

裂褶菌固体发酵葛根渣 获取功能产品的条件优化

邬建国,葛娟,余伟,邓小华,张晓昱*

(华中科技大学生命科学与技术学院,湖北武汉 430074)

摘要:在摇瓶上对裂褶菌固体发酵葛根渣获取功能产品的工艺进行了优化,并进行了规模放大验证。通过优化,获得了优化条件:采用混合葛根渣作为发酵基质,固液比为 1:1.5,麸皮添加量为 10%,采用 3d 菌龄的种子接种,接种量为 6mL/100g,发酵温度为 28℃。在该条件下,葛根异黄酮提升了 70% 以上,膳食纤维含量提升了 5% 以上。通过太空包放大工艺验证,可初步实现摇瓶发酵结果。

关键词:葛根渣,异黄酮,膳食纤维,裂褶菌,发酵

Optimization of solid fermentation condition of kudzu root residue by *Schizophyllum commune*

WU Jian-guo, GE Juan, YU Wei, DENG Xiao-hua, ZHANG Xiao-yu*

(School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: The solid fermentation condition of kudzu root residue by *Schizophyllum commune* DS1 in rock-flask was optimized, and the optimal condition was validated by scale-up in space bag. After the optimization, the optimal condition were that mixed kudzu root residue was the fermentation substrate, and the solid-to-liquid ratio was 1:1.5, and adding bran was 10% in mass, and seed age was 3 days, and the inoculation volume was 6mL/100g, and the temperature of fermentation was 28℃. Under the condition, the content of isoflavone was increased over 70% and the content of dietary fiber was increased over 5%. At last, the optimal condition was validated in space bag, the result could be realized the one in rock-flask.

Key words: kudzu root residue; isoflavone; dietary fiber; *Schizophyllum commune*; fermentation

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2010)12-0192-03

葛根是一种常用的可食中药,因其富含异黄酮、淀粉等物质,使其具有较高的经济应用价值。经研究发现,葛根对心血管系统^[1-2]、降血糖^[3-4]、雌激素调节^[5]等具有显著的疗效。安伟建^[6]通过研究发现不同产地和不同品种的葛根其异黄酮含量差异较大,从而出现了不同的葛根加工方法,其中葛根淀粉加工是葛根加工的主流。葛根渣是葛根淀粉加工产生的副产物,邬建国等^[7]人研究发现可以通过裂褶菌固体发酵葛根渣获取葛根功能产品,从而对葛根渣的资源化利用开辟了新的途径。本文在邬建国等人研究基础之上对固体发酵条件进行进一步的优化,以期获得更优的结果。

1 材料与方法

收稿日期:2009-12-09 * 通讯联系人

作者简介:邬建国(1977-),男,在职博士研究生,研究方向:中药生物技术和发酵工程。

基金项目:武汉市科技计划资助(200820422190)。

1.1 实验材料

葛根渣 来源于湖北省武汉市黄陂区野生葛根渣;裂褶菌(*Schizophyllum commune*) 本研究所保藏,编号 DS1;一级种子培养基 去皮马铃薯 200g,煮沸 30min 后过滤,蔗糖 20g,自来水定容至 1000mL;固态发酵培养基 葛渣 10g,自来水 18mL。

1.2 实验方法

1.2.1 固态发酵方法 将待试菌株活化培养 7d,转接于一级种子培养基中培养 4d,接 10mL 种子液到固体发酵培养基中,25℃ 静止发酵 15d,发酵物烘干、粉碎,保存备用。

1.2.2 黄酮检测方法 参照文献[8]。

1.2.3 膳食纤维检测方法^[9] 包括不溶性膳食纤维(IDF)、可溶性膳食纤维(SDF)和总膳食纤维(TDF)的测定。

2 结果与分析

2.1 不同状态葛根渣对发酵的影响

获取的葛根渣纤维比较发达,故需机械粉碎,粉

碎后通过 20 目筛,将葛根渣分成两类,即绒毛状(未过筛部分)和粉末状(过筛部分),不同状态的葛根渣可能会对发酵产生影响,结果见表 1 和表 2。

表 1 不同状态葛根渣发酵前主效成分含量

葛根渣 状态	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
绒毛状	22.53 ± 1.24	82.7 ± 2.3	67.2 ± 0.8	15.5 ± 1.5
粉状	24.53 ± 2.31	67.9 ± 5.3	56.9 ± 3.3	11.0 ± 2.0
混合	23.12 ± 0.89	74.1 ± 2.5	61.2 ± 0.4	12.9 ± 2.1

表 2 不同状态葛根渣裂褶菌发酵后主效成分含量

葛根渣 状态	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
绒毛状	37.14 ± 1.28	75.4 ± 1.2	62.2 ± 1.0	13.2 ± 0.2
粉状	34.73 ± 0.10	71.1 ± 0.5	56.9 ± 0.5	14.2 ± 0.0
混合	37.52 ± 2.89	77.9 ± 4.3	63.7 ± 2.3	14.2 ± 2.0

由表 1 可知,不同状态的葛根渣其主成分的含量差异较大,其中绒毛状的葛根渣膳食纤维含量较高。而粉状葛根渣异黄酮含量较高,经对各种状态的葛根渣木质纤维素成分检测后,分析其原因可能是绒毛状木质纤维素含量较高,尤其是纤维素含量,从而导致了其膳食纤维含量较高,而粉状葛根渣木质纤维素含量相对较少,且含有一定量的淀粉,通过前面的机械粉碎作用使得部分异黄酮在粉状葛根渣中得到了一定的富集。

由表 2 可知,发酵后三种状态的葛根渣其异黄酮含量和膳食纤维含量有较大的变化,其中异黄酮含量普遍有显著的提升,以混合态葛根渣提升最为显著,而膳食纤维含量除绒毛状葛根渣之外均有少量提升。分析其原因在于葛根渣中木质纤维素被菌株 DS1 降解,导致木质纤维素类膳食纤维含量显著性减少,但同时也进行了一定程度的转化,如多糖等物质,使得非木质纤维素类膳食纤维含量有一定的提升;同时因为木质纤维素结构被菌株 DS1 破坏,从而使得葛根渣中异黄酮得到了一定程度的富集和易于溶出,使其异黄酮含量得到了显著提升。以上结果及分析可知,混合葛根渣是较好的发酵基质。

2.2 不同固液比对发酵的影响

对于固体发酵,湿度(固液比)尤为重要,若湿度过大,则会影响发酵基质的氧气传递,从而影响发酵;若湿度过低,则不利于菌种的生长代谢。为考察最佳的固液比,实验结果见表 3。

表 3 葛根渣不同固液比对发酵的影响

固液比 (m:m)	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
1:0.5	2644 ± 1.07	75.0 ± 2.3	61.8 ± 1.1	13.2 ± 1.2
1:1.0	33.71 ± 1.11	76.4 ± 1.4	62.9 ± 0.9	13.5 ± 0.5
1:1.5	37.92 ± 1.55	78.4 ± 4.1	64.2 ± 2.1	14.2 ± 2.0
1:2.0	35.24 ± 0.56	76.5 ± 3.6	63.1 ± 1.5	13.4 ± 2.1

由表 3 可知,随着固液比中水(液)含量的提升,发酵物异黄酮和膳食纤维含量均先上升后下降,葛根异黄酮和膳食纤维均在 1:1.5 的固液比下达到最大值,故 1:1.5 的固液比为最佳。

2.3 不同麸皮添加量对发酵的影响

Elena^[10]等人研究发现在固体发酵基质中添加一定量的麸皮有利于提高发酵基质的孔隙度,使得其有利于发酵,尤其是产物的合成,本实验也考察了麸皮对发酵的影响,结果见表 4。

表 4 葛根渣中添加不同量的麸皮对发酵的影响

麸皮添加量 (%)	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
0	37.25 ± 0.53	76.1 ± 3.2	62.5 ± 1.5	13.6 ± 1.7
5	37.71 ± 1.51	76.8 ± 3.8	62.9 ± 2.9	13.9 ± 0.9
10	38.02 ± 1.01	78.4 ± 4.1	64.2 ± 2.1	14.2 ± 2.0
15	38.01 ± 1.26	78.6 ± 3.4	64.5 ± 1.1	14.1 ± 2.3
20	37.98 ± 0.87	78.7 ± 6.0	65.2 ± 3.1	13.5 ± 2.9

由表 4 可知,麸皮添加在发酵体系中对发酵的影响不显著,但也有一定的作用,当麸皮添加量超过 10% 后,发酵物中葛根异黄酮和膳食纤维含量稳定,故最佳的麸皮添加量选择为 10%。

2.4 不同种龄对发酵的影响

通过对菌株 DS1 的生长动力学研究发现,DS1 在生长 1d 后即进入对数生长期,对于不同生长阶段的菌种对发酵的活力有所不同,实验结果见表 5。

表 5 裂褶菌不同种龄对发酵的影响

种龄 (d)	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
1	31.25 ± 0.53	76.1 ± 3.2	62.5 ± 1.5	13.6 ± 1.7
2	36.71 ± 1.51	76.8 ± 3.8	62.9 ± 2.9	13.9 ± 0.9
3	38.02 ± 1.01	78.4 ± 4.1	64.2 ± 2.1	14.2 ± 2.0
4	38.01 ± 1.26	78.6 ± 3.4	64.5 ± 1.1	14.1 ± 2.3
5	37.98 ± 0.87	78.7 ± 6.0	65.2 ± 3.1	13.5 ± 2.9

从表 5 可知,随着菌株 DS1 种龄的延长,发酵物中异黄酮先增后减,而膳食纤维含量一直呈增长趋势。其原因在于低种龄的种子生物量较少,从而导致发酵不完全,而种龄在 3d 后其种子从肉眼观察接近饱和,到 5d 后种子液中部分菌种活力下降,从而影响了葛根异黄酮的发酵富集和释放。另外,菌株 DS1 可产生大量的多糖,多糖含量随着种龄的延长不断累积,故在膳食纤维含量上就表现为一直上升,但 4、5d 后变化不显著,故最佳种龄为 3d。

2.5 不同接种量对发酵的影响

不同种龄的种子实际接种量是不同的,而不同的实际接种量对发酵的影响不同,结果见表 6。

表 6 不同接种量对发酵的影响

接种量 (mL/100g)	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
2	36.25 ± 0.58	76.6 ± 3.7	63.5 ± 1.8	13.1 ± 1.9
4	37.71 ± 0.44	80.2 ± 2.8	66.7 ± 1.5	13.5 ± 1.3
6	40.05 ± 0.95	79.8 ± 4.8	65.2 ± 3.3	14.6 ± 1.5
8	39.44 ± 0.41	78.9 ± 3.1	64.5 ± 2.1	14.4 ± 1.0
10	38.25 ± 1.04	79.7 ± 4.3	65.0 ± 2.2	14.7 ± 2.1

从表 6 可知,随着接种量的增大,葛根异黄酮含量先增后减;当接种量大于 2mL/100g 以后,葛根膳食纤维含量稳定在一个较小的范围。故最佳的接种

量为 6mL/100g。

2.6 不同温度对发酵的影响

菌株 DS1 属于大型真菌,过低的温度可使其生长不良,对发酵不利;较高的温度可在短时间内生长,但长时间的高温会抑制菌株的代谢,甚至进入休眠和死亡。不同温度对菌株 DS1 发酵的影响见表 7。

表 7 不同温度对发酵的影响

温度 (℃)	异黄酮 (mg/g)	DF		
		TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)
20	35.82 ± 1.22	75.7 ± 4.2	62.5 ± 2.7	13.2 ± 1.5
25	42.10 ± 2.82	78.2 ± 2.1	63.3 ± 0.9	14.9 ± 1.2
30	41.14 ± 3.43	77.9 ± 4.1	63.5 ± 1.6	14.4 ± 2.5
35	37.80 ± 0.62	76.8 ± 3.7	62.7 ± 2.1	14.1 ± 1.6

由表 7 可知,菌株 DS1 在温度 25~30℃ 范围内生长代谢较好,当温度达到 35℃ 时,菌株在开始阶段长势较好,但长势越长越差,又因为在高温下水分散发较大,发酵基质湿度不宜控制,故选择发酵温度为 28℃。

2.7 太空包放大工艺验证

为进一步实现固体发酵能较为方便地扩大化生产,在优化条件基础之上进行了固体太空包发酵的验证,结果发现,太空包发酵样品中葛根异黄酮含量达到 34.60 ± 3.56mg/g,较之摇瓶固体培养水平的葛根异黄酮含量低,但较之原料仍然提升了 50%;膳食纤维含量与摇瓶发酵水平持平。太空包固体发酵结果初步验证了摇瓶的发酵结果,但尚需做进一步的优化,以便进一步提升葛根异黄酮和膳食纤维的含量。

将太空包发酵前后的样品称重后各取样品 10g 进行粉碎,分别依次过筛 20、40、60、80、100 目,结果见表 8。

表 8 发酵对样品粒度分布的影响

目数(目)	发酵前过筛质量(g)	发酵后过筛质量(g)
20	5.797	9.891
40	3.210	8.017
60	2.109	5.266
80	1.953	4.166
100	0.986	2.295

由表 8 可知,混合葛根渣经 DS1 发酵后其微观

物理特性发生了改变,使样品更容易粉碎。

3 结论

通过条件优化,得到优化条件为:采用混合葛根渣作为发酵基质,固液比为 1:1.5,麸皮添加量为 10%,采用 3d 菌龄的种子接种,接种量为 6mL/100g,发酵温度为 28℃。在该条件下,葛根异黄酮提升了 70% 以上,膳食纤维含量提升了 5%。通过太空包放大工艺验证,可初步实现摇瓶发酵结果,发酵后发酵物更有利于粉碎。

参考文献

- [1] 苗维纳,沈映君,曾晓荣,等.葛根素对豚鼠心室肌细胞钾离子通道的影响[J].中国应用生理学杂志,2002,18(2):155-156.
- [2] Zhang Guangqin, Hao Xuelei, Dai Dezai, et al. Puerarin blocks Na^+ current in rat ventricular myocytes[J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(12): 1212-1216.
- [3] 玉从容,吕俊华,王丹,等.葛根素对胰岛素抵抗综合征大鼠血压、血脂及糖耐量的影响[J].山东中医杂志,2005,24(6):367-369.
- [4] 茅彩萍,顾振纶.葛根素对糖尿病大鼠主动脉糖基化终产物的形成及其受体表达的影响[J].中国药理学通报,2004,20(4):393.
- [5] 郑东升,孟倩超,郑经纬.葛根素和葛根总异黄酮的雌激素样活性[J].中药材,2002,25(8):566-568.
- [6] 安伟建,夏光成,郭瑞.不同产地葛根总黄酮含量的比较[J].中国中药杂志,1999,24(6):339,380.
- [7] 郭建国,朱之光,贾伟彦,等.葛根渣功能产品固态发酵菌株的筛选[J].食品与发酵工业,2009,35(1):27-30.
- [8] 郭建国,贾伟彦,谈方志,等.葛根渣异黄酮测定方法的比较研究[J].河南工业大学学报:自然科学版,2007,28(1):39-42.
- [9] 郭建国,周帅,张晓昱,等.采用药用真菌液态发酵甘薯渣获得膳食纤维的发酵工艺研究[J].食品与发酵工业,2005,31(7):42-44.
- [10] Elena Conti, Miroslav Stredansky, Silvia Stredanska, et al. γ -Linolenic acid production by solid-state fermentation of *Mucorales* strains on cereals[J]. Bioresource Technology, 2001, 76:283-286.
- [11] 凌代文,东秀珠.乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M].北京:中国轻工业出版社,1999:85-88,118.
- [12] 王亚峰,霍贵成,刘丽波.开菲尔粒中乳酸菌的分离与鉴定[J].中国乳品工业,2004,32(9):17-19.
- [13] 周雨霞.内蒙古牧区传统乳制品中乳杆菌生物学特性及其益生作用的研究[D].内蒙古农业大学博士论文,2006:42.
- [14] B Hyronimus, C Le Marrec, A Hadj Sassi, et al. Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 61:193-197.
- [15] Aysun Cebeci, Candan Gurakan. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains[J]. Food Microbiology, 2003, 20:511-518.

(上接第 191 页)

combined effects of N_2 -packaging, heating and gamma irradiation on the shelf-stability of *Kimchi*, Korean fermented vegetable[J]. Food Control, 2008, 19:56-61.

[3] Benjamas Jonganurakkun, Qi Wang, Shan Hua Xu, et al. *Pediococcus pentosaceus* NB-17 for Probiotic Use[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 106(1):69-73.

[4] Julius Maina Mathara, Ulrich Schillinger, Phillip M Kutima, et al. Functional Properties of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Maasai Traditional Fermented Milk Products in Kenya[J]. Int J Food Microbiol, 2008, 56(3):315-321.

[5] 王艳梅,马姝珍.泡菜汁中乳酸菌的分离与初步鉴定[J].天津农学院学报,2007,14(3):5-8.

[6] 郭兴华.益生乳酸细菌—分子生物学及生物技术[M].北