

不同培养基配方对北虫草中蛋白质和氨基酸含量的影响

刘芳^{1,2}, 李帅¹, 高剑¹, 杨传伟¹, 于爽¹

(1. 牡丹江师范学院 生命科学与技术学院, 黑龙江 牡丹江 157011; 2. 牡丹江林业科学研究所, 黑龙江 牡丹江 157009)

摘要: 为了提高北虫草的营养价值, 通过不同培养基配方培养北虫草, 用凯氏定氮法和氨基酸自动分析仪测定各配方中蛋白质和氨基酸含量, 分析不同培养基配方对北虫草中蛋白质和氨基酸含量的影响。结果表明: 配方 C(大米 40 g, 1 号营养液 56 mL) 中蛋白质平均含量最高, 为 $20.430\text{ g}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 。配方 A(玉米 40 g, 1 号营养液 56 mL) 中必需氨基酸含量、非必需氨基酸含量、总氨基酸含量均最高, 分别为 3.882 , 12.512 , $16.394\text{ g}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 。

关键词: 北虫草; 培养基配方; 蛋白质; 氨基酸

中图分类号: Q949.327.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2015)12-0015-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.12.0015

北虫草(*Cordyceps militaris*)是北冬虫夏草的简称, 又名蛹虫草、东北虫草、武氏虫草。北虫草与冬虫夏草同属异种, 是虫草真菌的模式种^[1], 北虫草的化学成分、营养成分和药理功能与冬虫夏草相似, 其主要药用成分含量高于冬虫夏草, 且比冬虫夏草易于栽培, 因此被选为冬虫夏草的最佳替代品^[2]。北虫草中含有多种有效活性成分, 如蛋白质、虫草多糖、虫草酸、虫草素以及各种氨基酸和人体所需的微量元素^[3-4]。目前, 对北虫草有效成分的研究主要集中在虫草素和虫草多糖上, 对北虫草中蛋白质和氨基酸的研究鲜有报道。蛋白质和氨基酸是衡量药用植物营养价值的重要指标^[5]。因此, 研究北虫草中蛋白质和氨基酸含量对其开发利用意义深远^[6-12]。本研究通过不同培养基栽培北虫草, 分析不同培养基配方对北虫草中蛋白质和氨基酸含量的影响, 以期在北虫草的营养价值研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试北虫草液体栽培菌种由黑龙江省牡丹江林业科学研究所提供。试验仪器有高压灭菌锅、

电子天平、超净工作台、真空泵、凯氏定氮蒸馏装置、恒温干燥箱、水解管、真空干燥器、氨基酸自动分析仪。

1.2 方法

1.2.1 营养液配方 1 号营养液: 葡萄糖 20 g、蛋白胨 10 g、磷酸二氢钾 2 g、硫酸镁 2 g、复合维生素 B 10 mg, 用水定溶至 1 000 mL。2 号营养液: 葡萄糖 20 g、蛋白胨 10 g、磷酸二氢钾 2 g、硫酸镁 2 g、维生素 B₁ 10 mg, 用水定溶至 1 000 mL。

1.2.2 培养基配方 A: 玉米 40 g、1 号营养液 56 mL。B: 玉米 40 g、2 号营养液 56 mL。C: 大米 40 g、1 号营养液 56 mL。D: 大米 40 g、2 号营养液 56 mL。E: 小麦 40 g、1 号营养液 56 mL。F: 小麦 40 g、2 号营养液 56 mL。

1.2.3 菌种栽培 将制备好 6 组的培养基罐装至 580 mL 虫草培养瓶内, 用聚丙烯薄膜封口。将高压灭菌锅升温至 121℃ 灭菌 30 min 取出, 待培养瓶冷却, 在超净工作台按无菌操作要求用接种枪接入液体菌种, 每瓶接入 3.2 mL。将接种完的培养瓶移入培养架内, 前 7 d 菌丝培养期用遮光布盖住培养瓶避光培养。待菌丝长满并穿透培养瓶底部取下遮光布, 使菌丝见光转色。打开加湿器把空气相对湿度控制在 65%~80%。当白色菌丝转为橘黄色菌丝且变成凸起的小米粒即为转色成功, 进入出芽阶段, 小芽长至 1 cm 用消毒过的牙签在每个培养瓶上扎 3~5 个眼以便透气

收稿日期: 2015-07-21
基金项目: 黑龙江省教育厅面上资助项目(12541838)
第一作者简介: 刘芳(1985-), 女, 黑龙江省牡丹江市人, 在读硕士, 工程师, 从事植物生物、生理学研究。E-mail: mdjkslf@163.com。
通讯作者: 于爽(1974-), 女, 黑龙江省牡丹江市人, 在读博士, 教授, 从事植物学、植物生理学研究。E-mail: swxys@126.com。

通风。接种后 50~65 d 当子座呈橘红色棒状不再生长时即表明北虫草已成熟,采收后于 40℃烘干至恒重后粉碎,过 120 目筛,备用。

1.2.4 测试及统计 ①蛋白质测定:按照 GB 5009.5-2010 食品中蛋白质的测定方法测定蛋白质含量。每种配方随机抽取 9 个样品,按要求进行试样处理,用凯氏定氮法测定其蛋白质含量。②氨基酸测定:按照 GB 5009.124-2003 食品中氨基酸的测定方法测定氨基酸含量。准确称取北虫草粉末样品,按要求处理后,用氨基酸自动分析仪,依次进样分析测定氨基酸的种类和含量。

1.2.5 数据分析 采用 SPSSv16.0 统计软件和 Duncan 法进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养基配方对北虫草中蛋白质含量的影响

由表 1 可以看出,蛋白质平均含量由大到小依次为配方 C、A、E、D、F、B。配方 C 中蛋白质平均含量最高,为 20.430 g·(100 g)⁻¹。配方 B 中蛋白质含量最低,为 17.914 g·(100 g)⁻¹。同种固体培养基下,配方 A 中蛋白质含量比配方 B 高出 1.705 百分点,配方 C 比配方 D 高出 1.53 百分点,配方 E 比配方 F 高出 1.071 百分点。

表 1 不同培养基配方中北虫草蛋白质含量比较

Table 1 Protein content of different culture medium formula in <i>Cordyceps militaris</i>	
配方 Formula	平均蛋白质含量/(g·(100 g) ⁻¹) Protein content
A	19.619 ab
B	17.914 c
C	20.430 a
D	18.900 bc
E	19.163 abc
F	18.092 c

表 2 不同培养基配方中北虫草氨基酸的组成与含量分析

Table 2 Analysis on composition and content of the amino acid of different culture medium formula in <i>Cordyceps militaris</i>						
氨基酸名称 Amino acid	氨基酸含量/(g·(100 g) ⁻¹) Amino acid content					
	A	B	C	D	E	F
天冬氨酸 Asp	2.080	0.733	2.429	1.741	1.595	1.295
苏氨酸 Thr	0.991	0.464	0.784	0.824	0.930	0.667

方差分析和多重比较结果表明,配方 E 与其它 5 种配方培养基差异均不显著。配方 B 与配方 A、配方 C 有显著差异。配方 F 与配方 A、配方 C 有显著差异。配方 D 与配方 C 差异显著。以大米、玉米、小麦为培养基质的各培养基中,在营养液中添加适量的复合维生素 B 的北虫草蛋白质明显高于其它各培养基配方。可见,微量的复合维生素 B 在提高北虫草蛋白质上起一定作用。复合维生素 B 中主要成分为维生素 B₁、B₂、B₆,烟酰胺和泛酸钙等,其中的有效成分为北虫草中蛋白质的合成提供了营养需求。

2.2 不同培养基配方对北虫草中氨基酸的组成与含量的影响

由表 2 可见,6 种北虫草培养基配方中,均含有天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、脯氨酸。苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸为人体必需氨基酸。配方 A 中,苏氨酸、丝氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、精氨酸含量最高。配方 C 中,天冬氨酸和脯氨酸含量最高。配方 E 中,丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、组氨酸含量最高。其中,配方 A 中必需氨基酸含量为 3.882 g·(100 g)⁻¹、非必需氨基酸含量为 12.512 g·(100 g)⁻¹,总氨基酸含量为 16.394 g·(100 g)⁻¹,居 6 种配方中氨基酸含量之首。其次为配方 E,必需氨基酸、非必需氨基酸、总氨基酸含量分别为 3.634、12.471、16.105 g·(100 g)⁻¹,略低于配方 A。

配方 A、C、E 中均使用了添加复合维生素 B 的 1 号营养液,其中的各氨基酸含量明显高于其它 3 种培养基配方。由此得出,在北虫草培养基的营养液中适量添加复合维生素 B 可以提高各组分氨基酸含量。

续表 2 Continuing Table 2

氨基酸名称 Amino acid	氨基酸含量/(g·(100 g) ⁻¹) Amino acid content					
	A	B	C	D	E	F
丝氨酸 Ser	1.033	0.460	0.724	0.854	1.033	0.764
谷氨酸 Glu	1.763	0.576	1.004	1.818	2.270	1.704
甘氨酸 Gly	0.787	0.271	0.560	0.732	0.855	0.630
丙氨酸 Ala	1.619	0.858	1.219	1.332	1.734	1.251
缬氨酸 Val	0.384	0.174	0.275	0.295	0.351	0.282
蛋氨酸 Met	0.114	0.051	0.069	0.085	0.119	0.101
异亮氨酸 Ile	0.243	0.112	0.194	0.211	0.234	0.202
亮氨酸 Leu	0.797	0.365	0.493	0.541	0.717	0.601
酪氨酸 Tyr	1.128	0.442	0.705	0.776	0.964	0.750
苯丙氨酸 Phe	0.487	0.155	0.279	0.295	0.433	0.321
组氨酸 His	2.599	0.815	1.891	2.091	2.685	1.757
赖氨酸 Lys	0.866	0.400	0.614	0.851	0.850	0.718
精氨酸 Arg	1.168	0.574	0.923	1.106	1.009	0.814
脯氨酸 Pro	0.335	0.321	1.205	0.698	0.326	0.651
必需氨基酸 E	3.882	1.721	2.708	3.102	3.634	2.892
非必需氨基酸 N	12.512	5.050	10.66	11.148	12.471	9.616
总氨基酸 T	16.394	6.771	13.368	14.250	16.105	12.508

3 结论

试验结果表明,以大米、小麦、玉米为固体基质,在营养液中添加微量的复合维生素 B 或维生素 B₁ 培养北虫草,北虫草子实体中均含有丰富的蛋白质和氨基酸。而在营养液中添加复合维生素 B 的北虫草中蛋白质和氨基酸含量大多高于在营养液中添加维生素 B₁ 的各培养基。若以蛋白质为营养价值评价指标,配方 C(大米加 1 号营养液)最好,而以各组分氨基酸为营养价值评价指标,则配方 A(玉米加 1 号营养液)最好。

综上分析,以大米、玉米为固体培养基质,在营养液中添加微量的复合维生素 B 可有效提高北虫草子实体中蛋白质和氨基酸含量,增加其营养价值。从经济效益考虑,北方为大米、玉米主产区且价格适宜,复合维生素 B 价格低廉且用量较少,所以,以此为培养基配方培养北虫草是提高北虫草营养价值的最佳选择。

参考文献:

[1] 金田,石俊英.近五年北虫草药理作用研究进展[J].食品与药品,2011,13(9):358-361.

[2] 叶博.北虫草药理作用研究[J].安徽农学通报,2009,15(9):52-54.

[3] 翁梁,温鲁.不同配方下固体培养蛹虫草活性成分含量比较[J].江苏农业科学,2014,42(11):351-353.

[4] 秦秀丽,邢力,尹锐,等.北冬虫夏草人工培养固体培养基优化研究[J].北方园艺,2013,285(6):149-152.

[5] 张鸭关,刘品华,汪帆.云南玛咖地上部分氨基酸含量的测定[J].贵州农业科学,2014,42(12):56-59.

[6] 郑壮丽,黄春花,梅彩英,等.蛹虫草国内外研究的新进展[J].环境昆虫学报,2011,33(2):225-233.

[7] 宋洁,张鹏辉,王倩,等.高温季节不同培养基栽培北虫草的实验研究[J].辽东学院学报:自然科学版,2014,21(1):29-31.

[8] 都兴范,米军,米锐,等.蛹虫草和冬虫夏草主要活性成分含量比较[J].食用菌,2010,32(6):61-62.

[9] 杨强,刘金龙,郑小江,等.提高蛹虫草质量和产量的综合生产技术研究[J].湖北农业科学,2012,51(18):4069-4081.

[10] 刘华晶,许修宏,高士刚.不同培养基对北虫草生长的影响[J].东北农业大学学报,2004,35(3):325-328.

[11] 李晨曦,范青生,姜兴华.蛹虫草蛋白质的碱法提取工艺[J].食品与发酵工业,2012,38(12):185-188.

[12] 杨杰,程红艳,韩晓芳,等.蛹虫草人工栽培研究进展[J].山西农业科学,2011,39(7):747-750.