

DOI:10.11937/bfyy.201501038

壳寡糖对真姬菇菌丝体生长的影响

毕旺华, 李建杰, 周鲁宁

(国家海洋药物工程技术研究中心, 山东 青岛 266000)

摘 要:以真姬菇菌丝为试材,在培养基中加入不同浓度的壳寡糖,测定真姬菇固体平板培养菌丝体的生长速度及液体发酵菌丝体干重,研究不同浓度的壳寡糖对真姬菇菌丝体生长的影响。结果表明:添加量为 0.001 mg/mL 的壳寡糖对真姬菇菌丝体生长速度、菌丝体生物量、纤维素酶活性具有明显的促进作用,而添加量为 0.100 mg/mL 的壳寡糖对真姬菇菌丝体生长有一定的抑制作用。

关键词:壳寡糖;真姬菇;菌丝体;纤维素酶活

中图分类号:S 646.9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)01-0142-03

壳寡糖也称几丁寡糖,是氨基葡萄糖通过 β -1,4-糖苷键连接成的相对分子量低于 10 000 的低聚糖,低粘度

第一作者简介:毕旺华(1986-),男,硕士,助理工程师,现主要从事食用药用菌液体发酵等研究工作。E-mail:sw2005ben3@163.com.

责任作者:周鲁宁(1967-),男,本科,高级工程师,现主要从事海洋寡糖工程化等研究工作。E-mail:huahai@ouc.edu.cn.

收稿日期:2014-09-09

和良好的水溶性使壳寡糖比壳聚糖展现出更独特的生理活性和功能性质^[1-3],此外壳寡糖还有抗癌、降血糖、清除自由基、消除脂肪肝、降低胆固醇、增强人体免疫力等攻效,功能应用领域较为广泛^[4-8]。真姬菇又名玉蕈、斑玉蕈,因它具有独特的蟹鲜味,故有人称它为蟹味菇、海鲜菇。真姬菇味比平菇鲜,肉比滑菇厚,质比香菇韧,口感极佳,还具有独特的蟹香味,在日本有“香在松茸、味

参考文献

- [1] 王雅婷,陈国刚,刘娅,等.籽瓜瓜瓢中提取果胶的工艺研究[J].食品工业,2013,34(3):30-32.
- [2] 宋坤,赵保堂,殷振雄,等.籽瓜多糖的提取分离及单糖组成的 GC-MS 分析[J].食品与发酵工业,2013(11):238-245.
- [3] 赵多勇,李应彪,翟金兰,等.籽瓜系列产品的开发现状与存在问题[J].北方园艺,2008(4):100-102.
- [4] 吴霞明,赵金莲.籽瓜中微量元素与维生素含量的分析[J].中国酿造,2007(11):65-67.
- [5] 郭华,气相色谱-质谱法分析籽瓜中的化学成分[J].食品科学,2009(11):173-175.

- [6] 秦枫,刘靖,陈玉勇,等.三七总皂苷含量测定方法及超声提取工艺研究[J].安徽农业科学,2008,36(8):3062-3063,3231.
- [7] 林硕,岳琳娜,高学玲,等.果胶酶提取绞股蓝皂苷的工艺研究[J].中国食物与营养,2009(4):21-24.
- [8] 张超,罗述博,赵晓燕,等.水酶法提取籽瓜种子蛋白质工艺的优化[J].食品工业,2012,33(12):21-24.
- [9] 罗述博,张超,赵晓燕,等.水酶法提取籽瓜种子油脂工艺的优化[J].中国粮油学报,2012(12):73-76.
- [10] 胡瑞君,车振明,徐丹,等.复合酶法提取麦冬总皂苷工艺条件的研究[J].食品研究与开发,2007(11):71-75.

The Seed Melon Optimum Extraction Technology of Total Saponins

LI Qian-nan¹, TIAN Li-ping¹, ZHANG Yi-hui¹, XUE Lin²

(1. Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. Shihezi Vegetable Research Institute, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: Taking seed melon as material, the ethyl alcohol, transonic extraction, transonic cellulose, pectinase transonic extraction on total saponins were studied by orthogonal test of 4 factors and 3 levels, and with the index of total saponins and extraction rate, the optimum technology was studied. The results showed that cellulase dosage of 10 U/g, pH 4.5, reaction temperature was 45°C, enzyme reaction time was 120 minutes were the optimal technological condition. Seed melon extract yield was 61.32%; seed melon of total saponin content was 5.03%. This experimental operation was simple, stable process conditions.

Keywords: seed melon; saponin; extraction

在玉蕈”之说。该试验旨在探讨不同浓度的壳寡糖对真姬菇菌丝体生长及液体菌种生长的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试真姬菇由章丘市食用菌研究所提供;壳寡糖:国家海洋药物工程技术研究中心制备提供;基础培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL;平板培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,蛋白胨 2 g,磷酸二氢钾 2 g,硫酸镁 1 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL;液体菌种活化培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,蛋白胨 2 g,磷酸二氢钾 2 g,硫酸镁 1 g,水 1 000 mL;液体培养基:马铃薯(去皮)50 g,葡萄糖 10 g,磷酸氢二钾 0.05 g,磷酸二氢钾 0.3 g,硫酸镁 0.3 g,玉米粉 15 g,水 1 000 mL;壳寡糖浓度(mg/mL):将壳寡糖浓度按照 0.100、0.010、0.001 的量加入到培养基中,同时设空白对照。

1.2 试验方法

1.2.1 真姬菇固体菌丝体生长 将真姬菇菌种于 PDA 基础培养基 25℃活化 3~5 d,至菌丝体长满平板,取 5 mm×5 mm 大小的真姬菇菌块接种于菌丝体生长的平板培养基中,每组 5 个重复,25℃培养直至菌丝体生长到整个平板的 2/3 为止,每天记录 1 次,观察菌丝体生长情况。

1.2.2 真姬菇液体培养 将真姬菇菌种于液体活化培养基,在 25℃恒温培养箱中 120 r/min 活化 5 d 后,按照 5%的比例添加到试验组液体培养基中培养 7 d,测定发酵液中菌丝体生物量及发酵液中纤维素酶活力。

1.3 项目测定

1.3.1 标准曲线的制作 准确量取 1 mg/mL 葡萄糖标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 加入到 25 mL 试管中,并加蒸馏水至 1 mL,再加入 3,5-二硝基水杨酸显色液 3 mL,摇匀后在沸水浴中加热显色 10 min,取出冷却至室温,再加蒸馏水至 25 mL,摇匀后在 550 nm 波长下测定其吸光值,以葡萄糖浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线^[7-8],见图 1。

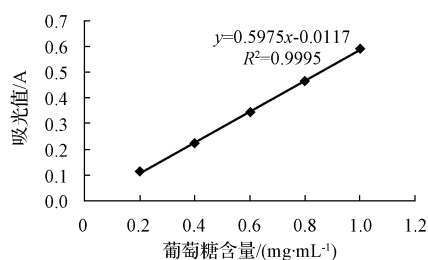


图 1 纤维素酶标准曲线

Fig. 1 Cellulose enzyme standard curve

1.3.2 发酵液中纤维素酶活力的测定 将发酵液在 3 000 r/min 下离心 1 min 后,取离心后的上清液 1 mL,并用蒸馏水定容到 100 mL 容量瓶中,取定容后的发酵液 1 mL 加入到试管中,对照取定容后的发酵液 1 mL 后沸水浴加热 5 min,然后均分别加入 0.5%羟甲基纤维素钠水溶液(CMC)3 mL,摇匀后在 50℃水浴锅中加热 30 min,取出后立即于沸水浴中加热 10 min 使酶失活,冷却后加入 3,5-二硝基水杨酸显色液 3 mL,摇匀后在沸水浴中加热显色 10 min,取出冷却至室温,再加蒸馏水至 25 mL,摇匀后在 550 nm 波长下测定其吸光值,每个样品 3 个平行。纤维素酶活力单位=(纤维素酶吸光值所对应的标准曲线的葡萄糖含量×稀释倍数)/(糖化所用时间×反应酶液体积)。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的壳寡糖对真姬菇菌丝体生长的影响

由表 1 可以看出,不同浓度的壳寡糖对真姬菇菌丝体的生长影响各不相同;壳寡糖浓度为 0.001 mg/mL 时菌丝体生长最快为 0.46 cm/d,菌丝茂盛,与空白对照组差异极显著,而添加量为 0.010 mg/mL 的试验组与空白对照组及 0.001 mg/mL 的试验组在 5%水平上对真姬菇菌丝体的生长差异不显著,添加量为 0.100 mg/mL 的试验组对菌丝体的生长有一定的抑制作用。

表 1 不同浓度的壳寡糖对真姬菇菌丝体生长速度的影响

Table 1 Effect of different concentrations of alginate oligosaccharides on the growth of *Pleurotus*

试验组别 Test groups/(mg·mL ⁻¹)	生长速度 Growth rate/(cm·d ⁻¹)	显著性 5% Significance	显著性 1% Significance
0.001	0.46	a	A
0.010	0.39	ab	AB
空白对照	0.32	b	BC
0.100	0.23	c	C

2.2 不同浓度的壳寡糖对真姬菇液体发酵菌丝体生物量的影响

由表 2 可知,不同浓度的壳寡糖对真姬菇液体发酵菌丝体生物量的影响差异显著,其中添加量为 0.001 mg/mL 的试验组其菌丝体生物量与其它试验组

表 2 不同浓度的壳寡糖对真姬菇液体发酵菌丝体生物量的影响

Table 2 Effect of different concentrations of alginate oligosaccharides on liquid fermentation mycelium biomass

试验组别 Test groups /(mg·mL ⁻¹)	菌丝体干重 Dry weight of mycelium (g·(100mL) ⁻¹)	显著性 5% Significance	显著性 1% Significance
0.001	0.62	a	A
0.010	0.57	b	B
空白对照	0.51	c	C
0.100	0.35	d	D

相比差异极显著,菌丝体干重为 0.62 g/100mL,添加量为 0.100 mg/mL 的试验组与对照组相比对菌丝体生长的有一定的抑制作用,菌丝体干重仅为 0.35 g/100mL。

2.3 不同浓度的壳寡糖对真姬菇液体发酵纤维素酶活的影响

由表 3 可知,试验组与对照组之间存在极显著性差异,添加量为 0.001 mg/mL 的试验组壳寡糖对真姬菇产纤维素酶的促进作用最明显,纤维素酶活是 22.98 U/mL,添加量为 0.100 mg/mL 的试验组相比空白对照组,其对真姬菇纤维素酶的分泌有一定的抑制作用,纤维素酶活只有 5.96 U/mL,相对于空白对照组下降 56.08%;从上述试验可知,高浓度的壳寡糖对真姬菇产纤维素酶有一定的抑制作用,随着浓度的降低其对纤维素酶分泌的促进作用越明显。

表 3 不同浓度的壳寡糖对真姬菇液体发酵纤维素酶活的影响

Table 3 Effect of different concentrations of alginate oligosaccharides on liquid fermentation of cellulase activity

试验组别 Test groups /(mg · mL ⁻¹)	纤维素酶活 Cellulase activity /(U · mL ⁻¹)	显著性 5% Significance	显著性 1% Significance
0.001	22.98	a	A
0.010	15.13	b	B
空白对照	13.57	b	B
0.100	5.96	c	C

3 结论与讨论

从真姬菇的固体平板培养及液体发酵试验结果可知,壳寡糖对真姬菇菌丝体的生长、液体发酵菌丝体生物量及发酵液中纤维素酶活在一定的浓度下具有促进作用,如平板培养浓度为 0.001 mg/mL 壳寡糖试验组真姬菇菌丝体生长速度最快,而 0.010 mg/mL 的试验组菌丝体生长速度与对照组之间差异不显著;在液体培养中添

加 0.001 mg/mL 试验组液体发酵培养菌丝体生长最快,菌丝体生物量较其它试验组差异极显著为 0.62 g/100mL,而 0.100 mg/mL 的试验组对液体发酵菌丝体的生长有一定的抑制作用,菌丝体干重仅为 0.35 g/100mL;通过对发酵液中纤维素酶活性的测定可知,添加 0.001 mg/mL 的壳寡糖可明显提高真姬菇产纤维素酶的活性;通过试验可知,添加 0.001 g/mL 的壳寡糖对真姬菇生长的各个性能指标均有明显的促进作用,高浓度的壳寡糖对真姬菇的生长却有一定的抑制作用,可能是由于高浓度的壳寡糖带电性强,作用于细胞表面导致其结构发生变化,具体的原因有待进一步的研究。

通过该试验的研究进一步印证了壳寡糖作为植物生长调节剂,在植物生长方面的促进作用。该试验结果证明壳寡糖作为从海洋生物中提取的降解产物,对食用菌具有生长调节作用,该试验研究可为食用菌栽培、提高生产效益方面提供更充分的科学依据。

参考文献

- [1] 刘幸海,李正名,王宝雷.具有农业生物活性壳寡糖的研究进展[J].农药学学报,2006,8(1):1-7.
- [2] 郑磊,崔慧斐.壳聚糖抗微生物活性及其作用机制的研究近况[J].食品与药品,2008,10(6):58-62.
- [3] 苏广宇,刘四新,李从发.甲壳素,壳聚糖的研究与应用概况[J].广东农业科学,2008,43(2):107-111.
- [4] 官杰,罗晓庆,王琪,等.壳寡糖抑制肿瘤作用的实验研究[J].中国免疫学杂志,2007,23(5):421-425.
- [5] 海明,华晓阳,何登全.壳寡糖抗肿瘤作用及免疫调节机理的研究[J].中华医学研究杂志,2005,5(8):729-731.
- [6] 刘冰,刘万顺,韩宝芹,等.壳寡糖及其衍生物对实验性糖尿病大鼠调节血脂和抗氧化作用[J].山东大学学报(理学版),2006,41(4):158-163.
- [7] 乔莹,白雪芳,杜显光.壳寡糖医药保健功能的研究进展[J].中国生化药物杂志,2008,29(3):210-213.
- [8] 胡迎青,陆雪华,汪晓莺.壳寡糖降血脂作用及与 RAP 的表达相关性研究[J].中国临床医学,2007,14(6):749-752.

Effect of the Chito-oligosaccharid to the Growth of Marmoreus

BI Wang-hua, LI Jian-jie, ZHOU Lu-ning

(National Engineering Research Center for Marine Medicine, Qingdao, Shandong 266000)

Abstract: Taking marmoreus as materials, the influence of different concentration of chito-oligosaccharid to the growth of marmoreus by adding different concentrations of chito-oligosaccharid into the culture medium, the growth rate of mycelium which growing on the solid plate culture of marmoreus and dry weight of fermentation mycelium were measured. The results showed that when the concentration of the chito-oligosaccharid was 0.001 mg/mL, the growth rate of mycelium, the mycelium biomass and the cellulase activity was faster, but when the concentration of the chito-oligosaccharid was 0.100 mg/mL, marmoreus mycelium was inhibited from growing.

Keywords: chito-oligosaccharide; marmoreus; mycelium; cellulase activity