

# 不同培养方式对灵芝中麦角固醇产量的影响研究

朱会霞

(衡水学院 生命科学系,河北 衡水 053000)

**摘 要:**以灵芝为试材,利用深层发酵法发酵生产麦角固醇,研究了连续发酵、分批发酵、补料分批发酵3种不同发酵方式对灵芝菌丝体、麦角固醇产量的影响。结果表明:相对于连续培养发酵,补料分批发酵灵芝菌丝体最大产量提高4.71%,麦角固醇产量提高17.35%,到达菌丝体和麦角固醇产量最大的时间缩短24 h。故补料分批发酵优于分批和连续发酵,有利于发酵灵芝真菌生产麦角固醇。

**关键词:**灵芝;麦角固醇;补料发酵

**中图分类号:**S 567.3<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)04-0127-03

麦角固醇为灵芝真菌菌丝体中重要的生理活性物质之一,含量较高,药理应用广泛,在紫外线照射下,麦角固醇可转化为维生素D<sub>2</sub>前体,是生产黄体酮、氢化可的松、维生素D<sub>2</sub>等的主要原料,市场需求较大<sup>[1-3]</sup>。

因人工栽培灵芝具有周期过长,费时、费力、不能控制等缺点,而采用深层发酵法具有省时、省力、易于控制发酵条件、经济环保的特点,因此采用深层发酵灵芝真菌生产麦角固醇的方法。深层发酵培养又有不同的发酵方式,分别为分批发酵、补料发酵、连续发酵,不同发酵方式具有各自的特点和优势<sup>[4]</sup>,该试验通过深层发酵培养研究了不同发酵方式对灵芝真菌菌丝体及麦角固醇的影响,以期找到最适宜的发酵方式。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试灵芝真菌(*Ganoderma lucidum*)由衡水学院发酵工程实验室提供;供试麦角固醇为标准品。

供试仪器:10 L发酵罐(中国丽上海高机生物有限公司)、高效液相色谱(Agilent1100 美国)、旋蒸仪(型号:EV311 莱伯泰科有限公司)、电子天平(上海田宫称重制造有限公司)、分光光度计 UV-250(日本岛津)。

培养基:斜面培养基含葡萄糖 20.0 g/L、马铃薯 200.0 g/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.5 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g/L、维生素 B<sub>1</sub> 0.01 g/L、琼脂 20.0 g/L;三角瓶种子培养基含葡萄糖 30.0 g/L、黄豆粉 10.0 g/L、酵母膏 1.0 g/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g/L、维生素 B<sub>1</sub> 0.01 g/L、pH 6.0,蒸馏水配制;发酵培养基的碳源为葡

萄糖 3.6%、氮源为蛋白胨 0.4%、pH 6.0、酵母膏 0.2%、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05%、维生素 B<sub>1</sub> 0.005%。

### 1.2 试验方法

1.2.1 培养方法 种子液的培养为,经 28℃活化 24 h 的灵芝真菌斜面,接种铲切 1 cm<sup>2</sup> 带培养基的菌丝体,无菌操作接种到经灭菌的三角瓶液体培养基中,装液量 150/500 mL,转速 100 r/min,培养温度 28℃,培养时间 72 h。

1.2.2 发酵培养 连续发酵(I):将培养好的液体灵芝真菌种子按 8%的比例接种于 10 L 发酵罐中,发酵罐装液量 7.5 L,培养温 28℃,转速 100 r/min,通气量 100 L/h,培养时间 120 h。分批发酵方法(II):经液体三角瓶培养的液体种子,按照 8%的接种量接种于装有 7.5 L 发酵液的发酵罐中,发酵过程中培养温度 28℃,初始转速 100 r/min,初始通气量 100 L/h,发酵过程中不断提高转速和通气量,转速提高量每天 50 r/min,通气量提高 50 L/d,培养时间 120 h。补料分批发酵培养(III):初始葡萄糖浓度 4%,发酵过程中流加 5%葡萄糖,维持发酵罐中葡萄糖的量为 2%,培养时间 120 h,初始装液量 5 L,培养温 28℃,转速 100 r/min,通气量 100 L/h。

### 1.3 项目测定

1.3.1 灵芝真菌菌丝体处理 取发酵液,离心处理,转速 4 000 r/min 离心 15 min,弃上清液,水洗菌丝体、再离心,至上清液不带发酵液颜色为止,收集菌丝体,恒温烘干至恒重,干燥器冷却至常温,称量,捣碎后,精确称量 1 g 样品置于 500 mL 三角瓶中,添加 20 mL 甲醇溶液,超临界萃取,待静止后取上清液,0.45 μm 滤膜过滤后,量取体积,4℃保藏待用<sup>[5]</sup>。

1.3.2 麦角固醇含量测定 色谱条件:色谱柱安捷伦 C<sub>18</sub> 色谱柱 200 mm×4.6 mm,5 μm,检测波长 282 nm,

**作者简介:**朱会霞(1977-),女,博士,副教授,现主要从事微生物发酵及食用菌等研究工作。E-mail:wztg8268@163.com.

**收稿日期:**2013-10-22

测定柱温 30℃,进样量 10  $\mu$ L,流动相甲醇(色谱级),流速 1.2 mL/min。标准品处理及标准方程建立:精确称取标准品 10 mg,于 50 mL 容量瓶,无水乙醇定容至刻度,摇匀备用。精确称取麦角固醇标准品 10 mg,置于 50 mL 容量瓶中,无水乙醇定容、摇匀。分别移取经处理后的麦角固醇标准品处理液,配置成 0.05、0.10、0.15、0.50、0.80 mg/mL,分别进行测定,以峰面积为纵坐标,以麦角固醇浓度为横坐标进行回归,得到线性回归方程为  $y=27\ 665x-270.33$  ( $R^2=0.9998$ ),该方程在 20~500  $\mu$ g 的范围内,线性关系良好。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同发酵方式处理的葡萄糖含量变化

由图 1 可知,3 种发酵培养方式下,葡萄糖含量的变化趋势不同,分批和连续发酵培养中,葡萄糖含量变化相似,0~24 h 时,葡萄糖含量降低速率较慢,这与菌丝体在此时间段内处于适应期有关,24~96 h 之间,分批和连续发酵培养的葡萄糖含量降低速率快,在此阶段菌丝体处于对数生长期,菌丝体大量、快速生长,耗糖较快,之后,葡萄糖含量降低速率处于稳定降低期,菌丝体处于稳定衰亡期。分批和连续发酵培养的降糖速率分别为 0.0468、0.0454  $\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ ,分批发酵降糖速率高于连续发酵。补料分批发酵过程中,初始糖含量 4 g/L,浓度较低,避免了糖浓度高而导致的菌丝体受抑制的情况,发酵至 36 h 时,葡萄糖浓度降至 2.0 g/L,0~36 h 的降糖速率为 0.0567  $\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ ,降糖速率较快,菌丝体耗糖较高,之后通过流加 5 g/L 的葡萄糖,基本维持发酵罐中葡萄糖浓度在 2.0 g/L 左右,变化不大。

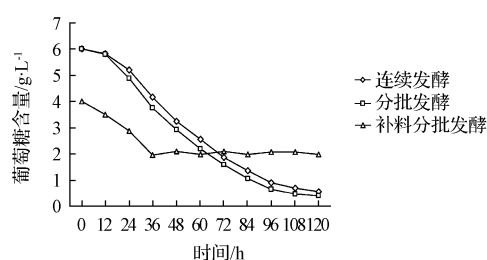


图 1 不同发酵方式下葡萄糖消耗的影响

Fig. 1 Effects of different fermentation methods on glucose

### 2.2 不同发酵方式对灵芝菌丝体的影响

由图 2 可知,连续发酵、分批培养、补料分批发酵培养方式下,灵芝真菌菌丝体生长趋势大致相似,基本上分为适应期、对数生长期、稳定期、衰亡期几个过程,3 种发酵方式到达菌丝体最大产量的时间不同,补料分批发酵 84 h、分批发酵 96 h、连续发酵 108 h;3 种发酵方式最大菌丝体产量不同,补料分批发酵、分批发酵、连续发酵,分别为 7.56、7.40、7.22 g/L;3 种发酵方式到达菌丝体最大产量时,菌丝体生成速率不同,补料分批发酵、分批发酵、连续发酵,分别为 0.0900、0.0771、0.0669

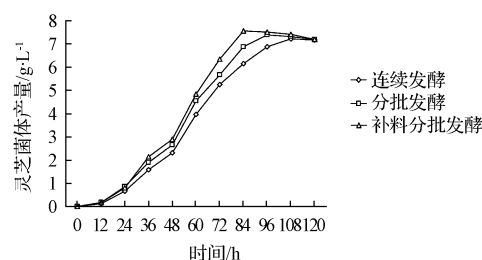


图 2 不同发酵方式对菌丝体的影响

Fig. 2 Effects of different fermentation methods on mycelium yield

$\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ 。可知补料发酵优于分批培养和连续培养。

### 2.3 不同发酵方式对灵芝中麦角固醇含量的影响

由图 3 可知,不同发酵方式下,麦角固醇的变化情况和灵芝真菌变化相似,0~24 h 产量为缓慢增长期,24~96 h 为急速增长期,之后为平稳期,不同之处为最大麦角固醇产量、到达最大产量时间和生成速率不同。

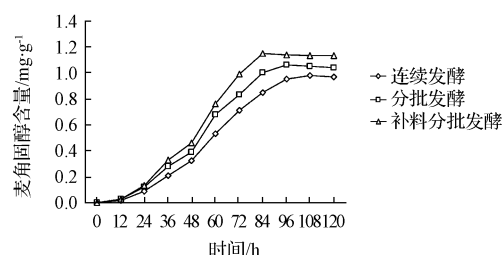


图 3 不同发酵方式对麦角固醇的影响

Fig. 3 Effects of different fermentation methods on the yield of ergosterol

由表 1 可知,补料分批发酵培养条件下,麦角固醇产量最大,到达最大产量的时间最短,麦角固醇的产率最高。相比之下,补料发酵优于其它 2 种发酵方式。

表 1 不同发酵方式对麦角固醇产量的影响

Table 1 Effects of different fermentation methods on the yield of ergosterol

发酵方式	麦角固醇产量 /mg · g <sup>-1</sup>	到达最大产量 时间/h	麦角固醇产率 /mg · g <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup>
连续发酵	0.98	108	0.0091
分批发酵	1.06	96	0.0110
补料分批发酵	1.15	84	0.0137

## 3 结论

该研究利用深层发酵法发酵生产麦角固醇,对比了连续发酵、分批发酵、补料分批发酵 3 种发酵方式对灵芝菌丝体、麦角固醇产量的影响。该试验结果表明,相对于连续发酵,补料分批发酵灵芝菌丝体最大产量提高 4.71%,麦角固醇产量提高 17.35%,到达菌丝体和麦角固醇产量最大的时间缩短 24 h,相对而言,补料分批发酵优于分批和连续发酵,有利于发酵灵芝真菌生产麦角固醇。

# 真姬菇工厂化生产配方筛选研究

王迎鑫<sup>1,2</sup>, 郭倩<sup>2,3</sup>, 刘朝贵<sup>1</sup>, 潘辉<sup>2,3</sup>, 连凯<sup>1,2</sup>, 章芳芳<sup>3</sup>

(1. 西南大学 园艺园林学院, 蔬菜学重点实验室, 重庆 400716; 2. 上海市农业科学院, 上海 201408;

3. 上海光明森源生物科技有限公司, 上海 201408)

**摘要:**以真姬菇为试材,以工厂化生产常用原材料为基础,设计12种栽培配方,研究真姬菇(蟹味菇和白玉菇)在其中的菌丝生长情况和栽培单产,筛选出适合真姬菇工厂化生产的栽培配方。结果表明:配方1即杂木屑25%、棉籽壳15%、玉米芯20%、米糠23%、麸皮12%、玉米粉5%为最适宜的工厂化生产配方。

**关键词:**真姬菇;工厂化生产;配方筛选

**中图分类号:**S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)04-0129-03

真姬菇(*Hypsizygus marmoreus*)属担子菌亚门伞菌目白蘑科玉蕈属,又名蟹味菇、玉蕈、假松茸。真姬菇秋季群生于阔叶树的朽木上,自然分布于日本、欧洲、北美、西伯利亚等地<sup>[1]</sup>。真姬菇含磷、镁、钙、钠、铜、硼、锌、

铁、锰、铝等多种矿物质,长期食用可以抗癌、防癌,有提高免疫力、预防衰老的功效<sup>[2]</sup>。真姬菇还是一种低热量、低脂肪的保健食品,其形态美观、肉质脆嫩,口感极佳,味比平菇鲜、肉比滑菇厚、质比香菇韧,还具有独特的蟹香味,在日本有“香在松口蘑,味存玉蕈”之称<sup>[3-4]</sup>。白玉菇和蟹味菇同属于真姬菇,二者是真姬菇的2个不同品种,真姬菇是学名,白玉菇和蟹味菇是商品名。

**第一作者简介:**王迎鑫(1989-),男,安徽六安人,硕士,研究方向为食用菌栽培。E-mail:907327658@qq.com.

**责任作者:**郭倩(1969-),男,研究员,现主要从事食用菌产业化开发等工作。E-mail:qianguo1969@sina.com.

**基金项目:**上海市科学技术委员会科研计划资助项目(113919N0200)。

**收稿日期:**2013-10-23

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌种蟹味菇、白玉菇,均由上海光明森源生物

## 参考文献

- [1] 洪震. 食用药用真菌技术及发酵[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1992:21-25.
- [2] 张萱. 灵芝活性成分的提取工艺及抗肿瘤成分的研究[D]. 天津:天津大学, 2006.
- [3] Yasuهارu Y, Masami Y, Kiyoshi S. Antitumor promoting effect of an active component of polyporus ergosterol and related compounds on rat

urinary bladder carcinogenesis in a short-term test with concanavalin A[J]. Biol Pharm Bull, 2000, 23(11):1298.

[4] 邓开野, 谭梅唇. 分批发酵和补料分批发酵结合生产透明质酸的研究[J]. 食品工业科技, 2011(1):166-168.

[5] 朱会霞, 孙金旭. 灵芝真菌摇瓶发酵条件优化研究[J]. 中国酿造, 2008, 198(21):30-33.

## Effect of Different Fermentation Methods on the Yield of Ergosterol for *Ganodorma lucidum*

ZHU Hui-xia

(Department of Biology, Hengshui College, Hengshui, Hebei 053000)

**Abstract:** Taking *Ganodorma lucidum* as material, the effects of different fermentation methods (continuous culture, batch fermentation, fed-batch fermentation) on the yield of ergosterol and mycelium were studied by deep submerged fermentation. The results showed that the maximum yield of mycelium increased 4.71% and the yield of ergosterol increased 17.35% by fed-batch fermentation compared with continuous culture, the time reaching to the maximum yield shorten 24 h. So the fed-batch fermentation was superior to continuous and batch fermentation.

**Key words:** *Ganodorma lucidum*; ergosterol; fed-batch fermentation