

竹荪孢子超临界萃取物 GC-MS 分析及抗氧化活性研究

林陈强¹, 王彦辉^{1,2}, 陈济琛¹, 张 慧¹, 林新坚¹, 林戎斌^{1*}¹福建省农业科学院土壤肥料研究所, 福州 350001; ²福州大学生物科学与工程学院, 福州 350008

摘要: 研究棘托竹荪孢子粉超临界萃取物的抗氧化活性。采用超临界 CO₂ 萃取破壁棘托竹荪孢子粉, 正交试验优化萃取温度、压力、CO₂ 流速、萃取时间; 气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 分析萃取物成分组成; 通过检测萃取物清除 DPPH 自由基及 ABTS⁺ · 能力考察其抗氧化活性。结果表明: 萃取时间 80 min、萃取温度 45 °C、萃取压力 35 MPa、CO₂ 流量 25 L/h 条件下, 萃取得率达 6.74%。GC-MS 分析发现, 从萃取物中共鉴定出 40 种成分, 其中酸类物质 13 种、酯类 10 种、烃类 7 种、醇类 4 种、醛类 3 种、酮类 2 种、其他 1 种。其中相对含量最高的为芹子酸 (23.23%), 其次为亚油酸 (19.98%)、二十烯 (9.68%)、正十六酸 (7.47%) 及十九烯 (7.12%)。萃取物具有较强的 DPPH 自由基和 ABTS⁺ · 清除活性, 其质量浓度 10 mg/mL 时, 对 DPPH 自由基的清除率达 86.41%, 对 ABTS⁺ · 清除能力为 0.67 mmol Trolox/g。

关键词: 竹荪孢子粉; 超临界 CO₂ 萃取; GC-MS; 抗氧化活性

中图分类号: S646.8; TS201.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.2.011

GC-MS Analysis and Antioxidant Activity of the Oil in Broken Spore of *Dictyophora echinvolvata*LIN Chen-qiang¹, WANG Yan-hui^{1,2}, CHEN Ji-chen¹, ZHANG Hui³, LIN Xin-jian¹, LIN Rong-bin^{1*}¹The Soil and Fertilizer Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China;²College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou 350008, China

Abstract: Extraction of volatile oils from the broken spore of *Dictyophora echinvolvata* with supercritical carbon dioxide was studied. The influence of temperature, pressure, CO₂ flow rate and time on the efficiency of extraction was examined by orthogonal experiment. The chemical composition of spore oil was analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Meantime, the antioxidant activity of spore oil was evaluated by DPPH radical scavenging activity and ABTS radical cation scavenging activity. The results showed that the optimal extraction conditions were determined as extraction time 80 min, pressure 35 MPa, temperature 45 °C, CO₂ flow rate 25L/h with largest extraction rate of spore oil as 6.74%. Totally 40 compounds were identified from *D. echinvolvata* spore oil, including 13 acids, 10 esters, 7 olefins, 4 alcohols, 2 aldehydes, 2 ketones, 1 other compounds. Among them the prominent compounds were petroselinic acid (23.23%), (Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid (19.98%), 1-Eicosene (9.68%), n-Hexadecanoic acid (7.47%), 1-Nonadecene (7.12%), etc. The spore oil had the ability to scavenge DPPH free radical and ABTS radical cation, the scavenging rate of DPPH radical reached 86.41% and the antioxidant activity of the oil evaluated by ABTS was obtained as 0.67 mM Trolox equivalent when the concentration of spore oil was 10 mg/mL.

Key words: *Dictyophora echinvolvata* spore; supercritical CO₂ fluid extract; Gas Chromatography-Mass Spectrometry; antioxidant activity

棘托竹荪 (*Dictyophora echinvolvata*), 为鬼笔科 (*Phallaceae*) 竹荪属 (*Dictyophora*) 名贵食用菌, 主产区为福建、四川、湖南等地。竹荪成熟子实体可分为

菌体 (菌柄和菌裙), 菌盖 (附着孢子), 以及菌托 (外皮和胶质) 三大部分^[1], 其中竹荪菌盖占整个子实体鲜重 20% 左右^[2]。研究发现, 棘托竹荪孢子与菌体部分干重比约为 1:3, 数据表明, 福建省年产竹荪 0.3~0.5 万吨, 即仅福建省每年就产有千余吨竹荪孢子。商品竹荪只是采收、加工菌体部分, 而菌盖和菌托等副产物被直接遗弃, 造成资源浪费和环境污

收稿日期: 2017-07-28 接受日期: 2017-09-13

基金项目: 福建省公益类科研院所项目 (2016R1021-5); 福建省农业科研院所创新项目 (PC2017-8)

* 通信作者 Tel: 86-059187862406; E-mail: lrb16888@sina.com

染。食用菌加工过程产生的副产物具有极大的开发价值^[3-5],而迄今为止鲜见竹荪孢子开发利用的报道。国内只见到对短裙竹荪产孢组织电镜观察研究^[6]和棘托竹荪孢子粉抗氧化活性研究^[7];国外对竹荪孢子的研究主要在孢子传播方面^[8]。

研究发现竹荪含有多糖、不饱和脂肪酸、微量元素等对人体有益的成分,具有抗肿瘤^[9]、抗氧化^[10]、刺激免疫^[11]以及降血脂^[12]等多种功效。竹荪孢子作为竹荪的繁殖细胞,具有竹荪的全部遗传物质,但竹荪孢子是否也具有竹荪菌体的药理作用和活性功能并不明确。超临界流体萃取技术(supercritical fluid extraction, SFE)是一项新型的分离技术^[13]。本实验采用超临界 CO₂ 萃取破壁棘托竹荪孢子,气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析萃取成分,并采用 DPPH 自由基法、ABTS 法检测萃取成分抗氧化活性,以期为进一步开发竹荪孢子提取依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

棘托竹荪菌球由邵武市南山食用菌种植农民专业合作社提供。无水乙醇、芦丁、维生素 E、石油醚、DPPH 均为分析纯,中国医药(集团)上海化学试剂公司,总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS 法),上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

UV-2800AH 型紫外-可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;AL104 电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;超低细菌型超纯水器,上海赛鸽电子科技有限公司;DL SPW-10TJ 型-5 型低速大容量离心机,上海安亭科学仪器厂;R209 型旋转蒸发器、DL1030 型低温冷却液循环泵,上海申生科技有限公司;SHB-B95 型循环水多用式真空泵,郑州长城科工贸有限公司;HA131-50-01 超临界萃取装置,江西南通超临界萃取有限公司;Agilent 6890-5975 气相色谱/质谱联用仪,美国安捷伦公司。

1.3 实验方法

1.3.1 竹荪孢子收集与破壁竹荪孢子制备

新鲜的棘托竹荪菌球待其开伞后将菌盖剥离,纯水洗涤菌盖上的孢子,孢子液 200 目过滤,滤液 5000 rpm 离心 20 min,将获得的沉淀烘干,机械超微粉碎法处理获得破壁竹荪孢子(破壁率 90% 以上)。

1.3.2 棘托竹荪孢子粉超临界 CO₂ 萃取工艺优化

称取破壁竹荪孢子粉 150 g,无水乙醇为夹带剂,使用 HA131-50-01 超临界萃取装置对破壁孢子粉超临界 CO₂ 萃取工艺进行初步优化,前期预实验之后,分别以萃取时间、萃取温度、萃取压力、CO₂ 流量四因素设计正交试验 L₉(3⁴),考察萃取条件对萃取得率的影响。

萃取后采用旋转蒸发器浓缩至恒质量,称量质量后按式(1)计算萃取得率。

$$\text{萃取得率}\% = m/M \times 100 \quad (1)$$

式中: m 为萃取后浓缩质量/g; M 为孢子粉干质量/g。

1.3.3 GC-MS 成分分析

采用 Varian300-MS GC-MS 联用仪,有机溶剂石油醚为对照,通过质谱系统检索(可选系统 NIST 标准谱库, Wiley 库, Pfleger-Mauer-Weber 药物库及农药谱库等),人工谱图解析,确定各组分,含量用气相色谱峰面积归一化法求得。

GC 条件:VF-5ms 柱(30 cm × 0.25 mm, 0.25 μm), He(99.999%) 流速 1.2 mL/min, 分流比 1:50, 进样量 1.0 μL, 进样口温度 250 °C, 检测器温度 280 °C。柱温采用程序升温方式:70 °C 保持 3 min, 3 °C/min 至 100 °C, 100 °C 保持 6 min, 5 °C/min 至 150 °C, 150 °C 保持 6 min, 10 °C/min 至 250 °C, 250 °C 保持 15 min。

MS 条件:用 70eV 的 EI 源温度 230 °C, 四极杆温度 150 °C, 溶剂延迟时间为 3 min, 分子量范围为 25 ~ 500 amu。

1.3.4 竹荪孢子萃取物抗氧化活性

1.3.4.1 DPPH 自由基清除能力测定

称取竹荪孢子萃取物,少量石油醚溶解后用无水乙醇配制质量浓度为 0.5、1、2、4、6、8、10 mg/mL 的溶液,参照 Vattem 等^[14]的方法进行。吸取不同质量浓度挥发油 2 mL 于 20 mL 比色管中,加入 2 mL 60 μmol/L DPPH 溶液,摇匀,室温避光放置 30 min,于 517 nm 波长处测吸光度(A_s),空白对照为 2 mL 水或醇加 2 mL 60 μmol/L DPPH 溶液(A₀),以 2 mL 样品加入 2 mL 双蒸水或醇作为样品对照(A_x),消除样品颜色的干扰,阳性对照为芦丁。每个样品重复 3 次取平均值。清除率按式(2)计算:

$$\text{清除率}\% = [1 - (A_s - A_x) / A_0] \times 100 \quad (2)$$

1.3.4.2 ABTS + · 清除能力测定

称取竹荪孢子萃取物,少量石油醚溶解后用无

水乙醇配制质量浓度为 0.5、1、2、4、6、8、10 mg/mL 的溶液,参照 Zhang 等的方法进行^[15]。ABTS 工作母液稀释 50 倍加入 96 孔板,每孔 200 μL ,空白对照加入 10 μL PBS;标准曲线检测孔加入 10 μL 各浓度的 Trolox (0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mmol/L),样品检测孔内加入 10 μL 各浓度样品。轻轻混匀。室温孵育 5 min 后测定 $A_{734\text{ nm}}$,以吸光度为纵坐标,Trolox 浓度为横坐标制作标准曲线。根据标准曲线计算样品的总抗氧化能力。阳性对照为 VE。每个样品重复 3 次取平均值。

2 结果与分析

2.1 棘托竹荪孢子粉超临界 CO_2 萃取工艺优化

如表 1 所示,设计四因素水平分别为萃取时间 40、60、80 min 萃取温度 35、40、45 $^\circ\text{C}$;萃取压力 25、30、35 MPa; CO_2 流量 15、20、25 L/h,对破壁棘托竹荪孢子粉超临界 CO_2 萃取工艺进行优化。结果显示,各因素对萃取物得率的影响大小顺序为 $B > A > D > C$,萃取温度的影响作用最大,萃取压力影响最小,最优组合为 $A_3B_3C_3D_3$,即最佳工艺条件为萃取时间 80 min、萃取温度 45 $^\circ\text{C}$ 、萃取压力 35 MPa、 CO_2 流量 25 L/h。最佳萃取工艺条件下进行了 3 次验证试验,平均得率为 6.74%。

表 1 超临界 CO_2 萃取破壁竹荪孢子粉正交优化结果

Table 1 Results of orthogonal test and analysis

| 试验号 No. | (A) 萃取时间 Time (min) | (B) 萃取温度 Temperature ($^\circ\text{C}$) | (C) 萃取压力 Pressure (MPa) | (D) CO_2 流量 CO_2 flow rate (L/h) | 萃取得率 Extraction yield (%) |
|--------------------------|------------------------|--|----------------------------|---|------------------------------|
| 1 | 40 | 35 | 25 | 15 | 1.27 |
| 2 | 40 | 40 | 30 | 20 | 2.80 |
| 3 | 40 | 45 | 35 | 25 | 5.56 |
| 4 | 60 | 35 | 30 | 25 | 2.11 |
| 5 | 60 | 40 | 35 | 15 | 3.13 |
| 6 | 60 | 45 | 25 | 20 | 4.98 |
| 7 | 80 | 35 | 35 | 20 | 3.81 |
| 8 | 80 | 40 | 25 | 25 | 4.60 |
| 9 | 80 | 45 | 30 | 15 | 5.67 |
| K_1 | 3.210 | 2.397 | 3.617 | 3.357 | |
| K_2 | 3.407 | 3.510 | 3.527 | 3.863 | |
| K_3 | 4.693 | 5.403 | 4.167 | 4.090 | |
| 极差 R | 1.483 | 3.007 | 0.640 | 0.733 | |
| 主次顺序 Sig. | $B > A > D > C$ | | | | |
| 最优水平 Optimal level | A_3 | B_3 | C_3 | D_3 | |
| 最优组合 Optimal combination | $A_3B_3C_3D_3$ | | | | |

2.2 竹荪孢子萃取物 GC-MS 分析结果

采用超临界 CO_2 萃取法萃取破壁棘托竹荪孢

子,所得萃取物进行 GC-MS 分析。根据谱库检索结果鉴定的萃取物成分见表 2。

表 2 破壁棘托竹荪孢子粉超临界萃取成分 GC-MS 分析结果

Table 2 Results of GC-MS analysis of the extracts from *D. echinovolvata* spores by SFE

| 序号 No. | 保留时间 Retention time (min) | 分子质量 Molecular formula | 分子式 Formula | 成分 Chemical | 相对含量 Relative content (%) | 总计 Total (%) |
|-----------|---------------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------|
| 酸类 | | | | | | 60.93 |
| 1 | 6.14 | 122 | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ | 苯甲酸 Benzenecarboxylic acid | 0.10 | |
| 2 | 7.32 | 136 | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ | 苯乙酸 Benzeneacetic acid | 0.25 | |

续表 2(Continued Tab. 2)

| 序号 No. | 保留时间 Retention time(min) | 分子质量 Molecular formula | 分子式 Formula | 成分 Chemical | 相对含量 Relative content(%) | 总计 Total(%) |
|-----------|--------------------------------|------------------------------|--|---|--------------------------------|----------------|
| 3 | 14.52 | 201 | C ₉ H ₉ ClO ₃ | (3-氯-4-甲氧基苯基)乙酸 [3-Chloro-4-(methoxyphenyl)]acetic acid | 0.40 | |
| 4 | 16.55 | 242 | C ₁₅ H ₃₀ O ₂ | 正十五酸 Pentadecanoic acid | 0.21 | |
| 5 | 17.57 | 254 | C ₁₆ H ₃₀ O ₂ | 顺式-11-十六碳烯酸 11-Hexadecenoic acid, (11Z)- | 1.42 | |
| 6 | 17.74 | 256 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 棕榈酸 n-Hexadecanoic acid | 7.47 | |
| 7 | 18.55 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | 油酸 Oleic Acid | 1.16 | |
| 8 | 18.71 | 270 | C ₁₇ H ₃₄ O ₂ | 十七烷酸 Heptadecanoic acid | 0.70 | |
| 9 | 19.54 | 280 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 亚油酸(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid | 19.98 | |
| 10 | 19.61 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | 芹子酸 Petroselinic acid | 23.23 | |
| 11 | 19.75 | 284 | C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 硬脂酸 Octadecanoic acid | 5.55 | |
| 12 | 21.83 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | E-油酸 9-Octadecenoic acid, (9E)- | 0.20 | |
| 13 | 23.73 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | Semidehydroascorbic acid | 0.26 | |
| 酯类 | | | | | | 10.77 |
| 1 | 12.95 | 187 | C ₈ H ₇ ClO ₃ | 3-氯-4-羟基苯甲酸甲酯 Benzoic acid, 3-chloro-4-hydroxy-, methyl ester | 0.10 | |
| 2 | 17.91 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | E-11-十六碳烯酸乙酯 E-11-Hexadecenoic acid, ethyl ester | 0.39 | |
| 3 | 18.03 | 284 | C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester | 0.85 | |
| 4 | 19.69 | 308 | C ₂₀ H ₃₆ O ₂ | 亚油酸乙酯 Linoleic acid ethyl ester | 2.47 | |
| 5 | 19.81 | 310 | C ₂₀ H ₃₈ O ₂ | 油酸乙酯 Ethyl Oleate | 2.40 | |
| 6 | 19.98 | 312 | C ₂₀ H ₄₀ O ₂ | 硬脂酸乙酯 Octadecanoic acid, ethyl ester | 1.06 | |
| 7 | 23.84 | 361 | C ₂₁ H ₄₁ ClO ₂ | 2-氯丙酸十八醇酯 2-Chloropropionic acid, octadecyl ester | 0.60 | |
| 8 | 27.45 | 354 | C ₂₁ H ₃₈ O ₄ | (Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸-2,3-二羟丙酯 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester | 0.13 | |
| 9 | 27.58 | 340 | C ₂₁ H ₄₀ O ₃ | 油酸丙酯 Oleic acid, 3-hydroxypropyl ester | 1.54 | |
| 10 | 27.74 | 356 | C ₂₁ H ₄₀ O ₄ | 反式油酸单甘油酯 2,3-Dihydroxypropyl elaidate | 1.23 | |
| 烯烃 | | | | | | 24.28 |
| 1 | 18.76 | 278 | C ₂₀ H ₃₈ | 1,19-二十碳二烯 1,19-Eicosadiene | 0.30 | |
| 2 | 20.95 | 280 | C ₂₀ H ₄₀ | 二十烯 1-Eicosene | 9.68 | |
| 3 | 21.13 | 280 | C ₂₀ H ₄₀ | E-3-二十烯 3-Eicosene, (E)- | 0.19 | |
| 4 | 22.12 | 266 | C ₁₉ H ₃₈ | 十九烯 1-Nonadecene | 7.12 | |
| 5 | 23.28 | 362 | C ₂₆ H ₅₀ | 11-二十六碳烯 11-Hexacosyne | 0.27 | |
| 6 | 23.58 | 308 | C ₂₂ H ₄₄ | 二十二烯 1-Docosene | 5.89 | |
| 7 | 25.37 | 322 | C ₂₃ H ₄₆ | 诱虫烯 9-Tricosene, (Z)- | 0.83 | |
| 醇类 | | | | | | 0.5 |
| 1 | 11.64 | 172 | C ₁₀ H ₈ N ₂ O | 四苯基嘧啶-2-醇 4-Phenylpyrimidin-2-ol | 0.05 | |
| 2 | 18.88 | 156 | C ₁₀ H ₂₀ O | (R)-3,7-二甲基-6-辛烯醇 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (3R)- | 0.05 | |
| 3 | 20.67 | 322 | C ₂₀ H ₂₈ F ₂ O | 4,4-二氟视黄醇(全反式) 4,4-Difluororetinol (all-trans) | 0.12 | |
| 4 | 21.24 | 266 | C ₁₈ H ₃₄ O | Z,E-3,13-十八碳二烯-1-醇 Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol | 0.28 | |
| 醛类 | | | | | | 2.15 |
| 1 | 7.62 | 154 | C ₁₀ H ₁₈ O | 反式-2-癸烯醛 2-Decenal, (E)- | 0.05 | |

续表 2 (Continued Tab. 2)

| 序号 No. | 保留时间 Retention time (min) | 分子质量 Molecular formula | 分子式 Formula | 成分 Chemical | 相对含量 Relative content (%) | 总计 Total (%) |
|-----------|---------------------------------|------------------------------|--|--|---------------------------------|-----------------|
| 2 | 17.26 | 212 | C ₁₄ H ₂₈ O | 肉豆蔻醛 Tetradecanal | 0.05 | |
| 3 | 18.96 | 251 | C ₁₇ H ₃₁ O | E-15-十七碳烯醛 E-15-Heptadecenal | 2.05 | |
| 酮类 | | | | | | 0.98 |
| 1 | 4.94 | 85 | C ₄ H ₇ NO | 2-吡咯烷酮 2-Pyrrolidinone | 0.05 | |
| 2 | 18.49 | 240 | C ₁₄ H ₂₄ O ₃ | 13-甲基-氧杂环十四碳烷-2,11-二酮 Oxacyclotetradecane-2,11-dione,13-methyl- | 0.93 | |
| 其他 | | | | | | |
| 1 | 17.80 | 169 | C ₇ H ₅ ClN ₂ O | 氯苯唑胺 Zoxazolamine | 0.40 | 0.4 |

由表 2 可见,从棘托竹荪孢子超临界萃取物中共鉴定出成分 40 种,酸类物质 13 种、酯类 10 种、烃类 7 种、醇类 4 种、醌类 3 种、醛类 2 种、其他 1 种。其中相对含量最高的为芥子酸(23.23%),其次为亚油酸(19.98%)、二十烯(9.68%)、正十六酸(7.47%)及十九烯(7.12%)。

13 种酸类相对含量共占 60.93%,其中芥子酸(23.23%)含量最高。芥子酸为油酸的同分异构体,孢子萃取物中油酸的相对含量仅为 1.16%。其次为亚油酸(19.98%),作为必需脂肪酸之一,参与生物体内许多重要的生理过程,包括磷脂和花生四烯酸的合成^[16]。

检测发现竹荪孢子萃取物含有较多的烃类物质,其总量占相对含量的 24.28%,其中二十烯、十九烯、二十二烯相对含量较高,分别为 9.68%、7.12%、5.89%。多不饱和烯烃具有理想的抗氧化功能,如三十碳六烯烃,具有提高体内超氧化物歧化酶活性、增强机体免疫能力、改善性功能、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、促进肝细胞再生并改善肝脏功能等多种生理功能^[17]。

从萃取物中检测出 10 种酯类,其中亚油酸乙

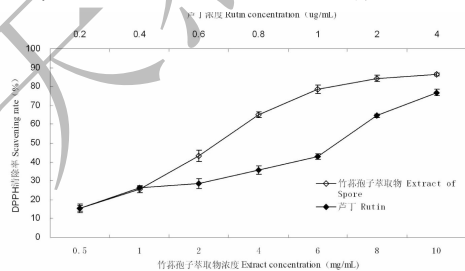


图 1 不同质量浓度棘托竹荪孢子粉萃取物对 DPPH 自由基清除率

Fig. 1 DPPH scavenging rate of different concentrations of *D. echinovolbata* spores extract (%)

酯(2.47%)、油酸乙酯(2.40%)、油酸丙酯(1.54%)相对含量较高。

2.3 萃取物对 DPPH 自由基清除率的影响

DPPH 是一种稳定的自由基,溶于乙醇后为深紫色,在 517 nm 下有最大吸收值。当有抗氧化剂存在情况下,其孤对电子被配对,紫色减弱,光吸收值随之减弱或消失。DPPH 法可总体评价天然抗氧化剂清除自由基的能力。不同浓度的提取物对 DPPH 自由基的清除效果如图 1 所示。结果表明,棘托竹荪孢子提取物对 DPPH 自由基有较强的清除作用,随着样品浓度的增加,清除率逐渐增高,当样品浓度为 10 mg/mL 时,清除率达 86.41%。

2.4 萃取物对 ABTS⁺·清除率的影响

ABTS⁺·清除试验是检测供氢抗氧化剂和阻断自由基链式反应抗氧化剂抗氧化活性的一种较好的方法^[18]。以吸光度为纵坐标,Trolox 浓度为横坐标制作标准曲线,回归方程 $y = -0.52x + 0.4214$, $R^2 = 0.9945$ 。不同浓度孢子粉萃取物对 ABTS⁺·清除效果以 Trolox 当量浓度表示(图 2),从图 2 可见,孢子粉萃取物对 ABTS⁺·的清除能力随浓度的增加而加强,当孢子粉萃取物质量浓度为 10mg/mL

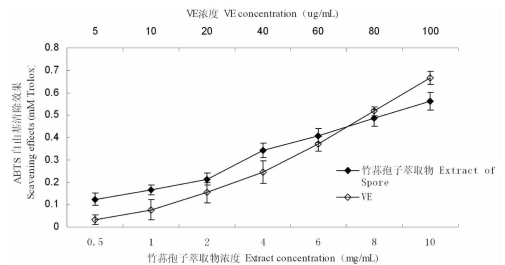


图 2 不同浓度棘托竹荪孢子粉萃取物对 ABTS⁺·清除效果

Fig. 2 ABTS scavenging effect (mM Trolox) of different concentrations of *D. echinovolbata* spores extract

时,总抗氧化能力达到 0.67 mmol Trolox/L,表明孢子粉萃取物对 ABTS⁺·具有较强的清除作用。

3 讨论与结论

担孢子是担子真菌的有性生殖孢子,对担子真菌生活史和菌丝特性的研究具有重要意义并有较多报道^[19-21],但对大型真菌担孢子的营养及活性成分研究较少,目前报道最多的为灵芝孢子。灵芝孢子(*Ganoderma lucidum* spore)是我国著名药用真菌灵芝的有性生殖细胞,灵芝孢子及其提取物具有免疫调节、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、保护神经系统、降血脂、护肝等功能,近年来因其具有比灵芝更强的药理活性而成为国内外学者研究和开发的热点^[22,23]。而目前对竹荪孢子营养成分及活性功能的研究国内鲜见报道,仅有本课题^[7]研究发现棘托竹荪孢子水提取物、醇提取物均有抗氧化活性,并测定了孢子中粗多糖、总黄酮、总多酚的含量。本文采用 DPPH 法和 ABTS 法检测发现竹荪孢子超临界萃取物具有抗氧化活性,推测与萃取物中不饱和脂肪酸及不饱和烃等成分有关^[17]。超临界 CO₂ 流体对非极性和小极性的物质具有较好的萃取效果,对于含有强极性基团的物质萃取效果较差,萃取过程中如夹带剂种类、比例等工艺环节将有可能影响萃取物抗氧化作用,因此,萃取工艺与萃取物质活性的相关性有待进一步研究。

从棘托竹荪中已分离鉴定出多种化学成分。郑杨等^[24]采用同时蒸馏萃取法提取,通过气质联用和极性柱和弱极性柱双柱定性分析棘托竹荪挥发性成分共鉴定出 74 种化合物;檀东飞等用水蒸气蒸馏法及石油醚萃取,分别从棘托竹荪菌盖中鉴定出 41 种和 30 种成分^[25];从子实体鲜品中鉴定出 35 种和 37 种成分^[26];从菌托中鉴定出 41 种和 20 种成分^[27]。本文从棘托竹荪孢子萃取物中鉴定出 40 种成分,大部分未见于报道^[24-27]。从色谱柱分离出的峰有很多未得到鉴定,还须进一步对棘托竹荪孢子中未知成分进行鉴定,以期发现新的组分和活性物质,为棘托竹荪孢子的开发利用提供科学依据。

参考文献

1 Lin CQ(林陈强),Chen JC(陈济琛),Lin RB(林戎斌),*et al.* Study on the development of the comprehensive utilization about the *Dictyophora* resource[J]. *Edible Fungi Chin* (中国食用菌),2011,30(2):8-11.

2 Lin CQ(林陈强),Cao M(曹萌),Chen JC(陈济琛),*et al.* Analysis and evaluation of nutritional components of *Dictyophora echinvolvata* Pileus[J]. *Chin J Tropic Crops* (热带作物学报),2016,37:2089-2093.

3 Xiao N(肖楠),Tang QJ(唐庆九),Zhang JS(张劲松),*et al.* Analysis of recycled nutritive components in edible mushroom by-products[J]. *Microbiology* (微生物学通报),2015,42:1929-1935.

4 Lin ZN(林忠宁),Chen MJ(陈敏健),Liu MX(刘明香),*et al.* Determination of the contents of amino acids and nutritional evaluation of *Agaricus bisporus* Stembase[J]. *Amino Acids Biotic Res* (氨基酸和生物资源),2011,33(4):20-23.

5 Zhang L(张乐),Wang ZG(王赵改),Li P(李鹏),*et al.* Nutritional ingredient analysis of different parts of *Flammulina velutipes* [J]. *J Henan Agric Sci* (河南农业科学),2015,44:109-112.

6 Xue HH(薛汉煌),Zhang YW(张云武),Chen JZ(陈见璋),*et al.* Investigations on the Gleba Layer of *Dictyophora duplicata* by SEM[J]. *Acta Mycol Sin* (真菌学报),1983,2:242-244.

7 Wang YH(王彦辉),Lin CQ(林陈强),Qiu HD(邱宏端),*et al.* Studies on antioxidant activities of *Dictyophora echinvolvata* spore[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发),2013,25:1576-1581.

8 Nobuko T. Spore dispersal of *Dictyophora* fungi (Phallaceae) by flies[J]. *Ecol Res*,1998,13(1):7-15.

9 Ye JF(叶建方),Luo P(罗鹏),Xiao JY(肖佳艳),*et al.* Induction of *Dictyophora rubrovolvata* polysaccharides on tumor cell apoptosis[J]. *Mycosystema* (菌物学报),2016,35:892-896.

10 Yang HL(杨海龙),Li W(李伟). Effects of *Dictyophora duplicata* polysaccharide on eliminating super-oxygen free radical and membrane oxidation of human Erythrocyte[J]. *Bull Sci Tech* (科技通报),2000,16:371-374.

11 Shang JY(尚京迎),Fu HT(付海田),Deng C(邓超),*et al.* Immunomodulatory effects of a polysaccharide from *Dictyophora indusiata* on macrophage[J]. *J Food Sci Biotech* (食品与生物技术学报),2016,35:849-854.

12 Lin HH(林海红),Lin L(林浪),Chen B(陈碧). Effects of *Dictyophora* on blood lipids of big rats[J]. *J Fujian Agric Univ* (福建农业大学学报),2000,29:238-241.

13 Gao XL(高晓龙),Tan CB(谭传波),Hao ZJ(郝泽金). Research on supercritical extraction technology of light-colored hemp seed oil[J]. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报),2016,31:108-111.

14 Vatter DA, Lin YT, Labbe RG, *et al.* Phenolic antioxidant

- mobilization in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using food grade fungus *Lentinus edodes* and effect on antimicrobial activity against select food-borne pathogens[J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*,2004,5(1):81-91.
- 15 Zhang D, Luo M, Wang W, *et al.* Variation of active constituents and antioxidant activity in pyrrola [*P. incarnata* Fisch.] from different sites in Northeast China [J]. *Food Chem*, 2013, 141:2213-2219.
- 16 Salem N, Pawlosky R, Wegher B, *et al.* *In vivo* conversion of linoleic acid to arachidonic acid in human adults[J]. *Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids*, 1999, 60:407-410.
- 17 Wang BQ (王宝琴), Xu ZP (徐泽平), Wang YM (王彦美). The chemical components of yeast lipid and their hypolipidemic assistant function in soft capsules [J]. *J Shaanxi Normal Univ: Nat Sci* (陕西师范大学学报, 自科版), 2011, 39(4):65-68.
- 18 Leong LP, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets [J]. *Food Chem*, 2002, 76(1):69-75.
- 19 Hu X (胡欣), Yao FJ (姚方杰), Zhang YM (张友民), *et al.* Basidiospore germination and mycelium growth of *Herici-um coralloides* [J]. *Acta Edulis Fungi* (食用菌学报), 2016, 23(2):23-24.
- 20 Ke BR (柯斌榕), Lu ZH (卢政辉), Wu XP (吴小平), *et al.* Accurate determination of mating type of *Ganoderma sinense* Basidiospores [J]. *Edible Fungi Chin* (中国食用菌), 2016, 35(4):24-27.
- 21 Tian H (田鸿), Zhang XP (张小平), Yu GR (余桂荣), *et al.* The preliminary study on the mutagenic effects by $^{60}\text{Co-}\gamma$ rays to the basidiospores of *Agaricus bisporus* [J]. *J Sichuan Univ, Nat Sci* (四川大学学报, 自科版), 2016, 53:1423-1428.
- 22 Hu X (胡瞬), Yi YJ (易有金), Xiong XY (熊兴耀), *et al.* Progress in research on *Ganoderma lucidum* spore oil [J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2010, 28:9214-9215.
- 23 Wang JH, Zhou YJ, Zhang M, *et al.* Active lipids of *Ganoderma lucidum* spores-induced apoptosis in human leukemia THP-1 cells via MAPK and PI3K pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139:582-589.
- 24 Zheng Y (郑杨), Huang MQ (黄明泉), Sun BG (孙宝国), *et al.* Analysis of volatile compounds of *Dictyophora echinvolvata* Zang, Zheng et Hu [J]. *Food Sci* (食品科学), 2012, 33:221-226.
- 25 Tan DF (檀东飞), Huang RZ (黄儒珠), Lu Z (卢真), *et al.* Chemical compositions and antimicrobial activity of the Pileus of *Dictyophora echinvolvata* (II) [J]. *J Microbiol* (微生物学杂志), 2007, 27(6):8-12.
- 26 Tan DF (檀东飞), Huang RZ (黄儒珠), Lu Z (卢真), *et al.* Chemical compositions and antimicrobial activity of the volatile oil and petroleum ether extract from the fresh carpophore of *Dictyophora echinvolvata* [J]. *J Fujian Norm Univ, Nat Sci* (福建师范大学学报(自科版)), 2010, 26(2):100-105.
- 27 Tan DF (檀东飞), Huang RZ (黄儒珠), Lu Z (卢真), *et al.* Chemical compositions and antimicrobial activity of the volva of *Dictyophora echinvolvata* (I) [J]. *Mycosystema* (菌物学报), 2006, 25:603-610.
- (上接第 298 页)
- 7 okosuka A, Mimaki Y, Sashida Y. Spirostanol saponins from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity [J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(1):73-78.
- 8 Qiu FL (邱芳龙), Zhou J (周俊), Pu QL (濮金龙). Two new steoidal saponins from *tacca plantaginea* root [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 1985, (02):225-231.
- 9 Sun GZ (孙光芝), Liu Z (刘志), Li XG (李向高), *et al.* Isolation and identification of two malonyl-ginsenosides from the fresh root of *Panax Ginseng* [J]. *Chinese Anal Chem* (分析化学), 2005, 33(12):1783-1786.
- 10 Fuzzati N. Analysis methods of ginsenosides [J]. *J Chromatogr B* (色谱学杂志 B), 2004 Dec 05, 812(1-2):119-133.
- 11 Liu YY (游元元). Fingerprint analysis of Ginsenosides [J]. *J Milit Surg Southwest China* (西南军医), 2006, (06):37-38.
- 12 Liu H (刘欢), Liu HJ (何忠俊), Liang DW (梁社往), *et al.* HPLC fingerprint of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2012, (09):1846-1851.
- 13 Liu X (刘翊), Du LX (杜连祥), Gao WY (高文远), *et al.* Study on separation, identification and pharmacological activity of *Paris Yunnanensis* [J]. *Pharm Bio Technol* (药物生物技术), 2008, (06):481-484.
- 14 Yao M (姚闽), Xiao CM (肖草茂), Li YY (李玉云), *et al.* Chemical constituents of glycosides from *Marsdenia tenacissima* and the anticancer activity *in vivo* [J]. *J Nanchang Univ* (南昌大学学报), 2015, (01):88-90 + 95.