

金针菇 FV088 菌株液体培养工艺的研究

冯永君 侯万秋 张长铠

(山东大学生命科学学院 济南 250100)

摘要 通过单因子试验统计分析,优化筛选了适于金针菇(*Flammulina velutipes*) FV088 的适宜培养基和摇瓶培养条件,结果表明,其适宜的液体培养基组成为:5.0% 玉米粉,2.0% 麸皮,0.1% KH_2PO_4 ,0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $10\mu\text{gVB}_1$ / 100ml, $50\mu\text{gVB}_2$ / 100ml;适宜的摇瓶培养条件为:培养基的起始 pH6.0~7.0, 500ml 摇瓶装量为 150ml,接种量为 10%,培养温度 25℃,摇床转速为 120r / min,菌丝干收率 3.9g / 100ml.

关键词 金针菇, 液体培养, 单因子试验

分类号 Q939.97

金针菇是深受人们喜爱的营养和保健食品,近年来需求量不断扩大,因为金针菇菌丝体的营养成分通常大于其子实体^[1],而且越来越多的抗肿瘤活性物质也从菌丝体中分离得到^[2],所以采用液体发酵技术工厂化常年生产金针菇菌丝体,以替代子实体在食品和医药方面的应用已成为一个新的发展方向。金针菇 FV088 是一种纯白高产的优良菌株,我们采用单因子试验统计分析技术对其培养基和培养条件作了优化筛选。

1 材料与方法

1.1 菌种

金针菇 FV088,本院菌种室保存。

1.2 培养基

斜面培养基: PDA 培养基。

液体种子培养基: PDA 培养基(不含琼脂粉)。

碳源试验基础培养基: 1.0% 蛋白胨, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $10\mu\text{gVB}_1$ / 100ml, $50\mu\text{gVB}_2$ / 100ml。

氮源试验基础培养基: 2.0% 葡萄糖, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $10\mu\text{gVB}_1$ / 100ml, $50\mu\text{gVB}_2$ / 100ml。

1.3 培养方法

500ml 摇瓶装入 150ml 培养基,接入 10% 的液体种子,在旋转式摇床上于 25℃ 下培养 9d,摇床转速为 120r / min。

1.4 测定方法

pH 测定: 以国产智能型 PHS-2 酸度计测定。

菌丝干重测定: 以 40 目筛网过滤收集菌丝体,清水冲洗三次,80℃ 烘干至恒重。

2 结果与分析

2.1 液体培养基的优化

2.1.1 碳源试验: 在碳源试验基础培养基中分别加入 8 种碳源,试验浓度为 2.0%,其中玉米粉经 50 目筛网过滤,结果见表 1。

表1 不同碳源对菌丝产量的影响

碳源(浓度2%)	菌丝产量(g/100ml)
葡萄糖	0.633
果糖	0.513
蔗糖	0.896
麦芽糖	0.636
乳糖	0.525
玉米粉	1.164
可溶性淀粉	1.056
羧甲基纤维素	0.563

从表中可以看出,金针菇 FV088 对玉米粉、可溶性淀粉、蔗糖等都能较好的利用,考虑到成本、来源等诸因素,碳源以采用玉米粉为宜。

2.1.2 氮源试验:在氮源试验基础培养基中分别加入 7 种常见氮源,试验浓度为 2.0%,其中麸皮要经煮汁、滤除残渣等处理,结果见表 2。

表2 不同氮源对菌丝产量的影响

氮源(浓度2%)	菌丝产量(g/100ml)
硫酸铵	0.177
尿素	***
谷氨酸	...
干酪素	...
蛋白胨	0.461
酵母浸出汁	0.847
麸皮	1.804

***表示几乎不生长

从表中可以看出,金针菇 FV088 不能较好的利用简单氮源,而对有机氮源的利用较好,其中以麸皮为佳。

2.1.3 不同玉米粉浓度对菌丝生长的影响:综合考虑碳、氮源试验结果,选定以玉米粉和麸皮为液体培养基的碳、氮源。将麸皮的浓度固定在 2.0%,其它无机盐及生长因子的浓度同前所述。培养结果表明,菌丝生长量在一定范围内随玉米粉的浓度升高而增加,且以 6.0% 时达到最好,进一步提高玉米粉浓度时,菌丝产量反而降低。考虑到玉米粉在浓度过高时,其水溶性较差,其粗颗粒可能混入到菌丝中而在测量时产生误差,所以宜采用 5.0% 的浓度。

2.1.4 不同麸皮浓度对菌丝生长的影响:试验时玉米粉的浓度固定在 5.0%,方法同 2.1.3。结果表明,麸皮对金针菇 FV088 生长的影响趋势与碳源类似,只是最佳浓度在 2.0%。

综上所述,金针菇 FV088 适宜的培养基组成为: 5.0% 玉米粉, 2.0% 麸皮, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $10\mu\text{gVB}_1 / 100\text{ml}$, $50\mu\text{gVB}_2 / 100\text{ml}$ 。

以下的摇瓶培养条件试验均采用本培养基组成。

2.2 摇瓶培养条件试验

2.2.1 培养基起始 pH 对菌丝产量的影响:将培养基用 HCl 和 NaOH 调成不同的 pH 值,接种培养后,测菌丝干重,结果表明,在 pH6.0~7.0 时,菌丝产量最高,该 pH 值与培养基的自然 pH 值相近。

2.2.2 摇瓶装量对菌丝产量的影响:在 500ml 的摇瓶中装入不同量的培养基,培养发现,在 50~150ml 培养基装量条件下,菌丝产量(以每 100ml 培养基计)变化不大,但装量超过 200ml 时,菌丝产量明显下降。所以选择培养基装量在 150ml,既能对培养基有较好的利用率,又能使菌丝的总产量最高。

2.2.3 接种量对菌丝产量的影响:摇瓶中接入不同量的种龄为 5d 的一级液体种子,培养 9d 后测菌丝干重,结果表明,接种量小于 10% 时,随着接种量的增加,菌丝产量也增加,但超过 10% 后菌丝产量就基本不受接种量的影响了。因此,接种量以 10% 为好。

2.2.4 培养温度对菌丝产量的影响:图 1 给出

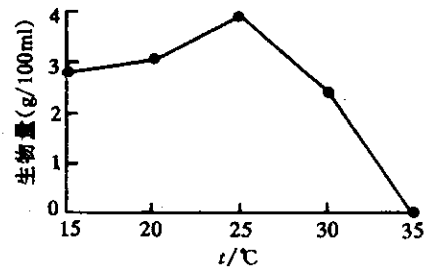


图1 培养温度对菌丝产量的影响

了不同培养温度与菌丝产量的关系。在培养过程中发现,在 15℃~30℃ 范围内随温度升高,菌丝生长速度明显加快,但生物量的最大值点 (3.9g / 100ml) 出现在 25℃ 时,如果培养温度升高到 35℃ 则菌丝几乎停止生长。

2.2.5 通气量对菌丝产量的影响:摇床转速直接影响着通气量的大小,从而影响着菌丝产量。随着转速的增大,通气量增大,剪切力增大,菌丝球数量增多,半径显著减小。研究发现,通气量的大小对金针菇 FV088 的菌丝产量影响并不明显,选择 120r / min 的转速就能很好的满足其生长需要。如果转速过大(例如超过 160r /

min), 则剪切作用增强, 使菌丝生长时不再成规则圆球形, 菌丝产量也有所下降。

2.2.6 培养时间对菌丝产量的影响: 图 2 是培养时间与菌丝产量的关系, 菌丝产量随培养时间的延长有一个迅速增长的过程, 并于第 8d 达到最高, 生物量可达 3.9g / 100ml, 之后由于发生菌丝自溶使生物量减少。

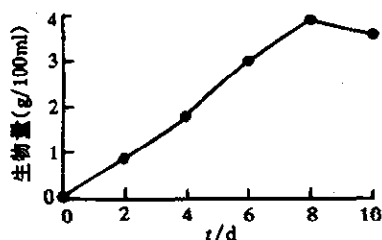


图2 培养时间对菌丝产量的影响

3 讨论

近年来, 已有许多学者对金针菇的液体培养做过研究, 但方法往往局限于正交试验统计分析或均匀试验设计等^[1-5], 这些方法的应用会使试验工作量大为简化, 而且快速方便, 但是微生物的生长是一个相当复杂的变化过程, 而不象一般变化过程那样存在简单的数理统

计模型, 其生长的理化要求也很复杂, 通常认为, 用这些方法处理生物培养条件中各因素各水平的关系问题时, 其可靠性是值得怀疑的。所以, 我们选择了单因子试验统计分析技术, 即固定其它条件逐个选择某个因子的最佳条件, 最后把每个因子的最佳条件选出, 组成最优的培养基组成和摇瓶培养条件。通过试验, 我们得到了适于金针菇 FV088 液体培养的培养基和培养条件, 本试验选用粮食作物为原料, 取材方便价格低廉, 便于推广普及, 金针菇 FV088 能在这种组成简单的培养基上很好的生长, 而且菌丝干收率达到 3.9%。该菌和该工艺的放大试验有待于进一步的研究, 以求尽早应用到工厂化生产中。

参 考 文 献

- [1] 金荣观, 寿诚学. 食用菌, 1990, 12(5): 19~20.
- [2] Ikekawa, T Maruyama, H Miyano T *et al.* Jpn J Cancer Res, 1985, 76(2): 142~148.
- [3] 周素荣. 中国食用菌, 1993, 12(3): 35~37.
- [4] 宋士良, 杨瑞长, 陀永. 食品与发酵工业, 1992, 6: 8~13.
- [5] 杜世武, 党阿丽, 王凤云. 微生物学通报, 1997, 24(3): 134~137.

STUDIES ON LIQUID STATE CULTURE CONDITIONS OF *FLAMMULINA VELUTIPES* FV088

Feng Yongjun Hou Wanqiu Zhang Changkai

(College of Life Science, Shandong University, Jinan, 250100)

Abstract Using analytical technic of single factor test statistics, a suitable medium and shaking culture conditions for *Flammulina velutipes* 088 have been selected. Experimental results showed that the composition of fermentation medium was as follow: 5.0% maize powder, 2.0% wheat bran, 0.1%KH₂PO₄, 0.05%MgSO₄ · 7H₂O, 10μgVB₁ / 100ml, 50μgVB₂ / 100ml; The suitable culture conditions were as follows: pH6.0~7.0, 150ml medium in size 500ml flask, inoculation 10%, temperature 25℃, stirring speed 120r / min. The mycelical dry weight was 3.9g / 100ml.

Key words *Flammulina velutipes*, Liquid state culture, Single factor test