

酶处理协同红曲菌固态发酵茯苓 对其化学成分的影响

彭灿灿^{1,2} 刘 涛^{1,2} 邓俊劼^{1,2} 周 波^{1,2}

(1. 林产可食资源安全与加工利用湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410004;

2. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: [目的] 提高茯苓资源的利用度。[方法] 以茯苓为原料, 利用纤维素酶、木聚糖酶协同红曲菌固态发酵茯苓, 测定发酵产物中碱溶性多糖、水溶性多糖、 β -葡聚糖、还原糖、总三萜及茯苓酸、莫纳卡林 K 含量的变化。[结果] 红曲菌 250 Gy 相对于另外 5 株红曲菌发酵茯苓对化学成分含量的影响更显著, 其中红曲菌 250 Gy 发酵 6 d 时水溶性多糖含量达 61.99 mg/g, 相比于茯苓原料提高了 1.58 倍。与对照组相比, 纤维素酶、木聚糖酶处理协同红曲菌 250 Gy 发酵茯苓的水溶性多糖含量分别提高了 1.15、1.12 倍; β -葡聚糖含量分别提高了 0.81、0.70 倍; 总三萜含量分别提高了 0.95、0.82 倍。[结论] 两种酶处理协同红曲菌 250 Gy 固态发酵茯苓会对其化学成分产生重要影响, 可作为提高茯苓活性成分含量的有效方法。

关键词: 茯苓; 红曲菌; 酶处理; 水溶性多糖; β -葡聚糖; 总三萜; 莫纳卡林 K

Effects of enzyme treatment combined with *Monascus* solid-state fermentation on chemical composition of *Poria cocos*

PENG Cancan^{1,2} LIU Tao^{1,2} DENG Junjie^{1,2} ZHOU Bo^{1,2}

(1. Hunan Key Laboratory of Forestry Edible Sources Safety and Processing, Changsha, Hunan 410004, China; 2. School of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China)

Abstract: [Objective] To improve the utilization of *Poria cocos* resources. [Methods] This paper employs cellulase and xylanase in combination with *Monascus* for the solid-state fermentation of *Poria cocos*, and measures the changes in the content of alkali-soluble polysaccharides, water-soluble polysaccharides, β -glucans, reducing sugars, total triterpenes, pachymic acid, and Monacolin K in fermentation products. [Results] Compared with the other five strains of *Monascus*, *Monascus purpureus* 250 Gy has more significant changes in the chemical composition of *Poria cocos*, among which the content of water-soluble polysaccharides reaches 61.99 mg/g after 6 days of fermentation by *Monascus purpureus* 250 Gy, which is 1.58 times higher than that of raw *Poria cocos*. Compared with the control group, the content of water-soluble polysaccharides in *Poria cocos* fermented by cellulase and xylanase with *Monascus purpureus* 250 Gy increases by 1.15 and 1.12 times respectively, the content of β -glucans by 0.81 and 0.70 times respectively, and the content of total triterpenes by 0.95 and 0.82 times respectively. [Conclusion] The combined treatment of the two enzymes with solid-state fermentation by *Monascus purpureus* 250 Gy has significant influences on the chemical composition of *Poria cocos*, serving as an effective method for enhancing the content of active substances in *Poria cocos*.

Keywords: *Poria cocos*; *Monascus*; enzyme treatment; water-soluble polysaccharide; β -glucan; total triterpene; Monacolin K

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(编号: 2023NK2034)

通信作者: 周波(1978—), 男, 中南林业科技大学教授, 博士。E-mail: zhbofood@csuft.edu.cn

收稿日期: 2024-08-06 改回日期: 2025-01-20

引用格式: 彭灿灿, 刘涛, 邓俊劼, 等. 酶处理协同红曲菌固态发酵茯苓对其化学成分的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(3): 17-25.

Citation: PENG Cancan, LIU Tao, DENG Junjie, et al. Effects of enzyme treatment combined with *Monascus* solid-state fermentation on chemical composition of *Poria cocos*[J]. Food & Machinery, 2025, 41(3): 17-25.

茯苓(*Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb) 为多孔菌科的一种食药两用真菌,主要原产地为云南、贵州、湖北、安徽、福建、四川、广西等地^[1]。茯苓因其镇静、利尿、滋补等被用作传统药物^[2]。现代医学研究^[3-4]表明,茯苓具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、免疫调节、保肝等多种药理活性。茯苓中含有多种生物活性物质,如多糖类、三萜类、甾醇类、挥发性油等,其中主要活性成分为以水溶性 β -葡聚糖和茯苓酸为主的多糖和三萜类化合物^[5]。目前,通常将干燥的茯苓经过简单的处理后以粉末或块状当作药物或食物使用,其高值精深加工转化率低。通过有益微生物转化中药,可在有效提高中草药的活性成分含量的同时,进一步提高有益微生物中有益次级代谢产物的合成,大大提高中草药的生物利用度和利用率,也能节约资源,降低成本,保护环境。

目前,常见的生物转化提高食药同源原料中生物活性物质含量的方法主要有两种:①微生物发酵转化,通过食用微生物产生的酶及酶系产物^[6]等,将茯苓中多糖、纤维素、蛋白质等营养成分转化为新的活性成分或者毒性更小的活性成分^[7],并将茯苓中结合态的生物活性物质释放出来变成游离态的生物活性物质,实现双向发酵的目的,如以丛毛红曲菌 MS-1 为发酵菌株,可使茯苓水溶性多糖含量提高 3.91 倍^[8]。②原料酶处理,通过相关的酶直接将茯苓中结合态的生物活性物质释放出来变成游离态的生物活性物质,酶处理在小分子糖和总酚含量均无明显变化的情况下,显著提高了多糖和总糖的含量^[9],如李世杰等^[10]将茯苓中水溶性多糖含量提高了 9.20%;龚志华等^[11]以 β -葡聚糖酶作为外源酶降解茯苓聚糖,将其分解成低相对分子质量的多糖、还原糖和寡糖,从而提高了茯苓水溶性糖的提取率。发酵法和酶法协同处理也被用来提高食药原料生物活性成分的含量^[12]。李世杰^[13]对微生物发酵与酶解转化茯苓多糖工艺及其产物活性进行了研究,证实发酵—酶解(先发酵后酶解)协同转化茯苓水溶性多糖的工艺效果最好。上述主要研究酶处理或微生物发酵对茯苓中水溶性多糖含量的影响,未研究酶处理协同微生物发酵茯苓对其他化学成分含量的影响。研究拟以实验室贮藏的 6 株红曲菌对茯苓进行发酵,研究其化学成分的变化,筛选出对茯苓化学成分含量增加最明显的菌株,并考察酶处理协同红曲菌发酵茯苓过程中活性成分的变化,为茯苓发酵食品的菌株选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

茯苓:湖南补天药业股份有限公司;

Monascus purpureus 150 Gy、*Monascus purpureus* 250 Gy、*Monascus purpureus* BWY-5、*Monascus purpureus* WT、*Monascus purpureus* M1、*Monascus purpureus* M183

(CCTCC M2018224):保藏于中南林业科技大学食品酿造与发酵实验室,其中紫色红曲霉菌株 150、250 Gy 和 BWY-5 是通过不同剂量(150、250、200 Gy)碳离子束($^{12}\text{C}^{6+}$)(80 MeV/U,中国科学院近代物理研究所)辐照 *Monascus purpureus* LQ-6(实验室保藏)获得;

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:青岛海博生物技术有限公司;

纤维素酶(3 U/mg)、木聚糖酶(6 000 U/mg)、齐墩果酸标样:北京索莱宝科技有限公司;

乙腈:分析纯,安徽天地高纯溶剂有限公司;

磷酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

分析天平:YP502N 型,日本岛津公司;

立式自动压力蒸汽灭菌器:GI54DWS 型,致微(厦门)仪器有限公司;

鼓风干燥箱:DHG-9245A 型,上海巴玖实业有限公司;

超声清洗机:SB-25-12DT 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

超净工作台:SW-CJ-1FD 型,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;

紫外分光光度计:UV-1900PC 型,翱艺仪器(上海)有限公司;

高速冷冻离心机:TGL-16M 型,湘仪离心机仪器有限公司;

恒温摇床培养箱:ZHWY-2102C 型,上海智城分析仪器制造有限公司;

恒温水浴锅:DZKW-S-8 型,北京市永光明医疗器械有限公司;

超高效液相色谱仪:LC-30A 型,日本 SHIMADZU 公司。

1.3 方法

1.3.1 菌种活化与培养

(1)种子培养基:葡萄糖 60 g,蛋白胨 20 g,NaNO₃ 3 g,FeSO₄·7H₂O 0.01 g,KH₂PO₄ 4 g,纯水 1 000 mL。

(2)固态发酵基础培养基:茯苓粉 20 g,葡萄糖 0.02 g,酵母粉 0.02 g,纯水 20 mL(料液比约 1:1)。

(3)菌种培养:将红曲菌接种于 PDA 培养基上,30 ℃ 恒温培养 3~4 d^[14]。在平板内加入无菌水制成孢子悬液接种至种子培养基中,30 ℃、200 r/min 培养 6~7 d,将种子液接种到固态发酵基础培养基中并用于后续试验。

1.3.2 菌株筛选 6 株红曲菌分别接种于固态发酵基础培养基中,30 ℃培养 14 d,每 2 d 取样测定发酵产物中碱性多糖、水溶性多糖、还原糖、总三萜和莫纳卡林 K 含量,考察红曲菌发酵茯苓过程中活性成分动态变化规律,以

筛选最适发酵茯苓的红曲菌株。

1.3.3 酶处理 选取纤维素酶、木聚糖酶处理茯苓,纤维素酶添加量分别为15,30,45,60,75 U/g,木聚糖酶添加量分别为500,1 000,2 000,3 000,4 000 U/g,用pH 5.0的柠檬酸钠缓冲液溶解,分别取10 mL酶液加入到20 g茯苓基质中,50 ℃反应3 h。

1.3.4 固态发酵 酶处理后经高压灭菌20 min,冷却,接种最适发酵菌株,30 ℃发酵6 d,测定发酵产物中碱溶性多糖、水溶性多糖、 β -葡聚糖、还原糖、总三萜及茯苓酸、莫纳卡林K含量,考察酶处理协同红曲菌发酵茯苓过程中活性成分的变化规律。

1.3.5 糖含量测定

(1) 多糖:采用苯酚—硫酸法^[15],标准曲线方程为 $Y=0.011\ 5X-0.002\ 5(R^2=0.998\ 5)$ 。

(2) β -葡聚糖:采用刚果红法^[16],标准曲线方程为 $Y=0.010\ 0X-0.009\ 8(R^2=0.993\ 0)$ 。

(3) 还原糖:采用DNS法^[17],标准曲线方程为 $Y=1.015\ 7X-0.051\ 0(R^2=0.996\ 6)$ 。

1.3.6 总三萜及茯苓酸含量测定

(1) 总三萜:根据文献[18—19]的方法并修改。精密吸取0.1 mg/mL齐墩果酸标准品溶液0,0.10,0.20,0.40,0.60,0.80 mL,水浴挥干溶剂后(100 ℃,10 min),依次加入5%香草醛—冰醋酸0.20 mL、高氯酸1 mL,摇匀,60 ℃水浴15 min,取出后迅速冷却至室温,加5 mL冰乙酸,摇匀,冷却,测定548 nm处吸光度。标准曲线方程为 $Y=0.007\ 4X-0.027\ 8(R^2=0.995\ 6)$ 。

(2) 茯苓酸:根据文献[20]的方法并修改。待测液经0.22 μ m有机膜过滤后进行HPLC分析。色谱条件: C_{18} 色谱柱;柱温30 ℃;吸收波长208 nm;流动相A为乙腈;流动相B为0.1%磷酸水溶液;流速1 mL/min;梯度洗脱:0~5 min,60%~70% A;5~10 min,70%~80% A;10~15 min,80%~85% A;15~25 min,85% A;25~50 min,100% A。标准曲线方程为 $Y=10\ 014X-10\ 187(R^2=0.999\ 2)$ 。

1.3.7 莫纳卡林K含量测定 根据文献[21—22]的方法并修改。取0.3 g样品,按1:30 (g/mL)加入75%乙醇,超声30 min,200 r/min振荡30 min,4 ℃、8 000 r/min离心10 min,取上清液,经0.22 μ m有机膜过滤后进行HPLC分析。紫外检测器参数:吸收波长238 nm,柱温30 ℃, C_{18} 色谱柱。流动相为乙腈—纯水—磷酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{纯水}}:V_{\text{磷酸}}=650:350:0.6$),流速1.0 mL/min。等度洗脱程序:0~15 min,100%流动相。标准曲线方程为 $Y=31\ 289X-12\ 728(R^2=0.999\ 9)$ 。

1.3.8 统计分析 所有试验重复3次,使用IBM SPSS Statistics 27、Origin 2022软件进行数据统计、分析及绘图。

2 结果与分析

2.1 发酵菌株的筛选

2.1.1 不同红曲菌发酵对碱溶性多糖含量的影响 茯苓中多糖大部分为大分子碱溶性多糖,主链由 β -1,3糖苷键连接,带有 β -1,6糖苷键支链的葡聚糖,因其水溶性差,生物活性低,不易被人体吸收,在茯苓传统炮制方法中常被当作药渣丢弃^[11]。由图1可知,随着发酵时间的延长,不同红曲菌发酵茯苓中碱溶性多糖含量呈整体降低趋势,发酵第12天开始呈平缓趋势。未经红曲菌250 Gy发酵茯苓的对照组(0 d)中碱溶性多糖含量为276.63 mg/g,发酵第12天为133.15 mg/g,相比于对照组,碱溶性多糖降解率最高,为51.9%。张熠璇等^[23]利用琉球曲霉发酵茯苓,最佳工艺条件下的碱溶性多糖降解率为60.3%。说明曲霉发酵会降解茯苓中碱溶性多糖。碱溶性多糖含量下降可能是茯苓中含有大量的碱溶性多糖物质,红曲菌通过代谢活动可产生降解大分子碱溶性多糖的酶,从而促使碱溶性多糖转化为小分子多糖,碱溶性多糖含量不断下降^[6],当微生物进入衰亡期时,菌种活力下降,对于碱溶性多糖的利用减少^[24]。

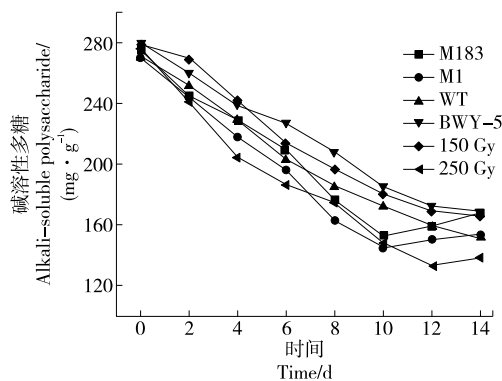


图1 不同红曲菌发酵对碱溶性多糖含量的影响

Figure 1 Effects of fermentation by different *Monascus purpureus* on content of alkali-soluble polysaccharides

2.1.2 不同红曲菌发酵对水溶性多糖含量的影响 茯苓中水溶性多糖和 β -葡聚糖含量低,生物活性高,具有抗炎、抗氧化和增强免疫活性等功效^[23]。由图2可知,随着发酵时间的延长,红曲菌250 Gy发酵的茯苓水溶性多糖含量呈先升高后降低趋势,且发酵基质中水溶性多糖含量变化与其他红曲菌株存在明显差异。未经红曲菌250 Gy发酵茯苓的对照组(0 d)中水溶性多糖含量为23.99 mg/g,发酵第6天为61.99 mg/g,相比于对照组,水溶性多糖含量提高了1.58倍。王丹等^[25]研究表明,红曲菌发酵会提高铁皮石斛中多糖含量,是因为红曲菌中酶

系比较丰富,在发酵过程中将淀粉等其他物质转换为水溶性多糖。Tao 等^[26]研究发现,黑曲霉发酵会提高青蒿中多糖含量,可能原因是黑曲霉发酵可以产生纤维素酶,分解植物细胞壁,从而促进多糖释放。陈晓园^[8]研究发现,红曲菌固态发酵茯苓可以提高基质中水溶性多糖含量。红曲菌在发酵过程中自身会产生红曲多糖^[27],促使发酵基质中总水溶性多糖含量增加,故对发酵基质中水溶性茯苓多糖含量有影响。

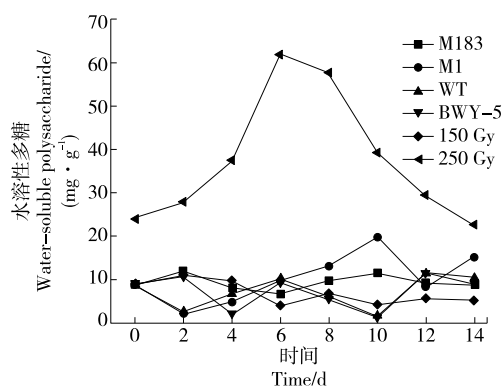


图2 不同红曲菌发酵对水溶性多糖含量的影响

Figure 2 Effects of fermentation by different *Monascus purpureus* on the content of water-soluble polysaccharides

2.1.3 不同红曲菌发酵对还原糖含量的影响 还原糖是基本营养物质,相对于多糖更容易被微生物代谢利用。由图3可知,随着发酵时间的延长,红曲菌250 Gy发酵茯苓的还原糖含量呈先升高后降低趋势,而其他几种红曲菌株发酵茯苓的还原糖含量变化不明显,其中未经红曲菌250 Gy发酵茯苓的对照组(0 d)中还原糖含量为23.02 mg/g,发酵第8天为81.81 mg/g,相比于对照组提高了2.86倍。这可能是红曲菌250 Gy发酵前期使茯苓大分子多糖分解为还原糖,而发酵后期营养物质不足,菌株为满足自身代谢需求开始消耗茯苓中的还原糖^[28-29]。

2.1.4 不同红曲菌发酵对总三萜含量的影响 由图4可知,利用红曲菌株发酵茯苓会影响茯苓中总三萜含量,未经红曲菌250 Gy、红曲菌150 Gy发酵茯苓的对照组(0 d)中总三萜含量分别为0.91、0.90 mg/g,发酵第10天分别为1.80、1.53 mg/g,相比于对照组分别提高了0.98、0.71倍。高学玲等^[30]研究发现,最佳工艺条件下,茯苓中总三萜产量相比于优化前提高了0.35倍。李佳欢等^[31]研究发现,小麦基质发酵茯苓也会提高总三萜含量。孟涛等^[32]利用植物乳杆菌YS-1发酵茯苓的总三萜含量相比于发酵前提高了0.44倍。红曲菌250 Gy对茯苓中总三萜的提升效果显著优于植物乳杆菌YS-1,可能是发酵茯苓的菌种不同^[33]。

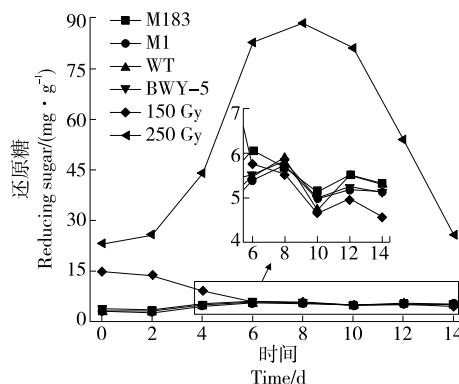


图3 不同红曲菌发酵对还原糖含量的影响

Figure 3 Effects of fermentation by different *Monascus purpureus* on content of reducing sugars

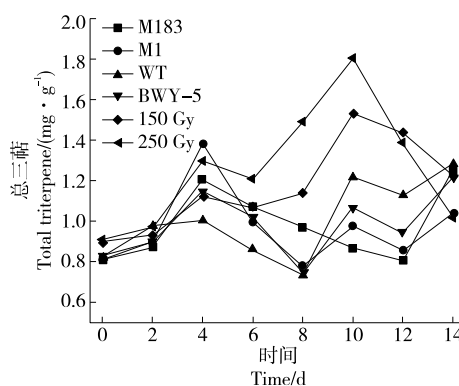


图4 不同红曲菌发酵对总三萜含量的影响

Figure 4 Effects of fermentation by different *Monascus purpureus* on content of total triterpenes

2.1.5 不同红曲菌发酵对莫纳卡林K含量的影响 莫纳卡林K是红曲菌发酵过程中产生的主要活性物质,能有效降低人体血液中的胆固醇,已被广泛用作降脂、降血压药物^[34-36]。由图5可知,不同红曲菌株固态发酵茯苓所得发酵基质中均能检出莫纳卡林K,红曲菌250 Gy发酵茯苓第2天的莫纳卡林K含量为0.015 3 mg/g,发酵第6天的为0.021 3 mg/g,相比于发酵2 d的提高了0.39倍;谢炎福等^[37]以红曲菌发酵中药红花基质中的莫纳卡林K含量相比于对照组提高了0.32倍,可能是因为茯苓相比于红花本身含有汀类物质,更易于红曲菌利用汀类物质合成莫纳卡林K,从而提高自身代谢产物含量^[38]。相比于第2天,发酵第10、14天莫纳卡林K含量整体下降。车鑫等^[39]发现,添加茯苓发酵红曲菌对莫纳卡林K含量有抑制作用。这可能是茯苓中的一种或几种关键成分转运到红曲霉菌丝体细胞内,影响(下调或上调)聚酮合酶和酯交换酶的转录水平,从而影响莫纳卡林K前体的合成^[40]。综上,红曲菌发酵茯苓会影响红曲菌自身代谢生成莫纳卡林K。

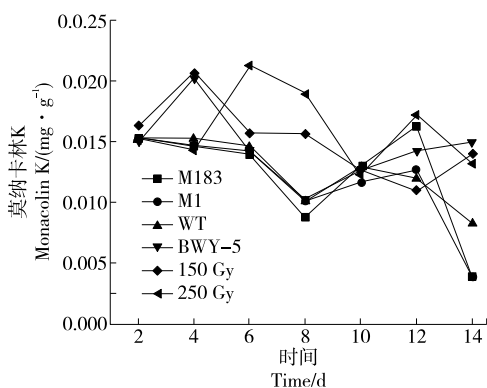


图5 不同红曲菌发酵对莫纳卡林K含量的影响

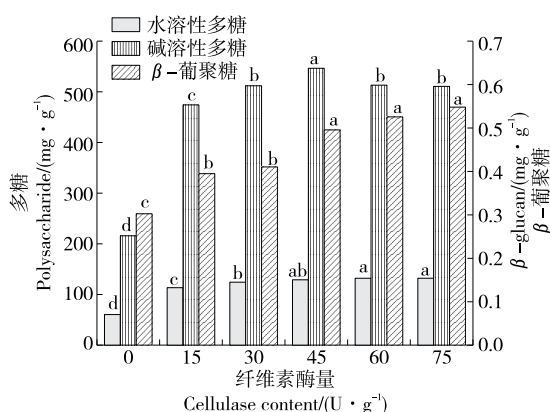
Figure 5 Effects of fermentation by different *Monascus purpureus* on content of Monacolin K

综上,红曲菌发酵茯苓提高了茯苓中水溶性多糖和总三萜含量,同时基质中莫纳卡林K含量也得到了提高,达到了双向发酵目的。因此,选择红曲菌250 Gy为最适发酵茯苓的红曲菌株进行后续试验。

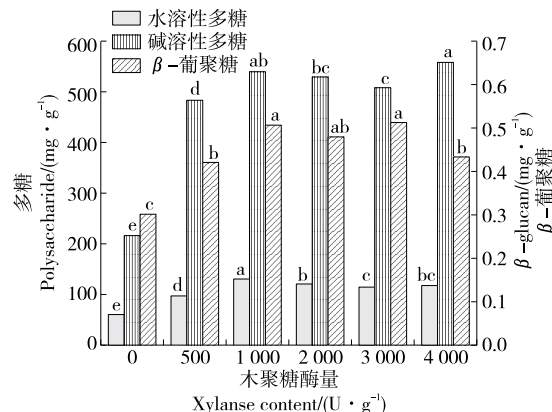
2.2 酶处理协同红曲菌发酵

2.2.1 对多糖含量的影响 由图6可知,纤维素酶和木聚糖酶处理相比于对照组水溶性多糖、碱溶性多糖和水溶性 β -葡聚糖均呈显著性差异,说明纤维素酶与木聚糖

酶能较好地酶解茯苓释放多糖。未加酶处理的对照组中水溶性多糖、碱溶性多糖和 β -葡聚糖含量分别为61.99, 216.67, 0.30 mg/g,而纤维素酶和木聚糖酶处理协同红曲菌发酵茯苓的水溶性多糖含量最高分别为133.48, 131.39 mg/g;纤维素酶和木聚糖酶处理协同红曲菌发酵茯苓的碱溶性多糖含量最高分别为547.10, 559.57 mg/g;纤维素酶和木聚糖酶处理协同红曲菌发酵茯苓的 β -葡聚糖含量最高分别为0.55, 0.51 mg/g。纤维素酶处理协同红曲菌发酵茯苓水溶性多糖、碱溶性多糖和 β -葡聚糖含量相比于对照组最高分别达到1.15, 1.52, 0.81倍;而木聚糖酶处理协同红曲菌发酵对茯苓水溶性多糖和碱溶性多糖含量相比于对照组最高分别达到1.12, 1.58, 0.70倍。李悦等^[41]采用蜗牛酶水解茯苓来提高水溶性多糖得率为0.40倍;边超^[42]利用 β -葡聚糖酶水解茯苓制备水溶性多糖得率为0.58倍。试验结果显著高于蜗牛酶和 β -葡聚糖酶的,可能是纤维素酶与木聚糖酶处理后,茯苓基质中发酵性糖含量增加,更易于红曲菌生长和代谢,从而促进了茯苓中多糖含量的增加^[43]。也可能是由于添加一定量的纤维素酶与木聚糖酶后,大分子多糖转化为小分子多糖及寡糖,发酵产物中水溶性 β -葡聚糖含量增加^[44]。



(a) 纤维素酶处理组



(b) 木聚糖酶处理组

同一指标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

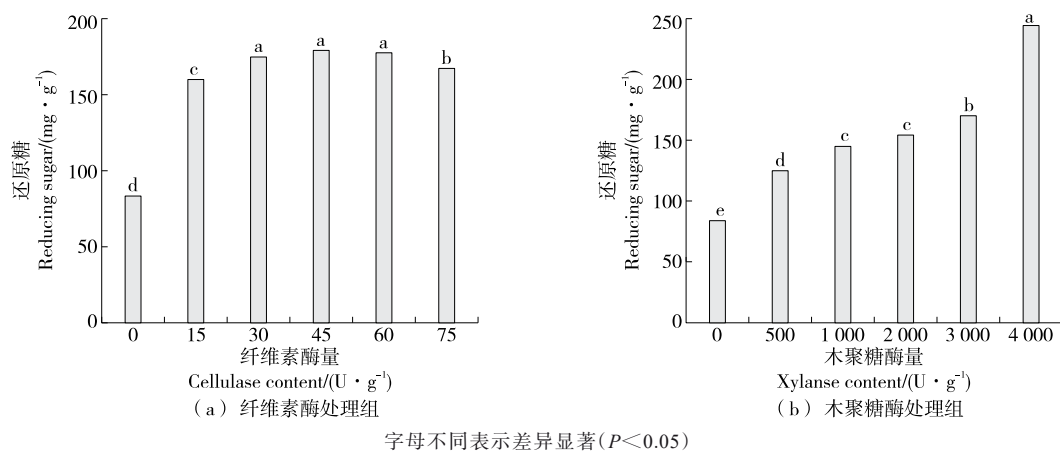
图6 不同酶处理协同红曲菌株发酵对多糖含量的影响

Figure 6 Effects of different enzyme treatments with fermentation by *Monascus purpureus* on content of polysaccharides

2.2.2 对还原糖含量的影响 由图7可知,酶处理协同红曲菌发酵茯苓中还原糖含量相比于对照组差异显著($P < 0.05$)。未加酶处理的对照组还原糖含量为83.69 mg/g,而纤维素酶和木聚糖酶处理协同红曲菌发酵茯苓的还原糖含量最高分别为179.52, 244.50 mg/g。当纤维素酶添加量为45 U/g时,还原糖含量相比于对照组提高了1.14倍;当木聚糖酶添加量为4 000 U/g时,还原糖含量相

比于对照组提高了1.92倍。王在贵等^[45]利用纤维素酶与木聚糖酶降解茯苓也会提高还原糖释放量。这可能是纤维素酶与木聚糖酶破坏了茯苓组织细胞壁^[46],释放了细胞中还原糖物质,使还原糖含量提高^[47]。

2.2.3 对三萜类化合物含量的影响 由图8可知,未加酶处理的对照组中总三萜和茯苓酸含量分别为1.80, 0.28 mg/g,纤维素酶和木聚糖酶处理协同红曲菌发酵茯



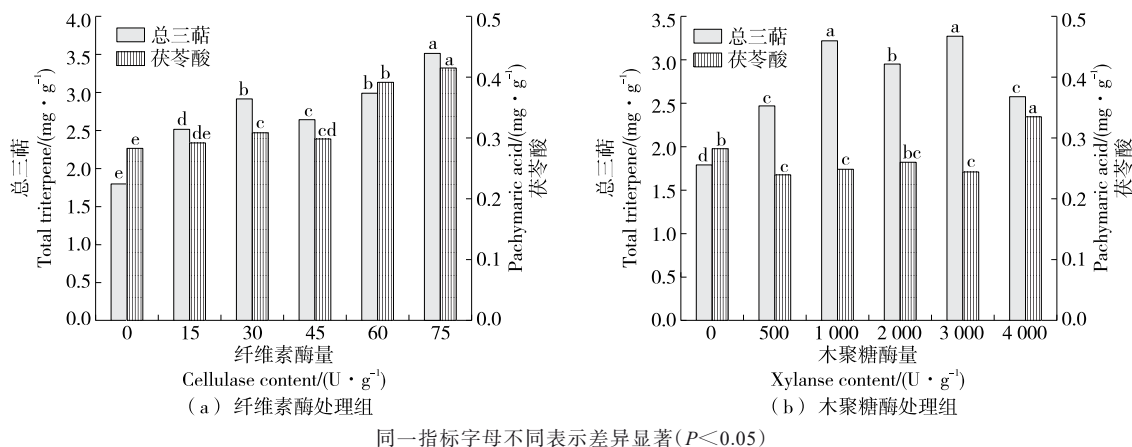
字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 7 不同酶处理协同红曲菌株发酵对还原糖含量的影响

Figure 7 Effects of different enzyme treatments with fermentation by *Monascus purpureus* on content of reducing sugars

苓的总三萜含量最高分别为 3.52, 3.27 mg/g; 而茯苓酸含量最高分别为 0.42, 0.34 mg/g。当纤维素酶添加量为 75 U/g 时, 总三萜和茯苓酸含量相比于对照组分别提高了 0.95, 0.46 倍; 当木聚糖酶添加量为 3 000 U/g 时, 总三萜含量相比于对照组提高了 0.82 倍; 当木聚糖酶添加量为 4 000 U/g 时, 茯苓酸含量相比于对照组提高了

0.19 倍。因此, 经酶处理协同红曲菌发酵茯苓能有效提高茯苓中总三萜含量, 与 Zhao 等^[48]的结论一致, 可能是酶水解产生的底物为红曲菌发酵茯苓提供了代谢营养物质^[49]; 茯苓酸产量较低, 可能是三萜化合物之间存在相互转化促使茯苓酸转化为其他物质, 具体原因有待进一步研究。



同一指标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 8 不同酶处理协同红曲菌株发酵对三萜类化合物含量的影响

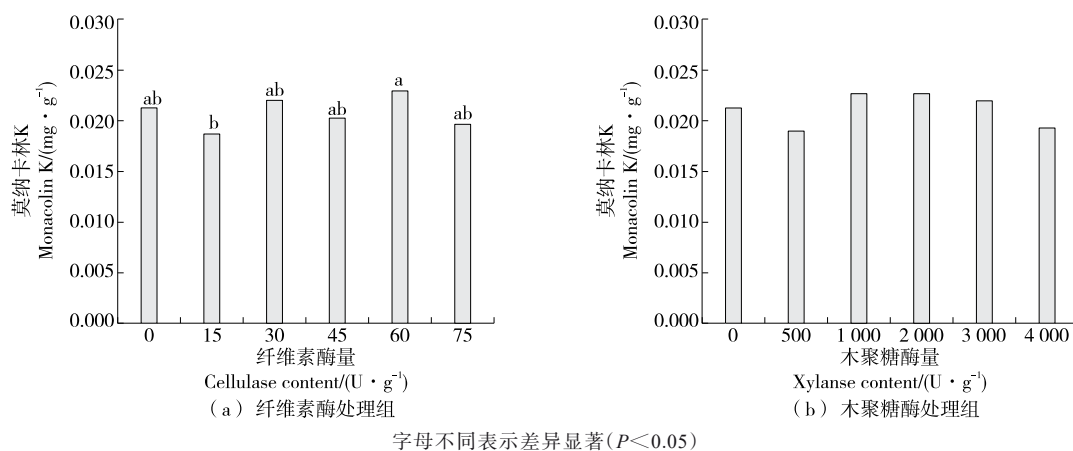
Figure 8 Effects of different enzyme treatments with fermentation by *Monascus purpureus* on content of triterpenoids

2.2.4 对莫纳卡林 K 含量的影响 由图 9 可知, 未加酶处理的对照组莫纳卡林 K 含量为 0.021 3 mg/g; 当纤维素酶添加量为 60 U/g 时, 纤维素酶处理协同红曲菌发酵茯苓的莫纳卡林 K 含量最高为 0.023 0 mg/g, 相比于对照组提高了 0.08 倍; 当木聚糖酶添加量为 1 000 U/g 时, 木聚糖酶处理协同红曲菌发酵茯苓的莫纳卡林 K 含量最高为 0.022 7 mg/g, 相比于对照组提高了 0.07 倍。这可能是红曲菌以茯苓为基质进行发酵会提高莫纳卡林 K 含量^[34]。经酶处理协同红曲菌发酵茯苓的莫纳卡林 K 含量相比于对照组无显著差异, 说明酶处理协同红曲菌发酵茯苓对

红曲菌自身代谢产物莫纳卡林 K 无显著影响, 酶处理作用可能主要体现在对中药材底物的催化修饰, 对发酵菌株特定代谢产物并无显著影响。

3 结论

考察了 6 株红曲菌发酵茯苓过程中化学成分的变化规律, 以筛选最适发酵茯苓的红曲菌。结果表明, 红曲菌 250 Gy 为最适发酵茯苓的红曲菌株。酶处理协同红曲菌 250 Gy 固态发酵茯苓相比于对照组会显著提高碱溶性多糖、水溶性多糖、 β -葡聚糖、还原糖、总三萜含量, 但酶处理



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图9 不同酶处理协同红曲菌株发酵对莫纳卡林K含量的影响

Figure 9 Effects of different enzyme treatments with fermentation by *Monascus purpureus* on content of Monacolin K

协同红曲菌发酵茯苓对红曲菌株自身代谢产物莫纳卡林K无显著影响。酶处理协同红曲菌发酵茯苓可以作为一种有效的加工技术来提高茯苓活性成分含量。后续研究可以通过对发酵条件进行优化来进一步提高酶与菌株的发酵能力。由于发酵过程复杂,仍需进一步研究其发酵转化机理及具体作用机制。

参考文献

- [1] WU L F, WANG K F, MAO X, et al. Screening and analysis of the potential bioactive components of *Poria cocos* (Schw.) Wolf by HPLC and HPLC-MS(n) with the aid of chemometrics[J]. *Molecules*, 2016, 21(2): 227.
- [2] 肖扬波, 刘琪, 彭逸斯, 等. 干燥方法对茯苓产品显微性状、营养成分及抗氧化活性的影响[J]. *食品与机械*, 2021, 37(3): 175-179.
- [3] XIAO Y B, LIU Q, PENG Y S, et al. The effect of drying methods on the microscopic properties, ingredients and antioxidant activity of *Poria cocos* products[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(3): 175-179.
- [4] CAI H, CHENG Y J, ZHU Q N, et al. Identification of triterpene acids in *Poria cocos* extract as bile acid uptake transporter inhibitors[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2021, 49(5): 353-360.
- [5] 徐攀, 张芳铭, 郑慧, 等. 羧甲基茯苓多糖的生物活性与食品应用[J]. *食品与机械*, 2024, 40(6): 213-220.
- [6] XU P, ZHANG F M, ZHENG H, et al. Biological activity and food application of carboxymethyl pachymaran[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(6): 213-220.
- [7] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2 703-2 717.
- [8] DENG T M, PENG D Y, YU N J, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Poria cocos* and predictive analysis on quality markers[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(10): 2 703-2 717.
- [9] 李倩, 于丹, 国立东, 等. 微生物发酵转化皂苷类化合物机制的研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(22): 7 264-7 278.
- [10] LI Q, YU D, GUO L D, et al. Research progress on mechanism of transformation of saponins by microbial fermentation[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(22): 7 264-7 278.
- [11] LIN Y W, MOU Y C, SU C C, et al. Antihepatocarcinoma activity of lactic acid bacteria fermented *Panax notoginseng*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(15): 8 528-8 534.
- [12] 陈晓园. 丛毛红曲菌 MS-1 固态发酵茯苓的研究及利用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 30-58.
- [13] CHEN X Y. Research and utilization of solid-state fermentation products by *Monascus pilosus* MS-1 using *Fuling* as substrate [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016: 30-58.
- [14] 程永霞, 赵若琪, 马燕, 等. 酶处理对红枣汁加工及营养性能的影响[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(13): 141-146.
- [15] CHENG Y X, ZHAO R Q, MA Y, et al. Effect of enzymolysis on the processing and nutritional properties of jujube juice[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(13): 141-146.
- [16] 李世杰, 李勇, 曾海英. 茯苓多糖的酶解工艺及抑菌性研究[J]. *中国酿造*, 2018, 37(5): 177-180.
- [17] LI S J, LI Y, ZENG K Y. Hydrolysis technology and bacteriostatic activity of polysaccharide from *Poria cocos*[J]. *China Brewing*, 2018, 37(5): 177-180.
- [18] 龚志华, 胡雅蓓, 郭雨桐, 等. β -葡聚糖酶辅助提取茯苓水溶性糖研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(5): 293-295.
- [19] GONG Z H, HU Y B, GUO Y T, et al. Study on β -glucanase-assisted extraction of water-soluble saccharides from *Poria cocos*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 32(5): 293-295.
- [20] WANG Y F, ZHANG M, RUAN D, et al. Chemical

- components and molecular mass of six polysaccharides isolated from the sclerotium of *Poria cocos*[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(2): 327-334.
- [13] 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: 74-76.
- LI S J. Study on the polysaccharide and its biochemical activity of *Poria cocos* based on fermentative and enzymatic conversion[D]. Guiyang: Guizhou University, 2018: 74-76.
- [14] LIU Y, TORTORA G, RYAN M E, et al. Potato dextrose agar antifungal susceptibility testing for yeasts and molds: evaluation of phosphate effect on antifungal activity of CMT-3[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002, 46(5): 1455-1461.
- [15] 卫华, 赵声兰, 赵荣华, 等. 云南不同产地茯苓中多糖的含量测定[J]. 云南中医学院学报, 2009, 32(4): 25-27, 36.
- WEI H, ZHAO S L, ZHAO R H, et al. Determination of polysaccharide of *Poria cocos* from different origin in Yunnan[J]. Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, 2009, 32(4): 25-27, 36.
- [16] 张娟, 杜先锋, 饶砚琴. 刚果红法测定燕麦中 β -葡聚糖含量的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2007, 34(1): 23-26.
- ZHANG J, DU X F, RAO Y Q. Measurement of β -glucan from oats by Congo red[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2007, 34(1): 23-26.
- [17] KHATRI D, CHHETRI S B B. Reducing sugar, total phenolic content, and antioxidant potential of Nepalese plants[J]. BioMed Research International, 2020, 2020(1): 7296859.
- [18] 任佳伟, 马月梅, 陈新晶, 等. 阿里红中齿孔酸和总三萜酸的含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(10): 1478-1481.
- REN J W, MA Y M, CHEN X J, et al. Determination of eburicoic acid and total triterpenoidic from fomes *Officinalis* ames[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2018, 35(10): 1478-1481.
- [19] PEDROSA A M, DE CASTRO W V, CASTRO A H F, et al. Validated spectrophotometric method for quantification of total triterpenes in plant matrices[J]. Daru, 2020, 28(1): 281-286.
- [20] 赵鑫, 谷丽华, 杨莉, 等. 斜率校正一测多评法同时测定茯苓中 3 种三萜酸成分的含量[J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(7): 66-71.
- ZHAO X, GU L H, YANG L, et al. Simultaneous determination of three triterpenoid acids in *Poria* by improved QAMS with slope correction[J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 57(7): 66-71.
- [21] OMM S. A new HPLC method for analysis of natural Monacolin K in red yeast rice pharmaceutical preparations[J]. Journal of Pharmacognosy & Natural Products, 2016, 1(1): 1-4.
- [22] 黄孝闻, 陈平华, 陈莉君, 等. HPLC 法测定水溶性红曲中 Monacolin K 的含量[J]. 浙江中医杂志, 2014, 49(9): 685-686.
- HUANG X W, CHEN P H, CHEN L J, et al. Determination of Monacolin K in water-soluble *Monascus* by HPLC[J]. Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 49(9): 685-686.
- [23] 张熠璇, 雷敏, 黄家浩, 等. 微生物降解制备水溶性茯苓多糖及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(15): 136-141.
- ZHANG Y X, LEI M, HUANG J H, et al. Preparation of water-soluble *Poria cocos* polysaccharides by microbial fermentation and the antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 2023, 44(15): 136-141.
- [24] 王丹, 袁永俊, 谭青云, 等. 铁皮石斛发酵前后主要成分、活性和多糖分子量的变化[J]. 包装与食品机械, 2019, 37(5): 22-26.
- WANG D, YUAN Y J, TAN Q Y, et al. Changes of *Dendrobium officinale* kimura et migo in main components, activities and molecular weight of polysaccharides before and after fermentation[J]. Packaging and Food Machinery, 2019, 37(5): 22-26.
- [25] 王丹, 袁永俊, 谭青云, 等. 不同菌种发酵对铁皮石斛多糖及其生物活性的影响[J]. 中国调味品, 2019, 44(9): 39-43.
- WANG D, YUAN Y J, TAN Q Y, et al. Effects of different strains fermentation, on polysaccharide and biological activity of *Dendrobium candidum*[J]. China Condiment, 2019, 44(9): 39-43.
- [26] TAO A L, FENG X H, SHENG Y J, et al. Optimization of the *Artemisia* polysaccharide fermentation process by *Aspergillus niger*[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 842766.
- [27] WANG N F, WU Y, JIA G G, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of mycelium polysaccharide from liquid fermentation of *Monascus purpureus* (Hong Qu)[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 262: 117945.
- [28] 王婧璇, 陆步诗, 李新社, 等. 双酶法制备玉米芯还原糖工艺条件优化[J]. 食品与机械, 2022, 38(1): 205-210, 223.
- WANG J X, LU B S, LI X S, et al. Optimization of technological conditions for preparing corncob reducing sugar by two-enzyme method[J]. Food & Machinery, 2022, 38(1): 205-210, 223.
- [29] 管泳宇, 于海, 葛庆丰, 等. 曲霉型豆豉后发酵过程的初步研究[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(2): 212-218.
- GUAN Y Y, YU H, GE Q F, et al. Analysis of microbe on later fermentation process of *Aspergillus*-type-Douchi[J]. Journal of Food and Biotechnology, 2013, 32(2): 212-218.
- [30] 高学玲, 杨素云, 严云梅, 等. 响应面法优化茯苓菌丝体总三萜的液态发酵工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(10): 1112-1119.
- GAO X L, YANG S Y, YAN Y M, et al. Optimal liquid fermentation conditions of total triterpenoids from *Poria cocos* mycelium by response surface methodology[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2012, 31(10): 1112-1119.
- [31] 李佳欢, 林辉, 金文松, 等. 茯苓菌固态发酵小麦基质的成分变化[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(12): 103-109.
- LI J H, LIN H, JIN W S, et al. Changes of nutrient components

- during solid-state fermentation by *Poria cocos* using wheat as substrate[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2019, 38(12): 103-109.
- [32] 孟涛, 冀利峰, 杜川川, 等. 乳杆菌发酵对茯苓的成分和抗氧化能力的影响[J]. 食品工业, 2023, 44(8): 111-114.
- MENG T, JI L F, DU C C, et al. Effects of fermentation with *Lactobacillus* on components and antioxidant capacity of *Poria cocos*[J]. Food Industry, 2023, 44(8): 111-114.
- [33] 黄群, 周应娟, 陈光欣, 等. 基于响应面法的茯苓液体发酵工艺优化及其活性成分含量测定[J]. 成都中医药大学学报, 2022, 45(3): 32-37.
- HUANG Q, ZHOU Y J, CHEN G X, et al. Optimization of liquid fermentation process of *Poria cocos* based on response surface methodology and its determination of active components[J]. Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 45(3): 32-37.
- [34] WEN Q Y, CAO X H, CHEN Z T, et al. An overview of *Monascus* fermentation processes for Monacolin K production[J]. Open Chemistry, 2020, 18(1): 10-21.
- [35] LIU X H, SUN A N, LI Q, et al. A systematic study of the production of Monacolin K by solid state fermentation of *Monascus ruber*[J]. AMB Express, 2022, 12(1): 29.
- [36] SHI R Y, LUO Q Q, LIU Y T, et al. Effect of γ -heptalactone on the morphology and production of *Monascus* pigments and Monacolin K in *Monascus purpureus*[J]. Journal of Fungi, 2022, 8(2): 179.
- [37] 谢炎福, 杜苗苗, 张优仪. 红曲霉与红花双向发酵体系的初步研究[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(11): 2 718-2 722.
- XIE Y F, DU M M, ZHANG Y Y. Preliminary study on bi-fermentation of *Monascus* and *Carthamus tinctorius*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(11): 2 718-2 722.
- [38] 侯晓梅, 陈敏青, 张慧蕾, 等. 中药提取物对灰树花深层发酵的影响[J]. 食品科技, 2013, 38(9): 185-188.
- HOU X M, CHEN M Q, ZHANG H L, et al. Effects of extracts from Chinese medicines on the submerged fermentation of *Grifola frondosa*[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(9): 185-188.
- [39] 车鑫, 毛健, 刘双平, 等. 产洛伐他汀红曲菌的筛选及中药对其固态发酵的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 114-119.
- CHE X, MAO J, LIU S P, et al. Screening of Monacolin K-producing *Monascus* and effects of Chinese medicinal herbal materials on Monacolin K production in solid-state fermentation[J]. Food Science, 2016, 37(13): 114-119.
- [40] PENG L, AI-LATI A, LIU S P, et al. Effects of Chinese medicines on Monacolin K production and related genes transcription of *Monascus ruber* in red mold rice fermentation[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(4): 2 134-2 142.
- [41] 李悦, 吴和珍, 叶丛进, 等. 蜗牛酶辅助降解茯苓多糖工艺优化研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(4): 53-55.
- LI Y, WU H Z, YE C J, et al. Research on the optimization of auxiliary extraction process in *Poria cocos* polysaccharides by snailase[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2016, 12(4): 53-55.
- [42] 边超. 酶水解制备水溶性茯苓多糖及其抗肿瘤活性的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006: 16-22.
- BIAN C. Studies on the preparation for water soluble pachyman hydrolyzed by enzymes and its anti-tumor activities[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006: 16-22.
- [43] 刘燕, 罗游, 魏岱岳, 等. 红曲菌固态发酵对燕麦多糖体外抗氧化及抑制淀粉酶活性的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(5): 95-101, 130.
- LIU Y, LUO Y, WEI D Y, et al. Effect of solid-state fermentation with *Monascus anka* on the compositions, in vitro antioxidation and amylase-inhibitory activity of oat polysaccharides[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(5): 95-101, 130.
- [44] 张杉杉, 涂传海, 肖愈, 等. 蛹虫草固态发酵豆渣的功能性成分与抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2017, 38(24): 69-74.
- ZHANG S S, TU C H, XIAO Y, et al. Functional components and antioxidant activity of okara fermented by *Cordyceps militaris*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(24): 69-74.
- [45] 王在贵, 黄世霞, 张永跃, 等. 酶法降解茯苓多糖技术初步研究[J]. 中国饲料, 2008(8): 41-43.
- WANG Z G, HUANG S X, ZHANG Y Y, et al. Preliminary study on enzymatic degradation of *Poria* polysaccharides[J]. China Feed, 2008(8): 41-43.
- [46] BEI Q, CHEN G, LU F J, et al. Enzymatic action mechanism of phenolic mobilization in oats (*Avena sativa* L.) during solid-state fermentation with *Monascus anka*[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 297-304.
- [47] ZHANG L H, ZHA M M, LI S F, et al. Changes on some quality characteristics of jujube juice with enzymatic hydrolysis prior to *Lactobacillus plantarum* fermentation[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2022, 16(4): 3 196-3 207.
- [48] ZHAO P C, GUAN M Z, TANG W, et al. Structural diversity, fermentation production, bioactivities and applications of triterpenoids from several common medicinal fungi: recent advances and future perspectives[J]. Fitoterapia, 2023, 166: 105470.
- [49] LI Y, LUO D, LI T, et al. Application of cellulase for contributing phenolic release and conversion in oats (*Avena sativa* L.) during microbial fermentation[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2023, 195(7): 4 277-4 291.