

比较 3 种杨树桑黄提取物体外抗氧化、 降血糖和抑菌活性

刘梦凡^{1,2}, 殷朝敏^{1*}, 张 琪¹, 范秀芝¹, 史德芳¹, 高 虹^{1*}

(1. 农业农村部冷链物流重点实验室, 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 武汉 430064;
2. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 长沙 410000)

摘 要: **目的** 比较不同栽培方式对杨树桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)提取物生物活性的影响。**方法** 采用超声辅助提取法制备了 3 种不同杨树桑黄[吉林椴木仿野生栽培桑黄(JL)、远安人工袋料栽培桑黄(YA)和武汉人工袋料栽培桑黄(WH)]粗多糖和醇提取物, 比较了不同提取物体外抗氧化性、降血糖及抑菌活性。**结果** 吉林桑黄粗多糖(JL-P)中总糖含量最高(38.73%); 吉林桑黄醇提取物(JL-E)中总酚(38.50%)、总黄酮(7.39%)、总三萜(6.42%)和总甾醇(7.07%)含量是最高的。不同提取物都具有较强的抗氧化活性, 活性最好的为 JL-E。体外降血糖实验表明, JL-E 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最显著; 大多数桑黄粗多糖和醇提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力都高于阿卡波糖, 但对 α -淀粉酶的抑制能力都低于阿卡波糖。抑菌实验结果显示醇提取物具有更好的抑菌活性, 且远安桑黄醇提取物(YA-E)和武汉桑黄醇提取物(WH-E)对大肠杆菌的抑制活性较好。**结论** 桑黄醇提取物比粗多糖具有更好的抗氧化、降血糖和抑菌活性, 其中 JL-E 的抗氧化和降血糖活性更好。本研究将为桑黄资源的合理利用与相关产品开发奠定基础。

关键词: 杨树桑黄; 多糖; 醇提取物; 抗氧化性; 降血糖; 抑菌活性

Comparison of *in vitro* antioxidant, hypoglycemic and antibacterial activities of different extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

LIU Meng-Fan^{1,2}, YIN Chao-Min^{1*}, ZHANG Qi¹, FAN Xiu-Zhi¹, SHI De-Fang¹, GAO Hong^{1*}

(1. Key Laboratory of Cold Chain Logistics Technology for Agro-product, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Agro-product Processing and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China; 2. College of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410000, China)

基金项目: 国家自然科学基金项目(32072229、31801921)、湖北省农业科学院青年拔尖人才培养计划项目(2022)、武汉市知识创新专项基础研究项目(2022020801010343)、湖北省技术创新专项重大项目(2023BEB022、2022BBA0024)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32072229, 31801921), the Young-aged Top-notch Talent Training Program of Hubei Academy of Agricultural Sciences (2022), the Special Project for Science and Technology Innovation of Wuhan (2022020801010343), and the Key Research and Development Projects in Hubei Province (2023BEB022, 2022BBA0024)

*通信作者: 殷朝敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食用菌生物活性物质高效利用。E-mail: yinchaomin@163.com

高 虹, 博士, 研究员, 主要研究方向为食用菌生物活性物质高效利用。E-mail: highong@163.com

*Corresponding author: YIN Chao-Min, Ph.D, Associate Professor, Key Laboratory of Cold Chain Logistics Technology for Agro-product, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Agro-product Processing and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China. E-mail: yinchaomin@163.com

GAO Hong, Ph.D, Professor, Key Laboratory of Cold Chain Logistics Technology for Agro-product, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Agro-product Processing and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China. E-mail: highong@163.com

ABSTRACT: Objective To compare the effects of different cultivation methods on the bioactivities of *Sanghuangporus vaninii* extracts. **Methods** Crude polysaccharides and ethanol extracts of 3 kinds of different *Sanghuangporus vaninii* [cut log wood imitating wildlife cultivation *Sanghuangporus vaninii* from Jilin (JL), artificial bag cultivation *Sanghuangporus vaninii* from Yuan'an (YA) and artificial bag cultivation *Sanghuangporus vaninii* from Wuhan (WH)] were prepared by ultrasound-assisted extraction, and the *in vitro* antioxidant, hypoglycemic and antibacterial activities of different extracts were compared. **Results** The highest total carbohydrate content was observed in polysaccharide from JL (JL-P) with the value of 38.73%; the highest total phenol (38.50%), flavonoid (7.39%), triterpene (6.42%) and sterol (7.07%) content were found in ethanol extract from JL (JL-E). All the different extracts showed strong antioxidant activity and the best was JL-E. *In vitro* hypoglycemic experiments showed that the most significant inhibitory effect on α -amylase and α -glucosidase was found in JL-E. Most of the extracts had a higher inhibitory ability on α -glucosidase than that of acarbose, but all of them had a lower inhibitory ability on α -amylase than that of acarbose. The results of antibacterial experiments showed that the ethanol extracts had better antibacterial activity, and the ethanol extract from YA (YA-E) and ethanol extract from WH (WH-E) showed relative better effects. **Conclusion** Compared with crude polysaccharide, the ethanol extracts has better antioxidant, hypoglycemic and antibacterial activities, among which JL-E has better *in vitro* antioxidant and hypoglycemic activities. This study will lay a foundation for the rational utilization of *Sanghuangporus vaninii* resources and the development of related products.

KEY WORDS: *Sanghuangporus vaninii*; polysaccharide; ethanol extract; antioxidant activity; hypoglycemic activity; antibacterial activity

0 引言

桑黄, 又称“桑耳”, 是一类生长在桑树、杨树等阔叶树上的大型珍稀药食两用菌^[1], 其药用记载可追溯于中国最早的中药学专著《神农本草经》, 在唐代《药性论》中首次出现“桑黄”这一名称^[2]。当代《中药大辞典》中记载提到, 桑黄性甘、平, 味苦、辛, 归肝、膀胱经, 用于治疗血崩、血淋、脱肛泻血、盗汗、闭经、脾虚泄泻等^[3]。1968年, 日本学者首次报道桑黄具有显著的抗肿瘤活性^[4], 此后桑黄的药理活性就成为国内外学者关注的热点。植物化学研究表明桑黄富含多种生物活性物质, 如多糖、多酚、黄酮类和萜类等^[5], 具有抗肿瘤、护肝、降血糖、提高免疫和抗氧化等多种功效^[6-8], 具有良好的开发及应用前景。

野生桑黄资源稀缺, 利用人工栽培提高桑黄子实体产量和质量具有重要意义^[9]。目前桑黄栽培模式主要有椴木栽培和袋料栽培两种^[10]。椴木栽培周期较长, 但桑黄外观与野生桑黄接近, 且质地比袋料栽培的桑黄硬, 商品性状较好^[11]; 袋料栽培技术具有生长周期短、生物转化效率高的特点, 与椴木栽培方法相比, 具有产量高、不受自然因素影响、易于投入生产的优点, 生产技术较为成熟^[12]。不同栽培模式会显著影响桑黄化学成分和生物活性, 如贺屏雅等^[13]发现袋料栽培鲍姆桑黄体外抗肿瘤活性最高。此外, 不同栽培基质对桑黄代谢产物也有一定影响, 王雨阳

等^[14]研究发现浙江海宁桑树木屑栽培的子实体醇提物对肿瘤细胞 HepG-2、MCF-7、HeLa 的抑制率高于陕西榆林枣树木屑栽培的子实体醇提物的抑制率, 宋吉玲等^[15]研究表明桑黄的产量、活性成分及体外抗氧化活性受桑枝屑添加量的影响, 且随着桑枝屑添加量的增加而呈现升高趋势。目前, 关于桑黄的研究多集中在抗氧化、增强免疫、抗肿瘤活性等方面, 在降血糖、抑菌活性等方面研究较少。

本研究选取了不同栽培模式和不同栽培基质获得的3种杨树桑黄, 制备了桑黄粗多糖和醇提物, 测定了3种桑黄粗多糖的总糖、还原糖、蛋白质、糖醛酸和硫酸基含量, 以及桑黄醇提物的总酚、总黄酮、总三萜和总甾醇含量, 比较了不同栽培模式和不同栽培基质桑黄粗多糖和醇提物的体外抗氧化、降血糖以及抑菌活性, 以期桑黄活性物质的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

吉林椴木仿野生栽培杨树桑黄子实体(简称 JL, 吉林省长白县林丰菌业有限公司); 远安杂木袋料栽培杨树桑黄子实体(简称 YA, 湖北森源生态科技股份有限公司); 武汉桑枝袋料栽培杨树桑黄子实体(简称 WH, 湖北省农业科学院经济作物研究所); 枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌为本实验室保藏菌株。

木瓜蛋白酶(800 U/mg)、果胶酶(500 U/mg)、纤维素

酶(400 U/mg)、福林酚试剂、香草醛(分析纯)、1,1-二苯基-2-苦基肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(纯度 ≥ 98%)、对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG)(纯度 99%)、卡那霉素(纯度 98%)(上海源叶生物科技有限公司); α -淀粉酶(酶活 ≥ 10 U/mg, 来源于猪胰腺)、 α -葡萄糖苷酶(酶活 ≥ 10 U/mg, 来源于酿酒酵母)、阿卡波糖(纯度 ≥ 95%)(美国 Sigma 公司); 无水乙醇(优级纯)、淀粉、 Na_2CO_3 、 NaCl 、 NaOH 、 NaNO_2 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、冰醋酸、琼脂、高氯酸、苯酚、浓硫酸、抗坏血酸(vitamin C, VC)、水杨酸、 FeSO_4 、 H_2O_2 、 FeCl_3 、 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、酵母、蛋白胨、铁氰化钾、三氯乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)试剂、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate, ABTS)(纯度 ≥ 98%)(北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

DUG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); KQ-1000VDE 型双频数控超声波清洗器(昆山市舒美超声仪器有限公司); GL-21M 大容量高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); DK-S24 电热恒温水浴锅、SPX-350 生化培养箱(中仪国科科技有限公司); RE-2000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); SPARK 多功能酶标仪、UV-1800 紫外可见分光光度计(日本岛津有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

桑黄子实体在 50℃条件下烘干, 粉碎后过 40 目筛, 得桑黄子实体干粉, 于 4℃储存。桑黄子实体粉以 1:40 (g:mL, 下同)的料液比与 95%乙醇混合, 功率 300 W 条件下超声 20 min, 8000 r/min 离心 20 min 后收集上清液, 沉淀与 95%乙醇混合重复上述操作 3 次, 合并收集上清液, 60℃下减压浓缩至一定体积后, 冻干得到桑黄醇提物, 分别命名为 JL-E, YA-E 和 WH-E。

滤渣中的乙醇挥发之后, 以 1:40 的比例加入蒸馏水, 在 80℃条件下浸泡 1 h 后冷却, 加入混合酶液(木瓜蛋白酶、果胶酶和纤维素酶)使得终浓度达到 200 U/mL, 37℃水浴 1 h。在 300 W 功率下超声 20 min, 8000 r/min 离心 20 min 后收集上清液, 沉淀继续重复上述操作 3 次, 合并收集上清液, 60℃下减压浓缩至一定体积, 加入 4 倍体积无水乙醇, 4℃过夜后离心收集沉淀, 烘干后得桑黄粗多糖, 分别命名为 JL-P, YA-P 和 WH-P。

1.3.2 多糖化学组成分析

总糖含量采用农业部标准(NY/T 1676—2023《食用菌中粗多糖的测定——分光光度法》)测定; 蛋白质含量采用考马斯亮蓝法^[16]测定; 还原糖含量采用 3,5-二硝基水杨酸

比色法^[17]测定; 硫酸基含量采用氯化钼-明胶法^[18]测定; 糖醛酸含量采用硫酸-间羟联苯法^[19]测定。

1.3.3 醇提物活性成分分析

总酚含量采用福林-酚法^[20]测定; 黄酮含量采用亚硝酸钠-硝酸铝法^[21]测定; 总三萜含量采用农业部标准(NY/T 3676—2020《灵芝中总三萜含量的测定——分光光度法》)测定; 总甾醇含量采用香草醛-高氯酸比色法^[22]测定。

1.3.4 抗氧化活性测定

以 VC 作为阳性对照, 按照 CHEN 等^[23]的方法测定 DPPH、羟基自由基清除活性和还原力, 按照 SHANG 等^[24]的方法测定 ABTS 阳离子自由基清除活性。

1.3.5 降血糖活性测定

(1) α -淀粉酶抑制活性测定

取不同质量浓度梯度的样液(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL) 20 μL , 与 20 μL α -淀粉酶溶液(5 U/mL)混匀, 37℃条件下水浴 10 min, 加入 1%淀粉溶液 40 μL , 37℃条件下继续反应 10 min, 取出加入 80 μL DNS 试剂终止反应, 于沸水浴中加热 5 min 后取出后迅速冷却, 加入 1 mL 水稀释。以阿卡波糖作为阳性对照, 在波长 540 nm 处测定吸光度值。 α -淀粉酶抑制率的计算如公式(1):

$$\text{抑制率}/\% = \frac{(A - B) - (C - D)}{A - B} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A: 加酶不加样品管吸光度值; B: 不加酶不加样品管吸光度值; C: 加酶加样品管吸光度值; D: 不加酶加样品管吸光度值。

(2) α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

取不同质量浓度梯度的样液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL) 100 μL , 磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH=6.8) 700 μL 和 α -葡萄糖苷酶溶液(0.24 U/mL) 100 μL 混匀, 37℃条件下水浴 10 min, 加入 100 μL PNPG 溶液(2.5 mmol/L), 于 37℃条件下继续反应 20 min, 最后加入 400 μL Na_2CO_3 溶液(0.2 mol/L)终止反应。以阿卡波糖为阳性对照, 在波长 405 nm 处测定吸光度值。 α -葡萄糖苷酶抑制率的计算如公式(1)。

1.3.6 抑菌活性

LB 培养基配制: 酵母提取物 5 g/L, 胰化蛋白胨 10 g/L, 氯化钠 10 g/L, 用 NaOH 调 pH 至 7.0, 121℃灭菌 20 min。

LB 固体培养基配制: LB 培养基 1 L, 琼脂粉 15 g, 用 NaOH 调 pH 至 7.0, 121℃灭菌 20 min。

取枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别进行菌种划线活化, 挑取单菌落接种于 LB 液体培养基, 37℃下振荡培养 24 h, 取菌液稀释至浓度为 $10^5 \sim 10^6$ 个/mL。取 1 mL 稀释菌液涂布于 LB 固体培养基, 用镊子将无菌牛津杯置于上述固体培养基上, 分别取样品溶液(20 mg/mL)和阳性对照(卡那霉素, 2 mg/mL) 10 μL 置于牛津杯中, 37℃恒温培养箱中培养 3 h 后倒置平皿继续培养至 48 h, 完成后测量抑菌圈直径, 并求平均值作为实验结果。

1.4 数据处理

每个实验均重复 3 次, 数据采用平均值±标准偏差表示。采用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析($P<0.05$ 表示差异显著)和 Origin 2018 绘图。

2 结果与分析

2.1 粗多糖和醇提物的成分及含量分析

3 种桑黄粗多糖中总糖、还原糖、蛋白质、糖醛酸和硫酸基含量及醇提物中总酚、总黄酮、总三萜和总甾醇含量如表 1 所示。JL-P 总糖含量为 38.73%, 显著高于 YA-P 和 WH-P。楚文琪等^[25]研究袋料和椴木栽培瓦尼桑黄分级醇沉粗多糖的多糖含量发现椴木栽培桑黄中多糖含量高于袋料栽培桑黄中的含量。3 种桑黄粗多糖中蛋白质含量从低到高依次为 JL-P、WH-P 和 YA-P, 含量分别为 9.39%、26.40%和 28.14%, 袋料栽培桑黄中的含量显著高于椴木栽培桑黄中的蛋白质含量。在硫酸基含量比较中 JL-P 含量最低, 为 11.81%, 其次为 YA-P 和 WH-P, 最低和最高相差 1.6 倍。JL-P 中还原糖和糖醛酸含量也低于另外两种桑黄中的含量。醇提物中活性成分含量的比较结果可知, JL-E 的总酚、总黄酮、总三萜和总甾醇含量都显著高于 YA-E 和 WH-E, 其含量分别为 38.50%、7.39%、6.42%和 7.07%。椴木栽培桑黄与袋料栽培的远安桑黄和武汉桑黄的提取物的活性成分含量存在差异, 结果说明不同栽培方式对桑黄粗多糖和醇提物的活性成分含量存在影响。

表 1 3 种桑黄粗多糖和醇提物的活性成分含量				
Table 1 Active ingredient content of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of <i>Sanghuangporus vaninii</i>				
种类	指标	JL	YA	WH
粗多糖	总糖/%	38.73±1.88 ^a	34.36±2.25 ^b	27.14±0.66 ^c
	还原糖/%	10.52±0.22 ^c	13.08±0.13 ^a	12.10±0.25 ^b
	蛋白质/%	9.39±0.69 ^b	28.14±1.45 ^a	26.40±1.46 ^a
	糖醛酸/%	7.11±1.18 ^b	9.72±0.37 ^a	7.14±0.47 ^b
	硫酸基/%	11.81±0.29 ^c	16.24±0.14 ^b	18.81±1.76 ^a
醇提物	总酚/%	38.50±3.62 ^a	21.28±2.27 ^b	22.71±3.17 ^b
	总黄酮/%	7.39±0.05 ^a	3.39±0.05 ^b	2.75±0.05 ^c
	总三萜/%	6.42±0.18 ^a	4.28±0.18 ^b	2.07±0.15 ^c
	总甾醇/%	7.07±0.47 ^a	5.50±0.33 ^b	3.44±0.30 ^c

注: 同一行不同字母表示数值之间存在显著性差异($P<0.05$)。

2.2 粗多糖和醇提物的抗氧化活性分析

2.2.1 DPPH 自由基清除能力

比较了 3 种桑黄粗多糖和醇提物的 DPPH 自由基清除活性如图 1 所示。在 0.02~0.10 mg/mL 质量浓度范围内, 样品组的 DPPH 自由基清除率都是随着浓度的增加而增加, 但都低于 VC 的清除能力。在 0.10 mg/mL 处 DPPH 清除活

性达到最大值, 其中最大值为 YA-E, 清除率为 81.81%, 其他依次为 JL-E、YA-P、WH-E、WH-P 和 JL-P, 清除率分别为 81.60%、79.31%、76.37%、75.19%和 45.58%, 证明桑黄醇提物和粗多糖都具有良好的清除 DPPH 自由基的能力。比较 6 组半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)值得知 JL-E 的 DPPH 清除能力高于其他 5 组样品, 说明不同栽培方式影响 DPPH 自由基清除能力。这可能与 JL-E 中含有较高含量的酚类、黄酮和三萜等有关^[26-27]。

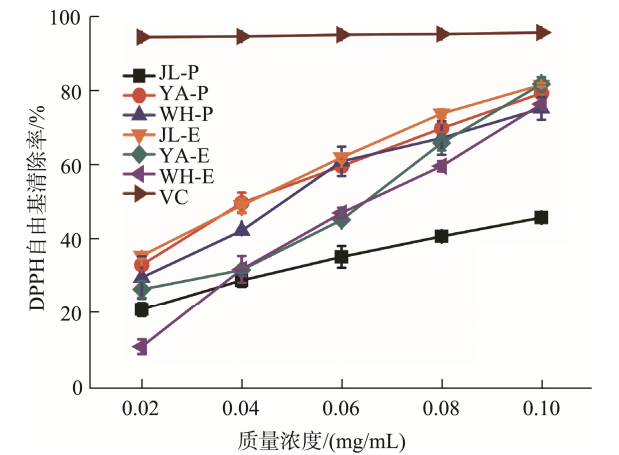


图 1 3 种桑黄粗多糖和醇提物的 DPPH 自由基清除能力
Fig.1 DPPH radical scavenging abilities of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

2.2.2 ABTS 阳离子自由基清除能力

3 种桑黄粗多糖和醇提物对 ABTS 阳离子自由基的清除能力如图 2 所示。在 0.5~2.5 mg/mL 范围内, 粗多糖的清除活性与多糖浓度总体上呈正相关, 在质量浓度为 2.5 mg/mL 时 JL-P、YA-P 和 WH-P 达到最大值, 分别为 13.77%、31.60%和 34.40%。3 种桑黄的醇提物的 ABTS 阳离子自由基清除率在 1.5~2.5 mg/mL 范围内都超过了 98%, 与 VC 相近, 说

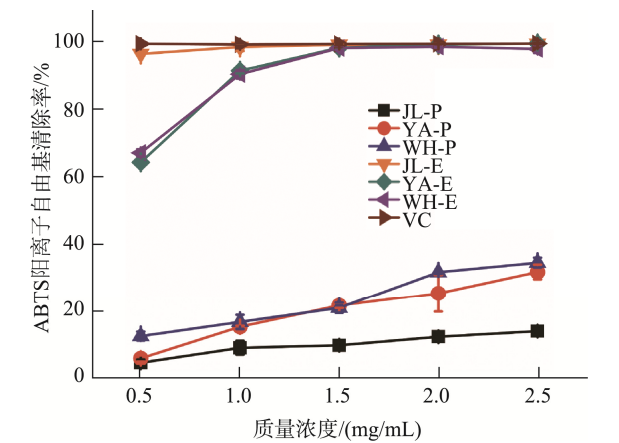


图 2 3 种桑黄粗多糖和醇提物的 ABTS 阳离子自由基清除能力
Fig.2 ABTS cation radical scavenging abilities of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

明醇提取物对 ABTS 阳离子自由基的清除能力要好于粗多糖, 可应用于制作抗氧化剂。钱骅等^[28]对桑黄子实体提取和萃取得到的 7 种组分进行抗氧化活性实验, 结果显示醇提取物的抗氧化活性优于粗多糖, 说明抗氧化活性物质存在于醇提取物中。且 JL-E 效果最佳, 这一结论与王伟科等^[29]的研究结果不同, 可能与栽培基质的不同也有关。

2.2.3 羟基自由基清除能力

图 3 显示 3 种桑黄提取物对羟基自由基的清除能力。在 0.5~2.5 mg/mL 范围内, 随着质量浓度的增加, 提取物的羟基自由基清除率也在升高, 呈一种剂量依赖关系。其中 JL-E 具有最高的清除率, 为 25.29%, 其他依次为 WH-E (25.15%), WH-P (23.79%), YA-E (22.10%), YA-P (21.40%) 和 JL-P (19.89%)。同一来源下醇提取物的羟基自由基清除活性整体上要优于粗多糖, 但都远低于 VC 的清除活性。

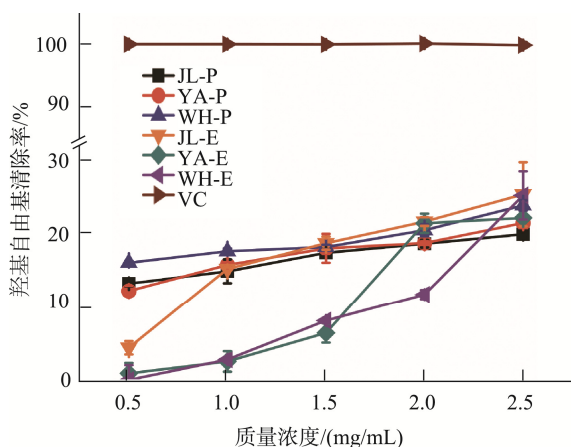


图 3 3 种桑黄粗多糖和醇提取物的羟基自由基清除能力

Fig.3 Hydroxyl radical scavenging abilities of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

2.2.4 还原力

铁离子还原力基于氧化还原反应, 多糖溶液中的成分将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 吸光度值越大, 物质的还原力越强^[30], 其抗氧化能力就越强。如图 4, 在 0.5~2.5 mg/mL 范围内, 3 种桑黄的粗多糖和醇提取物的还原力都随着样品质量浓度的增加而增加, 但都显著低于 VC。当样品质量浓度在 2.5 mg/mL 时, JL-E、YA-E 和 WH-E 的还原力分别是粗多糖的 10、5 和 4 倍。醇提取物的还原力强于粗多糖, 与 ABTS 阳离子自由基清除能力相似。

2.3 粗多糖和醇提取物的体外降血糖活性测定

2.3.1 α -淀粉酶抑制率测定

提取物对 α -淀粉酶(来自猪胰腺)的抑制活性如图 5 所示。在 1~5 mg/mL 质量浓度范围内, 抑制率都随着质量浓度的增加而增加, 呈现一种剂量依赖的关系。当质量浓度在 5 mg/mL 时, JL-E 的抑制率最高, 为 27.81%, 其次为

JL-P (17.64%)、YA-P (11.92%)、YA-E (11.00%)、WH-P (9.60%) 和 WH-E (7.74%), 但都低于阿卡波糖的抑制率 (74.78%), 临床上证明阿卡波糖用于治疗 2 型糖尿病, 因为其能抑制肠道中的 α -淀粉酶(即胰 α -淀粉酶)的活性^[31-32]。实验结果表明桑黄提取物具有一定的 α -淀粉酶抑制率, 但效果远不如阿卡波糖, 与宫云鹤^[33]的研究结果相同。JL-E 组的 IC_{50} 值最小, 为 9.438 mg/mL, 其他依次为 YA-P (16.185 mg/mL)、JL-P (17.442 mg/mL)、YA-E (20.589 mg/mL)、WH-P (40.979 mg/mL) 和 WH-E (45.429 mg/mL), 所有样品组 IC_{50} 值都远大于阿卡波糖 (1.013 mg/mL), 表明阿卡波糖的 α -淀粉酶抑制活性优于 3 种桑黄的粗多糖和醇提取物。通过结果得知, 椴木栽培桑黄醇提取物对 α -淀粉酶的抑制活性要高于袋料栽培的远安桑黄和武汉桑黄的粗多糖和醇提取物, 更适用于制作 α -淀粉酶抑制剂。

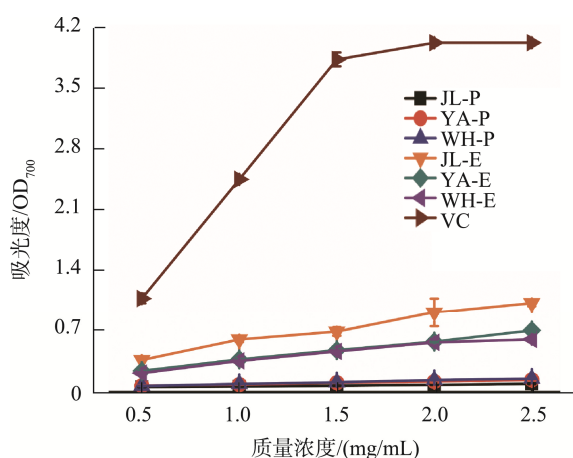


图 4 3 种桑黄粗多糖和醇提取物的还原力

Fig.4 Reducing power of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

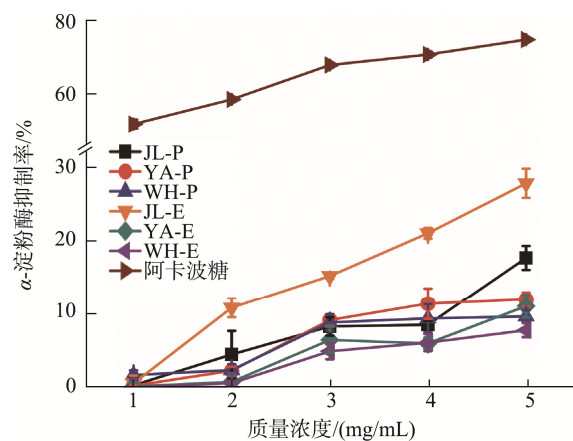


图 5 3 种桑黄粗多糖和醇提取物的 α -淀粉酶抑制活性

Fig.5 α -amylase inhibitory activities of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

2.3.2 α -葡萄糖苷酶抑制率测定

图 6 显示了在 0.02~0.10 mg/mL 质量浓度范围内桑黄多糖和醇提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。除 JL-P 外, 其他 5 种提取物均高于阿卡波糖的抑制活性, 3 种桑黄的粗多糖和醇提取物 IC₅₀ 值分别为 JL-E (0.012 mg/mL)、YA-E (0.018 mg/mL)、YA-P (0.021 mg/mL)、WH-P (0.028 mg/mL)、WH-E (0.037 mg/mL)和 JL-P (0.183 mg/mL), 都远小于阿卡波糖的 IC₅₀ 值(55.669 mg/mL)。实验结果说明桑黄粗多糖和醇提取物都具有良好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。YA-P、WH-P 和 JL-E、YA-E 的抑制率在随着浓度的增加呈现一种先增加后趋于稳定的趋势, 且在 0.10 mg/mL 时 JL-E 和 YA-E 抑制率的最大值都达到了 99%以上, JL-E 抑制活性相比而言更高, IC₅₀ 值最小, 说明它的抑制效果最好。JL-E 中的多酚含量更多, 其抑制活性也最高, 有研究表明桑黄抑制 α -葡萄糖苷酶的活性可能与桑黄中多酚类物质有关^[34], 也可能是多种化合物协同作用。

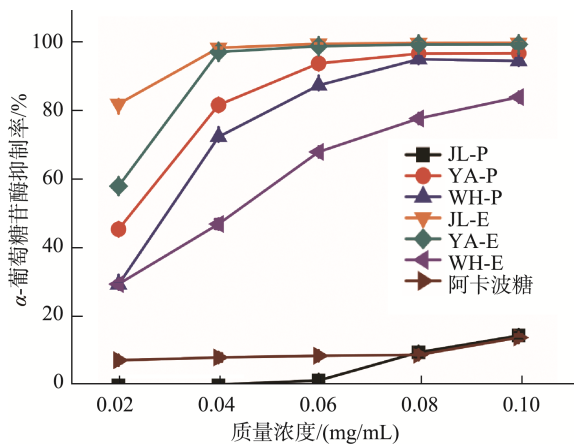


图 6 3 种桑黄粗多糖和醇提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性
Fig.6 α -glucosidase inhibitory activities of crude polysaccharides and ethanol extracts from 3 kinds of *Sanghuangporus vaninii*

2.4 粗多糖和醇提取物的抑菌活性分析

抑菌圈的直径大小来反映活性物质的抑菌能力。通过桑黄提取物对革兰氏阴性菌(大肠杆菌)和革兰氏阳性菌(枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌)的抑菌效果来比较它们的抑菌活性, 结果如表 2 所示。桑黄粗多糖并没有明显的抑菌圈, 无抑菌活性, 而 3 种桑黄醇提取物出现不同直径大小的抑菌圈, 说明醇提取物均对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌有一定的抑制作用。JL-E 对 3 种指示菌的抑菌效果相差不大, 而 YA-E 和 WH-E 对大肠杆菌的抑制效果要好于对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的效果, 推测可能是革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌之间细胞壁结构存在差异导致抑菌效果的不同^[35]。

表 2 3 种桑黄粗多糖和醇提取物对 3 种指示菌的抑菌圈直径
Table 2 Diameter of inhibition zone of crude polysaccharides and ethanol extracts from different *Sanghuangporus vaninii* on 3 kinds of indicator bacteria

组别	枯草芽孢杆菌 /mm	大肠杆菌 /mm	金黄色葡萄球菌 /mm
JL-P	-	-	-
YA-P	-	-	-
WH-P	-	-	-
JL-E	10.5	10.5	11.0
YA-E	9.5	16.0	10.5
WH-E	10.75	15.5	13.5
卡那霉素	31.0	18.5	30.5

注: -表示未出现抑菌圈, 无法测量抑菌圈直径。

3 结 论

本研究以椴木栽培桑黄、桑枝袋料栽培桑黄和杂木袋料栽培桑黄为原料, 分别制备了粗多糖和醇提取物, 对提取物进行了组成成分的测定和体外抗氧化、降血糖和抑菌活性的研究。实验结果显示, JL-P 总糖含量为 38.73%, 显著高于 YA-P 和 WH-P, 但其蛋白质、硫酸基、还原糖和糖醛酸含量都低于 YA-P 和 WH-P; JL-E 的总酚、总黄酮、总三萜和总甾醇含量分别为 38.50%、7.39%、6.42%和 7.07%, 明显高于 YA-E 和 WH-E 组对应指标。体外抗氧化实验表明, 桑黄的粗多糖和醇提取物都具有良好的 DPPH、ABTS 阳离子和羟基自由基清除活性和还原力, 且醇提取物抗氧化活性要好于粗多糖, 其中活性最好的为 JL-E。降血糖实验结果说明桑黄的粗多糖和醇提取物具有一定的 α -淀粉酶抑制活性和良好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性(JL-P 除外), 其中 JL-E 的降血糖效果要优于其他提取物, 更适合于降血糖产品的开发。抑菌实验结果显示, 3 种桑黄醇提取物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均有一定的抑制效果, 其中 YA-E 和 WH-E 对大肠杆菌的抑制活性更好。综上所述, 桑黄粗多糖和醇提取物具有较好体外抗氧化活性和降血糖活性, 醇提取物具有一定的抑菌活性; 另外, 椴木栽培桑黄醇提取物的体外抗氧化和降血糖活性最佳, 袋料栽培桑黄对大肠杆菌生长的抑制效果最好。

参考文献

[1] 王鑫淼, 荆瑞勇, 吴楠, 等. 不同基质对桑黄菌丝生长及酶活性的影响[J]. 北方园艺, 2022, (9): 109–114.
WANG XM, JING RY, WU N, *et al.* Effects of different substrates on mycelial growth and enzyme activity of *Pellinus linteus* [J]. Northern Hortic, 2022, (9): 109–114.
[2] 许谦, 周文欣, 王冲, 等. 桑黄活性物质研究现状[J]. 中国食用菌, 2019, 38(2): 1–6.
XU Q, ZHOU WX, WANG C, *et al.* Research status on active substances

- of *Phellinus igniarius* [J]. Edible Fungi China, 2019, 38(2): 1–6.
- [3] 邵倩, 杨焱, 李婷婷, 等. 鲍姆纤维菌(桑黄)不同方式发酵的菌丝体生物活性比较[J]. 菌物学报, 2014, 33(5): 1103–1111.
- SHAO Q, YANG Y, LI TT, *et al.* Biological activities of *Inonotus baumii* mycelium extract obtained by different cultivation methods [J]. Mycosystema, 2014, 33(5): 1103–1111.
- [4] SUMIO SST, TERUO K, YOSHIO M, *et al.* Antitumor action of some glucans; especially on its correlation to their chemical structure [J]. GANN Jap J Can Res, 1968, 59: 507–512.
- [5] LUAN F, PENG X, ZHAO G, *et al.* Structural diversity and bioactivity of polysaccharides from medicinal mushroom *Phellinus* spp.: A review [J]. Food Chem, 2022, 397, 133731
- [6] HOU R, ZHOU L, FU Y, *et al.* Chemical characterization of two fractions from *Sanghuangporus sanghuang* and evaluation of antidiabetic activity [J]. J Funct Foods, 2021, 87: 104825.
- [7] EWA Z, MAREK W, SLAWOMIR B, *et al.* *Phellinus igniarius*: A pharmacologically active polypore mushroom [J]. Nat Prod Commun, 2016, 11(7): 1043–1046.
- [8] 邵晨霞, 唐少军, 杨祎, 等. 莲子壳栽培桑黄及子实体抑菌活性研究[J]. 中国食用菌, 2022, 41(9): 34–39.
- SHAO CX, TANG SJ, YANG Y, *et al.* Study on *Inonotus hispidus* cultivated with lotus seed shell and the antibacterial activity of fruit body [J]. Edible Fungi China, 2022, 41(9): 34–39.
- [9] 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 XH, XIE YJ, WANG H, *et al.* Comparison of chemical constituents and antioxidant activities of *Sanghuangporus vaninii* in different substrates [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(23): 9183–9188.
- [10] 张健. 不同品种、栽培方式桑黄的免疫调节及体外抗肿瘤活性比较研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2022.
- ZHANG J. Comparative study on the immunomodulation and *in vitro* antitumor activities of *Sanghuang* with different varieties and cultivation modes [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2022.
- [11] 朱奕豪, 付春, 高晓东, 等. 桑黄的人工栽培技术研究现状[J]. 现代化农业, 2023, (8): 47–49.
- ZHU YH, FU C, GAO XD, *et al.* Research status of artificial cultivation techniques of *Sanghuang* [J]. Moderniz Agric, 2023, (8): 47–49.
- [12] 李大明. 基于深度学习的袋料栽培香菇检测研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023.
- LI DM. Research on detection of *lentinus edodes* in bagging cultivation based on deep learning [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2023.
- [13] 贺屏雅, 杨羽, 邸磊, 等. 不同基质栽培的药用鲍姆桑黄孔菌体外抗肿瘤活性的比较研究[J]. 菌物学报, 2020, 39(7): 1400–1409.
- HE PY, YANG Y, DI L, *et al.* A comparative study on *in vitro* antitumor activities of the medicinal fungus *Sanghuangporus baumii* cultivated in different substrates [J]. Mycosystema, 2020, 39(7): 1400–1409.
- [14] 王雨阳, 李正鹏, 陈万超, 等. 栽培地域和木屑对瓦尼桑黄子实体化学成分及生物活性的影响[J]. 食用菌学报, 2023, 30(6): 76–85..
- WANG YY, LI ZP, CHEN WC, *et al.* Effects of cultivation area and sawdust type on chemical composition and biological activities of *Sanghuangporus vaninii* fruiting bodies [J]. Acta Edul Fungi, 2023, 30(6): 76–85.
- [15] 宋吉玲, 陆娜, 闫静, 等. 桑枝屑对瓦尼桑黄主要活性成分含量和体外抗氧化活性的影响[J]. 菌物学报, 2023, 42(4): 949–960.
- SONG JL, LU N, YAN J, *et al.* Effects of mulberry sawdust on the content of main active components and antioxidant activities in *Sanghuangporus vaninii* [J]. Mycosystema, 2023, 42(4): 949–960.
- [16] BRADFORD M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72(1–2): 248–254.
- [17] HUSSAIN H, NGAINI Z, CHONG N. Modified bicinchoninic acid assay for accurate determination of variable length reducing sugars in carbohydrates [J]. Int Food Res J, 2018, 25(6): 2614–2619.
- [18] 杨贤庆, 赵永强, 戚勃, 等. 离子色谱法与硫酸钡比浊法测定琼胶糖中硫酸基含量的比较研究[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 340–343.
- YANG XQ, ZHAO YQ, QI B, *et al.* Comparison of ion chromatographic and barium sulfate turbidimetric determination of sulfate group in agarose [J]. Food Sci, 2009, 30(18): 340–343.
- [19] TANG W, LIU C, LIU J, *et al.* Purification of polysaccharide from *Lentinus edodes* water extract by membrane separation and its chemical composition and structure characterization [J]. Food Hydrocolloid, 2020, 105: 105851.
- [20] MEHMOOD A, MURTAZA G. Phenolic contents, antimicrobial and antioxidant activity of *Olea ferruginea* royle (oleaceae) [J]. Bmc Complement Altern M, 2018, 18(1): 173.
- [21] YAHIA EM, GUTIERREZ-OROZCO F, MORENO-PEREZ MA. Identification of phenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in seventeen species of wild mushrooms in central mexico and determination of their antioxidant activity and bioactive compounds [J]. Food Chem, 2017, 226: 14–22.
- [22] 张俊峰, 张忠, 汪雯翰, 等. 桑黄菌丝体和子实体中次级代谢产物及其活性的比较[J]. 菌物学报, 2020, 39(2): 398–408.
- ZHANG JF, ZHANG Z, WANG WH, *et al.* Comparison of active secondary metabolites between mycelia and fruiting bodies of *Sanghuangporous sanghuang* [J]. Mycosystema, 2020, 39(2): 398–408.
- [23] CHEN ZY, YIN CM, FAN XZ, *et al.* Characterization of physicochemical and biological properties of *Schizophyllum commune* polysaccharide extracted with different methods [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 156: 1425–1434.
- [24] SHANG HM, ZHOU HZ, DUAN MY, *et al.* Extraction condition optimization and effects of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from comfrey (*Symphytum officinale* L.) root [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 112: 889–899.
- [25] 楚文琪, 吴迪, 李正鹏, 等. 代料和段木栽培瓦尼桑黄子实体分级醇沉粗多糖理化性质及活性[J]. 食用菌学报, 2022, 29(5): 81–89.
- CHU WQ, WU D, LI ZP, *et al.* Physicochemical properties and activities of graded ethanol precipitation derived crude polysaccharides from *Sanghuangporus vaninii* fruiting bodies cultivated on artificial substrate

- and wood logs [J]. *Acta Edul Fungi*, 2022, 29(5): 81–89.
- [26] SHEN QH, HUANG Q, XIE JY, *et al.* A rapid analysis of antioxidants in *Sanghuangporus baumii* by online extraction-HPLC-ABTS [J]. *Rsc Adv*, 2021, 11 (41): 25646–25652.
- [27] 吕国英, 宋婷婷, 蔡为明, 等. 野生桑树桑黄和杨树桑黄化学成分及抗氧化活性比较[J]. *菌物学报*, 2021, 40(7): 1833–1843.
- LV GY, SONG TT, CAI WM, *et al.* Comparative study of chemical components and antioxidant activities of wild *Sanghuangporus sanghuang* and *Sanghuangporus vaninii* [J]. *Mycosystema*, 2021, 40(7): 1833–1843.
- [28] 钱骅, 赵伯涛, 陈斌, 等. 桑黄子实体多糖、黄酮和多酚含量与抗氧化活性相关性[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(12): 104–108.
- QIAN H, ZHAO BT, CHEN B, *et al.* Relationship between the content of polysaccharides, flavonoids and polyphenols from the sporocarp of *Phellinus linteus* and the antioxidant activity [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2015, 36(12): 104–108.
- [29] 王伟科, 陆娜, 闫静, 等. 生长年限对段木栽培鲍姆桑黄子实体营养、活性成分及抗氧化活性的影响[J]. *菌物学报*, 2021, 40(3): 668–680.
- WANG WK, LU N, YAN J, *et al.* Effects of growth age on nutrition, content of active components and antioxidant activities of fruiting bodies of *Sanghuangporus baumii* cultivated on oak segment [J]. *Mycosystema*, 2021, 40(3): 668–680.
- [30] 杭书扬, 杨林霄, 郭建行, 等. 山药皮中黄酮、多酚提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(20): 122–127.
- HANG SY, YANG LX, GUO JX, *et al.* Optimization of extraction technology and antioxidant activity of flavonoids and polyphenols from Yam Skin [J]. *Food Res Dev*, 2023, 44(20): 122–127.
- [31] 袁向华, 周艳玲, 勾洵, 等. 阿卡波糖对胰 α -淀粉酶的抑制动力学研究[J]. *世界科技研究与发展*, 2016, 38(1): 117–121.
- YUAN XH, ZHOU YL, GOU X, *et al.* Researches on inhibition kinetics of pancreatic α -amylase by Acarbose [J]. *World Sci-Tech Res Dev*, 2016, 38(1): 117–121.
- [32] 齐西珍, 任丽梅, 郑芳, 等. 人胰腺 α -淀粉酶抑制剂高通量筛选模型的建立及其应用[J]. *微生物学报*, 2011, 51(8): 1106–1112.
- QI XZ, REN LM, ZHENG F, *et al.* High-throughput screening of human pancreatic α -amylase inhibitors [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2011, 51(8): 1106–1112.
- [33] 宫云鹤. 桑黄多糖的抗氧化性及降血糖作用研究[D]. 延吉: 延边大学, 2017.
- GONG YH. Research of antioxidation and hypoglycemic effect of *Phellinus igniarius* polysaccharide [D]. Yanji: Yanbian University, 2017.
- [34] 郑美瑜, 王璐, 刘哲, 等. 桑黄中抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分提取及其化学成分鉴定[J]. *浙江农业学报*, 2022, 34(5): 949–958.
- ZHENG MY, WANG L, LIU Z, *et al.* Extraction and identification of α -glucosidase-inhibitory components from *Phellinus baumii* [J]. *Acta Agric Zhejiangensis*, 2022, 34(5): 949–958.
- [35] LIU K, XIAO X, WANG J, *et al.* Polyphenolic composition and antioxidant, antiproliferative, and antimicrobial activities of mushroom *Inonotus sanghuang* [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2017, 82: 154–161.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

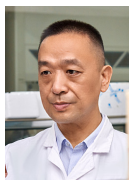
作者简介



刘梦凡, 硕士研究生, 主要研究方向为食用菌生物活性。
E-mail: 690531003@qq.com



殷朝敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食用菌生物活性物质高效利用。
E-mail: yinchaomin@163.com



高虹, 博士, 研究员, 主要研究方向为食用菌生物活性物质高效利用。
E-mail: highong@163.com