

余青松, 马欣龙, 陈玉霞, 等. 茯苓菌固态发酵香菇柄基质的酶活力、营养成分及抗氧化活性变化[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(4): 230-238. DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.04.025

茯苓菌固态发酵香菇柄基质的酶活力、 营养成分及抗氧化活性变化

余青松¹, 马欣龙¹, 陈玉霞¹, 胡国元^{1,2}

1. 武汉工程大学环境生态与生物工程学院/绿色化工过程教育部重点实验室, 武汉 430205;

2. 湖北裕国菇业股份有限公司/湖北省香菇产业技术研究院, 随州 441300

摘要 为了探究茯苓菌丝体能否发酵利用香菇柄基质并提高其营养价值和生物活性, 以香菇柄基质为培养基, 对茯苓菌固态发酵过程中的关键酶活力、主要营养成分及其发酵基质水提物的抗氧化活性进行测定。结果显示, 随着发酵过程的进行, 纤维素外切酶活力在发酵6 d时达46.14 U/g, 随后快速降低至17.15 U/g, 到发酵18 d时基本保持不变; 羧甲基纤维素酶和木聚糖酶活力在发酵12 d时分别达77.70 U/g和74.23 U/g, 随后逐渐降低; β -葡萄糖苷酶活力在发酵18 d时达75.06 U/g, 随后逐渐降低。与未发酵的香菇柄基质相比, 发酵基质中总糖、可溶性蛋白和不溶性膳食纤维的含量明显下降, 但还原糖、多糖、总酚、总黄酮、氨基酸氮和可溶性膳食纤维含量显著提升。发酵基质水提物的抗氧化活性显著提高, DPPH自由基清除率和羟自由基清除率分别较发酵0 d时提高了97.75%和38.15%。研究结果表明茯苓菌可以发酵香菇柄, 改变香菇柄的营养成分构成且发酵基质具有较好的自由基清除能力。

关键词 茯苓; 香菇柄; 固态发酵; 酶活力; 营养成分; 抗氧化活性

中图分类号 TS201.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)04-0230-09

香菇(*Lentinula edodes*)味道鲜美, 营养丰富, 在世界范围内都是广泛栽培的食用菌之一, 并且在食用菌产业中占据举足轻重的地位^[1]。香菇柄是香菇加工过程中的副产物, 约占香菇总质量的25%~30%^[2], 香菇柄含有大量的营养活性成分, 其营养成分除了纤维素比香菇盖明显高以外, 其他营养成分都只稍低于香菇盖的含量^[3]。但由于香菇柄粗纤维含量高、适口性差, 在加工过程中未被充分利用, 造成了资源浪费^[4]。近年来, 人们对香菇柄资源的开发和利用越来越多。

茯苓(*Poria cocos*)是一味食药两用真菌, 具有多种生物活性, 例如健脾、降脂、抗肿瘤、免疫调节及抗氧化等^[5-6]。现阶段, 人们对茯苓菌核的利用较多, 并且由于茯苓菌具有较强的降解纤维素、木质素等天然大分子物质的能力, 还可以采用其菌丝体进行液态或固态发酵。王谦等^[7]以茯苓固态发酵香菇柄和山楂叶的复合培养基, 确定出最优的茯苓发酵条件, 发酵体系的多糖含量及氨基酸含量均高于未发

酵的复合培养基。李佳欢等^[8]以茯苓菌固态发酵小麦基质, 发酵后的小麦基质总糖质量分数明显下降, 但还原糖、多糖、三萜的质量分数显著提升, 小麦的营养结构经过茯苓固态发酵发生了明显的改变。目前关于茯苓固态发酵过程中香菇柄基质的主要营养成分的变化未见报道。

为了探讨茯苓菌丝体是否能发酵利用香菇柄基质并提高其营养价值和生物活性, 本研究以香菇柄粉制备固态培养基, 采用茯苓菌固态发酵技术, 初步分析茯苓菌固态发酵过程中关键酶活性的变化, 并探讨酶活变化与产物营养成分变化之间的关系及其发酵基质水提物抗氧化活性的变化, 以期香菇柄功能性产品开发提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试香菇柄由湖北省随州裕国菇业股份有限公

收稿日期: 2024-06-13

基金项目: 湖北省乡村振兴科技支撑项目(2022BBA144)

余青松, E-mail: 2432008967@qq.com

通信作者: 胡国元, E-mail: hgy701@163.com

司提供;茯苓菌株Z1由湖北省中医药研究院王克勤研究员惠赠,笔者所在实验室保藏;硫酸购自西陇科学股份有限公司;苯酚、无水乙醇、盐酸、水杨酸、福林酚均购自国药集团化学试剂有限公司;DPPH自由基购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

DSX-24L-1型手提式高压蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂制造;LBC-300g型电子天平,昆山钰恒电子衡器有限公司产品;SW-CJ-1FD型无菌操作台,苏州净化设备有限公司产品;LH-08B型连续流粉碎机,吉首市中诚制药机械厂产品。

1.3 试验方法

1)培养基制备。①土豆葡萄糖琼脂培养基制备^[9]:土豆200g切小块,煮沸30min,纱布过滤,加入葡萄糖20g、琼脂20g,定容至1000mL,121℃灭菌20min,此培养基用于茯苓菌的活化;②香菇柄基质培养基制备:60℃烘干的香菇柄,粉碎,过孔径0.85mm筛,按料液质量比1:1加入蒸馏水,搅拌混匀,将混匀的香菇柄粉分装于培养皿中,每个培养皿分装25g,铺平,121℃灭菌20min。

2)固态发酵与样品处理。将活化好的茯苓菌丝块接种于经灭菌冷却后的培养皿中的香菇柄基质培养基上,每个培养皿接种3块1cm×1cm的茯苓菌丝块,用封口膜封住后置于26℃恒温培养箱中培养,每隔6d观察记录菌丝生长情况,培养30d结束发酵。分别收集0、6、12、18、24、30d的发酵基质,置于60℃烘箱烘干,粉碎,过孔径0.30mm筛,得到的供试样品置于干燥器中保存以备后续营养成分测定。所有试验设置3个平行。

3)粗酶液的制备。参照申春莉^[10]的方法略作修改:分别收集发酵6、12、18、24、30d的发酵基质,混合均匀后称取5g于研钵中,冰浴条件下研磨10min,随后转移至锥形瓶,加入100mL 0.1mol/L的醋酸-醋酸钠缓冲溶液,在25℃、150r/min摇床恒温振荡30min,离心取上清液用于相关酶活的测定。

4)发酵基质水提物的制备。参照Wang等^[11]的方法略作修改:分别称取3g上述供试样品,按照料液比1:30(m/V)加入蒸馏水后,在50℃下超声提取1h,过滤,定容至100mL。

1.4 酶活力测定

1)羧甲基纤维素酶活力测定。参照申春莉^[10]的方法采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定羧甲基纤维素酶的活力,以0.5%的CMC-Na溶液为底物。

50℃1min生成1μg葡萄糖所需酶量为1个酶活力单位(U)。

2)纤维素外切酶、β葡萄糖苷酶活力测定。分别以2%的微晶纤维素、0.5%的水杨苷溶液代替0.5%的CMC-Na溶液,测定方法及酶活单位定义同本文“1.4酶活力测定1)”。

3)木聚糖酶活力测定。参照申春莉^[10]的方法采用DNS法测定木聚糖酶的活力,以1%木聚糖溶液为底物。1mL粗酶液在50℃的条件下,1min产生1μg木糖所需要的酶量为1个活力单位(U)。参照GB/T 23874—2009《饲料添加剂木聚糖酶活力的测定 分光光度法》绘制木糖标准曲线: $Y=0.2569X+0.0198$, $R^2=0.9987$ 。

1.5 主要营养成分测定

1)总糖含量测定。供试样品中总糖含量测定参照GB/T 15672—2009《食用菌中总糖含量的测定》进行,以葡萄糖进行标准曲线的绘制: $Y=10.4650X+0.0451$, $R^2=0.9994$ 。

2)还原糖含量测定。供试样品中还原糖待测溶液的制备参照文献^[12]的方法。测定方法参照NY/T 2742—2015《水果及制品可溶性糖的测定》,以3,5-二硝基水杨酸比色法绘制还原糖的标准曲线: $Y=3.1122X-0.0684$, $R^2=0.9997$ 。

3)多糖含量测定。供试样品中多糖含量参照SN/T 4260—2015《出口植物源食品中粗多糖的测定》中的苯酚-硫酸法进行测定。

4)总酚含量测定。参照魏倩婷^[13]的方法处理样品制备总酚的待测溶液。称取1g供试样品放入锥形瓶中,按料液比1:20(m/V)加入20mL 70%的乙醇溶液,置于50℃恒温水浴中浸提1.5h,充分提取,在4℃下8000r/min离心10min,取上清液定容于50mL容量瓶。参照姚韶华^[14]的方法绘制总酚的标准曲线: $Y=10.860X-0.027$, $R^2=0.9996$ 。

5)总黄酮含量测定。参照杨萌等^[15]的方法略作修改制备总黄酮的待测溶液。称取1g供试样品,加入20mL 75%的乙醇溶液,在温度为55℃的超声清洗器中提取1h。加入0.14mL pH 5.0的磷酸缓冲溶液,加入0.012g纤维素酶,在70℃下酶解2h,1mol/L的NaOH灭活,过滤取上清液,在510nm下测定吸光度。参照宋超男^[16]的方法绘制黄酮的标准曲线: $Y=0.0196X+0.0028$, $R^2=0.9992$ 。

6)可溶性蛋白含量测定。参照杨岚等^[17]的方法

略作修改制备可溶性蛋白的待测溶液。称取1 g供试样品于研钵中,加15 mL蒸馏水,研磨成匀浆,转移到50 mL离心管中,常温超声60 min,4 ℃、10 000 r/min离心10 min后取上清液。参照程雅清^[18]的方法绘制可溶性蛋白的标准曲线: $Y=6.5100X+0.1208$, $R^2=0.9942$ 。

7)氨基态氮含量测定。参照廖姿莹等^[19]的方法测定供试样品中氨基态氮含量。

8)不溶性膳食纤维含量测定。参照宛超等^[20]的方法测定发酵基质中不溶性膳食纤维的含量。称取2 g供试样品,按料液比1:20(m/V)加入纯水后调节pH至7.0,纤维素酶添加量1.0%,酶解温度60 ℃,酶解时间80 min,置于超声清洗仪中超声提取30 min,抽滤后滤渣即为不溶性膳食纤维。

9)可溶性膳食纤维含量测定。可溶性膳食纤维提取步骤同不溶性膳食纤维,抽滤后可得可溶性膳

食纤维提取液,加入试样4倍体积的95%乙醇溶液,醇沉10 h,将醇沉后的溶液进行抽滤,收集滤渣,烘干至恒质量,即为可溶性膳食纤维。

1.6 抗氧化活性测定

DPPH自由基清除率的测定参照李秋阳^[21]的方法。羟自由基清除率的测定参照Chen等^[22]的方法。

1.7 数据处理

试验数据采用SPSS 27.0.1软件进行统计分析。使用Origin 2021软件绘制图表。

2 结果与分析

2.1 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中菌丝生长情况

茯苓菌固态发酵香菇柄基质过程中菌丝的生长情况如图1所示。茯苓菌丝呈白色,发酵12 d时可长满培养皿,且密度随着发酵时间的延长而逐渐升高,发酵30 d后菌丝密度变化不明显。

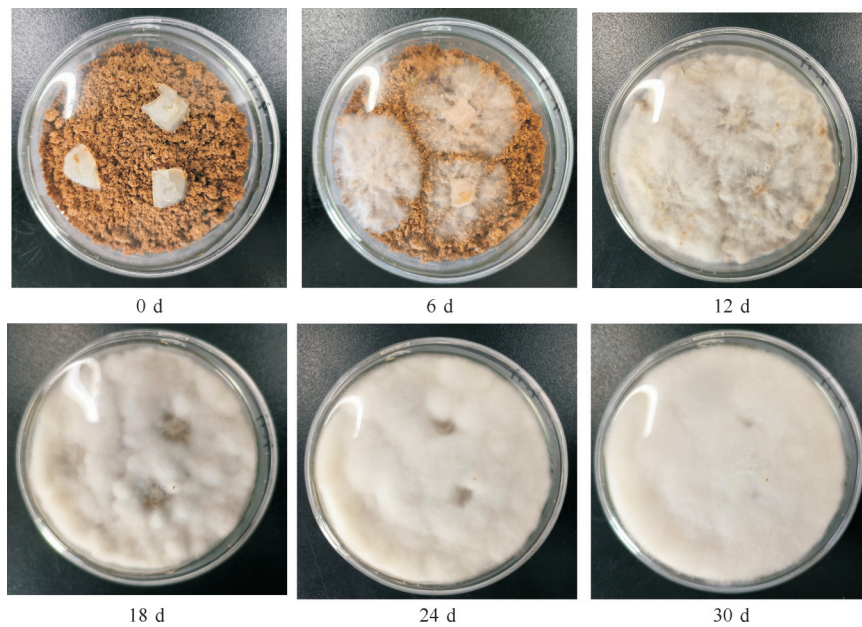


图1 固态发酵过程中茯苓菌丝的生长情况

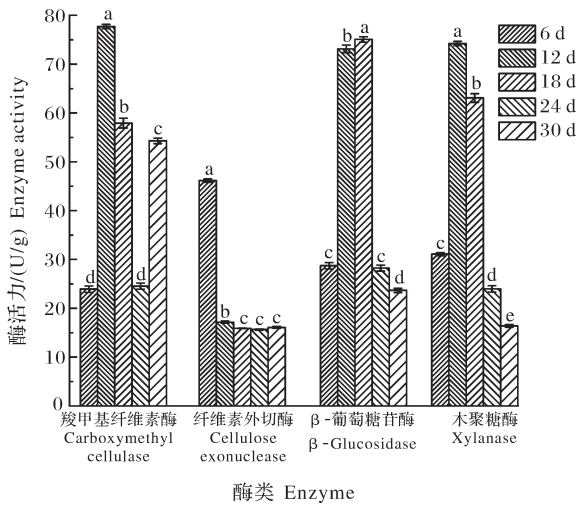
Fig.1 Growth of mycelia of *P. cocos* during the solid-state fermentation

2.2 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中酶活力变化

茯苓菌固态发酵过程中纤维素酶和半纤维素酶活力变化如图2所示。纤维素外切酶作用于纤维素链的末端,可以使纤维素链分解,产生纤维糊精和纤维二糖,由图2可知,纤维素外切酶活力在发酵6 d时达46.14 U/g,随后快速降低至17.15 U/g,发酵18 d后,随着发酵时间的延长,纤维素外切酶活力变化不大。羧甲基纤维素酶能够将 β -1,4-糖苷键水解,使长链纤维素水解为短链纤维素,羧甲基纤维素酶活力在发酵6~12 d增长最快并达到77.70 U/g,12 d之

后,羧甲基纤维素酶活力开始逐渐降低。 β -葡萄糖苷酶作用于纤维二糖,其活力在发酵6~12 d增长最快,发酵18 d达到75.06 U/g,随后开始逐渐降低,可能是由于在发酵12 d之后,还原糖一直保持在较高水平,由于“葡萄糖效应”,使 β -葡萄糖苷酶活力逐渐下降。

香菇中木聚糖的含量可达0.6 g/100 g,由图2可知,木聚糖酶活力呈先上升后下降的趋势,在发酵6~12 d显著提高,12 d时可达74.23 U/g,12 d之后,随着发酵时间的延长,木聚糖酶活力逐渐降低,说明香菇柄基质中的木聚糖被逐渐消耗。



图中不同小写字母表示不同组之间差异显著($P<0.05$)。下同。
Data with different superscript letters were significantly different ($P<0.05$). The same as below.

图2 茯苓菌固态发酵过程中羧甲基纤维素酶、纤维素外切酶、β-葡萄糖苷酶和木聚糖酶活力

Fig.2 Activity of carboxymethyl cellulase, cellulose exonuclease, β-glucosidase and xylanase during the solid-state fermentation of *P. cocos*

2.3 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中总糖、还原糖和多糖含量的变化

茯苓菌固态发酵过程中总糖、还原糖和多糖的含量变化如图3所示。香菇柄基质中总糖含量随发酵时间的延长而不断降低,发酵0 d香菇柄基质总糖含量高达50%,在发酵0~18 d,总糖被迅速消耗,18 d时总糖含量仅为38.56%,结合发酵过程中的酶活力变化可知,在这个阶段,茯苓菌的代谢旺盛,纤维素酶和木聚糖酶的活力在该阶段大幅提升,香菇柄基质中的纤维素和半纤维素被大量消耗,总糖含量迅速降低。在发酵18 d之后,总糖含量下降速率减缓,一方面是由于香菇柄基质中的纤维素酶和木聚糖酶活力降低,另一方面是由于茯苓菌丝的大量生长,茯苓菌丝在总糖方面有所贡献。

由图3可知,发酵过程中还原糖含量呈先上升后下降的趋势,发酵0 d香菇柄基质中还原糖含量仅为0.22%,发酵12 d时还原糖含量可达14.33%。在0~12 d时,茯苓菌丝生长较快,大量纤维素、半纤维素被转化为还原糖为茯苓菌丝生长所利用,12 d之后,还原糖含量略有下降,表明茯苓菌对香菇柄基质中的纤维素和半纤维素利用率降低。

由图3可知,在发酵过程中,香菇柄发酵基质中的多糖含量呈先增后减的趋势。多糖含量在发酵6~18 d内大幅上升,含量由6.18%上升至10.66%,

这一阶段,茯苓菌丝生长迅速,香菇柄基质中的大量纤维素和半纤维素被酶分解为单糖和多糖等,香菇柄中的多糖被释放出来,同时茯苓菌丝也会合成多糖,从而导致发酵基质中多糖含量逐渐提高。18 d之后,由于香菇柄中的纤维素等成分降解趋缓,香菇柄中释放出的多糖也会诱导茯苓菌产生降解多糖的酶,使发酵基质中多糖含量开始略有下降。

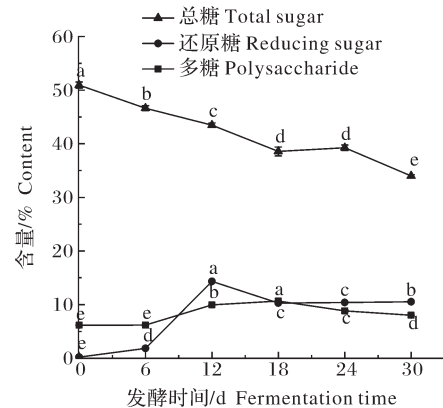


图3 茯苓菌固态发酵过程中总糖、还原糖和多糖含量

Fig.3 Content of total sugar, reducing sugar and polysaccharide contents during the solid-state fermentation of *P. cocos*

2.4 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中总酚和总黄酮含量的变化

由图4可知,发酵过程中总酚含量呈先下降后上升的趋势,在发酵0~6 d,总酚含量略有降低,可能是由于香菇柄基质中的酚类物质被氧化,6 d之后,总酚含量迅速增加,发酵到30 d时,可达2.42 mg/g,含量为发酵0 d香菇柄基质的2.22倍,一方面可能是由于直接结合到香菇柄细胞壁的多酚类物质或者以酯键与多糖、蛋白质等相结合的多酚复合物等成分被发酵过程中产生的酶类物质分解,使得结合酚类物质被释放出来,另一方面可能是由于茯苓菌丝产生了多酚类物质,导致发酵基质中的总酚含量升高。

由图4可知,发酵过程中总黄酮含量呈先上升后下降的趋势,在发酵0~6 d,总黄酮含量基本保持不变,6 d之后,总黄酮含量快速增加,在18 d时达到最大值,为1.01 mg/g,含量为发酵0 d香菇柄基质的3.06倍,可能是由于在相关酶系的作用下,香菇柄的细胞壁结构被破坏,促进了黄酮的释放。18 d之后,黄酮含量逐渐下降,这可能与在发酵后期相关酶活力降低有关,也可能与一些黄酮类物质在发酵后期被茯苓代谢利用有关。

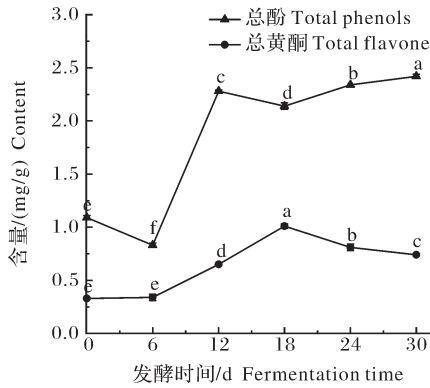


图4 茯苓菌固态发酵过程中总酚和总黄酮含量
Fig.4 Content of total phenols and total flavone during the solid-state fermentation of *P. cocos*

2.5 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中可溶性蛋白和氨基态氮含量的变化

茯苓菌固态发酵过程中可溶性蛋白含量和氨基态氮含量变化如图5所示。可溶性蛋白含量呈先下降后上升的趋势,在发酵0~6 d时,可溶性蛋白含量由1.49 mg/g降低至0.37 mg/g,可能是由于在这一阶段茯苓菌丝生长利用了可溶性蛋白,6~18 d时,可溶性蛋白含量逐渐升高,一方面可能是由于茯苓菌固态发酵使香菇柄中的可溶性蛋白释放出来,另一方面可能是茯苓菌合成了新的可溶性蛋白。发酵过程中氨基态氮含量呈先上升后下降的趋势,在发酵18 d时,可达9.6 mg/g,为未发酵香菇柄基质的2.65倍,可能是由于在发酵过程中可溶性蛋白等水解产生了氨基态氮,18 d之后,氨基态氮含量逐渐降低。

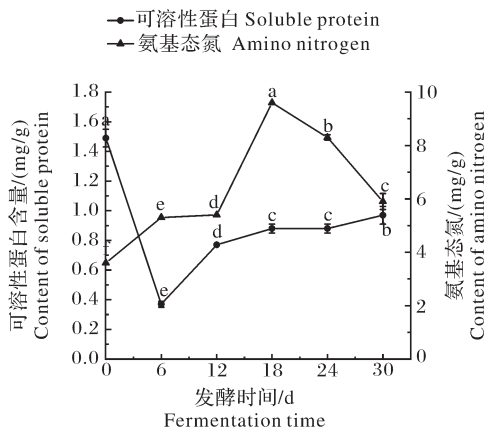


图5 茯苓菌固态发酵过程中可溶性蛋白和氨基态氮含量
Fig.5 Content of soluble protein and amino nitrogen during the solid-state fermentation of *P. cocos*

2.6 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中膳食纤维含量的变化

由图6可知,在发酵0~12 d时,可溶性膳食纤维

含量由1.51%上升至5.05%,不溶性膳食纤维含量由53.89%下降至37.36%,可能是由于茯苓菌固态发酵过程中产生的纤维素酶和半纤维素酶,使部分不溶性膳食纤维降解转化为可溶性膳食纤维。发酵12 d之后,可溶性膳食纤维含量降低,可能是由于茯苓菌丝生长过程中利用了部分可溶性膳食纤维,而不溶性膳食纤维含量上升,则是由于12 d之后,茯苓菌丝体大量生长导致的。

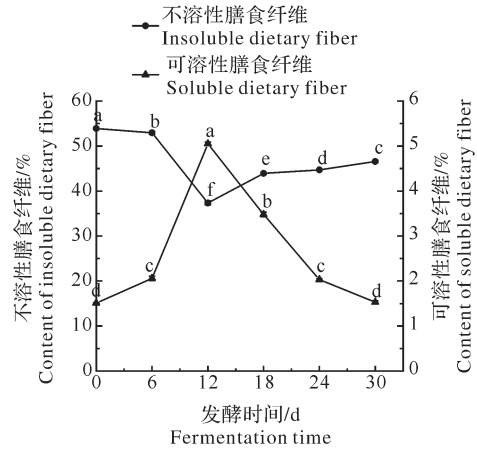


图6 茯苓菌固态发酵过程中不溶性膳食纤维和可溶性膳食纤维含量

Fig.6 Content of insoluble dietary fiber and soluble dietary fiber during the solid-state fermentation of *P. cocos*

2.7 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中关键酶活力与营养成分变化相关性分析

由表1可知,在整个发酵过程中总糖含量的变化与纤维素外切酶活力变化呈极显著正相关($P < 0.01$);还原糖含量的变化与羧甲基纤维素酶活力变化呈极显著正相关($P < 0.01$),与纤维素外切酶活力变化呈极显著负相关($P < 0.01$);多糖含量的变化与 β -葡萄糖苷酶活力变化呈极显著正相关($P < 0.01$),与羧甲基纤维素酶活力和木聚糖酶活力变化呈显著正相关($P < 0.05$),与纤维素外切酶活力变化呈极显著负相关($P < 0.01$);总酚、总黄酮和可溶性蛋白含量的变化均与纤维素外切酶活力变化呈极显著负相关($P < 0.01$);不溶性膳食纤维含量的变化与羧甲基纤维素酶活力和纤维素外切酶活力变化均呈极显著负相关($P < 0.01$),与 β -葡萄糖苷酶活力和木聚糖活力呈显著负相关($P < 0.05$);可溶性膳食纤维含量的变化与纤维素外切酶活力变化呈显著负相关($P < 0.05$)。由此可见,茯苓菌可以通过纤维素酶和半纤维素酶固态发酵香菇柄基质,并改变发酵基质原有的营养成分构成。

表1 茯苓菌固态发酵过程中关键酶活力与营养成分变化相关性
Table 1 Correlation of enzyme activity and nutritional components during the solid-state fermentation of *P. cocos*

营养成分 Nutritional components	羧甲基纤维素酶 Carboxymethyl cellulase	纤维素外切酶 Cellulose exonuclease	β -葡萄糖苷酶 β -Glucosidase	木聚糖酶 Xylanase
总糖 Total sugar	-0.154	0.700**	0.208	0.395
还原糖 Reducing sugar	0.753**	-0.912**	0.518	0.456
多糖 Polysaccharide	0.677*	-0.806**	0.811**	0.699*
总酚 Total phenols	0.528	-0.986**	0.239	0.117
总黄酮 Total flavone	0.347	-0.855**	0.433	0.234
可溶性蛋白 Soluble protein	0.427	-0.953**	0.153	-0.015
氨基态氮 Amino nitrogen	-0.091	-0.483	0.332	0.155
不溶性膳食纤维 Insoluble dietary fiber	-0.793**	-0.759**	-0.699*	-0.687*
可溶性膳食纤维 Soluble dietary fiber	-0.114	-0.654*	-0.043	0.255

注：**表示在 $\alpha=0.01$ 水平上极显著相关；*表示在 $\alpha=0.05$ 水平上显著相关。Note: ** indicates extremely significant correlation at 0.01 level; * indicates significant correlation at 0.05 level.

2.8 茯苓菌发酵香菇柄基质过程中抗氧化活性的变化

利用DPPH自由基清除率和羟自由基清除率对发酵过程中发酵基质水提物的抗氧化活性进行评价,结果如图7所示。茯苓发酵可以显著提高香菇柄基质水提物的抗氧化活性,其中,DPPH自由基清除率随发酵时间延长而不断提高,发酵30 d时可达92.47%,较发酵0 d香菇柄基质水提物提高了97.75%;羟自由基清除率在发酵30 d时可达92.70%,较发酵0 d香菇柄基质水提物提高了38.15%。茯苓发酵过程中香菇柄基质的主要成分发生变化,会导致发酵基质水提物的抗氧化活性改变。

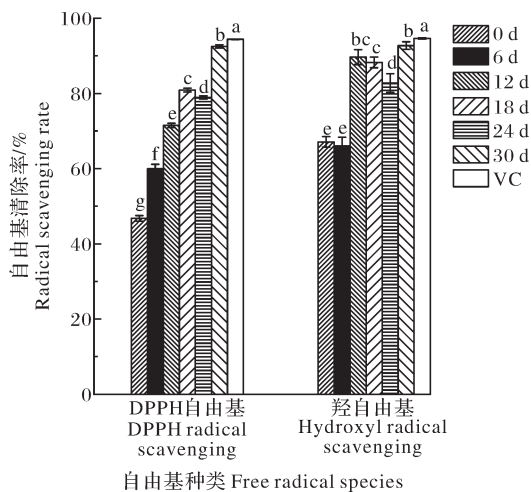


图7 茯苓菌固态发酵过程中DPPH自由基清除率和羟自由基清除率

Fig.7 DPPH radical scavenging rate and hydroxyl radical scavenging rate during the solid-state fermentation of *P. cocos*

3 讨论

糖类是茯苓菌在生长过程中的主要碳源和能量来源,茯苓菌能够在香菇柄基质上生长,首先要分泌可以降解纤维素和半纤维素的酶。本研究结果显示,发酵过程中纤维素酶和半纤维素酶活力的变化均呈现先升高后降低的趋势,且发酵基质中总糖、还原糖和多糖等的含量变化与这些酶活力变化具有相关性。管瑛等^[23]研究发现,豆渣固态发酵过程中纤维素酶活力随着发酵时间的延长而增加,与本研究结果不同,究其原因可能是所采用的发酵基质不同。吴萍等^[24]研究表明,杏鲍菇固态发酵过程中木聚糖酶活力变化呈先升高后降低的趋势,与本研究结果一致。严敏嘉等^[25]研究红曲固态发酵过程中糖类物质的动态变化,发现其总糖含量随着发酵时间的延长而不断降低,还原糖含量在发酵初期迅速增加,随后降低并逐渐趋于平缓,多糖含量呈现先增后减的趋势,这与本研究所得结果一致。

近年来,利用微生物固态发酵技术改良发酵基质的研究越来越多。Liu等^[26]以冬虫夏草固态发酵大豆、鹰嘴豆、黑豆、绿豆,随着发酵时间的延长,发酵基质的生物量和总酚含量显著增加,但总黄酮呈先升高后降低的趋势,这与本研究结果一致,且发酵提高了其DPPH自由基清除能力、ABTS自由基清除能力和铁还原抗氧化能力。宋琳琳等^[27]以香菇、平菇、羊肚菌、猴头菇、鸡腿菇5种食用菌固态发酵白芸豆,结果表明,经过食用菌固态发酵后,发酵基质灰分、蛋白质和总酚含量显著升高,碳水化合物含量显著降低,但是本研究结果表明茯苓菌发酵

香菇柄基质过程中,可溶性蛋白含量呈先降低后上升的趋势,发酵结束时可溶性蛋白含量比未发酵基质低,究其原因可能是发酵基质不同。阎欲晓等^[28]以黑曲霉固态发酵甘蔗叶,发酵后甘蔗叶中多酚、黄酮含量分别提高了92%和135%,且甘蔗叶发酵过程中酚类物质的释放量与纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶活力变化呈正相关,而本研究发酵基质中总酚和总黄酮含量的变化与纤维素外切酶活力变化呈极显著的负相关($P < 0.01$),与 β -葡萄糖苷酶活力变化没有显著的相关性($P > 0.05$),说明不同的发酵基质酚类物质的释放方式可能不同。马贺等^[29]以猴头菌固态发酵青稞基质培养基,探索发酵过程中游离态酚类、结合态酚类、黄酮类、 γ -氨基丁酸和 β -葡聚糖含量的变化并分析它们与发酵基质抗氧化能力的相关性,结果表明,发酵后提取物清除自由基能力增强,与活性成分含量增加及活性成分构型发生改变有关,本研究通过茯苓菌的固态发酵,香菇柄基质水提物的DPPH自由基和羟自由基清除能力增强,也可能与发酵香菇柄基质中的活性成分含量和活性成分构型改变有关。这些研究结果表明固态发酵能够改变发酵基质的营养成分构成,提高生物活性物质含量,提高抗氧化活性。本研究通过茯苓菌固态发酵香菇柄基质,发酵基质中还原糖、多糖、总酚、总黄酮、氨基态氮和可溶性膳食纤维含量显著提升,且发酵基质水提物的DPPH自由基清除率和羟自由基清除率显著提高。

综上,本研究结果表明以茯苓菌固态发酵香菇柄基质能够改变香菇柄基质原有的营养成分构成,且发酵基质水提物的抗氧化活性较未发酵基质明显提升。

参考文献 References

- [1] 孙艺嘉,郭孟配,王锦杰,等.中国香菇种质资源中主要真菌病毒的多重RT-PCR检测技术[J].微生物学通报,2019,46(6):1381-1389.SUN Y J, GUO M P, WANG J J, et al. Development of multiplex RT-PCR for the detection of two main mycoviruses infecting Chinese *Lentinula edodes* germplasm resource [J]. Microbiology China, 2019, 46 (6) : 1381-1389 (in Chinese with English abstract).
- [2] 孙宇晨,部建雯,张明,等.香菇柄功能成分协同降血脂活性研究[J].食品科技,2022,47(6):112-119.SUN Y C, BU J W, ZHANG M, et al. Synergistic hypolipidemic activity of functional components from *Lentinula edodes* stem [J]. Food science and technology, 2022, 47 (6) : 112-119 (in Chinese with English abstract).
- [3] 王琦,张立娟,王玥玮,等.香菇柄营养成分分析及高值化利用研究[J].食品研究与开发,2019,40(15):199-203.WANG Q, ZHANG L J, WANG Y W, et al. Nutrient composition analysis and high value utilization of *Lentinus edodes* stalk [J]. Food research and development, 2019, 40 (15) : 199-203 (in Chinese with English abstract).
- [4] LI S F, WANG A J, LIU L N, et al. Evaluation of nutritional values of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) stipes [J]. Journal of food measurement and characterization, 2018, 12 (3) : 2012-2019.
- [5] 张心玉,林玮,雷舒月,等.茯苓多糖和三萜类化合物药理作用研究进展[J].山东化工,2023,52(11):82-85.ZHANG X Y, LIN W, LEI S Y, et al. Research progress on pharmacological actions of *Poria cocos* polysaccharides and triterpenoids [J]. Shandong chemical industry, 2023, 52 (11) : 82-85 (in Chinese with English abstract).
- [6] 徐德宏,谭朝阳,郑慧,等.茯苓功效成分茯苓酸的研究进展[J].食品科学,2022,43(7):273-280.XU D H, TAN C Y, ZHENG H, et al. Progress in research on the bioactive component pachymic acid from *Poria cocos* [J]. Food science, 2022, 43 (7) : 273-280 (in Chinese with English abstract).
- [7] 王谦,安雪,刘敏.以香菇柄为主料固态发酵茯苓菌[J].食品科技,2014,39(6):40-42.WANG Q, AN X, LIU M. Solid fermented *Poria cocos* with foot body of *Lentinus edodes* as main ingredient [J]. Food science and technology, 2014, 39 (6) : 40-42 (in Chinese with English abstract).
- [8] 李佳欢,林辉,金文松,等.茯苓菌固态发酵小麦基质的成分变化[J].食品与生物技术学报,2019,38(12):103-109.LI J H, LIN H, JIN W S, et al. Changes of nutrient components during solid-state fermentation by *Poria cocos* using wheat as substrate [J]. Journal of food science and biotechnology, 2019, 38 (12) : 103-109 (in Chinese with English abstract).
- [9] 吴孔阳,张静,陈淋转,等.牡丹内生真菌高抑菌活性菌株的筛选及培养基优化[J].黑龙江畜牧兽医,2017(13):199-202.WU K Y, ZHANG J, CHEN L C, et al. Screening and medium optimization of endophytic fungi of peony with high antibacterial activity [J]. Heilongjiang animal science and veterinary medicine, 2017 (13) : 199-202 (in Chinese).
- [10] 申春莉.灵芝菌丝体固态发酵转化豆渣的研究[D].泰安:山东农业大学,2019.SHEN C L. Study on transformation of okara by solid fermentation using *Ganoderma lucidum* mycelium [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [11] WANG K J, GUO J T, CHENG J X, et al. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from spent *Lentinus edodes* substrate: process optimization, precipitation, structural characterization and antioxidant activity [J]. International journal of biological macromolecules, 2021, 191: 1038-1045.
- [12] 翟飞红,王琪,刘艺,等.姬松茸固态发酵对谷物主要营养成分

- 分的影响[J].食品工业科技,2015,36(6):212-215.ZHAI F H, WANG Q, LIU Y, et al. Effect of solid-state fermentation with *Agaricus blazei* on main nutritional components of grains [J]. Science and technology of food industry, 2015, 36(6): 212-215 (in Chinese with English abstract).
- [13] 魏倩婷. 香菇酚类物质的提取及功能学特性的研究[D]. 福州:福建农林大学,2011.WEI Q T. Studies on the extraction technology and functions of shiitake polyphenols[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [14] 姚韶华. 生物保鲜剂的筛选及其在香菇保鲜中的应用研究[D]. 武汉:武汉工程大学,2022.YAO S H. Screening of biological preservatives and its application in the preservation of *Lentinula edodes* [D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2022(in Chinese with English abstract).
- [15] 杨萌,徐艳阳,杨光,等. 超声波辅助酶法提取香菇柄中总黄酮的工艺优化[J]. 食品安全质量检测学报,2017,8(1):202-209.YANG M, XU Y Y, YANG G, et al. Optimization of the process for the extraction of total flavonoids in stem of *Lentinus edodes* by ultrasonic assisted enzymatic method[J]. Journal of food safety & quality, 2017, 8(1): 202-209 (in Chinese with English abstract).
- [16] 宋超男. 蓝靛果-沙棘发酵果汁研制及功能性评价[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2021.SONG C N. Preparation and functional evaluation of the fermented juice of *Lonicera caerulea* and *Hippophae rhamnoides* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2021 (in Chinese with English abstract).
- [17] 杨岚,尹火青,唐娟,等. 三个茯苓品种氨基酸与蛋白质的含量比较[J]. 中国食物与营养,2018,24(6):44-46.YANG L, YIN H Q, TANG J, et al. Contents of protein and amino acids of three varieties of *Poria cocos* [J]. Food and nutrition in China, 2018, 24(6): 44-46 (in Chinese with English abstract).
- [18] 程雅清. 裂褶菌多糖的改性、理化性质与功能活性研究[D]. 武汉:武汉工程大学,2023.CHEN Y Q. Study on the modification, physicochemical properties and functional activity of *Schizophyllum commune* polysaccharide [D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2023 (in Chinese with English abstract).
- [19] 廖姿莹,康馨月,马一鸣,等. 真空蒸发浓缩对香菇汁品质的影响[J]. 食品工业,2024,45(1):87-91.LIAO Z Y, KANG X Y, MA Y M, et al. The effect on the quality of *Lentinula edodes* juice by vacuum evaporation concentration [J]. The food industry, 2024, 45(1): 87-91 (in Chinese with English abstract).
- [20] 宛超,贵香菇,董晓博. 超声波辅助纤维素酶提取香菇柄膳食纤维工艺及其性质研究[J]. 食品科技,2023,48(6):180-187. WAN C, GUI X R, DONG X B. Ultrasonic-assisted cellulase extraction and properties of dietary fiber from *Lentinula edodes* stipe [J]. Food science and technology, 2023, 48(6): 180-187 (in Chinese with English abstract).
- [21] 李秋阳. 香菇的液体发酵及其多糖的研究[D]. 武汉:武汉工程大学,2018.LI Q Y. Study on liquid fermentation and polysaccharide of *Lentinula edodes* [D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [22] CHEN H Y, ZENG J S, WANG B, et al. Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods [J/OL]. Carbohydrate polymers, 2021, 266: 118149 [2024-06-13]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118149>.
- [23] 管琰,汪璿芑,李文,等. 豆渣固态发酵过程中主要营养成分及抗氧化特性变化[J]. 食品科学,2016,37(21):189-194. GUAN Y, WANG J P, LI W, et al. Changes in major nutritional components and antioxidant activity of fermented okara [J]. Food science, 2016, 37(21): 189-194 (in Chinese with English abstract).
- [24] 吴萍,史钧,李正鹏,等. 杏鲍菇产木聚糖酶固态发酵条件优化及其酶学性质[J]. 核农学报,2010,24(3):542-547. WU P, SHI J, LI Z P, et al. Solid-phase fermentation condition and enzymatic characteristics of xylanase from *Pleurotus eryngii* [J]. Journal of nuclear agricultural sciences, 2010, 24(3): 542-547 (in Chinese with English abstract).
- [25] 严敏嘉,李小芳,赵甜甜,等. 红曲固态发酵过程中糖类物质的动态变化分析[J]. 食品研究与开发,2018,39(3):79-83. YAN M J, LI X F, ZHAO T T, et al. Analysis of dynamic changes of sugars in the solid fermentation of *Monascus* [J]. Food research and development, 2018, 39(3): 79-83 (in Chinese with English abstract).
- [26] LIU W W, DUN M Q, LIU X Y, et al. Effects on total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris* [J]. International journal of food properties, 2022, 25(1): 477-491.
- [27] 宋琳琳,陈红芝,项丰娟,等. 香菇等食用菌固态发酵对白芸豆营养成分及抗氧化活性的影响[J]. 河南科学,2023,41(2):192-198. SONG L L, CHEN H Z, XIANG F J, et al. Effect of solid-state fermentation of *Lentinus edodes* and other edible fungi on nutritional components and antioxidant properties of white kidney bean [J]. Henan science, 2023, 41(2): 192-198 (in Chinese with English abstract).
- [28] 阎欲晓,粟桂娇,何勇强,等. 黑曲霉固态发酵对甘蔗叶酚类物质释放及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学,2020,41(16):110-116. YAN Y X, SU G J, HE Y Q, et al. Effects of solid-state fermentation with *Aspergillus niger* on phenolics release and antioxidant activity of sugarcane leaves [J]. Food science, 2020, 41(16): 110-116 (in Chinese with English abstract).
- [29] 马贺,孙培利,雷梅英,等. 猴头菌固态发酵青稞基质活性成分及抗氧化能力研究[J]. 食品安全质量检测学报,2022,13(20):6764-6771. MA H, SUN P L, LEI M Y, et al. Study on

bioactive compounds and antioxidant capacity in *Hordeum vulgare* Linn substrate under solid-state fermentation with *Hericium*

erinaceus [J]. Journal of food safety & quality, 2022, 13(20):6764-6771(in Chinese with English abstract).

Changes in enzyme activity, nutritional components and antioxidant activity of *Lentinula edodes* stalk substrate during solid-state fermentation of *Poria cocos*

YU Qingsong¹, MA Xinlong¹, CHEN Yuxia¹, HU Guoyuan^{1,2}

1. Ministry of Education Key Laboratory for Green Chemical Process/
College of Environment Ecology and Bioengineering, Wuhan Institute of Technology,
Wuhan 430205, China;

2. Hubei Institute of Shiitake Industry Technology/Hubei Yuguo Gu Ye Co. Ltd.,
Suizhou 441300, China

Abstract *Poria cocos* was cultured on the solid medium using *Lentinula edodes* stalk as the sole substrate to study whether the mycelia of *P. cocos* can ferment and utilize *L. edodes* stalk substrate and improve its nutritional value and biological activity. The activity of key enzymes, the components of main nutrient, and the antioxidant activity of water extracts from the fermented substrate during solid-state fermentation of *P. cocos* were measured. The results showed that the activity of cellulose exonuclease reached 46.14 U/g at the 6th day of fermentation, then rapidly decreased to 17.15 U/g, and remained basically unchanged at the 18th day of fermentation as the process of fermentation progressed. The activity of carboxymethyl cellulase and xylanase reached 77.70 U/g and 74.23 U/g at the 12th day of fermentation, and then gradually decreased. The activity of β -glucosidase reached 75.06 U/g at the 18th day of the fermentation and then gradually decreased. Compared with the unfermented *L. edodes* stalk substrate, the content of total sugar, soluble protein, and insoluble dietary fiber in the fermented *L. edodes* stalk substrate significantly decreased, but the content of reducing sugar, polysaccharides, total phenols, total flavone, amino nitrogen, and soluble dietary fiber significantly increased. The antioxidant activity of water extracts from the fermented substrate was significantly increased. The scavenging rate of DPPH radical and hydroxyl radical increased by 97.75% and 38.15%, compared to the 0 day of fermentation. It is indicated that *P. cocos* can ferment *L. edodes* stalk, alter the composition of nutrient in *L. edodes* stalks, and that the fermented substrate has good ability to scavenge free radicals.

Keywords *Poria cocos*; *Lentinula edodes* stalk; solid-state fermentation; enzyme activity; nutrient composition; antioxidant activity

(责任编辑:边书京)