

冠突散囊菌发酵罗汉果渣过程中功能性成分及抗氧化活性的变化

尹家全¹, 刘歆旖¹, 王兰², 刘素纯^{1*}

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128) (2. 长沙学院后勤处, 湖南长沙 410022)

摘要: 采用冠突散囊菌固态发酵罗汉果渣, 对罗汉果渣总皂苷、多酚、总黄酮及粗多糖的含量变化以及与其 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶及蛋白酶活性的相关性进行分析, 同时研究其发酵过程中抗氧化活性的变化。结果表明, 发酵过程中罗汉果渣总皂苷、多酚、总黄酮及多糖的含量都呈先增加后减少的趋势, 分别在第6、8、6和6天达到最大值11.36、3.08、10.42和8.34 mg/g, 是未发酵组的1.42倍、2.37倍、2.53倍及1.90倍。 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶及蛋白酶活性分别在第8、6、8和8天达到最大值57.91、153.06、69.42和85.30 U/g, 总皂苷、总黄酮和粗多糖含量的变化与纤维素酶活性和蛋白酶活性具有显著正相关性, 多酚含量变化和 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶及蛋白酶活性具有显著正相关性。发酵过程中, 罗汉果渣的抗氧化活性呈先增加后降低的趋势, 其DPPH、ABTS⁺自由基清除能力及总还原力分别在第8、8和6天达到最大, 且与未发酵组相比具有显著性差异($P < 0.05$)。因此, 冠突散囊菌发酵罗汉果渣能有效提升其功能性成分含量, 增强其抗氧化活性, 对罗汉果渣资源利用的绿色循环和可持续发展具有重要意义。

关键词: 冠突散囊菌; 罗汉果渣; 发酵; 功能性成分; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2023)04-88-95

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0523

Changes in Functional Components and Antioxidant Activity during the Fermentation of *Siraitia grosvenorii* Pomace by *Eurotium cristatum*

YIN Jiaquan¹, LIU Xinyi¹, WANG Lan², LIU Suchun^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2. Department of Logistics, Changsha University, Changsha 410022, China)

Abstract: *Siraitia grosvenorii* pomace was fermented by *Eurotium cristatum*. Changes in the contents of total saponins, polyphenols, total flavonoids and crude polysaccharides and their correlations with the activities of β -glucosidase, cellulase, α -amylase and protease were analyzed. Meanwhile, the changes in antioxidant activity were examined during the fermentation process. The results showed that the contents of total saponins, polyphenols, total flavonoids and polysaccharides in the *Siraitia grosvenorii* pomace increased first and then decreased during the fermentation, reaching the maximum values of 11.36, 3.08, 10.42 and 8.34 mg/g on the 6th day, 8th day, 6th day and 6th day, respectively (which were 1.42 times, 2.37 times, 2.53 times, and 1.90 times that of the unfermented group). The activities of β -glucosidase, cellulase, α -amylase and protease reached the maximum values of 57.91, 153.06, 69.42 and 85.30 U/g on the 8th day, 6th day, 8th day and 8th day, respectively. The changes of total saponins, total flavonoids and crude polysaccharides were significantly positively correlated with cellulase activity and protease activity. The changes of the polyphenol content were significantly positively correlated with the activities of β -glucosidase, cellulase, α -amylase and protease. During the fermentation, the antioxidant activity of *Siraitia grosvenorii* pomace first increased and then

引文格式:

尹家全,刘歆旖,王兰,等.冠突散囊菌发酵罗汉果渣过程中功能性成分及抗氧化活性的变化[J].现代食品科技,2023,39(4):88-95.

YIN Jiaquan, LIU Xinyi, WANG Lan, et al. Changes in functional components and antioxidant activity during the fermentation of *Siraitia grosvenorii* Pomace by *Eurotium cristatum* [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 88-95.

收稿日期: 2022-04-27

基金项目: 湖南省研究生科研创新项目 (QL20210169)

作者简介: 尹家全 (1997-), 男, 硕士在读, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 943818661@qq.com

通讯作者: 刘素纯 (1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: liusuchun@163.com

decreased, and its DPPH free radical scavenging ability, ABTS⁺ free radical scavenging ability and total reducing power reached the maximum on the 8th day, 8th day and 6th day, respectively, which differed significantly from those of the unfermented group ($P < 0.05$). Therefore, the fermentation of *Siraitia grosvenorii* pomace by *Eurotium cristatum* can effectively increase the contents of its functional components and enhance its antioxidant activity, which is of great significance for the green cycle and sustainable utilization of *Siraitia grosvenorii* pomace.

Key words: *Eurotium cristatum*; pomace of *Siraitia grosvenorii*; fermentation; functional components; antioxidant activity

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 是我国传统中药材, 也是一种药食同源植物, 其主要功能性成分有皂苷类、多酚类、黄酮类以及多糖类等物质, 具有抑菌抗炎、抗肿瘤、调节糖脂代谢、抗氧化等多种生理活性, 在制药、食品和保健品领域应用广泛^[1]。罗汉果渣是罗汉果生产加工过程中产生的废弃物, 常被用来制作动物饲料、优质肥料以及食用菌固体菌种的培养基, 但是在罗汉果加工过程中, 由于提取和精制技术的限制, 提取效率较低, 罗汉果渣中还含有大量保存良好的功能性成分及其他仍可高值化利用的物质^[2], 未得到有效利用, 从而造成了资源的极大浪费。因此, 罗汉果渣的有效处理与再利用是食品、医药、化学与环境保护领域的一个重大课题。

冠突散囊菌 (*Eurotium cristatum*) 是茯砖茶发酵过程中的优势微生物。在生长过程中能够产生 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶、蛋白酶等多种酶, 这些酶能够催化发酵基质中的各种物质进行氧化、降解、聚合和转化反应, 从而提升发酵基质中功能性成分的含量, 改善其生理活性^[3,4]。研究表明将冠突散囊菌在茶叶、大豆、燕麦和中药材等植物基质上进行发酵能显著提升这些植物中某些化学成分含量和生理特性^[5-13]。因此, 冠突散囊菌可以作为一种优良的发酵剂, 被应用于药食同源植物功能性成分的生物转化过程中, 以期提升药食同源植物中功能性成分的含量, 增强其功能特性, 促进资源利用的最大化。

本研究将冠突散囊菌接种于罗汉果渣中进行发酵, 以期通过冠突散囊菌发酵提升罗汉果渣中皂苷、多酚、黄酮和多糖等功能性成分的含量, 改善罗汉果渣的功能特性, 从而实现罗汉果渣的绿色循环利用, 变废为宝。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

罗汉果渣、罗汉果皂苷 V 标准品, 湖南华诚生物资源股份有限公司; 冠突散囊菌 B₄ (*Eurotium cristatum*), 湖南农业大学食品科学技术学院发酵食品工程技术研究室分离保藏; 其它所有试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

SPX-25085-II 生化培养箱, 上海新苗医疗器械制造有限公司; SCIENTZ-10N 冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 多功能酶标仪 (Spark), 瑞士帝肯公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菌种活化及发酵剂的制备

1.3.1.1 菌种活化

将实验室保藏的冠突散囊菌 B₄ 接种至马铃薯琼脂培养基 (PDA) 上, 置于 28 °C 恒温培养箱中培养 5 d, 备用。

1.3.1.2 罗汉果渣的制备

将湖南华诚生物资源股份有限公司提供的湿罗汉果渣在 50 °C 干燥至恒重, 粉碎后过 40 目筛, 备用。

1.3.1.3 发酵剂的制备

按罗汉果渣:水=1:1 (m/m), 搅拌均匀, 精确称取 25 g 混匀后的罗汉果渣培养基加入 500 mL 的锥形瓶, 置 121 °C 高压灭菌 25 min, 冷却至室温后, 将活化后的冠突散囊菌接入罗汉果渣, 置于 28 °C 的恒温培养箱中发酵至罗汉果渣长满孢子, 备用。

1.3.2 冠突散囊菌发酵罗汉果渣样品的制备

按 1.3.1.3 的方法配制罗汉果渣发酵基质, 置 121 °C 高压灭菌 25 min, 冷却至室温后, 使用无菌勺挖取由 1.3.1.2 制备好的发酵剂加入罗汉果渣发酵基质中, 控制接种量为 4% (m/m), 摇匀, 置于 28 °C 的恒温培养箱中分别发酵 0、2、4、6、8、10 d。将发酵完成后的罗汉果渣样品冷冻干燥, 放入 -20 °C 冰箱保存, 待测。

1.3.3 功能性成分含量的测定

1.3.3.1 总皂苷含量的测定

参考杨凤轩等^[14]的香草醛-浓硫酸试剂比色法测定罗汉果渣的总皂苷含量。根据罗汉果皂苷 V 标准曲线回归方程计算罗汉果渣中总皂苷含量。总皂苷含量表示为罗汉果皂苷 V 干基当量 (mg/g)。

1.3.3.2 多酚含量的测定

罗汉果渣中的多酚含量的测定参考 GB/T 8313-2008 《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》^[15]。使用没食子酸作为标准品绘制标准曲线, 罗汉

果渣中的多酚含量表示为没食子酸干基当量 (mg/g)。

1.3.3.3 总黄酮含量的测定

罗汉果渣中总黄酮含量的测定参考 Wuttisin 等^[16]的方法。使用芦丁作为标准品绘制标准曲线, 罗汉果渣中的总黄酮含量表示为芦丁干基当量 (mg/g)。

1.3.3.4 粗多糖含量的测定

使用苯酚-浓硫酸法^[17]测定罗汉果渣的粗多糖含量。根据葡萄糖标准曲线回归方程计算罗汉果渣中的粗多糖含量。

1.3.4 样品酶活性的测定

1.3.4.1 粗酶液的提取

精确称取 1 g 罗汉果渣冻干样品, 加入 10 mL 去离子水, 在 160 r/min、40 °C 的条件下, 水浴振荡 1 h, 随后在 8 000 r/min、4 °C 的条件下离心 10 min, 取上清液, 制得粗酶液, 待测。

1.3.4.2 β-葡萄糖苷酶

参考阎欲晓等^[18]的方法对 β-葡萄糖苷酶活性进行测定。β-葡萄糖苷酶活力 (单位: U) 定义为: 在上述条件下, β-葡萄糖苷酶每分钟催化底物产生 1 μmol p-NP 所需的酶量为 1 U。以每克发酵罗汉果渣 (干重) 含有的酶活数表示 (U/g)。

1.3.4.3 纤维素酶

参考管瑛等^[19]的方法对纤维素酶活性进行测定。纤维素酶活力 (单位: U) 定义为: 反应条件下, 每小时分解纤维素产生 1 μmol 葡萄糖所需的酶量为 1 U, 以每克发酵罗汉果渣 (干重) 含有的酶活数表示 (U/g)。

1.3.4.4 α-淀粉酶

参考肖愈^[20]的方法测定。α-淀粉酶活力 (单位: U) 的定义为: 反应条件下, 每分钟水解淀粉生成 1 μmol 葡萄糖所需的酶量 1 U。以每克发酵罗汉果渣 (干重) 含有的酶活数表示 (U/g)。

1.3.4.5 蛋白酶

参考 GB/T 23527-2009《蛋白酶制剂》^[21]对蛋白酶活性进行测定。蛋白酶活 (单位: U) 定义为: 在测定条件下, 每分钟从酪蛋白中释放 1 μg 酪氨酸所需的酶量为 1 U。以每克发酵罗汉果渣 (干重) 含有的酶活数表示 (U/g)。

1.3.5 抗氧化活性的测定

1.3.5.1 样品的预处理

称取 0.5 g 冻干样品粉末, 按样品:乙醇=1:20 的比例加入无水乙醇浸泡 12 h, 之后超声提取 1 h, 过滤, 收集滤液, 用无水乙醇洗涤滤渣和滤纸, 将洗涤液合并至滤液, 待溶液冷却至室温, 定容至 25 mL 待测。

1.3.5.2 DPPH 清除率

参考张波^[22]的方法测定。取 2 mL 精确配制的浓

度为 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液 (现配现用) 分别与 2 mL 待测液混合, 暗处反应 30 min, 在 517 nm 波长处测吸光值, 记为 A_0 ; 对照组用乙醇代替样品测定吸光值, 记为 A_1 ; 空白组用乙醇代替 DPPH 溶液测定吸光值, 记为 A_2 。计算 DPPH 清除率公式如下:

$$C_1 = \left(1 - \frac{A_0 - A_2}{A_1} \right) \times 100\% \quad (1)$$

式中:

C_1 —DPPH 清除率, %;

A_0 —样品组 517 nm 波长处的吸光值;

A_1 —对照组 517 nm 波长处的吸光值;

A_2 —空白组 517 nm 波长处的吸光值。

1.3.5.3 ABTS⁺ 清除率

参考张波^[22]的方法测定。在 1 mL 待测液中加入 4 mL ABTS⁺ 工作液, 摇匀, 暗处反应 10 min, 在 734 nm 的波长下测定吸光值, 记为 A_3 ; 以乙醇代替样品测定吸光值, 记为 A_4 。按照公式计算 ABTS⁺ 清除率:

$$C_2 = \left(1 - \frac{A_3}{A_4} \right) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

C_2 —ABTS⁺ 清除率, %;

A_3 —样品组在 734 nm 的波长下的吸光值;

A_4 —乙醇代替样品组在 734 nm 的波长下的吸光值。

1.3.5.4 总还原力

参考张波^[22]的方法测定。向试管中加入 0.5 mL 待测液, 加入 0.2 mol/L pH 值 6.6 的磷酸盐缓冲液 2.5 mL, 然后加入 2.5 mL 10% (m/V) 的铁氰化钾溶液, 混合均匀, 在 50 °C 下反应 20 min。冷却至室温后, 再加入 10% 的三氯乙酸 2.5 mL, 在 4 °C, 3 000 r/min 的条件下离心 10 min, 取上清液 2.5 mL 加入干净试管中, 再加入 0.1% (m/V) FeCl₃ 溶液 0.5 mL, 混匀, 反应 10 min, 在 700 nm 波长下测定吸光度值, 记为 A_5 ; 以无水乙醇代替样品测定吸光值, 记为 A_6 。按照公式计算总还原力。

$$P = A_5 - A_6 \quad (3)$$

式中:

P —总还原力;

A_5 —样品组在 700 nm 的波长下的吸光值;

A_6 —乙醇代替样品组在 700 nm 的波长下的吸光值。

1.4 数据处理与分析

试验数据均为 3 次重复试验所得的平均值, 结果表示为 $\bar{x} \pm s$ 。采用 SPSS 16.0 软件进行显著性和相关性分析, 采用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 罗汉果渣发酵过程中功能性成分的变化

2.1.1 总皂苷含量的变化

罗汉果渣发酵过程中总皂苷含量的变化结果见图 1。在发酵过程中,总皂苷含量呈现先增加后减少的趋势,在 0~6 d 时总皂苷含量逐渐增加,其原因可能是发酵过程中,冠突散囊菌产生的多种酶的作用,将紧密结合在植物组织上的皂苷类成分释放,在发酵至第 6 天时,总皂苷含量达到最大值 11.36 mg/g,是未发酵组 8.02 mg/g 的 1.42 倍,且具有显著性差异 ($P<0.05$),之后总皂苷含量逐渐降低,可能是随着菌的数量越来越多,冠突散囊菌生长所需的营养物质被消耗,皂苷类成分被作为营养物质所利用,使得总皂苷含量降低。张小凤^[23]用乳酸菌发酵罗汉果甘草混果汁,发酵过程中总皂苷含量也是呈现先增加后减少的趋势,本文研究结果与其相似。

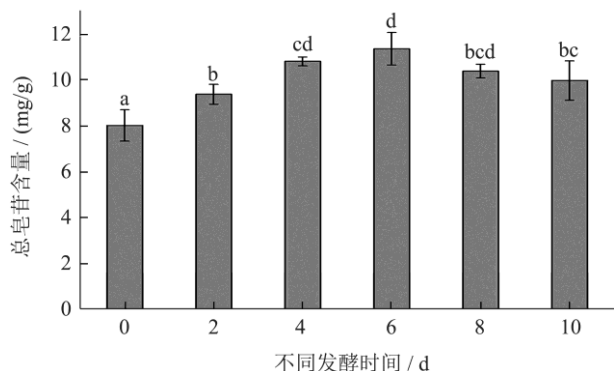


图 1 罗汉果渣发酵过程中总皂苷含量的变化

Fig.1 Changes of total mogrosin content in *Siraitia grosvenorii* residue during fermentation

注:不同的字母表明结果具有显著性差异, $P<0.05$ 。下同。

2.1.2 多酚含量的变化

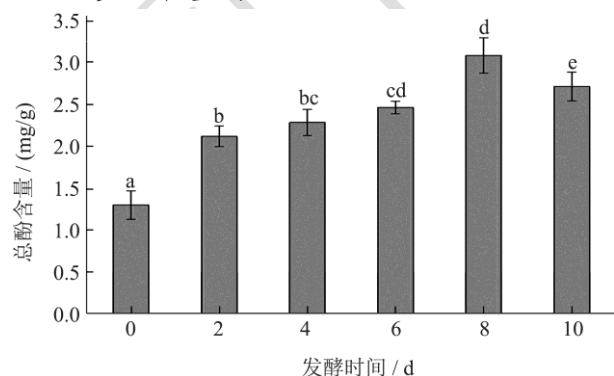


图 2 罗汉果渣发酵过程中多酚含量的变化

Fig.2 Changes of polyphenol content in *Siraitia grosvenorii* residue during fermentation

罗汉果渣发酵过程中多酚含量的变化结果见图 2。

随着发酵时间的增加,罗汉果渣的多酚含量在 0~8 d 逐渐增加,之后稍有下降。在发酵至第 8 天时,罗汉果渣多酚含量达到最大值 3.08 mg/g,是未发酵组 1.30 g 的 2.37 倍,具有显著性差异 ($P<0.05$)。微生物在生长过程中产生的纤维素酶能够水解细胞壁,使其致密结构变得松散,再经过微生物所产生的复合酶系水解暴露出来的与多酚类物质相结合的化学键,将一些结合态的酚类物质释放,从而提升多酚的含量^[24]。第 8 天后,罗汉果渣中的多酚含量逐渐降低,可能是由于发酵后期冠突散囊菌分泌的多种水解酶活力下降,对物质的转化能力逐渐降低,多酚类物质被冠突散囊菌二次利用,从而导致多酚含量在发酵后期降低^[10,25]。

2.1.3 总黄酮含量的变化

罗汉果渣发酵过程中总黄酮含量的变化结果见图 3。总黄酮含量呈现先增加后减少的趋势,在发酵至第 6 天时,罗汉果渣的总黄酮含量达到最大 10.42 mg/g,是未发酵组 4.12 mg/g 的 2.53 倍,具有显著性差异 ($P<0.05$)。发酵后的罗汉果渣的总黄酮含量上升,可能是冠突散囊菌产生的多种酶的作用水解了植物细胞壁,降低了对黄酮类物质溶出的阻滞作用,从而使得黄酮含量增加,之后总黄酮含量逐渐降低,可能是因为罗汉果渣的黄酮类物质被氧化分解,从而使得总黄酮含量降低^[22,26]。

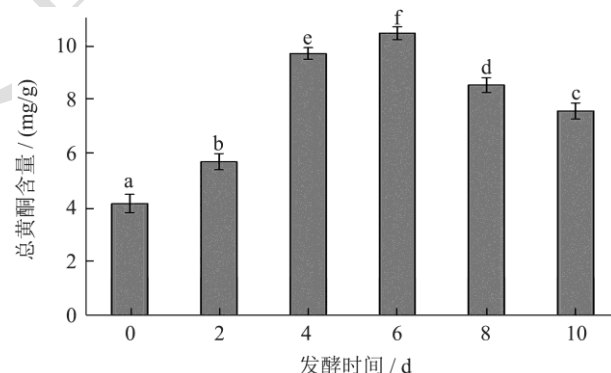


图 3 罗汉果渣发酵过程中总黄酮含量的变化

Fig.3 Changes of total flavonoid content in *Siraitia grosvenorii* residue during fermentation

2.1.4 粗多糖含量的变化

罗汉果渣发酵过程中粗多糖含量的变化结果见图 4。粗多糖含量呈现先增加后减少的趋势。在 0~6 d,粗多糖含量缓慢增加,在第 6 天时,粗多糖含量达到最大 8.34 mg/g,是未发酵组 4.39 mg/g 的 1.90 倍,具有显著性差异 ($P<0.05$),之后粗多糖含量逐渐降低。其原因可能是冠突散囊菌发酵罗汉果渣过程中复杂的生物转化,将其它物质转化为多糖,也有可能是冠突散囊菌自身产生的多糖,使得粗多糖含量升高,发酵后期,发酵基质中的营养物质减少,多糖作为营养物质

被冠突散囊菌利用，从而导致多糖含量逐渐降低^[27,28]。

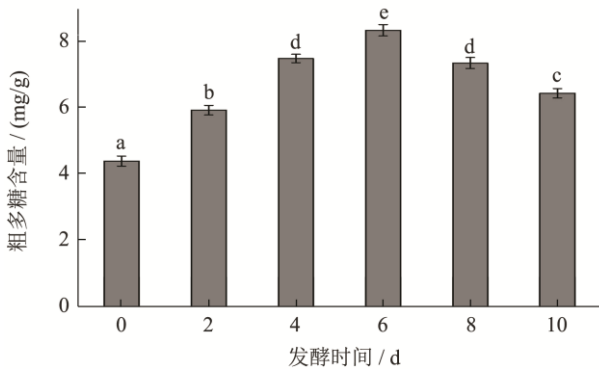


图4 罗汉果渣发酵过程中粗多糖含量的变化

Fig.4 Changes of crude polysaccharide content in *Siraitia grosvenorii* residue during fermentation

2.2 罗汉果渣发酵过程中酶活性的变化

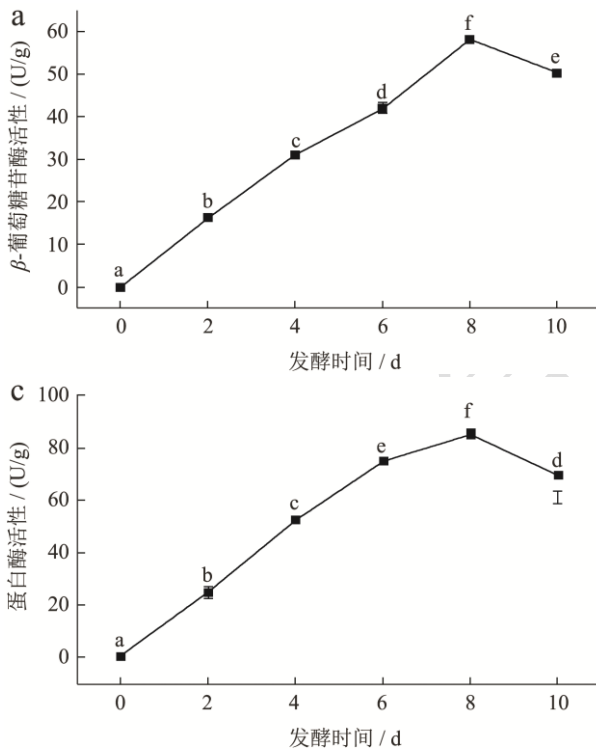


图5 罗汉果渣发酵过程中 β-葡萄糖苷酶(a)、α-淀粉酶(b)、纤维素酶(c)、蛋白酶(d)活力的变化

Fig.5 Changes of the activities of β-glucosidase (a), α-amylase (b), cellulase (c) and protease (d) during the fermentation process of *Siraitia grosvenorii* residue

2.3 功能性成分变化与微生物酶活力变化的相关性分析

由结果可知，冠突散囊菌发酵罗汉果渣过程中功能性成分含量的变化与酶活性的变化都是随着发酵时间的延长，呈现先增加后降低的趋势，因此，为了准确了解功能性成分变化与微生物酶活性变化的相互关系，利用 Spass 分析软件对功能性成分变化与微生物

罗汉果渣发酵过程中酶活性的变化结果见图 5。由图 5a~5c 可知，从发酵第 0 天至发酵第 8 天，β-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶和蛋白酶活性持续升高，第 8 天时，β-葡萄糖苷酶活性达到最大 57.91 U/g，α-淀粉酶活性达到最大 69.42 U/g，蛋白酶活性达到最大 85.30 U/g，之后 β-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶和蛋白酶活性逐渐降低。由图 5d 可知，从发酵第 0 天至发酵第 6 天，纤维素酶活性持续升高，第 6 天时，纤维素酶活性达到最大 153.06 U/g，之后纤维素酶活性逐渐降低。罗汉果渣发酵过程中，β-葡萄糖苷酶、纤维素酶、α-淀粉酶和蛋白酶 4 种酶活性的变化都呈现先增加后减少的趋势，其原因可能是因为随着发酵时间的增加，微生物代谢逐渐旺盛，所以酶活力不断提高，之后，随着发酵时间继续延长，营养物质被消耗，微生物的生长代谢逐渐缓慢，所以酶活力逐渐降低^[1,19,20]。

酶活性变化做皮尔逊相关性分析。其结果如表 1 所示，多酚含量的变化与 β-葡萄糖苷酶、纤维素酶、α-淀粉酶及蛋白酶的皮尔逊相关系数分别为 0.972、0.824、0.889、0.946，且 $P < 0.05$ ，表现为显著正相关。有研究报道，微生物发酵过程中多酚物质的释放是多种酶系协同作用的结果，纤维素酶、α-淀粉酶、蛋白酶首先分解植物细胞壁，破坏其致密结构，使不溶性多酚物质的糖苷键暴露，然后 β-葡萄糖苷酶再作用于糖苷键使结合态的多酚类物质释放^[18,19,29]。总皂苷含量的

变化与纤维素酶及蛋白酶的皮尔逊相关系数为 0.966 和 0.847, 且 $P < 0.05$, 表现为显著正相关, 总黄酮含量的变化与纤维素酶及蛋白酶的皮尔逊相关系数为 0.953 和 0.835, $P < 0.05$, 表现为显著正相关, 说明纤维素酶和蛋白酶对总皂苷和总黄酮含量的增加起到了

促进作用。粗多糖含量的变化与纤维素酶及蛋白酶的皮尔逊相关系数分别为 0.980 和 0.857 且 $P < 0.05$, 表现为显著正相关, 原因可能是在发酵过程中纤维素酶和蛋白酶等多种水解酶作用将大分子的不溶性多糖转化为可溶性多糖从而提升了粗多糖含量^[30]。

表 1 功能性成分含量与微生物酶活性间的相关性分析

Table 1 Correlation analysis between functional components content and microbial enzyme activity

成分/(mg/g)	项目	β -葡萄糖苷酶活性/(U/g)	纤维素酶活性/(U/g)	α -淀粉酶活性/(U/g)	蛋白酶活性/(U/g)
多酚含量	皮尔逊相关性	0.972**	0.824*	0.889*	0.946**
	显著性(双尾)	0.001	0.044	0.018	0.004
	个案数	6	6	6	6
总黄酮含量	皮尔逊相关性	0.726	0.953**	0.648	0.835*
	显著性(双尾)	0.103	0.003	0.164	0.039
	个案数	6	6	6	6
总皂苷含量	皮尔逊相关性	0.744	0.966**	0.642	0.847*
	显著性(双尾)	0.090	0.002	0.170	0.033
	个案数	6	6	6	6
粗多糖含量	皮尔逊相关性	0.751	0.980**	0.673	0.857*
	显著性(双尾)	0.086	0.001	0.143	0.026
	个案数	6	6	6	6

注: **表示在 0.01 级别 (双尾), 相关性极显著; *表示在 0.05 级别 (双尾), 相关性显著。

2.4 罗汉果渣发酵过程中抗氧化活性变化

本研究从 DPPH 清除能力、ABTS⁺ 清除能力及总还原力 3 个抗氧化指标来评价罗汉果渣发酵过程中抗氧化活性的变化。其结果如图 6a~6c 所示, 随着发酵时间的增加, 罗汉果渣的 3 个抗氧化指标都呈现先升高后降低的趋势, 在发酵至第 8 天时, 罗汉果渣的 DPPH 清除率和 ABTS⁺ 清除率达到最大值 97.99% 和 79.99%, 在发酵至第 6 天时, 总还原力达到最大值为 0.2343。说明冠突散囊菌发酵罗汉果渣后能显著提升罗汉果渣的抗氧化活性, 其原因可能是发酵提升了罗汉果渣总皂苷、总酚、总黄酮及粗多糖等功能性成分的含量, 从而提升其抗氧化活性。

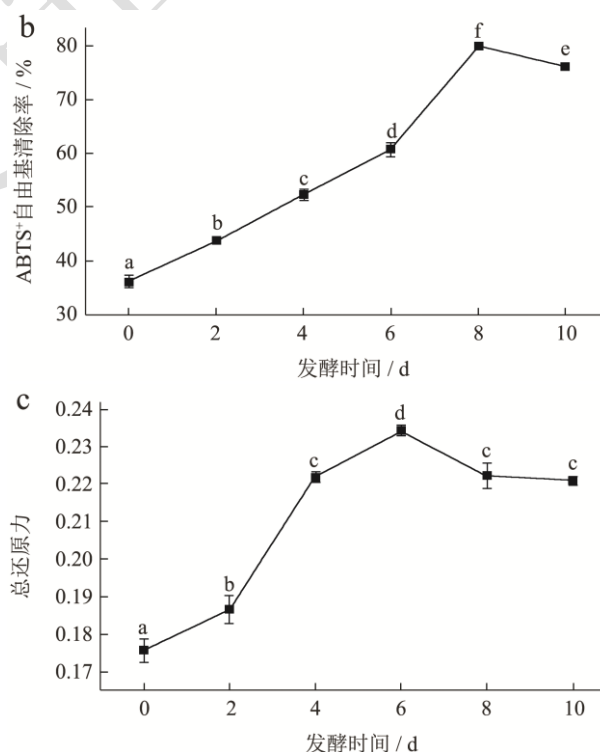
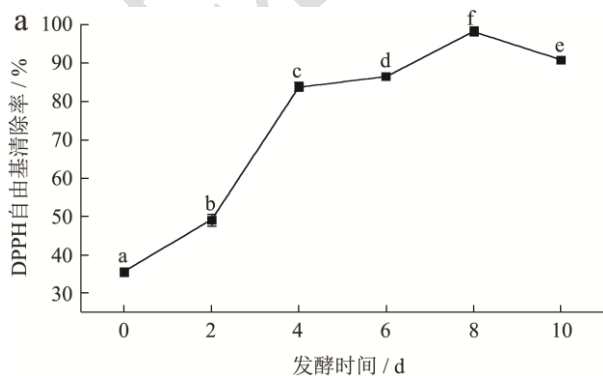


图 6 罗汉果渣发酵过程中 DPPH 清除率(a)、ABTS⁺ 清除率(b)、总还原力(c)的变化

Fig.6 Changes of DPPH free radical scavenging rate (a), ABTS free radical scavenging rate (b) and total reducing power (c) of *Siraitia grosvenorii* residue during fermentation

3 结论

冠突散囊菌是来源于茯砖茶的有益微生物, 在生长过程中能够产生 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶、蛋白酶等多种胞外酶, 能够对茶叶、豆类、中草药和谷物等植物基质的成分进行生物转化, 显著提升某些功能性成分含量, 从而提升植物基质的生理活性。

本研究利用冠突散囊菌对罗汉果渣进行固态发酵, 发酵过程中罗汉果渣总皂苷、多酚、总黄酮和粗多糖等功能性成分含量均呈先增加后降低的趋势, 总皂苷、多酚、总黄酮和粗多糖等功能性成分含量达到最大时分别是未发酵组的 1.42 倍、2.37 倍、2.53 倍及 1.90 倍, 发酵过程中 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶及蛋白酶等微生物酶活性也呈先升高后降低趋势, 且功能性成分含量的变化与 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、 α -淀粉酶及蛋白酶活性具有显著相关性, 初步明确了功能性成分含量变化的原因。此外, 发酵后罗汉果渣的抗氧化活性也较发酵前显著提升。综上所述, 冠突散囊菌发酵罗汉果渣能有效增强其营养价值, 对罗汉果渣的资源再利用具有重要意义。

参考文献

- [1] 唐昫彤, 侯小涛, 杜正彩, 等. 罗汉果化学成分与药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)预测分析[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2843-2850.
- [2] 王文成, 饶建平, 张远志, 等. 超临界 CO_2 萃取罗汉果渣油工艺研究及其油脂成分分析[J]. 中国油脂, 2017, 42(1): 125-129.
- [3] 陈桂梅, 邓永亮, 黄亚亚, 等. 冠突散囊菌生长过程中几种胞外酶活性变化[J]. 茶叶科学, 2013, 33(4): 306-310.
- [4] 姜良珍, 王罗, 杨涛, 等. 冠突散囊菌及其发酵应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 454-462.
- [5] Xiao Yue, Li Maoyun, Liu Ya, et al. The effect of *Eurotium cristatum* (MF800948) fermentation on the quality of autumn green tea [J]. Food Chemistry, 2021, 358.
- [6] Yue Xiao, Zhong Kai, Bai Jinrong, et al. Insight into effects of isolated *Eurotium cristatum* from Pingwu Fuzhuan brick tea on the fermentation process and quality characteristics of Fuzhuan brick tea [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(9): 3598-3607.
- [7] Yulian Chen, Yuanliang Wang, Jiayu Chen, et al. Bioprocessing of soybeans (*Glycine max* L.) by solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1 improves total phenolic content, isoflavone aglycones, and antioxidant activity [J]. RSC Advances, 2020, 10(29).
- [8] 刘善鑫. 冠突散囊菌发酵燕麦主要功能性成分及燕麦功效分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.
- [9] Zhang Bo, Li Wen, Dong Mingsheng. Flavonoids of kudzu root fermented by *Eurotium cristatum* protected rat pheochromocytoma line 12 (PC12) cells against H_2O_2 - induced apoptosis [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(12).
- [10] 杜静. 冠突散囊菌对中药材三七成分的转化及机理研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2020.
- [11] 杨乔. 杜仲叶和桑叶两种保健功能型茯茶加工工艺研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2019.
- [12] Zou Minmin, Zhang Wen, Dong Qihui, et al. Submerged fermentation of ginkgo biloba seed powder using *Eurotium cristatum* for the development of ginkgo seeds fermented products [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 101(5): 1782-1791.
- [13] Siduo Zhou, Xiao Xu, Yanfei Lin, et al. On-line screening and identification of free radical scavenging compounds in *Angelica dahurica* fermented with *Eurotium cristatum* using an HPLC-PDA-Triple-TOF-MS/MS-ABTS system [J]. Food Chemistry, 2019, 272: 670-678.
- [14] 杨凤轩, 李刚, 袁汉文, 等. 不同产地罗汉果总皂苷、甜苷 V 和硒含量及指纹图谱研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(8): 1372-1377.
- [15] GB/T 8313-2018, 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S].
- [16] Wuttisin N, Boonsook W. Total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of *siraitiagrosvenorii* fruits extracts [J]. Food and Applied Bioscience Journal, 2019, 7(3): 131-141.
- [17] SN/T 4260-2015, 出口植物源食品中粗多糖的测定[S].
- [18] 阎欲晓, 粟桂娇, 何勇强. 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.
- [19] 管瑛, 汪瑀芑, 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.
- [20] 肖愈. 蛹虫草 SN-18 固态发酵鹰嘴豆对其理化特性和功能活性的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
- [21] GB/T 23527-2009, 蛋白酶制剂[S].
- [22] 张波. 冠突散囊菌固态发酵对葛根黄酮组分及抗氧化活性的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- [23] 张小凤. 罗汉果甘草复合发酵饮料的研制[D]. 扬州: 扬州大学, 2020.
- [24] 王储炎, 张继刚, 杨柳青, 等. 3 种乳酸菌发酵对蓝莓多酚、原花青素含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2020,

- 637(24):87-94.
- [25] Xiao Yu, Wu Xing, Yao Xinshuo, et al. Metabolite profiling, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of buckwheat processed by solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1 [J]. Food Research International (Ottawa, Ont.), 2021, 143: 110262-110262.
- [26] 杜静,王琪琪,王云胜,等.冠突散囊菌发酵对葛根的活性物质和抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2021,42(1):121-125,131.
- [27] 苏贵龙.益生菌 FGM 发酵对黄芪根、茎、叶主要活性成分含量的影响研究[D].北京:中国农业科学院,2017.
- [28] 陈弘,郑卫红,杨胜利.生物转化提高黄芪多糖含量的发酵条件优化[J].中国酿造,2017,36(12):130-133.
- [29] Dey T B, Chakraborty S, Jain K K, et al. Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid statefermentation process: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 53: 60-74.
- [30] 李世杰.发酵与酶解转化茯苓多糖工艺及其产物活性研究[D].贵阳:贵州大学,2018.