

微生物发酵对黑木耳总糖含量和体外调脂活性的影响

孙凯峰, 包怡红*

东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要:目的 研究微生物发酵对黑木耳总糖含量及体外调脂功能的影响, 筛选出具有改善黑木耳调脂功能的发酵菌种。方法 通过乳酸菌(植物乳杆菌、干酪乳杆菌、双歧杆菌)面包酵母、酿酒酵母、果酒酵母)与酵母菌(面包酵母、酿酒酵母、果酒酵母)单菌种或复合菌种发酵黑木耳, 测定各黑木耳发酵液的总糖含量, 以体外胆固醇吸附量、体外胆酸钠吸附量、体外胆酸钠束缚能力为指标评价各发酵液的体外调脂功能。结果 双歧杆菌和面包酵母复配对黑木耳总糖含量和体外调脂功能的影响最大, 总糖量比发酵前水提物提高了 146.58%; 体外胆固醇吸附量、体外胆酸钠吸附量、体外胆酸钠束缚力分别比发酵前水提物提高了 110.04%、4.44%、27.66%, 分别比发酵前醇提物提高了 122.58%、4.07%、60.02%。结论 双歧杆菌和面包酵母混合发酵对黑木耳的总糖含量和体外调脂功能有显著提升作用。

关键词: 黑木耳; 乳酸菌; 酵母菌; 微生物发酵; 体外调脂功能

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)16-3781-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.16.009

Effect of microbial fermentation on total sugar content and *in vitro* hypolipidemic effect of *Auricularia auricula*

SUN Kai-feng, BAO Yi-hong

College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To study the effect of microbial action on total sugar content and the *in vitro* hypolipidemic effect of *Auricularia auricula*, and to screen out the bacteria which can enhance the lipid-lowering function. **Methods** Through the fermentation of *A. auricula*, the total sugar content of the fermenting liquid of *A. auricula* was detected, and the total cholesterol extraction, the amount of cholesterol adsorption *in vitro*, the adsorption amount of sodium cholate *in vitro*, and the binding of sodium cholate *in vitro* were used as indexes to analyze the change of lipid-lowering capacity. **Results** Data analysis showed that *Bifidobacterium* and *Saccharomyces cerevisiae* compound had the greatest effect on the lipid-lowering function of *A. auricula*, and the total sugar content was increased by 146.58% compared with the pre-fermentation water extract. The extracorporeal cholesterol absorption, *in vitro* sodium cholate absorption, and sodium cholate binding were increased by 110.04%, 4.44%, and 27.66% respectively in comparison with the pre-fermentation water extract, and increased by 122.58%, 4.07%, and 60.02%, respectively when compared with the pre-fermentation ethanol extract. **Conclusion** The mixed fermentation of *Bifidobacterium* and *Saccharomyces cerevisiae* can significantly improve the total sugar content and hypolipidemic effect of *A. auricula*.

Key words: *Auricularia auricular* (L. ex Hook.) Underw.; *Lactobacillus*; *Saccharomyces*; microbial fermentation; hypolipidemic effect

黑木耳为木耳 *Auricularia auricular* (L. ex Hook.) Underw. 的子实体, 具有调血脂、降血糖、抗癌等作用^[1]。由于高脂血症对人们生命健康的威胁越来越大, 因此, 调脂药物的开发成为研究的热点, 黑木耳作为具有调脂功效的天然物质受到食品和药品领域的关注^[2]。曾峰^[3]通过实验发现, 摄入黑木耳多糖

的小鼠体内血清总胆固醇降低 46.6%, 总三酰甘油降低 46.4%, 低密度胆固醇降低 36.4%。研究发现, 乳酸菌与酵母菌等益生菌产生多种代谢产物及生物酶, 可改善肠道环境, 降低血清中的血脂水平^[4]。目前利用微生物发酵改善黑木耳调血脂功能特性的研究较少, 因此, 本实验利用乳酸菌、酵母菌以及乳

收稿日期: 2017-11-03

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2572014EA02)

作者简介: 孙凯峰 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为功能食品。

*通信作者 包怡红 (1970—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为食品生物技术与功能食品。E-mail: baoyihong@163.com

酸菌与酵母菌复配为发酵菌种,研究微生物发酵对黑木耳调血脂功能特性的影响,从而为黑木耳调脂功能性产品的开发提供理论基础及依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

黑木耳由黑龙江省大兴安岭地区加格达奇林业局提供,经黑龙江省科学院微生物研究所张丕奇研究员鉴定为木耳 *Auricularia auricular* (L. ex Hook.) Underw. 的干燥子实体; α -淀粉酶,上海源叶生物科技有限公司;猪胆酸钠、胃蛋白酶、胰酶,北京博奥拓达有限公司;胆固醇,天津市光复精细化工研究所;植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, ATCC 8014)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*, ATCC 393)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*, ATCC 25921)、面包酵母、酿酒酵母、果酒酵母均为东北林业大学林学院食品微生物实验室保存菌种;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FW100型高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;HHS型电热恒温水浴锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;722型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;HZQ-X100震荡培养箱,哈尔滨市东明医疗设备厂。

2 方法

2.1 黑木耳微生物发酵液及提取物的制备

将干燥的黑木耳泡发清洗后热风干燥,粉碎后过100目筛,得到黑木耳粉,备用。

2.1.1 微生物发酵液的制备 黑木耳粉以1:100的料液比与蒸馏水充分混合,分别取100 mL于250 mL锥形瓶中,在121 °C灭菌20 min,接入发酵菌种。乳酸菌分别为植物乳杆菌、干酪乳杆菌、双歧杆菌,接种量2%,在37 °C条件下培养48 h。酵母菌分别为面包酵母、酿酒酵母、果酒酵母,接种量2%,在28 °C、120 r/min的条件下培养48 h。混合发酵组依次接入乳酸菌与酵母菌的复配菌种,接种量2%(乳酸菌与酵母菌的比例为1:1),在30 °C、120 r/min的条件下培养48 h。发酵结束后,离心取上清液,得到黑木耳发酵液,4 °C冷藏备用。

2.1.2 黑木耳提取液的制备 称取一定量的黑木耳粉,以1:100的料液比分别与蒸馏水或无水乙醇充分混合。分装于250 mL锥形瓶中密封,在40 °C的条件下水浴浸提10 h,离心取上清,得到黑木耳水提物及醇提物,4 °C冷藏备用^[5]。

2.2 黑木耳受试样品总糖的测定

2.2.1 葡萄糖标准曲线的绘制 参考徐丽萍等^[6]的实验方法进行葡萄糖标准曲线的绘制,得出回归方程 $Y=0.009\ 11\ X+0.013\ 75$, $R^2=0.999\ 36$ 。

2.2.2 总糖质量分数的测定 取“2.1”项下制备的各样品1 mL于试管中,加入5%苯酚1 mL及浓硫酸5.0 mL,摇匀冷却,室温放置20 min,490 nm处测定吸光度值,依据标准曲线计算出总糖质量质量浓度,进而计算总糖质量分数。

2.3 体外调脂功能测定

2.3.1 体外胆固醇吸附能力测定 参考冯雁波等^[7]的实验方法进行胆固醇标准曲线的绘制,得出回归方程 $Y=1.734\ 33\ X+0.013\ 36$, $R^2=0.999\ 06$ 。取新鲜蛋黄,加入9倍质量的蒸馏水充分搅拌均匀。分别取25 g稀释蛋黄液于100 mL锥形瓶中,分别加入1.00 g黑木耳提取液或发酵液,将pH调至2.0和7.0,37 °C、120 r/min震荡2 h。震荡完毕后,取0.4 mL上清液,邻苯二甲醛法进行处理,在550 nm处测定吸光度值,按标准曲线计算胆固醇含量^[8],计算胆固醇吸附量。

吸附量=(吸附前蛋黄液中胆固醇量-吸附后上清液中胆固醇量)/样品质量

2.3.2 体外胆酸钠吸附能力测定 参考李德海等^[9]的实验方法进行胆酸钠标准曲线的绘制,得出回归方程 $Y=1.175\ 71\ X-0.002\ 76$, $R^2=0.999\ 59$ 。用0.15 mol/L的NaCl溶液溶解0.2 g胆酸钠,定容至100 mL。加入250 mL锥形瓶中,调节pH为7.0,加入1.0 g发酵液,搅拌均匀,37 °C、120 r/min条件下水浴震荡2 h,取1 mL处理后溶液,糠醛比色法测定胆酸钠的含量,计算胆酸钠吸附量。

吸附量=(吸附前胆酸钠量-吸附后胆酸钠量)/样品质量

2.3.3 体外模拟胆酸钠束缚能力测定 参照Zacherl^[10]的方法略作修改,分别取4 g样品于100 mL锥形瓶当中,加入10 mL淀粉酶缓冲液,用1 mol/L的NaOH调节pH值至6.9,37 °C、120 r/min水浴震荡5 min;添加10 mL NaCl溶液,用1 mol/L的HCl调节pH值至2.0,添加600 μ L胃蛋白酶缓冲液,37 °C、120 r/min水浴震荡3 h;添加10 mL胰酶/胆酸钠缓冲液,充分搅拌均匀,用1 mol/L的NaOH调节pH值至6.9,添加水的总质量为80 g,37 °C、120 r/min水浴震荡3 h。随后将20 g经消化的样品装入透析袋,放入装有100 mL蒸馏水的250 mL烧杯中,放入一个直径为2 cm的塑料球,模拟

十二指肠蠕动,密封烧杯,37℃、90 r/min 水浴震荡 3 h,取透析袋周围液体,使其在 95℃条件下灭酶 5 min,测定透析前与透析后的胆酸钠含量,计算样品对胆酸钠的束缚力(BA)。

$BA = 1 - \text{透析液中胆酸钠含量} / \text{透析前胆酸钠含量}$

2.4 统计学方法

实验数据利用 SPSS 20.0 进行统计分析,各组的差异显著性采用单因素方差分析和 Duncan 氏多重比较。

3 结果

3.1 样品中总糖量比较

3.1.1 单菌发酵对总糖量的影响 黑木耳各单菌发酵样品中总糖质量分数与黑木耳提取物中总糖质量分数进行比较,结果见表 1。各单一菌种发酵后黑木耳发酵液均较水提物中总糖的量增加,其中酵母

表 1 黑木耳单菌和复合菌种发酵液中总糖质量分数的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Comparison on total sugar content of *A. auricular* fermented by single and mixed bacteria ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	总糖量/(mg·g ⁻¹)
醇提物	14.61 ± 1.84***
水提物	61.91 ± 5.30 $\Delta\Delta\Delta$
植物乳杆菌	101.41 ± 1.04*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
干酪乳杆菌	117.34 ± 6.92*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
双歧杆菌	138.74 ± 2.14*** $\Delta\Delta\Delta$ Δ
面包酵母	93.03 ± 5.90*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
酿酒酵母	121.76 ± 3.83*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
果酒酵母	86.37 ± 2.04*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
植物乳杆菌与面包酵母	102.53 ± 3.60*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
植物乳杆菌与酿酒酵母	112.33 ± 1.68*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
植物乳杆菌与果酒酵母	142.56 ± 2.46*** $\Delta\Delta\Delta$
干酪乳杆菌与面包酵母	119.36 ± 1.70*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
干酪乳杆菌与酿酒酵母	112.11 ± 1.43*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
干酪乳杆菌与果酒酵母	93.99 ± 3.57*** $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$
双歧杆菌与面包酵母	152.66 ± 2.32*** $\Delta\Delta\Delta$ ###
双歧杆菌与酿酒酵母	152.51 ± 3.22*** $\Delta\Delta\Delta$ ###
双歧杆菌与果酒酵母	68.56 ± 1.43* $\Delta\Delta\Delta$ ### $\Delta\Delta\Delta$

与黑木耳水提物比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$; 与黑木耳醇提物比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; 与双歧杆菌发酵液比较: ### $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与双歧杆菌与面包酵母发酵液比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs pre-fermentation water extract; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs pre-fermentation ethanol extract; ### $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs *Bifidobacterium*-fermentation; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs *Bifidobacterium* and baker's yeast fermentation

菌中酿酒酵母发酵后对总糖的影响最大,乳酸菌中双歧杆菌发酵后对总糖量的影响最大,双歧杆菌发酵液是 6 种微生物发酵后总糖量提升最为明显的,可达到 138.74 mg/g,与黑木耳水提物相比提高了 124.10%,与黑木耳醇提物相比提高了 849.62%。

3.1.2 复合菌种发酵对总糖量的影响 将乳酸菌与酵母菌复配对黑木耳进行发酵,分别测定复合菌发酵液中总糖的质量分数并与黑木耳提取物及双歧杆菌发酵组中总糖质量分数进行比较,结果见表 1。各复合菌种发酵后黑木耳总糖的量较黑木耳水提物均有提升,其中双歧杆菌与面包酵母复合是 9 种复合菌中对总糖量提升最明显的,发酵液总糖质量分数可达到 152.66 mg/g,与黑木耳水提物相比提高了 146.58%,与黑木耳醇提物相比提高了 944.90%,与单菌发酵中的双歧杆菌相比提高了 10.06%,与双歧杆菌和酿酒酵母复合发酵液之间差异不显著($P > 0.05$),说明复合菌发酵后的黑木耳总糖的量要高于单菌发酵。

3.2 体外调脂功能比较

3.2.1 单菌发酵 pH 值 2.0 条件下对胆固醇的吸附能力 测定单菌发酵液在 pH 值 2.0 条件下的胆固醇吸附能力,并与黑木耳水提物和醇提物在 pH 值 2.0 条件下的胆固醇吸附能力进行比较,结果见表 2。可见在 pH 值 2.0 条件下,各单菌发酵后黑木耳对胆固醇吸附能力均有提升,乳酸菌中双歧杆菌发酵后对提升胆固醇吸附能力最强,酵母菌中果酒酵母、酿酒酵母发酵后对提升胆固醇吸附能力最强;双歧杆菌对黑木耳胆固醇吸附能力的提升最为明显,其发酵液对胆固醇的吸附量可达到 215.07 mg/g,与黑木耳水提物相比提高了 102.90%,与黑木耳醇提物相比提高了 113.53%,与酿酒酵母、果酒酵母之间差异不显著($P > 0.05$)。

3.2.2 复合菌种发酵 pH 值 2.0 条件下对胆固醇的吸附能力 测定复合菌种发酵液在 pH 2.0 条件下的胆固醇吸附能力,并与黑木耳水提物和醇提物在 pH 2.0 条件下的胆固醇吸附能力进行比较,结果见表 2。在 pH 值 2.0 条件下,双歧杆菌与面包酵母发酵液是 9 种复合菌发酵液中对胆固醇吸附能力最强的,胆固醇吸附量可达到 224.18 mg/g,与黑木耳水提物相比提高了 110.04%,与黑木耳醇提物相比提高了 122.58%,与单菌发酵中的双歧杆菌相比提高了 4.24%,与植物乳杆菌与酿酒酵母、双歧杆菌与酿酒酵母、植物乳杆菌与果酒酵母、干酪乳杆菌与酿酒

表 2 黑木耳单菌和复合菌种发酵液对体外胆固醇的吸附能力比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Comparison on *A. auricular* fermenting liquid fermented by single and mixed bacteria adsorption capacity of cholesterol *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	胆固醇吸附量/(mg·g ⁻¹)		组别	胆固醇吸附量/(mg·g ⁻¹)	
	pH 值 2.0	pH 值 7.0		pH 值 2.0	pH 值 7.0
醇提物	100.72 ± 8.80	179.73 ± 27.62 ^{*□□}	植物乳杆菌与面包酵母	91.49 ± 5.86 ^{###▲▲}	117.04 ± 5.94 ^{####Δ□□}
水提物	106.73 ± 7.67	212.58 ± 5.29 ^{Δ□□}	植物乳杆菌与酿酒酵母	205.46 ± 15.28 ^{***}	86.16 ± 7.64 ^{#####ΔΔ□□}
植物乳杆菌发酵液	180.63 ± 1.67 ^{***ΔΔΔ}	131.12 ± 14.03 ^{***ΔΔ###□□}	植物乳杆菌与果酒酵母	174.97 ± 11.76 ^{**▲}	199.84 ± 24.20 ^{□□}
干酪乳杆菌发酵液	188.21 ± 3.35 ^{***ΔΔΔ}	213.00 ± 6.93 ^{Δ□}	干酪乳杆菌与面包酵母	146.13 ± 21.89 ^{▲▲▲}	217.67 ± 27.99 [□]
双歧杆菌发酵液	215.07 ± 0.95 ^{***ΔΔΔ}	216.24 ± 6.35 ^{Δ□}	干酪乳杆菌与酿酒酵母	178.14 ± 21.86 ^{**▲}	272.37 ± 25.68 ^{ΔΔ}
面包酵母发酵液	183.09 ± 2.62 ^{***ΔΔΔ}	202.51 ± 1.56 ^{□□}	干酪乳杆菌与果酒酵母	179.92 ± 16.79 ^{**▲}	250.89 ± 24.69 ^Δ
酿酒酵母发酵液	198.08 ± 3.67 ^{***ΔΔΔ}	215.88 ± 6.63 ^{Δ□}	双歧杆菌与面包酵母	224.18 ± 19.82 ^{***}	223.95 ± 18.49
果酒酵母发酵液	203.08 ± 14.04 ^{***ΔΔΔ}	190.02 ± 0.72 ^{#□□}	双歧杆菌与酿酒酵母	182.78 ± 22.35 ^{**}	238.19 ± 19.27
			双歧杆菌与果酒酵母	150.80 ± 16.00 ^{▲▲}	216.24 ± 3.52 [□]

与黑木耳水提物比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$; 与黑木耳醇提物比较: ^Δ $P < 0.05$ ^{ΔΔ} $P < 0.01$ ^{ΔΔΔ} $P < 0.001$; 与双歧杆菌发酵液比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与双歧杆菌与面包酵母发酵液比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ ^{▲▲▲} $P < 0.001$; 与干酪乳杆菌与酿酒酵母发酵液比较: [□] $P < 0.05$ ^{□□} $P < 0.01$ ^{□□□} $P < 0.001$, 下表同

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs pre-fermentation water extract; ^Δ $P < 0.05$ ^{ΔΔ} $P < 0.01$ ^{ΔΔΔ} $P < 0.001$ vs pre-fermentation ethanol extract; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs *Bifidobacterium*-fermentation; [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ ^{▲▲▲} $P < 0.001$ vs *Bifidobacterium* and baker's yeast fermentation; [□] $P < 0.05$ ^{□□} $P < 0.01$ ^{□□□} $P < 0.001$ vs *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation; same as tables

酵母、干酪乳杆菌与果酒酵母之间差异不显著 ($P > 0.05$), 说明适宜的复合菌发酵液在 pH 值 2.0 条件下的降胆固醇能力要优于单菌发酵液。

3.2.3 单菌发酵 pH 值 7.0 条件下对胆固醇的吸附能力 测定单菌发酵液在 pH 值 7.0 条件下的胆固醇吸附能力, 并与黑木耳水提物和醇提物在 pH 值 7.0 条件下的胆固醇吸附能力进行比较, 结果见表 2。在 pH 值 7.0 条件下, 酵母菌中酿酒酵母发酵液对胆固醇吸附能力最强, 乳酸菌中双歧杆菌、干酪乳杆菌发酵液对胆固醇吸附能力最强。双歧杆菌是 6 种微生物中对黑木耳胆固醇吸附能力影响明显的, 其发酵液对胆固醇的吸附量可达 216.24 mg/g, 与黑木耳水提物相比提高了 1.72%, 与黑木耳醇提物相比提高了 20.31%。与酿酒酵母、干酪乳杆菌差异不显著 ($P > 0.05$)。

3.2.4 复合菌种发酵 pH 值 7.0 条件下对胆固醇的吸附能力 测定复合菌种在 pH 值 7.0 条件下的胆固醇吸附能力, 并与黑木耳水提物和醇提物在 pH 值 7.0 条件下的胆固醇吸附能力进行比较, 结果见表 2。在 pH 值 7.0 条件下, 干酪乳杆菌与酿酒酵母是 9 种复合菌发酵后胆固醇吸附能力提升最为明显的, 可达 272.37 mg/g, 与黑木耳水提物相比提高了 28.13%, 与黑木耳醇提物相比提高了 51.54%, 与单菌发酵中的双歧杆菌相比提高了 25.96%, 和干酪乳

杆菌与果酒酵母、双歧杆菌与酿酒酵母、双歧杆菌与面包酵母之间差异不显著 ($P > 0.05$), 说明适宜的复合菌发酵液在 pH 7.0 条件下的降胆固醇能力要优于单菌发酵。

3.2.5 单菌发酵对黑木耳体外胆酸钠吸附能力的影响 测定单菌发酵液的体外胆酸钠吸附能力, 并与黑木耳水提物和醇提物的体外胆酸钠吸附能力进行比较, 结果见表 3。酵母菌中酿酒酵母、果酒酵母发酵后对黑木耳的胆酸钠吸附能力影响最大, 乳酸菌中双歧杆菌、干酪乳杆菌发酵后对黑木耳的胆酸钠吸附能力影响最大, 酿酒酵母是 6 种微生物中对黑木耳胆酸钠吸附能力提升最明显的, 其发酵液对胆酸钠的吸附量可达 176.29 mg/g, 与黑木耳水提物相比提高了 5.00%, 与黑木耳醇提物相比提高了 4.63%, 与果酒酵母之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

3.2.6 复合发酵对黑木耳体外胆酸钠吸附能力的影响 测定复合菌种发酵液的体外胆酸钠吸附能力, 并与黑木耳水提物和醇提物的体外胆酸钠吸附能力进行比较, 结果见表 3。双歧杆菌与酿酒酵母是 9 种复合菌发酵后对黑木耳胆酸钠吸附能力提升最为明显的, 其发酵液对胆酸钠吸附量可达 176.33 mg/g, 与黑木耳水提物相比提高了 5.02%, 与黑木耳醇提物相比提高了 4.65%, 与单菌发酵中的酿酒酵母相比提高了 0.02%, 与双歧杆菌与面包酵母、

表 3 黑木耳单菌和复合菌种发酵液对体外胆酸钠的吸附能力比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 3 Comparison on *A. auricular* fermented by single and mixed bacteria adsorbability of sodium cholate *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	胆酸钠吸附量/(mg·g ⁻¹)
醇提物	168.49±1.46 ^{###}
水提物	167.90±1.08 ^{###}
植物乳杆菌	173.03±0.42 ^{***ΔΔΔ##▲▲▲}
干酪乳杆菌	175.10±0.78 ^{***ΔΔΔ}
双歧杆菌	175.21±0.34 ^{***ΔΔΔ}
面包酵母	172.89±0.59 ^{***ΔΔΔ}
酿酒酵母	176.29±0.39 ^{***ΔΔΔ}
果酒酵母	176.26±0.49 ^{***ΔΔΔ}
植物乳杆菌与面包酵母	173.55±0.89 ^{***ΔΔΔ##▲▲}
植物乳杆菌与酿酒酵母	175.88±0.33 ^{***ΔΔΔ}
植物乳杆菌与果酒酵母	175.94±0.35 ^{***ΔΔΔ}
干酪乳杆菌与面包酵母	175.04±0.66 ^{***ΔΔΔ}
干酪乳杆菌与酿酒酵母	176.08±0.74 ^{***ΔΔΔ}
干酪乳杆菌与果酒酵母	174.49±0.44 ^{***ΔΔΔ#▲}
双歧杆菌与面包酵母	175.35±0.37 ^{***ΔΔΔ}
双歧杆菌与酿酒酵母	176.33±0.90 ^{***ΔΔΔ}
双歧杆菌与果酒酵母	174.38±0.70 ^{***ΔΔΔ#▲}

干酪乳杆菌与酿酒酵母、干酪乳杆菌与面包酵母、植物乳杆菌与果酒酵母、植物乳杆菌与酿酒酵母组之间差异不显著 ($P>0.05$)。

3.2.7 单菌发酵对黑木耳体外胆酸钠束缚能力的影响 测定单菌发酵液的体外胆酸钠束缚能力,并与黑木耳水提物和醇提物的体外胆酸钠束缚能力进行比较,结果见表 4。酵母菌中面包酵母、酿酒酵母发酵后对黑木耳的胆酸钠束缚能力影响最大,乳酸菌中双歧杆菌发酵后对黑木耳胆酸钠束缚能力影响最大。面包酵母是 6 种微生物中对黑木耳胆酸钠束缚能力提升最为明显的,BA 可达到 27.15%,与黑木耳水提物相比提高了 12.75%,与黑木耳醇提物相比提高了 41.35%,与酿酒酵母、双歧杆菌之间差异不显著 ($P>0.05$)。

3.2.8 复合菌种发酵对黑木耳体外胆酸钠束缚能力的影响 测定复合菌种发酵液的体外胆酸钠束缚能力,并与黑木耳水提物和醇提物的体外胆酸钠束缚能力进行比较,结果见表 4。复合菌种发酵后黑木耳的

表 4 黑木耳单菌和复合菌种发酵液对体外胆酸钠束缚力的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 4 Comparison on *A. auricular* fermented by single and mixed bacteria binding force of bile acid *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	BA/%
醇提物	19.21±0.20 ^{***}
水提物	24.08±0.29 ^{ΔΔΔ##}
植物乳杆菌	25.08±1.28 ^{***▲}
干酪乳杆菌	21.81±3.23 ^{***ΔΔ#▲▲▲}
双歧杆菌	26.53±1.40 ^{***ΔΔ}
面包酵母	27.15±1.45 ^{***ΔΔΔ}
酿酒酵母	27.09±0.76 ^{***ΔΔΔ}
果酒酵母	16.29±1.73 ^{***ΔΔΔ##▲▲}
植物乳杆菌与面包酵母	29.24±1.06 ^{***}
植物乳杆菌与酿酒酵母	27.89±1.20 ^{**}
植物乳杆菌与果酒酵母	27.71±0.30 ^{**}
干酪乳杆菌与面包酵母	27.07±1.26 ^{**}
干酪乳杆菌与酿酒酵母	26.83±1.24 ^{**}
干酪乳杆菌与果酒酵母	28.51±0.22 ^{**}
双歧杆菌与面包酵母	30.74±5.95 ^{***Δ}
双歧杆菌与酿酒酵母	28.80±4.00 ^{**}
双歧杆菌与果酒酵母	26.89±2.77 ^{**}

体外胆酸钠束缚能力均有所提高,双歧杆菌与面包酵母是 9 种复合菌中对黑木耳胆酸钠束缚能力提升最为明显的,BA 可达 30.74%,与黑木耳水提物相比提高了 27.66%,与黑木耳醇提物相比提高了 60.02%,与单菌发酵中的面包酵母相比提高了 13.22%,与黑木耳水提物与醇提物之间差异显著 ($P<0.05$ 、 0.01),但与其他复合菌之间差异不显著 ($P>0.05$)。

3.3 最优菌种确定

通过 SPSS 20 软件进行显著性分析,结果表明,在总糖量的影响方面,双歧杆菌与面包酵母>双歧杆菌;在胆固醇吸附量的影响方面,双歧杆菌与面包酵母>双歧杆菌;在胆酸钠吸附量的影响方面,双歧杆菌与酿酒酵母>酿酒酵母;在胆酸钠束缚能力的影响方面,双歧杆菌与面包酵母>面包酵母;由此可见,双歧杆菌与面包酵母混合发酵的黑木耳具有更好的体外调脂能力。

4 讨论

本实验针对微生物发酵对黑木耳体外调脂功能特性的影响进行研究,对发酵后上清液的体外调

脂功能进行分析,并与黑木耳水提物及醇提物进行比较,以总糖质量分数及体外胆固醇吸附能力、胆酸钠吸附能力、胆酸钠束缚能力为指标,进行综合评价。各复合菌种发酵后黑木耳总糖的量较黑木耳水提物与醇提物均有提升,同时复合菌发酵后的黑木耳总糖的量要高于单菌发酵,管晓冉等^[11]在双歧杆菌发酵果蔬汁的研究中发现双歧杆菌能够提升果蔬汁液中的总糖含量结果类似;各复合菌种发酵后黑木耳总糖的量较黑木耳水提物均有提升,同时复合菌发酵后的黑木耳总糖的量要高于单菌发酵。复合菌种优于单菌发酵可能是由于乳酸菌与酵母菌存在共生,增加彼此的活菌数^[12],以及相关酶类的活性,使得总糖的量进一步提升。体外调脂功能结果分析表明单菌发酵及复合菌种发酵均能提升黑木耳的体外胆固醇吸附能力、胆酸钠吸附能力及胆酸钠束缚能力。微生物发酵后体外胆固醇吸附能力增强可能是由于发酵液当中的多糖含量提升^[13],多糖具备降胆固醇能力,进而使得胆固醇的吸附能力提升。复合菌发酵后降胆固醇功能提升可能是由于乳酸菌与酵母菌相互作用增加总糖量,而部分多糖能够将脂肪包埋形成难以被人体消化的絮状物,进而达到调脂的目的^[14]。微生物作用后胆酸钠吸附能力上升可能是因为提升了黑木耳上清液当中的多糖含量,多糖对胆酸盐具备一定的吸附能力^[15],进而提升了胆酸钠吸附量。胆酸钠吸附力越高,说明其降胆固醇效果越好,因为结合胆酸盐结合能力越强,胆固醇在肝脏中转化为胆汁酸的速度越快,从而达到调脂的目的^[16]。胆酸钠束缚力是通过建立体外肠道模型,减少更多因素的干扰^[17],以此来分析上清液与胆酸盐之间的相互关系。从实验结果中可以看出,黑木耳通过适宜菌种发酵能够显著提升上清液的胆酸盐束缚能力。胆酸钠束缚力越强,结合的胆酸钠在肠道消化排泄过程当中结合的越牢固,调脂效果越明显^[7]。双歧杆菌与面包酵母发酵后上清液胆酸钠束缚力比面包酵母发酵后要高,说明适宜的复合菌发酵后胆酸钠吸附能力要优于单菌发酵。

综合分析表明,双歧杆菌与面包酵母混合发酵对黑木耳的体外调脂功能特性影响最强,能够显著提升总糖的量,提高体外胆固醇吸附能力、胆酸钠吸附能力与胆酸钠束缚能力,促进黑木耳的调脂功能活性。郭羽等^[18]通过研究发现,微生物发酵能够提升药材中的多糖含量及产率,这与本实验当中微

生物发酵后总糖提取量提升相类似。蒲博等^[19]通过研究发现乳酸菌能够进行胆固醇的体外降解,并且不同乳酸菌菌株对胆固醇的降解作用不同。还发现同一菌株即使在同一批次对胆固醇的降解率也存在较大的差异,这说明乳酸菌降胆固醇能力与菌株的生长情况密切相关。乳酸菌与酵母菌存在共生,能够增加彼此的活菌数,促进彼此生长。因此,通过乳酸菌与酵母菌对黑木耳进行复合发酵,上清液具备更好的体外调脂能力。

本实验通过单菌与复合菌对黑木耳进行发酵,依据各指标筛选出最佳的复合菌,通过体外调脂能力评价证实了复合菌发酵后上清液具备更良好的调脂能力,为调脂药物与功能性食品的开发提供了理论基础,具有应用指导意义。但具体的调脂功能机制仍需深入研究确定,微生物发酵提升黑木耳调脂功能特性也需体内实验验证。

参考文献

- [1] 王佰灵, 谢勇, 赵永恒, 等. 黑木耳多糖药理作用研究进展 [J]. 中国医药导报, 2016, 13(26): 29-32.
- [2] Luo Y C, Chen G, Li B, et al. Evaluation of antioxidative and hypolipidemic properties of a novel functional diet formulation of *Auricularia auricula* and Hawthorn [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2008, 10(2): 215-221.
- [3] 曾峰. 黑木耳菌质多糖分离纯化及其降血脂活性初步研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [4] 王宝琴, 徐泽平, 王彦美. 酵母油脂成分分析及其复合软胶囊辅助降血脂功能研究 [J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 39(4): 65-68.
- [5] 康苗苗. 地木耳浸提物的提取及其护肤功效基础研究 [D]. 太原: 山西大学, 2015.
- [6] 徐丽萍, 吴媛媛, 王鑫, 等. 响应曲面法优化红树莓多糖提取工艺 [J]. 中国食品添加剂, 2017(9): 182-187.
- [7] 冯雁波, 包怡红. 超微粉碎对松仁膳食纤维体外降血糖、降血脂功能的影响 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(23): 342-346.
- [8] Sangnark A, Noomhorm A. Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse [J]. *Food Chem*, 2003, 80(2): 221-225.
- [9] 李德海, 杜令娟, 康宁, 等. 提取技术对粗毛纤孔菌三萜类化合物制备及体外降血脂作用的影响 [J]. 食品科学, 2018, 39(10): 291-297.
- [10] Zacherl C, Eisner P, Engel K H. *In vitro* model to correlate viscosity and bile acid-binding capacity of digested water-soluble and insoluble dietary fibres [J]. *Food Chem*, 2011, 126(2): 423-428.

- [11] 管晓冉, 张德纯, 席 青. 双歧杆菌发酵果蔬汁营养成分分析及保质期观察 [J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(7): 587-590.
- [12] 段小果, 李 博, 贺银凤. 乳酸菌与酵母菌共生理的研究进展 [J]. 微生物学通报, 2017, 44(8): 1988-1995.
- [13] 王 凯, 李 敏, 张言捷, 等. 孔石莼多糖及其磺化衍生物 HU 体外结合脂类和胆固醇的研究 [J]. 药学研究, 2013, 32(7): 379-383.
- [14] 叶小弟, 郑高利. 冬虫夏草及其菌丝体多糖免疫药理学研究进展 [J]. 中国中医药科技, 2014, 21(1): 107-109.
- [15] 姚 珩, 朱 慧, 陈 野, 等. 羊肚菌发酵豆渣生产多糖及其功能性的研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(9): 149-153.
- [16] Jiao R, Ze S, Yu H J, *et al.* Hypo-cholesterolemic activity of grape seed proanthocyanidin is mediated by enhancement of bile acid excretion and up-regulation of CYP7A1 [J]. *Nutr Biochem*, 2011, 21(11): 1134-1139.
- [17] 何平伟. 三种不同谷物可溶性 (1→3)(1→4)-β-D-葡聚糖结构与束缚胆汁酸特性的对比研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [18] 郭 羽, 刘必旺, 徐荣芳, 等. 酵母发酵技术对黄芪中多糖含量的影响 [J]. 山西中医学院学报, 2012, 13(3): 63-65.
- [19] 蒲 博, 张驰翔, 王 周, 等. 乳酸菌降胆固醇作用及其机理的研究进展 [J]. 中国酿造, 2014, 33(7): 5-9.