维普资讯 http://www.cqvip.com

正红菇液体发酵培养基和发酵条件的研究

许 晖，孙兰萍，石亚中

（蚌埠学院 食品与生物工程系，安徽 蚌埠 233030）

摘 要：研究了正红菇（*Russula vinosa*）在发酵过程中菌丝体及胞外多糖产量的变化趋势，碳源、氮源、无机盐以及发酵温度、pH值、时间和装液量等因素对正红菇液体深层发酵菌丝产量的影响。结果表明，蔗糖为最佳碳源，酵母膏为最佳氮源，优化培养基配方为蔗糖40g/L，酵母膏9g/L，KH_2PO_4 2g/L，$MgSO_4$ 1g/L；最适菌丝体生长的液体发酵条件：培养温度28℃~30℃，初始pH值为5.5~6.5，250mL三角瓶装液量为50 mL~60mL，发酵时间为5d。通过优化培养基和发酵条件，胞外多糖产量达到4.96g/L，菌丝体生物量达到22.34 g/L。

关 键 词：正红菇；深层发酵；胞外多糖

中图分类号：TQ92 **文献标识码**：A **文章编号**：2054-0571(2007)01-0035-04

Study on liquid fermentation conditions and medium of *Russula vinosa*

XU Hui, SUN Lan-ping, SHI Ya-zhong

(Department of Food and Bioengineering, Bengbu Institute, Bengbu 233030, China)

Abstract: The variation in production of mycelium and extracellular polysaccharide during the fermentation of *Russula vinosa* was studied. The effects of culture conditions, including carbon source, nitrogen source, mineral salt, temperature, pH, culture time and medium volume, on the production of mycelium by submerged fermentation of Russula vinos were investigated. The results showed that sucrose was the best carbon source while yeast extract was the best nitrogen source. The optimized medium consisted of 40g/L sucrose, 9g/L yeast extract, 2g/L KH_2PO_4 and 1g/L $MgSO_4$. The mycelium grew best when submerged fermentation was carried out at 28℃~30℃ for 5d with initial pH of 5.5~6.5 in 250mL flask containing 50~60 mL medium. With the optimization of fermentation medium and conditions, the extracellular polysaccharide and mycelial biomass reached 4.96 g/L and 22.34 g/L, respectively.

Key words: *Russula vinosa*; submerged fermentation; extracellular polysaccharide

正红菇（*Russula vinosa*）又称真红菇、朱菰、葡酒红菇，在系统分类学中隶属真菌门（*Eumycota*），担子菌纲（*Basidiomycetes*），红菇目（*Russulales*），红菇科（*Russulaceae*），红菇属（*Russula*）[1]。正红菇营养丰富，鲜美可口，具有补血、滋阴、清凉解毒之功效。民间常以红菇加瘦肉或黑豆炖服治疗贫血、水肿、营养不良及产妇出血过多等症状，能增强机体免疫力，并有一定的抗菌抗癌作用，是一种珍贵的药食兼用菌，具有极高的应用开发价值[2]。

目前对正红菇的研究主要集中在对正红菇子实体多糖的提取[3-4]、纯化分离[5-6]、化学成分[7]。刘斌等人[6]对正红菇在液体条件下产多糖进行了初步研究，这方面的研究报道较少。本文以正红菇胞外多糖和菌丝体生物量为目标产物，对其深层培养的适宜发酵培养基和发酵条件进行了初步探讨，旨在为开发利用这一真菌资源提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

正红菇（*Russula vinosa*）：由本院微生物实验室保藏。

1.2 培养基

斜面PDA：活化菌种用。

液体种子培养基：马铃薯200g/L，葡萄糖20g/L，KH_2PO_4 2g/L，$MgSO_4$ 1g/L。

摇瓶发酵基础培养基：蔗糖20g/L，酵母膏2g/L，KH_2PO_4 2g/L，$MgSO_4$ 1g/L。

1.3 培养方法

斜面培养：从母种试管中切出蚕豆大小的菌丝块接种于斜面的中部，在30℃培养6d。

液体种子培养：将活化的斜面菌种切割成黄豆大

收稿日期：2006-08-07

作者简介：许 晖（1969-），男，安徽蚌埠人，副教授，研究方向为食品微生物学与食品生物技术。

维普资讯 http://www.cqvip.com

小的菌丝块，接种于液体培养基中，250mL三角瓶装液量50mL，于30℃、200r/min培养6d。

发酵培养：采用二级摇瓶，250mL三角瓶装液量50mL，液体菌种接种量为10%，于30℃、200r/min培养。

1.4 分析方法

菌丝干重测定：取100mL发酵液，在3000r/min离心20min，经自来水洗涤多次后，将菌丝体在105℃烘干至恒重，电子天平称重。

胞外多糖测定：采用乙醇沉淀法。发酵液经离心分离后（3000r/min 离心20min），向上清液中加入体积分数为95%的乙醇至浓度为30%，冰箱过夜，离心的滤液继续加体积分数为95%的乙醇至浓度为75%，离心得胞外多糖，60℃烘干至恒重，电子天平称重。

2 结果与讨论

2.1 发酵培养基的筛选

2.1.1 碳源对正红菇深层发酵的影响

在基础培养基中分别加入各种碳源，添加量为20g/L，考察各种碳源对胞外多糖和菌体生物量的影响，结果见表1。由表1可知，正红菇对单糖、双糖和天然碳源能较好地利用，其中以蔗糖、麦芽糖和玉米粉为碳源时，产胞外多糖的能力比其他碳源要好；不同的碳源发酵产菌丝体生物量也不同，以葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和甘露醇最好。综合考虑，以蔗糖为最适碳源。

2.1.2 氮源对正红菇深层发酵的影响

在基础培养基中分别加入各种氮源，添加量为2g/L，考察各种氮源对胞外多糖和菌体生物量的影响，结果见表1。由表1可知，正红菇对有机氮源的利用优于无机氮源，胞外多糖的产率都明显高于无机氮源；单一的无机氮源对菌体生长和胞外多糖的分泌不利。在有机氮源中，以酵母膏、豆饼粉的利用效果最佳。综合考虑，以酵母膏为最适氮源。

2.1.3 碳源质量浓度对正红菇深层发酵的影响

基础培养基中以2g/L的酵母膏为氮源，通过改变蔗糖的质量浓度，进行碳源质量浓度试验，结果见图1。由图1可以看出，蔗糖质量浓度太高和太低都不利于胞外多糖产率的提高，故蔗糖质量浓度在30g/L~40g/L为宜。

表1 碳源、氮源对正红菇深层发酵的影响

Table 1. Effect of carbon or nitrogen sources on submerged fermentation of *Russula vinosa*

	碳源/氮源	胞外多糖/(g·L⁻¹)	生物量/(g·L⁻¹)
碳源	葡萄糖	0.84	9.24
	蔗糖	2.82	9.22
	乳糖	0.12	2.14
	麦芽糖	2.68	8.87
	可溶性淀粉	0.14	2.41
	玉米粉	2.94	3.56
	甘露醇	2.31	8.72
氮源	酵母膏	3.72	15.72
	蛋白胨	3.28	14.85
	尿素	0.78	14.65
	硫酸铵	1.86	10.57
	豆饼粉	3.86	14.65
	麸皮	3.58	9.86

2.1.4 氮源质量浓度对正红菇深层发酵的影响

改变基础培养基中酵母膏的质量浓度，进行氮源质量浓度试验，结果见图1。

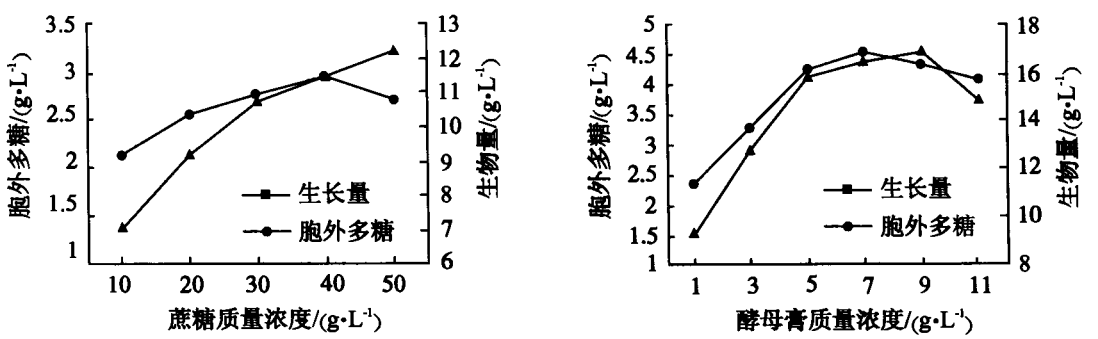

图1 蔗糖、酵母膏质量浓度对正红菇深层发酵的影响

Figure 1. Effect of sucrose or yeast extract concentration on submerged fermentation of *Russula vinosa*

维普资讯 http://www.cqvip.com

由图1可以看出，酵母膏质量浓度增加时，菌体生物量和胞外多糖产量明显提高，但当氮源质量浓度高于7g/L时，生物量及胞外多糖产量均下降。只有在适宜的氮源质量浓度(5g/L~9g/L)下，菌体才能够兼顾其生长和多糖的形成。

2.1.5 无机盐对正红菇深层发酵的影响

在基础培养基中，添加不同质量浓度的无机盐，进行试验结果见表2。由表2可以看出，当无机盐质量浓度过高时，对菌体生长和胞外多糖的分泌均有抑制作用，因此，选取KH_2PO_4和$MgSO_4$质量浓度分别在2g/L和1g/L，菌丝体生长和产胞外多糖的情况较好。

表2 无机盐对正红菇深层发酵的影响

Table 2. Effect of mineral salts on submerged fermentation of *Russula vinosa*

KH_2PO_4质量浓度/(g·L^{-1})	$MgSO_4$质量浓度/(g·L^{-1})	生物量/(g·L^{-1})	胞外多糖/(g·L^{-1})
1.0	0.5	19.83	4.27
2.0	1.0	20.57	4.76
3.0	1.5	18.64	4.32
4.0	2.0	17.54	4.02
5.0	2.5	15.87	3.76

表3 正红菇发酵培养基正交试验因素及水平

Table 3. Factors and levels in orthogonal experiment on fermentation of *Russula vinosa*

水平	A 蔗糖/(g·L^{-1})	B 酵母膏/(g·L^{-1})	C (KH_2OP_4+$MgSO_4$)/(g·L^{-1})
1	30	5	1.0+0.5
2	40	7	2.0+1.0
3	50	9	3.0+1.5

表4 $L_9(3^4)$正交试验结果与分析

Table 4. The analysis of result with orthogonal test of $L_9(3^4)$

试验号	A	B	C	生物量/(g·L^{-1})	胞外多糖/(g·L^{-1})
1	1	1	1	13.68	3.24
2	1	2	2	15.64	4.19
3	1	3	3	17.34	4.98
4	2	1	2	16.82	4.86
5	2	2	3	17.63	4.97
6	2	3	1	21.25	4.63
7	3	1	3	14.57	3.79
8	3	2	1	18.67	4.51
9	3	3	2	22.43	5.01
K_1	12.41	11.89	12.38		
K_2	14.46	13.67	14.06		
K_3	13.31	14.62	13.74		
k_1	4.14	3.96	4.12		
k_2	4.82	4.56	4.69		
k_3	4.44	4.87	4.58		
R	0.68	0.91	0.57		

2.1.6 正交试验优化发酵培养基

综合试验结果，选蔗糖为碳源、酵母膏为氮源、KH_2PO_4和$MgSO_4$为无机盐，以菌丝体生物量和胞外多糖考察指标，进行$L_9(3^4)$正交试验，因素及水平见表3，试验结果见表4。

极差分析表明，各因素对胞外多糖的影响程度的主次顺序为B>A>C，氮源对菌丝体生长和胞外多糖的产生影响最大，各因素的最佳水平组合是$B_3A_2C_2$，因此确定最适发酵培养基组成为蔗糖40g/L，酵母膏9g/L，KH_2PO_4 2g/L，$MgSO_4$ 1g/L。

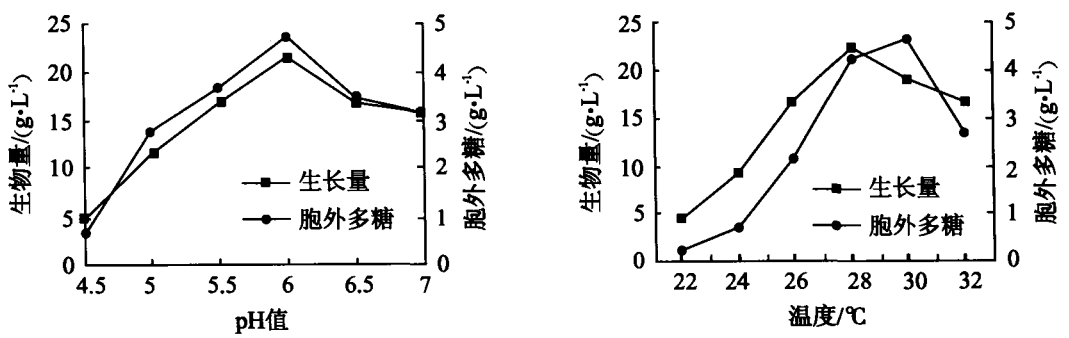

图2 pH值、发酵温度对生物量和胞外多糖的影响

Figure 2. Effect of medium volume or fermentation time on bio-mass and extracellular polysaccharide

维普资讯 http://www.cqvip.com

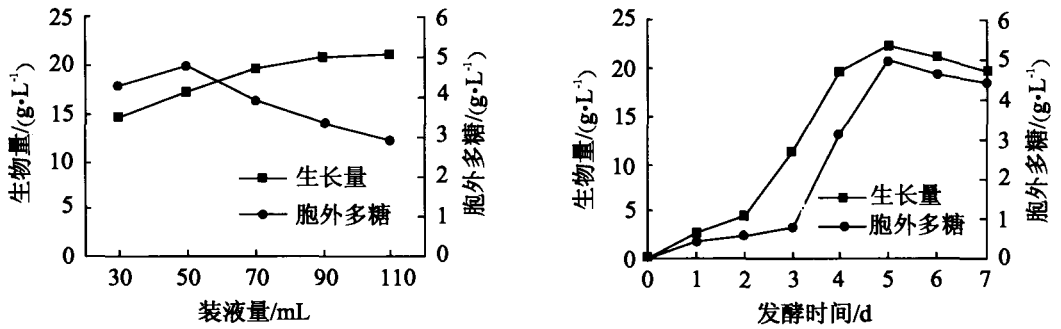

图3 装液量、发酵时间对生物量和胞外多糖的影响

Figure 3. The effect of liquid quantity on biomass and extracellular polysaccharide

2.2 发酵条件试验

2.2.1 pH值对菌丝体生长和胞外多糖的影响

将培养基配成溶液后调节pH4.5~7.0，振荡培养5d后，测定红菇菌菌丝体生物量和胞外多糖的产量，结果见图2。

从图2可以看出，正红菇在pH5~7范围内都能生长，菌丝体生物量和胞外多糖在pH6.0时达到最高；当pH超过6.0时，菌丝体生物量和胞外多糖产量开始下降；pH＜5.0时，菌丝体生长缓慢，胞外多糖产量也较低，因此，正红菇生长的最适pH值为5.5~6.5。

2.2.2 发酵温度对菌丝体生长和胞外多糖的影响

将培养基配成溶液后调节pH4.5~7.0，振荡培养5d后，测定红菇菌菌丝体生物量和胞外多糖的产量，结果见图2。由图2可知，正红菇菌丝体在24℃~32℃均能生长，28℃~30℃生长繁殖速度最快，其胞外多糖产量较高，菌丝体生长的最适温度为28℃，而产生胞外多糖的最适温度为30℃。

2.2.3 装液量对菌丝体生长和胞外多糖的影响

在250mL的三角瓶中分别选择30mL、50mL、70mL、90mL和110mL装液量，振荡培养5d后，测定红菇菌菌丝体生物量和胞外多糖的产量，结果见图3所示。由图3可知，菌丝体生物量与装液量呈正相关，随着装液量的增加，菌丝体生物量逐渐增多；但装液量超过50mL时，胞外多糖的产量随装液量的增加反而减少，这是由于随着装液量的增加，摇瓶供氧不足，菌丝发酵产生的次生代谢产物增加所致；但当装液量低于50mL时，菌丝体生物量明显降低。因此正红菇生长的最适装液量确定为50mL~60mL。

2.2.4 发酵时间对菌丝体生长和胞外多糖的影响

在250mL三角瓶装入50mL培养液，30℃、200r/min振荡培养，测定不同培养时间对正红菇菌丝生长和胞外多糖的影响，结果如图3所示。由图3可知，发酵前期菌丝体生物量和胞外多糖增加缓慢，第3d开始，随着菌丝体的生长，代谢旺盛，胞外多糖产量逐渐增加，5d时胞外多糖的产量达到最大，此后胞外多糖产量又有所降低。胞外多糖的积累主要在5d左右，随着发酵的进行，发酵后期营养物质变得不充足，菌体分泌出的多糖可能又被菌体本身利用，所以胞外多糖的产量在5d以后下降。而菌丝体生物量第5d达到最大，随着发酵周期的延长，菌丝体生物量也逐渐减少。因此，综合考虑正红菇生长的最适发酵周期为5d。

3 结论

正红菇对供试碳源都有不同程度地利用，但以蔗糖的利用率较高；对有机氮的利用率较高，以酵母膏为最适宜。正交试验确定了正红菇深层发酵的最佳培养基组成，即蔗糖质量浓度为40g/L，酵母膏质量浓度为9g/L，KH_2OP_4质量浓度为2g/L，$MgSO_4$质量浓度为1g/L。

正红菇深层发酵菌丝体生长和胞外多糖产生的最适初始pH值为5.5~6.5，最适发酵温度为28℃~30℃，250mL三角瓶的装液量为50mL~60mL，发酵时间为5d。通过优化培养基和发酵条件，胞外多糖产量达到4.96g/L和菌丝体生物量达到22.34g/L。

参考文献：

[1] 陈宇航，陈政明，林国华. 红菇属真菌研究进展[J]. 福建农业学报(增刊)，1999 (14)：140-144.

[2] 许旭萍，李淑冰，李惠珍，等. 正红菇深层培养菌丝体与野生子实体有效成份的分析比较[J]. 菌物系统，2003，22(1)：107-111.

[3] 邱龙新. 正红菇子实体多糖的提取技术研究[J]. 食用菌，2003 (1)：8-9.

[4] 邱龙新. 正红菇子实体多糖的提取技术及抗癌活性研究[J]. 中国食用菌，2004，23(6)：48-50.

[5] 蔡小玲，葛 刚，郭 勇，等. 野生红菇的分离纯化培养初探[J]. 广州食品工业科技，2003，19(2)：30-31.

[6] 刘 斌，莫天砚. 红菇的分离及其培养特征观察[J]. 广西农业大学学报，1994，13(4)：345-347.

[7] 李惠珍，黄德鑫，许旭萍，等. 正红菇的化学成分的研究[J]. 菌物系统，1998，17 (1)：68-74.