

桑黄营养成分、活性成分及多糖性质分析

刘锦程, 弓志青, 杨 鹏, 王延圣, 李永生, 杨正友, 王文亮

Analysis of Nutritional Components, Active Components and Polysaccharide Properties of *Phellinus igniarius*

LIU Jincheng, GONG Zhiqing, YANG Peng, WANG Yansheng, LI Yongsheng, YANG Zhengyou, and WANG Wenliang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023010117>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

油莎豆发芽前后营养成分及多糖生物活性的变化

Analysis of Nutrient Composition and Bioactivity of *Cyperus esculentus* (C. esculentus L.) before and after Germination

食品工业科技. 2021, 42(12): 327-333 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050314>

石莼(*Ulva lactuca* L.)营养成分及多糖组成分析

Analysis on Nutritional Component and Polysaccharide Composition of *Ulva lactuca* L.

食品工业科技. 2019, 40(17): 304-308,313 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.17.050>

双孢菇柄多糖柱层析纯化及单糖组成

Column chromatographic purification and monosaccharide composition of polysaccharide extracted from *Agaricus bisporus* stipe

食品工业科技. 2018, 39(12): 16-20 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.12.004>

兰州肉苁蓉多糖的组成分析及抗氧化活性

Composition Identification and Antioxidant Activity of *Cistanche lanzhouensis* Polysaccharides

食品工业科技. 2021, 42(15): 96-103 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010193>

香加皮精多糖的单糖组成、热重和热裂解分析

Monosaccharide Composition, Thermogravimetric and Thermal Gravimetric Analysis of Corlex Periplociae Polysaccharide

食品工业科技. 2019, 40(6): 256-262,272 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.043>

红脚艾营养成分分析与评价

Nutritional Components Analysis and Assessment of *Artemisia Verlotorum* Lamotte

食品工业科技. 2021, 42(3): 315-319 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020030336>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

刘锦程, 弓志青, 杨鹏, 等. 桑黄营养成分、活性成分及多糖性质分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 241–248. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023010117

LIU Jincheng, GONG Zhiqing, YANG Peng, et al. Analysis of Nutritional Components, Active Components and Polysaccharide Properties of *Phellinus igniarius*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(22): 241–248. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023010117

· 分析检测 ·

桑黄营养成分、活性成分及多糖性质分析

刘锦程^{1,2}, 弓志青¹, 杨 鹏³, 王延圣¹, 李永生¹, 杨正友², 王文亮^{1,*}

(1. 山东省农业科学院农产品加工与营养研究所, 山东济南 250100;

2. 山东农业大学生命科学学院, 山东泰安 271018;

3. 山东省农业科学院农业资源与环境研究所, 山东济南 250100)

摘要: 为探寻不同桑黄子实体中营养、活性成分及抗氧化活性差异, 本研究比较分析了 5 种桑黄的营养、活性成分含量及其多糖的抗氧化活性, 以此为评价指标筛选优质桑黄子实体, 采用 rDNA ITS 序列分析对目标桑黄进行鉴定, 并对其多糖的抗氧化活性进行测定, 通过紫外光谱、傅里叶变换红外光谱和高效液相色谱分析多糖性质。结果表明, 供试桑黄在营养、活性成分含量及多糖抗氧化活性方面均存在较大差异; 其中, 桑黄 S-4 中粗纤维、粗蛋白、多糖、总酚、总黄酮、总三萜含量相对较高, 粗脂肪和灰分含量相对较低, 且 S-4 多糖对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基和 O₂⁻ 自由基的清除能力均较好, 半抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 35.07、12.87、91.34 μg/mL, 对 ABTS⁺ 自由基的清除能力与抗坏血酸相当; 将 S-4 作为目标桑黄, 经鉴定, 为杨树桑黄; 紫外、红外光谱和单糖组成分析表明 S-4 多糖具有典型的多糖类特征吸收峰, 是含有 β-糖苷键和呋喃环的多糖, 主要由葡萄糖、半乳糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸、核糖和甘露糖组成。S-4 的营养、活性成分含量相对丰富, 其多糖具有良好的抗氧化能力, 为优良桑黄子实体的筛选及多糖开发利用提供参考。

关键词: 桑黄, 多糖, 抗氧化能力, 营养成分, 单糖组成

中图分类号: [R931.6]

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)22-0241-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023010117



本文网刊:

Analysis of Nutritional Components, Active Components and Polysaccharide Properties of *Phellinus igniarius*

LIU Jincheng^{1,2}, GONG Zhiqing¹, YANG Peng³, WANG Yansheng¹, LI Yongsheng¹,
YANG Zhengyou², WANG Wenliang^{1,*}

(1. Institute of Food & Nutrition Science and Technology, Shandong Academy of Agricultural Sciences,
Jinan 250100, China;

2. College of Life Science, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

3. Institute of Agricultural Resource and Environment, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: In order to explore the differences of nutrition, active components and antioxidant activity in the fruiting bodies of different *Phellinus igniarius*, this study compared the nutritional and active ingredient contents of five species of *Phellinus igniarius* as well as their antioxidant activity of polysaccharides for the sake of obtaining high quality *Phellinus igniarius* fruiting bodies. The target *Phellinus igniarius* was identified by rDNA ITS sequence analysis and the antioxidant activity of its polysaccharide was determined. The properties of polysaccharides were analyzed by ultraviolet spectrum, Fourier transform infrared spectrum and high performance liquid chromatography. The results showed that significant differences in the nutrition, active ingredient content and polysaccharide antioxidant activity of different species were observed. The contents of crude fiber, crude protein, polysaccharide, total phenol, total flavone and total triterpene in S-4

收稿日期: 2023-01-16

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系食用菌产后加工岗位专家项目 (SDAIT-07-09); 山东省自然科学基金青年项目 (ZR2022QC239)。

作者简介: 刘锦程 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物, E-mail: ljcl8853@163.com。

* 通信作者: 王文亮 (1980-), 男, 硕士, 研究员, 研究方向: 食用菌精深加工, E-mail: cywwl@163.com。

were relatively high, while the contents of crude fat and ash were relatively low. S-4 polysaccharides demonstrated excellent DPPH radical, ABTS⁺ radical and O₂⁻ radical scavenging ability, and the half-inhibitory concentration (IC₅₀) were 35.07, 12.87 and 91.34 μg/mL, respectively. The scavenging ability of S-4 polysaccharides against ABTS⁺ radical was equivalent to that of ascorbic acid. S-4 was used as the target *Phellinus igniarius*, and was identified as *Sanghuangporus vaninii*. Ultraviolet, infrared spectrum and monosaccharide composition analysis showed that S-4 polysaccharides had typical polysaccharide characteristic absorption peak, which was composed of glucose, galactose, fucose, glucuronic acid, ribose and mannose, containing β-glycoside bond and furan ring. The S-4 was relatively rich in nutrients and active ingredients, and its polysaccharides had good antioxidant capacity, which would provide a reference for the screening of excellent *Phellinus igniarius* fruiting bodies and the development and utilization of polysaccharides.

Key words: *Phellinus igniarius*; polysaccharide; antioxidant capacity; nutritional components; monosaccharide composition

桑黄又称桑耳、桑臣或胡孙眼,在我国已有两千多年的药用历史,是一类药用真菌的统称,其药用价值在《神农本草经》、《药性论》、《本草纲目》等中医学专著中都有记载^[1-2],具有“利五脏、排毒气”等功效,可治疗痢疾、血崩、崩漏带下、闭经、脐腹涩痛等疾病^[3]。近数十年来学者们对于桑黄这类真菌的分类属性达成共识,认为它们是担子菌门(asidiomycota)蘑菇纲(Agaricomycetes)锈革菌目(Hymenochaetales)锈革菌科(Hymenochaetaceae)的大型多孔菌^[4]。桑黄营养丰富、具有保健功效,其营养和药效成分主要有粗纤维、粗蛋白、粗脂肪、多糖、酚类、黄酮类和萜类等^[5]。多糖作为其主要活性成分,具有抗氧化^[6-7]、抗肿瘤^[8]、降血糖^[9]、免疫调节^[10]和抗炎^[11-12]等功能。

随着人们的健康意识不断增强,营养丰富且具有良好保健功效的药用真菌不断受到消费者的欢迎,桑黄以较高的药用价值受到了广泛关注,成为产品开发关注的焦点^[13]。目前,桑黄在国外已被用于制造抗癌药品、养颜保健品及抑制艾滋病的新药^[14]。国内已有学者研制出桑黄酒^[15]、桑黄曲奇饼干^[16]、桑黄茶^[17]等一系列以桑黄或桑黄多糖为主要成分的产品,但市场上桑黄精深加工产品仍较少。不同桑黄子实体之间营养成分、活性成分含量差异较大,其多糖活性也有所不同^[18-19],桑黄质量难以控制,制约桑黄产业的进一步发展。

为探寻不同桑黄子实体中营养和活性成分含量差异,发掘具有更好生物活性的多糖,本研究选取 5 种桑黄子实体,对其营养、活性成分进行比较分析,并对优良桑黄子实体的多糖进行抗氧化能力及单糖组成分析,为桑黄优良品种的筛选及多糖开发利用提供参考依据,为开发天然有效的抗氧化产品提供依据,为桑黄更好地应用于食品、药品、保健品和化妆品等领域提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桑黄子实体(编号 S-1、S-2、S-3、S-4、S-5) 山东省农业科学院提供;香草醛、没食子酸标准品 上海源叶生物有限公司;重蒸酚、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS) 北京索莱宝生物科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 北京

酷来搏科技有限公司;单糖标准品 上海安谱实验科技股份有限公司;其余试剂均为国产。

JFM38 马弗炉 JISHICO 公司;K9840 凯氏定氮仪 济南海能仪器股份有限公司;SZF-06A 粗脂肪测定仪 上海新嘉电子有限公司;UV-6100 紫外可见分光光度计 METASH 公司;L550 离心机 cence 公司;SynergyH1M 酶标仪 美国 BioTek 公司;Nicolet IS5 傅里叶变换红外光谱仪 美国 Thermo 公司;1200 液相色谱仪 美国 Agilent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 将 5 种供试桑黄子实体于 60 ℃ 烘箱中烘干,粉碎机粉碎,过 80 目筛,收集粉末密封保存备用。

1.2.2 营养成分含量测定 分别采用 GB/T 5009.10-2003、GB 5009.5-2016(凯氏定氮法)、GB 5009.6-2016(索氏抽提法)和 GB 5009.4-2016(食品中总灰分的测定)测定样品粗纤维、粗蛋白、粗脂肪和灰分含量。

1.2.3 多糖提取及含量测定 称取各样品适量,采用热水浸提法,料液比 1:20,提取温度 95 ℃,提取时间 120 min,抽滤,重复上述操作 1 次,合并滤液,旋转蒸发浓缩后加入三倍体积 95% 乙醇,4 ℃ 醇沉 20 h 后冻干沉淀,得到粗多糖。沉淀用蒸馏水溶解,定容至 250 mL,采用苯酚-硫酸法测定多糖含量。以葡萄糖质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标做葡萄糖标准曲线方程为 $Y_1=11.72X_1-0.0256(R^2=0.9979)$,得率按下式计算:

$$\text{得率}(\%) = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

式中: W_1 表示桑黄子实体的质量(g); W_2 表示多糖的质量(g)。

1.2.4 总黄酮、总酚、总三萜含量测定 按照胡文继^[20]的方法进行提取,采用 AlCl₃ 比色法^[21]测定总黄酮含量,以芦丁质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标做芦丁标准曲线方程为 $Y_2=3.1474X_2-0.0061(R^2=0.9996)$;采用 Folin-Ciocalteu 比色法^[22]测定总酚含量,以没食子酸质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标做没食子酸标准曲线方程为 $Y_3=30.775X_3+0.0245(R^2=0.9985)$;采用 NY/T 3676-

2020 测定总三萜含量,以齐墩果酸质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标做齐墩果酸标准曲线方程为 $Y_4=2.2493X_4-0.0054(R^2=0.9986)$ 。

1.2.5 多糖抗氧化能力测定

1.2.5.1 清除 DPPH 自由基能力 取多糖溶液 500 μ L 于 2 mL 离心管中,按照 Pan 等^[23]报道的方法进行测定,多糖样品的最终反应浓度为 125 μ g/mL。空白组用 500 μ L 蒸馏水代替样品,对照组用 500 μ L 无水乙醇代替 DPPH-乙醇溶液。按照公式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中: A_1 表示样品组吸光度平均值; A_2 表示对照组吸光度平均值; A_0 表示空白组吸光度平均值。

1.2.5.2 清除 ABTS⁺自由基能力 取 100 μ L 多糖溶液于 2 mL 离心管中,加入 300 μ L ABTS 工作液,参照连俊辉^[24]的方法进行测定,多糖样品的最终反应浓度为 50 μ g/mL。按照公式(1)计算 ABTS⁺自由基清除率。

1.2.5.3 清除超氧阴离子(O_2^-)自由基能力 取 200 μ L 多糖溶液于 2 mL 离心管中,按照徐高飞^[25]的方法进行测定,多糖样品的最终反应浓度为 500 μ g/mL。按照公式(1)计算超氧阴离子自由基清除率。

1.2.5.4 还原力 取 200 μ L 多糖溶液于 2 mL 离心管中,多糖样品的最终反应浓度为 500 μ g/mL,参考张晨^[26]的方法进行测定,吸光度值数值越大还原力越强,对照组用蒸馏水代替三氯化铁溶液,按照公式(2)计算还原力。

$$\text{还原力} = A_1 - A_2 \quad \text{式 (2)}$$

式中: A_1 表示样品组吸光度平均值; A_2 表示对照组吸光度平均值。

1.2.6 分子生物学鉴定 对 S-4 子实体提取基因组 DNA,送至青岛睿博兴科公司进行内转录间隔区(ITS)测序,将所得的 ITS 序列与 GenBank(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)网站中已知的序列进行 BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)分析,从中获得与所得的 ITS 序列具有相似同源性的序列,使用 MEGA 7.0 软件,采用 NJ(Neighbor Joining)法构建系统发育树。

1.2.7 目标桑黄多糖抗氧化能力测定 根据反应体系,将多糖以及 V_C 分别配制成反应浓度为 3.125、6.25、12.5、50、100、200、400 μ g/mL 的溶液体系,按照 1.2.2 的方法进行测定。

1.2.8 多糖除蛋白 多糖样品采用 Sevag 法除蛋白^[27-28],弃掉有机相和蛋白层,保留水相层,重复脱蛋白操作至无蛋白层析出,经活性炭脱色和透析后用于紫外光谱分析、FT-IR 分析和单糖组成分析。

1.2.9 紫外光谱分析 配制 0.5 mg/mL 的多糖溶液,利用紫外可见分光光度计在波长 200~400 nm 范围内扫描^[29]。

1.2.10 FT-IR 分析 取适量干燥多糖粉末混到一定量干燥 KBr 粉末中磨样,利用压片机压成片,用傅立叶变换红外光谱仪在 4000~400 cm^{-1} 范围进行扫描分析^[30]。

1.2.11 单糖组成分析 参照文献 [31] 的方法测定单糖组成。色谱条件:采用 Agilent 1200 型高效液相色谱系统分析, C18 Agilent(4.6 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5 μ m) 色谱柱,流动相为 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液-乙腈(82:18),流速 1.0 mL/min,柱温 25 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μ L,检测波长 245 nm。

1.3 数据处理

实验结果以 3 次平行实验的平均值 $\pm$ 标准差表示,实验数据使用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析,图表均采用 Origin 2018 软件进行绘制,使用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 桑黄子实体营养成分、活性成分含量测定

2.1.1 营养成分含量测定 对 5 种桑黄子实体的粗纤维、粗蛋白、粗脂肪和灰分含量分析结果见表 1。供试桑黄粗纤维含量差异较大,粗纤维含量最高的是 S-4,为 33.40%,显著高于($P<0.05$)其他四种桑黄子实体,粗纤维含量由高到低依次为 S-4、S-5、S-2、S-1、S-3。在粗蛋白含量上,S-1 粗蛋白含量最高,为 23.10%,其次是 S-3 和 S-4,两者粗蛋白含量分别为 19.41% 和 18.77%,差异不显著($P>0.05$)。粗脂肪含量较高的是 S-1、S-3,两者粗脂肪含量均为 1.67%,粗脂肪含量较低的是 S-2、S-4 和 S-5,三者粗脂肪含量分别为 1.37%、1.13% 和 0.83%。供试桑黄子实体灰分含量有显著差异($P<0.05$),S-1 灰分含量最高,为 10.87%,S-5 灰分含量最低,为 4.07%,相差 2.7 倍。

表 1 桑黄子实体营养成分含量

Table 1 Nutrient content of fruiting bodies of *Phellinus igniarius*

桑黄编号	粗纤维(%)	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)	灰分(%)
S-1	22.77 $\pm$ 0.61 ^c	23.10 $\pm$ 0.78 ^a	1.67 $\pm$ 0.09 ^a	10.87 $\pm$ 0.19 ^a
S-2	31.63 $\pm$ 0.42 ^b	10.53 $\pm$ 0.17 ^c	1.37 $\pm$ 0.05 ^b	5.54 $\pm$ 0.09 ^c
S-3	17.47 $\pm$ 0.48 ^d	19.41 $\pm$ 0.21 ^b	1.67 $\pm$ 0.12 ^a	8.64 $\pm$ 0.10 ^b
S-4	33.40 $\pm$ 0.86 ^a	18.77 $\pm$ 0.02 ^b	1.13 $\pm$ 0.09 ^c	4.47 $\pm$ 0.02 ^d
S-5	32.07 $\pm$ 0.31 ^b	5.55 $\pm$ 0.28 ^d	0.83 $\pm$ 0.05 ^d	4.07 $\pm$ 0.03 ^e

注:表中同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),表2同。

2.1.2 活性成分含量测定 对供试桑黄子实体活性成分含量进行分析,结果见表2。供试桑黄子实体多糖、总酚、总黄酮和三萜含量差异较大。多糖含量由高到低为 S-1、S-3、S-4、S-5、S-2,其中 S-1、S-3 和 S-4 的多糖含量差异不显著($P>0.05$),分别为 1.27%、1.20% 和 1.19%。总酚含量最高的是 S-4,为 0.34%,其总酚含量显著高于($P<0.05$)其余 4 种桑黄子实体。总黄酮含量最高的是 S-3,为 1.67%,其次是 S-4,为 1.37%,含量最低的是 S-5,为 0.11%。总三萜含量最高的是 S-1,为 2.85%,其次是 S-4,为 2.71%,最低的是 S-5,为 1.59%。

2.2 桑黄子实体多糖抗氧化能力比较分析

为筛选产高抗氧化能力多糖的桑黄,对供试桑黄子实体多糖进行抗氧化能力的比较分析,结果见图1。不同桑黄子实体多糖的抗氧化能力存在显著差异($P<0.05$)。从 S-4 中提取的多糖,其对 DPPH 自由基、ABTS⁺自由基和 O₂⁻自由基均具有较强的清除能力,体现出较强的抗氧化能力。还原力最强的是 S-2, S-4 次之,但 S-2 的多糖对这三种自由基的清除率均显著低于 S-4($P<0.05$)。综合考虑,选择 S-4 作为目标桑黄,并对其多糖进行抗氧化能力验证和性质分析。

2.3 目标桑黄分子生物学鉴定

经 ITS 测序获得 S-4 的 ITS 序列(GeneBank No. OQ028234.1),用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树,结果显示其与杨树桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)聚为一族,如图2所示,因此将该桑黄命名为 *Sanghuangporus vaninii* S-4。

2.4 目标桑黄多糖抗氧化能力测定

由图3可知,在一定浓度范围内, S-4 多糖的抗氧化能力随多糖浓度的升高而升高,呈现出剂量依赖性,在达到最高抑制率或最大还原力后,不再增加。在多糖浓度为 100 μg/mL 时, S-4 多糖对 DPPH 自由基的清除率达到最大值,最大清除率为 89.81% (图3A)。在多糖浓度为 50 μg/mL 时,对 ABTS⁺自由基的清除率达到最大值,最大清除率为 99.81% (图3B)。S-4 多糖对 O₂⁻自由基清除能力在多糖浓度 200 μg/mL 时达到最强,最大清除率 64.63%(图3C)。S-4 多糖的还原力在多糖浓度 100 μg/mL 时达到最大值,此时吸光值为 1.981(图3D)。S-4 多糖对 DPPH 和 ABTS⁺自由基有极强的清除能力,并且最大清

表2 桑黄子实体活性成分含量

Table 2 Content of active component in fruiting bodies of *Phellinus igniarius*

桑黄编号	多糖(%)	总酚(%)	总黄酮(%)	总三萜(%)
S-1	1.27±0.09 ^a	0.21±0.02 ^b	0.48±0.05 ^c	2.85±0.06 ^a
S-2	0.26±0.02 ^c	0.23±0.01 ^b	0.23±0.02 ^d	2.79±0.11 ^{ab}
S-3	1.20±0.21 ^a	0.26±0.03 ^b	1.67±0.03 ^a	2.70±0.02 ^b
S-4	1.19±0.02 ^a	0.34±0.02 ^a	1.37±0.01 ^b	2.71±0.04 ^b
S-5	0.59±0.08 ^b	0.21±0.01 ^b	0.11±0.01 ^e	1.59±0.07 ^c

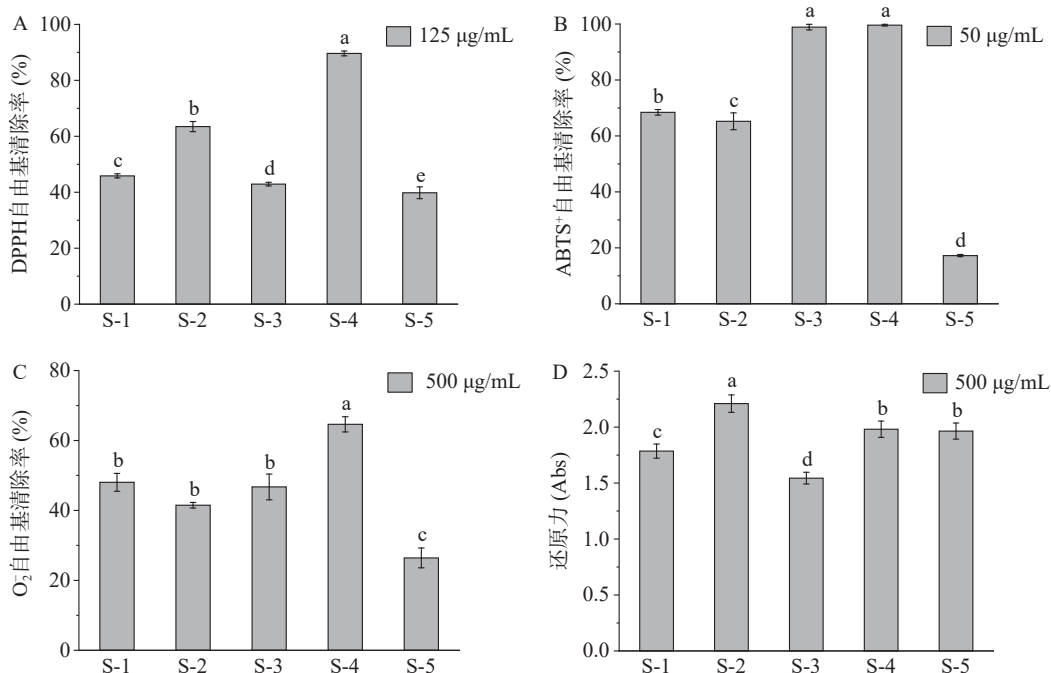


图1 桑黄子实体多糖抗氧化能力

Fig.1 Antioxidant capacity of polysaccharides of fruiting bodies of *Phellinus igniarius*

注: A: DPPH 自由基清除率; B: ABTS⁺自由基清除率; C: O₂⁻自由基清除率; D: 还原力; 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

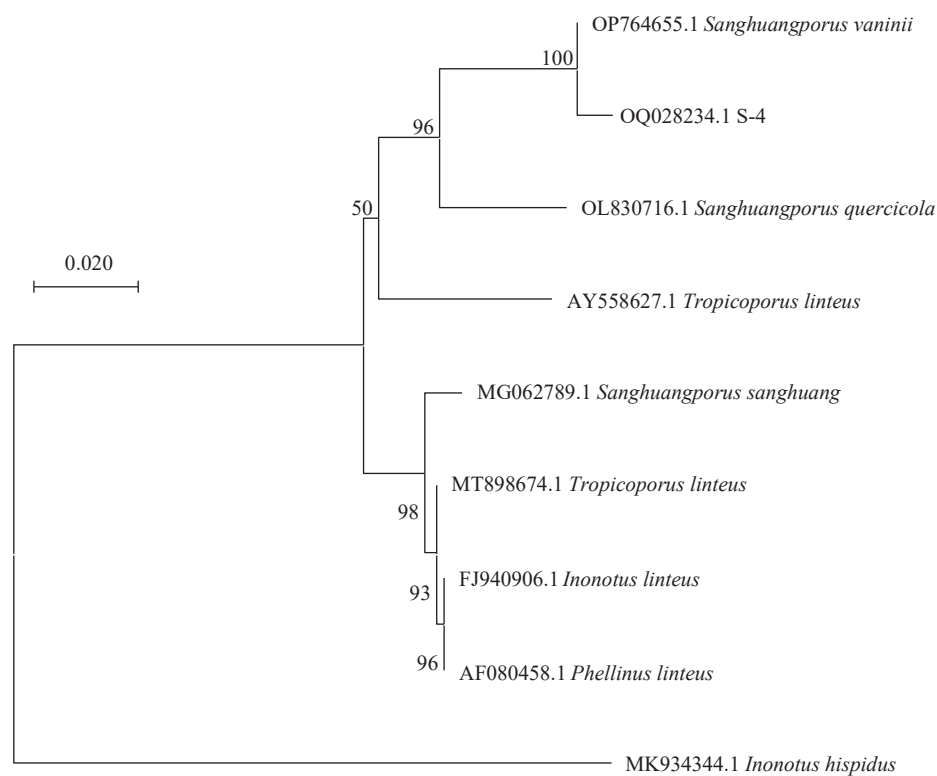


图 2 S-4 系统发育树
Fig.2 Phylogenetic tree of S-4

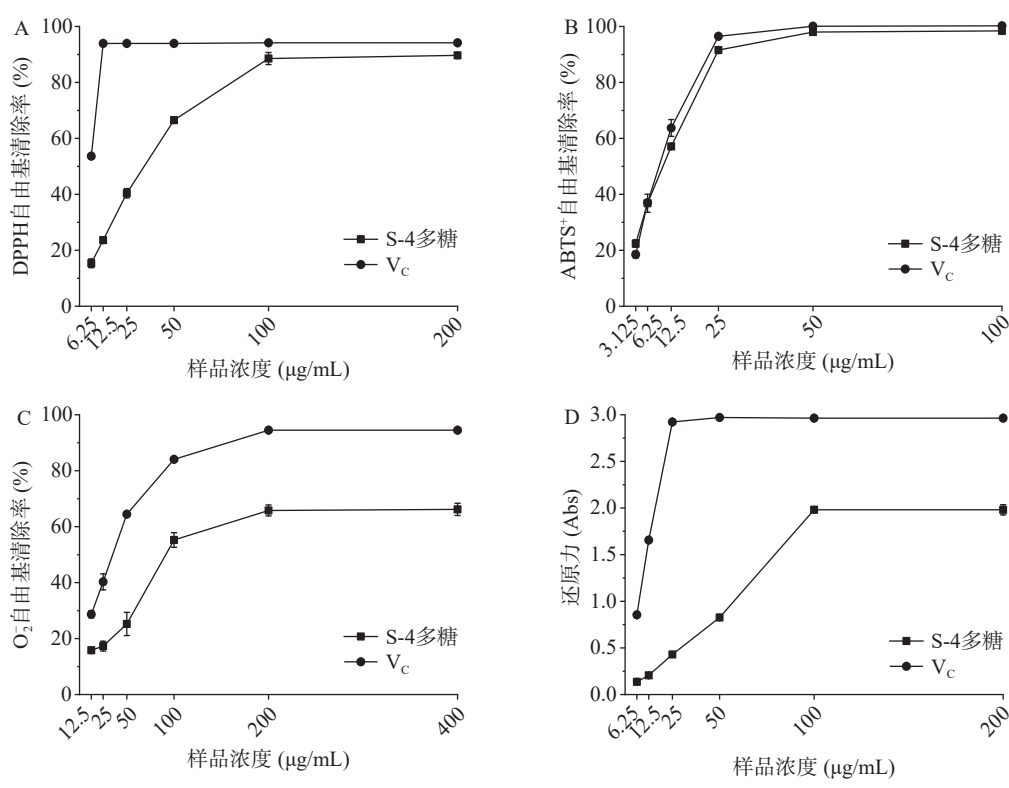


图 3 S-4 多糖抗氧化能力
Fig.3 Antioxidant capacity of polysaccharides from S-4
注: A: DPPH 自由基清除率; B: ABTS⁺自由基清除率; C: O₂⁻自由基清除率; D: 还原力。

除率与 V_C 相当, 体现出较好的抗氧化能力。

S-4 多糖对 DPPH 自由基、ABTS⁺自由基和O₂⁻自由基的 IC₅₀ 值分别为 35.07、12.87、91.34 μg/mL, 并且对于 ABTS⁺自由基的清除能力要强于 DPPH 自由基和O₂⁻自由基。因此, 该多糖具有较强的抗氧化活性。

2.5 紫外光谱分析

S-4 多糖紫外扫描结果如图 4 所示,在波长 200 nm 附近有明显糖类特征吸收峰,在波长 260、280 nm 附近无明显核酸和蛋白质吸收峰,表明多糖经过 Sevag 除蛋白、活性炭脱色和透析后不含大量的核酸和蛋白质。

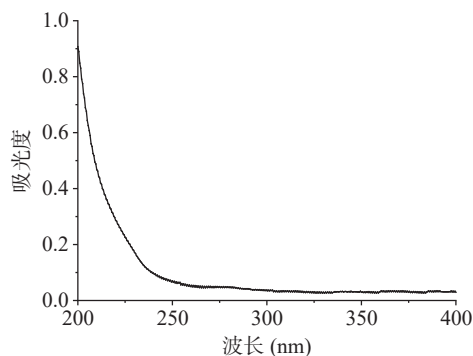


图 4 S-4 多糖紫外扫描图谱

Fig.4 UV absorption spectrum of polysaccharides from S-4

2.6 FT-IR 分析

S-4 多糖红外光谱分析结果如图 5 所示, 3404 cm^{-1} 附近是多糖中 O-H 键之间的伸缩振动^[32]; 2928 cm^{-1} 附近是甲基或亚甲基的 C-H 键伸缩振动^[33]; $1420\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 范围内为 C-H 的变角振动峰,以上三个区域的吸收峰可判定 S-4 多糖具有糖类结构^[34]。 1629 cm^{-1} 附近的吸收峰是羧基中 C=O 非对称伸缩振动引起,也是糖醛酸的特征吸收峰^[35]; $1200\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 范围内出现 2 个吸收峰位置,表明含有呋喃糖^[36]; 890 cm^{-1} 出现吸收峰表明其糖苷键以 β -构型为主^[37]。因此,该多糖为含有 β -型糖苷键和呋喃环的多糖,并且含有糖醛酸。

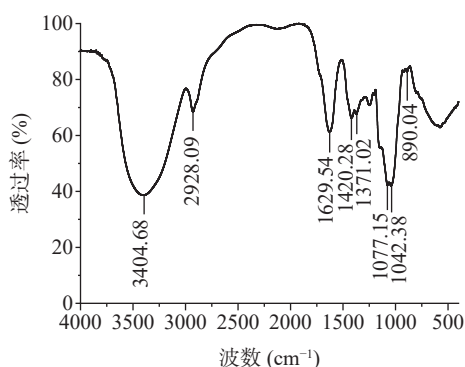


图 5 S-4 多糖红外光谱图

Fig.5 FT-IR spectrogram of polysaccharides from S-4

2.7 单糖组成分析

对 S-4 多糖和单糖标准品进行 PMP 柱前衍生化高效液相色谱分析,结果如图 6 所示,单糖种类及含量见表 3。S-4 多糖的单糖组成为甘露糖、核糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和岩藻糖。其中,葡萄糖含量最高,为 238159.38 mg/kg ,半乳糖含量次之,为 194119.69 mg/kg 。岩藻糖、葡萄糖醛酸和核糖的

含量分别为 114574.88 、 43532.40 、 33480.93 mg/kg 。甘露糖含量最低,仅有 8122.79 mg/kg 。

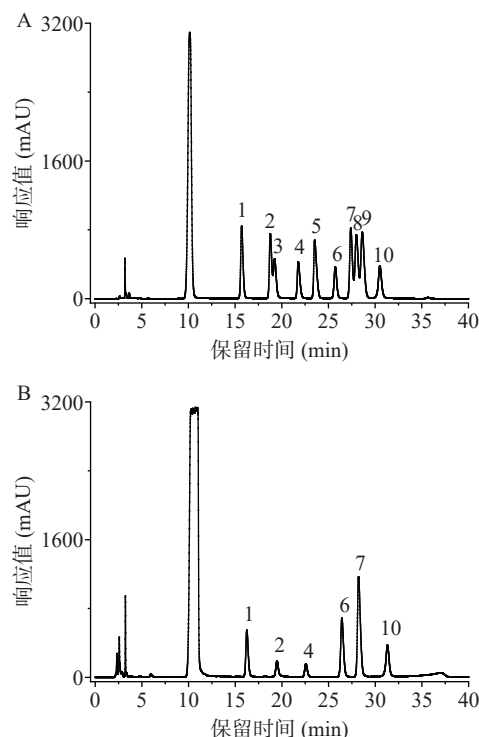


图 6 液相色谱图

Fig.6 Liquid chromatography.

注: A: 单糖标准品; B: S-4 多糖; 1 甘露糖; 2 核糖; 3 鼠李糖; 4 葡萄糖醛酸; 5 半乳糖醛酸; 6 葡萄糖; 7 半乳糖; 8 木糖; 9 阿拉伯糖; 10 岩藻糖。

表 3 S-4 多糖单糖组成

Table 3 Monosaccharide composition of polysaccharides of S-4

单糖种类	含量(mg/kg)
甘露糖	8122.79
核糖	33480.93
葡萄糖醛酸	43532.40
葡萄糖	238159.38
半乳糖	194119.69
岩藻糖	114574.88

Wan 等^[38]从杨树桑黄子实体中提取出的对人非小细胞肺癌有明显的抑制作用的水溶性多糖 SVP-1,由葡萄糖、半乳糖、岩藻糖、甘露糖、阿拉伯糖、果糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸和甘露糖组成,与本研究构成 S-4 多糖的 6 种单糖中有 5 种同样的单糖,并且同样以 β -构型为主。由于实验条件限制,本研究并未测定多糖结构,后续会继续对 S-4 多糖的结构进行深入研究。

3 讨论与结论

本研究采用热水浸提法提取桑黄多糖,在本实验设置的参数下,S-4 多糖的得率为 4.92% 。李有贵等^[39]同样采用热水浸提法提取野生和人工栽培桑黄子实体的多糖,但二者得率仅 1% 左右。形成这种差异的原因一方面是提取条件参数的设置,另一方面也

与桑黄品种的不同有关。后续将尝试采用其他安全无毒的提取方式提取 S-4 多糖,旨在提升多糖得率。

在分析多糖抗氧化能力时,发现 S-2 多糖的还原能力强于 S-4 多糖,但其对三种自由基的清除作用却弱于 S-4 多糖,原因可能是 S-2 多糖中含有某种带有 Fe^{2+} 的物质,该物质可能为杂质。另外,由于实验方法不同,也可能是受到试剂或实验体系的影响。蔡铭等^[40] 在比较猴头菇粗多糖的抗氧化能力时,也出现了类似现象,其中 E-HeP 对于羟自由基的清除能力最强,但其对 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的清除能力和还原力却弱于 D-HeP。故在比较不同多糖的体外抗氧化能力时要全面考察,本文分析了三种自由基的清除率及还原力,实验结果较为可靠。

随着桑黄制品的不断丰富,桑黄多糖也逐渐被应用于各类产品的研发,目前也已经可以将桑黄中的有效药用成分提取出来,再进行产品研发,充分发挥其广泛的药理作用。近年来,桑黄在食品工业中的应用范围逐渐扩大,日本、韩国等地已经将桑黄列为食品、健康食品,甚至是药品,而我国目前对于桑黄精深加工产品的开发仍然较为匮乏。本研究通过对比五种桑黄的主要营养、活性成分含量及多糖的四种抗氧化能力,发现 S-4 具有相对丰富的营养及活性成分,其多糖具有相对较强的抗氧化活性,有一定的开发潜力,作为优良桑黄子实体应用于桑黄精深加工产品开发具有一定可行性,后续将尝试利用 S-4 多糖以咀嚼片或口服液的形式开发功能性食品。

参考文献

- [1] 包海鹰,杨烁,李庆杰,等. “桑黄”的本草补充考证[J]. 菌物研究, 2017, 15(4): 264–270. [BAO H Y, YANG S, LI Q J, et al. Supplementary textual research on “*Sanghuang*” [J]. Journal of Fungal Research, 2017, 15(4): 264–270.]
- [2] 雷萍,张文隽,吴亚召,等. 鲍姆桑黄五个品种栽培特性及功能成分的比较分析[J]. 菌物学报, 2022, 41(2): 274–280. [LEI P, ZHANG W J, WU Y Z, et al. Comparative analysis of cultivation characteristics and functional constituents of five varieties of *Sanghuangporus baumii* [J]. Mycosystema, 2022, 41(2): 274–280.]
- [3] 朱琳,崔宝凯. 药用真菌桑黄的研究进展[J]. 菌物研究, 2016, 14(4): 201–209. [ZHU L, CUI B K. Progress on the studies of medicinal mushrooms “*Sanghuang*” group [J]. Journal of Fungal Research, 2016, 14(4): 201–209.]
- [4] 吴声华,戴玉成. 药用真菌桑黄的种类解析[J]. 菌物学报, 2020, 39(5): 781–794. [WU S H, DAI Y C. Species clarification of the medicinal fungus *Sanghuang* [J]. Mycosystema, 2020, 39(5): 781–794.]
- [5] 付立忠,陆娜,闫静,等. 三种桑黄属真菌人工栽培子实体营养、药效成分及抗氧化活性分析评价[J]. 菌物学报, 2021, 40(8): 2148–2158. [FU L Z, LU N, YAN J, et al. Analyses and evaluation of nutrition, active component and antioxidant activities of fruiting bodies of three species of *Sanghuangporus* [J]. Mycosystema, 2021, 40(8): 2148–2158.]
- [6] ZHANG J J, CHEN B S, DAI H Q, et al. Sesquiterpenes and polyphenols with glucose-uptake stimulatory and antioxidant activities from the medicinal mushroom *Sanghuangporus sanghuang* [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2021, 19(9): 693–699.
- [7] 李瑞雪,王钰婷,夏家凤,等. 桑黄菌丝体中多糖提取工艺优化及其体外抗氧化活性分析[J]. 中国农学通报, 2019, 35(29): 143–150. [LI R X, WANG Y T, XIA J F, et al. Optimization of extraction process of polysaccharide of *Phellinus igniarius* mycelium and analysis of its antioxidant activity *in vitro* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(29): 143–150.]
- [8] CHENG J W, SONG J L, WANG Y B, et al. Conformation and anticancer activity of a novel mannogalactan from the fruiting bodies of *Sanghuangporus sanghuang* on HepG2 cells [J]. Food Research International, 2022, 156: 111336.
- [9] HOU R R, ZHOU L J, FU Y, et al. Chemical characterization of two fractions from *Sanghuangporus sanghuang* and evaluation of antidiabetic activity [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 87: 104825.
- [10] 刘帅,莫俊恺,潘丹阳,等. 桑黄多糖的药理作用及提取方法研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(12): 63–67. [LIU S, MO J K, PAN D Y, et al. Research progress on pharmacological actions and extraction methods of polysaccharide from *Phellinus igniarius* [J]. Biotechnology Bulletin, 2018, 34(12): 63–67.]
- [11] 胡涛. 桑黄多糖抗炎与降脂功能的评估及其分子机理研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019. [HU T. The anti-inflammation and lipid-lowering effects and the potential molecular mechanism of *Phellinus linteus* [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2019.]
- [12] 郎明紫,曾鹏,刘明明,等. 桑黄多糖的研究进展[J]. 蚕桑通报, 2017, 48(2): 14–18. [LANG M Z, ZENG P, LIU M M, et al. Research progress on polysaccharide from *Phellinus baumii* [J]. Bulletin of Sericulture, 2017, 48(2): 14–18.]
- [13] 李彦颖,张祺,陈晓华,等. 桑黄多糖的分离纯化、生物活性及其产品开发研究进展[J]. 食药菌, 2022, 30(1): 26–31, 61. [LI Y Y, ZHANG Q, CHEN X H, et al. Research progress in purification, bio-activity and product development of polysaccharides from *Sanghuangporus* polysaccharides from *Sanghuangporus* [J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2022, 30(1): 26–31, 61.]
- [14] 李小群,梁贵秋,刘开莉,等. 桑黄活性成分的提取方法及应用研究进展[J]. 广西蚕业, 2022, 59(1): 41–50. [LI X Q, LIANG G Q, LIU K L, et al. Research progress on extraction methods and application of active components of *Phellinus igniarius* [J]. Guangxi Sericulture, 2022, 59(1): 41–50.]
- [15] 王青春. 桑黄酒的研制及其质量评价[D]. 长春: 吉林农业大学, 2022. [WANG Q C. Development and quality evaluation of *Sanghuang* wine [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2022.]
- [16] 王婷. 粗毛纤孔菌的驯化栽培及其固体发酵菌粉抗肿瘤作用和产品开发[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016. [WANG T. Research on domestication and cultivation of *Inonotus hispidus* and antitumor activity of its solid fermentation power and developing new product with it [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016.]
- [17] 邵伟,陈良辉,熊泽,等. 桑黄液体发酵茶饮料工艺研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(12): 184–187. [SHAO W, CHEN L H, XIONG Z, et al. Study on the process of *Phellinus igniarius* tea beverage with submerged fermentation [J]. China Brewing, 2016, 35(12): 184–187.]
- [18] 李小欢,谢远娇,王欢,等. 不同栽培基质桑黄化学成分及抗氧化活性比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(23): 9183–9188. [LI X H, XIE Y J, WANG H, et al. Comparison of chemical constituents and antioxidant activities of *SangHuangprous vaninii* in

- different substrates[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2016, 35(12): 184–187.]
- [19] 王伟科, 宋吉玲, 闫静, 等. 采收期对代料栽培桑黄子实体活性成分含量和抗氧化活性的影响[J]. *菌物学报*, 2020, 39(12): 2369–2379. [WANG W K, SONG J L, YAN J, et al. Effects of harvest time on content of active components and antioxidant activities of fruiting bodies of *Sanghuangporus* cultivated with substitute materials[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(12): 2369–2379.]
- [20] 胡文继. 猴头菌发酵菌丝体纯化多糖的抗阿尔茨海默症活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021. [HU W J. Study on the anti-Alzheimer's disease activity of purified polysaccharides from *Hericium erinaceus* fermentation mycelium[D]. Changchun, Jilin University, 2021.]
- [21] 吴亚召, 雷萍, 张文隽, 等. 桑黄黄酮液体发酵培养基的优化[J]. *中国食用菌*, 2016, 35(5): 21–23, 27. [WU Y Z, LEI P, ZHANG W J, et al. Optimization of liquid medium for fermenting flavones from *Phellinus linteus*[J]. *Edible Fungi of China*, 2016, 35(5): 21–23, 27.]
- [22] 张梅梅, 魏志文, 刘玉冰, 等. Folin-Ciocalteu 比色法测定桦褐孔菌多酚的条件优化[J]. *菌物学报*, 2011, 30(2): 295–304. [ZHANG M M, WEI Z W, LIU Y B, et al. Optimization on determination of polyphenols from *Inonotus obliquus* by Folin-Ciocalteu colorimetry[J]. *Mycosystema*, 2011, 30(2): 295–304.]
- [23] PAN L C, ZHU Y M, ZHU Z Y, et al. Chemical structure and effects of antioxidation and against α -glucosidase of natural polysaccharide from *Glycyrrhiza inflata* Batalin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 560–571.
- [24] 连俊辉. 花脸香蘑菌丝体多糖的提取、抗氧化性及其益生活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021. [LIAN J H. Study on extraction, antioxidant activity and probiotics activity of polysaccharide from mycelia of *Lepista Sordida*[D]. Changchun: Jilin University, 2021.]
- [25] 徐高飞. 七种食药菌子实体的营养和功能成分及抗氧化分析[D]. 南宁: 广西大学, 2020. [XU G F. Analysis of nutritional and functional components and antioxidation of fruiting bodies among seven edible and medicinal mushroom[D]. Nanning: Guangxi University, 2020.]
- [26] 张晨. 杏鲍菇菌丝体多糖的分离纯化及抗衰老、抗糖尿病活性分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018. [ZHANG C. Purification, anti-aging and anti-diabetic effects of mycelia polysaccharides from *Pleurotus eryngii*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2018.]
- [27] ZHANG H, NIE S P, CUI S W, et al. Characterization of a bioactive polysaccharide from *Ganoderma atrum*: Re-elucidation of the fine structure[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 158: 58–67.
- [28] WANG J, CHEN H X, WANG Y W, et al. Synthesis and characterization of a new *Inonotus obliquus* polysaccharide-iron (III) complex[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 75: 210–217.
- [29] 岳雨曦, 王小燕, 柏丁丁, 等. 野阳合多糖及其纯化组分对胆汁酸的结合能力[J]. *食品科学*, 2018, 39(12): 154–160. [YUE Y X, WANG X Y, BAI D D, et al. Characterization and bile acid-binding ability of polysaccharides purified from tubers of *Habenaria ciliaris* Kranz its fractions[J]. *Food Science*, 2018, 39(12): 154–160.]
- [30] GAO Z, YUAN F F, LI H P, et al. The ameliorations of *Ganoderma applanatum* residue polysaccharides against CCl_4 induced liver injury[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 137: 1130–1140.
- [31] CHEN Z, ZHANG W, TANG X Y, et al. Extraction and characterization of polysaccharides from Semen Cassiae by microwave-assisted aqueous two-phase extraction coupled with spectroscopy and HPLC[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 144: 263–270.
- [32] LI S H, GAO A, DONG S, et al. Purification, antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from soybean residue fermented with *Morchella esculenta*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 96: 26–34.
- [33] 赵彪希, 张海德, 张媚健, 等. 冬虫夏草多糖单糖组成及免疫活性研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(13): 27–31. [ZHAO B X, ZHANG H D, ZHANG M J, et al. The Monosaccharides composition and immune activity of polysaccharides from *Cordyceps sinensis*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(13): 27–31.]
- [34] XU S Y, LIU J P, HUANG X S, et al. Ultrasonic-microwave assisted extraction, characterization and biological activity of pectin from jackfruit peel[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 90: 577–582.
- [35] DU Y Q, LIU Y, WANG J H. Polysaccharides from *Umbilicaria esculenta* cultivated in Huangshan Mountain and immunomodulatory activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 1272–1276.
- [36] 张建军. 红平菇菌丝体多糖的提取、结构分析和抗糖尿病作用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016. [ZHANG J J. Studies on the extraction, characterization, and anti-diabetic effects of mycelia polysaccharides from *Pleurotus djamor*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2016.]
- [37] LUO X P, DUAN Y Q, YANG W Y, et al. Structural elucidation and immunostimulatory activity of polysaccharide isolated by subcritical water extraction from *Cordyceps militaris*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 157: 794–802.
- [38] WAN X L, JIN X, WU X M, et al. Structural characterization and antitumor activity against non-small cell lung cancer of polysaccharides from *Sanghuangporus vaninii*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 276: 118798.
- [39] 李有贵, 钟石, 计东风. 野生与人工栽培桑黄子实体中的粗多糖和粗酚含量及药用活性比较[J]. *蚕业科学*, 2016, 42(5): 882–891. [LI Y G, ZHONG S, JI D F. A comparison on contents and medicinal activities of crude polysaccharides and crude polyphenols between wild and cultivated fruit bodies of *Phellinus* spp.[J]. *Science of Sericulture*, 2016, 42(5): 882–891.]
- [40] 蔡铭, 陈思, 骆少磊, 等. 膜分离与醇沉技术纯化猴头菇粗多糖的比较[J]. *食品科学*, 2019, 40(9): 83–90. [CAI M, CHEN S, LUO S L, et al. Comparison of membrane separation and alcohol precipitation for the separation of crude polysaccharides from *Herici-um erinaceus*[J]. *Food Science*, 2019, 40(9): 83–90.]