



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105000934 A

(43) 申请公布日 2015. 10. 28

(21) 申请号 201510431416. 3

(22) 申请日 2015. 07. 22

(71) 申请人 浙江工商大学

地址 310018 浙江省杭州市下沙高教园区学  
正街 18 号

(72) 发明人 张虹 陈晶 郝厚波 张志飞  
林娜

(74) 专利代理机构 杭州中成专利事务有限公  
司 33212

代理人 金祺

(51) Int. Cl.

C05G 1/00(2006. 01)

A01G 1/04(2006. 01)

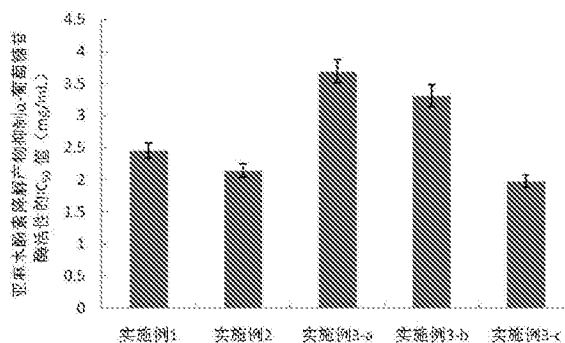
权利要求书2页 说明书8页 附图5页

### (54) 发明名称

食用菌降解亚麻籽壳获高生物活性木酚素和  
菌菇的方法

### (57) 摘要

本发明公开了一种以亚麻籽壳为主要原料的  
菌菇培养基质,其由亚麻籽壳 40%~70%、木屑  
0%~48%、麸皮 10%~28%、葡萄糖 1%、石膏  
1%组成。本发明还同时公开了利用上述菌菇培  
养基质栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分提取物的  
方法,包括以下步骤:1)、菌菇栽培:包括菌丝生  
长阶段、催蕾阶段、生长抑制阶段、出菇阶段;2)、  
采集菌菇的不同生长阶段结束后所得的培养基作  
为提取亚麻籽壳降解产物的培养料;3)、利用培  
养料进行亚麻籽壳中活性成分提取,得亚麻籽壳  
活性成分提取物。



1. 以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基质,其特征在于按照以下步骤制备而得:

①、配制基料:

基料由以下重量比的成分组成:

亚麻籽壳 40%~70%、木屑 0%~48%、麸皮 10%~28%、葡萄糖 1%、石膏 1%;

②、将基料中除了葡萄糖以外的成分进行均匀混合,得混合料;

将葡萄糖溶于水后与混合料搅拌均匀,经灭菌处理后,得以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基质;

所述水与基料的重量之和称为总重,水占总重的 55~65%。

2. 根据权利要求 1 所述的以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基,其特征在于:

将葡萄糖溶于水后与混合料搅拌均匀后进行装袋,每袋重 550~650g,然后于 121℃ 高压灭菌 30min,得以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基质。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基,其特征在于:

基料由以下重量比的成分组成:亚麻籽壳 43%、木屑 45%、麸皮 10%、葡萄糖 1%、石膏 1%。

4. 利用权利要求 1~3 任一所述的菌菇培养基质栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分提取物的方法,其特征在于依次进行以下步骤:

1)、菌菇栽培:

于无菌的室温条件下,向菌菇培养基质上接种菌菇,接种量为 4.5%~5.5%;接着依次进行以下阶段的栽培:

先将接种菌菇后的培养基于 24.5~25.5℃、相对湿度 58%~62%条件下培养 24~26 天,此为菌丝生长阶段;

然后于 9.5~10.5℃、相对湿度 88%~92%条件下培养 6~8 天,此为催蕾阶段;

再于 3.5~4.5℃、相对湿度 78%~82%条件下培养 6~8 天,此为生长抑制阶段;

最后在 8℃、相对湿度 80%条件下培养直至菌菇成熟,此为出菇阶段;

2)、采集菌菇的不同生长阶段结束后所得的培养基作为提取亚麻籽壳降解产物的培养料;

所述菌菇的不同生长阶段是指以下任意一种:

菌菇生长抑制阶段、出菇阶段;

3)、亚麻籽壳中活性成分提取:

取步骤 2) 所得的培养料,烘干后用搅拌机将其粉碎;

按照 1g/8~12ml 的料液比,在粉碎后培养料中加入 80%乙醇进行提取,超声 13~18min,然后在 38~42℃热回流提取 3.5~4.5h;如此循环提取两次;

每次提取后离心,离心结束后取其上清液,将两次提取离心后所得的上清液合并,浓缩至原体积的 1/9~1/11,得亚麻籽壳活性成分提取物。

5. 根据权利要求 4 所述的利用菌菇培养基栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分提取物的方法,其特征为:菌菇为金针菇、平菇、草菇。

6. 根据权利要求 5 所述的利用菌菇培养基栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分提取物的方法,其特征为:栽培所得的金针菇按照如下步骤进行金针菇活性成分提取:

先将金针菇烘干至恒重;然后按照 1g/18~22ml 的料液比,在烘干后金针菇中加入水,

于 65 ~ 75℃水浴浸提 2 ~ 3h, 过滤, 分别得上清和滤渣;

按 75%乙醇:上清液 = 3:1 的体积比, 在上清中加入 75%乙醇沉淀菌菇多糖, 离心, 离心所得的上清液旋蒸浓缩, 为金针菇水提取物;

按照 1g:20ml 的料液比, 在滤渣中加入 80%甲醇, 于 65 ~ 75℃水浴浸提 2 ~ 3h, 过滤, 所得的滤液旋蒸浓缩, 为金针菇 80%甲醇提取物。

## 食用菌降解亚麻籽壳获高生物活性木酚素和菌菇的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及食用菌种植技术领域,主要是利用亚麻籽壳栽培菌菇;本发明进一步涉及从以亚麻籽壳为主材料的培养基中提取亚麻木酚素的方法;本发明还涉及功能活性成分领域,主要涉及亚麻木酚素降解产物的生物功能活性研究。

### 背景技术

[0002] 亚麻又称胡麻,为亚麻科、亚麻属一年生或多年生草本植物。亚麻籽是亚麻所结的种子,由种皮、胚、内胚乳组成,味甘性平,具有润燥驱风等功效。人体所必须要的脂肪酸如多不饱和脂肪酸在亚麻籽中丰富存在,它可以使其具有降血脂、降胆固醇、降压、抗癌、改善脑血管疾病、提高脑神经功能、保护心脏、减少人体脂肪的功能。同时其含有的丰富植物胶、蛋白质、木酚素在提高食品粘度作为乳化剂和稳定剂、提高人体抗氧化水平及抑制人体乳房癌细胞生长中起到重要作用。

[0003] 亚麻壳是亚麻果实外包裹亚麻籽的果皮,亚麻籽壳是亚麻籽外包裹亚麻仁的种皮。亚麻壳的营养成分:粗蛋白质、粗脂肪、纤维素、可溶性糖等。而亚麻籽壳的营养成分包括亚麻籽胶、木酚素、膳食纤维、蛋白脂肪等。

[0004] 据资料显示,亚麻籽壳中富含亚麻胶以及木酚素等活性成分。但目前市面上对亚麻籽壳的应用仅限于作猪饲料或者归田返肥,这大大限制了亚麻籽壳的利用并造成严重的浪费。

[0005] 木酚素是一类由双分子苯丙素合成的天然酚类化合物,广泛分布在多种植物中,其中亚麻籽中含量最高。亚麻籽中的木酚素主要为开环异落叶松树脂酚(SECO)和乌台树脂酚(MAT),另外还含有少量的松脂酚(PRS)、落叶松脂(LCS)和异落叶松脂酚(ILC)。亚麻木酚素在自然条件下以聚合物形式存在,只有在被降解后才能游离出SDG单体,而不同降解方式影响木酚素的含量。

[0006] 随着对木酚素深入的研究,发现许多木酚素具有抗肿瘤,免疫调节,抑菌,抗氧化,抗癌,降血脂,防止糖尿病等多种生物学的功能,因此对木酚素的深入研究对于当今新药物的开发具有重要的意义。据已有研究表明,开环异落叶松树脂醇酚二葡萄糖苷(SDG)可以预防一型或二型糖尿病。PRASAD K等研究得出亚麻木酚素SDG可以起到降低血糖的作用,其原因主要为亚麻木酚素SDG在低浓度的情况下可以控制肝脏内糖异生酶PEPCK基因的转录表达, $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制模型主要通过对酶的抑制作用从而抑制糖在机体的糖代谢过程,进而起到降低血糖的作用。

[0007] 木酚素的提取是亚麻木酚素研究中获取研究对象的基本过程。木酚素的提取方法很简单,常见的几种从亚麻籽中提取木酚素的方法包括有机溶剂提取法、超临界CO<sub>2</sub>萃取法以及微波辅助提取法。

[0008] 简单提取得到亚麻木酚素聚合物,只有在被降解后才能游离出SDG单体和相关化合物,从而具有相应的生物活性。据已有的研究显示,降解方式包括酸水解、碱水解以及酶解。Kraushofer等采用0.1mol/L甲醇钠+纤维素酶进行水解,所得亚麻籽中SECO、CouA、

FeA 的含量分别为 4957-10062mg/kg、107-232mg/kg、102-259mg/kg。Smeds 利用 0.3mol/L NaOH+0.01mol/L HCl 进行水解反应,所得 SECO 的含量仅有 1658mg/kg。Penalvo 等人采用 0.3mol/L NaOH+ $\beta$ -葡萄糖醛酸酶/硫酸酯酶进行水解,所得 SECO 和 MAT 化合物含量分别为 3237mg/kg、52mg/kg。Liggins 采用 1.5mol/L HCl,100℃ 下进行酸水解,所得 SECO+ASECO 化合物含量用 GC-MS 分析所得含量为 4160-12617mg/kg。Johnsson 等人采用二氧化二乙烯:95%乙醇(1:1)提取亚麻籽中木酚素并用 0.3mol/L NaOH 对木酚素进行水解,所得 SDG 产物含量为 11700-24100mg/kg。

[0009] 根据已有资料显示,对于培养基的降解能力比较中,平菇的降解能力最强,金针菇的降解能力最弱。

[0010] 众所周知,菌菇具有营养丰富、味道鲜美、生物活性高等优势。其中,金针菇既是一种美味食品,又是较好的保健食品。金针菇含有人体必需氨基酸成分较全,其中赖氨酸和精氨酸含量尤其丰富,且含锌量比较高,对增强智力尤其是对儿童的身高和智力发育有良好的作用,人称“增智菇”。据资料显示,金针菇有增强机体对癌细胞的抗御能力,预防肝脏疾病和肠胃道溃疡,增强机体正气,防病健身,还可抑制血脂升高,降低胆固醇,防治心脑血管疾病;抗菌消炎、清除重金属盐类物质、抗肿瘤的作用。

[0011] 菌菇的栽培基本主要成分是木屑或棉籽壳,由于栽培量的大幅度上升,木材资源连年砍伐,导致木屑的价格飞涨,成本过高而亏损,因此寻求替代物对于菌菇的发展具有重要意义。

## 发明内容

[0012] 本发明要解决的技术问题是提供一种食用菌降解亚麻籽壳从而获得高生物活性的木酚素以及菌菇的方法,即利用亚麻籽壳培养基栽培菌菇,从而获得高生物活性食物木酚素降解产物以及菌菇方法。

[0013] 为了解决上述技术问题,本发明提供一种以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基,其按照以下步骤制备而得:

[0014] ①、配制基料:

[0015] 基料由以下重量比的成分组成:

[0016] 亚麻籽壳 40%~70%(较佳为 43%~65%)、木屑 0%~48%(较佳为 5%~45%)、麸皮 10%~28%、葡萄糖 1%、石膏 1%;

[0017] ②、将基料中除了葡萄糖以外的成分进行均匀混合,得混合料;

[0018] 将葡萄糖溶于水后与混合料搅拌均匀,经灭菌处理后,得以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基;

[0019] 所述水与基料的重量之和称为总重,水占总重的 55~65%(即,控制含水量为 55~65%,较佳为 60%)。

[0020] 作为本发明的以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基的改进:

[0021] 将葡萄糖溶于水后与混合料搅拌均匀后进行装袋,每袋重 550~650g(例如为 600g),然后于 121℃ 高压(1.1 个大气压)灭菌 30min,得以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基。

[0022] 本发明还同时提供了利用上述菌菇培养基栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分

提取物的方法,依次进行以下步骤:

[0023] 1)、菌菇栽培:

[0024] 于无菌的室温条件下,向菌菇培养基上接种菌菇,接种量为 4.5%~5.5% (重量%, 较佳为 5%);接着依次进行以下阶段的栽培:

[0025] 先将接种菌菇后的培养基于 24.5~25.5℃、相对湿度 58%~62% 条件下培养 24~26 天 (较佳为 25℃、相对湿度 60% 条件下培养 25 天),此为菌丝生长阶段;

[0026] 然后于 9.5~10.5℃、相对湿度 88%~92% 条件下培养 6~8 天 (较佳为 10℃、相对湿度 90% 条件下培养 7 天),此为催蕾阶段;

[0027] 再于 3.5~4.5℃、相对湿度 78%~82% 条件下培养 6~8 天 (较佳为 4℃、相对湿度 80% 条件下培养 7 天),此为生长抑制阶段;

[0028] 最后在 8℃、相对湿度 80% 条件下培养直至菌菇成熟,此为出菇阶段;

[0029] 备注说明:在本发明中,室温一般指 20~25℃;

[0030] 2)、采集菌菇的不同生长阶段结束后所得的培养基作为提取亚麻籽壳降解产物的培养料;

[0031] 所述菌菇的不同生长阶段是指以下任意一种:

[0032] 菌菇生长抑制阶段 (即,为菌丝长满时含亚麻籽壳的培养基质)、出菇阶段 (即,为菌菇采收后的含亚麻籽壳培养基质);

[0033] 备注说明:以未接种菌菇前的以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基作为对比;

[0034] 3)、亚麻籽壳中活性成分提取:

[0035] 取步骤 2) 所得的培养料,烘干后 (60℃, 2h) 用搅拌机将其粉碎 (能过 100 目筛);

[0036] 按照 1g/8~12ml (较佳为 1g/10ml) 的料液比,在粉碎后培养料中加入 80% 乙醇进行提取,超声 (40KHz) 13~18min (较佳为 15min),然后在 38~42℃ 热回流提取 3.5~4.5h (较佳为 40℃ 热回流提取 4h);如此循环提取两次;

[0037] 每次提取后离心 (以 3000r/min 离心 10min),离心结束后取其上清液,将两次提取离心后所得的上清液 (提取液) 合并,浓缩至原体积的 1/9~1/11 (例如为 1/10),得亚麻籽壳活性成分提取物。

[0038] 备注说明:80% 乙醇,即体积浓度为 80% 的乙醇水溶液。

[0039] 作为本发明的利用菌菇培养基栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分提取物的方法的改进:菌菇包括金针菇、平菇、草菇。

[0040] 作为本发明的利用菌菇培养基栽培菌菇及获得亚麻籽壳活性成分提取物的方法的进一步改进:

[0041] 栽培所得的金针菇按照如下步骤进行金针菇活性成分提取:

[0042] 先将金针菇烘干至恒重 (于 60~65℃ 烘干);然后按照 1g/18~22ml (较佳为 1g/20ml) 的料液比,在烘干后金针菇中加入水,于 65~75℃ 水浴浸提 2~3h (较佳为 70℃ 水浴浸提 2.5h),过滤 (纱布过滤),分别得上清和滤渣;

[0043] 按 75% 乙醇:上清液 = 3:1 的体积比,在上清中加入 75% 乙醇沉淀菌菇多糖,离心 (8000r/min 15min 离心),离心所得的上清液旋蒸浓缩,为金针菇水提取物;

[0044] 按照 1g:20ml 的料液比,在滤渣中加入 80% 甲醇,于 65~75℃ 水浴浸提 2~3h (较佳为 70℃ 水浴浸提 2.5h),过滤 (纱布过滤),所得的滤液旋蒸浓缩,为金针菇 80% 甲

醇提取物。

[0045] 备注说明：75%乙醇，即体积浓度为75%的乙醇水溶液；80%甲醇，即，体积浓度为80%的甲醇水溶液。

[0046] 备注说明：金针菇水提取物以及金针菇80%甲醇提取物（样品A、样品B）均是金针菇活性成分，因为提取溶剂分别为水以及甲醇，故而所得的活性成分存在一定的差别，可从所附的液相色谱图上看出。

[0047] 在本发明中：

[0048] 1、以HPLC法对活性成分进行定性、定量分析：将菌菇生长各阶段含亚麻籽壳培养基提取物（即，亚麻籽壳活性成分提取物）和金针菇提取物（包括水提取物和甲醇提取物）用0.45 μm醋酸纤维素膜进行过膜，然后进行HPLC分析。

[0049] 2、对本发明获得的亚麻籽壳活性成分提取物用于活性评价，为对α-葡萄糖苷酶抑制作用分析，具体步骤：在0.05mol/L的磷酸缓冲液（PH=6.8）250 μl和50 μl样品溶液，加入0.01776mol/L的PNPG、0.5U/L AG各50 μl，摇匀后再37℃恒温水浴中反应20min，用1.0mol/L碳酸钠溶液100 μl做终止反应，将反应液至于酶标仪405nm波长下测定在酶的作用下释放出的PNP的量，用超纯水代替酶液作空白对照。每个样品同一浓度下作3个平行试验，取其平均值。

[0050] 3、对本发明获得的菌菇提取成分用于活性分析，采用FRAP法对总抗氧化能力进行测定。

[0051] 本发明与现有技术相比，具有如下优点和有益效果：

[0052] 1)、利用亚麻籽壳废料，实现了资源的充分利用，降低菌菇的生产成本，减小木屑的需求压力；

[0053] 2)、本发明菌菇培养基，以部分亚麻籽壳替代木屑；经本发明研究发现：菌菇培养的C/N比有一定的要求，全替代（亚麻籽壳全替代木屑）对菌菇的生长有一定的影响。最重要的是，本发明中以最佳C/N比进行培养，可在更低的接种量条件下获得更高的菌菇产率和最优的菌菇质量，达到木酚素活性物质的最佳得率，以及特殊功能活性的菌菇。

[0054] 3)、有效降解亚麻籽壳中的木酚素从而提高生物活性，可获得高生物活性的木酚素；

[0055] 4)、栽培出的菌菇具有一定的保健功效。

[0056] 即，本发明的目的之一是，打开传统降解亚麻木酚素方式的思维枷锁，采用菌菇降解亚麻籽壳，从而提高木酚素的提取率以及生物活性。

[0057] 本发明的目的之二是，解决资源问题，提供一种利用亚麻籽壳来栽培菌菇的方法，利用亚麻籽壳作为栽培菌菇的主要原料，实现变废为宝，降低菌菇的生产成本，减小木屑的需求压力。

[0058] 综上所述，本发明不仅以亚麻籽壳（即，以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基）培养更具生物活性的菌菇，还实现用菌菇去降解亚麻籽壳中的活性成分，如目标产物单体SDG等，从而获得两部分的有效产物，菌菇以及亚麻木酚素。

## 附图说明

[0059] 下面结合附图对本发明的具体实施方式作进一步详细说明。

[0060] 图 1 是各案例的亚麻降解产物的 RP-HPLC 色谱图；

[0061] 具体如下：

[0062] (a) 是按实施例 1 培养基配方条件下，菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质所提取的亚麻降解产物的 RP-HPLC 色谱图；

[0063] (b) 是按实施例 2 培养基配方条件下，菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质所提取的亚麻降解产物的 RP-HPLC 色谱图；

[0064] (c) 是按实施例 3 培养基配方条件下，未接种菌菇前含亚麻籽壳培养基所提取的亚麻降解产物（实施例 3-a）的 RP-HPLC 色谱图；

[0065] (d) 是按实施例 3 培养基配方条件下，菌丝长满时含亚麻籽壳的培养基质所提取的亚麻降解产物（实施例 3-b）的 RP-HPLC 色谱图；

[0066] (e) 是按实施例 3 培养基配方条件下，菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质所提取的亚麻降解产物（实施例 3-c）的 RP-HPLC 色谱图。

[0067] 图 2 为实施例 1、2、3 所得的亚麻籽壳提取物抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的 IC<sub>50</sub> 值的结果对比图。

[0068] 图 3 分别为对照组金针菇水提取物（常规市购而得的金针菇按照本发明方法制备而得）、实施例 1 金针菇水提取物、实施例 2 金针菇水提取物、实施例 3 金针菇水提取物、对照组金针菇 80% 甲醇提取物（常规市购而得的金针菇按照本发明方法制备而得）、实施例 1 金针菇 80% 甲醇提取物、实施例 2 金针菇 80% 甲醇提取物、实施例 3 金针菇 80% 甲醇提取物的 RP-HPLC 色谱图。

[0069] 图 4 是对照组金针菇与实施例 1、2、3 亚麻籽壳培养金针菇水提取以及甲醇提取物总抗氧化能力的测定结果图。

## 具体实施方式

[0070] 下面结合具体实施例对本发明做进一步的说明，但本发明不仅限于这些实施例，在未脱离本发明宗旨的前提下，所作的任何改进均落在本发明的保护范围之内。

[0071] 实施例 1、一种由菌菇降解亚麻木酚素从而提高生物活性的方法，包括以下步骤：

[0072] (1) 培养基（菌菇培养基质）的制备：

[0073] ①、配制基料：

[0074] 基料由以下重量比的成分组成：

[0075] 亚麻籽壳 60%、木屑 10%、麸皮 28%、葡萄糖 1%、石膏 1%；

[0076] 备注：亚麻籽由脱壳机进行脱壳进而获得亚麻籽壳；亚麻籽壳、木屑、麸皮的含水量均  $\leq 5\%$ （重量%）。

[0077] ②、将基料中除了葡萄糖以外的成分进行均匀混合，得混合料；

[0078] 将葡萄糖溶于水后与混合料搅拌均匀后进行装袋，每袋重约 600g 左右，然后于 121℃、1.1 个大气压高压灭菌 30min，得以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基质（简称：菌菇培养基质）。

[0079] 水与基料的重量之和称为总重，水占总重的 60%（即，控制含水量为 60%）。

[0080] (2) 菌菇栽培：

[0081] 于无菌条件下，将培养基（菌菇培养基质）降温至室温 25℃ 接种菌菇，接种量为

5% ;接着依次进行以下阶段的栽培 :

[0082] 先将接种菌菇后的培养基于 25℃、相对湿度 60% 条件下培养 25 天,此为菌丝生长阶段 ;

[0083] 然后于 10℃、相对湿度 90% 条件下培养 7 天,此为催蕾阶段 ;

[0084] 再于 4℃、相对湿度 80% 条件下培养 7 天,此为生长抑制阶段 ;

[0085] 最后在 8℃、相对湿度 80% 条件下培养直至菌菇成熟,此为出菇阶段 ;当菌菇成熟时进行采收 ( 备注说明 :视菌菇成熟程度进行采收,此为常规技术,例如金针菇的出菇阶段一般为 15 天,一般收 3 茬菇 )。

[0086] 在本发明中,菌菇为金针菇 ( 当然,也可为平菇以及草菇等 )。

[0087] (3) 采集菌菇的不同生长阶段结束后所得的培养基作为提取亚麻籽壳降解产物的培养料 ;

[0088] 所述菌菇的不同生长阶段是指以下任意一种 :

[0089] 菌菇生长抑制阶段 ( 即,为菌丝长满时含亚麻籽壳的培养基质 )、出菇阶段 ( 即,为菌菇采收后的含亚麻籽壳培养基质 ) ;

[0090] 备注说明 :以未接种菌菇前的以亚麻籽壳为主要原料的菌菇培养基质作为对比。

[0091] 即,此步骤为 :

[0092] 亚麻籽壳分解阶段获取 :以菌菇不同生长阶段为参考,获取亚麻籽壳分解培养基。选择的生长阶段分别为 :未接种菌菇前含亚麻籽壳培养基 ( 即亚麻籽壳以及木屑等按一定配比配成的培养基 )、菌丝长满时含亚麻籽壳的培养基质 ( 即菌菇生长抑制阶段 ) 以及菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质。分别以上述培养基质作为培养料。

[0093] (4) 亚麻籽壳中活性成分提取 :

[0094] 取步骤 2) 所得的培养料,烘干 (60℃,2h) 后用搅拌机将其粉碎 ( 能过 100 目筛 )。准确称取粉碎后培养料,加入 10 倍量 ( 即,1g/10ml 的料液比 ) 的 80% 乙醇提取,超声 (40KHz) 15min,然后在 40℃ 热回流提取 4h,如此循环提取两次。每次提取后以 3000r/min 离心 10min,离心结束后取其上清液,将两次提取离心后的上清液 ( 提取液 ) 合并,最后浓缩至原体积的 1/10,得亚麻籽壳活性成分提取物。

[0095] (5) 菌菇活性成分提取 :

[0096] 栽培所得的菌菇按照如下步骤进行菌菇活性成分提取 :

[0097] 取菌菇 (65℃ 烘干至恒重 ),于烧杯中按照 1g/20ml 的比例加入水,70℃ 水浴浸提 2.5h,纱布过滤,分别得上清和滤渣 ;

[0098] 按 75% 乙醇 : 上清液 = 3:1 的体积比,在上清中加入 75% 乙醇沉淀菌菇多糖,离心 (8000r/min 15min 离心 ),离心所得的上清液旋蒸浓缩定容,为菌菇水提取物 ;

[0099] 按照 1g :20ml 的料液比,在滤渣中加入 80% 甲醇,于 70℃ 水浴浸提 2.5h,纱布过滤,所得的滤液旋蒸浓缩定容,为菌菇 80% 甲醇提取物。

[0100] (6) 以 HPLC 法对活性成分进行定量、定性分析 :将提取物用 0.45 μm 醋酸纤维素膜进行过膜,然后进 HPLC,以 SDG 为外标对亚麻籽壳降解产物进行定性、定量分析。

[0101] (7) 活性分析 :一、亚麻籽壳降解产物对 α - 葡萄糖苷酶抑制活性分析 :在 0.05mol/L 的磷酸缓冲液 (PH = 6.8) 250 μl 和 50 μl 样品溶液,加入 0.01656mol/L 的 PNPG、0.5U/L AG 各 50 μl,摇匀后再 37℃ 恒温水浴中反应 20min,用 1.0mol/L 碳酸钠溶液

100  $\mu$ l 做终止反应,将反应液至于酶标仪 405nm 波长下测定在酶的作用下释放出的 PNP 的量,用超纯水代替酶液作空白对照。每个样品同一浓度下作 3 个平行试验,取其平均值。二、菌菇活性成分总抗氧化能力测定:采用 FRAP 法测定。

[0102] 实施例 2:一种由菌菇降解亚麻木酚素从而提高生物活性的方法,

[0103] 将实施例 1 的步骤 (1) 中的培养基的配方改成按比例为:亚麻籽壳 65%、木屑 5%、麸皮 28%、葡萄糖 1%、石膏 1%。

[0104] 其余等同于实施例 1。

[0105] 实施例 3:一种由菌菇降解亚麻木酚素从而提高生物活性的方法,

[0106] 将实施例 1 的步骤 (1) 中的培养基的配方改成按比例为:亚麻籽壳 43%、木屑 45%、麸皮 10%、葡萄糖 1%、石膏 1%。

[0107] 其余等同于实施例 1。

[0108] 备注说明:

[0109] 1)、上述实施例 3,分别对以下 3 种培养料所得的“亚麻籽壳活性成分提取物”分别进行检测:

[0110] 未接种菌菇前含亚麻籽壳培养基(即亚麻籽壳以及木屑等按一定配比如配成的培养基)、菌丝长满时含亚麻籽壳的培养基质(即菌菇生长抑制阶段)以及菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质。

[0111] 2)、上述实施例 1 和实施例 2,仅仅以“菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质”作为培养料所得的“亚麻籽壳活性成分提取物”进行检测。

[0112] 结果与比较具体如下:

[0113] 图 1 分别是实施例 1、实施例 2、实施例 3(包括 3 个阶段的含亚麻籽壳培养基质)所得亚麻籽壳提取物的 RP-HPLC 色谱图。根据参考文献,SDG 标准品在 18min 左右出峰,图 1 的各图中在 18min 处均存在单体峰,根据质谱定性分析,18min 存在的单体峰确实为 SDG,各图中 SDG 在含量上存在一定的差异。根据实施例 1、2 以及实施例 3-c,可以看出,不同的培养基配方所得到的降解产物大致相同,都存在 12 个峰,实施例 3-c 中的各峰分离程度相对较好且 SDG 含量相对较高。将实施例 3-a、3-b 以及 3-c 进行对比,可见实施例 3-a 图中亚麻籽壳提取物的色谱图在保留时间为 25-45min 的范围内显示了一个宽峰,根据参考文献以及质谱定性分析,存在异型的大分子木酚素,其大部分未被降解成小分子化合物及单体。由实施例 3-a、3-b 以及实施例 3-c 可见,宽峰逐渐消失,在保留时间为 5-30min 的范围内,实施例 3-b 上存在 10 个峰,实施例 3-c 上存在 12 个峰,且实施例 3-c 上峰型较好,基本不存在拖尾峰,说明物质的分离程度较好,降解程度相对高。鉴于以上分析,基本可以表明异型的大分子木酚素被菌菇降解成小分子化合物或者单体,并且实施例 3-c 的降解程度高于其他实施例。

[0114] 图 2 为实施例 1、2 以及实施例 3-a、3-b、3-c 所得的含亚麻籽壳培养基质提取物抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的 IC<sub>50</sub> 值的结果图。从图中可以看出,随着降解程度的加深,亚麻木酚素降解产物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制率升高,由此可见,经降解后的亚麻籽壳木酚素具有更高的降血糖活性。

[0115] 图 3 分别是对照金针菇水提取物、甲醇提取物以及实施例 1、实施例 2、实施例 3 亚麻籽壳培养金针菇水提取物和甲醇提取物的 HPLC 色谱图。由色谱图可看出,亚麻籽壳培养

的金针菇与对照金针菇的色谱峰存在一定的差异。

[0116] 图4是对照组金针菇的水提取物、甲醇提取物以及实施例1、2、3亚麻籽壳培养金针菇水提取以及甲醇提取物总抗氧化能力的测定结果图。由图上可以明显看出,实施例1、2、3经过亚麻籽壳培养的金针菇水提物的总抗氧化能力分别为42.15  $\mu\text{mol/g}$ 、43.67  $\mu\text{mol/g}$ 、46.73  $\mu\text{mol/g}$  比对照组 (35.48  $\mu\text{mol/g}$ ) 高,实施例1、2、3经过亚麻籽壳培养的金针菇80%甲醇提取物的总抗氧化能力分别为48.37  $\mu\text{mol/g}$ 、50.63  $\mu\text{mol/g}$ 、54.13  $\mu\text{mol/g}$  高于对照组 (28.07  $\mu\text{mol/g}$ ),证明实验组金针菇的活性成分比对照组具有更高的还原性,且实施例3的活性最高。由此可见,经亚麻籽壳培养所获得的金针菇具有更好的抗氧化性,可用于食品的抗氧化保鲜等方面。

[0117] 对比例1、将实施例3中培养基的配方由“亚麻籽壳43%、木屑45%、麸皮10%、葡萄糖1%、石膏1%。”改成“亚麻籽壳85%、麸皮10%、葡萄糖1%、石膏1%”;其余同实施例1。

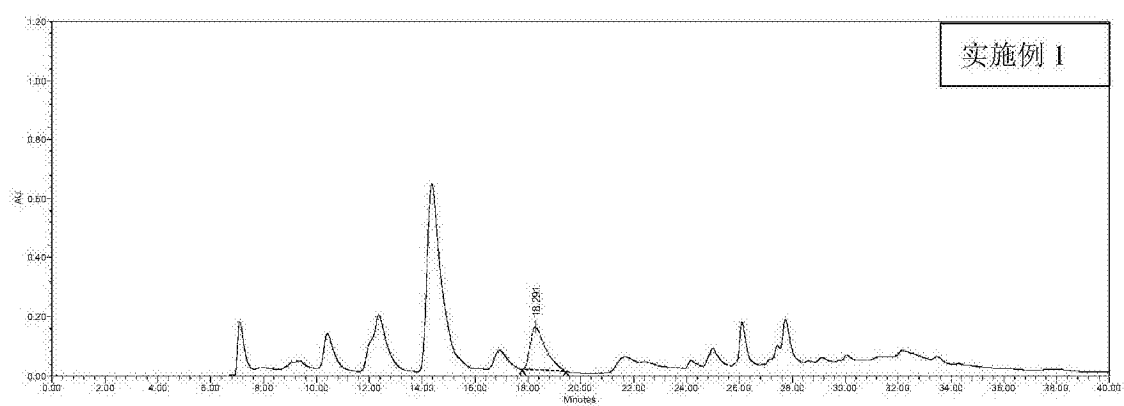
[0118] 对比例2、将实施例3中培养基的配方中的“亚麻籽壳”改成“亚麻壳”,含量不变;其余同实施例1。

[0119] 将上述对比例1、2所得的“亚麻籽壳分解终产物(仅仅以“菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质”作为培养料所得)”、“金针菇水提取物”、“金针菇80%甲醇提取物”的各项检测数据如下:

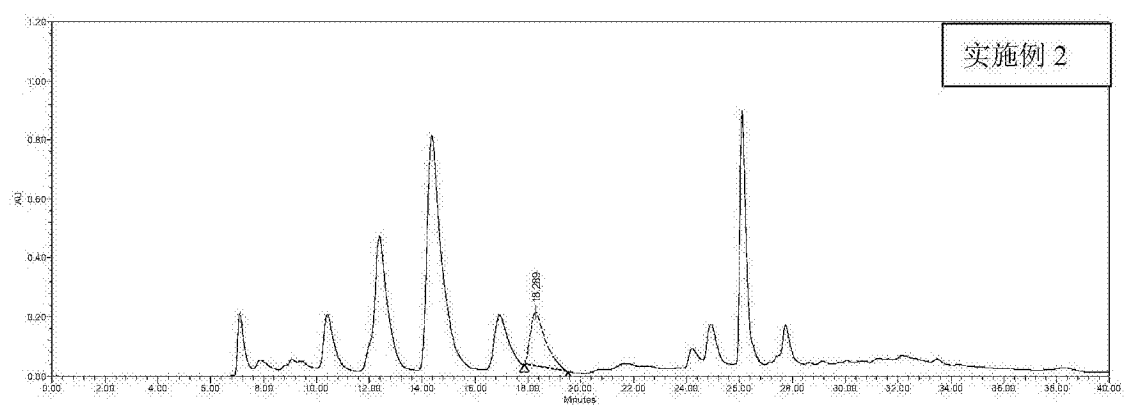
[0120] 对比例1相对于实施例3,由菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质提取得到亚麻木酚素的降解程度低于实施例3,这可能是由于全替代,亚麻籽壳中富含亚麻胶导致了培养基的密度大,C/N高于最佳培养条件,菌菇生长未处于较优条件,从而抑制菌菇的生长,进而导致菌菇对木酚素的降解能力降低,且亚麻籽壳含量较大也可能一定程度上影响了木酚素的降解。故而,由菌菇采收后含亚麻籽壳培养基质提取物的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性 $\text{IC}_{50}$ 值3.467mg/mL,远低于实施例3。由85%亚麻籽壳培养的金针菇的液相色谱图与实施例3培养的金针菇色谱图存在较大的差别,FRAP值较低,水提取物以及80%甲醇提取物的FRAP值分别为38.66  $\mu\text{mol/g}$ 、40.17  $\mu\text{mol/g}$  低于实施例3的46.73  $\mu\text{mol/g}$ 、54.13  $\mu\text{mol/g}$ ,说明对比例1金针菇的抗氧化能力低于实施例3,这可能是由于菌菇没有在最佳培养条件下生长而一定程度影响了活性成分的合成。

[0121] 对比例2相对于实施例3,由菌菇采收后含亚麻壳培养基质中基本未提取得到亚麻木酚素,因为亚麻壳中基本不含木酚素。含亚麻壳培养基质提取物的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性 $\text{IC}_{50}$ 值31.338mg/mL,可能存在其他活性物质,但活性明显非常小。而由亚麻壳培养的金针菇的液相色谱图与亚麻籽壳培养的金针菇色谱图也存在一定的差别,FRAP值相对较低,水提取物以及80%甲醇提取物的FRAP值分别为35.82  $\mu\text{mol/g}$ 、30.05  $\mu\text{mol/g}$  低于实施例3的46.73  $\mu\text{mol/g}$ 、54.13  $\mu\text{mol/g}$ ,表明对比例2金针菇的抗氧化能力不如实施例3,这可能是由于亚麻籽壳上的富营养成分造成的差异。

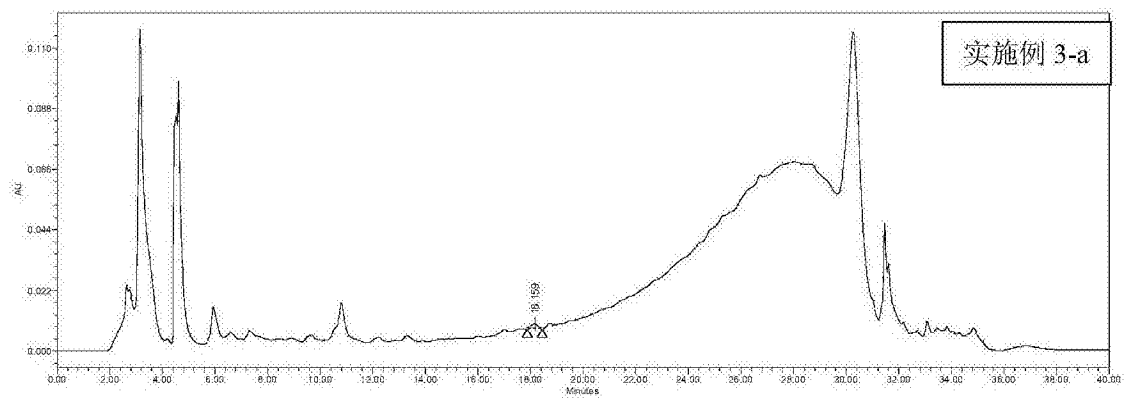
[0122] 最后,还需要注意的是,以上列举的仅是本发明的若干个具体实施例。显然,本发明不限于以上实施例,还可以有许多变形。本领域的普通技术人员能从本发明公开的内容直接导出或联想到的所有变形,均应认为是本发明的保护范围。



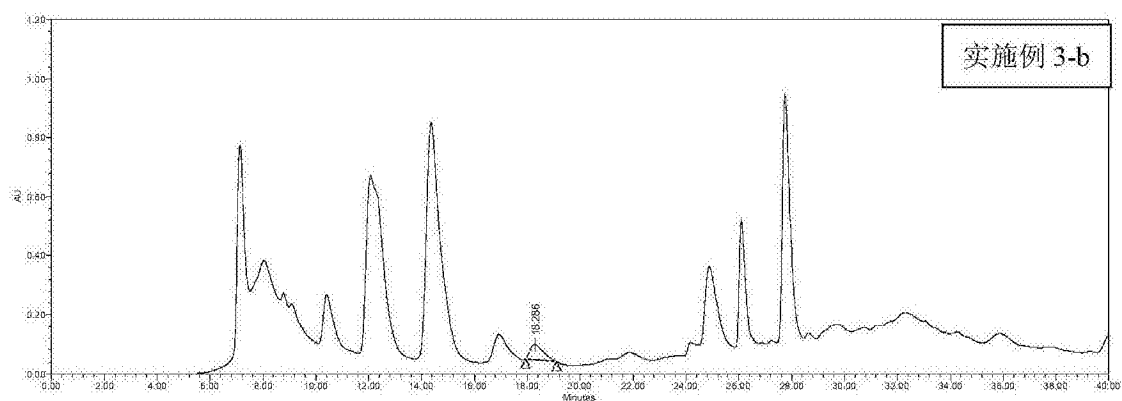
(a)



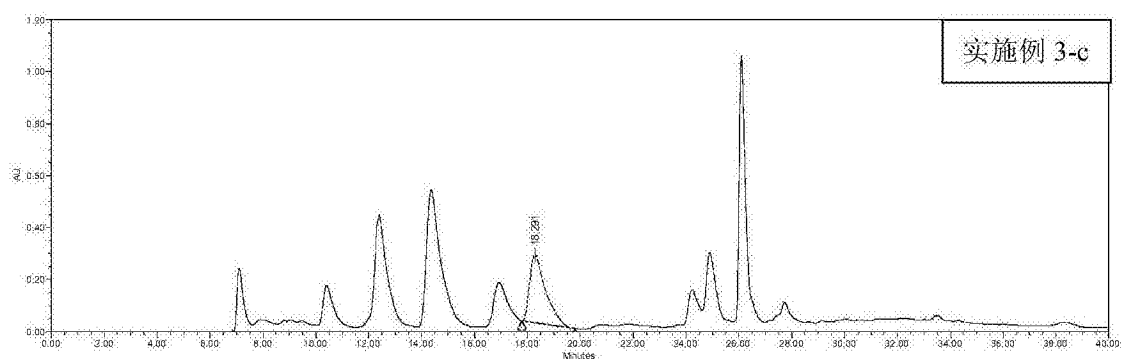
(b)



(c)



(d)



(e)

图 1

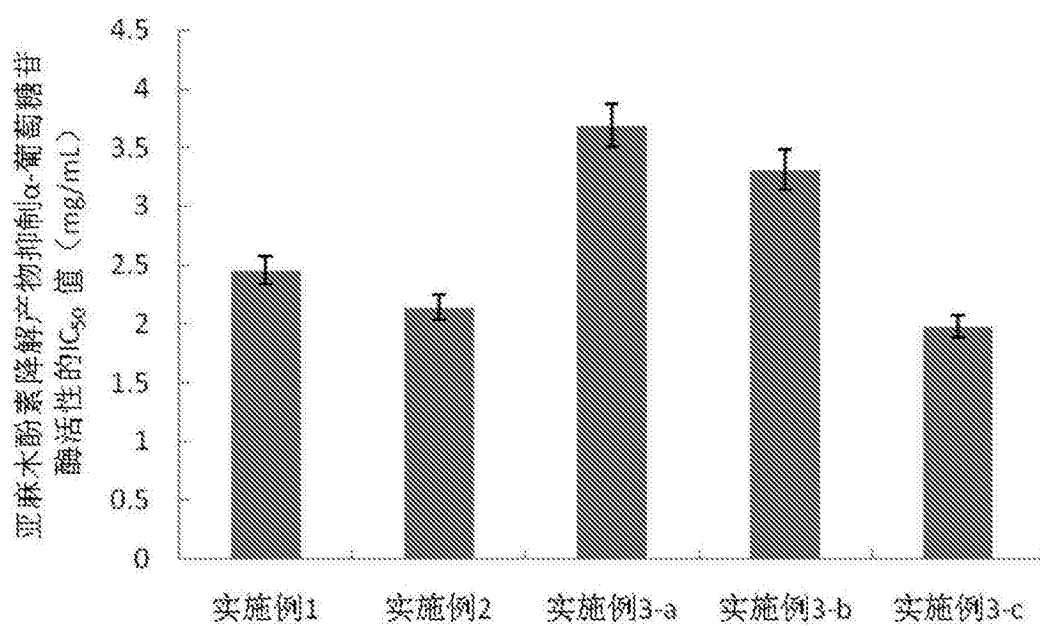
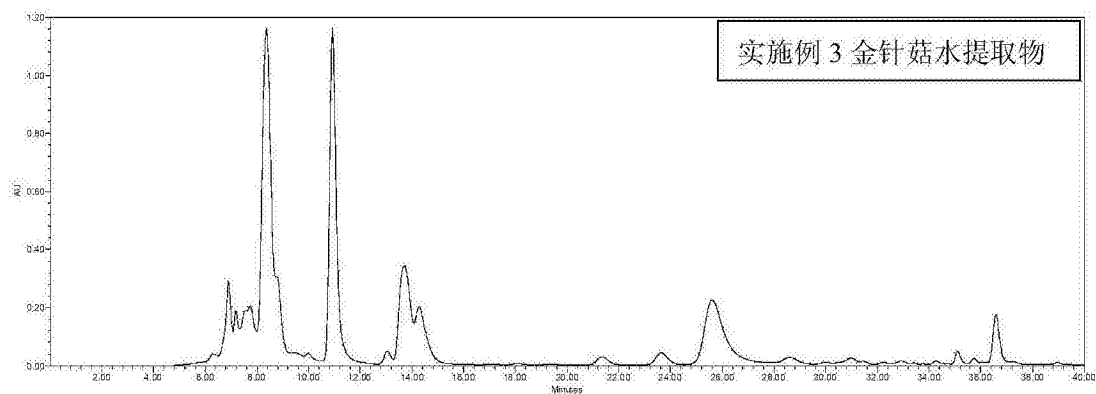
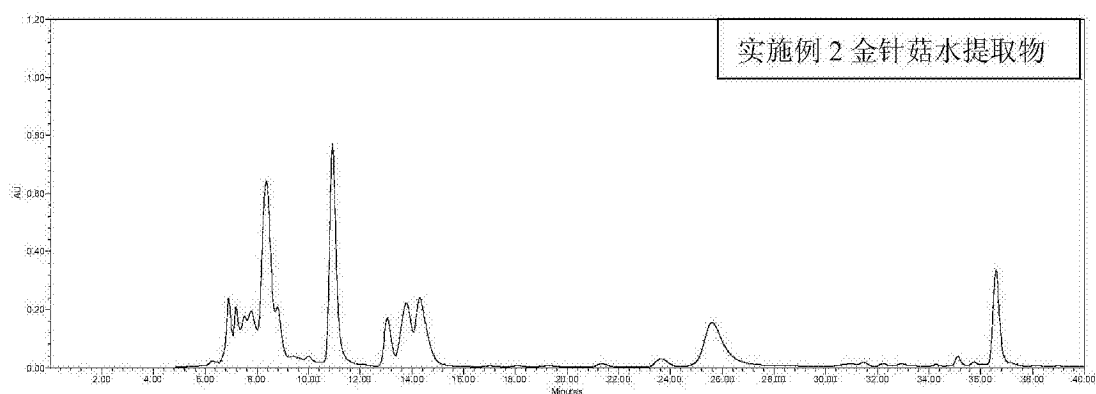
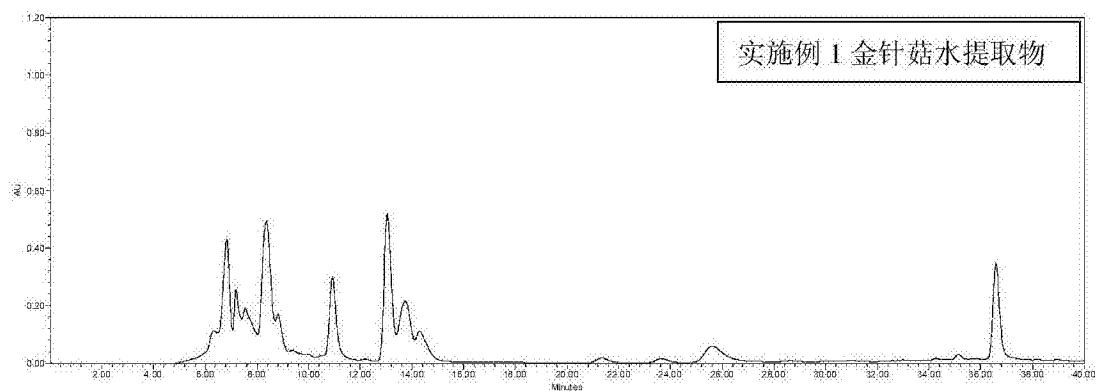
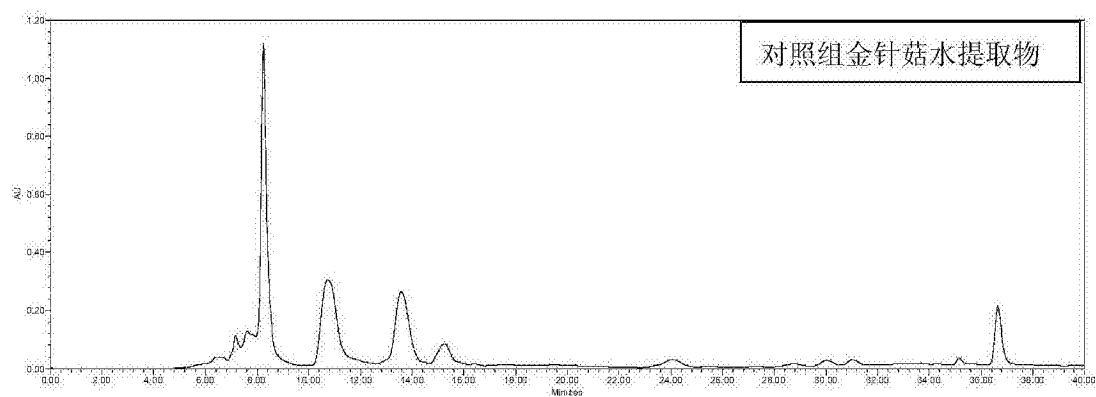


图 2



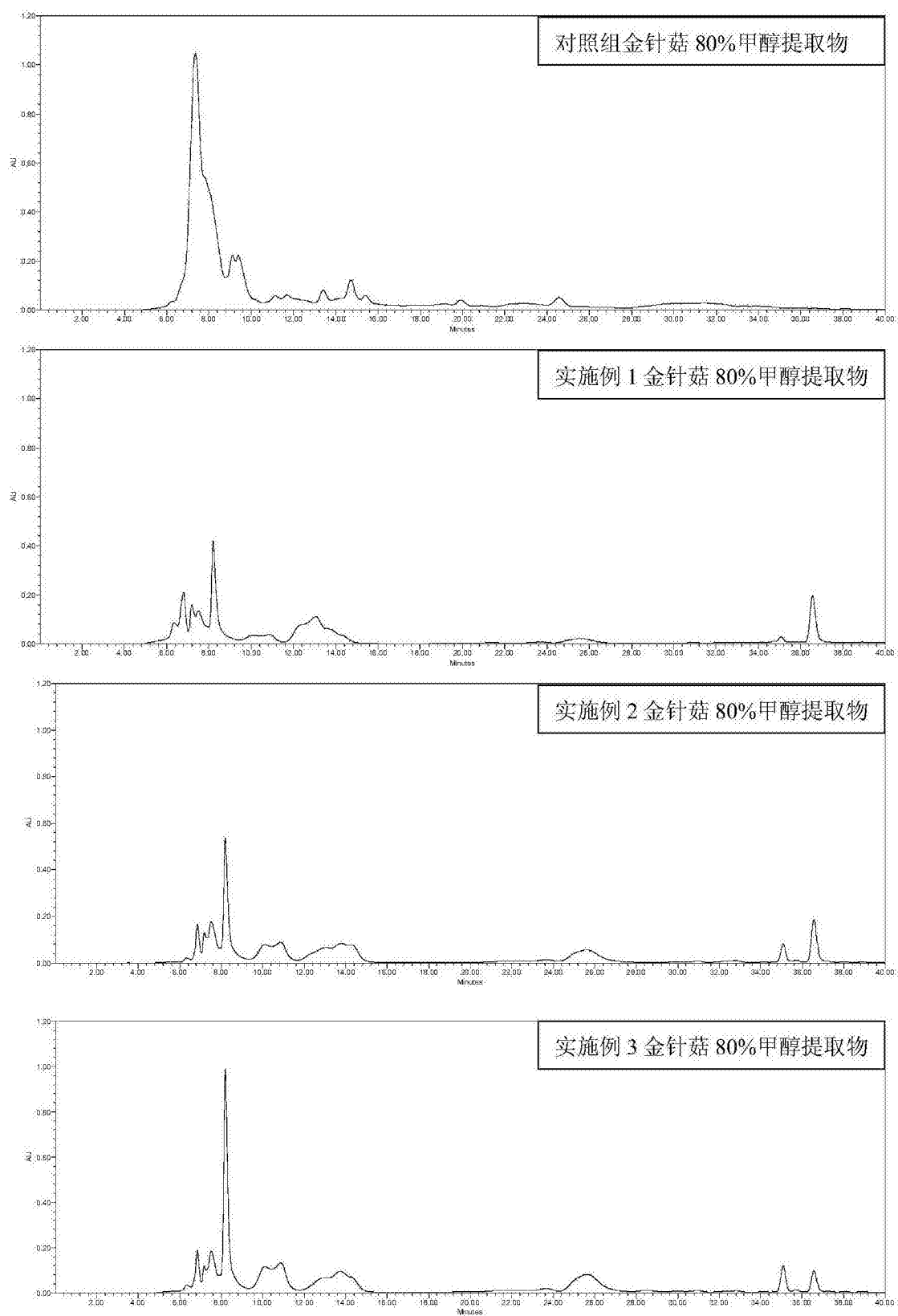


图 3

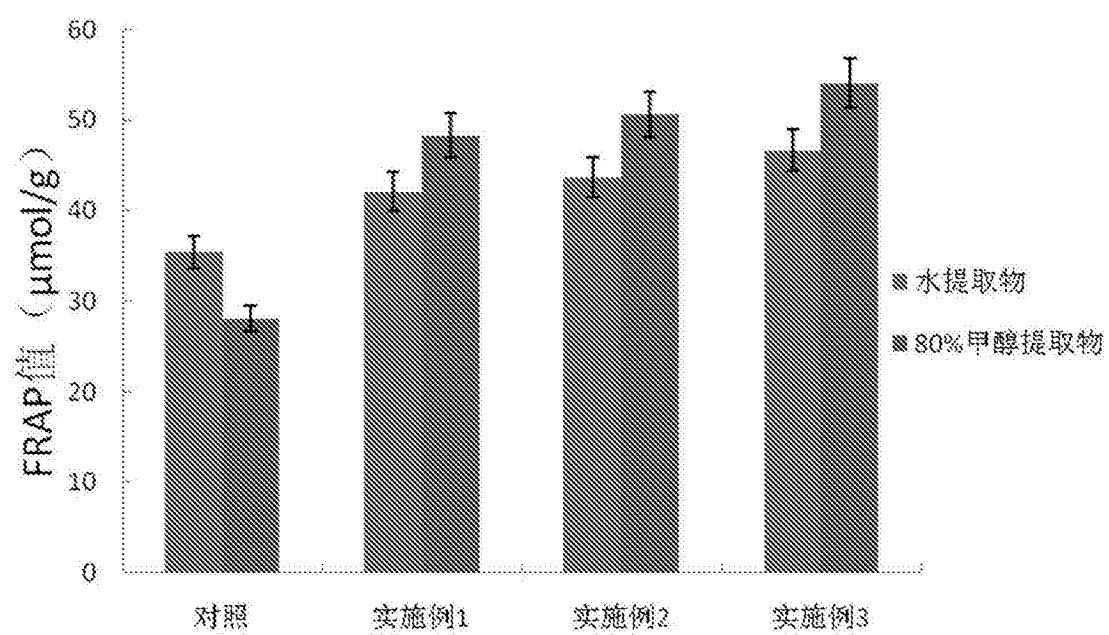


图 4