

# 香魏蘑液体培养酶活性变化特点及 固体培养抗菌性能的测定

马桂珍, 顾霞, 孙文博, 程敏, 暴增海

(淮海工学院 食品工程学院, 江苏 连云港 222005)

**摘要:** 采用液体培养法, 对香魏蘑纤维素酶、淀粉酶、氧化酶等几种相关酶的活性变化规律进行了研究。结果表明: 淀粉酶活性高峰出现最早(第5天), 酶活性最高; 纤维素酶的活性高峰随后出现(第7天); 邻苯二酚氧化酶的活性高峰期到来更晚(第10天); 同时采用固体培养法测定了香魏蘑和几种常见霉菌的作用, 表明香魏蘑具有一定的抗耐特性。

**关键词:** 香魏蘑; 纤维素酶; 淀粉酶; 氧化酶; 活性

**中图分类号:** S 646.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)21-0199-03

香魏蘑隶属担子菌亚门伞菌目侧耳科, 又称香魏菇, 是以香平菇一株四倍体侧耳(*Pleurotus* sp.)和阿魏蘑(*Pleurotus ferulae* Lanz)通过种或变种间有性杂交选育的新菇种<sup>[1]</sup>。香魏蘑的菌柄洁白, 质地脆嫩, 菌盖浅灰色至深灰色, 兼有阿魏蘑的甜美风味和平菇的较强抗逆性。香魏蘑具有良好的经济价值, 其肉质幼嫩滑爽, 味道清甜鲜美, 口感极佳, 而且具有很高的营养价值, 独特的药物功效, 常食能增强人体免疫功能, 对胃肝内脏十分有益, 对高血压、高血脂有较好疗效。因此, 香魏蘑具有良好的市场开发前景。林汝楷、严泽湘、丁湖广、高珠清等先后对香魏蘑的高产栽培技术进行了研究<sup>[2-4]</sup>, 但香魏蘑液体培养过程相关酶活性变化规律以及香魏蘑固体培养对几种常见霉菌的抗耐能力均未见报道。因此, 现对香魏蘑开展相关酶活性的测定, 旨在探讨香魏蘑酶反应机制和对杂菌的抗耐特性, 以期香魏蘑高产稳产提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌株香魏蘑, 引自华中农业大学, 在淮海工学院微生物研究室保存。供试酶活性培养基: 马铃薯20%、葡萄糖1%、红糖1%、酵母粉0.25%、麦麸3%、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2%、MgSO<sub>4</sub> 0.1%, pH 自然。供试杂菌抗耐培养基马铃薯葡萄糖琼脂培养基, pH 自然。

**第一作者简介:** 马桂珍(1963-), 女, 教授, 现主要从事食用菌液体发酵等研究工作。

**基金项目:** 农业部都市农业(南方)重点试验室开放基金资助项目(09UA001); 淮海工学院大学生实验室创新基金资助项目。

**收稿日期:** 2010-08-24

### 1.2 试验方法

**1.2.1 香魏蘑液体培养酶活性变化测定** 将供试香魏蘑菌株活化后, 采用液体培养法, 每天定时取发酵液5 mL, 4 000 r/min 离心10 min 后取上清液作为粗酶液, 采用比色法测定酶活。淀粉酶活力、羧甲基纤维素酶(CMC 酶)活力和邻苯二酚氧化酶活力测定按照王玉万的试验方法进行<sup>[9-10]</sup>。

#### 1.2.2 香魏蘑固体培养对几种污染菌抗性作用的测定

采用平板对峙培养法, 用直径为8 mm 的无菌打孔器沿已经培养5 d左右的香魏蘑菌落边缘处打孔, 将打下的菌种体接种在经灭菌并冷却的平皿平板上, 每皿定点接入4块圆形菌种块, 为保证接种均匀准确, 接种前先用记号笔画圈定位。然后将接种好的培养皿置于25℃恒温生化培养箱中培养3 d待接种块周围形成各自的菌落。将培养皿取出于无菌工作台上, 在平板中心位置(预先在皿底划点定位)接入在食用菌栽培中经常发生的某种污染菌(黑曲霉、青霉菌、米曲霉), 3次重复。每天观察对峙培养结果, 到一定时期拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 香魏蘑液体培养酶活性变化特点的测定

为了解香魏蘑液体发酵时胞外酶种类及活性变化, 连续测定了15 d内发酵液中淀粉酶、纤维素酶和邻苯二酚氧化酶酶活性, 从表1可知, 香魏蘑液体培养, 其淀粉酶的活性出现最早, 是在培养的第5天。而纤维素酶、邻苯二酚氧化酶分别在第7天、第10天出现最高活性。

**2.1.1 葡萄糖标准曲线** 以葡萄糖含量为横坐标, OD值为纵坐标得出葡萄糖标准曲线, 其回归方程为 $y=0.5518x-0.0125$ ,  $R^2=0.9978$ 。

表 1 发酵液 OD 值

培养天数/d	淀粉酶	纤维素酶	邻苯二酚氧化酶
1	0.057	0.043	0.021
2	0.173	0.057	0.038
3	0.236	0.048	0.059
4	0.275	0.153	0.097
5	0.371	0.236	0.102
6	0.292	0.274	0.123
7	0.210	0.319	0.114
8	0.104	0.300	0.175
9	0.068	0.257	0.232
10		0.165	0.266
11		0.098	0.215
12		0.025	0.138
13			0.096
14			0.039
15			

2.1.2 麦芽糖标准曲线 以麦芽糖含量为横坐标, OD 值为纵坐标得出麦芽糖标准曲线(图 2), 其回归方程为  $y=0.4948x+0.0048$   $R^2=0.9995$ 。

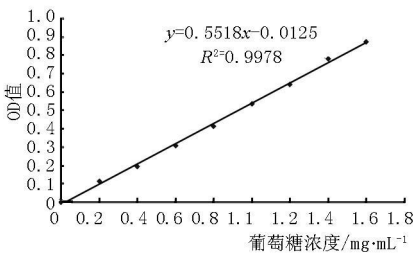


图 1 葡萄糖标准曲线

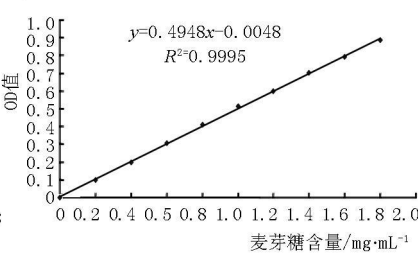


图 2 麦芽糖标准曲线

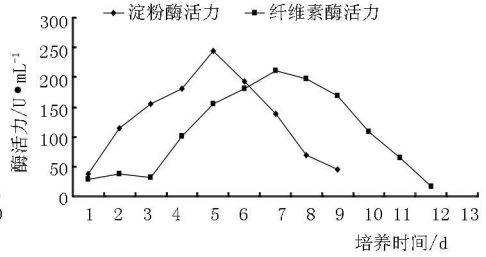


图 3 淀粉酶活力、纤维素酶活力与培养时间的关系

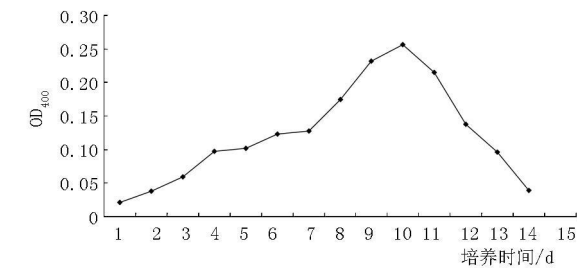


图 4 邻苯二酚氧化酶酶活力与培养时间的关系

从图 3、4 可知, 香魏蘑液体培养产淀粉酶丰富, 酶活性最高, 培养 5 d 后, 酶活性达 244.761 U/mL; 其次是产纤维素酶活性较高, 在发酵 7 d 后达到了 210.455 U/mL; 邻苯二酚氧化酶的活性在培养 10 d 后, 达到最大。

2.2 香魏蘑固体培养对几种污染菌的抗性测定

2.2.1 香魏蘑与黑曲霉的对峙培养 香魏蘑与黑曲霉的对峙培养结果见图 5。黑曲霉是一种生命力极其旺盛的霉菌, 其孢子很容易掉落在培养基上, 因此黑曲霉是

2.1.3 比色法测定淀粉酶以及纤维素酶活性 根据试验测定的 OD 值, 计算出淀粉酶活力和纤维素酶活力。从表 2 可知, 香魏蘑液体培养, 其淀粉酶的活性在培养的第 5 天时表现最高, 可达 244.761 U/mL。而纤维素酶在培养第 7 天时出现最高活力, 为 210.455 U/mL。

表 2 香魏蘑菌株产几种酶活性随发酵时间的变化

培养时间/d	淀粉酶活性/ $U \cdot mL^{-1}$	纤维素酶活性/ $U \cdot mL^{-1}$
1	37.605	28.368
2	114.134	37.605
3	155.697	31.667
4	181.427	100.939
5	244.761	155.697
6	192.642	180.767
7	138.544	210.455
8	68.612	197.920
9	44.862	169.552
10		108.856
11		64.654
12		16.493

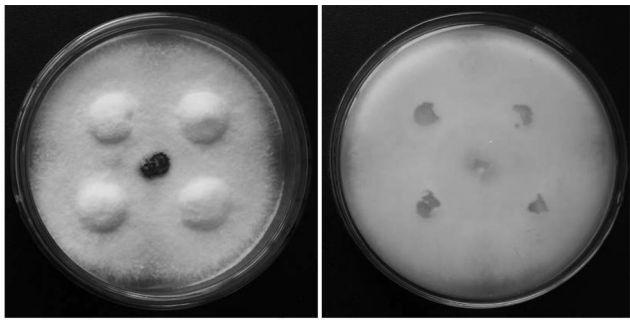


图 5 香魏蘑与黑曲霉的对峙培养  
注: 左图正面, 右图背面, 下同。

一种易致污染的杂菌。黑曲霉部分在香魏蘑菌丝上生长, 先感染一些还没有长菌丝的空挡区域, 感染黑曲霉的菌丝部分发暗, 未感染部分仍呈白色, 黑曲霉在中间呈方形, 向外有一个方形发暗的区域, 一些香魏蘑菌丝上有黑曲霉菌向外覆盖。因此, 香魏蘑菌丝对黑曲霉具有一定的抵抗能力。

2.2.2 香蕮蘑与青霉的对峙培养 平板中央接上青霉, 起初的 1~2 d 长出灰白色的青霉菌丝, 生长比较缓慢, 随后灰白色菌落上出现淡绿色粉状分生孢子, 淡绿色不断加深成为深绿色, 粉状层不断加厚, 局限生长。受青霉污染的地方, 菌丝生长受到一定的抑制, 生长缓慢, 但二者之间不存在拮抗现象。香蕮蘑菌丝在培养皿中可以覆盖青霉的菌落(如图 6)。

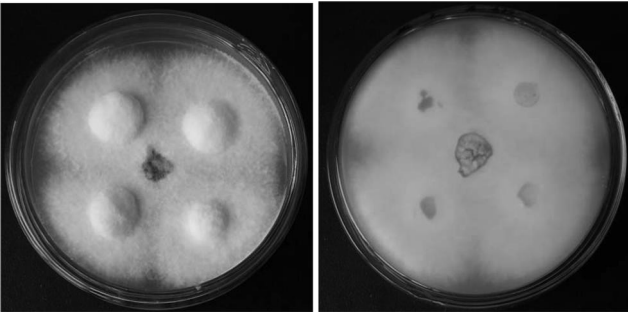


图 6 香蕮蘑与青霉的对峙培养

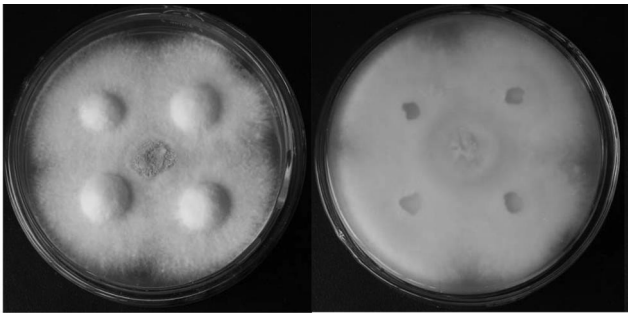


图 7 香蕮蘑与米曲霉的对峙培养

2.2.3 香蕮蘑与米曲霉的对峙培养 香蕮蘑与米曲霉的对峙培养结果见图 7。米曲霉不向周围飞散传播, 而

是逐步向周围蔓延、覆盖, 中间形成一个米曲霉的区域, 离它较近的香蕮蘑菌丝仍能保持白色。从背面看, 其抑制生长的范围较大。

3 结论与讨论

对香蕮蘑纤维素酶、淀粉酶、氧化酶等几种相关酶活性变化规律的研究结果表明, 淀粉酶活性高峰出现最早(第 5 天), 酶活性最高; 纤维素酶的活性高峰随后出现(第 7 天); 邻苯二酚氧化酶的活性高峰期到来更晚(第 10 天)。

在一定培养条件下相关酶活性出现的早晚和大小存在较大差异, 不同食用菌品种相关酶活也存差异<sup>[7-8]</sup>。这些现象应与食用菌菌株特性、培养基的组成等密切相关。通过测定香蕮蘑菌丝对黑曲霉、青霉和米曲霉的抗耐能力结果, 可以认为香蕮蘑对上述杂菌表现出了一定的抗耐特性。

参考文献

[ 1 ] 林汝楷, 陈忠纯. 香蕮菇高产优质栽培技术[ J ]. 食用菌, 2000(2): 25.  
[ 2 ] 严泽湘, 严新涛. 香蕮菇栽培技术[ J ]. 四川农业科技, 2003(1): 21.  
[ 3 ] 丁湖广. 珍稀菇品香蕮蘑特性及栽培技术[ J ]. 食用菌, 2007(7): 21.  
[ 4 ] 高珠清. 香蕮蘑的特征特性与栽培技术[ J ]. 福建农业科技, 2003(2): 18-19.  
[ 5 ] 杨新美. 食用菌研究法[ M ]. 北京: 中国农业出版社, 1998.  
[ 6 ] 邓振旭. 大型真菌多酚氧化酶活性的研究[ J ]. 食用菌, 2000(4): 9-10.  
[ 7 ] 朱启忠. 侧耳 792 几种胞外酶活性的测定比较[ J ]. 食用菌, 2006(5): 7-8.  
[ 8 ] 俞苓, 刘民胜, 陈有容. 杏鲍菇液体培养中胞外酶活性变化[ J ]. 食用菌, 2003(1): 7-8.  
[ 9 ] 王玉万, 王云. 培养温度和侧耳子实体形成对胞外纤维素分解酶活性的影响[ J ]. 微生物学通报, 1991, 18(1): 9-11.  
[ 10 ] 王玉万, 王云. 构菌栽培过程中对木质纤维素的降解和几种多糖分解酶活性的变化[ J ]. 微生物学通报, 1989, 16(3): 137-140.

Activity Variation Characteristics of Xiangwei Mushroom's Enzyme by Liquid Culturing and the Determination of Xiangwei Mushroom's Anti-resistant by Solid Culturing

MA Gui-zhen, GU Xia, SUN Wen-bo, CHENG Min, BAO Zeng-hai

(School of Food Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005)

**Abstract:** The activity variation of Xiangwei mushroom's cellulase, amylase, oxidase and other related enzymes by liquid culturing were studied, the results showed that the activity of amylase peaked first(on the 5<sup>th</sup> day), the cellulase activity peaked followed(on the 7<sup>th</sup> day), with the highest activity while the activity of catechol oxidase peaked later(on the 10<sup>th</sup> day). Besides, we teated the effects of Xiangwei mushroom and some common sorts of molds by solid culturing and found that Xiangwei mushroom had anti-resistant characteristics.

**Key words:** Xiangwei mushroom; cellulose; amylase; oxidase; activity