

猴头菇液体菌种培养基筛选及发酵条件初探

洪秀杰¹, 王彦杰², 荆瑞勇²

(1. 大庆市农业推广中心, 大庆 163411; 2. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319)

摘要: 研究了猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 液体菌种培养基最佳生产配方和液体发酵条件。结果表明: 在所设定的 5 组培养基中, 最优的一组培养基配方为葡萄糖 3%, 可溶性淀粉 2%, 酵母膏 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.06%。在此培养基的基础上做单因素实验得出最佳 pH 为 5.5; 最佳温度为 27℃; 最佳转速为 180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$; 最佳装液量为 120 $\text{mL} \cdot (250 \text{mL})^{-1}$ 。由此得到的菌丝球生物量在同一因素的几个实验组内较好。

关键词: 猴头菇; 液体菌种; 培养基筛选; 发酵条件

中图分类号: S646 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2008)03-0090-03

Culture Medium Screening of *Hericium erinaceus* Strain Liquid and Preliminary Study on Fermentation Condition

HONG Xiu-Jie¹, WANG Yan-Jie², JING Rui-Yong²

(1. Daqing Agricultural Technology Extension Center, Daqing163411; 2. Life Science Technology College of Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319)

Abstract: Selection of *Hericium erinaceus* Strain liquid medium and exploration of fermentation condition were studied. The results showed that the best suitable medium among five tested medium was glucose 3%, soluble starch 2%, yeast extract 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.06%. According to the single factor experiment for getting best biomass, the optimal pH was 5.5; the optimal temperature was 27℃; optimal rotate speed was 180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$; optimal liquid volume was 120 mL per 250mL.

Key words: *Hericium erinaceus*; strain liquid; medium screening; fermentation condition

猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 又称猴头菌, 药效研究表明, 它含有多肽、多糖和酰胺等高分子化合物, 具有提高机体耐缺氧能力、提高心血输出量、加速血液循环、降低血糖和血压^[1]、保护肝^[2]、消炎和抑制肿瘤细胞生长等作用。猴头菌能通过增强腹腔巨噬细胞的吞噬作用进而增强机体的免疫功能和提高免疫力^[3]。此外它还对胃黏膜有较好的保护作用^[4]。最新研究表明其可作为一种神经因子刺激剂, 所以对神经衰弱有较好的效果。

目前多采用人工栽培的猴头菌子实体加工成各种药物和保健食品。但由于固体栽培生长周期长、产量低, 故有必要采取液体发酵。有关猴头菌的固体栽培技术已有许多报道, 但关于猴头菌液体发酵条件的研究报道甚少, 且结论不完全一致^[5-6]。为了

更好地开发和利用猴头菌资源, 我们将从文献中得到的 5 个培养基配方中筛选出最优的一个并且通过实验对影响猴头菌发酵的几个因素和这些因素对发酵得到的菌丝球生物量的影响进行了较为细致的研究, 以期能为猴头菌的高产发酵提供必要的科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌种

猴头菇由黑龙江八一农垦大学微生物与发酵工程教研室保藏。

1.2 培养基

PDA 斜面培养基(用于菌种活化及扩大): 土豆 20%、葡萄糖 2%、琼脂 2%、水 1 000 mL, pH 自然。

供选用培养基有以下五种: ① 麦麸皮 5% 过 60 目筛。辅料为葡萄糖 2%, 蛋白胨 0.5%, 酵母膏 0.2%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075%, VB_1 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[7]。② 葡萄糖 3%, 可溶性淀粉 2%, 酵母膏 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.06%。

收稿日期: 2007-12-19

第一作者简介: 洪秀杰(1970-), 女, 黑龙江省肇东市人, 学士, 农艺师, 主要从事微生物、作物栽培方面的研究。Tel: 0459-6100797; E-mail: hongxiujie1970@163.com。

通讯作者: 荆瑞勇(1978-), 男, 内蒙人, 现从事食用药用真菌的教学与科研工作。E-mail: jry_2002@126.com。

③ 土豆汁 20%, 葡萄糖 1%, 蔗糖 1%, 蛋白胨 0.5%, 酵母膏 0.5%, pH 自然。④ 葡萄糖 4%, 蛋白胨 0.5%, 酵母粉 0.2%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075%, VB_1 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 4~5。⑤ 蔗糖 1.25%, 淀粉 0.05%, 蛋白胨 0.1%, 酵母膏 0.125%, NaNO_2 0.05%, KH_2PO_4 0.025%, KCl 0.125%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0125%, pH 自然。

1.3 试验设计及方法

1.3.1 试验设计 在供试 5 种培养基中选出一种较适合供试猴头菇液体菌种发酵的培养基。在选定合适培养基后,对液体菌种发酵条件进行单因素试验,每种培养基 4 次重复。分别对转速、pH、温度、装液量进行试验。

1.3.2 生物量测定方法 发酵液经滤纸(烘干恒重)过滤,清水冲洗后 55°C 烘箱烘干,分析天平称重后与已烘干滤纸的差值计算单位体积菌丝球干重。

1.3.3 培养方法 ①斜面培养:从斜面切出蚕豆大小的菌丝块接种于斜面的中部,于 25°C 恒温箱中避光培养。②液体种子培养:将以活化的斜面菌种切割成 0.5 cm^2 大小的菌丝块,接种于液体培养基中,每瓶接 3 块大小均匀的菌丝块,250 mL 三角瓶装培养基 100 mL 在 25°C , $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 8 d。

2 结果与分析

2.1 培养基的筛选

在供试 5 组猴头菇液体菌种培养基中,在同一培养条件下(接种量为每瓶接种 0.5 cm^2 大小的斜面菌种,装液量为 $100 \text{ mL} \cdot (250 \text{ mL})^{-1}$, 25°C , $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 8 d)比较不同培养基对猴头菇液体菌种发酵的影响(见表 1)。

表 1 猴头菇液体菌种供试培养基筛选

培养基种类	培养基①	培养基②	培养基③	培养基④	培养基⑤
生物量/ $\text{g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$	—	1.03±	—	—	0.78±
		0.16			0.09

注:分析结果均以菌丝体干重为单位;—表示未培养出菌丝球。

从表 1 中可以看出,培养基①、③、④均未观测到猴头菌菌丝球。培养基②、⑤均能培养出猴头菇菌丝球,但经方差分析表明,培养基②的菌丝球干重高于培养基⑤,差异达极显著水平($n=4$, $\alpha=0.01$),故本试验选择培养基②作为最优培养基配方。

2.2 发酵条件筛选

2.2.1 pH 对猴头菇液体菌种发酵的影响 选用培养基②分别在 pH 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 进行培养,其他条件相同[接种量为每瓶接种 0.5 cm^2 大小的斜面菌种,装液量为 $100 \text{ mL} \cdot (250 \text{ mL})^{-1}$,

25°C , $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 8 d]。从图 1 结果可见,培养基初始 pH 是 5.5 时菌丝体的生物量最大。这与乐超银等^[8]的研究结果一致。初始 pH 在 4.0~4.5 对菌丝体的生物量影响不大。如果培养基过酸或过碱则会影响菌丝体的生长。有关资料表明猴头菌必须在中等酸度环境下才能分解培养基中的有机物质^[9]。

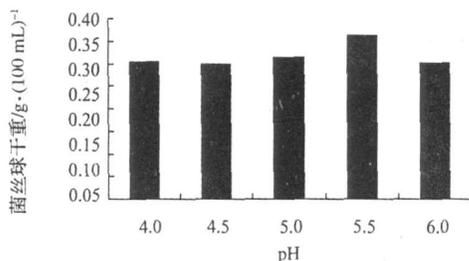


图 1 不同 pH 对猴头菇液体菌种生物量的影响

2.2.2 温度对猴头菇液体菌种发酵的影响 选用培养基②分别在温度 23、25、27、 29°C 进行培养,其他条件相同[接种量为每瓶接种 0.5 cm^2 大小的斜面菌种 2~3 块,装液量为 $100 \text{ mL} \cdot (250 \text{ mL})^{-1}$,起始 pH 为 5.5, $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 8 d]。

从图 2 结果可见,不同温度的菌丝体生物量差异显著($n=3$, $\alpha=0.05$),在供试的温度范围内,随着温度的升高菌丝体的生物量逐渐增大,达到 27°C 时,菌丝体干重最大,之后菌丝体生物量数值下降。即在供试的温度梯度值中最佳温度为 27°C 。有文献报道,从菌丝体生物量看最佳温度范围应在 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 。温度主要是通过影响猴头菌体内的某些酶的活性和生化反应的进行程度以及反应方向来影响菌丝体的生物量的。温度低则菌体生长慢,菌丝体生长也慢;温度过高则菌体生长过快,菌丝生长缓慢故菌丝球生物量下降。

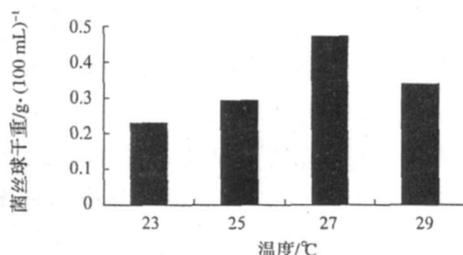


图 2 不同温度对猴头菇液体菌种生物量的影响

2.2.3 装液量对猴头菇液体菌种发酵的影响 选用培养基②分别在 250 mL 三角瓶中装液量为 60、80、100、120 mL 进行培养,其他条件相同[接种量为每瓶接种 0.5 cm^2 大小的斜面菌种, 27°C , 起始 pH 为 5.5, $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 8 d]。

由图 3 结果可见,在 250 mL 三角瓶中装液量为 120 mL 时菌丝球干重最大。溶氧是液体发酵的一个重要工艺参数。但对于摇瓶发酵因其本身容量

较小,故通过改变装液量来改变其溶氧是有限的。同时由于发酵过程中发酵液蒸发等工艺原因容易造成实验误差。因此装液量值与其它文献中得出的100 mL是最佳装液量的结论^[8]不同,有待于实验进一步验证。

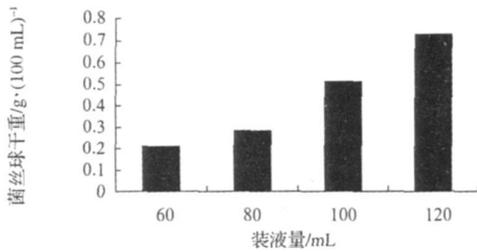


图3 不同装液量对猴头菇液体菌种生物量的影响

2.2.4 转速对猴头菇液体菌种发酵的影响 选用培养基②分别在转速120、150、180、210 $r \cdot \min^{-1}$ 摇床进行培养,其他条件相同|接种量为每瓶接种0.5 cm^2 大小的斜面菌种,27℃,起始pH为5.5,装液量为120 mL·(250 mL)⁻¹培养8 d(见图4)。

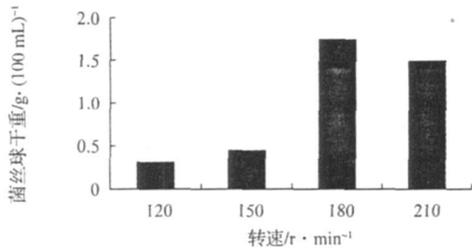


图4 不同转速对猴头菇液体菌种生物量的影响

摇床转速可以改变溶氧。溶氧通过参与到猴头菇发酵的生理和生化反应过程中(如氧化培养基中的物质使其参与代谢)来影响菌丝体的生长。从图4可以看出180 $r \cdot \min^{-1}$ 时有利于菌丝体的生长,菌丝体的生物量最大。转速过小则会影响溶氧进而影响菌丝的生长;转速过大会迫使菌丝成块、结团从而抑制了菌丝的生长^[10]。

比较观察图1~4可见,在实验设计所给的梯度值范围内菌丝球生物量随着pH、温度、转速均是先升高后降低,最适宜值分别为5.5、27℃、180 $r \cdot \min^{-1}$ 。另外,菌丝球质量则是在实验给的范围,随着装液量增加而增大,最佳装液量范围应为100~120 mL·(250 mL)⁻¹。

3 结论与讨论

在供试的培养基中筛选出最优的一组培养基配方为葡萄糖3%,可溶性淀粉2%,酵母膏1%, KH_2PO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.06%。在此培养基的基础上做单因素实验得出最佳pH为5.5;最佳温度:27℃;最佳转速:180 $r \cdot \min^{-1}$;最佳装液量:120 mL·(250 mL)⁻¹。

猴头菇液体发酵培养基的筛选和液体发酵的研

究工作经过国内许多专家的辛勤努力,已经取得了很大的成就。液体发酵以其纯度高、菌龄整齐、周期短、成本低、产量高等优点而逐渐被应用。但是,由于食用菌本身的生物学特性,造成了用于工厂生产的高产低成本的培养基不好筛选和发酵条件不好控制和优化等问题。因此,需要科研人员长期不懈的努力。总的来说,只有猴头菇的培养基筛选工作进一步做好,筛选出可以投入工厂生产的高产、低成本的猴头菇培养基,并且猴头菇液体发酵条件再通过进一步做正交试验达到最优化组合,猴头菇的生产才能达到工厂化、规模化和集团化。猴头菇固体食用营养价值利用不高,由于猴头菇液体发酵可以产生真菌多糖,因此利用其发酵液制成特殊功能的保健饮品或者添加到饮料中加工变成液体饮料^[11],它的价值会体现得更充分。当猴头菇液体发酵工厂化、规模化、集团化和猴头菇的加工方法由固体加工向液体加工转变时,猴头菇的资源才会被更好的开发和利用。

参考文献:

- [1] Chang R. Functional properties of edible mushrooms[J]. Nutr Rev, 1996, (54): 91-93.
- [2] 钱伏刚, 杜上鉴, 徐光漪, 等. 齐墩果酸皂苷的分离与鉴定[J]. 中草药, 1988, 19(7): 290.
- [3] 杨焱, 周昌艳, 王晨光, 等. 猴头菇多糖调节机体免疫功能的研究[J]. 食用菌学报, 2000, 7(1): 19-22.
- [4] 刘梅森, 陈海晏, 郝俊光, 等. 猴头菇液体发酵研究进展[J]. 食品科学, 1998, 19(6): 11-14.
- [5] 陈士瑜, 田敬华, 金针菇. 猴头菇栽培新技术[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1986, 9-24.
- [6] 黄新汉. 几种食用菌菌丝对不同碳源的利用[J]. 食用菌, 1990, 12(3): 10-13.
- [7] 刘艳芳. 猴头菇深层发酵培养基筛选[J]. 食用菌学报, 2003, 10(3): 26-31.
- [8] 蔡德华, 董洪新. 猴头菇液体发酵条件的研究[J]. 中国食用菌, 1999, 18(3): 32-34.
- [9] 蔡德华, 董洪新. 猴头菇液体发酵的环境条件试验[J]. 湖北农业科学, 2003, 20(3): 32-35.
- [10] 刘梅森, 陈海晏, 郝俊光, 等. 猴头菇液体发酵研究进展[J]. 食品科学, 1998, 19(6): 12-15.
- [11] 孙青春, 房慧婧, 周健莉. 猴头菇深层发酵及营养液研究初探[J]. 广州食品工业科技, 2000, 16(2): 38-41.

