

猴头菇液体菌种培养基配方的研究

王 玉¹, 李 政², 班立桐¹, 郝利民³

(1. 天津农学院 农学系 天津 300384; 2. 天津工业大学 纺织学院 天津 300160; 3. 中国人民解放军总后勤部 军需装备研究所, 北京 100010)

摘 要: 采用单因素试验对猴头菇液体菌种发酵的碳源、氮源、复合氮源和其它因素进行了优化; 在此基础上, 进行 $L_{16}(4^5)$ 正交实验。结果表明: 确定优化后的碳源为麦芽糖, 氮源为蛋白胨, 复合氮源为蛋白胨和酵母膏, 复合维生素为麸皮水; 优化的发酵培养基(g/L)为: 葡萄糖 22, 蛋白胨 0.2, 酵母膏 0.5, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1。使用优化后的培养基发酵, 猴头菇的产量显著提高, 由 5.12 g/L 提高到 11.84 g/L。

关键词: 猴头菇; 培养基优化; 菌丝干重

中图分类号: S 646.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)09-0202-03

《本草纲目》记载, 猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 性平、味甘, 具有利五脏, 健脾益胃的功能^[1]。近年研究证明, 猴头菇还可用于治疗胃、十二指肠溃疡、神经衰弱、身体虚弱等疾病^[23], 猴头菇多糖具有降胆固醇、保肝、抗癌、抗微波、抗氧化、抗衰老、辐射等功能^[4]。可见, 猴头菇是一种较好的药食兼用食用菌^[5, 6]。

目前, 食用菌菌种的生产方式主要有 2 种, 1 种是传统的固体培养^[7], 另 1 种是液体培养。食用菌液体培养基本上和固体培养相比具有很多优越性, 生产周期短、菌龄一致、菌种生产成本低、接种简便、扩建容易, 日益受到重视, 因此该试验对猴头菇的液体菌种制备工艺进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种猴头菇: 天津农学院微生物实验室保藏的菌种。培养基: 斜面、种子培养基: 葡萄糖马铃薯培养基(PDA)。基础发酵培养基(g/L): 葡萄糖 20, 酵母膏 1, KH_2PO_4 3, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5。

1.2 试验方法

1.2.1 液体菌种的制备 取 5 块 0.5 cm² 新鲜斜面菌种接种于种子培养基(50 mL/250 mL 三角瓶)中, 在 25℃下 150 r/min 摇床培养 3 d, 取 10% (v/v) 种子液移入装 50 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 25℃下 150 r/min 培养 7 d。发酵培养基成分根据试验方案逐次改变。

1.2.2 最适培养基的正交实验设计

表 1		实验因素及编码					g/L
代号	A: 麦芽糖	B: 蛋白胨	C: 酵母膏	D: KH_2PO_4	E: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$		
1	18	0.2	0.2	2			1.0
2	20	0.3	0.3	3			1.5
3	22	0.4	0.4	4			2.0
4	24	0.5	0.5	5			2.5

1.2.3 菌丝干重的测量 采用细胞干重法: 取 50 mL 培养液, 3 000 r/min 离心 20 min, 收集菌丝球, 并用蒸馏水洗涤 3 次, 将菌丝体置于 80℃下烘至衡重, 称量。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对猴头菇生长的影响

碳源是菌体生长的碳素来源, 也是菌体维持生命活动所需的能量的主要来源, 是产生各种代谢产物的重要原料。由图 1 可知, 猴头菇能够利用甘露醇、糊精、乳糖、可溶性淀粉、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、D-木糖等多种碳源, 但当以麦芽糖为碳源时, 菌丝产量最高, 可达到 5.08 g/L, 而乳糖最不利于猴头菇的生长。

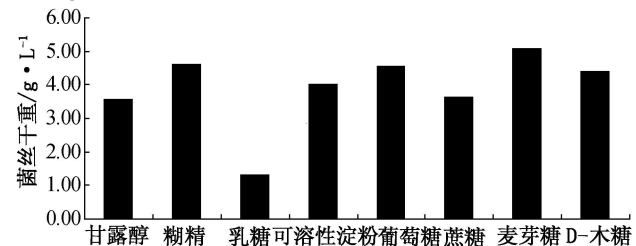


图 1 不同碳源对猴头菇菌丝干重的影响

2.2 不同氮源对猴头菇生长的影响

氮源是构成生物体的重要成分, 该试验以豆饼粉、玉米粉、麦麸、牛肉膏、酵母膏、蛋白胨、硝酸铵、硫酸铵、氯化铵和硝酸钾为氮源, 研究不同氮源对猴头菇生长的影响。由图 2 可知, 各种氮源对猴头菇生长影响差异不大, 但有机氮源的普遍优于无机氮源。在有机氮源中, 当蛋白胨为氮源时菌丝干重最大, 因此选择蛋白胨为氮源。

第一作者简介: 王玉(1980-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事生物发酵方面的教学与研究工作。

收稿日期: 2011-03-18

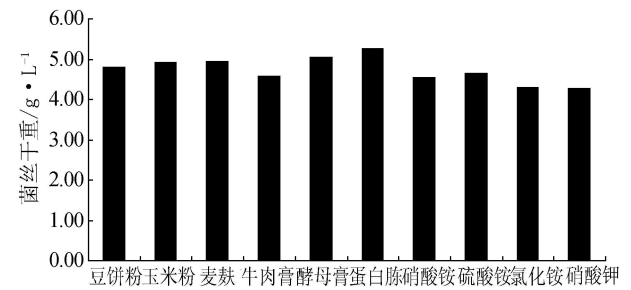


图2 不同氮源对猴头菇菌丝干重的影响

2.3 复合氮源对猴头菇生长的影响

虽然单一的蛋白胨做为氮源时,最利于猴头菇的生长,但单一原料为氮源时,常常会造成氨基酸种类的不足,因此在工业上会考虑多种氮源进行复配。该试验选择蛋白胨(0.7 g/L)与其它几种氮源(0.3 g/L)组成复合氮源,试验结果如图3所示。采用复合氮源后,猴头菇菌丝产量均明显提高,其中以蛋白胨与酵母膏组成的复合氮源效果最好,菌丝产量高,杂质含量少,且气味清香,便于收集菌体。

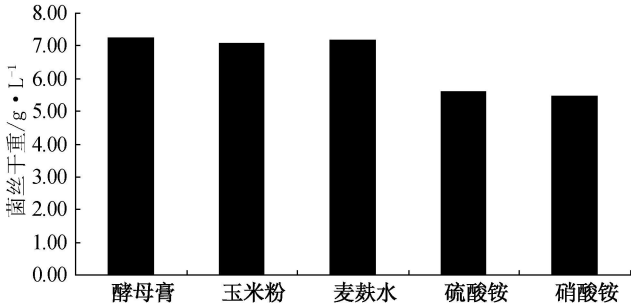


图3 复合氮源对猴头菇菌丝干重的影响

2.4 其它因素对猴头菇生长的影响

提高粘度,添加维生素对蕈菌一般都具有较明显的

影响,为了研究粘度和维生素对猴头菇生长的影响^[8],分别添加糊精(5 g/L)、VB₁(1 mg/L)、麦麸水(10 g/L)、糊精和 VB₁(5 g/L 和 1 mg/L)到培养基中。结果如图4所示,该试验条件下菌丝产量大幅提高,其中麦麸水对猴头菇的生长促进作用最大,这是由于麦麸中含有多种大量的维生素,维生素可以增加菌丝的悬浮性,有足够的生长点,使菌丝球保持在最佳大小,菌体生长最快。

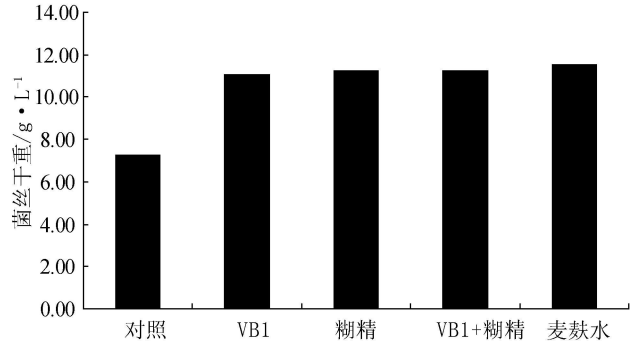


图4 微量元素对猴头菇菌丝干重的影响

2.5 培养基的正交实验

根据单因素试验的结果,进行 L₁₆(4⁵)正交设计,以确定最适发酵培养基。由表2的极差分析可知,最优水平组合为 A₃B₁C₄D₄E₁,即(g/L):麦芽糖22,蛋白胨0.2,酵母膏0.5,KH₂PO₄5,MgSO₄·7H₂O1。通过极差比较,各因素对猴头菇菌丝产量影响是:麦芽糖>蛋白胨=酵母膏>KH₂PO₄=MgSO₄·7H₂O。

对试验结果进行方差分析,由于 $\bar{S}_{\text{KH}_2\text{PO}_4} < \bar{S}_{\text{误差}}$, $\bar{S}_{\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} < \bar{S}_{\text{误差}}$ 。因此,将 KH₂PO₄ 和 MgSO₄·7H₂O 的偏差平方和合并入误差项中,记为误差*,以提高 F 检验的灵敏度。结果表明,在 0.05 的显著水平下,麦芽糖对猴头菇菌丝产量有显著影响,其余因素均不显著。

正交实验结果						g/L		
代号	A ₁ 麦芽糖	B ₁ 蛋白胨	C ₁ 酵母膏	D ₁ KH ₂ PO ₄	E ₁ MgSO ₄ ·7H ₂ O	1	2	3
1	1	1	1	1	1	4.15	5.15	3.55
2	1	2	2	2	2	4.10	5.05	3.45
3	1	3	3	3	3	3.85	4.60	4.0
4	1	4	4	4	4	4.45	5.35	3.65
5	2	1	2	3	4	4.90	6.15	4.75
6	2	2	1	4	3	4.35	4.85	3.55
7	2	3	4	1	2	4.25	5.40	3.85
8	2	4	3	2	1	5.15	5.85	4.25
9	3	1	3	4	2	5.15	6.75	4.80
10	3	2	4	3	1	5.50	6.55	4.95
11	3	3	1	2	4	4.45	5.25	4.0
12	3	4	2	1	3	4.25	6.40	5.05
13	4	1	4	2	3	4.85	5.80	4.25
14	4	2	3	1	4	4.0	4.80	3.20
15	4	3	2	4	1	4.65	5.80	4.0
16	4	4	1	3	2	4.30	5.30	3.80
\bar{x}_1	4.28	5.02	4.39	4.50	4.96			
\bar{x}_2	4.78	4.53	4.88	4.70	4.68			
\bar{x}_3	5.26	4.51	4.70	4.89	4.65			
\bar{x}_4	4.56	4.82	4.90	4.78	4.58			
R_j	0.98	0.51	0.51	0.38	0.38			

表 3 方差分析

因素	均方 \bar{S}	自由度	F 值	$F_{0.05}$	显著性
A: 麦芽糖	2.047847	3	3.394839	2.85	*
B: 蛋白胨	0.724236	3	1.20061		
C: 酵母膏	0.669792	3	1.02242		
D: KH_2PO_4	0.313542	3			
E: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.339514	3			
误差	0.655104	32			
误差 *	0.603224	38			

2.6 验证试验

通过以上的分析,得出最优水平组合在正交实验中并没有包括,为此,进行验证试验。结果表明,通过摇瓶发酵培养基的优化,使猴头菇的菌丝含量由 5.12 g/L 提高到 11.84 g/L。

3 结论

通过单因素试验,确定优化后的碳源为麦芽糖,氮源为蛋白胨,复合氮源为蛋白胨和酵母膏,复合维生素为麸皮水。并且进行了 $L_{16}(4^5)$ 正交实验设计,确定出最适发酵培养基为(g/L):葡萄糖 22,蛋白胨 0.2,酵母膏 0.5, KH_2PO_4 5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,麦麸水 10。在此条件下,猴头菇的菌丝含量显

著提高,由 5.12 g/L 提高到 11.84 g/L。

参考文献

[1] 符伟玉,李尚德,莫丽儿,等.猴头菇微量元素含量的分析[J].广东微量元素科学,2002,9(6):65-67.
[2] 秦芙蓉,李俊鹏,钟敏.猴头菇胃肠保健口服液对胃黏膜损伤的保护功能研究[J].现代食品与药品杂志,2007,17(6):22-24.
[3] 袁亚宏,岳田利,王云阳,等.猴头菇营养液提取工艺研究[J].中国食品学报,2005,5(2):64-69.
[4] 樊伟伟,黄惠华.猴头菇多糖研究进展[J].食品科学,2008,29(1):355-358.
[5] 王世强,屈艳.猴头菇复合保健酸奶的研制[J].中国酿造,2009(10):166-167.
[6] 林华娟,秦小明.猴头菇子实体碱性葡聚糖的分离纯化[J].食用菌学报,2006,13(2):61-64.
[7] 郭亮,杨杰,韩晓芳,等.不同栽培方式对猴头菇生长发育的影响[J].山西农业大学学报(自然科学版),2010,30(3):278-280.
[8] Hao L, Xing X, Li Z, et al. Optimization of Effect Factors for Mycelial Growth and Exopolysaccharide Production by *Schizophyllum commune* [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, 160(2): 621-631.

Optimization of Fermentation Medium for Improving Mycelium of *Hericiu*m *erinaceu*s (Bull.)Per.

WANG Yu¹, LI Zheng², BAN Li-tong¹, HAO Li-min³

(1. Department of Agronomy, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384; 2. School of Textiles, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160; 3. The Quartermaster Equipment Institute of the General Logistics Department of PLA, Beijing 10010)

Abstract: The carbon source, nitrogen source, mixed nitrogen source and other factors of fermentation medium for improving mycelium of *Hericiu*m *erinaceu*s (Bull.)Per. were determined by one-factor-at-a-time method. The results showed that, the optimized medium by $L_{16}(4^5)$ orthogonal design was (g/L): glucose 22, peptone 0.2, yeast extract 0.5, KH_2PO_4 5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1. Under the medium, the mycelium dry weight of *Hericiu*m *erinaceu*s (Bull.)Per. increased to 11.84 g/L (5.12 g/L in original medium).

Key words: *Hericiu*m *erinaceu*s (Bull.)Per.; optimization of fermentation medium; dry weight of mycelium

黑龙江出台政策加快蔬菜产业发展

东北网讯《黑龙江省人民政府关于加快蔬菜产业发展的意见》已于日前经省政府常务会议原则通过。《意见》提出,通过5年的大力推进,全省蔬菜种植面积发展到46.7万 hm^2 ,人均蔬菜消费量400kg以上,达到国家要求的人均蔬菜消费水平。目前,黑龙江省蔬菜种植面积(含食用菌)40多万 hm^2 ,其中设施蔬菜2.67万 hm^2 ;总产量1426万t,年外销售菜125万t,其中出口30万t;常年自给率为75%,淡季自给率仅为55%;人均蔬菜消费量280kg,为全国人均消费水平的72%。为缩短与全国消费差距,加大黑龙江省蔬菜产业的发展步伐,黑龙江省提出要通过5年时间的全力推进,到“十二五”期末2015年,全省蔬菜种植面积发展到46.7万 hm^2 ,其中设施蔬菜6.7万 hm^2 ;总产量达到2000万t,年外销蔬菜300万t,其中出口100万t;常年自给率达到85%,旺季自给有余;农民人均蔬菜收入有望达到500元以上。人均蔬菜消费量400kg以上,达到国家要求的人均蔬菜消费水平。

为加快蔬菜产业发展步伐,黑龙江省政府要求:从实事求是出发,根据我省气候和土壤特点,降低棚室成本造价,加快推进蔬菜重点生产基地建设。加强引导,通过市场化和企业化运作,多渠道融资,强力推进蔬菜产业发展。坚持“菜篮子”市长负责制,提供政策扶持,先在主要城郊发展再大范围推广,实现“旺吞淡吐”,提升市场价格的调整功能,为加快蔬菜产业发展和满足群众生活需要提供保证。