

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.03.033

# 松毛菇多酚抗氧化及抑菌活性研究

## Antioxidant and antibacterial activity of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens Konr & Maubl*

李彦坡<sup>1</sup> 黄艳<sup>2</sup> 程璐洁<sup>3</sup> 孙怡婷<sup>3</sup>LI Yan-po<sup>1</sup> HUANG Yan<sup>2</sup> CHENG Lu-jie<sup>3</sup> SUN Yi-ting<sup>3</sup>

(1. 温州市农业科学研究院, 浙江 温州 325000; 2. 武夷学院茶与食品学院, 福建 武夷山 354300;

3. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002)

(1. Wenzhou Institute of Agricultural Sciences, Wenzhou, Zhejiang 325000, China; 2. Tea and Food Science College, Wuyi University, Wuyishan, Fujian 354300, China; 3. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

**摘要:**以超声波辅助乙醇提取松毛菇粗多酚和经大孔树脂纯化的松毛菇纯化多酚为原料,研究了松毛菇多酚对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^-$ 和 DPPH $\cdot$ 的清除作用,并应用滤纸片法研究其抑菌活性。结果表明,松毛菇粗多酚和纯化多酚均具有清除 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^-$ 和 DPPH $\cdot$ 的作用,且清除能力均与多酚质量浓度呈量效关系。松毛菇粗多酚及纯化多酚对 5 种供试菌(大肠埃希氏菌、伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母)表现出不同的抑菌活性,相同浓度下两者对酿酒酵母的抑菌能力最强,纯化多酚对大肠埃希氏菌的抑菌能力最弱,粗多酚对大肠埃希氏菌无抑制作用。纯化多酚对 5 种供试菌的抑菌作用与其质量浓度呈正相关,除大肠埃希氏菌外,粗多酚对其他供试菌的抑菌作用亦与多酚浓度呈正相关。相同浓度下纯化多酚的抑菌活性强于粗多酚。

**关键词:**松毛菇;多酚;抗氧化;抑菌

**Abstract:** In order to investigate the antioxidation and antibacterial effect of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens Konr & Maubl*, crude polyphenols after ultrasonic-assisted ethanol extraction purified polyphenols with macroporous resin were used as raw materials to study the scavenging effect for  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^-$  and DPPH $\cdot$  and antibacterial effect by the filter paper disc method. The results showed that crude polyphenols and purified polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens Konr & Maubl* both exhibit the scavenging effect for  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^-$  and DPPH $\cdot$ , and there presented certain dose-effect relationship be-

tween scavenging ability and the concentration of polyphenols. Crude polyphenols and purified polyphenols showed different antibacterial activity against five tested microorganisms (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*), and both of them had the strongest antibacterial effect on *Saccharomyces cerevisiae* under the same concentration. Purified polyphenols had the weakest antibacterial effect on *Escherichia coli*, while crude polyphenols had no antibacterial effect on *Escherichia coli*. The inhibitory effect on five tested microorganisms was positively correlated with the mass concentration of purified polyphenols. In addition to *Escherichia coli*, the inhibitory effect of on other four tested microorganisms was also positively correlated with the concentration of crude polyphenols. The antibacterial activity of purified polyphenols was better than that of crude polyphenols at the same concentration.

**Keywords:** *Lyophyllum Cinoraseens Konr & Maubl*; polyphenols; antioxidant; antimicrobial

松毛菇又名灰离褶伞、千佛头、北风菌、一窝鸡等<sup>[1]</sup>,主要分布于中国吉林、黑龙江、河南、青海、云南、西藏及福建北部地区<sup>[2-4]</sup>。研究<sup>[5-7]</sup>表明,松毛菇具有助消化、防治胃肠胀满和便秘等功效,其提取物对肉瘤和艾氏癌的抑制率高达 80%~90%。目前松毛菇收获后除鲜食外,大部分被制成干菇、罐头等加工品,但松毛菇中天然有效成分的研究和开发却鲜见研究报道,极大地制约了松毛菇的产业发展。

多酚类化合物是广泛存在于植物中的一类活性物质<sup>[8]</sup>,不仅具有较强的抗氧化作用<sup>[9]</sup>,还具有抗炎抑菌<sup>[10]</sup>、抗癌<sup>[11]</sup>、抗老化<sup>[12]</sup>、降血压和预防心血管疾病<sup>[13]</sup>

**基金项目:**浙江省重点研发计划(编号:2016C02G4010991)

**作者简介:**李彦坡,男,温州市农业科学研究院讲师,硕士。

**通信作者:**黄艳(1984—),女,武夷学院讲师,硕士。

E-mail: hyan1018@163.com

**收稿日期:**2019-11-25

等功效,近年来对多酚类物质的研究已引起研究者的广泛关注<sup>[14]</sup>。目前已见番石榴<sup>[15]</sup>、海棠<sup>[16]</sup>、洋葱<sup>[17]</sup>等果蔬多酚及柠檬果皮<sup>[18]</sup>、玉米须<sup>[19]</sup>等来源于果蔬副产物的多酚抗氧化和抑菌活性报道,而关于松毛菇中多酚类化合物的抗氧化及抑菌活性的研究尚未见报道。试验拟在前期松毛菇多酚提取纯化研究的基础上,探究松毛菇粗多酚及纯化多酚的体外抗氧化活性及抑菌活性,以期松毛菇多酚的功能特性及高值化利用提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验原料

松毛菇:武夷山食用菌技术开发有限公司;

大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*):广东环凯微生物科技有限公司。

#### 1.1.2 主要试剂

没食子酸、硫酸亚铁、过氧化氢、邻苯三酚:分析纯,上海展云化工有限公司;

1,1-二苯-2-苦基肼(DPPH):生物试剂,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;

抗坏血酸:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

平板计数培养基:广东环凯微生物科技有限公司。

#### 1.1.3 仪器设备

电子分析天平:AE224C型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

数控超声波清洗器:KQ-500DE型,昆山市超声仪器有限公司;

循环水真空泵:SHZ-DS-III型,巩义市予华仪器有限责任公司;

旋转蒸发器:RE2000A型,上海亚荣生化仪器厂;

紫外可见分光光度:UC-6100型,上海元析仪器有限公司;

冷冻干燥机:LGJ-10D型,湖南湘仪实验仪器开发有限公司;

手提式压力蒸汽灭菌锅:YXQ-LS-18SI型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;

气浴恒温振荡器:SHZ-82A型,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;

单人单面净化工作台:SW-CJ-1FD型,苏州净化设备有限公司;

高速粉碎机:6202型,欣镇精密企业有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 松毛菇多酚干品的制备 参照课题组<sup>[2]</sup>前期研究

的方法进行松毛菇粗多酚的提取及纯化。粗多酚及纯化多酚溶液经真空浓缩、冷冻干燥后分别获得松毛菇粗多酚和纯化多酚干品。

#### 1.2.2 松毛菇多酚体外抗氧化活性

(1)清除 $\cdot\text{OH}$ 能力测定:采用芬顿(Fenton)反应法<sup>[20-21]</sup>,配制9.0 mmol/L的 $\text{FeSO}_4$ 、9.0 mmol/L的水杨酸和8.8 mmol/L的 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,以及不同浓度的松毛菇多酚样品和 $\text{V}_c$ 待测液于试管中。分别加入1 mL不同浓度的松毛菇多酚待测液,然后依次加入1 mL  $\text{FeSO}_4$ 和2 mL水杨酸溶液,再加入2.0 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,充分混合后置于37 $^\circ\text{C}$ 下水浴30 min,510 nm处测定吸光度值 $A_1$ ;等体积去离子水替代 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,其余条件一致,测定吸光度值 $A_0$ ;用等体积去离子水替代样品测定吸光度值 $A_2$ 。以 $\text{V}_c$ 为阳性对照,每组试验平行测定3次,结果取平均值。按式(1)计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率。

$$c = \{ [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$c$ —— $\cdot\text{OH}$ 清除率,%;

$A_0$ ——无样品加 $\text{H}_2\text{O}_2$ (空白对照组)的吸光度值;

$A_1$ ——加样品和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 测得的吸光度值;

$A_2$ ——加样品不加 $\text{H}_2\text{O}_2$ 测得的吸光度值。

(2)清除 $\text{O}_2^- \cdot$ 能力测定:采用邻苯三酚自氧化法<sup>[22]</sup>。吸取0.1 mol/L磷酸缓冲溶液(pH 8.0)25 mL于100 mL容量瓶中,加入5 mL不同浓度的松毛菇粗多酚及纯化多酚溶液,再加入2.5 mol/L的邻苯三酚溶液1 mL,用去离子水定容。自邻苯三酚溶液加入时即准确计时,以不同浓度松毛菇多酚提取液作参比,反应启动后第60 s时测定325 nm处吸光值 $A_1$ 。以不加多酚提取液作为对照,以pH 8.0的磷酸缓冲溶液作参比,反应启动60 s时测定325 nm处吸光值 $A_2$ 。以同样的方法测定 $\text{V}_c$ 清除 $\text{O}_2^- \cdot$ 的能力,作为阳性对照。每组试验平行测定3次,结果取平均值。按式(2)计算 $\text{O}_2^- \cdot$ 清除率。

$$c = [(A_2 - A_1) / A_2] \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

$c$ —— $\text{O}_2^- \cdot$ 清除率,%;

$A_1$ ——含样品溶液的吸光度值;

$A_2$ ——不含样品溶液的吸光度值。

(3)清除DPPH $\cdot$ 能力测定:采用DPPH比色法<sup>[23]</sup>。配制不同浓度的多酚样品和 $\text{V}_c$ 待测液、0.2 mmol/L的DPPH乙醇溶液,在试管中依次加入2.0 mL的待测液和DPPH乙醇溶液,对照管中依次加入2.0 mL的待测液和无水乙醇,空白管中依次加入2.0 mL的DPPH乙醇溶液和无水乙醇。溶液充分摇匀,室温下避光放置30 min,于517 nm处测定吸光度值,依次记为 $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_0$ 。每组试验平行测定3次,结果取平均值。按式(3)计算DPPH $\cdot$ 清除率。

$$c = \{ [1 - (A_1 - A_2)] / A_0 \} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

$c$ ——DPPH·清除率, %;

$A_1$ ——样品待测液和 DPPH 乙醇溶液的吸光度值;

$A_2$ ——样品待测液和无水乙醇的吸光度值;

$A_0$ ——无水乙醇和 DPPH 乙醇溶液对应测得的吸光度值。

### 1.2.3 松毛菇多酚抑菌活性

(1) 松毛菇多酚溶液制备:称取一定质量的粗多酚及纯化多酚粉末干品,在无菌操作台上加入无菌蒸馏水溶解,各配制成 30 mg/mL 的原液,置于冰箱中遮光保存,后续试验根据需要可配制成相应浓度。

(2) 菌悬液及滤纸圆片制备:每次试验前预先对大肠埃希氏菌、伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母 5 种供试菌进行活化,挑取活化过的各种供试菌的单菌落,接种于装有 10 mL 无菌生理盐水及无菌玻璃珠的锥形瓶中,振荡 10 min。采用  $OD_{600\text{ nm}}$  值法对菌悬液浊度进行调整,得到  $10^8$  CFU/mL 的菌悬液,进行梯度稀释后制备  $10^7$  CFU/mL 的菌悬液,备用。

用打孔器打出直径为 6 mm 的滤纸小圆片,121 °C 灭菌 15 min 后烘干、备用。

(3) 松毛菇多酚抑菌活性测定:采用滤纸片扩散法<sup>[24]</sup>。在无菌操作台中,将无菌滤纸圆片分别置于浓度为 10, 20, 30 mg/mL 的松毛菇粗多酚和纯化多酚水溶液中浸泡 10 h,将无菌培养基倒入无菌培养皿,凝固后用无菌移液管准确吸取 0.2 mL 的 5 种供试菌菌悬液于培养基平板上,用涂布棒涂布均匀,静置 10 min。用无菌镊子夹取出经不同浓度松毛菇多酚溶液浸泡过的滤纸圆片,沥干,均匀置于含供试菌的培养基表面,以浸有无菌生理盐水的滤纸圆片为空白对照,每个平皿均匀放置 4 片滤纸,编号标记,将含细菌的培养皿置于 37 °C 条件下培养 24 h,含有酵母的培养皿置于 28 °C 条件下培养 48 h,观察滤纸圆片周围是否出现抑菌圈,采用十字交叉量法取抑菌圈直径,比较不同浓度多酚溶液的抑菌效果。每组试验平行测定 3 次,结果取平均值。

(4) 松毛菇多酚最低抑菌浓度(MIC)的测定:参照李芬芳等<sup>[25]</sup>的方法并根据实际情况有所调整。将松毛菇粗多酚和纯化多酚原液配分别制成 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 mg/mL 7 个浓度,用移液管准确吸取各浓度多酚溶液 1 mL 置于无菌平板内,注入 50 °C 无菌培养基后充分混匀,待培养基凝固后,分别滴加 5 种供试菌的菌悬液各 0.1 mL,用涂布棒涂布均匀,静置 10 min,对含细菌和酵母菌的培养皿进行培养。将完全无菌生长的平板所对应的松毛菇多酚浓度记为最小抑菌浓度(MIC)。每组试验平行测定 3 次。

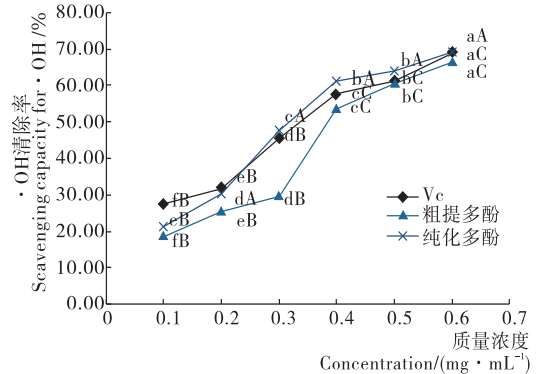
(5) 松毛菇多酚最低致死浓度(MBC)测定:依次将

MIC 测定中未见菌生长对应的各培养皿的培养菌,各吸取 0.1 mL 涂布于相应平板培养基上,静置 10 min,对含细菌和酵母菌的培养皿进行培养。平板菌落总数 < 5 的最小稀释浓度记为最低致死浓度(MBC)。

## 2 结果与分析

### 2.1 松毛菇多酚体外抗氧化活性

2.1.1 清除·OH能力 由图 1 可知,松毛菇粗多酚、纯化多酚和  $V_c$  的浓度越高,对·OH 的清除率越大,即清除能力越强,且影响显著。当质量浓度为 0.6 mg/mL 时,粗多酚、纯化多酚和  $V_c$  对·OH 清除率均达到最大值,分别为 66.44%, 69.37%, 68.80%, 此时纯化多酚的清除率最高,且高于  $V_c$ 。当浓度 < 0.3 mg/mL 时,粗多酚和纯化多酚对·OH 的清除率均低于  $V_c$ ; 当浓度  $\geq$  0.3 mg/mL 时,松毛菇纯化多酚对·OH 的清除率均高于  $V_c$ 。相同浓度下,松毛菇纯化多酚对·OH 的清除率均高于粗多酚。综上,松毛菇粗提及纯化多酚均具有较强的·OH 清除能力,且清除能力与多酚浓度呈正相关,当浓度 > 0.3 mg/mL 时,纯化多酚的清除能力强于  $V_c$ 。比较相同质量浓度的粗提多酚、纯化多酚与  $V_c$  对·OH 清除率的效果可知,当纯化多酚浓度达到 0.2 mg/mL 后,纯化多酚与  $V_c$  对·OH 清除率的效果无显著差异,浓度达到 0.5% 以上后,三者清除·OH 的效果无显著差异。



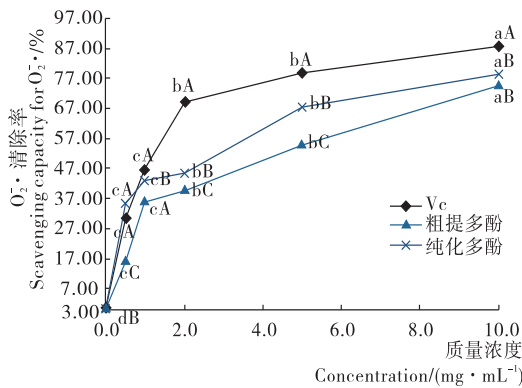
小写字母不同表示组内差异显著( $P < 0.05$ ),大写字母不同表示组间差异显著( $P < 0.05$ )

图 1 不同浓度的松毛菇多酚溶液对·OH 的清除能力  
Figure 1 The scavenging capacity of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens* for ·OH

·OH 几乎能与所有生物大分子(蛋白质、脂质、核酸等)发生反应,其存在与人体衰老、癌症等多种疾病相关,因此对人体危害极大<sup>[26]</sup>。作为一种天然多酚提取物,在一定浓度下松毛菇纯化多酚对·OH 的清除能力强于  $V_c$ ,因此可以考虑将松毛菇纯化多酚作为一种外源性自由基清除剂加以利用。

2.1.2 清除  $O_2^-$ ·能力 由图 2 可知,松毛菇粗提及纯化多酚、 $V_c$  溶液对  $O_2^-$ ·清除率与其浓度呈正相关,即质量

浓度越高,对  $O_2^- \cdot$  的清除率越大,清除能力越强。当浓度为 0.5 mg/mL 时,松毛菇纯化多酚对  $O_2^- \cdot$  的清除率 (35.21%) 高于  $V_C$  (30.20%); 当浓度  $>0.5$  mg/mL 时,相同浓度下对  $O_2^- \cdot$  的清除率由大至小的排序为:  $V_C >$  纯化多酚  $>$  粗多酚,当浓度为 10 mg/mL 时,松毛菇粗多酚、纯化多酚和  $V_C$  溶液对  $O_2^- \cdot$  的清除率均达到最大值,分别为 74.44%, 78.26%, 87.66%。综上,松毛菇粗提及纯化多酚均具有一定的  $O_2^- \cdot$  清除能力,相同浓度下纯化多酚清除能力强于粗多酚,且清除能力均随浓度增加而增强,与王建超<sup>[27]</sup>、胡明明<sup>[28]</sup>的研究结果类似。当浓度  $<2$  mg/mL 时,纯化多酚与  $V_C$  对  $O_2^- \cdot$  清除率无显著差异,但与粗多酚差异显著,而浓度  $>2$  mg/mL 后,相同浓度的粗多酚与纯化多酚均低于  $V_C$  对  $O_2^- \cdot$  的清除率,且差异显著。

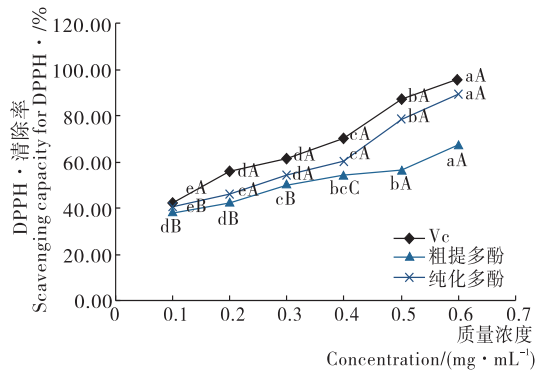


小写字母不同表示组内差异显著 ( $P < 0.05$ ), 大写字母不同表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 2 不同浓度的松毛菇多酚溶液对  $O_2^- \cdot$  的清除能力  
Figure 2 The scavenging capacity of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens* of different concentrations for  $O_2^- \cdot$

人体很多重大疾病的发生均与细胞内的活性氧数量有关,如羟基的存在<sup>[29]</sup>。由于多酚类含有羟基结构,与邻苯三酚结构类似,在邻苯三酚自氧化时,亦使得松毛菇多酚发生自氧化,从而导致松毛菇多酚清除  $O_2^- \cdot$  的能力弱于  $V_C$ 。

2.1.3 清除 DPPH · 能力 由图 3 可知,与对  $\cdot OH$  和  $O_2^- \cdot$  清除能力类似,松毛菇粗多酚、纯化多酚和  $V_C$  溶液亦具有一定清除 DPPH · 的能力,且清除率亦与多酚溶液浓度呈正相关。在试验设计浓度范围内,纯化多酚和  $V_C$  溶液对 DPPH · 的清除率随浓度增大增幅明显,粗多酚对 DPPH · 的清除率随浓度增大呈平缓上升趋势。当浓度为 0.6 mg/mL 时,粗多酚、纯化多酚及  $V_C$  对应清除率均达最大值,分别为 67.34%, 89.47%, 96.30%。相同浓度下,对 DPPH · 的清除率由大至小的排序为:  $V_C >$  纯化多酚  $>$  粗多酚。综上,松毛菇粗多酚及纯化多酚均具有一定的清除 DPPH · 的能力,相同浓度下纯化多酚清除能



小写字母不同表示组内差异显著 ( $P < 0.05$ ), 大写字母不同表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 3 不同浓度的松毛菇多酚溶液对 DPPH · 的清除能力  
Figure 3 The scavenging capacity of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens* of different concentrations for DPPH ·

力强于粗多酚,且清除能力均随浓度增加而增强。当  $V_C$ 、纯化多酚和粗多酚质量浓度相同时,且浓度  $\leq 0.1\%$  时,三者清除 DPPH · 的能力无显著差异,  $>0.1\%$  时,松毛菇粗多酚与纯化多酚清除 DPPH · 的能力较  $V_C$  差。

由以上结果可知,松毛菇纯化多酚对  $\cdot OH$ 、 $O_2^- \cdot$  和 DPPH · 的清除能力均强于粗多酚,可能是粗多酚中所含有的活性作用成分要低于纯化多酚,且粗多酚含有较多杂质(如色素、蛋白等),因此松毛菇多酚产业化应用过程中,粗多酚的分离纯化显得尤为必要。

## 2.2 松毛菇多酚抑菌活性

2.2.1 不同浓度松毛菇多酚的抑菌效果 由表 1 可知,3 种浓度 (10, 20, 30 mg/mL) 的松毛菇粗多酚对大肠埃希氏菌无抑制作用,除革兰氏阴性的伤寒沙门氏菌外,各浓度的粗多酚对革兰氏阳性的金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌、酿酒酵母均有抑制作用,且抑菌圈直径大小与多酚浓度存在明显的剂量效应关系,即抑菌效果随着多酚浓度的增大而增强。当粗多酚浓度为 20, 30 mg/mL 时对伤寒沙门氏菌亦呈现抑制作用。相比松毛菇粗多酚,除对大肠埃希氏菌的抑菌效果无显著变化外,纯化多酚对其他 4 种供试菌的抑菌圈直径均明显增大。不论是粗多酚还是纯化多酚,相同浓度下对酿酒酵母的抑菌圈直径均最大,说明对酿酒酵母的抑菌效果最好,30 mg/mL 时对应的抑菌圈直径分别为  $(10.9 \pm 0.2)$ ,  $(14.7 \pm 0.2)$  mm。综上,相同浓度条件下,粗多酚及纯化多酚均对酿酒酵母的抑菌作用最强,且纯化多酚对同一供试菌的抑菌作用均强于粗多酚。

2.2.2 最低抑菌浓度和最低致死浓度 由表 2 可知,在 5 种供试菌中,松毛菇粗多酚对酿酒酵母和枯草芽孢杆菌的 MIC 最低,均为 5.0 mg/mL,对大肠埃希氏菌的最高,



表1 松毛菇多酚对供试菌的抑菌效果

Table 1 Bacteriostatic effect of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens* on the tested bacteria ( $n=3$ ) mm

供试菌	纯化前			纯化后			对照
	10 mg/mL	20 mg/mL	30 mg/mL	10 mg/mL	20 mg/mL	30 mg/mL	
大肠埃希氏菌	6.0±0.1	6.0±0.1	6.0±0.1	6.3±0.1	6.7±0.2	7.0±0.1	6.0
伤寒沙门氏菌	6.0±0.1	7.5±0.3	10.1±0.2	7.2±0.1	8.7±0.2	12.0±0.2	6.0
金黄色葡萄球菌	7.2±0.1	8.1±0.2	9.1±0.2	8.5±0.1	9.2±0.2	10.1±0.3	6.0
枯草芽孢杆菌	8.3±0.2	9.0±0.2	10.3±0.2	8.9±0.2	10.4±0.2	12.3±0.3	6.0
酿酒酵母	8.6±0.1	9.2±0.6	10.9±0.2	10.5±0.1	13.2±0.3	14.7±0.2	6.0

表2 松毛菇多酚的 MIC 和 MBC

Table 2 MIC and MBC of polyphenols from *Lyophyllum Cinoraseens* mg/mL

菌种	MIC		MBC	
	纯化前	纯化后	纯化前	纯化后
大肠埃希氏菌	20.0	10.0	30.0	15.0
伤寒沙门氏菌	15.0	5.0	25.0	10.0
金黄色葡萄球菌	10.0	5.0	15.0	5.0
枯草芽孢杆菌	5.0	2.5	15.0	5.0
酿酒酵母	5.0	2.5	10.0	2.5

为 20.0 mg/mL。松毛菇纯化多酚亦对酿酒酵母和枯草芽孢杆菌的 MIC 最低,均为 2.5 mg/mL。粗提及纯化多酚对酿酒酵母的 MBC 最小,分别为 10.0,2.5 mg/mL,对大肠埃希氏菌的 MBC 最大,分别为 30.0,15.0 mg/mL。纯化多酚对各菌种的 MIC 和 MBC 均小于粗多酚,表明纯化多酚的抑菌活性强于粗多酚。综上表明,在 5 种供试菌中,松毛菇粗多酚及纯化多酚对酿酒酵母的抑菌能力最强,对大肠埃希氏菌的抑菌效果最弱,且纯化多酚对各供试菌的抑菌作用均强于粗多酚。

### 3 结论

通过体外抗氧化试验获知松毛菇粗多酚及纯化多酚对  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$  和 DPPH $\cdot$  均具有清除作用,且清除效果与多酚质量浓度呈量效关系。同等浓度条件下纯化多酚的清除效果强于粗多酚。抑菌试验得出松毛菇粗多酚及纯化多酚对 5 种供试菌呈现不同的抑菌活性,相同浓度条件下均对酿酒酵母抑菌能力最强,纯化多酚对大肠埃希氏菌的抑菌能力最弱,而粗多酚对大肠埃希氏菌无抑菌作用,纯化多酚的抑菌活性强于粗多酚。

松毛菇多酚具有良好的抗菌活性,可作为天然抗氧化剂及天然植物抗菌剂应用于食品加工与医疗保健中。后续试验可利用现代分析方法(HPLC、红外光谱技术等),对松毛菇多酚化合物进行结构鉴定和组分分析,进一步明确其中抗氧化和(或)抑菌效果的主要生物活性成分,探究其作用机制,并进一步将其应用于油脂、肉制品、饮料等食品加工中,从而促进松毛菇的高值化利用。

### 参考文献

- [1] 陈今朝, 贺稚非, 李洪军, 等. 野生灰离褶伞菌丝体液体发酵工艺研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(5): 212-214, 358.
- [2] 黄艳, 孙怡婷, 张见明, 等. 松毛菇多酚的提取及纯化工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(21): 106-114.
- [3] 卯晓岚. 我国常见常用食药菌名称[J]. 中国食用菌, 2002(5): 24-26.
- [4] 魏生龙, 王治江, 于海萍, 等. 荷叶离褶伞生物学特性研究[J]. 菌物学报, 2006(25): 101-108.
- [5] 卯晓岚. 中国经济真菌[M]. 北京: 科学技术出版社, 1998: 107.
- [6] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2000(1): 160-164.
- [7] 魏泽平, 阮瑞国, 丁李春, 等. 不同配方培养料对灰离褶伞生长的影响[J]. 中国食用菌, 2008(1): 27-28.
- [8] 张一鸣, 吴跃中, 杨士花, 等. 云南黑青裸多酚的提取及纯化工艺研究[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 206-213.
- [9] 侯玉艳, 桑兰, 游金坤, 等. 食用菌多酚的生物活性研究进展[J]. 中国食用菌, 2014, 33(6): 1-4.
- [10] ZAMORA-ROS R, KNAZE V, ROTHWELL J A, et al. Dietary polyphenol intake in Europe: The European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study[J]. European Journal of Nutrition, 2016, 55(4): 1359-1375.
- [11] 彭茹洁, 汪佳丹, 韩伟. 植物多酚提取、分离纯化及其分析方法的研究进展[J]. 机电信息, 2016(14): 21-29.
- [12] 陶冶, 杨晓. 多酚类物质对心脑血管保护作用的研究进展[J]. 中国医药指南, 2011, 9(20): 226-228.
- [13] 王振宇, 孔子浩, 孔令华, 等. 天然多酚提取、分离及鉴定方法的研究进展[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(4): 113-120.
- [14] MASSARETTO I L, ALVES M F M, MIRA N V M D, et al. Phenolic compounds in raw and cooked rice (*Oryza sativa* L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme [J]. Journal of Cereal Science, 2011, 54(2): 236-240.
- [15] 黄和, 曹湛慧, 曹增梅, 等. 番石榴多酚对虾肉糜的保鲜效

- 果研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 159-161, 164.
- [16] 李媛, 李厚华, 刘小微, 等. 海棠果实多酚提取物对胃癌细胞 BGC-803 的体外抑制活性[J]. 食品工业科技, 2018, 39(18): 279-284.
- [17] 任曼妮, 高增明, 王存堂. 不同溶剂提取对洋葱皮中多酚含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(17): 189-193.
- [18] 李娟, 牛泽宇, 岳湘齐, 等. 不同产地甜橙果皮提取物抗氧化活性成分及能力研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 156-162.
- [19] 许英一, 徐艳霞, 王宇, 等. 玉米须多酚预热结合超声辅助提取工艺及抗氧化性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(1): 153-158.
- [20] 郑朋朋, 李珊, 杨正涛, 等. 响应面优化玛咖多酚提取工艺及其抗氧化性分析[J]. 南方农业学报, 2015, 46(8): 1480-1487.
- [21] YI Juan-juan, QU Hang, WU Yun-zhou, et al. Study on antitumor, antioxidant and immunoregulatory activities of the purified polyphenols from pinecone of pinus koraiensis on tumor-bearing S180 mice *in vivo* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94 (Pt A): 735-744.
- [22] PANDEY M M, KHATOON S, RASTOGI S, et al. Determination of flavonoids, polyphenols and antioxidant activity of Tephrosia purpurea: A seasonal study[J]. Journal of Integrative Medicine, 2016, 14(6): 447-455.
- [23] SARIKURKCU C, TEPE B, SEMIZ D K, et al. Evaluation of metal concentration and antioxidant activity of three edible mushrooms from Mugla, Turkey[J]. Food & Chemical Toxicology, 2010, 48(5): 1230-1233.
- [24] BAHADORI M B, VALIZADEH H, ASGHARI B, et al. Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Salvia spinosa* L[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18(10): 727-736.
- [25] 李芬芳, 马艳弘, 赵密珍, 等. 草莓多酚的提取工艺优化及其抑菌活性研究[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 155-158.
- [26] GUO Tan, WEI Lei, SUN Juan, et al. Antioxidant activities of extract and fractions from Tuber indicum Cooke & Masee[J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1634-1640.
- [27] 王建超. 枇杷叶多酚提取、纯化及其抗氧化、抑菌活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2015: 41.
- [28] 胡明明. 花生壳多酚的提取、纯化及其抗氧化、抑菌活性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012: 54.
- [29] 孟彤. 海带多酚提取物对猪肉乳化肠品质及氧化稳定性的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015: 3.
- (上接第 153 页)
- [11] 马俊, 严伟强, 孔秋莲, 等. 香辛料中微生物在高能电子加速器下的  $D_{10}$  值研究[J]. 保鲜与加工, 2013(13): 40-44.
- [12] BLACK J L, JACZYNSKI J. Temperature effect on inactivation Kinetics of *Escherichia coli* O157:H7 by electron beam in ground beef, chicken breast meat and trout fillets[J]. Journal of Food Science, 2006, 71(6): M221-M227.
- [13] 贾倩, 李淑荣, 高美须, 等. 电子束和  $\gamma$  射线辐照对素鸡杀菌效果及氧化效应的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(13): 61-65.
- [14] 王晶晶, 张成金, 汪海燕, 等. 电子束和射线辐照对象拔蚌品质影响的异同性研究[J]. 核农学报, 2017, 31(1): 73-79.
- [15] 徐远芳, 彭玲, 张祺玲, 等.  $\gamma$  射线和电子束辐照对风味豆干杀菌效果及品质的影响[J]. 同位素, 2019, 32(4): 245-254.
- [16] 王娴, 崔龙, 董威杰, 等. 电子束和  $\gamma$  射线对油料氧化及霉菌的影响[J]. 包装工程, 2019, 40(3): 30-37.
- [17] 吴庆, 孔秋莲, 戚文元, 等.  $\gamma$  射线和电子束辐照对意式风干火腿色泽和脂质氧化的影响[J]. 上海农业学报, 2013, 29(2): 38-42.
- [18] PARK J G, YOON Y, PARK J N, et al. Effects of gamma irradiation and electron beam irradiation on quality, sensory, and bacterial populations in beef sausage patties[J]. Meat Science, 2010, 85(2): 368-372.
- [19] SONG H P, KIM B, JUNG S, et al. Effect of gamma and electron beam irradiation on the survival of pathogens inoculated into salted, seasoned, and fermented oyster [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(8): 1320-1324.
- [20] 邓少春, 梁名志, 田易萍, 等. 三个茶树新品种加工手工滇红碎茶品质对比研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(1): 125-129.
- [21] 周树红, 龚淑英. 不同辐照处理对普洱茶主要化学成分及感官品质的影响[J]. 茶业科学, 2003, 23(1): 51-56.
- [22] 侯冬岩, 回瑞华, 刘晓媛, 等. 红茶茶多酚及抗氧化性能测定[J]. 食品科学, 2005(8): 367-370.
- [23] 沈伟桥, 王忠华, 傅俊杰. 不同辐照处理对茶叶品质的影响[J]. 茶业科学, 2002, 22(1): 90-92.
- [24] 罗志平, 邓钢桥, 李文革, 等. 乌龙茶提取物辐照杀菌工艺研究[J]. 湖南农业科学, 2007(2): 114-116.
- [25] 郭桂义, 王广铭. 我国茶叶产品国家标准理化指标分析[J]. 中国茶叶加工, 2014(3): 45-52.
- [26] 张海伟, 郑文佳, 侯如燕, 等. 辐照技术应用于茶叶上的研究进展[J]. 激光生物学报, 2012, 21(3): 198-203.
- [27] 童小麟. 茶叶灰分及其控制措施[J]. 福建茶叶, 2004(4): 14-15.