

# 一种适合发酵罐的灰树花液体菌种培养基筛选

马浩<sup>1</sup>, 吴薇<sup>1</sup>, 马立芝<sup>2</sup>, 高振江<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 中国农业大学工学院(100083)

<sup>2</sup> 廊坊师范学院生物系

[zjgao@cau.edu.cn](mailto:zjgao@cau.edu.cn)

**摘要:** 本文通过正交实验优选出一个适宜灰树花液体菌种生产且廉价的培养基配方。培养基包括玉米粉 40g/L, 麸皮 25g/L, 板栗壳浸出汁 150ml/L, MgSO<sub>4</sub> 1g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2g/L。经过 2L 发酵罐生产可得到菌丝体干重 11.17g/L。

**关键词:** 灰树花 液体菌种 发酵罐

## 1. 引言

灰树花 (*Grifola forondosa*) 又名贝叶多孔菌、栗蘑, 俗称云蕈、舞茸, 属担子菌亚门, 层菌纲, 多孔菌科, 树花菌属, 是一种珍贵的食、药两用菌<sup>[1]</sup>。灰树花子实体中富含 18 种人体必需氨基酸, 蛋白质含量高达 31.5%<sup>[2]</sup>。此外, 灰树花还富含钙、镁、锌、铁、锰、铜等多种有益矿物质, 维生素含量丰富<sup>[3]</sup>。灰树花多糖正为研究者所重视, 灰树花多糖被认为具有抑制肿瘤、抗 HIV 病毒、免疫调节等生理活性功能<sup>[4-11]</sup>

灰树花野生资源比较少, 大规模的人工栽培起始于 20 世纪 80 年代中期, 目前也是主要通过人工栽培获得<sup>[12]</sup>。食用菌液体深层发酵培养与固体培养相比, 具有原料来源广泛、生产周期短、产量高、利于进行工厂化生产等优点, 因此, 成为了灰树花生产研究的一个新的领域<sup>[7]</sup>。国内目前的研究主要是在实验室条件下进行基本的工艺参数研究。

本研究通过分析已有的研究成果<sup>[3-11,13]</sup>, 以玉米粉和麸皮作为培养基主要的碳源、氮源, 板栗壳浸出汁作为生长促进剂, 并配以无机盐的方法, 通过正交实验确定最佳配比, 最终以发酵罐生产的方式进行检验, 提出了一种适合工业化生产实际的, 优质、廉价的培养基配方。以期能为深层培养技术在灰树花上的应用提供理论依据和生产指导, 同时为灰树花产品的开发和研制奠定物质基础。

## 2. 材料和方法

### 2.1 实验材料

#### 2.1.1 菌种及培养

母种灰树花 1 号由中国农业大学生物学院食用菌研究所提供。

斜面培养基 (PDA 培养基): 马铃薯 20%, 蔗糖 2%, 琼脂 2%。马铃薯去皮, 切成块煮沸 30min, 然后用 2 层纱布过滤, 再加糖及琼脂, 加热至琼脂溶化后补足水定容, 121 °C 湿热灭菌 20min。接种后 25 °C 培养 7 天, 菌丝长满斜面。4 °C 冰箱贮藏。

#### 2.1.2 仪器设备

恒温恒湿培养箱 (LHS250SC), 上海一恒科技有限公司。  
 恒温水浴振荡器 (HZS-H), 哈尔滨市东联电子技术发展有限公司。  
 电热恒温鼓风干燥箱 (DHG-9140), 上海一恒科技有限公司。  
 2L 气升式发酵罐, 本实验室自行研制。

## 2.2 实验方法

### 2.2.1 一级液体菌种的制备

一级菌种培养基采用 PDA 去琼脂培养基。母种经斜面活化之后, 在超净工作台无菌条件下, 用接种铲取 0.5cm<sup>2</sup> 左右的菌块接种于装有 150ml 一级培养基的 500ml 三角瓶中, 每瓶 3 块, 恒温 25 静置 2 天, 然后移入恒温水浴振荡器中培养, 温度 25、转速 150r/min, 振荡培养 5 天。

### 2.2.2 最佳培养条件试验

培养完成的一级菌种以 10% 的接种量分别接种到二级培养基, 培养基配方以玉米粉 (A)、麸皮 (B)、板栗壳浸出汁 (C)、无机盐 (D) 四因素三水平 (详见表 1) 设计 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交试验。其中板栗壳浸出汁的浓度为 10%, 无机盐为 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 和 MgSO<sub>4</sub>, 两者质量比为 2:1。试验设 9 个处理, 每个处理 2 次重复 (详见表 2)。按不同处理中对培养条件的不同要求将 9 个处理放在恒温振荡器上振荡培养 5 天, 条件与一级菌种培养相同。然后测量菌丝干重。

### 2.2.2 发酵罐试验

以优选出的培养基作为发酵培养基。每升培养基含玉米粉 40g, 麸皮 25g, 板栗壳浸出汁 150ml, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2g, MgSO<sub>4</sub> 1g。接种量 10%, 通气量 8L/min, 室温发酵 5 天, 每 12 小时取样测量菌丝干重。

### 2.2.3 测定内容及方法

将 100ml 发酵液取出, 2 层纱布过滤, 清水洗净, 然后放入干燥箱 105 烘干 12 小时, 冷却后称重。

水平	因素			
	A 玉米粉 g/L	B 麸皮 g/L	C 板栗壳浸出汁 ml/L	D 无机盐 g/L
1	20	10	50	3
2	40	25	100	4.5
3	60	40	150	6

表 1 实验因素及水平

处理	因素				各指标的试验结果	
	A	B	C	D	干重 g/100ml	
1	1	1	1	1	0.488	0.493
2	1	2	2	2	0.639	0.617
3	1	3	3	3	0.582	0.603
4	2	1	2	3	1.014	1.098
5	2	2	3	1	1.334	1.419
6	2	3	1	2	0.68	0.671
7	3	1	3	2	0.773	0.783
8	3	2	1	3	0.922	0.934
9	3	3	2	1	0.991	0.989

表 2 不同培养基配方的菌丝干重

	因素			
	A	B	C	D
K <sub>1</sub>	1.711	2.3245	2.094	2.857
K <sub>2</sub>	3.108	2.9325	2.674	2.0815
K <sub>3</sub>	2.696	2.258	2.747	2.5765
1	0.570	0.775	0.698	0.952
2	1.04	0.978	0.891	0.694
3	0.899	0.753	0.916	0.859
极差	0.466	0.225	0.218	0.259
优方案	A2	B2	C3	D1
主次顺序	ADBC			

表 3 各因素对菌丝干重的极差分析

时间 (h)	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
干重 (g)	0.112	0.108	0.154	0.313	0.578	0.951	1.104	1.112	1.117	0.985

表 4 发酵罐实验菌丝干重

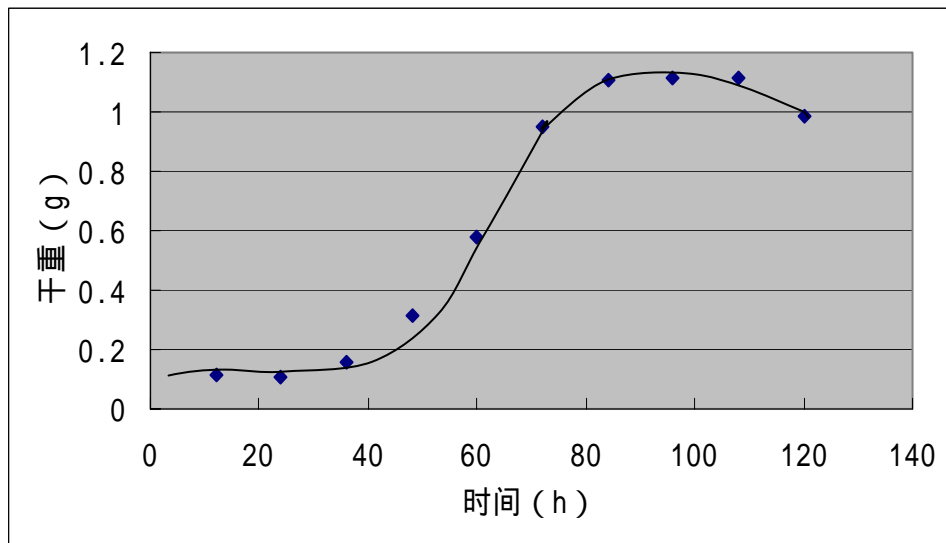


图 1 发酵罐实验菌丝生长曲线

### 3. 结果和分析

#### 3.1 各组配方实验结果及极差分析

##### 3.1.1 各组配方实验结果

各组配方实验结果见表 2。

##### 3.1.2 各组配方实验极差分析

各因素不同水平对菌球干重的影响见表 3。影响菌丝生物量的 4 个因素的影响大小为

A>D>B>C。其中玉米粉的影响最大，板栗壳浸出汁的影响最小。最佳的配比应该是 A2B2C3D1 即：含玉米粉 40g/L，麸皮 25g/L，板栗壳浸出汁 150ml/L，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>2g/L，MgSO<sub>4</sub>1g/L。

## 3.2 优化配方发酵罐实验结果及分析

### 3.2.1 优化配方发酵罐实验结果

优化配方发酵罐实验结果见表 4。

### 3.2.2 优化配方发酵罐实验分析

本实验筛选出的培养基经过发酵罐生产得到的最高峰菌丝干重达到 11.17g/L。菌种适应生长期短，48 小时后即进入对数生长期。

## 4. 总结

本文通过正交实验筛选出一种灰树花液体菌种培养基。该培养基具有成本低，原料来源广泛，生产效率高的特点。实验证明，对于灰树花而言，玉米粉是一种优良的天然碳源，对于菌种的生产影响最大。但是同时由于玉米粉使培养基粘度增大，限制了对菌丝的传氧，因此过高的玉米粉浓度反而不适合菌丝生长。如何提高玉米粉培养基的溶氧系数还有待于进一步研究。

## 参考文献

- [1]张光亚. 中国常见食用菌图谱.云南科技出版社,1999
- [2]杨国良,陈惠.灰树花与杨树菇生产全书.中国农业出版社,2003
- [3]裘娟萍,孙培龙.灰树花高产栽培及营养分析.中国食用菌,1998, 17(3)31-33
- [4]汪维云,吴守一,朱金华.灰树花液体深层培养工艺研究.生物工程学报.1999,15(3)378-382
- [5]周昌艳等.全国第六届食用菌学术研讨会论文集.食用菌, 2001 (增刊) 141 - 145
- [6]杜巍,华泽钊.灰树花的深层培养工艺及其影响因素的研究.农业工程学报.2004, 3, 231-234.
- [7]刘伟民等.灰树花深层发酵培养基优化研究.食品科学.2003,3,99-102
- [8]徐志祥,赫然等.灰树花发酵工艺及培养基研究.微生物学杂志 2002,22(1)9-11
- [9]肖春玲,肖贤珍.灰树花液体培养工艺的研究.井冈山师范学院学报.2004, 25(5),8-11
- [10]裘娟萍等.灰树花深层发酵培养基的研究.微生物学通报.2000,27(4)275-277
- [11]顾顺明等.发酵法生产灰树花菌丝体的研究.工业微生物.2003,33(4)1-4
- [12]沈依群,汪杰等.灰树花深层发酵研究进展.生物技术.2003,6
- [13]李联泰.灰树花菌丝体液体培养条件研究.淮海工学院学报.2004,12(4)58-60

## Screen of a Liquid Fungus Seeds culture for fermenter of *Grifola frondosa*

Ma Hao<sup>1</sup> Wu Wei<sup>1</sup> Ma Lizhi<sup>2</sup> Gao Zhenjiang<sup>1</sup>  
1.China Agricultural University  
2.Langfang Normal College

### 1. Abstract

In this paper, The orthogonal testing method of L9(3<sup>4</sup>) was taken to study a Liquid Fungus Seeds culture for fermenter of *Grifola frondosa*. The optimized culture contains maize meal, wheat bran, extract of chestnut shell, MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, which are 40g/L,25g/L,150ml/L,1g/L,2g/L respectively. The culture showed 11.17g/L(dry weight) fungus threads could be produced in fermentor.

**Keywords:** *Grifola frondosa* Liquid fungus seeds Fermenter

马浩：男。1981年生。硕士研究生。主要研究方向是食用菌液体菌种贮藏与活力检测。