

灵芝菌丝体固态发酵青稞工艺优化及抗氧化、降血糖活性分析

孟缘, 关颖贤, 方潇, 吴曼, 高仙仙, 张东晗, 江洁

Optimization of the Solid Fermentation Process of *Hordeum vulgare* Linn. by *Ganoderma lucidum* Mycelium and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activities

MENG Yuan, GUAN Yingxian, FANG Xiao, WU Man, GAO Xianxian, ZHANG Donghan, and GANG Jie

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024030449>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

康定灵芝功效成分分析及体外抗氧化、降血糖活性评价

Analysis of Functional Components of Kangding *Ganoderma leucocontextum* and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activity *in Vitro*

食品工业科技. 2023, 44(13): 292-298 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070330>

灵芝发酵麸皮粗多糖的组成及抗氧化活性分析

Composition and Antioxidant Activity Analysis of Crude Polysaccharide from *Ganoderma lucidum* Fermented Wheat Bran

食品工业科技. 2022, 43(20): 45-50 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100126>

发酵巴戟天中蒽醌提取及其抗氧化与降血糖活性

Extraction of Anthraquinone from Fermented *Morinda officinalis* and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activities

食品工业科技. 2022, 43(7): 214-223 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080091>

超高压辅助提取灵芝三萜的工艺优化及抗氧化活性评价

Optimization of Ultra-high Pressure Assisted Extraction of the Triterpenoids from the *Ganoderma lucidum* and Evaluation of Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2022, 43(20): 274-280 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030181>

发酵条斑紫菜的活性成分及抗氧化、降血糖和降血压活性

Active Components and Antioxidant, Hypoglycaemic and Antihypertensive Activities of Fermented *Pyropia yezoensis*

食品工业科技. 2024, 45(22): 72-80 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023120247>

三七渣固态发酵生产灵芝菌质的工艺优化

Optimization of Technological Conditions for Producing *Ganoderma lucidum* Fungal Substance by Solid State Fermentation of *Panax notoginseng* Residues

食品工业科技. 2020, 41(18): 130-134 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.18.021>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

孟缘, 关颖贤, 方潇, 等. 灵芝菌丝体固态发酵青稞工艺优化及抗氧化、降血糖活性分析 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(6): 187–194.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030449

MENG Yuan, GUAN Yingxian, FANG Xiao, et al. Optimization of the Solid Fermentation Process of *Hordeum vulgare* Linn. by *Ganoderma lucidum* Mycelium and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(6): 187–194. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030449

· 生物工程 ·

灵芝菌丝体固态发酵青稞工艺优化及 抗氧化、降血糖活性分析

孟缘, 关颖贤⁺, 方潇, 吴曼, 高仙仙, 张东晗, 江洁*

(大连民族大学生命科学院, 生物技术与资源利用教育部重点实验室, 辽宁大连 116600)

摘要: 为了提高青稞的保健价值, 采用灵芝菌丝体固态发酵青稞, 以产物三萜含量为指标, 通过单因素实验与响应面法优化发酵工艺, 并对发酵产物的抗氧化与降血糖活性进行研究。结果表明, 在物料量 38 g/250 mL, 接种量 13%, 发酵温度 29 °C 条件下, 灵芝发酵青稞产物的三萜含量为 14.83 mg/g, 比发酵前提高了 129.92%; 发酵提高了青稞的抗氧化活性, 产物醇提物的 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基清除能力显著提高 ($P < 0.05$), IC_{50} 值分别为 1.68、4.37、8.18 mg/mL, 且在浓度 1~5 mg/mL 范围内自由基清除率大小顺序为: DPPH 自由基 > 羟基自由基 > 超氧阴离子自由基; 发酵后产物对 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用显著增强 ($P < 0.05$), 且在浓度 15~35 mg/mL 范围内, 随浓度增加其抑制作用增加。灵芝发酵青稞产物可以作为一种抗氧化和降血糖的功能食品原料。

关键词: 青稞, 灵芝, 固态发酵, 抗氧化, 降血糖

中图分类号: Q815

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)06-0187-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030449

本文网刊:



Optimization of the Solid Fermentation Process of *Hordeum vulgare* Linn. by *Ganoderma lucidum* Mycelium and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activities

MENG Yuan, GUAN Yingxian⁺, FANG Xiao, WU Man, GAO Xianxian, ZHANG Donghan, GANG Jie*

(Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization, Ministry of Education, College of Life Science, Dalian Minzu University, Dalian 116600, China)

Abstract: This study focuses on the optimization of the solid fermentation conditions of highland barley (*Hordeum vulgare* Linn.) by *Ganoderma lucidum* mycelium to enhance its health benefits. The optimization was guided by triterpene content, using single-factor experiments and response surface methodology. Additionally, the antioxidant and hypoglycemic activities of the fermented product were investigated. The optimal fermentation conditions (material of 38 g/250 mL, 13% inoculum size, and a temperature of 29 °C) resulted in a triterpene content of 14.83 mg/g, representing a 129.92% increase compared to the unfermented product. The antioxidant activity of highland barley significantly improved post-fermentation, as evidenced by enhanced DPPH radical, hydroxyl radical, and superoxide anion radical scavenging activities ($P < 0.05$). The IC_{50} values for DPPH, hydroxyl, and superoxide anion radicals were 1.68, 4.37, and 8.18 mg/mL, respectively, indicating the order of radical scavenging rates within the concentration range of 1~5 mg/mL as DPPH radicals > hydroxyl radicals > superoxide anion radicals. Furthermore, the fermented product exhibited significantly increased inhibitory effects on

收稿日期: 2024-03-29 +并列第一作者

基金项目: 大连民族大学大学生创新创业训练计划项目 (202312026108); 大连民族大学“太阳鸟”学生科研项目 (202319); 大连民族大学·铜仁学院联合科研项目 (2019110057); 大连民族大学服务国家战略专项项目 (2020fwgj020); 中央高校基本科研业务费资助 (0919-140279)。

作者简介: 孟缘 (2003-), 女, 本科, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 2055845346@qq.com。

关颖贤 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品研究, E-mail: guanyingxian24@163.com。

* 通信作者: 江洁 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: gangjie@dlmu.edu.cn。

α -amylase and α -glucosidase ($P<0.05$), and the inhibition increased with the increase of concentration within the concentration range of 15~35 mg/mL. The findings suggested that the *Ganoderma lucidum*-highland barley product holds potential as a functional food with substantial nutritional and health benefits.

Key words: *Hordeum vulgare* Linn.; *Ganoderma lucidum*; solid fermentation; antioxidant activity; hypoglycemic activity

青稞(*Hordeum vulgare* Linn.), 也称高原裸大麦, 为禾本科大麦属谷类作物, 是青藏高原地区的主要粮食作物。与普通大麦相比, 青稞具有更丰富的蛋白质、膳食纤维与维生素含量, 且富含 β -葡聚糖、酚类等活性物质^[1], 是很好的全谷物食品原料。近年来, 青稞发酵制品的研究越来越广泛, 如张小燕等^[2]以青稞与玉米为原料, 配以当归、黄芪等中药材, 通过固态发酵研制出青稞养生醋。胡江校等^[3]以青稞、鲜牛乳为原料研制青稞酸乳, 探究了不同青稞处理对酸乳酸度、持水力与质构的影响, 其中微波处理后得到的青稞酸乳品质最佳。吴庆园等^[4]以青稞为原料固态发酵制备青稞醋, 其抗氧化性、总酚含量、总黄酮含量及维生素 C 含量均显著优于市售特级醋、一级醋、二级醋。孙康娜等^[5]以萌芽黑青稞粉为原料, 通过酵母菌固态发酵提高了青稞慢消化淀粉含量与 α -葡萄糖苷酶抑制率, 提高了青稞的体外降血糖活性。微生物发酵技术是提高食品营养保健价值的有效途径, 其中固态发酵因其发酵工艺简单、生长周期短、原料使用广泛、易于规模化生产且没有季节限制的特点而被广泛应用于谷物及其副产品加工^[6]。食用菌菌丝体和子实体是其生长阶段的不同形态, 研究表明, 菌丝体含有的营养成分含量不低于甚至高于子实体^[7], 具有与子实体中活性物质相同的功效。通过食用菌菌丝体固态发酵, 可以提高青稞等麦类谷物的营养活性成分含量, 从而提高营养保健价值, 如焦捷等^[8]以羊肚菌菌丝体固态发酵青稞, 提高了可溶性蛋白、总三萜及总多酚含量, 其产物的游离态与结合态提取物的抗氧化能力提高。马贺等^[9]通过猴头菌固态发酵提高了青稞的抗氧化性, 且抗氧化能力的提高与多酚、黄酮含量的提高有关。寇娟妮等^[10]以小麦为基质, 通过灵芝固态发酵转化营养成分, 提高了蛋白质、粗脂肪、可溶性蛋白和可溶性糖含量, 其水提物的抗氧化能力提高, 具有降低氧自由基过氧化损伤、延缓 D-半乳糖致衰的功效。

灵芝(*Ganoderma lucidum*)作为我国珍贵的中药材, 已有 2000 多年的应用历史。灵芝酸等三萜类物质是灵芝中的主要活性成分, 具有降血糖^[11]、免疫调节^[12]、抗炎^[13]、保肝护肝^[14]、抗肿瘤^[15]、抗病毒^[16]等功效。研究表明, 通过灵芝菌丝体固态发酵可以提高基质中的三萜含量, 如谭显东等^[17]通过灵芝固态发酵使三七渣的三萜含量提高了 0.013%; 林威^[18]以灵芝菌丝体发酵麦麸、玉米粉和豆粉混合的固态基质, 通过优化培养条件使三萜含量达 35.72 mg/g; 雷彤彤等^[19]研究发现灵芝-玉米粉发酵产物中的三萜与灵芝酸含量达到灵芝子实体的 1.68

和 2.07 倍。近年来, 固态发酵技术在灵芝功能食品中的应用越来越广泛, 其发酵产物因富含独特的灵芝活性成分及具备更高的抗氧化、降血糖等保健价值而常被用作功能性食品原料。

本研究以青稞为主要固态基质, 通过单因素及响应面试验优化灵芝菌丝体发酵工艺以提高三萜含量, 并探究灵芝发酵青稞产物的抗氧化及降血糖活性, 以期对青稞的功能强化及灵芝功能食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

赤芝(*Ganoderma lucidum*)菌种与麸皮 大连民族大学生命科学学院食用菌保藏与加工研究室提供; 青稞 购自野三坡食品有限责任公司; DPPH (1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基) 购自北京索莱宝科技有限公司; 邻菲罗啉、邻苯三酚、高氯酸、无水乙醇、过氧化氢、硫酸亚铁、葡萄糖、蛋白胨、磷酸二氢钾、七水硫酸镁 购自科密欧化学试剂有限公司; Tris-HCL 缓冲液 购自源叶生物科技有限公司; α -淀粉酶 (10000 U/g)、 α -葡萄糖苷酶 (100000 U/mL) 购自阿拉丁生化科技股份有限公司; 齐墩果酸标准品 纯度 $\geq 98\%$ 、香草醛 纯度 $\geq 99\%$, 购自阿拉丁生化科技有限公司; 所有试剂均为国产分析纯。

DHG-9240 电热恒温鼓风干燥箱、DNP-9082 电热恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司; FW100 高速粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司; SCIENTZ-5T 超声波提取器 宁波新芝生物科技股份有限公司; H-2050R 冷冻离心机 长沙湘仪仪器有限公司; PL 203 电子精密天平 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; HH-S 电热恒温水浴锅 巩义市映峪予华仪器有限公司; UV-2800 紫外分光光度计 上海龙尼柯上海仪器有限公司; HYG-3 多功能智能组合摇床 上海奥豪斯仪器有限公司; ZHJH-C2112B 超净工作台 上海智城分析仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 灵芝菌种活化 使用接菌耙切取一小块灵芝菌株(直径 5 mm $\times$ 5 mm)接种于 PDA 斜面培养基中央, 于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温避光培养 7 d 至菌丝长满斜面后备用。PDA 斜面培养基: 马铃薯 200.0 g/L, 葡萄糖 20.0 g/L, 琼脂 20.0 g/L, MgSO_4 1.5 g/L, KH_2PO_4 3.0 g/L。PDA 液体培养基: 马铃薯 200.0 g/L, 葡萄糖 20.0 g/L, MgSO_4 1.5 g/L, KH_2PO_4 3.0 g/L。

1.2.2 灵芝液体菌种培养 向装有 100 mL PDA 液

体培养基的 250 mL 锥形瓶中接入 3 块活化后的灵芝菌丝块(直径 5 mm×5 mm),于恒温摇床中 28 ℃、120 r/min 培养 6~7 d,待培养基中布满大小均匀的灵芝菌丝球后备用。种子液中菌丝球应大小均匀,液体清澈透明。

1.2.3 青稞固态发酵培养基 将生青稞米于蒸馏水中充分浸泡一晚后沥干。以青稞与麸皮质量为物料量(青稞 70%、麸皮 30%),混匀后分装于 250 mL 锥形瓶,加物料量 60% 的水混匀,用 6 层纱布和牛皮纸封口,于 121 ℃ 灭菌 20 min 后冷却备用。

1.2.4 固态发酵的接种与培养 向青稞固态培养基中接种灵芝菌种子液(接种量 10%)并混合均匀,于 28 ℃ 培养箱中恒温静置培养,直到菌丝满瓶(10 d)。将发酵菌质从瓶中取出,于 60 ℃ 烘干后粉碎过 60 目筛、混合均匀,得到发酵产物,于 0 ℃ 冷藏备用^[20]。青稞固态培养基于 28 ℃ 恒温静置 10 d 后加入灵芝种子液,混合均匀后取出烘干、粉碎及过筛得到未发酵基质粉。

1.2.5 单因素实验 分别考察物料量、接种量与温度对发酵产物三萜含量的影响,每个单因素设置 5 个水平,以物料量 35 g、接种量 10%、温度 28 ℃ 为固定因素水平,其它条件保持不变,单因素水平具体如下:(A)物料量:25、30、35、40、45 g;(B)接种量:6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%;(C)温度:24、26、28、30、32 ℃。

1.2.6 响应面试验 在单因素实验的基础上,以三萜含量为评价指标,物料量、接种量与温度三个因素为自变量,采用响应面试验优化发酵条件,每个因素设置-1、0、1 三个水平,其中每个单因素的最适条件设置为 0 水平。Box-Behnken 实验参数设置见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素及水平
Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experiment design

因素	水平		
	-1	0	1
物料量(g)	30	35	40
接种量(%)	12	14	16
温度(℃)	26	28	30

1.2.7 三萜含量的测定 根据 NY/T 3676-2020《灵芝中总三萜含量的测定》中分光光度法对 1.2.4 发酵产物的三萜含量进行测定^[21],以齐墩果酸含量(μg)为横坐标,吸光度为纵坐标,得到标准曲线回归方程 $y=0.0077x+0.0040$, $R^2=0.9990$ 。

1.2.8 抗氧化活性测定 精密称取发酵产物 5.00 g,加入 50 mL 无水乙醇,然后 60 ℃ 超声提取 1 h,于 8000 r/min 离心 15 min,将上清液转移至容量瓶中。重复提取 2 次,合并上清液并定容至 100 mL,配制成浓度为 50 mg/mL 的醇提液,并用无水乙醇稀释至不同浓度(1~5 mg/mL)。醇提液的 DPPH· 羟基与超氧阴离子自由基清除力参照寇娟妮等^[10]的方法进行

测定。

1.2.9 降血糖活性测定 取 5.00 g 发酵产物加入 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(PBS, pH6.9),于 25 ℃、150 r/min 摇床中振荡提取 1 h 后,以 8000 r/min 离心 10 min,上清液混合均匀并定容至 100 mL,并用磷酸缓冲液分别稀释至不同浓度(15~35 mg/mL)。

1.2.9.1 α-淀粉酶抑制率测定 α-淀粉酶抑制率的测定参考彭东等^[22]的方法并稍作修改。取 500 μL 稀释至不同浓度(15~35 mg/mL)的提取液加入 500 μL α-淀粉酶溶液(70 U/mL),37 ℃ 反应 10 min。加入 500 μL 1% 可溶性淀粉,37 ℃ 反应 10 min 后加入 1 mL DNS 试剂,沸水浴加热 5 min。流动水迅速冷却后定容至 25 mL,于 540 nm 测定吸光度。按照如下公式计算 α-淀粉酶抑制率:

$$\text{酶抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0 - A_3}\right) \times 100$$

式中: A_1 为加入提取液测得吸光度; A_0 为磷酸缓冲液取代提取液测得吸光度; A_2 为磷酸缓冲液取代可溶性淀粉测得吸光度; A_3 为磷酸缓冲液取代提取液与 α-淀粉酶溶液测得吸光度。

1.2.9.2 α-葡萄糖苷酶抑制率测定 α-葡萄糖苷酶抑制率的测定参考林杉等^[23]的方法稍作修改。100 μL α-葡萄糖苷酶溶液(0.5 U/mL)添加到 50 μL 稀释至不同浓度(15~35 mg/mL)的提取液中反应 10 min,加入 100 μL PNP(5 mmol/L)反应 20 min。加入 1 mL Na_2CO_3 溶液(1 mol/L)终止反应,于 405 nm 测定吸光度。α-葡萄糖苷酶抑制率的计算公式同上式。式中: A_1 为加入提取液测得吸光度; A_2 为磷酸缓冲液取代 α-葡萄糖苷酶溶液测得吸光度; A_0 为磷酸缓冲液取代提取液测得吸光度; A_3 为磷酸缓冲液取代提取液与 α-葡萄糖苷酶溶液测得吸光度。

1.3 数据处理

使用 Design Expert 13.0 软件进行响应面试验设计和数据分析。所有数据均表示为 3 次重复实验的平均值±标准差,并使用 IBM SPSS 27.0 软件对数据进行 ANOVA 显著性差异分析(Duncan 检验, $P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 灵芝菌丝体固态发酵青稞工艺优化的单因素实验结果

2.1.1 物料量对发酵产物三萜含量的影响 物料量对发酵产物三萜含量的影响如图 1 所示,当物料量为 25 g 时,产物三萜含量最低,随着物料量增加,产物三萜含量呈现大幅增加后降低的趋势,于 35 g 达到最大值。灵芝菌丝体生长需要消耗氧,物料量会影响培养瓶内的空间大小,影响瓶内通气量,从而影响氧气的供给^[20]。装量少易于氧气供给,但基质也易失水干燥,使基质含水量降低从而影响菌丝生长。因此,选择 35 g 为适宜物料量进行下一步优化。

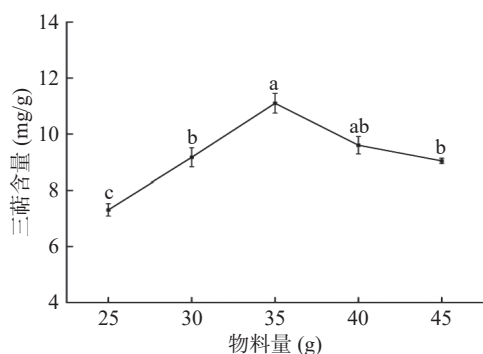


图1 物料量对发酵产物三萜含量的影响

Fig.1 Effect of material quantity on the triterpene content in fermented product

注: 不同小写字母表示单因素不同水平处理组之间差异显著 ($P<0.05$), 图2~图3同。

2.1.2 接种量对发酵产物三萜含量的影响 接种量对产物三萜含量的影响如图2所示, 随着接种量增加, 产物三萜含量持续增加, 这是由于接种量过低使青稞基质中的营养物质未能充分利用^[24], 灵芝菌丝体繁殖较慢, 导致发酵周期的延长。但接种量并非越高越好, 过高的接种量会造成菌体繁殖速度过快, 大量消耗基质中的营养物质, 使微生物提前进入衰亡期, 不利于发酵产物的积累, 同时快速产生的大量代谢产物也会对菌丝体的正常生长产生反馈抑制作用^[24]。因此, 选择接种量为 14% 进行优化实验。

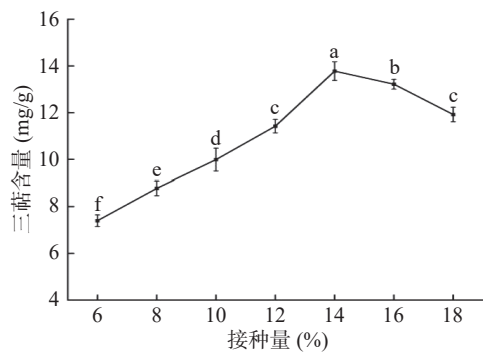


图2 接种量对发酵产物三萜含量的影响

Fig.2 Effect of inoculum size on the triterpene content in fermented product

2.1.3 发酵温度对发酵产物三萜含量的影响 温度是固态发酵过程中的一个重要因素, 发酵温度对产物三萜含量的影响如图3所示, 随着温度由 24℃ 升高至 28℃, 三萜含量快速增加并达到最大值。温度继续提高, 产物三萜含量大幅下降并于 32℃ 降至最低。这是由于微生物在不同的生理生化过程有着不同的最适温度^[25], 发酵温度太高会影响菌丝体的形成与萌发, 温度太低则影响菌丝体的新陈代谢, 导致菌丝体生长迟缓。同时, 微生物在生长过程中会自然产生热量堆积的温度效应。由于菌丝体代谢产生大量的生物热, 容易造成物料大面积板结, 影响发酵的正常进行。因此, 选择 28℃ 为适宜的发酵温度。

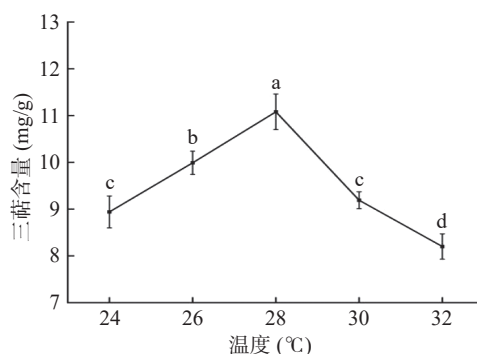


图3 温度对发酵产物三萜含量的影响

Fig.3 Effect of temperature on the triterpene content in fermented product

2.2 灵芝菌丝体固态发酵青稞工艺优化的响应面试验结果

2.2.1 响应面试验结果 在单因素实验的基础上, 以三萜含量(mg/g)为响应值, 物料量(g)、接种量(%)及温度(℃)为自变量, 采用响应面试验优化发酵条件, Box-Behnken 实验设计及结果如表2所示。采用 Design Expert 13.0 分析软件对表2的实验结果进行多元线性回归拟合, 得到产物三萜含量(Y)对物料量(A)、接种量(B)与温度(C)的二次多项回归模型方程:

$$Y=14.62+0.33A+0.20B+0.10C-0.78AB+1.03AC-1.17BC-0.91A^2-0.39B^2-1.25C^2$$

表2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Design and results of Box-Behnken experiments

试验号	A物料量	B接种量	C温度	三萜含量(mg/g)
1	-1	-1	0	12.03±0.39
2	1	-1	0	14.13±0.23
3	-1	1	0	14.05±0.18
4	1	1	0	13.05±0.43
5	-1	0	-1	13.12±0.49
6	1	0	-1	11.81±0.32
7	-1	0	1	11.04±0.47
8	1	0	1	13.86±0.22
9	0	-1	-1	11.43±0.33
10	0	1	-1	14.09±0.13
11	0	-1	1	14.21±0.67
12	0	1	1	12.18±0.21
13	0	0	0	14.56±0.32
14	0	0	0	14.67±0.63
15	0	0	0	14.76±0.36
16	0	0	0	14.58±0.34
17	0	0	0	14.52±0.48

2.2.2 响应面回归模型的方差分析 发酵产物三萜含量回归模型的方差分析如表3所示, 三萜含量的回归模型具有极显著性($P<0.01$), 而失拟项不显著($P>0.05$), 决定系数 $R^2=0.9932$, 说明产物三萜含量的实测值与预测值之间的拟合度较好, 该模型中的条件可以很好地反映响应值的变化^[24]。校正决定系数 $R^2_{Adj}=0.9845$, 说明该模型可以解释大约 98.45% 的产物三萜含量响应值的变化。由此可见该二元回归

模型可以用来分析与预测该发酵体系中三萜含量的实际情况。同时, 物料量与接种量对三萜含量的影响具有极显著性($P<0.01$), 温度对三萜含量的影响不显著($P>0.05$), 物料量、接种量与温度之间的交互作用对三萜含量的影响具有极显著性($P<0.01$), 各因素的二次项对三萜含量的影响皆极显著($P<0.01$)。各因素对于产物三萜含量的影响程度排序为: 物料量(A)>接种量(B)>温度(C)。

表 3 回归模型的方差分析
Table 3 ANOVA of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	25.12	9	2.79	113.90	<0.0001	**
A物料量	0.8515	1	0.8515	34.74	0.0006	**
B接种量	0.3081	1	0.3081	12.57	0.0094	**
C温度	0.0882	1	0.0882	3.60	0.0996	
AB	2.40	1	2.40	98.03	<0.0001	**
AC	4.26	1	4.26	173.99	<0.0001	**
BC	5.50	1	5.50	224.38	<0.0001	**
A ²	3.50	1	3.50	142.74	<0.0001	**
B ²	0.6454	1	0.6454	26.33	0.0014	**
C ²	6.57	1	6.57	268.01	<0.0001	**
残差	0.1716	7	0.0245			
失拟项	0.1343	3	0.0448	4.80	0.0818	
纯误差	0.0373	4	0.0093			
总和	25.29	16				

注: **表示差异极显著, $P<0.01$; *表示差异显著, $P<0.05$ 。

2.2.3 影响因素的交互作用分析 三萜含量回归模型的三维响应曲面如图 4 所示, 当等高线为圆形时自变量间的交互作用对响应值的影响无显著性, 当等高线为椭圆形或马鞍形代表自变量交互作用具有显著影响。由图 4 可看出, 物料量、接种量与温度之间的交互作用对三萜含量的影响皆极显著, 与表 3 结论一致。当物料量不变而接种量增加时, 产物三萜含量呈增加的趋势, 其趋势与单因素实验结果一致; 当物料量与接种量同时增加, 产物三萜含量大幅提高, 但当两者添加到一定量后三萜含量开始快速下降。当温度不变而接种量增加时, 产物三萜含量增加。温度对三萜含量的影响因接种量的改变而呈现相反的趋势。当接种量较低时, 随着温度提高, 三萜含量呈先快速增加后缓慢降低的趋势; 当接种量维持在较高水平时, 三萜含量随温度的升高呈先缓慢增加后迅速降低的趋势。此外, 随着物料量与温度提高, 产物三萜含量增加, 当两者提高到一定水平后三萜含量开始下降, 且增加与下降幅度基本一致。

2.2.4 最佳工艺条件的确定及验证试验 通过 Design Expert 13.0 软件对回归模型方程求解得到的优化工艺条件为: 物料量 37.982 g, 接种量 13.273%, 温度 28.683 ℃。在此条件下, 产物三萜含量的预测值 14.779 mg/g。考虑实际情况, 调整最佳发酵条件为物料量 38 g、接种量 13 %、温度 29 ℃。此条件下, 实验测得发酵产物的总三萜含量为 14.83±

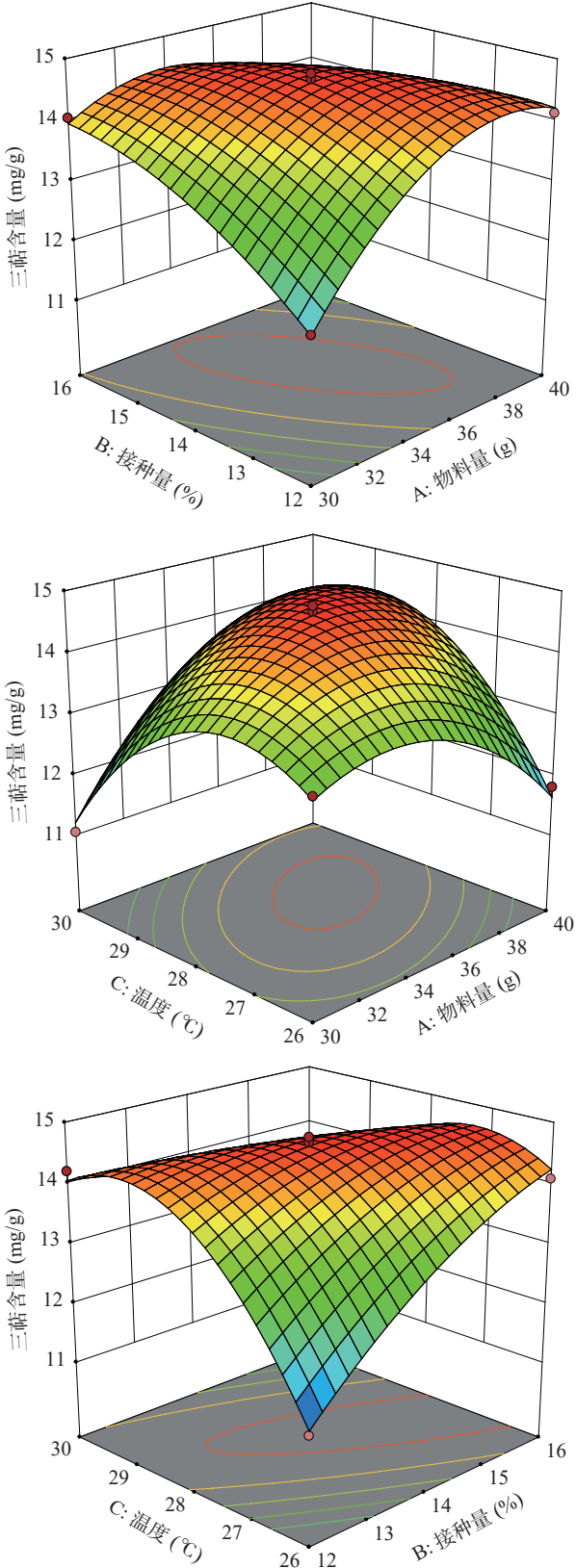


图 4 物料量、接种量及温度交互作用对产物三萜含量影响的响应曲面图

Fig.4 Response surface plots of effects of the interaction between material quantity, inoculum size, and temperature on the triterpene content

0.31 mg/g, 与发酵前三萜含量 6.45 ± 0.29 mg/g 相比提高了 129.92%。实验值与预测值之间差异不大, 说明该回归模型拟合较好, 可以用于灵芝菌丝体固态发

酵青稞的优化工艺条件。

2.3 灵芝菌丝体固态发酵青稞产物的抗氧化活性分析

为探究灵芝菌丝体固态发酵对青稞中醇溶性成分抗氧化活性的影响,对未发酵基质粉及发酵产物进行醇提,其醇提液的抗氧化活性如图5所示。青稞基质与灵芝-青稞发酵产物的提取物对DPPH自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基均具有不同程度的清除能力,且清除能力随着提取浓度升高而增加(1~5 mg/mL)并具有一定的剂量依赖性($P<0.01$)。根据提取物清除率的大小,在1~5 mg/mL的提取浓度范围内,青稞未发酵基质及发酵产物对各自自由基的清除能力大小排序为: DPPH>羟基>超氧阴离子。当提取浓度从1 mg/mL增加至5 mg/mL,青稞固态基质对DPPH、羟基与超氧阴离子自由基的清除率分别提高了1.05、1.57与1.25倍,灵芝-青稞产物分别提高了0.88、1.01与0.8倍($P<0.01$),表明该浓度范

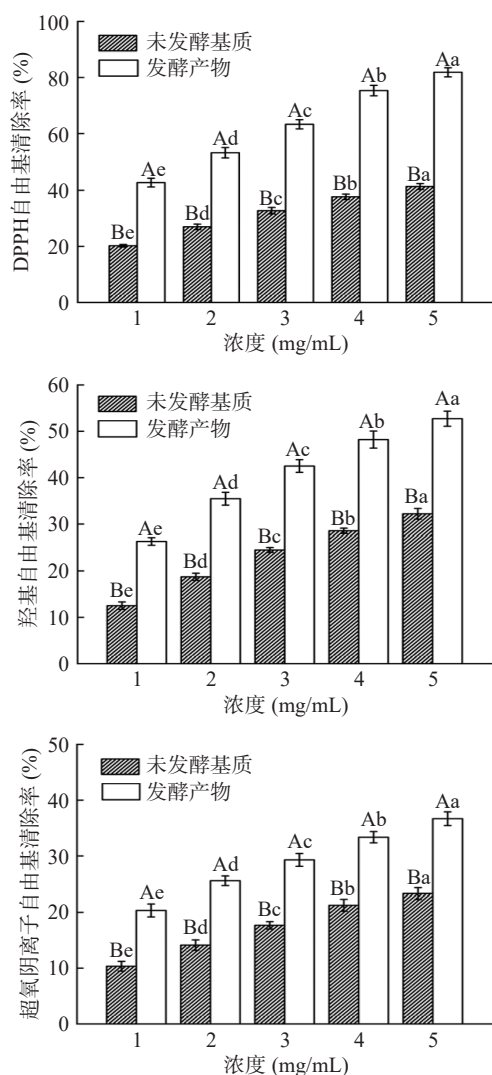


图5 未发酵固态基质及发酵产物醇提液的抗氧化活性

Fig.5 Antioxidant activity of alcohol extracts from unfermented substrate and fermented product

注:不同大写字母表示同一浓度发酵前后处理组差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示同一处理组不同浓度间差异显著($P<0.05$),图6同。

围内两者提取物清除羟基自由基的能力对浓度变化表现出更大的敏感性。未发酵青稞基质粉对DPPH、羟基与超氧阴离子自由基的 IC_{50} 值(6.44、8.42、12.88 mg/mL)均小于灵芝-青稞产物的 IC_{50} 值(1.68、4.37、8.18 mg/mL),且具有显著性差异($P<0.05$)。相同浓度下,相比于未发酵基质,发酵产物对DPPH、羟基与超氧阴离子自由基的清除率均得到提高,在浓度为5 mg/mL时,清除率分别显著提高了98.02%、63.68%与57.36%($P<0.05$)。结果表明灵芝菌丝体固态发酵提高了青稞的抗氧化活性,推测原因是菌丝体发酵促进了青稞活性成分的释放,同时实现对活性成分的转化,形成了生物活性更强的分子效应团^[26]。此外,发酵过程中灵芝菌丝体会分泌三萜、多酚与黄酮等物质从而提高产物中醇溶性活性成分的含量^[27]。

2.4 灵芝菌丝体固态发酵青稞产物的降血糖活性分析

青稞在控制血糖、调节糖代谢方面具有良好的效果,其含有的多酚、 β -葡聚糖、花青素等成分具有抑制 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶活性从而达到降低餐后血糖的作用^[28-32]。未发酵青稞基质粉及发酵产物的 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶活性抑制率如图6所示,两者在提取浓度范围内(15~35 mg/mL)均能对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶起到一定的抑制作用,且抑制作用呈浓度依赖性($P<0.05$)。随着提取浓度增加,未发酵基质与发酵产物对 α -淀粉酶的抑制效果越来越明显,而对 α -葡萄糖苷酶的抑制增长率趋于稳定,说明在提取浓度15~35 mg/mL范围内,两者对 α -淀

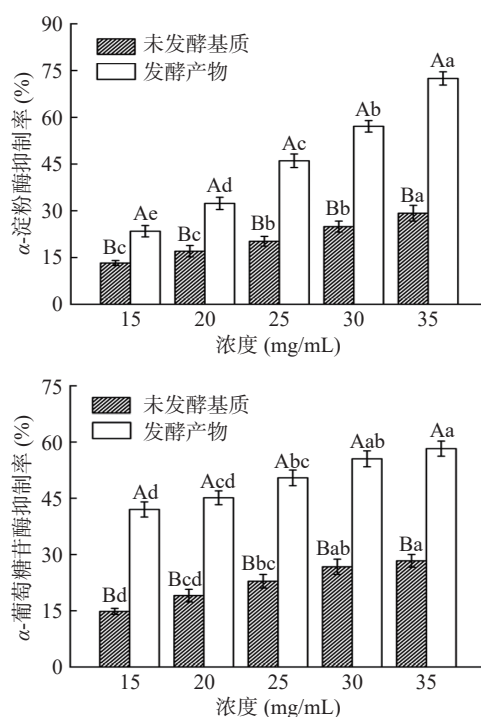


图6 未发酵固态基质及发酵产物的 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶抑制率

Fig.6 Inhibition rate of α -amylase and α -glucosidase in unfermented substrate and fermented product

粉酶的抑制作用具有更大的敏感性,而对 α -葡萄糖苷酶的活性抑制具有饱和效应。发酵提高了青稞的体外降血糖活性,其在不同浓度(15~35 mg/mL)的 α -淀粉酶抑制率分别提高 0.77、0.90、1.28、1.29 和 1.48 倍, α -葡萄糖苷酶抑制率分别提高 1.83、1.37、1.21、1.08 和 1.06 倍($P<0.05$)。这是由于一方面发酵改变了青稞中活性成分的结构,如黄酮类化合物的羟基化促进对 α -淀粉酶的抑制作用^[33];另一方面与灵芝菌丝体分泌的活性物质有关,如灵芝中的三萜类成分具有抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的作用^[34]。灵芝醇和灵芝酸特定位置的 OH 取代基和双键部分可以增加对 α -葡萄糖苷酶的活性抑制^[35]。Zengin 等^[36]报道灵芝的甲醇和水提取物对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用与酚类化合物有关。

3 结论

本研究通过灵芝菌丝体固态发酵青稞,考察了物料量、接种量与发酵温度对发酵产物中三萜含量的影响,通过单因素实验及响应面法优化发酵工艺,得到最适发酵条件为:物料量 38 g/250 mL,接种量 13%,发酵温度 29 °C。此条件下,发酵产物的三萜含量为 14.83 ± 0.31 mg/g,比发酵前提高了 129.92%。发酵显著提高了青稞的 DPPH 自由基、羟基自由基与超氧阴离子自由基的清除能力,其产物醇提物具备更高的抗氧化活性,可以为灵芝青稞发酵功能食品的应用提供参考。此外,发酵提高了青稞的降血糖活性,其产物具有更高的 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶抑制率,且在提取浓度 15~35 mg/mL 范围内对 α -淀粉酶的抑制作用具有更大的敏感性。灵芝菌丝体固态发酵可以作为青稞功能强化的新途径,在提高青稞保健价值的同时,需要对其营养价值进行评价,以期对灵芝发酵青稞产物的更多利用途径提供理论依据。随着灵芝在食品领域中的应用越来越广泛,灵芝菌丝体固态发酵技术在食品营养及功能强化方面的应用将更加广泛,灵芝发酵功能食品也将具有广阔的发展前景。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] 邢晓婷,孙辉,刘建奎,等.青稞营养特性与加工品质研究进展[J].中国食物与营养,2023,29(6):40-44. [XING X T, SUN H, LIU J L, et al. Research progress on nutritional characteristics and processing quality of Highland barley[J]. Food and Nutrition in China, 2023, 29(6): 40-44.]

[2] 张小燕,杨旭星,彭涛.归芪养生醋酿造工艺的研究[J].中国调味品,2008,33(11):55-57. [ZHANG X Y, YANG X X, PENG T. A study on the brewing techniques of healthy *Angelica* and *Astragalus* vinegar[J]. China Condiment, 2008, 33(11): 55-57.]

[3] 胡江校,唐善虎,李思宁,等.添加不同预处理的青稞对益生菌酸乳理化特性影响的研究[J].食品科技,2019,44(6):73-80.

[4] HU J X, TANG S H, LI S N, et al. Effect of adding various pre-treated highland barley on physicochemical properties of probiotic yogurt[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(6): 73-80.]

[4] 吴庆国.青稞醋发酵工艺及其特性研究[D].重庆:西南大学,2018. [WU Q Y. Research on the barley vinegar brewing technology and properties comparison[D]. Chongqing: Southwest University, 2018.]

[5] 孙康娜,阮珍珍,李岩,等.青稞粉发酵工艺响应面法优化及体外降糖活性研究[J].中国酿造,2024,43(1):230-236. [SUN K N, YUAN Z Z, LI Y, et al. Optimization of fermentation process of highland barley powder by response surface method and its hypoglycemic activity *in vitro*[J]. China Brewing, 2024, 43(1): 230-236.]

[6] 关颖贤,江洁,潘玲,等.食用菌发酵食品的研究进展[J].食品工业科技,2023,44(10):454-462. [GUAN Y X, GANG J, PAN L, et al. Research progress on fermented food by edible fungi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(10): 454-462.]

[7] TANG Y J, LIU R S, LI H M. Current progress on truffle submerged fermentation: A promising alternative to its fruiting bodies[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(5): 2041-2053.

[8] 焦捷,雷梅英,王树林.羊肚菌固态发酵青稞的营养、活性成分及抗氧化特性变化研究[J].食品与发酵科技,2023,59(4):37-43. [JIAO J, LIE M Y, WANG S L. Study on changes of nutrition, active components and antioxidant properties of highland barley solid-fermented by *Morchella*[J]. Food and Fermentation Science & Technology, 2023, 59(4): 37-43.]

[9] 马贺,孙培利,雷梅英,等.猴头菌固态发酵青稞基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 and Quality, 2022, 13(20): 6764-6771.]

[10] 寇娟妮,李松文,辛寒晓,等.灵芝发酵小麦的营养特性与抗氧化能力[J].中国粮油学报,2018,33(12):7-13. [KOU J N, LI S W, XIN H X, et al. Nutritional characteristics and antioxidant capacity of wheat fermented with *Ganoderma lucidum*[J]. Journal of Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33(12): 7-13.]

[11] ZHU J, JIN J, DING J X, et al. Ganoderic acid A improves high fat diet-induced obesity, lipid accumulation and insulin sensitivity through regulating SREBP pathway[J]. Chemico Biological Interactions, 2018, 290: 77-87.

[12] JIA Y, ZHANG D D, YIN H, et al. Ganoderic acid A attenuates LPS-induced neuroinflammation in BV2 microglia by activating farnesoid X receptor[J]. Neurochemical Research, 2021, 46(7): 1725-1736.

[13] CAO T, TANG C F, XUE L Z, et al. Protective effect of Ganoderic acid A on adjuvant-induced arthritis[J]. Immunology Letters, 2020, 226: 1-6.

[14] WU H H, TANG S S, HUANG Z Q, et al. Hepatoprotective effects and mechanisms of action of triterpenoids from Lingzhi or Reishi medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes) on alpha-amanitin-induced liver injury in mice[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2016, 18(9): 841-850.

[15] RAHMAN M, AL-GHAMDI S A, ALHARBI K S, et al. Ganoderic acid loaded nano-lipidic carriers improvise treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Drug Delivery, 2019, 26(1): 782-793.

- [16] JIANG L Y, ZHANG W, ZHAI D D, et al. Transcriptome profiling and bioinformatic analysis of the effect of ganoderic acid T prevents Sendai virus infection[J]. *Gene*, 2023, 862: 147252.
- [17] 谭显东, 陈楠, 王浪, 等. 响应面法优化灵芝发酵三七渣产灵芝三萜工艺[J]. *中国酿造*, 2021, 40(6): 147-151. [TAN X D, CHEN N, WANG L, et al. Optimization of fermentation conditions for *Ganoderma lucidum* triterpenoids production with notoginseng residues by *Ganoderma lucidum* using response surface methodology[J]. *China Brewing*, 2021, 40(6): 147-151.]
- [18] 林威. 灵芝菌质发酵工艺及其抗氧化性研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2022. [LIN W. Study on fermentation technology and antioxidant properties of *Ganoderma lucidum* fungal[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2022.]
- [19] 雷彤彤, 王丽花, 吴元元, 等. 玉米灵芝菌粮营养成分及加工特性变化研究[J]. *生物技术进展*, 2021, 11(3): 322-329. [LEI T T, WANG L H, WU Y Y, et al. Study on changes of nutritional components and processing characteristics of *Ganoderma lucidum* fermented corn[J]. *Current Biotechnology*, 2021, 11(3): 322-329.]
- [20] 董玉玮, 周洁, 苗敬芝, 等. 灵芝在牛蒡固体培养基中发酵工艺优化及菌丝多糖的体外抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2019, 40(10): 149-156. [DONG Y W, ZHOU J, MIAO J Z, et al. Production and *in vitro* antioxidant activity of mycelial polysaccharide from *Ganoderma lucidum* utilizing burdock (*Arctium lappa* L.) root under optimized solid-state fermentation conditions[J]. *Food Science*, 2019, 40(10): 149-156.]
- [21] 中华人民共和国农业农村部. NY/T 3676-2020 灵芝中总三萜含量的测定 分光光度法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020. [Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. NY/T 3676-2020 Determination of total triterpene contents in *Ganoderma lucidum* by spectrophotometry[S]. Beijing: Standards Press of China, 2020.]
- [22] 彭东, 罗志锋, 陶倩, 等. 发酵巴戟天中蒽醌提取及其抗氧化与降血糖活性[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(7): 214-223. [PENG D, LUO Z F, TAO Q, et al. Extraction of anthraquinone from fermented *Morinda officinalis* and its antioxidant and hypoglycemic activities[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(7): 214-223.]
- [23] 林杉, 赵萍, 付云娜, 等. 羊肚菌胞外多糖液态发酵培养基配方优化及其体外降血糖活性[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(20): 196-203. [LIN S, ZHAO P, FU Y N, et al. Optimization of liquid fermentation medium formulation of *Morchella eschschera* exopolysaccharide and its hypoglycemic activity *in vitro*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(20): 196-203.]
- [24] 谭显东, 卢上飞, 胡伟, 等. 三七渣固态发酵生产灵芝菌质的工艺优化[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(18): 130-134. [TAN X D, LU S F, HU W, et al. Optimization of technological conditions for producing *Ganoderma lucidum* fungal substance by solid state fermentation of *Panax notoginseng* residues[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(18): 130-134.]
- [25] 王永生. 发酵法生产番茄红素[D]. 北京: 北京化工大学, 2003. [WANG Y S. Producing lycopene by fermentation[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2003.]
- [26] 孙琳, 井长欣, 邹睿, 等. 刺五加-灵芝双向固体发酵工艺优化及抗氧化活性评价[J]. *科学技术与工程*, 2023, 23(21): 9004-9014. [SUN L, JING C X, ZOU R, et al. Optimization of the bi-directional solid fermentation process of *Acanthopanax senticosus* by *Ganoderma lingzhi* and evaluation of its antioxidant activity[J]. *Science Technology and Engineering*, 2023, 23(21): 9004-9014.]
- [27] GUAN Y X, ZHAO T, ZHANG A R, et al. A potential diabetic-friendly food material: optimization, nutritional quality, structural characteristics, and functional properties of oat and purple potato fermented by *Ganoderma lucidum* mycelium[J]. *Fermentation*, 2024, 10: 618.
- [28] DENG N, GUO R X, ZHENG B S, et al. IRS-1/PI3K/Akt pathway and miRNAs are involved in whole grain highland barley (*Hordeum vulgare* L.) ameliorating hyperglycemia of Db/Db Mice[J]. *Food & Function*, 2020, 11(11): 9535-9546.
- [29] LIU Z H, LI B. Procyanidin B1 and p-Coumaric acid from highland barley grain showed synergistic effect on modulating glucose metabolism via IRS-1/PI3K/Akt pathway[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021: 65.
- [30] TIAN M J, SONG J N, LIU P P, et al. Effects of beta glucan in highland barley on blood glucose and serum lipid in high fat-induced C57 mouse[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2013, 47(1): 55-58.
- [31] DENG N, ZHENG B S, LI R H, et al. Assessment of the phenolic profiles, hypoglycemic activity, and molecular mechanism of different highland barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(4): 1175.
- [32] GE X Z, JING L Z, ZHAO K, et al. The phenolic compounds profile, quantitative analysis and antioxidant activity of four naked barley grains with different color[J]. *Food Chemistry*, 2021, 335: 127655.
- [33] XIAO J B, NI X L, KAI G Y, et al. A review on structure-activity relationship of dietary polyphenols inhibiting α -amylase[J]. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*, 2013, 53(5): 497-506.
- [34] CHEN S D, YONG T Q, ZHANG Y F, et al. Inhibitory effect of five *Ganoderma* species (*Agaricomycetes*) against key digestive enzymes related to type 2 diabetes mellitus[J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2019, 21(7): 703-711.
- [35] FATMAWATI S, KONDO R, SHIMIZU K. Structure-activity relationships of lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma lingzhi* as α -glucosidase inhibitors[J]. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(21): 5900-5903.
- [36] ZENGIN G, SARIKURKCU C, GUNES E, et al. Two *Ganoderma* species: profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders[J]. *Food Function*, 2015, 6(8): 2794-2802.