

金福菇液体培养基的优化研究

刘 敏¹, 冯东东¹, 卢 红¹, 郝志欣², 林志慧²

(1. 河北省生物工程技术研究中心, 河北 保定 071002; 2. 易县农业局, 河北 易县 074200)

摘 要:以金福菇为试材, 采用液体摇瓶培养法, 以菌丝生物量为主要指标, 通过单因素试验、正交实验对金福菇液体菌种培养基配方进行研究。结果表明: 最适宜的培养基配方为马铃薯 2.0%、葡萄糖 3.0%、麸皮 2.5%、酵母膏 0.3%、 KH_2PO_4 0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%。

关键词:金福菇; 液体菌种; 培养基; 优化

中图分类号:Q 943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0152-04

金福菇(*Tricholoma lobayense* Hiem)属担子菌亚门(Basidiomycotina)层菌纲(Hymenomycetes)伞菌目(Agaricales)口蘑科(Tricholomataceae)口蘑属(*Tricholoma*)^[1], 又名洛巴伊口蘑、大白口蘑、巨大口蘑, 日本称白色松茸。金福菇是近年来新开发的一种珍稀食药真菌, 其营养价值和药用价值已经逐渐被人们所认识, 是一种深受消费者喜爱的高品质食用菌。金福菇子实体硕大, 味微甜而鲜, 菇香浓郁、口感极佳。金福菇干品中平均含粗蛋白 27.56%、粗脂肪 7.85%、总糖 38.44%、粗纤维 8.20%^[2-4]。虽然金福菇的人工驯化栽培已经获得成功, 但是其出菇率低、生物学效率不高, 栽培金福菇的经济效益并不是特别理想, 因此北方地区还未实现金福菇的规模化栽培。

目前, 食用菌生产过程中菌种大多是通过固体方式获得的, 与传统的固体培养相比, 液体菌种具有菌龄一致、生长速度快、生产周期短、接种方便、无季节性、适宜工厂化生产等不可比拟的优势。食用菌液体培养一般仅需 3~7 d 即可培养出大量的菌丝体, 在栽培生产中, 可以作为母种或原种, 也可以直接作为栽培种进行使用。现在能够利用液体培养技术生产菌种的食用菌有香菇、草菇、金针菇、平菇、猴头菇、凤尾菇等 50 余种^[5-6]。对于金福菇液体培养方面目前鲜有报道。该试验从不同碳氮源种类、浓度及正交实验对金福菇的液体培养基进行了优化, 利用液体菌种取代传统的菌种生产方式从而缩短生产周期, 提高生产效率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金福菇菌株, 由河北大学食药用真菌研究所提供。

斜面培养基: 马铃薯 15.0%、葡萄糖 1.5%、玉米粉 2.5%、麸皮 1.0%、酵母膏 1.0%、琼脂 2.0%、 KH_2PO_4 0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%、维生素 B_1 0.001%, GA 1.0 mg/L, pH 自然。

一级液体摇瓶培养基: 马铃薯 20.0%、麸皮 3.0%、葡萄糖 2.0%、酵母膏 0.3%、 KH_2PO_4 0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%、维生素 B_1 0.001%, pH 自然, 用于培养一级液体菌种^[7]。基础二级液体摇瓶培养基: 马铃薯 2.0%、葡萄糖 2.0%、蛋白胨 1.0%、酵母膏 0.2%、 KH_2PO_4 0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, pH 自然。

1.2 试验方法

1.2.1 一级液体菌种的制备方法 无菌操作取 5 块大小约为 0.5 cm×0.5 cm 活化后的金福菇菌种块, 接种于装有 100 mL 一级摇瓶培养基的 250 mL 三角瓶中, 放置于 25℃培养箱中, 静置培养 24 h, 然后置于恒温摇床中, 25℃、150 r/min 恒温振荡培养, 制得金福菇一级液体菌种, 然后以 10%的接种量接入二级摇瓶培养基中。

1.2.2 不同碳源种类的选择试验 分别用麦芽糖、甘露醇、玉米粉、可溶性淀粉代替基础培养基中的葡萄糖作为培养基的碳源, 121℃灭菌 30 min, 以 10%的接种量将一级液体菌种接种于上述培养基后, 25℃、150 r/min 的条件下恒温振荡培养, 测定菌丝体鲜重。

1.2.3 适宜碳源浓度的选择试验 对 1.2.2 中所选出的适宜碳源设计一系列的浓度梯度配制培养基, 121℃灭菌 30 min, 以 10%的接种量将一级液体菌种接种于上述培养基后, 25℃、150 r/min 的条件下恒温振荡培养, 测定菌丝体鲜重。

1.2.4 不同氮源种类的选择试验 分别用牛肉膏、硫酸

第一作者简介:刘敏(1985-), 女, 硕士, 实验师, 现主要从事食药用真菌研究与开发等研究工作。E-mail: liumin870115@163.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[2014]33号)。

收稿日期:2015-03-15

铵、麸皮、豆饼粉代替基础培养基中的蛋白胨作为培养基的氮源,121℃灭菌 30 min,以 10%的接种量将一级液体菌种接种于上述培养基后,25℃、150 r/min 的条件下恒温振荡培养,测定菌丝体鲜重。

1.2.5 适宜氮源浓度的选择试验 对 1.2.4 中所选出的适宜氮源设计一系列的浓度梯度配制培养基,121℃灭菌 30 min,以 10%的接种量将一级液体菌种接种于上述培养基后,25℃、150 r/min 的条件下恒温振荡培养,测定菌丝体鲜重。

1.2.6 碳、氮源正交实验 通过 $L_9(3^3)$ 正交实验,确定碳氮源的最适宜配比。试验因素水平见表 1,通过测定菌丝体鲜重来确定碳氮源的最佳组合。

表 1 正交实验因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment %

水平 Level	因素 Factor		
	A 葡萄糖 Glucose	B 麸皮 Bran	C 酵母膏 Yeast extract
1	2.0	0.5	0.1
2	3.0	1.5	0.2
3	4.0	2.5	0.3

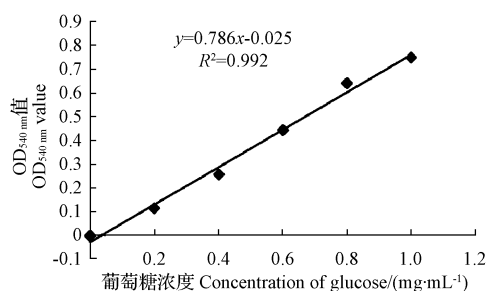


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 Standard curve of glucose

1.2.7 液体菌种应用比较 分别将固体菌种和液体菌种接种于麦粒培养基和棉籽皮培养基中,25℃恒温培养,培养过程中注意观察,记录菌丝长速、满袋时间。

1.3 项目测定

通过无菌操作将一级液体菌种以 10%的接种量接入二级摇瓶培养基后,25℃、150 r/min 恒温振荡培养,每隔 24 h 取出三瓶测定菌丝体鲜重、pH 值、还原糖含量。采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定还原糖的含量^[7]。葡萄糖的标准曲线如图 1。标准曲线方程为 $y = 0.786x - 0.025$;回归系数 $R^2 = 0.992$;还原糖含量 $= X \times D$; y :吸光度 $OD_{540\text{ nm}}$; X :样品溶液的葡萄糖浓度; D :溶液稀释倍数。菌丝体鲜重参照甄世梅等^[8]方法测定,以 80 目铜丝网过滤称重。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 软件进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同碳源种类的选择

由表 2 可以看出,在以葡萄糖为碳源的培养基上,金福菇液体菌丝体生物量最大,所以选择葡萄糖作为金福菇液体培养的主要碳源。

表 2 不同碳源对金福菇液体菌丝体培养的影响

Table 2 Effect of different carbon sources on liquid culture of *Tricholoma lobayense* Heim

碳源 Carbon sources	菌丝体鲜重 Mycelium fresh weight/(g · (100mL) ⁻¹)
葡萄糖 Glucose	16.170 8±0.295 0 aA
麦芽糖 Malt extract	13.419 8±0.287 2 bB
甘露醇 Mannitol	10.801 2±0.091 1 cC
玉米粉 Corn flour	15.950 0±0.155 8 aA
可溶性淀粉 Soluble starch	7.889 3±0.846 8 dD

注:菌丝体鲜重数值为平均值±标准误;大小写英文字母表示 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 的差异显著性,下同。

Note: Values are the means ± SD; different lowercase and capital letters represent significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, the same below.

2.2 适宜碳源浓度的选择

由表 3、图 2 可知,当培养基中葡萄糖浓度为 3.0%时金福菇的菌丝体鲜重明显优于其它 4 个浓度。所以,液体培养基中葡萄糖的适宜浓度为 3.0%。

表 3 不同浓度的葡萄糖对金福菇液体菌丝体培养的影响

Table 3 Effect of different concentrations of glucose on liquid culture of *Tricholoma lobayense* Heim

葡萄糖浓度 Concentrations of glucose/%	菌丝体鲜重 Mycelium fresh weight/(g · (100mL) ⁻¹)
1.0	15.152 3±0.099 1
2.0	16.370 8±0.024 5
3.0	17.202 6±0.016 8
4.0	17.193 4±0.007 2
5.0	17.152 7±0.035 6

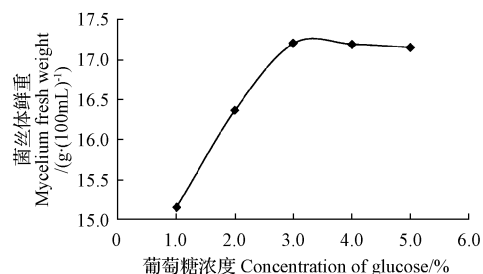


图 2 不同浓度的葡萄糖对金福菇液体菌丝体培养的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of glucose on liquid culture of *Tricholoma lobayense* Heim

2.3 不同氮源种类的选择

由表 4 可以看出,在以麸皮为氮源的培养基上,金福菇的液体菌丝体生物量最大,并且与其它 4 种氮源有显著

表 4 不同氮源对金福菇
液体菌丝体培养的影响

Table 4 Effect of different nitrogen sources on
liquid culture of *Tricholoma lobayense* Heim

氮源	菌丝体鲜重
Nitrogen sources	Mycelium fresh weight/(g·(100mL) ⁻¹)
蛋白胨 Peptone	14.833 4±0.186 7 bB
牛肉膏 Beef extract	13.915 0±0.051 3 cBC
(NH ₄) ₂ SO ₄	9.823 1±0.260 7 eD
麸皮 Wheat bran	16.682 0±0.022 7 aA
豆粕粉 Soybean cake powder	12.860 3±0.524 6 dC

性差异,所以选择麸皮作为金福菇液体培养的主要氮源。

2.4 适宜氮源浓度的选择

由表 5、图 3 可以看出,当培养基中麸皮的添加量为 1.5% 时金福菇菌丝的菌丝体鲜重明显优于其它 4 个浓度。所以,液体培养基中麸皮的适宜添加量为 1.5%。

表 5 不同浓度的麸皮对
金福菇液体菌丝体培养的影响

Table 5 Effect of different concentrations of
wheat bran on liquid culture of *Tricholoma lobayense* Heim

麸皮添加量	菌丝体鲜重
Concentration of wheat/%	Mycelium fresh weight/(g·(100 mL) ⁻¹)
0.5	16.174 9±0.046 3
1.0	16.832 1±0.009 8
1.5	17.493 6±0.053 0
2.0	17.385 7±0.022 3
2.5	17.302 8±0.044 7

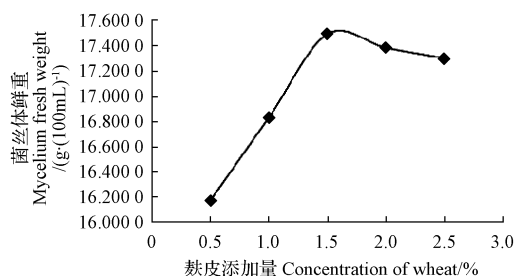


图 3 不同浓度的麸皮对金福菇
液体菌丝体培养的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of wheat bran on
liquid culture of *Tricholoma lobayense* Heim

2.5 碳氮源正交实验分析

由表 6 可以看出,在所选择的影响菌丝体鲜重的 3 个因素中,其影响程度大小为 A>B>C,即葡萄糖>麸皮>酵母膏。从正交实验结果分析,各因素水平较佳的理论配比为 A₂B₃C₃,即葡萄糖 3.0%、麸皮 2.5%、酵母膏 0.3%,菌丝体鲜重最大。而试验处理最优结果却是 A₂B₃C₁。因此需要做一个验证试验。

由表 7 可知,正交所得出的各因素配比在菌丝体鲜重方面确实优于试验处理最优结果。因此确定金福菇液体菌丝体培养的最佳碳氮源组合为葡萄糖 3.0%、麸

表 6 L₉(3³) 正交实验结果

Table 6 Results of orthogonal experiment on L₉(3³)

处理	A 葡萄糖	B 麸皮	C 酵母膏	菌丝体鲜重
Treatment	Glucose	Bran	Yeast extract	Mycelium fresh weight /(g·(100mL) ⁻¹)
1	1	1	1	13.960 5
2	1	2	2	15.649 3
3	1	3	3	16.741 6
4	2	1	2	15.316 3
5	2	2	3	18.703 2
6	2	3	1	19.512 7
7	3	1	3	13.004 3
8	3	2	1	11.026 6
9	3	3	2	13.388 9
均值 1 Mean 1	15.450	14.094	14.833	
均值 2 Mean 2	17.844	15.126	14.785	
均值 3 Mean 3	12.473	16.548	16.150	
极差 Range	5.371	2.454	1.365	

表 7 验证试验结果

Table 7 The results of proof test

	菌丝体鲜重
	Mycelium fresh weight/(g·(100mL) ⁻¹)
A ₂ B ₃ C ₃	23.851 9
A ₂ B ₃ C ₁	19.512 7

皮 2.5%、酵母膏 0.3%。

2.6 金福菇液体培养过程中相关指标的检测

由图 4 可以看出,金福菇整个液体培养过程中,发酵液的 pH 值变化并不大,总体趋势是起初略有下降,而后有所上升,波动不明显,在 5.80~6.16 之间;菌丝体鲜重呈上升趋势,在第 7 天达到最大,而后趋于稳定或略有下降;还原糖的含量呈逐渐下降的趋势,第 7 天以后下降趋势渐缓。如果以生物量的大小作为发酵终点的评价指标,应选择培养时间为 7 d。

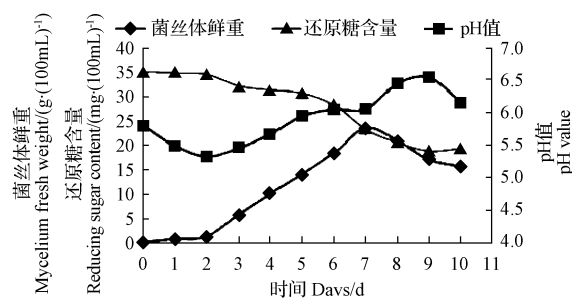


图 4 金福菇液体培养过程中菌丝
鲜重及 pH 值的变化

Fig. 4 Variation of mycelia fresh weight, reducing sugar
content and pH value on liquid culture of
Tricholoma lobayense Heim

2.7 液体菌种的应用比较

由表 8 可以看出,不管是在麦粒培养基上还是在棉籽皮培养基上液体菌种的长速要明显快于斜面菌种,可明显缩短生产周期。

表 8

液体菌种 2 种应用方式的对比

Table 8

Comparison of different using way of liquid spawn

培养基 Medium	液体菌种 Liquid spawn		斜面菌种 Slant strain	
	菌丝长速 Mycelium growth rate/(mm · d ⁻¹)	满袋时间 Bags full time/d	菌丝长速 Mycelium growth rate/(mm · d ⁻¹)	满袋时间 Bags full time/d
麦粒培养基 Wheat medium	3.95	27	2.85	42
棉籽皮培养基 Cotton seed hull medium	3.65	32	1.93	49

3 结论

该研究从碳源、氮源的种类及其浓度方面对金福菇的液体培养基进行了探讨,并且对适宜的碳源、氮源浓度进行了正交实验,确定了金福菇的适宜液体培养基配方为:马铃薯 2.0%,葡萄糖 3.0%,麸皮 2.5%,酵母膏 0.3%,KH₂PO₄ 0.1%,MgSO₄ · 7H₂O 0.1%,pH 自然。

参考文献

[1] 傅俊生,蔡衍山,柯丽娜,等.金福菇的交配型研究[J].食用菌学报,

2007,14(3):10-12.

[2] 陈成弟.金福菇优质栽培技术[J].热带农业,2001(4):3.

[3] 卫松海,周根红,杜适普,等.作物秸秆栽培金福菇技术[J].河南农业,2004(10):27.

[4] 许海涛.金福菇及其高产栽培技术[J].北京农业,2002(7):17-18.

[5] 杨庆尧.食用菌的深层发酵[J].中国食用菌,1985(5):6-8.

[6] 陈陶声.食用菌的栽培和发酵[M].北京:化学工业出版社,1988:127-155.

[7] 王谦,闫蕾蕾,王永利,等.金顶侧耳的深层液体培养及相关检测[J].菌物系统,2002,21(1):102-106.

[8] 甄世梅,杨树德,于兰兰,等.金福菇液体发酵培养基的优化[J].食用菌,2010(7):92-95.

Study on the Optimization of Liquid Cultural Medium for *Tricholoma lobayense* Heim

LIU Min¹, FENG Dongdong¹, LU Hong¹, HAO Zhixin², LIN Zhihui²

(1. Research Center of Biotechnology Engineering, Baoding, Hebei 071002; 2. Yixian Bureau of Agriculture, Yixian, Hebei 074200)

Abstract: Taking *Tricholoma lobayense* Heim as test material, the liquid spawn medium formula of *Tricholoma lobayense* Heim in submerged culture with shake flask were studied according to the index of mycelium fresh weight by single factor experiment and quadrature experiment. The results showed that the optimal medium of liquid spawn was as follows: potatoes 2.0%, glucose 3.0%, bran 2.5%, yeast extract 0.3%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄ · 7H₂O 0.1%.

Keywords: *Tricholoma lobayense* Heim; liquid strain; culture medium; optimization

干香菇烤制与贮藏

知识窗

目前,袋料香菇已成为浙江省山区农村发展经济的一大支柱产业。但在香菇栽培过程中,由于管理不及时,或者气候异常、温差大,易形成一些畸形菇和劣质菇(统称菜菇)。这些劣质香菇如果不做处理,直接作为鲜菇进入市场售价很低,而且销路不好。如果将其烤制成干菇,不但可以升值,而且销路也好。但一些农户由于烤制方法不当,同样的干菇,价格往往相差好几倍。现总结出烤制干菇必须掌握的技术和方法,供菇农们参考。

1. 进行原料处理 将鲜菇剪柄。剪柄长短应根据菇形、菇肉、菇质、菇面来确定,并可分为去糠、剪半脚、剪平脚 3 个等级。一般而言,菇面小、菇肉薄、菇脚长的香菇,以去糠为宜(保持全脚);菇面大而圆、菇肉薄、菇质松软的菇,可取其半脚(即剪去菇脚的一半),取值范围为 1.0~1.5 cm 菇面大而圆,菇肉厚而坚硬的,以取平脚为宜,即剪去脚,剩下 0.5 cm 左右。根据菇面大小、菇肉厚薄,菇面圆度、菇质好坏,分长短剪留菇脚,对成品干菇的价格和干菇的所得率影响很大。

2. 烤制方法 关键是掌握好烤制过程的温度。香菇按不同长度进行剪柄后,排放于烘筛上,将烘筛推入烘干机烘箱内,紧闭

箱门开始点火起烘。脱水初期温度不能低于 30℃,最好是 32℃ 起烘;在 40~50℃ 烘 6 h,停火 1 h 后,再在 45~50℃ 热风温度条件下,脱水 6 h;停火 2 h,进行检菇。最后在 50~60℃ 下脱水直到烘干为止。在烘制时不宜升温太快,每小时升温不能超过 3~5℃。骤然升温会引起菇体急剧收缩,造成菇盖向外倒卷并变黑,严重影响干菇品质。在烘制过程中,检菇也是不可忽视的环节。因为菇肉厚薄不一,其含水量差别很大,对烤制时间要求自然不一。所以在第 2 次停火后,就必须逐筛进行检查,发现已烘干的应先捡起放入塑料袋内,未干的推入箱内继续再烘。这样可防止部分香菇因烤制过度而变焦,影响干菇的品质。

3. 干菇的贮藏 香菇烘干后,如果不妥善贮藏,很容易反潮。特别是在雨季气温高、湿度大时更易引起霉变及虫蛀。所以香菇烤干后,要迅速分等级装入塑料袋中。为防止潮气侵入,可在塑料袋中放入一小包无机氯化钠,以免菇体内的糖分渗出而变色,同时防止麦蛾等产卵和孵化。为了防止香菇蛾等虫害,也可在贮藏前用二硫化碳将贮藏室熏蒸 24 h,等排除余气后再贮藏。

(摘自:中国食品科技网)