

# 阿魏菇多糖高产菌 PFPH-2 的发酵过程优化研究

陈恒雷, 余梅, 吕长武

(新疆大学 离子束生物工程中心, 新疆 乌鲁木齐 830046)

**摘要:**以阿魏菇多糖高产菌 PFPH-2 为试验菌株,采用营养因子正交优化及发酵过程动态培养方法,研究营养因子对 PFPH-2 菌丝体多糖产量的影响以及动态发酵过程 PFPH-2 菌丝体生物量与发酵液 pH 值的相关性。结果表明:正交优化组合对 PFPH-2 菌丝体胞内多糖积累有协同效应,在最佳组合的发酵体系中 PFPH-2 菌丝体胞内多糖产量达到 $(903.73 \pm 1.23)$  mg/L 的最高水平;发酵体系中 PFPH-2 菌丝体生物量与发酵液 pH 值有一定相关性,以发酵液 pH 值降低点且趋于稳定的时间终止发酵其菌丝体生物量最大。

**关键词:**阿魏菇;多糖高产菌;PFPH-2;发酵过程优化

**中图分类号:**S 646.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)08-0130-03

阿魏菇(*Pleurotus ferulae* Lanzi)又名阿魏侧耳、阿魏蘑菇、白灵菇,因寄生或腐生在新疆干旱草原药用植物阿魏或刺芹、阔叶拉瑟草植物上而得名<sup>[1]</sup>。阿魏菇是近年来发展迅速的食用菌新秀之一,其生物活性有效组分食药真菌多糖的含量很高<sup>[2]</sup>,其子实体多糖和液态深层发酵培养过程中产生的真菌多糖具有增强机体免疫力<sup>[3-4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5-6]</sup>等功效,极具开发前景。阿魏菇液体深层发酵获得的菌丝体不仅可以用于栽培菌种、提取多糖组分,还可以直接用于保健食品的加工,这样可以大大简化生产工艺、提高生产效率、降低成本。该研究基于课题组前期低能离子诱变选育阿魏菇多糖高产菌及液体深层发酵的研究,以阿魏菇多糖高产菌 PFPH-2 为试验菌株,深入开展阿魏菇多糖高产菌 PFPH-2 的发酵过程优化研究,以期阿魏菇菌丝体多糖的发酵生产提供试验依据。

**第一作者简介:**陈恒雷(1979-),男,新疆沙湾人,博士,副教授,现主要从事离子束生物工程和食药菌遗传育种与开发及天然产物研究与开发等工作。E-mail:chl@xju.edu.cn.

**基金资助:**新疆维吾尔自治区青年科技创新人才培养工程资助项目(2013721007)。

**收稿日期:**2016-01-11

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 阿魏菇(*Pleurotus ferulae* Lanzi) PFPH-2 由新疆大学离子束生物工程中心离子束诱变筛选所得。

1.1.2 试验仪器 LRH-250 光照培养箱(广东省医疗器械厂);ZHWY-210C 新型恒温振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司);XWB-5L 生化反应器(南京工业大学科技开发中心);UV-754 分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);METTLER-TOLEDO 精密分析天平((万分之一)METTLER TOLEDO Group)。

1.1.3 基础培养基 小麦粉 2.0%,蔗糖 2.0%,酵母膏 0.4%,麸皮 1.5%,磷酸二氢钾 0.2%,硫酸镁 0.15%,pH 值自然。

### 1.2 试验方法

1.2.1 正交优化实验 以 1.0%、1.5%、2.0% 小麦粉,1.0%、2.0%、3.0% 黄豆粉,0.1%、0.2%、0.3%  $K_2HPO_4$ ,0.10%、0.15%、0.20%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,分别取代基础培养基中的小麦粉、酵母膏、无机盐,设计  $L_9(3^4)$  正交表,在 250 mL 摇瓶中装入 100 mL 发酵液,pH 值自然,25℃

**Abstract:** With 'Bulanruike' *Ficus carica* Linn as test material, the effect of different concentration of chlorine dioxide treatment on storage quality in the process of circulation of *Ficus carica* Linn was studied. The results showed that under treatment of different concentration of chlorine dioxide, *Ficus carica* Linn decay had obvious inhibitory effect, hardness, weight loss rate, titratable acid content and soluble solids content declined less than control, it could improve the storage quality of *Ficus carica* Linn in circulation process, of which 80 mg/L chlorine dioxide treating *Ficus carica* Linn storage quality was the best.

**Keywords:** *Ficus carica* Linn; chlorine dioxide; circulation; storage quality

表 1 因素与水平

Table 1 Experimental factors and levels

水平	小麦粉	黄豆粉	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O
Level	Wheat meal/ %	Soybean meal/ %	/ %	/ %
1	1.0	1.0	0.1	0.10
2	1.5	2.0	0.2	0.15
3	2.0	3.0	0.3	0.20

恒温、200 r/min 恒温振荡培养,5 d 后收集菌丝体、干燥并称重,提取并测量胞内多糖。

1.2.2 液体发酵的动态过程研究 在 250 mL 摇瓶中装入 100 mL 的液体培养基,pH 值自然,25℃ 恒温、200 r/min 恒温振荡培养,从接种后第 2 天开始,每隔 8 h 测定阿魏菇菌丝体生物量、发酵液 pH 的变化,考察阿魏菇 PFPH-2 摇瓶发酵的动态过程。

1.2.3 阿魏菇扩大培养 在 5 L 发酵罐中装入 3.5 L 的液体培养基,接种后观察阿魏菇在 5 L 发酵罐中的发酵状态,在线监测记录其发酵过程,发酵结束后收集菌丝体、干燥并称重。

### 1.3 项目测定

1.3.1 菌丝体多糖含量测定 多糖含量=总糖含量-还原糖含量,其中总糖含量测定采用苯酚-硫酸法,还原糖含量测定采用 DNS 法<sup>[7]</sup>。

1.3.2 菌丝体生物量测定 抽滤收集发酵液中的菌丝体,置鼓风干燥箱中,60℃ 恒温烘至恒重,称其质量。

1.3.3 菌丝体多糖产量计算 多糖产量=多糖含量×菌丝体生物量。

## 2 结果与分析

### 2.1 阿魏菇 PFPH-2 营养因子正交优化实验

正交优化最佳组合的发酵体系中,阿魏菇 PFPH-2 对碳、氮源的利用率达到最高水平,其最佳碳源、氮源和无机盐之间的组合对菌丝体生物量及胞内多糖的积累有协同作用。阿魏菇 PFPH-2 最佳液体培养基配方为(m/v):1.5%小麦粉、3.0%黄豆粉、0.2%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.15% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O、2.0%蔗糖、1.5%麸皮、pH 值自然。

表 2 正交优化实验结果( $\bar{x} \pm s, n=5$ )Table 2 Experimental results of orthogonal optimization ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

编号	A	B	C	D	菌丝体多糖产量
Number					Mycelial biomass/(mg · L <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	653.54±0.87
2	1	2	2	2	903.73±1.23
3	1	3	3	3	785.27±1.36
4	2	1	2	3	872.93±2.31
5	2	2	3	1	763.36±0.69
6	2	3	1	2	821.31±0.75
7	3	1	3	2	853.59±3.26
8	3	2	1	3	694.91±2.17
9	3	3	2	1	813.40±1.03
K <sub>1</sub>	780.847	793.353	723.253	743.433	
K <sub>2</sub>	819.200	787.333	863.353	859.543	
K <sub>3</sub>	787.300	806.660	800.740	784.370	
R	38.353	19.327	140.100	116.110	

### 2.2 阿魏菇 PFPH-2 摇瓶发酵动态过程试验结果

通过观察阿魏菇 PFPH-2 液体发酵的动态过程发现,其菌丝体生物量与发酵液 pH 值有一定相关性。由图 1 可知,随着 PFPH-2 菌丝体生物量的增加其发酵液 pH 值先缓慢上升,再缓缓下降,然后骤降至低点,接着趋于稳定的变化趋势。pH 值的变化是食用菌在发酵过程中代谢活动的综合反映,其变化根源取决于培养基的组成和食用菌的代谢特性,通过 pH 值的变化可以大体判断食用菌所处的生长阶段,通过该试验中 pH 值的变化可以判断,从接种到 48 h 为 PFPH-2 的适应期,48~96 h 为指数生长期,96 h 以后为较长时间的稳定期,这与通过测定 PFPH-2 菌丝体生物量得出的结论基本一致。

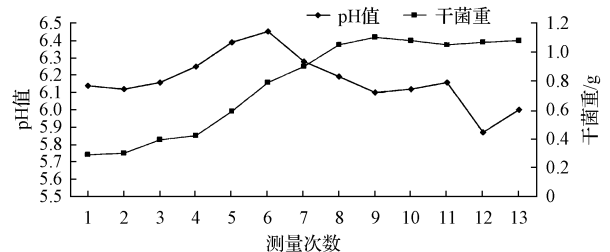


图 1 阿魏菇 PFPH-2 摇瓶发酵动态培养过程

Fig. 1 Dynamic incubation process of *Pleurotus ferulae* PFPH-2 in shake-flask fermentation

### 2.3 阿魏菇 PFPH-2 在 5 L 发酵罐中的扩大培养试验

通过阿魏菇 PFPH-2 在 5 L 发酵罐培养的在线数据监测记录发现,PFPH-2 接种后经过短暂的调整期后很快进入对数生长期,发酵液逐渐变粘变清,45 h 左右发酵液开始有大量泡沫,溶氧下降很快,在发酵 50 h 左右时达到最低,之后基本稳定;pH 值变化不大,整个发酵过程基本处在 5.5~6.0,总体表现为先缓慢升高、40 h 后缓慢下降、90 h 后骤降、96 h 后 pH 值降到低点且趋于稳定,以该时刻终止发酵,测得 PFPH-2 菌丝体生物量达到 24.29 g/L 的最大值。

## 3 讨论与结论

随着食用菌液体深层发酵技术的不断完善和发展,其比传统的食用菌生产方式越来越显示出优越性。阿魏菇是一种具有药用价值的名贵珍稀食用菌,具有“天然、营养、保健”等功能,阿魏菇子实体多糖和菌丝体多糖可显著提高人体免疫力,并被广泛应用于临床辅助治疗各种肿瘤疾病<sup>[8]</sup>。然而,阿魏菇子实体多糖提取受其子实体生长周期长的限制,提取工艺复杂、生产成本高<sup>[9]</sup>。基于上述阿魏菇多糖业已明确的药理功效和液体深层发酵可显著降低其生长成本的现实,该研究通过对阿魏菇多糖高产菌 PFPH-2 的营养因子正交优化实验结果发现,正交优化组合对 PFPH-2 菌丝体胞内多糖

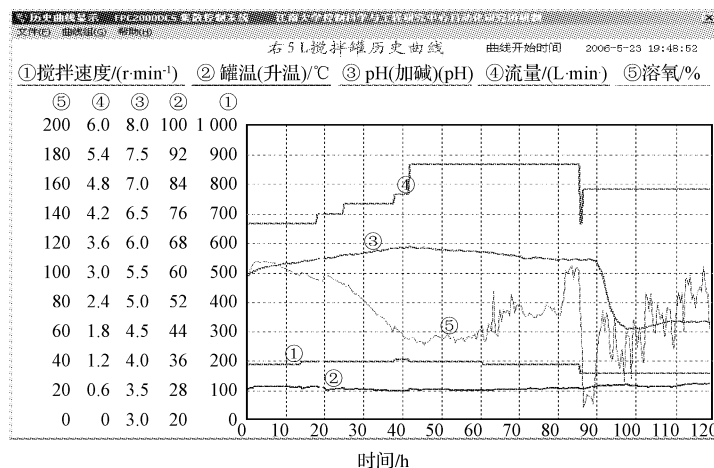


图2 阿魏菇 PFPH-2 在 5 L 发酵罐培养的在线数据监测记录

Fig.2 On-line monitoring data records of *Pleurotus ferulae* PFPH-2 in 5 L fermenter

积累有协同效应,其最佳组合为 1.5%小麦粉、2.0%蔗糖、3.0%的黄豆粉、1.5%麸皮(煮汁)、0.2%  $K_2HPO_4$  和 0.15%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、pH 值自然的发酵体系,PFPH-2 菌丝体胞内多糖产量达  $(903.73 \pm 1.23)$  mg/L 的最高水平。PFPH-2 发酵体系中菌丝体生物量与发酵液 pH 值有一定相关性,随着生物量的增加发酵液 pH 值先缓慢升高,再缓慢下降,然后骤降到低点,接着趋于稳定的变化趋势,且以发酵液 pH 值降到低点且趋于稳定的时间终止发酵其菌丝体生物量最大。

#### 参考文献

- [1] 陈忠纯,吴政声.阿魏侧耳优良菌株 KH2 的选育[J].干旱区研究,1994,11(4):76-78.  
[2] 黄年来.18 种珍稀美味食用菌栽培[M].北京:中国农业出版社,1997.

- [3] 赵祁,肖杰,王勤.阿魏菇对小鼠免疫功能的影响[J].中国食用菌,2001,20(1):43-45.  
[4] 甘勇,吕作舟.阿魏菇多糖理化性质及免疫活性研究[J].菌物系统,2001,20(2):228-232.  
[5] 宋旭红,张月明,邓红.新疆阿魏蘑菇提取物体外肿瘤实验研究[J].癌变·畸变·突变,2002,14(2):107-110.  
[6] 董洪新,吕作舟.阿魏侧耳多糖的分离纯化与抗肿瘤活性的研究[J].微生物学通报,2003,30(2):16-19.  
[7] 李永泉,吴炬,杨全珍,等.白阿魏菇深层发酵工艺的研究[J].西北民族大学学报,2003,24(4):14-18.  
[8] 闫训友,王伟,赵英.阿魏侧耳多糖研究进展[J].北方园艺,2007(12):243-245.  
[9] 许程剑,田金虎,李应彪,等.超声波法提取阿魏菇多糖的工艺[J].食品研究与开发,2012,33(4):75-77.

## The Optimization Fermentation Process of *Pleurotus ferulae* Polysaccharide High-yield Strain PFPH-2

CHEN Henglei, YU Mei, LYU Changwu

(Ion Beam Bio-engineering Center, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046)

**Abstract:** Taking *Pleurotus* polysaccharide high-yield strain PFPH-2 as experimental strain, the influence of nutrition factor on mycelial polysaccharide yield of PFPH-2 as well as the relevance of mycelium biomass of PFPH-2 with the pH value of fermented broth were studied through the method of nutrition factor orthogonal optimization and dynamic fermentation. The results showed that the orthogonal combination indicated a synergistic effect on the accumulation of mycelium polysaccharides of PFPH-2. In the optimal combination fermentation medium, the yield of mycelium polysaccharides of PFPH-2 increased to  $(903.73 \pm 1.23)$  mg/L by the end of fermentation. Mycelium biomass had a certain correlation with the pH of fermentation broth in fermentation system of PFPH-2. The mycelium biomass achieved the maximum amount when the pH values of fermentation broth down to low and tend to stabilization.

**Keywords:** *Pleurotus ferulae*; polysaccharide high-yield strain; PFPH-2; fermentation process optimization