

人工培植竹荪与野生竹荪抗氧化活性比较研究

王霞, 吴丹, 袁旭寒 (贵州城市职业学院, 贵州贵阳 550023)

摘要 [目的]采用传统煎煮方法对人工培植竹荪与野生竹荪的水溶性成分进行提取,并研究其抗氧化活性,以及两者抗氧化活性的差异,为人工培植竹荪品质评价提供一定的参考。[方法]采用维生素 C 为对照品,利用 DPPH 自由基、·OH 法测定竹荪传统水煎物的抗氧化活性,以及总还原能力。[结果]野生竹荪水煎物和人工培植竹荪水煎物均有一定的抗氧化活性,但均比维生素 C 弱,且研究产地的人工培植竹荪与野生竹荪的抗氧化能力没有显著性差异。[结论]仅从抗氧化能力考虑,人工培植竹荪与野生竹荪水煎煮提取物没有显著性差异,可考虑用人工培植竹荪替换野生竹荪。

关键词 人工培植竹荪;野生竹荪;传统水煎物;抗氧化活性
中图分类号 S646.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)06-0005-03

Study on Antioxidant Activity of Wild and Cultivated *Dictyophora indusiata*
WANG Xia, WU Dan, YUAN Xu-han (Guizhou City Vocational College, Guiyang, Guizhou 550023)

Abstract [Objective] The research aimed to extract the water soluble components in cultivated and wild *Dictyophora indusiata* through decocting extraction, and analyze the antioxidant activity as well as its difference because of the different cultivating ways. This provides a referent standard for the artificial cultivated *Dictyophora indusiata*. [Method] Taking vitamin C as the reference substance, this study applied DPPH and ·OH to examine the antioxidant activity by traditional decocting, and determined the total reduction capacity. [Result] Both wild and cultivated *Dictyophora indusiata* had certain antioxidant activity, but both were weaker than Vitamin C, and the antioxidant capacity of wild and cultivated *Dictyophora indusiata* were not significantly different. [Conclusion] There is no significant difference between the cultivated and wild *Dictyophora indusiata* if only considering the antioxidant activity extracted by traditional decocting way. The cultivated *Dictyophora indusiata* can be a replacement of the wild *Dictyophora indusiata*.

Key words Artificial cultivation *Dictyophora indusiata*; Wild *Dictyophora indusiata*; Traditional decocting; Antioxidant activity

竹荪(*Dictyophora indusiata*)别名竹笙、竹参,为鬼笔科属真菌,是寄生在枯竹根部的一种隐花菌类,形状略似网状干白蛇皮,它有深绿色的菌帽,雪白色圆柱状的菌柄,粉红色的蛋形菌托,在菌柄尖端有一围伞状清洁白色的网裙从菌盖向下撒开,被人们称为“雪裙仙子”“山珍之花”“真菌之花”“菌中皇后”,是一种名贵的食用菌,具有滋养强壮、益气补脑、宁神健体、美容养颜等效果,自古就被列为“草八珍”之一,产于福建、四川、云南、贵州等少数山区的竹林中。现代医学研究证明,竹荪中含有能抑制肿瘤的成分^[1];也有报道指出,竹荪中除富含蛋白质、脂肪、微量元素,还含有丰富的多糖,堪称难得的营养佳品^[2]。随着现代人们生活水平的不断提高,保健意识与日俱增,如何健康生活、抗拒疾病、抵抗衰老等成为人们追求的方向,食品保健提上日程,不少研究者把目光转向食药领域。这十几年来,随着人们的需求增加,野生竹荪的数量大幅度减少,已经无法满足于市场供求。对此,人们开始利用科技手段,进行了大量的人工培植,但产品的品质研究却几乎为空缺。

目前竹荪的研究多集中于对其抗菌作用的评价^[3-4]以及多糖抗氧化作用的评价方面^[5],而对于传统水煎煮成分抗氧化作用研究的报道却甚少。但是人们食用竹荪的方法却多以传统水煎煮方式进行烹饪,故笔者采用传统水煎煮提取成分为研究对象,对竹荪抗氧化活性进行研究,并对比研究人工培植竹荪与野生竹荪传统水煎提取物抗氧化性方面的差异,为人工培植竹荪品质提供参考依据。

作者简介 王霞(1976—),女,贵州织金人,工程师,硕士,从事中药与中成药研究。

收稿日期 2017-11-22

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试药。维生素 C(贵州西冠科学器材有限公司,批号 20170115001)。人工培植竹荪与野生竹荪均购于贵州省织金本地农贸市场,经贵州医科大学药学院天然药物化学实验室王小丽教授鉴定,为鬼笔科竹荪属植物长裙竹荪(*Dictyophora indusiata*)。

1.1.2 试剂。DPPH(三马孙生物科技有限公司,批号 20170011001);氨基丁三醇、乙醇、双氧水(30%)、盐酸、硫酸亚铁、铁氰化钠、三氯化铁、三氯乙酸、邻二氮菲、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠(AR,贵州中兴试剂有限公司),试验用水为蒸馏水。

1.1.3 主要仪器。Agilent Cary300(北京贸易科学仪器有限公司);梅特勒 MS205DU 十万分之一电子分析天平(贵州安科科技有限公司);800 型高速离心机(贵州西冠科学器材有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 维生素 C 对照溶液的制备。称取维生素 C 对照品 0.300 0 g,于 100 mL 容量瓶中,加蒸馏水溶解,并定容至刻度,摇匀即得到 3 g/L 的对照溶液,避光保存备用。

1.2.2 竹荪水煎提取物的制备。分别将人工培植竹荪和野生竹荪烘干粉碎过 20 目筛,各精确称取 3.000 0 g 竹荪粗粉末于 500 mL 烧杯中,加入 30 倍蒸馏水浸泡 10 min 后,置于可调温电炉上煎煮 1 h(待水沸腾后调节电炉使其保持微沸状态),滤过,滤液浓缩干燥后,用蒸馏水溶解并转移至 100 mL 量瓶中定容至刻度,摇匀即得含竹荪 3 g/L 的供试品溶液,置于 4 ℃ 冰箱备用。

1.2.3 DPPH 的制备。准确称取 DPPH 试剂 10 mg,用无水

乙醇溶解,并定量转入 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇定容至刻度,取 1 mL 至 100 mL 容量瓶中,摇匀即得浓度为 0.025 mmol/L 的 DPPH 贮备液,置于 4 ℃ 冰箱冷藏备用。

1.2.4 测定波长选择。分别将 DPPH 储备液、样品溶液进行全波扫描,图谱显示 DPPH 在 517 nm 处有最大吸收,而样品在此波长处无吸收,故将 517 nm 作为检测波长。

1.2.5 DPPH 自由基清除试验。按照表 1 的试验方法进行加样,加入不同体积(0.3、0.6、1.0、1.4、1.8、2.1、2.4 mL)的人工培植竹荪水煎提取液(Sample 1),于室温下避光反应 30 min,测定 517 nm 下的吸光度(A)。另取野生竹荪水煎提取液(Sample 2),同法处理检测,计算清除率,以同浓度的维生素 C 同法试验为参照。

表 1 DPPH 自由基清除反应体系

Table 1	DPPH free radical scavenging reaction system				mL
试剂 Reagents	模型空白 Model blank	样参组 Sample reference group	模型组 Model group	样品组 Sample group	
DPPH	—	—	4.0	4.0	
Sample 1	—	X	—	X	
Sample 2	—	X	—	X	
Tris-HCl	4.0	4.0	4.0	4.0	

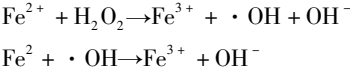
注:X 为样品加入量,“—”不加该溶液;总体积不足 10 mL,用蒸馏水补足
Note:X is the amount of sample, “—” is not adding the solution. The total volume of less than 10 mL make up with distilled water

记录测定结果,按以下公式计算 DPPH 清除率:

清除率 =
$$\frac{(A_3 - A_1) - (A_4 - A_2)}{A_3 - A_1} \times 100\%$$

式中,A₁ 为空白组吸光度,A₂ 为样参组吸光度,A₃ 为模型组吸光度,A₄ 为样品组吸光度。

1.2.6 ·OH 的清除试验。根据羟基自由基形成的基本理论^[5],采用 Fenton 反应,其机理为:



以上反应体系中产生了·OH,·OH 可使体系中的络合物 Fe²⁺-邻二氮菲中 Fe²⁺ 被氧化,形成高价态的 Fe³⁺-邻二氮菲,致使体系的颜色变浅,进而导致在 536 nm 处的最大吸收峰消失。如果在加入 H₂O₂ 之前,就加入羟基自由基清除剂,则 Fenton 反应产生的羟基自由基被清除或部分清除,氧化过程将会受到限制,536 nm 波长的吸收强度会发生相应的变化,故该试验可通过测定 536 nm 波长处的吸光度检查受试样品的抗氧化能力^[6]。按照表 2 所示加入试验,并分别加入不同体积(0.2、0.6、1.0、1.4、1.8 mL)的样品液 1(Sample 1)、样品液 2(Sample 2),将各反应管摇匀后,置于恒温水浴中,于 37 ℃ 下保温 50 min,取样品按照《中国药典》一部附录紫外分光光度法,在 536 nm 波长处测定吸光度 A,其中对照 1 为未损伤组,对照 2 为损伤组,试验以维生素 C 同法试验数据为参照。

按下式计算羟基自由基清除率,并比较 Sample 1、Sample 2 对·OH 的清除率。

清除率 =
$$\frac{(A_4 - A_3) - (A_2 - A_1)}{A_0 - A_1} \times 100\%$$

式中,A₀ 为对照 1 的吸光度,A₁ 为空白吸光度,A₂ 为对照 2 吸光度,A₃ 为样参组吸光度,A₄ 为样品组吸光度。

1.2.7 还原能力的测定及比较。采用普鲁士蓝法^[7],分别取不同体积(0.3、0.6、1.0、1.4、1.8、2.1、2.4 mL)的 Sample 1 和 Sample 2 于离心管中,加入 2.5 mL pH 6.6 的磷酸盐缓冲溶液、2.5 mL 1.0% 的铁氢化钾溶液,混匀后于 45 ℃ 水浴保温 30 min,加入 2.5 mL 10% 的三氯化乙酸溶液,振摇混匀后,于 3 500 r/min 离心 5 min,取上清液 5 mL,加入 5 mL 蒸馏水和 1 mL 0.1% 的三氯化铁溶液,摇匀后反应 15 min,采用紫外-可见分光光度法,在 700 nm 波长处测定吸光度,并以相同浓度的维生素 C 水溶液作为对照,平衡测定 3 次计算结果。

表 2 ·OH 清除反应体系

Table 2	·OH scavenging reaction system					mL
试剂 Reagents	空白 Blank	对照 1 Control 1	对照 2 Control 2	样参 Sample reference	样品 Sample	
PBS 缓冲液 PBS buffer	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
FeSO ₄ (6.0 mmol/L)	—	1.00	1.00	—	1.00	
Sample 1	—	—	—	X	X	
Sample 2	—	—	—	X	X	
H ₂ O ₂ (0.04%)	—	—	1.00	—	1.00	
邻二氮菲 Phen (4.5 mmol/L)	—	2.00	2.00	—	2.00	
总体积 Total volume	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	

注:X 为样品体积,“—”不加该溶液,体积不足用蒸馏水补足
Note:X is the amount of sample, “—” is not adding the solution. The total volume of less than 10 mL make up with distilled water

2 结果与分析

2.1 人工培育竹荪与野生竹荪水煎煮物对 DPPH 自由基的清除作用 根据“1.2.5”试验测得的各设计组的吸光度,计算出 Sample 1、Sample 2 及维生素 C 对 DPPH 自由基的清除率,结果见图 1。由图 1 可知,在该试验选择的体积范围内,所选产地野生竹荪和人工培植竹荪的传统水煎煮提取物对 DPPH 自由基均具有一定程度的清除作用,并且野生竹荪和人工培植竹荪传统水煎煮提取物在抗氧化活性方面没有表现出显著性差异,但两者对 DPPH 自由基的清除能力均不及相同条件下等浓度的维生素 C。

2.2 人工培育竹荪与野生竹荪水煎煮物对·OH 的清除能力 根据“1.2.6”试验测定的各设计组的吸光度,计算出 Sample 1、Sample 2 及维生素 C 对·OH 的清除率,结果见图 2。由图 2 可知,在该试验选择的体积范围内,野生竹荪和人工培植竹荪的传统水煎煮提取物对·OH 均具有一定程度的清除作用,并且野生竹荪和人工培植竹荪传统水煎煮提取物在抗氧化活性方面未表现出显著性的差异,但是与同条件下等浓度的维生素 C 抗氧化活性相比较,两者在抗氧化活性方面不及维生素 C。单就对·OH 及 DPPH 自由基的清除率而言,两者对 DPPH 自由基的清除作用明显强与对·OH 的清除作用。

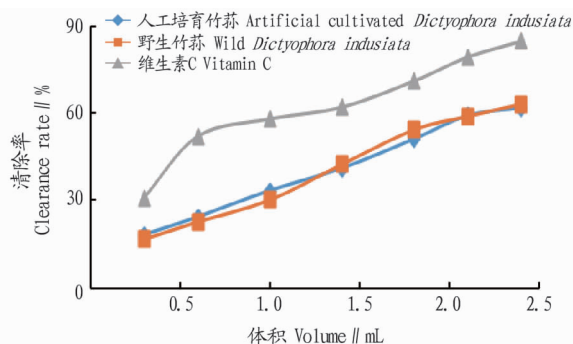


图1 人工培育竹荪、野生竹荪与维生素 C 对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.1 Scavenging effect of artificial cultivated *Dictyophora indusiata*, wild *Dictyophora indusiata* and vitamin C on DPPH free radicals

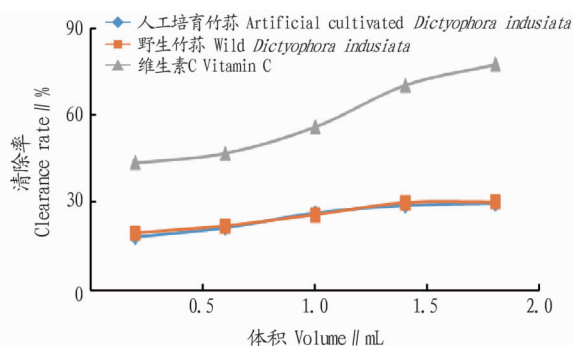


图2 人工培育竹荪、野生竹荪与维生素 C 对 ·OH 的清除作用

Fig.2 Scavenging effect of artificial cultivated *Dictyophora indusiata*, wild *Dictyophora indusiata* and vitamin C on ·OH

2.3 人工培植竹荪与野生竹荪水煎煮提取物总还原能力评价 根据“1.2.7”的方法进行试验,以维生素 C 为对照,吸光度为评价指标,对野生竹荪和人工培植竹荪的总还原能力进行评价,测定结果见图3。由图3可知,人工培植竹荪和野生

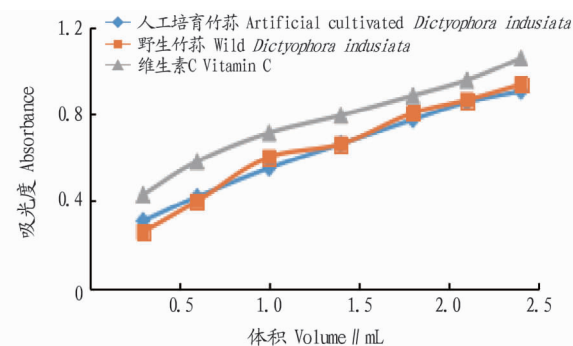


图3 人工培育竹荪、野生竹荪与维生素 C 的总还原能力

Fig.3 Total reduction capacity of artificial cultivated *Dictyophora indusiata*, wild *Dictyophora indusiata* and vitamin C

竹荪在总还原能力方面,虽然仍然不及同浓度的维生素 C,但仍表现出比较强的还原能力,并且两者没有表现出显著性的差异,抗氧化能力相当。

3 结论与讨论

文献报道^[8],竹荪水提物在体外具有抗氧化活性。该试验采用传统水煎煮法对人工培植竹荪和野生竹荪进行提取,就提取物进行抗氧化活性研究,通过对 DPPH 自由基及 ·OH 的清除率比较,评价人工培植竹荪和野生竹荪传统水煎物的抗氧化活性;同时,还对两者的总还原能力进行了测定并评价,并将各项测定指标与相同浓度维生素 C 进行比较。结果表明,所选择产地的人工培植竹荪和野生竹荪传统水煎提取物在一定浓度范围内对 DPPH 自由基具有一定程度的清除能力,但不及相同浓度的维生素 C;对 ·OH 的清除有一定效果,但相比对 DPPH 自由基的清除较弱;人工培植竹荪与野生竹荪水煎提取物的总还原能力虽不及相同浓度的维生素 C,但仍表现出很强的总还原能力,不失为药食一体的优良食材之一。

竹荪作为一种高营养的真菌类食材,有着丰富的营养价值,也是现代人们在追寻的药食一体食材之一。按照传统烹饪方法——水煎煮法提取,两者提取物具有一定程度的抗氧化活性,并且无显著性差异。因此可有以下推断:①经常食用竹荪可起到抗氧化、抗衰老、养颜等作用。②由于该试验所选择产地的人工培植竹荪与野生竹荪在抗氧化活性方面没有显著性的差异,针对目前野生资源严重不足,而人们的需要又与日俱增的实际情况,可考虑用人工培植竹荪代替野生竹荪,但仍需要进一步研究人工培植竹荪的产地、气候以及栽培技术等对品质的影响,同时也应进行多方面的研究,综合评价人工培植竹荪替代野生竹荪的可能性。

参考文献

- [1] 林陈强,陈济琛,林戎斌,等. 竹荪资源综合利用研究进展[J]. 中国食用菌,2011,30(2):8-11.
- [2] 赵凯,王飞娟,潘薛波,等. 红托竹荪菌多糖的提取及抗肿瘤活性的初步研究[J]. 菌物学报,2008,27(2):289-296.
- [3] 郝景雯,贾士儒,张刚. 长褶竹荪乙醇提取物与水提取物抑菌作用研究[J]. 食品研究与开发,2010,31(10):8-10.
- [4] 谭敬军. 竹荪抑菌特性研究[J]. 食品科学,2001,22(9):73-75.
- [5] 杨海龙,李伟. 短褶竹荪多糖清除 $O_2^{\cdot-}$ 及对人红细胞膜自由基氧化的影响[J]. 科技通报,2000,16(5):371-374.
- [6] 文镜,贺素华,杨育颖,等. 保健食品清除自由基作用的体外测定方法和原理[J]. 食品科学,2004,25(11):190-195.
- [7] 龚文静,王磊,邱明,等. 甜橙油抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(35):21783-21784,22131.
- [8] 吕瑞,金莲,周侯全. 竹荪水提物的体外抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):347-349.

本刊提示 参考文献只列主要的、公开发表的文献,序号按文中出现先后编排。著录格式(含标点)如下:(1)期刊——作者(不超过3人者全部写出,超过者只写前3位,后加“等”)。文章题名[J]。期刊名,年份,卷(期):起止页码。(2)图书——编著者. 书名[M]。版次(第一版不写)。出版地:出版者,出版年:起止页码。(3)论文集——析出文献作者. 题名[C]//. 主编. 论文集名. 出版地:出版者,出版年:起止页码。