

DOI:10.11937/bfyy.201704030

# 人工北虫草废弃米基栽培辅料对平菇品质的影响

郝雅荞<sup>1,2</sup>, 闫玲<sup>1</sup>, 韦璇<sup>1,2</sup>, 孙大伟<sup>3</sup>, 赵洪新<sup>2</sup>, 王升厚<sup>3</sup>

(1. 沈阳师范大学 生命科学学院, 辽宁 沈阳 110034; 2. 浙江理工大学 生命科学学院, 浙江省植物与次生代谢重点实验室, 浙江 杭州 310018; 3. 沈阳师范大学 实验教学中心, 辽宁 沈阳 110034)

**摘要:**以北虫草废弃米基为试材,以平菇为指示食用菌,采取平菇栽培生长过程追踪、高效液相分析等方法,研究了废弃米基替代麦麸辅料对平菇菌丝生长、产量、菇体多糖和虫草素、腺苷含量的影响,以期在不降低平菇产量的条件下改善平菇品质及为虫草废弃米基提供新的利用途径。结果表明:北虫草废弃米基为部分或完全辅料栽培平菇,以完全或部分替代麦麸时,对供试平菇生物转化率无明显影响,但明显提高平菇菌丝生长速度,米基添加量为10%和20%时,菌丝生长速度分别提高了1.30倍和1.36倍;平菇子实体中多糖含量也显著提高,平菇采摘后菌糠中多糖含量也有所增加;平菇浸提液HPLC检测结果显示,平菇中各组腺苷含量无明显差别,但可以检测到虫草素。

**关键词:**人工北虫草;废弃米基;平菇;平菇品质

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)04-0128-04

北虫草(*Cordyceps militaris*),又称蛹虫草,是一种兼具食用和药用价值的优质珍贵大型真菌。由于天然资源数量稀少,随着人们对野生北虫草(*C. militaris*)生活习性的深入了解,人工栽培技术的日臻完善,人工北虫草产业得到迅猛发展,尤其是辽北地区已成为我国北虫草原料集散地,每年向全国销售北虫草干品逾1 200 t。而且随着人们对健康生活的日益渴求,对具有保健功能的虫草需求量也日益增加,人工栽培面积在逐年扩大,虫草栽培过程中产生了大量的废弃米基。虫草栽培所用的培养基主要是营养物质丰富的大米、小麦或柞蚕蛹,所以虫草采收后的米基中仍然含有大量的淀粉、蛋白质、脂肪、维生素和微量元素等物质<sup>[1]</sup>,而且虫草生长过程中的代谢产物如虫草素<sup>[2]</sup>、腺苷<sup>[3-4]</sup>、虫草多糖<sup>[5]</sup>等有效药物成分分泌到米基中,废弃的米基不仅会对环境造成一定的影响,也是资源的极大浪费<sup>[6]</sup>。孙诗清<sup>[7]</sup>、张丽艳<sup>[8]</sup>直接从虫草米基中提取虫草素,用于

抑制肿瘤研究;郭培红等<sup>[9]</sup>将虫草米基作为饲料应用于养殖业中,此外,还可以加工制成保健食品或发酵后作为肥料应用于种植业<sup>[6]</sup>;林群英等<sup>[10]</sup>研究了蛹虫草及金针菇菌糠对杏鲍菇菌丝生长的影响,结果表明对杏鲍菇菌丝生长具有一定的促进作用,但将废弃米基重新加入食用菌栽培培养基中再利用的研究鲜有报道。

该研究以平菇为供试菌,在平菇栽培常用配方中,以粉碎后蛹虫草废弃米基粉按比例替代麦麸辅料,对平菇的生长、产量、菇体多糖和平菇中虫草素、腺苷含量进行了测定,为蛹虫草废弃米基在食用菌栽培中的循环利用,降低产业链成本,提供有益参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌种:平菇“松山2号”(Pleurotus ostreatus ‘Songshan 2’)由沈阳师范大学特种菌业研究所保藏。

供试培养基:PDA培养基(土豆200 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,水1 000 mL,pH自然)、平菇栽培培养基(玉米芯、麦麸、北虫草废弃小麦米基、石灰、石膏和水)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 母种扩繁 按常规方法制备PDA试管斜

**第一作者简介:**郝雅荞(1993-),女,辽宁朝阳人,硕士研究生,研究方向为生物化工。E-mail:hyq\_synu@sina.com.

**责任作者:**王升厚(1963-),男,辽宁沈阳人,本科,教授,硕士生导师,研究方向为微生物制药。E-mail:wshhwq2009@163.com.

**基金项目:**辽宁科学事业公益基金资助项目(2014003020)。

**收稿日期:**2016-10-20

面,灭菌后接种、培养、待用。

1.2.2 制备原种 配制裁培料:玉米芯、麦麸、石灰、石膏,按 78:20:1:1 干料配比,含水量 65%左右,装入罐头瓶中,121 ℃高温高压灭菌 1.5 h,冷却后接入扩繁母种,置于 25 ℃恒温箱中培养。

1.2.3 平菇栽培 栽培料培养基配方见表 1,含水量约 65%。装入栽培袋中,每袋湿样质量 1 kg,每个处理 6 袋,栽培袋于 121 ℃高温高压灭菌 2 h,冷却后接种平菇二级种,置 25 ℃恒温箱中发菌培养,约 35 d 发满菌后,进行出菇管理。

表 1 平菇栽培培养基配方

Table 1 *Pleurotus ostreatus* cultivation medium

试验组 Test group	玉米芯 Corn cob /%	麦麸 Wheat bran /%	废米基 Waste medium /%	石灰 Lime /%	石膏 Gypsum /%	料水比 Material-water ratio
1	78	20	0	1	1	1:1.8
2	78	10	10	1	1	1:1.8
3	78	0	20	1	1	1:1.8

### 1.3 项目测定

1.3.1 平菇菌丝生长速率及产量测定 栽培袋中菌丝开始萌发时标记初始位置,菌丝生长 27 d 再次标记并测量菌丝生长长度,并计算平菇菌丝生长速率;平菇采收后称重,计算生物转化率,生物转化率(%)=平菇鲜质量/生产袋干料质量×100。

1.3.2 多糖含量的测定 采用蒽酮硫酸法<sup>[11]</sup>测定平菇子实体及采收后干燥菌糠样品中的多糖含量。检测样品制备:平菇采收后子实体及菌糠自然风干,将平菇样品干品及采收后菌糠干品研磨,过 60 目筛,准确称量 0.5 g 样品细粉加蒸馏水 80 mL,85 ℃浸提 3 h,浸提液 4 000 r·min<sup>-1</sup>离心 30 min,上清液作为待测样品溶液。对照品溶液的制备:称取干燥至恒重的分析纯蔗糖 10 mg 为对照样品,置于 100 mL 容量瓶中,加双蒸水溶解并定容,配制成浓度为 0.1 mg·mL<sup>-1</sup>的蔗糖标准溶液。标准曲线的制备:精确吸取标准液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的蔗糖标准溶液于 10 mL 试管中,加蒸馏水至 2 mL,加 5 mL 蒽酮硫酸试剂,立即放入冰水浴中摇匀后,于沸水浴 10 min,取出后,用水冲洗 2 min 冷却,室温下静置 10 min 后于波长 620 nm 处测定吸光值,取蒸馏水 1 mL 同上处理作为空白对照。以蔗糖质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制蔗糖的标准曲线,具体见表 2。样品多糖含量测定:取 5 mL 待测样品于烧杯中,加入 20 mL 无水乙醇,搅拌均匀,过夜沉淀;次日样品 4 000 r·min<sup>-1</sup>离心 20 min,弃上清,沉淀用 5 mL 蒸馏水复溶得样品溶液。测定 620 nm

表 2 蔗糖标准曲线

Table 2 Sucrose standard curve

试管号 Tube number	0	1	2	3	4	5
蔗糖浓度 Sucrose concentration/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
蔗糖 Sucrose/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水 Distilled water/mL	2	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0
蒽酮溶剂 Anthrone solvent/mL	5	5	5	5	5	5

处其吸光值,并根据标准曲线的回归方程计算出多糖的得率。

1.3.3 虫草素和腺苷含量的测定 样品预处理:按相同方法对平菇子实体和蛹虫草废弃米基进行浸提,浸提样品上清液过 0.22 μm 微孔滤膜作为待测样品,于 4 ℃保存备用。色谱条件:采用高效液相色谱法<sup>[12]</sup>对虫草素含量进行测定。色谱条件为:Agilent C18 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-水,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>;柱温 28 ℃;VWD 检测波长为 260 nm;进样量 20 μL,重复上样 3 次。

### 1.4 数据分析

试验数据通过 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析,采用 Duncan 和 LSD 法检验在  $P<0.05$  水平的显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛹虫草废弃米基不同添加比例对平菇菌丝生长的影响

从图 1 可以看出,不同比例的废弃米基作为平菇栽培辅料,对平菇菌丝生长均具有促进作用,试验组菌丝生长速率均有提高,其中添加比例为 20% 的试验组菌丝生长速率显著高于对照组。

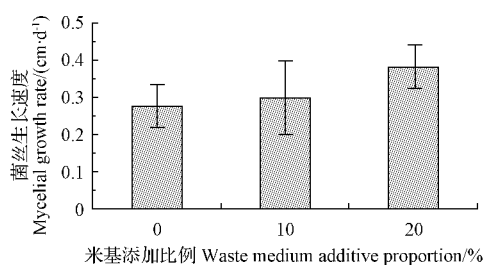


图 1 蛹虫草废弃米基不同添加比例对平菇菌丝生长的影响

Fig. 1 Effect of different additive proportion of *C. militaris* waste medium on the mycelial growth of *P. ostreatus*

### 2.2 蛹虫草废弃米基不同添加比例对平菇栽培产量的影响

表 3 表明,米基添加量为 10% 和 20% 的试验组

平均生物转化率分别为 $(46.28 \pm 9.02)\%$ 和 $(47.10 \pm 4.52)\%$ ,对照组为 $(44.63 \pm 5.99)\%$ ,单因素方差分析结果表明,试验组同对照组间产量及生物转化率不存在显著性差异,即蛹虫草废弃米基作为栽培辅料对平菇栽培产量和生物转化率无明显影响。

表3 蛹虫草废弃米基不同添加比例对平菇栽培产量的影响

Table 3 Effect of different additive proportion of *C. militaris* waste medium on yield of *P. ostreatus*

米基添加量 Waste medium addition/%	平均每袋产量 Average per bag production/g	平均生物转化率 Average biological conversion rate/%
0	156.21±20.95a	44.63±5.99a
10	161.98±31.57a	46.28±9.02a
20	164.85±15.82a	47.10±4.52a

注:不同小写字母表示差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。表4同。

Note: Different lowercase letters represent significant difference at the 0.05 level. The same as Table 4.

### 2.3 蛹虫草废弃米基不同添加比例对平菇子实体及菌糠中多糖含量的影响

采用蒽酮硫酸法测定不同配方平菇子实体及相应菌糠中多糖的含量。以蔗糖标准溶液浓度为横坐标,以对应浓度在620 nm处的吸光值为纵坐标,绘制蔗糖标准曲线,结果如图2所示。

其线性回归方程为 $y = 0.0098x - 0.0199$ ,相关系数 $R^2 = 0.9947$ ,表明线性关系在 $10 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内良好。根据回归方程计算样品中多糖含量,结果见表4。通过SPSS软件进行单因素方差分析,添加不同比例废弃米基试验组同对照组平菇子实体及菌糠多糖含量存在显著性差异,培养基添加蛹虫草废弃米基能够提高平菇子实体及菌糠中的多糖含量。

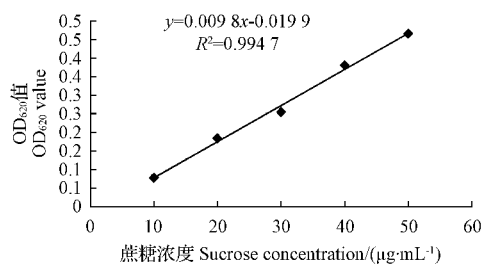


图2 蔗糖标准曲线

Fig. 2 Sucrose standard curve

表4 蛹虫草废弃米基不同添加比例对平菇及相应菌糠中多糖含量的影响

Table 4 Effect of polysaccharide content of *P. ostreatus* and its' residue in different proportion of *C. militaris* waste medium.

米基添加量 Waste medium addition /%	多糖含量 Polysaccharide content/% 平菇子实体 <i>Pleurotus ostreatus</i>	平菇菌糠 <i>P. ostreatus</i> residue
0	6.77±0.02b	0.37±0.04b
10	7.67±0.08a	2.15±0.18a
20	7.09±0.68ab	1.90±0.03a

### 2.4 不同废弃米基添加比例对平菇子实体中虫草素、腺苷含量的影响

采用HPLC法测定蛹虫草废弃米基及平菇子实体中的虫草素和腺苷含量;原料废弃米基的虫草素含量为 $2.971 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,腺苷含量为 $0.549 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,对照组平菇样品未出现虫草素的检测峰值,废弃米基添加比例为10%和20%的试验组平菇样品中可以检测到微小的峰(图3)。根据标准曲线的回归方程计算其虫草素含量,分别为 $0.294 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.332 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,米基添加量为0%、10%、20%的平菇样品中腺苷含量分别为 $0.163$ 、 $0.151$ 、 $0.158 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,说明蛹虫草废弃米基添加量,对平菇子实体中腺苷含量无明显影响。

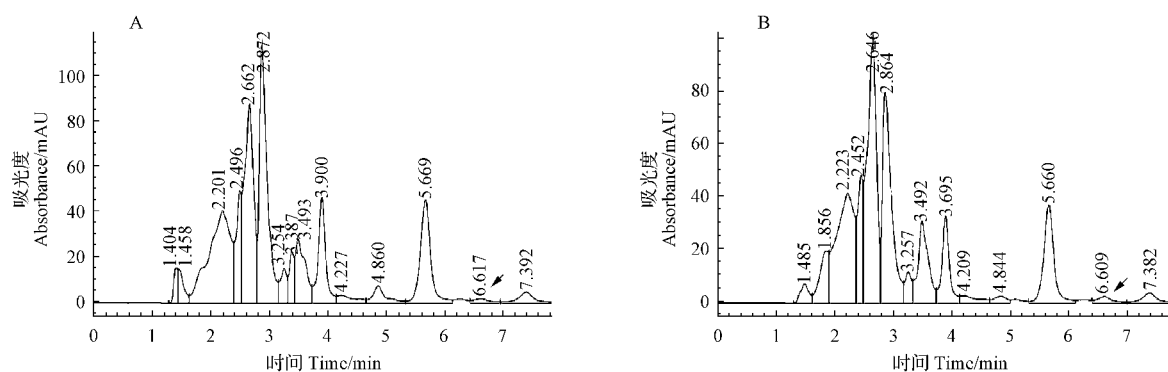


图3 平菇子实体虫草素(A)、腺苷(B)检测结果

Fig. 3 Results of *P. ostreatus* cordycepin(A), adenosine(B) test

### 3 讨论

人工北虫草栽培后的废弃米基富含营养物质及虫草代谢产物,极具重新利用价值。该研究以平菇作为供试菌,利用虫草废弃米基作为辅料二次栽培,结果显示不同添加比例的虫草废弃代替麦麸辅料栽培平菇,尽管在平菇产量上与对照没有差别,但平菇的菌丝生长不但生长速度快,而且粗壮,对提高平菇栽培过程中的抗病力,确保平菇栽培的成功率有很好的促进作用。食用菌中多糖的含量是评价食用菌品质的一个重要指标之一。该研究中,试验组平菇子实体及菌糠中多糖含量均高于对照组,表明以虫草废弃米基为辅料,对平菇积累多糖,提高平菇的品质具有促进作用,也进一步说明了虫草废弃米基具有重新再利用价值;更为特别的是,在平菇子实体中可检测到虫草素,而对照组则没有,推测是平菇生长过程中,吸收了虫草废弃米基辅料中残留的虫草素,这不仅进一步提高了平菇的食用品质,也进一步体现了虫草废弃米基资源化再利用的价值。

在对平菇采收产量评价时,试验组与对照组相比,平菇产量无显著差异,说明蛹虫草废弃米基在提高平菇产量上没有作用,但可以作为平菇等食用菌栽培中的辅料加以利用,代替价格较贵的麦麸辅料,补充氮源等营养物质<sup>[10]</sup>,降低生产成本。按平菇栽培麦麸添加比例 15% 计算,麦麸 0.55 元·kg<sup>-1</sup>,市场价格作为参考,每 100 kg 干混料可以节约 33 元成本。

因此,人工虫草废弃米基的资源化再利用,既可减少对生态环境的影响,又可减少资源浪费,降低虫草及相关产业链的生产成本,提高经济效益,起到双赢的效果。

### 参考文献

- [1] 范文丽,李天来,代洋,等.杏鲍菇、香菇、金针菇、蛹虫草、滑菇、平菇菌糠营养分析评价[J].沈阳农业大学学报,2013,44(5):673-677.
- [2] 付彦凯,冷云伟,曹文化.蛹虫草的人工培育历程[J].北方园艺,2012(4):178.
- [3] 李祥玲,胡劲松,陈作红. HPLC 测定人工蛹虫草及其培养基中虫草素和腺苷含量[J].湖南师范大学(自然科学学报),2010,33(2):107-111.
- [4] 钟艳梅,黄志全,温凯.人工蛹虫草固体培养残基中虫草素的提取分离研究[J].现代食品科技,2007,23(2):40-42.
- [5] 张颖,曾艳,张丽娇,等.蛹虫草菌糠多糖的分离纯化及结构组成分析[J].食品科学,2014,35(13):54-58.
- [6] 胡珊,罗华建,黄皓,等.蛹虫草培养基残余体综合利用的研究进展[J].食用菌,2014(2):1-3.
- [7] 孙诗清.蛹虫草培养基的综合利用研究[D].西安:西北大学,2005.
- [8] 张丽艳.从蛹虫草栽培残渣中提取分离虫草素及其抑制肿瘤活性的研究[D].福州:福建师范大学,2010.
- [9] 郭培红,宋学宏,孙丽萍,等.虫草培养基残余体在中华绒螯蟹饲料中的适宜添加量[J].淡水渔业,2011(3):43-49.
- [10] 林群英,张锋伦,吴亮亮,等.蛹虫草及金针菇菌糠对杏鲍菇菌丝生长的影响[J].中国野生植物资源,2016(1):16-18.
- [11] 刘红锦,蒋宁,李建军,等.蛹虫草多糖提取及纯化工艺研究[J].江西农业学报,2007,19(12):80-82.
- [12] 孙兰凤,孙倩,潘琦,等.北虫草废料酶解液中核苷和虫草素 HPLC 分析[J].辽宁中医药大学学报,2014(6):49-50.

## Effect of *Cordyceps militaris*' Abandoned Cultivation Material on Quality of *Pleurotus ostreatus*

HAO Yaqiao<sup>1,2</sup>, YAN Ling<sup>1</sup>, WEI Xuan<sup>1,2</sup>, SUN Dawei<sup>3</sup>, ZHAO Hongxin<sup>2</sup>, WANG Shenghou<sup>3</sup>

(1. School of Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang, Liaoning 110034; 2. School of Life Science, Zhejiang Sci-tech University/Plant and Secondary Metabolism Key Laboratory of Zhejiang Province, Hangzhou, Zhejiang 310018; 3. Experimental Teaching Center, Shenyang Normal University, Shenyang, Liaoning 110034)

**Abstract:** In this study, the rate of mycelial growth, yield, fruitbody polysaccharide, adenosine and cordycepin of *P. ostreatus* were investigated when the waste medium of *C. militaris* was used as supplemental material. The fruiting test and HPLC method were used under the condition of not reducing the mushroom production in order to improve the quality of *P. ostreatus* and provide a new way to *C. militaris* waste mediums cyclic utilization. The results showed that *C. militaris* waste materials completely or partly replace the wheat bran had no significant effect on biomass transformation rate, but could improve the mycelium growth rate of *P. ostreatus*. When the abandoned cultivation material was added up to 10% and 20% as supplemental material, the growth rate of promycelium increased 1.30 times and 1.36 times respectively; the content of polysaccharide in *P. ostreatus* was significantly increased, as well as the content of polysaccharide in media was also increased; the cordycepin was detected in *P. ostreatus* by HPLC.

**Keywords:** *Cordyceps militaris*; waste mediums; *Pleurotus ostreatus*; quality of *Pleurotus ostreatus*