



李德毓,司豆豆,彭浩,等.桑树桑黄液体发酵及多糖提取工艺优化[J].黑龙江农业科学,2024(6):64-70.

桑树桑黄液体发酵及多糖提取工艺优化

李德毓^{1,2},司豆豆^{1,2},彭浩^{1,2},曹伟刚³,郑晓芹³,张升明⁴

(1. 陕西理工大学 生物科学与工程学院,陕西 汉中 723001; 2. 陕西省汉中市科技资源统筹中心,陕西 汉中 723001; 3. 陕西省汉中市秦巴生态保护中心,陕西 汉中 723001; 4. 陕西省西乡县食用菌研究所,陕西 汉中 723500)

摘要:桑树桑黄是一种具有良好药效的药用多孔菌,其多糖是主要活性成分之一,具有抗肿瘤、抗氧化、免疫调节和其他药理作用。为提高桑树桑黄菌丝体干重及桑黄多糖得率,采用单因素和正交试验对影响桑黄菌丝体干重的培养基配方及液体发酵培养条件进行优化;利用超声波辅助提取法对桑黄多糖提取工艺条件进行优化。结果表明,桑树桑黄最佳培养基配方为马铃薯(去皮)200 g·L⁻¹、乳糖 32 g·L⁻¹、胰蛋白胨 10 g·L⁻¹、NaCl 2.00 g·L⁻¹、MgSO₄·7H₂O 1 g·L⁻¹、VB₁ 10.0 mg·L⁻¹,获得菌丝体干重为 2.82 g·L⁻¹。在温度 28 ℃,接种量 9%,转速 180 r·min⁻¹,pH6.0 条件下,最大菌丝量为 3.12 g·L⁻¹。桑黄多糖最佳提取工艺为超声波功率 200 W,料液比 1:60 g·mL⁻¹,提取时间 40 min,温度 50 ℃,此时桑黄多糖得率为 5.54%。说明本研究优化的桑树桑黄培养基配方、发酵条件及多糖提取工艺合理、可行。

关键词:桑树桑黄;液体发酵;多糖;超声波辅助提取法

桑树桑黄(*Sanghuangporus sanghuang*)是一种珍稀的药用真菌,隶属于担子菌门伞菌纲锈革孔菌目锈革孔菌科桑黄孔菌属(*Sanghuangporus*)^[1]。其主要在桑树的枝干上产生^[2],多年生,无柄,生长初期呈金黄色,成熟后颜色转变为灰、褐甚至黑色,子实体菌盖呈半球形,剖面呈扁平马蹄形,表面龟裂、木质化^[3],菌肉浅咖啡色或锈褐色^[4]。由于环境因素及其生理生态的特殊性,导致野生桑黄子实体稀少,人工栽培尚未实现大规模生产,无法满足市场需求。

研究表明,桑黄菌丝体与子实体生物活性成分相似,而菌丝体提取物同样具有抗肿瘤^[5-6]、抗癌、抗氧化等作用^[7]。由于桑黄抗癌作用的主要成分是多糖,国内外对桑黄的研究也主要集中在液体发酵提取物所含的活性物质上,主要包括桑黄多糖及多糖提取分离纯化以及相关药理研究。桑树桑黄含有多糖、黄酮、萜类等^[8]多种生物活性成分,其药理活性物以多糖为主,桑黄多糖主要分为胞内和胞外多糖。目前国内对桑黄多糖的抗肿瘤、抗氧化、降血糖^[9]、护肝、免疫调节^[10-13]等药理学方面进行了深入研究,现已证明桑黄多糖在抗肿瘤方面的效果比灵芝、巴西蘑菇等传统药用菌类更好,同时还能与传统抗肿瘤药物产生协同

效应^[14]。

随着产业技术的发展,超声波辅助提取法^[15-16]用于从真菌或植物中提取活性物质,与传统提取方法相比,该技术具有反应条件温和、提取率高、周期短、成本低等优势^[17-19],其技术在桑黄多糖提取的研究中相对较少。

本研究采用单因素和正交试验,筛选桑树桑黄液体发酵的最佳培养基和发酵条件;利用超声波辅助提取法对桑黄多糖进行提取,优化多糖最佳工艺条件,以期提升桑黄液体发酵及多糖提取的工业化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 桑树桑黄菌株由陕西理工大学生物科学与工程学院提供。

1.1.2 培养基 PDA 斜面培养基:马铃薯(去皮)200 g·L⁻¹,葡萄糖 20 g·L⁻¹,蛋白胨 5 g·L⁻¹,KH₂PO₄ 5 g·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 3 g·L⁻¹,VB₁ 10.0 mg·L⁻¹,18 g 琼脂,pH 自然。

种子液培养基:马铃薯(去皮)200 g·L⁻¹,葡萄糖 20 g·L⁻¹,蛋白胨 5 g·L⁻¹,KH₂PO₄ 5 g·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 3 g·L⁻¹,VB₁ 10.0 mg·L⁻¹,pH 自然。

收稿日期:2024-01-23

基金项目:陕西省教育厅科技计划项目(20JS024);陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心项目(SLGPT2019KF02-01);秦巴生物资源与生态环境省部共建国家重点实验室(培育)“市校共建”科研专项(SXC-2307);西乡县技术创新和新产品试制项目(XXKJ-2021-02)。

第一作者:李德毓(1997—),女,硕士研究生,从事微生物资源保育与应用开发研究。E-mail:1750186028@qq.com。

通信作者:彭浩(1979—),男,硕士,副教授,从事微生物资源的保护与利用研究。E-mail:huaohao808@126.com。

液体发酵培养基:马铃薯(去皮)200 g·L⁻¹,葡萄糖 30 g·L⁻¹,蛋白胨 10 g·L⁻¹,KH₂PO₄ 2 g·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 1 g·L⁻¹,VB₁ 10.0 mg·L⁻¹,pH 自然。以上培养基于高压灭菌锅内 121 ℃,灭菌 20 min 备用。

1.1.3 试剂与溶液 马铃薯、红糖(市售)。葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、乳糖、麦芽糖、尿素、硫酸铵、K₂HPO₄、CaCl₂、KH₂PO₄、NaCl、FeSO₄、蛋白胨(均为分析纯)、琼脂、牛肉粉、酵母浸粉、胰蛋白胨(生物试剂)和维生素 B₁,均购自天津市科密欧化学试剂有限公司。95%乙醇和无水乙醇(分析纯)购自天津市富宇精细化工有限公司。

1.1.4 主要仪器设备 752N 紫外可见分光光度计(上海仪电分析仪器);DZKW-D-2 电热恒温水浴锅(北京永光明医疗仪器);JA3003N 电子天平(上海佑科仪器);BSD-WX2200 卧式智能精密摇床(上海博讯医疗设备厂);BSP-400 生化培养箱(上海博讯医疗设备厂);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山超声仪器)。

1.2 方法

1.2.1 培养方法 (1)菌株活化。将保藏的菌株用接种锄切取 0.50 cm² 菌块,接种到 PDA 斜面培养基上,25 ℃培养箱中培养 7~10 d,待菌丝长满斜面后,于 4 ℃冰箱保藏。

(2)种子液制备。将活化好的菌株用接种锄切取 0.50 cm² 菌块接种于种子液培养基中,装液量为 150 mL/250 mL,180 r·min⁻¹,28 ℃恒温培养 7 d。

(3)发酵液培养。将种子液按 5% 比例的接种量接种到液体发酵培养基中,装液量为 150 mL/250 mL,180 r·min⁻¹,28 ℃恒温培养 7 d。

1.2.2 培养基配方单因素实验 (1)碳源筛选。桑黄发酵液分别加入 30 g·L⁻¹ 的红糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、可溶性淀粉替代液体发酵培养基中的葡萄糖,其余各成分比例同 1.1.2 中液体发酵培养基。装液量为 150 mL/250 mL,28 ℃,180 r·min⁻¹ 培养 7 d,确定最佳碳源。

(2)氮源筛选。桑黄发酵液分别加入 10 g·L⁻¹ 的尿素、牛肉粉、胰蛋白胨、酵母浸粉、硫酸铵替代液体发酵培养基中的蛋白胨,其余各成分比例同 1.1.2 中液体发酵培养基。发酵条件同上,确定最佳氮源。

(3)无机盐筛选。桑黄发酵液分别加入 2 g·L⁻¹ 的 CaCl₂、K₂HPO₄、FeSO₄、NaCl 为代替液体发酵培养基中的 KH₂PO₄,以只加 MgSO₄ 为对照,其余各成分比例同 1.1.2 中液体发酵培养基。发酵条件同上,确定最佳无机盐。

1.2.3 培养基配方正交试验 在单因素实验的基础上,以菌丝体干重为评价指标,选取碳源(A)、氮源(B)、无机盐(C) 3 个因素,设置 3 组平行进行正交试验,试验因素及水平见表 1。

表 1 L₉(3³)正交试验因素与水平

水平	因素		
	A 碳源/(g·L ⁻¹)	B 氮源/(g·L ⁻¹)	C 无机盐/(g·L ⁻¹)
1	28	8	1.80
2	30	10	2.00
3	32	12	2.20

1.2.4 液体发酵条件单因素实验 (1)温度筛选。将种子液按 5% 比例接种于优化后的培养基中,在转速 180 r·min⁻¹ 摇床上以 24,26,28 和 30 ℃ 培养 7 d。

(2)转速筛选。将种子液按 5% 比例接种于优化后的培养基中,在 28 ℃ 恒温摇床上以转速 160,180,200 和 220 r·min⁻¹ 培养 7 d。

(3)pH 筛选。将种子液按 5% 比例接种于优化后的培养基中,分别选择 pH 为 4,5,6 和 7 的培养基以转速 180 r·min⁻¹ 培养 7 d。

(4)接种量筛选。将种子液按 5% 比例接种于优化后的培养基中,分别选择 7%、9%、11%、13% 的接种量以 180 r·min⁻¹ 培养 7 d。

1.2.5 菌丝体干重测定 将发酵液进行抽滤,用蒸馏水洗涤 3 次后,65 ℃ 烘干并称量。

1.2.6 多糖提取条件单因素实验 对液体发酵所得的菌丝体进行抽滤,蒸馏水洗涤 2~3 次,65 ℃ 烘干后研磨,过 60 目筛后备用。

(1)超声波功率筛选。称 5 份 0.20 g 桑树桑黄菌丝粉末进行超声波辅助提取,料液比 1:20 g·mL⁻¹,温度 40 ℃,时间 40 min,设置超声波功率为 100,200,300,400 和 500 W,各提取 1 次,3 组重复,确定最佳超声波功率。

(2)料液比筛选。称 5 份 0.20 g 菌丝粉末后同上方法提取,超声功率 100 W,温度 40 ℃,时间 40 min,设置料液比(g:mL)为 1:20、1:40、1:60、1:80、1:100,处理组同上,确定最佳料液比。

(3)提取时间筛选。称 5 份 0.20 g 菌丝粉末后进行提取,超声功率 100 W,温度 40 ℃,料液比 1:20 g·mL⁻¹,设置提取时间为 35,40,45,50 和 55 min,处理组同上,确定最佳提取时间。

(4)提取温度筛选。称 5 份 0.20 g 菌丝粉末后进行提取,超声功率 100 W,时间 40 min,料液比 1:20,设置提取温度为 40,45,50,55 和 60 ℃,处理同上,确定最佳提取温度。

1.2.7 多糖提取条件正交试验 在单因素实验的基础上,选取超声波功率(A)、料液比(B)、提取时间(C)、提取温度(D)4个因素,以多糖得率为评价指标,设置3组平行进行正交试验,试验因素及水平见表2。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验因素与水平

水平	因素			
	A	B	C	D
	超声功率/W	料液比	提取时间/min	提取温度/℃
1	200	1:20	40	45
2	300	1:40	45	50
3	400	1:60	50	55

1.2.8 桑黄多糖含量测定 (1)葡萄糖标准液配制。精密称取1g葡萄糖标准品于105℃下烘干至恒重。溶解并稀释于100mL容量瓶中,配制10.00mg·mL⁻¹的标准储备溶液,再精密吸取1mL储备溶液至100mL中,配制成0.10mg·mL⁻¹葡萄糖标准溶液。

(2)标准曲线制作。分别在试管中加入0.20,0.30,0.40,0.50,0.60,0.70,0.80和0.90mL葡萄糖标准液,加蒸馏水至1mL,并在试管中加入0.50mL5%苯酚溶液,再加入2.50mL浓硫酸,摇匀并静置10min,然后将试管放入沸水浴中加热20min,冷却至室温,以蒸馏水为对照组,于490nm处测吸光度。以X为浓度(mg·mL⁻¹)、Y为吸光度(A),用Excel2017绘制标准曲线,得到: $Y=14.131X-0.0485, R^2=0.9971$ 。

(3)桑黄多糖提取工艺流程。将菌丝体抽滤、烘干及研磨(过60目筛)→超声提取→离心

(8000r·min⁻¹,20min)→浓缩→醇沉(4倍体积无水乙醇醇沉过夜)→离心(8000r·min⁻¹,20min),即得到粗多糖,用苯酚-硫酸法测定多糖含量。

多糖得率(%)= $\frac{\text{多糖含量(mg)}}{\text{菌丝体质量(g)}} \times 100$

1.2.9 数据分析 试验数据采用Excel2017进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 培养基配方试验结果

2.1.1 培养基配方单因素实验结果 通过考察不同碳源、氮源和无机盐种类对桑树桑黄菌丝体干重的影响,筛选出最佳培养基配方。由图1A可知,培养基中不同碳源种类对桑树桑黄菌丝体干重产生不同的影响,乳糖作为碳源时,菌丝体干重达到最大,为2.65g·L⁻¹,且显著高于其他碳源,表明桑树桑黄菌丝体对乳糖的利用率较高,其次为红糖、麦芽糖、蔗糖、可溶性淀粉。

图1B为不同氮源培养基对菌丝体干重的影响,添加胰蛋白胍为氮源时,菌丝体干重达到最大值,为0.37g·L⁻¹,牛肉粉、酵母浸粉和尿素之间无明显差异,硫酸铵为氮源时桑黄菌丝体干重最小。

图1C为不同无机盐培养基对菌丝体干重的影响,菌丝体干重大小依次为氯化钠+硫酸镁>硫酸亚铁+硫酸镁>氯化钙+硫酸镁>磷酸氢二钾+硫酸镁>空白(含硫酸镁),其中添加氯化钠+硫酸镁时,桑树桑黄菌丝体干重最大,为1.19g·L⁻¹。由此可确定最佳碳源为乳糖,最佳氮源为胰蛋白胍,最佳无机盐为氯化钠+硫酸镁。

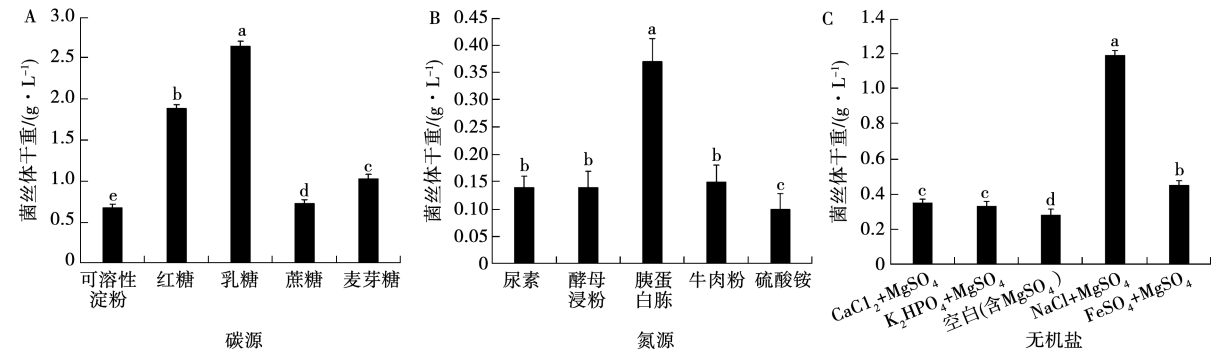


图 1 不同碳源(A)、氮源(B)、无机盐(C)培养基对桑树桑黄菌丝体干重的影响

注:不同小写字母代表处理间差异显著(P<0.05)。下同。

2.1.2 培养基配方正交试验结果 由表3可知,影响桑树桑黄菌丝体干重的因素主要顺序为C(无机盐)>A(碳源)>B(氮源);最佳培养基配方

为A₃B₂C₂,即在乳糖32g·L⁻¹,胰蛋白胍10g·L⁻¹,氯化钠2.00g·L⁻¹的条件下,菌丝体干重达到2.77g·L⁻¹。

表 3 正交试验结果

序号	因素			菌丝体干重/ (g·L ⁻¹)
	A	B	C	
1	1	1	1	1.805
2	1	2	2	2.526
3	1	3	3	1.789
4	2	1	2	2.509
5	2	2	3	2.095
6	2	3	1	1.854
7	3	1	3	2.373
8	3	2	1	2.448
9	3	3	2	2.391
K1	6.120	6.687	6.107	
K2	6.458	7.069	7.426	
K3	7.212	6.034	6.257	
k1	2.04	2.23	2.04	
k2	2.15	2.36	2.48	
k3	2.40	2.01	2.09	
R	0.36	0.35	0.44	

注:表中菌丝体干重为 3 组平行的平均值。

2.1.3 最佳培养基配方验证试验 根据上述试验所得最佳培养基配方的配比进行验证试验,设

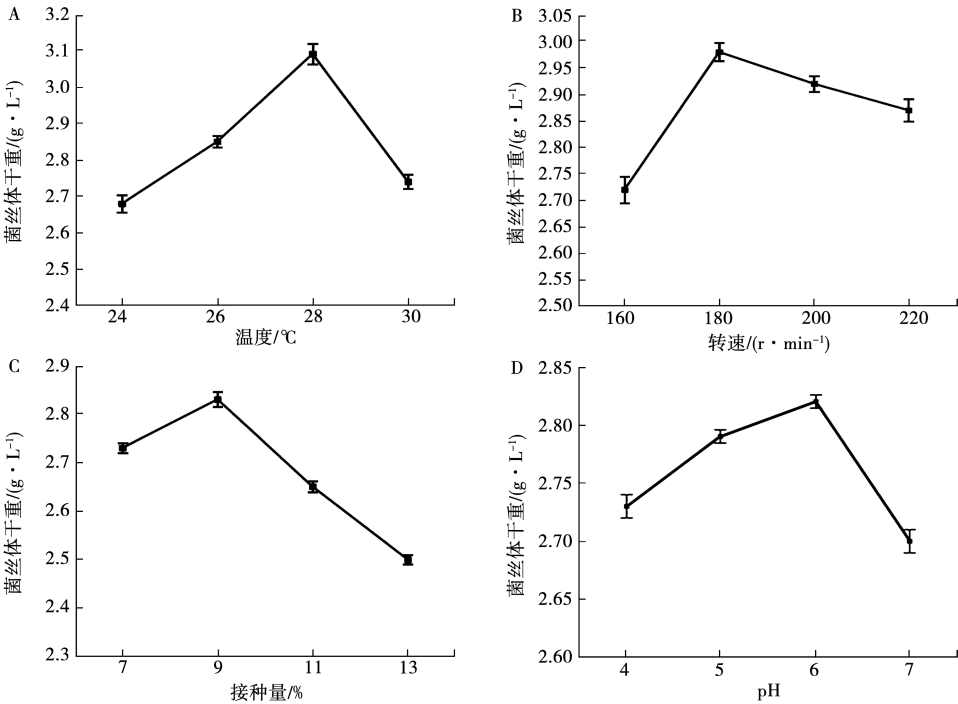


图 2 温度(A)、转速(B)、接种量(C)及 pH(D)对桑树桑黄菌丝体干重的影响

2.2.2 最佳液体发酵条件验证试验 在最佳发酵条件下进行验证试验,设置 3 组平行,测得桑树桑黄菌丝体干重为 3.12 g·L⁻¹,验证结果与 2.2.1

置 3 组平行,测得菌丝体干重分别为 2.81,2.79 和 2.86 g·L⁻¹,平均值为 2.82 g·L⁻¹,验证结果与正交试验结果相差较小。

2.2 液体发酵条件试验结果

2.2.1 单因素试验结果 由图 2A 可知,随着温度的升高,桑黄菌丝体干重先增加后减少,当温度为 28 ℃时菌丝干重达到最大值(3.09 g·L⁻¹),但温度过高也会影响菌丝干重,温度高于 28 ℃后菌丝干重明显下降。

由图 2B 可知,菌丝体干重随着转速的升高而增加,在转速为 180 r·min⁻¹时达到最大,为 2.98 g·L⁻¹,随后菌丝干重随着转速的增加而逐渐降低,故选择 180 r·min⁻¹为最佳转速。

由图 2C 可知,接种量在 7%~9%时,菌丝体干重随着接种量的增加而增多,接种量为 9%时菌丝体干重量达到最大,为 2.83 g·L⁻¹,而接种量大于 9%后菌丝干重明显下降。

由图 2D 可知,菌丝体干重随着 pH 的升高呈先增加后下降,在 pH 为 6 时菌丝干重达到最大,为 2.83 g·L⁻¹,随后随着 pH 的增加菌丝干重反而降低。

结果相差较小,表明该最佳发酵条件下提高了桑黄菌丝体干重且具有较好的重复性。

2.3 多糖提取条件试验结果

2.3.1 多糖提取条件单因素试验结果 由图 3A 可知,超声波功率为 300 W 时,多糖得率达到最大,为 2.64%,随后下降。

由图 3B 可知,提取时间在 45 min 时多糖得率达到最大,为 3.86%,随后下降,可能是有些杂

质随时间延长相应地溶出来,从而影响多糖得率。

由图 3C 可知,多糖得率随温度升高而增加,在 50 ℃时多糖得率最大,为 3.78%,随后缓慢下降,这是由于随着温度的升高,多糖分子也加速溶解,而温度过高会破坏多糖的生物活性,可能导致多糖无法提取。

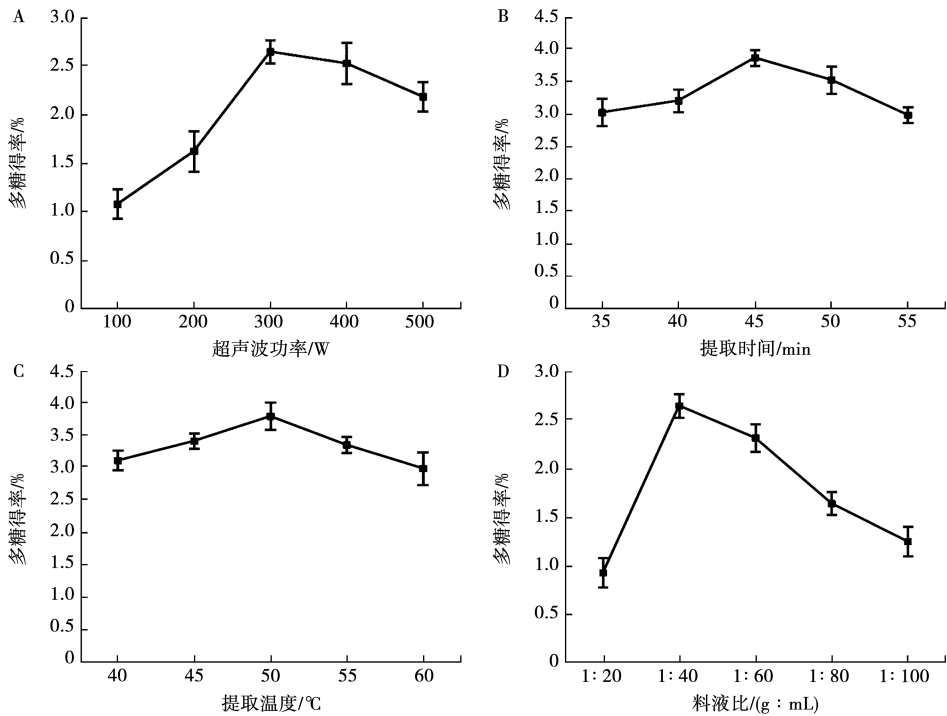


图 3 超声波功率(A)、提取时间(B)、提取温度(C)及料液比(D)对桑树桑黄多糖得率的影响

由图 3D 可知,料液比在 1:20~1:40 时,多糖得率随水量的增加而逐渐上升,而料液比大于 1:40 后多糖得率明显下降,可能是由于当水量达到一定量时,多糖就会完全溶出,故料液比在 1:40 多糖得率最大,为 2.64%。

2.3.2 多糖提取条件正交试验结果 如表 4 所示,由 R 值来看,各因素对桑黄多糖提取条件的的影响程度依次为料液比(B)>提取温度(D)>超声波功率(A)>提取时间(C);由 K 值得出最佳提取条件为 A₁B₃C₁D₂,即在超声波功率 200 W、料液比 1:60、提取时间 40 min 和提取温度 50 ℃条件下,桑树桑黄多糖得率为 5.51%。

2.3.3 最佳多糖提取条件验证试验 通过上述正交试验可进一步进行验证试验,设置 3 组平行,测得多糖得率分别为 5.56%、5.48%和 5.57%,平均值为 5.54%,3 组平行数据较稳定并与 2.3.2 试验结果相差较小。

表 4 多糖提取条件正交试验结果

水平	因素				多糖得率/
	A	B	C	D	%
1	1	1	1	1	1.97
2	1	2	2	2	3.94
3	1	3	3	3	5.48
4	2	1	2	3	1.64
5	2	2	3	1	1.99
6	2	3	1	2	5.31
7	3	1	3	2	2.01
8	3	2	1	3	3.88
9	3	3	2	1	4.56
K1	11.39	5.62	11.16	8.52	
K2	8.94	9.81	10.14	11.26	
K3	10.45	15.35	9.48	11.00	
k1	3.80	1.87	3.72	2.84	
k2	2.98	3.27	3.38	3.75	
k3	3.48	5.12	3.16	3.67	
R	0.82	3.25	0.56	0.91	

注:表中多糖得率为 3 组平行的平均值。

3 讨论

由于我国对于桑黄的研究起步较晚,主要是针对桑黄液体培养基及发酵培养条件进行研究^[20-21],而不同液体培养基配方及发酵培养条件对桑树桑黄菌丝体的生长具有显著影响。通常优化培养基配方和发酵条件的方法主要是通过单因素试验来筛选和确定各因素的适当范围,再通过正交试验设计确定各水平的最佳组合。钟石等^[22]利用正交试验发现野生桑黄最佳碳源为麦芽糖,最佳氮源为酵母粉,最佳无机盐为硫酸镁和磷酸二氢钾;唐思煜等^[23]研究表明最佳碳源为蔗糖,最佳氮源为氯化铵,最适培养基组成为蔗糖 70 g·L⁻¹、NH₄Cl 10 g·L⁻¹、NaCl 1 g·L⁻¹、KH₂PO₄ 0.50 g·L⁻¹、MgSO₄ 0.50 g·L⁻¹,在接种量 5%,装液量 50 mL,培养 7 d 条件下获得桑黄菌丝体干重为 2.814 g。本研究通过对桑树桑黄液体培养基配方及发酵条件进行优化,发现最适碳源为乳糖,最适氮源为胰蛋白胨,最适无机盐为氯化钠和硫酸镁;在 pH 为 6,接种量 9%,温度 28 ℃,转速 180 r·min⁻¹ 条件下,获得菌丝干重为 3.12 g·L⁻¹,这一结果与其他研究结果存在一定差异,造成差异的原因可能是由于桑黄菌种不同或产地不同,使其菌丝生长所需的碳、氮源、无机盐及发酵培养条件均存在明显差异。

不同的提取方法和提取工艺条件对桑树桑黄多糖得率亦有影响。目前,桑黄多糖的提取方法主要有热水浸提法^[24]、酶提取法和超声波辅助提取法^[25-26]。其中超声波辅助提取法是一种高效实用的提取方法,其提取率高、耗时短且耗能低;而热水浸提法操作简便,但温度高、耗时较长导致提取率较低;酶提取法提取条件温和、杂质易除,因价格昂贵更适用于胞内多糖的提取。李瑞雪等^[24]利用热水浸提法提取桑黄多糖,其提取工艺为提取时间 2.5 h,提取温度 60 ℃,提取次数 3 次,料液比为 1:14,获得桑黄多糖得率为 4.97%;周慧吉等^[27]研究表明,利用酶提取法提取桑黄菌丝体粗多糖得率较高,但多糖含量低;曾鹏等^[28]利用超声波提取桑黄多糖的最佳工艺条件为提取温度为 100 ℃、料液比为 1:26,提取时间为 4.35 h,桑黄多糖得率为 1.645%。本研究利用超声波辅助提取法,综合优化料液比、提取温度、超声功率和提取时间 4 个因素,得到桑树桑黄菌丝体中多糖得率为 5.54%。因此,对桑树桑黄进行培养基配方、发酵条件及多糖提取工艺进行优化,明确其菌丝生长特性及工艺条件,可为桑树桑黄菌种的培养及其多糖的应用奠定理论基础。

4 结论

本研究以菌丝体干重和多糖得率为主要指标,通过单因素试验和正交试验相结合对桑树桑黄液体培养基配方、培养条件及多糖提取工艺进行优化。结果表明,最适桑树桑黄生长的碳源、氮源及无机盐分别为乳糖、胰蛋白胨和氯化钠+硫酸镁。正交试验优化的最佳培养基组合为乳糖 32 g·L⁻¹、胰蛋白胨 10 g·L⁻¹、NaCl 2.00 g·L⁻¹+MgSO₄·7H₂O 1 g·L⁻¹,获得菌丝体干重为 2.82 g·L⁻¹;最佳液体发酵培养条件:在 pH 为 6,接种量 9%,温度 28 ℃,转速 180 r·min⁻¹ 条件下,菌丝干重最高达 3.12 g·L⁻¹。采用超声波辅助提取法对桑树桑黄菌丝体多糖进行提取,对其结果影响较大的是料液比,而提取时间影响较小,且最佳提取工艺条件为料液比 1:60 g,提取温度 50 ℃,超声功率 200 W,提取时间 40 min,在此条件下桑树桑黄多糖得率最高为 5.54%。本研究结果可为桑树桑黄液体发酵培养及多糖提取工艺优化方面提供理论基础,在培养优化方面具有实际指导作用,且具有一定的实际应用价值。

参考文献:

- [1] 王伟科,宋吉玲,闫静,等.桑树桑黄菌丝体和子实体基因差异表达分析[J].菌物学报,2020,39(10):1874-1885.
- [2] 李剑梅,王艳华,郭玲玲,等.桑黄液体发酵工艺的研究[J].微生物学杂志,2014,34(6):74-78.
- [3] 王一菲.桑黄菌丝培养特性及其发酵液抗氧化活性的研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2019.
- [4] 吴声华,黄冠中,陈榆萍,等.桑黄的分类及开发前景[J].菌物研究,2016,14(4):187-200,185.
- [5] 武晓林,王超仪,包海鹰.不同“桑黄”类真菌水提取物的抗肿瘤活性研究[J].生物技术通报,2018,34(8):138-143.
- [6] 张宇琨,徐佳晋,杨俊,等.桑黄对肿瘤作用的研究进展[J].江苏科技信息,2021,38(8):60-64.
- [7] NAKAMURA T, AKIYAMA Y, MATSUGO S, et al. Purification of caffeic acid as an antioxidant from submerged culture mycelia of *Phellinus linteus* (berk. et curt.) Teng (aphyllophoromycetidae) [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2003, 5(2): 163-168.
- [8] JEON T I, JUNG C H, CHO J Y, et al. Identification of an anticancer compound against HT-29 cells from *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2013, 3(10): 785-789.
- [9] KIM H M, KANG J S, KIM J Y, et al. Evaluation of antidiabetic activity of polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* in non-obese diabetic mouse [J]. International Immunopharmacology, 2010, 10(1): 72-78.
- [10] PARK H J, HAN E S, PARK D K, et al. An extract of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice inhibits inflammation markers in RAW264.7 macrophages by suppressing inflammatory cytokines, chemokines, and mediators and up-regulating antioxidant activity [J]. Journal of Medicinal Food, 2010, 13(6): 1468-1477.

- [11] NOH J R, LEE I K, KIM Y H, et al. Antiatherogenic effect of antioxidant polyphenols from *Phellinus baumii* in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 2011, 59(2/3/4): 145-153.
- [12] 史帆婷,包海鹰. 桑黄类真菌有效成分及功效研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(22): 197-202.
- [13] 王华林,温万芬. 桑黄的药用价值研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(11): 2747-2750.
- [14] 谢丽源,张勇,彭金华,等. 桑黄真菌分子鉴定及遗传多样性分析[J]. *菌物学报*, 2010, 29(3): 347-356.
- [15] 张 熅,刘学,杨秀,等. 索骨丹中黄酮和多糖的提取工艺优化研究[J]. *当代化工*, 2021, 50(7): 1567-1571.
- [16] 张国财,赵博,刘春延,等. 响应面法优化超声波-微波协同提取富硒蛹虫草硒多糖工艺[J]. *食品科学*, 2016, 37(12): 33-39.
- [17] 于秋菊. 桑黄多糖提取、分离、结构解析及药理作用研究进展[J]. *山东化工*, 2022, 51(13): 68-69, 72.
- [18] 郎明紫,曾鹏,刘明明,等. 桑黄多糖的研究进展[J]. *蚕桑通报*, 2017, 48(2): 14-18.
- [19] 吴桂玲,邓维先,贺银菊. 蓝莓叶黄酮类化合物研究进展[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(6): 6-9.
- [20] 邹湘月,李飞鸣,邵元元,等. 桑枝水提物对桑黄液体发酵的影响及桑黄液体发酵条件的优化研究[J]. *中国蚕业*, 2016, 37(4): 17-20.
- [21] 吴亚召,雷萍,张文隽,等. 桑黄黄酮液体发酵培养基的优化[J]. *中国食用菌*, 2016, 35(5): 21-23, 27.
- [22] 钟石,李有贵,朱俭勋,等. 优化培养基对桑黄菌丝体生长的影响[J]. *浙江农业科学*, 2011(1): 173-175.
- [23] 唐思煜,赵优萍,吴迪,等. 桑黄液体深层发酵培养基优化研究[J]. *浙江科技学院学报*, 2018, 30(3): 193-198.
- [24] 李瑞雪,王钰婷,夏家风,等. 桑黄菌丝体中多糖提取工艺优化及其体外抗氧化活性分析[J]. *中国农学通报*, 2019, 35(29): 143-150.
- [25] 董宇,林翰清,缪松,等. 酶法提取多糖的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(3): 351-358.
- [26] ZHANG H N, MA H L, LIU W, et al. Ultrasound enhanced production and antioxidant activity of polysaccharides from mycelial fermentation of *Phellinus igniarius* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 113: 380-387.
- [27] 周慧吉,马海乐,郭丹钊,等. 不同提取方法对桑黄胞内多糖理化性质的影响[J]. *食用菌学报*, 2015, 22(1): 47-50.
- [28] 曾鹏,黄世荣,刘明明,等. 应用响应面法优化超声波辅助热水提取桑黄多糖的工艺条件[J]. *蚕业科学*, 2015, 41(5): 928-933.

Optimization of Liquid Fermentation and Polysaccharide Extraction of *Sanghuangporus sanghuang*

LI Deyu^{1,2}, SI Doudou^{1,2}, PENG Hao^{1,2}, CAO Weigang³, ZHENG Xiaoqin³, ZHANG Shengming⁴

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China; 2. Shaanxi Hanzhong City Science and Technology Resources Coordination Center, Hanzhong 723001, China; 3. Qinba Ecological Protection Center, Hanzhong City, Shaanxi Province, Hanzhong 723001, China; 4. Shaanxi Xixiang County Mushroom Research Institute, Shaanxi Hanzhong 723500, China)

Abstract: *Sanghuangporus sanghuang* is a medicinal porous bacterium with good medicinal efficacy, and its polysaccharide is one of the main active ingredients, with antitumor, antioxidant, immunomodulatory and other pharmacological effects. In order to improve the dry weight of *S. sanghuang* mycelia and the yield of *S. sanghuang* polysaccharide, single factor and orthogonal test were used to optimize the medium formula and liquid fermentation culture conditions affecting the dry weight of *S. sanghuang* mycelia. Ultrasonic assisted extraction method was used to optimize the extraction conditions of polysaccharide yield of *S. sanghuang*. The results showed that the optimal medium formula of *S. sanghuang* was potatoes (peeled) 200 g·L⁻¹, lactose 32 g·L⁻¹, tryptone 10 g·L⁻¹, NaCl 2.00 g·L⁻¹, MgSO₄·7H₂O 1 g·L⁻¹, VB₁ 10.0 mg·L⁻¹, and mycelium dry weight was 2.82 g·L⁻¹. Under the conditions of temperature 28 °C, inoculation amount 9%, rotational speed 180 r·min⁻¹ and pH6, the maximum mycelium amount was 3.12 g·L⁻¹. The optimal extraction process was as follows: ultrasonic power 200 W, solid-liquid ratio 1:60, extraction time 40 min, temperature 50 °C, the yield of polysaccharides was 5.54%. The results showed that the optimized culture medium formula, fermentation conditions and polysaccharide extraction technology of *S. sanghuang* were reasonable and feasible, which could provide reference for liquid fermentation of *S. sanghuang* mycelium to produce polysaccharide.

Keywords: *Sanghuangporus sanghuang*; liquid fermentation; polysaccharide; ultrasonic extraction

欢迎订阅