

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ MỘT SỐ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA NẤM SÒ TRẮNG (*Pleurotus florida*)

Trần Thị Văn Thi *, Lê Lâm Sơn, Lê Trung Hiếu, Nguyễn Minh Nhung

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học - Đại học Huế

*Email: tranthivanthi@gmail.com

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá năng lực kháng oxy hóa tổng cộng và định lượng một số thành phần hóa học của nấm Sò trắng (*Pleurotus florida*) trồng tại Thừa Thiên Huế. Kết quả cho thấy, *Pleurotus florida* chứa hàm lượng lớn tổng phenolic và tổng flavonoid. Đánh giá năng lực kháng oxy hóa tổng bằng mô hình phospho molybden cho thấy, ở nồng độ 0,5 mg/mL năng lực kháng oxy hóa tổng của nấm Sò trắng gần tương đương với nấm Linh chi dược liệu (*Ganoderma lucidum*) trồng ở hợp tác xã Phú Lương, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Đây là loại nấm đã được chúng tôi nghiên cứu và chứng minh là có khả năng kháng oxy hóa theo mô hình thử nghiệm in vitro trên tế bào gan chuột.

Từ nấm Sò trắng, chúng tôi chiết bằng nước nóng để thu lấy polysaccharide (PS). Tiến hành định lượng polysaccharide tinh khiết bằng phương pháp phenol-sulfuric. Hàm lượng PS của nấm Sò trắng là $3,77 \pm 0,06\%$ trọng lượng khô ($P = 0,95$; $n = 3$). Phân tích thành phần monosaccharide và vị trí liên kết glycoside để nghiên cứu cấu trúc của polysaccharide phân đoạn ethanol 32⁰ (PS-32). Kết quả cho thấy, PS-32 được cấu tạo chủ yếu từ bộ khung D-glucan và D-galactan với tỷ lệ mol các monosaccharide là D-glucose : D-galactose : D-ribose : D-xylose = 1,00 : 0,41 : 0,32 : 0,19 với các liên kết chủ yếu là 1→6-D-glucoside, →1-D-glucoside, 1→5-D-riboside.

Từ khóa: hoạt tính kháng oxy hóa, *Pleurotus florida*, polysaccharide.

1. MỞ ĐẦU

Trong đời sống, nấm Sò trắng (*Pleurotus florida*) được xem như là một loại “rau sạch” với lượng calo tương đối thấp nhưng giàu protein thực vật, vitamin và khoáng chất. Vì vậy, nấm Sò trắng được sử dụng làm thực phẩm phổ biến không chỉ ở nước ta mà còn ở nhiều nơi trên thế giới.

Các loại oxy hoạt động (Reactive oxygen species, ROS) bao gồm các gốc tự do và các phân tử chứa oxy có hoạt tính oxy hóa cao như OH[·], HOO[·], O₂⁻,... Các dạng oxy hoạt động này có năng lượng cao và kém bền nên dễ dàng tấn công các đại phân tử như lipid, DNA, protein,... sinh ra nhiều loại bệnh như ung thư, tim mạch, tiểu đường, béo phì,... và tăng nhanh sự lão hoá. Vì vậy, để bảo vệ sức khỏe, cần phải bổ sung các chất kháng oxy hóa để duy trì hàm lượng ổn

định của các gốc tự do trong cơ thể. Các hợp chất có tác dụng kháng oxy hoá (phenolic, flavonoid...) thường có khả năng bắt các gốc tự do, làm chậm quá trình lão hoá cơ thể, bảo vệ chức năng gan, ngăn ngừa một số tai biến [6,10]. Vì vậy, để đánh giá khả năng kháng oxy hóa của thực phẩm, người ta xác định hàm lượng các loại hợp chất này.

Trong thời gian gần đây, các nhà khoa học cũng rất quan tâm nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nhiều loài nấm dược liệu như Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*)... Thành phần đáng chú ý tạo nên hoạt tính sinh học của các loài nấm là polysaccharide và triterpenoid. Với nhiều tác dụng quý, polysaccharide đang nhận được sự quan tâm ngày càng cao trong các lĩnh vực y học, hóa sinh và sản xuất thuốc [3,14,16],... Đây là một polymer thiên nhiên mà hàm lượng, thành phần hóa học, cấu trúc và hoạt tính sinh học phụ thuộc nhiều vào mỗi loại nấm, vào điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu, độ tuổi...

Các nghiên cứu trên thế giới đã cho biết loại nấm này có khả năng điều chỉnh hệ thống miễn dịch, hạ đường huyết, giảm huyết áp và nồng độ chất béo trong máu, ức chế sự phát triển khối u, kháng viêm và hoạt động của các vi sinh vật [1,2,4,12]. Ở nước ta, chúng tôi chưa tìm thấy tài liệu nào nghiên cứu về thành phần hóa học của loài nấm này. Vì vậy, việc nghiên cứu để làm rõ thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của nấm Sò trắng nhằm góp phần nâng cao giá trị sử dụng của loại nấm này là một vấn đề có ý nghĩa không chỉ về mặt khoa học mà còn đáp ứng nhu cầu thực tiễn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thiết bị

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu nấm Sò trắng được thu hái vào tháng 2 và tháng 3 năm 2014 ở phường Kim Long, thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế, được cán bộ khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học Huế xác định là loài *Pleurotus florida*.

Tiêu chuẩn chọn: nấm còn tươi và nguyên vẹn, thân màu trắng xám, mũ nấm có đường kính từ 5 – 11 cm, thân nấm dài 5 – 15 cm.

Các mẫu nấm dùng để so sánh:

Mẫu nấm Tràm được cán bộ khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học Huế xác định là loài *Tilopilus felleus*.

Các mẫu nấm linh chi được GS.TSKH. Trịnh Tam Kiệt (Trung tâm giống gốc Nấm Việt Nam) xác định loài, gồm có:

+ Mẫu nuôi trồng: là loài *Ganoderma lucidum* trồng tại hợp tác xã Phú Lương, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế.

+ Mẫu thiên nhiên: loài *Ganoderma lucidum* thu hái từ Quảng Bình.

2.1.2. Thiết bị

Thành phần monosaccharide và vị trí carbon tạo liên kết glycoside trong polysaccharide được xác định bằng phương pháp phân tích dẫn xuất của monosaccharide trên thiết bị GC-MS (Agilent 7890A) tại trung tâm Kỹ thuật tiêu chuẩn đo lường chất lượng khu vực 2 (Quatest 2).

Lực kháng oxy hóa tổng (Total antioxidant capacity) *in vitro* được đánh giá thông qua khả năng cho electron bằng mô hình phospho molybdenum. Các thành phần hóa học trong nấm được định lượng bằng phương pháp trắc quang trên máy UV-Vis (JASCO V-630). Quá trình thực nghiệm được thực hiện tại khoa Hóa, trường Đại học Khoa học Huế.

2.2. Phương pháp chiết xuất và tinh chế

2.2.1. Xử lý mẫu và chiết xuất cao toàn phần methanol

Sau khi thu hái, nấm được sấy khô ở 60 °C để loại các enzym và xác định độ ẩm bằng phương pháp khối lượng. Mẫu nguyên liệu khô (10 gam) được chiết với CH₃OH 80° (mỗi lần 1000 mL, 4 lần chiết) trong 4 giờ ở nhiệt độ sôi của dung môi, mẫu được làm lạnh ở nhiệt độ phòng, quay ly tâm 4000 vòng/phút trong 15 phút, lọc thu lấy dịch sau đó tiến hành cô quay chân không, thu được cao toàn phần methanol dùng để thử hoạt tính kháng oxy hóa và định lượng các hoạt chất phenolic, flavonoid, triterpenoid.

2.2.2. Chiết xuất và tinh chế polysaccharide

Từ mẫu nguyên liệu khô, tiến hành tách chiết polysaccharide bằng nước cất ở 100°C. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc, sau đó cô quay để giảm thể tích. Kết tủa hoàn toàn polysaccharide bằng ethanol 96°. Kết tủa được tách ra bằng cách ly tâm (4000 vòng/phút trong 20 phút), làm khô ở 40°C, thu được cao polysaccharide [14,16].

Thẩm tách cao polysaccharide nhiều lần bằng nước cất để loại bỏ các tạp chất là các phân tử nhỏ tan trong nước. Sử dụng hỗn hợp CHCl₃: *n*-C₄H₉OH = 1 : 4 (v/v) để loại protein. Dùng ethanol 96° để kết tủa lại polysaccharide. Tiếp tục rửa bằng axeton, sau đó bằng ethanol tuyệt đối nhiều lần để loại bỏ tạp chất [16].

2.3. Phương pháp xác định hàm lượng một số thành phần hóa học

- Xác định độ ẩm của mẫu nguyên liệu bằng phương pháp khối lượng.

2.3.1. Định lượng polysaccharide

Hàm lượng polysaccharide được xác định theo phương pháp Dubois [5,14], sử dụng D-glucose làm chất chuẩn. Cao polysaccharide được hoà tan bằng nước cất, sau đó tạo màu với thuốc thử phenol – sulfuric acid và tiến hành đo độ hấp thụ quang ở bước sóng $\lambda = 490$ nm.

2.3.2. Định lượng tổng triterpenoid dạng phytosterol

Hàm lượng tổng triterpenoid dạng phytosterol được xác định dựa trên phản ứng tạo màu của các steroid với thuốc thử vanilin/ HClO₄ và đo quang ở bước sóng 740 nm. Cholesterol được

sử dụng làm chất chuẩn so sánh và kết quả được quy tương đương theo số mg cholesterol / g nguyên liệu [15].

2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa

2.4.1. Xác định lực kháng oxy hoá tổng (Total antioxidant capacity) *in vitro* theo mô hình phospho molybdenum

Lực kháng oxy hóa tổng *in vitro* được đánh giá qua khả năng cho electron và được xác định bằng phương pháp phospho molybdenum. Nguyên tắc của phương pháp này là dựa trên cơ sở xác định khả năng khử của chất khảo sát để chuyển Mo (VI) về Mo (V), tạo phức màu xanh lá cây trong môi trường acid. Giá trị mật độ quang càng lớn, lực kháng oxy hoá càng cao. Lấy 0,3 mL dịch chiết, thêm vào 3 mL dung dịch thuốc thử (0,6 M H₂SO₄, 28 mM NaH₂PO₄ và 4 mM (NH₄)₂MoO₄), đậy kín và ủ ở nhiệt độ 95°C trong 90 phút. Sau đó, mẫu được làm lạnh về nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 695 nm. Đối với mẫu trắng, dung dịch cần phân tích được thay bằng nước cất. Lực kháng oxy hoá tổng được biểu diễn theo độ hấp thụ của mẫu. Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn so sánh. Hàm lượng chất kháng oxy hóa trong mẫu được quy về mg acid gallic/g mẫu [6].

2.4.2. Định lượng tổng phenolic

Hàm lượng tổng phenolic được xác định thông qua phương pháp Folin – Ciocalteu. 0,5 mL dịch chiết hoặc dung dịch acid gallic chuẩn (có nồng độ từ 0,05÷3 mg/mL) được thêm vào 2,5 mL Folin – Ciocalteu (1:10), lắc đều. Sau 4 phút, thêm vào 2 mL dung dịch Na₂CO₃ bão hoà, lắc đều, ủ 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang của dung dịch sau phản ứng, được đo ở bước sóng 760 nm. Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn so sánh, hàm lượng tổng các hợp chất phenolic trong mẫu nghiên cứu được quy tương đương theo số mg acid gallic/g mẫu [6,10].

2.4.3. Định lượng tổng flavonoid

Hàm lượng tổng flavonoid được xác định thông qua phương pháp tạo màu với AlCl₃ trong môi trường kiềm-trắc quang. 1 mL dịch chiết hoặc dung dịch quercetin chuẩn (có nồng độ từ 0,02÷0,2 mg/mL) thêm vào 4 mL nước cất. Sau đó thêm vào 0,3 mL dung dịch NaNO₂ 5%. Sau 5 phút, thêm tiếp 0,3 mL dung dịch AlCl₃ 10%, sau 6 phút cho vào 2 mL dung dịch NaOH 1 M và định mức đến thể tích 10 mL bằng nước cất. Độ hấp thụ quang của dung dịch phản ứng được đo ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn và hàm lượng flavonoid được quy tương đương theo số mg quercetin/g nguyên liệu [9].

2.5. Các phương pháp phân tích cấu trúc

2.5.1. Phân tích thành phần monosaccharide cấu thành polysaccharide [16,18]

- Thủy phân polysaccharide thành monosaccharide: 2 mg polysaccharide được hoà tan trong 4 mL dung dịch acid trifloroacetic 2 M và được đun nóng ở 120°C trong 2 giờ. Hỗn hợp được làm khô bằng dòng khí N₂. Acid trifloroacetic dư được loại bỏ bằng methanol và sau đó thổi khô bằng dòng khí N₂.

- Khử monosaccharide thành alditol: Thêm 4 mL NaBH₄ 0,25 M pha trong NH₃ 1 M và giữ ở 25°C trong 30 phút, sau đó thêm 5 mL acid acetic 10% trong methanol vào để trung hoà lượng NaBH₄ dư. Hỗn hợp được thổi khô bằng dòng khí N₂.

- Acetyl hoá: thêm 2 mL anhydride acetic : pyridin = 1:1 (v/v) và đun nóng ở 100°C trong 20 phút. Mẫu được làm khô bằng dòng khí N₂ và được chiết bằng etyl axetat.

Mẫu được phân tích bằng thiết bị GC-MS (Agilent 7890A) sử dụng cột tách DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25µm), khí mang He với tốc độ dòng 2 mL/phút. Chương trình nhiệt độ: từ 65°C giữ trong 1 phút, nâng nhiệt độ lên đến 250°C với tốc độ 8°C/phút, giữ trong 10 phút sau đó nâng nhiệt độ lên đến 280°C với tốc độ 2°C/phút và giữ trong 5 phút. Detector MS sử dụng nguồn ion hóa EI, nhiệt độ nguồn ở 230°C, với chế độ phân tích scan.

2.5.2. Xác định liên kết glycoside [16,18]

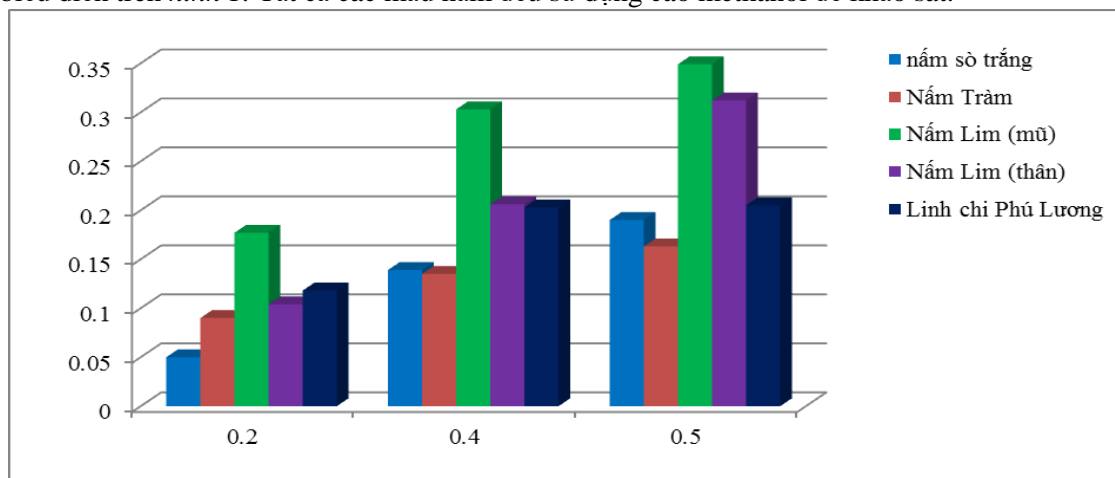
Vị trí carbon tạo liên kết glycoside trong polysaccharide được xác định bằng cách methyl hoá trong môi trường kiềm mạnh, sau đó tiếp tục được thuỷ phân, khử hoá, acetyl hoá và phân tích bằng GC-MS (Agilent 7890A) theo trình tự như đã trình bày ở phần 2.5.1

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính kháng oxy hóa của nấm Sò trắng

3.1.1. Lực kháng oxy hóa tổng cộng (Total antioxidant capacity) in vitro của nấm Tràm so với một số loài nấm dược liệu

Các chất kháng oxy hoá tự nhiên thường là hỗn hợp của nhiều cấu tử có cấu trúc hóa học và nhóm chức khác nhau, vì vậy chúng thường kháng oxy hóa theo nhiều chức năng và phương thức khác nhau. Trong phương pháp xác định lực kháng oxy hóa tổng qua khả năng cho electron này, giá trị mật độ quang càng lớn, lực kháng oxy hoá càng cao. Lực kháng oxy hóa tổng cộng của nấm Sò trắng so với các loại nấm dược liệu khi sử dụng cùng một mô hình được biểu diễn trên hình 1. Tất cả các mẫu nấm đều sử dụng cao methanol để khảo sát.



Hình 1. Lực kháng oxy hoá tổng của nấm Sò trắng so với một số mẫu nấm dược liệu

Từ hình 1, chúng tôi nhận thấy, lực kháng oxy tổng của các mẫu nguyên liệu xác định ở cùng nồng độ đều biến thiên tăng theo chiều tăng nồng độ, trong đó lực kháng oxy của các mẫu nấm Lim xanh (gồm phần cuống nấm và phần mũ nấm, được tách ra và khảo sát riêng) tăng nhanh hơn cả.

Lực kháng oxy hóa tổng của mẫu nấm Sò trắng thấp hơn so với các mẫu của nhóm nấm Linh chi nhưng cao hơn so với nấm trà.

Ở nồng độ cao (0,5 mg/mL) tổng lực kháng oxy hóa của nấm Sò trắng là gần tương đương với nấm Linh chi Phú Lương. Đây là điều đáng chú ý về khả năng kháng oxy hóa của một loài nấm mà từ trước đến nay, hầu như chỉ mới được xem xét sử dụng trên góc độ thực phẩm.

Xây dựng đường chuẩn xác định hàm lượng chất kháng oxy hóa với chất chuẩn là acid gallic trong khoảng nồng độ 0 - 0,6 mg/mL, thu được phương trình hồi quy $Y = 0,782X + 0,164$, với $R = 0,9960$. Hàm lượng chất kháng oxy hóa trong nấm Sò trắng và một số loài nấm dược liệu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng chất kháng oxy hóa của nấm Sò trắng và một số loài nấm dược liệu quy về mg acid gallic/g mẫu

Mẫu nguyên liệu	Hàm lượng chất kháng oxy hoá (mg acid gallic/g mẫu) (P= 0,95; n= 5)
Nấm Sò trắng (<i>Pleurotus florida</i>)	14,25 ± 0,09
Nấm Trà (<i>Tylopilus feulles</i>)	13,57 ± 0,01
Nấm Linh chi (Huế, mẫu Phú Lương) (<i>G. lucidum</i>)	6,71 ± 0,02
Nấm Lim xanh (tự nhiên, Quảng Bình) (<i>G. lucidum</i>)- mũ nấm	39,15 ± 0,11
Nấm Lim xanh (tự nhiên, Quảng Bình) (<i>G. lucidum</i>)- cuống nấm	31,18 ± 0,15

Hàm lượng chất kháng oxy hóa trong nấm Sò trắng thấp hơn nhiều so với nấm dược liệu Lim xanh tự nhiên, nhưng cao hơn nấm Linh chi trồng ở hợp tác xã Phú Lương và nấm Trà. Nấm Linh chi Phú Lương đã được chúng tôi nghiên cứu và chứng minh là có khả năng kháng oxy hóa theo mô hình thử nghiệm *in vitro* trên tế bào gan chuột [17]).

Đối chiếu hàm lượng chất kháng oxy hóa ở bảng 1 và lực kháng oxy hóa tổng cộng ở hình 1 của các mẫu nghiên cứu, hầu hết đều tuân theo quy luật hàm lượng chất oxy hóa càng cao thì lực kháng oxy hóa càng mạnh.

3.1.2. Hàm lượng các nhóm hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh

Với khả năng kháng oxy hóa khá tốt theo mô hình thử nghiệm trên, chúng tôi tiến hành định lượng các nhóm hoạt chất phenolic và flavonoid. Đây là những chất có khả năng kháng oxy hóa rất cao, chúng có khả năng dập tắt các gốc tự do và ức chế hoạt động của lipid peroxid.

Bảng 2. Hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid trong nấm Sò trắng so với một số loài nấm dược liệu

Mẫu nguyên liệu	Tổng phenolic (mg gallic/g mẫu) (P= 0,95; n= 5)	Tổng flavonoid (mg quercetin /g mẫu) (P= 0,95; n= 5)
Nấm Sò trắng (<i>Pleurotus florida</i>)	4,990 ± 0,300	1,220 ± 0,090
Nấm Tràm (<i>Tylophilus feulles</i>)	1,880 ± 0,130	-
Nấm Linh chi (Huế, mẫu Phú Lương) (<i>G. lucidum</i>)	0,053 ± 0,002	0,044 ± 0,002
Nấm Lim xanh (tự nhiên, Quảng Bình) (<i>G. lucidum</i>)-mũ nấm	0,106 ± 0,002	0,085 ± 0,001
Nấm Lim xanh (tự nhiên, Quảng Bình) (<i>G. lucidum</i>)-cuồng nấm	0,126 ± 0,006	0,077 ± 0,025

Số liệu từ bảng 2 cho thấy, hàm lượng tổng phenolic và flavonoid trong nấm Sò trắng gần bằng trong nấm Linh chi trồng ở Phú Lương, nhưng cao hơn hẳn so với nấm Lim xanh dùng làm dược liệu. Tuy nhiên, lực kháng oxy hóa tổng cộng của nấm Sò trắng vẫn thấp hơn so với các nấm Linh chi nghiên cứu, điều này chứng tỏ trong các loài nấm Linh chi này còn chứa các loại hợp chất khác ngoài phenolic và flavonoid cũng có khả năng kháng oxy hóa theo mô hình phospho molybdenum.

3.2. Hàm lượng các hoạt chất quan trọng trong nấm Sò trắng so với một số loài nấm dược liệu

Polysaccharide và triterpenoid dạng phytosterol là những thành phần hóa học quan trọng, có hoạt tính sinh học hiện đang được quan tâm nghiên cứu trong các loài nấm. Tiến hành xác định hàm lượng của chúng và so sánh với một số loài nấm dược liệu được sử dụng phổ biến khác, kết quả được trình bày trên bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng các hoạt chất trong nấm Sò trắng và một số loài nấm dược liệu

Loại Hoạt chất	Nấm Sò trắng (<i>Pleurotus florida</i>)	Nấm Tràm (<i>Tylophilus feulles</i>)	Linh chi (Phú Lương- Huế) (<i>G. lucidum</i>)	Lim xanh (Quảng Bình) (<i>G. lucidum</i>)- cuồng nấm	Lim xanh (Quảng Bình) (<i>G. lucidum</i>)- mũ nấm
Polysaccharide (%) (P = 0,95; n=4)	3,77 ± 0,06	6,03 ± 0,01	3,93 ± 0,03	4,06 ± 0,15	5,53 ± 0,05
Triterpenoid- phytosterol (mg cholesterol/g mẫu) (P = 0,95; n=4)	2,94 ± 0,25	12,48 ± 0,14	38,70 ± 0,11	88,3 ± 0,11	94,9 ± 0,04

Số liệu từ bảng 3 cho thấy, bên cạnh hàm lượng triterpenoid thấp thì hàm lượng polysaccharide trong nấm Sò trắng gần bằng trong các loài nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) so sánh. Như vậy, ngoài hoạt tính kháng oxy hóa khá cao so với một số loài nấm dược liệu, hàm

lượng polysaccharide của nấm Sò trắng cũng rất đáng được quan tâm. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu cấu trúc của polysaccharide tách chiết từ nấm Sò trắng.

3.3. Cấu trúc polysaccharide tách chiết từ nấm Sò trắng

Hòa tan mẫu polysaccharide (PS) vào nước cất vừa đủ, kết tủa lại bằng ethanol 96⁰ với các tỷ lệ dịch nước:ethanol là 1:0,5, 1:1, 1:2,5 tương ứng với nồng độ ethanol khác nhau 32⁰, 48⁰, 68⁰ để có các phân đoạn polysaccharide có độ phân cực khác nhau PS-E32, PS-E48, PS-E68. Các phân đoạn PS này được tinh chế bằng cách hòa tan trong nước, chiết với hệ cloroform: *n*-butanol (1:4) nhiều lần để loại protein tự do. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ trình bày kết quả nghiên cứu cấu trúc của phân đoạn PS-E32.

3.3.1. Thành phần monosaccharide của polysaccharide PS-E32

Bảng 4. Thành phần monosaccharide cấu tạo thành PS-E32 của mẫu *Pleurotus florida*

Monosacrit	D - Glu	D - Gal	D - Rib	D - Xyl
Tỷ lệ mol	1,00	0,41	0,32	0,19

D - Glu: D - glucose, D - Gal: D - galactose, D - Xyl: D - xylose, D - Rib: D - ribose.

Phổ khối lượng của các methyl acetyl alditol monosaccharide được so sánh với phổ chuẩn trong thư viện của thiết bị GC-MS với độ trùng lặp trên 95%. Từ diện tích các dẫn xuất methyl acetyl alditol monosaccharide, thu được tỉ lệ các monosaccharide. Thành phần monosaccharide trong polysaccharide nấm Sò trắng khá phức tạp, nhiều nhất là D-glucose chiếm 52,08% tổng số mắt xích, tiếp đến là D-galactose 21,35%, D-ribose 16,67% và D-xylose 9,90%.

Vậy polysaccharide trong phân đoạn PS-E32 của nấm Sò trắng là một hetero-glycan, chủ yếu có bộ khung D-glucan và D-galactan. Theo các tác giả công trình [16, 18,...] nhiều polysaccharide có hoạt tính sinh học có các bộ khung này.

Từ nấm Sò trắng ở Ấn Độ, người ta đã tách ra được các polysaccharide khác nhau như glucan, hetero-glycan với các cấu trúc khác nhau [12,13,7,8,11]. Tuy hetero-glycan của phân đoạn PS-32 không hoàn toàn giống với polysaccharide của các công bố này, nhưng vẫn có một số thành phần monosaccharide tương tự.

3.3.2. Xác định vị trí liên kết glycoside

Từ vị trí carbon có O-methyl hóa và vị trí nhóm O-acetyl hóa trong dẫn xuất alditol - monosaccharide thu được, xác định các liên kết glycoside tương ứng trong polysaccharide, kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Các dẫn xuất methyl acetyl alditol monosaccharide thu được theo kết quả GC-MS và liên kết glycoside tương ứng

STT	Hợp chất	Tỷ lệ	Liên kết
1	1,5,6-tri-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl- α -D-ribofuranoside	0,51	1 \rightarrow 5-D-riboside
2	1,5,6-di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl- α -D-xylofuranoside	0,29	1 \rightarrow 5-D-xyloside
3	1,5,6-tri-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl- α -D-glucopyranoside	1,00	1 \rightarrow 6-D-glucoside
4	1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl- α -D-galactopyranoside	0,37	\rightarrow 1-D-galactoside
5	1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl- α -D-glucopyranoside	0,59	\rightarrow 1-D-glucoside
6	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl-D-galactopyranoside	0,27	1 \rightarrow 4-D-galactoside

Kết quả cho thấy, quá trình dẫn xuất hóa được thực hiện triệt để. Các liên kết glycoside của PS ở phân đoạn PS-E32 rất phức tạp, các liên kết chủ yếu là 1 \rightarrow 6-D-glucoside, \rightarrow 1-D-glucoside, 1 \rightarrow 5-D-riboside.

4. KẾT LUẬN

1. Nấm Sò trắng (*Pleurotus florida*) không chỉ là loài thực phẩm giàu dinh dưỡng, mà còn chứa hàm lượng tổng phenolic và tổng flavonoid cao. Đáng chú ý, hàm lượng tổng phenolic trong nấm Sò trắng gần bằng trong nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) trồng ở Phú Lương, và cao hơn hẳn so với nấm Lim xanh tự nhiên (*Ganoderma lucidum*) thu hái ở Quảng Bình. Kết quả đánh giá lực kháng oxy hóa tổng cộng bằng mô hình phospho molybdenum cho thấy tổng lực kháng oxy hóa tổng của mẫu nấm Sò trắng thấp hơn so với các mẫu của nhóm nấm Linh chi nhưng cao hơn so với nấm Tràm. Ở nồng độ 0,5 mg/mL tổng lực kháng oxy hóa của nấm Sò trắng là gần tương đương với nấm Linh chi dược liệu trồng ở hợp tác xã Phú Lương, Phú Vang, Thừa Thiên Huế. Nấm Linh chi Phú Lương đã được chúng tôi nghiên cứu và chứng minh là có khả năng kháng oxy hóa theo mô hình thử nghiệm *in vitro* trên tế bào gan chuột.

2. Nấm Sò trắng có hàm lượng triterpenoit dạng phytosterol tương đối thấp so với một số loài nấm dược liệu (quy tương đương $2,94 \pm 0,25$ mg cholesterol/g mẫu), nhưng hàm lượng polysaccharide là $3,77 \pm 0,06\%$, thấp hơn không nhiều so với nấm Linh chi trồng ở hợp tác xã Phú Lương, Phú Vang, Thừa Thiên Huế và nấm Lim xanh tự nhiên thu hái ở Quảng Bình.

3. Polysaccharide trong phân đoạn PS-E32 (kết tủa trong ethanol 32⁰) của nấm Sò trắng là hetero-glycan được cấu tạo chủ yếu từ bộ khung D-glucan và D-galactan với tỷ lệ mol các monosaccharide là D-glucose : D-galactose : D-ribose : D-xylose = 1,00 : 0,41 : 0,32 : 0,19 với các liên kết chủ yếu là 1 \rightarrow 6-D-glucoside, \rightarrow 1-D-glucoside, 1 \rightarrow 5-D-riboside.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. R. Bhat and et al (2013). Photo-bio-synthesis of irregular shaped functionalized gold nanoparticles using edible mushroom *Pleurotus florida* and its anticancer evaluation, *J. of Photochem. and Photobio. B, Biology* 125, pp. 63-69.
- [2]. R. Bisaria and et al (1987). Amino Acid Composition of the Mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, Cultivated on Different Agroresidues, *Bio. Was.*, Vol. 20, pp. 251-259.
- [3]. Y. Diao, H. Han, Y. Li (2013). Extraction Infrared Spectral Analysis and the Antimicrobial Activity on polysaccharide within Nostoc Commune, *Int. Conf. on Envi., Eng. And Biotech.*, 51, pp. 59.
- [4]. V. Dragovic (2009). Polyphenols and Antioxidant Capacity in Fruits and Vegetables Common in the Croatian Diet, *Ori. Sci.*, pp. 175.
- [5]. M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.*, 28 (3), pp. 350–356.
- [6]. R. Y. Gan and et al. (2010) Antioxidant acitivity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases, *J. Med. Pla. Res.*, 4(22), 2438 – 2444.
- [7]. K. Maity and et al (2011). Structural characterization and study of immunoenhancing and antioxidant property of a novel polysaccharide isolated from the aqueous extract of a somatic hybrid mushroom of *Pleurotus florida* and *Calocybe indica* variety APK2, *Inter. J. of Bio. Mac.*, Vol. 48, pp. 304–310.
- [8]. S. Maity and et al (2013). Structural study of an immunoenhancing polysaccharide isolated from an edible hybrid mushroom of *Pleurotus florida* and *Lentinula edodes*, *Bio. Car. and Die. Fib.*, pp. 72-80.
- [9]. D. Marinova, F. Ribarova, M. Atanassova (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables, *J. of the Uni. of Chem. Tech. and Met.*, 40(3), 255 – 260.
- [10]. V. D. Nair and et al (2012). Studies on methanolic extract of *Rauvolfia* species from Southern Western Ghats of India – In vitro antioxidant properties, characterisation of nutrients and phytochemicals, *Ind. Cro. and Pro.*, 39, 17 – 25.
- [11]. S. Patra and et al (2011). Structural characterization and study of immunoenhancing properties of heteroglycan isolated from a somatic hybrid mushroom (PfloVv1aFB) of *Pleurotus florida* and *Volvariella volvacea*, *Car Res*, Vol. 346, pp. 1967–1972.
- [12]. D. Rout and et al (2005). Chemical analysis of a new (1→3)-, (1→6)-branched glucan from an edible mushroom, *Pleurotus florida*, *Car. Res.*, Vol. 340, pp. 2533–2539.
- [13]. D. Rout and et al (2008). The structure and conformation of a water-insoluble (1→3)-, (1→6)-b-D-glucan from the fruiting bodies of *Pleurotus florida*, *Car. Res.*, Vol. 343, pp. 982–987.
- [14]. T. T. V. Thi, L. L. Son, L. T. Hieu, N. N. Dung (2012). Study on some species of *Ganoderma* present in the market in Vietnam. I. Extraction, qualitative and quantitative analysis of water-soluble polysaccharides, *J. of Chem., Vietnam Aca. of Sci. and Tech.*, 50(4A) 450-454.

- [15]. T. T. V. Thi, L. L. Son, L. T. Hieu, T. H. Bang (2012). Study on some species of Ganoderma present in the market in Vietnam. II- Qualitative and quantitative analysis of triterpenoids, *J. of Chem, Vietnam Aca. of Sci. and Tech.*, 50 (4A), 254-257.
- [16]. T. T. V. Thi, L. L. Son, L. T. Hiếu, V. H. K. Anh (2012), Nghiên cứu một số loài nấm Linh chi – Ganoderma trên thị trường Việt Nam III. Cấu trúc của các polysaccharide tan trong nước, Tạp chí Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 50 (4A), 258-261.
- [17]. T. T. V. Thi, N. T. Hoài, N. T. Phương, L. T. Hiếu, L. L. Son (2012). Khảo sát một số tác dụng dược lý của phân đoạn triterpenoid từ nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) trồng tại Thừa Thiên Huế, *Tạp chí Dược liệu*, 17(3), 154-158.
- [18]. J. Wang, L. Zhang (2009). Structure and chain conformation of five water-soluble derivatives of a β -D-Glucan isolated from *Ganoderma lucidum*, *Car. Res.*, 344(1), 105-112.

STUDY ON ANTIOXYDANT ACTIVITY AND SOME CHEMICAL COMPOSITIONS OF OYSTER MUSHROOM (*Pleurotus florida*)

Tran Thi Van Thi*, Le Lam Son, Le Trung Hieu, Nguyen Minh Nhung

Department of Chemistry, Hue University College of Sciences

*Email: tranthivanthi@gmail.com

ABSTRACT

In this paper, the assessment of total antioxidant capacity and quantitative analysis of some chemical components from Pleurotus florida cultivated in Thua Thien Hue was studied. The fruiting body was rich in total phenolic and flavonoid contents. Assessment results of total antioxidant capacity by phosphorus molybdenum method showed that the total antioxidant capacity of Pleurotus florida was almost equivalent to medicinal mushroom (Ganoderma lucidum) cultivated in Phu Luong village, Phu Vang district, Thua Thien Hue province at a concentration of 0.5 mg/mL. This mushroom has been studied and proven to have in vitro antioxidant activity in rat's liver cells.

The water-soluble polysaccharides was obtained from the fruiting body of Pleurotus florida by hot water extraction. The percentage of pure polysaccharides was $3.77 \pm 0,06$ ($P = 0.95$; $n = 3$) in dry content determined by phenol – sulphuric acid method. Structure features of polysaccharides of 32% ethanol fraction (PS-E32) were investigated by monosaccharide composition analysis, linked position analysis. The results indicated that PS-E32 were composed of D-glucose, D-galactose, D-ribose, D-xylose with molecular ratios of 1.00: 0.41: 0.32: 0.19, respectively and had D-glucan and D-galactan framework which contained linkages such as 1→6-D-glucoside, →1-D-glucoside and 1→5-D-riboside.

Keywords: *antioxidant activity, Pleurotus florida, water-soluble polysaccharide.*

