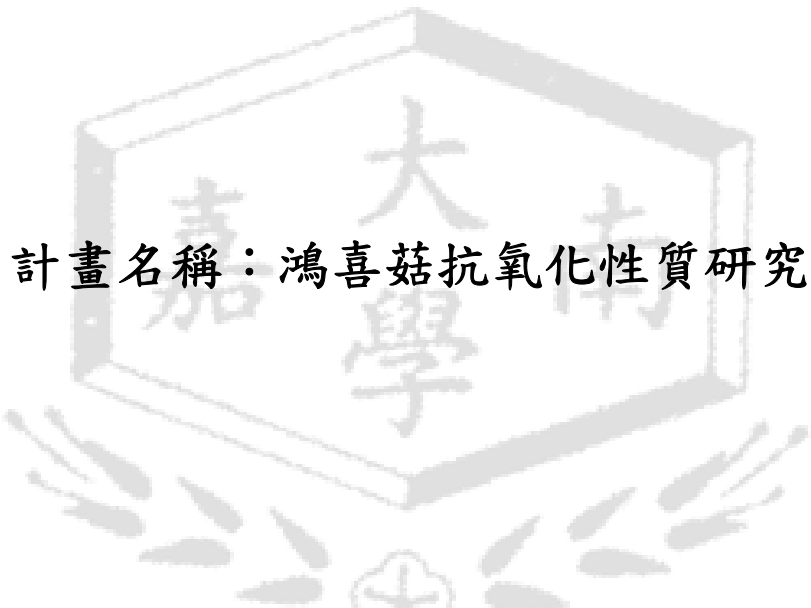


嘉 南 藥 理 科 技 大 學

教師研究計畫報告

計畫編號：CNAL9502



計畫名稱：鴻喜菇抗氧化性質研究

執行單位：生活應用與保健系

計畫主持人：顏名聰 助理教授

執行期間：95.2.1~95.12.31

摘 要

本研究係針對鴻喜菇[*Hypsizigus marmoreus* (Peck.) Bigelow]子實體進行抗氧化性質之測定。

在萃取率方面，熱水草（HWE）之萃取率為 44.74%，在抗氧化力（共軛雙烯法）檢測方面，萃取物在 20 mg/ml 下，HWE（89.37%）。在 10 mg/ml 下，HWE、BHA 和 α -tocopherol 之還原力皆大於 1.00。在 10 mg/ml 下，捕捉 DPPH 自由基能力分別為 HWE（69.57%）、BHA（74.38%）、 α -tocopherol（70.46%）和抗壞血酸（39.44%）。在 5 mg/ml 下，HWE 螯合亞鐵離子能力可達到約 91.37%。

關鍵字：鴻喜菇、抗氧化性質、熱水草萃取物

Abstract

This research used *Hypsizigus marmoreus* (Peck.) Bigelow fruit bodies to study the antioxidant properties of hot-water extracts from *Hypsizigus marmoreus* fruit bodies.

Antioxidant properties of *H. marmoreus* fruit bodies were studied in the form of hot-water extracts. The antioxidant activity (89.37%) at 20 mg/ml. The reducing powers of hot-water extracts were 1.00 at 5 mg/ml for *H. marmoreus* fruit bodies. The hot-water extracts from *H. marmoreus* fruit bodies scavenged 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals by 69.57% at 10 mg/ml. At 10 mg/ml, chelating effects on ferrous ions were in the order of hot-water extract (91.37%).

Keywords: *Hypsizigus marmoreus*, antioxidant properties, hot-water extracts

目 錄

一、前言.....	4
二、文獻整理.....	5
三、材料與方法.....	14
四、結果與討論.....	17
五、參考文獻.....	27



一、前言

菇類一般來說具有三項食品機能：一次機能（營養特性）、二次機能（嗜好特性）、三次機能（生理特性）（賴，1997）。在一次機能方面，菇類為低脂質、高蛋白質的食物，被西方學者封上「蔬菜牛排」之美譽（Chang and Miles, 1989a）。在二次機能方面，菇類具有豐富的鳥苷酸（5'-GMP）、肉苷酸（5'-IMP）等核苷酸，以及加上麩胺酸、琥珀酸、蘋果酸和游離糖的調和，造就了菇類的美味。在三次機能方面，菇類多醣萃取物具有抗腫瘤活性、免疫增強、抗炎症作用（Wang *et al.*, 1995）、降血糖作用、降膽固醇作用（Yang and Jong, 1989）、抑制愛滋病毒作用（Mizuno *et al.*, 1995）。因此，菇類逐漸作為健康食品，甚至可開發藥用功能。

近年來脂質氧化作用在人體內造成的影響逐漸受到重視，因為脂質氧化促進食品品質的劣變，此外伴隨著脂質氧化所產生裂解的產物，如膽固醇氧化產物、脂肪酸過氧化物、丙二醛（malondialdehyde, MDA）與其他二級裂解產物等複雜脂質氧化產物或衍生物具有血管毒性（angiotoxic）、細胞毒性（cytotoxic）、致癌性（carcinogenic）及致粥瘤性（atherogenic）等。因此脂質氧化的防止及其與健康和營養間的關係已成為對於脂質研究的一個重要部分。有研究提出食藥用菇類可為提供抗氧化物之來源（Okamura, 1994；Jacobson *et al.*, 1995），因此食藥用菇類之抗氧化性質更值得加以探討。

鴻喜菇[*Hypsizigus marmoreus* (Peck) Bigelow]為自日本引進之新興高級食用菇類，含高蛋白、高纖維、低糖及低脂，美味可口和特殊咬感，已深受消費者之喜愛，針對生理活性而言，由學者研究指出鴻喜菇具有抑菌作用（Lam & Ng, 2001）及抗腫瘤活性（Wasser, 2002）。但對鴻喜菇之抗氧化性質方面的研究則未見相關報導。

因此，本論文擬評估鴻喜菇子實體之抗氧化性質，以便能對鴻喜菇之三次機能性有更進一步之瞭解，提供推廣應用之參考。

二、文獻整理

一、鴻喜菇的介紹

中國自古以來就有「醫食同源，藥食同根」觀念，乃攝取某些食品以提高自身免疫力達到治病或養身效果。因此如何從多種中藥或食品中得到有效抗癌成分，以製造保健食品或抗癌新藥，將是目前及未來的研究趨勢。

菇類為人們所食用之農產品，因含有豐富的膳食性纖維、蛋白質、維生素和礦物質，加上熱量低、脂肪少，故常是作為良好的健康素材，依其用途分成食用菇和藥用菇兩大類，如鴻喜菇、香菇、柳松菇、金針菇和草菇等食用菇及靈芝、冬蟲夏草、樟芝和茯苓等藥用菇類。

近年來有學者，將食藥用菇類分成三種食品機能性（賴，1997；Mizuno *et al.*, 1995），特性如下：

（1）營養特性（一次機能性）：

新鮮食用菇有 80~90% 水分，乾物中以蛋白質或碳水化合物為主。菇類的蛋白質約為蔬果之 3~6 倍，營養成分大致介於肉類和果蔬之間。菇類的脂質約佔乾重的 1.1~8.3%，主要由非飽和脂肪酸所構成，其中以亞麻油酸佔大部分（Chang and Miles, 1989a）。菇類的膳食性纖維來自其細胞壁多醣類組成（Cheung, 1996），如 β -葡聚糖（ β -glucans）、甘露聚糖（mannans）及幾丁質（chitin）等（Bartnicki-Garcia, 1968）非澱粉性多醣。

（2）嗜好特性（二次機能性）：

人們對食物之喜好，一般是指此食物的色、香、味及咀嚼感有關，菇類具有豐富的鳥苷酸（GMP），肉苷酸（IMP）等核苷酸，以及加上麩胺酸（glutamic acid）、琥珀酸（succinic acid）、蘋果酸（malic acid）等游離胺基酸、有機酸和游離糖的調和，造就了菇類的美味。

（3）生理特性（三次機能性）：

菇類因低熱量、特殊的香味、鮮味和口感而大受歡迎，且具有營養及

藥用價值 (Breene, 1990; Sakagami *et al.*, 1991)，目前已知菇類萃取物具有抗腫瘤、增強免疫、抗癌作用 (Wang *et al.*, 1995)、降低血糖、血壓、膽固醇 (Yang *et al.*, 1989) 及抗血栓、愛滋病毒作用等 (Mizuno *et al.*, 1995)。近年來許多研究指出菇類多醣能有效抑制腫瘤細胞生長，依菇類個別來源不同，分成子實體、菌絲體及發酵濾液，由參考表一可瞭解不同來源抗腫瘤多醣 (Mizuno *et al.*, 1995)。

因此，菇類之藥用價值開發已成為現今熱門之研究主題，在菇類的營養、嗜好機能外更增添了生理活性之機能。

以下就本論文之鴻喜菇作介紹：

鴻喜菇 [*Hypsizigus marmoreus* (Peck.) Bigelow] 如參考圖一，在日本已栽培許多年並不斷的向外推廣，長期以來被視為高級之食品，近幾年由日本引進，為國內最近所發展之新興菇類之一，栽培於南投縣一帶。因其富含高蛋白、高纖維、低糖及低脂，美味可口和特殊咬感已深受消費者喜愛。

在分類學上，鴻喜菇係屬於菌類界，真菌門 (*Eumycota*)、擔子菌亞門 (*Basidiomycotina*)、層菌綱 (*Hymenomycetes*)、傘菌目 (*Agaricales*)、白蘑科 (*Tricholomataceae*)、斑玉蕈 (*Hypsizigus marmoreus*) (卯，2000) 又稱松茸菇、榆茸。

近幾年來鴻喜菇於抗癌等生理活性之相關研究有：

(1) 抑菌作用

由鴻喜菇中分離出一種分子量為 20 kDa 的蛋白質 (hypsins)，能抑制多種真菌菌絲生長，包括 *Mycosphaerella arachidicola*, *Physalospora piricola*, *Fusarium oxysporum*, and *Botrytis cinerea* (Lam *et al.*, 2001)。



參考圖一、鴻喜菇子實體之圖片（來自南投縣鴻喜農場）

Reference figure 1. The picture of *Hypsizigus marmoreus* fruit bodies.

(2) 抗腫瘤作用

(a) 由鴻喜菇的水萃取物中分離出四種多醣類，其中之一經化學分析證實為 β -(1 $\rightarrow$ 3)-glucan，此物質對 sarcoma 180 腫瘤的生長具有強力抑制之效果 (Ikekawa *et al.*, 1992)。

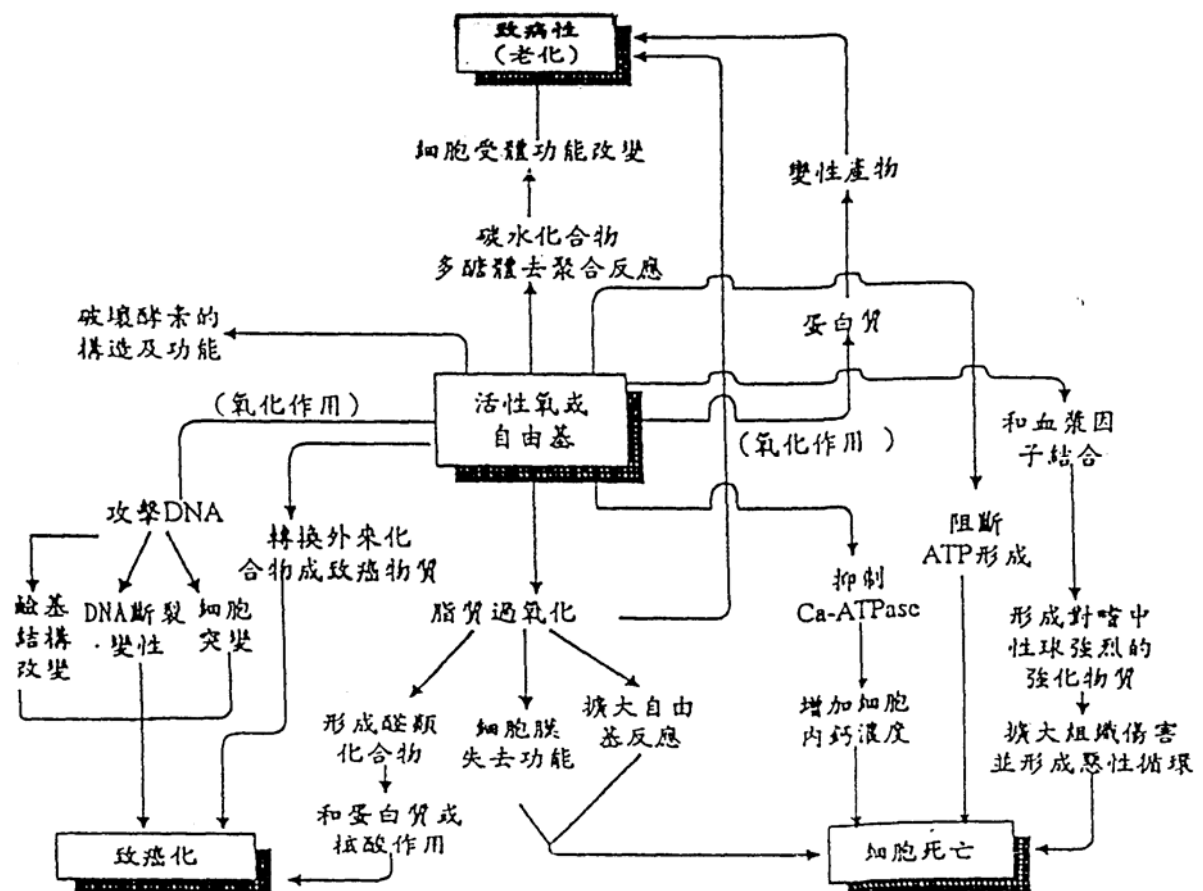
(b) 由 Tsuchida (1995) 等人研究指出由鴻喜菇分離出一種分子量為 23 kDa 的 type V collagen-binding protein，其會抑制鼠肺癌細胞 (Lewis lung carcinoma cells) 的貼附性。

(c) 另外鴻喜菇中分離出蛋白質 (hypsins) 能抑制鼠白血病細胞、人類白血病細胞及人類肝癌細胞的增殖；而 hypsin 在 100°C 沸水中加熱 10 分鐘仍能維持 60% 的抑制癌細胞生長活性 (Lam *et al.*, 2001)。

(d) 鴻喜菇 4°C 冷水萃取物有直接抑制人類白血病 U937 生長效果，濃度於 200 g/ml 及 400 g/ml 抑制效果高達 85.5% 及 92.5% (歐, 2001)。其冷水萃取物以 100% 硫酸銨沉澱處理後，在 25 g/ml 下，抑制 U937 細胞生長率高達 86% 以上 (徐, 2002)。

二、抗氧化性質

近年來有越來越多的研究指出，促使脂質過氧化的自由基及經由脂質過氧化產生的自由基，其不僅會攻擊細胞膜、細胞組成及危害細胞核內基因物質之外，它們還與許多疾病的生成有著密切的關係。關於食藥用菇類抗氧化性質方面之研究，如一般食藥用菇 (如特產菇-舞菇和猴頭菇、商業用菇-金針菇和香菇及藥用菇-雲芝和赤芝) (林, 1999)、樟芝及姬松茸 (黃, 2000)、木耳類 (趙, 2001)、柳松菇、靈芝和靈芝茸 (蔡, 2002) 等菇類之萃取物評估其具有抗氧化性質及成份。有關植物成分中抽出具有強抗氧化性之天然抗氧化物質則以多種形式存在於植物中 (Larson, 1988; Ramaratham *et al.*, 1988)。



參考圖二、自由基對細胞與生物巨分子之傷害

Reference figure 2. Free radicals induce cell and macromolecules damage (施與呂，1989)

因此，脂質氧化產物不論是經由體內脂質過氧化而產生或是藉由膳食攝入，對人體都會造成許多不良的影響。這些包含膽固醇氧化產物、脂肪酸過氧化物、丙二醛（malondialdehyde, MDA）與其他二級裂解產物等複雜脂質氧化產物或衍生物具有血管毒性（angiotoxic）、細胞毒性（cytotoxic）、致癌性（carcinogenic）及致粥瘤性（atherogenic）等（參考圖二）。所以，防止食品及體內脂質過氧化的發生，對人體健康而言是一不可輕忽的問題。

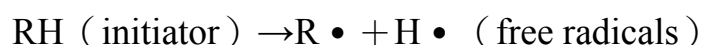
（一）脂質之氧化反應

脂質自氧化反應是由於不飽和脂肪酸或含不飽和脂肪酸之油脂因輻射作用、助氧化劑或酵素之存在，而促使其與氧分子結合後，進行一序列之化學反應而造成食品之劣變（張，1995）。脂質自氧化生成氫過氧化物

（hydroperoxide），再經氧化裂解作用後生成醛、酮及形成聚合物，其中一種自由基連鎖反應（free radical chain reaction）。其整個反應機構可分為三個階段（Fennema, 1996）：

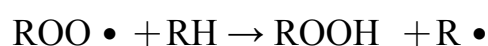
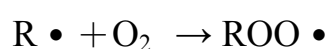
（1）起始期（initiation stage）

含不飽和雙鍵脂碳氫化合物受到其他化學活性物質之作用，而移去氫原子並形成一自由基，此階段較慢，屬於自氧化反應中之決定步驟（Frankel, 1984）。起始反應的產生常須藉由光、熱、金屬催化、單重態氧（singlet state oxygen, $^1\text{O}_2$ ）及脂質自由基（allyl radicals）及脂質過氧化自由基（peroxyl radicals）等高能物質作起始劑（initiator）。



（2）連鎖生長期（propagation stage）

此階段之反應包含一系列過氧化自由基及新自由基之生成。



（3）終止期（termination stage）

此反應階段中，兩個自由基相互作用產生非游離基之產物而致使反應終止。



其中，RH 表示為不飽和脂肪酸 (unsaturated fatty acid)， $R \cdot$ 及 $ROO \cdot$ 皆表示反應所生成之自由基。不飽和脂肪酸之氧化速度，隨著雙鍵與活性甲烯基 (methylene) 數增加而急速增加，依 Witting (1975) 報告中指出，-生育醇對油酸、亞麻油酸及次亞麻油酸氧化速度之比約為 2~3:70:140，而飽和脂肪酸雖亦會自氧化，但其速度極慢，尚不及油酸之 1/10。

經由自氧化所生成之氫過氧化物，會繼續氧化裂解而生成醇、醛、酮和酸類低分子量化合物 (Fennema, 1996)，使油脂產生令人不悅之氣味，因而降低油脂及含油脂食品之商品價值，同時因氧化產物之聚合物而可能產生有害物質。

(二) 誘發脂質氧化之重要因子

脂質的氧化反應主要是由於不飽和脂肪酸受攻擊而導致的。然而，氧與脂質之間的反應，必須經由脂質的開始反應先形成自由基或是藉由活性氧 (active oxygen) 直接作用在脂質分子上，才會發生氧化反應，或是起因於金屬離子的促氧化作用、光氧化作用及酵素性過氧化作用等。

(1) 活性氧與自由基

氧是維持生命所需的基本物質，而氧化與還原則是生物體內代謝所必經的反應。在大氣中氧是以安定的三重態氧 (3O_2) 存在，活性氧則是指反應性較三重態氧分子強之含氧分子。狹義的活性氧包括氧分子在正常的呼吸作用下所產生之超氧陰離子 ($\cdot O_2^-$)、過氧化氫 (H_2O_2) 和羥自由基 ($\cdot OH$)，以及氧分子受到光或敏感劑激發所形成的單重態氧 (1O_2)。而廣義的

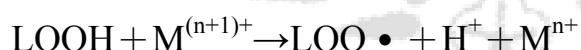
活性氧則包含了其它含氧的高反應性分子。許多活性氧亦屬於自由基，參考表四為數種氧衍生物之自由基例子。活性氧和自由基會經由生物性和環境性過程形成，並引起連鎖反應而形成更多的自由基（Jacob, 1994）。

（2）金屬離子

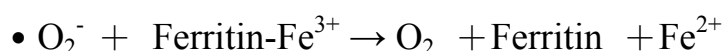
脂質氧化的起始反應亦可直接藉由金屬離子的催化而發生，其反應式如下（Gordon, 1990）：



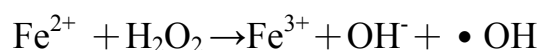
金屬離子會催化氫過氧化物促使其分解，此已被認為是產生脂質自由基的主要來源。鐵、銅等金屬離子於低氧化狀態時（ M^{n+} ）會與 LOOH 反應使其分解成 $LO \cdot$ 與 OH^- ，而本身氧化成高氧化狀態的金屬離子（ $M^{(n+1)+}$ ）。而這些高氧化狀態金屬離子（ $M^{(n+1)+}$ ）又會再與 LOOH 反應，將之分解為 $LOO \cdot$ 與 H^+ ，本身則又還原為低氧化狀態（ M^{n+} ）。如此藉由下列之循環是反應，只要少量的金屬離子便可有效的產生自由基，並加速脂質氧化的進行（Shahidi and Wanasundara, 1992）。



此外，金屬離子亦可催化氧分子使其形成超氧陰離子或進一步形成單重態氧，而促使脂質的氧化。活性氧和自由基對生物體的許多傷害是始於其與金屬離子反應所致。如人體中的鐵是以與蛋白質結合狀態存在，然而超氧陰離子會攻擊蛋白質 ferritin 使其釋出鐵，並還原為二價鐵離子：



其他形式如血紅素中的鐵對 $\cdot O_2^-$ 之攻擊雖較具抵抗性，但會受到 H_2O_2 攻擊破壞血紅蛋白而釋出鐵。所生成自由態的亞鐵離子若與 H_2O_2 反應，則會形成高反應性的 $\cdot OH$ ，繼而攻擊生物體分子：



(3) 光氧化作用

單重態氧 ($^1\text{O}_2$)，是一種能量高且反應性強的分子，其可直接攻擊不飽和脂肪酸，使其進行不同於自由基連鎖反應機制的脂質氧化作用。但有氧分子 ($^3\text{O}_2$) 轉變成單重態氧，須藉由特定的途徑才可能會發生。其中肇因於光與光感物質 (Sensitizer) 的作用，此種藉由光增感作用 (photosensitization) 而導致脂質氧化的反應稱為光氧化作用 (Foote, 1995)。

(4) 酵素性過氧化作用 (Mack *et al.*, 1987)

與酵素性過氧化作用相關之酵素主要以脂加氧酶 (lipoxygenase) 為主，其廣泛分布於豆科植物的種子、蘿蔔汁、馬鈴薯汁、小麥、大麥、*Aspergillus* 屬之黴菌、動物組織中的白血球、血小板及肌肉中微粒體系統內等，為人體中將花生四烯酸代謝為前列腺素之重要酵素。

脂加氧酶只對在 $\text{C}_6\sim\text{C}_{10}$ (由 methyl 端算起) 含有 cis-cis1,4-pentadiene ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$) 的不飽和脂肪酸作用，將其一面使之共軛化 (conjugation)、異構化 (isomeration)，同時使之發生自由基而生成過氧化物。亦即此酵素對於油酸一般之單類乙醇酸 (monoethanoid acid) 並不作用，但卻會與亞麻油酸、次亞麻油酸及花生四烯酸等多元不飽和脂肪酸作用，使之生成 cis-或 trans-異構化共軛過氧化物。

三、材料與方法

一、實驗材料

1. 鴻喜菇

鴻喜菇 [*Hypsizigus marmoreus* (Peck.) Bigelow] 子實體係由購自漣成商行。

二、實驗方法

(一) 鴻喜菇樣品之製備

1. 鴻喜菇子實體粉末製備：

鴻喜菇之新鮮子實體，經冷凍乾燥 (KINGMECH FD50L-8S, Taiwan)，再以粉碎機粉碎即得凍乾之子實體粉末。

2. 鴻喜菇熱水萃取物製備：

精稱樣品 10 g，倒入 250 ml 錐形瓶中，加入 100 ml 去離子水，沸水加熱 10 分鐘，以轉速 7000 rpm 離心 10 min，並以 Whatman No.1 濾紙抽氣過濾，所得濾渣再以同樣條件萃取收集二次之濾液，進行冷凍乾燥 (KINGMECH FD50L-8S, Taiwan)，得到冷凍乾燥之萃取物粉末，再以去離子水定溶成一定濃度後，將所得之萃取物儲存於 4°C 下以備用。

(二) 鴻喜菇子實體熱水萃取物之抗氧化性質分析

1. 抗氧化力測定 (共軛雙烯法) (Lingnert *et al.*, 1979)：

取不同濃度 0.1 ml 鴻喜菇子實體之熱水萃取物，加入 2 ml 0.01M linoleic acid solution (溶於 pH 6.6 0.2 M phosphate buffer)，混合均勻後，置於 37°C 水浴 15 hrs 作用後以冰浴冷卻。於 0 及 15 小時，分別取出 0.2 ml，加入 80% 甲醇 8 ml，測 234 nm 之吸光值，不添加樣品作為空白組，並以 Ascorbic acid、BHA 及 α -Tocopherol 作為樣品的對照組。由 0 小時與 15 小時吸光值差值判定，吸光值相差值愈低者，表示測試樣品之抗氧化能力愈強，亦可以抑制

過氧化百分比表示，即抑制率愈高抗氧化效果愈佳。

$$\text{共軛雙烯化合物抑制率} = \{1 - [\Delta A_{234 \text{ nm}} \text{ sample (0 hr-15 hr)} / \Delta A_{234 \text{ nm}} \text{ control (0 hr-15 hr)}]\} \times 100$$

2. 還原力測定 (Oyaizu, 1986) :

取 2.5 ml 鴻喜菇子實體之熱水萃取物，加入 2.5 ml 0.2 M pH 6.6 phosphate buffer 及 2.5 ml 1% 赤血鹽 (potassium ferricyanide, PFC)，於 50°C 水浴作用 20 分鐘後快速冷卻，再加入 2.5 ml 10% trichloroacetic acid (TCA) 溶液，混合後以 3000 rpm 離心 10 min，取其上清液 5 ml，並加入 5 ml 蒸餾水及 1 ml 0.1% ferric chloride 溶液混合均勻，於 10 分鐘反應後以分光光度計測定 700 nm 之吸光值，並以 ascorbic acid、BHA 及 α -tocopherol 作為樣品的對照組。吸光值愈高表示還原力愈強。

3. 捕捉 1,1-二苯基-2-苦味肼基團 (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, DPPH) 能力測定 (Shimada *et al.*, 1992) :

取 4 ml 鴻喜菇子實體之熱水萃取物，加入 1 ml 新鮮配製之 10 mM DPPH-MeOH 溶液，經均勻混合後反應 30 分鐘，以分光光度計測其 517 nm 之吸光值，並以 ascorbic acid、BHA 及 α -tocopherol 作為樣品的對照組。吸光值愈低表示捕捉能力愈強。

$$\text{Scavenging effect (\%)} = [(A_{517 \text{ nm}} \text{ of control}) - (A_{517 \text{ nm}} \text{ of sample}) / (A_{517 \text{ nm}} \text{ of control})] \times 100$$

4. 螯合亞鐵離子測定 (Dinis *et al.*, 1994) :

取 1 ml 鴻喜菇子實體之熱水萃取物，加入 3.7 ml 甲醇及 0.1 ml 2 mM $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ，經 30 秒作用後再加入 0.2 ml 5 mM ferrozine，在室溫下反應 10 分鐘後立即以分光光度計測其在 562 nm 的吸光值，並以 citric acid 及 EDTA 作為樣品的對照組。吸光值愈低表示螯合金屬離子之能力愈強。

$$\text{Chelating effect (\%)} = [(A_{562 \text{ nm}} \text{ of control}) - (A_{562 \text{ nm}} \text{ of sample}) / (A_{562 \text{ nm}} \text{ of control})] \times 100$$

（四）統計分析

本研究之實驗數值均為三重複，所得之數據以 Statistical Analysis System (2000) 軟體進行統計分析，以 ANOVA 程序作變異分析，並且以 Duncan's multiple range tests 作平均值顯著性差異之比較。



四、結果與討論

本研究以鴻喜菇子實體進行熱水萃取所得之萃取物，進行抗氧化性質之評估。

一、鴻喜菇子實體熱水萃取物之抗氧化性質

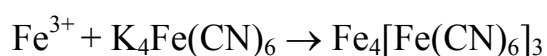
1. 鴻喜菇子實體熱水萃取物之抗氧化力 (Conjugated diene method, AOA)

本實驗以測定樣品生成之共軛雙烯鍵 (AOA 法) 來評估樣品之抗氧化力，於不飽和脂肪酸 (如亞麻油酸) 氧化初期會因脫氫作用而形成自由基，此自由基再經分子內重排而產生共軛雙烯鍵 (Lingnert *et al.*, 1979)，共軛雙烯化合物可經由測定最大吸收波長 234 nm 之吸光值而得其生成量，用以判定測試樣品是否與自由基結合，而降低共軛雙烯化合物生成，吸光值愈低表示其抗氧化能力愈強，或以抑制過氧化百分比表示，即其抑制率愈高抗氧化效果愈佳。

鴻喜菇熱水萃取物 (HWE) 在 5.0 mg/ml 即有 47.31% 之抗氧化力 (表二)，且隨著濃度增加而增加，其抗氧化力在 20 mg/ml 達到最高，為 89.37%。

2. 鴻喜菇子實體熱水萃取物之還原力

還原力以測定普魯士藍 (prussian blue, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$) 生成量為指標，藉由赤血鹽 (potassium ferricyanide, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) 還原成黃血鹽 ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$) 後，再與三價鐵離子作用生成普魯士藍，藉由 700 nm 吸光值的變化來測定還原力大小 (Oyaizu, 1986)。其吸光值愈高表示還原力愈強。



Philosoph-Hades 等 (1994) 研究發現 watercress、parsley 和 sage 的抗氧化性與其本身所具有的還原力 (reducing capacity) 有關，亦即還原力對

表一、鴻喜菇子實體熱水萃取物之萃取率

Table 1. Extraction yield of hot water extracts from *Hypsizigus marmoreus* fruit bodies

Extraction yield ^a (% , w/w)	
Hot water	44.74±0.20

^a Extracted from air-dried materials. Each value is expressed as mean ± SE (n = 3).



表二、鴻喜菇子實體萃取物之抗氧化能力

Table2. Antioxidant activity of extracts from *Hypsizigus marmoreus* fruit boidies

Amount (mg/ml)	Antioxidant activity (%)			
	HWE ^a	Ascorbic acid	BHA	α -Tocopherol
0.1	5.55±0.41D ^b	17.58±0.64C	99.21±0.87A	81.29±0.14B
0.5	7.617±1.24D	38.95±1.14C	97.24±0.23A	83.48±0.98B
1.0	17.21±1.04D	42.87±0.83C	95.46±0.05A	86.47±0.33B
5.0	47.31±1.41D	61.44±1.27C	96.84±0.39A	87.51±0.53B
10.0	81.42±1.25D	84.40±1.42C	97.02±1.63A	86.77±0.99B
20.0	89.37±0.79C	104.89±0.25A	101.74±0.96B	87.32±1.21D

^a HWE: hot-water extract.

^b Each value is expressed as mean $\pm$ SE (n = 3). Means with different letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

其抗氧化性有某種程度的貢獻。Meir 等 (1995) 指出天然藥用植物中的還原性物質 (morin、ferulic acid、kaempferol 和 glutathione)，可以明顯抑制由活性氧所造成植物細胞衰老的現象。

鴻喜菇熱水萃取物隨著濃度上升趨勢較為緩和。在 20 mg/ml 時熱水萃取物之還原力為 1.04 (表三)，其中以 BHA 和 α -生育醇之還原力最佳，在 0.5 mg/ml 時即大於 1.00。而抗壞血酸在 0.5~20 mg/ml，還原力維持在 0.9~0.99。

Pitotti 等人 (1995) 發現 Maillard reaction products (MRP) 之抗氧化性可能與其所含之還原酮 (reductone) 的還原力具相關性。故可能鴻喜菇含有還原酮相關成分，為電子之供應者，使自由基轉變為較穩定的產物，而減少自由基的傷害，至於明確機制需進一步去探討。

3. 鴻喜菇子實體熱水萃取物捕捉 1,1-二苯基-2-苦味肼基團 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 之能力

在油脂自氧化過程中，於起始期間 (induction period) 會產生 alkyl 自由基，且在增值期間 (propagation period)，會形成氫過氧化物及過氧化自由基，當兩個自由基相互結合時，連鎖反應便宣告終止 (翁及顏，1997)。

抑制油脂氧化之抗氧化劑，通常是藉由提供氫來捕捉油脂之過氧化自由基，故使用 DPPH ($C_{18}H_{12}N_6O_5$) 來檢測抗氧化劑提供氫之能力 (Shimada *et al.*, 1992)。因 DPPH 是一種很穩定的自由基，常作為電子順磁共振 (Electron paramagnetic resonance, EPR) 光譜的測定之用。實驗所採用之 DPPH-甲醇溶液在 517 nm 下有強的吸光效果，但若被抗氧化劑 (AH) 還原或與另外一個自由基結合時，將使吸光值降低 (Brand-Williams *et al.*, 1995)，由此判斷樣品捕捉 DPPH 自由基之能力。

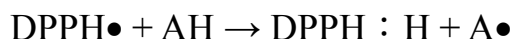
表三、鴻喜菇子實體熱水萃取物之還原力

Table 3 . Reducing power of extracts from *Hypsizigus marmoreus* fruit boidies

Amount (mg/ml)	Reducing power (Absorbance at 700 nm)			
	HWE ^a	Ascorbic acid	BHA	α -Tocopherol
0.1	0.00±0.01C ^b	0.92±0.02A	0.93±0.01A	0.51±0.04B
0.5	0.18±0.01D	0.99±0.00AB	0.97±0.02C	1.01±0.00A
1.0	0.36±0.01C	0.89±0.01B	1.01±0.02A	1.01±0.01A
5.0	0.38±0.00D	0.99±0.02C	1.21±0.04A	1.09±0.01B
10.0	1.00±0.01B	0.98±0.01BC	1.12±0.00A	1.00±0.00B
20.0	1.04±0.01BC	0.99±0.02CD	1.17±0.03A	1.01±0.01C

^a HWE: hot-water extract.

^b Each value is expressed as mean $\pm$ SE (n = 3). Means with different letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).



(violet) (decolorized)

鴻喜菇熱水萃在 20 mg/ml 之 DPPH 清除率為 71.17 % (表四)。而 BHA 及 α -生育醇在 0.1 mg/ml 時，分別有 74.27 及 68.54%，且呈現穩定清除能力。因抗氧化劑捕捉 DPPH 是以提供氫之形式，可得知鴻喜菇萃取物可提供氫來阻止油脂自氧化連鎖反應，其良好之抗氧化性亦可能來自於對自由基的捕捉能力。

Brand-Williams 等 (1995) 使用 DPPH 檢測一些酚酸及其衍生物質的抗自由基活性 (antiradical activities) 提出三種假說，他認為對於清除自由基 (DPPH) 能力較強的酚類抗氧化物質是因為 (1) 苯環鄰位位置上有取代基可以提供第二個氫給 DPPH 自由基，像 BHT、zinferone 等可能可以提供第二個氫給 DPPH 自由基。(2) Phenoxyl radicals 可以形成二聚物 (dimer)，繼續提供氫給 DPPH 自由基。(3) Phenoxyl radicals 可和 DPPH 自由基形成複合物 (complex)。此外，若苯環上有拉電子基 (withdrawing group)，則清除 DPPH 自由基能力較差，若在鄰位及對位上有釋放之電子基，則清除 DPPH 自由基能力較佳。抗氧化劑本身如有兩個以上羥基 (hydroxyl group) 且第二個羥基在鄰位或對位上，其捕捉能力會比在間位者佳。

表四、鴻喜菇子實體熱水萃取物捕捉 1,1-二苯基-苦味肼基團自由基之能力
 Table 4. Scavenging effect of extracts from *Hypsizigus marmoreus* fruit boidies
 on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals

Amount (mg/ml)	Scavenging effect (%)			
	HWE ^a	Ascorbic acid	BHA	α-Tocopherol
0.1	0.69±0.31D ^b	33.13±1.17C	74.27±6.24A	68.54±0.72B
0.5	17.41±1.68D	35.17±0.14C	75.55±0.44A	70.12±0.04B
1.0	19.12±0.56D	40.74±1.09C	75.24±1.20A	72.18±0.71B
5.0	54.31±0.45C	40.10±1.75D	77.44±0.67A	75.82±1.04B
10.0	69.57±1.08B	39.44±0.33C	74.38±0.24A	70.46±0.87B
20.0	71.17±1.28BC	42.37±0.46D	75.27±0.27A	72.77±1.17B

^a HWE: hot-water extract.

^b Each value is expressed as mean ± SE (n = 3). Means with different letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

4. 鴻喜菇子實體熱水萃取物螯合亞鐵離子之能力

鐵 (Fe) 及銅 (Cu) 離子為人體所需之元素，其與呼吸鏈上之酵素、氧氣運輸、NO 之生成及相關的氧化還原反應有關。然而這些金屬離子卻具有潛在的危險性。它們能夠轉移一個電子 (e^-) 而催化自氧化反應 (例如：多巴胺及抗壞血酸的氧化) 及促使脂質過氧化物 (lipid peroxides) 裂解產生 peroxy ($LOO\cdot$) 及 alkoxyl ($ROO\cdot$) 自由基 (Acker *et al.*, 1998)。此兩種金屬離子均可藉由 Fenton reaction 而誘導 H_2O_2 生成 $\cdot OH$ ，其中 H_2O_2 與 Fe^{2+} 的反應速率為 $76 M^{-1}S^{-1}$ ，遠低於 Cu^{2+} ($4.7 \times 10^3 M^{-1}S^{-1}$)，然而成人體內約含有 80 mg 之銅，主要是存於腦及肝臟，其可調節 SOD 及 cytochrome oxidase 之活性。鐵於人體內之含量約為 4.5 g，其中 2/3 存在於 hemoglobin，血漿中鐵之含量約為 0.127 mg/100 ml，大部分是與運鐵蛋白 (transferrin) 結合，由此可知血漿中鐵離子的含量更甚於銅離子，因此有許多學者均以 Fe^{2+} 誘導 fenton reaction (Halliwell & Gutteridge, 1998)。

金屬離子的促氧化作用經常是造成脂質過氧化的主要因素之一，藉由 redox cycle 反應，只要少量的金屬離子便可有效的產生自由基，並加速脂質氧化的進行 (Gordon, 1990)。在多種金屬離子中， Fe^{2+} 為最具影響力的助氧化劑，會促進脂質氧化作用的進行 (Yamaguchi *et al.*, 1988)，本實驗利用 Fe^{2+} 與 ferrozine 的複合物在 562 nm 之呈色反應，可測得樣品對 Fe^{2+} 離子之螯合能力 (Dinis *et al.*, 1994)。當樣品螯合 Fe^{2+} 離子時，會造成 562 nm 吸光值的降低。



鴻喜菇熱水萃取物於 0.5 mg/ml 即有 62.44% 之螯合亞鐵離子之能力 (表五)，顯示在亞鐵離子之螯合能力上有良好的效果，且隨著濃度的增加螯合亞鐵離子之能力愈強。標準品 EDTA 在 0.1 mg/ml 即有極佳的螯合能力 96.31%。而檸檬酸對亞鐵離子之螯合能力則沒有很好的效果，於 20 mg/ml

為 12.57% 之螯合亞鐵離子能力。綜合以上結果得知鴻喜菇熱水萃取物有良好之螯合亞鐵離子能力。因鐵離子有助於食品系統中脂質氧化進行 (Yamaguchi *et al.*, 1988), 故將鴻喜菇之熱水萃取物此具有強的螯合能力之物質, 添加於食品中以防止金屬離子所造成之氧化作用是可行的。



表五、鴻喜菇子實體不同萃取物對亞鐵離子之螯合能力

Table 5. Chelating effect of various extracts from *Hypsizigus marmoreus* fruit boidies on ferrous ions

Amount (mg/ml)	Chelating effect (%)		
	HWE ^a	Citric acid	EDTA
0.1	34.74±0.61B ^b	0.00±0.00C	96.31±0.13A
0.5	62.44±1.52B	5.75±0.34C	99.81±0.05A
1.0	79.41±0.34B	6.04±0.38C	98.45±0.02A
5.0	91.37±0.89B	5.29±1.37C	102.54±0.02A
10.0	97.82±0.44B	9.21±0.57C	101.46±0.01A
20.0	100.71±0.82A	12.57±0.46C	100.48±0.15B

^a HWE: hot-water extract.

^b Each value is expressed as mean ± SE (n = 3). Means with different letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

參考文獻

- 卯曉嵐。2000。中國大型真菌。河南科學技術出版社。鄭州，大陸。
- 林秀卿。1999。食藥用菇類之呈味品質和抗氧化性質之評估。國立中興大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 施益民，呂鋒州。1989。自由基與各種疾病。當代醫學 16: 54-62
- 翁瑞光、顏國欽。1997。綠豆芽、黃豆芽及蘿蔔嬰抗氧化性之研究。中國農業化學會誌，35：661-670。
- 徐麗嵐。2002。以柳松菇與鴻喜菇誘導人類白血病細胞（U937）分化及對 Balb/c 鼠皮下移植 CT26 腫瘤之抑制效果。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北，台灣。
- 黃鈴娟。2000。樟芝與姬松茸之抗氧化性質及其多醣組成分析。國立中興大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 張為憲。1995。食品化學。華香園出版社。台北，台灣。
- 趙桂蓉。2001。木耳類之抗氧化性質及其多醣組成分析。國立中興大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 蔡淑瑤。2002。靈芝與柳松菇之抗氧化性質和其對腫瘤細胞之毒性及柳松菇之抗致突變性質。國立中興大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 歐馨婷。2001。多種蔬菜抑制人類白血病細胞（U937）增殖與誘導其分化之探討。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北，台灣。
- 賴慶亮譯。水野卓、川合正允原著。1997。菇類的化學、生化學。國立編譯館。台北，台灣。
- Acker, S. B. E., Balen, G. P., Berg, D. J., Bast, A. and Vijgh, W. J. F. 1998. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 56: 935-943.

- Bartnicki-Garcia, S. 1968. Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 22: 87-108.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. U. Technol.* 28: 25-30.
- Breene, W. M. 1989. Nutritional and medical value of exotic mushrooms-Shiitake mushrooms. A National Symposium and Trade Show in Minnesota.
- Breene, W. M. 1990. Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *J. Food Protect* 53: 883-894.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989a. The nutritional attributes and medicinal value of edible mushrooms. Chapter 2. p. 27-40. In *Edible Mushrooms and Their Utilization*. CRC Press, Boca Raton.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. and Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* 315: 161-169.
- Fennema, O. R. 1996. Lipids in "Food Chemistry" 3rd ed. New York.
- Flora, S. D., Zancchi, P., Izzotti, A., Hayatsu, H., Mechanisms of food-borne inhibitors of genotoxicity relevant to cancer prevention, in Hayatsu (Ed.). 1991. *Mutagens in Food. Detection and Prevention*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 157-180.
- Foote, CS *et al.* (Eds). 1995. *Active Oxygen in Chemistry*. Blackie, London.
- Frankel, E.N. 1984. Lipid oxidation: mechanism, products and biological

- significanc. J. Am. Oil Chem. Soc. 61:1908-1916.
- Giese, J. 1996. Antioxidants: Tool for preventing lipid oxidation. Food Tech. November. 73-82.
- Gordon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. Ch. 1, in *Food Antioxidants*, B. J. F. Hudson (Ed.), p.1-18.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1998. "Free Radical in Biology and Medicine", ed. By B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge. Clarendon Press, Oxford.
- Ikekawa, T. Saitoh, H. Feng, W. Li, L. Matsuzawa, T. 1992. Antitumor activity of *Hypsizigus marmoreus*. I. Antitumor activity of extracts and polysaccharides. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 40(7): 1954-1957.
- Jacob. R. A. 1994. Nutrition, health and antioxidants. INFORM. 5: 1271-1275.
- Jacobson, E. S., Hove, E. and Emery, H. S. 1995. Antioxidant function of melanin in black fungi. Infect. Immun. 63: 4944-4945.
- Lam, S. K., Ng, T. B. 2001. Hypsin, a novel thermostable ribosome-inactivating protein with antifungal and antiproliferative activities from fruiting bodies of the edible mushroom *Hypsizigus marmoreus*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 285, 1071-1075.
- Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochem. 27: 969-978.
- Lingnert, H., Vallentin, K. and Eriksson, C. E. 1979. Measurement of antioxidant effect in model system. J. Food Proc. Presv. 3: 87-103.
- Mack, A. J. *et al.* 1987. Lipoxygenase isozymes in higher plants: biochemical properties and physiological role. In *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*, Vol. 13, p127.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Philosoph-H, S. 1995. Determination and

- involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J. Agric. Food Chem.* 43(7): 1813-1819.
- Mizuno, T., Saito, H., Nishitoba, T. and Kawagishi, H. 1995. Antitumor-active substances from mushrooms. *Food Rev. Int.* 11: 23-61.
- Okamura, M. 1994. Distribution of ascorbic acid analogs and associated glycosides in mushrooms. *J. Nutr. Sci.* 40: 81-94.
- Oyaizu, M. 1986. Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35: 771-775.
- Philosoph-Hadas, S., Meir, S., Akiri, B. and Kanner, J. 1994. Oxidative defense systems in leaves of three edible herb species in relation to their senescence rates. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2376-2381.
- Pitotti, A., Elizalde, B. E. and Anese, M. 1995. Effect of caramelization and maillard reaction products on peroxidase activity. *J. Food Biochem.* 18(6): 445-457.
- Ramarathnam, N. Osawa, T. Namiku, M. and Kawakishi, S. 1988. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. I. Isolation, fractionation, and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.* 36: 732-737.
- Sakagami, H., Aoki, T., Simpson, A. and Tanuma, S. 1991. Induction of immunopotention activity by a protein-bound polysaccharide, PSK. *Anticancer Res.* 11: 993-1000.
- Shimada, K. Fujikawa, K. Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 40: 945-948.
- Tsuchida, K. Aoyagi, Y. Odani, S. Mita, T. Isemura, M. 1995. Isolation of a novel

- collagen-binding protein from the mushroom, *Hypsizigus marmoreus*, which inhibits the lewis lung carcinoma cell adhesion to type IV collagen. J. Biol. Chem. 270(4): 1481-1484.
- Wang, H. X., Liu. W. K., Ng, T. B., Ooi, V. E.C. and Chang, S. T. 1995. Immunomodulatory and antitumor activities of a polysaccharide- peptide complex from a mycelial culture of *Tricholoma* sp., a local edible mushroom. Life Sci. 57: 269-281.
- Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides (review). Appl Microbiol Biotechnol, 60, 258-274.
- Witting, L. A. 1975. Vitamin E as a food additive. J. Amer. Oil Chem. Soci. 52: 64-68.
- Yamaguchi, R., Tatsumi, M. A., Kato, K. and Yoshimitsu, U. 1988. Effect of metal salts and fructose on the autoxidation of methyl linoleate in emulsions. Agric. Biol. Chem. 52: 849-850.
- Yang, Q. Y. and Jong, S. C. 1989. Medicinal mushroom in China. Mushroom Sci. 12: 631-643.