

# 猴头菇液体菌种培养基配方的研究

王 玉<sup>1</sup>, 李 政<sup>2</sup>, 班立桐<sup>1</sup>, 郝利民<sup>3</sup>

(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,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  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<sup>+</sup>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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2,3]</sup>, 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<sup>[4]</sup>。可见, 猴头菇是一种较好的药食兼用食用菌<sup>[5,6]</sup>。

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<sup>[7]</sup>, 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,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  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  $0.5 \text{ cm}^2$  新鲜斜面菌种接种于种子培养基 (50 mL/250 mL 三角瓶) 中, 在  $25^\circ\text{C}$  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,  $25^\circ\text{C}$  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: $\text{KH}_2\text{PO}_4$ | 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  $80^\circ\text{C}$  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。

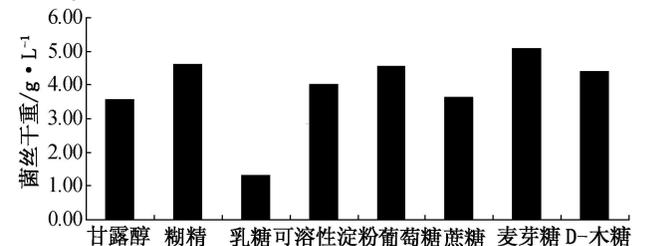


图 1 不同碳源对猴头菇菌丝干重的影响

### 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

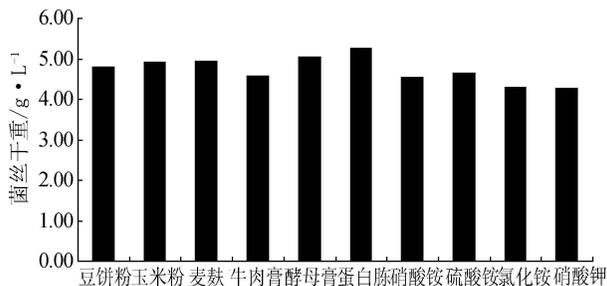


图2 不同氮源对猴头菇菌丝干重的影响

### 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。

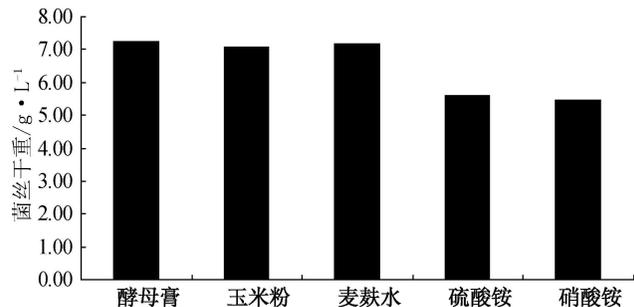


图3 复合氮源对猴头菇菌丝干重的影响

### 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<sup>8</sup>,分别添加糊精(5 g/L)、VB<sub>1</sub>(1 mg/L)、麦麸水(10 g/L)、糊精和 VB<sub>1</sub>(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。

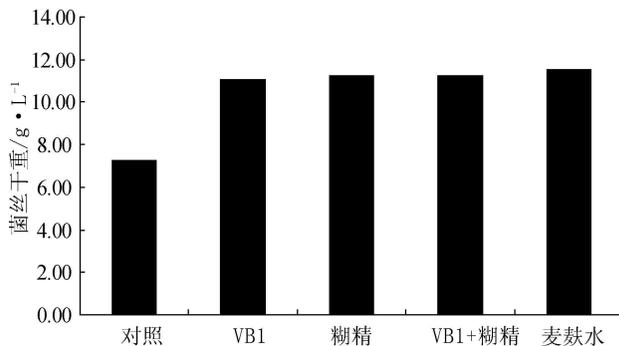


图4 微量元素对猴头菇菌丝干重的影响

### 2.5 培养基的正交实验

根据单因素试验的结果,进行 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>)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 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>4</sub>D<sub>4</sub>E<sub>1</sub>,即(g/L):麦芽糖22,蛋白胨0.2,酵母膏0.5,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>5,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O1。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>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>=MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O。

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 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 和 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 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。

表2 正交实验结果 g/L

| 代号             | A <sub>i</sub><br>麦芽糖 | B <sub>j</sub><br>蛋白胨 | C <sub>k</sub><br>酵母膏 | D <sub>l</sub><br>KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | E <sub>m</sub><br>MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> 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 <sub>j</sub> | 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: $\text{KH}_2\text{PO}_4$                  | 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,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  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 *Hericium erinaceus* (Bull.) Per.

WANG Yu<sup>1</sup>, LI Zheng<sup>2</sup>, BAN Li-tong<sup>1</sup>, HAO Li-min<sup>3</sup>

(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 *Hericium erinaceus* (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,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1. Under the medium, the mycelium dry weight of *Hericium erinaceus* (Bull.) Per. increased to 11.84 g/L (5.12 g/L in original medium).

**Key words:** *Hericium erinaceus* (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 $\text{hm}^2$ ,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 $\text{hm}^2$ ,其中设施蔬菜2.67万 $\text{hm}^2$ ;总产量1426万吨,年外销售菜125万吨,其中出口30万吨;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年时间的大力推进,到“十二五”期末2015年,全省蔬菜种植面积发展到46.7万 $\text{hm}^2$ ,其中设施蔬菜6.7万 $\text{hm}^2$ ;总产量达到2000万吨,年外销蔬菜300万吨,其中出口100万吨;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,降低温室成本造价,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。