

# 阶梯式高压灭菌与常规灭菌方法对 食用菌培养料微量营养素的影响

杨红澎<sup>1</sup>, 杨丽维<sup>2</sup>, 黄亮<sup>1</sup>, 杨华<sup>3</sup>, 王旭峰<sup>3</sup>, 班立桐<sup>1</sup>

(1. 天津农学院 农学与资源环境学院, 天津 300384; 2. 天津市林业果树研究所, 天津 300112;  
3. 天津绿圣蓬源农业科技开发有限公司, 天津 300400)

**摘要:**以食用菌培养料为试材,采用紫外分光光度法,研究了程序升温(100℃下用50~60 min,间隙式抽真空,将釜内的压力抽成-0.05~-0.06 MPa,用12~15 min升温使釜内达到121℃,压力0.11 MPa保温90 min,关闭蒸汽,杀菌结束)与常规灭菌15 h(100℃)和一般高压灭菌方法灭菌1.5~2.0 h(121℃)对食用菌培养料中叶酸、烟酸、维生素C、维生素B<sub>1</sub>含量的影响。结果表明:阶梯式高压灭菌工艺培养料中的叶酸、烟酸、维生素C、维生素B<sub>1</sub>含量损失少于常压灭菌方法灭菌及一般高压灭菌方法灭菌。

**关键词:**培养料; 营养素; 高压灭菌; 常规灭菌

**中图分类号:**S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)10-0141-03

食用菌培养料中有着大量的真菌、细菌、放线菌、病毒等微生物和虫害,它们的存在会与食用菌争夺养料并且侵害食用菌。因此,在食用菌栽培过程中,培养料灭菌是一重要环节。现有技术的食用菌培养料灭菌方法有湿热灭菌法,其包括高压灭菌、常压蒸汽灭菌和间歇灭菌。工厂化栽培灭菌一般都是采用蒸汽高压灭菌,即将培养料放入灭菌柜内,通过蒸汽加热升温、并在设定的温度下保温一定的时间,实现灭菌的目的。不同的厂家,高压灭菌方法也略有不同。

培养料中叶酸、烟酸、维生素C、维生素B<sub>1</sub>等对蘑菇的生长发育有重要的调控作用<sup>[1]</sup>。叶酸、烟酸、维生素C、维生素B<sub>1</sub>由于其分子结构的特点,在高温灭菌过程中有一定的损失,而不同的灭菌方式对培养料中真菌营养生长所需的必要成分叶酸、烟酸等的损失影响的量化分析尚鲜见文献报道。该研究考察了上述3种灭菌方法对培养料中叶酸、烟酸、维生素C、维生素B<sub>1</sub>含量的影响,以为食用菌生产中培养料的灭菌工艺提供指导。

**第一作者简介:**杨红澎(1976-),男,博士,副教授,现主要从事植物及食用菌次生代谢产物的分离鉴定等研究工作。E-mail: yanghongpeng2003@163.com.

**责任作者:**班立桐(1972-),男,本科,教授,现主要从事食用菌栽培等研究工作。E-mail: banlitong@126.com.

**基金项目:**天津市科委科技特派员计划资助项目(15JCTPJC57100); 天津市北辰区科技发展计划资助项目(BCNYKJ2013-4)。

**收稿日期:**2016-02-15

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

培养料组成:杂木屑30%、棉籽壳25%、玉米芯23%、麦麸20%、石灰粉1%、石膏粉1%。

上海原叶生物科技有限公司购买的叶酸、烟酸、维生素B<sub>1</sub>、维生素C标准品。

分光光度计(型号UV-2100,尤尼柯(上海)仪器有限公司);高压灭菌器(型号HVE-50,日本株式会社和平山制作所);调温型电热套(型号Q/XD002-05,北京市永光明医疗仪器有限公司);数控超声波清洗器(型号KH5200DB,昆山禾创超声仪器有限公司);低速大容量离心机(型号LXJ-IIB,上海安亭科学仪器厂);摩尔纯水机(型号基因型18600,重庆摩尔水处理设备有限公司);循环式真空泵(型号SHZ-D,巩义市予华仪器有限责任公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 培养料的灭菌** 分别称取200 g培养料倒入三角瓶中封口,按常压灭菌方法100℃下灭菌8~15 h及高压灭菌方法①121℃下灭菌1.5~2.0 h;②100℃下用50~60 min,间隙式抽真空,将釜内的压力抽成-0.05~-0.06 MPa,用12~15 min升温釜内达到121℃,压力0.11 MPa保温90 min关闭蒸汽,灭菌结束取出,备用。

**1.2.2 叶酸标准曲线制备** 精密称取叶酸标准品(以无水物计算)适量,用0.1 mol·mL<sup>-1</sup> NaOH缓冲液溶解,配制成浓度为200 μg·mL<sup>-1</sup>的叶酸贮备液,精密吸取贮备液适量,分别用0.1 mol·mL<sup>-1</sup> NaOH缓冲液稀

释成 2、4、6、8、10、15  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,以 0.1 mol  $\cdot \text{mL}^{-1}$  NaOH 缓冲液为参比,用 1 cm 石英比色皿在 256 nm 处测定吸收度,绘制浓度-吸光度曲线,直线回归方程为  $y = 0.0215x + 0.0043$ ,  $R^2 = 0.9997$ ,表明叶酸在 1~15  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  浓度范围内浓度-吸收度呈线性关系。

1.2.3 烟酸标准曲线制备 精密称取烟酸标准品(以无水物计算)适量,用蒸馏水溶解,配制成浓度为 100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的烟酸贮备液,精密吸取贮备液适量,分别用蒸馏水稀释成 5、10、15、25、30、40、60  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,以蒸馏水为参比,用 1 cm 石英比色皿在 262 nm 处测定吸光度,绘制浓度-吸收度曲线,直线回归方程为  $y = 0.0344x + 0.00185$ ,  $R^2 = 0.9994$ ,表明烟酸在 5~60  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  浓度范围内浓度-吸收度呈线性关系。

1.2.4 维生素 C 标准曲线制备 精密称取维生素 C 标准品(以无水物计算)适量,用蒸馏水溶解,配制成浓度为 500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的维生素 C 贮备液,精密吸取贮备液适量,分别用蒸馏水稀释成 10、15、20、25、30、35  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,以蒸馏水为参比,用 1 cm 石英比色皿在 245 nm 处测定吸光度,绘制浓度-吸收度曲线,直线回归方程为  $y = 0.0503x + 0.0649$ ,  $R^2 = 0.9996$ ,表明维生素 C 在 10~35  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  浓度范围内浓度-吸收度呈线性关系。

1.2.5 维生素 B<sub>1</sub> 标准曲线制备 精密称取维生素 B<sub>1</sub> 标准品(以无水物计算)适量,用 75%乙醇溶解,配制成浓度为 500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的维生素 B<sub>1</sub> 贮备液,精密吸取贮备液适量,分别用 75%乙醇稀释配成 5、10、15、20、25、30  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,以 75%乙醇为参比,用 1 cm 石英比色皿在 232 nm 处测定吸光度,绘制浓度-吸收度曲线,直线回归方程为  $y = 0.0547x + 0.0507$ ,  $R^2 = 0.9986$ ,表明维生素 B<sub>1</sub> 在 5~35  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  浓度范围内浓度-吸收度呈线性关系。

1.2.6 培养料中营养素的提取 分别取 4.2 g 不同的培养料(灭菌,无灭菌,灭菌 2 h,灭菌 15 h)于 12 个离心管中(每种称 3 个离心管)加入 15 mL 0.01 mol  $\cdot \text{mL}^{-1}$  HCl,放入数控超声波清洗器中超声 40 min。取出过滤,用紫外分光光度计在不同的波长下测吸光度。数据带入相应的标准曲线中,计算培养料中叶酸、烟酸、维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同灭菌方法培养料中叶酸的含量测定分析

由表 1 可知,高压灭菌发方法②培养料中的叶酸含量相对高于常压灭菌方法 15 h(100  $^{\circ}\text{C}$ )和高压灭菌发方法①。

### 2.2 不同灭菌方法培养料中烟酸的含量测定分析

由表 2 可知,高压灭菌发方法②培养料中的烟酸的含量相对高于常压灭菌方法 15 h(100  $^{\circ}\text{C}$ )和高压灭菌发方法①。

表 1 培养料中叶酸含量测定

Table 1 Determination of folic acid in compost

样品	高压灭菌发方法①	高压灭菌发方法②	常压灭菌 15 h 100 $^{\circ}\text{C}$
Sample	Autoclaving①	Autoclaving②	General sterilization method
256 nm	1	0.979	1.154
处测定	2	0.963	1.232
吸光度 A	3	0.986	1.209
A 平均值 Average	0.976	1.198	0.734
含量 Content/%	0.06	0.08	0.06

表 2 培养料中烟酸含量测定

Table 2 Determination of nicotinic acid in compost

样品	高压灭菌发方法①	高压灭菌发方法②	常压灭菌 15 h 100 $^{\circ}\text{C}$
Sample	Autoclaving①	Autoclaving②	General sterilization method
262 nm	1	0.811	1.101
处测定	2	0.820	1.130
吸光度 A	3	0.817	1.123
A 平均值 Average	0.816	1.118	0.561
含量 Content/%	0.04	0.05	0.03

### 2.3 不同灭菌方法培养料中维生素 C 的含量测定分析

由表 3 可知,高压灭菌发方法②培养料中维生素 C 营养成分含量相对高于常压灭菌方法 15 h(100  $^{\circ}\text{C}$ )和高压灭菌发方法①。

表 3 培养料中维生素 C 含量测定结果

Table 3 Determination of vitamin C in compost

样品	高压灭菌发方法①	高压灭菌发方法②	常压灭菌 15 h 100 $^{\circ}\text{C}$
Sample	Autoclaving①	Autoclaving②	General sterilization method
245 nm	1	0.638	1.150
处测定	2	0.673	1.230
吸光度 A	3	0.682	1.239
A 平均值 Average	0.664	1.206	0.969
含量 Content/%	0.03	0.05	0.04

### 2.4 不同灭菌方法培养料中维生素 B<sub>1</sub> 的含量测定分析

由表 4 可知,高压灭菌发方法②培养料中维生素 B<sub>1</sub> 营养成分含量相对高于常压灭菌方法 15 h(100  $^{\circ}\text{C}$ )和高压灭菌发方法①。

表 4 培养料中维生素 B<sub>1</sub> 含量测定

Table 4 Determination of vitamin B<sub>1</sub> in compost

样品	高压灭菌发方法①	高压灭菌发方法②	常压灭菌 15 h 100 $^{\circ}\text{C}$
Sample	Autoclaving①	Autoclaving②	General sterilization method
232 nm	1	0.297	0.914
处测定	2	0.296	0.919
吸光度	3	0.299	0.917
A 平均值 Average	0.297	0.917	0.409
含量 Content/%	0.0007	0.0030	0.0010

## 3 结论与讨论

维生素是食用菌生长必需的微量营养素,是各种酶的活性基团成分,活性基团的缺失,酶将失去活性,生命活动就会停止。食用菌所需维生素主要为水溶性维生素,包括硫胺素(维生素 B<sub>1</sub>)、核黄素(维生素 B<sub>2</sub>)、吡哆醇(维生素 B<sub>6</sub>)、烟酸(维生素 B<sub>3</sub>)、泛酸(维生素 B<sub>5</sub>)、叶酸

(维生素 B<sub>5</sub>)、生物素(维生素 B<sub>7</sub>)、肌醇等<sup>[2]</sup>。食用菌自身不能合成维生素 B<sub>1</sub>,维生素 B<sub>1</sub> 对食用菌顺利进行碳源的代谢起重要作用。在丙酮酸变成乙酰辅酶 CoA 的氧化脱羧的过程中,维生素 B<sub>1</sub> 就是构成丙酮酸氧化脱羧的辅酶,在形成的乙酰辅酶 CoA 氧化成柠檬酸的一系列反应中,经  $\alpha$ -酮戊二酸氧化脱羧形成琥珀酸的过程也需要维生素 B<sub>1</sub> 构成脱羧酶的辅酶。维生素 B<sub>1</sub> 是丙酮酸、 $\alpha$ -酮戊二酸代谢的必要因子,间接影响氨基酸的合成,蛋白质脂肪的分解与合成最终影响食用菌的生长发育<sup>[1]</sup>。烟酸也称作维生素 B<sub>3</sub>,是辅酶I和辅酶II的组成部分。叶酸作为体内生化反应中一碳单位转移酶系的辅酶,起着一碳单位传递体的作用。参与嘌呤和胸腺嘧啶的合成,进一步合成 DNA 和 RNA。还参与氨基酸代谢,在甘氨酸与丝氨酸、组氨酸和谷氨酸、同型半胱氨酸与蛋氨酸之间的相互转化过程中充当一碳单位的载体。维生素 C 影响苯丙氨酸、酪氨酸、叶酸的代谢,铁、碳水化合物化合物的利用,脂肪、蛋白质的合成。韦文添<sup>[3]</sup>研究表明,烟酸、维生素 B<sub>1</sub> 和叶酸对大球盖菇菌丝生长有一定促进作用,其中,烟酸的促进作用最强,其次是维生素 B<sub>1</sub>,再次为叶酸,维生素 B<sub>2</sub> 对大球盖菇菌丝生长促进作用不明显。吴秀珍等<sup>[4]</sup>发现烟酸、叶酸、维生素 B<sub>1</sub> 和维生素 B<sub>2</sub> 对斑玉蕈菌丝生长均有一定的促进作用。马璐等<sup>[5]</sup>研究证明维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>4</sub>、B<sub>6</sub> 在供试范围内对绣球菌菌丝生长的促进作用较强,维生素 B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>12</sub> 对菌丝生长影响不显著。烟酸是重要辅酶的组成部分,参与脂质代谢等过程。维生素 B<sub>1</sub> 是酸化酶及转酮醇酶的成分,其与蛋白质、氨基酸、糖类及脂类的生物合成及呼吸链等许多重要代谢有密切关系<sup>[3,6]</sup>。

叶酸在酸性的环境下不稳定,当 pH 低于 4.5 时即被完全破坏。但叶酸在碱性或中性的溶液中对热稳定,即使加热到 100 ℃达 1 h 也不会被破坏;叶酸在光照条

件下易被分解,尤其易被紫外线所破坏,常温下保存也可引起很大的损失。烟酸的性质比较稳定,酸、碱、氧、光或加热条件下不易被破坏;在高压下,120 ℃,20 min 也不被破坏。现常用食用菌培养料灭菌时间和温度都接近和超过这个数值。维生素 C 遇光、空气和加热都易引起变质,在碱性溶液中易于氧化而失效,铁和铜等金属离子均会加速氧化。维生素 B<sub>1</sub> 有引湿性,露置在空气中,易吸收水分。在碱性溶液中容易分解变质。pH 3.5 时可耐 100 ℃高温,pH 大于 5 时易失效。遇光和热效价下降。在酸性溶液中很稳定,在碱性溶液中不稳定,易被氧化和受热破坏。还原性物质亚硫酸盐、二氧化硫等能使维生素 B<sub>1</sub> 失活<sup>[7]</sup>。培养料在常压和高压灭菌环境中温度都在 100 ℃以上,且存在一定的氧,在高温有氧的环境下,培养料中的维生素损失不可避免,但最大限度的减少损失对蘑菇的生长影响巨大。

该研究结果表明,100 ℃下用 50~60 min,间隙式抽真空,将釜内的压力抽成 -0.05~-0.06 MPa,用 12~15 min 升温釜内达到 121 ℃,压力 0.11 MPa 保温 90 min 的阶梯式灭菌方法对培养料中微量营养素影响最小,是当今工厂化分段灭菌的首选方法。

#### 参考文献

- [1] 杨新美. 中国食用菌栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,1988:158.
- [2] 张金霞. 中国食用菌菌种学[M]. 北京:中国农业出版社,2011:101.
- [3] 韦文添. 维生素和生长调节剂对大球盖菇菌丝生长的影响[J]. 贵州农业科学,2013,41(5):87-89.
- [4] 吴秀珍,王秋玲,杜双田,等. 无机盐、维生素及生长调节剂对斑玉蕈菌丝生长的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(3):158-161.
- [5] 马璐,林衍铨,江晓凌,应正河. 无机盐、维生素与植物生长调节剂对绣球菌菌丝生长的影响[J]. 菌物研究,2011,19(3):172-175.
- [6] 韦文添. NNA 和 VBI 对秀珍菇菌丝生长的影响[J]. 吉林农业科学,2012,37(5):42-44.
- [7] 李华昌,符斌. 实用化学手册[M]. 北京:化学工业出版社,2007:496-497.

## Effect of Step High Pressure Sterilization and Conventional Sterilization Method on the Trace Nutrients in Mushroom Compost

YANG Hongpeng<sup>1</sup>, YANG Liwei<sup>2</sup>, HUANG Liang<sup>1</sup>, YANG Hua<sup>3</sup>, WANG Xufeng<sup>3</sup>, BAN Litong<sup>1</sup>

(1. College of Resources and Environment, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384; 2. Forestry and Fruiter Institute of Tianjin, Tianjin 300112; 3. Tianjin Lyushengpengyuan of Agricultural Science and Technology Development Limited Company, Tianjin 300400)

**Abstract:** Taking mushroom compost as material, the effect of in the process of ladder type high pressure sterilization (100 ℃, vacuum pumping to -0.05~-0.06 MPa in 50-60 minutes, heating 121 ℃ by 12-15 minutes, 90 minutes in 0.11 MPa), the ordinary high pressure sterilization method (1.5-2.0 hours, 121 ℃) and the general sterilization method (15 hours, 100 ℃) on the contents of folic acid, nicotinic acid, vitamin C, vitamin B<sub>1</sub> was studied. The results showed that the contents of folic acid, nicotinic acid, vitamin C, vitamin B<sub>1</sub> in the process of ladder type high pressure sterilization were higher than that of the ordinary high pressure sterilization method and the general sterilization method.

**Keywords:** mushroom compost; nutrients; step high pressure sterilization; conventional sterilization