurotus eryngii*; polysaccharide; antioxidant effect

杏鲍菇

杏鲍菇是珍稀名贵食用菌,菌肉肥厚似鲍鱼,因而得名杏鲍菇。具有很高的食用药用价值,不但味道鲜美、营养丰富,而且集“天然、营养、保健”于一体,被称为“平菇王”、“干贝菇”、“草原上的美味牛肝菌”等。日本称为“雪茸”。杏鲍菇含有高蛋白、低脂肪和人体必需的各种氨基酸,更重要的是含有丰富的多糖类物质。杏鲍菇多糖具有降血糖、增强肌体免疫功能,抗病毒、抗肿瘤的作用,且能降低机体胆固醇含量,降血脂、防止动脉硬化。此外,杏鲍菇多糖作为一种特殊的免疫调节剂,在激活 T 淋巴细胞中具有强烈的宿主介导性,能刺激抗体形成、增强人体免疫力、发挥抗癌作用。不论在食品工业或在医药卫生等方面,杏鲍菇都具有广阔的开发和应用前景。