朱欣瑶, 郭培, 林子涵, 等. *Lactobacillus kisonensis* 发酵燕麦工艺优化、活性成分及体外抗氧化和降糖降脂活性分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(14): 211−224. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050238

ZHU Xinyao, GUO Pei, LIN Zihan, et al. Fermentation Process Optimization of *Lactobacillus kisonensis* -Fermented Oats and Analysis of Active Components, Antioxidant and Glycemic/Lipid Control Activities *in Vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(14): 211−224. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050238

· 工艺技术 ·

Lactobacillus kisonensis 发酵燕麦工艺优化、活性成分及体外抗氧化和降糖降脂活性分析

朱欣瑶, 郭　培, 林子涵, 张进红, 吴　艳, 宋立华*

（上海交通大学农业与生物学院食品科学与工程系, 上海 200240）

摘　要: 为同时富集乳酸菌发酵燕麦中的多酚与 *β*-葡聚糖，并增强发酵燕麦调节糖脂代谢的活性，本研究利用单因素实验和响应面试验优化发酵工艺条件；使用非靶代谢组学解析发酵燕麦中多酚成分的组成及其相对丰度；在此基础上，分析乳酸菌发酵燕麦水提物和醇提物的抗氧化活性及对其糖、脂代谢关键酶活性的抑制作用，并进一步利用发酵燕麦中的代表性多酚组分作为配体进行分子对接，解析发酵燕麦抑制糖、脂代谢关键酶活性的分子机制。结果表明，利用 *Lactobacillus kisonensis*（JCM15041）发酵，在接种量 2%，料液比 1∶6（g/mL），发酵时间 6 h，发酵温度 30 ℃ 的工艺条件下，发酵可使燕麦中 *β*-葡聚糖含量提高 61.54%，对 *α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶抑制率分别提高 28.61% 和 24.11%。与未发酵燕麦相比，发酵燕麦醇提物和水提物的抗氧化活性（$P<0.05$）及糖、脂代谢酶抑制作用（$P<0.001$）均显著增强。非靶代谢组学结果表明，发酵后燕麦中的肉桂酸丰度显著增加（$P<0.01$），将其作为配体进行分子对接可得，肉桂酸可能通过两个氢键（距离 2.1 Å）结合到 *α*-淀粉酶的 Lys-466 残基上，结合能为−4.59 kcal/mol；通过两个氢键（距离 2.2 Å）结合到 *α*-葡糖糖苷酶的 Phe-416 和 Lys-418 残基上，结合能为−4.43 kcal/mol；通过五个氢键（距离 1.6 Å、2.1 Å、2.4 Å、2.6 Å和 2.8 Å）结合到胰脂肪酶的 Pro-430、Arg-457 和 Glu-458 残基上，结合能为−5.77 kcal/mol，由此推测肉桂酸可能通过影响底物结合结构域、催化活性中心等方式发挥抑制酶活性的作用。综上所述，本研究建立了可显著富集燕麦多酚和 *β*-葡聚糖的乳酸菌发酵工艺，发酵后燕麦提取物具有较好的体外抗氧化及调节糖、脂代谢的活性。

关键词: 乳酸菌, 发酵燕麦, 酚类物质, 抗氧化活性, 体外降糖活性, 体外降脂活性, 分子对接

中图分类号: TQ920.6　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)14−0211−14

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050238　　本文网刊:

Fermentation Process Optimization of *Lactobacillus kisonensis* -Fermented Oats and Analysis of Active Components, Antioxidant and Glycemic/Lipid Control Activities *in Vitro*

ZHU Xinyao, GUO Pei, LIN Zihan, ZHANG Jinhong, WU Yan, SONG Lihua*

（School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China）

Abstract: To simultaneously enrich polyphenols and *β*-glucan in *Lactobacillus*-fermented oats and enhance their activity in regulating glucose and lipid metabolism, single-factor experiments and response surface methodology (RSM) were employed to optimize fermentation conditions. Untargeted metabolomics was utilized to analyze the composition and relative abundance of polyphenols in fermented oats. Subsequently, the antioxidant activities of aqueous and ethanolic extracts from fermented oats, as well as their inhibitory effects on key enzymes involved in glucose and lipid metabolism, were evaluated. Furthermore, representative polyphenolic components identified in fermented oats were used as ligands for molecular dock-

收稿日期: 2025−05−26

基金项目: 国家自然科学基金面上项目（32172221）。

作者简介: 朱欣瑶（2002−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 谷物营养与加工, E-mail: zhuxinyao@sjtu.edu.cn。

*** 通信作者:** 宋立华（1970−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 谷物营养与加工, E-mail: lihuas@sjtu.edu.cn。

ing to elucidate the molecular mechanisms underlying the inhibition of these key enzymes. The results demonstrated that fermentation with *Lactobacillus kisonensis* (JCM 15041) under optimal conditions (inoculum size: 2%, solid-to-liquid ratio: 1∶6 g/mL, fermentation time: 6 h, temperature: 30 ℃) significantly increased the *β*-glucan content in oats by 61.54%, while enhancing the inhibition rates against *α*-amylase and *α*-glucosidase by 28.61% and 24.11%. Compared to unfermented oats, both the ethanolic and aqueous extracts of fermented oats exhibited significantly enhanced antioxidant activity ($P<0.05$) and inhibitory effects on key glucose and lipid metabolism enzymes ($P<0.001$). Untargeted metabolomics revealed a significant increase ($P<0.01$) in the abundance of cinnamic acid post-fermentation. Molecular docking using cinnamic acid as the ligand indicated its potential binding modes: Forming two hydrogen bonds (2.1 Å) with Lys-466 of *α*-amylase (binding energy: −4.59 kcal/mol), two hydrogen bonds (2.2 Å) with Phe-416 and Lys-418 of *α*-glucosidase (binding energy: −4.43 kcal/mol), and five hydrogen bonds (1.6 Å, 2.1 Å, 2.4 Å, 2.6 Å, and 2.8 Å) with Pro-430, Arg-457, and Glu-458 of pancreatic lipase (binding energy: −5.77 kcal/mol). These interactions suggested that cinnamic acid likely inhibits enzyme activity by affecting the substrate-binding domain and catalytic active site. In conclusion, this study established a *Lactobacillus*-fermentation process capable of significantly enriching oat polyphenols and *β*-glucan. The resulting fermented oat extracts possessed potent *in vitro* antioxidant activity and significant potential for regulating glucose and lipid metabolism.

Key words: *Lactobacillus*; fermented oats; phenolic substances; antioxidant activity; hypoglycemi activity *in vitro*; lipid-lowering activity *in vitro*; molecular docking

燕麦(*Avena* L.)是禾本科燕麦属一年生草本植物,按其外稃性状可分为两类,带稃型燕麦(皮燕麦,*Avena sativa* L.)和裸粒型燕麦(裸燕麦,*Avena nuda* L.)。燕麦营养成分丰富,包括膳食纤维、必需氨基酸、不饱和脂肪酸、维生素和矿物质以及多酚类物质等,具有较高的营养价值。其中,多酚和 *β*-葡聚糖是燕麦中的重要活性成分,具有降糖降脂[1]、抗脂肪性肝炎[2]、维持肠道微生态平衡[3]、抗氧化[4] 等功能活性。

燕麦虽具有良好的营养与功能特性,但目前产品形式较单一(主要是燕麦米和麦片),且存在营养物质生物利用度较低、蒸煮时间长、适口性不佳等问题。已有研究表明利用微生物发酵能够进一步增强谷物的生物活性,有效改善全谷物食品的消化吸收特性、食用品质和贮藏特性[5]。Li 等[6] 利用发酵乳杆菌对燕麦麸皮进行发酵,发现发酵可以提升燕麦麸皮的可溶性膳食纤维、还原糖、总酚、总黄酮含量以及抗氧化能力。Yu 等[7] 探究了燕麦发酵过程中有机酸、游离氨基酸和挥发性风味化合物等主要风味物质的变化,结果表明发酵有助于塑造燕麦饮料酸味、甜味等风味特征。Sun 等[8] 利用代谢组学方法探究发酵对燕麦营养和功能特性的影响,发现发酵可促进蛋白质代谢,改变氨基酸组成,并增加甜味和鲜味氨基酸的比例,减少苦味氨基酸含量,从而改善发酵燕麦的风味特征。Kütt 等[9] 探究了发酵对燕麦饮料感官特征和微生物群落生长及代谢产物的影响,也发现发酵能够增加挥发性风味物质浓度,并改善流变学特性。综上,目前围绕发酵燕麦的营养组成、风味以及功能性成分的释放、转化等相关研究较多,利用发酵双靶向富集燕麦主要活性成分及发酵产物的降糖降脂活性的研究较少。

功能性成分的降糖降脂活性通常与其对糖、脂代谢酶活性的调控有关,*α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶是碳水化合物代谢的关键酶[10],胰脂肪酶在小肠中将脂肪分解成脂肪酸和甘油。适当抑制上述代谢关键酶活性,可以延缓碳水化合物的分解与葡萄糖吸收,减少脂肪的消化和吸收,从而控制餐后血糖的波动[11],预防和控制肥胖相关疾病,如 2 型糖尿病和心血管疾病等[12−13]。因此,本研究利用乳酸菌发酵燕麦,以双靶向富集多酚与 *β*-葡聚糖,以及抑制糖代谢酶活性为目标,利用单因素实验和响应面试验优化发酵工艺条件;通过非靶代谢组学技术解析发酵燕麦中酚类物质组成及其相对丰度;为考察发酵燕麦的生物学活性和产业化实际应用成本,利用体外实验,分别探究发酵燕麦醇、水提取物的抗氧化活性及其对糖、脂代谢酶活性的影响;利用发酵燕麦的特征组分肉桂酸为配体进行分子对接,进一步解析发酵燕麦抑制糖、脂代谢关键酶活性的分子机制,为开发燕麦功能性食品提供可参考的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

燕麦(裸燕麦) 由洮南市洮之宝电子商务有限公司提供;*Lactobacillus kisonensis* JCM15041 由华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室提供馈赠;耐高温 *α*-淀粉酶(10 U/g) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;D-葡萄糖标准品(1 mg/mL) 上海金畔生物科技有限公司;羟自由基清除率检测试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法) 上海源叶生物科技有限公司;总抗氧化能力检测试剂盒(FRAP 法) 碧云天生物技术有限公司;其他检测用有机溶剂均为国产分析纯。

DR-3000 酶标分析仪 无锡华卫德朗仪器有限公司;THC 数控超声波 济宁天华超声电子仪器有限公司;Legend Micro17 高速离心机 德国 Thermo Fisher 公司;THE01504BATC 手持糖度计 深圳市雅戈科技有限公司;LRH-150 培养箱 上海一恒科

学仪器有限公司；Acquity UPLC I-class & Vion IMS QTOF MS^E 超高效液相色谱和 VION 离子淌度四极杆飞行时间质谱联用仪　美国 Waters 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　发酵燕麦制备　燕麦预处理：挑选籽粒饱满的燕麦，使用研磨机粉碎后过筛（80 目），收集筛下物即得燕麦粉，4 ℃ 保存备用。

菌种活化：于 1.40 mL 的 MRS 液体培养基中加入 30 μL 菌液，混合均匀后置于 30 ℃ 培养箱培养 16 h。

燕麦谷物培养基制备：准确称量 20.00 g 燕麦粉，按所需料液比加入去离子水混合均匀，按耐高温 α-淀粉酶（10 U/g）∶谷物培养基=1∶400（v/v）的比例加入耐高温 α-淀粉酶，70 ℃ 下保温至谷物培养基糖化度达 10%，得到燕麦谷物培养基，灭菌后室温备用。

接种与发酵：将活化后的菌株稀释至 1.0×10^8 CFU/mL，按照一定体积比接种到燕麦谷物培养基中，混合均匀，于 30 ℃ 水浴锅中密封避光恒温发酵，得到发酵液[14]。

1.2.2　单因素实验设计　在预实验的基础上，以多酚含量、β-葡聚糖含量、α-淀粉酶抑制率和 α-葡萄糖苷酶抑制率作为评价指标，进行单因素实验，考察接种量（0%、1%、2%、3%、4%、5%），料液比（1∶6、1∶7、1∶8、1∶9、1∶10），发酵时间（0、2、4、6、8、10 h），发酵温度（25、30、35、40 ℃）对燕麦的主要活性成分和生物活性的影响，确定响应面试验的单因素优化水平。

具体操作方法如下：控制料液比 1∶8、发酵时间 6 h、发酵温度 30 ℃，研究不同接种量对四项评价指标的影响；接种量 3%、发酵时间 6 h、发酵温度 30 ℃，研究不同料液比对四项评价指标的影响；控制料液比 1∶8、接种量 3%、发酵温度 30 ℃，研究不同发酵时间对四项评价指标的影响；控制料液比 1∶8、接种量 3%、发酵时间 6 h，研究不同发酵温度对四项评价指标的影响。

1.2.3　评价指标检测方法

1.2.3.1　多酚含量检测　样品提取液的制备：参考 Ibrahim 等[15] 的方法，取 0.20 g 发酵液，加入 1.80 mL 无水乙醇，涡旋混匀后超声（200 W、30 ℃）提取 30 min，4000 r/min 离心 10 min，取上清检测。

多酚含量检测：参考彭璐[16] 的方法，取 0.20 mL 样品提取液，加入 0.10 mL 福林酚试剂、0.30 mL 碳酸钠溶液（8%）和 0.40 mL 蒸馏水，涡旋混匀，30 ℃ 下避光静置 1 h 后在 750 nm 波长处测定吸光度；分别取 0.02 mg/mL 没食子酸标准溶液 0.00、0.10、0.20、0.30、0.40 mL，同样操作后测吸光度。测得工作曲线线性方程为：y=79.167x+0.0588，R^2=0.9973，以没食子酸当量（mg/100 g）计算多酚含量。

1.2.3.2　β-葡聚糖含量检测　样品提取液的制备：参考林伟静等[17] 的方法，取 0.20 g 发酵液，加入 1.50 mL 95% 乙醇，4000 r/min 离心 10 min 后弃上清，向沉淀中加入 1 mL 50% 乙醇重复离心弃上清，加入 0.02 mL 50% 乙醇混匀，加入 0.40 mL 20 μmol/L 磷酸钠混匀后沸水浴 1 min，涡旋后沸水浴 2 min，于 50 ℃ 平衡 5 min，加入 0.02 mL 地衣酶于 50 ℃ 水浴 1 h，每隔 15 min 涡旋。向混合溶液中加入 0.50 mL 200 μmol/L 醋酸钠，4000 r/min 离心 10 min，取上清检测。

β-葡聚糖含量检测：取 0.05 mL 样品提取液，加入 0.05 mL β-葡聚糖苷酶，50 ℃ 反应 10 min，再加入 1.50 mL GOPOD，50 ℃ 反应 20 min 后在 540 nm 波长处测定吸光度；分别取 1 mg/mL D-葡萄糖标准溶液 0.00、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mL，加入 0.10、0.08、0.06、0.04、0.02、0.00 mL 200 μmol/L 醋酸钠混匀，同样操作后测吸光度，测得工作曲线线性方程为：y=10.393x+0.0737，R^2=0.999，以 D-葡萄糖当量（mg/g）计算 β-葡聚糖含量。

1.2.3.3　α-淀粉酶活性抑制率检测　参考胡爱玲等[18] 的方法，取 0.10 mL 样品提取液（制备方法同 1.2.3.1），加入 0.10 mL α-淀粉酶溶液，混匀，37 ℃ 预反应 10 min 后，加入 0.10 mL 可溶性淀粉溶液（1%）起始反应，37 ℃ 反应 10 min 后，加入 0.20 mL DNS 溶液终止反应，反应液置沸水浴中 5 min 后于冰水浴中迅速冷却，加蒸馏水补足体积至 1.50 mL 后测定 540 nm 波长处吸光度 A。按照式（1）计算，其中 $A_{对照}$为含受试物、底物和蒸馏水（不加酶）的吸光度；$A_{空白}$为含酶、底物和蒸馏水（不加受试物）的吸光度；$A_{空白对照}$为只含底物和蒸馏水（不加酶和受试物）的吸光度。

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}(\%)=\left(1-\frac{A_{样品}-A_{对照}}{A_{空白}-A_{空白对照}}\right)\times100 \quad 式（1）$$

1.2.3.4　α-葡萄糖苷酶活性抑制率检测　参考姚芬等[19] 的方法，取 0.10 mL 样品提取液（制备方法同 1.2.3.1），分别加入 0.20 mL α-葡萄糖苷酶溶液，混匀，37 ℃ 预反应 15 min 后，加入 0.20 mL pPNG 溶液（2.50 mmol/L）起始反应，37 ℃ 反应 10 min 后，加入 1 mL 碳酸钠溶液（0.10 mol/L）终止反应，在 405 nm 处测定吸光度 A。按照式（2）计算，其中 $A_{对照}$为含受试物、底物和蒸馏水（不加酶）的吸光度；$A_{空白}$为含酶、底物和蒸馏水（不加受试物）的吸光度；$A_{空白对照}$为只含底物和蒸馏水（不加酶和受试物）的吸光度。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%)=\left(1-\frac{A_{样品}-A_{对照}}{A_{空白}-A_{空白对照}}\right)\times100 \quad 式（2）$$

1.2.4　响应面优化试验设计　在单因素实验的基础上，以多酚含量（R_1）、β-葡聚糖含量（R_2）、α-淀粉酶抑制率（R_3）和 α-葡萄糖苷酶抑制率（R_4）作为响应

值, 以接种量(1%、2%、3%), 发酵时间(4、6、8 h), 料液比(1∶6、1∶7、1∶8), 发酵温度(25、30、35 ℃)为自变量, 使用 Design-Expert 13 软件, 基于 Box-Behnken 设计原理, 采用四因素三水平响应面分析法进行优化实验, 确定乳酸菌发酵燕麦的最优发酵条件。试验设计如表 1 所示。

表 1 Box-Behnken 响应面试验设计

Table 1 Experimental design of Box-Behnken response surface

水平	A接种量(%)	B料液比(g/mL)	C发酵时间(h)	D发酵温度(℃)
−1	1	1∶6	4	25
0	2	1∶7	6	30
1	3	1∶8	8	35

1.2.5 发酵燕麦多酚及黄酮活性组分分析

1.2.5.1 样品制备 取发酵燕麦 0.25 g, 加入 750 μL 80% 乙醇。将经过涡旋混匀后的样品放入−20 ℃ 的冰箱中下萃取 3 h, 4 ℃ 下离心(12000 r/min)20 min, 取上清液分析, 未发酵燕麦为对照组。

1.2.5.2 分析条件 色谱分析条件: 柱温 45 ℃; 流速 0.4 mL/min; 流动相 A 为 0.1% 甲酸水, 流动相 B 为 0.1% 甲酸乙腈(1/1); 洗针液 H_2O/CAN(10/90); 进样体积 1 L。梯度洗脱程序如下: 0~3 min, 95%~80% A; 3~10 min, 80%~0% A; 10~12 min, 0% A; 12~15 min, 0%~5% A; 15~19 min, 5% A。

质谱分析条件: 采用电喷雾电离源在负离子模式(ESI)下采集数据, MSE 采集模式为低能量与高能量交替扫描; 设置毛细管电压 2 kV, 锥孔电压 40 V, 雾化气温度 450 ℃, 雾化气流量 900 L/h, 锥孔反吹气 50 L/h, 离子源温度 115 ℃, 扫描范围 m/z 50~1000, 扫描速度 0.2 s, 碰撞能量 6 eV/20~45 eV; 在线锁定质量(在线校正): 250 pg/L 亮氨酸脑啡肽持续进样, 流速 10 L/min; 采集间隔 0.5 s; 采集时间 0.5 s; 碰撞能量 6 eV。

利用软件 UNIFI1.8.1 采集色谱、质谱数据, 在负离子模式下对样品导入到多酚黄酮库中进行比对, 得到具体化合物分子质量、质量误差(mu)、保留时间(RT)、质荷比(m/z)、加和物等信息, 对二级质谱离子碎片进行分析, 确定同分异构体物质, 判断化合物的合理性。同时结合在线数据库 Metlin(https://metlin.scripps.edu/)、Chemspider (http://www.chemspider.com/)、HMDB(https://hmdb.ca/)进行比对。利用 Metaboanalyst5.0(https://www.metaboanalyst.ca/)将上述比对得到的代谢物进行数据标准化和偏最小二乘判别分析(PLS-DA)。利用 UNIFI1.8.1 对原始数据进行峰检测、峰积分及数据输出, 以峰面积作为相对定量指标。酚类物质响应值的可视化采用 GraphPadPrism8 (GraphPadSoftware, 美国)软件[20]。

1.2.6 体外活性检测

1.2.6.1 样品制备 取发酵燕麦 0.25 g, 加入 750 μL 80% 乙醇或去离子水超声提取 30 min, 12000 r/min 离心 10 min, 上清液分别为醇提液或水提液, 未发酵燕麦为对照组。

1.2.6.2 DPPH 自由基清除率 参考任志龙等[21] 的方法, 使用无水乙醇配制 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼), 避光保存。将 2 mL 待测液与 2 mL DPPH 溶液加入试管中, 充分振摇, 在室温下避光反应 30 min, 在波长 517 nm 处测定吸光度 A。按照式(3)计算, 其中 A_i 为样品液与 DPPH 混合溶液的吸光度; A_j 为样品液与等体积无水乙醇混合溶液的吸光度; A_0 为等体积无水乙醇与 DPPH 混合溶液的吸光度。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_0}\right)\times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.6.3 羟自由基清除率 按照试剂盒说明, 按顺序加入空白管、未损伤管、损伤管、对照管和测定管。将所有的 EP 管放置在 37 ℃ 的水浴锅中保温 1 h。取各管上清液于 560 nm 处吸光度值 A, 依次记为 A_0、A_1、A_2、A'_3、A_3。

$$\text{羟自由基清除率}(\%)=\frac{[(A_3-A'_3)]-[(A_2-A_0)]}{[(A_1-A_0)]-[(A_2-A_0)]}\times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: A_0 为空白管; A_1 为未损伤管; A_2 为损伤管; A'_3 为对照管; A_3 为测定管。

1.2.6.4 FRAP 抗氧化能力 参考陈宇等[22] 的方法, 从试剂盒中取出 2.78 mg $FeSO_4\cdot 7H_2O$, 使用去离子水溶解至 1 mL, 得到 10 mmol/L 浓度的溶液。然后将 10 mmol/L $FeSO_4$ 溶液进行稀释, 使其浓度分别为 0.15、0.30、0.60、0.90、1.20 和 1.50 mmol/L。使用去离子水配制溶液和标准品。

在 96 孔板中加入 180 μL FRAP 工作液, 空白孔加 5 μL 去离子水; 标准曲线检测孔中加入 5 μL 不同浓度范围的 $FeSO_4$ 标准溶液; 样本检测孔则加入 5 μL 各个样本。然后轻轻混合均匀。将其置于 37 ℃ 温度下孵育 5 min, 离心吸取上清液, 在 593 nm 波长处测定吸光值。总抗氧化能力用 $FeSO_4$ 标准溶液的浓度来表示。

1.2.6.5 $ABTS^{+\cdot}$ 清除能力 按照试剂盒说明, 先混合 ABTS 溶液和氧化剂, 形成 ABTS 工作母液, 随后在室温避光条件下存放 16 h, 室温避光下储存。在使用前, 将 ABTS 工作母液用去离子水按需稀释成 ABTS 工作液, 稀释倍数约为 30 倍。注意: 在测定时, 需扣除相应的空白对照(如无水乙醇、PBS 或去离子水)吸光度, 使得在 710 nm 处的吸光度约为 0.70, 对应的 450 nm 处吸光值约为 1.40。

将 Trolox 溶液(10 mmol/L)逐步稀释至 0.05、0.15、0.30、0.60、0.90、1.20、1.50 mmol/L。在进行样品加入时, 应依据实验需求确定空白孔、标准孔和

测定孔的位置，并按照预先设定的顺序将其逐一放入 96 孔板中。ABTS 工作液与待测样品或标准品的加入比例为 40∶1。室温下静置 5 min 后，用酶标仪检测 405 nm 处吸光值，依次记为 $A_{空白}$、$A_{标准}$、$A_{测定}$。计算以系列 Trolox 标准为横坐标，相应吸光度为纵坐标，绘制出总抗氧化能力的标准曲线。根据样品测定管的吸光度值计算出样品相当于多少浓度的 Trolox 标准的抗氧化能力。

1.2.6.6　胰脂肪酶活性抑制实验　参考姚芬等[19]的方法，将 80 μL 的 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液（pH8.00）、40 μL 的样品溶液和 120 μL 的 10 mg/mL 胰脂肪酶溶液，混合均匀后于 37 ℃ 下温育 10 min，立即加入 160 μL 的 0.80 mmol/L 棕榈酸对硝基苯酯（pNPP）作为底物，于 37 ℃ 下反应 20 min。反应结束后，于 100 ℃ 水浴 5 min 以终止反应。离心去除沉淀，取 200 μL 上清液在 405 nm 处测定吸光度。按照式（5）计算，其中 $A_{对照}$为只含受试物、底物和缓冲液（不加酶）的吸光度；$A_{空白对照}$为只含底物和缓冲液（不加酶和受试物）的吸光度；$A_{空白}$为含酶、底物和缓冲液（不加受试物）的吸光度。

$$胰脂肪酶活性抑制率(\%)=\left(1-\frac{A_{样品}-A_{对照}}{A_{空白}-A_{空白对照}}\right)\times 100 \quad 式（5）$$

1.2.7　肉桂酸与糖、脂代谢酶分子对接　分子对接主要包括蛋白和配体的制备、对接处理和结果分析三个程序。下载蛋白 PDB 文件（PDB 数据库 https://www.rcsb.org/）和配体 MOL2 文件（Zinc 数据库 https://zinc.docking.org/），包括人胰腺 α-淀粉酶（PDB ID:1HNY）、人 α-葡萄糖苷酶（PDB ID: 5NN3）及人胰脂肪酶（PDB ID: 2PPL）、肉桂酸（ZINC 16051516）。由于发酵使燕麦中肉桂酸的丰度由 0 增加至 6134.75，因此选择肉桂酸作为配体，进一步研究发酵燕麦调控上述酶活性的分子机制。使用分子对接软件 AutoDock Tool v.1.5.7 完成蛋白与配体预处理，将蛋白删除水、配体、同源链、加氢、计算电荷；将配体加极性氢，设置旋转点与柔性体；蛋白与配体均保存为 PDBQT 文件；然后，点击 Grid-Grid Box，调整对接口袋大小至包裹蛋白，保存为 GPF 文件；将蛋白设为刚性文件后导入配体文件，进行对接，保存为 DPF 文件。最后，进行分子对接结合能计算并输出为 PDBQT 格式，使用 OpenBabel 将对接 PDBQT 文件转换为 PDB 文件，再导入 PyMol 3.0.3 进行可视化[23]。

1.3　数据处理

采用单因素方差分析（one-way ANOVA），通过 LSD 多重比较分析各组平均值之间的差异（SPSS Statistics 21），$P<0.01$ 和 $P<0.05$ 分别表示差异极显著和差异显著；用软件 Origin2025 进行绘图；所有实验至少重复三次，以“平均值±标准差”的形式表示。

2　结果与分析

2.1　接种量对燕麦主要活性成分和生物活性的影响

选择接种量为 0%、1%、2%、3%、4%、5%，研究接种量对燕麦主要活性成分和生物活性的影响。由图 1 可见，随着接种量的增加，燕麦多酚含量呈现先升高再降低的趋势，而 β-葡聚糖含量呈现先降低再升高再降低的趋势，当接种量为 3% 时多酚和 β-葡聚糖含量最高，其中，多酚含量显著高于未发酵组和 5% 接种量组（$P<0.05$），β-葡聚糖含量显著高于 1%、2%、4%、5% 接种量组（$P<0.05$）；燕麦发酵物对 α-淀粉酶抑制率呈现先升高再降低的趋势，当接种量为 3% 时 α-淀粉酶抑制率最高，显著高于未发酵组（$P<0.05$）；对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性在接种量为 1% 时较高，显著高于未发酵组（$P<0.05$）。这可能是由于乳酸菌能以酪氨酸和苯丙氨酸之类的芳香氨基酸为前体物质，合成多酚类次级代谢产物，并且发酵过程产生的酶类会使燕麦细胞壁降解，使得发酵后燕麦中的多酚、β-葡聚糖等有助于降糖的活性物质释放出来[24−25]。在接种量较低（1%~3%）时，燕麦培养基为发酵菌种提供了足够充分的底物，使得发酵能够充分进行，有利于酶的生成和发酵后燕麦中多酚、β-葡聚糖和一些有助于降糖的活性物质的释放；而当接种量过大时，发酵菌种数量过多，燕麦培养基不能够供给足够的养分，从而限制了燕麦中上述次级代谢活性物质的积累[26]。因此，选择接种量为 1%、2%、3% 作为后续响应面试验的优化条件。

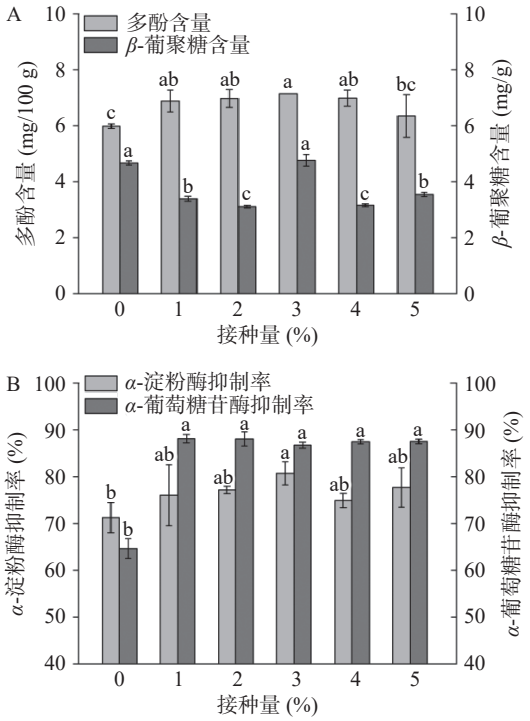


图 1　接种量对燕麦多酚、β-葡聚糖含量（A）和 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制率（B）的影响

Fig.1　Effects of inoculation amount on content of polyphenol, β-glucan (A) and inhibition rates of α-amylase, α-glucosidase (B) of oats

注：不同小写字母表示组间差异显著（$P<0.05$）；图 2~图 4 同。

2.2 料液比对燕麦主要活性成分和生物活性的影响

选择料液比为 1∶6、1∶7、1∶8、1∶9、1∶10，研究料液比对燕麦主要活性成分和生物活性的影响。由图 2 可见，随着料液比的增加，发酵后燕麦中的多酚含量呈现降低的趋势，而 β-葡聚糖含量呈现先升高再降低的趋势，当料液比为 1∶8 时 β-葡聚糖含量最高（$P<0.05$）；燕麦对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制率均呈现先升高后降低的趋势，当料液比为 1∶7 时 α-葡萄糖苷酶抑制率最高（$P<0.05$）。这可能是因为当料液比较低时，由于燕麦培养基粘稠度较大，导致营养物质和代谢产物传质效率的下降，限制了发酵菌种的生长发育，从而降低了燕麦中多酚、β-葡聚糖等活性物质的合成效率；而当料液比过高时，燕麦培养基营养组分浓度降低，发酵菌种就无法充分获得生长所需的营养支持，这也会限制燕麦中多酚、β-葡聚糖和一些有助于降糖的活性物质的合成[27]。因此，选择料液比为 1∶6、1∶7、1∶8 作为后续响应面试验的优化条件。

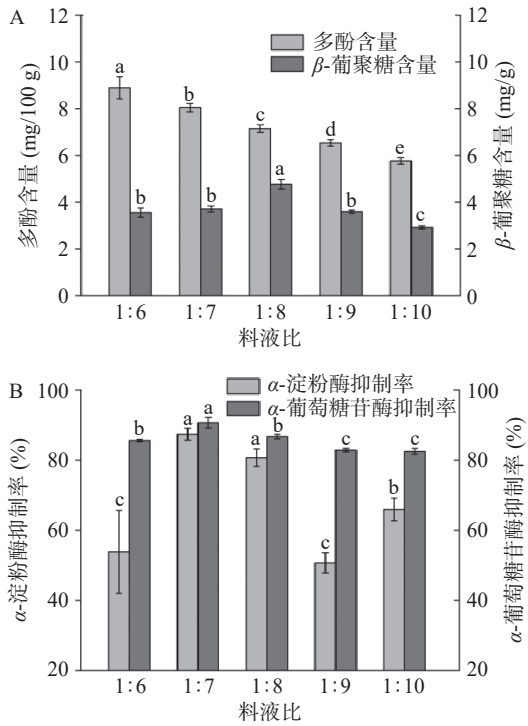


图 2 料液比对燕麦多酚、β-葡聚糖含量（A）和 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制率（B）的影响

Fig.2 Effects of solid-liquid ratio on content of polyphenol, β-glucan (A) and inhibition rates of α-amylase, α-glucosidase (B) of oats

2.3 发酵时间对燕麦主要活性成分和生物活性的影响

选择发酵时间为 0、2、4、6、8、10 h，研究发酵时间对燕麦主要活性成分和生物活性的影响。由图 3 可见，随着发酵时间的增加，发酵后燕麦中多酚含量呈现先升高后降低的趋势，当发酵时间为 4 h 时多酚含量最高，显著高于未发酵组（$P<0.05$）；β-葡聚糖含量呈现先降低后升高再降低的趋势，当发酵时间为

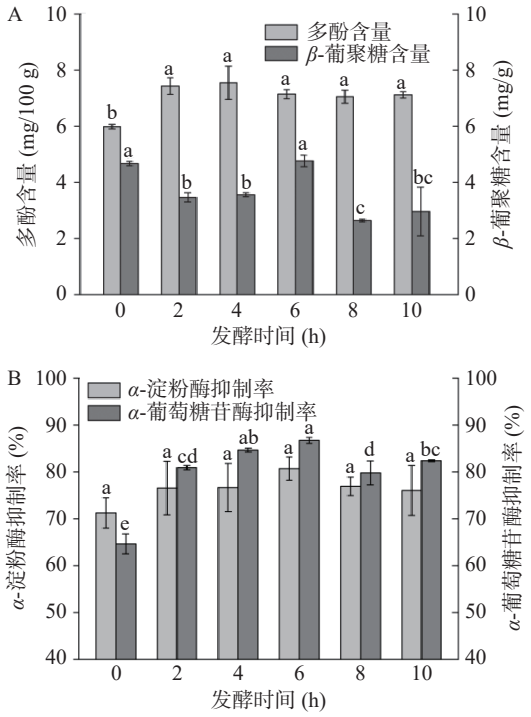


图 3 发酵时间对燕麦多酚、β-葡聚糖含量（A）和 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制率（B）的影响

Fig.3 Effects of fermentation time on content of polyphenol, β-glucan (A) and inhibition rates of α-amylase, α-glucosidase (B) of oats

6 h 时 β-葡聚糖含量最高，显著高于 2、4、8、10 h 发酵组（$P<0.05$）；燕麦对 α-淀粉酶抑制率和 α-葡萄糖苷酶抑制率均呈现先升高再降低的趋势，当发酵时间为 6 h 时 α-葡萄糖苷酶抑制率显著高于未发酵组与 2、8、10 h 发酵组（$P<0.05$）。这可能是因为在发酵初期（0~4 h）发酵菌数量较少，导致发酵不充分，燕麦中多酚、β-葡聚糖等活性物质的合成效率较低；随着发酵时间的延长（4~6 h），发酵菌种生长充分，增加了多酚、β-葡聚糖等活性物质的合成；在发酵后期（6~10 h），发酵菌种大量死亡和裂解，细胞内的各种分解酶被释放出来，可能造成多酚、β-葡聚糖等成分的降解[28]。因此，选择发酵时间为 4、6、8 h 作为后续响应面试验的优化条件。

2.4 发酵温度对燕麦主要活性成分和生物活性的影响

选择发酵温度为 25、30、35、40 ℃，研究发酵温度对燕麦主要活性成分和生物活性的影响。由图 4 可见，随着发酵温度的增加，发酵后燕麦中的多酚含量呈现先升高后降低的趋势，当发酵温度为 30 ℃ 时多酚含量最高（$P<0.05$）；β-葡聚糖含量呈现先降低后升高再降低的趋势，当发酵温度为 35 ℃ 时 β-葡聚糖含量最高（$P<0.05$）；燕麦对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率均呈现先升高再降低的趋势，当发酵温度为 30 ℃ 时体外降糖活性最高（$P<0.05$）。这可能是因为发酵菌种最适培养温度在 30~35 ℃，这也是发酵菌种内一些酶活性最大的温度[28]。因此，选择发酵温度为 25、30、35 ℃ 作为后续响应面试验的优化条件。

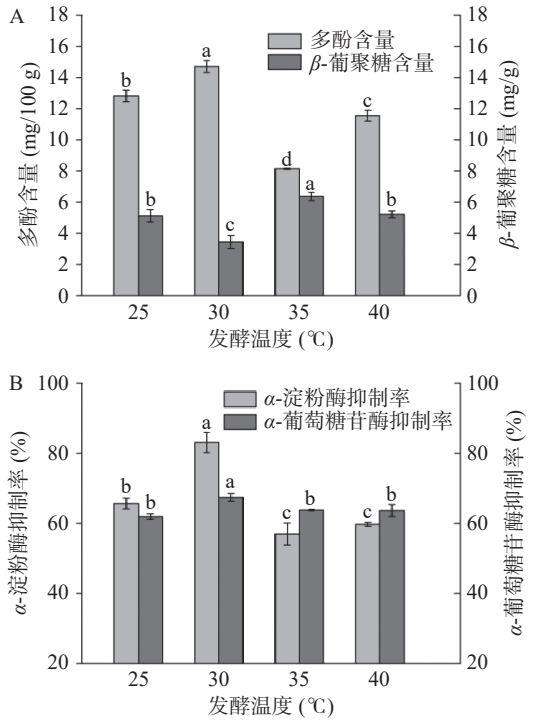


图 4　发酵温度对燕麦多酚、β-葡聚糖含量(A)和 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制率(B)的影响

Fig.4　Effects of fermentation temperature on content of polyphenol, β-glucan (A) and inhibition rates of α-amylase, α-glucosidase (B) of oats

2.5　响应面优化试验结果

2.5.1　响应面模型建立与方差分析　表 2 为响应面试验结果。运用 Design Expert 13 软件进行二次多元回归拟合，得到多酚含量(R_1)、β-葡聚糖含量(R_2)、α-淀粉酶抑制率(R_3)、α-葡萄糖苷酶抑制率(R_4)和接种量(A)、料液比(B)、发酵时间(C)、发酵温度(D)之间的多元二次回归模拟方程：

R_1=8.20+0.014A−0.28B−0.31C+0.52D−0.15AB−0.12AC−0.013AD−0.29BC−0.30BD+0.22CD−0.37A^2−0.029B^2−0.31C^2−0.47D^2

R_2=5.43−0.15A−1.25B−0.17C+0.50D−0.20AB−0.033AC−0.20AD−0.18BC+0.14BD−0.39CD−0.19A^2+0.013B^2−0.27C^2+1.01D^2

R_3=90.72+0.12A−14.22B−2.90C−12.61D−11.62AB+1.09AC−4.03AD−3.63BC+1.53BD+6.27CD−14.73A^2−19.02B^2−7.41C^2−17.64D^2

R_4=80.93+0.31A−3.16B−1.20C−2.94D−1.99AB−0.033AC−0.98AD+0.28BC+1.58BD+0.95CD−3.82A^2−3.90B^2−1.98C^2−4.08D^2

如表 3~表 5 所示，响应面模型的方差分析及显著性分析结果如下：

指标调整：多酚模型的决定系数 R^2 为 0.5648，校正决定系数 R^2_{Adj} 为 0.1297，表明拟合优度相关性

表 2　Box-Behnken 响应面试验结果

Table 2　Experimental results of Box-Behnken response surface

实验号	A接种量	B料液比	C发酵时间	D发酵温度	R_1多酚含量(mg/100 g)	R_2 β-葡聚糖含量(mg/g)	R_3 α-淀粉酶抑制率(%)	R_4 α-葡萄糖苷酶抑制率(%)
1	−1	−1	0	0	8.34	6.88	57.71	73.36
2	1	−1	0	0	8.71	6.87	88.14	80.30
3	−1	1	0	0	7.42	4.18	48.02	70.20
4	1	1	0	0	7.18	3.38	31.96	69.19
5	0	0	−1	−1	6.84	5.47	91.85	81.19
6	0	0	1	−1	7.23	6.13	62.47	74.37
7	0	0	−1	1	7.37	7.14	55.29	73.61
8	0	0	1	1	8.65	6.23	51.01	70.58
9	−1	0	0	−1	7.25	5.50	57.79	72.60
10	1	0	0	−1	7.17	5.76	70.14	75.51
11	−1	0	0	1	8.02	7.31	51.01	71.59
12	1	0	0	1	7.89	6.76	47.22	70.58
13	0	−1	−1	0	8.17	6.27	65.38	77.90
14	0	1	−1	0	8.75	4.26	45.84	69.82
15	0	−1	1	0	8.00	6.60	86.36	78.79
16	0	1	1	0	7.41	3.87	52.30	71.84
17	−1	0	−1	0	7.98	5.37	84.50	78.41
18	1	0	−1	0	8.34	5.11	71.59	76.39
19	−1	0	1	0	6.27	4.57	68.04	74.75
20	1	0	1	0	6.16	4.18	59.48	72.60
21	0	−1	0	−1	6.60	7.09	89.10	81.57
22	0	1	0	−1	6.75	4.79	60.45	74.12
23	0	−1	0	1	8.58	7.52	49.23	69.44
24	0	1	0	1	7.54	5.77	26.72	68.31
25	0	0	0	0	7.67	5.23	86.84	80.30
26	0	0	0	0	8.24	5.52	84.10	79.42
27	0	0	0	0	8.45	5.58	97.01	83.33
28	0	0	0	0	8.18	5.21	97.34	80.81
29	0	0	0	0	8.47	5.59	88.30	80.81

表 3 β-葡聚糖含量响应面回归模型方差分析

Table 3 Analysis of β-glucan content response surface regression model ANOVA

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	32.20	14	2.30	18.28	<0.0001	****
A	0.26	1	0.26	2.03	0.1763	
B	18.70	1	18.70	148.64	<0.0001	****
C	0.35	1	0.35	2.76	0.1191	
D	2.99	1	2.99	23.77	0.0002	***
A×B	0.16	1	0.16	1.24	0.2842	
A×C	0.0042	1	0.0042	0.034	0.8572	
A×D	0.16	1	0.16	1.30	0.2727	
B×C	0.13	1	0.13	1.03	0.3273	
B×D	0.076	1	0.076	0.60	0.4510	
C×D	0.62	1	0.62	4.90	0.0440	*
A^2	0.23	1	0.23	1.82	0.1985	
B^2	0.0011	1	0.0011	0.0091	0.9256	
C^2	0.48	1	0.48	3.81	0.0713	
D^2	6.64	1	6.64	52.80	<0.0001	****
残差	1.76	14	0.13			
失拟项	1.62	10	0.16	4.47	0.0808	
纯误差	0.14	4	0.036			
总和	33.96	28				

注：****表示P<0.0001，***表示P<0.001，**表示P<0.01，*表示P<0.05；表4~表5同。

表 4 α-淀粉酶抑制率响应面回归模型方差分析

Table 4 Analysis of α-amylase inhibition rate response surface regression model ANOVA

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	9485.93	14	677.57	7.57	0.0003	***
A	0.18	1	0.18	0.0020	0.9651	
B	2426.22	1	2426.22	27.10	0.0001	***
C	100.86	1	100.86	1.13	0.3065	
D	1908.15	1	1908.15	21.31	0.0004	***
A×B	540.33	1	540.33	6.03	0.0277	*
A×C	4.73	1	4.73	0.053	0.8215	
A×D	65.12	1	65.12	0.73	0.4081	
B×C	52.71	1	52.71	0.59	0.4557	
B×D	9.42	1	9.42	0.11	0.7504	
C×D	157.50	1	157.50	1.76	0.2060	
A^2	1406.56	1	1406.56	15.71	0.0014	**
B^2	2347.64	1	2347.64	26.22	0.0002	***
C^2	356.34	1	356.34	3.98	0.0659	
D^2	2018.55	1	2018.55	22.55	0.0003	***
残差	1253.46	14	89.53			
失拟项	1105.34	10	110.53	2.98	0.1517	
纯误差	148.12	4	37.03			
总和	10739.39	28				

较差[29]；显著性检验 P>0.05，失拟项 P<0.05，表明模型对该指标的预测能力不足，可能存在未被解释的变异因素。为了保证模型的可靠性和优化结果的实用性，后续分析将剔除该指标，基于 β-葡聚糖含量及 α-淀粉酶抑制率、α-葡萄糖苷酶抑制率进行优化。

模型有效性：除多酚模型外，其余模型的显著性 P<0.05，且失拟项 P 值（0.0808、0.1517、0.1514）均>0.05，模型有效。

各指标显著性：β-葡聚糖含量：一次项 D（P<0.001）、B（P<0.0001）、二次项 D^2（P<0.0001）极显著，交互项 CD（P<0.05）影响达到显著水平。α-淀粉酶抑制率：一次项 B、D、二次项 B^2、D^2 影响极显著（P<0.001），A^2 影响极显著（P<0.01），交互项 AB（P<0.05）影响达到显著水平。α-葡萄糖苷酶抑制率：一次项 B、D、二次项 A^2、B^2、D^2极显著（P<0.001），C^2（P<0.05）影响达到显著水平。

表 5 α-葡萄糖苷酶抑制率响应面回归模型方差分析

Table 5 Analysis of α-glucosidase inhibition rate response surface regression model ANOVA

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	494.79	14	35.34	6.90	0.0004	***
A	1.12	1	1.12	0.22	0.6478	
B	119.57	1	119.57	23.34	0.0003	***
C	17.26	1	17.26	3.37	0.0878	
D	103.55	1	103.55	20.21	0.0005	***
A×B	15.80	1	15.80	3.08	0.1009	
A×C	0.0042	1	0.0042	0.00080	0.9775	
A×D	3.84	1	3.84	0.75	0.4011	
B×C	0.32	1	0.32	0.062	0.8065	
B×D	9.99	1	9.99	1.95	0.1844	
C×D	3.59	1	3.59	0.70	0.4165	
A^2	94.88	1	94.88	18.52	0.0007	***
B^2	98.89	1	98.89	19.30	0.0006	***
C^2	25.38	1	25.38	4.96	0.0429	*
D^2	107.75	1	107.75	21.03	0.0004	***
残差	71.72	14	5.12			
失拟项	63.25	10	6.33	2.99	0.1514	
纯误差	8.47	4	2.12			
总和	566.51	28				

模型可靠性：决定系数 R^2 分别为 0.9481、0.8833、0.8734，校正决定系数 R^2_{Adj} 分别为 0.8963、0.7666、0.7468，其中 β-葡聚糖模型解释度最佳（R^2=0.9481）。变异系数 CV 分别为 6.27%、14.25%、3.01%，α-淀粉酶抑制率属于较高变异。

工艺参数重要性排序：由回归方程的 F 值可以确定，各因素对 β-葡聚糖含量影响的重要顺序依次为：B>D>C>A，对 α-淀粉酶抑制率影响的重要顺序依次为：B>D>C>A，对 α-葡萄糖苷酶抑制率影响的重要顺序依次为：B>D>C>A。综上所述，以 β-葡聚糖含量及 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制率作为工艺定向优化指标，构建的模型提示各发酵工艺参数重要性排序为 B>D>C>A。

2.5.2 各因素交互作用对乳酸菌发酵燕麦中 β-葡聚糖与 α-淀粉酶抑制率的影响 为简化起见，选择方差分析中交互作用对成分含量及酶抑制率具有显著影响的结果进行阐述。图 5 为发酵时间与发酵温度交互作用对发酵燕麦 β-葡聚糖含量影响的响应面图，从图 5 中可以看出，交互等高线呈马鞍形，响应面呈下凹的曲面，在实验范围内存在一个优化的凹谷区域。两者交互作用对发酵燕麦中 β-葡聚糖含量影响显著（P<0.05）。

图 6 接种量与料液比交互作用对发酵燕麦 α-淀

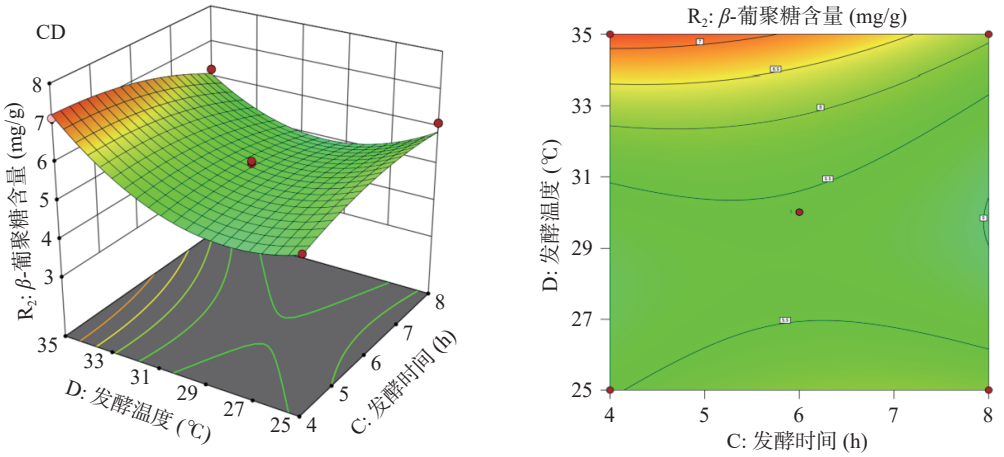


图 5　发酵时间与发酵温度交互作用对乳酸菌发酵燕麦中 β-葡聚糖含量的影响

Fig.5　Effect of interaction between fermentation time and fermentation temperature on β-glucan content in oats fermented by *Lactobacillus*

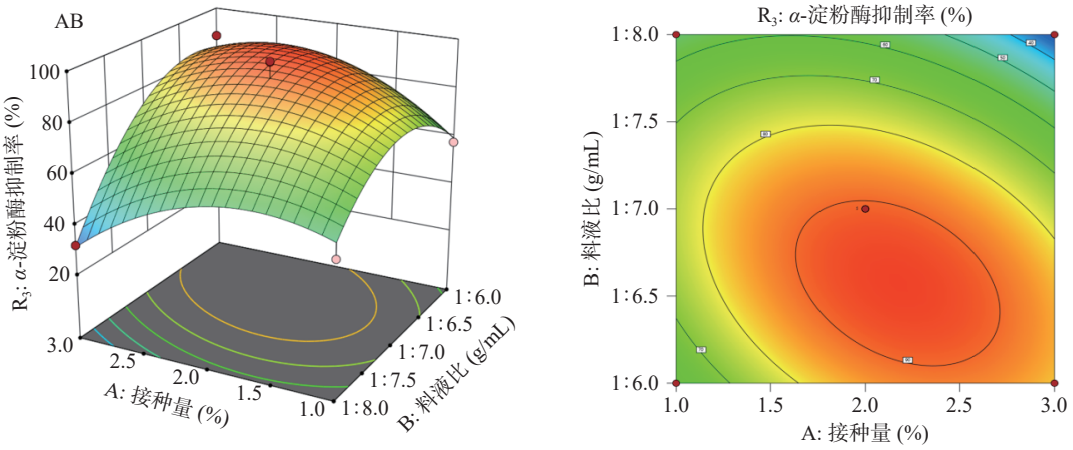


图 6　接种量与料液比交互作用对乳酸菌发酵燕麦中的 α-淀粉酶抑制率影响

Fig.6　Effect of interaction between inoculation amount and solid-liquid ratio on the inhibition rate of α-amylase in oats fermented by *Lactobacillus*

粉酶抑制率影响的响应面图。从图 6 中可以看出，响应面呈现山丘状曲面，存在极大值，交互等高线呈近椭圆状，坡面较陡峭。接种量与料液比的交互作用对乳酸菌发酵后燕麦的 α-淀粉酶抑制率显著影响（$P<0.05$），与方差分析结果一致。

2.6　最优发酵条件验证实验

根据响应面试验结果，得到最佳发酵工艺参数为：接种量 2.462%，料液比 1∶6.049 g/mL，发酵时间 5.550 h，发酵温度 25.477 ℃，β-葡聚糖含量、α-淀粉酶抑制率、α-葡萄糖苷酶抑制率预测值为 6.69 mg/g、85.91%、80.19%。综合考虑实际加工效率和温度对菌种生长的影响，将最佳发酵工艺参数调整为：接种量 2%，料液比 1∶6 g/mL，发酵时间 6 h，发酵温度 30 ℃。

经验证，在最优发酵条件下，发酵燕麦中 β-葡聚糖含量为 6.30±0.30 mg/g，α-淀粉酶抑制率为 87.20%±8.10%，α-葡萄糖苷酶抑制率为 80.30%±3.30%；未发酵组分别为 3.90±0.10 mg/g、67.80%±4.40%、64.70%±2.30%。发酵可使燕麦中 β-葡聚糖含量提高 61.54%，其对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率分别提高 28.61% 和 24.11%。预测值和实际值有较好的拟合相关性，R^2 为 0.99985，表明利用响应面试验建立的预测模型具有较好的稳定性、准确性和可靠性，该模型对乳酸菌发酵后燕麦的 β-葡聚糖含量、α-淀粉酶抑制率、α-葡萄糖苷酶抑制率分析具有实际应用价值。此外，在该工艺条件下，乳酸菌发酵燕麦可显著富集 β-葡聚糖，增强其体外降糖活性。

2.7　植物乳杆菌发酵燕麦中多酚类物质组成分析

由于植物乳杆菌发酵可促进发酵燕麦中多酚的富集，因此本实验进一步分析发酵燕麦中多酚类物质组成。通过软件 UNIFI1.8.1 分析对比中药多酚黄酮数据库，根据保留时间及分子和碎片离子信息，共检测出 6 种酚类化合物（表 6 所示）。其中与发酵前相比，发酵后的肉桂酸和香橙素-3,7-二葡萄糖苷含量显著增加（$P<0.01$）。

研究表明[30]，谷物中的多酚类化合物以游离态、可溶结合态和不可溶结合态三种形态存在，其中结合态主要通过酯键与细胞壁结构成分（包括纤维素、果胶及多糖等）形成稳定复合物。在植物乳杆菌发酵过

表 6 利用 UPLC-Q-TOF-MS^E 检测发酵燕麦中多酚类物质组成

Table 6 Composition of polyphenols in fermented oats using UPLC-Q-TOF-MS^E

物质名称	保留时间(min)	质荷比	峰面积	
			发酵前	发酵后
1-Galloyl-glucose1 没食子酰葡萄糖	3.46	331.07	2361.75±403.61	3384.75±308.60
4-Feruloylquinic acid 4-O 阿魏酰奎尼酸	4.30	367.10	9410.00±186.02	1112.50±89.47
Cinnamic acid 肉桂酸	13.41	295.23	ND	6134.75±1231.68**
3,4′,5-Trihydroxy-3′,7-dimethoxyflavanone 3,4′,5-三羟基-3′,7-二甲氧基黄烷酮	0.70	377.09	371801.00±6473.58	375167.75±7427.99
Aromadendrin-3,7-diglucoside 香橙素-3, 7-二葡萄糖苷	12.72	662.63	5344.83±754.61	65432.13±74.90**
1,8-Dihydrxy-3,7-dimethoxyxanthone 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮	0.66	333.06	12739.20±1453.47	13837.10±2117.98

注: OTN: 未发酵燕麦组, OTF: 发酵燕麦组, ND: 没有检测出; **表示P<0.01。

程中, 菌株分泌的水解酶系(如酯酶、糖苷酶等)能够特异性裂解这些结合态复合物, 从而显著提升游离态多酚的检测含量[31]。值得注意的是, 菌种的代谢活动不仅促进大分子物质的酶解过程, 还能通过激活酚类代谢相关酶(如苯丙氨酸解氨酶、查尔酮异构酶等), 重构次生代谢网络, 加速前体物质向终产物的生物转化, 这一双路径协同作用构成了游离酚类物质增量的核心机制。代谢组学研究为此提供了直接证据: Zhang 等[32] 分析乳酸菌发酵山楂发现, 一方面多酚生物合成通路上调(发酵激活苯丙氨酸解氨酶, 促进 L-苯丙氨酸这种多酚合成重要前体物质生成), 另一方面纤维素酶、β-葡萄糖苷酶与酚酸酯酶介导, 促进结合态酚类物质的释放, 提示发酵燕麦多酚的富集是由于前体物质生物转化与结合态酚类物质的释放双重作用的结果。

2.8 发酵燕麦体外抗氧化活性分析

发酵燕麦体外抗氧化分析结果如图 7 所示, 总体上, 发酵燕麦醇提物和水提物的抗氧化活性强于未发酵燕麦; 具体地, 发酵燕麦醇提物对 DPPH 自由基的清除率为 35.37%±1.07%、羟自由基的消除率为 12.32%±1.06%、ABTS$^+$自由基清除能力为 0.66±0.01 mmol/g、FRAP 总抗氧化能力为 0.62±0.01 mmol/

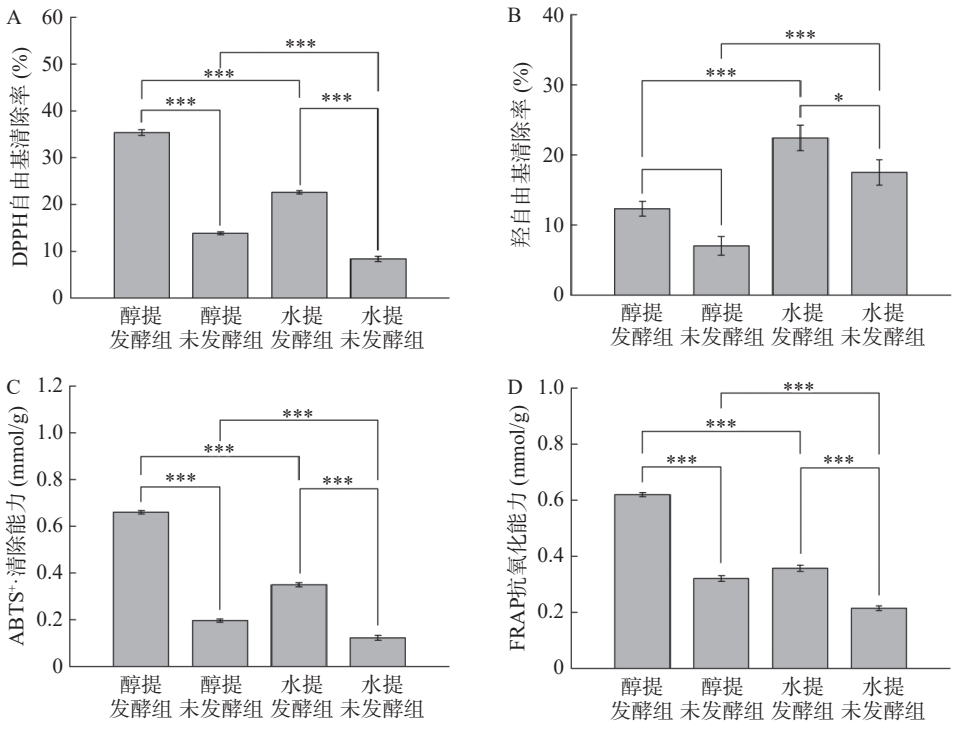


图 7 不同处理组燕麦的抗氧化活性

Fig.7 Antioxidant activity in oats with different treatment groups

注: A. DPPH 自由基清除率; B. 羟自由基清除率; C. ABTS$^+$自由基清除能力; D. FRAP抗氧化能力; ***表示 P<0.001, **表示 P<0.01, *表示 P<0.05。

g，较未发酵燕麦分别提高了 155.75%（P<0.001）、75.50%（P<0.05）、230.00%（P<0.001）、93.75%（P<0.001）。发酵燕麦水提物对 DPPH 自由基的消除率为 22.60%±0.63%、羟自由基的消除率为 22.42%±1.82%、ABTS$^+$自由基清除能力为 0.35±0.01 mmol/g、FRAP 总抗氧化能力为 0.36±0.01 mmol/g，较未发酵燕麦水提物分别提高了 170.01%（P<0.001）、28.11%（P<0.05）、191.67%（P<0.001）、63.64%（P<0.001）。除羟基自由基清除率外，总体上发酵燕麦醇提物的抗氧化活性优于水提物，这是因为乙醇能够更有效地提取多酚和黄酮等抗氧化活性成分[33]。

2.9　发酵燕麦对部分糖脂代谢关键酶活性的抑制作用

为考察发酵燕麦对糖、脂代谢的调节作用，本研究利用体外实验分析了发酵燕麦对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的抑制活性。如图 8 所示，发酵燕麦醇提物和水提物对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶和胰脂肪酶活性抑制率均显著高于未发酵燕麦（P<0.001）。具体地，发酵燕麦醇提物对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的抑制率分别为 67.88%±0.57%、56.45%±1.52% 和 76.20%±1.05%，较未发酵燕麦分别提高了 44.80%（P<0.001）、121.55%（P<0.001）、84.95%（P<0.001）；发酵燕麦水提物对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的抑制率分别为 48.33%±0.67%、35.53%±0.93% 和 65.60%±1.21%，较未发酵燕麦水提物分别提高了 76.52%（P<0.001）、143.86%（P<0.001）、124.66%（P<0.001）。这是因为发酵可促进肉桂酸等多酚类和 β-葡聚糖功能性成分的富集；此外醇提物中的多酚类等代谢产物通常具有较强的酶抑制能力，能够通过氢键、疏水相互作用或者静电相互作用结合到酶的不同位点上，从而调节酶活性[34]。

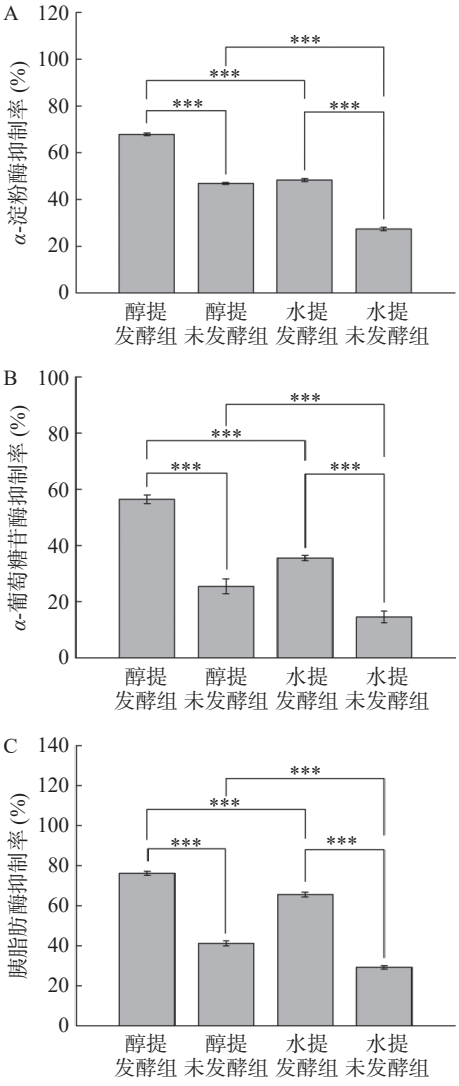


图 8　不同处理组燕麦的糖脂代谢酶抑制活性

Fig.8　Inhibition activity of glucose and lipid metabolism enzymes in oats with different treatment groups

注：A. α-淀粉酶抑制率；B. α-葡萄糖苷酶抑制率；C. 胰脂肪酶抑制率；***表示 P<0.001，**表示 P<0.01，*表示 P<0.05。

2.10　发酵燕麦新增活性物质肉桂酸与糖、脂代谢关键酶的分子对接结果

为揭示发酵燕麦调控糖、脂代谢关键酶的分子互作机制，本研究聚焦发酵过程中新生成的特征多

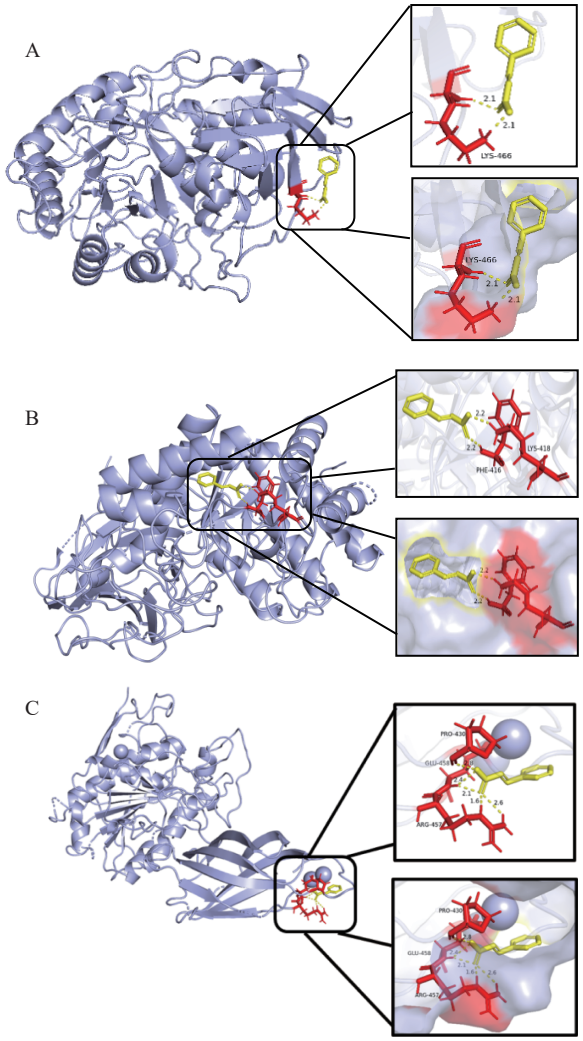


图 9　肉桂酸分别与 α-淀粉酶（A）、α-葡萄糖苷酶（B）、胰脂肪酶分子对接结果（C）

Fig.9　Simulation results of the docking of cinnamic acid with α-amylase (A), α-glucosidase (B) and pancreatic lipasen (C) molecules respectively

酚——肉桂酸，基于人胰腺 α-淀粉酶、人 α-葡萄糖苷酶及人胰脂肪酶的晶体拓扑结构，采用 AutoDock Tool 平台进行分子对接。如图 9 所示，肉桂酸与上述三种酶的结合自由能分别为−4.59、−4.43 和−5.77 kcal/mol，均显著低于常规结合阈值（−4 kcal/mol）[35−36]，提示其具有稳定的酶结合特性。

进一步分析配体-受体互作模式发现：在酸性条件下，肉桂酸分子中羧酸基团（-COOH）的羟基 H 作为供体，与 α-淀粉酶 Lys-466 上的 ε-氨基（-NH_2）形成氢键（距离 2.1 Å），同时羧酸羰基 O 作为受体与 Lys-466 上的 ε-氨基（-NH_2）形成氢键（距离 2.1 Å），可能作用于 α-淀粉酶的底物结合结构域[37]，从而影响 α-淀粉酶和底物的结合过程。

通过肉桂酸与 α-葡萄糖苷酶的分子对接模型分析发现，其羧酸基团（-COOH）的羟基 H 作为氢键供体，与酶活性中心 Lys-418 侧链的质子化 ε-氨基（-NH_3^+）形成氢键（距离 2.2 Å）；此外，肉桂酸与 Phe-416 残基之间可能以疏水效应和 π-π 堆积为主，辅以范德华力，这些非共价作用力（距离 2.2 Å）协同稳定复合物，可能在酶的疏水口袋或底物通道中起关键作用，通过竞争性占据底物结合位点并干扰催化微环境，阻碍酶与底物的特异性识别与结合。

在胰脂肪酶的分子对接模型中，肉桂酸羧酸基团（-COOH）的羟基 H 作为氢键供体，与 Pro-430 主链羰基 O 形成氢键（距离 2.8 Å）；同时，羧酸羰基 O 作为氢键受体，与 Arg-457 胍基上的伯氨基（-NH_2）和仲氨基（-NH-）形成双重氢键（距离 2.6 Å与 1.6 Å）。此外，羧酸基团中的羟基 H 和羰基 O 分别与 Glu-458 侧链羧酸基团（-COOH）的羰基 O 和羟基 H 形成互补氢键网络（距离 2.4 Å与 2.1 Å），从而可能将肉桂酸锚定在胰脂肪酶的底物结合口袋附近，通过空间位阻和静电干扰抑制酶与底物的结合。

上述分子对接分析初步表明：发酵衍生产物肉桂酸能够通过多靶点、多模式的分子结合机制，竞争性地占据糖、脂代谢关键酶的底物结合活性位点，进而发挥其生物调控功能。

3 结论

本研究以双靶向富集多酚和 β-葡聚糖以及抑制糖代谢关键酶活性为目的，经过指标调整优化后建立了 *Lactobacillus kisonensis* 发酵燕麦的最优发酵工艺：接种量为 2%，料液比为 1∶6 g/mL，在 30 ℃ 下发酵燕麦 6 h。在此工艺条件下发酵燕麦醇/水提物的抗氧化活性及其对糖、脂代谢关键酶活性抑制作用均显著高于未发酵组。发酵燕麦中新增代表性酚类物质肉桂酸能够以羧酸基团（-COOH）的羟基 H 作为供体，羰基 O 作为受体，通过氢键分别与糖、脂代谢关键酶中 Lys、Pro、Arg、Glu 等氨基酸残基结合，影响底物结合结构域、催化活性中心等，从而抑制糖、脂代谢关键酶活性。

综上，本研究建立了可显著富集 β-葡聚糖的乳酸菌发酵燕麦优化工艺，明确了乳酸菌发酵燕麦的生物学活性。研究可为利用燕麦开发改善糖、脂代谢的谷物基功能性食品提供可参考的依据。但本研究还存在一些不足：发酵燕麦的体内抗氧化和调节糖、脂代谢作用效果及作用机制还需深入研究，以进一步探究发酵燕麦的实际转化潜力。另外，分子对接结果还需结合其他分析技术进一步验证发酵燕麦抑制糖、脂代谢关键酶活性的分子机制。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] JI Tengteng, FANG Bing, ZHANG Ming, et al. Oat β-glucan inhibited obesity in mice though stem cell remodeling[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 311: 143747.

[2] ZHOU Dandan, KEI N, CHEUNG P C K. Prebiotic oat β-glucan ameliorates metabolic dysfunction-associated steatohepatitis in a dose-dependent manner[J]. Food Bioscience, 2025, 71: 107154.

[3] SHI Shaoqi, LIU Yan, LI Xiaoxia, et al. Oat β-Glucan and *Lacticaseibacillus paracasei* K56 synergistically ameliorate hypercholesterolemia in mice by modulating gut microbiota and bile acid metabolism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 315: 144420.

[4] NEMES S A, FĂRCAS A C, RANGA F, et al. Enhancing phenolic and lipid compound production in oat bran via acid pretreatment and solid-state fermentation with *Aspergillus niger*[J]. New Biotechnology, 2024, 83: 91−100.

[5] YAN Mengqiu, JIANG Xingyi, LIU Yanfang, et al. Comprehensive evaluation of *Ganoderma lucidum* fermented grains: Nutritional, functional, and safety aspects[J]. Food Bioscience, 2025, 65: 106086.

[6] LI Yueqin, ZHANG Yunzhen, DONG Lezhen, et al. Fermentation of *Lactobacillus fermentum* NB02 with feruloyl esterase production increases the phenolic compounds content and antioxidant properties of oat bran[J]. Food Chemistry, 2024, 437: 137834.

[7] YU Qian, QIAN Jiaqin, XU Qinwei, et al. Integration of cross-correlation analysis and untargeted flavoromics reveals unique flavor formation of lactic acid bacteria co-fermented oat beverage[J]. Food Bioscience, 2024, 59: 103855.

[8] SUN Juan, XUE Lamei, AL-ANSI W, et al. Metabolic profiling and amino acid evolution in fermented oats: Insights from UPLC-MS/MS and PLS-DA analysis[J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106172.

[9] KÜTT M L, ORGUSAAR K, STULOVA I, et al. Starter culture growth dynamics and sensory properties of fermented oat drink[J]. Heliyon, 2023, 9(5): e15627.

[10] 胡童霞, 张楠, 朱鑫麗, 等. 荞麦蜂花粉多酚对 α-淀粉酶的抑制作用[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(6): 930−937. [HU T X, ZHANG N, ZHU X L, et al. Inhibitory effect of buckwheat bee pollen polyphenols on α-amylase[J]. Natural Products Research and Development, 2024, 36(6): 930−937.]

[11] LIU Ruonan, PEI Zhuo, LIU Dongmei, et al. Natural inhibitor combinations targeting α-amylase and α-Glucosidase: A

food-derived strategy for safer type 2 diabetes management[J]. Food Bioscience, 2025, 71: 107116.
[12] 吴迪. 燕麦生物碱的加工调控及其对淀粉葡萄糖苷酶抑制效果评价[D]. 无锡: 江南大学, 2023. [WU D. Processing regulation of oat alkaloids and evaluation of their inhibitory effect on starch glucosidase[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.]
[13] 罗渡. 微生物共发酵燕麦多酚的释放调控及体外降糖活性研究[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2023. [LUO D. Regulation of release and *in vitro* hypoglycemic activity of aat polyphenols in microbial co-fermentation[D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2023.]
[14] 江慧斌, 聂攀, 吕玮, 等. 藜麦与黑大麦复合谷物发酵富集多酚和黄酮工艺优化及其生物有效性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(6): 150-160. [JIANG H B, NIE P, LU W, et al. Research on process optimization and bioavailability of polyphenol and flavonoid enrichment through fermentation of quinoa and black barley complex grains[J]. Food Industry Science and Technology, 2024, 45(6): 150-160.]
[15] IBRAHIM M S, NADEEM M, SULTAN M, et al. Techno-functional characteristics, mineral composition and antioxidant potential of dietary fiber extracted by sonication from different oat cultivars (*Avena sativa*)[J]. Future Foods, 2024, 9: 100349.
[16] 彭璐. 发芽对乳酸菌发酵豆浆生理活性及大豆植物酸奶品质的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2022. [PENG L. The influence of germination on the physiological activity of *Lactobacillus*-fermented soy milk and the quality of soy plant yogurt[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.]
[17] 林伟静, 吴广枫, 王强, 等. 燕麦及其制品 β-葡聚糖含量测定方法比较[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 417−420. [LIN W J, WU G F, WANG Q, et al. Comparison of determination methods for β-glucan content in oats and their products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(6): 417−420.]
[18] 胡爱玲, 杨婉婷, 马利华. 燕麦酵素的营养性及其对 α-淀粉酶活性抑制效果的研究[J]. 保鲜与加工, 2023, 23(1): 57−62. [HU A L, YANG W T, MA L H. Study on the nutritional value of oat enzyme and its inhibitory effect on α-amylase activity[J]. Preservation & Processing, 2023, 23(1): 57−62.]
[19] 姚芬, 刘红霞, 范秀芝, 等. 不同加工方式对体外模拟胃肠消化香菇活性物质含量及活性的影响[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 183−192. [YAO F, LIU H X, FAN X Z, et al. The effects of different processing methods on the content and activity of active substances *in vitro* simulated gastrointestinal digestion of shiitake mushrooms[J]. Food Science, 2025, 46(2): 183−192.]
[20] 林书宇, 张召, 熊尧, 等. 植物乳杆菌发酵黄芪提高抗氧化与抗炎功效[J/OL]. 食品工业科技: 1−16[2025-07-09]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025020274. [LIN S Y, ZHANG Z, XIONG Y, et al. Improvement of antioxidant and anti-inflammatory effects of *Astragalus membranaceus* fermented by *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Industry Science and Technology: 1−16[2025-07-09]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025020274.]
[21] 任志龙, 吕俊丽. 发酵对荞麦多酚及抗氧化活性生物可及性的影响[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(7): 76−85. [REN Z L, LÜ J L. The influence of fermentation on the bioaccessibility of oat polyphenols and antioxidant activity[J]. Journal of Cereals, Oils and Foodstuffs, 2024, 39(7): 76−85.]
[22] 陈宇, 刘义, 吴晓琼, 等. 薏仁米发酵富集总多酚的工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(23): 108−116. [CHEN Y, LIU Y, WU X Q, et al. Process optimization of fermentation enrichment of total polyphenols in coix seed and its antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 2024, 45(23): 108−116.]
[23] 邹加利, 吕俊丽, 云月英, 等. 没食子酸对 α-淀粉酶的抑制机理[J/OL]. 食品工业科技: 1−14[2025-07-10]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024110032. [ZOU J L, LÜ J L, YUN Y Y, et al. The inhibitory mechanism of gallic acid on α-amylase[J]. Food Industry Science and Technology: 1−14[2025-07-10]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024110032.]
[24] 李玲玲, 刘雪, 邱泽天, 等. 植物多酚的微生物合成[J]. 生物工程学报, 2021, 37(6): 2050−2076. [LI L L, LIU X, QIU Z T, et al. Microbial synthesis of plant polyphenols[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2021, 37(6): 2050−2076.]
[25] 聂攀, 吕玮, 陆军, 等. 利用 *Lactobacillus kisonensis* 发酵藜麦-黑燕麦复合谷物富集多酚及黄酮的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 208−216. [NIE P, LÜ W, LU J, et al. Process optimization for enrichment of polyphenols and flavonoids in quinoa - black oat complex grains fermented with *Lactobacillus kisonensis*[J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(1): 208−216.]
[26] 郭楠楠, 张心茹, 张杰. 响应面法优化陈皮蜂蜜酒发酵工艺[J]. 中国酿造, 2025, 44(6): 205−211. [GUO N N, ZHANG X R, ZHANG J. Optimization of the fermentation process of aged tangerine peel honey wine by response surface method[J]. China Brewing, 2025, 44(6): 205−211.]
[27] 罗莹, 张志军, 刘连强, 等. 灵芝固态发酵对谷物培养基营养成分的影响[J]. 中国食用菌, 2022, 41(5): 79−85. [LUO Y, ZHANG Z J, LIU L Q, et al. Effects of solid-state fermentation of *Ganoderma lucidum* on nutritional components of cereal culture medium[J]. Chinese Edible Fungi, 2022, 41(5): 79−85.]
[28] 班世栋, 宗春阳, 王晓丹, 等. 植物乳植杆菌发酵多花黄精提高多糖产量工艺优化及其体外益生元活性[J/OL]. 食品工业科技: 1−18[2025-07-09]. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025030047. [BAN S D, ZONG C Y, WANG X D, et al. Optimization of process for increasing polysaccharide yield by fermentation of *Polygonatum siflorum* with *Lactobacillus plantarum* and its *in vitro* prebiotic activity[J/OL]. Food Industry Science and Technology:1−18[2025-07-09].https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025030047.]
[29] 朱芙蓉, 王霜秀, 毛德源, 等. 超声辅助提取芒果核中芒果苷的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 161−167. [ZHU F R, WANG S X, MAO D Y, et al. Process optimization of ultrasound-assisted extraction of Mangiferin from Mango seeds[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 161−167.]
[30] ZHOU Peng, LI Tingting, ZHAO Jiajia, et al. Evaluation of α-glucosidase inhibitory ability: Insights from free and bound polyphenols in five grain brans[J]. Food Research International, 2025, 218: 116837.
[31] ZHANG Zheng, WANG Jingli, HAO Yunpeng, et al. Effects of *Lactobacillus* fermentation on the composition, existing forms, digestive characteristics, and antioxidant activity of polyphenols in three kinds of bean milk[J]. Food Bioscience, 2025, 68: 106482.
[32] ZHANG Wanting, YANG Xiaomin, XU Yan, et al. Effect of lactic acid bacteria fermentation on biotransformation of phenolic

compounds and bioactivities of hawthorn pulp based on metabolomics[J]. Process Biochemistry, 2025, 153: 304−314.

[33] ZHOU Hongchi, WANG Sixuan, LIU Weichao, et al. Probiotic properties of *Lactobacillus paraplantarum* LS-5 and its effect on antioxidant activity of fermented sauerkraut[J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102489.

[34] 谭婉, 卫阳飞, 李枫林, 等. 黑果枸杞果实多糖的超声辅助双水相萃取工艺优化、单糖组成分析及胰脂肪酶抑制活性评价[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 158−168. [TAN W, WEI Y F, LI F L, et al. Optimization of ultrasound-assisted dual-aqueous phase extraction process for polysaccharides from black goji berries, analysis of monosaccharide composition and evaluation of pancreatic lipase inhibitory activity[J]. Food Industry Science and Technology, 2024, 45(22): 158−168.]

[35] WU Zhicheng, XU Jingbing, RUAN Jinggang, et al. Probing the mechanism of interaction between capsaicin and myofibrillar proteins through multispectral, molecular docking, and molecular dynamics simulation methods[J]. Food Chemistry: X, 2023, 18: 100734.

[36] BORAH B, GOMTI DEVI T. Vibrational study on the molecular interaction of L-Proline and Para-Aminobenzoic acid[J]. Journal of Molecular Structure, 2020, 1203: 127396.

[37] 缪可嘉, 王正祥. 淀粉酶系中淀粉结合域的结构和功能的研究进展[J]. 食品工业科技, 2007(3): 242−245. [MIAO K J, WANG Z X. Research progress on the structure and function of starch binding domains in the amylase system[J]. Food Industry technology, 2007(3): 242−245.]