DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2026.17.019

羊肚菌固态发酵苦荞工艺优化及品质分析

朱家影[1],张婷[1],崔林花[1],刘虹[1],王清源[2],李云龙[1*],李琪[1*]
(1. 山西农业大学 山西功能食品研究院,山西 太原 030000;2. 大同市通泰鑫北芪食用菌开发有限公司,山西 大同 037000)

摘　要:该研究以苦荞为研究对象,采用羊肚菌进行固态发酵,探讨其对苦荞营养、功能成分和功能活性的影响。通过单因素试验和响应面试验优化,确定最优发酵条件为发酵时间 20.76 d、接种量 5.105 mL、发酵温度 27.115 ℃。根据实际操作将最优工艺调整为发酵时间 20 d、接种量 5 mL、发酵温度 27 ℃,验证试验结果显示羊肚菌固态发酵苦荞中的总黄酮含量为 13.03 mg/g,与模型预测值 13.113 mg/g 相近。进一步探究羊肚菌固态发酵过程中苦荞的营养和功能变化,结果显示,经固态发酵后,苦荞的蛋白质含量显著增加,营养价值提升,而总酚和总黄酮含量在发酵 10 d 时达到最高,表明羊肚菌固态发酵能够提高苦荞的功能成分;芦丁和槲皮素含量随发酵时间的延长而降低,说明在发酵过程中黄酮类化合物发生了转化。发酵 10 d 时,羊肚菌固态发酵的苦荞表现出较强的抗氧化活性。
关键词:苦荞;羊肚菌;固态发酵;黄酮类化合物;抗氧化活性

Optimization and Solid-State Fermentation of Tartary Buckwheat with *Morchella esculenta* and Quality Analysis of Products

ZHU Jiaying[1], ZHANG Ting[1], CUI Linhua[1], LIU Hong[1], WANG Qingyuan[2], LI Yunlong[1*], LI Qi[1*]
(1. Shanxi Institute for Functional Food, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030000, Shanxi, China;
2. Datong Tongtai Xin Beiqi Edible Fungi Development Co., Ltd., Datong 037000, Shanxi, China)

Abstract: The effects of solid-state fermentation with *Morchella esculenta* on the nutritional composition, functional components, and activities of Tartary buckwheat were investigated. Through single-factor experiments and response surface methodology, the fermentation conditions were optimized as follows: fermentation with an inoculation volume of 5.105 mL at 27.115 ℃ for 20.76 days. Considering practical operational conditions, the optimal process was adjusted to fermentation with an inoculation volume of 5 mL at 27 ℃ for 20 days. Validation experiments showed that the total flavonoid content of tartary buckwheat subjected to solid-state fermentation by *Morchella esculenta* was 13.03 mg/g, which was close to the model-predicted value of 13.113 mg/g. Further investigation into the nutritional and functional changes in Tartary buckwheat during solid-state fermentation with *M. esculenta* revealed that the protein content significantly increased after fermentation, indicating enhanced nutritional value. The total phenol and total flavonoid content peaked on day 10 of fermentation, demonstrating that solid-state fermentation with *M. esculenta* elevated the functional components of Tartary buckwheat. However, the content of rutin and quercetin decreased with prolonged fermentation time, suggesting the transformation of flavonoids during the fermentation process. The Tartary buckwheat fermented with *M. esculenta* for 10 days exhibited the strongest antioxidant activity.
Key words: Tartary buckwheat; *Morchella esculenta*; solid-state fermentation; flavonoid; antioxidant activity

引文格式:
朱家影,张婷,崔林花,等. 羊肚菌固态发酵苦荞工艺优化及品质分析[J]. 食品研究与开发,2026,47(17):156-164.
ZHU Jiaying, ZHANG Ting, CUI Linhua, et al. Optimization and Solid-State Fermentation of Tartary Buckwheat with *Morchella esculenta* and Quality Analysis of Products[J]. Food Research and Development,2026,47(17):156-164.

基金项目:山西农业大学科技创新提升工程项目(CXGC2023093);山西省现代农业产业技术体系项目(2024CYJSTX03-04);国家燕麦荞麦产业技术体系项目(CARS-07-E-2)
作者简介:朱家影(2000—),女(汉),在读硕士研究生,研究方向:发酵食品。
*通信作者:李云龙(1979—),男(汉),研究员,硕士研究生;李琪(1992—),女(汉),助理研究员,硕士研究生。

苦荞[*Fagopyrum tataricum*(L.)Gaertn.]也称鞑靼荞麦(Tartary buckwheat),属于蓼科双子叶植物。苦荞不仅含有丰富的蛋白质、脂肪和膳食纤维,还有多种维生素,能有效满足人体的营养需求。苦荞作为一种药食同源作物,还含有多种活性成分,如黄酮类化合物、多酚等[1],羊肚菌(*Morehella esculenta*)又称羊肚蘑,属子囊菌亚门(Ascomycotina),其营养成分极为丰富,包含粗蛋白、脂肪、氨基酸、生物碱、多酚、多糖以及多种矿物质和微量元素,赋予其极高的营养价值,被誉为"素中之荤"[2]。现代医药研究进一步揭示了羊肚菌的多种健康功效,包括抗氧化活性[3]以及抗炎作用[4]等。

固态发酵(solid-state fermentation, SSF)是指微生物在几乎不能自由流动的液体的固体基质上,对不溶性底物进行的发酵[5-6]。这种发酵方式有许多优点,如微生物易生长、酶活力高、酶种类多等。目前已有利用羊肚菌固态发酵谷物的相关研究,如焦捷等[7]利用羊肚菌固态发酵青稞,其营养成分以及功能活性成分显著提升。佟维娜等[8]用羊肚菌固态发酵玉米蛋白粉,提升了玉米蛋白粉的亲水性氨基酸含量,其营养价值显著提高。尽管对羊肚菌的研究逐渐增多,但针对羊肚菌与苦荞的固态发酵研究仍相对较少。本研究采用羊肚菌固态发酵苦荞(*Morchella esculent*a solid-state fermentated Tartary buckwheat,MFB),并通过单因素试验和响应面优化试验,选取最优发酵工艺条件,进一步探究羊肚菌固态发酵过程中对苦荞的营养成分、功能成分以及抗氧化活性的影响,以期为开发高营养价值、高功能活性的苦荞发酵产品提供理论依据和技术支撑,丰富药食同源作物与食药用真菌协同发酵的研究体系,推动苦荞资源的深度开发与产业化利用,同时为羊肚菌在谷物发酵领域的拓展应用提供新的思路与方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

苦荞:山西雁门清高食业有限公司;羊肚菌(CICC 14033):中国工业微生物菌种保藏管理中心;马铃薯:市售;芦丁标准品(纯度92.5%)、没食子酸(纯度95.5%):中国食品药品鉴定所;2,4,6-三嘧啶基三嗪(2,4,6-tripyridin-2-yl-1,3,5-triazine,TPTZ)、福林酚:北京索莱宝科技有限公司;1,1-联苯基-2-苦肼基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,DPPH,纯度96%)、2,2′-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2′-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)diammonium solution,ABTS,纯度99%)]:上海麦克林生化科技股份有限公司;槲皮素标准品(97.3%):上海源叶生物科技有限公司;蛋白胨:青岛高科园海波生物技术有限公司;*D*-(+)-无水葡萄糖、无水硫酸镁、碳酸钠、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、氯化铝($AlCl_3$)、醋酸钾(CH_3COOK)、过硫酸钾(均为分析纯):国药集团化学试剂有限公司;乙腈、甲醇(均为色谱纯):上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

智能生化培养箱(SPX-50L):常州恩谊仪器有限公司;紫外分光光度仪(A380):翱艺仪器上海有限公司;恒温振荡培养箱(HYM-2102C):广州瑞丰实验设备有限公司;桌上型超微粉碎仪(RT-UF26):荣聪精密科技有限公司;立式压力蒸汽灭菌器(YXQ-LS-50A):上海博讯实业有限公司医疗设备厂;烘箱(DHG-9023A):上海一恒科学仪器有限公司;分析天平(ME240):梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography,HPLC)(1260)、色谱柱(HC-C18):美国安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 羊肚菌固态发酵苦荞工艺优化

1.3.1.1 羊肚菌种培养与活化

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar,PDA)固体培养基配方:去皮马铃薯200 g,葡萄糖20 g,磷酸二氢钾(KH_2PO_4)3 g,七水硫酸镁($MgSO_4·7H_2O$)1.5 g,琼脂粉20 g,去离子水1 000 mL。

PDA液体培养基配方:去皮马铃薯200 g,葡萄糖20 g,磷酸二氢钾(KH_2PO_4)3 g,七水硫酸镁($MgSO_4·7H_2O$)1.5 g,去离子水1 000 mL。

将羊肚菌接种于PDA固体培养基上,在27 ℃恒温培养10 d,用接种铲取0.8 cm^2的菌块,接种至灭菌的PDA液体培养基中,摇晃均匀,放入恒温振荡培养箱中按上述培养温度连续活化48 h后,4 ℃保存备用。

1.3.1.2 羊肚菌固态发酵苦荞样品的制备

称取50 g苦荞置于锥形瓶中,用4倍体积的纯净水浸泡24 h后沥水,121 ℃高压蒸汽灭菌1 h,冷却至室温。在超净工作台中,用无菌移液枪吸取活化的羊肚菌注入到锥形瓶中,每瓶5 mL,摇晃均匀,27 ℃恒温培养,60 ℃烘干18 h,超微粉碎仪磨粉,过80目筛。

1.3.1.3 样品提取液的制备

称取1.3.1.2制备的样品0.2 g,用50 mL 70%甲醇溶液70 ℃水浴提取3 h,定容至50 mL,得到样品提取液,静置于避光处保存。

1.3.1.4 单因素试验

发酵时间:按照1.3.1.2制备苦荞样品,接种量为5 mL,发酵温度27 ℃,分别测定发酵时间为10、15、20、25、30 d的样品中总黄酮含量。

接种量:按照1.3.1.2制备苦荞样品,发酵时间为20 d,发酵温度27 ℃,分别测定接种量为1、3、5、7、9 mL的样品中总黄酮含量。

发酵温度:按照1.3.1.2制备苦荞样品,接种量为5 mL,发酵时间20 d,分别测定发酵温度为18、21、24、27、30 ℃的样品中总黄酮含量。

1.3.1.5 响应面法优化发酵工艺条件

在单因素试验的基础上,确定各因素的取值范围,

选取发酵时间（*A*）、接种量（*B*）、发酵温度（*C*）为自变量，以总黄酮含量作为响应值，应用 Design-Expert 设计三因素三水平的响应面试验，因素与水平见表 1。

表 1　响应面试验因素与水平设计

Table 1　Factors and levels of response surface design

水平	*A* 发酵时间/d	*B* 接种量/mL	*C* 发酵温度/℃
−1	15	3	24
0	20	5	27
1	25	7	30

1.3.2　羊肚菌固态发酵苦荞营养成分及功能活性测定

1.3.2.1　蛋白质含量的测定

样品中蛋白质含量参考 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的方法，采用凯氏定氮法进行测定。

1.3.2.2　总黄酮含量的测定

按照 1.3.1.3 方法制备样品提取液，采用铝盐法测定总黄酮含量[9]。准确吸取 1 mL 样品提取液于 10 mL 具塞比色管中，先加 2 mL 0.1 mol/L $AlCl_3$溶液，再加 3 mL 1mol/L CH_3COOK 溶液，用 70% 甲醇溶液定容至 10 mL，摇匀后静置 30 min，于 420 nm 处测定吸光度。

标准曲线绘制：分别吸取芦丁标准溶液（0.05 mg/mL）0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 于 10 mL 具塞比色管中，按上述方法进行显色并测定吸光度，以芦丁浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线，得到方程为 y=2.967 3x−0.008 9（R^2=0.999 4）。

1.3.2.3　芦丁和槲皮素含量的测定

采用高效液相色谱法[9]，分别配制不同浓度的芦丁标准溶液（0.054 5、0.109 0、0.218 0、0.327 0、0.436 0 mg/mL）和槲皮素标准溶液（0.004、0.008、0.010、0.020、0.040 mg/mL），经过 0.45 μm 滤膜过滤后，分别进样 5 μL 和 2 μL，以进样质量和峰面积作图，得到芦丁和槲皮素的标准曲线，芦丁标准曲线为 y=0.000 7x+0.004 7（R^2=0.999 9），槲皮素标准曲线为 y=0.000 2x+0.002（R^2=0.999 5）。

称取 1 g 苦荞样品粉末，用 90% 甲醇 70 ℃提取 3 h 后定容至 50 mL，0.45 μm 滤膜过滤后，进样 40 μL。色谱柱：C18，柱温：30 ℃，波长：360 nm，流动相见表 2。

表 2　梯度洗脱条件

Table 2　Gradient elution conditions

时间/min	水/%	乙腈/%	2% 乙酸溶液/%	流速/（mL/min）
0	56	24	20	1.0
6	56	24	20	1.0
7	20	60	20	1.0
13	20	60	20	1.0
13.5	0	100	0	1.5
17	0	100	0	1.5

1.3.2.4　总酚含量的测定

按照 1.3.1.3 方法制备样品提取液，采用福林酚法测定总酚[9]。准确吸取 0.5 mL 样品提取液，加入 0.8 mL 0.1 mol/L 福林酚溶液，再加入 2.7 mL 水，40 ℃水浴 40 min，再加入 2.5 mL 7% Na_2CO_3溶液，避光反应 6 min 后，于 760 nm 处测定吸光度。

标准曲线绘制：以没食子酸质量浓度（3.17、6.33、12.66、19.00、25.33 μg/mL）为横坐标，以 760 nm 处吸光度为纵坐标，绘制没食子酸的标准曲线，得到公式 y=19.042x+0.002 5（R^2=0.999 2），根据公式计算总酚含量。

1.3.2.5　抗氧化活性测定

1）DPPH 自由基清除能力测定

按照 1.3.1.3 方法制备样品提取液，用无水乙醇配制浓度为 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液。取 2 mL DPPH 溶液，加入 2 mL 不同浓度的样品提取液（0.2~5.0 μg/mL），在 515 nm 处测吸光度 D_1；2 mL 不同浓度样品提取液，加 2 mL 70% 甲醇溶液，吸光度为 D_2；2 mL DPPH 溶液，2 mL 70% 甲醇溶液，吸光度为 D_3[10]。DPPH 自由基清除率（*K*，%）按照下式计算。

$$K = \frac{D_1 - D_2}{D_3} \times 100$$

2）$ABTS^+$自由基清除能力测定

参考 Tao 等[11]的方法，并做适当修改。配制 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液，按照体积比 1∶1 在棕色瓶中混合制成 ABTS 工作液，在暗处放置反应 12 h，使用前用蒸馏水稀释 ABTS 工作液，直至其波长在 734 nm 处的吸光度为 0.70±0.20。

按照 1.3.1.3 方法制备样品提取液，取 2 mL 样品提取液，加入 4 mL ABTS 工作液，混合 10 min，在 734 nm 处吸光度为 B_1；取 2 mL 样品提取液，加入 4 mL 蒸馏水，混合 10 min，在 734 nm 处吸光度为 B_2；取 2 mL 蒸馏水，加入 4 mL ABTS 工作液，混合 10 min，在 734 nm 处吸光度为 B_0。$ABTS^+$自由基清除率（*C*，%）按照下式计算。

$$C = (1 - \frac{B_1 - B_2}{B_0}) \times 100$$

1.4　数据处理

本研究中每个试验做 3 次平行，用平均值±标准差表示试验数据结果；采用 SPSS 17.0 对试验数据进行统计和差异性分析，显著性水平 P<0.05；用 Origin 2024 软件作图。

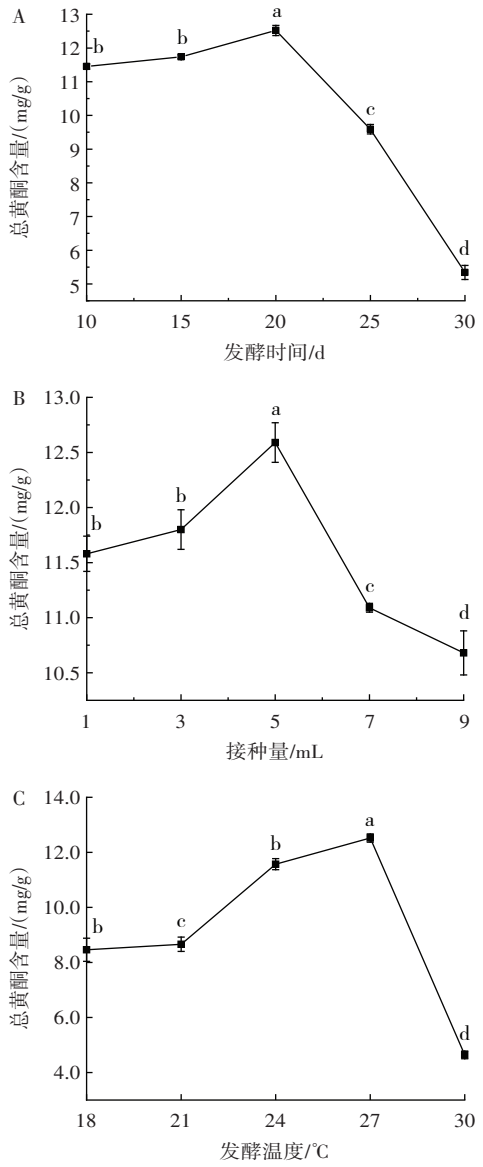
2　结果与分析

2.1　羊肚菌固态发酵苦荞工艺优化结果

2.1.1　单因素试验结果

不同发酵时间、接种量、发酵温度对样品总黄酮含

量的影响如图 1 所示。



A. 发酵时间；B. 接种量；C. 发酵温度。不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

图 1 不同因素对苦荞总黄酮含量的影响

Fig.1 Effects of different factors on total flavonoid content of Tartary buckwheat

由图 1A 可知，随着发酵时间的延长，MFB 的总黄酮含量呈先上升后下降的趋势。其中在发酵 20 d 达到最高，为 12.55 mg/g，在 30 d 时其总黄酮含量最低，为 5.34 mg/g。说明固态发酵前期，羊肚菌快速生长，糖苷酶的分泌增加，促进黄酮类化合物的释放，导致其总黄酮含量增加[12]；固态发酵后期，苦荞中的营养物质无法维持羊肚菌的生长代谢，同时糖苷酶将黄酮糖苷水解为游离型黄酮苷元，导致总黄酮含量的下降[13]。因此，选择发酵时间 15、20、25 d 进行响应面优化试验。

由图 1B 可知，随着接种量的增加，MFB 的总黄酮含量呈现先升高后降低的趋势。其中接种量为 5 mL 时，其总黄酮含量达到最高，为 12.52 mg/g，在接种量为 9 mL 时，其总黄酮含量最低，为 10.68 mg/g。说明适宜的羊肚菌接种量可提高苦荞的总黄酮含量，当羊肚菌接种量过高时，苦荞中的营养物质无法满足羊肚菌的生长需要，导致羊肚菌的生长代谢受到限制，进而导致总黄酮含量下降[14]。因此，选择接种量 3、5、7 mL 进行响应面优化试验。

由图 1C 可知，随着发酵温度的升高，MFB 的总黄酮含量呈现先上升再下降的趋势，当发酵温度在 27 ℃时，其总黄酮含量达到最高，为 12.79 mg/g，而温度在 30 ℃时，总黄酮含量最低，为 4.64 mg/g。说明适宜的发酵温度有助于苦荞中总黄酮的释放，而发酵温度过高时，羊肚菌的生长代谢被抑制，不利于黄酮类化合物的释放[15]。因此，选择发酵温度 24、27、30 ℃进行响应面优化试验。

2.1.2 响应面法优化羊肚菌固态发酵苦荞工艺

2.1.2.1 模型的建立与显著性分析

在单因素试验的基础上进行响应面法优化，结果见表 3。

表 3 响应面设计及结果

Table 3 Response surface design and results

试验号	发酵时间/d	接种量/mL	发酵温度/℃	总黄酮含量/(mg/g)
1	15	3	27	5.16
2	25	3	27	5.75
3	15	7	27	7.60
4	25	7	27	5.43
5	15	5	24	6.70
6	25	5	24	6.91
7	15	5	30	7.63
8	25	5	30	6.72
9	20	3	24	6.23
10	20	7	24	6.86
11	20	3	30	6.90
12	20	7	30	7.02
13	20	5	27	13.54
14	20	5	27	12.88
15	20	5	27	13.02
16	20	5	27	13.22
17	20	5	27	12.82

采用 Design-Expert.V8.0.5 软件对试验数据进行回归模型方差分析及多元回归方程拟合，获得以总黄酮含量为目标函数的二次回归拟合方程：$Y=13.10-0.28A+0.36B+0.20C-0.69AB-0.28AC-0.13BC-3.44A^2-3.67B^2-2.67C^2$。

回归模型方差分析结果见表 4。

表 4　回归模型方差分析

Table 4　Analysis of variance for regression models

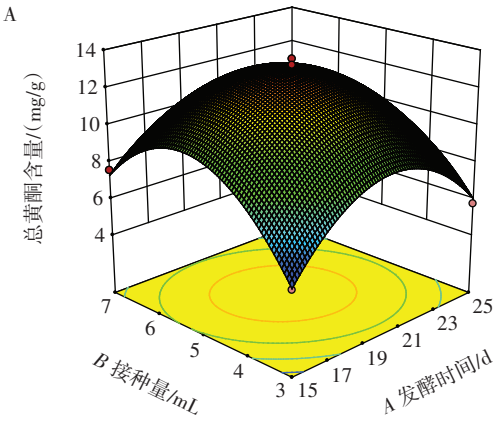
来源	平方和	自由度	均方差	*F* 值	*P* 值	显著性
模型	156.52	9	17.39	180.74	<0.000 1	**
A 发酵时间	0.65	1	0.65	6.75	0.035 5	*
B 接种量	1.03	1	1.03	10.70	0.013 7	*
C 发酵温度	0.31	1	0.31	3.20	0.116 7	
AB	1.90	1	1.90	19.79	0.003 0	**
AC	0.31	1	0.31	3.26	0.114 0	
BC	0.065	1	0.065	0.68	0.438 1	
A^2	49.73	1	49.73	516.85	<0.000 1	**
B^2	56.84	1	56.84	590.75	<0.000 1	**
C^2	30.00	1	30.00	311.78	<0.000 1	**
误差	0.67	7	0.096			
失拟项	0.33	3	0.11	1.30	0.389 9	
纯误差	0.34	4	0.085			
总和	157.20	16				

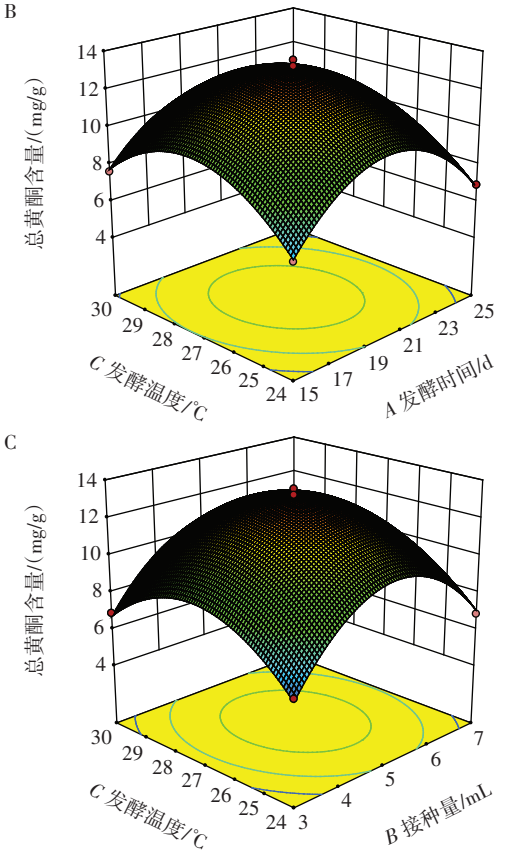
注：*表示影响显著，$P<0.05$；**表示影响极显著，$P<0.01$。

根据响应面法设计结果，用响应面法建立的二次回归模型极显著（$P<0.000\ 1$），失拟项不显著（$P=0.389\ 9$，$P>0.05$），说明所得模型拟合程度较好，该回归模型能够很好地对响应值进行预测。决定系数 $R^2=0.995\ 7$，调整决定系数 $R^2_{adj}=0.990\ 2$。其中一次项发酵时间（*A*）、接种量（*B*）对结果的影响为显著（$P<0.05$），二次项 A^2、B^2 和 C^2 对结果的影响为极显著（$P<0.0\ 1$），*AB* 的交互项对结果的影响为极显著（$P<0.01$）。各影响因素对 MFB 的影响强弱次序为接种量（*B*）>发酵时间（*A*）>发酵温度（*C*）。

2.1.2.2　响应面分析结果

根据回归方程，分析发酵时间、发酵温度和接种量对总黄酮含量的影响。通过观察响应面的坡度陡峭程度，确定两者交互项对响应值的影响程度，响应面曲面图越陡峭说明两者交互作用越明显。发酵时间（*A*）、接种量（*B*）、发酵温度（*C*）的交互项对总黄酮含量的影响如图 2 所示。





A. 发酵时间与接种量的交互作用；B. 发酵温度与发酵时间的交互作用；C. 发酵温度与接种量的交互作用。

图 2　各因素交互作用对总黄酮含量的影响

Fig.2　Influences of interactions between factors on total flavonoid content

由图 2A 可知，*AB* 交互曲面中总黄酮含量的变化坡度随发酵时间的延长和接种量的增加呈先增大后降低的趋势，在发酵时间为 20 d、接种量为 5 mL 时，其总黄酮含量达到最大值，且总黄酮含量随接种量的变化陡峭程度大于发酵时间，说明接种量对总黄酮含量的影响大于发酵时间，根据响应面的坡度陡峭程度，确定两者交互项影响为显著，结果与表 4 的方差分析结果相符合。

由图 2B 可知，*AC* 交互曲面中总黄酮含量的变化坡度随发酵温度的增加和发酵时间的延长呈先增大后降低的趋势，在发酵温度为 27 ℃、发酵时间为 20 d 时，其总黄酮含量达到最大值，根据响应面的坡度陡峭程度，确定两者交互项影响为显著，结果与表 4 的方差分析结果相符合。

由图 2C 可知，*BC* 交互曲面中总黄酮含量的变化坡度随发酵温度的增加呈先增大后降低的趋势，随接种量的增加呈先增大后降低的趋势，在发酵温度为 27 ℃、接种量 5 mL 时，其总黄酮含量达到最大值，结果与表 4 的方差分析结果相符合。

2.1.2.3　最佳发酵条件的确定和验证试验

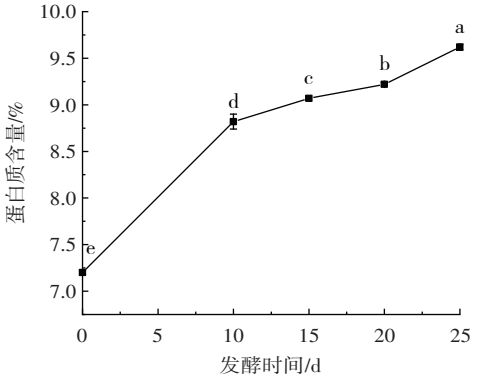
经过 Design-Expert V8.0.5 软件分析得到羊肚菌固

态发酵苦荞的最优工艺条件为发酵时间 20.76 d、接种量 5.105 mL、发酵温度 27.115 ℃，预测的总黄酮含量为 13.113 mg/g。为验证模型的精准性，考虑到现有的设备参数和固态发酵的实际操作，根据可行性最终将最佳工艺条件调整为发酵时间 20 d、接种量 5 mL、发酵温度 27 ℃，采用此工艺条件进行 3 次平行验证试验，总黄酮含量为 13.03 mg/g，与预测值相近，说明该模型适用于羊肚菌固态发酵苦荞工艺的优化，具有良好的应用价值。

2.2 羊肚菌固态发酵苦荞营养成分及功能活性测定

2.2.1 蛋白质含量变化分析

羊肚菌固态发酵对苦荞蛋白质含量的影响如图 3 所示。



不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

图 3 蛋白质含量变化

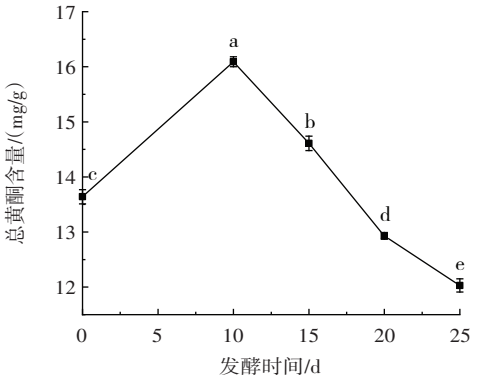
Fig.3 Changes in protein content

由图 3 可知，随着固态发酵时间的延长，其蛋白质含量显著升高（$P<0.05$），从（7.25±0.02）mg/g 升高到（9.67±0.03）mg/g，升高了 33.4%，这与 Darwish 等[16]的研究结果一致。其原因是在固态发酵过程中，羊肚菌较强的蛋白合成能力使苦荞的蛋白质含量增加[17]。综上所述，羊肚菌固态发酵可较好的提高苦荞的蛋白质含量。

2.2.2 总黄酮含量变化分析

羊肚菌固态发酵对苦荞总黄酮含量的影响如图 4 所示。

由图 4 可知，羊肚菌固态发酵过程中的总黄酮含量呈现先上升后下降的趋势。在发酵 10 d 时总黄酮含量达到最大值，为 16.09 mg/g，与未发酵苦荞（13.64 mg/g）相比提高了 17.96%。其总黄酮含量提高可能是由于羊肚菌在固态发酵过程中分泌的多种水解酶能对苦荞壳中的纤维素、果胶和淀粉等大分子物质进行水解，使黄酮类物质与大分子之间的化学键断裂，从而促进基质中黄酮类化合物的溶出[18]，导致总黄酮含量增加。此外，在羊肚菌固态发酵 10 d 后总黄酮含量显著下降，可能是因为羊肚菌难以利用苦荞中的内源营养物质满足自身生长代谢需求；同时固态发酵过程中羊肚



不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

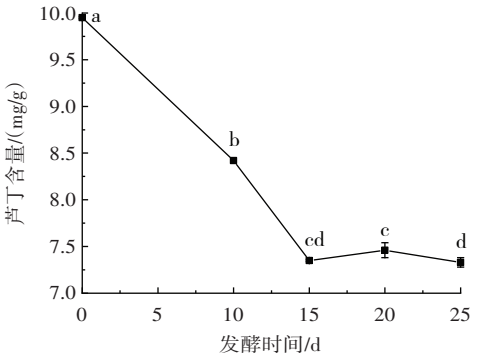
图 4 总黄酮含量变化

Fig.4 Changes in total flavonoid content

菌会合成糖苷酶，该酶可断裂黄酮的糖苷键，将结合型黄酮转化为游离型黄酮苷元，最终造成样品总黄酮含量下降[13]。

2.2.3 芦丁和槲皮素含量变化分析

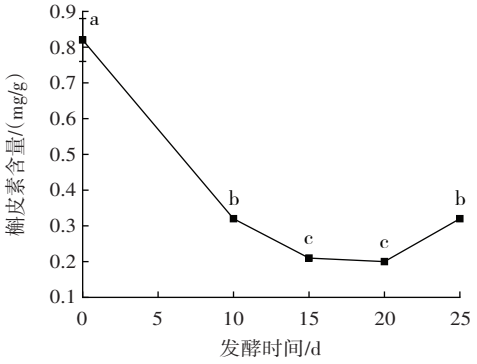
羊肚菌固态发酵对苦荞芦丁和槲皮素含量的影响如图 5、图 6 所示。



不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

图 5 芦丁含量变化

Fig.5 Changes in rutin content



不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

图 6 槲皮素含量变化

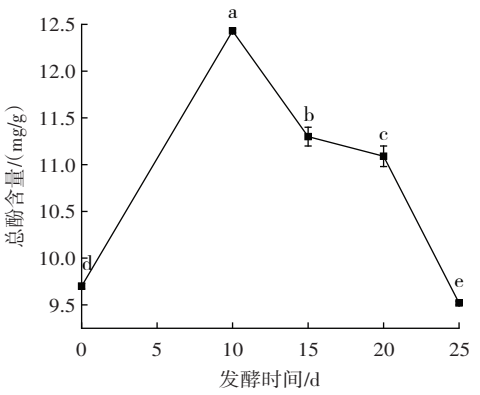
Fig.6 Changes in quercetin content

由图 5、图 6 可知，羊肚菌固态发酵 0~20 d 芦丁含量和槲皮素含量均呈下降趋势，芦丁含量从 9.95 mg/g

降低到 7.33 mg/g，降低了 26.33%，槲皮素含量从 0.82 mg/g 降低到 0.20 mg/g，降低了 75.61%。芦丁（*Rutin*），又名芸香苷（*Rutinoside*），是苦荞中最主要的黄酮类物质，约占总类黄酮物质含量的 80% 以上[19]，芦丁含量降低的原因可能是在羊肚菌固态发酵过程中产生 α-1，6 鼠李糖苷酶，该酶水解芦丁中的糖苷键将芦丁转化为槲皮素[20]，这与高陪等[21]的研究结果一致，通过微生物发酵将芦丁转化为槲皮素。槲皮素（*Quercetin*）是一种天然的黄酮类化合物，槲皮素在羊肚菌固态发酵苦荞过程中通过尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶和磺基转移酶转化为槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷和槲皮素-3-O-硫酸盐[22]，李家华等[23]的研究结果也证实了这一点：普洱茶发酵过程中槲皮素的含量一直呈下降趋势，推测可能是在发酵过程中微生物产生的糖苷酶水解生成槲皮素类之外的某些游离态黄酮醇苷元所致。

2.2.4　总酚含量变化分析

羊肚菌固态发酵对苦荞总酚含量的影响结果如图 7 所示。



不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

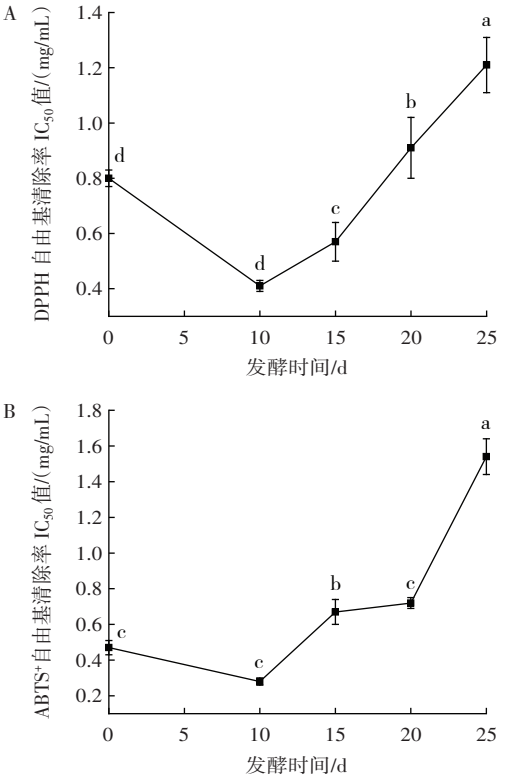
图 7　羊肚菌固态发酵过程中总酚含量变化

Fig.7　Changes in total phenol content

由图 7 可知，羊肚菌固态发酵苦荞总酚含量随着发酵时间的延长呈现先上升后下降的趋势。其中在发酵 10 d 时达到最高，为 12.43 mg/g，对比发酵前（9.70 mg/g），其总酚含量提高了 27.83%，说明羊肚菌固态发酵可以提高苦荞的总酚含量，可能是因为苦荞中的酚类物质主要以结合态存在，在固态发酵过程中，羊肚菌会产生纤维素酶、酯酶等，这些酶可水解苦荞中存在的结合酚，从而使总酚的含量显著升高[24]。而在发酵 10 d 后总酚含量下降，可能是因为羊肚菌为了维持生长降解了酚类物质，与此同时，羊肚菌生长代谢过程中所产生的酶也可能与酚类物质发生结合，使其水溶性下降，产生沉淀现象，导致总酚含量的下降[25-26]。

2.2.5　抗氧化活性变化分析

DPPH 自由基和 $ABTS^+$ 自由基清除试验均通过待测样品捕获人工合成自由基的能力来评价样品的抗氧化活性[27]，其中 DPPH 有稳定的氮中心自由基，而 $ABTS^+$ 有稳定的硫中心阳离子自由基，分别在 517 nm 和 734 nm 处有最大光吸收。因此采用 DPPH 自由基和 $ABTS^+$ 自由基清除能力评价其体外抗氧化活性。羊肚菌固态发酵对苦荞抗氧化活性的影响如图 8 所示。



A. DPPH 自由基清除率 IC_{50} 值；B. $ABTS^+$ 自由基清除率 IC_{50} 值。不同小写字母表示差异显著，$P<0.05$。

图 8　羊肚菌固态发酵过程中抗氧化活性变化

Fig.8　Changes in antioxidant activity

由图 8 可知，羊肚菌固态发酵苦荞的 DPPH 自由基清除率的半抑制浓度（half maximal inhibitory concentration IC_{50}）值、$ABTS^+$ 自由基清除率的 IC_{50} 值均随发酵时间的延长呈现先下降后上升的趋势，在发酵 10 d 时其 DPPH 自由基、$ABTS^+$ 自由基清除率的 IC_{50} 值最小，分别为 0.41 mg/mL 和 0.28 mg/mL，与发酵前（0.80 mg/mL 和 0.47 mg/mL）相比降低了 48.75% 和 40.43%，抗氧化活性提高了 12.5% 和 10.64%，结果表明羊肚菌固态发酵可以增强苦荞的抗氧化活性，与李鹏程等[28]的研究结果一致。

2.2.6　抗氧化活性与功能物质的相关性分析

羊肚菌固态发酵过程中功能成分与抗氧化活性的相关性分析见表 5。

由表 5 可知，总黄酮含量与 DPPH 自由基清除率 IC_{50} 值、$ABTS^+$ 自由基清除率 IC_{50} 值呈极显著负相关（$P<0.01$），总酚含量与 DPPH 自由基清除率 IC_{50} 值、$ABTS^+$ 自由基清除率 IC_{50} 值呈显著负相关（$P<0.05$），在羊肚

表5 功能成分与功能活性的相关性

Table 5 Correlations between functional components and functional activities

项目	总黄酮含量	芦丁含量	槲皮素含量	总酚含量
DPPH自由基清除率IC_{50}值	−0.930**	−0.162	−0.108	−0.790*
$ABTS^+$自由基清除率IC_{50}值	−0.817**	−0.196	−0.251	−0.651*

注：*表示影响显著，$P<0.05$；**表示影响极显著，$P<0.01$。

菌固态发酵苦荞过程中DPPH自由基清除率IC_{50}值、$ABTS^+$自由基清除率IC_{50}值先下降后上升，其总黄酮、总酚含量先上升后下降，在发酵10 d时DPPH自由基清除率IC_{50}值、$ABTS^+$自由基清除率IC_{50}值最小，分别为0.41 mg/mL和0.28 mg/mL，其总黄酮含量和总酚含量最高在16.09 mg/g和12.43 mg/g。综上所述，羊肚菌固态发酵0~10 d时总黄酮和总酚含量升高，抗氧化活性增强。

3 结论

本研究选取羊肚菌固态发酵苦荞，以总黄酮含量为指标，设计单因素试验，考察了不同发酵时间、接种量和发酵温度对总黄酮含量的影响。结合单因素试验结果进行响应面优化，以总黄酮含量为响应值，利用Box-Behnken设计建立了二次回归模型：$Y=13.10-0.28A+0.36B+0.20C-0.69AB-0.28AC-0.13BC-3.44A^2-3.67B^2-2.67C^2$。最终确定最优的发酵条件：发酵时间20.76 d、接种量5.105 mL、发酵温度27.115 ℃，在实际操作中，调整为发酵时间20 d、接种量5 mL、发酵温度27 ℃。通过验证试验，结果显示在最优发酵条件下，总黄酮含量为13.03 mg/g，接近预测值，验证了模型的准确性和实用性。

进一步研究羊肚菌固态发酵苦荞过程中对其营养及功能活性的影响。其中，羊肚菌固态发酵有效提高了苦荞的蛋白质含量，从(7.25±0.02) mg/g升高到(9.67±0.03) mg/g，升高了33.4%；同时固态发酵促进了总黄酮、总酚的积累。在发酵10 d时，苦荞样品的总黄酮和总酚含量达到最大，为16.09 mg/g和12.43 mg/g，分别提高了17.96%和27.83%。并通过DPPH自由基和$ABTS^+$自由基清除率的测定，发现固态发酵10 d时，苦荞的DPPH自由基和$ABTS^+$自由基清除率显著增强，分别提高了12.5%和10.64%。进一步对羊肚菌固态发酵过程中功能成分与抗氧化活性的相关性分析，其中总黄酮含量与DPPH、$ABTS^+$自由基清除率的IC_{50}值呈极显著负相关($P<0.01$)，总酚含量与DPPH、$ABTS^+$自由基清除率的IC_{50}值呈显著负相关($P<0.05$)，说明在羊肚菌固态发酵0~10 d时，DPPH自由基、$ABTS^+$自由基清除率的IC_{50}值显著下降，总黄酮和总酚含量显著上升。综上所述，羊肚菌的固态发酵显著提升了苦荞的营养成分和功能活性，为苦荞的功能食品开发提供了重要的理论依据和实践参考。

参考文献：

[1] LUTHAR Z, GOLOB A, GERM M, et al. Tartary buckwheat in human nutrition[J]. Plants, 2021, 10(4): 700.

[2] 杨建. 基于靶向代谢组学羊肚菌子实体与菌丝体初级代谢产物分析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023.
YANG Jian. Analysis of primary metabolites of morels fruiting bodies and Mycelium Based on targeted metabolomics[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023.

[3] RAMYA H, RAVIKUMAR K S, FATHIMATHU Z, et al. Morel mushroom, Morchella from Kashmir Himalaya: A potential source of therapeutically useful bioactives that possess free radical scavenging, anti-inflammatory, and arthritic edema-inhibiting activities[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2022, 45(5): 2014-2023.

[4] LI W, CAI Z N, MEHMOOD S, et al. Anti-inflammatory effects of Morchella esculenta polysaccharide and its derivatives in fine particulate matter-treated NR8383 cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 904-915.

[5] ZHANG J L, LI M, LI L, et al. Evaluation of differences in volatile flavor compounds between liquid-state and solid-state fermented Tartary buckwheat by *Monascus purpureus*[J]. Food Chemistry, 2025, 464: 141662.

[6] HÖLKER U, HÖFER M, LENZ J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64(2): 175-186.

[7] 焦捷, 雷梅英, 王树林. 羊肚菌固态发酵青稞的营养、活性成分及抗氧化特性变化研究[J]. 食品与发酵科技, 2023, 59(4): 37-43.
JIAO Jie, LEI Meiying, WANG Shulin. Study on changes of nutrition, active components and antioxidant properties of highland barley solid-fermented by Morchella[J]. Sichuan Food and Fermentation, 2023, 59(4): 37-43.

[8] 佟维娜, 蔡丹, 郑明珠, 等. 羊肚菌固态发酵玉米蛋白粉的研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(1): 113-118.
TONG Weina, CAI Dan, ZHENG Mingzhu, et al. Solid fermentation for zein by Morchella esculenta[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(1): 113-118.

[9] 闫美姣. 高含量杂粮面条研制与开发[D]. 太原: 山西大学, 2019.
YAN Meijiao. Research and development of high-content coarse cereal noodles[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2019.

[10] 郑佳欣, 李怡婧, 汪晨阳, 等. 板栗壳鞣质提取及其对DPPH自由基清除活性的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(3): 211-215.
ZHENG Jiaxin, LI Yijing, WANG Chenyang, et al. Study on tannins extraction process from Chestnut shell and scavenging effects of DPPH free radical[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(3): 211-215.

[11] TAO L, GU F, LIU Y, et al. Preparation of antioxidant peptides from *Moringa oleifera* leaves and their protection against oxidative damage in HepG2 cells[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1062671.

[12] 聂攀, 吕玮, 陆军, 等. 利用*Lactobacillus kisonensis*发酵藜麦-黑燕麦复合谷物富集多酚及黄酮的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 208-216.
NIE Pan, LÜ Wei, LU Jun, et al. Optimization of polyphenols and flavonoids enrichment process of quinoa-black oat complexed grain fermented by *Lactobacillus kisonensis*[J]. Science and Technology of

Food Industry, 2023, 44(1): 208-216.

[13] 张小凤 . 罗汉果甘草复合发酵饮料的研制[D]. 扬州: 扬州大学, 2020.
ZHANG Xiaofeng. Development of compound fermented beverage of Siraitia grosvenorii and licorice[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020.

[14] 王罗 . 冠突散囊菌固态发酵苦荞叶茶的研制及其品质分析[D]. 成都: 成都大学, 2022.
WANG Luo. Preparation and quality analysis of Tartary buckwheat leaves tea fermented by Eurotium cristatum[D]. Chengdu: University, 2022.

[15] 边名鸿, 袁天萌, 杨南, 等 . 乳杆菌强化发酵对苦荞酵素抗氧化特性及风味的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 118-125.
BIAN Minghong, YUAN Tianmeng, YANG Nan, et al. Effects of Lactobacillus enhanced fermentation on the antioxidant characteristics and flavor of Tartary buckwheat jiaosu[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 118-125.

[16] DARWISH G A M A, BAKR A A, ABDALLAH M M F. Nutritional value upgrading of maize stalk by using *Pleurotus ostreatus* and *Saccharomyces cerevisiae* in solid state fermentation[J]. Annals of Agricultural Sciences, 2012, 57(1): 47-51.

[17] 顾丹丹, 董雪, 张金秀, 等 . 小麦羊肚菌菌粮制备工艺优化及营养成分、理化性质和抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(4): 237-245.
GU Dandan, DONG Xue, ZHANG Jinxiu, et al. Optimization of the solid-state fermentation process for *Morchella esculenta* fermented wheat and analysis of its nutritional components, physicochemical properties and antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(4): 237-245.

[18] ZHANG R, CEN Q, HU W K, et al. Metabolite profiling, antioxidant and anti-glycemic activities of Tartary buckwheat processed by solid-state fermentation (SSF) with *Ganoderma lucidum*[J]. Food Chemistry X, 2024, 22: 101376.

[19] WANG L, ZHAO J L, MAO Y B, et al. Tartary buckwheat rutin: Accumulation, metabolic pathways, regulation mechanisms, and biofortification strategies[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 208: 108503.

[20] LUKŠIČ L, BONAFACCIA G, TIMORACKA M, et al. Rutin and quercetin transformation during preparation of buckwheat sourdough bread[J]. Journal of Cereal Science, 2016, 69: 71-76.

[21] 高陪, 苏建, 沈竞, 等 . 微生物发酵转化芦丁制备槲皮素的研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2010, 47(6): 1429-1433.
GAO Pei, SU Jian, SHEN Jing, et al. The preparation of quercetin through the transformation from rutin by the microbial fermentation[J]. Journal of Sichuan University (Natural Science Edition), 2010, 47(6): 1429-1433.

[22] WU Q, NEEDS P W, LU Y L, et al. Different antitumor effects of quercetin, quercetin-3′-sulfate and quercetin-3-glucuronide in human breast cancer MCF-7 cells[J]. Food & Function, 2018, 9(3): 1736-1746.

[23] 李家华, 赵明, 胡艳萍, 等 . 普洱茶发酵过程中黄酮醇类物质含量变化的研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2012, 34(2): 59-65.
LI Jiahua, ZHAO Ming, HU Yanping, et al. Changes of flavonol contents in Pu-erh tea during fermentation[J]. Journal of Southwest Agricultural University, 2012, 34(2): 59-65.

[24] 孙丹 . 固态发酵苦荞中酚类物质、抗氧化性及抗炎活性的研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016.
SUN Dan. Study on phenolic compounds, antioxidant activity, and anti-Inflammatory activity in solid-state fermented Tartary buckwheat[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2016.

[25] 白海军, 庞惟俏, 张智慧, 等 . 藜麦—蓝靛果复合汁发酵工艺及其上清液抗氧化与抗疲劳作用研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(7): 148-154.
BAI Haijun, PANG Weiqiao, ZHANG Zhihui, et al. Fermentation technology and effects of antioxidant and anti-exercise fatigue of quinoa haskap complex fermented supernatant[J]. Food and Machinery, 2024, 40(7): 148-154.

[26] 戴志伟, 张玥, 伊力夏提·艾热提, 等 . 四种乳酸菌发酵西梅浆的特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 220-227.
DAI Zhiwei, ZHANG Yue, YILIXIATI·AIRETI, et al. Characteristics of prunes pulp fermented by lactic acid bacteria[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(15): 220-227.

[27] 张芸慈 . 刺槐花及发酵产物中的化学成分和抗氧化活性研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2021.
ZHANG Yunci. Studies on chemical composition and antioxidant activity in flower and fermentation product of the *Robinia pseudoacacia* L.[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2021.

[28] 李鹏程, 肖咪, 薛宏坤, 等 . 冠突散囊菌发酵枸杞工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2021, 46(2): 51-58.
LI Pengcheng, XIAO Mi, XUE Hongkun, et al. Study on technology and antioxidant activity of *Lycium barbarum* fermentated by *Eurotium cristatum*[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(2): 51-58.

加工编辑:张岩蔚
收稿日期:2025-04-22