

松茸醇提物的抗氧化活性及对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

和文婧¹, 黄张君², 熊燕飞², 迟原龙¹, 任尧^{1*}

(1. 四川大学轻工科学与工程学院, 四川成都 610065) (2. 泸州老窖股份有限公司, 四川泸州 646000)

摘要:为促进松茸醇提物相关产品的开发与利用, 采用不同体积分数乙醇浸提松茸, 测定其中多糖、多酚和总黄酮含量, 研究松茸醇提物对 DPPH、羟基、ABTS⁺ 自由基的清除能力和对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用, 并通过酶动力学分析、紫外光谱、荧光光谱和红外光谱分析等方法分析提取物对酶的抑制类型及机制。结果显示, 70% 体积分数乙醇提取物中多糖含量最高, 达 46.45%; 水提物中多酚、总黄酮含量最高, 分别为 13.92% 和 1.03%。松茸醇提物对 DPPH、羟基、ABTS⁺ 自由基清除能力呈现一定的剂量依赖性, 半抑制浓度 (IC₅₀) 值分别为 1.03、0.49 和 0.87 mg/mL; 70% 体积分数乙醇提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制效果最佳, 质量浓度为 0.2 mg/mL 时抑制率为 28.93%。研究所得醇提物均具有良好的抗氧化活性及 α -葡萄糖苷酶抑制作用, 其以反竞争型混合形式抑制酶活性, 对酶的微环境产生影响并改变其二级结构, 可用于天然抗氧化剂和降血糖剂的开发。此研究为松茸醇提物的深入研究提供参考。

关键词: 松茸; 醇提物; 抗氧化; α -葡萄糖苷酶

文章编号: 1673-9078(2025)08-104-111

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.8.0866

Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities of Ethanolic Extracts from *Tricholoma matsutake*

HE Wenjing¹, HUANG Zhangjun², XIONG Yanfei², CHI Yuanlong¹, REN Yao^{1*}

(1.College of Biomass Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

(2.Luzhou Laojiao Co. Ltd., Luzhou 646000, China)

Abstract: In order to promote the development and utilization of the products related to the ethanolic extract of *Tricholoma matsutake* (*T. matsutake*), aqueous ethanolic solutions with different volume fractions of ethanol were used to extract *T. matsutake*. The contents of polysaccharides, polyphenols and total flavonoids were measured, and the scavenging abilities of *T. matsutake* ethanolic extracts towards DPPH, hydroxyl, and ABTS⁺ radicals and the inhibitory effect against α -glucosidase were determined. The inhibition types and mechanisms of the extracts were examined by enzyme kinetic analysis, UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy and infrared spectroscopy. The results showed that the content of

引文格式:

和文婧,黄张君,熊燕飞,等.松茸醇提物的抗氧化活性及对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J].现代食品科技,2025,41(8): 104-111.

HE Wenjing, HUANG Zhangjun, XIONG Yanfei, et al. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of ethanolic extracts from *Tricholoma matsutake* [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(8): 104-111.

收稿日期: 2024-06-18

基金项目: 四川大学-泸州老窖文化与科技创新研究中心课题 (202202)

作者简介: 和文婧 (2002-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: hinata.he@qq.com

通讯作者: 任尧 (1986-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食物蛋白质资源开发利用, E-mail: reny@scu.edu.cn

the polysaccharides in the ethanolic extract obtained with 70% (V/V) ethanol was the highest (46.45%). The contents of polyphenols and total flavonoids in the water extract were the highest (13.92% and 1.03%, respectively). The scavenging abilities of the *T. matsutake* ethanolic extracts for DPPH, hydroxyl and ABTS free radicals showed a dose-dependent manner, with the IC₅₀ values being 1.03, 0.49 and 0.87 mg/mL, respectively. The ethanolic extract obtained with 70% (V/V) ethanol exhibited the greatest inhibitory effect against α -glucosidase, with the inhibition rate being 28.93% at an extract mass concentration of 0.2 mg/mL. The ethanolic extracts obtained from the study all had good antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities, and inhibited enzyme activity in the form of anti-competitive mixed-type enzyme inhibition, thereby affecting the microenvironment of the enzyme and changing its secondary structure. The ethanolic extracts can be used for the development of natural antioxidants and hypoglycemic agents. This research provides a reference for in-depth studies on *T. matsutake* ethanol extracts.

Key words: *Tricholoma matsutake*; ethanol extracts; antioxidation; α -glucosidase

松茸被称为“菌中之王”，隶属于口蘑科口蘑属，富含多肽、多糖等多种活性成分，具有免疫调节、护肝、抗肿瘤、降血脂、抗炎等多种功效，营养价值丰富^[1]。其自身营养成分含量不仅会伴随生长期发生变化，也会受环境、营养因素影响继而产生差异^[2,3]。目前，已有多项研究就天然产物进行醇提取，所得提取物被证实具有抗炎、促愈、抑菌、护肝、抗肿瘤等多种功效，且作用效果与醇提取物中多糖、多酚、黄酮等活性成分含量呈显著相关性^[4-7]。现有针对松茸的活性研究中，基于醇提取物这一主体及其抗氧化、降血糖活性的相关报道较为欠缺，故本研究聚焦于此。

作为慢性代谢性疾病，糖尿病已成为全球十大死亡原因之一，极易引起多器官损伤和并发症，预计到2045年，全球糖尿病患者总数将增至7.83亿^[8]。目前市面上的降糖药物可通过抑制 α -葡萄糖苷酶活性达到降血糖目的，但其多为人工合成或微生物发酵而来，存在安全性及毒性问题，长期服用易引起诸如胃肠道不适、脚踝肿胀、心力衰竭等不良副作用^[9-12]。而源自天然产物的抑制剂既对 α -葡萄糖苷酶具有较好抑制效果，又尚未发现较强副作用^[13]。因此，从天然产物中筛选安全、有效的 α -葡萄糖苷酶抑制剂已成为当下预防和治疗糖尿病的研究热点。且由于糖尿病、肥胖等疾病的发生与氧自由基的过量产生存在密切联系，抑制剂是否具备强抗氧化性在此过程中显得尤为重要^[14]。故本研究采用不同体积分数乙醇浸提松茸粉末，并对所得醇提取物进行体外抗氧化性、 α -葡萄糖苷酶抑制率评价，旨在为松茸醇提取物的深入研究和综合开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜松茸，产地为四川省阿坝藏族羌族自治州；过氧化氢，四川西陇科学有限公司；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl, DPPH）、 α -葡萄糖苷酶（ ≥ 50 U/mg）、4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷（4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, pNPG），上海源叶生物科技有限公司；水杨酸，生工生物工程（上海）股份有限公司；2,2'-联氮-二（3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸）二铵盐（2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS），上海麦克林生化科技有限公司；阿卡波糖，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；七水合硫酸亚铁，成都金山化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

D3024R 高速冷冻离心机，上海珂淮仪器有限公司；SHA-C 水浴恒温振荡器，金坛市科析仪器有限公司；SYNERGY H1 多功能酶标仪，美国伯腾仪器有限公司；SCIENTZ-10N 冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；UV-6000PC 紫外可见分光光度计，上海元析仪器公司；F-7000 荧光分光光度计，日本日立公司；IRTracer-100 傅立叶红外光谱仪，日本岛津公司；LQ-C30002 电子天平，昆山优科维特电子科技有限公司。

1.3 样品的制备

将新鲜松茸切片后进行冷冻干燥，粉碎，过筛。按料液比 1:30 (g/mL) 将松茸粉分别分散于含有 0%、10%、20%、30%、40%、50%、60% 及 70% 的

不同体积分数乙醇溶液中，于 40 ℃振荡 5 h，浸提两次，8 000 r/min 离心 20 min，取上清液，冻干，得不同体积分数乙醇松茸醇提物，将其储存于 -20 ℃冰箱中。

1.4 提取物中主要活性成分含量测定

针对提取物多糖、多酚、总黄酮含量进行测定。
多糖含量的测定：参照陈艳等^[15]的方法，采用苯酚-硫酸法对样品多糖含量进行测定。
多酚含量的测定：参照范智义等^[16]的方法，采用 Folin-酚法对样品多酚含量进行测定。
总黄酮含量的测定：参考 Xi 等^[17]的方法，采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法对样品总黄酮含量进行测定。

1.5 体外抗氧化测定方法

1.5.1 DPPH自由基清除率测定

参照周燕芳等^[18]的方法并稍作改动。取 1 mL 0.1 mmol/L DPPH 自由基溶液与等量样品液均匀混合，避光 30 min，于 517 nm 处测量溶液吸光度，记为 A_1 ；以等量无水乙醇替代样品，所测吸光度记为 A_2 ；以等量无水乙醇替代 DPPH 溶液，所测吸光度记为 A_3 。按公式（1）计算 DPPH 自由基清除率，计算公式为：

$$I_1 = (1 - \frac{A_1 - A_3}{A_2}) \times 100\%$$

式中：
 I_1 ——DPPH 自由基清除率，%；
 A_1 ——DPPH 溶液与样品溶液混合的吸光度；
 A_2 ——DPPH 溶液与无水乙醇混合的吸光度；
 A_3 ——无水乙醇与样品溶液混合的吸光度。

1.5.2 羟基自由基清除率测定

参照 Nicholas 等^[19]的方法并稍作改动。分别取 1 mL 4 mmol/L FeSO₄ 溶液、4 mmol/L 水杨酸乙醇溶液、4 mmol/L 30% (φ) H₂O₂ 溶液和超纯水均匀混合，保持避光状态反应 30 min，离心，于 510 nm 处测量上清液吸光度，记为 A_0 。以等量样品液替代超纯水，所测溶液吸光度值为 A_1 。以等量样品液和乙醇溶液分别替代超纯水和水杨酸乙醇溶液，所测溶液吸光度值为 A_2 。按公式（2）计算羟基自由基清除率，计算公式为：

$$I_2 = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\%$$

式中：

I_2 ——羟基自由基清除率，%；
 A_0 ——空白组吸光度；
 A_1 ——样品组吸光度；
 A_2 ——对照组吸光度。

1.5.3 ABTS⁺自由基清除率测定

参考 Zeng 等^[20]的方法，配制含 7 mmol/L ABTS 与 2.45 mmol/L 过硫酸钾的混合溶液，置于暗处过夜，用水稀释混合溶液直至吸光度适宜，得到工作液。将 0.1 mL 样品溶液与 3.9 mL 工作液混合均匀，反应 6 min 后于 734 nm 处测量溶液吸光度，记为 A_1 ；以纯水作为空白对照，空白对照组吸光度值记为 A_2 。按公式（3）计算 ABTS⁺自由基清除率，计算公式为：

$$I_3 = (1 - \frac{A_1}{A_2}) \times 100\%$$

式中：
 I_3 ——ABTS⁺自由基清除率，%；
 A_1 ——样品组吸光度；
 A_2 ——空白组吸光度。

1.6 α-葡萄糖苷酶抑制率测定

参考辛相余等^[21]的方法，制备 67 mmol/L PBS 缓冲液、0.1 U/mL α-葡萄糖苷酶溶液、200 mmol/L NaCO₃ 溶液及 1 mmol/L pNPG 溶液。如表 1 所示，移取适量 PBS 缓冲液、酶液、样品液，于 37 ℃温育 10 min；加入 pNPG 溶液，于 37 ℃温育 30 min；加入 NaCO₃ 溶液以停止反应，于 405 nm 处测量溶液吸光度。按公式（4）计算 α-葡萄糖苷酶抑制率，计算公式为：

$$I_4 = \frac{A_1 - A_3 + A_2}{A_1} \times 100\%$$

式中：
 I_4 ——α-葡萄糖苷酶抑制率；
 A_1 ——空白对照组吸光度；
 A_2 ——背景对照组吸光度；
 A_3 ——样品组吸光度。

表 1 α-葡萄糖苷酶活性抑制反应体系 (μL)
Table 1 α-glucosidase activity inhibition reaction system (μL)

分组	PBS	酶液	样品	pNPG	NaCO ₃
空白对照	20	40	0	40	100
背景对照	40	0	20	40	100
样品组	0	40	20	40	100

表 2 主要活性成分
Table 2 Main active ingredients

样品	醇提取物							
	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%
多糖	34.30 ± 0.73	37.86 ± 0.56	29.88 ± 0.63	46.44 ± 2.55	29.03 ± 0.21	40.93 ± 0.64	33.07 ± 2.03	46.45 ± 1.33
多酚	13.92 ± 0.11	11.70 ± 0.09	9.80 ± 0.08	8.71 ± 0.07	8.22 ± 0.07	10.60 ± 0.08	11.21 ± 0.09	7.37 ± 0.06
总黄酮	1.03 ± 0.21	0.92 ± 0.07	0.97 ± 0.12	0.84 ± 0.15	0.86 ± 0.06	0.93 ± 0.08	0.96 ± 0.07	0.88 ± 0.14

1.7 酶促反应动力学分析

1.7.1 可逆性分析

测定在不同质量浓度松茸提取物条件下，随酶浓度变化带来的反应速率的变化，以反应速率和酶浓度作图判断抑制剂的可逆性。固定 pNPG 浓度为 1.0 mmol/L，选取的酶浓度为 0.10、0.15、0.20 U/mL，选取的松茸醇提取物质量浓度为 0、2、4 mg/mL。

1.7.2 双倒数作图分析

改变松茸醇提取物质量浓度和底物浓度，以底物浓度的倒数为横坐标、酶反应初速率的倒数为纵坐标作图，判断抑制剂的抑制作用类型。固定 α -葡萄糖苷酶为 0.1 U/mL，选取的松茸醇提取物质量浓度为 0、2、4 mg/mL，选取的 pNPG 浓度为 1.0、1.5、2.0、2.5 mmol/L，绘制 Lineweaver-Burk 曲线。

1.8 松茸醇提取物对 α -葡萄糖苷酶作用机制探究

1.8.1 紫外光谱测定

使用紫外可见分光光度计获得醇提取物与 α -葡萄糖苷酶溶液混合后的吸光光谱。将不同质量浓度的醇提取物与 0.1 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液等体积混合，放置 5 min，在波长 190~330 nm 范围内进行扫描。以不加酶液组作为对照观察是否存在干扰。

1.8.2 荧光光谱测定

使用荧光光谱仪获得醇提取物与 α -葡萄糖苷酶溶液混合后的荧光光谱。将 2 mL 样品置于不同温度下反应 15 min，设置激发波长为 260 nm，发射波长为 300~500 nm，激发、发射狭缝为 2.5 nm，扫描样品荧光光谱。

1.8.3 红外光谱测定

分别将醇提取物、 α -葡萄糖苷酶及 α -葡萄糖苷酶-醇提取物复合物进行红外光谱扫描。 α -葡萄糖苷酶-醇提取物复合物的制备方法如下：分别取 3 mL 0.1 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液和质量浓度为 1 mg/mL 的醇提取物溶液，二者混合均匀后孵育 30 min，孵育结束后将混合液冷冻干燥，得到的样品粉末用于测试。

1.9 数据处理

样品平行测定 3 次，数据表示为平均值 $\pm$ 标准差，使用 Origin 2022 软件对数据进行处理。

2 结果与讨论

2.1 提取物中多糖、多酚、总黄酮含量

由表 2 可知，采用不同体积分数乙醇提取松茸粉，所得提取物中多糖含量显著高于多酚，且醇提取物多糖含量普遍高于水提取物，不同提取条件所得样品各成分含量存在显著差异。30% 醇提取物与 70% 醇提取物多糖含量显著高于其余样品，分别为 46.44% 与 46.45%；0% 醇提取物多酚、总黄酮含量最高，分别为 13.92% 及 1.03%。松茸醇提取物的主要成分与刘朋等^[7]所研究的樟芝等八种食用菌提取物相似，均以多糖、多酚和总黄酮为主，且这些成分的总含量普遍集中在 30% 至 40% 的范围内。

2.2 体外抗氧化实验结果

如图 1 所示，相同质量浓度下，提取物抗氧化能力随提取时乙醇体积分数的不同有所变化。一般而言，水提法获得的松茸提取物展现出更为优越的抗氧化性能，这一差异可能归因于其多糖含量相对较高，相比之下，醇提过程中部分多糖的析出导致了抗氧化能力的相对减弱。随着松茸提取物质量浓度从 0.2 mg/mL 递增至 1.0 mg/mL，其抗氧化能力逐渐增强，质量浓度与效应之间呈现明显正相关。尽管与维生素 C 相比较，松茸醇提取物抗氧化能力较弱；但相较于同类型醇提取物，其抗氧化能力具有一定优越性。研究所得松茸醇提取物 DPPH 自由基清除率、羟基自由基清除率和 ABTS⁺ 自由基清除率的 IC₅₀ 值分别为 1.03、0.49 和 0.87 mg/mL，显著优于何君强等^[22]以 70% 体积分数乙醇所提取的灰树花水溶物抗氧化指标（IC₅₀ 值分别为 1.85、1.07 和 3.16 mg/mL），这表明松茸醇提取物具有较好的体外抗氧化能力。

2.3 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

α -葡萄糖苷酶可将多糖转化为单糖，加剧Ⅱ型糖尿病患者餐后血糖的上升，抑制其活性可以减缓肠道中碳水化合物的吸收，从而达到降低血糖的目的^[23]。由图2可知，松茸醇提取物对于 α -葡萄糖苷酶活性存在抑制效果，但不同体积分数醇提取物的抑制能力存在差异。在0.2 mg/mL相同质量浓度下，70%体积分数乙醇所制备的醇提取物效果最佳，抑制率达到28.93%，是同质量浓度阿卡波糖抑制率的30.57%。与贾健辉等^[24]研究相比较，0.2 mg/mL松茸醇提取物即可实现0.5 mg/mL染料木素对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用。可知松茸提取物在同类食源性 α -葡萄糖苷酶抑制剂中具有较佳表现，可作为潜在的酶抑制剂进行开发利用。

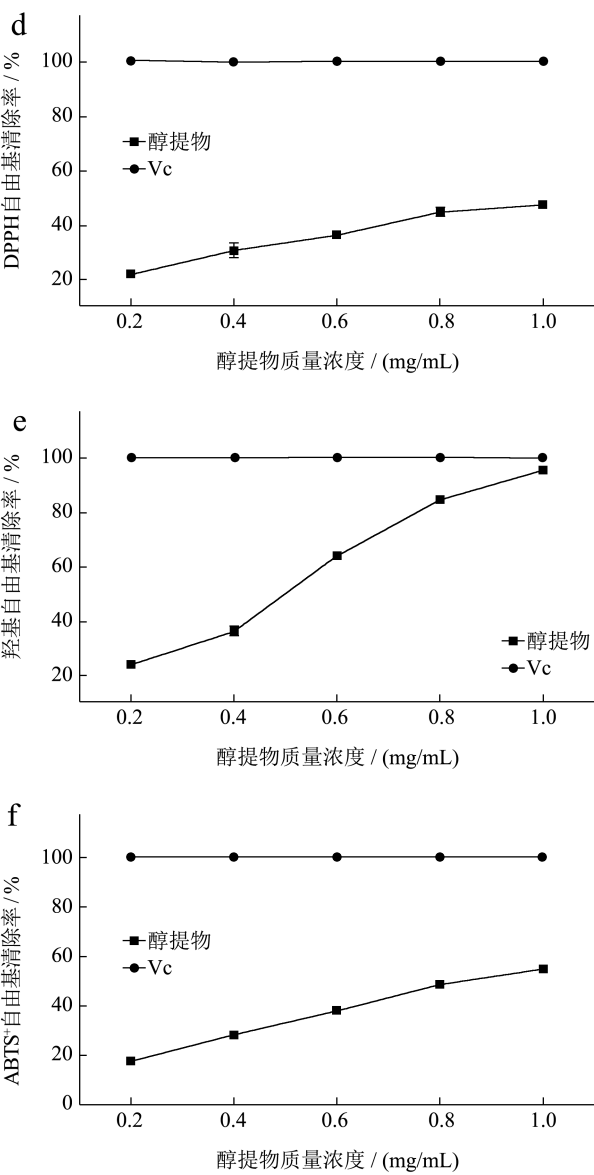
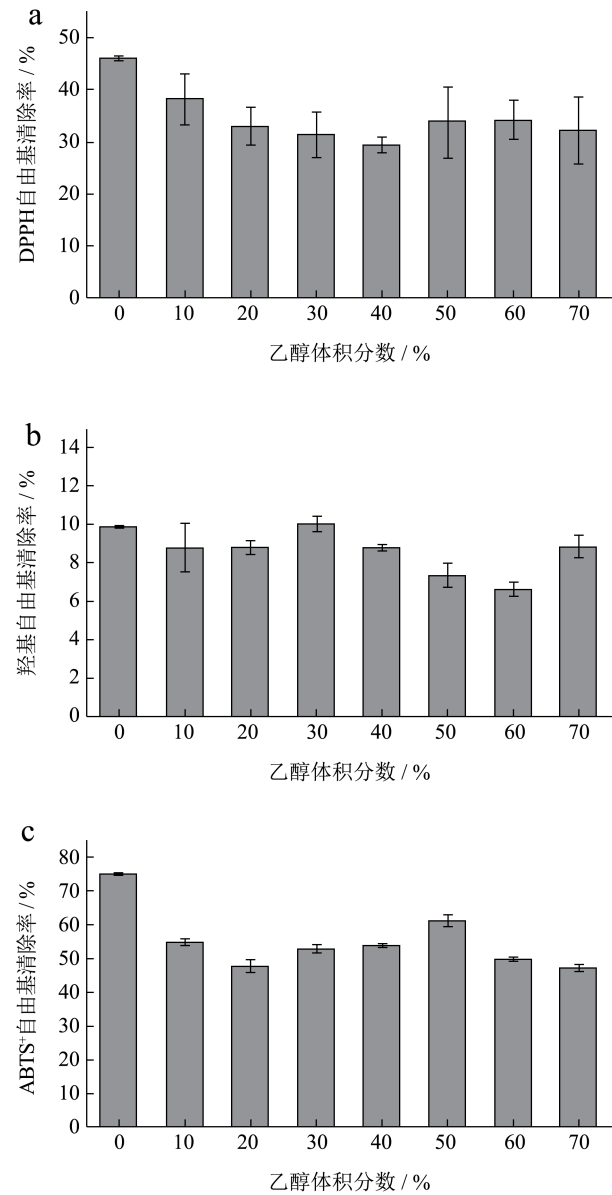


图1 不同体积分数乙醇提取物及同提取物不同质量浓度对DPPH 自由基清除能力 (a, d)、羟基自由基清除能力 (b, e) 和 ABTS⁺ 自由基清除能力 (c, f) 的影响

Fig.1 The effects of different volume fractions of ethanol extract and different mass concentrations of the same extract on DPPH free radical scavenging ability (a, d), hydroxyl free radical scavenging ability (b, e) and ABTS⁺ free radical scavenging ability (c, f)

2.4 酶促反应动力学分析

对反应可逆性进行判定，由图3a可知，固定抑制剂和底物浓度，各质量浓度的提取物抑制作用直线均经过原点，且随质量浓度增加，斜率逐渐减小，反应速率降低，表明醇提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用可逆。该结果与贾健辉等^[24]就染料木素对 α -葡萄糖苷酶的研究结果相似，可知两物质均以

次级键与酶可逆结合。对抑制类型进行判定, 由图 3b、表 3 可知, 各直线交于第三象限, 随着醇提物质量浓度的增加, $V_{\max}$ 和 K_m 值呈现减小趋势, 提取物与 α -葡萄糖苷酶的结合常数 K_i 大于底物与 α -葡萄糖苷酶的结合常数 K_{is} , 说明底物优先与酶结合, 后再与抑制剂形成更稳定的复合物, 从而达到抑制酶复合物解离效果, 抑制酶活性, 此抑制类型属于反竞争型混合抑制。

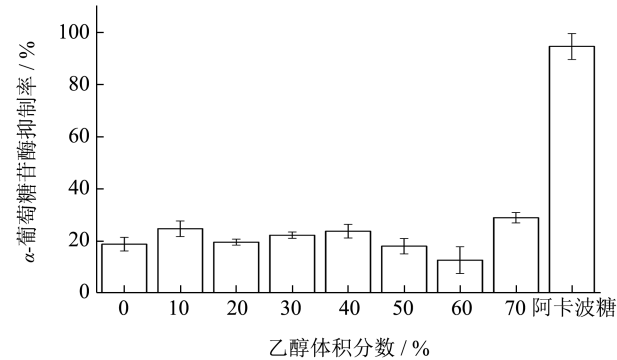


图 2 不同体积分数乙醇松茸提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制率
Fig.2 α -glucosidase inhibition rate of ethanol *T. matsutake* extracts with different volume fractions

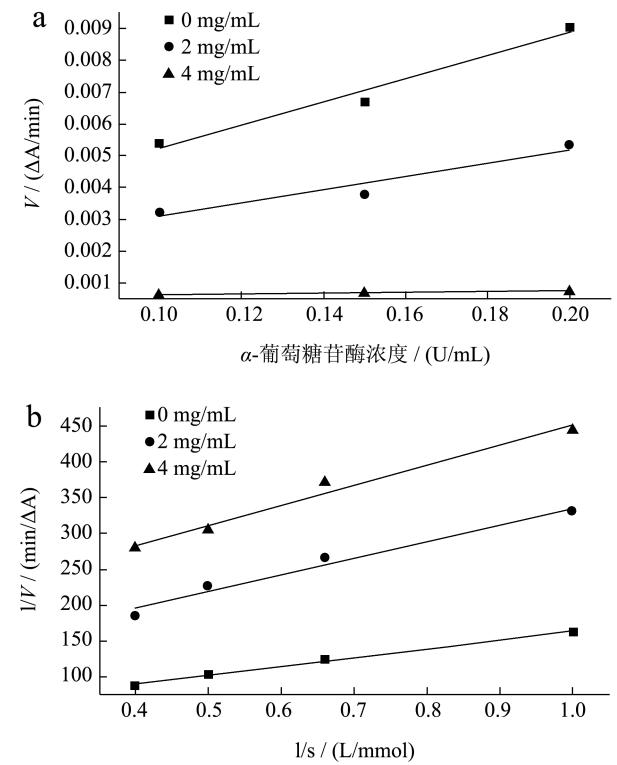


图 3 醇提物对 α -葡萄糖苷酶抑制作用可逆性抑制分析 (a) 及其与 α -葡萄糖苷酶的 Lineweaver-Burk 曲线 (b)
Fig.3 Reversibility analysis of ethanol extracts on α -glycosidases (a) and Lineweaver-Burk plots for α -glucosidase by ethanol extracts (b)

2.5 紫外光谱法分析醇提物与 α -葡萄糖苷酶的相互作用

蛋白质分子中芳香族氨基酸残基微环境的变化导致蛋白质的光吸收能力改变^[25]。因此紫外光谱可用于观察酶与抑制剂相互作用过程中酶构象变化^[26]。图 4 显示了 0~1.0 mg/mL 松茸醇提物对 α -葡萄糖苷酶紫外光谱的影响, 随着醇提物质量浓度的增加, 吸光度依次升高, 并出现红移现象, 且红移程度不断提升, 表明该酶的微环境发生变化。该结果与 Yang 等^[27]研究紫薯二酰化花青素对 α -葡萄糖苷酶抑制机制的紫外光谱图呈现相同特点, 表明酶与醇提物的结合即复合物的形成使得酶的构象发生变化及疏水基团暴露, 有利于分子间和分子内聚集。同时, 由于动态猝灭只影响荧光基团的激发态而不改变吸收光谱, 静态猝灭则会因荧光分子与猝灭剂之间形成的复合物导致荧光物质的吸收光谱发生变化。因此, 紫外吸收光谱分析还可作为验证醇提物与酶相互作用过程中猝灭机制的有效手段^[28]。如图 4 所示, 随着松茸醇提物的加入, α -葡萄糖苷酶的紫外吸收依次增加, 证明 α -葡萄糖苷酶与醇提物复合物存在静态猝灭。

表 3 醇提物对 α -葡萄糖苷酶促反应动力学常数的影响
Table 3 Effects of ethanol extracts on kinetic constants of α -glucosidase enzymatic reaction

醇提物 质量浓度 (mg/mL)	酶	$V_{\max}$ / (mmol/L·min)	K_m / (mmol/L)	K_i (mmol/L)	K_{is} (mmol/L)
0	α -葡萄糖 苷酶	2.44×10^{-2}	3.00	3.44	1.21
2		0.97×10^{-2}	2.24		
4		0.58×10^{-2}	1.61		

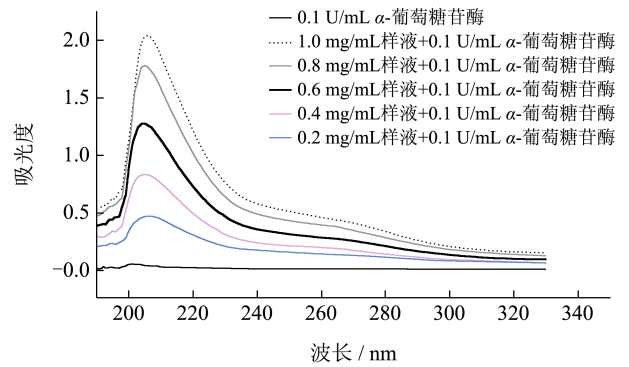


图 4 提取物质量浓度对 α -葡萄糖苷酶紫外光谱的影响
Fig.4 Influence of extract mass concentration on ultraviolet spectrum of α -glucosidase

2.6 荧光光谱法分析醇提取物与 α -葡萄糖苷酶的相互作用

由图 5a、5b 可看出, 醇提取物具有猝灭 α -葡萄糖苷酶内源性荧光的能力, 随着醇提取物质量浓度逐步提升, 荧光强度持续下降, 表明二者发生了强烈的相互作用, 证实醇提取物具有与 α -葡萄糖苷酶结合的能力。在两个不同温度下观测到的最大荧光强度对应的发射波长均发生红移, 这与周香菊等^[13]关于柚皮素抑制 α -葡萄糖苷酶的研究结果相吻合, 表明 α -葡萄糖苷酶中的芳香族氨基酸残基等荧光发色团所处的微环境的极性发生变化, 残基周围的疏水性降低。进一步对比不同温度下的荧光光谱变化, 易知伴随温度提升, 酶蛋白的内源荧光强度减弱, 可能是因为温度影响了酶蛋白分子内的氢键稳定性。以上现象可表明醇提取物和酶之间存在相互作用并形成了新的复合物且醇提取物对酶蛋白中芳香族氨基酸残基的微环境产生影响^[29]。

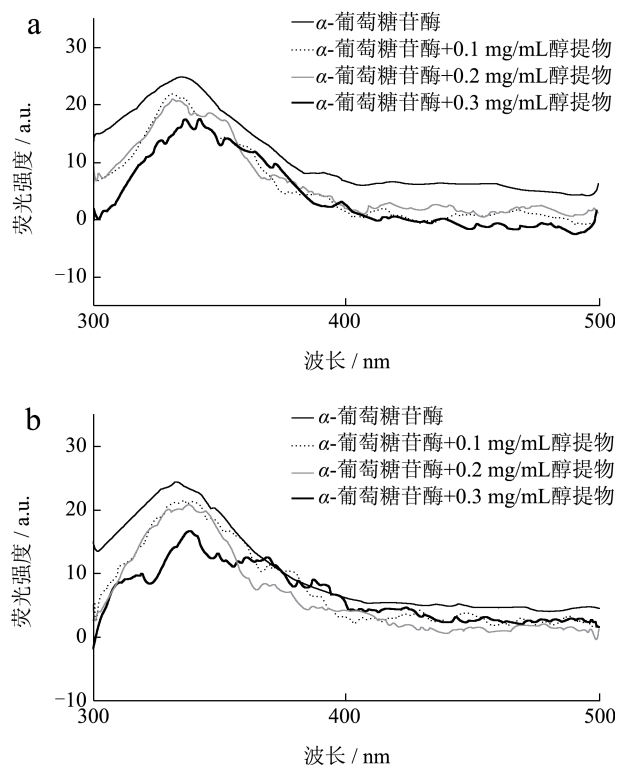


图 5 在 293 K (a) 和 310 K (b) 下获得的不同质量浓度醇提取物与 α -葡萄糖苷酶孵育后的荧光光谱

Fig.5 The fluorescence spectra of different mass concentrations of extracts were obtained at 293 K (a) and 310 K (b) after incubation with α -glucosidase

2.7 红外光谱法分析醇提取物与 α -葡萄糖苷酶的相互作用

研究表明, 在监测蛋白质二级结构动态变化

时, 酰胺 I 键 (C=O 拉伸振动) 相较于其他化学键具有更高的敏感度^[30]。由图 6 可知, 添加醇提取物后, 酰胺 I 带特征峰发生了移动, 从 1 685 cm^{-1} 处转移到 1 672 cm^{-1} , 表明醇提取物与 α -葡萄糖苷酶中的酰胺 I 键相互作用, 诱导多肽基氢键发生了重排, 说明醇提取物改变了 α -葡萄糖苷酶蛋白的二级结构^[31]。该变化与 Oghenetega 等^[32]通过红外光谱研究星苹果种子甲醇提取物对 α -淀粉酶的影响所得结果相仿, 加入星苹果种子甲醇提取物后, 淀粉酶酰胺 I 带的峰值位置从 1 647 cm^{-1} 移动到 1 635 cm^{-1} , 证明提取物与酶的 C=O 基团发生了相互作用。

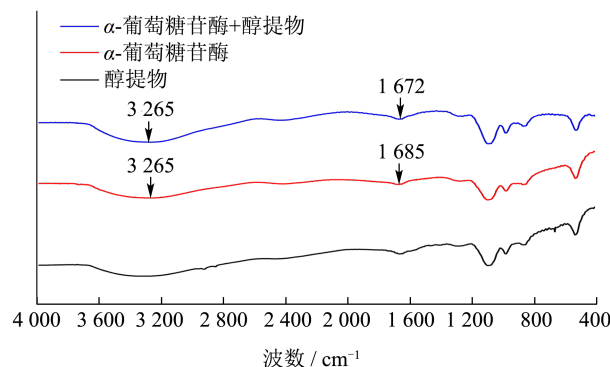


图 6 醇提取物、 α -葡萄糖苷酶和 α -葡萄糖苷酶-醇提取物复合物的红外光谱

Fig.6 FT-IR spectra of ethanol extract, α -glucosidase and α -glucosidase-ethanol extract complex

3 结论

松茸醇提取物对 DPPH、ABTS⁺、羟基自由基具有显著的清除效果, 可抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 且呈现浓度-效应依赖性。松茸醇提取物能够与 α -葡萄糖苷酶发生相互作用, 对酶的微环境产生影响并改变其二级结构, 二者通过氢键形成了新的复合物, 存在静态猝灭作用, 并以反竞争型混合形式抑制酶活性, 发挥降糖作用。本研究既为预防高血糖症提供了植物源天然降糖产品开发的理论基础, 又为松茸产业链的延伸提供了新的思路。

参考文献

- [1] 黄振帝, 苗华彪, 裴丁玉, 等. 松口蘑的活性成分及其研究进展[J]. 菌物学报, 2023, 42(10): 2025-2040.
- [2] 凌云坤, 蒋方国, 王建辉, 等. 四川木里松茸不同部位在不同生长期的营养成分及安全性比较分析[J]. 中国食用菌, 2021, 40(3): 57-62, 67.
- [3] 刘利平, 李德顺, 张劲松, 等. 不同产地松茸子实体营养和功能成分比较[J]. 中国食用菌, 2022, 41(12): 31-38.

- [4] LI F H, FENG H, WANG Y, et al. Evaluation of hemostatic, anti-inflammatory, wound healing, skin irritation and allergy, and antimicrobial properties of active fraction from the ethanol extract of *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 331: 118330.
- [5] ERDENEBILEG S, KIM M, NAM Y, et al. *Artemisia argyi* ethanol extract ameliorates nonalcoholic steatohepatitis-induced liver fibrosis by modulating gut microbiota and hepatic signaling [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 333: 118415.
- [6] YI Y, JIANG Y H, BAI B B, et al. Study the inhibitory effect and mechanism of the ethanol extract of deziyangxin on LLC cells [J]. Heliyon, 2023, 9(8): e18712.
- [7] 刘朋,王雨阳,杜敏杰,等.八种食用菌提取物对不同类型肝细胞损伤保护作用[J].食用菌学报,2024,31(1):84-93.
- [8] KHAN R M M, CHUA Z J Y, TAN J C, et al. From pre-diabetes to diabetes: diagnosis, treatments and translational research [J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(9): 546.
- [9] XU Y, WANG T S, YANG Z R, et al. Sulphonylureas monotherapy and risk of hospitalization for heart failure in patients with type 2 diabetes mellitus: a population-based cohort study in China [J]. Pharmacoepidemiology and Drug Safety, 2020, 29(6): 635-643.
- [10] BERGMARK B A, BHATT D L, MCGUIRE D K, et al. Metformin use and clinical outcomes among patients with diabetes mellitus with or without heart failure or kidney dysfunction [J]. Circulation, 2019, 140(12): 1004-1014.
- [11] 向玉芳,孙辉,陈月,等.2型糖尿病降糖药不良反应及联合用药情况分析[J].中国药物警戒,2022,19(3):313-316.
- [12] 张文鑫,王奎鹏,曹英杰.阿卡波糖不良反应文献分析[J].中国合理用药探索,2020,17(10):7-10.
- [13] 周香菊,陈雨琴,尹忠平,等.柚皮素对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及其机制[J].食品工业科技,2022,43(8):157-164.
- [14] YANG W W, WU J, LIU W M, et al. Structural characterization, antioxidant and hypolipidemic activity of *Grifola frondosa* polysaccharides in novel submerged cultivation [J]. Food Bioscience, 2021, 42: 101187.
- [15] 陈艳,姚密,李美凤,等.超声波辅助复合酶法提取松茸多糖的工艺研究[J].中国酿造,2017,36(10):139-143.
- [16] 范智义,李晓琳,李巨秀.桑椹提取物中酚类化合物的抗氧化及抗糖基化活性分析[J].食品科学,2016,37(17):19-26.
- [17] XI W P, LU J F, QUN J P, et al. Characterization of phenolic profile and antioxidant capacity of different fruit part from lemon (*Citrus limon* Burm.) cultivars [J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(5): 1108-1118.
- [18] 周燕芳,詹晓星.响应面法优化鲮鱼蛋白酶解工艺及酶解液抗氧化活性[J].食品工业,2019,40(4):15-19.
- [19] NICHOLAS S, QUINTON J C. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 1057-1060.
- [20] ZENG W C, ZHANG Z, GAO H, et al. Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of essential oil from pine needle (*Cedrus deodara*) [J]. Journal of Food Science, 2012, 77(7): 824-829.
- [21] 辛相余.黑豆芽多酚体外模拟消化的生物可及性及其对消化酶的抑制作用研究[D].西安:陕西师范大学,2021.
- [22] 何君强,熊雯宇,黄莹,等.灰树花醇提物化学成分及其生物活性研究[J].食品与生物技术学报,2024,43(5):54-63.
- [23] DIVYA K, RANJANA, JYOTISHANKAR T, et al. *In-vitro* α amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug-Shirishadi [J]. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research, 2013, 4(4): 206-209.
- [24] 贾健辉,窦博鑫,高嫚,等.染料木素对 α -葡萄糖苷酶的抑制及分子机制[J].食品工业科技,2025,46(5):63-71.
- [25] CAI X, YU J N, XU L M, et al. The mechanism study in the interactions of sorghum procyanidins trimer with porcine pancreatic α -amylase [J]. Food Chemistry, 2015, 174: 291-298.
- [26] SHEN H Y, WANG J, AO J F, et al. The inhibitory mechanism of pentacyclic triterpenoid acids on pancreatic lipase and cholesterol esterase [J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102341.
- [27] YANG Y, ZHANG J L, SHEN L H, et al. Inhibition mechanism of diacylated anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) against α -amylase and α -glucosidase [J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129934.
- [28] DAI T T, CHEN J, LI Q, et al. Investigation the interaction between procyanidin dimer and α -amylase: spectroscopic analyses and molecular docking simulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 113: 427-433.
- [29] 吴彬青,叶满萍,史亚荣,等.温度对奶粉荧光光谱的影响[J].光子学报,2016,45(7):106-112.
- [30] JOANNE W Y Y, SOPHIE L R, RYO K, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy [J]. Diabetes Care, 2012, 35(3): 556-564.
- [31] TANG H J, MA F, ZHAO D S, et al. Exploring the effect of salvianolic acid C on α -glucosidase: Inhibition kinetics, interaction mechanism and molecular modelling methods [J]. Process Biochemistry, 2019, 78: 178-188.
- [32] OGHENETEGA J A, AKPOVWEHWEE A A, FRANCIS O A, et al. Investigation of the binding interaction of α -amylase with *Chrysophyllum albidum* seed extract and its silver nanoparticles: a multi-spectroscopic approach [J]. Chemical Data Collections, 2020, 29: 100517.