

小刺猴头菌丝球粒深层培养及其临床疗效观察

李敬轩 杨风和 周东正 张金亭

(吉林省生物研究所, 长春)

马 焕 璞

(吉林省人民医院, 长春)

猴头菌丝球粒, 是深层培养通气搅拌条件下, 机械效应所形成菌丝群体的形态, 菌丝球粒的数量标志生物量的积累。在深层培养过程中菌丝球粒形成受到培养液的生物、物理、化学多种因素影响。研究菌丝球粒的形成条件及大量培养技术, 对猴头菌丝大量工业生产技术开发及制药具有重要意义。本文仅就各种营养因素对深层培养条件下菌球生长的影响进行初步探讨。

材 料 和 方 法

1. 供试菌株: 小刺猴头 (*Hericium caput-medusae*) 79001 系我们自长白山小刺猴头分离得到的纯菌株, 菌丝体及子实体见图 1。

2. 培养试验: 选用 $\tau_{12}(2^{11})$ 正交表, 设计 12 种液体培养基, 对 10 种生长因子进行考察。取 500ml 摇瓶, 装量 100ml, 接种后置回转式摇瓶机(200rpm), 26℃ 振荡培养一周。取下摇瓶培养液, 收集菌丝球, 测定菌丝干重。通过正交结果统计分析找出主要因素, 组成基础培养基进行培养试验, 分析营养代谢状况及菌球形成量。

3. $\tau_{12}(2^{11})$ 正交设计级数分配及实验结果见表 1、表 2 和表 3。

结 果 和 分 析

(一) 发酵培养基优选

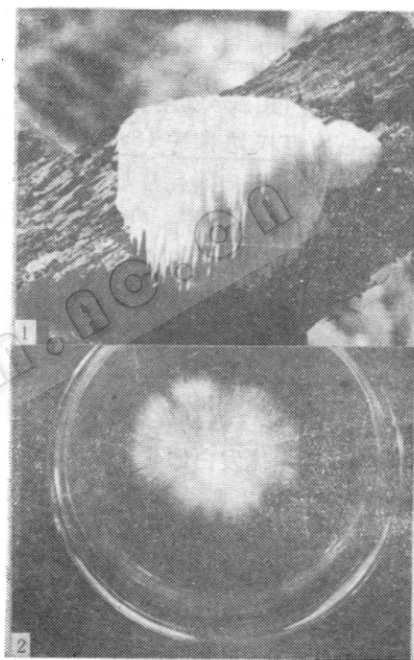


图 1 小刺猴头的子实体和菌丝体

在考察的十种营养因子中, 对菌丝球粒形成都有不同影响, 通过空列极差对比分析, 其中以工业葡萄糖、蛋白胨、氯化钠、淀粉为比较显著因素, 极差最大(表 2)。通过菌丝生长发育及菌丝球粒形成情况观察, 工业葡萄糖为理想碳源, 易于利用, 粘度低使培养液保持较好的流动性, 有利于氧的传递。相反淀粉代谢缓慢, 不易利用, 在培养过程中促使培养液粘度增加, 不

表 1 位 级 表

因素(%) 水平 位级	淀粉	葡萄糖	工业 葡萄糖	豆粉	酵母粉	蛋白胨	硫酸	磷酸二 氢钾	氯化钠	硫酸镁	VB ₁ (mg)
1	5	0	0	0	0	0	0.2	0.03	0	0	100
2	0	3	3	1	1	0.5	0	0	0.1	0.1	100

表 2 诸生长因子 L₁₂(2¹¹) 正交试验结果

项目 号	淀粉	葡萄糖	工 业 葡萄糖	豆粉	酵母	蛋白胨	硫酸	KH ₂ PO ₄	NaCl	MgSO ₄	VB ₁	菌 球 干 重
1	1	1	1	2	2	1	2	1	2	2	1	0.2807
2	2	1	2	1	2	1	1	2	2	2	2	0.7288
3	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	1	2.1879
4	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	0.4783
5	1	1	2	2	1	2	2	2	1	2	2	0.9941
6	2	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1	0.4966
7	1	2	1	1	1	1	2	2	2	1	2	0.1531
8	2	2	1	2	1	2	1	1	2	2	2	0.6523
9	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	2	0.1317
10	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	0.1600
11	1	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	0.2272
12	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	2	0.3292
K ₁	3.9747	2.7919	1.8561	2.2139	2.6883	1.8790	4.0879	2.1177	2.3205	3.4585	3.8307	Σ=6.8199
K ₂	2.8452	4.0280	4.9638	4.6042	4.1366	4.9409	2.7320	4.7022	4.4994	3.3614	2.9892	
\bar{K}_1	0.6625	0.4653	0.3094	0.3690	0.4772	0.3132	0.6813	0.3530	0.3868	0.5764	0.6345	
\bar{K}_2	0.4742	0.6713	0.8273	0.7674	0.6894	0.8235	0.4504	0.7837	0.7499	0.5602	0.4982	
R	0.1883	0.2060	0.5179	0.3984	0.2122	0.5103	0.2309	0.4307	0.3631	0.0162	0.1363	

表 3 79001 菌株营养代谢情况分析结果

培养 时间 (h)	发 酵 滤 液					菌 球	
	pH	总 糖 (%)	氨基酸 (mg/100ml)	磷 (μg/ml)	色度值 OD ₅₂₀	干 重 (g)	多糖含量* (mg/g)
0	5.10	2.792	47.039	134.36	0	0	0
24	5.27	2.677	48.530	142.62	0.022	0.067	243.84
48	4.90	2.516	46.899	132.16	0.052	0.097	236.36
72	4.36	2.046	41.856	104.63	0.062	0.327	285.72
96	4.23	1.588	33.451	78.19	0.070	0.575	302.30
120	3.98	0.923	32.050	70.49	0.312	0.635	325.92
144	3.88	0.728	30.229	62.78	0.32	0.757	320.99
163	4.00	0.404	23.968	63.88	0.35	0.743	348.39
192	4.16	0.340	27.847	68.28	0.385	0.666	332.91
216	5.00	0.311	30.369	70.49	0.96	0.580	313.59
240	5.30	0.285	30.579	78.19	1.10	0.531	287.63

* 每 g 干菌球中含多糖的 mg 数

利于氧的传递。并影响菌丝生长及球粒的形成。

以最显著因子工业葡萄糖、蛋白胨、氯化钠,维生素 B₁ 组成的基础培养基(含量分别为:3%、0.5%、0.1%和 100mg/l),培养 240 小时,分析菌丝球粒生长及代谢状况(表 3)。以上几种因素可基本满足菌丝球粒生长发育营养需要,从营养代谢曲线分析可见,此种简单培养基可以在深层培养条件下,满足培养一周的营养需要。由于培养液化学成份简单,对猴头菌代谢是有利的,通过分析可合成胞内和胞外多糖。通过在标准挡板发酵罐的扩大培养证明,此种培养基适合于猴头菌营养代谢需要。我们采用 500 立升至 5000 立升罐的深层培养也获得成功,并获得猴头菌制剂(简称 CHP),用于临床

治疗慢性萎缩性胃炎,消化性溃疡,便潜血,黑便等症。

(二) 临床疗效

经口服猴头菌发酵制剂,对慢性萎缩性胃炎,消化性溃疡 316 例的观察,总有效率达 85%。特别是对慢性萎缩性胃炎可转变为浅表性胃炎,有效率达到 92.3%。对便潜血,黑便者疗效可达 100%,并具有止痛、消胀,减轻恶心、呕吐及反酸嗝气。增强食欲及消化耐受能力。有安神镇静、促进睡眠作用。

以猴头菌的工业化深层培养菌丝提取的药物降低了成本,增加了产量。有待进一步深入研究猴头菌代谢产物及生长动力学,为扩大工业化生产提供依据。