

# 茶树菇发酵刺梨果渣制备可溶性膳食纤维工艺优化及其对小鼠润肠通便功能的评价

张想<sup>1</sup>, 李立郎<sup>2</sup>, 杨娟<sup>2</sup>, 杨小生<sup>2</sup>, 王瑜<sup>2</sup>, 王丽<sup>2</sup>, 廖秀<sup>2</sup>, 李全力<sup>3</sup>, 李齐激<sup>2</sup>, 王道平<sup>2</sup>, 杨艳<sup>2</sup>, 李春燕<sup>2</sup>, 葛丽娟<sup>2</sup>

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025) (2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州贵阳 550014) (3. 桐梓县官仓镇农业服务中心, 贵州遵义 563200)

**摘要:** 通过食用茵陈发酵刺梨果渣, 提高可溶性膳食纤维 (SDF) 含量, 探究制备所得刺梨果渣 SDF 的润肠通便功能, 为综合开发利用刺梨果渣膳食纤维提供依据。方法: 在单因素的基础上, 根据 Box-Behnken 实验设计对发酵培养基配方进行优化以提高 SDF 得率; 将 KM 小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、阳性对照组、SDF 低 (ig.0.25 g/kg·bw)、中 (ig.0.50 g/kg·bw)、高剂量组 (ig.1 g/kg·bw), 以复方地芬诺酯建立便秘模型, 连续灌胃 14 d 后通过测定小肠墨汁推进率、首粒黑便排出时间、6 h 内排黑便粒数及重量, 分析其对小鼠润肠通便功能的影响。结果: 最佳制备工艺条件为氯化钙添加量 1%、氯化钾添加量 0.60%、糖添加量 4%、液料比 7:1; 在此条件下刺梨果渣 SDF 得率为 5.86%, 较比未发酵原果渣 SDF 提高了 68.78%。动物实验结果显示, 在便秘模型构建成功的基础上, SDF 各剂量组均有改善小鼠便秘情况的作用, 其中高剂量组作用效果最明显。结论: 采用食用茵陈发酵刺梨果渣 SDF 的制备工艺合理、经济简便, 所得产品具有良好的润肠通便功能。

**关键词:** 刺梨果渣; 可溶性膳食纤维; 茶树菇发酵; 响应面法; 润肠通便

文章编号: 1673-9078(2021)03-171-180

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.03.0852

## Process Optimization of Soluble Dietary Fiber from *Roxburgh rose* Pomace Fermented by *Agrocybe aegerita* and Its Evaluation on the Moistening and Laxative Function of Mice

ZHANG Xiang<sup>1</sup>, LI Li-lang<sup>2</sup>, YANG Juan<sup>2</sup>, YANG Xiao-sheng<sup>2</sup>, WANG Yu<sup>2</sup>, WANG Li<sup>2</sup>, LIAO Xiu<sup>2</sup>, LI Quan-li<sup>3</sup>, LI Qi-ji<sup>2</sup>, WANG Dao-ping<sup>2</sup>, YANG Yan<sup>2</sup>, LI Chun-yan<sup>2</sup>, GE Li-juan<sup>2</sup>

(1.College of Wine and Food Engineering Guizhou University, Guiyang 550025, China) (2.Key Laboratory of Natural Product Chemistry Chinese Academy of Sciences Guizhou Province, Guiyang 550014, China)

(3.Tongzi County Guancang Town Agricultural Service Center, Zunyi 563200, China)

**Abstract:** *Rosa roxburghii* pomace was fermented by *Agrocybe aegerita* to increase the content of soluble dietary fiber (SDF). The function of moistening intestines and defecation of *Rosa roxburghii* pomace was also investigated, which could provide the basis for the

引文格式:

张想,李立郎,杨娟,等.茶树菇发酵刺梨果渣制备可溶性膳食纤维工艺优化及其对小鼠润肠通便功能的评价[J].现代食品科技,2021, 37(3):171-180

ZHANG Xiang, LI Li-lang, YANG Juan, et al. Process optimization of soluble dietary fiber from *Roxburgh rose* pomace fermented by *Agrocybe aegerita* and its evaluation on the moistening and laxative function of mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 171-180

收稿日期: 2020-09-11

基金项目: 贵州省科技支撑项目 (黔科合支撑[2018]2769); 贵州省科技平台及人才团队计划项目 (黔科合平台人才[2017]5614; 黔教合 KY 字 (2020) 018); 中央和省级农业生产专项资金 (ZS202020)

作者简介: 张想 (1995-), 女, 硕士, 研究方向: 食品科学与工程

通讯作者: 李立郎 (1987-), 男, 助理研究员, 研究方向: 健康养生产品开发

comprehensive development and utilization of dietary fiber of *Rosa roxburghii* pomace. Methods: on the basis of single factor and Box-Behnken experimental design, the fermentation medium was optimized to improve the yield of SDF. KM mice were randomly divided into blank control group, model control group, positive control group, SDF low (ig. 0.25 g/kg·bw), medium (ig. 0.5 g/kg·bw) and high-dose group (ig. 1 g/kg·bw). The constipation model was established with *compound diphenoll*. After continuous intragastric administration for 14 days, the effect of the intragastric infusion on the moistening and laxative function of mice was analyzed by measuring the propulsion rate of small intestine ink, the time of the first black stool, and the number and weight of the first black stool within 6 h. Results: the optimum preparation conditions were as follows: calcium chloride of 1%, potassium chloride of 0.6%, sugar of 4% and ratio of liquid to material of 7:1. Under these conditions, the SDF yield of *Rosa roxburghii* pomace was 5.86%, which was 68.78% higher than that of unfermented pomace. The results of animal experiments showed that on the basis of successful constipation model, all SDF dose groups could improve the constipation of mice, and the effect of high dose group was the most obvious. Conclusion: the preparation technology of SDF from *Rosa roxburghii* pomace fermented by *Agroclybe aegerita* was reasonable, economic and convenient, and the product could have a good effect of moistening and laxative.

**Key words:** Roxburgh rose pomace; soluble dietary fiber; *Agroclybe aegerita* fermentation; response surface methodology; moistening and laxative

刺梨 (*Rosa roxburghii* Tratt) 原产于我国西南地区<sup>[1]</sup>, 是我国特有果树资源, 果实富含维生素 C<sup>[2,3]</sup>、SOD<sup>[4]</sup>、类黄酮<sup>[5]</sup>、氨基酸<sup>[6]</sup>等营养物质, 具有极高的保健和医药价值<sup>[7-9]</sup>。在刺梨的食品加工过程中有近 50% 的残渣被丢弃<sup>[10]</sup>, 造成严重的资源浪费。刺梨果渣中富含维生素、粗蛋白、膳食纤维、黄酮类等活性物质<sup>[11]</sup>。膳食纤维 (dietary fiber, DF) 是一种功能性的食料, 有“第七大营养素”之称, 膳食纤维的大分子结构使其具备良好的持水性、吸附力等功能特性, 具有维持消化系统健康、增强免疫系统、降低胆固醇和高血压等生理调节作用<sup>[12]</sup>。按溶解特性可分为可溶性膳食纤维 (soluble dietary fibre, SDF) 和不溶性膳食纤维 (insoluble dietary fiber, IDF), SDF 对多种金属离子有良好的吸附特性, 能促进人体代谢和小肠蠕动, 具有缓解便秘的功能<sup>[13]</sup>, IDF 可通过抑制  $\alpha$ -淀粉酶的作用降低血糖生成指数, 具有降血糖<sup>[14]</sup>、降血脂、控制体重<sup>[15]</sup>等功能。

目前, 膳食纤维的提取方法主要有化学法、酶法、膜分离法、发酵法等<sup>[16]</sup>, 其中微生物发酵法是提取可溶性膳食纤维的新型技术手段, 实现了微生物产酶与酶解过程的统一, 降低生产成本<sup>[17]</sup>。刺梨果渣中丰富的粗蛋白、纤维素、木质素等物质可满足茶树菇 (*Agroclybe aegerita*) 类木腐真菌生长所需的氮源和碳源<sup>[18]</sup>。同时, 刺梨果渣含有大量有机酸物质, pH 呈弱酸性, 其颗粒良好的通气率和持水性可为茶树菇菌种提供良好的生长环境<sup>[19]</sup>。

便秘是消化系统常见的功能性胃肠道疾病, 临床上表现为大便量少、硬, 排出困难, 且伴有腹胀、腹部不适、食欲不振等症状<sup>[20,21]</sup>。随着现代社会的发展以及人们饮食结构的改变、精神、心理等因素的影响, 便秘发生率逐年增高, 其中精细饮食习惯使膳食纤维

摄入量减少是形成便秘的重要原因。有研究发现香蕉<sup>[22]</sup>、麸皮<sup>[23]</sup>、菊粉<sup>[24]</sup>中可溶性膳食纤维能够增强小肠运动能力, 具有润肠通便的作用。本实验以刺梨果渣为原料, 选用茶树菇作为发酵菌种, 研究最佳发酵工艺条件下所制备得出的刺梨果渣 SDF 对便秘模型小鼠润肠通便的作用, 对果渣资源的利用及可持续发展提供可行依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

刺梨果渣: 贵州恒力源天然生物科技有限公司新鲜刺梨经榨汁等加工后的副产物, 干燥处理后备用; 茶树菇一级种: 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室提供; 麻仁丸: 山西华康药业股份有限公司; 复方地芬诺酯片: 新乡市长乐制药有限责任公司; 阿拉伯树胶: 成都金山化学试剂有限公司; 活性炭粉: 天津市光复科技发展有限公司; 体积分数 95% 乙醇、CaCl<sub>2</sub>、KCl、丙酮: 天津市致远化学试剂有限公司;  $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶、淀粉葡萄糖苷酶、MES-TRIS: 大连美仑生物科技有限公司。

PDA 培养基: 200 g 马铃薯切片, 加热煮沸, 过滤, 加入 20 g 葡萄糖和 18 g 琼脂, 再次加热煮沸 10 min, 调整体积至 1 L 后用玻璃棒搅拌溶化均匀后分装试管, 于 121 °C、0.1 MPa 条件下灭菌 30 min, 冷凝后待用。

### 1.2 仪器与设备

DK-98-II 恒温振荡水浴箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; FA2004N 分析天平, 上海菁海仪器有限公司; SX2-4-10TZ 马弗炉, 厦门仪宸科技有限公司; 101-2A



烘箱,天津市泰斯特仪器有限公司;BZF-50 真空干燥箱,常州诺基仪器有限公司;FE20 pH 计,梅特勒-托利多仪器有限公司;LDZV-75KBS 不锈钢压力蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;SW-CJ-2F 双人双面净化工作台,苏州净化设备有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 菌种的活化

在无菌条件下将保藏良好的茶树菇菌种母种接种到制备好的 PDA 斜面固体培养基上,于 28 ℃ 恒温培养箱种恒温培养 5~7 d,采用以上方法活化 3 次。

#### 1.3.2 工艺流程

新鲜刺梨果渣→调料混匀、配制发酵培养基→装瓶、灭菌(121 ℃, 30 min)→冷却后接入活化好的茶树菇菌种→发酵培养(26 ℃ 条件下,培养至菌丝体长满培养基即为发酵完全)→灭菌→烘干→粉碎(过 200 目筛)→茶树菇发酵刺梨果渣膳食纤维测定

#### 1.3.3 单因素实验

参照 1.3.2 膳食纤维提取的工艺流程,选取氯化钙( $\text{CaCl}_2$ )添加量(%),氯化钾(KCl)添加量(%),糖添加量(%),液料比(mL/g)这四个因素进行实验,以刺梨果渣膳食纤维得率为指标,研究茶树菇发酵在不同条件下对刺梨果渣膳食纤维得率的影响,单因素实验设计,见表 1。

表 1 刺梨果渣膳食纤维单因素实验水平表

Table 1 Single factor test level of dietary fiber from Roxburgh rose pomace

| 因素         | 水平  |       |     |       |     |
|------------|-----|-------|-----|-------|-----|
| 氯化钙添加量/%   | 0.6 | 0.8   | 1.0 | 1.2   | 1.4 |
| 氯化钾添加量/%   | 0.2 | 0.4   | 0.6 | 0.8   | 1.0 |
| 糖添加量/%     | 2   | 3     | 4   | 5     | 6   |
| 液料比/(mL/g) | 6:1 | 6.5:1 | 7:1 | 7.5:1 | 8:1 |

#### 1.3.4 响应面实验设计

表 2 响应面因素及编码水平

Table 2 Factors and coding levels of response surface

| 水平 | 因素         |            |          |              |
|----|------------|------------|----------|--------------|
|    | A 氯化钙添加量/% | B 氯化钾添加量/% | C 糖添加量/% | D 液料比/(mL/g) |
| -1 | 0.8        | 0.4        | 3        | 6.5          |
| 0  | 1.0        | 0.6        | 4        | 7.0          |
| 1  | 1.2        | 0.8        | 5        | 7.5          |

在单因素实验的基础上,运用 Design-Expert 8.06 软件中的 Box-Behnken 实验设计方法,选择氯化钙添加量(A)、氯化钙添加量(B)、糖添加量(C)、液料比(D)为自变量,平菇发酵 SDF 得率为响应值进

行 Box-Behnken 响应面实验设计,各因素的三个水平采用-1、0、1 进行编码,见表 2。

#### 1.3.5 刺梨果渣膳食纤维提取率的测定

根据 GB 5009.88-2014《食品中膳食纤维的测定》中所示的酶重量法对原料的总膳食纤维(TDF)含量、不溶性膳食纤维(IDF)含量及可溶性膳食纤维(SDF)含量进行测定。得率按如下公式计算:

$$\text{SDF/IDF 得率}(\%) = \frac{\text{提取的 SDF/IDF 质量}(\text{g})}{\text{刺梨果渣的质量}(\text{g})} \times 100\%$$

$$\text{TDF 得率}(\%) = \text{SDF 得率}(\%) + \text{IDF 得率}(\%)$$

### 1.4 动物实验

#### 1.4.1 实验动物

SPF 级八周龄 KM 小鼠 96 只,雌雄各半,体重 20 g 左右,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,许可证号:SCXK(辽)2015-0001。

饲养条件:室温(20±2)℃,湿度 55%~65%,光照 12 h/d,明暗交替,通风洁净条件良好。购入后适应环境 7 d。

#### 1.4.2 剂量选择与分组

小鼠适应性喂养一周后,随机分为 12 组,每组 8 只,雌雄各半。前 6 组用于小肠运动实验,后 6 组用于小鼠排便实验。实验设置空白对照组(蒸馏水)、阳性对照组(麻仁丸 ig.4 g/kg·bw,根据药理试验中人体与小鼠间的等效剂量换算得出<sup>[25]</sup>)、模型对照组(蒸馏水并造模)、茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 低剂量组(ig.0.25 g/kg·bw)、中剂量组(ig.0.5 g/kg·bw)、高剂量组(ig.1 g/kg·bw)。

#### 1.4.3 小鼠小肠推进率实验

小鼠每日灌胃量为 0.2 mL/10 g,连续给予受试品 14 d,末次灌胃后各组小鼠禁食不禁水 16 h。阳性对照组、模型对照组和茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 低、中、高剂量组小鼠灌胃复方地芬诺酯(ig.10 mg/kg·bw),空白组给予等剂量的蒸馏水,建立便秘模型。造模 30 min 后,阳性对照组和茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 低、中、高剂量组分别灌胃含相应受试品的墨汁,空白和模型对照组灌胃相同剂量的墨汁。在给予墨汁 25 min 后各组小鼠通过颈椎脱臼法处死,解剖打开小鼠腹腔剪取从幽门至回盲部位的肠管,不加牵引平铺呈直线状态下测量“小肠总长度”,从幽门至墨汁前沿为“墨汁推进长度”,根据下式计算墨汁推进率:

$$\text{墨汁推进率}(\%) = \frac{\text{墨汁推进长度}(\text{cm})}{\text{小肠总长度}(\text{cm})} \times 100\%$$

#### 1.4.4 小鼠排便实验

同 1.3.3 小鼠小肠推进实验中方法灌胃与造模。各

组小鼠在灌胃墨汁后,单笼饲养并且正常饮食饮水,观察并记录每只小鼠首次排出黑便的时间以及每组小鼠 6 h 内的排出黑便的粒数及其质量并测定粪便含水量。

## 1.5 数据处理

数据以  $\bar{x} \pm SD$  表示,应用 SPSS 21.0 软件进行差异显著性分析,  $p < 0.05$  或  $p < 0.01$  为具有统计学意义, Origin 9.0 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验

#### 2.1.1 不同氯化钙 ( $\text{CaCl}_2$ ) 添加量对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 得率的影响

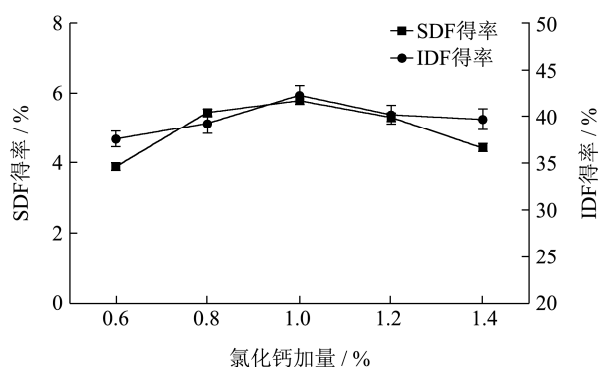


图 1  $\text{CaCl}_2$  添加量对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 得率的影响

Fig.1 Effect of  $\text{CaCl}_2$  addition on DF yield of Roxburgh rose pomace fermented by *Agrocybe aegerita*

由图 1 可知,随着氯化钙添加量的不断增加,膳食纤维得率呈先增加后减少的趋势,在添加量为 1% 处达到最大值。钙元素是食用菌生长不可缺少的营养物质,且菌丝体自身无法合成需从外界培养基中摄取[26],作为细胞调节渗透压的主要元素,决定着微生物能否正常的成长。随着氯化钙添加量的增加,菌丝体生长趋势良好,膳食纤维得率不断增加,但当氯化钙添加量达到 1% 时,膳食纤维得率开始逐渐降低,过高的钙离子浓度会影响到菌体的正常生长和代谢,故采用茶树菇发酵刺梨果渣氯化钙最佳添加量为 1%。

#### 2.1.2 不同氯化钾 (KCl) 添加量对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 的影响

钾元素在真菌生长发育过程中起到调节代谢、维持离子稳态、调节渗透压等作用[27,28]。由图 2 可知,当氯化钾添加量小于 0.60% 时,菌丝的生长活性逐渐提高;而在氯化钾添加量大于 0.60% 时,膳食纤维得率随着氯化钾添加量的增加而降低,推测其原因可能

是培养基中钾离子浓度过量导致菌丝细胞内外渗透压和酸碱平衡失调,继而抑制菌丝生长代谢。故采用茶树菇发酵刺梨果渣氯化钾最佳添加量为 0.60%。

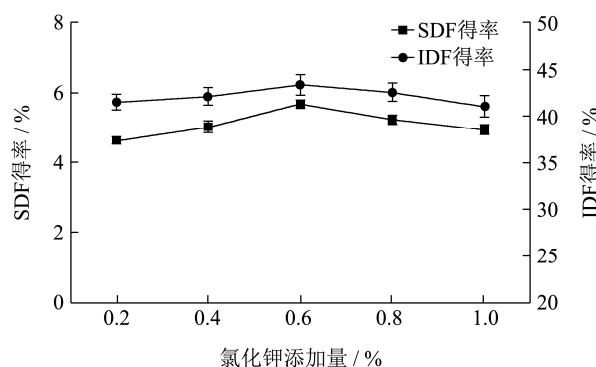


图 2 KCl 添加量对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 得率的影响

Fig.2 Effect of KCl addition on DF yield of Roxburgh rose pomace fermented by *Agrocybe aegerita*

#### 2.1.3 不同糖添加量对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 的影响

碳源主要是提供菌种生长所需要的能量,也是发酵和代谢的含碳化合物的主要来源[29]由图 3 可知,膳食纤维得率在糖添加量为 4% 时均达到最高值;当糖添加量在 2%~4% 范围内,由于培养基中碳源的增加,有利于菌种的生长发育,膳食纤维得率得以提高;而继续增大糖添加量,导致培养基碳氮比失调,菌丝体生长减缓,且发酵成本上升[30],故膳食纤维得率逐渐降低。因此采用茶树菇发酵刺梨果渣糖最佳添加量为 4%。

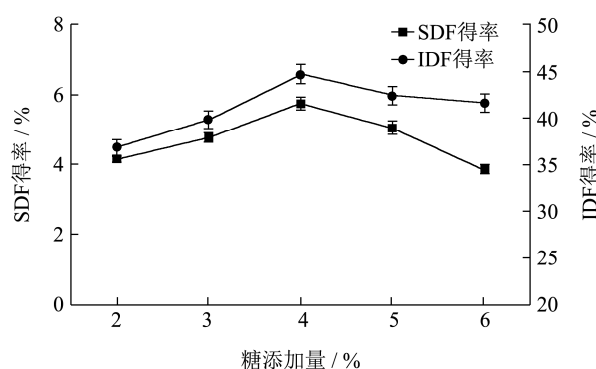


图 3 糖添加量对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 的影响

Fig.3 Effect of sugar content on DF of Roxburgh rose pomace fermented by *Agrocybe aegerita*

#### 2.1.4 不同液料比对茶树菇发酵刺梨果渣 DF 得率的影响

水作为发酵培养基的必备物质对培养的优劣起着决定性作用[31],合适的液料比能够保持一个相对适宜的发酵环境。由图 4 可知,刺梨果渣膳食纤维得率随液料比 (mL/g) 的增加而变大,在 7:1 时达到最大值,此后得率呈下降趋势。当液料比小于 7:1 (mL/g) 时,

细胞内外形成的浓度差较小使膳食纤维溶出不够完全,得率较低;当液料比(mL/g)为7:1时,膳食纤维得率达到最高值;当液料比继续增加,可能由于果渣颗粒吸水膨胀致使透气性下降,且浸提液体积过大,也不利于后期的浓缩分离,增大实验成本。因此,采用茶树菇发酵刺梨果渣最佳液料比为7:1(mL/g)。

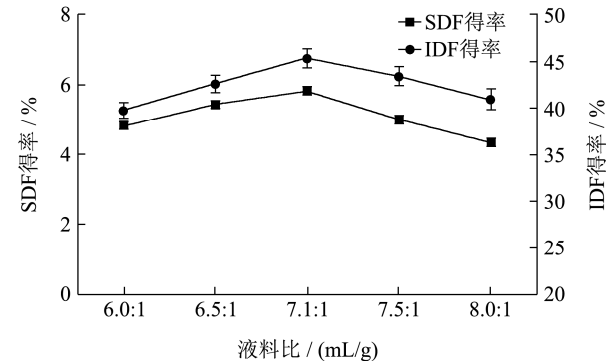


图4 液料比对茶树菇发酵刺梨果渣DF得率的影响

Fig.4 Effect of liquid to material ratio on DF yield of Roxburgh rose pomace fermented by *Agrocybe aegerita*

2.2 Box-Behnken 实验设计及响应面分析结果

2.2.1 茶树菇发酵刺梨果渣的 Box-Behnken 实验设计及响应面分析结果

不同因素对实验结果的影响见表3,由表3可知,回归模型极显著( $p<0.0001$ ),其相关系数 $R^2=0.9419$ ,说明模型真实、拟合程度好,能解释响应值94.19%的变化。失拟项不显著( $p=0.1912>0.05$ ),说明实验误差较小,可以认为该模型对茶树菇发酵刺梨果渣提取其中SDF实验结果进行准确可靠的预测。模型中B、C、D、AB、AD、CD、 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 、 $D^2$ 都达到了显著水平,说明各个因素对响应值的影响不是简单的线性关系。运用Design-Expert 8.06软件对实验所得响应值进行多元回归拟合分析,建立二次回归模型为:

$$Y_2(\text{茶树菇发酵 SDF 得率}) = +5.78A + 0.14B + 0.12C + 0.075D + 0.14AB + 0.015AC - 0.13AD - 0.063BC + 0.045BD + 0.13CD - 0.39A^2 - 0.40B^2 - 0.30C^2 - 0.19D^2$$

表3 Box-Behnken 实验方案与结果

Table 3 Box-Behnken experimental design and results

| 实验号 | 茶树菇发酵 SDF 得率/% |    |    |    |      | 实验号 | 茶树菇发酵 SDF 得率/% |    |    |    |      |
|-----|----------------|----|----|----|------|-----|----------------|----|----|----|------|
| 1   | 0              | 0  | 0  | 0  | 5.86 | 16  | 0              | 0  | 1  | 1  | 5.63 |
| 2   | 0              | 0  | -1 | -1 | 5.18 | 17  | 0              | 0  | 1  | -1 | 5.26 |
| 3   | -1             | -1 | 0  | 0  | 4.99 | 18  | 1              | 1  | 0  | 0  | 5.24 |
| 4   | 1              | 0  | 0  | 1  | 5.15 | 19  | -1             | 0  | 0  | -1 | 5.01 |
| 5   | 0              | 0  | 0  | 0  | 5.69 | 20  | -1             | 0  | 1  | 0  | 5.23 |
| 6   | 0              | 0  | 0  | 0  | 5.73 | 21  | 0              | 0  | -1 | 1  | 5.04 |
| 7   | 1              | 0  | 0  | -1 | 5.24 | 22  | 0              | 1  | 1  | 0  | 5.1  |
| 8   | 0              | 0  | 0  | 0  | 5.78 | 23  | 0              | -1 | 0  | 1  | 5.01 |
| 9   | 0              | -1 | -1 | 0  | 4.95 | 24  | -1             | 0  | 0  | 1  | 5.45 |
| 10  | 0              | 1  | 0  | -1 | 5.31 | 25  | 1              | 0  | -1 | 0  | 4.97 |
| 11  | 0              | -1 | 1  | 0  | 5.11 | 26  | 0              | -1 | 0  | -1 | 4.94 |
| 12  | 0              | 1  | -1 | 0  | 5.19 | 27  | -1             | 0  | -1 | 0  | 4.91 |
| 13  | 0              | 1  | 0  | 1  | 5.56 | 28  | 1              | -1 | 0  | 0  | 4.72 |
| 14  | 0              | 0  | 0  | 0  | 5.85 | 29  | 1              | 0  | 1  | 0  | 5.35 |
| 15  | -1             | 1  | 0  | 0  | 4.95 |     |                |    |    |    |      |

表4 响应面分析实验方差分析结果

Table 4 Box-Behnken experimental design and results for response surface analysis

| 方差来源 | 平方和      | 自由度 | 均方       | F 值   | P 值      | 显著性 |
|------|----------|-----|----------|-------|----------|-----|
| 模型   | 2.61     | 14  | 0.19     | 16.22 | < 0.0001 | **  |
| A    | 0.001408 | 1   | 0.001408 | 0.12  | 0.7314   |     |
| B    | 0.22     | 1   | 0.22     | 19.27 | 0.0006   | **  |
| C    | 0.17     | 1   | 0.17     | 15.04 | 0.0017   | **  |
| D    | 0.067    | 1   | 0.067    | 5.88  | 0.0295   | *   |

转下页

接上页

|                |        |    |         |       |          |    |
|----------------|--------|----|---------|-------|----------|----|
| AB             | 0.078  | 1  | 0.078   | 6.82  | 0.0205   | *  |
| AC             | 0.0009 | 1  | 0.0009  | 0.078 | 0.7836   |    |
| AD             | 0.07   | 1  | 0.07    | 6.11  | 0.0269   | *  |
| BC             | 0.016  | 1  | 0.016   | 1.36  | 0.263    |    |
| BD             | 0.0081 | 1  | 0.0081  | 0.71  | 0.4152   |    |
| CD             | 0.065  | 1  | 0.065   | 5.66  | 0.0321   | *  |
| A <sup>2</sup> | 0.96   | 1  | 0.96    | 83.77 | < 0.0001 | ** |
| B <sup>2</sup> | 1.05   | 1  | 1.05    | 91.56 | < 0.0001 | ** |
| C <sup>2</sup> | 0.57   | 1  | 0.57    | 49.61 | < 0.0001 | ** |
| D <sup>2</sup> | 0.23   | 1  | 0.23    | 20.15 | 0.0005   | ** |
| 残差             | 0.16   | 14 | 0.011   |       |          |    |
| 失拟项            | 0.14   | 10 | 0.014   | 2.54  | 0.1912   |    |
| 纯误差            | 0.022  | 4  | 0.00547 |       |          |    |
| 总和             | 2.77   | 28 |         |       |          |    |

注: \*差异显著,  $p<0.05$ ; \*\*差异极显著,  $p<0.01$ 。

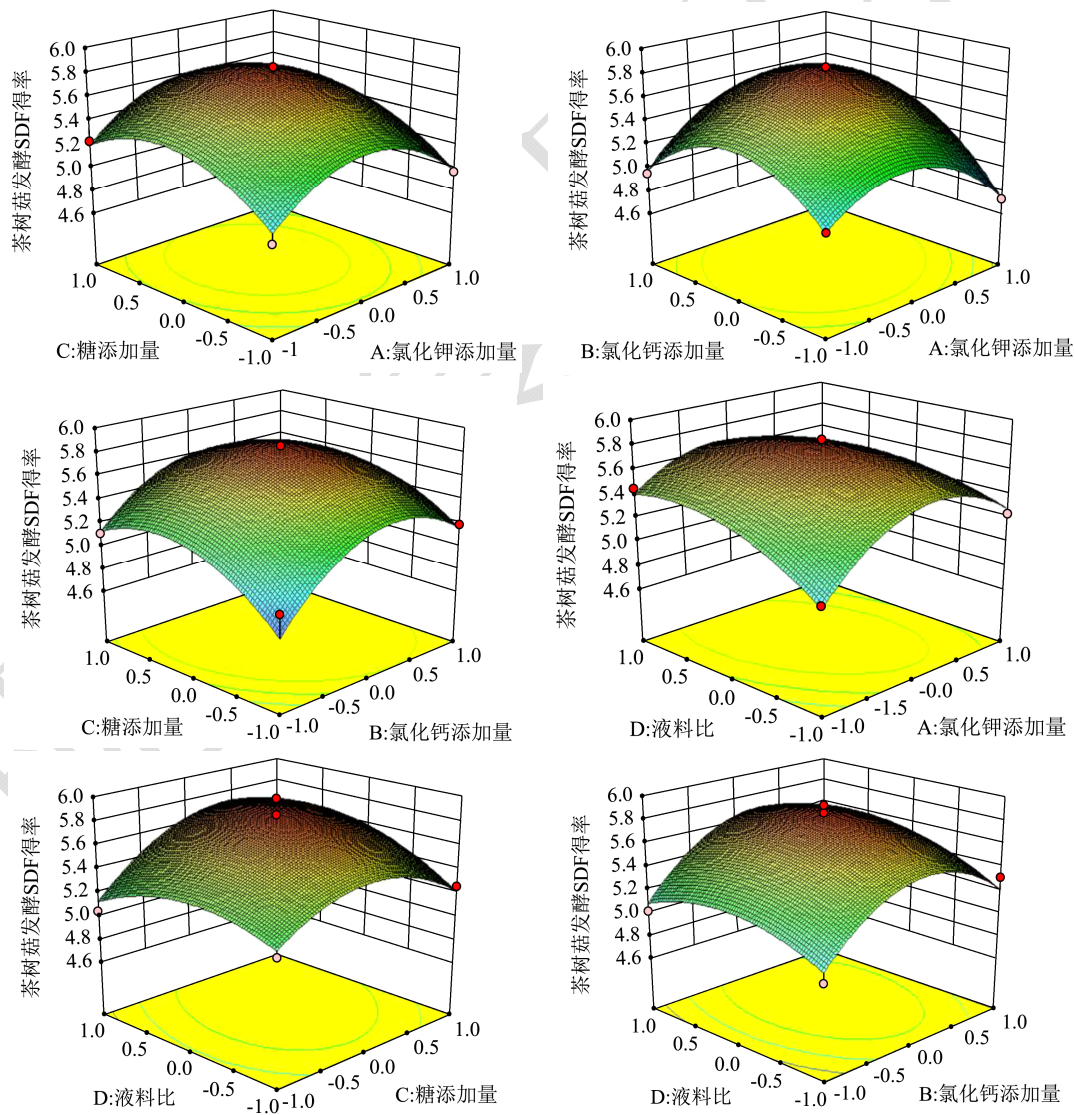


图 5 各因素交互作用对茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 得率影响的响应面图

Fig.5 Response surface diagram of influence of interaction of various factors on SDF yield of Roxburgh rose pomace by *Agrocybe aegerita*

表5 受试物对小鼠体重的影响

Table 5 Effect of test sample on body weight of mice

| 分组    | 小肠运动实验 (n=60) |          | 小肠粪便实验 (n=60) |          |
|-------|---------------|----------|---------------|----------|
|       | 初始体重/g        | 最终体重/g   | 初始体重/g        | 最终体重/g   |
| 空白对照组 | 28.6±1.2      | 34.3±2.9 | 27.9±2.3      | 36.2±1.7 |
| 模型对照组 | 27.7±2.4      | 33.7±3.6 | 26.8±1.8      | 37.8±1.9 |
| 阳性对照组 | 29.1±1.4      | 34.6±0.8 | 27.5±2.7      | 37.2±1.3 |
| 低剂量组  | 27.5±1.7      | 34.5±2.3 | 27.1±1.1      | 36.6±1.4 |
| 中剂量组  | 29.4±0.7      | 35.0±1.5 | 27.7±1.3      | 37.8±2.9 |
| 高剂量组  | 28.5±1.8      | 34.9±2.1 | 28.5±2.3      | 37.0±1.7 |

注: 表中各组间比较均无显著性差异 ( $p>0.05$ )。

表6 受试物对小鼠小肠推进率的影响

Table 6 Effect of test sample on intestinal propulsion rate of mice

| 组别    | 剂量/(g/kg) | 小肠总长度/cm   | 墨汁推进长度/cm  | 墨汁推进率/%       |
|-------|-----------|------------|------------|---------------|
| 空白对照组 | 0         | 50.72±2.94 | 31.26±4.08 | 61.65±7.77**  |
| 模型对照组 | 0         | 49.27±2.89 | 21.54±3.98 | 43.94±8.75    |
| 阳性对照组 | 4         | 51.92±2.77 | 32.99±6.54 | 63.51±10.74** |
| 低剂量组  | 0.25      | 48.81±4.22 | 23.55±3.33 | 48.43±6.54    |
| 中剂量组  | 0.5       | 47.92±2.78 | 28.89±3.21 | 59.39±8.45**  |
| 高剂量组  | 1         | 53.07±4.59 | 35.91±4.51 | 68.32±11.41** |

注: 与模型对照组比较, \*为差异显著  $p<0.05$ ; \*\*为差异极显著  $p<0.01$ 。下表同。

表7 受试物对小鼠小肠粪便实验的影响

Table 7 Effect of test sample on small intestine fecal experiment in mice

| 组别    | 剂量/(g/kg) | 排便粒黑便时间/min    | 6 h 内排便粒数/粒  | 6 h 内排便重量/g    |
|-------|-----------|----------------|--------------|----------------|
| 空白对照组 | 0         | 92.61±10.45**  | 32.24±6.59** | 0.5367±0.103** |
| 模型对照组 | 0         | 156.09±18.76   | 14.63±4.05   | 0.2017±0.056   |
| 阳性对照组 | 4         | 108.17±14.36** | 28.35±3.81** | 0.4623±0.052** |
| 低剂量组  | 0.25      | 142.73±24.46   | 19.14±7.24   | 0.2719±0.116   |
| 中剂量组  | 0.5       | 127.62±17.44** | 25.24±4.78** | 0.4057±0.072** |
| 高剂量组  | 1         | 113.19±21.29** | 29.55±6.74** | 0.5021±0.093** |

## 2.2.2 茶树菇发酵刺梨果渣响应面结果分析

根据回归方程作出三维空间响应面和对应的等高线(图5),可直观反映出各因素间交互作用的强度及其对响应值的影响程度。由图5可知,氯化钙(A)与氯化钾(B)间的响应面曲线较陡,等高线偏离圆形。当糖添加量和液料比两因素条件固定时,SDF得率随着钙和氯化钾添加量的增大而逐步增高,在中心点时达到最大值,而氯化钙和氯化钾添加量过大时,培养基质中可能因碳氮比失调,菌丝细胞内外渗透压失去平衡而致使其生长缓慢甚至停止生长,从而SDF得率下降。同理依次分析可得,各因素对茶树菇发酵刺梨果渣SDF得率的影响高低顺序是:氯化钾添加量(B)>糖添加量(C)>液料比(D)>氯化钙添加量(A)。

## 2.2.3 最佳提取条件优化与验证

通过响应面分析优化得到茶树菇发酵刺梨果渣SDF的最优提取条件为:氯化钾添加量0.60%、氯化钙添加量1.03%,糖添加量4.25%、液料比7.15:1,在此条件下得到SDF提取率的理论值为5.82%。考虑到实验的可行性,对实际情况稍做调整,即氯化钾添加量0.60%、氯化钙添加量1%,糖添加量4%、液料比7.0:1。在此条件下进行3次验证实验,得到SDF提取率为5.77%,较原果渣中SDF提高了68.78%左右(原果渣SDF得率为1.83%);发酵后IDF得率也有所增加,从40.73%增至44.58%,结果与理论值接近,说明响应面法优化模型能较好地预测SDF的提取率,其工艺条件较可靠。

## 2.3 小鼠润肠通便实验结果分析

### 2.3.1 茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 对小鼠体重

## 的影响

各组小鼠实验期间体重变化如表 5 所示, 可得实验前后各组小鼠体重之间均无显著性差异 ( $p>0.05$ )。在实验过程中各组小鼠活动灵活, 饮食正常, 无腹泻等不良反应, 且体质量呈逐渐上升趋势, 说明经茶树菇发酵所得刺梨果渣 SDF 在实验所选剂量下对小鼠体质量无影响。

## 2.3.2 茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 对小鼠小肠推进率的影响

如表 6 所示, 模型对照组墨汁推进率为 43.94%, 与空白对照组相比显著降低 ( $p<0.01$ ), 表明小鼠便秘模型建立成功; 而阳性对照组与 SDF 低、中、高剂量组与模型组相比, 墨汁推进率均有所提高, 分别提高了 44.54%、10.22%、35.16%、55.49%, 其中阳性对照组、中、高剂量组与模型对照组相比差异极显著 ( $p<0.01$ ), 低剂量组对比墨汁推进率虽然有所增加但无统计学意义。实验结果表明当刺梨果渣 SDF 摄入量达到 0.50 g/kg 及以上剂量时可明显缩短粪便在小鼠小肠内的停留时间, 具有促进小鼠小肠蠕动的的作用。

## 2.3.3 茶树菇发酵刺梨果渣膳食纤维对小鼠小肠运动的影响

灌胃墨汁后, 以首粒黑便排出时间和 6 h 内排黑便粒数及其重量为指标, 考察茶树菇发酵刺梨果渣 SDF 对小鼠排便实验的影响。实验结果由表 7 所示, 模型对照组与空白对照组相比, 排出首粒黑便时间、6 h 内排便重量及粒数存在显著性差异 ( $p<0.01$ ), 说明小鼠便秘模型建立成功。阳性组、刺梨果渣 SDF 低、中、高剂量组与模型对照组相比较都能缩短首粒黑便的排出时间, 分别缩短了 47.92 min、13.36 min、28.47 min、42.9 min, 其中阳性组与中、高剂量组与模型组相比差异极显著 ( $p<0.01$ ), 结果具有统计学意义。各受试物组与模型对照组相比, 6 h 内的排便粒数及重量都有所增加, 而阳性组与中、高剂量组与模型组间具有极显著差异 ( $p<0.01$ ), 低剂量组差异不显著。实验结果表明刺梨果渣 SDF 具有促进小鼠排便的作用, 其中高剂量组作用最为显著。

## 3 结论

3.1 本实验采用单因素实验和响应面分析法优化 SDF 得率, 结合实际分析得到茶树菇发酵刺梨果渣提取 SDF 最佳工艺条件为: 氯化钙添加量 1%、氯化钾添加量 0.60%、糖添加量 4%、液料比 7:1。在此条件下, 茶树菇发酵 SDF 得率为 5.86%, 较原果渣中 SDF 提高了 68.78%左右 (原果渣 SDF 得率为 1.83%); 发酵后 IDF 得率也有所增加, 从 40.73%增至 44.58%,

与预测值基本一致, 说明响应面法用于优化茶树菇发酵提取刺梨果渣 SDF 具有较好的准确性和有效性。丁小娟<sup>[32]</sup>等选用混合菌种 (嗜酸乳杆菌、戊糖乳杆菌、生香酵母) 发酵刺梨果渣, SDF 得率较原果渣提高 76.53%, 周笑犁<sup>[33]</sup>等采用保加利亚乳酸杆菌与嗜热链球菌作为发酵剂制备刺梨果渣中 SDF, 其得率较比原果渣提高了 70.85%。这说明选用食用菌茶树菇发酵可明显提高可溶性膳食纤维的得率, 发酵法制备刺梨果渣 SDF, 可利用茶树菇菌种生长繁殖过程中一系列生物化学反应把刺梨果渣中不溶性高分子物质分解成可溶性低分子化合物, 通过菌体的自溶作用产生新的营养成分和生物活性物质, 可提高产品的营养价值和保健功能。

3.2 通过小鼠小肠运动实验与排便实验可得出, 灌胃复方地芬诺酯可以成功构建小鼠便秘模型, 与模型对照组比较, SDF 中 (ig.0.50 g/kg·bw)、高剂量组 (ig.1 g/kg·bw) 能够显著小鼠墨汁推进率显著增高 ( $p<0.01$ ), 首粒黑便时间显著缩短 ( $p<0.01$ ), 排黑便数量及重量显著增加 ( $p<0.01$ ), 其中高剂量组效果最佳, 经发酵工艺优化后的刺梨果渣 SDF 具有良好的润肠通便功效。余拓<sup>[22]</sup>等研究了香蕉可溶性膳食纤维对小鼠的润肠通便功效, 当 SDF 剂量为 1 g/kg·bw 时即可产生促进小鼠肠蠕动的效果, 何为涛<sup>[34]</sup>等实验发现低聚果糖剂量为 0.50 g/mL 时能够明显促进小鼠小肠运动。孟雪梅<sup>[35]</sup>等通过动物实验证明了复合苦荞粉中的可溶性膳食纤维是发挥润肠作用的关键成分。

3.3 综上所述, 采用食用菌茶树菇发酵刺梨果渣, 可溶性膳食纤维得率显著提高, 所得产品具有可食用性, 提取条件温和、易于操作, 污染小, 可实现大批量提取膳食纤维, 且节约成本, 这为后续高品质膳食纤维相关功能型产品的开发研究提供理论依据。

## 参考文献

- [1] Wang H, Li Y, Ren Z, et al. Optimization of the microwave-assisted enzymatic extraction of *Rosa roxburghii* trapp polysaccharides using response surface methodology and its antioxidant and  $\alpha$ -D-glucosidase inhibitory activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 473-482
- [2] 何照范, 牛爱珍, 向显衡, 等. 刺梨果实营养及其维生素 C 含量变化的研究[J]. 园艺学报, 1984, 4: 271-273  
HE Zhao-fan, NIU Ai-zhen, XIANG Xian-heng, et al. Study on nutrition and vitamin C content of *Rosa roxburghii* Tratt [J]. Acta Horticulturae Sinica, 1984, 4: 271-273
- [3] Ming Huang, Qiang Xu, Xiu-Xin Deng. L-Ascorbic acid

- metabolism during fruit development in an ascorbate-rich fruit crop chestnut rose (*Rosa roxburghii* Tratt) [J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(14): 1205-1216
- [4] 付安妮,高明波,冯杰.刺梨中 SOD 的提取和酶活测定[J].广州化工,2016,44(16):144-146
- FU An-ni, GAO Ming-bo, FENG Jie. Extraction and enzyme activity determination of SOD from *Rosa roxburghii* Tratt [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2016, 44(16): 144-146
- [5] 曾芳芳.刺梨果实主要植物化学素及生物活性研究[D].杭州:浙江大学,2017
- ZENG Fang-fang. Study on the main phytochemicals and Bioactivities of *Rosa roxburghii* Tratt [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017
- [6] Lu M, An H, Wang D. Characterization of amino acid composition in fruits of three, *Rosa roxburghii*, genotypes [J]. Horticultural Plant Journal, 2017, 3(6): 232-236
- [7] Goff H D, Nikolay R, Hrvoje F, et al. Dietary fibre for glycaemia control: Towards a mechanistic understanding [R]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, Available online 12 July 2017
- [8] Marija L, Marijana M S, Ivana R, et al. Knowledge about dietary fibre and its health benefits: a cross-sectional survey of 2536 residents from across Croatia [R]. Medical Hypotheses, 2017, 105: 25-31
- [9] Iain A B, Peter I C, Jeff P P, et al. Dietary fibre and weight loss: where are we now? [R]. Food Hydrocolloids, 2017, 68: 186-191
- [10] 张瑜.刺梨果渣高纤粉加工及品质特性研究[D].贵阳:贵州大学,2016
- ZHANG Yu. Study on processing and quality characteristics of *Rosa roxburghii* fruit residue high fiber powder [D]. Guiyang: Guizhou University, 2016
- [11] 周笑犁,王瑞,高逢明,等.刺梨果渣膳食纤维的体外吸附性能[J].食品研究与开发,2018,39(2):187-191
- ZHOU Xiao-li, WANG Rui, GAO Peng-ming, et al. *In vitro* adsorption properties of dietary fiber from *Rosa roxburghii* fruit residue [J]. Food Research and Development, 2018, 39(2): 187-191
- [12] 梁欣妍,张瑜,丁筑红.不同粒度刺梨果渣对高血脂小鼠血脂及组织抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2018,39(16):290-295
- LIANG Xin-yan, ZHANG Yu, DING Zhu-hong. Effects of *Rosa roxburghii* Tratt with different particle sizes on blood lipid and tissue antioxidant activity in hyperlipidemic mice [J]. Food Industry Technology, 2018, 39(16): 290-295
- [13] 叶秋萍,曾新萍.膳食纤维的制备技术及理化性能的研究进展[J].食品研究与开发,2019,49(17):212-217
- YE Qiu-ping, ZENG Xin-ping. Research progress on preparation technology and physical and chemical properties of dietary fiber [J]. Food Research and Development, 2019, 49(17): 212-217
- [14] QI Jing, LI Yue, Kingsley G M, et al. The effect of chemical treatment on the *in vitro* hypoglycemic properties of rice bran insoluble dietary fiber [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52(5): 699-706
- [15] Isken F, S Klaus, M Terhoff, et al. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high fat diet induced obesity in C57BL/6J mice [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2010, 21(4): 278-284
- [16] Zhang P Y, Zhang Q, Whistler R L. L-arabinose release from arabinoxylan and arabinogalactan under potential gastric acidities [J]. Cereal Chemistry, 2003, 80(3): 252-254
- [17] 刘杰.发酵法制备小麦麸皮膳食纤维及理化性质研究[D].天津:天津科技大学,2015
- LIU Jie. Preparation of dietary fiber from wheat bran by fermentation and its physicochemical properties [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015
- [18] PCK, Cheung. Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: preparation and health benefits [J]. Food Science and Human Wellness, 2013, 2(3-4): 162-166
- [19] 周瑞平.农作物秸秆综合应用食用菌栽培技术[J].江西农业, 2019,24:98-99
- ZHOU Rui-ping. Cultivation techniques of edible fungi for comprehensive application of crop straw [J]. Jiangxi Agriculture, 2019, 24: 98-99
- [20] 叶飞,王巧民.慢性便秘的流行病学研究进展[J].中国临床保健杂志,2010,13(6):665-667
- YE Fei, WANG Qiao-ming. Progress in epidemiology of chronic constipation [J]. Chinese Journal of Clinical Health, 2010, 13(6): 665-667
- [21] Chu H, Zhong L, Li H, et al. Epidemiology characteristics of constipation for general population, pediatric population, and elderly population in China [J]. Gastroenterol Res Pract, 2014, 2014(8): 532734
- [22] 余拓,杨公明.香蕉可溶性膳食纤维的特性及通便功能研究[J].食品研究与开发,2017,38(20):178-182
- YU Tuo, YANG Gong-ming. Characteristics and defecation function of soluble dietary fiber from banana [J]. Food Research and Development, 2017, 38(20): 178-182
- [23] 赵雪.四种方法制备的麦麸提取物润肠通便作用比较[D].



- 天津:天津科技大学,2016.
- ZHAO Xue. Comparison of the bowel moistening and defecating effects of wheat bran extracts prepared by four methods [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2016
- [24] 徐小琴,杨立琛,邓桂龙,等.菊粉与谷物粉润肠通便作用的初步研究[J].食品研究与开发,2018,39(12):183-186
- XUE Xiao-qin, YANG Li-chen, DENG Gui-long, et al. Preliminary study on the effect of *inulin* and cereal powder on bowel movement and defecation [J]. Food Research and Development, 2018, 39(12): 183-186
- [25] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等.药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J].中国临床药理学与治疗学,2004, 9:1069-1072
- HUANG Ji-han, HUANG Xiao-hui, CHEN Zhi-yang, et al. Equivalent dose conversion between animals and between animals and humans in pharmacological experiments [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2004, 9: 1069-1072
- [26] 朱向东.微生物发酵工艺优化研究进展[J].化工管理,2019, 16:202,205
- ZHU Xiang-dong. Research progress on optimization of microbial fermentation process [J]. Chemical Management, 2019, 16: 202, 205
- [27] 余伟.无机盐在食用菌生产上的应用[J].农家之友,2001, 10:20
- YU Wei. Application of inorganic salts in edible fungi production [J]. Friends of Farmers, 2001, 10: 20
- [28] 刘敏,卢红,黄媛媛,等.茶树菇液体发酵条件研究[J].北方园艺,2016, 11:142-144
- LIU Min, LU Hong, HUANG Yuan-yuan, et al. Study on liquid fermentation conditions of *Agrocybe aegerita* [J]. Horticulture in North China, 2016, 11: 142-144
- [29] 孙荟林,李明,李守勉,等.茶树菇母种培养基最适碳氮比及碳源氮源筛选[J].北方园艺,2016,14:148-151
- SUN Yun-lin, LI Ming, LI Shou-mian, et al. Optimum C/N ratio and selection of carbon and nitrogen sources for *Agrocybe aegerita* [J]. Horticulture in northern China, 2016, 14: 148-151
- [30] 张连忠,武炜,李成会,等.酵母培养物添加剂固态培养培养基的研究[J].安徽农业科学,2018,11:2787-2788
- ZHANG Lian-zhong, WU Wei, LI Cheng-hui, et al. Study on solid medium for yeast culture additives [J]. Anhui Agricultural Science, 2018, 11: 2787-2788
- [31] 时国豪.山楂籽食用菌固态培养及益生饮料的开发[D].泰安:山东农业大学,2020
- GUO Shi-hao. Solid state culture of hawthorn seed edible fungi and development of probiotic beverage [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2020
- [32] 丁小娟,孟满,赵泽伟,等.发酵法制取刺梨果渣膳食纤维工艺优化及其特性分析[J].食品工业科技,2018,39(7):97-103
- DING Xiao-juan, MENG Man, ZHAO Ze-wei, et al. Process optimization and characteristics analysis of dietary fiber from *Rosa roxburghii* Tratt by fermentation [J]. Food Industry Technology, 2018, 39(7): 97-103
- [33] 周笑犁,谢国芳,何劲,等.发酵法制备刺梨果渣可溶膳食纤维的工艺优化[J].食品工业科技,2018,39(1):102-106
- ZHOU Xiao-li, XIE Guo-fang, HE Jing, et al. Process optimization of soluble dietary fiber from *Rosa roxburghii* Tratt by fermentation [J]. Food Industry Technology, 2018, 39(1): 102-106
- [34] 何为涛,赵鹏,刘荣珍,等.低聚果糖通便作用的研究[J].中华中西医杂志,2006,7(9):27
- HE Wei-tao, ZHAO Peng, LIU Rong-zhen, et al. Study on the effect of fructooligosaccharide facilit-yating feces excretion [J]. Chinese Journal of Chinese and Western Medicine, 2006, 7(9): 27
- [35] 孟雪梅,马文芳,张玲玲.复合苦荞粉通便作用的研究[J].现代食品科技,2018,34(1):19-23,30
- MENG Xue-mei, MA Wen-fang, ZHANG Ling-ling. Study on defecation effect of compound Tartary buck wheat powder [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(1): 19-23, 30