

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241031004

引用格式: 纪正业, 金红举, 周治强, 等. 体外消化对金针菇粉抗氧化活性及 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(3): 176–183.

Ji ZY, Jin HJ, Zhou ZQ, et al. Effects of *in vitro* digestion on antioxidant activity and α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Flammulina velutipes* powder [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(3): 176–183. (in Chinese with English abstract).

体外消化对金针菇粉抗氧化活性及 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性的影响

纪正业¹, 金红举², 周治强¹, 潘嘉欣¹, 徐紫依¹, 韦博艺¹, 苏安祥^{1*}

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏省食用菌保鲜与深加工工程研究中心, 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心, 南京 210023; 2. 甘肃省庆阳市合水县蔬菜开发办公室, 庆阳 745400)

摘要: **目的** 通过探究体外消化对金针菇粉抗氧化活性及 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性的影响, 以明确胃肠液消化对金针菇生物活性的影响规律。**方法** 本研究通过对金针菇粉进行模拟肠、胃体外消化处理并进行分析, 以1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基、OH自由基、O₂⁻自由基和2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS⁺]自由基、 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制作用为指标, 对不同消化阶段的金针菇粉抗氧化等活性变化进行研究。**结果** 金针菇粉经体外消化后抗氧化活性增强, 对DPPH、OH、O₂⁻、ABTS⁺自由基清除能力上升, 消化组抗氧化能力高于未消化组。其对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性也增强, 且与浓度呈正相关, 经肠消化后对两种酶抑制作用最强。**结论** 金针菇粉在体外消化后抗氧化活性及酶抑制活性增强, 表明消化过程能够释放并增强金针菇的生物活性, 但是体外抗氧化活性与物料的实际抗氧化性没有直接关系。本研究为金针菇的加工利用和活性研究提供了基础。

关键词: 金针菇; 体外消化; 抗氧化; 生物活性

Effects of *in vitro* digestion on antioxidant activity and α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Flammulina velutipes* powder

Ji Zheng-Ye¹, Jin Hong-Ju², Zhou Zhi-Qiang¹, Pan Jia-Xin¹, Xu Zi-Yi¹,
Wei Bo-Yi¹, Su An-Xiang^{1*}

(1. Jiangsu Province Engineering Research Center of Edible Fungus Preservation and Intensive Processing, Collaborative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Safety, College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China; 2. Vegetable Development Office, Heshui County, Qingyang City, Qingyang 745400, China)

ABSTRACT: Objective To clarify the impact of gastrointestinal fluid digestion on the biological activity of

收稿日期: 2024-10-31

基金项目: 江苏省基础研究计划自然科学基金项目(BK20231303)

第一作者: 纪正业(2002—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为食品保鲜。E-mail: 13956761103@163.com

*通信作者: 苏安祥(1984—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养。E-mail: xiangansu@126.com

Flammulina velutipes, to investigate the effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity and α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Flammulina velutifolia* powder. **Methods** In this study, *Flammulina velutipes* powder was simulated *in vitro* digestion of intestine and stomach and analyzed. With 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical, OH free radical, O_2^- free radical and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺) free radical, α -glucosidase and α -amylase inhibition were used as indexes to study the antioxidant activity of *Flammulina velutipes* powder at different digestion stages. **Results** After *in vitro* digestion, the antioxidant activity of *Flammulina velutipes* powder was enhanced and the free radical scavenging ability of DPPH, OH, O_2^- and ABTS⁺ free radical increased. The antioxidant capacity of the digested group was higher than that of the non-digested group. Its inhibitory activity against α -glucosidase and α -amylase was also enhanced and positively correlated with the concentration, and the strongest inhibitory effect on 2 kinds of enzymes was observed after intestinal digestion. **Conclusion** The antioxidant activity and enzyme inhibitory activity of *Flammulina velutipes* powder are enhanced after *in vitro* digestion, which indicate that the digestion process can release and enhance the bioactivity of *Flammulina velutipes*. However, *in vitro* antioxidant activity is not directly related to the actual antioxidant activity of the material. This study provides a basis for the processing and utilization of *Flammulina velutipes* and its activity research.

KEY WORDS: *Flammulina velutipes*; *in vitro* digestion; antioxidant; biological activity

0 引言

现代研究表明,氧化作用不仅能引起机体的衰老,还可能诱发肿瘤、高血压、心血管疾病和动脉粥样硬化等各种疾病。当机体接受到外界刺激时,因为环境的原因引起氧化应激反应,导致生物体内细胞不断释放自由基,若细胞内自由基未及时发现清除就会发生氧化损伤,破坏生物体的结构,影响生物体的正常功能,导致功能紊乱^[1]。研究发现机体内自由基累积过多可能会导致DNA链断裂、破坏细胞膜结构、引起酶降解以及蛋白质变性,从而增加了机体产生疾病的风险^[2]。抗氧化活性物质因其对抗氧化应激的潜力而受到广泛关注。目前市场上人工方法合成的抗氧化剂如丁基羟基茴香醚(butylated hydroxyanisole, BHA)、丁基羟基甲苯(butyl hydroxytoluene, BHT)以及叔丁基对苯二酚(*tert*-butyl hydroquinone, TBHQ)等安全性和稳定性都存在一定的隐患^[3]。因此,研究安全无副作用且高效的天然抗氧化剂变得尤为重要。

食用菌是天然抗氧化剂的良好来源^[4]。例如何皎等^[5]通过微波辅助法提取香菇多糖,证明香菇多糖具有较好的抗氧化活性;庄海宁等^[6]从猴头菌分离纯化出的多肽有着良好的氧自由基清除效果,具有显著的抗氧化活性;王静等^[7]分别用浸提和热回流两种方式提取猴头菇、杏鲍菇、松茸子实体中的多酚,研究两种提取方式的作用效果以及提取物抗氧化能力的差异,结果表明热回流法提取的多酚抗氧化效果更好,其多酚含量与体外清除自由基的能力呈正相关;黄希群^[8]以灰树花为原料提取抗氧化活性成分,对比分离得到不同活性成分的抗氧化能力,证明了灰树花多酚的抗氧化活性强于灰树花多糖;刘兰庆等^[9]对金针菇黄酮类物质进行了抗氧化活性的测定,结果表明不同浓度

的金针菇黄酮类物质均具有一定的还原能力,且随着浓度的升高,其抗氧化活性逐渐增强;张斌等^[10]以金针菇菌渣为原料,应用响应面分析法,在微波时间 115 s、微波功率 640 W、料液比 1:26 的条件下提取多糖得率为 7.53%。提取得到的多糖具有一定还原力,且对自由基有一定的清除作用,证明金针菇菌渣中多糖具有一定的抗氧化活性;姜秀梅等^[11]发现金针菇多糖 D-半乳糖诱导衰老小鼠脾脏有一定的抗氧化作用,在一定程度上能降低自由基的过氧化,从而保护小鼠免疫器官免受损伤。在当今饮食和健康领域中, α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性的测定对于评估食品对血糖控制的潜在影响至关重要。 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶是与碳水化合物代谢密切相关的酶,它们在消化过程中将复杂碳水化合物分解成单糖,进而影响血糖水平。因此,测定金针菇对这些酶的抑制活性不仅有助于揭示金针菇的潜在健康益处,也为食品科学、营养学和公共卫生领域提供了重要的研究和应用价值。

金针菇(*Flammulina velutipes*)是工厂化栽培程度最高的食用菌,是日常饮食中最容易接触到的食用菌之一,目前已经发展成为第三大食用菌^[12]。金针菇不仅肉质嫩滑、味道鲜美,而且营养物质丰富,其中蛋白质含量约为 18%,多糖含量约为 30%,脂肪含量 2%,还含有铁、磷、钾等多种微量元素。金针菇中还含有人体所必需的氨基酸,尤其是赖氨酸和精氨酸含量丰富,对增强记忆力具有良好的作用,因此又被称为“增智菇”^[13]。金针菇含有多种生物活性物质,如多糖、酚类、甾体类、蛋白质、黄酮类和萜类物质等多种化学成分^[14]。这些成分赋予了金针菇多种药理活性,如免疫调节^[15]、抗肿瘤^[16]、抗氧化^[17]、降血糖^[18]和抑菌^[19]等。

然而,关于消化对金针菇活性的影响尚不完全清楚,这限制了其在食品加工和利用中的应用。因此,本研究通过体

外模拟胃肠道消化对金针菇粉进行体外消化,并对消化前后的产物进行抗氧化活性分析,以了解胃肠液消化对金针菇抗氧化活性的影响,同时对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性进行了测定。本研究有助于更好地了解金针菇在人体内的消化过程,也为金针菇的加工利用和活性研究提供了基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金针菇冻干粉(北京绿友食品有限公司);水杨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠(分析纯,国药集团生物制药公司);邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷(Tris)(分析纯,无锡市亚泰联合有限公司);30% H_2O_2 试剂、铁氰化钾、三氯乙酸、过硫酸钾(分析纯,天津市巴斯夫化工有限公司);盐酸试剂、三氯化铁(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);硫酸亚铁(分析纯,天津市志远化学试剂有限公司);无水乙醇(分析纯,广州市科玛化学技术有限公司);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid reagent, DNS)试剂、猪胆盐(分析纯)、 α -淀粉酶(酶活 3000 U/g)、 α -葡萄糖苷酶(酶活 ≥ 50 U/mg)、胃蛋白酶(酶活 ≥ 250 N.F.U/mg)、胰蛋白酶(酶活 ≥ 250 N.F.U/mg)(合肥千盛生物科技有限公司);对硝基苯酚- β -D-半乳糖苷(p-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, pNPG)溶液(分析纯,北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 仪器

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(上海力辰邦西仪器科技有限公司);HH-4 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Sartorius 0.0001 g 电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);Allegra X-64R*高速冷冻离心机(南京天谱仪器有限公司);HR21M*高速冷冻离心机(赫西仪器有限公司);LHS-HC-150 恒温恒湿培养箱(上海精盛科学仪器有限公司);XW-80A 微型漩涡混合仪(上海沪西分析仪器有限公司);HZQ-C 空气浴振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司);SpectraMax Mini 多功能酶标测试仪(上海美谷分子仪器有限公司);V-1100D 可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);Milli-Q Integral 实验室超纯水系统(南京赛恩斯仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 体外模拟金针菇胃、肠消化

制备未消化金针菇样品:首先,准确称量 10 g 金针菇干燥粉末(100 目),并将其转移至锥形瓶中。随后,制备含 0.1% 盐酸(1.0 mol/L)的 70% 甲醇溶液,并将其与金针菇粉

末充分混合以形成均匀悬浮液。将装有悬浮液的锥形瓶置于超声波清洗器中,以 500 W 的功率进行 30 min 的超声破碎处理,以促进细胞壁的破裂和成分的释放。超声处理后,在室温下使用离心机以 8000 r/min 的转速对样品进行 20 min 的离心分离,以收集上清液。对剩余的沉淀物重复超声和离心步骤,再次收集上清液。将两次获得的上清液合并,即得到未消化的金针菇样品。

体外模拟胃、肠消化:根据 MILLER 等^[20]的方法并作适当修改。(1)准确称取 20 g 金针菇干粉放入烧杯中,加入 200 mL 0.9% 的生理盐水充分混匀,然后放置在沸水浴中加热 20 min,期间保持不断搅拌。等到样品溶液完全冷却后,再向烧杯中加入超纯水调节溶液体积至 220 mL。用 1 mol/L HCl 溶液对样品悬浊液的 pH 进行调节,使 pH 达到 2.0,再加入 1 mL 模拟胃液。其中一组用 1 mL 0.01 mol/L 的 HCl 溶液代替模拟胃液作为盐酸对照组,另一组用 1 mL 的超纯水替代模拟胃液作为空白对照。使用锡箔纸包裹烧杯,使其置于避光的环境中,在 37 °C、100 r/min 的恒温培养振荡器中振荡 2 h,离心(8000 r/min 转速下离心 20 min)后收集上清液,放入 4 °C 恒温恒湿培养箱中储存。分别作为胃消化组、盐酸对照组和空白对照组样品进行分析。(2)向透析袋内加入 8 mL 0.9% 的生理盐水和 2 mL 0.1 mol/L 的 NaHCO_3 溶液,然后再将透析袋浸入上述模拟胃液中,并置于 37 °C、100 r/min 的振荡培养箱中振荡培养 45 min。然后在透析袋外的模拟胃液中加入 5 mL 模拟肠液。另外一组加入 5 mL 0.1 mol/L 的 NaHCO_3 溶液作为肠空白对照组。两组都在 37 °C、100 r/min 的恒温培养振荡器中振荡 2 h。最后,对透析袋外的液体在 8000 r/min 转速下离心 20 min,收集上清液分别作为肠消化组和肠空白对照组的样品。

1.3.2 金针菇多糖的体外抗氧化能力测定

(1) DPPH 自由基清除能力测定

DPPH 自由基清除能力测定参考晏俊玲等^[21]的测定方法,并稍作修改。6 种消化样品溶液(未消化组、胃消化组、空白对照组、盐酸对照组、肠对照组、肠空白组)均用超纯水稀释成相同浓度,再分别吸取 1 mL 样品溶液于离心管中,依次加入 0.16 mmol/L 的 DPPH 溶液(DPPH 粉末溶于 95% 乙醇溶液)2 mL,经充分振荡摇匀后放置于 25 °C 水浴锅中加热 30 min,在 517 nm 波长处测定溶液的吸光度,上述操作均在避光条件下进行。清除率根据公式(1)计算:

$$\text{清除率}/\% = \frac{[A_0 - (A_1 - A_2)]}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中, A_0 为乙醇代替样品的吸光度; A_1 为不同的消化样品的吸光度; A_2 为乙醇代替 DPPH 溶液的吸光度。

(2) O_2^- 自由基清除能力测定

O_2^- 自由基清除能力测定参考张莲姬等^[22]的方法,并稍作改动。6 种消化样品溶液均用超纯水稀释成相同浓度,再移取 1 mL 样品溶液于离心管中,分别加入 0.2 mol/L,

pH=8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 1 mL, 经充分振荡摇匀后放置于 37 °C 的水浴锅中加热 30 min, 然后加入 1 mL 预先在 37 °C 水浴锅中加热 2 min 的 7 mmol/L 邻苯三酚盐酸溶液并摇匀, 使其反应 5 min 后, 在 320 nm 波长处测定溶液的吸光度。清除率按照公式(2)计算:

$$\text{清除率}/\% = \frac{(A_{11} - A_{12})}{A_{11}} \times 100\% \quad (2)$$

式中, A_{11} 为超纯水代替样品的吸光度; A_{12} 为不同的消化样品的吸光度。

(3) OH 自由基清除能力的测定

OH 自由基清除能力参考马晓华等^[23]的测定方法, 并略作修改。先取 6 mmol/L 的 FeSO_4 溶液 1 mL 和 6 mmol/L 的 H_2O_2 溶液 1 mL, 充分振荡摇匀, 发生反应生成 OH 自由基。然后将 6 种消化样品溶液均用超纯水稀释成相同浓度, 在离心管中分别加入 1 mL 样品溶液, 最后加入 6 mmol/L 的水杨酸溶液 1 mL, 充分振荡摇匀后放置于 37 °C 水浴锅中加热 30 min, 在 510 nm 波长处测定溶液的吸光度。清除率根据公式(3)计算:

$$\text{清除率}/\% = \frac{[A_{20} - (A_{21} - A_{22})]}{A_{20}} \times 100\% \quad (3)$$

式中, A_{20} 为超纯水代替样品的吸光度; A_{21} 为不同的消化样品的吸光度; A_{22} 则为用超纯水代替 H_2O_2 的吸光度。

(4) ABTS⁺自由基清除能力的测定

ABTS⁺自由基清除能力的测定参考李帆等^[24]的方法, 并略作改进。准确称取 38.4 mg ABTS 用超纯水定容到 10 mL, 配制成 7 mmol/L 的 ABTS 溶液, 称取 13.4 mg $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 用超纯水定容到 10 mL, 配制成 2.45 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液, 两者等体积混合, 在避光条件下保存 12~16 h 获得 ABTS⁺工作液。在使用之前, 用 10 mmol/L、pH=7.4 的磷酸盐缓冲液将其稀释至在 734 nm 波长处吸光度为 0.700 ± 0.020 的溶液。6 种消化样品溶液均用超纯水稀释成相同浓度, 移取 1 mL ABTS⁺储备液并分别加入 1 mL 样品溶液, 经充分摇匀后置于室温下反应 6 min, 在 734 nm 波长处测定溶液的吸光度。清除率计算如式(4):

$$\text{清除率}/\% = \frac{[A_{30} - (A_{31} - A_{32})]}{A_{30}} \times 100\% \quad (4)$$

式中, A_{30} 为超纯水代替样品的吸光度; A_{31} 为不同的消化样品的吸光度; A_{32} 为磷酸盐缓冲溶液代替的 ABTS⁺测定液的吸光度。

1.3.3 体外消化对金针菇抑制 α -葡萄糖苷酶活性的测定

测定 α -葡萄糖苷酶的抑制活性根据 YANG 等^[25]的方法并进行修改。先取 200 μL 样品溶液于离心管中, 加入 200 μL 用磷酸缓冲溶液溶解的 α -葡萄糖苷酶溶液, 将离心管放置在 37 °C 水浴中反应 15 min, 再加入 200 μL 2.5 mmol/L pNPG 溶液充分混匀。继续在 37 °C 水浴中反应 10 min 后, 加入 5 mL 0.10 mol/L Na_2CO_3 溶液终止反应, 在 400 nm 波长处测定溶液的吸光度。抑制率的计算如式(5):

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶的抑制率}/\% = \left(1 - \frac{A_{41} - A_{42}}{A_{43} - A_{44}}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式中, A_{41} 为空白组, 即用超纯水替代样品溶液测得的吸光度; A_{42} 为空白对照组, 即用超纯水替代样品溶液和用缓冲溶液替代 α -淀粉酶溶液测得的吸光度; A_{43} 为样品组, 即样品溶液测得的吸光度; A_{44} 为样品对照组, 即用缓冲溶液替代 α -淀粉酶溶液测得的吸光度。

1.3.4 体外消化对金针菇抑制 α -淀粉酶活性的测定

根据 BAO 等^[26]的方法测定 α -淀粉酶抑制活性。在室温下取 200 μL 不同浓度的样品溶液于离心管中, 加入 200 μL 用磷酸缓冲溶液溶解的 α -淀粉酶溶液, 充分振荡摇匀, 放置在 37 °C 水浴中反应 5 min, 再加入 200 μL 1% 淀粉溶液充分混匀, 在 37 °C 水浴中继续反应 15 min。最后加入 0.4 mL DNS 试剂, 将离心管置于水浴锅中沸水浴 5 min, 冷却至室温, 加超纯水定容至 5 mL, 在 540 nm 波长处测定溶液吸光度。抑制率按式(6)计算:

$$\alpha\text{-淀粉酶的抑制率}/\% = \left(1 - \frac{A_{51} - A_{52}}{A_{53} - A_{54}}\right) \times 100\% \quad (6)$$

式中, A_{51} 为空白组, 即用超纯水替代样品溶液测得的吸光度; A_{52} 为空白对照组, 即用超纯水替代样品溶液和 α -淀粉酶溶液测得的吸光度; A_{53} 为样品组, 即样品溶液测得的吸光度; A_{54} 为样品对照组, 即用超纯水替代 α -淀粉酶溶液测得的吸光度。

1.4 数据处理

采用 Origin 2018 分析软件对数据进行分析, 实验结果均为 3 次实验的平均值, 实验结果用平均值 $\pm$ 标准偏差表示。采用 SPSS Statistics 20 统计软件, 用 t 检验比较两种处理样品间的显著性差异。

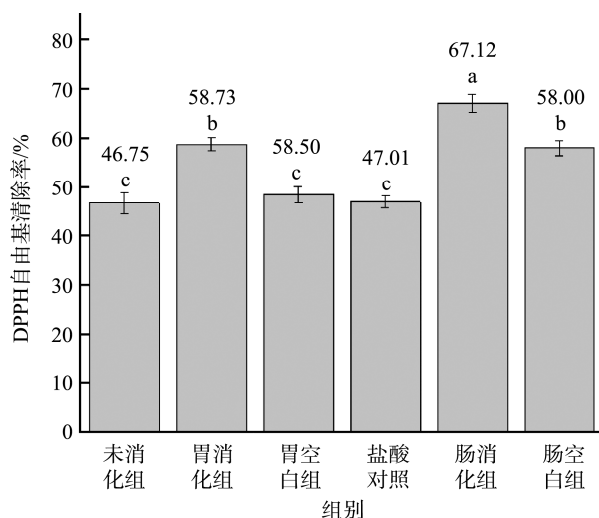
2 结果与分析

2.1 体外消化对金针菇抗氧化活性的影响

2.1.1 DPPH 自由基清除能力的测定结果

DPPH 是一种非常稳定的自由基, 测定 DPPH 的自由基清除率具有快速、简便、易操作的优点, 该方法是将样品溶液与 DPPH 溶液混合, 在黑暗环境中反应一段时间后, 通过测定反应体系在特定波长下的吸光度, 根据吸光度变化来计算样品对 DPPH 自由基的清除率^[27]。DPPH 溶于乙醇溶液呈紫红色, 当加入抗氧化剂即自由基清除剂后, DPPH 乙醇溶液中的孤对电子会与抗氧化剂结合, 因而出现颜色变化, 与抗氧化剂结合越多, 清除能力越强, 吸光度越低, 颜色会变得越浅, 反之则会变深^[28]。测定不同消化阶段金针菇 DPPH 自由基清除能力, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 金针菇干粉清除 DPPH 自由基的总体趋势为: 随着消化不断进行, 其 DPPH 自由基清除效果逐渐明显。DPPH 自由基清除率从 46.74% 增加到 67.12%。在胃消化阶

段,空白对照组和盐酸对照组的 DPPH 清除率没有明显变化,两组之间不存在显著差异($P>0.05$),胃消化组与空白对照组、盐酸对照组之间具有显著性差异($P<0.05$)。经胃消化后的 DPPH 清除率相比于未消化时增加了 111.31%,显著大于未消化组。经过肠道消化后 DPPH 自由基清除能力呈较明显增长趋势。肠空白组的变化不明显,与肠空白组相比,肠消化组 DPPH 自由基清除能力增强,清除率为 67.12%,显著大于肠空白组($P<0.05$)。由此可见,金针菇对 DPPH 自由基表现出较强的清除效果,并且经胃、肠消化提高了金针菇 DPPH 自由基清除活性。



注:不同小写字母表示不同组之间具有显著性差异($P<0.05$),图2~4同。

图1 金针菇模拟体外消化过程DPPH自由基清除能力
Fig.1 DPPH free radical scavenging capacities of *Flammulina velutipes* in vitro digestive process

2.1.2 O_2^- 自由基清除能力的测定结果

O_2^- 自由基十分活泼,具有较强的氧化性和毒性。它虽然不能直接导致脂质氧化,但却能转化成其他活性氧自由基,对机体产生进一步的氧化危害,因此研究这种自由基的清除率是非常重要的^[29]。从图2可以看出,随着消化过程不断地进行,金针菇的 O_2^- 自由基清除能力也随之增加。 O_2^- 自由基清除率从 20.20%增加到 36.51%。在胃消化阶段,空白对照组和盐酸对照组的 O_2^- 自由基清除率变化不明显,不存在显著差异($P>0.05$),胃消化组与这两组相比清除率分别提高了 135.56%和 132.35%,存在显著性差异($P<0.05$)。经胃消化后的 O_2^- 自由基清除率相比于未消化时增加了 126.94%,具有显著差异性。经过肠道消化后 O_2^- 自由基清除能力呈较明显增长趋势,而肠消化组清除自由基能力增强,清除率为 36.51%,达到肠空白对照组的 1.25 倍,显著大于肠空白组。结果显示,经肠道消化的金针菇 O_2^- 自由基清除能力增强。

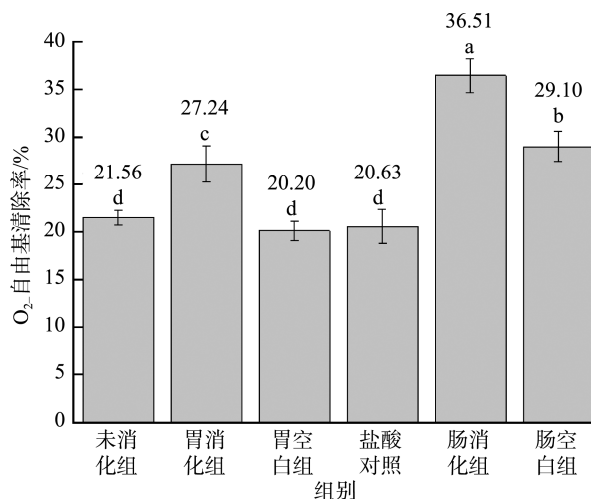


图2 金针菇模拟体外消化过程 O_2^- 自由基清除能力
Fig.2 O_2^- free radical scavenging capacities of *Flammulina velutipes* in vitro digestive process

2.1.3 OH 自由基清除能力的测定结果

OH 自由基是人体最活跃的自由基,可以与细胞中的生物大分子发生反应,引起脂质过氧化,从而导致细胞受损。当 OH 清除剂存在时,OH 清除剂与羟基自由基结合,在最大吸收波长处的吸光值降低。OH 自由基清除率是筛选抗氧化剂的重要指标之一。金针菇在模拟胃、肠消化过程中 OH 自由基清除能力的变化趋势如图3所示,OH 自由基清除率从 28.92%上升到 41.43%。胃消化阶段,空白对照组和盐酸对照组的 OH 自由基清除率没有明显的变化,两组之间不存在显著性差异($P>0.05$),胃消化组与未消化组相比,清除率增长了 156.72%,也明显高于空白对照组和盐酸对照组,因此它们之间具有显著性差异($P<0.05$)。在肠消化阶段,进一步促进了羟基自由基清除能力的增长,肠消化组清除率为 41.43%,显著大于肠空白对照组($P<0.05$)。由此可见,金针菇对 OH 自由基有明显的清除效果,并且经胃、肠消化后清除 OH 自由基能力有一定程度的提升。

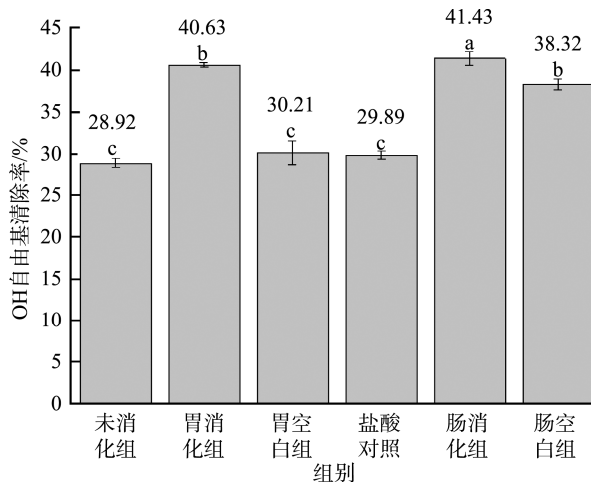


图3 金针菇模拟体外消化过程OH自由基清除能力
Fig.3 OH free radical scavenging capacities of *Flammulina velutipes* in vitro digestive process

2.1.4 ABTS⁺自由基清除率的测定结果

ABTS 法操作简便, 准确率高, 可作为抗氧化性研究的方法之一^[30]。如图 4 所示, 6 种样品经体外模拟消化后 ABTS⁺清除能力呈现出相似的变化趋势。在胃消化阶段, 胃消化组、胃空白组和盐酸对照组 ABTS⁺自由基清除率变化不明显, 两组之间不存在显著性差异($P>0.05$), 与未消化组相比, 胃消化组 ABTS⁺自由基清除率仅增长了 101.11%。继续进入肠消化阶段, ABTS⁺自由基清除能力呈现出明显的增长趋势, 肠消化组的 ABTS⁺清除能力略高于肠空白组, 清除率增长了 101.05%, 两组之间无显著性差异($P>0.05$)。与胃消化阶段相比, 肠消化组是其 1.05 倍, 存在显著差异。由以上结果可以看出, 经胃模拟消化后金针菇的 ABTS⁺自由基清除能力有所增强, 但变化趋势不大, 经过肠消化后 ABTS⁺清除能力有了显著提高。

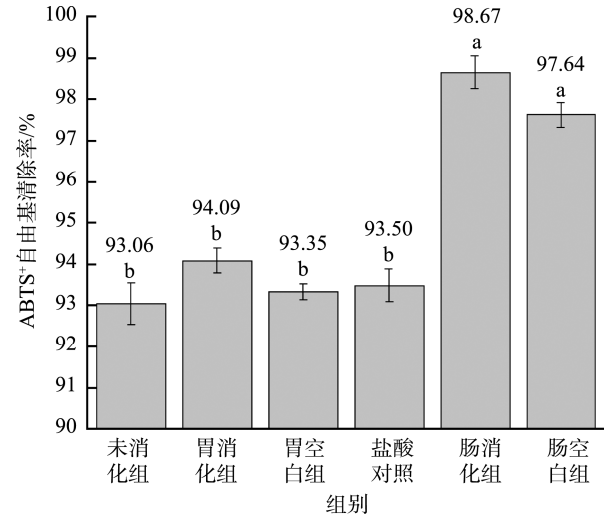


图4 金针菇模拟体外消化过程ABTS⁺自由基清除能力
Fig.4 ABTS⁺ free radical scavenging capacities during *in vitro* digestion of *Flammulina velutipes*

在模拟胃、肠消化过程中, 6 种样品的抗氧化活性(DPPH 自由基、OH 自由基、O₂⁻自由基和 ABTS⁺自由基清除能力)呈现明显上升的趋势。其原因可能是, 通过体外模拟胃、肠消化, 金针菇干粉中越来越多的多糖、多酚、黄酮等抗氧化活性成分被释放出来, 使其抗氧化活性显著提升。抗氧化活性的差异可能是由于多酚和类黄酮等抗氧化成分含量的不同所导致的, 并且这些成分与金针菇的抗氧

化能力呈正相关。由此可以猜测, 经过模拟胃、肠的消化后, 金针菇中的活性物成分存在形式发生改变, 释放量增加, 使金针菇的抗氧化活性增加。

2.2 体外消化对金针菇抑制 α -葡萄糖苷酶活性的影响

金针菇对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的结果如表 1 所示。从表 1 中可以看出, 在一定质量浓度范围(2~10 mg/mL)内, α -葡萄糖苷酶抑制率随样品质量浓度的增大而增强, 呈现一定的量效关系。当样品质量浓度在 2 mg/mL 时, 对 α -葡萄糖苷酶抑制效果较弱, 抑制率仅为 14.06%~18.81%。随着质量浓度增加到 10 mg/mL, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率明显提高, 在这个浓度下抑制率达到了 30.48%~35.46%。在不同消化阶段, α -葡萄糖苷酶抑制活性存在差异。肠道消化对 α -葡萄糖苷酶抑制活性明显高于未消化组, 略高于胃消化组。未消化组的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)值为 41.158 mg/mL。经过模拟胃消化后, 金针菇对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用显著提高, IC₅₀ 值达到 32.857 mg/mL。同时, 与未消化组相比, 消化组的 IC₅₀ 较低。当进一步模拟肠道消化后, IC₅₀ 值继续下降, 表明肠道消化的抑制活性比胃消化组更高。根据上述结果显示, 模拟胃肠道消化后, 金针菇对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性有了明显提升。

2.3 体外消化对金针菇抑制 α -淀粉酶活性的影响

金针菇对 α -淀粉酶的抑制活性也与质量浓度呈正相关, 如表 2 所示。当样品质量浓度在 2 mg/mL 时, 对 α -淀粉酶抑制效果较弱, 抑制率仅为 7.89%~13.86%。随着质量浓度增加到 10 mg/mL 时, 对 α -淀粉酶的抑制率明显提高, 在这个浓度下抑制率达到了 30.78%~43.51%。金针菇未消化组的 IC₅₀ 为 23.611 mg/mL, 经过胃、肠消化后, IC₅₀ 值不断下降。经胃消化后, 金针菇对 α -淀粉酶的抑制活性达到 12.10%~39.43%, IC₅₀ 值有所降低。经肠道模拟消化后, 金针菇对 α -淀粉酶的抑制活性达到 13.86%~43.51%, 酶抑制活性上升, IC₅₀ 值继续降低。说明体外消化对 α -淀粉酶抑制作用提高, 但总体上抑制活性上升趋势不大。同时与 α -葡萄糖苷酶抑制活性相比较, α -淀粉酶酶的 IC₅₀ 值更低, 说明金针菇对 α -淀粉酶的抑制效果比对 α -葡萄糖苷酶的更好, 经体外消化后金针菇更容易发挥其抑制 α -淀粉酶的活性。

表 1 体外消化对金针菇抑制 α -葡萄糖苷酶活性的影响显著性差异分析(%)						
Table 1 Significant difference analysis of the effects of <i>in vitro</i> digestion on the inhibition of α -glucosidase activity by <i>Flammulina velutipes</i> (%)						
α -葡萄糖苷酶质量浓度 (/mg/mL)	未消化组	胃消化组	空白对照	盐酸对照	肠消化组	肠空白组
2	14.06±0.003 ^c	17.25±0.005 ^d	15.16±0.004 ^d	16.13±0.007 ^d	18.81±0.008 ^c	18.03±0.003 ^c
4	18.98±0.006 ^d	23.51±0.003 ^c	21.20±0.016 ^c	21.58±0.006 ^c	23.14±0.016 ^c	22.49±0.005 ^d
6	23.68±0.004 ^c	27.66±0.012 ^b	26.63±0.006 ^b	26.63±0.002 ^b	28.48±0.015 ^c	26.92±0.007 ^c
8	28.21±0.013 ^b	31.38±0.016 ^b	30.46±0.007 ^a	30.41±0.014 ^{ab}	32.54±0.005 ^d	30.86±0.017 ^b
10	30.48±0.012 ^a	35.02±0.007 ^a	33.45±0.014 ^a	32.43±0.009 ^a	35.46±0.006 ^a	34.26±0.013 ^a

注: 同行不同小写字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$), 下同。

表 2 体外消化对金针菇抑制 α-淀粉酶活性的影响显著性差异分析(%)

α-淀粉酶质量浓度 (mg/mL)	未消化组	胃消化组	空白对照	盐酸对照	肠消化组	肠空白组
2	7.89±0.006 ^d	12.10±0.005 ^e	10.16±0.005 ^e	9.23±0.003 ^e	13.86±0.005 ^e	12.11±0.008 ^e
4	16.17±0.015 ^c	20.41±0.009 ^d	17.72±0.013 ^d	18.81±0.006 ^d	21.74±0.014 ^d	21.19±0.016 ^d
6	22.13±0.014 ^{bc}	29.52±0.014 ^e	25.96±0.016 ^e	26.42±0.012 ^e	31.27±0.016 ^c	30.27±0.009 ^c
8	27.38±0.004 ^{ab}	35.34±0.015 ^b	32.06±0.004 ^b	31.53±0.007 ^b	38.23±0.008 ^b	36.80±0.014 ^b
10	30.78±0.007 ^a	39.43±0.008 ^a	35.84±0.012 ^a	35.00±0.004 ^a	43.51±0.015 ^a	42.05±0.007 ^a

由以上结果可知,随着样品质量浓度的增加(2~10 mg/mL),金针菇对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶抑制作用均呈增加趋势,且具有明显的剂量依赖关系。其中,经肠消化后的金针菇对这两种酶的抑制作用最强。在相同浓度下金针菇对 α-淀粉酶的抑制能力强于 α-葡萄糖苷酶。这可能是与 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶之间不同的作用机制有关。

3 结 论

本研究通过体外模拟消化对不同消化阶段的金针菇抗氧化活性进行了研究。结果表明,经胃、肠消化的金针菇均具有明显的清除 DPPH 自由基、O₂⁻自由基、OH·自由基和 ABTS·⁺自由基的能力,且随着消化过程进行,与抗氧化能力呈正相关。在模拟胃、肠消化过程中,抗氧化活性均呈逐渐上升的趋势,消化前后的样品抗氧化活性整体上有显著性差异($P<0.05$)。酶抑制活性研究表明,金针菇对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶均具有突出的抑制作用,且对 α-淀粉酶的抑制作用强于对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用。这可能是消化过程中释放并激活了金针菇中的多糖、多酚、黄酮等生物活性成分引起的。这为探索不同人群(如糖尿病患者、老年人)对金针菇粉消化后活性成分反应差异的个性化营养提供了科学依据,并为金针菇的加工利用和活性研究提供了基础。

参考文献

[1] 周婷婷. 基于玉米酒糟混料栽培的平菇多糖抗氧化活性及结构研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2023.
ZHOU TT. Antioxidant activity and structure of polysaccharides in flat mushrooms cultivated based on corn wine lees mixture [D]. Guiyang: Guizhou University, 2023.

[2] 王耀冉, 赵妍, 陈明杰, 等. 8 种食用菌蛋白及其酶解产物抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(9): 134–138, 152.
WANG YR, ZHAO Y, CHEN MJ, *et al.* Antioxidant activities of eight edible mushroom proteins and their enzymatic products [J]. Food & Machinery, 2022, 38(9): 134–138, 152.

[3] 刘燕, 杨智玲, 魏法山, 等. 天然抗氧化剂的研究现状[J]. 粮油加工, 2014(4): 66–70.
LIU Y, YANG ZL, WEI FS, *et al.* Research status of natural antioxidants [J]. Cereals and Oils Processing, 2014(4): 66–70.

[4] 王飞宇, 刘娅妮, 李然, 等. 多组学技术在食用菌保鲜中的应用研究进

展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(13): 159–168.
WANG FY, LIU YN, LI R, *et al.* Progress in the application of multi-omics technology in the preservation of edible mushrooms [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(13): 159–168.

[5] 何皎, 孙晓菲, 潘琳, 等. 微波提取香菇多糖制备微胶囊的抑菌抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(2): 71–75.
HE J, SUN XF, PAN L, *et al.* Antibacterial and antioxidant activities of microcapsules prepared from microwave extracted mushroom polysaccharides [J]. China Flavorings, 2023, 48(2): 71–75.

[6] 庄海宁, 向情儒, 刘玉莽, 等. 猴头菌抗氧化肽的分离纯化[J]. 食用菌学报, 2022, 29(6): 59–66.
ZHUANG HN, XIANG QR, LIU YQ, *et al.* Isolation and purification of antioxidant peptides from monkey head mushroom [J]. Journal of Edible Mushrooms, 2022, 29(6): 59–66.

[7] 王静, 叶殿锋, 邓明高, 等. 三种食药菌多酚含量测定及抗氧化活性比较[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 51–57.
WANG J, YE DF, DANG MG, *et al.* Determination of polyphenol content and comparison of antioxidant activities of three medicinal mushrooms [J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(4): 51–57.

[8] 黄希群. 灰树花活性成分的分离鉴定及抗氧化作用研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2014.
HUANG XQ. Separation and identification of active components and antioxidant effects of *Ashwagandha floribunda* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2014.

[9] 刘兰庆, 汪鋆植, 倪炎. 金针菇黄酮类化合物的体外抗氧化活性研究[J]. 生物化工, 2018, 4(6): 62–65.
LIU LQ, WANG JZ, NI Y. *In vitro* antioxidant activity of flavonoids from *Flammulina velutipes* [J]. Biochemistry, 2018, 4(6): 62–65.

[10] 张斌, 刘莹, 王益, 等. 金针菇菌渣中多糖的微波辅助提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(1): 120–125, 178.
ZHANG B, LIU Y, WANG Y, *et al.* Microwave-assisted extraction process of polysaccharides from the mushroom pomace of *Flammulina velutipes* and its antioxidant activity [J]. Natural Products Research and Development, 2015, 27(1): 120–125, 178.

[11] 姜秀梅, 徐小磊, 殷一民, 等. 金针菇多糖对衰老小鼠脾脏抗氧化能力的影响[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2016, 17(4): 488–491.
JIANG XM, XU XL, YIN YM, *et al.* Effects of *Flammulina velutipes* polysaccharide on antioxidant capacity of spleen in senescent mice [J]. Journal of Beihua University (Natural Science Edition), 2016, 17(4): 488–491.

[12] 吴亮亮, 赵锐, 钟蕾, 等. 金针菇多糖纯化及抗氧化活性研究[J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(10): 68–71.

- WU LL, ZHAO R, ZHONG L, *et al.* Purification and antioxidant activity of polysaccharides from the golden needle mushroom [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2024, 43(10): 68–71.
- [13] 韩璿, 吴正钧, 高彩霞, 等. 功能性多糖饮料的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(8): 115–119.
- HAN J, WU ZJ, GAO CX, *et al.* Research progress of functional polysaccharide beverages [J]. *Food Research and Development*, 2015, 36(8): 115–119.
- [14] 申鑫玉, 黄悦同, 阿依江·特列吾汗, 等. 金针菇多糖的提取纯化及生物活性研究进展[J]. *食品工业*, 2023, 44(2): 235–240.
- SHEN XY, HUANG YT, ALIJIANG TLWH, *et al.* Progress in the extraction, purification and bioactivity of polysaccharides from *Flammulina velutipes* [J]. *The Food Industry*, 2023, 44(2): 235–240.
- [15] HAO Y, WANG X, YUAN S, *et al.* *Flammulina velutipes* polysaccharide improves C57BL/6 mice gut health through regulation of intestine microbial metabolic activity [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 167: 1308–1318.
- [16] 薛卫. 金针菇根多糖的体外消化及其对肠道菌群的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
- XUE W. *In vitro* digestion of *Flammulina velutipes* root polysaccharide and its effect on intestinal flora [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.
- [17] 王飞宇, 刘娅妮, 李然, 等. 多组学技术在食用菌保鲜中的应用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(13): 159–168.
- WANG FY, LIU YN, LI R, *et al.* Progress in the application of multi-omics technology in the preservation of edible mushrooms [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(13): 159–168.
- [18] 冯翠萍, 乔瑶瑶, 李佳欣, 等. 食用菌多糖结构与功能研究进展[J]. *山西农业科学*, 2024, 52(2): 128–144.
- FENG CP, QIAO YY, LI JX, *et al.* Progress on the structure and function of polysaccharides from edible mushrooms [J]. *Shanxi Agricultural Science*, 2024, 52(2): 128–144.
- [19] 王舰, 江铨津, 黄镇宇, 等. 食用菌菌丝体的营养品质及其在肉制品中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(12): 80–90.
- WANG J, JIANG QJ, HUANG ZY, *et al.* Nutritional quality of edible mushroom mycelium and its application in meat products [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(12): 80–90.
- [20] MILLER DD, SCHRICKER BR, RASMUSSEN RR, *et al.* An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1981, 34(10): 2248–2256.
- [21] 晏俊玲, 樊扬, 秦川, 等. 苦笋总黄酮提取工艺优化及其抗炎抗氧化活性研究[J]. *四川农业大学学报* 2022(2): 40.
- YAN JL, FAN Y, QIN C, *et al.* Optimization of extraction process of total flavonoids from bitter shoots and their anti-inflammatory and antioxidant activities [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2022(2): 40.
- [22] 张莲姬, 南昌希, 张丽霞. 桔梗多糖的提取及其抗氧化作用研究[J]. *食品与机械*, 2008, 24(3): 60–63.
- ZHANG LJ, NAN CX, ZHANG LX. Extraction of polysaccharides from *Platycodon grandiflorus* and their antioxidant effects [J]. *Food and Machinery*, 2008, 24(3): 60–63.
- [23] 马晓华, 连宾. 几种常见食用菌清除羟基自由基能力的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2005(10): 25–28.
- MA XH, LIAN B. Studies on the hydroxyl radical scavenging ability of several common edible mushrooms [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2005(10): 25–28.
- [24] 李帆, 邢珂慧, 邵佩兰, 等. 红枣色素与枣多糖的协同抗氧化作用[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(9): 13–17, 23.
- LI F, XING KH, SHAO PL, *et al.* Synergistic antioxidant effects of jujube pigment and jujube polysaccharide [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2019, 40(9): 13–17, 23.
- [25] YANG X, KONG F. Evaluation of the *in vitro* α -glucosidase inhibitory activity of green tea polyphenols and different tea types [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(3): 777–782.
- [26] BAO T, WANG Y, LI YT, *et al.* Antioxidant and antidiabetic properties of tartary buckwheat rice flavonoids after *in vitro* digestion [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 2016, 17(12): 941–951.
- [27] 房盟盟, 梁栋, 马康, 等. 基于 DPPH 自由基清除能力的牡丹籽油体外抗氧化功效[J]. *林业科技通讯*, 2024(7): 56–58.
- FANG MM, LIANG D, MA K, *et al.* *In vitro* antioxidant efficacy of peony seed oil based on DPPH free radical scavenging capacity [J]. *Forestry Science and Technology Newsletter*, 2024(7): 56–58.
- [28] 韦献雅, 殷丽琴, 钟成, 等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 317–322.
- WEI XY, YIN LQ, ZHONG C, *et al.* Advances in the evaluation of antioxidant activity by DPPH method [J]. *Food Science*, 2014, 35(9): 317–322.
- [29] 张海芬, 高云涛, 那吉, 等. 8 种水生蔬菜清除水溶性 ABTS⁺自由基活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(6): 8–13, 18.
- ZHANG HF, GAO YT, NA J, *et al.* Study on scavenging activity of water-soluble ABTS⁺ radicals in 8 aquatic vegetables [J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(6): 8–13, 18.
- [30] 周贵华, 梅邢, 程超. 不同纯度藻蓝蛋白对 ABTS 阳离子自由基清除动力学研究[J]. *湖北民族大学学报(自然科学版)*, 2022, 40(4): 385–390, 406.
- ZHOU GH, MEI X, CHENG C. Kinetics of ABTS cation radical scavenging by phycocyanin of different purities [J]. *Journal of Hubei University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2022, 40(4): 385–390, 406.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)