DOI:10.12441/spyswjs.20240511001 [文章编号] 1673-1689(2026)01-0100-09

米曲霉对玉米浆中营养成分的降解规律及产物的吸收特性研究

王晓杰[1] 夏春荣[2] 刘晓兰[1]

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院,黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 北安市工业科技发展服务中心,黑龙江 北安 164000)

摘要:【目的】探究米曲霉(*Aspergillus oryzae*)对玉米浆中营养成分的降解规律及产物的吸收特性。【方法】采用米曲霉对玉米浆进行发酵,分别在发酵1、3、5、7、9、11 d时探究玉米浆中营养物质的降解规律,并测定发酵7 d后玉米浆中的氨基酸质量分数及肽的相对分子质量分布;同时,利用黑木耳菌丝体静息细胞探究其对玉米浆发酵产物的吸收规律。【结果】当发酵时间为1~7 d时,随着发酵时间的延长,玉米浆中总糖和还原糖质量浓度显著下降,而可溶性蛋白质量浓度、氨基酸态氮质量浓度、氨基酸总量、米曲霉生物量及蛋白酶活性均显著升高。被黑木耳菌丝体静息细胞吸收的玉米浆发酵产物具有亲水性和两亲性,且相对分子质量分布均匀。【结论】在不添加任何辅料的条件下,米曲霉可高效发酵玉米浆,且其发酵产物能被食用菌吸收利用,为玉米浆源食用菌营养剂的开发奠定了基础。

关键词:玉米浆;米曲霉;营养物质;静息细胞;吸收

Degradation of Nutrients in Corn Steep Liquor by *Aspergillus oryzae* and Absorption Characteristics of the Product

WANG Xiaojie[1] *XIA Chunrong*[2] *LIU Xiaolan*[1]

(1. College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 2. Bei'an Industry and Technology Development Service Center, Bei'an 164000, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to explore the degradation patterns of nutrients in corn steep liquor by *Aspergillus oryzae* and the absorption characteristics of the product. [**Method**] *Aspergillus oryzae* was used for the fermentation of corn steep liquor, and degradation patterns of nutrients were studied after fermentation for 1, 3, 5, 7, 9, and 11 d. Changes in amino acid mass fraction and peptide molecular mass distribution in corn steep liquor after fermentation for 7 d were measured. Furthermore, the resting cells of *Auricularia heimuer* mycelia were used to explore the absorption characteristics of the fermentation product of corn steep liquor. [**Result**] As the fermentation time prolonged within 1~7 d, the mass concentrations of total sugar and reducing sugar in corn steep liquor decreased significantly, while the mass concentrations of soluble protein, amino acid nitrogen, and total amino acids, biomass of *Aspergillus oryzae*, and protease activity increased significantly. The fermented product absorbed by the resting cells of *Auricularia heimuer* mycelia had hydrophilic and amphiphilic properties, with a uniform relative molecular mass distribution. [**Conclusion**] *Aspergillus oryzae* could efficiently ferment corn steep liquor without any additives, and the fermentation product could be absorbed and utilized by edible

基金项目:黑龙江省植物性食品加工技术优势特色学科"科技攻关"专项项目(YSTSXK202305)。

通信作者:王晓杰(1980—),女,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事植物蛋白生物法改性研究。E-mail: wangxiaojie80@163.com

收稿日期:2024-05-11 **修回日期:**2024-07-12

fungi, which laid a foundation for the development of nutrients from corn steep liquor for edible fungi.
Keywords: corn steep liquor; *Aspergillus oryzae*; nutrient; resting cell; absorption

玉米浆主要由玉米籽粒经亚硫酸水浸泡后提取的水溶性成分组成，其产量约占玉米加工量的13%[1]。玉米浆制作成本低廉，富含粗蛋白质、氨基酸、还原糖、有机酸等营养物质，常作为廉价碳源和氮源促进微生物生长与发酵[2-3]，也可用作反刍动物的营养补充原料[4]。然而，玉米浆属于多相体系，由与水互溶的液相和水溶性较低的固相构成[5]，导致其稳定性差、极易沉淀，且易染菌变质，给贮存和运输带来较大困难，严重限制了玉米浆的资源化利用。玉米浆中的蛋白质质量分数约为45%，目前通常采用喷雾干燥制成干粉添加至饲料中，或直接作为“三废”处理排放。若能对玉米浆中的蛋白质等营养成分进行深加工利用，如通过酶解制备活性肽[6-7]及植物蛋白调味液等[8]，可显著提高玉米加工企业的经济效益。

黑龙江省是我国食用菌主产区，食用菌栽培历史悠久、生产品种丰富，在农业经济中占据重要地位。食用菌的菌袋培养基需要大量氮源营养物质及促生长剂。目前，菌袋常用的氮源为豆粕和麸皮，这2种同时也是重要的饲料原料[9]，导致食用菌产业与养殖业对豆粕和麸皮的需求竞争加剧，原料价格持续上涨[10]，菌袋生产成本居高不下，因此迫切需要能够替代传统氮源的廉价基质原料。

针对玉米浆资源化利用不足的问题，作者以蛋白酶系丰富的米曲霉为菌种，对质量分数100%的玉米浆（不额外补充任何营养成分，避免增加成本）进行发酵，制备食用菌营养剂。该策略既高效利用了玉米浆中的蛋白质资源，又为食用菌产业提供了廉价高效的氮源，缓解了菌包成本偏高的问题，为玉米浆的综合利用开辟了资源化利用的新途径[8,11-12]。在作者所在课题组前期的研究基础上，本研究进一步研究了米曲霉对玉米浆中营养物质的代谢规律，并利用黑木耳菌丝体静息细胞探究玉米浆发酵产物被黑木耳菌丝体吸收利用的特性，旨在为开发具有促食用菌生长作用的玉米浆源营养剂提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米浆：齐齐哈尔阜丰集团；米曲霉：齐齐哈尔大学食品与生物工程学院保藏；黑木耳菌丝体：北方生物有限责任公司；吐温-80、苯酚：分析纯，天津科密欧化学制剂有限公司；甲醛：分析纯，辽宁泉瑞试剂有限公司；乙腈：色谱纯，西格玛奥德里奇贸易有限公司。

1.2 仪器与设备

隔水式恒温培养箱：ZGP-2160型，北京市永光明医疗仪器厂；灭菌锅：SX-500型，日本Tomy公司；振荡培养箱：ZQZY-CF9.9型，上海知楚仪器有限公司；紫外-可见分光光度计：722S型，上海佑科仪器仪表有限公司；氨基酸自动分析仪：L-8900型，日立科学仪器有限公司；蛋白质纯化系统：Purifier 100型，美国GE医疗集团。

1.3 方法

1.3.1 发酵初始条件

参照文献[13]中的方法，用8 mol/L NaOH溶液将玉米浆的pH调至5.9，取90 mL调节pH后的玉米浆置于250 mL锥形瓶中，于112 ℃灭菌15 min。灭菌后冷却，在25 ℃、装液量90 mL/250 mL、摇床转速150 r/min的条件下，按1.25×10^3个/mL的接种量接入米曲霉，分别发酵1、3、5、7、9、11 d。

1.3.2 还原糖和总糖质量浓度的测定

采用DNS法测定样品中还原糖质量浓度[14]。采用蒽酮比色法测定样品中总糖质量浓度[15]。

1.3.3 乳酸质量浓度的测定

参照GB 12456—2021的方法测定样品中乳酸质量浓度[16]。

1.3.4 米曲霉生物量的测定

采用湿重法测定样品中米曲霉生物量。分别在发酵1、3、5、7、9、11 d时收集锥形瓶中的米曲霉菌丝体，用无菌水冲洗1~2次，于5 000 r/min离心5 min，去除上清液，称量菌丝体的质量，即为米曲霉生物量。

1.3.5 可溶性蛋白质量浓度的测定

采用福林酚法测定样品中可溶性蛋白质量浓度[17]。

1.3.6 氨基酸态氮质量浓度的测定

采用甲醛滴定法测定样品中氨基酸态氮质量浓度[18]。

1.3.7 蛋白酶活性的测定

采用福林酚法测定蛋白酶活性[19]。

1.3.8 氨基酸组成分析

采用氨基酸自动分析仪测定样品的氨基酸组成[20]。分别称取0.5 g玉米浆及其经米曲霉发酵7 d的发酵产物，将其与6 mol/L的HCl溶液混合，在氮气环境下于110 ℃水解22 h，水解完成后测定17种氨基酸的质量分数。

1.3.9 玉米浆发酵产物中肽的相对分子质量分布测定

采用凝胶层析法测定玉米浆及其经米曲霉发酵7 d后发酵液中肽的相对分子质量分布[21]。采用标准蛋白质（抑肽酶，相对分子质量6 500；杆菌肽，相对分子质量1 400；氧化型谷胱甘肽，相对分子质量612；还原型谷胱甘肽，相对分子质量307）校正色谱柱Superdex Peptide 10/300 GL，建立标准蛋白质相对分子质量对数值与有效分配系数的线性回归方程（y=−3.672 5x+4.839，R^2=0.989 3）。

将冷冻干燥后的玉米浆发酵液用流动相溶解，于4 ℃、10 000 r/min离心10 min，取上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤后上机检测。流动相为含0.15 mol/L NaCl的0.02 mol/L PBS（pH 7.0），样品中的蛋白质质量浓度为2 mg/mL，上样量100 μL，流量0.25 mL/min，检测波长214 nm。

1.3.10 黑木耳菌丝体静息细胞的制备

1）黑木耳菌丝体培养：称取土豆200 g、葡萄糖20 g、蛋白胨3 g、酵母膏2 g、KH_2PO_4 2 g、$MgSO_4$ 1 g、VB 10 mg、蒸馏水1 000 mL，配制成黑木耳菌丝体液体培养基。取100 mL该液体培养基，加入大小均等的黑木耳菌种块，在28 ℃、180 r/min条件下摇床培养5 d，获得黑木耳菌丝体培养液。

2）黑木耳菌丝体静息细胞的制备：参照文献[22]的方法，将黑木耳菌丝体培养液于4 ℃、10 000 r/min条件下离心15 min，收集沉淀并用无菌生理盐水洗涤3次，得到黑木耳菌丝体。将30 g葡萄糖溶于1 000 mL蒸馏水中，调节pH至6.0，配制成黑木耳菌丝体转化培养基。取100 mL转化培养基于250 mL锥形瓶中，于121 ℃灭菌20 min，冷却后接入适量黑木耳菌丝体，在28 ℃、180 r/min条件下摇床培养4 d，随后于4 ℃、10 000 r/min离心10 min，收集沉淀并用无菌生理盐水洗涤3次，得到黑木耳菌丝体静息细胞。

1.3.11 黑木耳菌丝体静息细胞吸收玉米浆发酵液规律的研究

按1.3.10的方法配制转化培养基，分别添加质量分数3%的米曲霉发酵玉米浆7 d的发酵液及玉米浆原液，于121 ℃灭菌20 min。冷却后加入1 g黑木耳菌丝体静息细胞，在28 ℃、180 r/min条件下摇床培养48 h，随后于4 ℃、10 000 r/min离心10 min，取上清液，沸水浴灭菌10 min。取该上清液配制2 mL蛋白质质量浓度为2 mg/mL的待测液。洗脱液A为体积分数2%的乙腈，洗脱液B为体积分数80%的乙腈。HPLC检测条件为：检测波长214 nm、上样量20 μL、流量1 mL/min。梯度洗脱条件为：0~25 min，流动相B体积分数由2%升至20%；25~45 min，流动相B体积分数由20%升至80%。以玉米浆发酵液为对照，根据色谱图中洗脱峰峰面积的变化，分别收集玉米浆发酵液中被黑木耳菌丝体静息细胞吸收的组分和未被吸收的组分，经冷冻干燥后进行LC-MS/MS肽段氨基酸序列分析。在氨基酸序列分析的基础上，筛选源自玉米蛋白质的肽段，采用ExPASY-ProtParam tool对肽段的相对分子质量分布、疏水性指数、等电点和脂肪指数进行分析。

1.4 数据处理

试验结果以平均值±标准偏差表示。使用SPSS 19.0软件进行方差分析，以Duncan法（P<0.05）进行差异显著性分析。

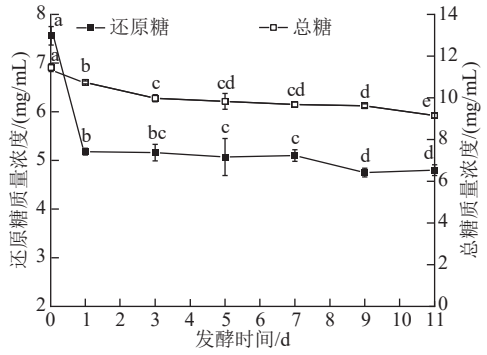
2 结果与讨论

2.1 米曲霉发酵玉米浆过程中营养物质的代谢规律

2.1.1 还原糖和总糖质量浓度

米曲霉发酵玉米浆过程中还原糖和总糖质量浓度的变化见图1。随着发酵时间的延长，玉米浆中总糖和还原糖质量浓度总体呈下降趋势。与未发酵玉米浆相比，发酵11 d的发酵液总糖质量浓度降低了20.09%；发酵9 d的发酵液还原糖质量浓度降低了37.17%。在发酵后期，发酵11 d的发酵液还原糖质量浓度虽略有升高，但与发酵9 d的样品相比差异不显著（P>0.05）。已有研究表明，玉米浆中葡萄糖质量浓度为6.26 g/L[23]，是微生物生长繁殖的优良碳源。在米曲霉发酵玉米浆过程中，米曲霉优先利用玉米浆中的葡萄糖等还原糖

进行生长代谢，导致总糖和还原糖质量浓度显著下降。当葡萄糖被消耗殆尽时，米曲霉通过分泌淀粉酶、糖化酶等，将玉米浆中的淀粉转化为还原糖，导致发酵后期还原糖质量浓度略有上升，而总糖质量浓度则持续下降。



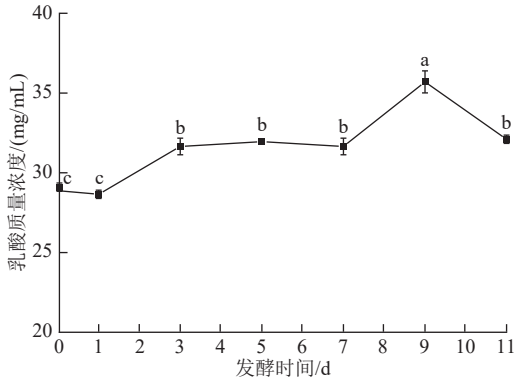
同一指标不同字母代表差异显著。

图1　米曲霉发酵玉米浆过程中还原糖和总糖质量浓度变化

Fig. 1　Changes in mass concentrations of reducing sugar and total sugar during the fermentation of corn steep liquor by *Aspergillus oryzae*

2.1.2　乳酸质量浓度

米曲霉发酵玉米浆过程中乳酸质量浓度的变化见图2。随着发酵时间的延长，玉米浆中乳酸质量浓度呈先升高后降低的趋势。与未发酵玉米浆相比，发酵9 d的发酵液中乳酸质量浓度提高了22.68%，这可能是由于米曲霉将玉米浆中的糖类物质转化为丙酮酸，丙酮酸进一步被还原为乳酸，从而使其质量浓度显著上升。Agarwal等[24]利用玉米浸泡液厌氧发酵生产乳酸，发现玉米浆是产乳酸的首选底物。刘枣等[25]采用玉米浆发酵培养基培养大肠杆菌JH-B22，同样观察到乳酸产量升高的现象，与本研究结果一致。当发酵时间为9~11 d时，随着发酵时间的延长，米曲霉开始以乳酸为碳源进行生长代谢，致使发酵液中乳酸质量浓度显著下降（P<0.05）。



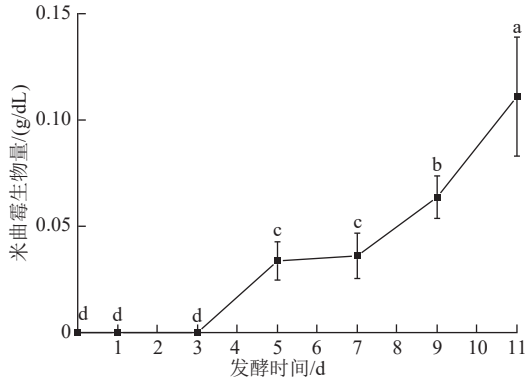
不同字母代表差异显著。

图2　米曲霉发酵玉米浆过程中乳酸质量浓度的变化

Fig. 2　Changes in mass concentration of lactic acid during the fermentation of corn steep liquor by *Aspergillus oryzae*

2.1.3　米曲霉生物量

发酵玉米浆过程中米曲霉生物量的变化见图3。随着发酵时间的延长，玉米浆中的米曲霉生物量持续上升，发酵11 d时米曲霉生物量可达0.11 g/dL。米曲霉可分泌蛋白酶、淀粉酶、糖化酶等多种酶，通过这些酶的酶解作用将玉米浆中的蛋白质、碳水化合物等营养物质降解，为自身的生长繁殖提供碳源和氮源。在整个发酵过程中，米曲霉通过吸收利用玉米浆中的糖类、蛋白质、乳酸等营养物质进行生长繁殖，因此米曲霉生物量呈持续增加的趋势。Shahzad等[26]研究发现，玉米浆可有效提高真菌生物量，与本研究的结果一致。



不同字母代表差异显著。

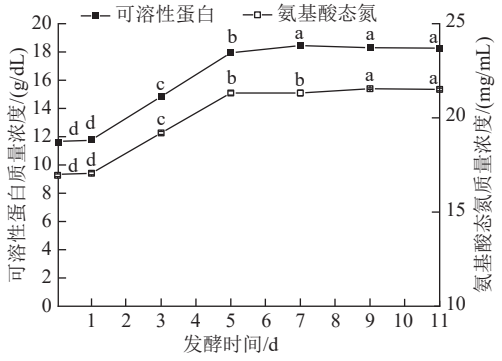
图3　发酵玉米浆过程中米曲霉生物量的变化

Fig. 3　Changes in biomass of *Aspergillus oryzae* during the fermentation of corn steep liquor

2.1.4　可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度

米曲霉发酵玉米浆过程中可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度的变化见图4。随着发酵时间的延长，可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度呈先上升后趋于稳定的趋势。与未发酵玉米浆相比，发酵7 d的发酵液中可溶性蛋白质量浓度提高了58.64%；发酵9 d的发酵液中氨基酸态氮质量浓度达到最大值，为21.55 mg/mL。在玉米浆体系中，米曲霉通过分泌胞外蛋白酶和羧肽酶等，将相对分子质量大、水不溶性蛋白降解为可溶性蛋白及

游离氨基酸，从而使可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度升高。发酵 7 d 后，随着米曲霉生物量的增加，生成的可溶性蛋白及游离氨基酸等降解产物经转氨作用被菌体吸收利用，导致可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度不再升高。此外，米曲霉为好氧微生物，随着米曲霉生物量的增加，体系内氧气竞争加剧，菌体生长和产酶能力受到影响，这也是可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度不再升高的重要原因。



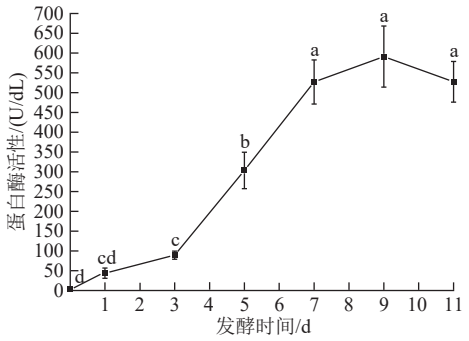
同一指标不同字母代表差异显著。

图 4　米曲霉发酵玉米浆过程中可溶性蛋白和氨基酸态氮质量浓度的变化

Fig. 4　Changes in mass concentrations of soluble protein and amino acid nitrogen during the fermentation of corn steep liquor by *Aspergillus oryzae*

2.1.5　蛋白酶活性

米曲霉发酵玉米浆过程中蛋白酶活性的变化见图 5。发酵 0~7 d 时，玉米浆中的淀粉等组分可刺激米曲霉分泌蛋白酶[27]，蛋白酶活性显著提高；继续延长发酵时间，蛋白酶活性无显著变化（P>0.05）。一方面，随着菌体生物量增加，菌体对营养物质及氧气的竞争加剧，导致菌体生长受到影响，进而抑制蛋白酶的合成；另一方面，Samarntarn 等[28]以脱脂大豆为底物，采用基因工程米曲霉 U1521 生产碱性蛋白酶，发现蛋白酶的产生并非取决于脱脂大豆质量浓度的有效性，而是由该范围内脱脂大豆大分子的水解活性决定。据此推测，在本研究中，可能是玉米浆中可被水解的大分子蛋白质已达到上限，从而对蛋白酶形成反馈抑制，最终导致发酵后期蛋白酶活性变化不显著。



不同字母代表差异显著。

图 5　米曲霉发酵玉米浆过程中蛋白酶活性的变化

Fig. 5　Changes in protease activity during the fermentation of corn steep liquor by *Aspergillus oryzae*

2.1.6　氨基酸组成分析

米曲霉发酵前后玉米浆上清液中的氨基酸组成及质量分数见表 1。可以看出，玉米浆中主要的氨基酸为 Asp、Glu、Ala、Leu 等。Liggett 等[29]对玉米浆成分进行了研究，发现其主要氨基酸为 Arg、Ala 和 Glu，与本研究结果存在一定差别，这可能与玉米来源和湿磨工艺不同有关。在米曲霉分泌的肽酶或蛋白酶作用下，除 Cys 和 Met 外，其余氨基酸均呈现不同程度的释放，使发酵后玉米浆中氨基酸总量提高了 0.39%，进而提升了玉米浆发酵液的营养价值。牛福华等[30]采用复合蛋白酶水解玉米浆亦显著提高了玉米浆中氨基酸质量浓度，与本研究结果一致。

表 1　玉米浆发酵前后的氨基酸组成

Table 1　Amino acid composition of corn steep liquor before and after fermentation

玉米浆	质量分数/%																	
	天冬氨酸（Asp）	苏氨酸（Thr）	丝氨酸（Ser）	谷氨酸（Glu）	甘氨酸（Gly）	丙氨酸（Ala）	半胱氨酸（Cys）	缬氨酸（Val）	甲硫氨酸（Met）	异亮氨酸（Ile）	亮氨酸（Leu）	酪氨酸（Tyr）	苯丙氨酸（Phe）	赖氨酸（Lys）	组氨酸（His）	精氨酸（Arg）	脯氨酸（Pro）	氨基酸总量
发酵前	1.71	0.99	0.98	3.71	1.57	3.85	0.41	1.63	0.75	1.05	2.79	0.45	1.15	0.91	0.66	0.90	2.69	26.19
发酵后	1.73	1.01	1.00	3.77	1.59	3.88	0.41	1.65	0.74	1.08	2.83	0.47	1.18	0.94	0.67	0.91	2.73	26.58

2.1.7　玉米浆中肽的相对分子质量分布

米曲霉发酵前后玉米浆中肽的相对分子质量分布见表2~3。在未发酵玉米浆中，相对分子质量>6 500的肽占比为12.31%，相对分子质量≤6 500的肽占比为87.69%，其中相对分子质量在>645~3 095的肽占比为57.25%，相对分子质量≤645的肽占比为28.84%。米曲霉发酵7 d后，玉米浆中肽的相对分子质量明显减小，其中相对分子质量>6 500的肽占比为7.17%，比发酵前减少了5.14%；相对分子质量≤6 500的肽占比达92.83%，比发酵前增加了5.14%。进一步说明，在发酵过程中米曲霉分泌的蛋白酶和肽酶等可将玉米浆中大分子蛋白质分解为小分子肽段及游离氨基酸。

表2　发酵前玉米浆中肽的相对分子质量分布

Table 2　Relative molecular mass distribution of peptides in corn steep liquor before *Aspergillus oryzae* fermentation

洗脱体积/mL	相对分子质量	占比/%
<11.5	>6 500	12.31
11.72	>5 551~6 500	0.13
11.8	>5 322~5 551	0.09
11.88	>5 102~5 322	0.08
12.02	>4 740~5 102	0.07
12.09	>4 569~4 740	0.09
12.25	>4 200~4 569	0.11
12.28	>4 134~4 200	0.07
12.34	>4 005~4 134	0.17
12.45	>3 780~4 005	0.09
12.53	>3 624~3 780	0.27
12.67	>3 367~3 624	0.08
12.71	>3 297~3 367	0.16
12.83	>3 095~3 297	0.19
15.81	>645~3 095	57.25
>17.04	≤645	28.84

表3　发酵后玉米浆中肽的相对分子质量分布

Table 3　Relative molecular mass distribution of peptides in corn steep liquor after *Aspergillus oryzae* fermentation

洗脱体积/mL	相对分子质量	占比/%
<12.72	>6 500	7.17
12.81	>3 128~6 500	0.06
12.94	>2 921~3 128	0.12
13.09	>2 699~2 921	0.15
13.12	>2 657~2 699	0.05
13.26	>2 468~2 657	0.24
13.39	>2 305~2 468	0.31
13.51	>2 164~2 305	0.32
16.46	>458~2 164	61.43
>17.52	≤458	30.14

2.2　黑木耳菌丝体静息细胞对玉米浆发酵液的吸收特性

黑木耳菌丝体静息细胞吸收玉米浆及玉米浆发酵液48 h后的HPLC洗脱图谱见图6。与玉米浆发酵液相比，经黑木耳菌丝体静息细胞吸收48 h后洗脱时间为11.600 min的组分峰面积降低了78.01%，推测该组分被黑木耳菌丝体静息细胞吸收。此外，洗脱时间为19.287 min的组分增加，这可能是黑木耳菌丝体静息细胞吸收玉米浆发酵液中的蛋白质后，通过内源酶系统合成了新的蛋白质。与未发酵玉米浆相比，经黑木耳菌丝体静息细胞吸收48 h后各洗脱组分的保留时间及峰面积均未发生明显变化，表明黑木耳菌丝体静息细胞无法直接利用未发酵玉米浆，进一步说明玉米浆需经米曲霉发酵后才能被食用菌吸收利用。

分别收集图6(a)中洗脱时间为8.800 min(未被黑木耳菌丝体静息细胞吸收的组分，组分1)和11.600 min(被黑木耳菌丝体静息细胞吸收的组分，组分2)的组分，对组分1和组分2冷冻干燥后进行LC-MS/MS测序。采用Byonic对原始文件进行分析，并依据样品类型对目标蛋白质数据库进行检索，从中筛选出与玉米蛋白质相关的肽段用于后续分析。其中组分1筛选得到111条肽段，组分2筛选得到241条肽段。过滤掉氨基酸数量<5的肽段后，使用ExPASY-ProtParam tool对所得多肽进行结构特征分析，结果见图7。

如图7(a)所示，组分1和组分2中相对分子质量为500~1 500的肽种类最丰富，占比分别为80.58%和69.40%。同时，组分2中还含有16.38%相对分子质量为<1 500~2 000的肽段，以及14.22%相对分子质量>2 000的肽段，表明黑木耳菌丝体静息细胞可吸收的肽段相对分子质量分布较为均匀，除小分子短肽外，还可利用一定数量的多肽，即可利用速效及中长效氮源的混合物。

如图7(b)所示，组分1中疏水性指数≤−0.5的亲水性肽段最为丰富(占比为60.19%)，疏水性指数>0.5的疏水性肽段占38.83%，疏水性指数为<−0.5~0.5的两亲性肽段仅占0.90%。组分2中

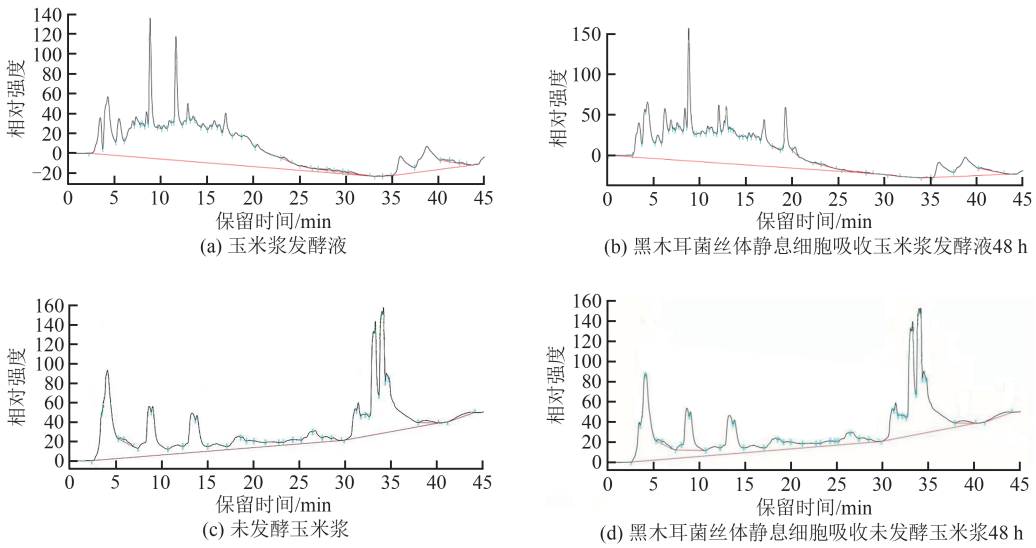


图 6　HPLC 洗脱图谱

Fig. 6　HPLC chromatogram of elution

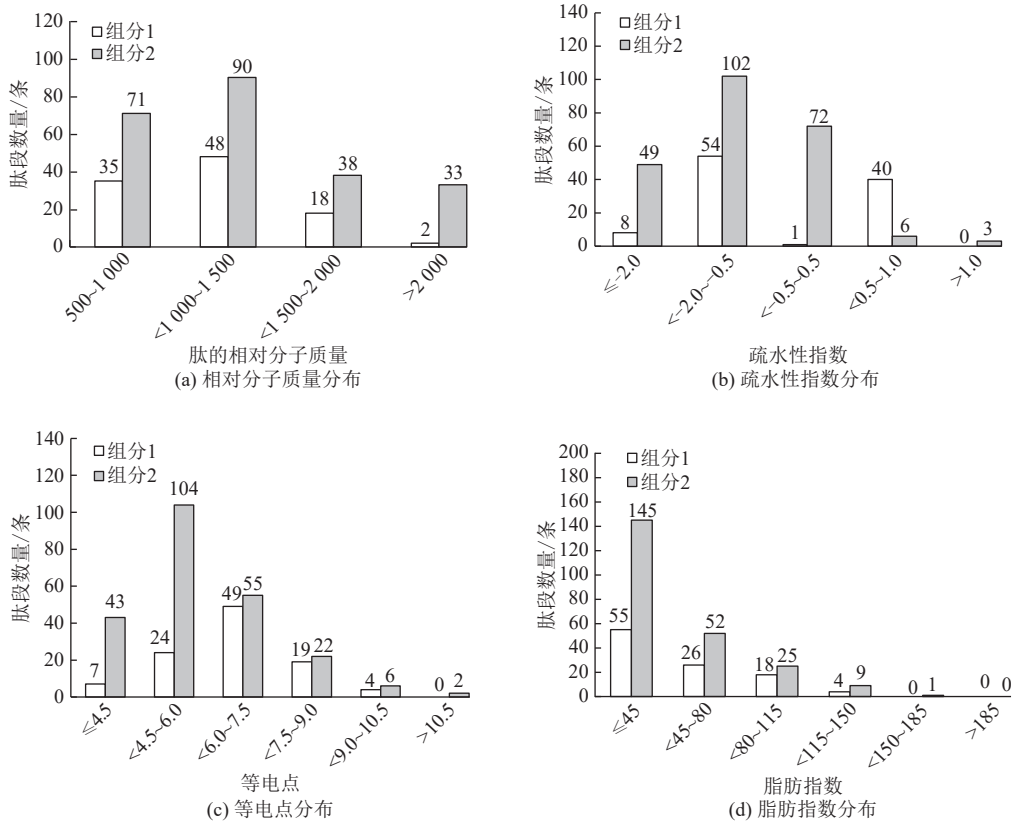


图 7　组分 1 和组分 2 的结构特征

Fig. 7　Structural characteristics of components 1 and 2

亲水性肽段占比最高，为65.09%，这类肽段通常具有更高的吸收率与生物利用度，王波[31]在酪蛋白抗氧化肽结构特征研究中也得到相似结论。与组分 1 相比，组分 2 中两亲性肽段增加了 30.13%，这类肽段可先通过静电作用吸附于米曲霉菌丝体表面，再经疏水作用穿过细胞膜的磷脂双分子层，有利于被黑木耳菌丝体吸收利用。组分 2 中疏水性肽段仅占 3.88%，这类肽段易发生自身凝聚，甚至析出沉淀。

如图 7(c)所示，组分 1 中 47.57% 的肽段等电

点为<6.0~7.5，23.3%的肽段等电点为<4.5~6.0；而在组分2中44.83%的肽段等电点为<4.5~6.0，23.71%的肽段等电点为<6.0~7.5，表明相关肽段在酸性及中性条件下易出现凝集或析出现象。

脂肪指数指蛋白质中脂肪族侧链氨基酸（Val、Ala、Leu、Ile）的相对含量，脂肪指数越低，通常表明蛋白质热稳定性越差[32]。如图7（d）所示，组分1和组分2中大部分肽段的脂肪指数均较低，说明本研究鉴定得到的肽段热稳定性较差。

3 结论

本研究采用米曲霉对玉米浆进行发酵，系统分析了发酵过程中玉米浆中营养物质（总糖、还原糖、乳酸、可溶性蛋白、氨基酸态氮）质量浓度、米曲霉生物量、蛋白酶活性的变化规律，并探究了发酵前后玉米浆中氨基酸质量分数和肽段相对分子质量的变化。结果表明，米曲霉通过分泌蛋白酶分解玉米浆中的大分子蛋白质，使可溶性蛋白与氨基酸态氮质量浓度显著提高；同时，米曲霉以玉米浆中的乳酸、葡萄糖等还原糖为碳源，以氨基酸态氮为氮源供自身生长繁殖，促使菌体生物量不断增加。此外，氨基酸质量分数的提升及小分子肽段占比的增多，表明在不添加任何辅料的条件下，米曲霉可对玉米浆进行高效发酵。被黑木耳菌丝体静息细胞吸收的玉米浆发酵产物以亲水性和两亲性肽段为主，相对分子质量分布均匀，等电点集中在<4.5~6.0。未来可采用组学技术进一步解析米曲霉发酵玉米浆的代谢机理。

参考文献

[1] OBAYORI O S，ADEBUSOYE S A，ILORI M O，et al. Effects of corn steep liquor on growth rate and pyrene degradation by *Pseudomonas* strains [J]. Current Microbiology，2010，60（6）：407-411.

[2] 王云龙，刘松，冯岳，等. *L*-天冬酰胺酶的补料分批发酵[J]. 食品与生物技术学报，2020，39（3）：1-8.
WANG Y L，LIU S，FENG Y，et al. Fed-batch fermentation of *L*-asparaginase [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2020，39（3）：1-8.（in Chinese）

[3] ZHOU K M，YU J，MA Y H，et al. Corn steep liquor：green biological resources for bioindustry [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology，2022，194（7）：3280-3295.

[4] OBAYORI O S，SALAM L B，ANIFOWOSHE W T，et al. Enhanced degradation of petroleum hydrocarbons in corn-steep-liquor-treated soil microcosm [J]. Soil and Sediment Contamination，2015，24（7）：731-743.

[5] HOFER A，HAUER S，KROLL P，et al. In-depth characterization of the raw material corn steep liquor and its bioavailability in bioprocesses of *Penicillium chrysogenum*[J]. Process Biochemistry，2018，70：20-28.

[6] 马雪，李杨，王成法，等. 酶法水解玉米浆制备玉米肽的研究[J]. 中国调味品，2018，43（8）：97-100.
MA X，LI Y，WANG C F，et al. Preparation of corn peptides with corn steep liquor by enzymatic hydrolysis method[J]. China Condiment，2018，43（8）：97-100.（in Chinese）

[7] 张嘉雨，曹越，马文萱，等. 玉米浆中蛋白提取及酶解工艺[J]. 食品工业，2019，40（5）：93-95.
ZHANG J Y，CAO Y，MA W X，et al. Extraction and enzymolysis technology of protein from corn steep liquor [J]. The Food Industry，2019，40（5）：93-95.（in Chinese）

[8] 王晓燕，刘晓兰，刘井权，等. 菌酶协同水解玉米浆制备植物蛋白调味液工艺优化[J]. 食品研究与开发，2022，43（20）：156-163.
WANG X Y，LIU X L，LIU J Q，et al. Preparation optimization of hydrolyzed vegetable protein from corn steep liquor by *Aspergillus oryzae* and flavourzyme [J]. Food Research and Development，2022，43（20）：156-163.（in Chinese）

[9] 黄磊，刘玫，浦媛媛，等. 食用菌固体培养基的开发与应用综述[J]. 湖北农业科学，2013，52（10）：2246-2249，2263.
HUANG L，LIU M，PU Y Y，et al. Review on the development and application of edible fungus solid culture medium[J]. Hubei Agricultural Sciences，2013，52（10）：2246-2249，2263.（in Chinese）

[10] 王明友，宋卫东，王帅洋，等. 我国黑木耳生产技术研究[J]. 中国农机化学报，2022，43（3）：99-103.
WANG M Y，SONG W D，WANG S Y，et al. Research on production technology of *Auricularia auricula* in China [J]. Journal of Chinese Agricultural Mechanization，2022，43（3）：99-103.（in Chinese）

[11] 李晶，郑喜群，刘晓兰. 玉米浆发酵液对杏鲍菇营养价值和非挥发性呈味物质含量的影响[J]. 食品与机械，2021，37（12）：46-51.
LI J，ZHENG X Q，LIU X L. The effect on nutritional value and non-volatile flavor substance content of *Pleurotus eryngii* with fermentable corn steep liquor[J]. Food & Machinery，2021，37（12）：46-51.（in Chinese）

[12] 姜未公，刘晓兰. 毛霉水解玉米浆制备植物蛋白调味液的条件初探[J]. 齐齐哈尔大学学报（自然科学版），2019，35（2）：68-72.

JIANG W G, LIU X L. Preliminary study on the conditions for the preparation of vegetable protein flavoring liquid by the mildew hydrolysis of corn pulp[J]. Journal of Qiqihar University (Natural Science Edition), 2019,35(2):68-72.(in Chinese)

[13] 王晓杰,夏春荣,刘晓兰. 米曲霉发酵100%玉米浆的工艺条件优化[J]. 食品与发酵工业,2024,50(19):103-109.
WANG X J, XIA C R, LIU X L. Optimization of fermentation conditions for 100% corn steep liquor by *Aspergillus oryzae* [J]. Food and Fermentation Industries,2024,50(19):103-109.(in Chinese)

[14] 孙轶男. 好食脉孢菌固态发酵麸皮产类胡萝卜素功能性饲料[D]. 哈尔滨:哈尔滨商业大学,2020.

[15] 周建平,邓放明. 食品质量安全检验基础与技术[M]. 长沙:湖南人民出版社,2005:142-143.

[16] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中总酸的测定:GB 12456—2021[S]. 北京:中国标准出版社,2021.

[17] 萧能. 生物化学实验原理和方法[M]. 2版. 北京:北京大学出版社,2005:236-238.

[18] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定:GB 5009.235—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.

[19] 中华人民共和国工业和信息化部. 工业酶制剂通用试验方法 QB/T 1803—2023[S]. 北京:中国轻工业出版社,2023.

[20] 王晓杰,刘晓兰,曲悦,等. 两步水解法制备玉米-大豆复合抗氧化肽及其稳定性研究[J]. 中国油脂,2021,46(3):39-47.
WANG X J, LIU X L, QU Y, et al. Preparation of compound antioxidant peptide from zein-soy protein isolated by two-step hydrolysis and evaluation on its stability[J]. China Oils and Fats, 2021, 46(3): 39-47.(in Chinese)

[21] ZHENG X Q, LI L T, LIU X L, et al. Production of hydrolysate with antioxidative activity by enzymatic hydrolysis of extruded corn gluten [J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2006,73(4):763-770.

[22] 周配,张磊,方亚坤,等. 静息细胞生物转化甘油生产甘油酸[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):216-219.
ZHOU P, ZHANG L, FANG Y K, et al. Biotransformation of glycerol into glyceric acid by resting cells[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(12): 216-219.(in Chinese)

[23] KIM S, LEE D, LIM D, et al. Paramylon production from heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* in two different industrial byproducts: corn steep liquor and brewer's spent grain[J]. Algal Research, 2020, 47: 101826.

[24] AGARWAL L, DUTT K, MEGHWANSHI G K, et al. Anaerobic fermentative production of lactic acid using cheese whey and corn steep liquor[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(4): 631-635.

[25] 刘枣,付相敏,潘海亮,等. 玉米浆对大肠杆菌JH-B22发酵产*L*-丙氨酸的影响[J]. 化学与生物工程,2017,34(11):11-14.
LIU Z, FU X M, PAN H L, et al. Effect of corn steep liquor on *L*-alanine fermentation by *Escherichia coli* JH-B22[J]. Chemistry & Bioengineering, 2017, 34(11): 11-14.(in Chinese)

[26] SHAHZAD F, ABDULLAH M, CHAUDHRY A S, et al. Addition of molasses, corn steep liquor, and rice polish as economical sources to enhance the fungal biomass production of wheat straw by *Arachniotus* sp.[J]. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 2017, 41: 332-336.

[27] PADMANABHAN S, RAMANA MURTHY M V, LONSANE B K. Potential of *Aspergillus oryzae* CFTRI 1480 for producing proteinase in high titres by solid state fermentation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1993, 40(4): 499-503.

[28] SAMARNTARN W, CHEEVADHANARAK S, TANTICHAROEN M. Production of alkaline protease by a genetically engineered *Aspergillus oryzae* U1521[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 1999, 45(3): 99-103.

[29] LIGGETT R W, KOFFLER H. Corn steep liquor in microbiology[J]. Bacteriological Reviews, 1948, 12(4): 297-311.

[30] 牛福华,张安红,常立群,等. 不同预处理方式的玉米浆应用于*L*-苏氨酸发酵的研究[J]. 发酵科技通讯,2015,44(3):18-22.
NIU F H, ZHANG A H, CHANG L Q, et al. Study on different pretreatments of corn syrup used in *L*-threonine fermentation[J]. Bulletin of Fermentation Science and Technology, 2015, 44(3): 18-22.(in Chinese)

[31] 王波. 酪蛋白抗氧化肽结构特征对其生物利用度的影响及其跨膜转运机制的研究[D]. 北京:中国农业大学,2016.

[32] HAO G, LE G W, SHI Y H, et al. Molecular design, structural analysis and bactericidal activity of derivatives of antimicrobial peptide Buforin II [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2013, 48(3): 366-371.