

鳞盖红菇液体深层发酵培养条件研究

赵永勋¹, 张 昆², 李苗苗¹

(1. 佳木斯大学 生命科学学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 佳木斯大学 基础医学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要: 采用深层发酵和正交试验法测定生物量, 选择出鳞盖红菇液体发酵的适宜碳源、氮源和适宜浓度的培养基成分。结果表明: 葡萄糖是适宜碳源, 蛋白胨是适宜氮源, 培养基成分的适宜浓度为: 葡萄糖 3.0%, 蛋白胨 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.2%。

关键词: 鳞盖红菇; 深层发酵; 生物量; 正交试验法

中图分类号: S 646.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)02-0220-02

鳞盖红菇 (*Russula lepida*) 属红菇科红菇属, 是一种食用菌, 蛋白、多糖、氨基酸、微量元素等含量与正红菇相近^[1]。鳞盖红菇分布于我国大部分地区, 其子实体提取物具有抗癌作用, 对小白鼠肉瘤 180 和艾氏癌的抑制率分别为 100% 和 90%^[2]。鳞盖红菇是菌根真菌, 通过人工栽培的方法来获得其子实体仍是一个难题。而通过液体深层发酵获得菌丝体, 具有生产周期短、不受天气和季节条件的限制、且可规模化生产等优点, 并且可以有效地保护野生资源。目前国内尚未见到关于鳞盖红菇深层发酵的有关研究报道。现通过对鳞盖红菇深层发酵基础培养基优化的初步研究, 探讨其适宜的深层发酵的培养基条件, 为对鳞盖红菇深层发酵产物的深入研究提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

鳞盖红菇 (*Russula lepida*) 购自中国林业微生物菌种保藏管理中心 (CFCC)。PDA 培养基 (%): 马铃薯 20.0, 葡萄糖 2.0, 蛋白胨 0.3, 琼脂 1.8, KH_2PO_4 0.1, MgSO_4 0.3, 自然 pH 值。液体种子培养基 (%): 葡萄糖 2.0, 蛋白胨 0.2, 酵母膏 0.1, MgSO_4 0.1, KH_2PO_4 0.046, K_2HPO_4 0.1, 自然 pH 值。碳、氮源试验液体发酵基础培养基 (%): 葡萄糖 2.0, 蛋白胨 0.5, KH_2PO_4 0.15, MgSO_4 0.075, 自然 pH 值。

1.2 试验方法

1.2.1 发酵培养 从已活化的斜面上挑取 2 小块 0.5 cm² 菌丝体接入到装有 100 mL 液体种子培养基的 250 mL 三角瓶中, 置于 25℃ 的摇床上, 100 rpm 震荡培养 4 d, 得到一级种子液。用高速搅拌器将菌

丝体打碎, 按 10% 的接种量, 将 10 mL 一级种子液接入装有 100 mL 液体种子培养基的 250 mL 三角瓶中, 置于 26℃ 的摇床上, 100 rpm 振荡培养 4 d, 得到二级种子液。各处理均按 10% 的接种量, 将二级菌种接入装 100 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 置于 26℃ 的摇床中, 100 rpm 条件下, 摇瓶培养 4 d。

1.2.2 生物量的测定 发酵结束后将培养液 4 000 rpm 离心 10 min, 菌丝体经蒸馏水洗涤数次后 60℃ 干燥至恒重, 称重。

1.2.3 碳源、氮源的单因素筛选 碳源单因素筛选试验在基础培养基中分别加入 2.0% 的葡萄糖、可溶性淀粉、蔗糖、麦芽糖、甘露醇, 按照 10% 接种量接入二级种子液。经振荡培养 4 d 后, 测定生物量 (表 1)。

表 1 各种碳源对鳞盖红菇生物量的影响

试验碳源	加量 / %	生物量 / g · L ⁻¹
葡萄糖	2.00	5.85
甘露醇	2.00	2.35
麦芽糖	2.00	1.66
蔗糖	2.00	5.67
可溶性淀粉	2.00	1.38

表 2 各种氮源对鳞盖红菇生物量的影响

试验氮源	加量 / %	生物量 / g · L ⁻¹
蛋白胨	0.50	5.48
硫酸铵	0.35	3.13
氯化铵	0.28	3.68
硝酸铵	0.21	1.94
尿素	0.16	2.11
酵母粉	0.81	5.09

表 3 正交试验因子与水平安排

水平	试验因子			
	A 葡萄糖 / %	B 蛋白胨 / %	C 磷酸二氢钾 / %	D 硫酸镁 / %
1	1	0.2	0.1	0.1
2	2	0.5	0.3	0.15
3	3	0.8	0.5	0.2

1.2.4 氮源单因素筛选试验 在基础培养基中分别添加蛋白胨、酵母粉、尿素、硫酸铵、硝酸铵、氯化铵作

第一作者简介: 赵永勋 (1955—), 男, 黑龙江佳木斯人, 教授, 研究方向为真菌生物化学及分子生物学。E-mail:

zhao Yongxun887@163.com.

收稿日期: 2009-09-20

为氮源,其添加量根据各自的全氮含量相对于0.5%蛋白胨的全氮量折合而成,按照10%接种量接入二级种子液。经振荡培养4 d后,测定生物量(表2)。

1.2.5 碳源、氮源、无机盐正交试验 根据碳、氮源

的单因素筛选试验的结果,在最佳碳、氮源培养基的基础上,根据资料分析研究结果,选用不同浓度的葡萄糖、蛋白胨、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 ,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,经培养测定菌丝体(表3、4)。

表4 各组分正交试验结果

试验号	A 葡萄糖/%	B 蛋白胨/%	C 磷酸二氢钾/%	D 硫酸镁/%	生物量/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
1	1(1)	1(0.2)	1(0.1)	1(0.1)	5.928
2	1(1)	2(0.5)	2(0.3)	2(0.15)	6.551
3	1(1)	3(0.8)	3(0.5)	3(0.2)	7.169
4	2(2)	1(0.2)	2(0.3)	3(0.2)	6.255
5	2(2)	2(0.5)	3(0.5)	1(0.1)	6.778
6	2(2)	3(0.8)	1(0.1)	2(0.15)	5.740
7	3(3)	1(0.2)	3(0.5)	2(0.15)	6.222
8	3(3)	2(0.5)	1(0.3)	3(0.2)	7.473
9	3(3)	3(0.8)	2(0.1)	1(0.1)	6.075
K_1	19.648	18.405	19.141	18.781	
K_2	18.773	20.802	18.881	18.513	
K_3	19.770	18.984	20.169	20.897	
k_1	6.549	6.135	6.380	6.260	
k_2	6.258	6.934	6.294	6.171	
k_3	6.590	6.328	6.723	6.966	
R	0.332	0.799	0.429	0.795	

2 结论与讨论

鳞盖红菇对试验的6种氮源物质中的有机氮源物质的利用好于对无机氮源物质的利用。在无机氮源物质中对硫酸铵和氯化铵利用较好。其中,对蛋白胨的利用最好。在单因子试验结果的基础上选用葡萄糖为碳源,蛋白胨为氮源。同时,以 KH_2PO_4 、 MgSO_4 为无机盐,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,4种因素对鳞盖红菇菌丝体生物量的影响大小依次为 $B > D > C >$

A (蛋白胨 $>$ MgSO_4 $>$ KH_2PO_4 $>$ 葡萄糖),适宜的培养基应为 $A3B2C3D3$,即:葡萄糖3%,蛋白胨0.5%, KH_2PO_4 0.5%, MgSO_4 0.2%。结果表明,理想碳源是葡萄糖和蔗糖,添加葡萄糖的试验组的生物量最高。

参考文献

- [1] 姚晓华,莫天砚,刘斌. 鳞盖红菇与正红菇成分分析及毒性实验[J]. 广西农业大学学报, 1998, 17(1): 51-53.
- [2] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州: 河南科技出版社, 2000: 352.

Research about Submerged Fermentation Culture Conditions of *Russula lepida*

ZHAO Yong-xun¹, ZHANG Kun², LI Miao-miao¹

(1. College of Life Science of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. College of Basic Medical of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Used submerged fermentation and orthogonal experiments method to determine the biomass, and select a *Russula lepida* suitable carbon source, nitrogen source of fermentation liquid and the suitable concentration medium components. The results showed that: Glucose was a suitable carbon source, peptone was a suitable nitrogen source, the suitable concentration of medium components were: glucose 3.0%, peptone 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.2%.

Key words: *Russula lepida*; submerged fermentation; biomass; orthogonal experiments method