

真菌发酵对麦麸酚酸及其抗氧化活性的影响

凌阿静, 李小平, 刘柳, 马蓁, 胡新中*

(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 为提高麦麸中活性成分含量及其功能, 扩大麦麸利用途径, 采用 3 种真菌(黑曲霉、米曲霉、里氏木霉)发酵麦麸, 使用分光光度法和高效液相研究发酵后麦麸中总游离酚质量分数(mg/g)、游离酚酸组分及抗氧化活性。结果表明 3 种真菌发酵均可不同程度地降解麦麸, 提高麦麸中总游离酚和各种游离酚酸的含量及其抗氧化活性, 其中米曲霉作用效果最为显著。研究指出真菌发酵是提高麦麸生物活性成分的有效途径, 米曲霉是降解麦麸生产阿魏酸的优良菌种。

关键词: 麦麸; 固态发酵; 游离酚; 抗氧化活性; HPLC

中图分类号: TS 20 文章编号: 1673-1689(2019)04-0136-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.04.020

Effect of Fungal Fermentation on Wheat Bran Phenolic Acids Contents and Antioxidant Activity

LING Ajing, LI Xiaoping, LIU Liu, MA Zhen, HU Xinzhong*

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: In order to increase the contents of the active ingredients, improve the functional activity and broaden the utilization pathways of wheat bran, wheat bran was fermented with three fungi (*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*) and free phenolic content, free phenolic composition and antioxidant activity were investigated by spectrophotometry and HPLC. The results showed that three fungi all could degrade wheat bran and increase the contents of total free phenol, phenolic acids composition and antioxidant activity. The effect of *Aspergillus oryzae* was the most obvious among the three fungi. In conclusion, fungal fermentation is an effective way to improve bioactive ingredients of wheat bran and *Aspergillus oryzae* is an excellent choice for fermentation of wheat bran.

Keywords: wheat bran, solid-state fermentation, phenolic acids, antioxidant activity, HPLC

小麦是我国最重要的粮食作物, 主要用于制粉。麦麸是小麦制粉过程中主要的副产品, 占小麦

加工量的 20%^[1]。目前, 我国麦麸的年产量超过 3 000 万 t, 资源丰富, 但由于其适口性差, 尚未得到很好

收稿日期: 2016-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470093); 西安市科技计划项目现代农业推进计划项目[NC1207(1)]; 中央高校基本科研业务费专项基金项目(GK201102021); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2015JM3109)。

* 通信作者: 胡新中(1972—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事谷物科学与营养研究。E-mail: hxinzhong@126.com

引用本文: 凌阿静, 李小平, 刘柳, 等. 真菌发酵对麦麸酚酸及其抗氧化活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(04): 136-142.

的利用,主要用于饲料^[1-2]。麦麸含有丰富的蛋白质、碳水化合物、脂肪、矿物质、维生素、酶类和酚类^[3]等化合物,营养丰富,且有资料^[4-6]表明,麦麸在治疗心血管疾病、预防老年痴呆、高血压、减肥、缓解便秘、预防和治疗癌症、降血糖、抗衰老等方面均有一定的作用。因此,加大对麦麸功能成分的研究和开发,提高麦麸的深加工和再利用程度,可增加麦麸的经济价值。

麦麸富含多酚类物质,麦麸中的多酚类化合物以酚酸为主,阿魏酸含量尤为丰富,占麦麸总量的0.4%~1%^[7],具有抗氧化、抗血栓、降血脂、防治冠心病、抗菌、抗病毒、抗突变、防癌、免疫调节等多种生理功能^[7-8]。

由于目前阿魏酸的提取主要是以当归、川芎等一些中草药为原料,成本较高^[9]。若能从麦麸中提取阿魏酸,将会降低成本。因此,近年来,麦麸中酚类物质及其生物活性探讨逐渐成为研究热点。研究发现,麦麸中阿魏酸等酚酸类物质主要通过酯键或糖苷键与细胞壁中的多糖、木质素等交联,以结合态形式存在,游离态酚酸含量较低,极大地抑制了其利用和生物活性^[10]。为此,研究者采用了多种方法降解麦麸来提高麦麸中游离态多酚的含量和生物活性,报道较多的有碱法、酶(主要是阿魏酸酯酶)法及酶碱协同法等。然而,酸、碱降解易残留且伴随副反应,产物不易纯化,而酶法成本高,因此,这些方法在麦麸酚酸的提取中尚未得到很好的应用^[10-11]。目前,在提高麦麸游离酚酸含量的研究中,生物发酵法因高效、低成本逐渐引起研究者的重视。最近几年有多篇文献报道指出,生物发酵可以释放阿魏酸,增加游离酚酸的含量,增强麦麸活性^[12]。XIE等^[10]研究发现可食蘑菇发酵麦麸可产阿魏酸酯酶释放阿魏酸;王春丽等^[13]采用2种食品加工中常用的丝状真菌(米根霉和米曲霉)固态发酵小麦麸皮,发现发酵能显著提高小麦麸皮的总酚以及其抗氧化性;胡博涵^[14]采用烟曲霉、泡盛曲霉和米曲霉等3株菌发酵麦麸,研究比较了3株霉的总酚酸、阿魏酸的释放能力及其发酵麦麸的抗氧化活性;曾岚等^[15]对用米曲霉 GIM3、棒曲霉和泡盛曲霉固体发酵后麦麸的抗氧化活性进行了研究。

尽管在麦麸酚酸的微生物降解研究方面已有多篇文献报道,但目前的研究主要集中在麦麸中阿魏酸的释放方面,同时,由于自然界存在的微生物

种类繁多,其对麦麸中阿魏酸的释放效果不同,在实际应用前,尚需要大量筛选。此外,麦麸中除阿魏酸外,尚含多种其他酚酸化合物。麦麸的生物活性尤其是抗氧化活性是麦麸中多种酚酸化合物共同作用的结果。目前,除阿魏酸以外的其他酚酸在发酵过程中的变化报道较少,其变化对麦麸的抗氧化活性的影响尚少见报道。因此,本试验用3种不同的真菌发酵麦麸,探究不同的发酵时间,麦麸总酚及其抗氧化活性的变化,并利用 HPLC 方法,系统分析了微生物降解麦麸过程中阿魏酸以及其他酚酸的变化及这些酚酸对麦麸抗氧化活性的影响,分析了微生物降解过程中阿魏酸酯酶的变化,以期真菌发酵在麦麸产酚酸中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 麦麸,西安市群众面粉厂提供;黑曲霉(2169)、米曲霉(2083)、里氏木霉(13052),中国工业微生物菌种保藏管理中心购买;马铃薯,超市购买;没食子酸(gallic acid)、原儿茶酸(protocatechuic acid)、对-羟基苯甲酸(p-hydroxy-benzaldehyde)、绿原酸(chlorogenic acid)、咖啡酸(caffeic acid)、对-香豆酸(p-Coumaric acid)、阿魏酸(ferulic acid)、DPPH、福林酚试剂, Sigma 公司产品;三氯化铁、三氯乙酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、铁氰化钾、甲醇、乙醇均为国产分析纯;甲酸、乙腈均为色谱纯。

1.1.2 培养基 马铃薯固体培养基:将洗净去皮的马铃薯 200 g,加适量蒸馏水煮沸 30 min,12 层纱布过滤,滤液中加入 20 g 葡萄糖、18 g 琼脂,再加蒸馏水溶解至 1 000 mL,121 °C 灭菌 20 min。

1.2 方法

1.2.1 麦麸处理 麦麸干燥、粉碎过 40 目筛后备用。

1.2.2 孢子悬液的制备 将菌粉转移至液体马铃薯培养基中活化 1 d,然后蘸取菌液接种到马铃薯斜面培养基上培养 3 代,第 3 代产生的孢子用无菌水从斜面洗下,调整孢子数为 1×10^7 个/mL。

1.2.3 麦麸发酵 分别称取 10 g 麦麸于已标记好的三角瓶中,加入 6 mL 的蒸馏水,121 °C 灭菌 20 min,接种真菌,每瓶接种量为 1 mL 孢子悬液,不加孢子悬液的作为对照,3 个重复。参照参考文献[11,16],在麦麸发酵 1、3、5、7 d 时取样,用于各项指标分析

测定。

1.2.4 麦麸多酚的提取 对麦麸的提取浓缩参照文献[16]稍微改动。发酵好的麦麸用 100 mL 体积分数 80%乙醇 50 ℃浸提 30 min,浸提液 4 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,残渣重复提取 2 次,合并提取液,旋转蒸发仪蒸干,5 mL 甲醇溶解,-20 ℃保存备用。

1.2.5 总游离酚含量的测定 以阿魏酸为标品,配置 0~100 μg/mL 的阿魏酸标准溶液,各取 0.5 mL 于带塞的试管中,分别加入 2.5 mL 蒸馏水,混匀,加入福林酚试剂 0.5 mL,混匀,最后加入质量浓度为 7.5%的 Na₂CO₃ 溶液 1.5 mL,混合均匀,室温下避光保存 30 min 后于 760 nm 波长处测定吸光度值。以吸光度为纵坐标,阿魏酸质量浓度为横坐标绘制标准曲线。麦麸多酚提取液样品适度稀释,同样方法测定吸光度,标准曲线计算质量分数^[17]。

1.2.6 抗氧化活性的研究

1)DPPH 自由基清除能力的测定 参照邢晓平等^[18]报道的方法,并作修改。准确移取适当稀释的样品溶液 0.2 mL 于带塞的试管中,加入 0.1 mmol/L 的 DPPH(80%甲醇溶解)溶液 3.8 mL,混匀,常温避光反应 30 min 后于 517 nm 波长处测定吸光度值。以 80%甲醇溶液代替样品作为对照。DPPH 自由基的清除能力以其清除率表示。计算公式如式(1):

$$\text{DPPH 自由基清除率} = (1 - A_1/A_0) \times 100 \quad (1)$$

式(1)中: A₁ 为样品组的吸光度, A₀ 为对照组的吸光度。

2)总还原能力的测定 参考文献[19]并加以修改。准确移取 1 mL 适当稀释的样品溶液于带塞的试管中,加入 1 mL 0.2 mol/L 的磷酸缓冲溶液(pH 为 6.6),再加入 1 g/dL 铁氰化钾[K₂Fe(CN)₆]溶液 1 mL,混合均匀,在 50 ℃水浴 20 min,然后急速冷却,再加入 10 g/dL 的三氯乙酸溶液 1 mL,混合均匀后 3 000 r/min 离心 10 min。移取上清液 2.0 mL,加入 2.0 mL 蒸馏水后再加入 0.4 mL 0.1 g/dL 的三氯化铁溶液,混合均匀,室温下反应 10 min,在 700 nm 波长处测定其吸光度值。

1.2.7 麦麸游离酚组分的高效液相色谱分析 色谱柱为 C18 柱(250 mm × 4.6 mm,0.5 mm),检测器为 UVD 170U 型,波长 280 nm,流动相:A 液为 0.1%甲酸水溶液(体积分数 0.1%的甲酸,体积分数 5%的乙腈和体积分数 94.9%的水混合制得);B 液

为混有体积分数 0.1%的甲酸的乙腈溶液,线性梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min,进样量 20 μL。梯度洗脱程序(体积分数):0~7 min(95%A 液,5% B 液),7~12 min(78% A 液,22%B 液),12~20 min(81% A 液,19% B 液),20~25 min(95% A 液,5% B 液),25~30 min(95% A 液,5% B 液)。样品适当稀释,用 0.45 μm 有机微滤膜过滤,对照保留时间和标准曲线计算各酚酸含量。

1.2.8 阿魏酸酯酶活性测定 发酵麦麸中加入 10 倍体积蒸馏水,常温放置 2 h 后,4 000 r/min 离心 30 min,得到的上清液即为粗酶液。阿魏酸酯酶活性的测定方法参考解春艳的报道^[20]。取 2 mL 适当稀释的阿魏酸乙酯溶液预热至 40 ℃,添加 2 mL 粗酶液,40 ℃保持 4 h 后于 95 ℃保持 10 min 灭酶,测定酶解液中总酚含量。以灭酶的样品作为对照,测其中总酚含量。酶解液中总酚含量减去对照样品中总酚含量乘以稀释倍数,并除以阿魏酸相对分子质量及酶解时间,得每 1 毫升酶液中阿魏酸酯酶的活性,用酶活单位表示。酶活单位定义:40 ℃下,单位时间(1 min)内 1 mL 粗酶液水解阿魏酸乙酯释放 1 μmol 阿魏酸定义为 1 个酶活单位(U/mL)。

2 结果与分析

2.1 真菌发酵对麦麸总游离酚含量的影响

麦麸中分别接种黑曲霉、米曲霉和里氏木霉发酵 1~7 d,在不同的发酵时间内测定麦麸中总游离酚质量分数,试验结果见图 1。

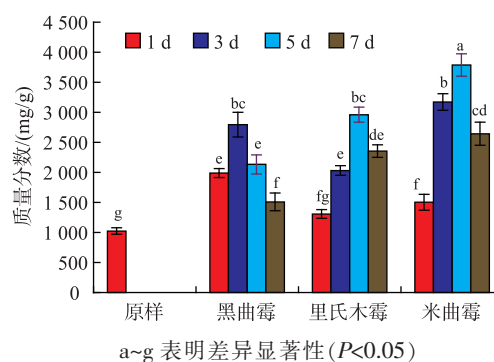


图 1 3 种真菌发酵麦麸总游离酚质量分数的变化

Fig. 1 Changes of the total free phenolic content of wheat bran with three fungi fermentation

图 1 表明,麦麸在黑曲霉、米曲霉和里氏木霉的作用下,总游离酚含量都有一定程度的增加。麦麸中添加黑曲霉后,总游离酚的质量分数先增加,

第3天时达最高(2 795.58 $\mu\text{g/g}$, 为原料的2.73倍),随后质量分数降低,但在发酵的7 d时间里,麦麸中总游离酚的质量分数均高于发酵前,这可能是由于黑曲霉发酵麦麸产生的酶可降解麦麸中结合态多酚的链接键,使麦麸中总游离酚的质量分数增加。里氏木霉发酵麦麸,总游离酚质量分数具有与黑曲霉相同的变化趋势,发酵5 d时麦麸总游离酚质量分数达到最大值(2 960.70 $\mu\text{g/g}$,为原料的2.9倍)。麦麸中接种米曲霉后,总游离酚质量分数亦呈现先上升后下降的趋势,发酵5 d时,总游离酚质量分数最高,达到3 787 $\mu\text{g/g}$,是发酵前的3.7倍。与前2种真菌比较,米曲霉发酵麦麸,总游离酚质量分数的增加幅度显著高于其他2种真菌。杜小燕^[21]利用3株泡盛曲霉发酵麦麸,发现经发酵后麦麸游离型酚类显著增加,且均呈现先增加后降低的趋势,其中GIM3.5发酵麸皮游离酚质量分数最高达3 300 $\mu\text{g/g}$,这与我们的实验结果相一致。

2.2 真菌发酵对麦麸抗氧化活性的影响

2.2.1 真菌发酵对麦麸 DPPH 自由基清除能力的影响 麦麸中分别接种黑曲霉、米曲霉和里氏木霉发酵1~7 d,在不同的发酵时间内测定麦麸乙醇提取物对DPPH自由基清除能力的影响,结果见图2。

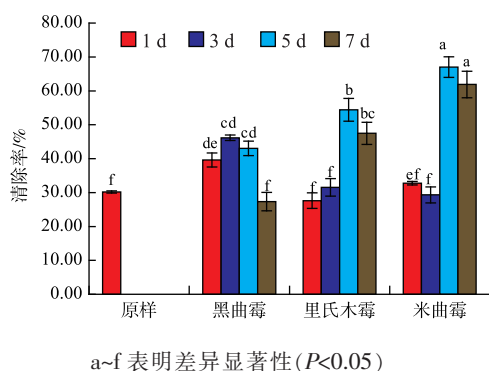


图2 3种真菌发酵麦麸DPPH自由基清除率的变化

Fig. 2 Changes of DPPH free radical scavenging activity of wheat bran with three fungi fermentation

图2显示,不同菌种和不同发酵时间作用下,麦麸乙醇提取物中DPPH自由基清除能力的变化趋势同麦麸中总酚含量的变化趋势基本一致。即麦麸中添加黑曲霉、里氏木霉后,其乙醇提取物对DPPH自由基清除能力呈先增加后降低的趋势,而添加米曲霉后,其乙醇提取物对DPPH自由基清除能力在发酵3 d时略有下降,在发酵5 d时增加,随

后显著降低。与发酵前对比,黑曲霉发酵麦麸,在发酵3 d时,其DPPH自由基的清除能力显著增强且达到最大;里氏木霉在发酵5 d时具有显著清除DPPH自由基的能力,麦麸中接种米曲霉后,发酵5 d时DPPH自由基清除能力达最大值,且显著高于其他两种真菌,其DPPH自由基清除率为67%,比发酵前增加了2.2倍。

2.2.2 真菌发酵对麦麸总还原力的影响 抗氧化剂的抗氧化能力受多种因素的影响,目前所采用的抗氧化能力的评价方法均有一定的优缺点,因此,在研究抗氧化剂的抗氧化能力时,往往需要将多种抗氧化方法的结果进行结合评价。总还原能力测定的是抗氧化剂将三价铁还原为二价铁的能力,通过测定反应体系中二价铁的含量来评价抗氧化剂抗氧化能力的大小。麦麸在不同菌种和不同的发酵时间作用下,其总还原力的变化见图3。吸光度值越大,表明其总还原力越强。

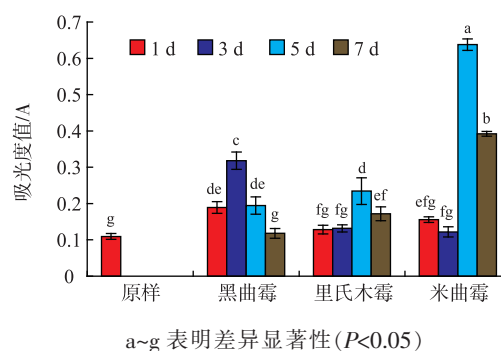


图3 3种真菌发酵麦麸总还原力的变化

Fig. 3 Changes of total reducing power of wheat bran with three fungi fermentation

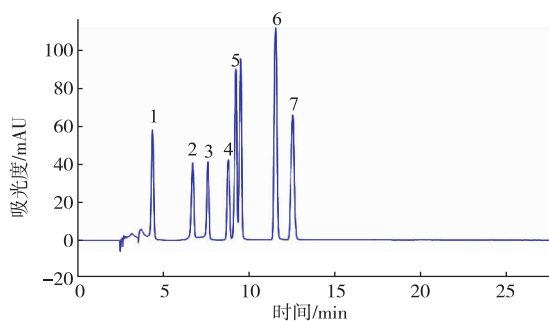
图3显示,在不同的菌种和不同的发酵时间内,麦麸的总还原力的变化趋势与总酚含量的变化、DPPH自由基的清除能力的变化基本一致。即发酵过程,麦麸总还原力呈先上升后下降的变化趋势,其中,米曲霉发酵的麦麸的总还原力变化最为显著,米曲霉发酵5 d时,麦麸的总还原力最强,为原料的6.2倍。

2.3 真菌发酵对麦麸游离酚酸含量的影响

麦麸中含多种酚酸化合物,如阿魏酸、原儿茶酸、没食子酸、对香豆酸、咖啡酸等,但在麦麸中,各种酚酸主要以结合形式存在,生物活性比较低^[22]。为此,研究者采用了多种方法降解麦麸来提高麦麸中游离态多酚的含量和生物活性^[23-24]。本试验采用

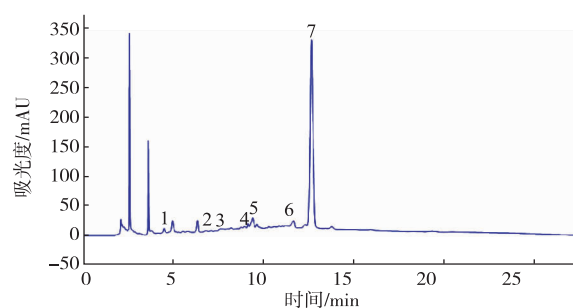
HPLC 研究了 3 种真菌发酵对麦麸中各游离酚酸含量的影响。

各种酚酸标准品在 HPLC 中的色谱见图 4(a),



(a) 麦麸中可能出现的酚酸的标品混合液

麦麸多酚的典型液相色谱图见图 4(b)。麦麸发酵过程中各种酚酸质量分数的变化如表 1 所示。



(b) 米曲霉发酵麦麸 3 d 的乙醇提取液

1 为没食子酸, 2 为原儿茶酸, 3 为绿原酸, 4 为对羟基苯甲酸, 5 为咖啡酸, 6 为对香豆酸, 7 为阿魏酸

图 4 标品和样品的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC chromatogram of Standers and Samples

表 1 3 种真菌发酵麦麸各酚酸质量分数的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of phenolic acids contents of wheat bran with three fungi fermentation($\bar{x} \pm s$)

$\mu\text{g/g}$

样品	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	对-羟基苯甲酸	咖啡酸	对-香豆酸	阿魏酸
发酵前	5.75±0.88 ^a	6.55±0.03 ^c	2.63±0.001 ^c	4.66±0.10 ^f	2.87±0.21 ^g	5.89±0.88 ^d	10.88±0.87 ^d
黑曲霉 3 d	38.88±0.22 ^b	139.97±8.00 ^a	42.03±4.25 ^{ab}	80.33±8.08 ^a	36.40±2.12 ^a	5.29±0.42 ^d	19.03±0.79 ^d
5 d	10.25±0.39 ^{cd}	114.63±3.33 ^b	9.23±0.09 ^d	12.73±1.17 ^{cd}	13.71±0.58 ^c	2.94±0.25 ^{de}	5.10±1.05 ^d
7 d	6.69±0.23 ^{de}	102.75±0.69 ^b	1.77±0.28 ^d	6.61±0.68 ^{de}	8.76±0.39 ^f	1.75±0.12 ^e	3.63±0.15 ^d
米曲霉 3 d	4.64±0.40 ^e	16.70±0.79 ^c	12.70±1.09 ^c	9.99±0.74 ^{de}	4.26±0.04 ^g	4.44±0.86 ^{de}	168.91±22.03 ^c
5 d	57.77±2.59 ^a	55.58±1.38 ^c	36.38±1.57 ^b	59.23±5.40 ^b	28.62±0.85 ^b	31.37±1.78 ^a	524.29±13.76 ^a
7 d	21.27±0.34 ^c	13.98±0.57 ^c	50.32±4.84 ^a	48.16±2.16 ^{bc}	17.28±0.01 ^{cd}	18.79±0.07 ^b	424.15±40.56 ^b
里氏木霉 3 d	7.28±0.26 ^{de}	14.65±0.71 ^c	39.59±1.68 ^b	18.37±0.65 ^{de}	13.79±0.89 ^{de}	5.62±0.25 ^d	46.60±2.26 ^d
5 d	10.90±0.16 ^{de}	44.48±2.97 ^{cd}	36.13±2.24 ^b	24.37±2.03 ^d	27.66±0.01 ^b	11.94±0.66 ^c	173.15±11.83 ^c
7 d	14.36±1.23 ^{de}	33.33±2.15 ^d	40.29±0.87 ^b	42.28±2.80 ^c	18.04±1.23 ^c	16.93±1.26 ^b	65.18±1.60 ^d

注: a~g 表明差异显著性 ($P < 0.05$)

表 1 结果表明, 麦麸在发酵前, HPLC 检测到其含有游离的没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、对-羟基苯甲酸、咖啡酸、对-香豆酸和阿魏酸等酚酸, 其中, 阿魏酸质量分数最高, 这与杜小燕^[21]的研究报道、丁岩等^[23]的研究报道相一致。

麦麸经黑曲霉、米曲霉和里氏木霉发酵后, 原儿茶酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、对香豆酸及阿魏酸等游离酚酸质量分数都有一定程度的变化。麦麸中添加黑曲霉发酵过程中, 变化最为显著的酚酸是原儿茶酸, 发酵 3 d 时质量分数最高, 达 139.97 $\mu\text{g/g}$, 为发酵前麦麸的 21.4 倍; 其他酚酸如没食子酸、原儿茶酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸及阿魏酸也在发酵第 3 天时达到最高值; 黑曲霉发酵过程, 阿魏酸亦呈现先增加后下降的变化趋势, 但变化不显著。欧

仕益等^[9]认为, 黑曲霉发酵麦麸可产生阿魏酸酯酶, 阿魏酸酯酶降解麦麸, 释放阿魏酸, 使麦麸中阿魏酸的含量增加, 但随后, 黑曲霉又以阿魏酸为其呼吸的碳源, 从而导致阿魏酸含量下降, 这与本实验结果一致。可见, 在黑曲霉发酵的麦麸中, 主要酚酸化合物是原儿茶酸而非阿魏酸。其质量分数增加的原因尚需进一步研究。里氏木霉和米曲霉发酵麦麸, 质量分数变化最为显著的是阿魏酸, 并在发酵的第 5 天达到最大值。米曲霉发酵, 阿魏酸含量增加幅度最大, 发酵 5 d 时, 阿魏酸的质量分数由发酵前的 10.88 $\mu\text{g/g}$ 增加到 524.29 $\mu\text{g/g}$, 为发酵前麦麸的 48.2 倍。可见, 阿魏酸是米曲霉发酵麦麸中质量分数最高的酚酸, 且米曲霉发酵麦麸, 可显著提高麦麸中阿魏酸的质量分数, 且效果显著高于其他 2 种

真菌。里氏木霉和米曲霉发酵麦麸中,其他酚酸如没食子酸、原儿茶酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、对-香豆酸的质量分数也发生了显著变化,分别在发酵的第5天或第7天达到最大值。

2.4 发酵麦麸抗氧化活性与酚酸的相关性

表2指出了3种真菌发酵麦麸的抗氧化活性和总游离酚质量分数及各酚酸之间的相关性,结果表明DPPH自由基清除率与发酵麦麸的总酚、对-香豆酸、阿魏酸的质量分数在0.01水平上呈显著正

相关,总还原力在0.01水平上与发酵麦麸中总酚、没食子酸、对-香豆酸、阿魏酸的质量分数呈显著正相关。DPPH自由基清除率与总还原力均与原儿茶酸的质量分数没有相关性。这些结果表明,发酵麦麸的抗氧化活性不仅仅取决于阿魏酸,麦麸中的其他酚酸化合物如没食子酸、绿原酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸等都对其抗氧化活性有一定的贡献。发酵过程中,这些酚酸的释放是麦麸抗氧化活性增加的原因之一。

表2 抗氧化活性与发酵麦麸总酚及各酚酸的相关性

Table 2 Correlation between antioxidant activity, total free phenolic contents and phenolic acid composition of wheat bran with three fungi fermentation

抗氧化活性	总酚	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	对-羟基苯甲酸	咖啡酸	对-香豆酸	阿魏酸
DPPH	0.733**	0.732*	0.026	0.647*	0.698*	0.710*	0.852**	0.784**
总还原力	0.725**	0.929**	0.123	0.508	0.727*	0.662*	0.848**	0.848**

注:*表示显著($P<0.05$);**表示显著($P<0.01$)

2.5 真菌发酵对麦麸中阿魏酸酯酶活性的影响

3种丝状真菌发酵麦麸过程中,阿魏酸酯酶活性的变化见图5。3种真菌(黑曲霉、米曲霉、里氏木霉)均可以分泌阿魏酸酯酶。黑曲霉和米曲霉发酵过程中,阿魏酸酯酶的活性均随时间的延长而增加,并分别在第7天时达到最高。里氏木霉发酵过程中,阿魏酸酯酶活性先升高后下降。3种菌种中,黑曲霉在发酵麦麸7d时阿魏酸酯酶活性最大,达到3.581 mU/mL。米曲霉在麦麸发酵7d时阿魏酸酯酶活性次于黑曲霉,为2.124 mU/mL。

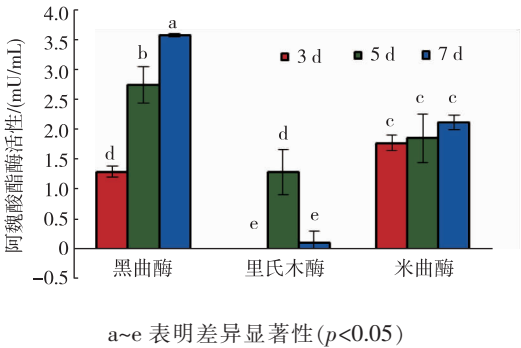


图5 3种真菌发酵麦麸中阿魏酸酯酶活性的变化

Fig. 5 Changes of activity of ferulic acid esterase of wheat bran with three fungi fermentation

阿魏酸酯酶可水解阿魏酸酯键从而使结合态的阿魏酸转化为游离态阿魏酸。本研究发现,黑曲霉发酵麦麸时,可产生活性较高的阿魏酸酯酶,但其发酵产物中的总酚和阿魏酸含量并没有相应提高。欧仕益等^[9]研究指出,黑曲霉可产阿魏酸酯酶释放阿魏酸,但产生的阿魏酸又会被黑曲霉作为碳源利用,这与本试验的结果一致。米曲霉发酵麦麸,虽然其阿魏酸酯酶活性适中,但发酵产物中却还能积累更多的酚酸和阿魏酸。由此,可以推测,黑曲霉可用于阿魏酸酯酶的生产,却不适合于生产阿魏酸,而米曲霉可作为生产酚酸和阿魏酸的优良菌种。

3 结语

本实验研究了麦麸在接种3种真菌(黑曲霉、米曲霉、里氏木霉)后,其总游离酚含量、游离酚酸种类及含量,抗氧化活性(DPPH自由基清除能力和总还原力)及阿魏酸酯酶活性的变化。结果显示,黑曲霉、米曲霉和里氏木霉3种菌均能显著增加麦麸中总游离酚含量、阿魏酸含量及抗氧化活性。其中,米曲霉发酵麦麸,麦麸总游离酚质量分数、阿魏酸质量分数及抗氧化活性增加最为显著,可见,米曲霉是降解麦麸生产阿魏酸、提高麦麸抗氧化活性的优良菌种。

参考文献:

- [1] SHI Jiangfang, HU Mingli. Wheat bran nutritional components and situation of utilization[J]. **Modern Flour Milling Industry**, 2012, 26(2): 25-28. (in Chinese)
- [2] LI Dachuan, YUAN Jian, SHI Jiayi, et al. Study on extracting process of functional compounds in wheat bran[J]. **Modern Flour Milling Industry**, 2010, 24(6): 37-40. (in Chinese)
- [3] WANG Lili, TAO Haiteng, XU Tongcheng, et al. Progress of phenolic compounds on wheat bran[J]. **Food and Nutrition in China**, 2012, 18(12): 36-38. (in Chinese)
- [4] CHENG Bingqing, XIAO Jun. On the exploration and utilization of wheat bran[J]. **Cereal & Feed Industry**, 1998(7): 34-36. (in Chinese)
- [5] CHENG Bingqing, XIAO Jun. Advances in research of the preventive effect of wheat bran from cancer[J]. **Food Science and Technology**, 1999(2): 51-53. (in Chinese)
- [6] DU Zhenya, CHEN Fusheng, BU Guanhao. Research progress of health functions of wheat bran[J]. **Food and Machinery**, 2015(1): 253-256. (in Chinese)
- [7] 汤葆莎. 利用姬松茸固体发酵麦麸提高膳食纤维得率的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [8] 洪倩. 阿魏酸抗辐射活性及其作用机制研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2012.
- [9] OU Shiyi, BAO Huiyan, LAN Zhidong. Research progress on the pharmacological effects of ferulic acid and its derivatives[J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, 2001, 24(3): 220-222. (in Chinese)
- [10] XIE C Y, GU Z X, YOU X, et al. Screening of edible mushrooms for release of ferulic acid from wheat bran by fermentation[J]. **Enzyme & Microbial Technology**, 2010, 46(2): 125-128.
- [11] LIU Zili, OU Shiyi, JIANG Duxiao, et al. Preparation and purification ferulic acid from wheat bran by solid fermentation[J]. **Journal of Jinan University (Natural Science & Medicine Edition)**, 2006, 27(1): 117-122. (in Chinese)
- [12] KATINA K, JUVONEN R, LAITILA A, et al. Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking [J]. **Cereal Chemistry**, 2012, 89(2): 126-134.
- [13] WANG Chunli, HUANG Shiqi, SUN Dan, et al. In vitro inhibitory effects of phenolic compounds from fungi-fermented wheat bran on pancreatic lipase activity and triglyceride accumulation in HepG2 cells[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2016, 42(3): 61-66. (in Chinese)
- [14] 胡博涵. 利用发酵法释放麦麸中束缚型酚酸及其抗氧化活性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [15] ZENG Lan, CHEN Ronghua, JIANG Yun, et al. Study on antioxidant activity of phenolic acids fermented in the wheat bran[J]. **Food Science and Technology**, 2015(12): 128-131. (in Chinese)
- [16] CAI S, WANG O, WU W, et al. Comparative study of the effects of solid-state fermentation with three filamentous fungi on the total phenolics content (TPC), flavonoids, and antioxidant activities of subfractions from oats (*Avena sativa* L.) [J]. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, 2012, 60(1): 507-513.
- [17] TAGA M S, MILLER E E, PRATT D E. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants[J]. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1984, 61(5): 928-931.
- [18] XING Xiaoping, YANG Xiaoxiao, LU Jie, et al. Studies on the anti-aging effect of ellagic acid from pomegranate and its mechanism of action[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015, 34(4): 436-442. (in Chinese)
- [19] TSUDA T, OSAWA T, NAKAYAMA T, et al. Antioxidant activity of pea bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) extract[J]. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1993, 70(9): 909-913.
- [20] 解春艳. 茶薪菇发酵制备麦麸膳食纤维与阿魏酰低聚糖及其生物活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010
- [21] 杜小燕. 泡盛曲霉发酵麦麸过程中酚类物质含量的变化与生物活性的相关性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [22] HAO Jie, CAO Xueli. Optimization of chemical release of bound phenolic acids from wheat bran[J]. **Food Science**, 2010, 31(18): 129-133. (in Chinese)
- [23] DING Yan, TANG Shiyun, HOU Hanxue, et al. Study on the extraction methods of phenolic acids in wheat bran[J]. **Food and Nutrition in China**, 2012, 18(6): 52-58. (in Chinese)
- [24] LUO Shengbao, ZUO Wenjie, WEI Jianlin, et al. Analysis of ferulic acid in wheat bran[J]. **Grain Technology and and Economy**, 2013, 38(4): 41-42. (in Chinese)