

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2017.02.008

文章编号:2095-6002(2017)02-0051-07

引用格式:李兆坤,王凤寰,陈彬,等. 青藏高原珍稀大型真菌亚东木耳菌丝发酵条件研究[J]. 食品科学技术学报,2017,35(2):51-57.



LI Zhaokun, WANG Fenghuan, CHEN Bin, et al. Study on fermentation conditions of rare Yadong edible fungus in Tibetan plateau[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017,35(2):51-57.

青藏高原珍稀大型真菌亚东木耳菌丝发酵条件研究

李兆坤^{1,2}, 王凤寰^{1,*}, 陈彬^{2,*}, 蒋思萍², 徐爱国²

(1. 北京工商大学 食品学院, 北京 100048; 2. 西藏自治区高原生物研究所, 西藏 拉萨 850001)

摘要:为了更好地开发利用西藏珍稀大型真菌亚东木耳,对亚东木耳菌丝生长和次级代谢条件进行研究。考察了不同培养基成分和培养条件对亚东木耳菌丝生长速度、生物量和次级代谢产物产量的影响。结果表明,可溶性淀粉、酵母浸粉和 CaCl_2 分别为亚东木耳生长代谢的较佳碳源、氮源和无机盐,维生素 B_1 、 B_2 对菌丝生长无明显促进作用。较佳培养温度为 $26\text{ }^\circ\text{C}$,较佳培养时间为 63 d,菌丝生长较佳初始 pH 值为 7.0,较佳次级代谢初始 pH 值为 6.0。HPLC 图谱分析结果表明,次级代谢产物种类多达 200 余种,其中初始 pH 值和温度条件对次级代谢多样性的影响较为明显。

关键词:大型真菌;亚东木耳;培养条件;次级代谢;HPLC 分析

中图分类号:TS255;TS201.3

文献标志码:A

大型真菌是菌物界真菌门肉眼可见的一类真菌,菌物种类繁多,全世界约有 150 多万种,按功能一般分为药用真菌和食用真菌^[1]。有一些大型真菌(如猴头菇,香菇等)既可食用又具有医疗保健作用,即为食药兼用真菌^[2]。从工业生产角度来说,研究食药大型真菌的发酵和次级代谢,对于开发菌丝体粉末保健品、食品添加剂以及含有次级代谢产物的药品具有重要意义。

亚东木耳是一种珍稀的食药兼用野生经济真菌,因产于西藏亚东县而得名,近几年备受关注。亚东木耳生长在峨眉蔷薇(*Rosa omeiensis*)科枯树枝上,经鉴定属于黑耳属(*Exidia* sp.)真菌^[3],且味道鲜美、营养丰富,被誉为“植物肉、素中之荤”。2012年,亚东木耳的市售价格已达到 4 000 元/kg,成为当地居民增收的一个重要渠道,但同时也出现了过渡采挖现象,导致其产量逐渐下降。为了更好地利

用该野生菌资源,对亚东木耳菌丝进行人工培养并进一步研究其活性次级代谢,具有重要意义。

目前尚未见亚东木耳菌丝培养研究的相关报道。本研究拟考察碳源、氮源、无机盐、生长因子、培养基初始 pH 值、培养温度、培养时间等条件对亚东木耳菌丝生长和次级代谢的影响,以期获得了亚东木耳快速生长的营养和环境条件以及适宜的菌丝次级代谢培养条件;利用高效液相色谱分析技术对亚东木耳菌丝次级代谢产物多样性进行定性分析。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菌种,亚东木耳(*Exidia* sp.),从西藏亚东县采集长有亚东木耳子实体的树枝,通过无菌操作将子实体表面消毒、切成碎片后,转接到 PDA 培养基上,

收稿日期:2016-07-05

基金项目:2014年西藏自治区科技计划应用基础研究项目“高原地区双孢菇栽培技术与菌丝发酵及次生代谢活性分析”。

作者简介:李兆坤,女,硕士研究生,研究方向为食品生物技术;

*王凤寰,男,副教授,博士,主要从事食品生物技术方面的研究,通信作者;

*陈彬,男,副研究员,博士,主要从事天然产物开发方面的研究,通信作者。

25℃下培养出无污染、生长健壮的菌丝体,经多次纯化获得原始菌种材料^[4]。经分子生物学鉴定亚东木耳属于黑耳属(*Exidia* sp.)真菌。

葡萄糖、麦芽糖、可溶性淀粉、乳糖、蔗糖、酵母浸粉、牛肉膏、蛋白胨、水解乳蛋白均为生化试剂,北京奥博星生物技术有限责任公司; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 KNO_3 、 KCl 、 CaCl_2 、 ZnCl_2 、 MgSO_4 、 FeSO_4 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 均为分析纯,北京化工厂;维生素 B_1 、 B_2 均为实验试剂;乙腈(色谱纯),赛默飞世尔科技(中国)有限公司;乙酸乙酯(分析纯)、甲醇(分析纯),北京化工厂;马铃薯、超纯水。

1.2 仪器与设备

BSA-CW 型电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;YXQ-LS-100SII 型立式压力蒸汽灭菌器,上海博讯实业有限公司;DL-CJ-2N 型洁净工作台,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;LRH-250F 型生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;DHG-9246A 型真空干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;RE-5205 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;KQ5200E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;LaboStar 7 TWF UV 型超纯水器,Evoqua Water Technologies Company;1100 型高效液相色谱仪(四元梯度泵,检测器,Agilent1100 工作站),Agilent 公司;Symmetry C18 型色谱柱,Waters 公司。

1.3 培养基

平板培养基: PDA(马铃薯葡萄糖琼脂培养基)^[5]。

种子培养基:改良的 PD(马铃薯葡萄糖)培养基,在马铃薯葡萄糖培养基的基础上加入酵母粉 0.2%, MgSO_4 0.1%,维生素 B_1 10 mg/L^[6]。

基本培养基:葡萄糖 20 g/L,酵母粉 2 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, MgSO_4 1 g/L,维生素 B_1 0.01 g/L,固体培养基含有琼脂 1.5%^[7]。

1.4 实验方法

1.4.1 培养基因素对菌丝生长和次级代谢影响实验

分别以可溶性淀粉、蔗糖、麦芽糖、乳糖作为碳源,替换基本培养基(固体)中的葡萄糖^[8],于平板中间接种约 0.5 cm 见方的菌块,26℃下静置培养。一周后每 3 d 测量菌丝半径一次,并观察菌丝形态,考察不同碳源对菌丝生长速率的影响。在 500 mL 三角瓶中,配制 200 mL 基本培养基,分别以可溶性淀粉、蔗糖、麦芽糖、乳糖作为碳源,替换基本培养基

(液体)中的葡萄糖,自然 pH 值,于 26℃恒温箱内静置培养 55 d,考察不同碳源对菌丝生长量及次级代谢的影响。

分别以牛肉膏、蛋白胨、水解乳蛋白、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 KNO_3 作为氮源,替换基本培养基(固体)中的酵母粉^[9],培养及测量方法同碳源对菌丝生长影响实验,考察不同氮源对菌丝生长速率的影响。分别以牛肉膏、蛋白胨、硫酸铵、硝酸钾作为氮源替换基本培养基(液体)中的酵母粉,其他条件同上,考察不同氮源对菌丝生长量及次级代谢的影响。

分别以 KCl 、 CaCl_2 、 ZnCl_2 、 FeSO_4 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$,替换基本培养基(液体)中 MgSO_4 ,其他条件同上,考察不同无机盐对菌丝生长量及次级代谢的影响。

配制 PDA 培养基,加入不同生长因子(维生素 B_1 、 B_2),无生长因子培养基作为空白对照。于平板中央接种约 0.5 cm 见方的菌块,26℃下静置培养。1 周后每 3 d 测量菌丝半径 1 次,并观察菌丝形态。实验均作 3 组平行。

1.4.2 环境因素对菌丝生长及次级代谢影响实验

在 500 mL 三角瓶中,加入 200 mL 基础培养基,用 1 mol/L 的 HCl 溶液或 1 mol/L NaOH 溶液,调节培养基初始 pH 值分别为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 五个梯度,每个梯度设置两组平行,接种菌龄 30 d 菌种。置于 26℃恒温箱中静置培养 55 d,考察培养基初始 pH 值对菌丝生长及其次级代谢的影响。

分别设置 20、22、24、26、28、30℃五个温度梯度,自然 pH 值,其他条件同初始 pH 值,考察温度对菌丝生长及次级代谢的影响。

利用米饭作为固体培养基进行发酵。设置时间为 35、42、49、56、63 d 五个时间梯度,室温下静置培养,考察不同培养时间对次级代谢的影响。以上实验均作 3 组平行。

1.4.3 菌丝收集及代谢产物处理

菌丝收集:采用 6 层纱布过滤并剥落黏质菌丝的方法。菌丝自然风干至质量不变时,称重。

菌丝发酵液的处理:用与发酵液同等体积的乙酸乙酯萃取 3 次,乙酸乙酯相进行减压浓缩,得到浓缩液。待溶剂挥干,用 50~60℃沸程石油醚处理,去除低极性次级代谢物(油脂类),38℃真空干燥 36 h 后称重。将干菌丝用 5 mL 甲醇浸泡后超声(200 W,10 min)提取 3 次,得到的提取液浓缩后与发酵浓缩液合并。

固体发酵基质处理:用甲醇-氯仿-乙酸乙酯混

合溶液（三者体积比为 1:1:1）浸泡基质，超声浸提 15 min，重复 3 次。浸提液经减压浓缩得到浓缩液，并用乙酸乙酯进行萃取，乙酸乙酯相经减压浓缩得到代谢产物粗提取物。

1.4.4 菌丝发酵次级代谢产物高效液相分析

根据次级代谢产物质量加入相应体积的甲醇进行溶解，使代谢产物样品质量浓度均为 0.02 g/mL。每个样品中加入 50 μ L 质量浓度为 0.1 mg/mL 的亚东木耳次级代谢产物 YE-1（纯度 >95%）作为参照物。样品溶液经 0.45 μ m 有机膜过滤后进行液相色谱分析^[10]。

C18 色谱柱（4.6 mm $\times$ 250 mm，5 μ m），流动相乙腈/水体系（乙腈比例变化为：0 ~ 40 min 5% ~ 30%，40 ~ 70 min 30% ~ 54%，70 ~ 86 min 54% ~ 74%，86 ~ 92 min 74% ~ 78%，92 ~ 105 min 90% ~ 100%，105 ~ 125 min 100%），流速 0.8 mL/min、检测波长 235 nm、柱温 30 $^{\circ}$ C、进样量 10 μ L。

2 结果与分析

2.1 不同因素对菌丝生长的影响

2.1.1 不同培养基成分对菌丝生长的影响

在菌丝生长过程中，前 5 ~ 7 d 为环境适应期，生长较缓慢，7 d 后大多数菌丝已萌发进入生长状态。葡萄糖和麦芽糖作为简单碳源，对菌丝快速生长最为有利，但最终菌丝强度稍弱，生物量较低，而可溶性淀粉作为大分子底物，可为菌丝生长提供长效碳源，更利于生物量的积累。在液体培养基中，以可溶性淀粉作为碳源获得最大生物量，为 0.427 g（见表 1）。

表 1 不同碳源对菌丝生长的影响

Tab. 1 Effects of different carbon sources on mycelium growth of hyphae				
碳源	菌丝平均 生长速度/ ($\text{cm}\cdot\text{d}^{-1}$)	t (菌丝 铺满)/ d	菌丝强弱 程度	m (液体培 养菌丝)/ g
蔗糖	0.039	33	+++	0.372
葡萄糖	0.045	28	+++	0.247
乳糖	0.034	>33	++	0.029
可溶性淀粉	0.044	31	++++	0.427
麦芽糖	0.047	28	+++	0.305

++++ 菌丝强度高，+++ 菌丝强度较强，++ 菌丝强度较弱，下表同。菌丝强弱包括菌丝粗细和菌丝致密程度。

菌丝在不同氮源中生长速度差异较大，菌丝生长速度由快到慢依次为酵母粉、硝酸钾、牛肉膏、蛋白胨、水解乳蛋白，菌丝强弱依次为酵母浸粉 = 蛋白胨 > 硫酸铵 > 牛肉膏 $\geq$ 水解乳蛋白 > 硝酸钾，其中在硝酸钾为氮源的平板琼脂培养基上，菌丝几乎呈透明态，极其稀疏细弱。液体发酵实验同样表明酵母粉是亚东木耳菌丝培养的最适氮源。培养到 48 d 时，酵母和牛肉膏培养基中菌丝最先出面，到 55 d 停止培养时，酵母浸粉培养基中菌丝已覆盖整个液面，培养基颜色呈深褐色，在此氮源条件下菌丝达到最大干重为 0.294 g（见表 2）。

表 2 不同氮源时菌丝生长情况

Tab. 2 Effects of different nitrogen sources on mycelium growth of hyphae				
氮源	菌丝平均 生长速度/ ($\text{cm}\cdot\text{d}^{-1}$)	t (菌丝 铺满)/d	菌丝强弱 程度	m (液体培 养菌丝)/ g
酵母浸粉	0.169	28	++++	0.294
硫酸铵	0.024	*	+++	0.140
牛肉膏	0.081	*	++	0.259
硝酸钾	0.137	31	+	0.184
蛋白胨	0.027	*	++++	0.283
水解乳蛋白	0.007	*	++	0.092

* 表示截止到最终记录日期菌丝未长满。

在 CaCl_2 培养基中达到最大生物量为 0.292 g，相对于其他实验金属离子来说， Ca^{2+} 最适合亚东木耳菌丝生长。而当培养基中加入 Fe、Zn 微量元素时，菌丝不生长（见表 3），一种可能原因是微量元素含量过高抑制菌丝生长，另一种可能是两种微量元素本身对菌丝有抑制作用，可通过加入不同浓度微量元素进一步验证。

表 3 不同无机盐下的菌丝质量

Tab. 3 Biomass of mycelium under different inorganic salts							
无机盐	MgSO_4	CaCl_2	KCl	FeSO_4	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	ZnSO_4	
m (菌丝)/g	0.25	0.292	0.103	0	0	0	

有文献报道，B 族维生素对担子菌菌丝生长多有促进作用^[11-13]，本实验测定维生素 B₁、B₂ 对亚东木耳生长的影响。在亚东木耳菌丝培养过程中，两种 B 族维生素作为生长因子，菌丝长势相差不大（见图 1），因此认为维生素 B₁、B₂ 对亚东木耳菌丝生长速度和菌丝强弱没有影响。

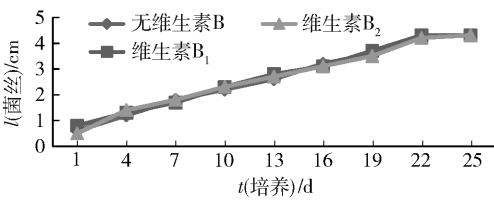


图1 维生素 B₁、B₂ 培养基中菌丝生长趋势

Fig.1 Growth trend of hyphae in culture mediums including vitamin B₁ and B₂

2.1.2 环境因素对菌丝生长的影响

在 pH 值小于 7.0 时,菌丝生长量呈递增趋势, pH 值为 7.0 时,菌丝生长量最大, pH 值为 8.0 时菌丝量略有下降,因此 pH 值 7.0 为菌丝生长的最适宜初始 pH 值(见表 4)。

根据观察,菌丝生长到 20 d,不同温度条件下的生长状态已有明显区别。24、26、28 ℃时液面下菌丝已开始结成大块絮状,22 ℃时菌丝略有结絮现象,较小成片,而 30 ℃时菌丝只是在原菌种基础上生长少量。由此可知,亚东木耳在 26 ℃条件下最适宜生长(见表 4)。

表 4 不同初始 pH 值和温度下菌丝质量

Tab.4 Biomass of mycelium under different pH values and temperatures

环境因素		<i>m</i> (菌丝)/g
初始 pH	4.0	0.209
	5.0	0.252
	6.0	0.270
	7.0	0.317
	8.0	0.303
温度/℃	22	0.231
	24	0.264
	26	0.354
	28	0.276
	30	0.018

2.2 不同因素对菌丝次级代谢的影响

2.2.1 不同培养基成分对菌丝次级代谢的影响

可溶性淀粉、酵母浸粉、CaCl₂分别为获得最多次级代谢产物的碳、氮源和无机盐(见表 5)。与菌丝生物量结果比较发现,该结果与菌丝生物量结果一致,说明菌丝生长状况好时,其次级代谢也越充分。

2.2.2 环境因素对菌丝次级代谢的影响

初始 pH 值为 6.0 条件下次级代谢产物产量最大,与菌丝生物量结果不一致(见表 4、表 6),不同初始 pH 值时的菌丝生物量和次级代谢产物产量结

表 5 不同营养条件下次级代谢产物质量

Tab.5 Biomass of secondary metabolites under different nutritional conditions

	营养条件	m (次级代谢产物)/g
碳源	蔗糖	0.045
	葡萄糖	0.065
	乳糖	0
	可溶性淀粉	0.128
	麦芽糖	0.083
氮源	酵母浸粉	0.116
	硫酸铵	0.028
	牛肉膏	0.029
	硝酸钾	0.046
	蛋白胨	0.088
	水解乳蛋白	0.009
无机盐	MgSO ₄	0.042
	CaCl ₂	0.095
	KCl	0.026
	FeSO ₄	0
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	0
	ZnSO ₄	0

表 6 不同环境条件下次级代谢产物质量

Tab.6 Biomass of secondary metabolites under different environment conditions

环境因素	m (次级代谢产物)/g	
初始 pH	4.0	0.019
	5.0	0.046
	6.0	0.065
	7.0	0.064
	8.0	0.011
温度/℃	22	0.022
	24	0.035
	26	0.063
	28	0.041
	30	0
时间/d	35	0.027
	42	0.039
	49	0.066
	56	0.175
	63	0.289

果表明,中性偏碱性条件更适合亚东木耳菌丝生长,中性偏酸性条件更适合菌丝代谢。菌丝在 26 ℃时最大次级代谢产物量为 0.063 g(见表 6),与菌丝生物量结果一致,因此,26 ℃为亚东木耳最适生长和次级代谢温度。

时间因素中,利用熟米饭基质对大型真菌进行

固体发酵培养,避免液体培养中由于时间过长而导致的水分大量蒸发,此方法所得产物称为菌质。真菌在该基质上可快速布满并进行代谢,产生各种生理活性物质,同时其胞外酶系又可以对基质中的化学成分进行生物转化,从而使菌质中有丰富的化学成分^[14]。在考察时间范围内,菌丝代谢物产量随时间增加而增加,虽然 63 d 内次级代谢产物量呈现上升趋势,但培养到 63 d 时,基质水分已严重下降,不利于菌丝继续生长代谢。利用大米发酵亚东木耳,63 d 为较合适的培养时间。

2.3 菌丝次级代谢 HPLC 图谱分析

对不同环境因素下次级代谢产物进行 HPLC 图谱分析,在相同色谱条件下比较其代谢产物差异性。取各单因素实验中次级代谢产物质量最多的样品作为研究对象,即时间单因素实验,取 49,56,63 d 条件下得到的 3 组样品作为分析对象;初始 pH 值单因素实验,取 pH 值为 5.0,6.0,7.0 条件下得到的 3 组样品作为分析对象;温度单因素实验,取 24,26,28 ℃ 条件下得到的 3 组样品作为分析对象。

在 235 nm 波长处有紫外光吸收的亚东木耳次级代谢产物十分丰富(见表 7),200 mL 发酵液提取出的次级代谢产物中,高效液相色谱可检测到多达 200 余种化合物。温度因素中 26 ℃ 条件下峰数量最多;初始 pH 值为 7.0 条件下峰数量最多;时间因素中 35 d 和 42 d 时峰数量分别为 167 个和 186 个,与表 7 中列出的 49 d 的 202 个峰数量相差较大,而 56 d 和 63 d 的样品峰数量与 49 d 的相差不大,因此,可推知菌丝在 49 d 时代谢已较为充分。

以亚东木耳发酵产物中分离纯化得到的化合物 YE-1 作为标准品,其峰作为参照峰,计算相对保留时间 α (公式 $\alpha = t_{di}/t_{ds}$,其中 t_{di} 为不定峰 i 的保留时间, t_{ds} 为参照物的保留时间),由此可得到同一因素不同水平下图谱中相同峰信息^[15]。

以相似峰数量与各条件中最多峰数的比值作为相似峰百分比(见表 8),用于说明同一因素不同水平间代谢差异性。从表 8 中可知,温度单因素中相同峰百分比为 29.6%,初始 pH 值单因素中相同峰百分比为 21.5%,其代谢差异性相对较大,说明初始 pH 值和温度因素对亚东木耳次级代谢多样性影响较为显著。

HPLC 图谱能够在一定程度上反映不同因素、水平下代谢产物的多样性,从而对大型真菌培养及代谢产

物的获得具有一定指导意义。由于本实验中样品为发酵原产物,化合物种类数量庞大,进行图谱分析有一定困难,因此,采用 HPLC 法只能实现定性分析,且不可避免地存在主观误差^[16]。

表 7 不同环境因素下所有峰数量
Tab. 7 All secondary metabolites peaks under different environmental factor by HPLC analysis

因素		峰数量/个
初始 pH	5.0	161
	6.0	188
	7.0	205
时间/d	49	202
	56	198
	63	203
温度/℃	24	133
	26	196
	28	98

表 8 不同影响因素下相同峰数量及与总峰数比值
Tab. 8 Numbers and percents of identical secondary metabolites peaks under different factors

	影响因素		
	时间	初始 pH	温度
相同峰数量/个	91	44	29
相似峰与总峰数比值/%	44.8	21.5	29.6

3 结 论

探索了食药两用大型真菌亚东木耳菌丝生长代谢的优化条件。研究表明,菌丝生长和代谢的优化条件为:碳源为可溶性淀粉,氮源为酵母浸粉,无机盐为 CaCl₂,温度为 26 ℃,菌丝代谢初始 pH 值为 6.0,菌丝生长初始 pH 值为 7.0,时间为 63 d。温度和初始 pH 值对亚东木耳菌丝次级代谢差异性影响较为显著,因此,通过适当控制亚东木耳的培养温度和初始 pH 值有利于获得丰富的次级代谢产物。文献报道,亚东木耳具有一定的寄主专一性^[3]。实验表明,亚东木耳生长周期漫长,因此要获得其适宜的培养条件,还需要进一步探究。

参考文献:

[1] 王多,文涛. 中国大型真菌分类学研究进展[J]. 安徽

- 农业科学, 2011, 39(34): 20947 - 20948.
- WANG D, WEN T. Research progress of taxonomy of macro-fungi in China [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2011, 39(34): 20947 - 20948.
- [2] 贾身茂, 袁瑞奇, 孔维丽, 等. 药用真菌之概念[J]. 中国食用菌, 2015(1): 82 - 88.
- JIA S M, YUAN R Q, KONG W L, et al. Concept of medicinal mushroom [J]. Chinese Edible Fungi, 2015(1): 82 - 88.
- [3] 熊卫萍, 王磊, 李国杰, 等. 西藏“亚东黑木耳”的分类地位研究[J]. 食用菌学报, 2013, 20(1): 45 - 51.
- XIONG W P, WANG L, LI G J, et al. Taxonomic status of Yadong-hei-mu-er, a wild edible mushroom from Tibet [J]. Acta Edulis Fungi, 2013, 20(1): 45 - 51.
- [4] 史强强, 党军, 苑祥, 等. 黄绿蜜环菌菌种分离及人工培养研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(20): 180 - 182.
- SHI Q Q, DANG J, YUAN X, et al. Study on the separation and domestication of *Armillarialuteo rivens* strain [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(20): 180 - 182.
- [5] KIM H O, LIM J M, JOO J H, et al. Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea* [J]. Bioresource Technology, 2005, 96(10): 1175 - 1182.
- [6] XU H, SUN L P, SHI Y Z, et al. Optimization of cultivation conditions for extracellular polysaccharide and mycelium biomass by *Morchella esculenta*, As51620 [J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 39(1): 66 - 73.
- [7] 朱锦福, 刁治民, 王生财, 等. 不同营养条件对黄蘑菇菌丝生长的影响[J]. 青海科技, 2004, 11(6): 28 - 30.
- ZHU J F, DIAO Z M, WANG S C, et al. Effect on the hyphae growth of *Armillarialuteo rivens* under different nutritional conditions [J]. Qinghai Science and Technology, 2004, 11(6): 28 - 30.
- [8] 郑秀莲. 姬松茸母种培养基的优化试验[J]. 食用菌, 2013, 35(4): 33 - 34.
- ZHENG X L. The mother medium optimized for *Agaricus blazei* [J]. Edible Fungi, 2013, 35(4): 33 - 34.
- [9] 曾东方, 陈玢, 高孟文. 不同氮源对松茸菌丝生长的影响[J]. 食用菌, 2010, 32(4): 10 - 11.
- ZENG D F, CHEN F, GAO M W. Effect on the hyphae growth of *Tricholoma matsutake* in different nitrogen sources [J]. Edible Fungi, 2010, 32(4): 10 - 11.
- [10] 史强强, 党军, 苑祥, 等. 黄绿蜜环菌深层发酵工艺研究[J]. 工业微生物, 2015, 45(4): 35 - 38.
- SHI Q Q, DANG J, YUAN X, et al. Studies on submerged fermentation technology of *Armillarialuteo rivens* [J]. Industrial Microbiology, 2015, 45(4): 35 - 38.
- [11] 孙勇, 蒋继宏. 桦褐孔菌母种培养基的筛选[J]. 食用菌, 2007, 29(1): 30 - 30.
- SUN Y, JIANG J H. The mother culture screening of *Inonotus obliquus* [J]. Edible Fungi, 2007, 29(1): 30 - 33.
- [12] 陈文强, 邓百万, 陈永刚, 等. 用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选裂褶菌液体培养基 [J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(4): 38 - 41.
- CHEN W Q, DENG B W, CHEN Y G, et al. Selection of liquid medium for *Schinophyllum commune* by $L_9(3^4)$ orthogonal design [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2005, 24(4): 38 - 41.
- [13] 杨生兵, 陆震鸣, 耿燕, 等. 灰树花子实体与发酵菌丝体挥发性化合物分析 [J]. 菌物学报, 2013, 32(1): 103 - 113.
- YANG S B, LU Z M, GENG Y, et al. Analysis of volatile compounds in fruiting bodies and submergedly cultured mycelia of *Grifola frondosa* [J]. Mycosystema, 2013, 32(1): 103 - 113.
- [14] 韩俊杰, 宝丽, 刘宏伟. 药用真菌活性次级代谢产物研究 [J]. 菌物学报, 2015, 34(5): 900 - 913.
- HAN J J, BAO L, LIU H W. Bioactive secondary metabolites from medicinal fungi [J]. Mycosystema, 2015, 34(5): 900 - 913.
- [15] 曾志, 杨东晖, 宋力飞, 等. 高效液相色谱指纹图谱应用于板蓝根的鉴定 [J]. 分析化学, 2002, 30(7): 849 - 852.
- ZENG Z, YANG D H, SONG L F, et al. The identification of *Isatis Indigotica* Fort. by high performance liquid chromatographic fingerprint [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2002, 30(7): 849 - 852.
- [16] 李越峰, 严兴科, 沈菲, 等. 白芍 HPLC 指纹图谱相似度的分析研究 [J]. 中成药, 2008, 30(7): 942 - 945.
- LI Y F, YAN X K, SHEN F, et al. HPLC fingerprinting similarity analysis of *Radix paeoniae alba* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2008, 30(7): 942 - 945.

Study on Fermentation Conditions of Rare Yadong Edible Fungus in Tibetan Plateau

LI Zhaokun^{1,2}, WANG Fenghuan^{1,*}, CHEN Bin^{2,*}, JIANG Siping², XU Aiguo²

(1. *Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*;

2. *Tibet Plateau Institute of Biology, Lasa 850001, China*)

Abstract: In order to utilize and develop the rare Yadong edible fungus (*Exidia* sp.) better, the growth and metabolism culture conditions of the mycelium were explored. Effects of the culture mediums and the different conditions on mycelium growth rate, biomass, and secondary metabolites production were investigated. The results showed that glucose was the most suitable carbon source for mycelial growth, and soluble starch was the most suitable carbon source to obtain maximum biomass and metabolic product yield. Yeast extract was the most suitable nitrogen source for growth and metabolism. CaCl_2 was the optimal inorganic salt while vitamin B_1 and B_2 had no significant effects on promoting mycelial growth. HPLC fingerprint results showed that compounds of secondary metabolites were as many as 200 kinds and initial pH and temperature factors had more obvious influences on the secondary metabolic diversity.

Keywords: edible fungus; Yadong edible fungus; culture conditions; secondary metabolism; HPLC analysis

(责任编辑:叶红波)

(上接第15页)

Fermentation Technology and Food Application of Nata De Coco

CHEN Zhengxing, YU Qiusheng, XU Hui

(*National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China*)

Abstract: As a kind of cellulose in nature and of excellent dietary fiber irreplaceable in physiological function, nata de coco (microbial cellulose) prepared by fermentation has attached much attention benefit from its natural raw materials, mild biosynthesis, product friendly and biodegradable, as well as its excellent food processing properties such as high water holding capacity, flexibility, and high reactivity. Therefore, it has also been used in foods for many years. Based on the overview of the fermentation technology for microbial cellulose in the past 3 decades, the future development trend of Chinese nata de coco fermentation industry was prospected.

Keywords: nata de coco; dietary fiber; microbial cellulose; fermentation technology; functional properties

(责任编辑:李 宁)