

响应面法在香菇液体种生产工艺优化中的应用

陈文强^{1,2}, 乔艳明¹

(1.陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000;

2.陕西省食药菌工程技术研究中心, 陕西汉中 723000)

摘要:以香菇菌丝体生物转化量为主要指标, 首先用单因素实验筛选出适合香菇南山1号菌丝生长的最佳碳、氮源, 在此基础上利用Minitab 15软件做Plackett-Burman设计实验, 筛选出对菌丝生物转化量影响显著的因子: 玉米粉、麦麸、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和接种量; 然后进行最陡爬坡实验, 选出最佳响应区域, 采用Design-Expert 8.0.6软件的Box-Behnken模式做4因素3水平响应面分析实验, 得到最优的液体种生产工艺条件: 玉米粉36.0 g、麦麸21.0 g、红糖20.0 g、牛肉粉4.0 g、 KH_2PO_4 3.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g、 V_{BI} 10.0 mg、 H_2O 1.0 L, 初始pH6.2、接种量7.0%、温度29 °C、180 r/min摇床发酵10 d, 此条件下菌丝生物转化量可达51.004 g/L。实测值与拟合值相比, 相对误差约为2.098%。说明响应面法用于香菇液体菌种生产优化是可行的, 数学模型的预测值与实验观察值相符。

关键词:香菇, 液体种, 响应面, 优化

Application of response surface for the optimization of liquid seed production process of *Lentinus edodes*

CHEN Wen-qiang^{1,2}, QIAO Yan-ming¹

(1.School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China;

2.Shaanxi Engineering Research Center of Edible and Medicated Fungi, Hanzhong 723000, China)

Abstract: Adopting mycelial biomass of *Lentinus edodes*(Berk.) Sing as major index, different carbon and nitrogen source on the *L.edodes*(‘Nanshan NO.1’) mycelial growth were used in the single factor test. The important factors influencing mycelial biomass of *L.edodes* which identified by initial experimental design of Plackett-Burman were corn flour, wheat bran, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and inoculation quantity. The path of steepest ascent was undertaken to approach the optimal region of the four significant factors. Box-Behnken design and response surface analysis were adopted to further investigate the mutual interaction between the variables and obtain optimal values that bring the optimal *L.edodes* liquid seed production process conditions. The optimal conditions for *L.edodes* liquid seed production were achieved and listed as follows: corn flour 36.0 g, wheat bran 21.0 g, brown sugar 20.0 g, beef powder 4.0 g, KH_2PO_4 3.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g, V_{BI} 10.0 mg, H_2O 1.0 L, initial pH6.2, inoculation quantity 7.0%, temperature 29 °C, agitation speed of rotary shaker 180 r/min, culture time 10 days. Under the optimal conditions, the mycelial biomass of *L.edodes* was 51.004 g/L, compared to the theoretical value, the relative error of 2.098%. So the response surface method was feasible for the optimization of liquid seed production process of *L.edodes*, and the predicted values of Mathematical model were consistent with experimental observations.

Key words: *Lentinus edodes*; liquid Seed; response surface; optimization

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)18-0290-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.18.050

香菇 (*Lentinus edodes*) 隶属于担子菌纲、伞菌目、口蘑科、香菇属, 又名香菇菌、花菇、花蕈等, 是一种重要的真菌^[1]。香菇含有丰富的必需氨基酸, 不饱和脂肪酸比重大, 并且含有6大酶类中的40多种

酶^[2]。其不仅是人们理想的美味佳肴, 而且具有较高的营养价值, 其保健药用功能也越来越受到人们的重视^[3-6]。

近年来, 液体深层发酵技术用于食用菌液体种

收稿日期: 2015-01-04

作者简介: 陈文强(1956-), 男, 大学本科, 教授, 研究方向: 微生物资源的保护与利用, E-mail: wenqiangc@126.com。

基金项目: 陕西省“13115”科技创新工程计划项目(2008IDGC-04)。

的生产和制备,越来越受到人们重视^[7-8],是由于该技术比之传统的食用菌生产方法有明显的优越性^[9]。因此此技术在短期内就能获得大量的菌丝体或菌种,液体菌种接入固体培养料时,又具有流动快,易分散,萌发快,发菌点多等特点,使袋栽食用菌接种污染得到有效的控制。因此,食用菌研究工作者认为深层发酵生产是食用菌发展的方向^[10-11]。香菇作为食用菌生产的支柱产业之一,其液体种的生产工艺是提高香菇生产效率的关键。

目前,响应面法在其液体种生产工艺条件优化中的应用方面尚无研究报道,并且由于菌种和培养条件等因素的差异,所得香菇菌丝生物转化量差别较大。张安宁等^[12]对香菇933菌株液体发酵条件进行优化实验,所得菌丝生物转化量仅为17.76 g/L。梁宝东等^[13]采用正交实验对香菇856菌株培养基及发酵条件进行优化,所得菌丝生物转化量为78.4 g/L。

本研究采用香菇南山1号菌株为材料,在单因素实验基础上,利用响应面分析法对香菇液体种的生产工艺进行优化,旨在为香菇液体种的工业化制备和生产提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香菇南山1号菌株 陕西省食药菌工程技术研究中心提供;葡萄糖、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 NH_4NO_3 均为分析纯; V_{BI} 山西津华晖星制药有限公司;琼脂、牛肉粉、酵母粉、蛋白胨 北京奥博星生物技术有限责任公司;麦芽糖 中国科学院上海生物化学研究所;麦麸、红糖、蔗糖、玉米粉(均为食品级) 市售;实验用水 为纯化水;斜面培养基(CPDA) 土豆(去皮)200.0 g、葡萄糖20.0 g、 KH_2PO_4 5.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3.0 g、 V_{BI} 10.0 mg、 H_2O 1.0 L、琼脂12.0 g、初始pH自然;母种培养基 牛肉粉10.0 g、麦麸10.0 g、红糖20.0 g、 KH_2PO_4 3.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g、 V_{BI} 10.0 mg、 H_2O 1.0 L、初始pH自然;碳源筛选培养基 葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、红糖各为20.0 g,玉米粉10.0 g、酵母粉2.0 g、 KH_2PO_4 3.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g、 V_{BI} 10.0 mg、初始pH自然;氮源筛选培养基 酵母粉、蛋白胨、牛肉粉、 NH_4NO_3 各为2.0 g,麦麸10.0 g、红糖20.0 g、 KH_2PO_4 3.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g、 V_{BI} 10.0 mg、初始pH自然。

LS-B50L型高压蒸汽灭菌锅 上海医用核子仪器厂;TB-214型电子分析天平 北京赛得利斯仪器系统有限公司;MDF-U32V型超低温冷冻冰箱 日本三洋电器集团;Q/BKYY31-2000型电恒温鼓风干燥箱 上海跃进医疗器械厂;LRH-250-GS型数显式恒温培养箱 广东省医疗器械厂;SW-CJ-1F型超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司;ZHWY-210 2C型数显式恒温摇床 上海志成有限公司;SHB-III型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株活化 配制CPDA培养基,接种香菇南山1号菌株,28℃培养,待菌株满管后,4℃冰箱保藏备用。

1.2.2 液体母种的制备 配制母种培养基,取香菇南山1号0.5 cm²菌块接种于母种培养基中,静置24 h,28℃、170 r/min振荡培养10 d备用。

1.2.3 生物转化量的测定 将液体条件下培养好的香菇菌丝体抽滤至不滴水,电子分析天平称重。计算式:菌丝球生物转化量=香菇菌丝球湿重(g)/培养液总体积(L)

1.2.4 单因素实验

1.2.4.1 碳源筛选实验 在碳源筛选培养基中,用10.0 g玉米粉分别与麦芽糖、红糖、蔗糖和葡萄糖各20.0 g组合作为碳源,配制培养基,将液体母种按照5%的接种量接种,静置24 h,28℃、160 r/min条件下培养10 d,每种培养基3个重复,测定菌丝生物转化量,求平均值,观察不同碳源对香菇菌丝生长的影响,筛选出最佳碳源组合作为Plackett-Burman设计考虑因素。

1.2.4.2 氮源筛选实验 在氮源筛选培养基中,用10.0 g麦麸分别与酵母粉、蛋白胨、牛肉粉和 NH_4NO_3 各2.0 g组合作为氮源,配制培养基,将液体母种按照5%的接种量接种,静置24 h,28℃、160 r/min条件下培养10 d,每种培养基3个重复,测定菌丝生物转化量,求平均值,观察不同氮源对香菇菌丝生长的影响,筛选出最佳氮源组合作为Plackett-Burman设计考虑因素。

1.2.5 Plackett-Burman设计实验 根据单因素实验结果,选取11个因素(红糖、玉米粉、麦麸、牛肉粉、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 V_{BI} 、初始pH、接种量、温度、振荡速度)作为研究对象,进行Plackett-Burman设计实验,按照表1和表5配制培养基,接液体母种,静置24 h,振荡培养10 d,每组实验设3个重复,将菌丝球抽滤,测定菌丝生物转化量,求平均值,借助Minitab 15软件对数据进行统计分析。

表1 Plackett-Burman实验设计各因素及水平
Table 1 The factors and levels of Plackett-Burman experiment design

因素	水平	
	-1	+1
X ₁ 红糖(g/L)	10.0	20.0
X ₂ 玉米粉(g/L)	10.0	20.0
X ₃ 麦麸(g/L)	5.0	10.0
X ₄ 牛肉粉(g/L)	2.0	4.0
X ₅ KH_2PO_4 (g/L)	1.5	3.0
X ₆ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (g/L)	0.75	1.5
X ₇ V_{BI} (mg/L)	5.0	10.0
X ₈ 初始pH	5.4	6.2
X ₉ 温度(℃)	26	28
X ₁₀ 振荡速度(r/min)	160	180
X ₁₁ 接种量(%)	5.0	10.0

1.2.6 最陡爬坡实验 根据Plackett-Burman实验结果,以及各个显著影响因素效应的大小设定步长及变化方向进行实验。针对影响显著因素进行最陡爬

坡实验,将正效应的值逐步增加,负效应的值逐步减小,设计实验找出峰值,以寻找快速最佳的响应区域。每种培养基设3个重复,接种后静置24 h,振荡培养10 d,将菌丝球抽滤,测定菌丝生物转化量。

1.2.7 Box-Behnken实验设计与分析 根据上述实验,以菌丝生物转化量为响应值,采用玉米粉(X_2)、麦麸(X_3)、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_6)、接种量(X_{11})进行四因素三水平的Box-Behnken实验设计,因素与水平编码见表2。

表2 Box-Behnken实验设计
Table 2 Box-Behnken experimental design

因素	水平		
	-1	0	1
X_2 玉米粉(g/L)	12.0	24.0	36.0
X_3 麦麸(g/L)	7.0	14.0	21.0
X_6 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (g/L)	0.6	1.1	1.6
X_{11} 接种量(%)	7.0	14.0	21.0

1.2.8 数据处理与分析 采用Minitab 15软件和Excel数据分析工具中的t-检验(双样本异方差假设)对Plackett-Burman实验结果进行分析,并采用Design-Expert 8.0.6软件对Box-Behnken实验结果进行分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 不同碳源对香菇菌丝体生长的影响 按照1.2.4方法进行实验,观察不同碳源对香菇菌丝生长的影响,结果见表3。

表3 不同碳源对香菇菌丝体生长的影响
Table 3 Effect of different carbon source on the mycelial biomass of *Lentinus edodes*

碳源组合	菌丝生物转化量(g/L)
红糖+玉米粉	27.322
麦芽糖+玉米粉	23.408
葡萄糖+玉米粉	16.587
蔗糖+玉米粉	16.834

表3结果表明,不同碳源对香菇菌丝体生长的生物转化量不同,其中以红糖和玉米粉组合最好,菌丝生物转化量最高。以麦芽糖和玉米粉组合也显现出较高的生物转化量,葡萄糖和玉米粉组合的菌丝生物转化量最低。根据不同碳源组合培养基中香菇菌丝的生长状况和生物转化量,可确定红糖与玉米粉组合为最佳碳源,菌丝生物转化量为27.322 g/L。

2.1.2 不同氮源对香菇菌丝体生长的影响 按照1.2.4方法进行实验,观察不同氮源对香菇菌丝生长的影响,结果见表4。

表4结果表明,不同氮源对香菇菌丝体生长的生物转化量不同,其中以牛肉粉和麦麸组合最好,菌丝生物转化量高。以酵母粉和麦麸组合作为氮源也显现出较高的生物转化量, NH_4NO_3 和麦麸组合的菌丝生物转化量最低。根据不同氮源组合培养基中香菇

表4 不同氮源对香菇菌丝体生长的影响

Table 4 Effect of different nitrogen source on the mycelial biomass of *Lentinus edodes*

碳源组合	菌丝生物转化量(g/L)
NH_4NO_3 +麦麸	19.095
牛肉粉+麦麸	30.343
蛋白胨+麦麸	20.634
酵母粉+麦麸	27.683

菌丝的生长状况和生物转化量,可确定牛肉粉与麦麸组合为最佳氮源,菌丝生物转化量为30.343 g/L。

2.2 Plackett-Burman设计实验

选用实验次数 $n=12$ 的Plackett-Burman实验设计,考察 X_1 (红糖)、 X_2 (玉米粉)等11个因素,根据前期实验结果,每个因素取两水平,以菌丝生物转化量Y为响应值。同时借助Minitab 15软件对实验结果进行统计分析,并通过t-检验从11个因素中选出了4个最显著影响因素,结果见表5和表6。

表5 Plackett-Burman实验设计及响应值

Table 5 Plackett-Burman experiment design and its response

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}	Y(g/L)
1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	26.518
2	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	28.102
3	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	31.049
4	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	24.157
5	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	29.414
6	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	27.148
7	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	24.547
8	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	21.095
9	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	19.089
10	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	16.053
11	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	23.974
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	17.014

表6 Plackett-Burman实验方差分析结果

Table 6 ANOVA results of Plackett-Burman experiment design

因素	T检验	Prob> T	重要性
X_1	0.863	0.408	5
X_2	3.338	0.009	1
X_3	1.283	0.236	2
X_4	0.266	0.796	7
X_5	-0.026	0.980	11
X_6	-1.099	0.300	4
X_7	-0.284	0.783	6
X_8	0.211	0.838	8
X_9	0.146	0.887	9
X_{10}	0.040	0.969	10
X_{11}	1.238	0.244	3

表5和表6结果表明,对香菇菌丝生物转化量影响的显著因素:玉米粉(X_2)、麦麸(X_3)、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_6)、接种量(X_{11})。其中, X_2 、 X_3 和 X_{11} 在增加的时候,

菌丝生物转化量的值明显增加,为正效应因素。而 X_6 在量增多的时候,菌丝生物转化量反而降低,因此 X_6 为负效应因素。

2.3 最陡爬坡实验

响应面拟合只有在邻近最大响应区域后才能最好地反映出真实情况,故要先逼近最佳响应区域。根据Plackett-Burman实验结果,将玉米粉(X_2)、麦麸(X_3)和接种量(X_{11})的值逐步增加, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_6)的值逐步减小。根据Minitab 15软件实验分析,其他因素取高水平,结果见表7。

表7 最陡爬坡实验设计及结果

Table 7 Steepest ascent experimental design and results

实验号	X_2	X_3	X_6	X_{11}	Y 菌丝生物转化量(g/L)
1	20.0	10.0	1.5	10.0	18.442
2	22.0	12.0	1.3	12.0	21.893
3	24.0	14.0	1.1	14.0	29.214
4	26.0	16.0	0.9	16.0	15.076
5	28.0	18.0	0.7	18.0	20.015
6	30.0	20.0	0.5	20.0	19.120
7	32.0	22.0	0.3	22.0	18.730

表7结果表明,在玉米粉24.0 g/L,麦麸14.0 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.1 g/L,接种量14.0%时,测得香菇菌丝生物转化量最大为29.214 g/L,所以此为最佳响应区域。

2.4 Box-Behnken实验设计与分析

按照表2中因素水平,借助Design-Expert 8.0.6软件进行四因素三水平Box-Behnken实验设计,结果见表8。

2.5 回归模型方差分析结果

经Design-Expert 8.0.6软件,以玉米粉(X_2)、麦麸(X_3)、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_6)、接种量(X_{11})为响应变量,以菌丝生物转化量(Y)为响应值对表8结果进行处理,得到表9回归方程方差分析表,利用软件进行非线性的二次多项式拟合,得到预测模型如下:

$$Y = -22.56482 + 0.98926X_2 + 3.57486X_3 - 27.40929X_6 + 0.48264X_{11} - 0.015601X_2X_3 + 0.33350X_2X_6 - 0.064994X_2X_{11} - 1.95286X_3X_6 - 3.37755 \times 10^{-3}X_3X_{11} + 0.087714X_6X_{11} + 0.014061X_2^2 - 0.020862X_3^2 + 24.35513X_6^2 + 0.057618X_{11}^2$$

表9结果表明, X_3 、 X_6 、 X_{11} 、 X_2X_{11} 、 X_3X_6 、 X_6^2 项显著; X_2 项极显著,其他 X_2X_3 、 X_2X_6 、 X_3X_{11} 、 X_6X_{11} 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_{11}^2 不显著。模型 p 值小于0.0001,可信度水平大于99.99%,说明该模型有意义,所拟合的二次回归方程合适。该模型失拟项 p 值为0.3456>0.05,失拟项不显著,说明实验操作可信,实验理论可使用。另外从 F 值可看出这四个因素对菌丝生物转化量的影响顺序: $X_2 > X_{11} > X_6 > X_3$,即玉米粉>接种量> $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ >麦麸。

2.6 响应面及等高值分析结果

根据回归方程绘制菌丝生物转化量随各因素变化的响应曲面图,由响应曲面图可知玉米粉、麦麸、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、接种量4个因素对香菇菌丝生物转化量的影响(图1、图2)。每个响应曲面分别代表着两个

表8 Box-Behnken中心组合因素水平编码表

Table 8 Independent variables and coded levels in Box-Behnken experimental design

实验号	X_2	X_3	X_6	X_{11}	Y 菌丝生物转化量(g/L)
1	-1	-1	0	0	14.278
2	1	-1	0	0	35.384
3	-1	1	0	0	23.638
4	1	1	0	0	39.502
5	0	0	-1	-1	24.788
6	0	0	1	-1	33.738
7	0	0	-1	1	37.868
8	0	0	1	1	48.046
9	-1	0	0	-1	10.982
10	1	0	0	-1	41.906
11	-1	0	0	1	28.095
12	1	0	0	1	37.181
13	0	-1	-1	0	17.283
14	0	1	-1	0	35.172
15	0	-1	1	0	38.017
16	0	1	1	0	28.566
17	-1	0	-1	0	16.023
18	1	0	-1	0	38.526
19	-1	0	1	0	19.585
20	1	0	1	0	50.092
21	0	-1	0	-1	18.872
22	0	1	0	-1	25.922
23	0	-1	0	1	23.897
24	0	1	0	1	30.285
25	0	0	0	0	24.341
26	0	0	0	0	23.203
27	0	0	0	0	22.575
28	0	0	0	0	24.070
29	0	0	0	0	30.534

独立因素间的相互作用,其余两个因素保持在编码水平的0水平。

图1结果显示,在一定接种量条件下,随着玉米粉含量增加,香菇菌丝生物转化量呈上升趋势;在玉米粉含量较低条件下,随着接种量的增加,香菇菌丝生物转化量呈上升趋势;在玉米粉含量较高条件下,接种量对香菇菌丝生物转化量影响不明显。

图2结果显示,在低硫酸镁含量条件下,随着麦麸含量增加,香菇菌丝生物转化量呈上升趋势;在高硫酸镁含量条件下,随着麦麸含量增加,香菇菌丝生物转化量呈下降趋势;在低麦麸含量条件下,随着硫酸镁含量增加,香菇菌丝生物转化量呈上升趋势;在高麦麸含量条件下,随着硫酸镁含量增加,香菇菌丝生物转化量呈下降趋势。

在实际生产过程中,为了降低成本,尽可能使用有机廉价的原料,所以在“criteria”选项中选择 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 为最小值,玉米粉、接种量、麦麸为平均值,香菇菌丝生物转化量为最大值,利用Design-Expert 8.0.6得到香菇南山1号菌株液体种的最优生产工艺

表9 回归分析结果

Table 9 Result of regression analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p值	显著性
模型	2544.851	14	181.775	12.433	<0.0001	**
X ₂	1408.117	1	1408.117	96.308	<0.0001	**
X ₃	104.159	1	104.159	7.124	0.0183	*
X ₆	195.084	1	195.084	13.343	0.0026	*
X ₁₁	201.425	1	201.425	13.776	0.0023	*
X ₂ X ₃	6.870	1	6.870	0.470	0.5042	
X ₂ X ₆	16.016	1	16.016	1.095	0.3130	
X ₂ X ₁₁	119.225	1	119.225	8.154	0.0127	*
X ₃ X ₆	186.869	1	186.869	12.781	0.0030	*
X ₃ X ₁₁	0.110	1	0.110	0.007	0.9322	
X ₆ X ₁₁	0.377	1	0.377	0.026	0.8747	
X ₂ ²	26.593	1	26.593	1.819	0.1989	
X ₃ ²	6.778	1	6.778	0.464	0.5071	
X ₆ ²	240.475	1	240.475	16.447	0.0012	*
X ₁₁ ²	51.703	1	51.703	3.536	0.0810	
残差	204.693	14	14.621			
失拟项	163.674	10	16.367	1.596	0.3456	
纯误差	41.019	4	10.255			
总离差	2749.544	28				
R ² =0.6338				R ² _{Adj} =0.8511		

注: **: 差异极显著 ($p < 0.01$); *: 差异显著 ($p < 0.05$)。

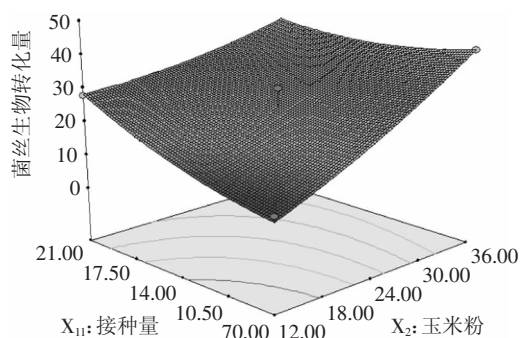


图1 菌丝生物转化量在接种量和玉米粉交互影响下的响应面以及等高值线图

Fig.1 Mycelial wet weight values of the response surface and contour charts in inoculation quantity and corn flour

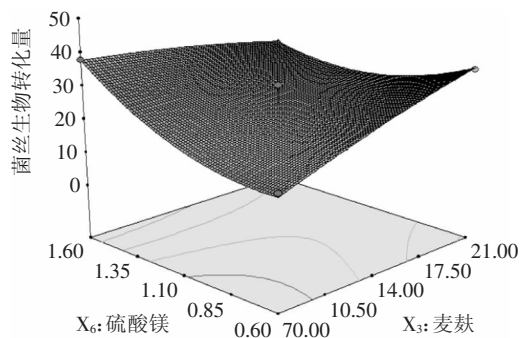


图2 菌丝生物转化量在麦麸和MgSO₄·7H₂O交互影响下的响应面以及等高值线图

Fig.2 Mycelial wet weight values of the response surface and contour charts in wheat bran and MgSO₄·7H₂O

条件: 玉米粉36.0 g、麦麸21.0 g、红糖20.0 g、牛肉粉4.0 g、KH₂PO₄ 3.0 g、MgSO₄·7H₂O 0.6 g、V_{B1} 10.0 mg、H₂O 1.0 L, 初始pH 6.2、接种量7.0%、温度29 ℃、180 r/min 振荡发酵10 d, 菌丝生物转化量拟合值为49.956 g/L。

2.7 验证实验

根据最优生产工艺条件参数对模型进行验证, 继续发酵培养, 最终得到香菇菌丝生物转化量为51.004 g/L, 在初始培养条件下菌丝生物转化量为29.214 g/L, 优化后提高了1.75倍。实测值与拟合值相比, 相对误差约为2.098%。该结果表明, 响应面法优化香菇液体种最佳生产工艺条件是可行有效的。

3 结论

在单因素实验的基础上, 通过响应面分析法对香菇南山1号菌株液体种生产工艺条件进行了优化, 并得到回归方程, 表明玉米粉(X₂)、麦麸(X₃)、MgSO₄·7H₂O(X₆)、接种量(X₁₁)对响应值均有显著影响, 接种量和玉米粉、麦麸和MgSO₄·7H₂O交互作用显著。经回归分析并结合生产实际, 确定香菇南山1号菌株的液体种生产工艺条件为玉米粉36.0 g、麦麸21.0 g、红糖20.0 g、牛肉粉4.0 g、KH₂PO₄ 3.0 g、MgSO₄·7H₂O 0.6 g、V_{B1} 10.0 mg、H₂O 1.0 L、初始pH 6.2、接种量7.0%、温度29 ℃、180 r/min 摇床发酵10 d, 此条件下菌丝生物转化量为51.004 g/L, 比之前得到大幅度提高。实测值与拟合值相比, 相对误差约为2.098%。说明该模型可靠性较高, 能很好地预测实验结果。相比现有报道, 本研所得香菇菌丝生物转化量较高, 菌丝球小、密度大且大小均匀, 同时生产工艺简单且成本

(下转第319页)

Food Microbiology, 1995, 26(3):319-333.

[6] 李学英, 杨宪时, 郭全友, 等. 大黄鱼腐败菌腐败能力的初步分析[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6):316-319.

[7] HERBERT R A, HENDRIE M S, GIBSON D M, et al. Bacteria active in the spoilage of certain sea foods[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1971, 34(3):41-50.

[8] 许振伟, 许钟, 杨宪时, 等. 鱼类腐败菌腐败能力测定方法[J]. 食品科学, 2010, 31(20):355-359.

[9] 佟懿, 谢晶. 鲜带鱼不同贮藏温度的货架期预测模型[J]. 农业工程学报, 2009, 25(6):301-305.

[10] M D Hernández, M B López, A Álvarez, et al. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage[J]. Food Chemistry, 2009, 114:237-245.

[11] Stefanie Bruckner, Antonia Albrecht, Brigitte Petersen, et al. A predictive shelf life model as a tool for the improvement of quality management in pork and poultry chains[J]. Food Control, 2013(29):451-460.

[12] V M Ocaño-Higuera, A N Maeda-Martínez, E Marquez-Ríos, et al. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods[J]. Food Chemistry, 2011(125):49-54.

[13] Tingting Li, Jianrong Li, Wenzhong Hu. Changes in microbiological, physicochemical and muscle proteins of post mortem large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Food Control, 2013, 34:514-520.

[14] 许振伟, 李学英, 杨宪时, 等. 冷藏鲤鱼和罗非鱼优势腐败菌腐败能力分析[J]. 食品科学, 2012, 33(4):243-246.

(上接第294页)

低, 可为香菇南山1号菌株的液体种生产和栽培提供理论参考。

参考文献

[1] 刘威, 刘立强. 浅谈香菇营养及药用保健价值[J]. 农业与技术, 2009, 29(5):131-132.

[2] 郭成金. 草菌生物学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2005: 78-79.

[3] 曾智平. 高纯度香菇多糖的分离提取及其分级研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2007.

[4] 王莉, 王继荣, 王科明, 等. 注射用香菇多糖对胃癌免疫调节作用的临床观察[J]. 海南医学, 2013, 24(24):3610-3612.

[5] 杨丽梅. 香菇多糖治疗恶性肿瘤临床应用[J]. 中国民康医学, 2013, 25(20):97-98.

[6] 马云, 赵贤宝. 香菇多糖在结直肠癌患者术后辅助化疗中

的应用[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(3):691-693.

[7] 吕国英, 张作法, 潘慧娟, 等. 响应面分析法优化香菇多糖发酵培养基[J]. 菌物学报, 2010, 29(1):106-112.

[8] 文庭池, 李光荣, 康冀川, 等. 蛹虫草液体种制备及发酵生产菌丝体和虫草菌素工艺优化[J]. 食品科学, 2012, 33(5):144-149.

[9] 赵迎庆, 曹新志, 熊俐, 等. 响应面法在姬松茸液体发酵培养基优化中的应用[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4):120-126.

[10] 屈直, 谢晴宜, 马海霞, 等. 灵芝液体深层发酵技术研究进展[J]. 热带农业科学, 2014(2):93-98.

[11] 梁爽, 刘志彬, 张雯, 等. 响应面法优化红曲霉菌株L发酵培养基[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4):111-118.

[12] 张安宁, 刘连成. 响应面法优化香菇液体发酵条件[J]. 江苏农业科学, 2014(3):200-203.

[13] 梁宝东, 魏海香, 林范学, 等. 香菇菌丝体液体发酵的研究[J]. 中国酿造, 2011(10):77-80.

(上接第314页)

[19] 范文教, 易宇文, 贾洪锋, 等. 川味发酵香肠的电子舌识别研究[J]. 中国酿造, 2013, 32(2):144-147.

[20] 张晶, 王海滨, 郑刚, 等. 低温燕麦复合火腿肠的保质期预测及贮藏特性[J]. 食品科学, 2014, 35(14):268-272.

[21] VILLAMONTE G, SIMONIN H, DURANTON F, et al. Functionality of pork meat proteins: Impact of sodium chloride and phosphates under high-pressure processing[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2013, 18(1):15-23.

[22] GOU P, GUERRERO L, GELABERT J, et al. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin[J]. Meat Science, 1996, 42(1):37-48.

[23] 秦卫东, 马利华, 翟凯凯. 牛蒡膳食纤维对香肠品质的影响[J]. 肉类研究, 2013, 27(2):5-9.

[24] 陶妹颖, 令博, 明建. 超微粉碎葡萄皮渣膳食纤维对低温香肠品质及贮藏稳定性的影响[J]. 肉类研究, 2012, 26(6):28-33.

[25] ARMENTEROS M, ARISTOY M C, BARAT J M, et al. Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts[J]. Meat Science, 2012, 90(2):361-367.

[26] 魏朝贵, 吴菊清, 邵俊花, 等. 降低乳化型肉制品中食盐含量研究进展[J]. 肉类研究, 2012, 26(4):28-31.

[27] TOTOSAUS A, PEREZ-CHABELA M L. Textural properties and microstructure of low-fat and sodium-reduced meat batters formulated with gellan gum and dicationic salts[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(2):563-569.

[28] COSTA-CORREDOR A, SERRA X, ARNAU J, et al. Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: Post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters[J]. Meat Science, 2009, 83(3):390-397.

[29] 吴涛, 冯武, 茅林春. 玉米淀粉及氯化钙对草鱼鱼糜热凝胶特性的影响[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(3):671-675.

[30] 赵春青, 彭增起, 亢春雨. CaCl_2 、 MgCl_2 及 ZnCl_2 对鸡胸肉热诱导凝胶保水性的影响研究[J]. 肉类工业, 2005(7):23-25.

[31] HORITA CN, MESSIAS VC, MORGANO MA, et al. Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts[J]. Food Research International, 2014, 66:29-35.