

一种以黄浆水为原料制备白灵菇液体菌种的方法

王 谦¹, 郭 苗¹, 刘 敏¹, 刘 忠 堂²

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 魏县农牧局, 河北 邯郸 056800)

摘 要:以黄浆水为试材, 采用正交实验法和单因素试验法, 研究液体培养基和培养条件对制备白灵菇液体菌种的影响, 并进行了液体菌种的应用效果比较。结果表明: 白灵菇液体菌种明显优于固体菌种, 以黄浆水为原料的白灵菇液体菌种的最佳培养基配方为葡萄糖 3%, 豆饼粉 0.6%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, KH_2PO_4 0.1%, 维生素 B_1 5 mg/L, 黄浆水补足 100%; 最佳工艺条件为初始 pH 6.5, 接种量 10%, 摇床转速 180 r/min。

关键词:白灵菇; 黄浆水; 液体菌种

中图分类号:S 646.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0115-03

白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)属担子菌亚门层菌纲散菌目侧耳科侧耳属, 又名阿魏侧耳, 是南欧、北非、中亚内陆地区春末夏初发生的一种极为优良的大型肉质伞菌^[1-2]。其菇体肥大, 颜色洁白, 菌肉细腻, 质地脆嫩, 味美可口, 营养丰富, 被誉为侧耳属中最具开发潜力的食用菌, 是我国独有的一个珍稀食用菌品种。深层发酵培养白灵菇菌丝体, 生产周期短, 材料易得^[3]。豆腐黄浆水是在豆腐生产的过程中, 用凝固剂即卤水或石膏使豆浆中的蛋白凝结成固体豆腐, 豆腐与水分开, 分离出来的压滤废水^[4]。黄浆水中含有大量的蛋白质、糖类、盐类和微量元素, 营养丰富, 目前作为废弃物直接排放, 造成了环境污染和资源浪费。以黄浆水为原料制备白灵菇液体菌种尚鲜见报道, 河北大学食药真菌研究所实验室相关工作已获得国家发明专利授权。现通过对制备白灵菇液体菌种培养基和培养条件的研究以及液体菌种应用效果的比较, 以期得到一种以黄浆水为原料制备白灵菇液体菌种的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为白灵菇, 由河北大学食药真菌研究所保藏菌种。黄浆水为市售。

PDA 斜面培养基: 马铃薯 20%、葡萄糖 2%、琼脂 2%。麦粒培养基: 99% 麦粒, 1% 生石灰。一级液体发酵培养基: 豆饼粉 1%, 玉米粉 2%, 葡萄糖 2%, 酵母膏 0.2%,

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, KH_2PO_4 0.1%, 维生素 B_1 10 mg/L 水补足 100%。二级液体发酵培养基: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, KH_2PO_4 0.1%, 其它成分按表 1 加入, 黄浆水补足 100%。

1.2 试验方法

1.2.1 黄浆水的制备 将当日取得的黄浆水以 80 目铜筛过滤杂质, 备用。

1.2.2 菌种活化 保藏的白灵菇菌种活化过夜, 接种至 PDA 斜面培养基中, 置于 25℃ 恒温培养箱培养至满管。

1.2.3 液体菌种的制备 将活化的菌种接至一级液体发酵培养基中, 置于 25℃、180 r/min 的条件恒温振荡培养 6 d, 得到一级液体菌种。

1.2.4 液体发酵培养 将一级液体菌种以 10% 的接种量接至二级培养基中, 置于 25℃、180 r/min 的条件进行恒温振荡培养 5 d。

1.2.5 液体发酵培养基的优化 将二级培养基中的葡萄糖、豆饼粉、维生素 B_1 进行 3 因素 3 水平正交实验, 配制 9 种培养基, 3 次重复。因素和水平见表 1。

表 1 液体发酵培养基正交实验因素水平

Table 1 Liquid fermentation medium orthogonal experimental factors table

水平 Level	因素 Factor		
	A 葡萄糖 Glucose/ %	B 豆饼粉 Soybean meal/ %	C 维生素 B_1 Vitamin B_1 / (mg · L ⁻¹)
1	1	0.3	5
2	2	0.6	10
3	3	0.9	15

1.2.6 发酵条件的优化 初始 pH 的筛选: 按照 1.2.5 筛选出的培养基配方制备培养基, 用 0.1 mol/L 的 NaOH 和 HCl 调培养基 pH 分别至 4.5、5.5、6.5、7.5、

第一作者简介:王谦(1962-), 男, 本科, 研究员, 现主要从事食药真菌研究与开发等研究工作。E-mail: wq6203_cn@126.com.

基金项目:河北省现代农业产业技术体系食用菌创新团队资助项目(冀农科发[2013]23 号)。

收稿日期:2015-01-16

8.5,以10%的接种量接种,置于25℃、180 r/min的条件恒温振荡培养,测定初始pH对白灵菇菌丝生长的影响。接种量的筛选:按照1.2.5筛选出的培养基配方制备培养基,用0.1 mol/L的NaOH调培养基pH至6.5,分别以4%、6%、8%、10%、12%的接种量接种,置于25℃、180 r/min的条件恒温振荡培养,测定接种量对白灵菇菌丝生长的影响。摇床转速的筛选:按照1.2.5筛选出的培养基配方制备培养基,用0.1 mol/L的NaOH调培养基pH至6.5,以10%的接种量接种,置于25℃的条件恒温振荡培养,设置摇床转速分别为140、160、180、200 r/min,测定摇床转速对白灵菇菌丝生长的影响。

1.2.7 液体菌种的应用效果比较 将筛选出的液体菌种接种到麦粒培养基中,固体菌种按常规方式接种,记录2种方式满袋时间。

1.2.8 白灵菇菌丝体鲜重的测定 取100 mL发酵好的液体菌种用80目筛网过滤,控干水分,测定菌丝体鲜重,以评价生物量^[3]。

1.2.9 菌球直径和密度的测定 菌球直径测定:取1 mL发酵液用水稀释10倍,随机取10个菌球在培养皿中排成一行,用游标卡尺测定总长度,重复3次,求其平均值;密度的测定,取1 mL发酵液用水稀释10倍,直接数菌球的数目得到密度值^[5]。

2 结果与分析

2.1 白灵菇液体培养基优化研究结果

从表2可以看出,不同组合之间的生物量是不同的。由极差R可知,各因素间的次序为豆饼粉>葡萄糖>维生素B₁。极差越大,起的作用就越大,这说明豆饼粉浓度对白灵菇液体发酵的生物量影响最大,葡萄糖次之。因此选定最适宜培养基组合为A₃B₂C₁,即试验得出的最适宜培养基配方为葡萄糖3%,豆饼粉0.6%,维生素B₁5 mg/L, MgSO₄·7H₂O 0.1%, KH₂PO₄ 0.1%。

表2 正交实验结果极差分析

Table 2 Range analysis of orthogonal test results

试验编号	A	B	C	菌丝鲜重
Test No.	葡萄糖	豆饼粉	维生素 B ₁	Fresh weight of mycelium
	Glucose	Soybean meal	Vitamin B ₁	
	/%	/%	/(mg·L ⁻¹)	/(g·(100mL) ⁻¹)
1	1	0.3	5	20.73
2	1	0.6	10	25.02
3	1	0.9	15	23.60
4	2	0.3	10	21.71
5	2	0.6	15	25.69
6	2	0.9	5	26.78
7	3	0.3	15	23.48
8	3	0.6	5	33.26
9	3	0.9	10	29.06
K1	23.12	21.97	26.92	
K2	24.73	27.99	25.26	
K3	28.60	26.48	24.26	
R	5.48	6.02	2.66	

2.2 起始pH值对白灵菇菌丝生长的影响

由表3和图1可以看出,当初始pH 5.5~7.5时菌丝鲜重较高,且菌球密度也比较多,当初始pH为6.5时,菌丝鲜重达到最大值,且菌球密度也最大,综合考虑确定最适初始pH为6.5。

表3 初始pH值对白灵菇菌丝生长的影响

Table 3 Effect of initial pH on the growth of *Pleurotus nebrodensis*

pH值	4.5	5.5	6.5	7.5	8.5
pH value					
菌球密度 Fungus ball density/(个·mL ⁻¹)	33	42	47	38	21
直径 Diameter/mm	2.74	2.58	2.46	2.14	1.96
菌丝鲜重 Fresh weight of mycelium/(g·(100mL) ⁻¹)	24.43	29.03	34.12	26.63	16.10

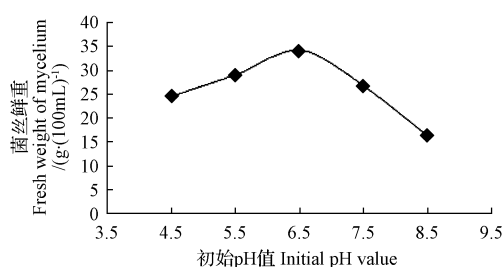


图1 初始pH值对白灵菇菌丝鲜重的影响

Fig. 1 Effect of initial pH value on the fresh weight of mycelium of *Pleurotus nebrodensis*

2.3 接种量对白灵菇菌丝生长的影响

由表4和图2可以看出,随着接种量的增加,菌丝鲜重也随之增大,当接种量为10%~12%时,随着接种量的增加,菌丝鲜重增加不明显,这是因为当接种量过少时,菌丝生长活力不够,生长速度慢;当接种量过多时,

表4 接种量对白灵菇菌丝生长的影响

Table 4 Effect of inoculation on the growth of *Pleurotus nebrodensis*

接种量	4	6	8	10	12
Inoculum/%					
菌球密度 Fungus ball density/(个·mL ⁻¹)	30	41	45	47	42
直径 Diameter/mm	2.68	2.52	2.45	2.38	2.32
菌丝鲜重 Fresh weight of mycelium/(g·(100mL) ⁻¹)	22.49	29.19	32.33	33.83	34.01

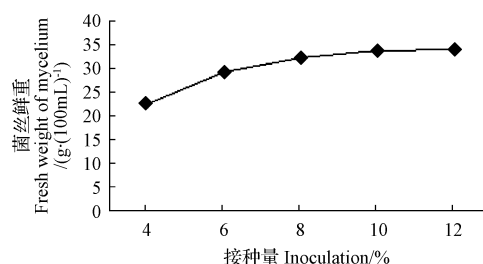


图2 接种量对白灵菇菌丝鲜重的影响

Fig. 2 Effect of inoculation on the fresh weight of mycelium of *Pleurotus nebrodensis*

菌丝生长活力过旺,生长速度太快,且会造成过早的溶菌。综合考虑成本、菌球密度及直径,因此确定最适宜的接种量为 10%。

2.4 摇床转速对白灵菇菌丝生长的影响

由表 5 和图 3 可以看出,随着摇床转速的增大,菌丝鲜重增大,菌球密度增加,且菌球直径在减小;当转速达到 180 r/min 时,菌丝鲜重达到最大,菌球密度最大;当转速超过 180 r/min 时,菌丝鲜重明显下降,这是由于转速过大,剪切力过大,导致菌丝体不能正常生长,所以确定最适摇床转速为 180 r/min。

表 5 摇床转速对白灵菇菌丝生长的影响

Table 5 Effect of shaking speed the growth of *Pleurotus nebroidensis*

摇床转速 Rotation speed/(r · min ⁻¹)	140	160	180	200
菌球密度 Fungus ball density/(个 · mL ⁻¹)	29	38	46	36
直径 Diameter/mm	2.98	2.64	2.29	1.88
菌丝鲜重 Fresh weight of mycelium/(g · (100mL) ⁻¹)	20.94	29.99	34.02	26.79

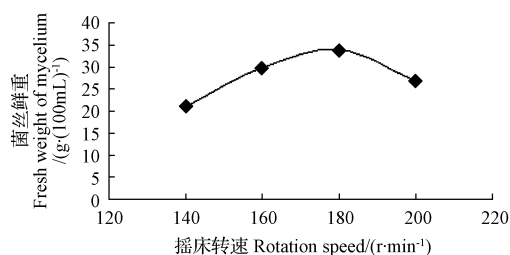


图 3 摇床转速对白灵菇菌丝鲜重的影响

Fig. 3 Effect of shaking speed the fresh weight of mycelium of *Pleurotus nebroidensis*

2.5 液体菌种的应用效果比较结果

由表 6 可知,液体菌种能够缩短生长周期,该现象出现的主要原因是液体菌种中菌球分布均匀,液体菌种

萌发点多,并且还有一部分菌球随着液体向下渗透进入麦粒培养基中充分体现了其长速快的优势,加之液体菌种种龄一致,长速均匀,活力强,使得液体菌种较固体菌种在长速上占有很大优势,用液体菌种制种可明显缩短制种周期。

表 6 不同方式制备原种的比较

Table 6 Comparison of the original species of different inoculation methods

菌种形式	满袋时间/d
液体菌种	29.00±0.87
固体菌种	40.00±1.05

注:表中数据为平均值±标准误差。

Note: Values are the means±SE.

3 结论

黄浆水中含有大量的蛋白质、糖类、盐类和微量元素,营养丰富,利用黄浆水为原料制备白灵菇液体菌种的工艺可行,结果表明,以黄浆水为原料制备白灵菇液体菌种要明显优于传统的固体菌种,可以缩短制种周期,且白灵菇液体菌种的培养基配方为:葡萄糖 3%,豆粕粉 0.6%,维生素 B₁ 5 mg/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.1%, KH₂PO₄ 0.1%,黄浆水补足 100%;最佳培养条件为初始 pH 6.5,接种量 10%,摇床转速 180 r/min。相关工作已获得专利授权。

参考文献

- [1] 吕作舟. 食用菌栽培学[M]. 北京:高等教育出版社,2005:228.
- [2] 张松. 食用菌学[M]. 广州:华南理工大学出版社,1999:6-7.
- [3] 卢朝亮. 增稠剂在白灵菇液体菌种制备中的应用初探[J]. 食用菌, 2008(3):17-18.
- [4] 李里特. 大豆加工与利用[M]. 北京:化学工业出版社,2003:359-374.
- [5] 华国栋,李冠喜,张灿宏,等. 白灵菇中高温型菌株 a3 的特性及栽培技术[J]. 食用菌,2006(4):12-13.

A Method Employ Waste Material of Nejayote as Raw Material to Prepare *Pleurotus nebroidensis* Liquid Spawn

WANG Qian¹, GUO Miao¹, LIU Min¹, LIU Zhong-tang²

(1. College of Life Science, Hebei University, Baoding, Hebei 071002; 2. Wei County Agriculture and Animal Husbandry Bureau, Handan, Hebei 056800)

Abstract: Taking waste of nejayote as test material, the effect of liquid medium and culture conditions on the preparation of *Pleurotus nebroidensis* liquid spawn were studied by orthogonal and the single-factor test, liquid spawn application was compared. The results showed that *Pleurotus nebroidensis* liquid spawn was significantly better than the solid strains, the best medium for *Pleurotus nebroidensis* liquid spawn using waste of nejayote as raw material was glucose 3%, soybean meal 0.6%, vitamin B₁ 5 mg/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.1%, KH₂PO₄ 0.1%, nejayote making up 100%; the best *Pleurotus nebroidensis* fermentation conditions were initial pH 6.5, inoculum 10%, shaking speed 180 r/min.

Keywords: *Pleurotus nebroidensis*; nejayote; liquid spawn