燕乐, 王文涛, 李诚, 等. 茶树菇固态发酵对小麦糊粉层中酶活性及理化性质的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(2): 191−198. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120419

YAN Le, WANG Wentao, LI Cheng, et al. Effects of Solid-state Fermentation by *Agrocybe aegerita* on Enzyme Activities and Physicochemical Properties of Wheat Aleurone layer[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(2): 191−198. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120419

·生物工程·

茶树菇固态发酵对小麦糊粉层中酶活性及理化性质的影响

燕　乐, 王文涛, 李　诚, 侯汉学, 张锦丽*

（山东农业大学食品科学与工程学院, 山东 泰安 271018）

摘　要: 为了提高小麦糊粉层的利用价值，本文选用茶树菇对糊粉层进行固态发酵，测定了发酵过程中纤维素酶（滤纸酶、内切葡聚糖酶和 *β*-葡萄糖苷酶）、木聚糖酶、漆酶、阿魏酰酯酶和淀粉酶活性以及还原糖、可溶性戊聚糖和总酚含量的变化，同时评估了发酵后糊粉层的抗氧化能力。结果显示，滤纸酶和内切葡聚糖酶活力在发酵第 15 d 同时达到最大值，分别为 3.32 U/g 和 5.93 U/g，随后呈现逐渐下降的趋势；而 *β*-葡萄糖苷酶及木聚糖酶活力在发酵第 18 d 时分别达到 3.27 U/g 和 10.00 U/g，之后酶活力逐渐下降。与未发酵的糊粉层相比，还原糖、可溶性戊聚糖及游离态酚类物质含量都有显著增加（P<0.05），分别提升了 374.22%、162.53% 和 34.90%。发酵后基质的 $ABTS^{+}$·清除能力和 DPPH·清除能力分别提高了 70.06% 和 35.50%。综上，茶树菇能够在糊粉层基质表面形成稳定的菌丝网络，并且能够高效利用基质中的碳氮源以满足菌体自身生长。同时，发酵后糊粉层的抗氧化能力也得到了改善，本研究为小麦糊粉层真菌固态发酵改性及高值化利用提供了理论支撑。

关键词: 茶树菇, 固态发酵, 小麦糊粉层, 酶活性, 理化性质

中图分类号: TS210.9　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)02−0191−08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120419

本文网刊:

Effects of Solid-state Fermentation by *Agrocybe aegerita* on Enzyme Activities and Physicochemical Properties of Wheat Aleurone layer

YAN Le，**WANG Wentao**，**LI Cheng**，**HOU Hanxue**，**ZHANG Jinli***

（College of Food Science and Engineering, Shangdong Agricultural Univercity, Tai'an 271018, China）

Abstract: This study aimed to enhance the utility of the wheat aleurone layer through solid-state fermentation using *Agrocybe aegerita*. The investigation monitored the dynamic changes in cellulase activities, including filter paper enzyme, endoglucanase, and *β*-glucosidase, as well as xylanase, laccase, feruloyl esterase, and amylase activities. The contents of reducing sugars, soluble pentosans, and total phenolics were also monitored throughout the fermentation process. The antioxidant capacity of the fermented aleurone layer was evaluated. The data revealed that filter paper enzyme and endoglucanase activities peaked on day 15, with values of 3.32 U/g and 5.93 U/g respectively, before gradually declining. In contrast, *β*-glucosidase and xylanase activities reached their peaks on day 18, with figures of 3.27 U/g and 10.00 U/g respectively. Compared to unfermented aleurone layer, the contents of reducing sugars, soluble pentosans, and free phenolics showed significant increases of 374.22%, 162.53%, and 34.90% respectively (P<0.05). The fermented substrate also exhibited improved DPPH·and $ABTS^{+}$· scavenging capacities, with increases of 70.06% and 35.50%, respectively. These findings indicate that *Agrocybe aegerita* successfully established a stable mycelial network on the aleurone layer, efficiently utilizing carbon and nitrogen sources for growth. Moreover, SSF enhanced the antioxidant capacity of the wheat

收稿日期: 2025−01−02

基金项目: 山东省重大科技创新工程（2023CXGC010706）。

作者简介: 燕乐（1999−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 粮食油脂及植物蛋白工程, E-mail: 1248922669@qq.com。

*** 通信作者:** 张锦丽（1974−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: jlizh21@sdau.edu.cn。

aleurone layer, providing theoretical insights into fungal fermentation-based modifications and high-value utilization of this by-product.

Key words: *Agrocybe aegerita*; solid-state fermentation; wheat aleurone layer; enzymatic activity; physicochemical properties

糊粉层是小麦加工副产物, 富含多种生物活性成分, 包括膳食纤维、蛋白质、B 族维生素、矿物质和酚类化合物等。这些成分具有抗氧化、抗衰老、消炎抑菌等作用, 并且能够有效预防心血管疾病, 同时还能降低多种癌症的发病率[1]。然而, 糊粉层中生物活性成分大多与木质素或其他细胞壁聚合物相连, 导致其生物可及性和生物利用率很低[2]。因此, 如何有效释放和利用糊粉层中的生物活性物质, 已成为当前研究的重点。基于糊粉层资源丰富性和营养富集性的特点, 通过改善糊粉层的加工性能和营养组成, 不仅能够提升这一天然食物资源的利用价值, 还能推动小麦加工业的升级, 形成新的经济增长点[3]。

近年来, 微生物发酵技术广泛应用于谷物营养和加工性能的改良研究。其中, 固态发酵因其高效、节水、低成本等优势, 在谷物高值化利用中展现出广阔的应用前景[4]。研究表明, 固态发酵不仅能够提高谷物的营养价值, 优化其营养结构, 还能够提高营养物质在人体的吸收率[5]。在固态发酵中, 药食真菌和酵母因其适应低水分环境的能力, 成为常见的微生物菌种。茶树菇作为一种高膳食纤维、低脂肪的药食真菌, 不仅富含人体所需的氨基酸和微量元素, 还包含具有抗癌活性的多糖类物质[6]。此外, 在发酵过程中, 茶树菇分泌的多种酶类(如纤维素酶、木聚糖酶和淀粉酶)能够协同作用, 降解细胞壁结构, 释放游离态活性成分(如酚类物质), 并促进可溶性戊聚糖等功能性因子的生成[7]。因此, 利用茶树菇对小麦糊粉层进行固态发酵改性, 可为谷物副产物加工提供新的研究思路和技术支撑。

本文以茶树菇为发酵菌种, 糊粉层为发酵基质, 探究固态发酵过程中关键酶(如纤维素酶、木聚糖酶、阿魏酰酯酶等)的活性变化及发酵对糊粉层中戊聚糖、还原糖和酚类物质含量的影响。同时, 通过测定发酵过程中糊粉层抗氧化能力的变化, 评估其功能特性的改善效果, 为开发高营养价值的糊粉层产品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

茶树菇(*Agrocybe aegerita*) 山东省农业科学院泰安分院提供; 小麦糊粉层 实验室自制; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA) 青岛海博生物技术有限公司; 氨基葡萄糖、乙酰丙酮、对二氨基苯甲醛、1,1-二苯基-2-苦基肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)和 p-硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷(p-Nitrophenyl-β-D-galactopyranoside, pNPG) 上海麦克林生化科技有限公司; Waterman No.1 滤纸(1 cm×6 cm) 思拓凡生物科技(杭州)有限公司; Folin-Ciocalteu 试剂和没食子酸标准品 北京索莱宝科技有限公司; 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS)、奎诺二甲基丙烯酸酯(Trolox)、植酸钠和磺基水杨酸 上海源叶生物科技有限公司; 3,5-二硝基水杨酸(DNS) 国药集团化学试剂有限公司; 试验所用试剂均为分析纯。

SPX-250BSH-Ⅱ型生化培养箱 上海新苗医疗器械有限公司; LXJ-IIB 型高速离心机 上海安亭科学仪器厂; HH-21-6 型电热恒温水浴锅 常州诺基仪器有限公司; YXQ-50SII 型立式压力蒸汽灭菌器 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; DHG-9030A 型电热鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司; HJ-6A 型数显恒温磁力搅拌器 江苏金怡仪器科技有限公司; SHA-B 型恒温振荡器 常州智伯瑞仪器制造有限公司; SpectraMaxi3x 型酶标仪 美国 Molecular 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茶树菇的活化与培养 用接种针从茶树菇斜面种子培养物中挑取一小块菌块, 接种于 PDA 平板正中央, 25 ℃ 活化菌种直至培养基表面长满白色菌丝。挑选生长状态良好的菌丝, 在菌丝边缘打孔(内径 7.5 mm)得到菌块, 挑取菌块, 菌丝向下再次接种于 PDA 平板正中央, 于 25 ℃ 培养 8 d。

1.2.2 固态发酵产物的制备 根据预实验结果, 将糊粉层装入自封袋, 按料液比 1∶1.5 的比例加入去离子水后, 充分混匀, 取 62.5 g 样品于培养瓶中, 密封, 121 ℃ 灭菌 20 min, 冷却至室温。在长满菌丝的平板外缘均匀打孔(内径 7.5 mm), 挑取 3 块菌块, 均匀接种于糊粉层基质表面, 25 ℃ 恒温培养。每隔 3 d 取出培养瓶, 60 ℃ 烘干, 粉碎过 60 目筛, −20 ℃ 保存备用。

1.2.3 固态发酵基质中生物量的测定 参照刘阳[8]的方法进行生物量的测定。准确称取 1.000 g 发酵基质, 加 5 mL 60% H_2SO_4, 室温浸泡 24 h, 将 H_2SO_4 稀释至 1 mol/L, 121 ℃ 加热 1 h, 冷却后调 pH 至 7.0, 定容到 100 mL, 取 2 mL 样液(空白为蒸馏水), 加 1 mL 乙酰丙酮试剂, 沸水浴 30 min, 冷却后加入 2 mL 无水乙醇、1 mL 对二氨基苯甲醛试剂振荡, 再加入 4 mL 无水乙醇, 60 ℃ 反应 1 h, 530 nm 处测定吸光度。以氨基葡萄糖为标准物质绘制标准曲线(Y=0.0033X+0.0831, R^2=0.9948), 按公式(1)计算。

$$生物量(mg/g)=\frac{c\times V}{w}\times 10^{-3}$$　　式（1）

式中：c：从标曲上查得样品测定液中氨基葡萄糖浓度（μg/mL）；V：样液总体积（mL）；w：样品的干重（g）。

1.2.4　发酵过程中酶活性测定

1.2.4.1　粗酶液的制备　参考魏丹华[9]的方法。将样品用提前预冷的研钵研磨均匀，研磨过程中避免温度过高，分别加入 pH 为 4.8、5.6 和 6.0 的缓冲溶液（料液比为 1∶20），磁力搅拌 30 min，在 4 ℃ 条件下，6000 r/min 离心 15 min，上清液即为粗酶液。以用沸水浴灭活 5 min 的粗酶液为对照。

1.2.4.2　纤维素酶活性测定　滤纸酶活性的测定参考魏丹华[9]的方法。取 50 mg Waterman No.1 滤纸，加入 1.5 mL 缓冲溶液于 50 ℃ 恒温水浴中预热 5 min，加入 1 mL 粗酶液在相同条件下孵育 60 min。随后立即加入 2 mL DNS 显色试剂终止反应，涡旋振荡混匀，于沸水浴中显色 10 min。快速冷却后，用去离子水定容至 10 mL，充分混匀。于540 nm 波长处测定吸光值。内切葡聚糖酶活性以1 mL 0.5%（w/v）羧甲基纤维素钠溶液为底物，孵育时间为 30 min，操作方法同滤纸酶活力的测定。滤纸酶、内切葡聚糖酶活定义（U/g）：在测定条件下，每克样品每分钟催化产生 1 μmol 葡萄糖所需酶的量，按公式（2）计算。

$$酶活力(U/g)=\frac{m\cdot 1000\cdot N\cdot V}{v\cdot T\cdot M\cdot Fw}$$　　式（2）

式中：m：由样品平均吸光度在标曲上相对应的葡萄糖含量（mg）；1000：mg 与 μg 之间的换算系数；N：粗酶液的稀释倍数；V：总粗酶液的体积（mL）；v：参与反应的粗酶液的体积（mL）；T：反应时间（min）；M：葡萄糖的分子量（180.16 g/mol）；Fw：样品干重（g）。

β-葡萄糖苷酶活性的测定参考 Xue 等[10]的方法。取 0.5 mL 0.5 mmol/L 对硝基苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷（pNPG）与 0.5 mL 缓冲溶液混合，置于 37 ℃ 恒温水浴中预热 5 min，随后加入 1 mL 粗酶液，继续孵育 30 min。反应结束后立即加入 2 mL 1 mol/L 碳酸钠（Na_2CO_3）溶液终止反应，涡旋振荡充分混匀，于 400 nm 波长处测定吸光值。β-葡萄糖苷酶活（U/g）定义：在测定条件下，每克样品每分钟水解底物生成 1 μmol 对硝基苯酚所需酶的量，按公式（3）计算。

$$酶活力(U/g)=\frac{n\cdot N\cdot V}{v\cdot T\cdot Fw}$$　　式（3）

式中：n：由样品平均吸光度在标曲上相对应的对硝基苯酚量（μmol）；N：粗酶液的稀释倍数；V：总粗酶液的体积（mL）；v：参与反应的粗酶液的体积（mL）；T：反应时间（min）；Fw：样品干重（g）。

1.2.4.3　木聚糖酶活性测定　木聚糖酶活性以 1 mL 1% 木聚糖为底物，操作方法同滤纸酶活力的测定。木聚糖酶活（U/g）定义：在测定条件下，每克样品每分钟水解底物生成 1 μmol 木糖所需酶的量，按公式（2）计算，式中 M 为木糖的摩尔质量（150.13 g/mol）。

1.2.4.4　漆酶活性测定　漆酶活性的测定参考芦红云等[11]的方法。室温下，取 400 μL 0.5 mmol/L ABTS 与 200 μL 粗酶液混合均匀。于 420 nm 波长下每隔 1 min 测定吸光度，持续 5 min，记录线性反应阶段的吸光度变化速率。漆酶活（U/g）定义：每克样本每分钟氧化 1 μmol 底物 ABTS 所需酶的量，按公式（4）计算。

$$酶活力(U/g)=\frac{V\cdot\Delta A\cdot 10^6\cdot n\cdot Vy}{Fw\cdot 36000\cdot\Delta T\cdot v\cdot L}$$　　式（4）

式中：V：参与反应的总液体的体积 0.6 mL；ΔA：计时开始到最大吸光度值时吸光度变化；10^6：mol 和 μmol 之间的转换系数；n：粗酶液的稀释倍数；36000：ABTS 氧化态的摩尔吸光系数（L/mol/cm）；v：反应酶液的体积 0.2 mL；ΔT：吸光度测定的时间（min）；L：光径（cm）；Vy：粗酶液总体积 40 mL；Fw：样品干重（g）。

1.2.4.5　阿魏酰酯酶活性测定　阿魏酰酯酶活性的测定参考王丹等[12]的方法。以 2 mL 0.5 mmol/L 阿魏酸乙酯为底物，加入冰乙酸溶液终止反应，操作方法同滤纸酶活力的测定。阿魏酰酯酶活（U/g）定义：在测定条件下，每克样品每分钟水解底物生成 1 μmol 阿魏酸所需酶的量，按公式（5）计算。

$$酶活力(U/g)=\frac{m\cdot N\cdot V}{v\cdot T\cdot M\cdot Fw}$$　　式（5）

式中：m：由样品平均吸光度在标曲上相对应的阿魏酸含量（μg）；N：粗酶液的稀释倍数；V：总粗酶液体积（mL）；v：参与反应的粗酶液的体积（mL）；T：反应时间（min）；M：阿魏酸的摩尔质量（194.18 g/mol）；Fw：样品干重（g）。

1.2.4.6　淀粉酶活性测定　淀粉酶活性以 1 mL 1% 可溶性淀粉为底物，操作方法同滤纸酶活力的测定。淀粉酶活（U/g）定义：在测定条件下，每克样品每分钟水解底物生成 1 μmol 葡萄糖所需酶的量。按公式（2）计算。

1.2.5　还原糖含量测定　参考牟佳红等[13]的方法进行测定。还原糖含量以每克干基样品中含有的毫克葡萄糖当量表示（mg/g）。

1.2.6　可溶性戊聚糖含量测定　可溶性戊聚糖含量的测定参考刘倩倩[14]的方法。取 250 mg 样品，加入 25 mL 水，磁力搅拌 30 min 后转移至离心管中，离心取上清液 10 mL，加入 10 mL 4 mol/L 盐酸溶液，于沸水浴中水解 120 min，冷却后用滤纸过滤，收集滤液备用。取 3 mL 样液，加入 0.3 mL 1% 地衣酚-无水乙醇溶液和 3 mL 0.1% 氯化铁-盐酸溶液，混匀，于沸水浴反应 30 min 后，迅速冷却至室温，用水定容至 10 mL，分别测定 670 nm、580 nm 波长下的吸光值。计算两者之差 ΔA，带入 D-木糖标准曲线，按公式（6）计算出可溶性戊聚糖含量。

$$可溶性戊聚糖含量(g/100\ g)=\frac{m\cdot n\cdot 0.88\cdot 100}{3\cdot M\cdot 10^{6}} \quad 式（6）$$

式中：m：从标曲上查得样品测定液中木糖含量（μg）；n：样品稀释倍数；0.88：单糖与聚糖之间的转换系数；M：样品质量（g）。

1.2.7 总酚含量测定 总酚含量的测定参考 Zhang 等[15] 的方法。取 0.5 mL 样液，依次加入7.0 mL 去离子水和 0.5 mL 的福林酚试剂，混合均匀。室温下静置 3 min，加入 2 mL 5% Na_2CO_3 溶液。对照组以甲醇代替反应剂。混匀后，于 30 ℃ 水浴反应 30 min。冷却后，测定 765 nm 处的吸光度。以没食子酸标准曲线（Y=5.5242X+0.0618，R^2=0.998）计算样品中总酚的质量含量（mg/g）。

1.2.8 抗氧化能力的测定

1.2.8.1 $ABTS^{+}$·清除能力测定 $ABTS^{+}$·清除能力测定参考 Zhang 等[15] 的方法调整后进行测定。取 5 mg 样品加入 6 mL ABTS 试剂，避光振荡反应 20 min，离心取上清液，待反应 30 min 后，于 734 nm 处测定吸光度。以 Trolox 为标准品带入回归方程计算提取物中 $ABTS^{+}$·清除能力（mmol TE/kg）。

1.2.8.2 DPPH· 清除能力测定 参考 Xu 等[16] 的方法调整后测定。5 mg 样品加入 6 mL DPPH 试剂，涡旋混匀，避光振荡反应 50 min，离心取上清液，待反应 60 min 后，于 517 nm 处测定吸光度。以 Trolox 为标准品带入回归方程计算提取物中总酚的质量含量（mmol TE/kg）。

1.2.9 持水力和水溶性指数测定 持水力和水溶性指数根据 Jiang 等[17] 的方法略微修改，将 0.5 g 干燥样品和 7 mL 蒸馏水于离心管中，混匀，25 ℃ 水浴 60 min，有规则的间隔振荡，离心，上清液烘干后称重，沉淀物称重。计算方法如式（7）、式（8）：

$$持水力(g/g)=\frac{沉淀物的重量}{干燥样品的重量} \quad 式（7）$$

$$水溶性指数(g/g)=\frac{上清液中溶解固体的重量}{干燥样品的重量} \quad 式（8）$$

1.3 数据处理

实验数据均重复 3 次，实验结果以平均值±标准差表示。采用 Origin 2022 软件作图、SPSS Statistics 22.0 软件对数据进行显著性分析，P<0.05 为统计学上显著差异。

2 结果与分析

2.1 固态发酵过程中菌丝生长状态的变化

茶树菇固态发酵糊粉层周期为 24 d，菌丝生长状态见图 1。茶树菇菌丝呈放射状向外生长。从基质表面观察，发酵 3~6 d，菌丝开始附着在糊粉层表面并逐渐向内部渗透，发酵 9~18 d，菌丝在糊粉层上的覆盖率已达到 90% 以上，并且可以看到菌丝在内部渗透的效果也较好。发酵 18~24 d，菌丝生长速度缓慢，发酵基质变得紧实。

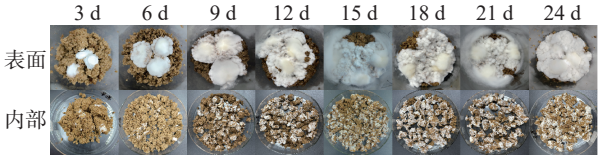


图 1 茶树菇固态发酵糊粉层期间菌丝生长状况

Fig.1 Mycelial growth status during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

2.2 茶树菇固态发酵糊粉层过程中生物量的变化

生物量是衡量茶树菇生长情况的重要指标[18]。如图 2 所示，在发酵过程中，生物量的变化呈上升趋势，与图 1 菌丝生长状态的变化一致，表明茶树菇逐渐适应糊粉层基质并开始进入生长阶段，从发酵第 3~12 d，生物量从 0.25 mg/g 逐步增加到 0.88 mg/g。随后茶树菇进入快速生长期，第 12 d 增长率提高至 70.04%。这表明茶树菇正高效利用糊粉层中的物质作为碳氮源，以满足其生长需求。在发酵第 24 d 时，生物量达到最高值（2.81 mg/g）。结果显示，从第 21~24 d 增长速率下降到 14.94%。推测若继续延长发酵周期，体系中的生物量仍会增加，但其增长较为缓慢。

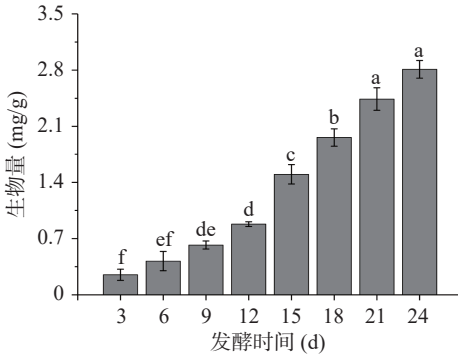


图 2 茶树菇固态发酵糊粉层期间生物量的变化

Fig.2 Changes of biomass during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

注：图中不同小写字母之间代表存在显著性差异（P<0.05），图 3~图 7 同。

2.3 茶树菇固态发酵糊粉层胞外水解酶活性的变化

纤维素酶是包含多种酶的复杂酶系，其中滤纸酶是衡量纤维素酶总活性的标准方法之一[19]。由图 3A 可见，在发酵初期（3~9 d），滤纸酶活性缓慢提高，从 0.07 U/g 增加到 0.88 U/g。然而，从发酵第 9~12 d，酶活力增长 160.72%，并在发酵第 15 d 达到 3.32 U/g，随后开始下降到 1.67 U/g。在发酵周期内，前期菌种处于适应阶段，代谢速率低，随着发酵的进行，菌种逐步利用基质中的营养物质，代谢活动增强，酶活显著上升（P<0.05），然而随着底物的消耗及代谢产物的积累，导致酶活在发酵后期呈下降趋势。内切

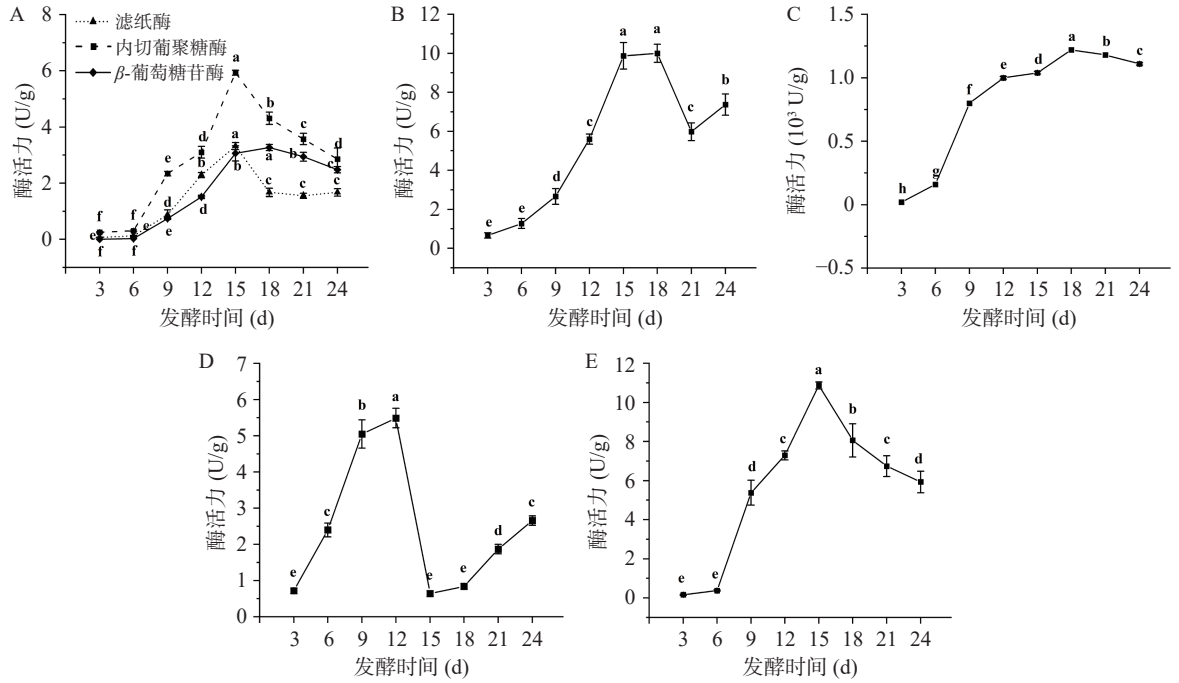


图 3　茶树菇固态发酵糊粉层期间水解酶活性的变化

Fig.3　Changes of hydrolase activity during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

注：A：纤维素酶活性；B：木聚糖酶活性；C：漆酶活性；D：阿魏酰酯酶活性；E：淀粉酶活性。

葡聚糖酶活性变化趋势与滤纸酶相似，从第 6~9 d 增幅达到 683.75%，并在第 15 d 酶活达到 5.93 U/g。该酶作用于纤维素的糖苷键，生成短链纤维素和纤维二糖，从而加速纤维素的降解[20]。β-葡萄糖苷酶活性变化与滤纸酶变化一致，在第 18 d 时达到最大值 3.27 U/g，随后下降到 2.48 U/g，该酶在纤维二糖水解为葡萄糖的过程中起重要作用[21]。Yin等[22] 研究表明，在黑曲霉固态发酵小麦麸皮过程中，其中纤维素酶活性也呈现类似的结果。

木聚糖酶属于半纤维素降解酶，有助于释放结合的酚类物质[19]。如图 3B 所示，随着发酵的进行，茶树菇开始利用糊粉层中的木聚糖，导致木聚糖酶活性从第 3~18 d 显著增加（$P<0.05$），从 0.66 U/g 增加到最高值 10.00 U/g。然而，结合图 2 中生物量的变化，发酵第 15 d 之后菌种生长速率降低。推测发酵后期，糊粉层中刺激酶分泌的木聚糖被消耗，与此同时木聚糖酶的积累导致酶活受到抑制[23]，最终其酶活下降到 7.37 U/g。

漆酶是一类多酚氧化酶，主要作用于酚类物质，同时在木质纤维素的降解中也发挥重要作用[24]。如图 3C 所示，在发酵周期内，漆酶活性逐渐增加，并在第 18 d 达到 1.22×10^3 U/g，随后略微下降至 1.11×10^3 U/g。推测糊粉层基质中有较高含量的酚类物质供茶树菇分解利用，因此从第 6 d 开始，漆酶活性显著增加（$P<0.05$）。由图 6 可知，在发酵周期内，酚类物质含量较高，促使酶活性维持较高水平，但可能由于酶的负反馈机制[23]，在第 18 d 之后酶活有所下降。阿魏酰酯酶通过水解半纤维素聚合物中的酯键，释放侧链中交联的羟基肉桂酸，尤其是阿魏酸[19]。如图 3D 所示，发酵第 3~12 d，阿魏酰酯酶活性迅速上升至峰值 5.49 U/g，这一现象可能归因于发酵初期糊粉层细胞壁结构较为完整，富含阿魏酸酯化底物，促进了阿魏酰酯酶的合成[25]。然而，随着糊粉层中易降解底物消耗殆尽，酶合成受到抑制，导致酶活急速下降到 0.64 U/g。发酵第 15 d 之后，酶活性逐渐增加到 2.44 U/g。推测协同纤维素酶等酶作用于细胞壁组分（如木质素和纤维素），释放出新的底物，刺激了阿魏酰酯酶的分泌。

淀粉酶是一种作用于 α-1,4-糖苷键的水解酶[26]。如图 3E 所示，茶树菇固态发酵过程中淀粉酶活性整体呈先上升再下降的趋势。发酵前期，糊粉层中淀粉含量较高，茶树菇开始大量分泌淀粉酶，并在发酵第 15 d 达到了峰值 10.87 U/g，随着淀粉含量下降，以及代谢产物（如葡萄糖）的积累，抑制淀粉酶的合成，从而导致淀粉酶活性下降至 5.93 U/g。

2.4　茶树菇固态发酵糊粉层过程中还原糖含量的变化

还原糖的变化是评价发酵过程中多糖降解的一个重要指标，可以反映淀粉、纤维素与半纤维素的酶解、酶解产物对酶的反馈抑制及酶解产物的含量，从而推断淀粉、纤维素的降解效果[19]。如图 4 所示，发酵第 12 d 基质中还原糖含量达到峰值 25.67 g/100 g，较原料相比提高了 374.22%。根据图 3，发酵第 6 d 开始，纤维素酶及淀粉酶等酶活性增长速率大幅度提高，加速了发酵第 3 d 后糊粉层中还原糖的生成，发酵第 12 d 之后，还原糖含量下降到 16.90 g/100 g，之后又略微上升到 20.29 g/100 g，推测酶解作用释放的还原糖被茶树菇作为碳源被优先利用，满足其自身生长及代谢。但是后期茶树菇生长减缓，降低

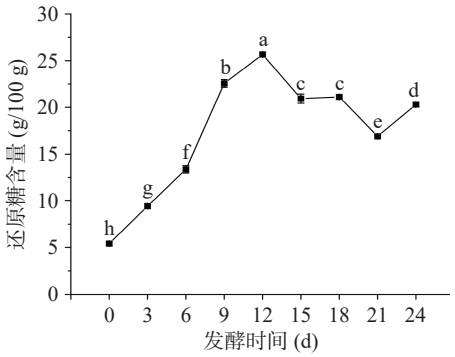


图 4 茶树菇固态发酵糊粉层期间还原糖含量的变化

Fig.4 Changes of reducing sugar content during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

对还原糖消耗，同时阿魏酰酯酶活性的升高破坏了木质纤维素交联结构[25]，可能促进纤维素酶和半纤维素酶的二次作用。

2.5 茶树菇固态发酵糊粉层过程中可溶性戊聚糖含量的变化

戊聚糖是细胞壁多糖的重要组分，主要由阿拉伯糖和木糖组成。有研究表明，小麦麸皮水溶性戊聚糖表现出良好的氧化交联效果[27]。如图 5 所示，在固态发酵过程中可溶性戊聚糖含量呈上升趋势，并在第 12 d 达到峰值 5.02 g/100 g。该现象主要由于茶树菇分泌的木聚糖酶等酶活性逐渐增强，将不溶性戊聚糖分解为可溶性戊聚糖，或从细胞壁基质中释放戊聚糖。值得注意的是，发酵后期可溶性戊聚糖含量降低到 4.66 g/100 g 后趋于稳定，这种动态平衡的形成可能是酶活性降低的同时，菌种利用可溶性物质维持基础代谢造成的。刘倩倩[14] 选用四种微生物固态发酵麦麸，在整个发酵过程中，可溶性戊聚糖含量均呈现先增加后下降的趋势，这一变化主要归因于发酵过程中纤维素酶和木聚糖酶的作用。

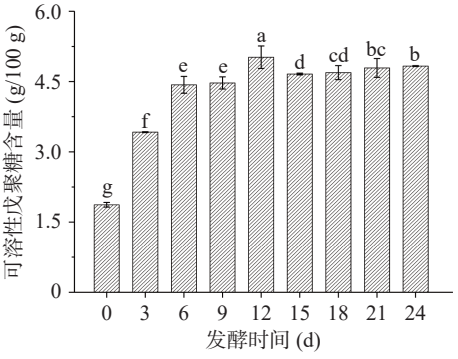


图 5 茶树菇固态发酵糊粉层期间可溶性戊聚糖含量的变化

Fig.5 Changes of soluble pentosans content during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

2.6 茶树菇固态发酵糊粉层过程中总酚含量的变化

发酵过程中，纤维素酶等酶活性对酚类物质含量的变化有重要影响[19]。如图 6 所示，在发酵周期内，糊粉层中游离态酚类物质含量显著提升了 34.90%（P<0.05），而结合态酚类物质降低了 56.20%。在固态发酵体系中，纤维素酶通过降解纤维素-半纤维素结构释放酚类物质，而阿魏酰酯酶特异性水解酚酸酯键，促使了结合态酚类向游离态转化[28]。发酵第 18 d之后，部分游离态酚类物质被茶树菇利用或氧化，导致其含量有所下降，但由于发酵过程中游离态酚类物质的持续生成，其含量仍保持在较高水平。Tu 等[29]选用红缘拟层孔菌发酵小麦麸皮时，总酚含量呈持续上升趋势，而赵静[30] 利用毛木耳发酵麸皮时总酚含量呈先上升后下降的趋势，因而推测发酵过程中总酚含量的变化与发酵菌种有关[31]。

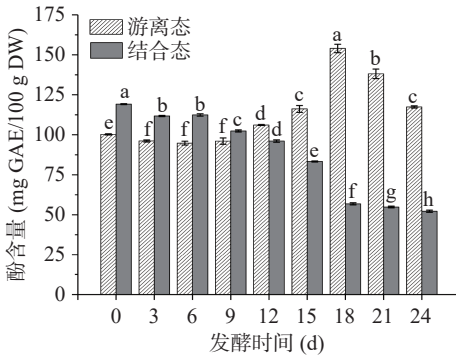


图 6 茶树菇固态发酵糊粉层期间总酚含量的变化

Fig.6 Changes of total phenolic content during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

2.7 茶树菇固态发酵糊粉层过程中抗氧化能力的变化

自由基清除能力可以在一定程度上反映出样品的抗氧化活性[14]。由图 7 可以看出，发酵过程中，糊粉层的 $ABTS^{+}$·、DPPH· 清除能力呈现先升后降的趋势，其中 $ABTS^{+}$·清除能力在第 12 d 达到最大值 39.52 mmol TE/kg，提升了 70.06%。DPPH·清除能力在第 6 d 达到最大值 18.15 mmol TE/kg，提高了 35.50%。发酵前期，茶树菇分泌纤维素酶等作用于糊粉层基质，暴露出更多活性基团，促使其自由基清除能力增加[4]。随着发酵的进行，漆酶等多酚氧化酶的活性仍处于较高水平，氧化酚类物质导致基质抗氧化能力降低。Guimarães 等[32] 采用 7 种担子菌发酵处理麻风树饼粕和棉籽饼后，发现样品的 DPPH·清除能力降低，并推测可能与真菌产生的氧化酶有关。

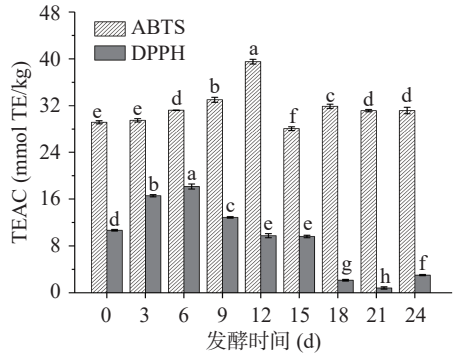


图 7 茶树菇固态发酵糊粉层期间抗氧化能力的变化

Fig.7 Changes of antioxidant capacity during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

2.8　茶树菇固态发酵糊粉层过程中持水力和水溶性指数分析

持水力反映了糊粉层结合并保持水的能力，对糊粉层作为食品配料在食品中的应用具有指导作用[33]。在发酵过程中，随着淀粉酶、纤维素酶、木聚糖酶等酶活性的增强，糊粉层中的大分子物质（如淀粉、纤维素和半纤维素），被逐步分解为小分子，显著提高了体系的亲水性和吸水能力（P<0.05）。如表 1 所示，在发酵第 18 d，持水力和水溶性指数同时达到最大值，分别为 2.62 g/g 和 0.34 g/g。发酵前期，淀粉酶、木聚糖酶、纤维素酶降解淀粉、不溶性阿拉伯木聚糖，生成单糖、可溶性低聚糖和戊糖，提升了糊粉层的水溶性指数[7]。然而，在发酵后期，糊粉层中可降解物质逐渐减少，小分子糖类物质被消耗，导致持水力和水溶性指数均呈现下降趋势。

表 1　茶树菇固态发酵糊粉层期间持水力和水溶性指数

Table 1　Water holding capacity and water soluble index during solid-state fermentation of aleurone layer by *Agrocybe aegerita*

发酵时间（d）	持水力（g/g）	水溶性指数（%）
0	1.68±0.07^{e}	0.13±0.00^{g}
3	1.78±0.10^{de}	0.17±0.00^{f}
6	1.81±0.17^{de}	0.18±0.00^{f}
9	1.91±0.10^{d}	0.20±0.00^{e}
12	2.08±0.08^{c}	0.24±0.00^{d}
15	2.57±0.02^{a}	0.29±0.00^{c}
18	2.62±0.15^{a}	0.34±0.00^{a}
21	2.40±0.12^{b}	0.33±0.00^{a}
24	2.27±0.03^{b}	0.32±0.00^{b}

注：同列不同小写字母之间代表存在显著性差异（P<0.05）。

3　结论

本研究通过茶树菇固态发酵小麦糊粉层，探讨了关键酶活性与物质成分之间的变化规律。结果表明，纤维素酶、木聚糖酶、阿魏酰酯酶和漆酶活性变化趋势不同步，但均在发酵中期达到峰值。其中，滤纸酶和内切葡聚糖酶在发酵第 15 d 活性最高，分别为 3.32 U/g 和 5.93 U/g，而 β-葡萄糖苷酶和木聚糖酶活性在发酵第 18 d 达到峰值，分别为 3.27 U/g 和 10.00 U/g。还原糖和可溶性戊聚糖含量在发酵第 12 d 分别提升了 374.22% 和 162.53%。在阿魏酰酯酶和漆酶的协同作用下，促进了结合态酚向游离态酚的转化，使游离酚类物质含量显著增加了 34.90%（P<0.05）。与此同时，糊粉层基质的 $ABTS^{+\cdot}$ 和 DPPH· 清除能力分别提高了 70.06% 和 35.50%，糊粉层的持水力和水溶性指数在发酵第 18 d 同步上升至 2.62 g/g 和 0.34 g/g。综上，茶树菇多种酶的协同作用重构了糊粉层基质组分，在发酵第 12~18 d 时，同步实现了糊粉层生物活性成分和抗氧化能力的提升，为小麦糊粉层的功能化应用提供了理论依据。

© The Author(s) 2026. 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] MEZIANI S, NADAUD I, TASLEEM-TAHIR A, et al. Wheat aleurone layer: A site enriched with nutrients and bioactive molecules with potential nutritional opportunities for breeding[J]. Journal of Cereal Science, 2021, 100: 103225.

[2] MARTÍN-GARCÍA B, GÓMEZ-CARAVACA A M, MARCONI E, et al. Distribution of free and bound phenolic compounds, and alkylresorcinols in wheat aleurone enriched fractions[J]. Food Research International, 2021, 140: 109816.

[3] LI Ningjie, WANG Songjun, WANG Tianli, et al. Valorization of wheat bran by three fungi solid-state fermentation: Physicochemical properties, antioxidant activity and flavor characteristics[J]. Foods, 2022, 11(12): 1722.

[4] TANASKOVIĆ S J, ŠEKULJICA N, JOVANOVIĆ J, et al. Upgrading of valuable food component contents and anti-nutritional factors depletion by solid-state fermentation: A way to valorize wheat bran for nutrition[J]. Journal of Cereal Science, 2021, 99: 103159.

[5] ZHOU Xiaolin, WANG Jieying, SHAO Gaige, et al. Bidirectional solid-state fermentation of highland barley by edible fungi to improve its functional components, antioxidant activity and texture characteristics[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2024, 79(2): 308−315.

[6] LIU Chao, DAI Keyao, LI Zhentong, et al. Comparison of two kinds of *Agrocybe cylindracea* polysaccharides: Structural characteristic and antitumor activity[J]. Food and Bioproducts Processing, 2023, 140: 160−171.

[7] THAPA S, MISHRA J, ARORA N, et al. Microbial cellulolytic enzymes: Diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation[J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2020, 19(3): 621−648.

[8] 刘阳. 固态发酵培养基物化特性及其固态发酵新工艺的研究[D]. 北京：中国科学院大学（中国科学院过程工程研究所），2019: 20−23. [LIU Yang. Physico-chemical properties of solid medium and novel solid-state fermentation process[D]. Beijing: Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, 2019: 20−23.]

[9] 魏丹华. 海洋黑曲霉生料固态发酵产纤维素酶及酶的固定化研究[D]. 杭州：浙江大学，2018: 17−18. [WEI Danhua. Solid fermentation using raw material for a marine *Aspergillus niger* and the immobilization of cellulase[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018: 17−18.]

[10] XUE Yemin, XUE Mengke, XIE Fang, et al. Engineering *Thermotoga maritima* β-glucosidase for improved alkyl glycosides synthesis by site-directed mutagenesis[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2021, 48(5−6): kuab031.

[11] 芦红云，吴天祥，钟敏，等. 天麻提取物及其 3 种主要成分对灰树花产胞外漆酶和菌丝体的影响[J]. 食品科学，2018(6): 101−106. [LU Hongyun, WU Tianxiang, ZHONG Min, et al. Effect of rhizoma gastrodiae extract and its three main components on production of laccase and mycelial biomass by submerged fermentation of *Grifola frondosa*[J]. Food Science, 2018(6): 101−106.]

[12] 王丹，郭萌萌，杜金华. 小麦与小麦芽阿魏酸酯酶酶活力的测定及其酶学性质研究[J]. 食品与发酵工业，2011, 37(5): 181−185. [WANG Dan, GUO Mengmeng, DU Jinhua. Determination and characterisation of feruloyl esterase in wheats and malts[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(5): 181−185.]

[13] 牟佳红，梁安雯，覃超琳，等. 酶解与发酵联合处理对黑木耳

还原糖含量及抗氧化性能的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 139−147. [MU Jiahong, LIANG Anwen, QIN Chaolin, et al. Effect of enzymatic hydrolysis combined with fermentation treatment on reducing sugar content and antioxidant performance of *Auricularia auricula*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 139−147.]

[14] 刘倩倩. 微生物发酵对麦麸化学组分及其功能特性的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2023: 17−19. [LIU Qianqian. Study of microbial fermentation on chemical components of wheat bran and its functional properties[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023: 17−19.]

[15] ZHANG Siqi, JI Jing, ZHANG Songhao, et al. Changes in the phenolic compound content and antioxidant activity in developmental maize kernels and expression profiles of phenolic biosynthesis-related genes[J]. Journal of Cereal Science, 2020, 96: 103113.

[16] XU Enbo, WU Zhengzong, LONG Jie, et al. Effect of thermostable *α*-amylase addition on the physicochemical properties, free/bound phenolics and antioxidant capacities of extruded hulled and whole rice[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(9): 1958−1973.

[17] JIANG Guihun, BAI Xuesong, WU Zhaogen, et al. Modification of ginseng insoluble dietary fiber through alkaline hydrogen peroxide treatment and its impact on structure, physicochemical and functional properties[J]. LWT, 2021, 150: 111956.

[18] STEUDLER S, BLEY T. Biomass estimation during macroscale solid-state fermentation of basidiomycetes using established and novel approaches[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(7): 1313−1323.

[19] de VILLA R, ROASA J, MINE Y, et al. Impact of solid-state fermentation on factors and mechanisms influencing the bioactive compounds of grains and processing by-products[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(21): 5388−5413.

[20] BHARDWAJ N, KUMAR B, AGRAWAL K, et al. Current perspective on production and applications of microbial cellulases: A review[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2021, 8(1): 95.

[21] EGBUNE E O, EZEDOM T, ORORORO O C, et al. Solid-state fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): A review[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2023, 39(10): 259.

[22] YIN Zhina, WU Wenjia, SUN Chongzhen, et al. Comparison of releasing bound phenolic acids from wheat bran by fermentation of three *Aspergillus* species[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(5): 1120−1130.

[23] YINGKAMHAENG N, NIMCHUA T, PINMANEE P, et al. Synergistic effect of xylanase and laccase on structural features of energy cane[J]. Industrial Crops and Products, 2022, 176: 114410.

[24] HAN Meiling, AN Qi, MA Kaiyue, et al. A comparative study on the laccase activity of four basidiomycete fungi with different lignocellulosic residues *via* solid-state fermentation[J]. BioResources, 2021, 16(2): 3017−3031.

[25] ZHANG Susu, WANG Jiapeng, LIU Yaohan, et al. Multiple strategies to improve extracellular secretion and activity of feruloyl esterase[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 269: 132082.

[26] MAGHRABY Y R, EL-SHABASY R M, IBRAHIM A H, et al. Enzyme immobilization technologies and industrial applications[J]. ACS Omega, 2023, 8(6): 5184−5196.

[27] ZHAO Huimin, GUO Xiaona, ZHU Kexue. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran[J]. Food Chemistry, 2017, 217: 28−36.

[28] LIN S, HUNT C J, HOLCK J, et al. Fungal feruloyl esterases can catalyze release of diferulic acids from complex Arabinoxylan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 232: 123365.

[29] TU Jie, ZHAO Jing, LIU Guanhui, et al. Solid state fermentation by *Fomitopsis pinicola* improves physicochemical and functional properties of wheat bran and the bran-containing products[J]. Food Chemistry, 2020, 328: 127046.

[30] 赵静. 药食真菌固体发酵小麦麸皮改善重组全麦粉功能特性研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2020: 18−19. [ZHAO Jing. Solid state fermentation of edible and medicinal fungi improves functional properties of wheat bran and bran-containing products[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2020: 18−19.]

[31] 李光耀, 柴新想, 程伟, 等. 固态发酵技术强化麸皮酚类物质释放的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(9): 311−316. [LI Guangyao, CHAI Xinxiang, CHENG Wei, et al. Advances on solid state fermentation to enhance the release of phenols from bran[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(9): 311−316.]

[32] GUIMARÃES M B, de SIQUEIRA F G, CAMPANHA R B, et al. Evaluation of bio-detoxification of *Jatropha curcas* seed cake and cottonseed cake by basidiomycetes: Nutritional and antioxidant effects[J]. Waste and Biomass Valorization, 2022, 13(3): 1475−1490.

[33] LI Min, NIU Meng. New technologies in cereal processing and their impact on the physical properties of cereal foods[J]. Foods, 2023, 12(21): 4008.