

# 榆黄蘑液体深层培养条件的优化研究

李延辉, 郑凤荣

(吉林农业科技学院 食品工程学院, 吉林 吉林 132101)

**摘要:** 研究了榆黄蘑摇瓶的不同装液量、不同转速、不同初始 pH 及不同温度对发酵的影响, 以研究其最佳培养条件。结果表明: 榆黄蘑液体摇瓶培养的最适培养条件为: 装液量 200 mL/500 mL 三角瓶; 培养基初始 pH 6.0; 摇床转速 160 rpm; 培养温度 27 ℃; 二级菌种培养时间 7 d。

**关键词:** 榆黄蘑; 液体培养; 发酵条件

中图分类号: S 646.1<sup>+</sup>9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)04-0190-03

榆黄蘑(*Pleurotus eiorinopileutus*)的中文名为金顶侧耳(*Pleurotus citrinopileutus*), 隶属于担子菌亚门伞菌纲口蘑科侧耳属, 是我国东北地区著名的野生食用菌<sup>[1,2]</sup>, 营养价值很高。近年来, 随着对榆黄蘑需求的不断增加, 使榆黄蘑子实体的价格不断上升。虽然现在可以人工栽培获得其子实体, 但人工栽培食用菌具有周期长、成本高的缺点。如果从子实体中提取具有疗效和保健功能的成分, 势必成本过高, 使得对榆黄蘑深层次开发受到限制。利用液体深层发酵技术可以在较短时间内获得大量菌丝体及其发酵产物。已有试验结果表明, 这些发酵产物的营养价值从多糖、蛋白质、氨基酸的含量来看均类似或超过了子实体<sup>[3]</sup>。现对榆黄蘑的液体生产发酵技术进行初步研究, 包括最适培养基和深层发酵最适条件, 旨在为榆黄蘑子实体深层开发提供。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

榆黄蘑(*Pleurotus citrinopileutus*)由吉林农业科技学院生物工程系食用菌实验中心提供。

### 1.2 仪器与试剂

全温振荡培养箱(哈尔滨市东明医疗仪器厂); 超净工作台(苏净集团安泰公司); 数字型 pH 计(上海阳光试验仪器有限公司); LS-B50L 立式压力蒸汽灭菌器(上海医用核子仪器厂); 电子天平等。葡萄糖、蔗糖、蛋白胨、牛肉膏、磷酸二氢钾、硫酸镁、V<sub>B1</sub>、琼脂、氢氧化钠、甲醛溶液、可溶性淀粉、硫酸铵、菲林试剂、盐酸等。

### 1.2 试验方法

**第一作者简介:** 李延辉(1969-), 男, 吉林永吉人, 硕士, 副教授, 现主要从事油脂深加工和功能性食品研究与开发工作。E-mail: zhengfr0210@126.com。

**基金项目:** 吉林农业科技学院青年基金资助项目(吉农院合字[2006]第 1032 号)。

收稿日期: 2009-11-20

**1.2.1 不同装液量对发酵的影响** 容积为 500 mL 三角瓶中分别装入 100、150、200、250、300 mL 培养液, 每组 3 个重复, 摇床培养。培养结束后, 检测菌丝量。

**1.2.2 不同初始 pH 值对发酵的影响** 调节液体培养基初始 pH 值分别为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 接入菌种, 培养条件同前, 考查培养基初始 pH 值对菌丝体生物量的影响。

**1.2.3 不同转速对发酵的影响** 培养液接种后分别在 120、160、200、240 rpm 的转速下, 每组 3 个重复, 摇床培养。培养结束后, 检测菌丝量。

**1.2.4 不同培养温度对发酵的影响** 培养液接种后分别在 23、25、27、29、31 ℃下, 每组 3 个重复, 摇床培养。培养结束后, 检测菌丝量。

**1.2.5 正交试验确定最佳培养条件** 根据摇瓶培养的最佳条件, 在确定摇瓶发酵培养条件时, 主要设置装液量(500 mL 三角瓶)、初始 pH 值、转速、培养温度 4 个因素, 设计 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验, 以菌丝体生物量为目标参数, 确定最佳深层发酵的条件。

表 1 摇瓶发酵条件正交优化试验 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

设计因素水平表

水平	因素			
	装液量/mL	初始 pH 值	转速/rpm	温度/℃
1	150	4	160	25
2	200	5	180	27
3	250	6	200	29

注: 所用的培养基为优选的培养基, 培养时间为 10 d。

**1.2.6 不同接种菌龄对发酵的影响** 分别向培养液中接入菌龄为 4、5、6、7、8、9 d 的种子, 每组 3 个重复, 摇床培养。培养结束后, 检测菌丝量。

**1.2.7 不同接种量对发酵的影响** 分别采用 5%、10%、15%、20%的接种量, 每组 3 个重复, 摇床培养。培养结束后, 检测菌丝量。

**1.2.8 榆黄蘑摇瓶发酵终点的确定** 在摇瓶发酵培养的不同时间内, 分别取样, 连续 12 d, 测定菌丝量。

1.2.9 测定方法 菌丝鲜重的测定: 将发酵液离心(4 000 rpm, 20 min), 弃去上清液, 称重<sup>[4]</sup>。还原糖测定方法: 菲林试剂滴定法<sup>[5]</sup>。氨态氮测定方法: 甲醛滴定法<sup>[6]</sup>。pH 值测定方法: 酸度计测定。

2 结果与分析

2.1 不同装液量对发酵的影响

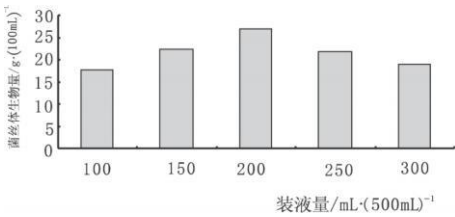


图1 摇瓶装液量对菌丝体生物量的影响

由图 1 可知, 当装液量为 200 mL 时, 菌丝体生物量最高, 达到 26.82 g; 当装液量为 100 mL 时, 菌丝体易早衰, 菌丝体生物量为 17.74 g; 当装液量超过250 mL时, 由于溶氧量减少, 菌丝体生长明显减少。因此确定榆黄蘑液体摇瓶培养的最适装液量为 200 mL。

2.2 不同初始 pH 值对发酵的影响

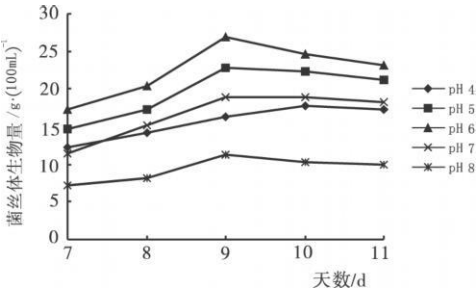


图2 培养液初始 pH 值对菌丝体生物量的影响

由图 2 可见, 当培养基初始 pH 值为 6.0 时, 培养第 9 d 时, 菌丝体的生物量最大, 达到 26.87 g/100 mL, 说明采用 pH 6.0 时, 是榆黄蘑菌丝体生物量积累的最佳培养基初始 pH 值; 当 pH 值分别为 7.0、8.0 时, 菌丝体生物量不高, 说明 pH 值较高时, 可能影响菌体代谢的各种酶类的活性, 从而直接影响菌丝体的长势。因此确定液体培养基初始 pH 值为 6.0。

2.3 不同转速对发酵的影响

由图3 可见, 当摇床转速在 160 rpm 时, 菌丝体生物量最大, 达到 27.46 g/100mL, 而在 120 rpm、200 rpm 的摇床上培养, 菌丝体生物量都较小, 说明摇床转速对菌丝体生物量的影响比较大。根据菌丝体生物量该试验选择 160 r/min 作为榆黄蘑培养的最适摇床转速。

由图 4 可见, 当培养温度为 27℃时, 菌丝体生物量含量最高, 达到 27.53 g/100mL, 温度过高或过低都不利

于菌体积累代谢产物, 使菌丝体生物量减少。因此在进行榆黄蘑液体培养时, 最适培养温度为 27℃。

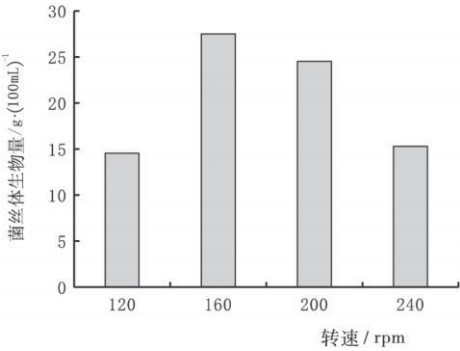


图3 摇床转速对菌丝体生物量的影响

2.4 不同培养温度对发酵的影响

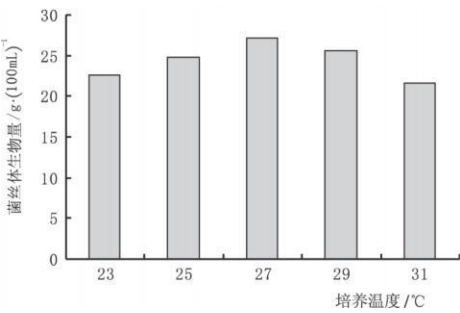


图4 不同温度对菌丝体生物量的影响

2.5 摇瓶发酵培养条件的优化

在以上单因素试验的基础上, 综合考虑各个因素确定摇瓶培养的最适合条件, 见表 2。

表 2 液体深层发酵条件筛选正交优化试验结果

组合	因素				菌丝体生物量 / g · (100mL)⁻¹
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	17.34
2	1	2	2	2	22.13
3	1	3	3	3	23.72
4	2	1	2	3	18.78
5	2	2	3	1	21.04
6	2	3	1	2	27.23
7	3	1	3	2	17.13
8	3	2	1	3	21.26
9	3	3	2	1	22.76
K <sub>1</sub>	63.19	53.25	65.83	61.14	
K <sub>2</sub>	67.05	64.43	58.04	66.49	
K <sub>3</sub>	61.15	73.71	61.89	63.76	
k <sub>1</sub>	21.06	17.75	21.94	20.38	
k <sub>2</sub>	22.35	21.48	19.36	22.16	
k <sub>3</sub>	20.38	24.57	20.63	21.25	
R	1.97	6.82	2.58	1.78	
较优	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	
条件	装液量 200mL	pH 值 6	转速 160r/min	温度 27℃	

结果和单因素的结果一致, 即 500 mL 三角瓶装液量 200 mL、起始 pH 值为 6、摇床转速 160 rpm、培养温度为 27℃。按此条件进行重复试验, 所得的菌丝体生物量也较高, 达 29.3 g/100mL。

## 2.6 不同菌龄对发酵的影响

菌种培养时间对发酵罐菌丝体生物量有一定影响。培养时间过长, 老化、自溶菌种过多, 接入发酵罐内的适龄菌种相应减少, 影响发酵罐内最终菌丝体生物量; 若培养时间过短, 不能为发酵罐提供足够的处于对数生长期的菌种, 因此控制好菌种的培养时间也是十分重要的。为了确定最佳的液体菌种转种时间, 该试验研究了菌种不同培养时间对菌丝体生物量的影响。结果为培养 7 d 的菌种转种最适宜。

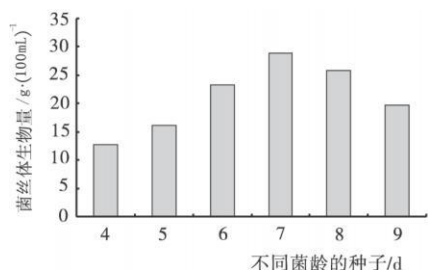


图5 不同接种菌龄对菌丝体生物量影响

## 2.7 不同接种量对发酵的影响

接种量对榆黄蘑的发酵时间和菌丝体生物量有影响, 接种量为 15% 时菌丝体生物量最高。接种量太低, 菌种浓度低, 生长慢; 接种量太大, 菌丝生长快, 但影响周转, 成本也高。不同接种量对菌丝体生物量的影响见图 6。

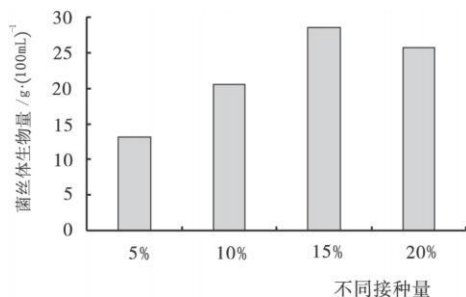


图6 不同接种量对菌丝体生物量的影响

## 2.8 培养时间对发酵的影响

为了确定最佳培养时间, 试验对连续培养 12 d 的榆黄蘑摇瓶菌种进行菌丝体生物量的测定。由于接入的一级菌种在第 4 天(即 96 h)全部萌发, 因此菌丝体生物量的测定从第 4 天(即 96 h)开始。绘制曲线如图 7 所示。

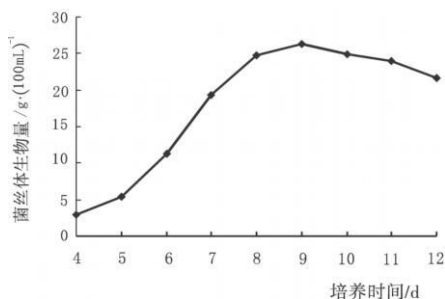


图7 培养时间对菌丝体生物量的影响

## 4 结论与讨论

通过对榆黄蘑摇瓶培养的试验, 得出摇瓶培养的最适合培养条件为: 500 mL 的三角瓶装液量 200 mL、pH 值 6、转速 160 rpm、温度 27℃、接种的菌龄是 7 d、接种量 15%、发酵时间为 9 d。

这里得出的结论是摇瓶培养的条件, 当要扩大到发酵罐深层培养时, 发酵条件可能会变化<sup>[7]</sup>, 发酵周期会大大缩短, 生物量也会显著提高。但由于试验条件的限制, 试验没有进行发酵罐的试验。

### 参考文献

- [1] 上海农业科学院. 中国食用菌志[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22.
- [2] 图力古尔, 李玉. 我国侧耳属真菌的种类资源及其生态地理分布[J]. 中国食用菌, 2001, 20(5): 8-9.
- [3] 周键, 孙培龙. 等食用菌深层发酵的研究进展[J]. 微生物学通报, 2003, 30(6): 111-114.
- [4] 武忠伟. 冬虫夏草深层培养及其多糖的研究与应用[D]. 西安: 西北大学硕士学位论文, 2005.
- [5] 沈爱英, 谷文英. 姬松茸液体深层培养条件的研究[J]. 食用菌, 2001(4): 7-8.
- [6] 杨惠芬, 李明元, 沈文. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 1998.
- [7] 张金波. 阿魏侧耳深层发酵条件及其胞外多糖理化性质的研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2005.

## Research of Deeper Culture Conditions of *Pleurotus eiorinopi* eutas

LI Yanhui, ZHENG Feng-rong

(Food Technology Institute, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin, Jinlin 132101)

**Abstract:** The optimum liquid medium formula of *Pleurotus eiorinopi* eutas in shake flask was determined; 200 mL liquid medium was added in 500 mL shake flask; pH value of primary medium was 6.0, rotary speed 160 rpm, temperature 27℃, culture time of secondary strain 7 d, the *Pleurotus eiorinopi* eutas could suit to the condition by experiment.

**Key words:** *Pleurotus eiorinopi* eutas; liquid culture; optimum condition