

球孢白僵菌菌丝体成分及抗氧化活性研究

邵颖^{1,2}, 任格¹, 孙颖¹, 陈安徽^{1,2} (1. 徐州工程学院食品(生物)工程学院, 江苏徐州 221111; 2. 江苏省食品资源开发与质量安全重点建设实验室, 徐州工程学院, 江苏徐州 221111)

摘要 [目的]研究球孢白僵菌菌丝体的化学成分及抗氧化活性。[方法]利用直接灰分法、苯酚-硫酸法、3-5 二硝基水杨酸法、索氏抽提法、酸解法对球孢白僵菌菌丝体的灰分、总糖、还原糖、粗脂肪及氨基酸进行分析。采用水提醇沉法提取了球孢白僵菌菌丝体中的粗多糖,通过构建铁离子整合能力、DPPH 自由基清除活性、还原力 3 个抗氧化模型,研究菌丝体粗多糖的抗氧化活性。[结果]球孢白僵菌菌丝体样品的灰分、总糖、还原糖、粗脂肪含量分别为 6.61%、2.44%、0.90%、5.23%,菌丝体中含有 7 种必需氨基酸,占所测定的 18 种氨基酸总量的 39.94%,必需氨基酸与非必需氨基酸的比值为 66.50%。同时,菌丝体粗多糖显示了一定的抗氧化活性。[结论]球孢白僵菌菌丝体中营养成分较全面,并具有一定的抗氧化活性。

关键词 球孢白僵菌;菌丝体;成分;抗氧化活性
中图分类号 S476.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)18-0160-03

Component Analysis and Antioxidant Activity of *Beauveria bassiana* Mycelia

SHAO Ying^{1,2}, REN Ge¹, SUN Ying¹ et al (1. College of Food (Biological) Engineering, Xuzhou University of Technology, Xuzhou, Jiangsu 221111; 2. Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou University of Technology, Xuzhou, Jiangsu 221111)

Abstract [Objective] The research aimed to study the component analysis and antioxidant activity of *Beauveria bassiana* mycelia. [Method] The contents of ash, total sugar, reducing sugar, fat and amino acids of *Beauveria bassiana* mycelia were analyzed by direct ash method, phenol-sulfuric acid method, 3-5 dinitrosalicylic acid method, Soxhlet extraction method and acidolysis method. Polysaccharides from *Beauveria bassiana* mycelia were extracted by water extraction and alcohol precipitation. Three antioxidant models established by chelating iron ions, scavenging DPPH radicals and reducing power were to study antioxidant activity of polysaccharides from mycelium. [Result] The contents of ash, total sugar, reducing sugar, fat in *Beauveria bassiana* mycelia were 6.61%, 2.44%, 0.90%, 5.23%. The seven essential amino acids account for 39.94% of the total amount of eighteen amino acids and the ratio of essential amino acids to the non-essential amino acid was 66.50%. At the same time, polysaccharides of the mycelia had certain effect on the three antioxidant models. [Conclusion] The nutritional value of *Beauveria bassiana* mycelia was more comprehensive and *Beauveria bassiana* mycelia had certain antioxidant activity.

Key words *Beauveria bassiana*; Mycelium; Component; Antioxidant activity

球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)属于子囊菌门、肉座菌模、虫草菌科、白僵菌属,是一种广谱性昆虫病原真菌,主要进行无性繁殖,产生分生孢子;也可进行有性繁殖,产生球孢虫草。球孢白僵菌通过释放生物毒素,以及侵染昆虫的方式来达到防治的目的,且对环境无害而被广泛应用于生物防治。球孢白僵菌在生长过程中会分泌多种代谢产物,具有降低胆固醇、抗动脉粥样硬化、抗癌、抑菌、抗抑郁以及抗惊厥等作用^[1-4]。而球孢白僵菌侵染家蚕后,经干燥处理后形成白僵蚕,白僵蚕是一种效用非常好的中药,始载《神农本草经》,“主小儿惊痫夜啼,去三虫,减黑肝,令人面色好,男子阴痒病。生平泽”。现代医学研究表明,白僵蚕具有较好的降血糖血脂、祛风、镇静催眠、抗肿瘤等功效^[5-6]。目前,关于球孢白僵菌菌丝体的成分及抗氧化活性的研究在国内外鲜有报道。笔者以球孢白僵菌菌丝体为原料,对其灰分、总糖、还原糖、粗脂肪、氨基酸等成分与抗氧化活性进行分析,为球孢白僵菌菌丝体的开发利用与生物活性成分的深入研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试材。供试菌种:球孢白僵菌 Bb506,保存于徐州工程

基金项目 江苏省大学生创新创业计划项目(2016111998033Y);江苏省高校自然科学研究重大项目(15KJA180008);徐州工程学院大学生创新创业基金项目(201610)。

作者简介 邵颖(1979—),女,江苏铜山人,副教授,博士,从事微生物资源开发与应用研究。邵颖和任格是共同第一作者。

收稿日期 2018-03-12; **修回日期** 2018-03-16

学院发酵工程实验室。PDA 固体斜面培养基:20%土豆,2%葡萄糖,2%琼脂。SDY 液体培养基:4%葡萄糖,1%蛋白胨,1%酵母浸膏。

1.1.2 试剂。95%乙醇,徐州师范大学科技开发总公司化工厂;3,5-二硝基水杨酸,上海国药集团;酒石酸甲钠,天津市凯通化学试剂有限公司;硫酸、苯酚,无锡市亚盛化工有限公司;葡萄糖、氯化亚铁,天津市福晨化学试剂厂;菲洛嗪,上海市源叶生物科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DP-PH),Sigma 公司。

1.1.3 仪器与设备。涡旋混匀器,HYQ-3111,silent shake;手提式压力蒸汽灭菌器,YXQ.SG4\280,上海华线医用核子仪器有限公司;旋转蒸发器,SENCOR201L,巩义市英峪予华仪器厂;数显示恒温水浴锅,HH-4,国华电器有限公司;电子天平,FA2004B,上海越平科学仪器有限公司;真空冷冻干燥机,LGJ-10,上海比朗仪器有限公司;L-8900 全自动氨基酸分析仪,日本日立公司;台式高速离心机,TGL-16G,上海安亭科学仪器厂;紫外-可见分光光度计,UV2802PC,上海精密仪器仪表有限公司。

1.2 方法

1.2.1 球孢白僵菌菌丝体的制备。将水液保存的球孢白僵菌接到 PDA 固体斜面培养基上,在 22 ℃ 下培养,进行菌种活化。培养 5 d 后,将固体斜面培养基上的球孢白僵菌接种到 SDY 液体培养基上,在温度 25 ℃、转速 120 r/min 的条件下进行液体深层发酵。培养 4 d 后,进行抽滤,将发酵好的菌

丝体冷冻干燥以备。

1.2.2 一般营养成分含量的测定。灰分含量的测定,参照 GB 50094—2010《食品中灰分的测定》;总糖含量的测定,采用苯酚-硫酸法测定^[7];还原糖含量的测定,采用 3,5-二硝基水杨酸法^[8];粗脂肪含量的测定,采用索氏抽提法。

1.2.3 氨基酸的种类及含量的测定。采用酸解法测定,使用氨基酸自动分析仪进行测定。

1.2.4 球孢白僵菌菌丝体粗多糖的提取。参考于士军等^[9]的方法,采用水提醇沉法,将冷冻干燥后球孢白僵菌菌丝体进行粉碎,料液比 1:20(g/mL)、提取温度 90℃、提取时间 2 h,固液分离后重复提取过程,收集所得浸提液,进行浓缩。在所得浓缩液中加入体积分数为 90%的乙醇,4℃静置过夜。再用 Sevage 法^[10]去除粗多糖提取液中的杂蛋白,浓缩,进行冷冻干燥得到球孢白僵菌菌丝体粗多糖。

1.2.5 菌丝体粗多糖抗氧化活性的测定。

1.2.5.1 还原力的测定。参照邵颖等^[11]的方法进行。

1.2.5.2 清除 DPPH 自由基活性。参照何晋浙等^[12]的方法并稍作修改。

1.2.5.3 铁离子螯合能力的测定。参照翟飞红等^[13]的方法并稍作改动。

2 结果与分析

2.1 一般营养成分的含量 对球孢白僵菌菌丝体进行成分分析,结果发现,球孢白僵菌菌丝体的灰分和粗脂肪含量分别为 6.61%和 5.23%,总糖和还原糖的含量分别为 2.44%和 0.90%,表明球孢白僵菌菌丝体具有良好的营养价值。

2.2 氨基酸的组成与含量 对球孢白僵菌菌丝体进行酸解,检测了菌丝体中的氨基酸组成及含量,具体试验结果如表 1。由表 1 可知,球孢白僵菌菌丝体含有 17 种氨基酸,氨基酸总量为 6.66 mg/g,其中必需氨基酸含有 7 种(苏氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和赖氨酸),必需氨基酸总量为 2.66 mg/g,非必需氨基酸含有 10 种,非必需氨基酸的含量为 4.00 mg/g。必需氨基酸总量占氨基酸总量的 39.94%,必需氨基酸总量与非必需氨基酸总量的比为 66.50%,符合联合国粮食与农业组织/世界卫生组织(FAO/WHO)提出的参考蛋白质条件,说明球孢白僵菌菌丝体的氨基酸结构比较理想。

2.3 抗氧化活性分析

2.3.1 球孢白僵菌菌丝体粗多糖的还原力。由图 1 可知,球孢白僵菌菌丝体粗多糖的还原力在测定范围内随着质量浓度的上升而上升。当质量浓度为 5 g/L 时,球孢白僵菌菌丝体多糖的还原力达 0.471。说明球孢白僵菌菌丝体粗多糖具有较好的还原力。

2.3.2 球孢白僵菌菌丝体粗多糖对 DPPH 自由基的清除。由图 2 可知,球孢白僵菌菌丝体粗多糖对 DPPH 自由基的清除能力的变化情况与还原力相似,在测定范围内随着质量浓度的上升而上升。当质量浓度为 5 g/L 时,DPPH 自由基的清除率达 57.91%。说明球孢白僵菌菌丝体粗多糖具有良好的清除 DPPH 自由基的能力。

表 1 球孢白僵菌菌丝体中氨基酸的组成与含量
Table 1 Composition and content of amino acid in *Beauveria bassiana* mycelia

序号 No.	氨基酸 Amino acid	含量 Content//mg/g
1	天冬氨酸 Asp	0.69
2	苏氨酸 Thr	0.41
3	丝氨酸 Ser	0.37
4	谷氨酸 Glu	0.79
5	甘氨酸 Gly	0.40
6	丙氨酸 Ala	0.52
7	半胱氨酸 Cys	0.09
8	缬氨酸 Val	0.68
9	甲硫氨酸(蛋氨酸) Met	0.13
10	异亮氨酸 Ile	0.27
11	亮氨酸 Leu	0.48
12	酪氨酸 Tyr	0.23
13	苯丙氨酸 Phe	0.28
14	赖氨酸 Lys	0.41
15	组氨酸 His	0.15
16	色氨酸 Trp	0
17	精氨酸 Arg	0.39
18	脯氨酸 Pro	0.37
必需氨基酸总量 Total amount of essential amino acids		2.66
非必需氨基酸总量 Total amount of non-essential amino acids		4.00
氨基酸总量 Total amount of amino acids		6.66

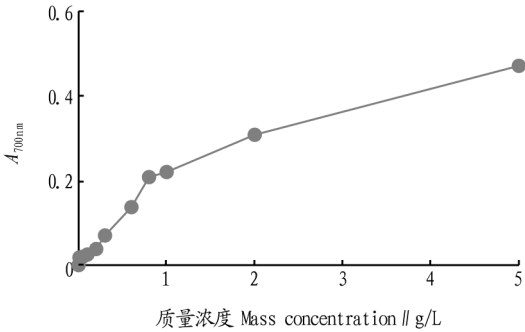


图 1 球孢白僵菌菌丝体粗多糖的还原力
Fig.1 Reducing power of polysaccharide from *Beauveria bassiana* mycelia

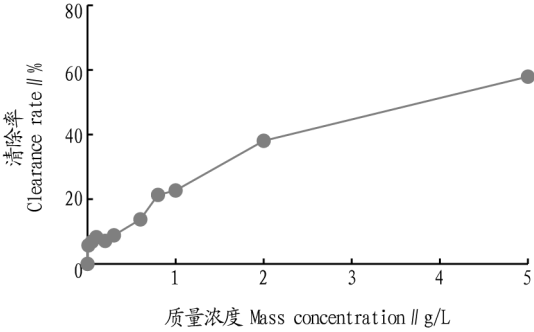


图 2 球孢白僵菌菌丝体粗多糖对 DPPH 自由基的清除
Fig.2 Scavenging DPPH radicals of polysaccharide from *Beauveria bassiana* mycelia

2.3.3 球孢白僵菌菌丝体粗多糖对铁离子的螯合能力。由图 3 可知,球孢白僵菌菌丝体多糖在铁离子螯合能力方面较弱,虽然在测定范围内随着质量浓度的上升而上升,但是增长幅率却很低。当质量浓度达到 10 g/L 时,球孢白僵菌菌丝体多糖的铁离子螯合能力才达到 13.73%。

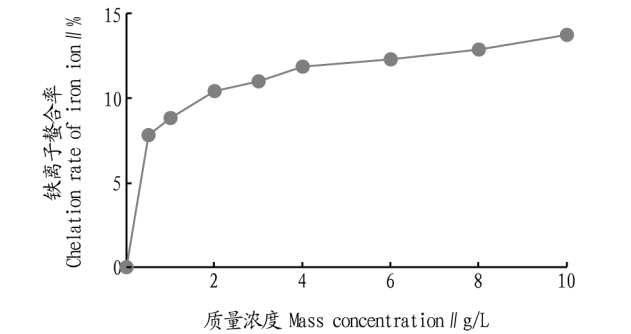


图 3 球孢白僵菌菌丝体粗多糖对铁离子的螯合能力
Fig.3 Chelating iron ions of polysaccharide from *Beauveria bassiana* mycelia

3 结论与讨论

球孢白僵菌菌丝体灰分含量为 6.61%,总糖含量为 2.44%,粗脂肪含量为 5.23%,还原糖含量较低,为 0.90%;菌丝体中氨基酸的种类比较齐全,拥有 17 种氨基酸,必需氨基酸总量占氨基酸总量的 39.94%,必需氨基酸与非必需氨基酸的比为 66.50%。球孢白僵菌菌丝体多糖在还原力和清除 DPPH 自由基方面表现出良好的活性,而在铁离子螯合能力

方面表现出较弱的活性。

总体而言,球孢白僵菌菌丝体的营养较为全面,其粗多糖具有一定的抗氧化活性,可以深入探究其粗多糖的生物活性。该研究为球孢白僵菌菌丝体的进一步开发提供了参考依据。

参考文献

[1] SHIN C G,AN D G,SONG H H,et al.Beauvericin and enniatins H,I and MK1688 are new potent inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 interase[J].J Antibiot,2009,62(12):687-690.
[2] 刘鑫,侯若琳,刘建兵,等.球孢白僵菌深层发酵液抗乳腺癌活性部位筛选及成分分析[J].菌物学报,2017,36(12):1659-1666.
[3] 周兰兰,明亮,马传庚,等.一种白僵菌代谢产物提取物抗抑郁作用的研究[J].中国药理学通报,2005,21(3):358-360.
[4] 黄居敏,张普照,王芳,等.白僵菌的代谢产物及药理活性研究进展[J].中国生化药物杂志,2014,34(9):167-173.
[5] 李晶峰,孙佳明,张辉.僵蚕的化学成分及药理活性研究[J].吉林中医药,2015,35(2):175-177.
[6] 米红霞,刘吉平.白僵蚕应用研究进展[J].广东蚕业,2010,44(1):46-48.
[7] 吴迪,蔡成岗,沙如意.铁皮石斛多糖提取工艺优化研究[J].浙江科技学院学报,2016,28(6):444-449.
[8] 赵凯,许鹏举,谷广辉.3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J].食品科学,2008,29(8):534-536.
[9] 于士军,包佳源,樊美珍.人工蝉花孢梗束粗多糖的提取工艺和活性[J].菌物研究,2014,12(2):100-106.
[10] 余华.海带多糖中蛋白质去除方法的对比研究[J].成都大学学报(自然科学版),2005,24(4):265-268.
[11] 邵颖,陈安徽,刘辉,等.蛹虫草子实体中类胡萝卜素的提取及抗氧化活性[J].食品工业科技,2016,37(19):221-226.
[12] 何晋浙,徐瑶阳,孙培龙.不同来源猴头菌营养成分及其多糖化学组成和抗氧化活性比较[J].食品与发酵工业,2016,42(1):134-140.
[13] 翟飞红,王琳琳,韩建荣.巴西蘑菇与双孢蘑菇菌丝体抗氧化活性和多糖含量的比较[J].食品与发酵工业,2014,40(10):137-141.

(上接第 152 页)

表 8 验证试验结果
Table 8 Verification test results

批号 No.	吸湿性 Hygroscopicity / %	粒度 Granularity %	口感 Taste	性状 Characters	溶性性 Solute
2017030701	5.8057	3.16	87.10	干燥、均匀、色泽一致,无吸潮、	轻微浑浊
2017030702	5.8679	2.39	84.70	软化、结块、潮解等现象	轻微浑浊
2017030703	5.9001	3.03	86.90		轻微浑浊

干燥后的灵芝粗多糖吸湿性强、味苦,而乳糖无吸湿性、味甜,且能为机体提供热能,是一种较好的稀释剂的选择,但该试验中发现单用乳糖时软材黏度不够,颗粒过于松散;而糊精黏性较强,且可提高产品的溶解性能,改善口感和风味,防止产品潮解。因此,将糊精、乳糖混合后作为颗粒剂的稀释剂。

参考文献

[1] 陈伟,马飞,张琳,等.灵芝有效成分提取及药理活性研究进展[J].安徽农业科学,2016,44(8):147-149,202.
[2] 刘佳,王勇.灵芝多糖的研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(6):629-634.

[3] 叶志能,李德远,王斌,等.灵芝多糖研究进展[J].食品研究与开发,2012,33(1):225-228.
[4] 张洁,蒋定文,何颖,等.灵芝胶囊提取工艺筛选与优化[J].中国新药杂志,2013,22(16):1948-1951.
[5] 张洁.灵芝复方胶囊的制备及免疫调节作用研究[D].苏州:苏州大学,2013.
[6] 丁柯,陈尚兵,苗敬芝,等.灵芝细胞微胶囊化发酵饮料的研究[J].食品工业,2016,37(12):13-16.
[7] 庞丽.中药颗粒剂的研究进展[J].山东医学高等专科学校学报,2012,34(6):469-471.
[8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].北京:化学工业出版社,2015:133.
[9] 孙淑萍,陈靠山,吴少云.牛蒡低聚糖防潮颗粒的研制[J].中国中医药科技,2009,16(4):297-299.

本刊提示 文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年—),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。