

槟榔蒂水提物对 3 种食用菌菌丝体品质及抗氧化活性的影响

Effect of aqueous extract with areca catechu pedicle on mycelial quality and antioxidant activity of three edible fungi

包怡红^{1,2} 赖章飞¹ 马银鹏¹

BAO Yi-hong^{1,2} LAI Zhang-fei¹ MA Yin-peng¹

贾雨彤¹ 潘飞兵³ 匡凤娇⁴

JIA Yu-tong¹ PAN Fei-bing³ KUANG Feng-jiao⁴

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室,

黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 海南华创槟榔研究院, 海南 海口 570100;

4. 海南口味王科技发展有限公司, 海南 万宁 571501)

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040, China;

2. Heilongjiang Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization, Harbin, Heilongjiang 150040,

China; 3. Hainan Huachuang Betel Nut Research Institute, Haikou, Hainan 570100, China;

4. Hainan Weiwang Technology Development Co., Ltd., Wanning, Hainan 571501, China)

摘要:目的:再利用槟榔副产物——槟榔蒂,并提高食用菌菌丝体品质。方法:以平菇、榆黄蘑、金针菇为供试菌种,以菌丝长速、生物量、菌丝体活性成分含量、抗氧化活性为指标,研究槟榔蒂水提物对 3 种菌丝体品质以及菌种生长代谢相关酶活性和变化趋势的影响。结果:槟榔蒂水提物添加量为 6.4 mg/mL 时,平菇生长效果最好,添加量为 4.8 mg/mL 时,榆黄蘑、金针菇生长效果最好;与对照组相比,添加 4.8~6.4 mg/mL 槟榔蒂水提物时,菌丝体活性成分含量显著提高,其中平菇、榆黄蘑、金针菇菌丝体三萜含量分别提高 95.24%, 70.91%, 75.00%;槟榔蒂水提物提高了菌丝体抗氧化活性,菌丝体抗氧化活性由大到小依次为榆黄蘑>金针菇>平菇;槟榔蒂水提物在一定程度上提高了 3 种菌的淀粉酶、纤维素酶、木聚糖酶、漆酶活性,但对酶活性变化趋势的影响不显著。结论:添加适量槟榔蒂水提物可有效提高 3 种食用菌的菌丝体品质和抗氧化活性。

关键词:槟榔蒂;平菇;榆黄蘑;金针菇;液体发酵;代谢产

物;抗氧化

Abstract: Objective: In order to reuse the *Areca catechu* by-product—*A. catechu* pedicle, and improve the quality of mycelium of edible fungi, the effect of the pedicle aqueous extract on the liquid fermentation of edible fungi was investigated. **Methods:** *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus citrinopileatus* Singer, and *Flammulina velutiper* were selected as the test strains, and the effects of the addition of *A. catechu* pedicle aqueous extract on the quality of mycelium and the activity of enzymes related to the growth and metabolism of the three strains were investigated, by using mycelial growth rate, biomass, mycelial active ingredients and antioxidant activity as indicators. **Results:** The best growth effect was observed on the *P. ostreatus*, *P. citrinopileatus* and *F. velutiper* when 6.4, 4.8 and 4.8 mg/mL *A. catechu* pedicle aqueous extract was added, respectively. Compared with the control group, when adding 4.8~6.4 mg/mL *A. catechu* pedicle aqueous extract, the mycelium active ingredient content was significantly increased, and the mycelium triterpene content of *P. ostreatus*, *P. citrinopileatus*, and *F. velutiper* were increased by 95.24%, 70.91% and 75.00%, respectively. Moreover, *A. catechu* pedicle aqueous extract increased the antioxidant activity of mycelium, and the antioxidant capacity of mycelium was in the following order: *P. citrinopileatus*>*F. velutiper*>*P. ostreatus*; *A. catechu* pedicle

基金项目:海南华创槟榔研究院院长基金(编号:HCBL2020YZ-006)

作者简介:包怡红(1970—),女,东北林业大学教授,博士。

E-mail: baoyihong@163.com

收稿日期:2022-07-27 **改回日期:**2022-09-16

aqueous extract increased the activities of amylase, cellulase, xylanase and laccase of the three strains to some extent, but the effect on the trend of enzyme activity was not significant.

Conclusion: Adding the proper amount of aqueous extract of *A. catechu* pedicle can effectively improve the mycelial quality and the antioxidant activity of the three strains.

Keywords: *Areca catechu* pedicle; oyster mushroom; citrine pleurotus; needle mushroom; liquid fermentation; metabolites; antioxidant

平菇、榆黄蘑、金针菇是消费者比较认可的食用菌,在中国栽培历史悠久^[1-2],是公认的健康食品^[3]。食用菌制种主要有固体培养和液体发酵两种,其中液体发酵具有生长周期短、菌丝活力旺盛等优点^[4-5],是获得大量菌丝体和活性物质的常用方法^[6]。

目前,利用中药残渣或林业废弃资源提取物进行液体发酵以改善食药真菌的品质,成为该领域研究热点^[7]。研究发现在发酵体系中添加外源物质如天麻提取物^[8]、玉米油^[9]等,能促进食药真菌的菌丝生长和多糖等代谢产物的产量。周丽思等^[10]在培养基中添加不同浓度的忍冬茎水提物,研究其对茶藨子叶状层菌发酵菌丝体生长和代谢产物的影响,结果表明忍冬茎水提物可显著提高菌丝体中麦角甾醇、总多糖等成分的含量。潘琴等^[11]研究了麻栎木醋液(主要成分为有机酸类、醛类、酮类、酚类等)对8种食用菌菌丝体生长的影响,发现适宜浓度的麻栎木醋液对食用菌菌丝体生长有明显的促进作用,而浓度过高时则抑制其生长。

槟榔(*Areca catechu* L.)是棕榈科植物槟榔的成熟果实,主产于中国海南、台湾、云南,在广西、广东、湖南及福建等省也有少量分布^[12]。槟榔含有多种氨基酸、矿物质、粗纤维、生物碱和酚类物质,具有很高药用和经济价值^[13-14]。作为中国著名四大南药(槟榔、益智、砂仁、巴戟)之首,槟榔具有抗炎、抗抑郁、抑菌等作用,同时由于酚类化合物的存在而具有较高的抗氧化性能^[15-16]。槟榔蒂是槟榔果实加工后的副产物,现多数企业直接废弃,不但造成资源浪费,更因腐烂霉变造成环境污染。研究通过在平菇、榆黄蘑、金针菇液体发酵培养基中添加不同浓度槟榔蒂水提物,探讨发酵过程中这3种食用菌菌丝体品质、抗氧化活性以及关键酶活性等指标的变化,旨在研究槟榔蒂水提物对3种食用菌菌丝体生长的影响,为进一步开发新的食用菌栽培基质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

平菇、榆黄蘑、金针菇菌种:黑龙江省科学院微生物研究所;

包怡红等:槟榔蒂水提物对3种食用菌菌丝体品质及抗氧化活性的影响

槟榔蒂:海南华创槟榔研究中心;

芦丁、没食子酸、齐墩果酸、3,5-二硝基水杨酸、硝酸铝、硝酸钠、氢氧化钠、福林酚、碳酸钠、苯酚、 H_2SO_4 、无水乙醇、葡萄糖、琼脂粉、磷酸二氢钾、硫酸镁:分析纯,上海源叶生物科技有限公司;

试验用水:蒸馏水,市售;

马铃薯:市售。

1.1.2 主要仪器设备

电子分析天平:YP2002型,上海佑科仪器仪表有限公司;

酶标仪:RT-6000型,上海一恒科学仪器有限公司;

电热恒温水浴锅:DK-98-II A型,天津市泰斯特仪器有限公司;

振荡培养箱:HZQ-X100型,哈尔滨市东明医疗仪器厂;

立式压力蒸汽灭菌器锅:DY04-13-44-00型,上海东亚压力容器制造有限公司;

离心机:TD5A型,湖南凯达科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 槟榔蒂水提物制备

(1) 槟榔蒂原料预处理:将槟榔蒂中杂质挑除,晒干后粉碎过60目筛,干燥器中存放备用。

(2) 水提物制备:准确称取槟榔蒂粉末20 g,按料液比1:20(g/mL)加水浸泡1 h后,在超声功率300 W、温度100℃条件下提取30 min,10 000 r/min离心10 min取上清液,提取2次合并上清液,将上清液浓缩至100 mL以下,真空冷冻干燥(压力20 Pa,冷阱温度-40℃,时间24 h)得到槟榔蒂水提物干粉,备用。

1.2.2 槟榔蒂水提物主要成分测定

(1) 溶液配制:取2.5 g 槟榔蒂水提物干粉,用蒸馏水溶解定容至25 mL,得质量浓度为0.1 g/mL的水提物待测样液。

(2) 多糖含量测定:采用苯酚—硫酸法^[17]。

(3) 多酚含量测定:采用Folin-酚法^[18]。

(4) 黄酮含量测定:采用 $NaNO_2-Al(NO_3)_3$ 比色法^[19]。

(5) 槟榔碱含量测定:参照刘文杰^[20]的方法。

1.2.3 培养基制作

(1) PDA培养基:去皮马铃薯200 g,切成小块放入烧杯中,加水1 000 mL煮沸30 min,用4层纱布过滤,滤液补充水分到1 000 mL,加入20 g葡萄糖、20 g琼脂、1 g KH_2PO_4 、0.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$,加热溶解,分装于试管,121℃灭菌30 min。

(2) 液体培养基:去皮马铃薯200 g,切成小块放入烧杯中,加水1 000 mL煮沸30 min,用4层纱布过滤,滤液补充水分到1 000 mL,加入20 g葡萄糖、1 g KH_2PO_4 、0.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$,加热溶解,分装于250 mL三角瓶

中,装液量 100 mL,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.2.4 菌种制备

(1) 斜面菌种活化:用接种铲取菌块($d=4$ mm)接入 PDA 培养基中 27 ℃ 恒温培养 7 d,备用。

(2) 液体菌种制备:已活化的斜面菌丝体,接种到装有 100 mL 液体培养基的 250 mL 三角瓶中,27 ℃ 恒温振荡培养 7 d 得液体菌种。

1.2.5 菌丝体长速测定 参照卢朝亮等^[21]的方法,槟榔蒂水提物添加量分别为 1.6,3.2,4.8,6.4,8.0 mg/mL,制作 PDA 试管斜面培养基,以未添加槟榔蒂水提物的培养基为对照,取菌块($d=4$ mm)接入培养基中,于培养箱中 27 ℃ 恒温培养。待菌种萌发,每日在菌丝前端对应位置的试管壁上划线,测其长速,求 10 d 长速平均值。

1.2.6 发酵培养 取 250 mL 三角瓶,配制液体培养基,槟榔蒂水提添加量分别为 1.6,3.2,4.8,6.4,8.0 mg/mL,以不加槟榔蒂水提物为空白对照,按接种量 5% 将液体菌种接种到发酵培养基中,在温度 27 ℃,转速 150 r/min 的恒温振荡培养箱中培养 7 d。

1.2.7 菌丝体生物量测定 采用干重法测定。发酵液以 4 000 r/min 离心 5 min 得菌丝球,用无菌水反复漂洗,于 60 ℃ 烘干至恒重后用分析天平称菌丝体干质量,菌丝体粉碎过 60 目筛,备用。

1.2.8 菌丝体提取物制备及相关指标测定

(1) 水提液:称取菌丝体粉末 0.4 g,按料液比 1:35 (g/mL) 加入蒸馏水,超声功率 300 W、70 ℃ 下提取 2 h,5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液定容至 20 mL 得菌丝体水提液,4 ℃ 下保存备用。

(2) 醇提液:称取菌丝体粉末 0.4 g,按料液比 1:35 (g/mL) 加入 70% 的乙醇溶液,超声功率 300 W、70 ℃ 下提取 2 h,5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液定容至 20 mL 得菌丝体醇提液,4 ℃ 下保存备用。

(3) 胞内多糖测定:精确称取菌丝体粉末 1 g,与蒸馏水以料液比 1:10 (g/mL) 混合,90 ℃ 下热水浸提 2 h,4 000 r/min 离心 15 min 取上清液,加入 3 倍体积 99.7% 的乙醇,4 ℃ 沉淀 24 h,4 000 r/min 离心 15 min,沉淀用 95% 乙醇洗涤,然后用蒸馏水复溶,定容至 50 mL 备用。胞内多糖测定方法同 1.2.2(2)。

(4) 菌丝体多酚和黄酮含量测定:分别取 1 mL 菌丝体乙醇提取液,测定多酚和黄酮含量,测定方法同 1.2.2(3) 和 1.2.2(4)。

(5) 三萜含量测定:采用香草醛—冰醋酸法^[22]。

1.2.9 抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除率:参照范例等^[23]的方法略做修改,用无水乙醇配制 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液,于试管中依次加入 1 mL DPPH 溶液、2 mL 蒸馏水以及 1 mL 菌丝体水提液和醇提液,混匀,于 25 ℃ 水浴锅中避光反应 20 min,517 nm 下测定吸光值。按式(1)计算

DPPH 自由基清除率。

$$Q_1 = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Q_1 ——DPPH 自由基清除率,%;

A_1 ——样品吸光值;

A_2 ——未添加 DPPH 溶液的样品吸光值;

A_0 ——空白吸光值。

(2) 还原力:采用铁氰化钾显色法^[24]。10 mL 离心管中分别加入菌丝体水提物和醇提物 0.5 mL,加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L,pH 6.6)和 1% 的铁氰化钾溶液 1 mL,混匀,于 50 ℃ 水浴锅反应 30 min,反应完快速冷却,加入 10% 的三氯乙酸 2.5 mL,混匀,3 000 r/min 离心 10 min,取 2.5 mL 上清液,加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.1% 的三氯化铁溶液 0.5 mL,混匀静置 10 min,于 700 nm 下测定吸光值。按式(2)计算菌丝体的还原力。

$$H = A_1 - A_2, \quad (2)$$

式中:

H ——还原力;

A_1 ——样品吸光值;

A_2 ——空白吸光值。

(3) ABTS 自由基清除率:取 5 mL 7 mmol/L 的 ABTS 溶液,加入到 100 μ L 过硫酸钾溶液中,混匀,于 25 ℃ 下避光反应 12 h,用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液稀释 ABTS 自由基溶液使其在 734 nm 下的吸光值为 0.7,取 1 mL 菌丝体水提液和醇提液,加入 2 mL ABTS 溶液混匀,于 25 ℃ 水浴锅中避光反应 20 min,734 nm 下测定吸光值。按式(3)计算 ABTS 自由基清除率。

$$Q_2 = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

Q_2 ——ABTS 自由基清除率,%;

A_1 ——样品吸光值;

A_2 ——未添加 ABTS 溶液的样品吸光值;

A_0 ——空白吸光值。

1.2.10 胞外酶活性测定

(1) 粗酶液制备:液体发酵培养接种后每隔 24 h 吸取发酵液 5 mL,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液即为粗酶液,连续测定 7 d。

(2) 淀粉酶活性测定:参照徐秀红等^[25]的方法,根据葡萄糖标准曲线计算还原糖含量,以在沸水浴中灭活的酶液为对照。酶活力定义:1 mL 发酵液中酶量与底物作用 30 min 释放出 1 mg 葡萄糖为一个活力单位。

(3) 纤维素酶活性测定:用 pH 4.6、0.1 mol/L 的醋酸盐缓冲液配制 0.5% 的 CMC-Na 溶液,取 25 mL 试管,加入 1.5 mL CMC-Na 溶液和 0.5 mL 粗酶液,混匀后,于 45 ℃ 恒温水浴中反应 30 min,其后操作同淀粉酶活性测定,于 520 nm 处测定吸光值,根据葡萄糖标准曲线计算

还原糖含量,以在沸水浴中灭活的酶液为对照。酶活力定义:1 mL 发酵液中酶量与底物作用 30 min 释放出 1 mg 葡萄糖为一个活力单位。

(4) 木聚糖酶活性测定:用 pH 4.6、0.1 mol/L 的醋酸盐缓冲液配制 0.5% 的木聚糖溶液,取 25 mL 试管,加入 1.5 mL 木聚糖溶液和 0.5 mL 粗酶液,混匀后,于 50 °C 恒温水浴中反应 30 min,其后操作同淀粉酶活性测定,于 520 nm 处测定吸光值,根据木糖标准曲线计算还原糖含量,以在沸水浴中灭活的酶液为对照。酶活力定义:1 mL 发酵液中酶量与底物作用 30 min 释放出 1 mg 木糖为一个活力单位。

(5) 漆酶活性测定:参照 Li 等^[26]的方法略做修改,配制 0.5 mmol/L 的 ABTS 溶液,酶活反应体系包含 ABTS 溶液 0.5 mL、0.1 mol/L 的醋酸盐缓冲液(pH 4.6) 1 mL,加入酶液 0.5 mL 启动反应,在反应的前 5 min 内每隔 30 s 记录一次 OD_{420 nm} 值变化,以在沸水浴中灭活的酶液为对照。酶活力定义:1 mL 发酵液中酶量与底物(ABTS)作用每分钟使 OD_{420 nm} 值改变 0.01 为一个活力单位。

1.2.11 数据处理 每组试验重复 3 次,采用 Excel 对原始数据进行统计,数据分析和作图分别采用 IBM SPSS Statistics 22.0 和 Origin 2021。

2 结果与分析

2.1 槟榔蒂水提取物主要成分

槟榔蒂经粉碎提取后得到水提取物,主要成分含量测定结果见表 1。水提取物中丰富的活性成分可促进真菌菌丝体分泌胞外酶,还可能通过增加真菌细胞壁的通透性,从而有利于营养物质的摄取和活性物质的生物合成积累^[27]。

表 1 槟榔蒂水提取物主要成分

Table 1 Main components of *A. catechu* pedicle aqueous extract g/100 g

多糖	多酚	黄酮	槟榔碱
8.83±0.09	3.06±0.05	0.44±0.01	0.072±0.02

2.2 槟榔蒂水提取物对菌丝长速的影响

由表 2 可知,随着槟榔蒂水提取物添加量的增加,3 种菌种的菌丝长速先呈上升趋势,与对照组相比较,平菇、榆黄蘑的菌丝长速有显著提高,金针菇菌丝长速差异不显著,槟榔蒂水提取物添加量为 6.4、4.8、3.2 mg/mL 时,平菇、榆黄蘑、金针菇的菌丝长速分别达到最高,之后呈下降趋势,但均高于对照组。这表明 3 种菌种均可在添加槟榔蒂水提取物的培养基中生长,且根据试验观察,槟榔蒂水提取物可有效缩短 3 种菌种的菌丝萌发时间。

2.3 槟榔蒂水提取物对菌丝体生物量的影响

由表 3 可知,与对照组相比,槟榔蒂水提取物对 3 种菌种生物量的影响均表现为先上升趋势,槟榔蒂水提取物添

表 2 槟榔蒂水提取物添加量对菌丝长速的影响[†]

Table 2 Effects of *A. catechu* pedicle aqueous extract addition on mycelial growth rate

添加量/ (mg · mL ⁻¹)	菌丝长速/(cm · d ⁻¹)		
	平菇	榆黄蘑	金针菇
0.0	0.15±0.04 ^b	0.14±0.09 ^c	0.34±0.06
1.6	0.32±0.07 ^a	0.28±0.09 ^b	0.38±0.13
3.2	0.33±0.09 ^a	0.28±0.06 ^b	0.42±0.09
4.8	0.33±0.06 ^a	0.46±0.09 ^a	0.40±0.07
6.4	0.38±0.09 ^a	0.41±0.10 ^a	0.37±0.10
8.0	0.23±0.06 ^b	0.20±0.04 ^{bc}	0.32±0.07

[†] 同列小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。

表 3 槟榔蒂水提取物添加量对菌丝体生物量的影响[†]

Table 3 Effects of *A. catechu* pedicle aqueous extract addition on mycelial biomass

添加量/ (mg · mL ⁻¹)	生物量/(10 ⁻² g · mL ⁻¹)		
	平菇	榆黄蘑	金针菇
0.0	0.80±0.04 ^d	0.88±0.03 ^d	0.82±0.02 ^d
1.6	0.94±0.05 ^c	0.91±0.03 ^{cd}	0.88±0.02 ^{cd}
3.2	0.97±0.07 ^c	0.94±0.02 ^{bc}	0.95±0.04 ^b
4.8	1.07±0.03 ^b	1.01±0.03 ^a	1.04±0.05 ^a
6.4	1.17±0.07 ^a	0.96±0.03 ^{ab}	0.93±0.03 ^{bc}
8.0	1.14±0.04 ^{ab}	0.93±0.02 ^{bc}	0.87±0.02 ^d

[†] 同列小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。

加量为 6.4 mg/mL 时,平菇菌丝生物量达到最高值,与对照组相比提高了 46.25%,添加量为 4.8 mg/mL 时,榆黄蘑、金针菇生物量达到最高值,与对照组相比分别提高了 14.77%,26.83%,之后生物量开始下降,但仍高于对照组,原因可能是添加少量的槟榔蒂水提取物时,其中的糖类、酚类等活性物质对菌丝生长有一定促进作用,而过高的添加量会造成液体培养基黏度增加和溶氧量降低,不利于菌丝体生长^[28]。此外,还考虑到槟榔蒂水提取物中残留的微小颗粒会富集在菌丝表面,对菌丝生长也有一定抑制作用。

2.4 槟榔蒂水提取物对菌丝体多糖、三萜含量的影响

由图 1 可知,随着培养基中槟榔蒂水提取物添加量逐渐增高,菌丝体多糖和三萜含量呈先升后降趋势,槟榔蒂水提取物添加量为 6.4 mg/mL 时,平菇菌丝体多糖达到最高值,与对照组相比提高了 27.40%,添加量为 4.8 mg/mL 时,榆黄蘑、金针菇胞内多糖与对照组相比分别提高了 22.20%,8.71%;菌丝体三萜含量均在槟榔蒂水提取物添加量为 4.8 mg/mL 时最高,与对照组分别提高了 95.24%,70.91%,75.00%;说明槟榔蒂水提取物的添加对 3 种食用菌菌丝体多糖和三萜的合成有促进作用,并且与生物量

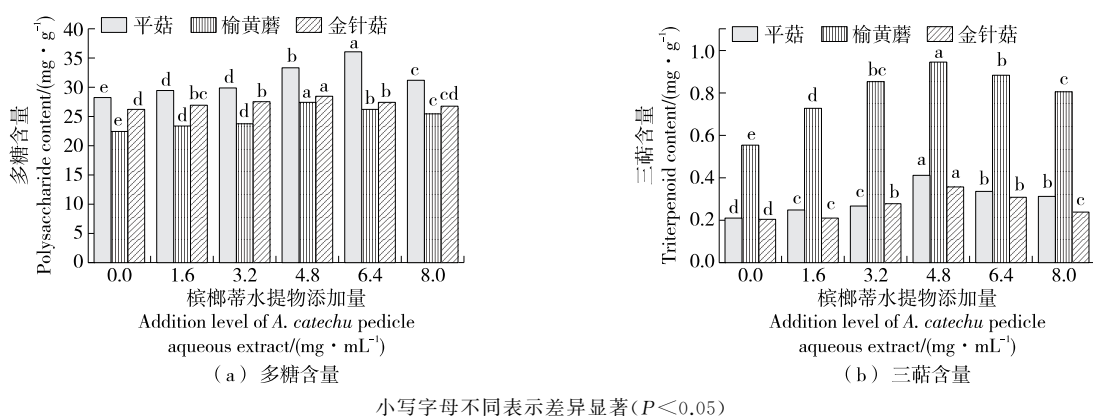


图 1 槟榔蒂水提取物添加量对菌丝体多糖、三萜含量的影响

Figure 1 Effects of *A. catechu* pedicle aqueous extract addition on mycelium polysaccharide and triterpenoid content

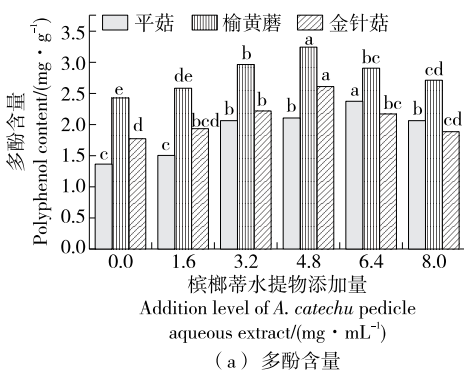
的变化趋势一致;这是由于菌丝体在快速生长期,细胞代谢旺盛,相关酶系活跃,生物量增加的同时,活性物质的合成速率加快,含量也随之增加,与赵小瑞等^[29]以当归、党参、甘草、黄芪提取物作为激发因子,研究灵芝液态发酵过程中菌丝生长和产三萜的研究结果相似。

2.5 槟榔蒂水提取物对菌丝体多酚、黄酮含量的影响

由图 2 可知,随着培养基中槟榔蒂水提取物添加量的逐渐增高,多酚和黄酮含量呈先升后降趋势,槟榔蒂水提取物添加量为 6.4 mg/mL 时,平菇菌丝体多酚和黄酮达到最高值,与对照组相比分别提高了 72.99%,34.48%,添加量为 4.8 mg/mL 时,榆黄蘑、金针菇菌丝体多酚与对照组相比提高了 33.74%,46.37%,黄酮与对照组相比分别提高了 53.30%,37.04%。槟榔蒂水提取物中含有丰富的水溶性酚类物质,添加不同量的槟榔蒂水提取物作为菌丝生长外源代谢前体,有利于菌丝体对酚类物质的代谢和转化,与吴俐等^[30]考察的油茶枝浸提液对茶薪菇菌丝酚类代谢影响的结果相似。

2.6 抗氧化活性评价

2.6.1 DPPH 自由基清除能力



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

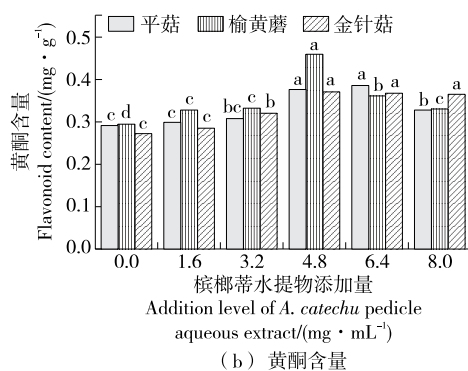
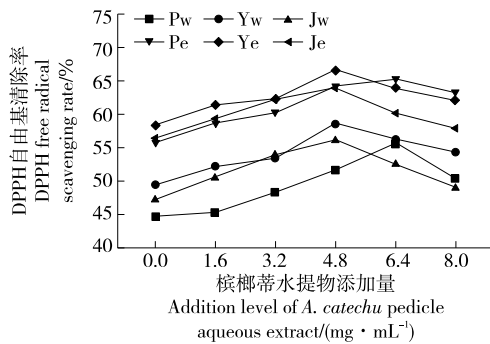


图 2 槟榔蒂水提取物添加量对菌丝体多酚、黄酮含量的影响

Figure 2 Effects of *A. catechu* pedicle aqueous extract addition on mycelium polyphenol and flavonoid content

蘑、金针菇菌丝体的水提取物和醇提取物对 DPPH 自由基均有一定的清除作用,随着培养基中槟榔蒂水提取物添加量的逐渐增高,菌丝体水提取物和醇提取物对 DPPH 自由基的清除能力呈先升后降趋势,槟榔蒂水提取物添加量为 6.4 mg/mL 时,平菇菌丝体水提取物和醇提取物 DPPH 自由基清除率分别为 55.76% 和 65.33%,与对照组相比提高了 24.77% 和 17.27%,槟榔蒂水提取物添加量为 4.8 mg/mL 时,榆黄蘑、金针菇菌丝体清除 DPPH 能力达到最大;不同提取物对 DPPH 自由基的清除率大小差异显著,依次为榆黄蘑醇提取物 > 金针菇醇提取物 > 平菇醇提取物 > 榆黄蘑水提取物 > 金针菇水提取物 > 平菇水提取物。

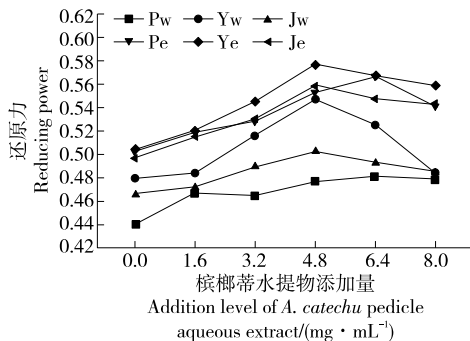
2.6.2 还原力 由图 4 可知,平菇、榆黄蘑、金针菇菌丝体的水提取物和醇提取物对 Fe³⁺ 具有不同程度的还原能力,随着培养基中槟榔蒂水提取物添加量的逐渐增高,菌丝体水提取物和醇提取物对 Fe³⁺ 的还原能力呈先升后降趋势,槟榔蒂水提取物添加量为 6.4 mg/mL 时,平菇菌丝体水提取物和醇提取物对 Fe³⁺ 的还原能力达到最大,添加量为 4.8 mg/mL 时,榆黄蘑、金针菇菌丝体对 Fe³⁺ 的还原能力达到最大;各提取物对 Fe³⁺ 的还原能力大小依次为榆黄蘑醇提取物 >



Pw. 平菇菌丝体水提取物 Yw. 榆黄蘑菌丝体水提取物 Jw. 金针菇菌丝体水提取物 Pe. 平菇菌丝体醇提取物 Ye. 榆黄蘑菌丝体醇提取物 Je. 金针菇菌丝体醇提取物

图3 3种食用菌菌丝体的DPPH自由基清除能力

Figure 3 DPPH free radical scavenging ability of three edible fungi mycelium



Pw. 平菇菌丝体水提取物 Yw. 榆黄蘑菌丝体水提取物 Jw. 金针菇菌丝体水提取物 Pe. 平菇菌丝体醇提取物 Ye. 榆黄蘑菌丝体醇提取物 Je. 金针菇菌丝体醇提取物

图4 3种食用菌菌丝体的还原力

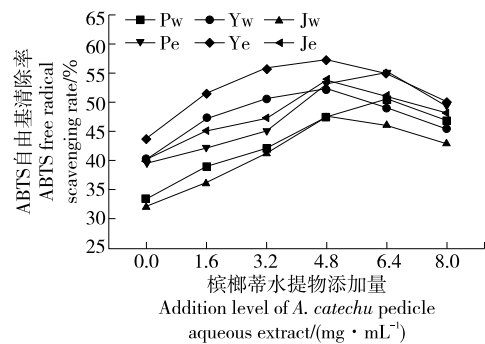
Figure 4 The reducing power of three edible fungi mycelium

金针菇醇提取物>平菇醇提取物>榆黄蘑水提取物>金针菇水提取物>平菇水提取物。

2.6.3 ABTS自由基清除能力 由图5可知,平菇、榆黄蘑、金针菇菌丝体的水提取物和醇提取物对ABTS自由基均有一定的清除作用,随着培养基中槟榔蒂水提取物添加量的逐渐增高,菌丝体水提取物和醇提取物对ABTS自由基的清除能力呈先升后降趋势,槟榔蒂水提取物添加量为6.4 mg/mL时,平菇菌丝体水提取物和醇提取物ABTS自由基清除率达到最大,与对照组相比提高了51.34%和39.74%,添加量为4.8 mg/mL时,榆黄蘑、金针菇菌丝体清除ABTS自由基能力达到最大;不同提取物对ABTS自由基的清除率大小差异显著,依次为榆黄蘑醇提取物>榆黄蘑水提取物>金针菇醇提取物>平菇醇提取物>平菇水提取物>金针菇水提取物。

2.7 槟榔蒂水提取物对酶活性的影响

随着液体发酵进程的推进,菌丝分泌胞外酶,培养基



Pw. 平菇菌丝体水提取物 Yw. 榆黄蘑菌丝体水提取物 Jw. 金针菇菌丝体水提取物 Pe. 平菇菌丝体醇提取物 Ye. 榆黄蘑菌丝体醇提取物 Je. 金针菇菌丝体醇提取物

图5 3种食用菌菌丝体的ABTS自由基清除能力

Figure 5 ABTS free radical scavenging ability of three edible fungi mycelium

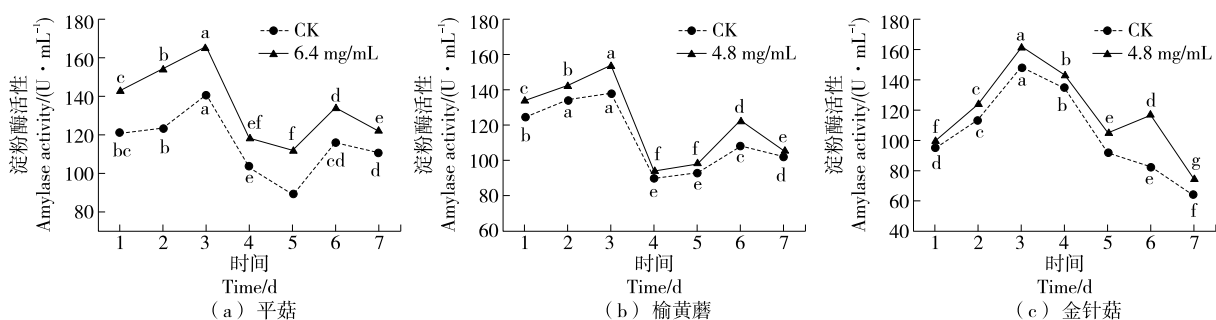
中的营养物质不断被菌丝营养代谢转化利用,促进菌丝生长。根据3种菌种菌丝生物量、活性成分含量以及抗氧化活性的结果,平菇选择添加6.4 mg/mL的槟榔蒂水提取物、榆黄蘑和金针菇选择添加4.8 mg/mL的槟榔蒂水提取物,分别测定3种菌种液态发酵过程中淀粉酶、纤维素酶、木聚糖酶和漆酶的活性变化。

2.7.1 淀粉酶活性变化 由图6可知,3种菌种的淀粉酶活性变化规律基本一致,初始1~3 d时,淀粉酶活性升高,菌种颗粒周围开始长出白色菌丝,在培养第3天酶活性达到最高,随着培养基中营养物质慢慢被利用,酶活性开始下降,培养4~5 d时,菌丝长至一定时期断落至菌液中形成新的萌发点,此时酶活又有所上升,达到另一个高点,随着营养物质彻底被吸收利用,酶活性开始下降。

2.7.2 纤维素酶活性变化 由图7可知,培养1~3 d时,3种菌种纤维素酶活性呈上升趋势,第3天达到最高,之后酶活性开始下降,培养至第6天达到另一个高点,变化规律与淀粉酶基本一致;3种菌种相比,酶活性差异不显著,金针菇的纤维素酶活性从第3天后一直呈下降趋势,未出现第二个高点,可能与不同菌种自身特性有关。

2.7.3 木聚糖酶活性变化 由图8可知,培养1~3 d时,3种菌种木聚糖酶活性呈上升趋势,第3天达到最高,之后酶活性开始下降,培养至第6天达到另一个高点,变化规律与淀粉酶基本一致。3种菌种相比,酶活性差异不显著,金针菇的纤维素酶活性从第3天后一直呈下降趋势,未出现第二个高点。

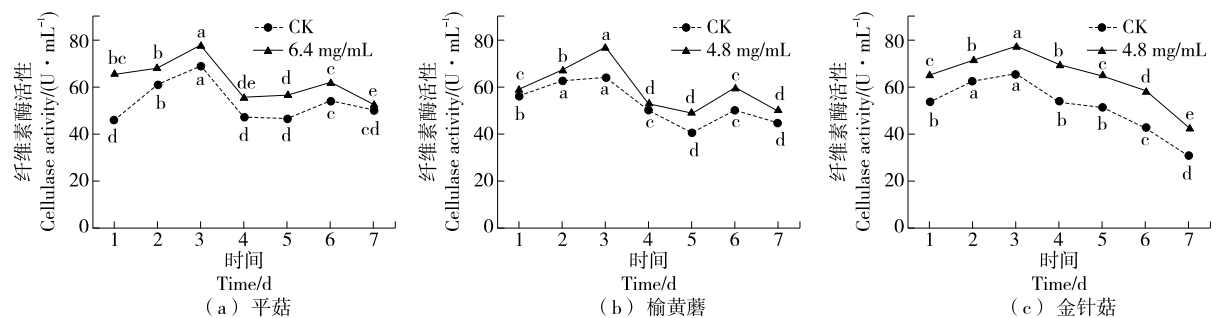
2.7.4 漆酶活性变化 由图9可知,3种菌种漆酶初始活性偏低,随着培养时间的增加,漆酶活性开始上升,第3天达到最大活性,之后漆酶活性开始下降,平菇和榆黄蘑在培养第6天漆酶活性再次上升,之后随着培养的进行,开始呈下降趋势,槟榔蒂水提取物的添加只改变了3种菌种的酶活性大小,对酶活性变化趋势影响不大。



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 6 3 种食用菌液体培养期间淀粉酶活性变化

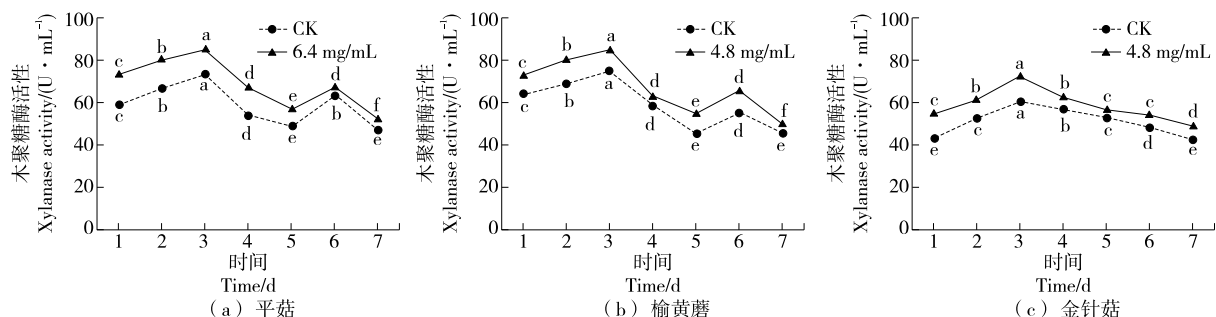
Figure 6 Changes of amylase activity during liquid culture of three edible fungi



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 7 3 种食用菌液体培养期间纤维素酶活性变化

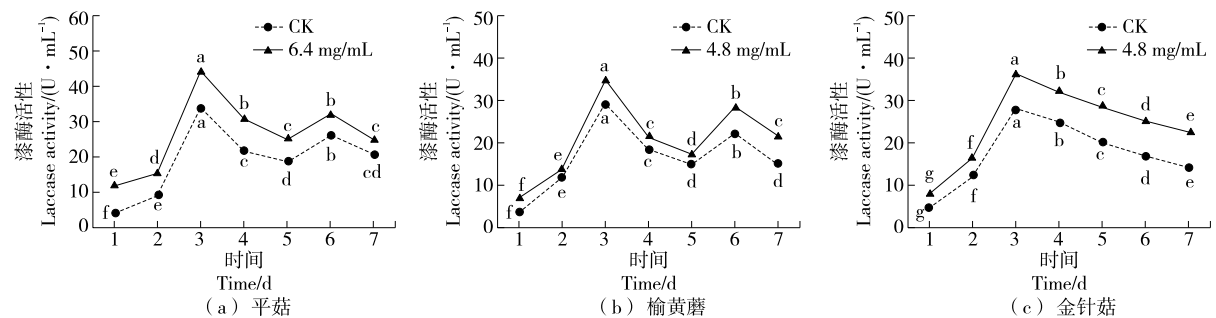
Figure 7 Changes of cellulase activity during liquid culture of three edible fungi



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 8 3 种食用菌液体培养期间木聚糖酶活性变化

Figure 8 Changes of xylanase activity during liquid culture of three edible fungi



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 9 3 种食用菌液体培养期间漆酶活性变化

Figure 9 Changes of laccase activity during liquid culture of three edible fungi

3 结论

在一定浓度范围内,槟榔蒂水提物能促进平菇、榆黄蘑、金针菇菌丝体生长,添加过量的槟榔蒂水提物对菌丝体生长有抑制作用。在最适添加浓度下,3种菌丝体的多糖、三萜、多酚、黄酮含量与对照组相比有显著提高($P < 0.05$)。随着槟榔蒂水提物添加量的增加,3种菌丝体的水提物和醇提物抗氧化活性均有显著提高($P < 0.05$),其活性大小依次为榆黄蘑>金针菇>平菇;槟榔蒂水提物能在一定程度上提高3种食用菌生长代谢相关酶的活性,但对酶活性变化趋势的影响不显著。

槟榔蒂水提物添加到食用菌液体培养体系中,可以提高菌丝体的生物量、活性成分含量以及抗氧化能力,但槟榔蒂水提物促进菌丝体生长的具体成分尚不明确,还需进一步研究。

参考文献

- [1] 李佳雪,陈晓梅,陈娟,等. 黄芪、党参茎叶栽培平菇、金针菇的安全性评价[J]. 中国食用菌, 2022, 41(1): 58-61.
- [2] 胡晓艳,贺国强,赵海康,等. 榆黄蘑栽培料处理方式及配方比较试验[J]. 食用菌, 2020, 42(5): 32-33.
- [3] 张相锋. 食用菌活性成分的抗病毒作用研究进展[J]. 食药菌, 2021, 29(3): 189-195.
- [4] 姜国胜,张娣,杜萍,等. 食用菌液体发酵罐制种技术[J]. 食用菌, 2016, 38(6): 49-51.
- [5] 李友志,徐小平,李盛,等. 湖北地区平菇液体菌种接种熟料大棚栽培技术[J]. 科学种养, 2021(6): 32-35.
- [6] LI L I, ZUO J H, FAN Y I, et al. Improved bioactivity and composition of *Cordyceps militaris* cultured with *Panax ginseng* [J]. Food Science and Technology, 2020, 41(1): 660-666.
- [7] 李羿,杨胜,万德光. 药用真菌液体发酵研究进展及存在问题探讨[J]. 中草药, 2012, 43(10): 2 066-2 070.
- [8] 张宗启,吴天祥,刘力萍. 天麻中香草醇对灰树花菌丝体生物量和胞外多糖合成的影响[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(6): 62-68.
- [9] HUANG H C, CHEN C I, LIU Y C, et al. Experimental analysis of the oil addition effect on mycelia and polysaccharide productions in *Ganoderma lucidum* submerged culture [J]. Bioprocess & Biosystems Engineering, 2009, 32(2): 217-224.
- [10] 周丽思,陈彤壶,曾旭,等. 不同生药量忍冬茎水提物对茶藨子叶状层菌发酵菌丝体生长和代谢产物的影响[J]. 食用菌学报, 2021, 28(3): 78-85.
- [11] 潘琴,江洁,许英梅,等. 麻栎木醋液对8种食用菌菌丝体生长的影响[J]. 中国食用菌, 2021, 40(3): 37-47.
- [12] 李良怡,潘飞兵,周文化,等. 食用槟榔货架期内品质控制研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(7): 188-193, 218.
- [13] 尹明松,潘飞兵,郭建行,等. 槟榔化学成分及生物活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(15): 219-224.
- [14] CHIANG M H, CHEN P H, CHEN Y K, et al. Characterization of a novel dermal fibrosis model induced by *Areca nut* extract that mimics oral submucous fibrosis [J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166454.
- [15] SALEHI B, KONOVALOV D A, FRU P, et al. *Areca catechu*-From farm to food and biomedical applications [J]. Phytotherapy Research, 2020, 34(9): 2 140-2 158.
- [16] 成焕,王远亮. 槟榔籽多酚对肠道微生物体外发酵的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(1): 41-46.
- [17] 巴媛媛,王莹,朴美子. 苯酚—硫酸法测定瓦尼木层孔菌菌丝体多糖含量的条件优化[J]. 食品工业科技, 2011, 32(5): 389-391.
- [18] ZHANG Z Q, WU T X, LIU L P. Effects of vanillyl alcohol of *Rhizoma gastrodiae* on mycelial biomass and synthesis of exopolysaccharide by *Grifola frondosa* [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 38(6): 62-68.
- [19] ZHOU L S, CHEN T Y, ZENG X, et al. Effects of *Lonicera japonica* stem aqueous extract on mycelial growth and metabolite production of *Phylloporia ribis* in liquid fermentation [J]. Journal of Edible Fungi, 2021, 28(3): 78-85.
- [20] PAN Q, JIANG J, XU Y M, et al. Effects of *quercus acutissima* wood vinegar on mycelial growth of eight kinds of edible fungi [J]. Edible Fungi of China, 2021, 40(3): 37-47.
- [21] LI L Y, PAN F B, ZHOU W H, et al. Study on quality control of edible areca during shelf life [J]. Food & Machinery, 2021, 37(7): 188-193, 218.
- [22] YIN M S, PAN F B, GUO J X, et al. Research into chemical constituents and pharmacological activities in *Areca catechu* L. [J]. Food Research and Development, 2021, 42(15): 219-224.
- [23] BA Y Y, WANG Y, PIAO M Z. Optimization of phenol-sulfuric

- acid method for determination of polysaccharide content in *Phellinus vaninii* L. jub mycelium[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(5): 389-391.
- [18] 刘雨阳. 冬虫夏草菌丝体多酚的提取及生物活性研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016: 13-14.
- LIU Y Y. Extraction and biological activity of polyphenols from *Cordyceps sinensis* mycelium[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2016: 13-14.
- [19] 郭晶, 刘晓梅, 郭鑫, 等. 超声波辅助高压法提取金针菇黄酮工艺的优化研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(3): 207-209.
- GUO J, LIU X M, GUO X, et al. Study on optimization of extraction process of flavonoids from *Flammulina velutipes* by ultrasonic-assisted high pressure method[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2017(3): 207-209.
- [20] 刘文杰. 槟榔中生物碱的提取纯化及其抑菌性能研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2012: 14-15.
- LIU W J. Study on ultrasonic extraction process and antimicrobial activity of arecoline from betel nut[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2012: 14-15.
- [21] 卢朝亮, 陈翔宇. 白灵菇菌丝长速与栽培性状研究[J]. 食药菌, 2016, 24(3): 184-186.
- LU C L, CHEN X Y. Study on mycelium growth rate and cultivation characters of *Pleurotus nebrodensis* [J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2016, 24(3): 184-186.
- [22] 郭睿昕. 羊肚菌发酵菌丝体三萜的提取、纯化及生物活性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018: 21-22.
- GUO R X. Extraction, purification and biological activity of triterpenoids from *morchella* mycelia [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018: 21-22.
- [23] 范例, 姜威彪, 许祯毅. 8 种食用菌粗黄酮的萃取及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 141-147.
- FAN L, JIANG X B, XU Z Y. Extraction and antioxidant activities of crude flavonoids from eight edible fungi[J]. Food Research and Development, 2021, 42(1): 141-147.
- [24] LI P H, WANG C W, LU W C, et al. Antioxidant, anti-inflammatory activities, and neuroprotective behaviors of *Phyllanthus emblica* L. fruit extracts[J]. Agriculture, 2022, 12(5): 588.
- [25] 徐秀红, 陈阿敏, 裴芸, 等. 香菇液体和固体菌种在栽培料中胞外酶活性分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(20): 6 933-6 941.
- XU X H, CHEN A M, PEI Y, et al. Analysis of extracellular enzymes activity of liquid and solid strains of *Lentinus edodes* in different media[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(20): 6 933-6 941.
- [26] LI F, ZHU X, LI N, et al. Screening of lignocellulose-degrading superior mushroom strains and determination of Their CMCase and laccase activity [J]. The Scientific World Journal, 2014, 2 014: 763108.
- [27] 辛燕花, 梁彬, 王颖霞, 等. 灵芝—银杏双向液体发酵条件优化及抗氧化的研究[J]. 菌物学报, 2017, 36(10): 1 427-1 435.
- XIN Y H, LIANG B, WANG Y X, et al. Optimization of the *Ganoderma lucidum*-*Ginkgo biloba* bi-directional liquid fermentation condition and antioxidation properties of its products [J]. Mycosystema, 2017, 36(10): 1 427-1 435.
- [28] 胡永乐, 张传海, 林崇展, 等. 响应面法优化蛹虫草与厚朴双向液体发酵工艺[J]. 菌物学报, 2020, 39(5): 944-954.
- HU Y L, ZHANG C H, LIN C Z, et al. Response surface methodology optimizing liquid fermentation process of *Cordyceps militaris* by use of *magnoliae officinalis* cortex as additional substrate[J]. Mycosystema, 2020, 39(5): 944-954.
- [29] 赵小瑞, 贫建民, 艾对元, 等. 4 种中草药提取物对灵芝液态发酵三萜产物形成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 97-103.
- ZHAO X R, YUN J M, AI D Y, et al. Effects of four kinds of Chinese herbs extracts on *ganoderma* triterpenoids production of *Ganoderma lucidum* in submerged fermentation [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(3): 97-103.
- [30] 吴俐, 沈恒胜, 汤葆莎, 等. 油茶枝浸提液对茶薪菇菌丝酚类物代谢及抗氧化特性的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(7): 59-64.
- WU L, SHEN H S, TANG B S, et al. Effects of *camellia oleifera* abel extraction on enhancing mycelial metabolism for phenolic compounds and antioxidant function of *Agrocybe aegerita* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(7): 59-64.

(上接第 72 页)

- [7] 周佑勇. 行政规范性文件在行政执法依据中的地位[J]. 行政与法(吉林省行政学院学报), 1999(3): 15-30.
- ZHOU Y Y. The position of administrative normative documents in the administrative law enforcement basis [J]. Administration and Law, 1999(3): 15-30.
- [8] 刘梦. 皮革企业经济成本管理问题及对策研究[J]. 中国皮革, 2021, 50(8): 22-24.
- LIU M. Problems and countermeasures of economic cost management in leather enterprises[J]. China Leather, 2021, 50(8): 22-24.
- [9] 吉丽颖. 法经济学视角下中国食品安全事件的规制维度[J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 63-66.
- JI L Y. Regulation dimension of food safety events in China from the perspective of economics law[J]. Food & Machinery, 2018, 34(12): 63-66.
- [10] 史高嫻. 中国旅游食品安全问题及保障体系的建立[J]. 食品与机械, 2021, 37(9): 87-90.
- SHI G Y. Safety issues of tourism food and the establishment of the relative security system in China[J]. Food & Machinery, 2021, 37(9): 87-90.
- [11] 逯春娇. HACCP 体系在食品安全管理中的运用分析[J]. 食品安全导刊, 2021(28): 14-15.
- LU C J. The application of HACCP system in food safety management[J]. China Food Safety Magazine, 2021(28): 14-15.