

朱柏雨, 朱永清, 陈航, 等. 康定灵芝功效成分分析及体外抗氧化、降血糖活性评价 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 292–298. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070330

ZHU Boyu, ZHU Yongqing, CHEN Hang, et al. Analysis of Functional Components of Kangding *Ganoderma leucocontextum* and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activity *in Vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(13): 292–298. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070330

· 分析检测 ·

康定灵芝功效成分分析及体外抗氧化、 降血糖活性评价

朱柏雨¹, 朱永清¹, 陈航², 向卓亚¹, 赵佳俊³, 邓俊琳¹, 陈建¹, 杨星¹, 夏陈^{1,*}

(1. 四川省农业科学院农产品加工研究所, 四川成都 610066;

2. 甘孜州农业科学研究所, 四川康定 626000;

3. 四川省农业科学院, 四川成都 610066)

摘要: 本文采用药典方法和高效液相色谱法分析了康定灵芝多糖、三萜及灵芝酸 A、灵芝酸 C1、灵芝酸 F 的含量。通过对 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除能力和总抗氧化能力的考察以及对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的抑制效果评价了其体外抗氧化和降血糖活性。结果显示, 康定灵芝多糖和三萜含量分别为 1.15% 和 1.50%, 灵芝酸 A、灵芝酸 C1 和灵芝酸 F 含量分别为 0.052%、0.020% 和 0.064%。体外抗氧化和降血糖活性评价结果表明康定灵芝多糖提取物对 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除的 IC₅₀ 值分别为 0.75 mg/mL 和 1.24 mg/mL, 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制的 IC₅₀ 值分别为 1.45 mg/mL 和 1.97 mg/mL。三萜提取物对 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除的 IC₅₀ 值分别为 0.65 mg/mL 和 1.06 mg/mL, 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制的 IC₅₀ 值分别为 1.44 mg/mL 和 1.09 mg/mL。本文研究结果表明康定灵芝功效成分含量高, 同时具有良好的抗氧化和降血糖活性, 这将为康定灵芝在食品、药品和保健品等方面的开发利用提供理论基础和参考依据。

关键词: 康定灵芝, 功效成分, 抗氧化活性, 降血糖活性

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)13-0292-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070330

本文网刊:



Analysis of Functional Components of Kangding *Ganoderma leucocontextum* and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activity *in Vitro*

ZHU Boyu¹, ZHU Yongqing¹, CHEN Hang², XIANG Zhuoya¹, ZHAO Jiajun³, DENG Junlin¹,
CHEN Jian¹, YANG Xing¹, XIA Chen^{1,*}

(1. Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China;

2. Ganzi Agricultural Sciences Institute, Kangding 626000, China;

3. Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

Abstract: The contents of polysaccharides, triterpenes, ganoderic acid A, ganoderic acid C1 and ganoderic acid F in Kangding *Ganoderma leucocontextum* were analyzed by pharmacopoeia and HPLC. The antioxidant activities were evaluated by DPPH· and ABTS⁺ scavenging abilities and total antioxidant capacity, and hypoglycemic activities were evaluated by the inhibitory effect on α -amylase and α -glucosidase activities. The results showed that the contents of polysaccharides and triterpenes in Kangding *Ganoderma leucocontextum* were 1.15% and 1.50%, and the contents of

收稿日期: 2022-08-02

基金项目: 四川省科技创新创业苗子工程重点项目 (2021JDRC0151); 四川省农业科学院“1+9 揭榜挂帅”项目 (1+9KJGG007); 四川道地中药材创新团队项目 (SCCXTD-2020-19)。

作者简介: 朱柏雨 (1993-), 男, 硕士研究生, 研究实习生, 研究方向: 功能食品研究与开发, E-mail: 895100045@qq.com。

* 通信作者: 夏陈 (1983-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 功能食品研究与开发, E-mail: 154541462@qq.com。

ganoderic acid A, ganoderic acid C1 and ganoderic acid F were 0.052%, 0.020% and 0.064%, respectively. The antioxidant activities and hypoglycemic activities *in vitro* showed that IC_{50} values of polysaccharide extract for DPPH $\cdot$ and ABTS $^{+}$ scavenging were 0.75 mg/mL and 1.24 mg/mL, and IC_{50} values of α -amylase and α -glucosidase activities were 1.45 mg/mL and 1.97 mg/mL, respectively. The IC_{50} values of triterpenoids extract for DPPH $\cdot$ and ABTS $^{+}$ radical scavenging were 0.65 mg/mL and 1.06 mg/mL, and the IC_{50} values of α -amylase and α -glucosidase activities were 1.44 mg/mL and 1.09 mg/mL, respectively. The results of this study show that Kangding *Ganoderma leucocontextum* contain high content of functional components, and presented favourable antioxidant and hypoglycemic activities, which would provide the theoretical basis for the development and utilization of Kangding *Ganoderma leucocontextum* in food, medicine and health products.

Key words: Kangding *Ganoderma leucocontextum*; functional components; antioxidant activity; hypoglycemic activity

灵芝(*Ganoderma lucidum*)亦称仙草、还阳草^[1],为担子菌门、伞菌纲、多孔菌目、灵芝科、灵芝属真菌^[2],是我国传统名贵中药材,最早记载于《神农本草经》中,并位居上品之首,在我国已有 2000 多年的应用历史^[3]。灵芝含有多种功能活性成分,主要包括灵芝多糖^[4]、三萜^[5]、甾醇^[6]等。灵芝多糖和三萜作为灵芝最主要的活性成分,其含量被作为评价灵芝质量的标准。2020 版《中国药典》规定灵芝多糖含量不得低于 0.90%,三萜及甾醇含量不得低于 0.50%^[7]。灵芝的功能成分复杂,多糖大多为杂多糖,除葡萄糖基外,还含有少量的 D-阿拉伯糖、D-木糖、D-半乳糖、D-岩藻糖、L-鼠李糖、L-阿拉伯糖等^[8];三萜则主要包括灵芝酸、灵芝烯酸、灵芝醇、灵芝酮等数十种化合物^[9]。灵芝复杂的功能成分使其具有多种生物活性。已有研究表明,灵芝多糖能够提高抗氧化酶活性^[10]、清除过量的氧自由基^[11],从而发挥抗氧化效果。灵芝多糖还能够抑制肿瘤细胞生长^[12],激活巨噬细胞抑制肿瘤细胞活动^[13]等多种方式起到抗肿瘤作用。此外灵芝多糖还有降血糖和血脂^[14]、免疫调节^[15]、调节肠道菌群^[16]、保护神经等作用^[17]。灵芝三萜可通过抑制肿瘤细胞的生长和转移,从而实现抗肿瘤目的^[18]此外对于调节免疫^[19]、降血脂降血糖^[20]等方面也有显著的效果。

康定灵芝(Kangding *Ganoderma leucocontextum*)源自藏灵芝,是由唐明先等将野生藏灵芝,经过菌株采集、组织分离、系统选育得到了遗传稳定性高且具有优良商品性的菌株,同时经过连续的区域试验和生产试验得到了产量高、品质好的灵芝新品种,并于 2016 年 12 月 31 日获得了四川省农作物品种审定,定名康定灵芝,编号为川审菌 2016002^[21]。康定灵芝品质优良,保健价值高,自从被发现以来,市场需求极高,在我国广东等沿海地区,其价格高达每公斤千元。但由于康定灵芝品种育成时间较晚,目前其研究内容主要集中于生境和栽培措施等方面,未见有关康定灵芝多糖及三萜等功能成分及生物活性的研究。

因此本文将对康定灵芝的多糖和三萜以及灵芝酸等多种功能活性成分进行分析,同时通过体外清除自由基和抗氧化能力研究来评价其体外抗氧化活性,通过探究康定灵芝多糖和三萜提取物在体外对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制能力评价其体外降血糖活

性,为康定灵芝在食品、药品及保健品等方面的开发应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

康定灵芝 2020 年采自四川省甘孜藏族自治州泸定县田坝乡上松村,海拔 1850 m;灵芝酸 A、灵芝酸 C1、灵芝酸 F 对照品,成都普瑞法科技发展有限公司;浓硫酸、香草醛、过硫酸钾、可溶性淀粉、碳酸钠、 α -生育酚聚乙二醇琥珀酸酯(水溶性 V_E)、过硫酸钾、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 成都市科龙化工试剂厂;冰醋酸、乙酸乙酯 成都金山化学试剂有限公司;阿卡波糖、对硝基苯- α -D 吡喃葡萄糖苷(PNGP)、 α -葡萄糖苷酶(100 U/mg) 北京索莱宝科技有限公司;齐墩果酸对照品、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(FRAP 微板法)、 α -淀粉酶(6 U/mg)、DNS 试剂、阿卡波糖 上海源叶生物科技有限公司;所有试验用水均为超纯水。

FW-100 型高速万能粉碎机 北京科伟永兴仪器有限公司;KH2200DE 型数控超声波清洗器 昆山禾创超声仪器有限公司;ELX-800 型酶标仪 美国伯腾仪器有限公司;1290 型高效液相色谱仪 美国 Agilent 公司;UPC-1-10T 型优普系列超纯水机 成都超纯科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖、总三萜含量分析 参照 2020 版《中国药典》一部^[7]规定方法,多糖溶液中精密加入硫酸蒽酮溶液,立即摇匀,放置 15 min 后,立即置冰浴中冷却,在 625 nm 波长处测定吸光度。三萜溶液挥干,放冷,精密加入新配制的香草醛冰醋酸溶液、高氯酸,摇匀,在 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热,立即置冰浴中冷却后加入乙酸乙酯,在 546 nm 波长处测定吸光度。按照式(1)计算康定灵芝多糖、三萜含量。

$$W = \frac{c \times D \times V}{m \times 1000} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中:W 表示含量,%;C 表示样品浓度,mg/mL;D 表示稀释倍数;V 表示样品体积,mL;m 表示样品质量,g。

1.2.2 灵芝酸 A、灵芝酸 C1、灵芝酸 F 含量分析

1.2.2.1 对照品配制 灵芝酸 A、灵芝酸 C1、灵芝酸 F 对照品 5 mg 用甲醇溶解定容至 10 mL, 以二倍稀释法制备不同浓度的对照品溶液, 冷藏备用。

1.2.2.2 样品制备 精密称取康定灵芝样品 2 g 于锥形瓶中, 加入乙酸乙酯 30 mL, 40 °C 超声处理(功率 140 W, 频率 42 kHz)40 min 后冷却备用。

1.2.2.3 色谱条件 色谱条件采用梯度洗脱, 色谱柱: Poroshell 120 C₁₈ (4.6 mm×100 mm, 2.7 μm); 检测波长: 250 nm; 柱温: 35 °C; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 5 μL; 流动相: 0.05% 磷酸-水溶液(A), 乙腈(B), 洗脱条件: 0~40 min, B: 25%~30%; 40~50 min, B: 30%~40%; 50~70 min, B: 40%~50%; 70~75 min, B: 50%~90%。

1.2.2.4 灵芝酸 A、灵芝酸 C1、灵芝酸 F 含量计算 经 HPLC 分析后, 根据供试品各化合物峰面积及标准曲线按式(1)计算含量。

1.2.3 康定灵芝三萜及多糖制备 康定灵芝三萜制备参照康同辉等^[22]的方法, 将粉碎后的康定灵芝样品按照料液比 1:25 加入 85%乙醇, 在 80 °C 条件下超声 15 min, 提取液经抽滤、减压浓缩、真空干燥后得康定灵芝三萜(KDLZST)。康定灵芝多糖制备参照段晓颖等^[23]的方法, 将样品加入 12 倍量的水中热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液经抽滤、醇沉、过滤、干燥后得康定灵芝多糖(KDLZDT)。

1.2.4 抗氧化活性评价

1.2.4.1 DPPH 自由基清除能力评价 将康定灵芝多糖及三萜提取物配制成 0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL, 以相同浓度水溶性维生素 E 为对照, 参考 Kim 等^[24]的方法取样品溶液加入甲醇-DPPH 溶液, 静置 30 min 后在 517 nm 波长下测吸光值, 空白组以甲醇代替样品溶液, 并按照式(2)计算清除率, 并以浓度为横坐标, 清除率为纵坐标绘制清除曲线。

$$X = \left(1 - \frac{A_i}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: X 表示清除/抑制率, %; A_i 表示样品组或对照组吸光度值; A₀ 表示空白组吸光度值。

1.2.4.2 ABTS⁺自由基清除能力评价 将康定灵芝多糖及三萜提取物配制成 0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL, 以相同浓度水溶性维生素 E 为对照, 参考向卓亚等^[25]的方法取样品溶液加入甲醇-ABTS 溶液(调整吸光度 A=0.7±0.02), 混合反应 6 min 后 734 nm 测吸光值, 空白组以甲醇代替样品溶液, 并按照式(2)计算清除率, 并以浓度为横坐标, 清除率为纵坐标绘制清除曲线。

1.2.4.3 总抗氧化能力评价 将康定灵芝多糖及三萜提取物配制成 0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL, 以相同浓度水溶性维生素 E 为对照, 按照总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(FRAP 微板法)试剂盒操作步骤进行, 并以浓度为横坐标, 吸光值

为纵坐标绘制曲线。

1.2.5 降血糖活性评价

1.2.5.1 α-淀粉酶活性抑制能力评价 将康定灵芝多糖及三萜提取物配制成 0.3125、0.625、1.25、2.5、5.0、10.0 mg/mL, 以相同浓度阿卡波糖(AKBT)为对照, 参考苏娜等^[26]的方法, 将不同浓度样品溶液与 α-淀粉酶混匀, 并于 37 °C 恒温反应 5 min, 再加入 1% 淀粉溶液于 37 °C 恒温反应 5 min, 加 DNS 试剂于沸水浴中加热后取出, 并于冰水浴中冷却后再加入蒸馏水, 540 nm 处测定吸光值, 空白组以超纯水代替样品, 并按照式(2)计算抑制率, 并以浓度为横坐标, 抑制率为纵坐标绘制曲线。

1.2.5.2 α-葡萄糖苷酶活性抑制能力评价 将康定灵芝多糖及三萜提取物配制成 0.3125、0.625、1.25、2.5、5.0、10.0 mg/mL, 以相同浓度阿卡波糖为对照, 参考王洁等^[27]的方法分别将磷酸盐缓冲液、样品溶液、PNGP 加入试管中混合均匀, 在 37 °C 恒温保持, 再加入 α-葡萄糖苷酶溶液反应后, 加入碳酸钠溶液终止, 测定反应溶液在 405 nm 的吸光度, 空白组以超纯水代替样品, 并按照式(2)计算抑制率, 并以浓度为横坐标, 抑制率为纵坐标绘制曲线。

1.3 数据处理

所有数据均为 3 次重复取平均值, 使用 Microsoft Excel 2016 进行数据整理并通过 SPSS 20.0 采用 Turkey 方法对数据进行显著性分析, 使用 Origin 8.5 进行图谱绘制。

2 结果与分析

2.1 康定灵芝多糖、总三萜、灵芝酸含量分析

灵芝酸 A、灵芝酸 C1、灵芝酸 F 三种对照品和康定灵芝样品的 HPLC 图谱如图 1 和图 2 所示, 康定灵芝多糖、总三萜、灵芝酸标准曲线和含量如表 1 和表 2 所示。由表 1 可知, 多糖、总三萜、灵芝酸 A、灵芝酸 C1 和灵芝酸 F 标准曲线的 R² 均在 0.998 以上, 表明在其对应的线性范围内线性关系良好, 可用于相关活性物质含量的计算。

由表 2 可知, 康定灵芝的多糖含量达到了 1.15%, 比药典规定标准高出 28%^[7]。有研究表明, 赤芝多糖

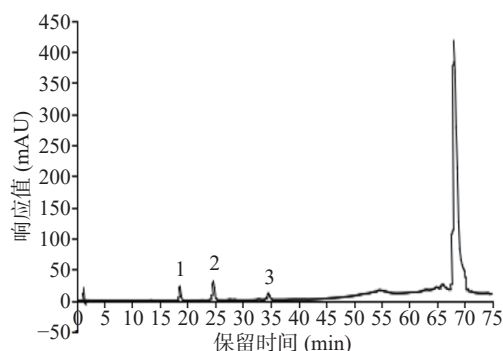


图 1 对照品色谱图

Fig.1 Chromatogram of reference substance

注: 1: 灵芝酸 A; 2: 灵芝酸 C1; 3: 灵芝酸 F。

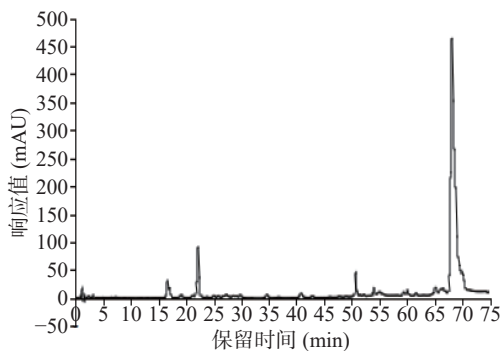


图 2 康定灵芝样品色谱图

Fig.2 Chromatogram of Kangding *Ganoderma leucocontextum* sample

表 1 康定灵芝多糖及三萜标准曲线

Table 1 Standard curve of polysaccharides and triterpenoids from Kangding <i>Ganoderma leucocontextum</i>			
功效成分	标准曲线	线性范围(μg/mL)	R ²
多糖	y=0.0058x-0.0026	12~72	0.9991
总三萜	y=0.0263x-0.0602	4~20	0.9988
灵芝酸A	y=5.3462x+0.2203	10.42~83.33	0.9994
灵芝酸C1	y=9.2706x+4.1787	5.23~83.33	0.9995
灵芝酸F	y=4.3738x-6.5697	10.42~83.33	0.9999

表 2 康定灵芝多糖及三萜化合物含量

Table 2 Contents of polysaccharides and triterpenoids in Kangding <i>Ganoderma leucocontextum</i>	
成分	含量(%)
多糖	1.150±0.010
总三萜	1.500±0.020
灵芝酸A	0.052±0.001
灵芝酸C1	0.020±0.004
灵芝酸F	0.064±0.006
水分	1.180±0.030

含量为 0.90%^[28], 紫芝多糖含量 1.67%^[29]。树舌灵芝、密纹灵芝的多糖含量分别为 1.53% 和 0.94%^[30], 松杉灵芝的栽培品种多糖含量在 0.8%~1.03% 之间, 野生品种多糖含量为 0.86%^[31]。由此可见, 康定灵芝多糖含量仅次于紫芝和树舌灵芝, 其品质在常见灵芝品种中较好。康定灵芝总三萜含量为 1.50%, 约为药典规定标准的三倍^[7]。付立忠等^[32]研究表明, 成熟的赤芝、松杉灵芝、薄树灵芝、日本红芝的三萜含量分别为 0.95%、0.95%、1.16% 和 1.13%。潘俊等^[28]分析了白肉灵芝和紫芝的三萜含量, 结果表明白肉灵芝三萜含量 1.12%~1.40%, 紫芝三萜含量为 0.75%。经过对比发现, 康定灵芝三萜含量均高于其他常见灵芝品种。康定灵芝的灵芝酸 A、灵芝酸 C1 和灵芝酸 F 的含量分别为 0.052%、0.020% 和 0.064%, 三者含量均在较低的水平内, 潘俊等^[28]研究表明, 白肉灵芝、赤芝和紫芝的灵芝酸 A 含量分别为 0.069%、0.054% 和 0.032%, 梁锐等^[33]利用 HPLC 分析了灵芝中 10 种灵芝酸单体, 结果表明 10 种灵芝酸单体含量在 0.0048%~0.0624% 之间, 其中灵芝酸 F 含量

约为 0.03%, 与本研究结果相近。

2.2 抗氧化活性评价

2.2.1 DPPH 自由基清除能力 康定灵芝多糖和三萜提取物对 DPPH 自由基清除效果如图 3 所示。由图可知康定灵芝多糖及三萜提取物对 DPPH 自由基具有较好的清除效果, 且在一定浓度范围内呈现较好的量效关系。当浓度从 0.25 mg/mL 上升至 2.0 mg/mL 时, 清除率迅速提高, 此后清除率随浓度上升的效率逐渐下降。当样品浓度在 0.25 mg/mL 和 1.0 mg/mL 时, 多糖和三萜提取物对 DPPH 自由基的清除效果无显著性差异($P>0.05$), 其他浓度条件下三萜提取物的清除效果均显著优于多糖提取物清除效果($P<0.05$)。经计算, 康定灵芝多糖提取物对 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 值为 0.75 mg/mL, 三萜提取物对 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 值为 0.65 mg/mL, 表明康定灵芝三萜提取物对 DPPH 自由基的清除效果优于多糖提取物, 而同等浓度条件下 V_E 的清除率均在 95% 以上。

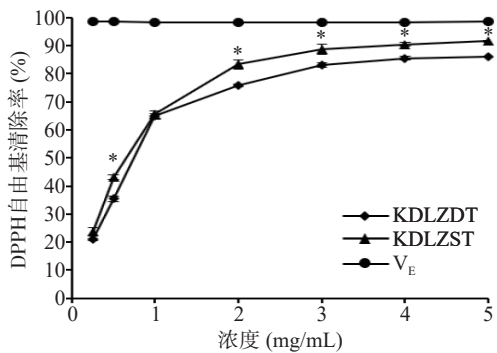


图 3 康定灵芝多糖及三萜 DPPH 自由基清除能力
Fig.3 DPPH free radical scavenging ability of Kangding *Ganoderma leucocontextum* polysaccharide and triterpenoid
注: 多糖和三萜相比, *表示差异显著, $P<0.05$; 图 4~图 7 同。

2.2.2 ABTS⁺自由基清除能力 由图 4 可知, 康定灵芝多糖及三萜提取物对 ABTS⁺自由基具有较好的清除效果, 且在一定浓度范围内呈现较好的量效关系。当样品浓度在 2 mg/mL 以下时, ABTS⁺自由基的清除率随着样品浓度的增加而迅速上升, 此后清除率随浓度变化较小。当样品浓度达到 3 mg/mL 以上时,

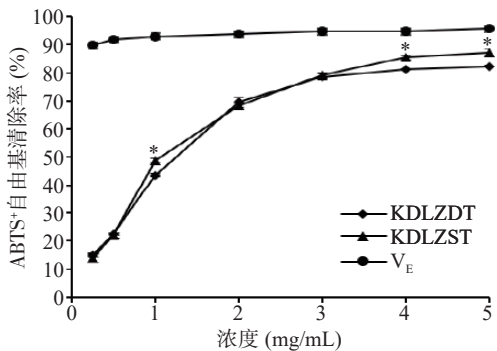


图 4 康定灵芝多糖及三萜 ABTS⁺自由基清除能力
Fig.4 ABTS⁺ free radical scavenging ability of Kangding *Ganoderma leucocontextum* polysaccharide and triterpenoid

三萜提取物对 ABTS^+ 自由基的清除率显著高于多糖提取物 ($P < 0.05$)。经计算, 康定灵芝多糖提取物对 ABTS^+ 自由基清除率的 IC_{50} 值为 1.24 mg/mL, 三萜提取物对 ABTS^+ 自由基清除率的 IC_{50} 值为 1.06 mg/mL, 表明康定灵芝三萜提取物对 ABTS^+ 自由基的清除效果优于多糖提取物, 而同等浓度条件下 V_E 的清除率均在 85% 以上。

2.2.3 总抗氧化能力评价 抗氧化剂能够通过自身的还原性将电子供给自由基而使自由基稳定, 从而失去活性。由此可根据 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的能力来间接评价提取物的抗氧化能力^[34]。由图 5 可知, 当康定灵芝多糖和三萜提取物浓度较低时, 其所对应的吸光值也较低, 此时还原力较弱。随着浓度不断增大, 吸光值增大, 还原力增强。当样品浓度为 0.25 mg/mL 时, 康定灵芝多糖和三萜提取物的总抗氧化能力无显著性差异 ($P > 0.05$), 此后随着浓度增大, 三萜提取物的总抗氧化能力均显著高于多糖提取物 ($P < 0.05$)。当浓度达到 5 mg/mL 时, 多糖和三萜提取物的吸光值分别达到 1.125 和 1.575。研究结果表明, 康定灵芝多糖和三萜提取物具有良好的抗氧化能力, 但其抗氧化能力弱于水溶性 V_E 。灵芝提取物发挥抗氧化作用的机理主要源自于两个方面, 其一为提取物分子直接作用于自由基, 多糖氢原子可以与其结合成水, 最后分解成对机体无害的产物达到清除的目的; 二为提取物分子间接作用于自由基, 通过与自由基必须的金属离子相结合, 使自由基的产生受到抑制进而达到抗氧化的效果^[35]。

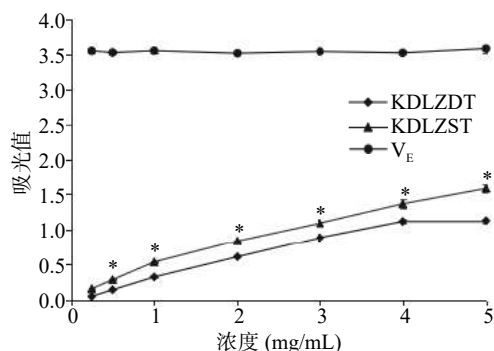


图 5 康定灵芝多糖及三萜总抗氧化能力

Fig.5 Total antioxidant capacity of polysaccharides and triterpenoids from Kangding *Ganoderma leucocontextum*

2.3 降血糖活性评价

2.3.1 α -淀粉酶活性抑制能力评价 α -淀粉酶是碳水化合物消化过程中的重要酶类, 其可以将淀粉分解为葡萄糖, 抑制其活性可降低淀粉水解为葡萄糖的速率, 延缓人体对碳水化合物的吸收, 降低餐后血糖水平, 从而减少糖尿病并发症的产生^[36]。由图 6 可知康定灵芝多糖及三萜提取物对 α -淀粉酶活性有一定的抑制作用并呈现出良好的量效关系。当浓度低于 2.5 mg/mL 时, 随着浓度的上升阳性对照阿卡波糖、康定灵芝多糖和三萜提取物对 α -淀粉酶活性的抑制

率迅速上升, 且多糖和三萜提取物的抑制效果无显著性差异 ($P > 0.05$)。此后随着浓度的增加抑制率增加缓慢。当浓度达到 10 mg/mL, 阿卡波糖、康定灵芝多糖和三萜提取物对 α -淀粉酶活性抑制率分别达到了 85.81%、63.72% 和 72.68%, 三者对 α -淀粉酶活性抑制的 IC_{50} 值分别为 0.76、1.45 和 1.44 mg/mL。由此可见康定灵芝多糖和三萜提取物对 α -淀粉酶活性抑制效果相当, 均弱于阿卡波糖。

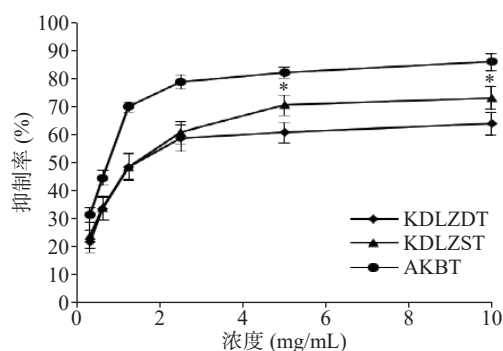


图 6 康定灵芝多糖及三萜 α -淀粉酶活性抑制能力

Fig.6 Inhibitory of α -amylase activity of polysaccharides and triterpene from Kangding *Ganoderma leucocontextum*

2.3.2 α -葡萄糖苷酶活性抑制能力评价 α -葡萄糖苷酶为调节血糖的重要靶点, 可作用于葡萄糖苷键, 释放葡萄糖, 抑制其活性能够达到降低血糖的作用^[37]。如图 7 所示, 阳性对照阿卡波糖、康定灵芝多糖和三萜提取物对 α -葡萄糖苷酶均有一定的抑制能力, 随着样品浓度不断增加, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果也不断增强。但当浓度大于 5 mg/mL 时, 抑制效果增加不显著 ($P > 0.05$)。当浓度达到 10 mg/mL 时, 康定灵芝多糖和三萜提取物对 α -葡萄糖苷酶活性抑制率分别达到了 74.62% 和 82.36%, 但二者差异不显著 ($P > 0.05$)。经分析二者对 α -淀粉酶活性抑制的 IC_{50} 值分别为 1.97 mg/mL 和 1.09 mg/mL, 表明康定灵芝三萜提取物对 α -葡萄糖苷酶活性抑制效果优于多糖提取物。有研究表明, 灵芝提取物对 α -葡萄糖苷酶底物竞争酶的相同活性位点, 对其抑制动力学表现为竞争抑制, 从而达到降血糖活性的目的^[38]。

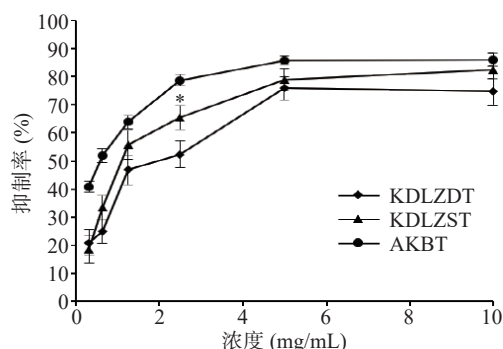


图 7 康定灵芝多糖及三萜 α -葡萄糖苷酶活性抑制能力

Fig.7 Inhibitory of α -glucosidase activity of polysaccharide and triterpene from Kangding *Ganoderma leucocontextum*

3 结论

本研究结果表明,康定灵芝含有丰富的活性物质,其多糖和三萜提取物含量分别为 1.15% 和 1.50%,高于药典规定要求,且与常见栽培品种相比也有较大的优势。多糖提取物对 DPPH 和 ABTS⁺自由基清除和抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的半数浓度分别为 0.75、1.24、1.45 和 1.97 mg/mL。三萜提取物对 DPPH 和 ABTS⁺自由基清除和抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的半数浓度分别为 0.65、1.06、1.44 和 1.09 mg/mL。说明康定灵芝具有良好的体外抗氧化、降血糖活性。此外本研究仅分析了具有代表性的三种灵芝酸含量,对于抗氧化和降血糖活性也仅在体外进行了考察,后期还需对其他数十种活性物质进行全面分析,并深入挖掘其未知的活性成分。同时还需从细胞、体内等多层面考察其抗氧化和降血糖的活性并深入探究其作用机理,为康定灵芝在抗衰老和降血糖方面的食品、药品和保健品开发提供全方位的理论基础。

参考文献

- [1] 金鑫,刘宗敏,黄羽佳,等.我国灵芝栽培现状及发展趋势[J].食药用菌,2016,24(1):33-37. [JIN X, LIU Z M, HUANG Y J, et al. Current situation and development trend of *Ganoderma* cultivation in China[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2016, 24(1): 33-37.]
- [2] 张瑞婷,周涛,宋潇潇,等.灵芝活性成分及其药理作用的研究进展[J].安徽农业科学,2018,46(3):18-19,22. [ZHANG R T, ZHOU T, SONG X X, et al. Research progress on active ingredients and pharmacological action of *Ganoderma lucidum*[J]. Anhui Agric Sci, 2018, 46(3): 18-19, 22.]
- [3] 陈君琛,翁敏劼,李怡彬.灵芝精深加工产品研发现状与展望[J].食药用菌,2016,24(6):349-352. [CHEN J C, WENG M J, LI Y B. Research and development status and prospect of *Ganoderma lucidum* intensive processing products[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2016, 24(6): 349-352.]
- [4] 魏巍,韩嘉钰,余梦瑶,等.灵芝药效成分形成的规律研究[J].中国食用菌,2017,36(3):57-59,64. [WEI W, HAN J Y, YU M Y, et al. Effective components from regularity of *Ganoderma lucidum*[J]. Edible Fungi of China, 2017, 36(3): 57-59, 64.]
- [5] WU G S, GUO J J, BAO J L, et al. Anti-cancer properties of triterpenoids isolated from *Ganoderma lucidum*: A review[J]. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2013, 22(8): 981-992.
- [6] 王赛贞,林树钱,林志彬,等.灵芝子实体胆甾醇的分离与鉴定[J].食用菌学报,2005,12(1):5-8. [WANG S Z, LIN S Q, LIN Z B, et al. Isolation and characterization cholesterol in *Ganoderma lucidum* fruitbody[J]. Acta Edulis Fungi, 2005, 12(1): 5-8.]
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:195-196. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I[S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 195-196.]
- [8] 乔英,董学畅,邱明华,等.灵芝多糖的研究概况[J].云南民族大学学报(自然科学版),2006,15(2):134-137. [QIAO Y, DONG X C, QIU M H, et al. Studies on polysaccharides from *Ganoderma lucidum*[J]. Journal of Yunnan Nationalities University (Natural Sciences Edition), 2006, 15(2): 134-137.]
- [9] 刘松照,王国凯,彭灿,等.灵芝三萜类化学成分研究[J].现代中药研究与实践,2017,31(4):41-46. [LIU S Z, WANG G K, PENG C, et al. Studies on chemical constituents of triterpenoids from *Ganoderma lucidum*[J]. Chin Med J Res Prac, 2017, 31(4): 41-46.]
- [10] XU Y, ZHANG X, YAN X, et al. Characterization, hypolipidemic and antioxidant activities of degraded polysaccharides from *Ganoderma lucidum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 706-716.
- [11] ZHANG Y, FENG Y, WANG W, et al. Characterization and hepatoprotections of *Ganoderma lucidum* polysaccharides against multiple organ dysfunction syndrome in mice[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2021: 1-13.
- [12] JIANG D, WANG L, ZHAO T, et al. Restoration of the tumor suppressor function to mutant p53 by *Ganoderma lucidum* polysaccharides in colorectal cancer cells[J]. *Oncology Reports*, 2017, 37(1): 594-600.
- [13] LI L F, LIU H B, ZHANG Q W, et al. Comprehensive comparison of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and *G. sinense*: Chemical, antitumor, immunomodulating and gut-microbiota modulatory properties[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1-12.
- [14] LI L, XU J X, CAO Y J, et al. Preparation of *Ganoderma lucidum* polysaccharide-chromium (III) complex and its hypoglycemic and hypolipidemic activities in high-fat and highfructose diet-induced pre-diabetic mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 140: 782-793.
- [15] HUANG Q, LI L, CHEN H, et al. GPP (Composition of *Ganoderma lucidum* poly-saccharides and *Polyporus umbellatus* poly-saccharides) enhances innate immune function in mice[J]. *Nutrients*, 2019, 11(7): 1480.
- [16] CHEN Y, QUE R, LIN L, et al. Inhibition of oxidative stress and NLRP3 inflammasome by saikosaponin alleviates acute liver injury in carbon tetrachloride-induced hepatitis in mice[J]. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 2020, 34: 1-11.
- [17] HUANG S, MAO J, DING K, et al. Polysaccharides from *Ganoderma lucidum* promote cognitive function and neural progenitor proliferation in mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8(1): 84-94.
- [18] XU J, WANG W H, YANG Y, et al. Effects of ethanol concentration on the extraction of triterpenoids in ganoderma lingzhi and activity of the extract against prostate cancer cells LNCaP[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(1): 155-163.
- [19] RADWAN F, HOSSAIN A, GOD J M, et al. Reduction of myeloid-derived suppressor cells and lymphoma growth by a natural triterpenoid[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2015, 116(1): 102-114.
- [20] REN L. Protective effect of ganoderic acid against the streptozotocin induced diabetes, inflammation, hyperlipidemia and microbiota imbalance in diabetic rats[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2019, 26(8): 1961-1972.
- [21] 唐明先,陈杭,罗孝贵,等.灵芝新品种康定灵芝选育研究[J].中国食用菌,2018,37(5):84-86. [TANG M X, CHEN H, LUO X G, et al. Study on breeding of *Ganoderma lucidum* new variety Kangding[J]. Edible Fungi of China, 2018, 37(5): 84-86.]
- [22] 康同辉,张一凡,解婉莹,等.超声波辅助提取灵芝三萜工艺研究[J].农业科技与装备,2017(6):41-43. [KANG T H, ZHANG Y F, XIE W Y, et al. Research on the technology extraction of the ganoderma triterpenoids by ultrasonic-assisted[J]. Agricultural Sci-

ence & Technology and Equipment, 2017(6): 41-43.]

[23] 段晓颖, 郭娇, 马秋莹, 等. 灵芝多糖提取及纯化工艺[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(1): 58-60. [DUAN X Y, GUO J, MA Q Y, et al. Extraction and purification of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2018, 29(1): 58-60.]

[24] KIM S Y, JEONG S M, PARK W P, et al. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts[J]. Food Chemistry, 2006, 97(3): 472-479.

[25] 向卓亚, 夏陈, 朱永清, 等. 贮藏时间对雅安藏茶中活性成分及其抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(11): 1-9. [XIANG Z Y, XIA C, ZHU Y Q, et al. Effect of storage time on functional ingredient and antioxidant activity of Ya'an Tibetan tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(11): 1-9.]

[26] 苏娜, 伊丽, 吉日木图. 驼乳蛋白 α -淀粉酶抑制活性肽的制备与鉴定[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 157-166. [SU N, YI L, JI R M T. Preparation and Identification of α -amylase inhibitory peptides from camel milk protein[J]. Food Science, 2020, 41(22): 157-166.]

[27] 王洁, 陈思佳, 高哲, 等. 具 α -葡萄糖苷酶抑制作用的蚕豆蛋白酶解物的制备[J]. 中国油脂, 2021, 46(9): 28-32. [WANG J, CHEN S J, GAO Z, et al. Preparation of Vicia faba proteolysate with α -glucosidase inhibition[J]. China Oils and Fats, 2021, 46(9): 28-32.]

[28] 潘俊, 刘秀薇, 石萍萍, 等. 白肉灵芝化学成分及体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(9): 340-346. [PAN J, LIU X W, SHI P P, et al. Chemical constituents and antioxidant activities *in vitro* of *Ganoderma leucocontextum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(9): 340-346.]

[29] 史俊青, 张丽萍, 杨春清, 等. 不同品种灵芝多糖含量差异研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010(13): 104-106. [SHI J Q, ZHANG L P, YANG C Q, et al. Study on polysaccharide content in two different variety of *Ganoderma lucidum*[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2010(13): 104-106.]

[30] 陈凌华, 程祖铎, 许明, 等. 53种不同来源灵芝子实体多糖含量差异研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2017, 33(3): 86-91. [CHEN L H, CHENG Z X, XU M, et al. Comparative study on the contents of polysaccharides from 53 different *Ganoderma* strains' fruiting bodies[J]. Natural Science Journal of Harbin Normal University, 2017, 33(3): 86-91.]

[31] 闫梅霞, 郑斯文, 张瑞, 等. 松杉灵芝多糖含量测定[J]. 特产研究, 2017, 39(3): 39-42. [YAN M X, ZHENG S W, ZHANG R, et al. Determination of polysaccharide content in the *Ganoderma tsugae* Murr.[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2017, 39(3): 39-42.]

[32] 付立忠, 吴学谦, 李明焱, 等. 灵芝不同生长发育期粗多糖和三萜含量变化规律[J]. 食用菌学报, 2008, 15(3): 47-50. [FU L Z, WU X Q, LI M Y, et al. Crude polysaccharide and triterpene Content of *Ganoderma* fruit bodies at different stages of development[J]. Acta Edulis Fungi, 2008, 15(3): 47-50.]

[33] 梁锐, 冯娜, 张劲松, 等. HPLC测定灵芝子实体水提物及相关产品中三萜的含量[J]. 菌物学报, 2022, 41(2): 309-317. [LIANG R, FENG N, ZHANG J S, et al. Determination of triterpenoids in *Ganoderma lingzhi* fruiting body water extract and related products by HPLC[J]. Mycosystema, 2022, 41(2): 309-317.]

[34] 张春梅, 宋海, 魏生龙. 荷叶离褶伞菌丝体多糖的提取及还原力的研究[J]. 中国食用菌, 2012, 31(6): 44-48. [ZHANG C M, SONG H, WEI S L. Study on the extraction and ferric-reducing antioxidant power of polysaccharide of *Lyophyllum decastes*[J]. Edible Fungi of China, 2012, 31(6): 44-48.]

[35] 苗元振, 张红燕, 薛宏伟, 等. 食药真菌多糖抗氧化作用研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(S1): 30-33. [MIAO Y Z, ZHANG H Y, XUE H W, et al. Research progress of antioxidative activities of edible and pharmaceutical fungi polysaccharides[J]. Biotechnology Bulletin, 2008(S1): 30-33.]

[36] 何志贵, 徐祥林, 崔莹莹, 等. 三叶青原花青素纯化工艺及抗氧化、 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 178-185. [HE Z G, XU X L, CUI Y Y, et al. Study on purification process and antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity of proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 178-185.]

[37] 仇昊, 田莉, 谢荣, 等. 白肉灵芝活性成分及其生物活性研究进展[J]. 贵州科学, 2021, 39(3): 32-36. [QIU H, TIAN L, XIE R, et al. Research progress in active components and biological activities of *Ganoderma leucocontextum*[J]. Guizhou Science, 2021, 39(3): 32-36.]

[38] 滕宝松. 灵芝有效降糖组分的筛选及降血糖机理研究[D]. 上海: 复旦大学, 2011: 81-83. [TENG B S. An efficient hypoglycemic fraction screened from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* (Fr.) karst and its antihyperglycemic mechanism *in vivo* [D]. Shanghai: Fudan University, 2011: 81-83.]