

# 溶氧控制条件对深层灵芝发酵生产灵芝酸产量的影响

孙金旭

(衡水学院 生命科学系,河北 衡水 053000)

**摘 要:**以灵芝真菌为试材,研究了 10 L 发酵罐发酵培养好氧型灵芝真菌条件下,溶氧控制条件对生产灵芝酸产量的影响。结果表明:溶氧对灵芝真菌发酵生产灵芝酸的影响较大,高通气量有利于缩短发酵时间,适宜的通气量为  $0.4 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,此条件下,菌体和灵芝酸的最大产量分别为  $8.27 \text{ g/L}$  和  $171.26 \text{ mg/L}$ ;相对初始发酵条件,菌体和灵芝酸最大产量分别提高 13.13% 和 13.28%;相对于低通气量,菌体和灵芝酸达到最大产量的时间缩短 12 h;表明  $0.4 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  的通气量较适宜于 10 L 发酵罐发酵生产灵芝酸。

**关键词:**灵芝;溶氧;发酵;灵芝酸

**中图分类号:**S 567.3<sup>+</sup>1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)05-0130-03

灵芝酸是近年来被发现的灵芝中的另一种重要的药理活性化合物,它具有镇静、解毒、保肝、止痛、毒杀肿瘤细胞等功能<sup>[1-3]</sup>。目前人工栽培灵芝具有周期长、费时、费力、不易控制等缺点,而采用深层发酵法具有省时、省力、易于控制发酵条件、经济环保等特点,因此生产上通常采用深层发酵灵芝真菌进行灵芝酸的生产。采用深层发酵法培养菌体可控因素较多,如溶氧、温度、pH、搅拌转速等,现采用深层发酵法培养灵芝真菌,以期研究生产灵芝酸的最佳溶氧条件,为灵芝酸的生产提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

灵芝真菌由衡水学院生命科学系实验室保存。培养基<sup>[4]</sup>:斜面培养基(g/L):马铃薯 200.0、葡萄糖 20.0、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3.0、维生素  $\text{B}_1$  0.01、琼脂 20.0、20%的土豆汁;三角瓶种子培养基(g/L):葡萄糖 30.0、黄豆粉 10.0、酵母膏 1.0、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0、维生素  $\text{B}_1$  0.01、pH 6.0,蒸馏水;发酵培养基(%):葡萄糖 6、蛋白胨 0.4、酵母膏 0.2、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05、维生素  $\text{B}_1$  0.005、pH 6.0。

### 1.2 试验方法

1.2.1 种子液的培养 经  $28^\circ\text{C}$  活化 24 h 的灵芝真菌斜面,接种铲切  $1 \text{ cm}^2$  带培养基的菌体,无菌操作接种到经灭菌的三角瓶液体培养基中,装液量为 150/500mL,转速  $100 \text{ r/min}$ ,培养温度  $28^\circ\text{C}$ ,培养时间 72 h<sup>[4]</sup>。

1.2.2 发酵培养 将培养好的灵芝真菌种子液以 10% 的接种量接种在已经灭菌处理装有培养基的 10 L 发酵罐中,装液量 70%,培养温度  $28^\circ\text{C}$ ,转速  $150 \text{ r/min}$ ,通气量为  $0.2 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,培养时间 132 h。

1.2.3 灵芝酸的提取纯化 取适量灵芝真菌发酵液,过滤去菌体,取滤液,真空薄膜旋蒸处理,真空浓缩至干,得到提取物浸膏,该浸膏用氯仿溶解,反复用水萃取 5 次,取氯仿层,过滤,取滤液,用饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液萃取 3 次,取  $\text{NaHCO}_3$  萃取层,3 次用盐酸调节至溶液 pH 为 2~3 之间,取沉淀物用氯仿溶解,真空薄膜旋蒸处理,浓缩至干,得到粗灵芝酸<sup>[5]</sup>。

### 1.3 项目测定

灵芝酸含量的测定采用 HPLC 法<sup>[5]</sup>,测定条件为色谱柱 Agilent Hpersil( $5 \mu\text{m} \times 4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ );流动相:2% 乙酸:2% 乙腈(体积比为 7:3);流速  $0.3 \text{ mL/min}$ ;进样量  $10 \mu\text{L}$  外标法定量;柱温  $30^\circ\text{C}$ ;检测波长  $282 \text{ nm}$ 。以峰面积为纵坐标,以灵芝酸浓度为横坐标进行回归,线性回归方程  $Y=625.71x+82.857(R^2=0.9982)$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 10 L 发酵罐深层发酵中灵芝真菌生长、代谢、灵芝酸的变化

由图 1 可知,灵芝真菌发酵中,菌体发酵生长过程分为 4 个时期,0~24 h 为适应期,24~108 h 为对数生长期,108 h 后为稳定期和衰亡期,灵芝酸为菌体发酵代谢产物,其变化过程和菌体变化情况相似,但其达到最大产量时间较菌体最大产量时间延后 12 h,灵芝真菌和灵芝酸的最大产量分别为  $7.31 \text{ g/L}$  和  $151.19 \text{ mg/L}$ ,菌体和灵芝酸达到最大产量的时间分别为 108 h 和 120 h。发酵过程中,耗糖变化规律与菌体变化相反,这充分反映了菌体耗糖生长发酵规律。

### 2.2 10 L 发酵罐深层发酵生产灵芝酸溶氧的变化规律

由图 2 可知,深层发酵生产灵芝酸相对溶氧变化规律和菌体生长过程相反,前期发酵过程中,灵芝真菌处于适应期,菌体生长缓慢,耗氧量较小,相对溶氧变化较小,中期发酵阶段,菌体生长处于对数生长期,此时期菌体快速大量繁殖,菌数大量增加,需氧量增加,耗氧较

**作者简介:**孙金旭(1975-),男,河北景县人,博士,副教授,现主要从事发酵工程与食品等研究工作。E-mail:hssundaban@163.com.  
**收稿日期:**2013-10-22

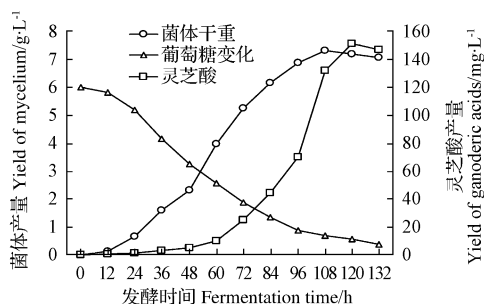


图1 灵芝真菌发酵中各参数变化曲线

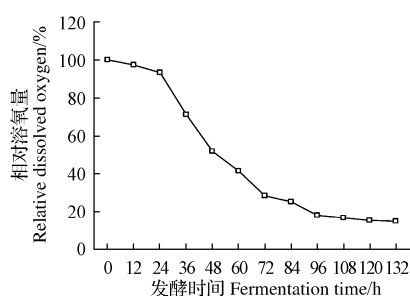
Fig. 1 The parameter changing process curve for *Ganoderma* fermentation

图2 灵芝真菌发酵中相对溶氧变化曲线

Fig. 2 The dissolved oxygen concentration changing process curve in the course of *Ganoderma* fermentation

多,相对溶氧量快速降低,发酵后期,菌体生长处于稳定期,生长和代谢处于相对稳定状态,耗氧也处于相对稳定状态,相对溶氧变化较小。

### 2.3 不同通气量对 10 L 发酵罐灵芝真菌发酵菌体及灵芝酸产量的影响

由图 3 可知,随通气量的加大,菌体产量和灵芝酸产量不断增加,当通气量为  $0.4 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  时,菌体和灵芝酸含量最大,最大产量分别为  $8.27 \text{ g/L}$  和  $171.27 \text{ mg/L}$ ,高通气量条件下,菌体及灵芝酸产量反而降低,因此,适宜的通气量为  $0.4 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

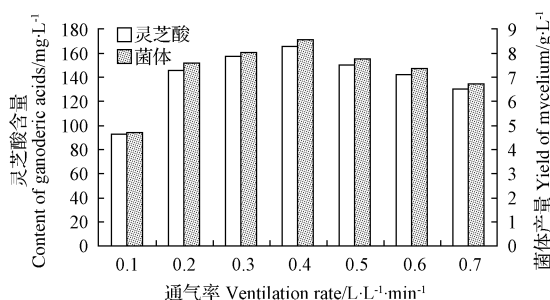


图3 不同通气量对灵芝真菌菌体和灵芝酸产量的影响

Fig. 3 Effect of different the alveolar ventilation on the yield of mycelium and ganoderic acids

### 2.4 通气量对发酵过程中菌体产量的影响

选取与最适通气量相近的上下各 1 个通气量,即  $0.3, 0.4, 0.5 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ , 分别进行发酵罐发酵培养。由图 4 可知,不同通气量条件下,  $0 \sim 132 \text{ h}$  的发酵过程中,灵芝真菌菌体生长情况大体相似,都为适应

期、对数生长期、稳定期和衰亡期,不同之处在于到达菌体最大产量的时间不同,菌体产量不同,到达最大菌体产量时间和最大菌体产量分别为  $108 \text{ h}, 7.86 \text{ g/L}$  ( $0.3 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ );  $96 \text{ h}, 8.27 \text{ g/L}$  ( $0.4 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ );  $84 \text{ h}, 7.51 \text{ g/L}$  ( $0.5 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )。即通气量越大,到达菌体最大产量的时间越短。

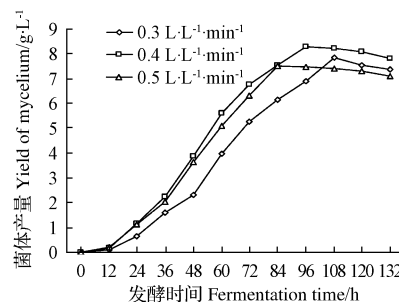


图4 不同通气量对灵芝真菌菌体产量的影响

Fig. 4 The mycelium changing process curve for *Ganoderma* in the course of fermentation under different the alveolar ventilation

### 2.5 通气量对发酵过程中灵芝酸含量的影响

选取与最适通气量相近的上下各 1 个通气量,即  $0.3, 0.4, 0.5 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ , 分别进行发酵罐发酵培养。由图 5 可知,不同通气量条件下,  $0 \sim 132 \text{ h}$  的发酵过程中,灵芝酸的变化和菌体生长大体相似,且不同通气量条件下也大体相似,不同之处在于达到灵芝酸最大产量的时间不同,达最大灵芝酸产量时间和最大菌体产量分别为  $120 \text{ h}, 160.28 \text{ mg/L}$  ( $0.3 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ );  $108 \text{ h}, 171.26 \text{ mg/L}$  ( $0.4 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ );  $96 \text{ h}, 158.1 \text{ mg/L}$  ( $0.5 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ),与菌体变化相似,通气量越大,到达菌体最大产量的时间越短。

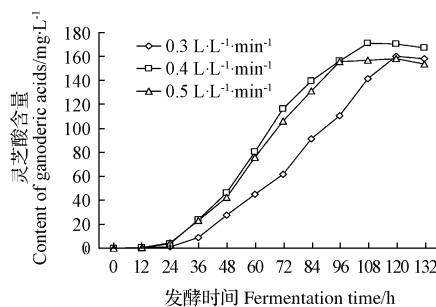


图5 不同通气量条件对灵芝真菌发酵灵芝酸产量的影响

Fig. 5 The ganoderic acids changing process curve for *Ganoderma* in the course of fermentation under different the alveolar ventilation

## 3 结论

溶氧是好氧性微生物生长发酵的重要工艺参数,氧对菌体生长和积累代谢产物都有较大影响,决定着代谢产物产量的高低<sup>[6-9]</sup>,溶氧过低,不利于菌体生长和代谢产物的积累,溶氧过高,只利于菌体大量生长,代谢产物的积累受到抑制,因此,对好氧性微生物发酵,溶氧参数的控制尤为重要,通过溶氧对好氧型灵芝真菌深层发酵

# 玉米芯栽培杏鲍菇品种比较试验

李富利, 李富花

(乌兰察布职业学院, 内蒙古 乌兰察布 012000)

**摘要:**以“杏美1号”、“杏丰12”、“杏鲍菇3号”、“杏鲍菇6号”、“农大杏鲍菇”、“武杏”为试材,以当地主栽品种“杏鲍菇2号”为对照,以菌丝生长速度、菌丝生长势、污染率、子实体产量、生物转化率、子实体形态特征和子实体品质为指标,对7个杏鲍菇菌株进行了玉米芯栽培品种比较试验,旨在筛选出适合玉米芯栽培的杏鲍菇优良菌株。结果表明:“农大杏鲍菇”和“杏美1号”表现较好,菌丝生长浓密粗壮,菌丝长速最快,满袋时间最短,污染率低;菌株鲜菇产量和生物转化率最高,子实体生长表现最好,菌盖直径和菌肉厚度适中,菌柄长,菌柄直径大,子实体容重和单菇鲜重大;且二者优质菇比例最高;表明“农大杏鲍菇”和“杏美1号”为乌兰察布地区玉米芯栽培杏鲍菇的优良菌株,推荐在生产中示范推广。

**关键词:**杏鲍菇;玉米芯栽培;品比试验

**中图分类号:**S 646 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)05-0132-03

目前,我国杏鲍菇栽培多数采用棉籽壳作为培养料,棉籽壳养分较高,物理性状好,但是棉籽壳来源有

**第一作者简介:**李富利(1963-),男,本科,讲师,现主要从事食用菌和设施蔬菜栽培等教学与科研工作。E-mail: Lf19631225@126.com.

**收稿日期:**2013-11-13

生产灵芝酸的影响研究发现,溶氧对灵芝真菌发酵生产灵芝酸的影响较大,0.5 L·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>通气量有利于缩短发酵时间,当通气量为0.4 L·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>时,菌体和灵芝酸的最大产量分别为8.27 g/L和171.26 mg/L,最高;相对初始发酵条件,菌体和灵芝酸最高产量分别提高了13.13%和13.28%,到达菌体和灵芝酸最大产量的时间相对缩短12 h,表明0.4 L·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>的通气量较适宜于10 L发酵罐发酵生产灵芝酸。

## 参考文献

- [1] 刘媛,丁重阳,章克昌,等. 10种中药对灵芝液体发酵的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(2): 123-126.
- [2] 王玉红,丁重阳,章克昌. 苦荞对灵芝发酵生产灵芝酸的影响[J]. 食品与发酵工业, 2004, 29(9): 95-98.

限,价格持续上涨,致使杏鲍菇生产成本增高,严重制约了杏鲍菇生产的发展。近年来,乌兰察布地区菇农开始利用当地取材方便、来源广泛、价格低廉的玉米芯为栽培料,以替代棉籽壳进行杏鲍菇栽培。生产调查发现,不少菇农因品种选用不当,造成子实体产量低、品质差,甚至不出菇的现象。为解决这一问题,现将从不同地区

- [3] 鄢嫻,聂少平,陈奕. 灵芝氯仿提取物的 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(5): 589-593.
- [4] 孙金旭. 灵芝紫外诱变育种研究[J]. 中国酿造, 2009(8): 63-66.
- [5] 袁媛. 高纯灵芝酸的分离纯化工艺研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.
- [6] Xu H, Dou W F, Xu H Y, et al. A two-stage oxygen supply strategy for enhanced L-arginine production by *Corynebacterium crenatum* based on metabolic flux analysis[J]. Biochem Eng J, 2009, 43: 41-51.
- [7] 毛勇,毛健,李华钟,等. 溶氧控制条件对双孢菇发酵产胞外多糖的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 155-158.
- [8] 万萍,李会,徐浩,等. 溶氧调控策略对 *Alcaligenes* sp. NX-3 产威兰胶发酵过程的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 7-11.
- [9] 彭志坚,房峻,李江华,等. 发酵法生产 L-异亮氨酸的溶氧控制策略[J]. 工业微生物, 2009, 39(3): 11-16.

## Effect of Dissolved Oxygen Controlling Conditions on Production of Ganoderic Acids by *Ganoderma*

SUN Jin-xu

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

**Abstract:** Taking *Ganoderma* as material, the effects of 10 L fermentor culture under aerobic conditions *Ganoderma* fungus dissolved oxygen(DO) conditions on the production of ganoderic acid were studied. The results showed that the yield for ganoderic acids was significantly effected by DO and the fermentation time was shorten by 0.4 L·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> alveolar ventilation. The maximum yield of mycelium and ganoderic acids was 8.27 g/L and 171.26 mg/L under the conditions of 0.4 L·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> alveolar ventilation, the maximum yield of mycelium and ganoderic acids increased 13.13% and 13.28% respectively, the fermentation time shorten 12 h, this showed that it was effectively to increase the yield of mycelium and ganoderic acids under the conditions of 0.4 L·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> alveolar ventilation.

**Key words:** *Ganoderma*; dissolved oxygen(DO); fermentation; ganoderic acids