

利用酒精废液发酵生产香菇多糖

活 泼 章克昌 徐 柔

(无锡轻工大学生物工程学院, 无锡 214036)

摘要 探讨了以酒精厂废液为主要原料进行香菇菌深层培养生产多糖的工艺条件。实验结果表明: 选用葡萄糖 1 g/dL, 豆饼粉 1 g/dL, 稻草粉 0.75 g/dL, 酒精废液 10 g/dL 的发酵培养基, 在起始 pH4.0, 28℃ 的条件下培养 7 d, 发酵液粗多糖(含胞内和胞外)产率最高达 0.844 g/dL。

关键词 香菇; 香菇多糖; 酒精废液

分类号 TQ929.2

0 前 言

香菇多糖因具有抗肿瘤、抗病毒、抗感染、提高人体免疫力等生理功能而被应用于各种癌症的治疗^[1,2]。但到目前为止香菇多糖主要是从香菇子实体中提取。人工栽培香菇子实体耗时费力, 成本较高产量也受到限制。采用发酵法来生产, 生产周期可缩短到一周左右, 省时省力, 易于工业化生产。20世纪 70年代日本学者就以威士忌酒糟为原料进行香菇菌发酵并提取了具有抗肿瘤活性的香菇多糖 KS-2^[1]。20世纪 90年代我国四川、天津等地也开展了这方面的研究, 但都是以玉米、黄豆等粮食为主要原料。作者本着节约粮食、净化环境、变废为宝的目的, 以酒精厂的废液为主要原料, 辅以少量的葡萄糖、豆饼粉, 对香菇菌的发酵工艺进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种 7402号菌由江苏省微生物研究所食用菌组提供

1.1.2 斜面培养基 马铃薯葡萄糖(PDA)培养基

1.1.3 摇瓶种子培养基 以单位 g/dL计: 葡萄糖 2, 豆饼粉 1, 稻草粉 1, 自然 pH。

1.1.4 酒精废液 南京金陵啤酒有限公司酒精分厂提供

1.2 方法

1.2.1 斜面种子培养 采用 PDA培养基, 从原种试管中切出约 1 cm² 的菌丝块接种到扩大斜面试管中, 28℃ 培养箱中培养 12 d。

1.2.2 摇瓶种子培养 250 mL三角瓶装液量 100 mL, 121℃ 灭菌 30 min, 冷却后每瓶接

收稿日期: 1998-09-03

第一作者: 活泼, 女, 锡伯族, 1962年 11月生, 博士研究生, 副研究员

1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

种斜面母种一支,置旋转摇床 150 r/min,28℃,培养 7 d.

1.2.3 胞外粗多糖提取 发酵结束后,将发酵液 3 000 r/min离心 20 min,上清液加 95%的酒精至 60%饱和度,冰箱过夜,3 000 r/min离心,沉淀即为粗多糖,烘干至恒重,称重,每个做 3次重复,取平均值^[4]。

1.2.4 胞内粗多糖提取 离心所得的菌丝体用组织捣碎机捣碎后按一定比例加热水浴知抽提。提取液冷却后,3 000 r/min离心 20 min,其余步骤与胞外粗多糖提取方法相同。

1.2.5 实验设计 根据已有的实验结果,发现稻草粉、酒精废液、豆饼粉、葡萄糖为影响多糖产率的主要因素,所以选用 $L_9 3^4$ 正交表安排实验 见表 1.

表 1 因素与水平的确定 g/dL

水平	因 素			
	A稻草粉	B葡萄糖	C豆饼粉	D废液
1	0.5	1.0	1.0	6.0
2	0.75	2.0	1.5	8.0
3	1.0	3.0	2.0	10.0

2 结果与分析

2.1 培养基的最佳组成

实施 1.2.5实验设计方法,实验结果见表 2由表 2极差行的数据可知,当因素 A的水平变动时,指标波动最大;因素 D的水平变动时,指标波动最小。根据极差的大小顺序排出因素的主次:

主→→→次
A, C, D, B

由此可见稻草粉的用量最重要,其次是豆饼粉和酒精废液的用量,因此由因素-指标的关系得出最佳培养基的组成。

表 2 正交实验结果 多糖: mg/dL

实验号	A	B	C	D	多糖产率
1	1	1	1	1	8.8
2	1	2	2	2	19.6
3	1	3	3	3	18.8
4	2	1	2	3	173.2
5	2	2	3	1	28.8
6	2	3	1	2	192
7	3	1	3	2	3.6
8	3	2	1	3	132
9	3	3	2	1	26
I _j	47.2	185.6	332.8	63.6	
II _j	394	180.4	248.8	215.2	
III _j	161.6	236.8	51.2	324	
极差	346.8	56.4	281.6	260.4	

2.2 接种量对多糖产率的影响

其他条件不变,分别以 5%,10%,15%,20%的接种量进行接种。实验表明接种量为 10%时,粗多糖产率较高 见图 1.

2.3 温度对多糖产率的影响

其他条件不变,分别在 22℃,26℃,28℃,30℃下培养。实验结果见图 2,可知在温度为 28℃时多糖产率较高。

2.4 装液量对多糖产率的影响

500 mL三角瓶中分别装发酵培养基 100 mL,150 mL,200 mL,250 mL,300 mL,在相同条件下培养。图 3表明,当装液量为 300 mL时,多糖产率较高。也就是说,香菇菌在产多糖时并不需要太大的溶氧量。

2.5 多糖的红外光谱测定

将提取的粗多糖进行红外光谱测定,表现出 7个峰,其中 890 cm⁻¹是β糖苷键的特征吸收峰,870 cm⁻¹和 800 cm⁻¹是甘露糖的特征吸收峰。

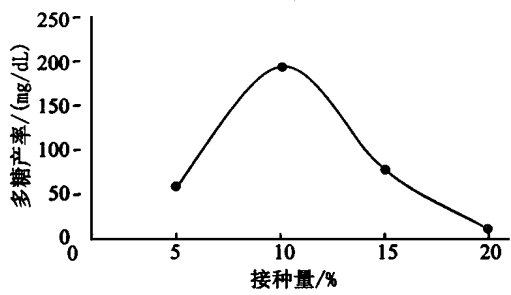


图 1 接种量对多糖产率的影响

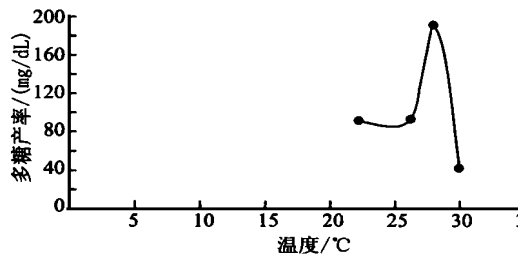


图 2 温度对多糖产率的影响

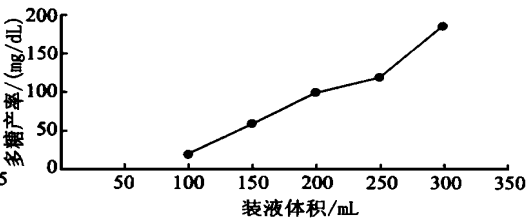


图 3 装液体积对多糖产率的影响

3 结论

1) 发酵最佳培养基为 (g /dL): 稻草粉 0.75,葡萄糖 1.0,豆饼粉 1.0,酒精废液 10.0.
2) 发酵的最优工艺条件是: 培养基的起始 pH4.0,温度 28℃,接种量 10%,500 mL三角瓶中装液量为 300 mL,转速 170 r/min,培养 7 d,在此条件下,粗多糖产率 (含胞外、胞内)可达 0.844 g /dL. 3) 多糖的红外光谱分析: 据资料报道,一般具有抗肿瘤活性的真菌多糖在化学结构上都具备β-糖苷键. 红外光谱图显示,用酒精废液生产的香菇多糖和用其他原料生产的香菇多糖一样具有β-糖苷键,说明该多糖在化学结构上已具备了抗肿瘤的活性结构,详细的化学结构、理化性质及实际的抗肿瘤作用还有待于进一步研究

参 考 文 献

1 Fujii T, Maeda H, Suzuki F, et al. Isolation and characterization of a new antitumor polysaccharide, KS- 2, extracted from culture mycelia of lentinus edodes. The Journal of Antibiotics, 1978, 31(11): 1079- 1090
2 Chihara G, Hamurko J, Maeda Y, et al. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially Lentinan from Lentinus edodes(Berk) Sing(an edible mushroom). Cancer Research, 1970, (30); 2776- 2781
3 Stuart Tipson R, Derek Horton. Plant polysaccharides. Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry, 1976 (32): 255- 270
4 Roy L. Whistler. Fractional Precipitation with ethanol Methods in carbohydrate chemistry, 1965(5): 34- 36

Studies on using stillage producing polysaccharide by submerged fermentation of lentinus edodes

Huo Po Zhang Kechang Xu Rou

(Biotechnology school, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Abstract This article mainly studied the fermentation conditions of producing polysaccharide by submerged fermentation of Lentinus edodes. The results of experiments showed the optimum medium is Glucose 1%, Bean powder 1%, Straw powder 0.75%, Stillage 10%. Initial pH is 4, 28℃, under this condition the crude polysaccharide content is 844 mg/dL.

Key words lentinus edodes; polysacchaside; subme ged; esmentation

(责任编辑:秦和平)