孙梦雪, 倪立颖, 黄裕鸿, 等. 蒸汽爆破处理对金针菇菇脚水提物抗氧化及抗炎活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 91−99. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110116

SUN Mengxue, NI Liying, HUANG Yuhong, et al. Effects of Steam Explosion on Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Water Extracts of *Flammulina velutipes* Stembase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(17): 91−99. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110116

· 研究与探讨 ·

蒸汽爆破处理对金针菇菇脚水提物抗氧化及抗炎活性的影响

孙梦雪[1], 倪立颖[1], 黄裕鸿[2], 王　彬[1], 张　明[1], 吴茂玉[1], 于发家[3], 马　超[1,*]

（1.中华全国供销合作总社济南果品研究所, 山东济南 250014;
2.长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434022;
3.山东恒宝食品集团有限公司, 山东日照 276800）

摘　要: 采用蒸汽爆破的方式对金针菇菇脚进行预处理，探究蒸汽爆破对金针菇菇脚水提物抗氧化及抗炎活性的影响。利用超高效液相色谱-质谱联用技术（UHPLC-MS/MS）对比分析汽爆前后金针菇菇脚水提物活性成分的差异；采用苯酚硫酸法、福林酚法及氯化铝法分别对粗多糖、总酚及总黄酮的含量进行测定；通过 DPPH、ABTS 和 FRAP 法测定蒸汽爆破前后金针菇菇脚水提物的体外抗氧化能力；研究了金针菇菇脚水提物对脂多糖（LPS）激活的 RAW264.7 细胞的潜在抗炎活性及抗炎机制。结果表明，经过蒸汽爆破处理后，金针菇菇脚部分活性化合物相对含量显著升高（P<0.05），如甜菜碱、反式-3-吲哚丙烯酸、腺苷、烟酰胺等，分别是未汽爆组的 1.14 倍、1.32 倍、3.39 倍、3.21 倍，且粗多糖含量增加了 56.03%。蒸汽爆破后的金针菇菇脚水提物（SFVE）抗氧化活性更强，其中 DPPH 自由基的清除能力、$ABTS^{+}$自由基清除能力和 Fe^{3+}还原能力分别为未汽爆组（FVE）的 1.12 倍、1.07 倍、1.12 倍；抗炎实验证明蒸汽爆破后的金针菇菇脚水提物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞产生 NO 有较为显著的抑制活性（P<0.05），且 ELISA 测定细胞因子水平结果表明其能下调 TNF-α、IL-1β、IL-6 的分泌水平（P<0.05）。因此，蒸汽爆破技术可以作为一种新型食用菌废弃物预处理技术，为功能性食品的开发提供了新的方法，值得进一步深入研究。

关键词: 金针菇, 蒸汽爆破, 抗氧化, 抗炎, RAW264.7

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2023)17−0091−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110116　　本文网刊:

Effects of Steam Explosion on Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Water Extracts of *Flammulina velutipes* Stembase

SUN Mengxue[1], NI Liying[1], HUANG Yuhong[2], WANG Bin[1], ZHANG Ming[1], WU Maoyu[1], YU Fajia[3], MA Chao[1,*]

（1.Jinan Fruit Research Institute, All China Federation of Supply & Marketing Co-operatives, Jinan 250014, China;
2.College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434022, China;
3.Shandong Hengbao Food Group Co., Ltd., Rizhao 276800, China）

Abstract: The stembase of *Flammulina velutipes* was pretreated by steam explosion, to explore the effects on antioxidant and anti-inflammatory activities of its water extract. The differences of active components in water extract of *F.velutipes* stembase before and after steam explosion were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). The contents of crude polysaccharides, total phenols and total flavonoids were determined by phenol-sulfuric acid method, Folin-Ciocalteu method and aluminum chloride method. The *in vitro* antioxidant capacity

收稿日期: 2022−11−14

基金项目: 泰山产业领军人才项目（LJNY202105）; 日照市科技创新专项项目（2020CXZX1105）; 济南果品研究所科研发展基金（CTCF202115）。

作者简介: 孙梦雪（1994−）, 女, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 食品功能评价, E-mail: smx18313941107@163.com。

*** 通信作者:** 马超（1982−）, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 功能食品研发, E-mail: mch.01@163.com。

of water extract of *F.velutipes* stembase before and after steam explosion was determined by DPPH, ABTS and FRAP methods. The potential anti-inflammatory activity and mechanism of *F.velutipes* stembase water extract on LPS-activated cells were investigated. The results showed that the relative content of active compounds of *F.velutipes* stembase increased significantly after steam explosion, such as betaine, trans-3-indoleacrylic acid, adenosine and nicotinamide, which were 1.14 times, 1.32 times, 3.39 times and 3.21 times of that in the non-steam explosion group, respectively, and the content of crude polysaccharide increased by 56.03%. SFVE had better antioxidant activity, the DPPH free radical scavenging ability, $ABTS^{+}$ free radical scavenging ability and Fe^{3+} reducing ability were 1.12 times, 1.07 times and 1.12 times of those in the non-steam explosion group (FVE), respectively. The anti-inflammatory result showed that the water extract of *F.velutipes* stembase after steam explosion had significant inhibitory activity on LPS-induced NO production in RAW264.7 cells (P<0.05), and the water extract of *F.velutipes* stembase could down-regulate the secretion levels of TNF-α, IL-1β and IL-6 (P<0.05). Therefore, steam explosion technology can be used as a new type of edible fungus waste pretreatment technology, which provides a new method for the development of functional food and is worthy of further study.

Key words: *Flammulina velutipes*; steam explosion; antioxidant; anti-inflammatory; RAW264.7

金针菇(*Flammulina velutipes*),一种腐生异养型真菌,又名构菌、毛柄金钱菌和冬菇,属于口蘑科金钱菌属,是著名的食药用菌[1]。金针菇从外界吸收氮元素、微量元素、糖类等[2],在子实体中转化为蛋白质、氨基酸、维生素、膳食纤维等多种营养物质。金针菇还含有多糖、萜类、脂肪酸、多酚等活性物质[3],具有抗肿瘤、抗衰老、抗炎、增强记忆力、降血脂、免疫调节、抗氧化等生物活性[4−7]。近年来,金针菇需求量不断增加,加工后剩余的菌柄、菌盖、畸形菇等副产物除极少部分被作为饲料外,绝大部分被直接丢弃,不仅造成了严重的环境污染,而且不符合绿色、持续、健康的发展理念,资源浪费极大。目前,我国在农产品加工领域大力倡导资源高值利用和产品多元化开发,因此,急需发现新的技术促进金针菇废弃物高值利用,提升国际竞争力,带动金针菇产业多元化发展。

蒸汽爆破技术(steam explosion,简称汽爆技术)是指在高压密闭环境中,利用高温高压的蒸汽作用于原料,通过瞬间释压过程实现原料组分的分离和结构变化的一项技术。物料在蒸汽中加热并维持高压后瞬间泄压,随着压强骤降、水分汽化,气体迅速膨胀,固体物料受机械力作用结构受到破坏并产生爆破效应[8−9]。蒸汽爆破作为新兴的预处理技术,最早是在1926 年,由美国学者 W.·H. 梅森(W. H. Mason)开发,应用于硬纸板生产、造纸、木材加工等工业化领域[10]。截至目前,蒸汽爆破技术已被开发用于动物饲料加工、食品预处理、中草药预处理和农业副产品的开发[11],汽爆技术可以促使膳食纤维改性,在高温高压的处理条件破坏了纤维素的氢键和有序结构,降低多糖的分子量,提高其可溶性膳食纤维的溶出并提高了相关的理化特性[12−16]。然而,汽爆技术由于其复杂的物理和化学过程,难以准确地控制处理的强度和均匀性,因此更容易引起有效成分的降解和美拉德反应的发生,且处理不能连续进行[17]。金针菇菇脚中含有多种生物活性成分,因此,本研究采用蒸汽爆破技术对金针菇菇脚进行预处理,利用超高效液相色谱-质谱联用技术(UHPLC-MS/MS)对比分析汽爆前后金针菇菇脚水提物活性成分的差异;通过 DPPH、ABTS 和 FRAP 法测定蒸汽爆破前后金针菇菇脚水提物的体外抗氧化能力;研究其对 LPS 刺激的巨噬细胞释放 NO 的影响及抗炎机制,对比汽爆前后金针菇菇脚水提物抗炎活性的差异。本研究旨为金针菇废弃物产品加工工艺优化及新产品研发提供技术参考,以期为金针菇菇脚的高值化利用提供参考,并拓展蒸汽爆破技术在食品预处理及加工行业的利用范围。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金针菇菇脚　山东邹城友和菌业有限公司;没食子酸、抗坏血酸、苯酚、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼　上海 MACKLIN 生化科技有限公司;2,2′-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(ABTS)、2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、Trolox(水溶性维生素 E)、$FeCl_3$、Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂　北京索莱宝科技有限公司;脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)、氨卡青霉素/链霉素　美国 Sigma 公司;无水乙醇　国药集团化学试剂有限公司;小鼠巨噬细胞系 RAW264.7、IL-6 试剂盒、IL-1β 试剂盒、TNF-α 试剂盒　武汉博士德生物技术股份有限公司;胎牛血清　美国 ScienCell 公司;DMEM 高糖培养基、胰蛋白酶消化液　武汉普诺赛生命科技有限公司。

QBS-80 型蒸汽爆破设备　鹤壁政道启宝实业有限公司;MCO-18AC 细胞培养箱　松下健康医疗器械有限公司;SHA-B 双功能水浴恒温振荡器　苏杰瑞尔电器有限公司;JRA-1000X 低温超声波破碎仪　无锡杰瑞安仪器设备有限公司;RXH-B-1 热风循环烘箱　江阴市宏达粉体设备有限公司;FD-2 真空冷冻干燥机　上海比朗仪器制造有限公司;JXFSTPRP-48 全自动样品快速研磨仪　上海净信科技公司;TGL-10B 高速台式离心机　上海安亭科学仪器厂;RH-600A 高速粉碎机　永康市荣浩工贸有限公司;Multiskan FC 酶标仪　美国赛默飞世尔科技公司;超高效液相色谱质谱联用 UHPLC-MS/MS(Thermo, Ultimate 3000LC, Q Exactive HF)　美国赛默飞世尔科技公司;Zorbax Eclipse C_{18} 色谱柱

（1.8 μm×2.1 mm×100 mm）　美国安捷伦科技公司。

1.2　实验方法

1.2.1　蒸汽爆破处理　将金针菇菇脚分为蒸汽爆破处理组（命名为 SFV 组），和未经蒸汽爆破处理组（命名为 FV 组），每组 1 kg。SFV 组按照之前研究对金针菇菇脚膳食纤维汽爆改性工艺优化后的参数[18] 进行蒸汽爆破处理，即蒸汽爆破料腔比 5∶8，保压时间 105 s，蒸汽爆破压强 1 MPa。随后，将 SFV 组和 FV 组同时置于电热鼓风干燥箱中，60 ℃，干燥 5 h 以上至恒重。干燥的金针菇菇脚用高速粉碎机打粉，过 80 目筛，备用。

1.2.2　水提物的制备　采用梁慧嘉等[19] 的方法测定并稍作改进。分别取 SFV 和 FV 组金针菇菇脚粉末 100 g，料液比 1∶30（g/mL）加入蒸馏水，100 ℃ 水浴提取 3 h，过滤，取滤液。重复 2 次，合并 2 次滤液，减压浓缩，冷冻干燥，即得水提物 SFVE 和 FVE，放入 4 ℃ 冰箱备用，用于后续成分分析及抗氧化、抗炎活性评价实验。

1.2.3　UHPLC-MS/MS 分析　采用 An 等[20] 的方法测定并稍作改进，称取上述得到的金针菇菇脚水提物 100 mg 置于 2 mL 离心管中，加入 1 mL 70% 甲醇和 3 mm 规格钢珠，用全自动样品快速研磨仪（JXFSTPRP-48，70 Hz）振荡破碎 3 min，冷却后低温超声（40 kHz）10 min，4 ℃ 低温下 12000 r/min 离心 10 min。取上清液稀释 100 倍，加入 10 μL 浓度为 100 μg/mL 的内标（二氯苯丙氨酸），用 0.22 μm PTFE 滤头过滤后，使用安捷伦 C_{18} 柱（1.8 μm×2.1 mm×100 mm），通过超高效液相色谱-质谱联用仪（UHPLC-MS/MS）进行化学组成分析。使用 Compound Discoverer 3.3 进行保留时间矫正、峰识别、峰提取等工作，根据二级质谱信息利用 Thermo mzCloud 在线数据库、Thermo mzValut 本地数据库进行物质鉴定。根据各样品中物质的峰面积，计算物质在样品中相对百分比，确定含量（各物质相对浓度=内标浓度/内标峰面积×代谢物峰面积/样品取样量）。

色谱条件为：柱温 30 ℃，进样量 2 μL，流速 0.3 mL/min。流动相为 0.1% 甲酸水（A）和乙腈（B），梯度洗脱程序为 5% B，0~2 min；5%~30% B，2~6 min；30% B，6~7 min；30%~78% B，7~12 min；78% B，12~14 min；78%~95% B，14~17 min；95% B，17~20 min。质谱条件为：正离子模式下进行全扫描，一级全扫描（Full Scan，m/z 100~1500）与数据依赖性二级质谱扫描（dd-MS2，TopN=10）；分辨率：120000（一级质谱），60000（二级质谱）。碰撞模式：高能量碰撞解离（HCD）。加热器温度 325 ℃；鞘气流速：45 arb；辅助气流速：15 arb；吹扫气流速：1 arb；电喷雾电压：3.5 kV；毛细管温度：330 °C；S-Lens RF Level：55%。

1.2.4　粗多糖的测定　金针菇菇脚粗多糖的测定参照 NY/T 1676-2008《食用菌中粗多糖含量的测定》所述方法进行测定，根据试验测定的葡萄糖溶液 OD 值制得粗多糖标准曲线 y=0.0065x+0.0255，R^2=0.9994。

1.2.5　总酚含量的测定　用 Folin-Ciocalteu（FC）法[21] 测定样品的总酚（TPC）含量，以没食子酸作为标准品制得标准曲线 y=0.0198x+0.0091，R^2=0.9993。通过甲醇溶解样品后，向 0.5 mL 的福林酚试剂和 0.4 mL 蒸馏水的混合液中加入 0.6 mL 样品溶液，反应 1 min 后，加入 1.5 mL Na_2CO_3（m/v：20%）和 6 mL 蒸馏水。将整个反应体系放置于 70 ℃ 中，水浴 10 min。待冷却到室温，用酶标仪 765 nm 处测定吸光值。样品中总酚含量表示为每 mg 样品中含有没食子酸（GAE）的量（mg GAE/mg 水提物）。

1.2.6　总黄酮含量测定　总黄酮（TFC）的含量根据 Cai 等[22] 的方法测定。用芦丁作为标准品，制得标准曲线 y=0.3189x+0.0066，R^2=0.9995。在 0.3 mL 的 5% $NaNO_2$ 和 3.8 mL 的 70% 乙醇混合液中加入样品溶液 1.2 mL，充分混合。反应 8 min 后，加入 0.3 mL 10% $Al(NO_3)_3$、4.0 mL 4% NaOH 溶液和 0.4 mL 的水溶液，在室温下反应 12 min，用酶标仪测量 510 nm 处的吸光度。样品中总黄酮含量表示为每 mg 样品含有芦丁（RE）的量（mg RE/mg 水提物）。

1.2.7　DPPH 自由基清除能力测定　按照文献 [23] 的方法测定样品的 DPPH 自由基清除能力。0.1 mmol/L 的 DPPH 甲醇溶液现用现配。0.5 mL 的水提物溶液以及 Trolox 标准溶液分别与 2 mL 的 DPPH 溶液混合，在 25 ℃ 条件下避光反应 30 min，用酶标仪测量 517 nm 处的吸光度。水提物的 DPPH 自由基清除能力用每 mg 水提物含有 Trolox（TE）的量来表示（nmol TE/mg 水提物）。

1.2.8　$ABTS^+$自由基清除能力测定　$ABTS^+$自由基清除能力的测定方法按照文献 [24] 的报道并稍作修改。7 mmol/L 的 ABTS 溶液和 40 mmol/L 的过硫酸钾溶液按照 5:88 比例进行混合，避光条件下反应 12 h 后 ABTS 工作溶液配制完成。1 mL ABTS 溶液用 100 mL 左右的无水乙醇进行稀释，在波长 734 nm 测量其吸光值。取 0.5 mL 的样品溶液加入 4 mL 的 ABTS 工作液，混匀后，37 ℃ 避光反应 6 min。用酶标仪测定 734 nm 处的吸光值。以 Trolox 作为标准品，制作标准曲线。样品中 $ABTS^+$自由基清除能力用每 mg 水提物含有 Trolox（TE）的量（nmol TE/mg 水提物）来表示。

1.2.9　铁离子还原能力测定　铁离子还原能力测定按照文献 [25] 的报道并稍作修改。0.5 mL 水提物溶液或 Trolox 溶液与 4.5 mL 现配 FRAP 试剂混匀，在 37 ℃ 的避光环境中反应 10 min。使用酶标仪测定 593 nm 处的吸光值。以 Trolox 作为标准品，做标准曲线。样品中铁离子还原能力用每 mg 水提物含有 Trolox（TE）的量来表示（nmol TE/mg 水提物）。

1.2.10　抗炎活性测定

1.2.10.1　金针菇菇脚水提物对 RAW264.7 细胞相对

活性的影响　在 96 孔板中加入 1×10^4 个/孔对数期生长的 RAW264.7 细胞，37 ℃，5% CO_2 细胞培养箱中过夜。根据实验设计空白组、阴性对照组及样品组，空白组为正常培养基培养，阴性对照组每孔加入终浓度为 1 μg/mL LPS，样品组为 LPS+终浓度为 62.5、125、250、500 μg/mL 的 FVE 或 SFVE。处理 24 h 后，每孔分别加入 CCK-8 试剂 10 μL，放入 37 ℃，5% 的 CO_2 的细胞培养箱中反应 4 h。反应结束后，用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度，细胞相对活性根据公式(1)计算。

$$细胞相对活性(\%)=\frac{样品组OD值-空白组OD值}{阴性对照组OD值-空白组OD值}\times100 \quad 式（1）$$

1.2.10.2　金针菇菇脚水提物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 产生量的影响　NO 产生量采用 Griess 分析法[26]。在 96 孔板中加入 1×10^4 个/孔对数期生长的 RAW264.7 细胞，37 ℃，5% CO_2 条件下过夜培养。加入不同浓度的 FVE 和 SFVE(0、62.5、125、250、500 μg/mL)处理 1 h，加入终浓度为 1 μg/mL 的 LPS 溶液，37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养 24 h。培养结束后，在 96 孔板中加入 100 μL 上清液，随加入 100 μL Griess 试剂，反应 10 min，于 540 nm 处测定吸光度值。NO 的产生率根据公式(2)计算。

$$NO产生率(\%)=\frac{样品孔NO含量}{LPS孔NO含量}\times100 \quad 式（2）$$

1.2.10.3　炎症细胞因子 TNF-α、IL-6、IL-1β 分泌量的影响　按 1.2.10.2 对细胞进行处理，取细胞上清液，参照酶联免疫吸附剂(ELISA)试剂盒说明书对肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1β(IL-1β)的分泌量进行测定，根据标准曲线，计算各种炎症因子的含量。

1.3　数据处理

所有实验至少重复三次，结果以平均值±标准差($\overline{X}$±SD)表示，通过 one-way ANOVA 对实验结果进行统计学分析，运用多重比较 Turkey 检验分析实验数据间的差异性。所示结果中，$P<0.05$ 判断为具有显著性差异。

2　结果与分析

2.1　金针菇菇脚水提物化合物种类及含量的差异

金针菇菇脚的食用和药用价值很大程度上取决于其生物活性化合物的含量。因此，本研究通过 UHPLC-MS/MS 检测了蒸汽爆破前后金针菇菇脚水提物的化合物种类及含量变化。图 1 展示了未蒸汽爆破(FVE)与蒸汽爆破后(SFVE)金针菇菇脚水提物的总离子色谱图(TIC)。结果可知，金针菇菇脚水提物具有 136 种羧酸衍生物、肉桂酸及其衍生物和吲哚类衍生物及有机氧化物等化合物等，主要化合物如表 1 所示。结果表明，经过蒸汽爆破后，部分化合物含量显著升高($P<0.05$)，如甜菜碱、反式-3-吲哚丙烯酸、腺苷、烟酰胺等，含量为 1356.69、832.86、1134.54 和 192.15 μg/g，分别是未汽爆组的 1.14 倍、1.32 倍、3.39 倍、3.21 倍，相关研究表明，汽爆的物理爆破作用能够打破植物组织-细胞-细胞壁水平的多尺度抗提取屏障结构，提高活性成分的破壁促溶效果[17]，这可能是影响蒸汽爆破前后水提物化合物含量差异的原因。据报道，甜菜碱具有显著的抗氧化、抗炎、保肝护肝等生物活性[27]，吲哚类衍生物同样具有广泛的生物活性，如抗癌、抗抑郁、抗炎、抗真菌及抗 HIV 等[28]。烟酰胺具有显著的降低皮肤黑色素的作用及抗菌活性[29]。腺苷具有降血糖及保肝护肝及治疗肾功能紊乱和肾衰竭的作用[30]，值得注意的是，蒸汽爆破处理促进了 N-甲酰基-L-酪氨酸、α-亚麻酸、4-胍基丁酸的溶出，在未汽爆组中未检出。因此，蒸汽爆破处理能够促进部分活性化合物的溶出，增加其提取率。蒸汽爆破前后化合物种类及含量的不同可能会导致样品抗氧化及抗炎等生物活性存在差异。

2.2　蒸汽爆破处理对金针菇菇脚水提物中粗多糖、总酚及总黄酮的含量的影响

为了探究蒸汽爆破处理对金针菇菇脚中活性成分含量的影响，对其粗多糖、总酚及总黄酮的含量进行检测及对比，结果见表 2。爆破加工是利用高温和高压共同作用于原料，并通过瞬时释压过程实现原料的组分分离和结构的变化，通过与其他分离技术的结合，可实现物料在组分水平、细胞水平和组织水平的分级分离。由表可知，蒸汽爆破处理后金针菇菇脚水提物(SFVE)多糖含量为(105.37±0.17)mg/g 样品干重，相比蒸汽爆破前的金针菇菇脚增加了 56.03%，这可能是由于蒸汽爆破过程中存在类酸性水解、热降解、类机械断裂、氢键破坏以及结构重排等作用[31]打开了多糖溶出的通道，使多糖溶出加快，或者高温高压对化学键的破坏，使多糖的含量及种类发生变化[32]，实验结果与何陈灿等[33]的研究一致。值得注意的是，FVE 的多酚及黄酮含量分别为(13.47±0.02)mg GAE/g 和(11.81±0.18)mg RE/g，而 SFVE 的多酚及黄酮含量分别为(12.62±0.20)mg GAE/g 和(9.86±0.07)mg RE/g，相比之下，蒸汽爆破处理后金针菇菇脚总多酚及总黄酮含量有所减少，这可能是因为样品高温高压环境中长时间停留会导致酚类化合物降解或聚合[34]，从而导致其含量减少。

2.3　蒸汽爆破处理对金针菇菇脚抗氧化活性的影响

由表 2 可知，汽爆前后的金针菇菇脚水提物均具有 DPPH 自由基清除能力、$ABTS^+$自由基清除能力和 Fe^{3+}还原能力，说明金针菇菇脚水提物具有显著的抗氧化活性，且汽爆后的金针菇菇脚(SFVE)抗氧化活性更强。蒸汽爆破后的 DPPH 自由基的清除能力、$ABTS^+$自由基清除能力和 Fe^{3+}还原能力分别为(77.59±0.84)nmol TE/mg 水提物、(76.38±2.78)nmol TE/mg 水提物、(53.29±2.05)nmol TE/mg 水提物($P<0.05$)，分别为未汽爆组(FVE)的 1.12 倍、1.07 倍、

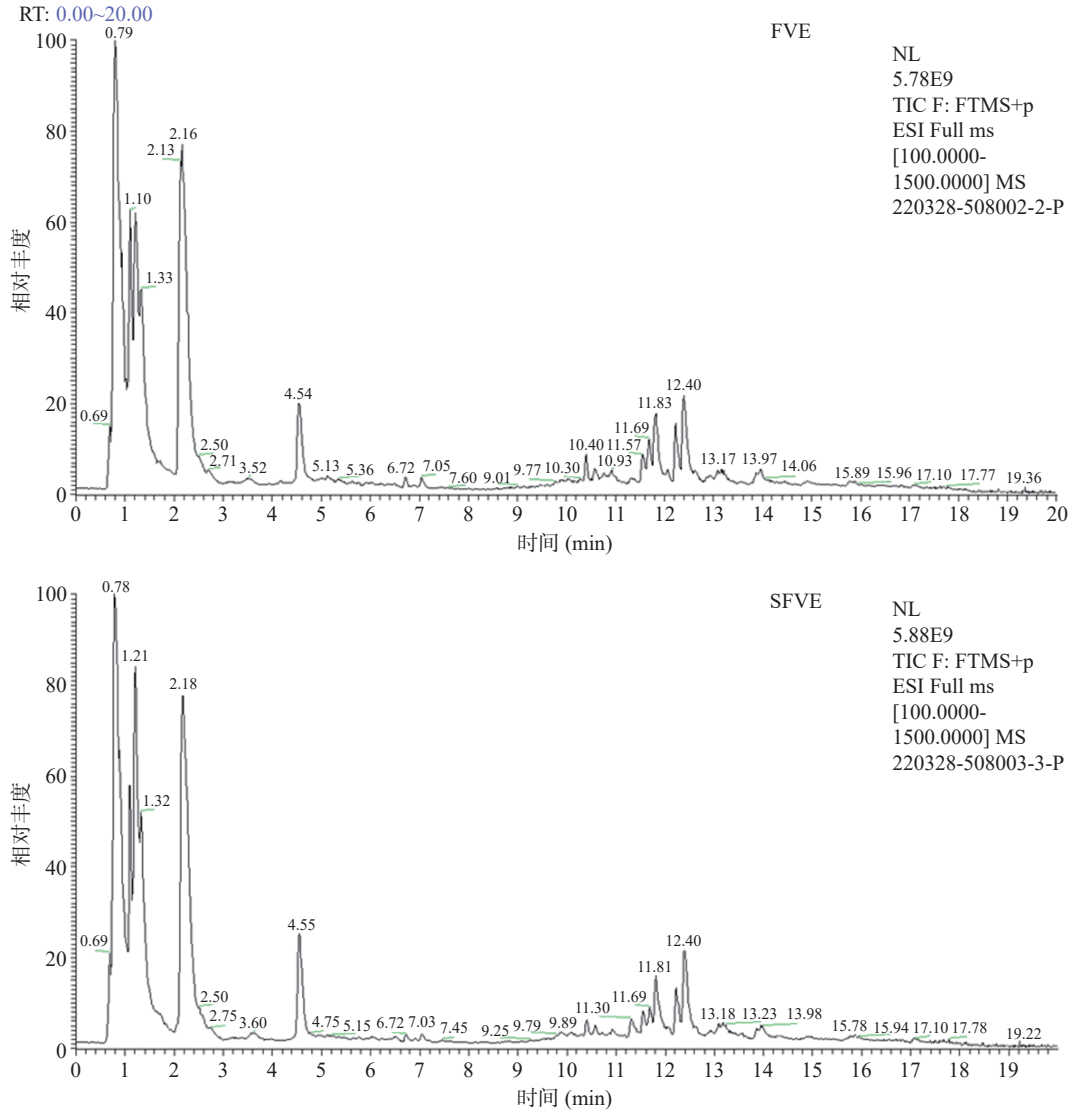

图 1　蒸汽爆破前后金针菇菇脚水提物总离子流色谱图

Fig.1　Total ion chromatograms of *Flammulina velutipes* stembase water extracts before and after steam explosion

表 1　蒸汽爆破前后金针菇菇脚化合物组成及含量

Table 1　Composition and content of compounds in *Flammulina velutipes* stembase before and after steam explosion

化合物名称	分子式	类别	含量(μg/g)	
			FVE	SFVE
甜菜碱Betaine	$C_5H_{11}NO_2$	羧酸及其衍生物	1188.99±85.63^a	1356.69±88.37^b
反式-3-吲哚丙烯酸trans-3-Indoleacrylic acid	$C_{11}H_9NO_2$	吲哚及其衍生物	628.98±46.35^a	832.86±55.44^b
腺苷Adenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	嘌呤核苷	335.03±21.68^a	1134.55±25.33^b
5-氨基咪唑核苷酸5-Aminoimidazole ribotide	$C_8H_{14}N_3O_7P$	有机氧化合物	290.61±15.97^a	363.11±18.54^b
N-苄基甲酰胺N-Benzylformamide	C_8H_9NO	苯及其取代衍生物	281.31±20.64^a	243.01±25.31^a
烟酰胺Nicotinamide	$C_6H_6N_2O$	吡啶及其衍生物	59.75±5.99^a	192.15±5.68^b
左旋肉碱L(-)-Carnitine	$C_7H_{15}NO_3$	有机氮化合物	147.16±12.37^a	137.79±15.29^a
腺苷基琥珀酸Adenylosuccinic acid	$C_{14}H_{18}N_5O_{11}P$	嘌呤核苷	13.82±0.70^a	92.49±1.77^b
N-果基糖苯丙氨酸N-Fructosyl phenylalanine	$C_{15}H_{21}NO_7$	羧酸及其衍生物	200.71±22.37^a	243.20±20.69^b
乙酰-左旋肉碱Acetyl-L-carnitine	$C_9H_{17}NO_4$	脂肪酰类	50.18±6.74^a	45.39±7.08^a
泛酸(维生素b5)Pantothenic acid	$C_9H_{17}NO_5$	有机氧化合物	99.00±11.16^b	69.99±4.79^a
丁酰肉碱(异构体920)Butyryl carnitine	$C_{11}H_{21}NO_4$	脂肪酰类	91.80±5.95^a	86.27±5.73^a
L-谷胱甘肽 氧化型L-Glutathione oxidized	$C_{20}H_{32}N_6O_{12}S_2$	羧酸及其衍生物	45.57±2.56^a	98.59±4.74^b
L-焦谷氨酸L-Pyroglutamic acid	$C_5H_7NO_3$	羧酸及其衍生物	175.08±13.56^b	83.58±8.40^a
2-羟基肉桂酸2-Hydroxycinnamic acid	$C_9H_8O_3$	肉桂酸及其衍生物	102.20±9.77^a	95.20±5.99^a
尼古丁酸Nicotinic acid	$C_6H_5NO_2$	吡啶及其衍生物	140.78±10.66^b	82.50±6.67^a
4-三氟甲基苯乙酸4-(Trifluoromethoxy)phenylacetic acid	$C_9H_7F_3O_3$	苯酚醚	50.38±4.80^a	63.78±6.43^b

续表 1

化合物名称	分子式	类别	含量(μg/g)	
			FVE	SFVE
4-吲哚甲醛4-Indolecarbaldehyde	C_9H_7NO	吲哚及其衍生物	41.89±3.34^a	54.46±4.14^b
4-羟基苯甲醛4-Hydroxybenzaldehyde	$C_7H_6O_2$	有机氧化合物	74.40±6.35^b	62.13±4.79^a
吲哚Indole	C_8H_7N	吲哚及其衍生物	32.66±1.90^a	45.26±1.15^b
4-氨基丁酸叔丁酯4-Aminobutanoate	$C_4H_9NO_2$	羧酸及其衍生物	36.45±2.03^a	33.14±1.04^a
甲硫腺苷5'-Deoxy-5'-Methylthioadenosine	$C_{11}H_{15}N_5O_3S$	5'脱氧核糖核苷	4.16±0.10^a	55.26±5.09^b
吲哚-3-乳酸Indole-3-lactic acid	$C_{11}H_{11}NO_3$	吲哚及其衍生物	29.89±1.02^b	26.16±1.02^a
2-萘胺2-Naphthylamine	$C_{10}H_9N$	萘类	19.02±1.00^a	26.19±1.19^b
2,6-二氨基庚二酸2,6-diaminopimelic acid	$C_7H_{14}N_2O_4$	羧酸及其衍生物	16.94±0.96^a	19.76±0.99^b
L-(-)-阿拉伯糖醇L-(-)-Arabitol	$C_5H_{12}O_5$	有机氧化合物	15.25±1.38^a	32.65±2.14^b
黄嘌呤核苷Xanthosine	$C_{10}H_{12}N_4O_6$	嘌呤核苷	0.56±0.01^a	7.85±0.20^b
尿嘧啶Uracil	$C_4H_4N_2O_2$	二嗪	11.81±0.02^a	27.85±1.19^b
7-甲基鸟苷7-Methylguanosine	$C_{11}H_{15}N_5O_5$	嘌呤核苷	17.33±1.03^a	32.99±2.00^b
N-甲酰基-L-酪氨酸N-Fructosyl tyrosine	$C_{15}H_{21}NO_8$	羧酸及其衍生物	–	71.25±5.20^a
α-亚麻酸α-Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	脂肪酰类	–	39.25±2.32^a
4-胍基丁酸4-Guanidinobutyric acid	$C_5H_{11}N_3O_2$	羧酸及其衍生物	–	6.16±1.00^a

注: “–”表示未检测出; 数据为平均值±标准差(n=3); 同一行不同字母上标代表数据有显著性差异(P<0.05)。

表 2 金针菇菇脚水提物总酚、总黄酮含量及抗氧化活性

Table 2 Total phenolics, total flavonoids and antioxidant activities of *Flammulina velutipes* stembase water extracts

样品	多糖(mg/g 样品干重)	多酚(mg GAE/g 水提物)	黄酮(mg RE/g 水提物)	DPPH•(nmol TE/mg 水提物)	$ABTS^+$•(nmol TE/mg 水提物)	FRAP•(nmol TE/mg 水提物)
FVE	67.53±0.13^a	13.47±0.02^b	11.81±0.18^b	69.36±1.85^a	71.02±1.26^a	47.18±1.43^a
SFVE	105.37±0.17^b	12.62±0.20^a	9.86±0.07^a	77.59±0.84^b	76.38±2.78^b	53.29±2.05^b

注: 数据为平均值±标准差(n=3); 同一列不同字母上标代表数据有显著性差异(P<0.05)。

1.12 倍。与 DPPH 及 $ABTS^+$自由基清除能力相比, 蒸汽爆破前后金针菇菇脚水提物对 Fe^{3+}还原能力较弱。经过蒸汽爆破处理后, 这些活性的增强可能与其水提物中活性成分的更易溶出及相互协同作用有关[10,35], 这一结果与徐一凡等[36] 的研究结果一致。结果表明金针菇菇脚水提物是一种有效的天然抗氧化剂, 具有较好的保健功效, 有望开发新型天然功能食品用于缓解人体衰老或预防疾病发生。

2.4 蒸汽爆破前后金针菇菇脚水提物的体外抗炎作用比较

2.4.1 细胞存活率分析 为了明确本实验所采用的 LPS 刺激和金针菇菇脚水提物处理是否影响 RAW264.7 细胞的正常生长, 本文分别采用不同浓度 LPS 和水提物处理细胞 24 h, 然后采用 CCK-8 法对细胞的相对活性进行了检测。如图 2 所示, 与 CON 组相比, 添加浓度为 62.5、125、250 和 500 μg/mL 时, FVE 和 SFVE 的细胞相对活性均在空白组的 98% 以上。该结果表明, FVE 和 SFVE 在上述浓度范围内未表现任何细胞毒性。在后续试验中采用 1 μg/mL LPS 作为刺激浓度, 并将 500、250、125、62.5 μg/mL 作为 FVE 及 SFVE 的处理浓度。

2.4.2 金针菇菇脚水提物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 产生率的影响 由图 3 可知, 模型组的 NO 释放量显著高于对照组(P<0.05), 表明造模成功。与模型组相比, 各浓度 FVE 和 SFVE 处理均能显著降

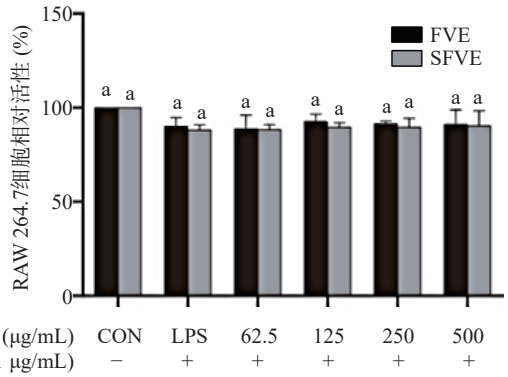

图 2 金针菇菇脚水提物对 RAW264.7 巨噬细胞活力的影响

Fig.2 Effect of *Flammulina velutipes* stembase water extracts on cell viability in RAW264.7 macrophages

注: 不同小写字母代表数据有显著性差异(P<0.05); 图 3、图 4 同。

低 NO 释放量(P<0.05), 且具有浓度依赖性。据报道, 金针菇多糖具有明显的抗炎活性, 增强 RAW264.7 细胞活力和吞噬能力, 抑制 NO 和 ROS 的分泌, 抑制炎症因子 IL-1β、IL-6、IL-18 和 TNF-α 的分泌与基因表达[37], 这可能是 FVE/SFVE 主要的抗炎活性物质, 蒸汽爆破从样品抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞产生 NO 的结果中显示, 和模型组相比, FVE 和 SFVE 均有一定的抑制 NO 生成效果, 当样品浓度在 62.5 μg/mL 时, FVE 和 SFVE 的 NO 产生率分别为 96.78%±0.41%、73.18%±1.52%, 样品浓度达到

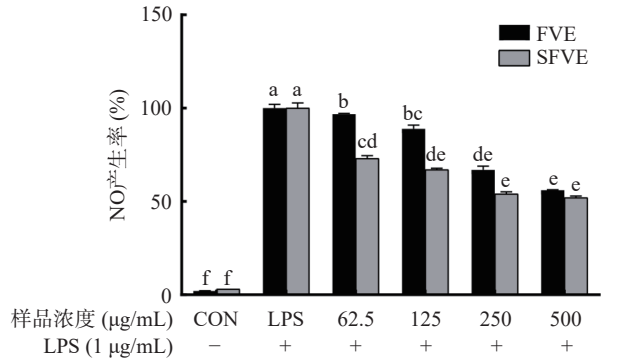

图 3　金针菇菇脚水提物对 RAW264.7 巨噬细胞 NO 产生率的影响

Fig.3　Effects of *Flammulina velutipes* stembase water extracts on NO production rate in RAW264.7 macrophages

500 μg/mL 时，FVE 和 SFVE 的 NO 产生率分别为 56.12%±0.23%、52.01%±0.88%。其中蒸汽爆破后的金针菇菇脚水提物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞产生 NO 有较为显著的抑制活性（P<0.05），且存在剂量依赖关系，SFVE 的抗炎效果优于 FVE，这可能和提取物中的多糖含量有关系，也可能是因为经过蒸汽爆破处理促进了其他抗炎活性物质的溶出及化合物之间的协同作用，如甜菜碱、吲哚类衍生物等化合物。

2.4.3　金针菇菇脚水提物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的影响　LPS 可以诱导炎症细胞中促炎细胞因子的分泌增加，如 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等，这些细胞因子的过度分泌是炎症的标志[38]。在这种情况下，一些具有抗炎活性的物质可以减少促炎细胞因子的分泌[39−42]。由图 4 可知，各浓度 FVE 和 SFVE 处理后 TNF-α 表达量分别为 852.27~1254.51 pg/mL 和 736.20~1146.21 pg/mL，IL-1β 的表达量分别为 81.52~133.32 pg/mL 和 73.18~130.88 pg/mL，IL-6 的表达量分别为 228.87~297.80 pg/mL 和 205.84~288.20 pg/mL。与模型组相比，FVE 和 SFVE 在一定浓度下均对细胞炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的表达具有显著的抑制作用（P<0.05），这一结果与马升等[43] 的金针菇多糖研究结果一致，说明多糖可能是主要的抗炎活性成分。在 62.5 μg/mL 的浓度处理下，FVE 和 SFVE 就对 TNF-α 和 IL-6 表现出了抑制活性，当浓度为 125 μg/mL 时，FVE 和 SFVE 处理才对 IL-1β 表现出明显的抑制效果。结果表明，FVE 和 SFVE 处理对 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的蛋白表达具有很强的抑制作用，呈浓度依赖性，且 SFVE 处理后的抑制效果更显著，这一结果与 NO 产生率一致。与 FVE 相比，SFVE 是一种更好的炎症抑制剂。综上，FVE 和 SFVE 处理对细胞炎症因子均有抑制作用，表明金针菇菇脚水提物能在蛋白表达水平上抑制细胞炎症因子的表达，降低机体炎症反应，从而发挥抗炎作用。

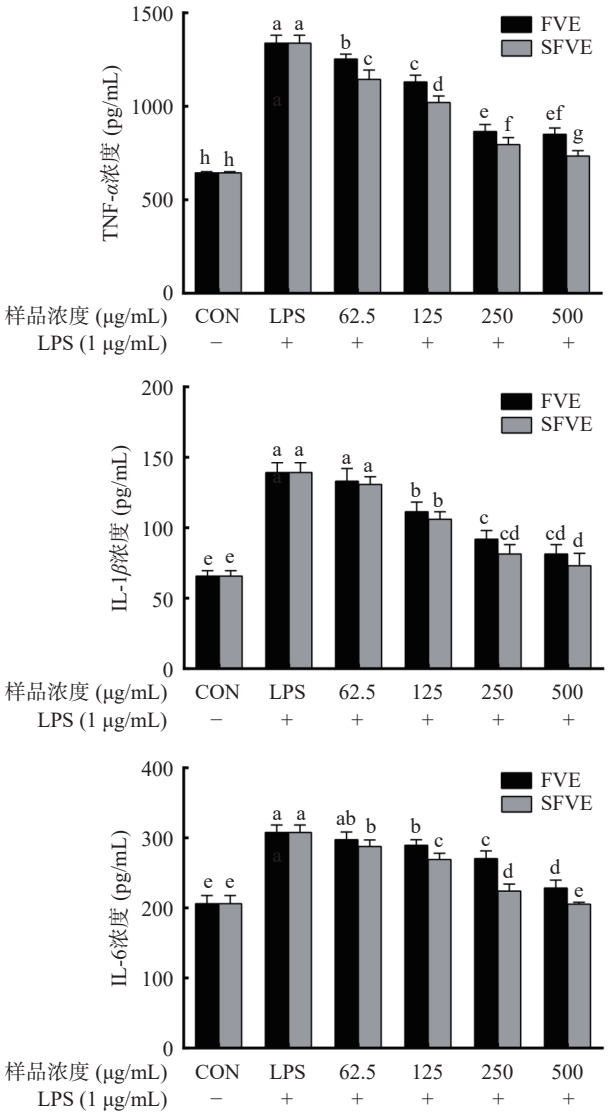

图 4　金针菇菇脚水提物对 RAW264.7 巨噬细胞产生的炎症因子的影响

Fig.4　Effect of *Flammulina velutipes* stembase water extracts on inflammatory cytokines in RAW264.7 macrophages

3　结论

本研究开展了蒸汽爆破前后金针菇菇脚的活性成分及相关生物活性评价相关工作。研究证明，蒸汽爆破能有效提高金针菇菇脚中多糖的得率，而且会影响金针菇菇脚中其他化合物的含量及组成。相关活性评价结果证明，金针菇菇脚水提物具有显著的抗氧化及抗炎活性，经过蒸汽爆破后效果会更为显著，这可能和多糖的溶出率及活性成分之间的协同作用有关。且 ELISA 测定细胞因子水平结果表明金针菇菇脚水提物能下调 TNF-α、IL-1β、IL-6 的分泌水平，从蛋白表达水平上阐述了 FVE 以及 SFVE 抗炎机制。综上所述，蒸汽爆破对金针菇菇脚生物活性物质的释放及抗氧化抗炎活性的提升具有良好的效果，并为金针菇菇脚功能性成分提取、多糖制备等方面的应用提供有效的途径，为金针菇菇脚等天然食用菌废弃物产品开发提供新思路和理论依据。蒸汽爆破技术在食用菌废弃物的预处理方面有巨大的潜力，随着研究的深入，将致力于研究蒸汽爆破的强度和均匀性，避免有效成分的降解和美拉德反应的发生，进一

步拓展爆破技术在食品原料预处理及加工行业的利用范围。

参考文献

[1] 戴玉成, 杨祝良. 中国药用真菌名录及部分名称的修订[J]. 菌物学报, 2008, 27(6): 801−824. [DAI Y C, YANG Z L. A revised checklist of medicinal fungi in China[J]. Mycosystema, 2008, 27(6): 801−824.]

[2] 宋鑫茹, 张嘉, 陆帅. 金针菇菇脚的栽培技术与管理[J]. 陕西农业科学, 2011, 57(1): 264−265, 267. [SONG X R, ZHANG J, LU S. Cultivation technology and management of *Flammulina velutipes*[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2011, 57(1): 264−265, 267.]

[3] 黄世群, 秦琳, 赵珊, 等. 长根菇与金针菇菇脚主要营养成分及必需氨基酸含量的差异[J]. 贵州农业科学, 2022, 50(2): 50−57. [HUANG S Q, QING L, ZHAO S, et al. Differences in main nutritional components and essential amino acid content between *Oudemansiella radicata* and *Flammulina velutipes*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2022, 50(2): 50−57.]

[4] 常昕. 金针菇菇脚种植及发展前景浅析[J]. 南方农业, 2021, 15(2): 39−41. [CHANG X. Analysis on cultivation and development prospect of *Flammulina velutipes*[J]. South China Agriculture, 2021, 15(2): 39−41.]

[5] ZHANG T T, YE J F, XUE C H, et al. Structural characteristics and bioactive properties of a novel polysaccharide from *Flammulina velutipes*[J]. Carbohydrate Polymers:Scientific and Technological Aspects of Industrially Important Polysaccharides, 2018, 197: 147−156.

[6] ZHAO R Q, JI Y, CHEN X, et al. Polysaccharide from *Flammulina velutipes* attenuates markers of metabolic syndrome by modulating the gut microbiota and lipid metabolism in high fat diet-fed mice[J]. Food & Function, 2021, 12(15): 6964−6980.

[7] TANG C, HOO P C X, TAN L T H, et al. Golden needle mushroom: A culinary medicine with evidenced-based biological activities and health promoting properties[J]. Frontiers in Pharmacology, 2016, 7: 474.

[8] 张君仪, 刘飞, 徐虹. 蒸汽爆破技术在食品原料预处理中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 331−334. [ZHANG J Y, LIU F, XU H. Research progress of application of steam explosion technology in pretreatment of food raw materials[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(4): 331−334.]

[9] 康芳芳, 聂远洋, 邓楚君, 等. 蒸汽爆破对豆渣膳食纤维的影响及在韧性饼干中的应用[J]. 食品工业科技, 2018, 39(2): 188−191. [KANG F F, NIE Y Y, DENG C J, et al. Effect of steam explosion on dietary fiber of okara and its application in semi hard biscuit[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(2): 188−191.]

[10] WAN F C, FENG C F, LUO K Y, et al. Effect of steam explosion on phenolics and antioxidant activity in plants: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 124(4): 13−24.

[11] 何晓琴, 李苇舟, 李富华, 等. 蒸汽爆破预处理在农产品加工副产物综合利用中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 252−257. [HE X Q, LI W Z, LI F H, et al. Application of steam-explosion pretreatment in utilizing agricultural by-products[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(8): 252−257.]

[12] LI B, YANG W, NIE Y, et al. Effect of steam explosion on dietary fiber, polysaccharide, protein and physicochemical properties of okara[J]. Food Hydrocoll, 2019, 94: 48−56.

[13] 何晓琴, 李苇舟, 夏晓霞, 等. 蒸汽爆破预处理的苦荞麸皮不溶性膳食纤维理化特性及结构研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(18): 47−53. [[HE X Q, LI W Z, XIA X X, et al. Study on physicochemical properties and structure of insoluble dietary fiber from tartary buckwheat bran pretreated by steam explosion[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(18): 47−53.]

[14] ZHAI X, AO H, LIU W, et al. Physicochemical and structural properties of dietary fiber from *Rosa roxburghii* pomace by steam explosion[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 59: 2381−2391.

[15] 崔潇文, 袁茂翼, 叶发银, 等. 蒸汽爆破预处理对番茄皮渣膳食纤维组成及理化特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(21): 170−177. [CUI X W, YUAN M Y, YE F G, et al. Effect of steam explosion pretreatment on the composition and physicochemical properties of dietary fiber from tomato pomace[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(21): 170−177.]

[16] 白晓州, 张镒飞. 蒸汽爆破预处理对沙棘果渣可溶性膳食纤维含量及性质的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(12): 148−153. [BAI X Z, ZHANG Y F. Effect of steam explosion pretreatment on the content and properties of soluble dietary fiber in *Seabuckthorn pomace*[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12): 148−153.]

[17] MA C, NI L Y, GUO Z B, et al. Principle and application of steam sxplosion technology in modification of food fiber[J]. Foods, 2022, 11: 3370.

[18] 张明, 马百惠, 吴茂玉, 等. 金针菇菇脚菇根膳食纤维蒸汽爆破改性工艺优化研究[J]. 中国果菜, 2020, 40(5): 32−35. [ZHANG M, MA B H, WU M Y, et al. Optimization on steam explosion modification process of dietary fiber of *Flammulina velutipes* root[J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 40(5): 32−35.]

[19] 梁慧嘉, 焦春伟, 杨咏善, 等. 4 种珍稀食用菌水提物的抗氧化活性研究[J]. 微生物学杂志, 2015, 35(4): 4. [LIANG H J, JIAO C W, YANG Y S, et al. Antioxidant activity of water extraction from four rare edible mushroom species[J]. Journal of Microbiology, 2015, 35(4): 4.]

[20] AN X, WANG Z, LI J, et al. Analysis of flavor-related compounds in fermented persimmon beverages stored at different temperatures[J]. LWT, 2022, 163: 113524.

[21] 刘学铭, 胡淑琴. 我国 15 种常见和珍稀食用菌化学成分谱研究[C]. 2010 年中国菌物学会学术年会论文摘要集, 2010: 157−158. [LIU X M, HU S Q. Studies on chemical composition spectra of 15 common and rare edible fungi in china[C]. Abstracts of Academic Annual Meeting of China Society of Mycology in 2010, 2010: 157−158.]

[22] CAI S B, WANG O, WU W, et al. Comparative study of the effects of solid-state fermentation with three filamentous fungi on the total phenolics content (TPC), flavonoids, and antioxidant activities of subfractions from oats (*Avena sativa* L.)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(1): 507−513.

[23] KEDARE S B, SINGH R P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay[J]. Journal of Food Science & Technology, 2011, 48(4): 412−422.

[24] EREL O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation[J]. Clinical Biochemistry, 2004, 37(4): 277−285.

[25] AMAMCHARLA J K, METZGER L E. Modification of the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay to determine the susceptibility of raw milk to oxidation[J]. International Dairy Journal, 2014, 34(2): 177−179.

[26] 李可, 曹硕, 焦思敏, 等. 蛴螬多肽对免疫抑制小鼠免疫功能

的影响[J]. 免疫学杂志, 2019, 35(5): 369−376. [LI K, CAO S, JIAO S M, et al. Effects of polypeptide extracts from grub on immune function of immunosuppressive mice[J]. Immunological Journal, 2019, 35(5): 369−376.]
[27] 李梦杰, 王志青, 仝涛. 甜菜根关键活性成分及其生物功能研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(2): 343−350. [LI M J, WANG Q Z, TONG T. Research progress on key bioactive components and bioactivities of *Beta vulgaris* L[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(2): 343−350.]
[28] 滕玉鸥, 赵红叶, 周瑶, 等. 新型吲哚类衍生物对人胃癌MGC-803 细胞增殖的影响[J]. 天津科技大学学报, 2016, 31(3): 16−19. [TENG Y O, ZHAO H Y, ZHOU Y, et al. Effects of novel indole derivatives on human gastric cancer MGC-803 cell proliferation[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2016, 31(3): 16−19.]
[29] 帕它木·莫合买提, 阿尔孜古丽·吐尔逊, 热沙来提·阿不都瓦衣特, 等. 烟酰胺对人皮肤黑素细胞黑素转运作用研究[J]. 环境与健康杂志, 2009, 26(8): 680−683. [MOHEMAITI P, TUERXUN A, ABUDU W R, et al. Effects of nicotinamide on melanin transportation in humerzigulian skin melanocytes[J]. Journal of Environment and Health, 2009, 26(8): 680−683.]
[30] 黄兰芳, 郭方道, 梁逸曾, 等. HPLC-ESI-MS 测定冬虫夏草和蚕蛹虫草中腺苷和虫草素含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(8): 49−51. [HUANG L F, GUO F Q, LIANG Y Z, et al. Determination of adenosine and cordycepin in *Cordyceps sinensis* and *C. militarris* with HPLC-ESI-MS[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2004, 29(8): 49−51.]
[31] 崔文玉, 丰程凤, 夏智慧, 等. 蒸汽爆破对葡萄皮渣酚类物质含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(5): 157−163. [CUI W Y, FENG C F, XIA Z H, et al. Effect of steam explosion on the phenolics and antioxidant activities in grape pomace[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(5): 157−163.]
[32] 张博华, 张明, 范祺, 等. 蒸汽爆破超声波复合提取灵芝多糖及抗氧化活性[J]. 食品工业, 2021, 42(8): 125−129. [ZHANG B H, ZHANG M, FAN Q, et al. Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its antioxidant activity by steam explosion combined with ultrasonic[J]. The Food Industry, 2021, 42(8): 125−129.]
[33] 何陈灿, 吴洁, 陈翠, 等. 蒸汽破壁预处理技术对黄芪提取的影响研究[J]. 广东饲料, 2022, 31(4): 25−29. [HE C C, WU J, CHEN C, et al. Effects of steam wall breaking pretreatment technology on extraction of *Astragalus membranaceus*[J]. Guangdong Feed, 2022, 31(4): 25−29.]
[34] GONG L X, HUANG L L, ZHANG Y. Effect of steam explosion treatment on barley bran phenolic compounds and antioxidant capacity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(29): 7177−7184.
[35] 古江勇. 基于系统的天然产物研究[D]. 北京: 北京大学, 2014. [GU J Y. Research on natural products based on system[D]. Beijing: Peking University, 2014.]
[36] 徐一凡, 部建雯, 吴茂玉, 等. 蒸汽爆破对桑黄功能成分含量及活性的影响[J]. 食品科技, 2022(7): 47. [XU Y F, BU J W, WU M Y, et al. Effect of steam explosion on content and activity of functional ingredients in *Inonotus hispidus*[J]. Food Science, 2022(7): 47.]
[37] MA S, ZHANG H C, XU J X. Characterization, antioxidant and anti-inflammation capacities of fermented *Flammulina velutipes* polyphenols[J]. Molecules, 2021, 26(20): 6205.
[38] XIAO J, THWE A A, LIU T T, et al. Anti-inflammatory effects of an extract from *Pseudomonas aeruginosa* and its purified product 1-hydroxyphenazine on RAW264.7 cells[J]. Current Microbiology, 2021, 78(7): 2762−2773.
[39] ZHANG M Z, TIAN X H, WANG Y, et al. Immunomodulating activity of the polysaccharide TLH-3 from *Tricholoma lobayense* in RAW264.7 macrophages[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107(Pt B): 2679–2685.
[40] LI G R, XIANG Y, ZHAO J, et al. *Saccharum Alhagi* polysaccharide-1 and-2 promote the immunocompetence of RAW264.7 macrophages *in vitro*[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 15(4): 3556−3562.
[41] TANG C, SUN J, ZHOU, et al. Immunomodulatory effects of polysaccharides from purple sweet potato on lipopolysaccharide treated RAW264.7 macrophages[J]. Journal of Food Biochemistry, 2018, 42(1−2): e12535.
[42] HAN C, YANG J K, SONG P Y, et al. Effects of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides on lipopolysaccharide-induced inflammatory factor release in RAW264.7 cells[J]. Journal of Interferon & Cytokine Research, 2018, 38(1): 29−37.
[43] 马升, 高青莹, 徐建雄. 发酵金针菇多糖通过核转录因子-κB NOD 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3 信号通路抑制巨噬细胞炎症反应[J]. 动物营养学报, 2022(2): 1205−1216. [MA S, GAO Q, XU J. Fermented *Flammulina velutipes* polysaccharide inhibits macrophage inflammatory response through nuclear factor-κBNOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022(2): 1205−1216.]