

赤松茸乙醇提取物不同萃取相生物活性对比

魏磊¹, 景炳年¹, 李宁洁¹, 金饶², 谢晓阳¹, 刘雨晴¹, 马艳妮¹, 梁雅辉¹, 王韬¹, 王伟^{1*}

(1. 河南省科学院 天然产物重点实验室, 河南 郑州 450002; 2. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450001)

摘要: 该文比较分析赤松茸乙醇提取物不同萃取相抗氧化、降脂和降糖活性。将赤松茸乙醇提取物依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 连同水相萃取物分别浓缩得到4个不同的萃取相; 采用DPPH、ABTS⁺和羟自由基清除法及总抗氧化能力测定法检测4个萃取相的体外抗氧化活性; 通过胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性评价其体外降脂活性; 通过 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制能力测定其体外降糖活性。结果表明, 对DPPH自由基清除能力强弱排序为石油醚相>乙酸乙酯相>正丁醇相>水相, IC₅₀分别为21.63、22.69、27.67、40.98 mg/mL; 对ABTS⁺自由基清除能力强弱排序为乙酸乙酯相>正丁醇相>水相>石油醚相, IC₅₀分别为9.17、11.52、17.16、18.50 mg/mL; 对羟自由基清除能力强弱排序为乙酸乙酯相>石油醚相>正丁醇相>水相, IC₅₀分别为22.46、25.48、30.48、52.03 mg/mL; 总抗氧化能力强弱排序为乙酸乙酯相>正丁醇相>石油醚相>水相, 分别为200.27、73.79、70.39、46.02 μ mol/g。对胰脂肪酶和胆固醇酯酶抑制率大小排序均为乙酸乙酯相>正丁醇相>石油醚相>水相。对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制能力排序均为乙酸乙酯相>水相>正丁醇相>石油醚相。综上, 赤松茸乙醇提取物不同萃取相均有一定的抗氧化、降脂和降糖活性, 其中乙酸乙酯相活性最为明显。

关键词: 赤松茸; 不同萃取相; 抗氧化活性; 降脂活性; 降糖活性

Biological Activity Comparison of Different Phases of Ethanol Extracts from *Stropharia rugosoannulata*

WEI Lei¹, JING Bingnian¹, LI Ningjie¹, JIN Rao², XIE Xiaoyang¹, LIU Yuqing¹, MA Yanni¹, LIANG Yahui¹, WANG Tao¹, WANG Wei^{1*}

(1. Key Laboratory of Natural Products, Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450002, Henan, China;

2. School of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, Henan, China)

Abstract: The antioxidant, lipid-lowering, and hypoglycemic activity of different phases of ethanol extracts from *Stropharia rugosoannulata* was compared and analyzed in this study. The ethanol extracts of *Stropharia rugosoannulata* were sequentially extracted by petroleum ether, ethyl acetate, and n-butanol, and they together with water fractions were concentrated separately to obtain four different extraction phases. Meanwhile, DPPH, ABTS⁺, hydroxyl free radical scavenging methods and total antioxidant capacity determination methods were adopted to detect the *in vitro* antioxidant activity of the four extraction phases. *In vitro* lipid-lowering activity was evaluated via the pancreatic lipase and cholesterol esterase activity. Hypoglycemic activity was analyzed by inhibitory activity of α -glucosidase and α -amylase. Results showed that the order of DPPH free radical scavenging ability was petroleum ether phase>ethyl acetate phase>n-butanol phase>water phase, with IC₅₀ values of 21.63, 22.69, 27.67, 40.98 mg/mL respectively. The ranking of ABTS⁺ free radical scavenging ability was ethyl acetate phase>n-butanol phase>water phase>petroleum ether phase, with IC₅₀ of 9.17, 11.52, 17.16, 18.50 mg/mL respectively. The ranking of hydroxyl free radical scavenging ability was ethyl acetate phase>petroleum ether phase>n-butanol phase>water phase, with IC₅₀ of 22.46, 25.48, 30.48, 52.03 mg/mL respectively. The total antioxidant capacity was ranked as ethyl acetate phase>n-butanol phase>petroleum ether phase>water phase, with

基金项目: 河南省科技攻关项目(242102110135); 河南省科学院基本科研项目(230613074)

作者简介: 魏磊(1986—), 男(汉), 副研究员, 博士, 研究方向: 食品功能成分研究与开发。

*通信作者: 王伟(1980—), 男(汉), 副研究员, 博士, 研究方向: 植物天然产物开发与应用。

the mass of 200.27, 73.79, 70.39, 46.02 $\mu\text{mol/g}$ respectively. The order of inhibition rates for pancreatic lipase and cholesterol esterase was ethyl acetate phase>n-butanol phase>petroleum ether phase>water phase, while that of the inhibition ability for α -glucosidase and α -amylase was ethyl acetate phase>water phase>n-butanol phase>petroleum ether phase. In conclusion, different extraction phases of ethanol extracts from *Stropharia rugosoannulata* showed antioxidant, lipid-lowering, and hypoglycemic activity, with the most notable activity of the ethyl acetate phase.

Key words: *Stropharia rugosoannulata*; different extract phase; antioxidant activity; lipid-lowering activity; hypoglycemic activity

引文格式:

魏磊,景炳年,李宁洁,等.赤松茸乙醇提取物不同萃取相生物活性对比[J].食品研究与开发,2025,46(4):39-45.

WEI Lei, JING Bingnian, LI Ningjie, et al. Biological Activity Comparison of Different Phases of Ethanol Extracts from *Stropharia rugosoannulata*[J]. Food Research and Development, 2025, 46(4): 39-45.

赤松茸(*Stropharia rugosoannulata* Farl.)又称大球盖菇,在全球范围内广泛栽培^[1]。赤松茸产量较高、口感清香、肉质滑嫩、菌柄爽脆、经济价值较高,是国际菇类交易市场上的十大品种之一,成为联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)向发展中国家推荐的新菇种^[2]。赤松茸富含多糖和甾醇等多种生物活性物质,具有抗菌、抗氧化、降血糖、降血脂、抗肿瘤等药理活性^[3]。因此,关于赤松茸高产栽培、营养功能和药用价值的研究已受到食用菌领域研究工作者的广泛关注。

人体在正常代谢及与外界环境接触过程中产生的大量自由基,能够破坏蛋白质、脂肪酸和核酸等生物大分子,相应地引起对细胞或组织的氧化损伤,甚至导致基因突变。高浓度的自由基会引起氧化应激反应,破坏体内的氧化还原平衡并引起各种慢性疾病,甚至早衰^[4]。因此,自由基已成为影响人类健康的主要因素之一,而抗氧化剂能够清除多余的自由基来保持人体稳态,起到预防和治疗疾病的作用,所以,抗氧化性评价和天然抗氧化剂开发是制药和食品行业的研究热点之一^[5]。

针对赤松茸抗氧化性的研究目前主要集中在赤松茸水提物、水提液中多糖、酚类、甾醇类化合物及赤松茸富硒发酵液的抗氧化活性评估^[6-9]。尚未有报道对赤松茸乙醇提取物不同极性部位的抗氧化能力和降脂及降糖活性进行比较研究。本课题组前期研究已证实赤松茸多糖和挥发油均有较好的抗氧化活性^[10-11],在此基础上,本研究通过检测 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), ABTS]阳离子自由基、羟自由基的清除能力和总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)来评价赤松

茸乙醇提取物不同溶剂萃取部位的体外抗氧化活性,通过测定胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性抑制率来评估体外降脂活性,通过计算 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性抑制率来评价体外降糖活性。本文对赤松茸抗氧化、降脂和降糖活性有效部位进行筛选,以期为进一步研究与开发赤松茸提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

赤松茸子实体:博爱县祥竹种植专业合作社; α -葡萄糖苷酶(50 U/mg)、 α -淀粉酶(5 000 U/g)、胰脂肪酶(100 U/mg)、胰胆固醇酯酶(100 U/mg)、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)、4-硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside, PNPG):上海源叶生物科技有限公司;DPPH、ABTS、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)、 H_2O_2 、总抗氧化能力检测试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;牛磺胆酸钠:国药集团化学试剂有限公司;奥利司他胶囊:重庆华森制药股份有限公司;无水乙醇、盐酸、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇:北京化工厂有限责任公司。所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计(TU-1810):北京普析通用仪器有限责任公司;水循环式真空泵(SHB-III):郑州长城科工贸有限公司;数显旋转蒸发器(RE100-S):大龙兴创实验仪器(北京)股份公司;电热恒温水浴锅(DZKW-D-2):北京市永光明医疗仪器有限公司;电子天平(ME-204):美国Mettler公司;酶标仪(iMark™):美国bio-rad公司;真空冷冻干燥机(CTFD-18S):青岛永合创信电子科技有限公司;数控超声波破碎仪(KQ-250DB):昆山市超声仪器有限公司;pH计(PHS-3C):上海仪电科学仪器股份有限公司;鼓风干燥机(DGX-9143B):上海

福玛实验设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 赤松茸乙醇提取物不同溶剂萃取物的制备

将赤松茸子实体烘干、粉碎,过40目筛,得到赤松茸干粉备用。称取赤松茸干粉500g,加入5L95%的乙醇溶液,加热回流提取3次,时间均为2h,过滤后将滤液合并,于旋转蒸发器上减压浓缩,干燥得到乙醇提取物116.9g,得率为23.38%。将上述乙醇提取物重悬于水中,分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得到石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取物各23.52、1.11、11.68g,得率分别为20.12%、0.95%和9.99%。水相浓缩后得到79.45g萃余物。

1.3.2 样品溶液的制备

分别称取石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相和水相萃余物各0.1g溶于50mL蒸馏水中,超声3min后过滤,滤液用蒸馏水定容至100mL容量瓶中,获得1.0g/mL的4种样品母液,备用。

1.3.3 抗氧化能力测定

1.3.3.1 对DPPH自由基清除能力的测定

根据李欣坪等^[12]的检测方法并稍作调整,在96孔板中,分别加入100μL50、40、30、20、10、2mg/mL各萃取相样品或0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL V_C溶液,每孔再分别加入100μL0.125mmol/L的DPPH溶液,混匀后37℃水浴30min,使用酶标仪在517nm波长处测定吸光度(A₁)。分别以无水乙醇代替DPPH和样品按照上述方法测定吸光度得到A₂和A₀。DPPH自由基清除率(D,%)计算公式如下。

$$D = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

1.3.3.2 对ABTS⁺自由基清除能力的测定

ABTS⁺自由基清除率参考Re等^[13]方法测定。取相同体积的7mmol/L ABTS储备液和2.45mmol/L过硫酸钾溶液混合,室温避光反应12~16h,再用pH7.4、0.2mmol/L的磷酸盐缓冲液稀释至于734nm波长处吸光度为0.7。取1.3.3.1项下各系列浓度萃取相样品和V_C溶液100μL,加入100μL稀释后的ABTS溶液充分混匀,室温静置6min后测定吸光度(A₁)。分别以无水乙醇代替ABTS试剂和样品按照上述方法测定吸光度得到A₂和A₀。ABTS⁺自由基清除率(R,%)计算公式如下。

$$R = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

1.3.3.3 对羟自由基清除能力的测定

向1mL各萃取相系列浓度溶液中依次滴加1.6mmol/L FeSO₄溶液2mL、1.6mmol/L水杨酸-乙醇溶液3mL和1.5mmol/L H₂O₂溶液2mL,充分混匀,加

蒸馏水定容至10mL,37℃水浴15min后于510nm波长处测定吸光度(A₁)^[14]。分别以无水乙醇代替羟自由基和样品按照上述方法测定吸光度得到A₂和A₀。羟自由基清除率(O,%)计算公式如下。

$$O = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

1.3.3.4 总抗氧化能力的测定

根据总抗氧化能力检测试剂盒说明书准备所需工作液,先根据Fe²⁺终浓度和吸光度建立标准曲线,然后空白管加入180μL检测液和24μL蒸馏水,检测管加入180μL检测液、6μL待测样品液和18μL蒸馏水,充分混匀,室温反应10min,吸取200μL于96孔板中,于593nm波长处测量吸光度。检测管与空白管吸光度之差代入标准曲线公式计算样本浓度(x,μmol/L)。总抗氧化能力(T,μmol/g)计算公式如下。

$$T = \frac{34x}{W}$$

式中:W为样本质量,g;34为V_{反应}/(V_样/V_{样总}),其中,V_{样总}为加入提取液体积(1.000mL),V_{反应}为反应总体积(0.204mL),V_样为反应中样本体积(0.006mL)。

1.3.4 降脂活性检测

1.3.4.1 对胰脂肪酶活性抑制能力的测定

按照Gondoin等^[15]的方法并稍作修改,先将0.5g胰脂肪酶完全溶于5mL蒸馏水中,8000r/min离心10min后取上清液即得10mg/mL胰脂肪酶液,再用5mmol/L pH5.0的PBS配制浓度为0.08%的对硝基苯基月桂酸酯溶液作为底物,配制100mmol/L pH8.2的Tris溶液作为缓冲液。依次吸取350μL缓冲液、150μL胰脂肪酶液、50μL样品溶液和450μL底物于1.5mL离心管中混匀,37℃反应2h后离心(8000r/min,1min)取上清液,于400nm处测定吸光度。对照组以蒸馏水代替样品溶液。抑制率(Y,%)计算公式如下。

$$Y = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中:A₀为对照组吸光度;A₁为样品吸光度。

1.3.4.2 对胆固醇酯酶活性抑制能力的测定

按照Garzón等^[16]的方法并稍作修改,先将0.5mg胰胆固醇酯酶完全溶于20mL蒸馏水中,8000r/min离心10min后取上清液即得25μg/mL胰胆固醇酯酶液,再配制含有0.1mol/L NaCl、0.02mol/L对硝基苯基丁酸酯和6mmol/L牛磺胆酸钠的0.1mol/L pH7.04的PBS作为底物。依次吸取925μL底物、25μL样品溶液和50μL胰胆固醇酯酶液于1.5mL离心管中混匀,25℃反应5min,于405nm处测定吸光度。对照组以蒸馏水代替样品溶液。抑制率(Y,%)计算公式如下。

$$Y = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A_0 为对照组吸光度; A_1 为样品吸光度。

1.3.5 降糖活性检测

1.3.5.1 对 α -葡萄糖苷酶抑制能力的测定

按照李成华等^[17]的方法进行测定,40 μ L α -葡萄糖苷酶溶液(0.2 U/mL)添加到20 μ L样品溶液中,37 $^{\circ}$ C条件下反应20 min后加入50 μ L PBS(0.2 mol/L, pH6.9)、40 μ L PNPG(0.251 mg/mL),37 $^{\circ}$ C反应20 min,然后加入140 μ L Na_2CO_3 溶液(2 mol/L)终止反应,测定405 nm波长处的吸光度。对照组用等体积PBS替换样品溶液,空白组用等体积PBS替换 α -葡萄糖苷酶溶液。抑制率(M ,%)计算公式如下。

$$M = \left(1 - \frac{A_1 - A_0}{A_2} \right) \times 100$$

式中: A_0 为空白组吸光度; A_1 为样品组吸光度; A_2 为对照组吸光度。

1.3.5.2 对 α -淀粉酶抑制能力的测定

按照姜荣华等^[18]的方法进行测定,将10 μ L α -淀粉酶(1 U/mL)溶液与20 μ L样品溶液进行混合,37 $^{\circ}$ C条件下,反应15 min后加入500 μ L质量浓度为1%的淀粉溶液,反应10 min后加入600 μ L DNS试剂,于沸水浴中15 min。冷却后,于540 nm波长处测定吸光度。对照组用等体积PBS替换样品溶液,空白组用等体积PBS替换 α -淀粉酶溶液。抑制率(M ,%)计算公式如下。

$$M = \left(1 - \frac{A_1 - A_0}{A_2} \right) \times 100$$

式中: A_0 为空白组吸光度; A_1 为样品组吸光度; A_2 为对照组吸光度。

1.4 数据处理

测试平行3次,显著性差异采用SPSS 22.0软件分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同萃取相对DPPH自由基的清除能力

4个萃取相的DPPH自由基清除率及其回归分析分别见图1、表1。

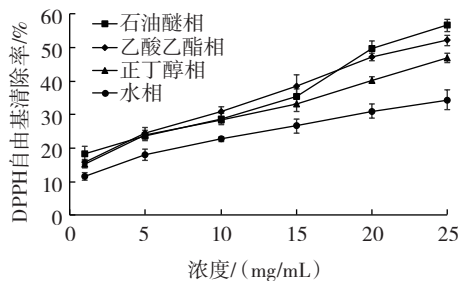


图1 4个萃取相的DPPH自由基清除率

Fig.1 DPPH free radical scavenging rates of four extraction phases

表1 4个萃取相的DPPH自由基清除率回归分析

Table 1 Regression analysis of DPPH free radical scavenging rates of four extraction phases

样品	回归方程	R ²	IC ₅₀ /(mg/mL)
石油醚相	$y=1.6284x+14.784$	0.9724	21.63
乙酸乙酯相	$y=1.5142x+15.65$	0.9927	22.69
正丁醇相	$y=1.2462x+15.517$	0.9884	27.67
水相	$y=0.9161x+12.454$	0.9821	40.98

由图1、表1可知,赤松茸乙醇提取物不同萃取相对DPPH自由基均有不同程度的清除能力,且与质量浓度呈正相关。DPPH自由基清除能力根据IC₅₀由小到大排序为石油醚相>乙酸乙酯相>正丁醇相>水相。阳性对照V_c在浓度为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL时对DPPH自由基清除率分别达到64.37%、81.40%、90.80%、94.83%和96.00%,优于4个萃取相。回归分析结果表明,4个萃取相的质量浓度与DPPH自由基清除率的相关系数(R²)均大于0.9,表明两者之间线性关系良好。

2.2 不同萃取相对ABTS⁺自由基的清除能力

4个萃取相的ABTS⁺自由基清除率及其回归分析分别见图2、表2。

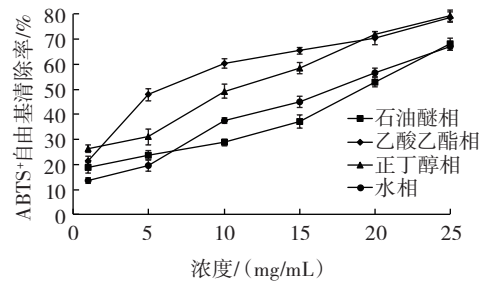


图2 4个萃取相的ABTS⁺自由基清除率

Fig.2 ABTS⁺ free radical scavenging rates of four extraction phases

表2 4个萃取相的ABTS⁺自由基清除率回归分析

Table 2 Regression analysis of ABTS⁺ free radical scavenging rate of four extraction phases

样品	回归方程	R ²	IC ₅₀ /(mg/mL)
石油醚相	$y=2.0274x+12.495$	0.9491	18.50
乙酸乙酯相	$y=2.0899x+30.842$	0.8637	9.17
正丁醇相	$y=2.3418x+23.03$	0.9867	11.52
水相	$y=2.2714x+11.011$	0.9886	17.16

由图2、表2可知,赤松茸乙醇提取物不同萃取相对ABTS⁺自由基均有一定的清除能力,且与质量浓度呈正相关。ABTS⁺自由基清除能力根据IC₅₀由小到大排序为乙酸乙酯相>正丁醇相>水相>石油醚相。阳性对照V_c在浓度为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL时对ABTS⁺自由基清除率分别达到63.53%、78.73%、88.23%、92.07%和95.53%,优于4个萃取相。回归分析结果表明,石油醚相、正丁醇相和水相萃取物的质量

浓度与 ABTS⁺ 自由基清除率的相关系数(R²)均大于 0.9, 表明两者之间线性关系良好。

2.3 不同萃取相对羟自由基的清除能力

4 个萃取相的羟自由基清除率及其回归分析分别见图 3、表 3。

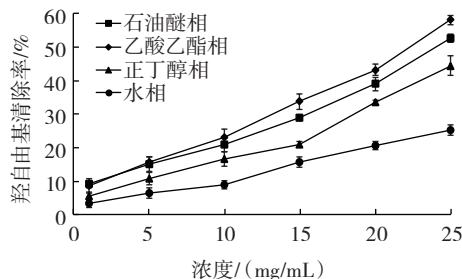


图 3 4 个萃取相的羟自由基清除率

Fig.3 Hydroxyl free radical scavenging rate of four extraction phases

表 3 4 个萃取相的羟自由基清除率回归分析

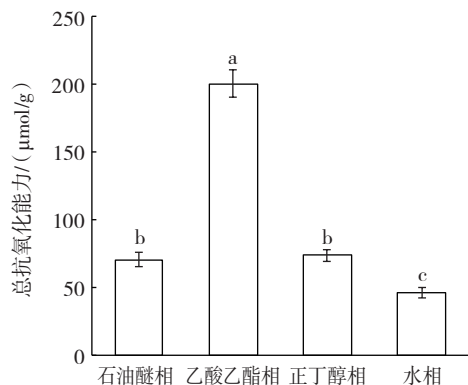
Table 3 Regression analysis of hydroxyl free radical scavenging rate of four extraction phases

样品	回归方程	R ²	IC ₅₀ /(mg/mL)
石油醚相	$y=1.732 4x+5.859 4$	0.975 8	25.48
乙酸乙酯相	$y=1.994 3x+5.217 6$	0.987 3	22.46
正丁醇相	$y=1.564 1x+2.332 6$	0.965 7	30.48
水相	$y=0.923 1x+1.974 2$	0.986 2	52.03

由图 3、表 3 可知, 4 个萃取相均有不同程度的清除羟自由基的作用, 清除率与质量浓度呈正相关。羟自由基清除能力根据 IC₅₀ 由小到大排序为乙酸乙酯相>石油醚相>正丁醇相>水相。阳性对照 V_C 在浓度为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 时对羟自由基清除率分别达到 42.87%、47.70%、54.17%、61.10% 和 65.77%, 优于 4 个萃取相。回归分析结果表明, 4 个萃取相的质量浓度与羟自由基清除率的相关系数(R²)均大于 0.9, 表明两者之间线性关系良好。

2.4 不同萃取相总抗氧化能力

4 个萃取相总抗氧化能力如图 4 所示。



不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

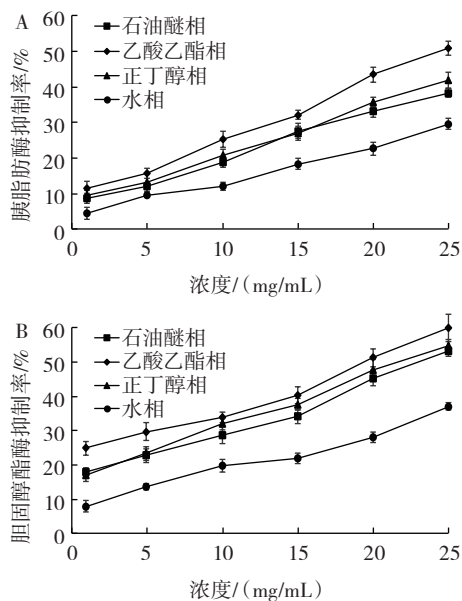
图 4 4 个萃取相总抗氧化能力

Fig.4 Total antioxidant capacity of four extraction phases

由图 4 可知, 4 个萃取相均表现出一定的抗氧化能力, 其中, 乙酸乙酯相总抗氧化能力显著高于其他 3 个萃取相($P < 0.05$); 正丁醇相略高于石油醚相, 但差异不显著($P > 0.05$); 水相总抗氧化能力最低。

2.5 不同萃取相对胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性的影响

不同萃取相对胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性的影响见图 5。



A. 胰脂肪酶; B. 胆固醇酯酶。

图 5 4 个萃取相对胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性的影响

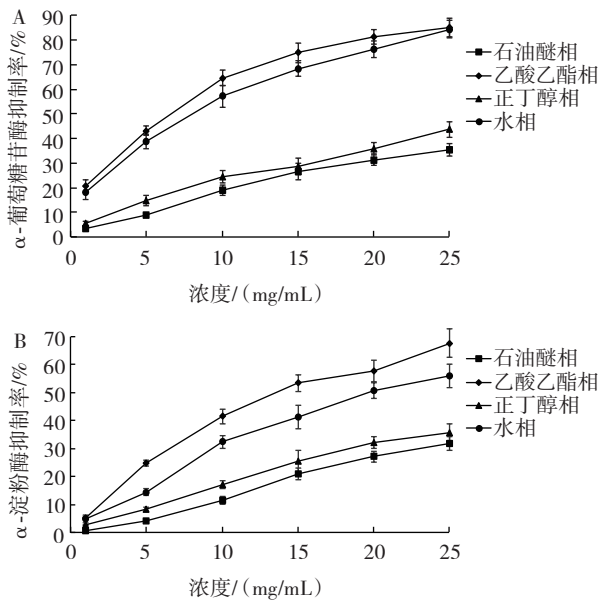
Fig.5 Effects of four extraction phases on pancreatic lipase enzyme and cholesterol esterase enzyme activity

由图 5 可知, 随着 4 个萃取相浓度的增加, 胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性抑制率呈上升趋势, 抑制率大小排序均为乙酸乙酯相>正丁醇相>石油醚相>水相。阳性对照奥利司他在浓度为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 mg/mL 时对胰脂肪酶抑制率分别达到 7.89%、20.19%、33.02%、40.89% 和 47.47%, 对胆固醇酯酶抑制率分别达到 12.04%、28.41%、40.63%、49.64% 和 53.99%, 均高于 4 个萃取相。当乙酸乙酯相浓度为 25 mg/mL 时, 对胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性抑制率分别为 50.79% 和 59.64%, 表明赤松茸乙醇提取物中降脂活性成分被富集在乙酸乙酯相中。

2.6 不同萃取相对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶活性的影响

赤松茸乙醇提取物不同萃取相对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶活性的影响结果见图 6。

由图 6 可知, 随着 4 个萃取相浓度的增加, 对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶活性抑制率不断增加, 抑制率大小排序均为乙酸乙酯相>水相>正丁醇相>石油醚相。当乙酸乙酯相浓度为 25 mg/mL 时, 对 α-葡萄糖



A. α-葡萄糖苷酶抑制率; B. α-淀粉酶抑制率。

图6 4个萃取相对α-葡萄糖苷酶抑制率和α-淀粉酶抑制率的影响

Fig.6 Effects of four extraction phases on α-glucosidase and α-amylase activity

苷酶和α-淀粉酶抑制率分别为85.11%和67.48%，水相萃取物在此浓度下对两种酶的抑制率分别为84.35%和55.78%，表明赤松茸乙醇提取物中降糖活性成分被富集在乙酸乙酯相和水相中。

3 讨论与结论

近些年诸多研究表明,包括动脉粥样硬化、糖尿病、肝损伤、脂代谢异常、癌症等多种疾病都与人体内自由基的过量积累有关^[19-20]。食用菌因富含多糖、类黄酮、萜类化合物、麦角甾醇及蛋白质等活性物质^[21],能够抑制与清除自由基,成为抗氧化剂的主要来源之一。因此,研究食用菌的抗氧化活性,寻找天然抗氧化剂,从而防治相关疾病成为食品和医药领域研究的热点之一。

本研究通过测定DPPH、ABTS⁺、羟自由基清除率和总抗氧化能力,对赤松茸乙醇提取物不同极性萃取相的体外抗氧化活性进行研究。结果显示,赤松茸乙醇提取物不同萃取相对上述3种自由基和总抗氧化能力均有不同程度的清除作用,并随剂量的增加而增强,该量效关系的趋势与红菇^[22]、香菇、羊肚菌^[23]等食用菌提取物抗氧化活性结果一致。其中,乙酸乙酯相抗氧化作用较突出,其次为正丁醇相和石油醚相,表明赤松茸乙醇提取物中抗氧化活性成分被富集在乙酸乙酯部位。

本研究还通过体外胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性检测法评价了赤松茸乙醇提取物不同极性萃取相的体外降脂活性。胰脂肪酶能够催化分解膳食中的脂肪,促进脂肪吸收,抑制该酶活性,进而减少脂肪吸收、降低

脂肪利用率,起到降脂作用^[24]。而胰胆固醇酯酶则是能够催化胆固醇酯分解成胆固醇,促进胆固醇吸收,抑制其活性能够减少胆固醇吸收,从而起到降脂作用^[25]。结果显示,赤松茸乙醇提取物不同萃取相均可不同程度地抑制胰脂肪酶和胆固醇酯酶活性,一方面可能通过减少脂肪在消化过程中的分解,降低血液中的脂肪水平而发挥降脂作用;另一方面可能通过抑制膳食胆固醇酯分解成游离胆固醇进入消化系统,减少胆固醇在体内的吸收而具有一定的降脂活性^[26],且乙酸乙酯萃取相体外降脂作用最为明显。

另外,本研究通过对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶抑制能力测定不同萃取相的降糖活性。抑制α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶活性是医治2型糖尿病初期的有效途径^[27-28]。结果表明,赤松茸乙醇提取物乙酸乙酯相和水相萃取物具有较好的降糖活性,具有被开发成医治2型糖尿病药物的潜力。

综上所述,赤松茸乙酸乙酯相体外抗氧化、降脂和降糖活性最明显,可作为探究赤松茸抗氧化、降脂和降糖活性部位继续进一步研究,而上述活性在细胞水平和整体动物水平上的验证和作用机制的阐明成为今后研究的主要方向。

参考文献:

- WU J, SUZUKI T, CHOI J H, et al. An unusual sterol from the mushroom *Stropharia rugosoannulata*[J]. Tetrahedron Letters, 2013, 54(36): 4900-4902.
- 景炳年,常霞,魏磊,等.博爱县赤松茸营养成分、生物活性物质及重金属含量分析与评价[J].食品工业科技,2022,43(4):278-285.
JING Bingnian, CHANG Xia, WEI Lei, et al. Analysis and evaluation of nutrient components, bioactive substances and heavy metal content of *Stropharia rugosoannulata* in Bo'ai County[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 278-285.
- 汪虹,陈辉,张津京,等.大球盖菇生物活性成分及药理作用研究进展[J].食用菌学报,2018,25(4):115-120.
WANG Hong, CHEN Hui, ZHANG Jinjing, et al. Research progresses on bioactive components in *Stropharia rugosoannulata* and their pharmacological effects[J]. Acta Edulis Fungi, 2018, 25(4): 115-120.
- LI S, CHEN G W, ZHANG C, et al. Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases[J]. Food Science and Human Wellness, 2014, 3(3/4): 110-116.
- ALI A A, ABD EL-FATTAH A I, ABU-ELFOTUH K, et al. Natural antioxidants enhance the power of physical and mental activities versus risk factors inducing progression of Alzheimer's disease in rats[J]. International Immunopharmacology, 2021, 96: 107729.
- 卢琪,薛淑静,杨德,等.不同加工方式对大球盖菇水提液挥发性风味成分和抗氧化能力的影响[J].食品工业科技,2021,42(23):41-48.
LU Qi, XUE Shujing, YANG De, et al. Effects of different processing methods on the volatile components and antioxidant ability of the water extracts from *Stropharia rugosoannulata*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 41-48.
- 杜敏华,王小立,苏海飞,等.大球盖菇多糖超声波提取及抗氧

- 化活性[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(16): 18-22.
- DU Minhua, WANG Xiaoli, SU Haifei, et al. Optimization of extraction process by using ultrasound-assisted methodology and antioxidant activity of polysaccharide from *Stropharia rugosoannulata*[J]. Food Research and Development, 2013, 34(16): 18-22.
- [8] 王峰, 王晓炜, 陶明焯, 等. 大球盖菇提取物对 CCl_4 所致急性肝损伤小鼠的抗氧化酶活性及同工酶的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 263-268.
- WANG Feng, WANG Xiaowei, TAO Mingxuan, et al. Effect of *Stropharia rugoso-annulata* extract(SRE) on activities and isozyme profiles of antioxidant enzymes in mice with carbon tetrachloride-induced acute liver injury[J]. Food Science, 2010, 31(7): 263-268.
- [9] 许峰. 大球盖菇富硒液体培养条件优化及抗氧化能力初步研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
- XU Feng. Optimization of Se-enriched liquid culture conditions and preliminary study on antioxidant capacity of *Pleurotus ostreatus* [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2006.
- [10] 魏磊, 王伟, 谢晓阳, 等. 响应面优化博爱赤松茸多糖提取工艺及其抑菌和抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 213-220.
- WEI Lei, WANG Wei, XIE Xiaoyang, et al. Optimization of extraction process of polysaccharides from *Stropharia rugosoannulata* in Bo'ai County by response surface method and evaluation of their antibacterial and antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(15): 213-220.
- [11] WEI L, WANG W, HOU Y Y, et al. Chemical composition, antibacterial test, and antioxidant activity of essential oils from fresh and dried *Stropharia rugosoannulata*[J]. Journal of Chemistry, 2023, 2023(1): 6965755.
- [12] 李欣坪, 王蒙蒙, 王子晨, 等. 滇黄芩茎叶乙醇提取物及其不同溶剂萃取部位的抗氧化和降脂活性研究[J]. 中国药房, 2021, 32(2): 220-225.
- LI Xinpeng, WANG Mengmeng, WANG Zichen, et al. Study on antioxidant activity and lipid-lowering effect of ethanol extract and its different solvent extracts from the stem and leaves of *Scutellaria amoena*[J]. China Pharmacy, 2021, 32(2): 220-225.
- [13] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology & Medicine, 1999, 26(9/10): 1231-1237.
- [14] BRILLAS E, MUR E, SAULEDA R, et al. Aniline degradation under electrochemical and photocatalytic conditions[J]. Journal of Advanced Oxidation Technologies, 1999, 4(1): 109-114.
- [15] GONDOIN A, GRUSSU D, STEWART D, et al. White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase *in vitro*[J]. Food Research International, 2010, 43(5): 1537-1544.
- [16] GARZÓN A G, CIAN R E, AQUINO M E, et al. Isolation and identification of cholesterol esterase and pancreatic lipase inhibitory peptides from brewer's spent grain by consecutive chromatography and mass spectrometry[J]. Food & Function, 2020, 11(6): 4994-5003.
- [17] 李成华, 秦汝兰, 关颖丽, 等. 超声-微波辅助提取酸浆宿萼多糖及其体外降糖活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(14): 93-98.
- LI Chenghua, QIN Rulan, GUAN Yingli, et al. Ultrasonic-microwave assisted extraction of polysaccharide from *Calyx* of physali alkekengi l. and its hypoglycemic activity[J]. Food Research and Development, 2023, 44(14): 93-98.
- [18] 姜荣华, 蒲铎文, 樊梓鸾, 等. 老山芹多糖的分离纯化、结构表征及体外降糖活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(18): 113-118, 124.
- XIAN Ronghua, PU Duowen, FAN Ziluan, et al. Isolation, purification, structure characterization, and hypoglycemic activity analysis of polysaccharides from *Heraclenm dissectum*[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(18): 113-118, 124.
- [19] NONGPIUR C G L, GHATE M M, TRIPATHI D K, et al. Study of versatile coordination modes, antibacterial and radical scavenging activities of arene ruthenium, rhodium and iridium complexes containing fluorenone based thiosemicarbazones[J]. Journal of Organometallic Chemistry, 2022, 957: 122148.
- [20] MOZAHAB N, AREFIAN E, AMOOZEGAR M A. Designing a whole cell bioreporter to show antioxidant activities of agents that work by promotion of the KEAP1-NRF2 signaling pathway[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 3248.
- [21] KOZARSKI M, KLAUS A, JAKOVLJEVIC D, et al. Antioxidants of edible mushrooms[J]. Molecules, 2015, 20(10): 19489-19525.
- [22] MWANGI R W, MACHARIA J M, WAGARA I N, et al. The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 147: 112621.
- [23] 翟飞红, 张勇, 赵文婧, 等. 羊肚菌、香菇、真姬菇子实体体外抗氧化活性的比较[J]. 食用菌, 2020, 42(4): 75-79.
- ZHAI Feihong, ZHANG Yong, ZHAO Wenjing, et al. Comparison of *in vitro* antioxidant activity of fruiting bodies of *Morchella importuna*, *Lentinula edodes* and *Hypsizygus marmoreus*[J]. Edible Fungi, 2020, 42(4): 75-79.
- [24] LI B J, ZHOU B H, LU H L, et al. Phosphaisocoumarins as a new class of potent inhibitors for pancreatic cholesterol esterase[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2010, 45(5): 1955-1963.
- [25] 苏建辉, 马朝阳, 杨鹿, 等. 槲皮素、EGCG 对胆固醇酯酶活性和胆固醇胶束抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(11): 346-349.
- SU Jianhui, MA Chaoyang, YANG Lu, et al. Inhibition of pancreatic cholesterol esterase activities and cholesterol micelle of EGCG and quercetin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(11): 346-349.
- [26] 吴威, 李群, 宋笛, 等. 葛花异黄酮精制及体外降脂活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(2): 180-185.
- WU Wei, LI Qun, SONG Di, et al. Refining isoflavones from *Puerariae flos* and its *in vitro* lipid-lowering activity[J]. Food & Machinery, 2022, 38(2): 180-185.
- [27] GOLBARGI F, GHARIBZAHEDI S M T, ZOGHI A, et al. Microwave-assisted extraction of Arabinan-rich pectic polysaccharides from melon peels: Optimization, purification, bioactivity, and techno-functionality[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 256: 117522.
- [28] OBOH G, OGUNSUYI O B, OGUNBADEJO M D, et al. Influence of Gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2016, 24(3): 627-634.