

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241115004

引用格式: 陈凤, 谭苏慧, 高璐, 等. 基于纳米银修饰氧化锰纳米酶评价扬州市野生食用菌的总抗氧化能力[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(6): 239–246.

CHEN F, TAN SH, GAO L, *et al.* Evaluation of total antioxidant capacity of wild edible mushrooms in Yangzhou based on nano silver modified manganous oxide nanozyme [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(6): 239–246. (in Chinese with English abstract).

# 基于纳米银修饰氧化锰纳米酶评价扬州市野生食用菌的总抗氧化能力

陈凤<sup>1</sup>, 谭苏慧<sup>2</sup>, 高璐<sup>2</sup>, 李熠<sup>2</sup>, 徐雪超<sup>2\*</sup>

(1. 扬州市邗江区农作物技术推广中心, 扬州 225127; 2. 扬州大学食品科学与工程学院, 扬州 225009)

**摘要:** **目的** 开发一种基于纳米酶的比色分析方法, 用于扬州市野生食用菌(角质木耳、金针菇、糙皮侧耳)总抗氧化能力的快速评价。**方法** 利用水热法制备了纳米银修饰氧化锰(nano silver modified manganous oxide, Mn/Ag NPs)纳米酶, 并通过多种表征手段确认其微观结构。利用不同溶剂提取3种野生食用菌的活性物质, 并通过基于Mn/Ag NPs纳米酶的比色分析方法评价扬州市3种野生食用菌的抗氧化活性。此外, 利用商业化2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]试剂盒对评价结果进行验证。**结果** 基于Mn/Ag NPs纳米酶的比色分析方法实现了扬州市野生食用菌总抗氧化能力的快速评价。总抗氧化活性: 糙皮侧耳>金针菇>角质木耳; 溶剂提取效果: 超纯水>混合溶剂>乙醇>乙酸乙酯。**结论** 基于Mn/Ag NPs纳米酶的比色分析方法能够快速评价扬州市野生食用菌的抗氧化活性。**关键词:** 野生食用菌; 总抗氧化活性; 纳米银修饰氧化锰纳米酶; 比色反应; 便捷评价

## Evaluation of total antioxidant capacity of wild edible mushrooms in Yangzhou based on nano silver modified manganous oxide nanozyme

CHEN Feng<sup>1</sup>, TAN Su-Hui<sup>2</sup>, GAO Lu<sup>2</sup>, LI Yi<sup>2</sup>, XU Xue-Chao<sup>2\*</sup>

(1. Hanjiang District Agricultural Technology Promotion Center, Yangzhou 225127, China;  
2. School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**ABSTRACT: Objective** To develop a colorimetric analysis method based on nanozymes, rapidly evaluate the total antioxidant capacity of wild edible mushrooms (*Auricularia cornea*, *Flammulina filiformis*, and *Pleurotus ostreatus*) in Yangzhou. **Methods** Nano silver modified manganous oxide (Mn/Ag NPs) nanozyme was prepared by the hydrothermal method, and its microstructure was confirmed by various characterization methods. The total antioxidant capacity of 3 kinds of wild edible mushrooms were extracted using different solvents, and their total antioxidant capacity were evaluated by the colorimetric analysis method based on Mn/Ag NPs nanozyme. In addition,

收稿日期: 2024-11-15

基金项目: 江苏省农业微生物(食用菌)种质资源普查项目(2023-SJ-115, 2024-SJ-038); 江苏省基础研究计划(自然科学基金)资助项目(BK20230586)

第一作者: 陈凤(1991—), 女, 硕士, 农艺师, 主要研究方向为稻麦和蔬菜园艺作物农业技术推广。E-mail: 380563885@qq.com

\*通信作者: 徐雪超(1991—), 男, 讲师, 主要研究方向为食品质量与安全检测。E-mail: xuechaoxu@yzu.edu.cn

the evaluation results were verified using the commercial 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) kit. **Results** The colorimetric analysis method based on Mn/Ag NPs nanozyme achieved the rapid evaluation of the total antioxidant capacity of wild edible mushrooms in Yangzhou. Total antioxidant activity was *Pleurotus ostreatus*>*Flammulina filiformis*>*Auricularia cornea*. Extraction efficiency of solvent was ultrapure water>mixed solvent>ethanol>ethyl acetate. **Conclusion** The colorimetric analysis method based on Mn/Ag NPs nanozyme can rapidly evaluate the total antioxidant capacity of wild edible mushrooms in Yangzhou.

**KEY WORDS:** wild edible mushrooms; total antioxidant capacity; nano silver modified manganous oxide nanozyme; colorimetric reaction; convenient evaluation

## 0 引言

野生食用菌是在自然环境中生长并可作为食物的真菌,具备丰富的营养价值和独特的口感,深受广大群众喜爱<sup>[1-3]</sup>。野生食用菌含有多种天然活性物质,如多酚类、黄酮类和维生素 C 等<sup>[4-6]</sup>,这些活性物质表现出卓越的抗氧化能力,能够对抗自由基,减少氧化应激对人体造成的损伤<sup>[7-10]</sup>。因此,全面了解野生食用菌的抗氧化能力在膳食营养指导方面具有重要的意义。目前,野生食用菌总抗氧化能力的测定主要依赖 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)法、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]法和还原力测定法等。首先, DPPH 自由基清除法利用 DPPH 作为指示剂,通过待测样品与 DPPH 反应后的颜色变化来评估其抗氧化能力<sup>[11]</sup>。ABTS 法则利用 ABTS 结合过硫酸铵产生蓝绿色自由基,并与待测样品反应,通过测定颜色变化推断样品的抗氧化能力<sup>[12]</sup>。而还原力测定法则是利用亚铁离子( $\text{Fe}^{2+}$ )与三聚吡啶甲醛形成复合物,并通过检测复合物的吸光度间接反映待测样品的总抗氧化能力<sup>[13]</sup>。虽然这些方法都在总抗氧化能力评价领域取得了很好的效果,但在评价速度、评价成本等方面仍然存在欠缺。因此,亟需开发新型方法,快速、准确地评价野生食用菌的总抗氧化能力。

近年来,纳米酶作为一种新兴的纳米材料引起了广泛关注<sup>[14-19]</sup>。纳米酶能够催化底物快速产生自由基,例如,类过氧化物酶纳米酶可促使过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )分解为羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ ),而类氧化酶纳米酶则可将溶解氧转换成超氧阴离子自由基( $\cdot\text{O}_2^-$ )<sup>[20-24]</sup>。这些自由基可以被抗氧化剂中和,从而间接评价目标物的总抗氧化能力<sup>[25-30]</sup>。鉴于纳米酶催化底物产生自由基的便捷性与高效性,其在便捷评估野生食用菌总抗氧化活性领域具有巨大潜力。

在本研究中,采用水热法合成了纳米银修饰氧化锰(nano silver modified manganous oxide, Mn/Ag NPs)。Mn/Ag NPs 表现出优异的一类氧化酶活性,能催化溶解氧转生成超氧阴离子自由基,氧化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)生成蓝色产物。当引入抗氧化剂时, TMB 显色反应能够被竞争性抑制。基于此,本研究开发了一种基于 Mn/Ag NPs 纳米酶的比色分析方

法,快速评估扬州市野生食用菌(角质木耳、金针菇、糙皮侧耳)的总抗氧化能力,为这些野生食用菌的深度开发与利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

野生食用菌(角质木耳、金针菇、糙皮侧耳)采自扬州市。聚乙二醇(polyethylene glycol-200, PEG-200)、5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide, DMPO)、TMB、维生素 E、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);  $\text{KMnO}_4$ 、硝酸银( $\text{AgNO}_3$ )、乙酸乙酯、无水乙醇、乙酸钠、乙酸(分析纯,中国医药集团有限公司); ABTS 试剂盒(江苏碧云天高新技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

D8 Advance X 射线衍射仪(X-ray powder diffractometer, XRD)、A300-10/12 电子顺磁共振光谱仪(electron paramagnetic resonance, EPR)(德国 Bruker 公司); Tecnai 12 透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)(荷兰 Philips 公司); ESCALAB 250Xi X 射线电子能谱仪(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)、Evolution One 紫外可见分光光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 Mn/Ag NPs 的合成

首先,称取 52.5 mg  $\text{KMnO}_4$  溶解在 15 mL 去离子水中,加入 15 mL PEG-200,室温下搅拌 30 min。然后,将上述溶液转移至 100 mL 聚四氟乙烯衬底的特氟龙水热反应釜中,120 °C 条件下反应 8 h。待自然冷却,离心分离产物,并使用去离子水和无水乙醇交替洗涤。最后,将获得的中间产物  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  置于 40 °C 真空烘箱中干燥 8 h。

将  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  与  $\text{AgNO}_3$  按照 2:1 (W/W) 溶解在 30 mL 去离子水中。随后,在室温下将上述溶液搅拌 16 h,离心分离产物。最后,将产物置于 40 °C 真空烘箱中干燥 8 h,并命名为 Mn/Ag NPs。

#### 1.3.2 Mn/Ag NPs 的类氧化物酶活性

本研究利用 TMB 显色反应探究 Mn/Ag NPs 的类氧化物酶活性,具体步骤如下:将 100  $\mu\text{L}$  Mn/Ag NPs 溶液和

100  $\mu\text{L}$  TMB 溶液(5 mmol/L, 溶剂为乙醇)依次加入 2800  $\mu\text{L}$  醋酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 4.0)。然后, 将上述溶液在室温下孵育 30 min, 并通过紫外-可见分光光谱仪对反应体系的吸光度进行检测。

### 1.3.3 实验条件优化

反应时间优化: 将 2800  $\mu\text{L}$  醋酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 4.0)、100  $\mu\text{L}$  Mn/Ag NPs 溶液、100  $\mu\text{L}$  TMB 溶液(5 mmol/L, 溶剂为乙醇)依次加至离心管中, 利用紫外-可见分光光谱仪每隔 2 min 测定其吸光度(652 nm)。

缓冲液 pH 优化: 将 2800  $\mu\text{L}$  醋酸盐或磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)、100  $\mu\text{L}$  Mn/Ag NPs 溶液、100  $\mu\text{L}$  TMB 溶液(5 mmol/L, 溶剂为乙醇)依次加入离心管中, 室温下孵育 30 min, 利用紫外-可见分光光谱仪测定其吸光度(652 nm)。

### 1.3.4 Mn/Ag NPs 的稳态动力学研究

将 2800  $\mu\text{L}$  醋酸钠缓冲液(0.2 mol/L, pH 4.0)、100  $\mu\text{L}$  Mn/Ag NPs 溶液、100  $\mu\text{L}$  TMB 溶液(0.1、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 mmol/L, 溶剂为乙醇)依次加入离心管中, 立即使用紫外-可见分光光谱仪对反应体系进行检测, 每隔 30 s 测定其吸光值(652 nm)。根据 Michaelis-Menten 方程  $v = V_{\max}[S]/(K_m + [S])$  计算 Mn/Ag NPs 的动力学参数。其中,  $v$  代表反应速度;  $V_{\max}$  代表最大反应速度;  $[S]$  代表底物浓度;  $K_m$  代表米氏常数<sup>[31]</sup>。

### 1.3.5 抗氧化剂(以维生素 E 为参照)标准曲线建立

将 2700  $\mu\text{L}$  醋酸钠缓冲液(0.2 mol/L, pH 4.0)、100  $\mu\text{L}$

Mn/Ag NPs 溶液、100  $\mu\text{L}$  不同浓度维生素 E、100  $\mu\text{L}$  TMB 溶液(5 mmol/L, 溶剂为乙醇)依次加入离心管中, 室温下孵育 30 min, 利用紫外-可见分光光谱仪测定其吸光度。

### 1.3.6 真实样品评价

本研究以扬州市野生食用菌(角质木耳、金针菇、糙皮侧耳)为研究对象。首先, 将样品子实体在 50  $^{\circ}\text{C}$  下烘干至恒重, 并研磨粉碎。然后, 利用超纯水、乙醇、乙酸乙酯以及混合溶剂[超纯水:乙醇:乙酸乙酯=1:1:1 ( $V:V:V$ )]在 50  $^{\circ}\text{C}$  下超声波辅助提取 40 min, 离心(4  $^{\circ}\text{C}$ , 8000 r/min, 10 min), 过滤, 获取上清液。重复以上操作步骤需 3 次, 合并上清液。最后, 旋转蒸发上清液, 定容至 5 mL。

将 2700  $\mu\text{L}$  醋酸钠缓冲液(0.2 mol/L, pH 4.0)、100  $\mu\text{L}$  Mn/Ag NPs 溶液、100  $\mu\text{L}$  子实体提取液、100  $\mu\text{L}$  TMB 溶液(5 mmol/L, 溶剂为乙醇)依次加入离心管中, 室温下孵育 30 min, 利用紫外-可见分光光谱仪测定其吸光度。

## 1.4 数据处理

本研究采用 Office Excel 2019 软件进行数据处理, 采用 Origin 2022 软件进行图表绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 Mn/Ag NPs 的表征

本研究利用 XRD 对  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  和 Mn/Ag NPs 的晶体结构进行了分析。如图 1A 所示,  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  和 Mn/Ag NPs 的图谱基

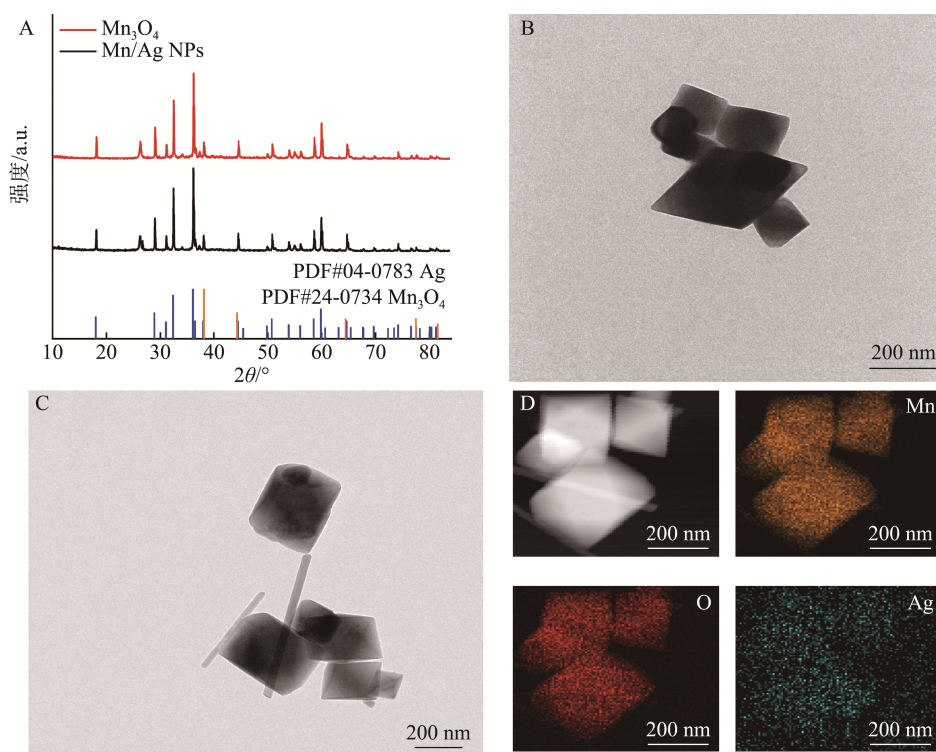


图 1  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  和 Mn/Ag NPs 的 XRD 谱图(A)、 $\text{Mn}_3\text{O}_4$  (B) 和 Mn/Ag NPs (C) 的 TEM 图、Mn/Ag NPs 的 TEM 元素分布图(D)  
Fig.1 XRD spectra of  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  and Mn/Ag NPs (A), TEM images of  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  (B) and Mn/Ag NPs (C), and TEM Mapping image of Mn/Ag NPs (D)

本没有差异,这是由于 Ag(卡片号: PDF#04-0783)与  $Mn_3O_4$ (卡片号: PDF#24-0734)的 XRD 特征峰高度重合。但是 Mn/Ag NPs 中的 Ag 的特征峰强度高于  $Mn_3O_4$ , 这表明 Ag 成功被负载到  $Mn_3O_4$  上。此外,本研究利用 TEM 对  $Mn_3O_4$  和 Mn/Ag NPs 的微观结构进行了观察。如图 1B 和 1C 所示,  $Mn_3O_4$  和 Mn/Ag NPs 呈现出规则的八面体结构,平均直径在 50 nm 和 250 nm 之间。然后,本研究通过 TEM 图对 Mn/Ag NPs 进行表征,如图 1D 所示,Ag 元素在  $Mn_3O_4$  表面均匀分布,进一步证实 Ag 成功被负载到  $Mn_3O_4$  上,表明 Mn/Ag NPs 被成功制备。

本研究通过 XPS 测定  $Mn_3O_4$  和 Mn/Ag NPs 的化学组成和元素价态。如图 2A 所示,  $Mn_3O_4$  的 XPS 全谱图有 C 1s、

O 1s、Mn 2p 3 个特征峰, Mn/Ag NPs 的 XPS 全谱图有 C 1s、O 1s、Mn 2p、Ag 3d 4 个特征峰,表明 Ag 成功被负载到  $Mn_3O_4$  上。Mn/Ag NPs 的高分辨率 Ag 3d XPS 光谱如图 2B 所示, Ag 3d<sub>5/2</sub> 和 Ag 3d<sub>3/2</sub> 的峰值分别位于 368.11 和 374.09 eV。此外,  $Mn_3O_4$  的 Mn 2p 强度较 Mn/Ag NPs 低(图 2C), 这是因为负载在  $Mn_3O_4$  表面的 Ag 阻碍了 Mn 的检测,间接证明 Ag 成功被负载到  $Mn_3O_4$  表面。

## 2.2 Mn/Ag NPs 的类氧化酶活性

本研究以 TMB 显色反应,验证 Mn/Ag NPs 的纳米酶活性。如图 3A 所示,当 Mn/Ag NPs 和 TMB 都存在时,反应体系在 652 nm 处存在一个最大的吸收峰。与之相反,当

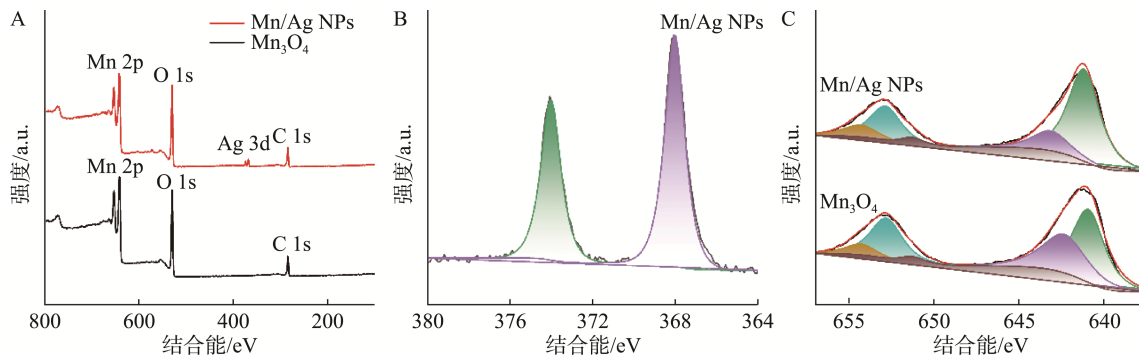


图 2  $Mn_3O_4$  和 Mn/Ag NPs 的 XPS 谱图(A)、Mn/Ag NPs 的 Ag 3d XPS 谱图(B)、 $Mn_3O_4$  和 Mn/Ag NPs 的 Mn 2p XPS 谱图(C)  
Fig.2 XPS spectra of  $Mn_3O_4$  and Mn/Ag NPs (A), Ag 3d XPS spectrum of Mn/Ag NPs, and Mn 2p XPS spectra of  $Mn_3O_4$  and Mn/Ag NPs (C)

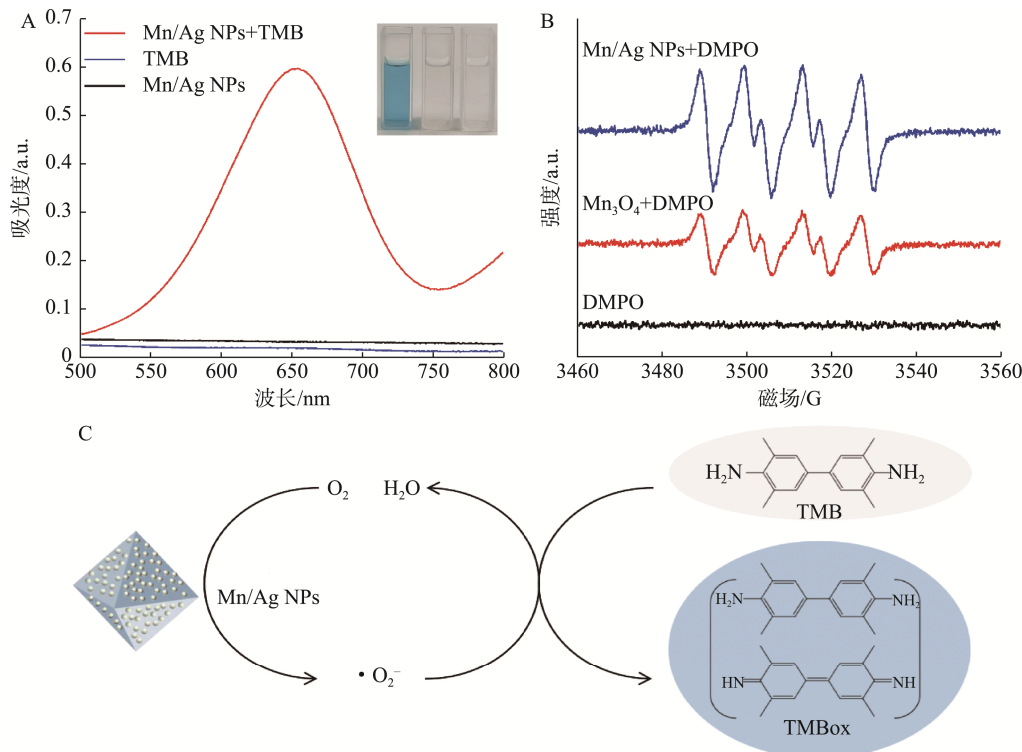


图 3 Mn/Ag NPs+TMB、TMB、Mn/Ag NPs 反应体系的紫外-可见光谱图(A)、Mn/Ag NPs+DMPO、 $Mn_3O_4$ +DMPO、DMPO 反应体系的 EPR 谱图(B)、Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的机制图(C)  
Fig.3 UV-Vis spectra of Mn/Ag NPs+TMB, TMB, and Mn/Ag NPs reaction systems (A), EPR spectra of Mn/Ag NPs+DMPO,  $Mn_3O_4$ +DMPO, and DMPO reaction systems (B), and reaction mechanism of Mn/Ag NPs+TMB reaction systems (C)

Mn/Ag NPs 或 TMB 缺少时, 反应体系的没有明显的吸收峰。这说明, Mn/Ag NPs 能够加速 TMB 显色反应, 生成蓝色产物 TMB<sub>ox</sub>。为验证上述反应的机制, 本研究利用 DMPO 捕获 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系中产生的自由基, 并利用 EPR 进行检测。如图 3B 所示, 所产生自由基特征峰与超氧阴离子自由基特征峰一致, 这说明 Mn/Ag NPs 具有类氧化酶活性, 能够催化溶解氧生成超氧自由基, 氧化 TMB 形成蓝色 TMB<sub>ox</sub>(图 3C)。此外, 在 Mn/Ag NPs+DMPO 反应体系中产生的超氧阴离子自由基大于 Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>+DMPO 反应体系, 说明 Mn/Ag NPs 的类氧化酶活性优于 Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>。

### 2.3 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系优化与 Mn/Ag NPs 的稳态动力学研究

本研究对 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系进行优化, 以获得最佳评价效果。如图 4A 所示, 随着反应时间增加, Mn/Ag NPs+TMB 反应体系在 652 nm 吸光度持续增大, 但一段时间后吸光度变化逐渐减缓。为了提高检测效率, 本研究选择 30 min 为 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的最佳孵育时间。此外, 如图 4B 所示, 随着缓冲液 pH 的升高, Mn/Ag NPs+TMB 反应体系在 652 nm 处吸光度先升高, 再逐渐降低, 并在 pH 4.0 时, 吸光度达到最大。这是因为 TMB 在酸性条件下易于质子化, 有利于显色反应的发生, 但过酸条件下, TMB 易出现过氧化状态, 吸光值会下降。因此, 本研究 pH 4.0 为最佳缓冲液 pH。

为了研究 Mn/Ag NPs 对底物(TMB)的催化过程, 本研究测定了最佳条件下 Mn/Ag NPs 的稳态酶动力学。如图 4C 所示, 随着底物 TMB 浓度的增加, 催化反应速率先快速提高后趋于平缓, 符合典型的 Michaelis-Menten 模型。 $K_m$  是评估酶催化性能重要参数之一, 表示体系反应速率达到  $1/2V_{max}$  时的底物浓度, 反映了酶与底物间的亲和力。当  $K_m$  值较大时, 说明酶与底物间亲和力较弱; 相反, 则表示亲和力较强。根据实验结果得知,  $K_m$  为 0.063 mmol/L,

$V_{max}$  为  $2.3 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 表明 Mn/Ag NPs 具有优异类氧化酶活性。

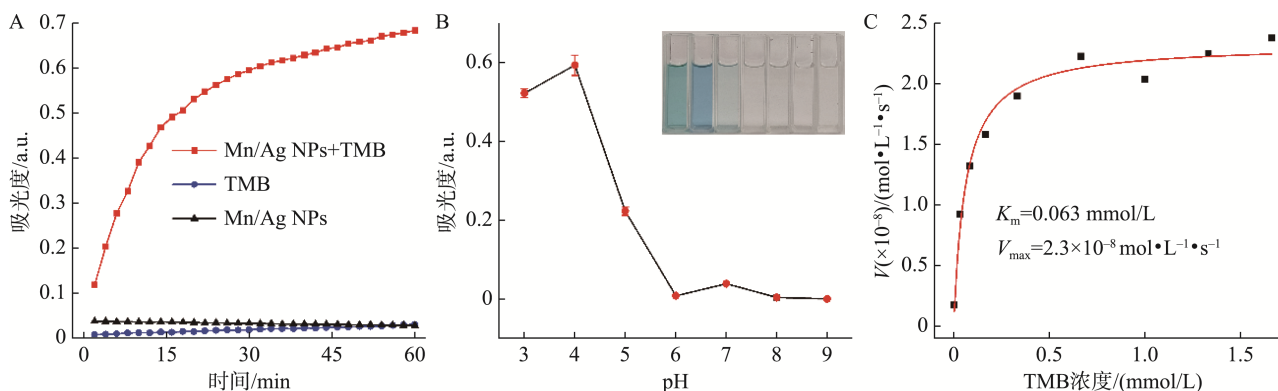
### 2.4 标准曲线的建立

本研究以维生素 E 为参照物, 研究了 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系对总抗氧化能力的评价性能。如图 5A 所示, 随着维生素 E 浓度的增加, Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的吸收峰(652 nm)逐渐降低。如图 5B 所示, 本研究对维生素 E 浓度和 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的吸光度(652 nm)进行线性拟合, 发现维生素 E 浓度(0~26.7  $\mu\text{mol/L}$ )与 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的吸光度(652 nm)之间存在良好的线性关系:  $A_{652\text{nm}} = -0.018 C_{\text{维生素E}} + 0.56$  ( $r^2 = 0.994$ )。经计算, Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的检出限为 1.2  $\mu\text{mol/L}$  ( $S/N=3$ )。

此外, 本研究采用去离子水提取糙皮侧耳子实体的活性物质, 通过加标回收率法, 验证 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的评价准确度。如表 1 所示, 加标回收率为 95.50%~102.25%, 说明 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系能够用于野生食用菌总抗氧化活性的准确评价。此外, 本研究采用商业化 ABTS 试剂盒对检测结果进行验证, ABTS 试剂盒检测结果与 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的检测结果相符, 说明 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系对野生食用菌总抗氧化活性的评价具有较高的可信度。相较于传统抗氧化能力评价方法较, Mn/Ag NPs+TMB 反应体系不依赖昂贵的检测试剂, 不需要复杂的操作步骤, 检测过程便捷, 能够广泛应用于野生食用菌总抗氧化活性的评价。

### 2.5 真实样品检测

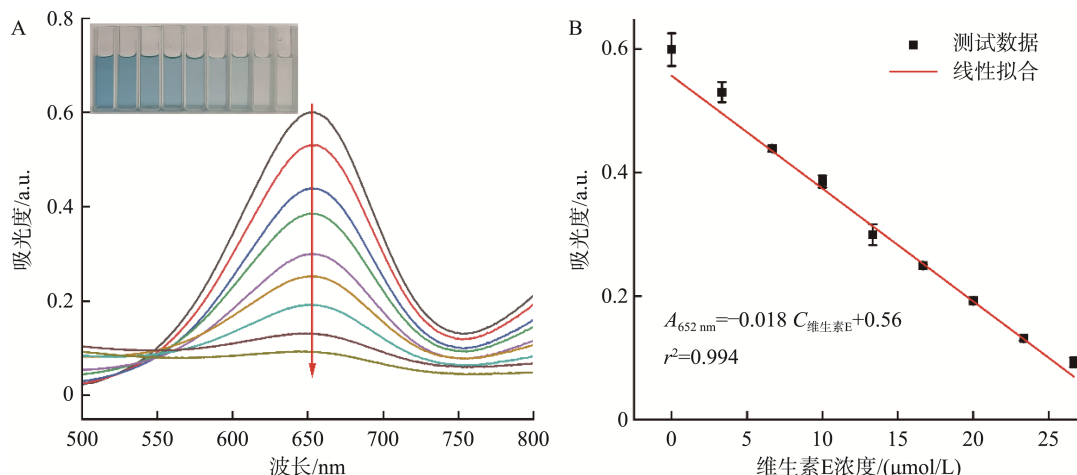
本研究采用 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系评价扬州市野生食用菌(角质木耳、金针菇、糙皮侧耳)的总抗氧化活性。如图 6 所示, 将样品通过烘干、研磨、萃取等一系列操作, 提取抗氧化活性物质。然后利用 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系进行检测, 检测结果如表 2 所示。从整体上看, 在



注: 图 B 中插图为不同缓冲液 pH 下 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的实物图。

图 4 反应时间(A)和缓冲液 pH (B)对 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的影响、Mn/Ag NPs 纳米酶的稳态动力学(C)

Fig.4 Effects of reaction time (A) and buffer solution pH (B) on the Mn/Ag NPs+TMB reaction system and steady-state kinetics of Mn/Ag NPs nanozyme (C)



注: 图 A 中插图为加入不同浓度维生素 E 的 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系的实物图, 箭头表示维生素 E 浓度逐渐增加。  
图 5 加入不同浓度维生素 E 的 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系紫外-可见光谱图(A), 维生素 E 浓度与 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系吸光度(652 nm)的线性拟合图(B)

Fig.5 UV-Vis spectra of Mn/Ag NPs+TMB reaction system in presence of different concentrations of vitamin E (A) and linear fitting between vitamin E concentration and absorbance at 652 nm of Mn/Ag NPs+TMB reaction system (B)

表 1 加标回收率法测试结果

Table 1 Detection results based on spike recovery method

样品	加标量 (维生素 E 当量)/(mg/g)	检测量 (维生素 E 当量)/(mg/g)	回收率 /%	RSDs (n=3)/%	ABTS 试剂盒 (Trolox 当量)/(mg/g)
糙皮侧耳	0	32.7	-	3.4	31.5
	20	51.8	95.50	0.5	52.9
	40	73.6	102.25	1.6	70.3

注: 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs); -表示未计算。



图 6 扬州市野生食用菌的处理过程

Fig.6 Processing process of wild edible mushrooms in Yangzhou

扬州市所采集的糙皮侧耳的总抗氧化活性最强, 金针菇其次, 角质木耳最弱。针对同一样品使用不同溶剂提取

后测定抗氧化活性结果如下: 超纯水>混合溶剂>乙醇>乙酸乙酯。这表明当以超纯水作为样品提取剂时, 能更

有效地提取野生角质木耳、金针菇、糙皮侧耳的抗氧化活性成分。这可能是因为野生食用菌中大部分的抗氧化活性物质(如多糖、维生素等)是水溶性的, 易被超纯水提取。

表 2 基于 Mn/Ag NPs+TMB 反应体系评价扬州市野生食用菌总抗氧化活性的检测结果

Table 2 Detection results of total antioxidant capacity of wild edible mushrooms in Yangzhou based on Mn/Ag NPs+TMB reaction system

样品	溶剂	检测量(维生素 E 当量)/(mg/g)	RSDs (n=3)/%
糙皮侧耳	超纯水	32.7	2.3
	乙醇	4.9	4.5
	乙酸乙酯	0.7	1.2
	混合溶剂	11.5	3.6
金针菇	超纯水	19.3	0.9
	乙醇	4.0	4.8
	乙酸乙酯	1.4	2.7
	混合溶剂	8.1	1.5
角质木耳	超纯水	3.3	3.3
	乙醇	0.8	4.1
	乙酸乙酯	0.4	2.9
	混合溶剂	2.6	1.8

### 3 结 论

本研究开发了一种基于 Mn/Ag NPs 纳米酶的比色分析方法, 用于扬州市野生食用菌(角质木耳、金针菇、糙皮侧耳)总抗氧化能力的评价。Mn/Ag NPs+TMB 反应体系能够快速评价目标物(以维生素 E 为参照物)的总抗氧化活性, 检测范围为 0~26.7  $\mu\text{mol/L}$ , 检出限低至 1.2  $\mu\text{mol/L}$ 。基于此, Mn/Ag NPs+TMB 反应体系成功被应用于扬州市野生食用菌的抗氧化活性的快速评价, 发现糙皮侧耳的总抗氧化活性最强, 金针菇其次, 角质木耳最弱; 超纯水作为萃取剂能够有效提取野生食用菌的抗氧化活性物质。

### 参考文献

- [1] 和耀威, 黄静, 李鹏, 等. 野生皱木耳的鉴定及菌丝生物学特性分析[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(19): 196–203.  
HE YW, HUANG J, LI P, *et al.* Identification and biological characteristics of mycelial growth of wild *Auricularia delicata* [J]. Food Research and Development, 2024, 45(19): 196–203.
- [2] 付文静, 张鹏, 宋玉, 等. 汉中地区商品性野生食用菌资源调查[J]. 中国食用菌, 2024, 43(5): 18–24.  
FU WJ, ZHANG P, SONG Y, *et al.* Investigation of commercial wild edible fungi in hanzhong region [J]. Edible Fungi of China, 2024, 43(5): 18–24.

- [3] 李莹, 冯健, 林立, 等. 野生毛木耳生物学特性及利用香菇菌糠的栽培驯化研究[J/OL]. 微生物学杂志, 1-8. [2025-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1186.q.20240722.1425.002.html>  
LI Y, FENG J, LIN L, *et al.* Biological characteristics of wild *Auricularia cornea* and cultivation and domestication using *Lentinus edodes* bran [J/OL]. Journal of Microbiology, 1-8. [2025-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1186.q.20240722.1425.002.html>
- [4] ARUNACHALAM K, SREEJA PS, YANG X. The antioxidant properties of mushroom polysaccharides can potentially mitigate oxidative stress, Beta-cell dysfunction and insulin resistance [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 874474.
- [5] SHARPE E, FARRAGHER-GNADT AP, IGBANUGO M, *et al.* Comparison of antioxidant activity and extraction techniques for commercially and laboratory prepared extracts from six mushroom species [J]. Journal of Agriculture and Food Research, 2021, 4: 100130.
- [6] KRÜZSELYI D, MÓRICZ ÁM, VETTER J. Comparison of different morphological mushroom parts based on the antioxidant activity [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 127: 109436.
- [7] 马莉, 季爱兵, 曾胤, 等. 蘑菇多糖生物活性及提取研究进展[J]. 热带农业科学, 2024, 44(6): 123–130.  
MA L, JI AIB, ZENG Y, *et al.* Research progress on the bioactivity and extraction of mushroom polysaccharides [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2024, 44(6): 123–130.
- [8] 陈建胜, 杨正友, 王延圣, 等. 食用菌营养组成、功能活性及加工现状研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(12): 358–366.  
CHEN JS, YANG ZY, WANG YS, *et al.* Research progress in nutrient composition, functional activity and processing status of edible fungi [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(12): 358–366.
- [9] 姜明, 么越, 范蓓, 等. 食用菌活性成分抗氧化机制的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(9): 257–265.  
JIANG M, YAO Y, FAN B, *et al.* Research progress on antioxidant mechanism of active components of edible mushrooms [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(9): 257–265.
- [10] 曹燕妮, 游金坤, 邓雅元, 等. 几种市售野生食用菌中 3 种活性物质含量的测定[J]. 中国食用菌, 2023, 42(4): 54–57, 62.  
CAO YN, YOU JK, DENG YY, *et al.* Determination of the content of three active substances in several commercially available wild edible fungi [J]. Edible Fungi of China, 2023, 42(4): 54–57, 62.
- [11] SRIDHAR K, CHARLES AL. *In vitro* antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs [J]. Food Chemistry, 2019, 275: 41–49.
- [12] RODRÍGUEZ-BONILLA P, GANDÍA-HERRERO F, MATENCIO A, *et al.* Comparative study of the antioxidant capacity of four stilbenes using ORAC, ABTS+, and FRAP techniques [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(9): 2994–3000.
- [13] JONES A, PRAVADALI-CEKIC S, DENNIS GR, *et al.* Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography [J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 967: 93–101.
- [14] XU X, YANG J, HAO G, *et al.* Three in one: A multifunctional oxidase-mimicking Ag/Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanozyme for colorimetric determination,

- precise identification, and broad-spectrum inactivation of foodborne pathogenic bacteria [J]. *Food Chemistry*, 2025, 464: 141620.
- [15] GAO L, ZHUANG J, NIE L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles [J]. *Nature Nanotechnology*, 2007, 2: 577.
- [16] DIAO Q, CHEN X, TANG Z, *et al.* Nanozymes: Powerful catalytic materials for environmental pollutant detection and degradation [J]. *Environmental Science: Nano*, 2024, 11(3): 766–796.
- [17] ROBERT A, MEUNIER B. How to define a nanozyme [J]. *ACS Nano*, 2022, 16(5): 6956–6959.
- [18] WEI H, WANG E. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): Next-generation artificial enzymes [J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(14): 6060–6093.
- [19] WU J, WANG X, WANG Q, *et al.* Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): Next-generation artificial enzymes (II) [J]. *Chemical Society Reviews*, 2019, 48(4): 1004–1076.
- [20] ZHOU W, WEN H, HAO G, *et al.* Surface engineering of magnetic peroxidase mimic using bacteriophage for high-sensitivity/specificity colorimetric determination of *Staphylococcus aureus* in food [J]. *Food Chemistry*, 2023, 426: 136611.
- [21] YANG J, LIN F, MA T, *et al.* Colorimetric detection of *Staphylococcus aureus* with enhanced sensitivity based on phage covalently immobilized Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanozyme through synergistic inhibition effect [J]. *Microchimica Acta*, 2024, 191(9): 566.
- [22] REN M, ZHANG Y, YU L, *et al.* A Co-based MOF as nanozyme with enhanced oxidase-like activity for highly sensitive and selective colorimetric differentiation of aminophenol isomers [J]. *Talanta*, 2023, 255: 124219.
- [23] WANG L, JI Y, WANG L, *et al.* Ratio fluorescence/colorimetric dual mode aptasensor and smartphones-assisted miniaturized device for early diagnosis of prostate cancer [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 485: 150152.
- [24] YIN D, ZHENG S, XU X, *et al.* Fluorescence/colorimetry/smartphone triple-mode sensing platform based on carbon dots and Co, Fe-layered double hydroxides for citrate determination [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2023, 397: 134706.
- [25] ZHANG F, LI Y, LI X, *et al.* Nanozyme-enabled sensing strategies for determining the total antioxidant capacity of food samples [J]. *Food Chemistry*, 2022, 384: 132412.
- [26] LI J, ZHOU Y, XIAO Y, *et al.* Carbon dots as light-responsive oxidase-like nanozyme for colorimetric detection of total antioxidant capacity in fruits [J]. *Food Chemistry*, 2023, 405: 134749.
- [27] MOHAMMED AMEEN SS, OMER KM. Temperature-resilient and sustainable Mn-MOF oxidase-like nanozyme (UoZ-4) for total antioxidant capacity sensing in some citrus fruits: Breaking the temperature barrier [J]. *Food Chemistry*, 2024, 448: 139170.
- [28] MIAO Y, ZHAO X, SUN X, *et al.* Wide temperature adaptive oxidase-like based on mesoporous manganese based metal-organic framework for detecting total antioxidant capacity [J]. *Food Chemistry*, 2024, 451: 139378.
- [29] TAO C, JIANG Y, CHU S, *et al.* Natural enzyme-inspired design of the single-atom Cu nanozyme as dual-enzyme mimics for distinguishing total antioxidant capacity and the ascorbic acid level [J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96(7): 3107–3115.
- [30] ZHENG Y, LI X, WEI C, *et al.* Long-lived phosphorescent carbon dots as photosensitizers for total antioxidant capacity assay [J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95(23): 8914–8921.
- [31] XU X, WANG L, ZOU X, *et al.* Highly sensitive colorimetric detection of arsenite based on reassembly-induced oxidase-mimicking activity inhibition of dithiothreitol-capped Pd nanozyme [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 298: 126876.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)