

姬松茸固态发酵对谷物主要营养成分的影响

翟飞红,王琪,刘艺,韩建荣*
(山西大学生命科学学院,山西太原 030006)

摘要:初步研究了姬松茸固态发酵对7种谷物(小麦、大米、燕麦、玉米、小米、糜米和高粱)主要营养成分的影响作用,结果表明:经姬松茸固态发酵后,7种谷物固态发酵产物的总酚、氨基酸态氮、水溶性蛋白及还原糖含量随着发酵时间的变化而变化。除了高粱的总酚含量与发酵时间呈负相关($r=-0.687$)和大米的还原糖含量与发酵时间呈负相关($r=-0.621$)之外,其余谷物的总酚、氨基酸态氮、水溶性蛋白及还原糖含量均与发酵时间呈一定的正相关性,发酵时间的延长有利于发酵产物中这些营养成分含量的显著提高。7种谷物发酵产物中,小米的总酚含量最高,达到1.95mg/g;小麦的氨基酸态氮含量最高,达到0.59%;燕麦的水溶性蛋白和还原糖含量最高,分别达到74.24、123.18mg/g。

关键词:姬松茸,固态发酵,谷物,营养成分

Effect of solid-state fermentation with *Agaricus blazei* on main nutritional components of grains

ZHAI Fei-hong, WANG Qi, LIU Yi, HAN Jian-rong*

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: In this study, the effects of solid-state fermentation with *Agaricus blazei* on main nutritional components of 7 kinds of grains (wheat, rice, oat, corn, millet, broomcorn millet and sorghum) were studied. The results showed that the contents of total phenols, amino acid nitrogen, water-soluble protein and reducing sugar in the fermentation products of these grains varied with the time of solid-state fermentation. The total phenols content of sorghum had a negative correlation with the time of solid-state fermentation ($r=-0.687$), so as to the reducing sugar content of rice ($r=0.621$). The content of total phenols, amino acid nitrogen, water-soluble protein and reducing sugar of other grains had a positive correlation with the time of solid-state fermentation. The results indicated that the prolongation of fermentation time favored the increase of nutritional components contents in fermentation products. Among the 7 fermentation products, the total phenols content of millet was the highest (1.95mg/g), the amino acid nitrogen content of wheat was the highest (0.59%), while the water-soluble protein and reducing sugar contents of oat reached the highest (74.24 and 123.18mg/g, respectively).

Key words: *Agaricus blazei*; solid-state fermentation; grain; nutritional components

中图分类号:TS201.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2015)06-0212-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.06.039

姬松茸 (*Agaricus blazei*) 是一种珍稀食用菌,具有极高的营养和药用价值^[1],尤其是其具有抗病毒和抗肿瘤的作用。不仅姬松茸其子实体可以利用,还可以对其菌丝体通过液态发酵和固态发酵加以利用。

各种谷物的主要成分为淀粉和蛋白质,具有多元酚结构的酚类物质也广泛存在于谷物中^[2]。研究表明各种谷物是丝状真菌进行固态发酵的优质培养基,而且经固态发酵后谷物的营养价值有了较大的提升^[3-5]。但关于姬松茸利用谷物进行固态发酵的研

究还未见报道。本实验选用小麦、大米、燕麦、玉米、小米、糜米和高粱作为培养基,初步研究了姬松茸固态发酵对这些谷物的主要营养成分的影响,并对固态发酵产物中的总酚、氨基酸态氮、水溶性蛋白及还原糖含量与发酵时间的关系进行了分析。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

姬松茸 (*Agaricus blazei*) SH26菌株 由本实验室提供,保存于马粪琼脂培养基中;没食子酸 Sigma公司;福林酚 北京索莱宝科技有限公司;3,5-二硝

收稿日期:2014-07-03

作者简介:翟飞红(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品生物技术与功能食品开发。

*通讯作者:韩建荣(1959-),男,博士,教授,研究方向:微生物资源开发利用。

基水杨酸(DNS)、无水乙醇、甲醛、无水葡萄糖、牛血清蛋白、考马斯亮蓝G-250、碳酸钠、氢氧化钠、酒石酸钾钠、结晶酚和亚硫酸钠 分析纯。

WFJ 2100型可见分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司;电子天平 上海精密科学仪器有限公司;电热恒温水浴锅 北京市医疗设备总厂;台式全温振荡培养箱 上海知楚仪器有限公司;数显干燥箱 青岛海尔特种电器有限公司。

1.2 谷物培养基的制备

共选用了小麦、大米、燕麦、玉米、小米、糜米和高粱7种谷物,分别准确称取400g(干重)除去谷壳和石子等杂质的谷物,然后将大米、小米和糜米分别在50℃温水中浸泡4h,沥干水分,摊开晾干至不沾手(水分含量约40%);将高粱、小麦、燕麦和玉米分别在沸水中煮沸至无白心,沥干水分,摊开晾干至不沾手(水分含量约40%)。最后将处理好的每种谷物平均分装至18个100mL的锥形瓶中,用塑料膜封口,121℃灭菌30min。

1.3 固态发酵

将活化后的姬松茸斜面菌种切成1cm×1cm的小块,接种至谷物培养基中,每瓶接种3块,然后置于25℃下培养。在菌丝体长满后的第5、10、15、20、30d时分别取出3瓶,于60℃烘箱中将固态发酵产物烘干,不接种的培养基作为对照。将烘干后的发酵产物粉碎过40目筛作为样品备用。

1.4 总酚含量的测定

分别准确称取5g样品置于100mL锥形瓶中,然后加入20mL 80%的乙醇溶液,用塑料膜封口,于25℃、130r/min的摇床上振荡提取24h,抽滤,取滤液,滤渣在相同的条件下进行复提,合并两次滤液。将滤液在40℃下旋转蒸发,得到浓缩液,然后用80%的乙醇溶液定容,待测。

采用Folin-Cioncalteu比色法^[6]测定总酚含量。标准曲线的绘制采用没食子酸稀释液,根据没食子酸浓度和OD值绘制标准曲线。得到的标准曲线的线性回归方程为: $y=7.1671x-0.0035$, $R^2=0.9998$ 。

1.5 氨基酸态氮含量的测定

采用甲醛滴定法^[7]。氨基酸态氮的含量(%)= $(V_1-V_0) \times 0.014 \times C / m \times 100$ 。

式中, V_1 为样品加入甲醛后所用NaOH的体积(mL); V_0 为对照加入甲醛后所用NaOH的体积(mL); C 为滴定所用NaOH的浓度(mol/L); m 为所取样品的质量(g);0.014为1mL($C_{NaOH}=1.000\text{mol/L}$)NaOH标准液相当氮的克数(g/mmol)。

1.6 水溶性蛋白含量的测定

准确称取1.0g样品,加入10mL蒸馏水,充分搅拌,8000r/min离心8min,取上清液,用同样的方法进行复提,合并两次上清液,用蒸馏水定容至20mL,待测。

采用考马斯亮蓝G-250结合法^[8]测定水溶性蛋白含量。标准曲线的绘制采用牛血清蛋白稀释液,根据牛血清蛋白的浓度和OD值绘制标准曲线。得到的标准曲线的线性回归方程为: $y=4.3814x-0.0076$, $R^2=0.9948$ 。

1.7 还原糖含量的测定

准确称取0.1g样品,加入10mL蒸馏水,50℃水浴30min,8000r/min离心8min,取上清液,用同样的方法进行复提,合并两次上清液,定容至20mL,待测。

采用3,5-二硝基水杨酸法(DNS法)^[9]测定还原糖含量。标准曲线的绘制采用标准葡萄糖溶液,根据葡萄糖浓度与OD值绘制标准曲线。得到的标准曲线的线性回归方程为: $y=1.3778x-0.0189$, $R^2=0.9997$ 。

1.8 统计学分析

以上实验设3次重复,实验数据用平均值±标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 发酵产物中的总酚含量

从图1可以看出,7种谷物的总酚含量会随着发酵时间而变化。对于小麦和大米来说,当发酵时间为5d时,总酚含量有所降低,之后随着发酵时间的延长而逐渐增加;发酵30d后,小麦和大米的总酚含量达到最高,分别为1.88和0.21mg/g,分别为对照的2.58和2.45倍。对于玉米来说,总酚含量随着发酵时间的延长并无显著变化,其中发酵5d时总酚含量最低,发酵20d时,总酚含量最高,为1.23mg/g,为对照的1.07倍。小米和糜米的总酚含量随着发酵时间的延长而逐渐增加,发酵30d时达到最大值,分别为1.95和0.58mg/g,为对照的5.03和2.60倍。对于燕麦来说,其总酚含量随发酵时间的不同波动较大,其中发酵10d和30d时总酚含量较高,分别为1.47和1.75mg/g,为对照的2.23和2.66倍。而高粱的总酚含量随着发酵时间的延长降低了,在发酵20d时达到最低值,为1.04mg/g,与对照相比降低了36.97%。其中,小麦、大米、小米、糜米、燕麦的总酚含量与发酵时间呈现一定的正相关性,其相关系数 r 分别为0.932、0.924、0.947、0.976、0.778,而玉米的总酚含量与发酵时间有弱的正相关性($r=0.058$),高粱的总酚含量与发酵时间呈现一定的负相关($r=-0.687$)。相比较而言,经姬松茸固态发酵30d后,7种谷物发酵产物中的总酚含量的排序为:小米>小麦>燕麦>高粱>玉米>糜米>大米。

图1表明,除高粱外的其他6种谷物通过姬松茸固态发酵后,其总酚含量有了显著提高。这与姬松茸具有较强的代谢产生酚类化合物的能力有关。研究报道表明在姬松茸的子实体或菌丝体中具有较高的总酚含量^[10-11]。不仅限于姬松茸,其他食用菌也具有

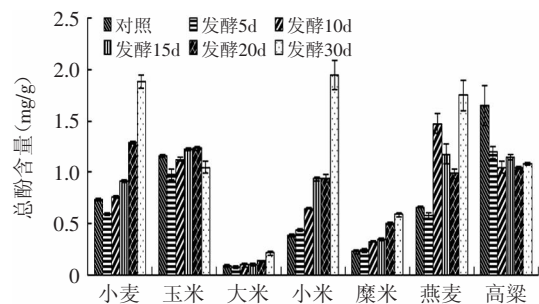


图1 姬松茸固态发酵产物中的总酚含量

Fig.1 Total phenols content of grains fermented by *Agaricus blazei*

合成诸如酚类化合物、类黄酮、类胡萝卜素、维生素C和维生素E等的能力^[12-13]。所以,下一步在分析固态发酵产物的总酚含量基础上有必要测定更多的抗氧化性物质指标,以对经姬松茸固态发酵后的谷物进行更全面的抗氧化性分析,为开发相关的抗氧化产品提供理论依据。

2.2 发酵产物中的氨基酸态氮含量

由图2可以看出,7种谷物的氨基酸态氮含量随着发酵时间而变化,发酵后谷物的氨基酸态氮含量均比对照高。小麦的氨基酸态氮含量随着发酵时间的延长呈现逐步增加的趋势,与发酵时间具有显著的正相关性($r=0.985$),当发酵时间达到30d时,氨基酸态氮的含量达到最大值0.59%,与对照相比,提高了11.90倍。玉米的氨基酸态氮含量与发酵时间的相关性不显著($r=0.019$),发酵5d后氨基酸态氮含量最高,达到0.17%,是对照的1.45倍。对于大米、小米、糜米、燕麦和高粱来说,其氨基酸态氮与发酵时间呈现出较明显的正相关性(相关系数 r 分别为0.916、0.934、0.837、0.763、0.659),大米、小米和糜米的氨基酸态氮含量均在发酵30d后达到最高值,分别达到0.065%、0.21%、0.11%,分别是对照的12.68、13.04、5.62倍。燕麦在发酵10d时氨基酸态氮的含量达到最高值,为0.22%,是对照的1.29倍。高粱在发酵20d后其氨基酸态氮的含量最高,达到0.12%,为对照的2.69倍。相比较而言,经姬松茸固态发酵30d后,7种发酵产物中的氨基酸态氮含量的排序为:小麦>燕麦>小米>玉米>糜米>高粱>大米。

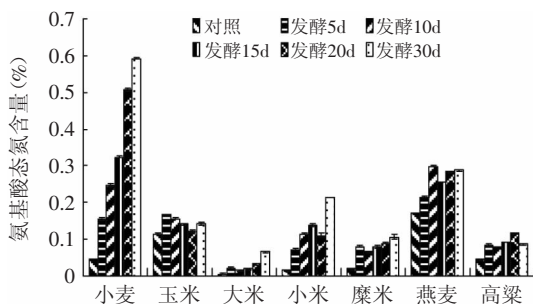


图2 姬松茸固态发酵产物中的氨基酸态氮含量

Fig.2 Amino acid nitrogen content of grains fermented by *Agaricus blazei*

2.3 发酵产物中的水溶性蛋白含量

从图3可以看出,7种谷物的水溶性蛋白含量随着发酵时间而变化,与发酵时间具有较显著的正相关性,相关系数 r 分别为0.954、0.808、0.962、0.970、0.998、0.971和0.866。对于小麦、大米和糜米来说,其发酵产物的蛋白质含量随着发酵时间的延长而逐渐增加,发酵30d后达到最大值,分别达到64.63、11.29和30.70mg/g,分别为对照的4.97、2.23和3.50倍。对于玉米、小米和燕麦来说,其蛋白质含量与发酵时间也呈一定的正相关性,在发酵30d后达到最大值,分别为25.35、67.73和74.24mg/g。高粱的蛋白质含量在发酵20d时最高,为28.36mg/g,是对照的2.11倍。相比较而言,经姬松茸固态发酵30d后,7种发酵产物中的水

溶性蛋白含量的排序为:燕麦>小米>小麦>糜米>高粱>玉米>大米。

图2和图3表明,谷物发酵产物中的游离氨基酸态氮和水溶性蛋白含量均随发酵时间而有所变化,而且均与发酵时间呈现较为明显的正相关性。这种情况应该与姬松茸具有较强的蛋白合成能力有关。研究报道表明姬松茸子实体中的蛋白含量达到30%~45%,明显高于其他食用菌(例如双孢蘑菇、平菇和香菇等)的蛋白含量^[14],姬松茸菌丝体中的蛋白含量也很高^[15]。另外,研究报道还表明液态发酵获得的姬松茸菌丝体及其发酵液中的氨基酸含量很高^[16]。姬松茸在固态发酵过程中也应该具有较强的蛋白合成能力,导致发酵产物中的水溶性蛋白含量显著增高。同时,姬松茸菌丝体也能将谷物中的原有蛋白质分解为氨基酸,导致发酵产物中的游离氨基酸态氮的增高。总体来说,7种谷物经姬松茸固态发酵后,其氨基酸和水溶性蛋白质含量均得到显著的提高,其营养价值也得到了一定的提高。

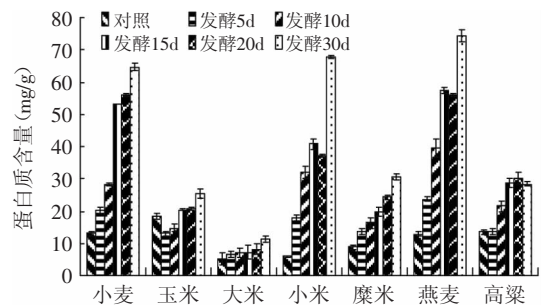


图3 姬松茸固态发酵产物中的水溶性蛋白含量

Fig.3 Water-soluble protein content of grains fermented by *Agaricus blazei*

2.4 发酵产物中的还原糖含量

由图4可以看出,7种谷物的还原糖含量随发酵时间而有所变化。对于小麦和燕麦来说,其发酵产物的还原糖含量随发酵时间的延长而增加,发酵30d后其还原糖含量达到最大值,分别为60.81和123.18mg/g,分别是对照的101.77和307.95倍。玉米在发酵初期,其还原糖含量变化不大,之后随着发酵时间的延长而逐渐增加;发酵20d后,其还原糖含量达到最大值,为6.62mg/g,是对照的8.12倍。经姬松茸发酵后大米的还原糖含量与对照相比降低了,在发酵30d后,还原糖含量最低,为0.09mg/g,仅为对照的25.17%。小米和糜米的还原糖含量随着发酵时间波动较大,分别在发酵30d和20d时达到最大值,分别为78.35和38.29mg/g,是对照的13.35和11.85倍。高粱的还原糖含量在发酵20d时达到最大,为37.00mg/g,是对照的59.68倍。除大米外,其余6种谷物的还原糖含量与发酵时间呈现较显著的正相关性(r 分别为0.957、0.743、0.848、0.822、0.955和0.948)。相比较而言,经姬松茸固态发酵30d后,7种发酵产物中的还原糖含量的排序为:燕麦>小米>小麦>高粱>糜米>玉米>大米。

图4表明,小麦、玉米、小米、糜米、燕麦和高粱的还原糖含量均与发酵时间呈一定的正相关性。认为

可能是姬松茸菌丝体在生长过程中通过淀粉酶将这些谷物中的淀粉分解为还原糖,因而导致了还原糖含量的提高。而大米的还原糖含量随着发酵时间的变化并无显著变化,其原因可能是因为姬松茸菌丝体不能利用大米中的淀粉,或者是分解速度较慢,分解形成的还原糖又被菌丝体生长利用。但这只是一种猜测,以上分析还需要更多的实验数据来证实,在今后的研究中有必要对这些固态发酵产物的淀粉酶及淀粉含量进行分析,以确定其还原糖含量增加或者不变的准确原因。

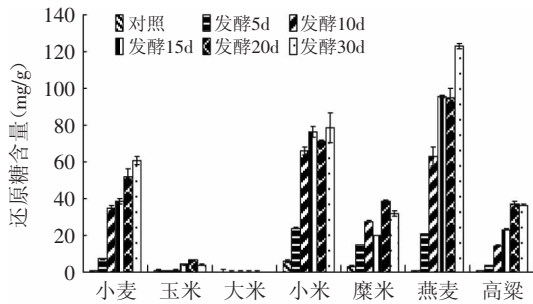


图4 姬松茸固态发酵产物中的还原糖含量

Fig.4 Reducing sugar content of grains fermented by *Agaricus blazei*

以上实验结果表明,7种谷物经姬松茸发酵后,其总酚、还原糖、游离氨基酸态氮和水溶性蛋白含量均有显著变化,大多数指标的含量在发酵30d时达到最高值。本研究设定30d为最长的发酵时间,没有考察在更长的发酵时间下,这些指标的含量又会呈现出什么样的变化。固态发酵过程中经常出现的情况是,如果发酵时间过长,培养基中的水分会被消耗干或蒸发干,这样菌丝的生长几乎停止。所以,即使延长发酵时间,也起不到提高发酵效果的目的。

3 结论

7种谷物的姬松茸固态发酵产物的总酚、氨基酸态氮、水溶性蛋白及还原糖含量均随着发酵时间的变化而变化。高粱的总酚含量与发酵时间呈负相关,其相关系数 $r=-0.687$;大米的还原糖含量与发酵时间也呈负相关,其相关系数 $r=-0.621$;除此之外,其余谷物的总酚、氨基酸态氮、水溶性蛋白及还原糖含量均与发酵时间呈一定的正相关性,即发酵时间的延长有利于发酵产物中这些营养成分含量的提高。7种谷物发酵产物中,小米的总酚含量最高,达到1.95mg/g;小麦的氨基酸态氮含量最高,达到0.59%;燕麦的水溶性蛋白和还原糖含量最高,分别达到74.24、123.18mg/g。

参考文献

[1] 林跃鑫,叶竹秋,黄谚谚,等. 巴西蘑菇(*Agaricus blazei* Murill)水溶性多糖部分理化性质的研究[J]. 食品科学,2002,

23(9):31-33.

[2] 王勇,何剑锋,王梦倩,等. 真菌固态发酵对玉米抗氧化性影响[J]. 食品科技,2012,37(9):147-150.

[3] Han JR. Solid-state fermentation of cornmeal with the basidiomycete *Hericiu erinaceu* for degrading starch and upgrading nutritional value[J]. International Journal of Food Microbiology,2003,80:61-66.

[4] 路锶,田北,赵丹,等. 真菌固态发酵对荞麦营养成分成分的影响[J]. 食品科技,2012,37(8):148-151.

[5] Han JR, An CH, Yuan JM. Solid-state fermentation of cornmeal with the basidiomycete *Ganoderma lucidum* for degrading starch and upgrading nutritional value[J]. Journal of Applied Microbiology,2005,99:910-915.

[6] McDonald S,Prenzler PD,Autolovich M,et al. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts[J]. Food Chemistry,2001,73(1):73-84.

[7] 王冬燕,王远红,郭丽萍,等. 纳豆中氨基酸态氮含量的测定[J]. 食品工业科技,2010,31(9):361-362,366.

[8] 杨正坤,王秀丽,龙施华,等. 考马斯亮蓝染色法测定大豆茎叶中蛋白质含量[J]. 湖北农业科学,2012,51(20):4610-4612.

[9] 陈钧辉,李俊,张冬梅,等. 生物化学实验[M]. 北京:科学出版社,2008:20-22.

[10] Soares AA, Souza CGMD, Daniel FM, et al. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murri) in two stages of maturity[J]. Food Chemistry,2009,112:775-781.

[11] Yoon MR,Nam SH,Kang MY. Antioxidative and antimutagenic activities of 70% ethanolic extracts from four fungal mycelia-fermented specialty rices[J]. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition,2008,43:118-125.

[12] Kumari D, Achal V. Effect of different substrates on the production and non-enzymatic antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom)[J]. Life Science Journal,2008,5:73-76.

[13] Jayakumar T,Thomas PA,Sheu JR,et al. *In-vitro* and *in-vivo* antioxidant effects of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*[J]. Food Research International,2011,44:851-861.

[14] Largeteau M,Llarena-Hernández RC,Regnault-Roger C,et al. The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: biology, cultivation and non-medicinal valorization[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2011,92:897-907.

[15] Ker YB,Chen KC,Chyau CC,et al. Antioxidant capability of polysaccharides rractionated from submerge-cultured *Agaricus blazei* mycelia[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2005,53:7052-7058.

[16] Zou X. Effects of Zn supplementation on the growth,amino acid composition,polysaccharide yields and anti-tumour activity of *Agaricus brasiliensis*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology,2005,21:261-264.

欢迎订阅《食品工业科技》,邮发代号2-399