

西藏白肉灵芝菌丝体发酵条件初探

高磊

(西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所,西藏 拉萨 850000)

摘要:通过C源、N源、pH值对白肉灵芝发酵过程中各条件对菌生物量的影响,研究影响发酵的各种适宜条件。研究表明,对灵芝菌丝生长的主要影响顺序为C源<N源<pH值。碳源选玉米粉,氮源选硝酸铵,pH=7作为最优条件。

关键词:白肉灵芝;发酵;优化

中图分类号:S567.3⁺1

文献标志码:A

Preliminary Study on Mycelium Fermentation Conditions of Tibetan *Ganoderma lucidum*

GAO Lei

(Institute of Vegetable, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China)

Abstract: To investigate the mycelium fermentation conditions of *Ganoderma lucidum*, the effects of carbon source, nitrogen source and pH on the dry weight of mycelium in the fermentation of mycelium of *Ganoderma lucidum* were studied. The results showed that the order of influence on the mycelium growth of *Ganoderma lucidum* in culture conditions was: Nitrogen source<carbon source<pH. Corn flour as carbon source, ammonium nitrate as nitrogen source, and pH 7 is the optimum condition. This study provide theoretical and experimental data support for the large-scale production of *Ganoderma lucidum* mycelium.

Key Words: *Ganoderma lucidum*; fermentation; optimization

灵芝,属于常见的大型真菌。灵芝中主要的活性物质为灵芝多糖和三萜,具备抗肿瘤、抗氧化、保肝护肝、调整免疫功能等很好的功效。由于人工栽培耗时久,因此采取液体进行发酵,从而获得白肉灵芝菌丝体和发酵产物,合适的发酵条件可有效地促进菌丝体生长,提高菌丝体产量。本实验主要从时间、碳源、氮源、pH值等方面分别对白肉灵芝菌丝体液体发酵条件进行研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试灵芝为西藏白肉灵芝,由西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所食用菌实验室提供。供试培养基:①PDA培养基;②加富液体培养基、PDA基础上添加蛋白胨0.2%、磷酸二氢钾0.046%、磷酸氢二钾0.1%、硫酸镁0.05%、维生素B每1 000 mL 0.03 mg;③液体培养基,不含琼脂的PDA培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种制备

斜面菌种(一级种)制备:选用实验室保藏菌株试管斜面,通过转管培养获得。

液体菌种制备:使用容量为250 mL的三角瓶,盛装PDA液体的液体培养基100 mL,无菌条件接入约0.5 cm×0.5 cm白肉灵芝一级种3块,使用恒

收稿日期:2021-03-19

基金项目:国家食用菌产业技术体系-拉萨综合试验站项目(CARS-20)

作者简介:高磊(1987-),男,硕士,主要从事食用菌研究,
E-mail:gaoleilei3@163.com

温摇床时,调节温度为25℃、150 r/min,培养5 d,得到我们需要的液体菌种。

1.2.2 菌丝体干质量测定方法

将获得的液体菌种通过离心机,在3 000 r/min转速下离心10 min后,去上清,用灭菌水反复清洗,再使用高速离心机,在3 000 r/min转速下,离心10 min后,使用吸水纸吸干水分,置于灭菌的平板内,放置于60℃干燥箱烘干,使用精密电子天平称质量。

1.2.3 pH值测定

采用实验室常用pH计测量发酵后液体的pH值。

1.2.4 白肉灵芝菌丝体生长

曲线图绘制过程,需要以250 mL三角瓶作为培养耗材,并在其瓶内加入加富液体培养基100 mL,共计30瓶,使用压力灭菌器进行高压灭菌1 h。冷却后在超净工作台中进行接种,然后在每个250 mL三角瓶中放入10 mL液体菌种,接种密封后,将其放置于恒温摇床内,置于25℃、150 r/min条件下进行培养。1 d后,每次取其中3瓶,测量瓶内液体的pH值和菌丝体干质量,共观察13 d。

1.2.5 白肉灵芝菌丝体液体发酵单因素实验

单因素试验中会使用到250 mL三角瓶作为实验仪器,装液体培养基100 mL,在超净工作台每个三角瓶中接入10 mL液体菌种,将其放置于恒温摇床内,控制温度为25℃、在转速150 r/min条件下培养6 d后。测量其瓶内液体的pH值和菌丝干质量。

1)C因素试验:选择实验室中比较常见的单糖(葡萄糖)、双糖(蔗糖)、多糖(玉米粉、淀粉),对照组选择不加任何碳源,通过测量三角瓶内液体的菌

丝体干质量,得出不同C源条件下白肉灵芝菌丝体生长的情况,共进行9个处理,每组实验重复3次。

2)N因素试验:选择实验室中常见的无机氮(硫酸铵、硝酸钾、硝酸铵)、有机氮(牛肉膏、酵母膏),选择的N源可分别替换PDA培养基中的蛋白胨,对照组中不加任何N源,通过测量三角瓶内液体的菌丝体干质量,得出不同N源条件下白肉灵芝菌丝体生长的情况,共10个处理,每组实验重复3次。

3)pH值试验:用1.1中提到的②号培养基,使用0.1 mol/L NaOH和0.1 mol/L HCl调节pH值,设pH值为4,5,6,7,8,9,10,11共8个实验梯度,每个功能梯度可以重复3次,通过分析仪器设备测得数据不同的pH值对白肉灵芝菌丝体生长产生的影响。

2 结果分析

2.1 白肉灵芝菌丝体生长曲线

根据实验设计把培养时间作为横坐标,菌丝干质量作为纵坐标(图1)。从图1可直观看,菌丝在加富培养基中进行菌种接种后,发现1 d后菌丝生长速率进入增长期,其中生长期的适应期较长,直至培养进行到第9 d时,菌丝干质量达到所测数值最高点。其中第10 d到第12 d的菌丝干质量差别不大,三角瓶发酵液中菌丝体干质量依次为4.27 g/L,4.30 g/L,4.37 g/L。一直到第13 d天菌丝干质量出现明显的下降,为3.57 g/L。依据白肉灵芝生长曲线可知,白肉灵芝作为工业化生产的液体菌种,培养7 d较为适宜,生产中如果需要菌丝体,需要培养10 d,而收获发酵代谢产物,则需要至少11 d。

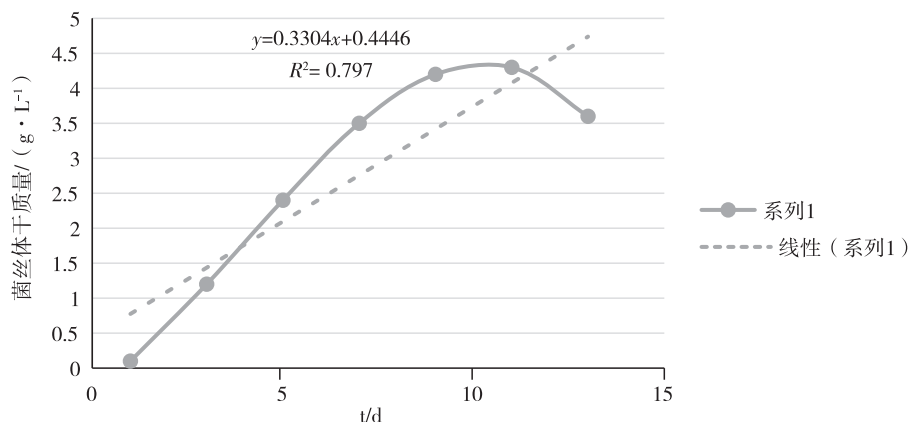


图1 白灵芝菌丝体生长曲线

2.2 C源对白肉灵芝菌丝体生长的影响

从不同C源对白肉灵芝菌丝体干质量的影响(表1)可以直观地发现,白肉灵芝菌丝体对各类C源均能吸收利用,但对于多糖类的利用优于双糖及单糖。在本文选择的C源中,白肉灵芝菌丝体对可溶性淀粉的吸收利用率最高,白肉灵芝菌丝体干质量达4.90 g/L,其次是玉米粉,菌丝干质量为4.82 g/L。在本文使用的C源双糖中,白肉灵芝菌丝体对蔗糖的利用效果最好,菌丝干质量为2.70 g/L。实验中选择的2种多糖对白肉灵芝菌丝干质量的影响比其他碳源利用高。但是,从成本考虑,优先选择使用玉米粉作为实验C源的来源。

表1 不同C源对白肉灵芝菌丝体干质量的影响

C源	菌丝干质量/(g·L ⁻¹)
蔗糖	2.7±0.69
葡萄糖	2.21±0.42
可溶性淀粉	4.90±0.43
玉米粉	4.82±0.24
无碳源(CK)	0.25±0.17

2.3 N源对白肉灵芝菌丝体生长的影响

从N源对白肉灵芝菌丝体干质量的影响(表2)可以看出,在供试的N源中,白肉灵芝菌丝体对酵母膏吸收利用效果最好,菌丝体干质量为10.29 g/L,然后是硝酸铵、牛肉膏,实验中N源蛋白胨的吸收利用效果最差,菌丝体干质量仅为3.17 g/L。试验结果分析表明,与其他氮源相比,酵母膏效果最好。但是考虑到价格,可选硝酸铵作为实验氮源。

表2 不同N源对白肉灵芝菌丝体干质量的影响

N源	菌丝体干质量/(g·L ⁻¹)
牛肉膏	5.12±0.16
蛋白胨	3.17±0.44
酵母膏	10.29±0.13
硝酸钾	4.15±0.29
硝酸铵	7.40±0.35
无氮源(CK)	1.75±0.20

2.4 pH值对白肉灵芝菌丝体生长的影响

从图2可明显观察到,白肉灵芝菌丝体对酸碱度的适应范畴较广,pH值为1~13均能生长,但是

在其他条件不变,调节pH值培养6 d后,不难发现pH值为6时菌丝干质量最高,但由于发酵期间,代谢产物会使发酵液体pH值降低,故应调高液体培养基的pH值,因此应该选择pH=7作为白肉灵芝菌丝体发酵较适宜的pH值。

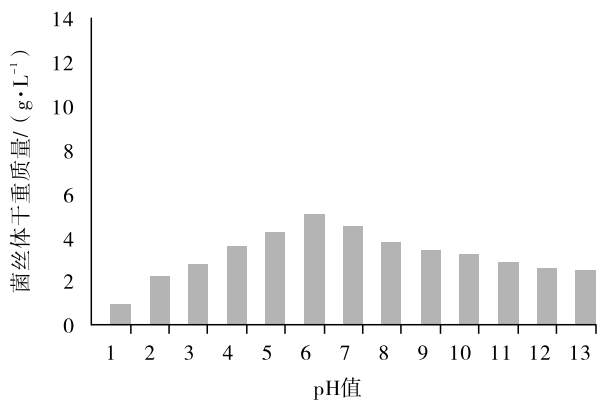


图2 pH值对白肉灵芝菌丝体生长的影响

3 结论与讨论

白肉灵芝菌丝体液体发酵在利用C源、N源的时候不仅要考虑到利用率的问题,还需要考虑成本问题,因此在选择C源、N氮源的时候有限考虑成本较低,有助于大规模生产的品种;发酵期间代谢产物会使发酵液pH值降低,因此应调高初始液体培养基的pH值,因此主要选取玉米粉作为C源,硝酸铵作为N源,pH=7作为最优条件。本实验如果仅仅从单因素方面研究不同条件对白肉灵芝菌丝体液体发酵的影响,不很全面,还需进一步进行多因素实验分析,使其为白肉灵芝菌丝体发酵产业提供实践依据和试验指导。

参考文献:

[1] 刘佳,王勇.灵芝多糖研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(6):629-633.

[2] 李宇伟,连瑞丽,李利红,等.灵芝液体深层发酵菌株筛选与培养基优化的研究[J].广东发农业科学,2010,6:52-54.

[3] 万萍,汤凯惠.灵芝液体深层发酵培养条件初探[J].成都大学学报,2009,28(4):298-303.

[4] 周川,邓功成,王文飞,等.不同碳源对红芝液体发酵影响的研究[J].黔南民族师范学院学报,2013,33(3):124-128.

[5] 朱华玲,班立桐,徐晓萍,等.食用菌发酵的应用研究进展[J].江西农业学报,2012,24(4):80-83.

[6] 贺新生,王茂,欧文婧,等.树舌灵芝菌丝体发酵工艺条件试验[J].食品科学,2008,29(3):289-291.