

郑晓雅, 殷伟伟, 张松, 兰瑛. 不同发酵条件对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(5): 25-32.

不同发酵条件对柱状田头菇菌丝 产胞外多糖的影响

郑晓雅¹, 殷伟伟¹, 张松¹, 兰瑛²

(1. 华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510631;

2. 深圳市汇尚科科技有限公司, 广东 深圳 518055)

摘要:【目的】为了提高胞外多糖的产量, 优化柱状田头菇液体发酵适宜的培养基和培养条件。【方法】以胞外多糖产量为主要测定指标, 通过对培养基的碳源、氮源种类及其浓度、起始 pH、摇床转速、培养时间等发酵条件进行单因素试验, 以获得柱状田头菇液体深层发酵的优化条件, 提高柱状田头菇菌丝产胞外多糖的产量, 其中胞外多糖产量通过苯酚-硫酸法测得。【结果】柱状田头菇液体发酵产胞外多糖的优化条件为: 采用可溶性淀粉作为碳源, 浓度控制在 20~40 g/L; 采用 L-谷氨酰胺作为氮源, 浓度控制在 2 g/L; 起始 pH 控制在 7.0, 转速控制在 180 r/min, 并在 26 °C 下培养 12 d。【结论】在此发酵条件下, 柱状田头菇液体发酵的胞外多糖产量可达到 1.08 g/L, 其中多糖含量为 71.73%、蛋白质含量为 8.62%, 可为柱状田头菇多糖的工业化生产和应用提供理论依据。

关键词: 液体发酵; 条件优化; 多糖产量; 碳源; 氮源; 苯酚-硫酸法

中图分类号: S6462

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X(2019)05-0025-08

Effects of Different Fermentation Conditions on Extracellular Polysaccharides Produced by Mycelia of *Agrocybe aegerita*

ZHENG Xiaoya¹, YIN Weiwei¹, ZHANG Song¹, LAN Ying²

(1. *Life of Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;*

2. *Shenzhen Huishangke Technology Co., Ltd, Shenzhen 518055, China)*

Abstract:【Objective】In order to improve the production of extracellular polysaccharides of *Agrocybe aegerita*, the suitable medium and related culture conditions for liquid fermentation were optimized.【Method】Based on the yield of extracellular polysaccharides, some fermentation conditions such as carbon source, nitrogen source and concentration, initial pH, shaking speed and culture time were explored by single factor test. The optimized conditions of submerged fermentation increased the yield of extracellular polysaccharide produced by the mycelium of *A. aegerita*, and the yield of extracellular polysaccharide was measured by the phenol-sulfuric acid method.【Result】The optimum conditions for the production of extracellular polysaccharides by liquid fermentation of *A. aegerita* were as follows: soluble starch was used as carbon source and the concentration was controlled at 20-40 g/L; L-glutamine was used as nitrogen source and the concentration was controlled at 2 g/L; the initial pH was controlled at 7.0, the shaking speed was controlled at 180 r/min, and extracellular polysaccharides were cultured at 26°C for 12 d.【Conclusion】Under the above-mentioned fermentation conditions, the yield of extracellular

收稿日期: 2019-02-27

基金项目: 广东省科技计划项目(2016A010105019); 广州市科技计划项目(201707010138); 深圳市科技计划项目(CYZZ20160526154742735)

作者简介: 郑晓雅(1995—), 女, 在读硕士生, 研究方向为食药真菌多糖应用, E-mail: 1105452422@qq.com

通信作者: 张松(1964—), 男, 教授, 研究方向为食药真菌资源与活性物质, E-mail: 896383821@qq.com

polysaccharide was 1.08 g/L, in which the content of polysaccharide was 71.73% and the content of protein was 8.62%. This provided an theoretical basis for the industrial production and application of *A. aegerita* polysaccharides.

Key words: liquid fermentation; condition optimization ; polysaccharide yield; carbon source; nitrogen source; phenol-sulfuric acid method

【研究意义】食用菌多糖是由 10 个以上的单糖以糖苷键连接而成的天然高分子聚合物，可从食药真菌子实体、菌丝体、发酵液中分离得到，是一种具有多种功能的活性多糖^[1-3]。柱状田头菇 (*Agrocybe aegerita*) 又称为茶薪菇，隶属真菌门担子菌纲粪锈伞科田头菇属^[4-5]，是集多糖、氨基酸、菌蛋白等多种营养物质及保健食疗于一身的食用菌，其盖嫩柄脆、口感鲜美，可用于烹制各类佳肴，营养成分高，属高档食用菌类。柱状田头菇还具有极高的药用价值^[6-7]，有研究表明，柱状田头菇因含有蛋白质、多糖、维生素、生物碱等成分，具有多种重要的生理功能，如抑菌^[8]、抗肿瘤^[9-10]、抗氧化及延缓衰老^[11-12]。其中，多糖是柱状田头菇中最重要的活性成分之一，具有抗氧化、减少肝损伤及提高免疫活性等作用^[13-14]。由于食药菌的固体培养耗时长，从子实体中提取多糖周期较长且较难实现连续化生产。而液体发酵生产周期短，可连续生产，且在发酵液中产生多糖、多肽等多种生理活性物质，类似于子实体的营养成分。因此，利用液体发酵法生产提取制备柱状田头菇多糖是实现其工业化生产的重要途径和方法。【前人研究进展】目前对柱状田头菇的液体发酵研究主要集中于对其菌丝体生物量的研究。刘明等^[15]以菌丝体生物量为指标，筛选到适合茶树菇液体培养的培养基为豆粕粉 0.4%、葡萄糖 2%、 $MgSO_4$ 0.1%、 KH_2PO_4 0.1%，最适培养温度为 26 ℃，适宜起始 pH 值为 6.5；刘敏等^[16]以菌丝体为指标，得到最适宜的培养基配方为葡萄糖 3.0%、豆饼粉 1.0%、酵母膏 0.2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1%、 KH_2PO_4 0.10%，培养条件为起始 pH 6~7、培养温度 25~28 ℃、摇床转速 150~180 r/min。【本研究切入点】目前对柱状田头菇液体培养产胞外多糖条件的优化研究较少，且已有研究中所用豆饼粉等培养基成分较为复杂，无法保证从发酵液中提取的胞外多糖纯度。【拟解决的关键问题】本文研究了柱状田头菇液体发酵培养基中的碳、氮源及其浓度以及发酵条件对柱状田头菇产胞外多糖的影响，并根据胞外

多糖产量优化得到适宜的发酵条件，旨在提高柱状田头菇的胞外多糖产量，为柱状田头菇进一步的开发利用及其多糖工业化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株：柱状田头菇菌株，由华南师范大学生命科学学院提供。

培养基配方：(1) 平板菌种培养基配方：马铃薯 200 g，葡萄糖 20 g，蛋白胨 1 g， $(NH_4)_2SO_4$ 2 g， $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g， KH_2PO_4 1 g，琼脂 20 g，加水定容至 1 000 mL，pH 值调至 6.5。(2) 液体发酵的基础培养基配方：葡萄糖 20 g，硝酸钠 2 g， KH_2PO_4 1.0 g， $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g， $FeCl_3$ 0.2 g， $ZnCl_2$ 0.1 g， $MnSO_4$ 0.1 g，维生素 B₁ 0.1 g， Na_2HPO_4 1 g， $CaCl_2$ 0.01 g，营养液 20 mL，加水定容至 1 000 mL，pH 值调至 6.5。其营养液配方： $CaCl_2$ 1.00 g， $AlK(SO_4)_2$ 0.01 g， $CuSO_4$ 0.01 g， $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.01 g， H_3BO_3 0.01 g，加水定容至 1 000 mL。

仪器设备：AB204-N 电子分析天平（梅特勒-托利多仪器有限公司）；TH-A3560C 高压灭菌锅（造鑫企业有限公司）；ZHJH-1109 超净工作台（上海智城分析仪器制造有限公司）；双层大容量全温度恒温培养振荡器（上海智城分析仪器制造有限公司）；SHZ-D (III) 循环水真空泵（巩义市英峪予华仪器厂）；RE-52D 旋转蒸发器（上海市青浦沪西仪器厂）；UV1700 紫外-可见光分光仪（日本岛津公司）；H.H.S 水浴锅（上海浦东荣丰科学仪器公司）；DL-101-2 烘箱（天津市申环实验电炉有限公司）。

1.2 试验方法

按基础培养基配方，转速为 180 r/min，培养时间为 8 d，进行以下培养条件优化实验。

1.2.1 液体发酵适宜起始 pH 值筛选 将液体培养基配方用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调节起始 pH 值为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0，研究不同起始 pH 值对产胞外多糖的影响。

1.2.2 液体发酵适宜碳源筛选 用筛选出的起始 pH 值, 分别采用葡萄糖、甘露醇、乳糖、可溶性淀粉、果糖和蔗糖代替基础培养基中的碳源, 使培养基中碳元素含量为 600 mmol/L, 观察不同碳源对产胞外多糖的影响。

1.2.3 液体发酵适宜氮源筛选 用筛选出的起始 pH 值和碳源, 以蛋白胨、NaNO₂、NH₄NO₃、(NH₄)₂SO₄、尿素、L- 甲硫氨酸和 L- 谷氨酰胺代替基础培养基中的氮源, 使培养基中氮元素含量为 20 mmol/L, 观察不同氮源对产胞外多糖的影响, 筛选出培养基的最适氮源。

1.2.4 液体发酵适宜碳源浓度筛选 用筛选出的起始 pH 值、碳源、氮源, 分别设定碳源浓度为 1、5、20、40、100 g/L, 探究不同浓度碳源对产胞外多糖的影响。

1.2.5 液体发酵适宜氮源浓度筛选 用筛选出的起始 pH 值、碳源及浓度、氮源, 分别设定氮源浓度为 0.1、0.5、2、5、20 g/L, 探究不同浓度氮源对产胞外多糖的影响。

1.2.6 液体发酵适宜转速筛选 用筛选出的起始 pH 值和碳、氮源及其浓度, 分别将摇床转速设置为 100、150、180、200、250 r/min, 观察不同转速对产胞外多糖的影响, 筛选出液体发酵的适宜转速。

1.2.7 液体发酵适宜培养时间筛选 用筛选出的起始 pH 值、碳氮源及其浓度、转速, 进行不同培养时间的选择试验, 从试验第 4 天开始取样测定发酵液中胞外多糖产量, 每隔 2 d 取样测定 1 次, 试验持续 16 d, 观察不同发酵时间对产胞外多糖的影响, 筛选出液体发酵的最适培养时间。

上述试验均按培养基配方制备培养液, 将 100 mL 培养液装入 250 mL 三角瓶, 除了含有甲硫氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺的培养基采用微孔滤膜及针头式过滤器过滤除菌外, 其余培养基高压灭菌 (121℃) 35 min 备用。将菌株转接于平板培养基的培养皿内, 制成平板菌种, 用同一打孔器 (直径为 4 mm) 在平板菌种的同一半径上打孔, 将等量菌栓接入培养基, 置于 ZHWY-2102 型振荡培养箱, 在 26℃、转速 180 r/min 下避光恒温振荡培养。采用随机分组设计, 3 次重复。

1.3 测定指标及方法

多糖产量测定: 发酵液经旋转蒸发仪浓缩后去蛋白、脱色、醇沉、透析及冷冻干燥, 得到胞

外多糖。采用苯酚-硫酸法^[17]测定总糖含量, 计算其相对于葡萄糖的换算因子 f :

$$f = m / \rho_0 D_0$$

式中, m 为多糖质量 (μg), ρ_0 为多糖液中葡萄糖的质量浓度, D_0 为多糖的稀释因数^[18]。

$$\text{多糖产量} = \rho \times D \times f$$

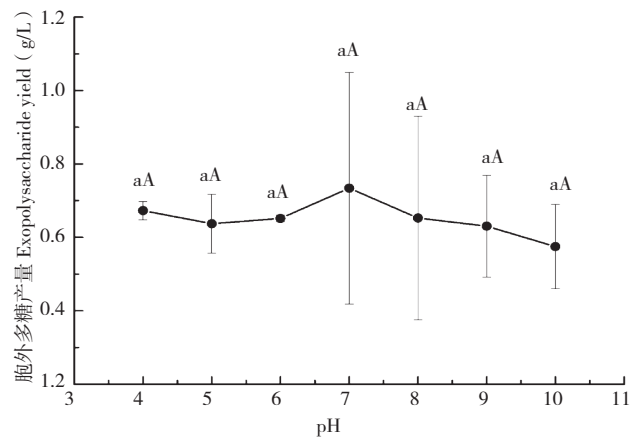
式中, ρ 为样品溶液中葡萄糖含量, D 为样品溶液的稀释倍数, f 为换算因子。

所有数据采用 SPSS 21.0 进行统计, 采用 Duncan 法进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 不同起始 pH 值对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

发酵液起始 pH 值的变化直接影响食用菌菌丝体细胞内 pH 值的变化, 间接影响到细胞内酶的活性, pH 值过高或过低都会对某些酶的活性起到抑制作用, 从而使菌丝代谢减缓, 影响菌丝生长, 进而影响菌丝产胞外多糖。一般认为, pH 值对酶活性的影响是通过细胞内 H⁺ 或 OH⁻ 影响酶蛋白的电荷和解离度, 而改变酶的结构和功能来实现的^[19]。不同起始 pH 值对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响见图 1, 柱状田头菇在 pH 值 4.0~10.0 范围内均可生长, 且在该范围内均可产生胞外多糖, 含量总体都比较平稳, 其中 pH 值 7.0 时, 胞外多糖产量最高、平均产量达 0.7244 g/L, 故可将柱状田头菇液体发酵起始 pH 值选定为 7.0。



小写英文字母不同者表示差异显著, 大写英文字母不同者表示差异极显著

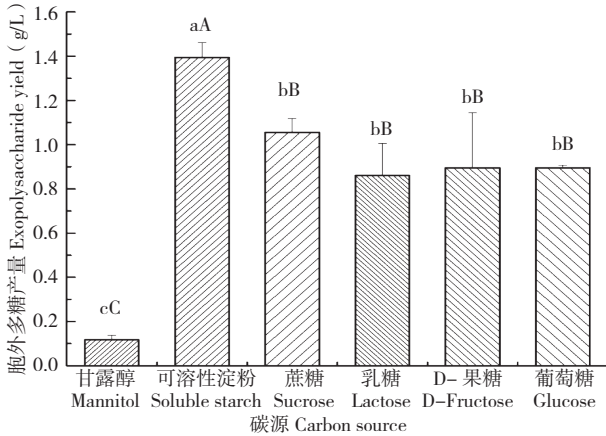
The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences

图 1 不同起始 pH 值对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

Fig. 1 Effects of different initial pH values on the extracellular polysaccharides produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

2.2 不同碳源对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

碳源是微生物生长繁殖所需的营养物质,在细胞中起着重要作用。碳源主要用于供应菌株生命活动所需要的能量,构成菌体细胞及代谢产物,是食药菌液体培养的主要营养成分^[20]。不同碳源对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响见图2,柱状田头菇在含6种不同碳源的培养基中都能生长并分泌胞外多糖,说明柱状田头菇菌丝可利用多种碳源。以可溶性淀粉为碳源时胞外多糖产量最高、达1.395 g/L,极显著高于其他碳源;以甘露醇为碳源时多糖产量较低、仅为0.117 g/L。因此,柱状田头菇菌丝合成和分泌胞外多糖的适宜碳源是可溶性淀粉。



小写英文字母不同者表示差异显著,大写英文字母不同者表示差异极显著

The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences

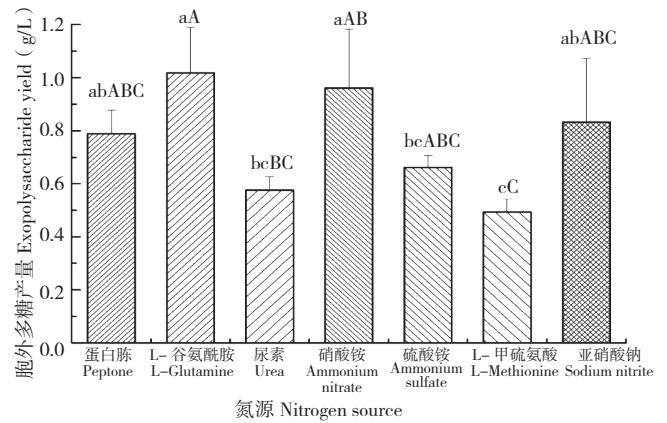
图2 不同碳源对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响
Fig. 2 Effects of different carbon sources on the extracellular polysaccharide produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

2.3 不同氮源对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

氮源主要用于构成菌体细胞物质和含氮代谢物,也是食药菌液体培养的主要营养成分^[21]。不同氮源对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响见图3,从图3可以看出,有机氮源和无机氮源均可被柱状田头菇菌丝体吸收、利用进而产胞外多糖。以L-谷氨酰胺作为氮源时柱状田头菇液体发酵产胞外多糖最高、达1.018 g/L,其次是硝酸铵、亚硝酸钠和蛋白胨,三者之间无显著差异。

2.4 不同浓度可溶性淀粉对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

碳源浓度影响着菌丝体生长的速度和胞外多

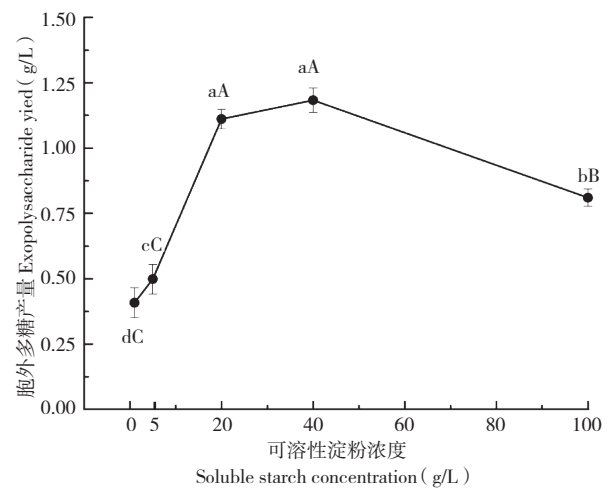


小写英文字母不同者表示差异显著,大写英文字母不同者表示差异极显著

The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences

图3 不同氮源对柱状田头菇产胞外多糖的影响
Fig. 3 Effects of different nitrogen sources on the extracellular polysaccharide produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

糖的产量,不同浓度可溶性淀粉对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响见图4。图4显示,在1~40 g/L浓度范围内,随着可溶性淀粉浓度的增加,胞外多糖产量逐渐增加,可溶性淀粉浓度达到40 g/L时胞外多糖产量最大、为1.183 g/L。但是,胞外多糖产量在可溶性淀粉浓度为20 g/L和40 g/L时差异不显著。当淀粉浓度高于40 g/L时,随着浓度升高,胞外多糖产量下降。因此,淀粉浓度对柱状田头菇的胞外多糖产量影响较大,当浓度较低时胞外多糖



小写英文字母不同者表示差异显著,大写英文字母不同者表示差异极显著

The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences

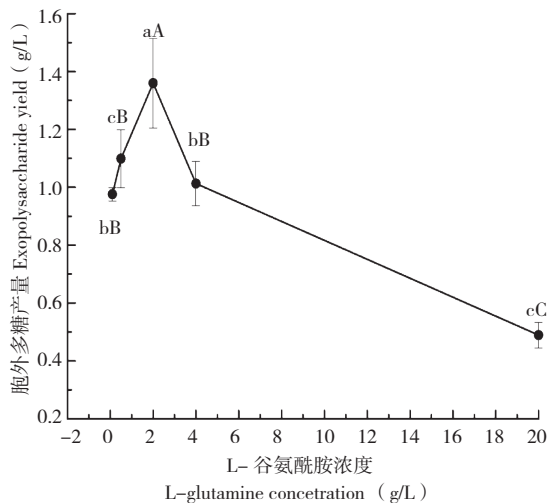
图4 不同浓度可溶性淀粉对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of soluble starch on the extracellular polysaccharide produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

产量较低, 浓度过高则会抑制菌丝体生长进而影响胞外多糖的产生。因此, 可将柱状田头菇液体发酵的可溶性淀粉浓度调控在 20~40 g/L 之间。

2.5 不同浓度 L- 谷氨酰胺对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

不同浓度 L- 谷氨酰胺对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响见图 5, 在 2 g/L 浓度范围内, 随着氮源浓度的提高, 胞外多糖产量逐渐增加。当氮源浓度为 2 g/L 时, 胞外多糖产量达最高、为 1.360 g/L, 极显著高于其他浓度处理; 当氮源浓度大于 2 g/L 时, 胞外多糖产量随氮源浓度的升高反而下降。因此, 2 g/L 为柱状田头菇液体发酵时 L- 谷氨酰胺的适宜浓度。



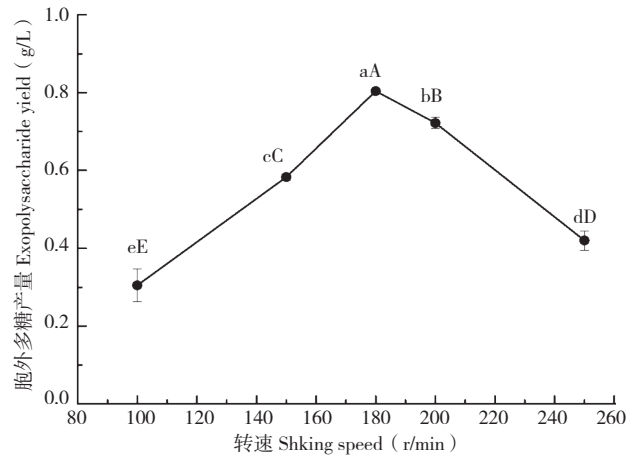
小写英文字母不同者表示差异显著, 大写英文字母不同者表示差异极显著
The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences

图 5 不同浓度 L- 谷氨酰胺对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

Fig. 5 Effects of different concentrations of L-Glutamine on the extracellular polysaccharide produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

2.6 不同转速对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

摇床转速与发酵液中的溶氧水平密切相关, 限制着菌丝的生长、长势、营养物质利用率、营养成分转化等, 转速过高和过低都不利于菌丝体发酵产糖^[22]。不同转速对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响见图 6, 图 6 显示, 当摇床转速为 100 r/min 时, 胞外多糖产量较低; 随着摇床转速升高至 180 r/min 时, 胞外多糖产量达到最大值、为 0.804 g/L, 与其他转速处理的胞外多糖产量相



小写英文字母不同者表示差异显著, 大写英文字母不同者表示差异极显著
The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences.

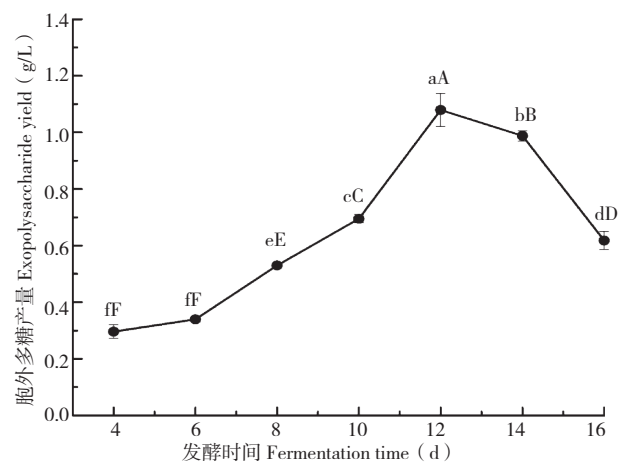
图 6 不同转速对柱状田头菇产胞外多糖的影响

Fig. 6 Effects of different shaking speed on the extracellular polysaccharide produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

比达到极显著差异; 当摇床转速大于 180 r/min 时, 胞外多糖产量急剧下降。因此, 柱状田头菇液体发酵的适宜转速是 180 r/min。

2.7 不同发酵时间对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

由图 7 可知, 胞外多糖在 4~8 d 内分泌缓慢, 随着菌丝的不断生长而大量合成并分泌多糖, 培养到第 12 天时胞外多糖产量最高, 与在其他培养



小写英文字母不同者表示差异显著, 大写英文字母不同者表示差异极显著
The different lowercase letters represent significant differences and the different capital letters represent extremely significant differences

图 7 不同发酵时间对柱状田头菇菌丝产胞外多糖的影响

Fig. 7 Effects of different culture time on the extracellular polysaccharides produced by mycelia of *Agrocybe aegerita*

时间处理的胞外多糖产量差异极显著,而后随着培养时间的延长,胞外多糖产量下降。因此,柱状田头菇菌丝体液体发酵产胞外多糖适宜的培养时间为 12 d。

3 讨论

在食用菌的液体培养中, pH 值是重要的影响因素之一。刘敏等^[16]以菌丝体为检测指标对茶树菇液体发酵条件进行探究,得到其液体发酵最适初始 pH 值为 6.0~7.0。陈少英^[23]以多糖产量为指标,得到茶树菇液体发酵最适 pH 值为 5.6,而邓超等^[24]的研究结果则是保持 pH 值为自然状态。本研究发现柱状田头菇液体培养产胞外多糖的最适起始 pH 值为 7.0,从结果可知柱状田头菇可在中性及偏微酸的环境下生长,且培养基成分的不同可能影响起始 pH 值的确定。

前人对桑黄、樟芝等真菌进行液体培养基条件的研究表明,碳源分别为蔗糖和葡萄糖、氮源分别为氯化铵和酵母浸粉时,胞外多糖产量最高,并发现不同种类真菌对碳源、氮源的要求不同^[25-26]。陈少英和邓超等探究了茶树菇液体发酵产胞外多糖的碳氮源条件,得出最适碳源为小麦粉和玉米粉、最适氮源为酵母浸膏和酵母粉^[23-24]。本研究中,柱状田头菇在多种碳源中均可生长并分泌多糖,说明其可利用多种碳源,其中以可溶性淀粉为碳源时胞外多糖产量最高,其次分别为蔗糖、葡萄糖、乳糖和果糖,且均没有显著差异。对于氮源来说,本试验中以 L-谷氨酰胺为氮源时胞外多糖产量最高,其次是硝酸铵、蛋白胨和亚硝酸钠。本研究结果与前人研究结果有较大不同,造成差异的原因可能是前人研究选择的碳氮源均为纯天然来源的有机碳源和氮源,成分较为复杂,可能会对从发酵液中提取的胞外多糖产量产生干扰;而本试验中均选择结构确定的化合物作为碳氮源,导致结果存在一定差异。

此外,在食用菌液体发酵过程中,营养物质浓度过低不能满足菌丝生长的需要,浓度过高则会抑制菌丝生长^[27],因此培养基 C/N 是一个很重要的参考指标,而适宜的碳源和氮源物质更容易被菌丝分解利用^[28]。在适宜的碳氮比条件下,适宜的碳源物质和氮源物质可使菌丝生长良好,影响真菌多糖和脂类的产生和合成^[29]。陈群等^[30]

结果表明, C/N 为 60 时,柱状田头菇菌丝体多糖产量最高,而邓超等^[24]研究表明 C/N 约为 6.7 时柱状田头菇的多糖产量最高,陈少英^[23]结果更低、C/N 为 2:1。本研究通过对柱状田头菇碳源、氮源浓度的探究,选定 C/N 在 10:1~20:1 之间,产多糖较多。这与前人研究结果不同且差异很大,可能是与碳、氮源的浓度和种类有关,利用不同来源的碳源及氮源时,其最适浓度也会不一样。

溶氧是发酵中的另一个重要因素,通过调整摇床转速来控制溶氧量^[31],为菌丝体生长创造适宜环境,可提高胞外多糖的产量。有研究表明,摇床转速为 150 r/min 时多糖产量最高^[23-24]。刘敏等^[16]研究表明,摇床转速为 150~180 r/min 时,茶树菇菌丝体生长最好。本研究中转速为 180 r/min 时菌丝生长最好、胞外多糖产量最高,说明摇床转速可能是通过影响菌丝球的生长来影响胞外多糖产量。此外,液体发酵周期一般为 5~10 d,在此周期内菌丝球生长直径良好、密度高,有利于菌丝产胞外多糖。李炳功等^[32]研究发现液体发酵灰树花 14 d 时多糖产量最高,王储炎等^[33]研究发现液体培养黑芝菌 6 d 时胞外多糖产量最高,本研究中培养时间为 12 d 时柱状田头菇胞外多糖产量较高,说明不同菌种之间培养时间存在较大差异。

4 结论

本研究确定了柱状田头菇的适宜碳源是可溶性淀粉,其适宜浓度为 20~40 g/L;适宜氮源是 L-谷氨酰胺,浓度为 2 g/L;最适起始 pH 值为 7.0,摇床转速为 180 r/min,于 26 °C 下培养 12 d。在该发酵条件下,柱状田头菇的胞外多糖产量较高、为 1.08 g/L,其中多糖含量为 71.73%、蛋白质含量为 8.62%。研究结果为利用液体发酵工业化生产柱状田头菇多糖提供了理论依据。

参考文献 (References):

- [1] 侯可宁,李毅. 食用菌多糖的提取、检测及应用研究进展[J]. 山东化工, 2017, 46(13): 49-51. doi: 10.19319/j.cnki.issn.1008-021X.2017.13.018. HOU K N, LI Y. The research and application of edible fungus polysaccharide extract detection and application [J]. *Shandong Chemical Industry*, 2017,46(13):49-51. doi: 10.19319/j.cnki.issn.1008-021X.2017.13.018.
- [2] HUANG Z F, ZHANG M L, ZHANG S, WANG Y H, JIANG X W. Structural characterization of polysaccharides from *Cordyceps militaris* and their hypolipidemic effects in high fat diet fed mice [J]. *RSC*

- Advances*, 2018, 8: 41012–41022. doi: 10.1039/c8ra09068h.
- [3] 刘青娥. 褐环粘盖牛肝菌多糖发酵工艺研究[J]. 广东农业科学, 2015, 42(1): 87–91. doi: 10.3969/j.issn.1004–874X.2015.01.020.
LIU Q E. Fermentation process of *Suillus luteus* Gray polysaccharides [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42(1):87–91. doi: 10.3969/j.issn.1004–874X.2015.01.020.
- [4] 才晓玲, 安福全, 邹瑶, 何伟, 徐海平. 柱状田头菇研究进展[J]. 食用菌学报, 2011, 18(2): 65–69. doi:10.16488/j.cnki.1005–9873.2011.02.018.
CAI X L, AN F Q, ZOU Y, HE W, XU H P. Research progress on *Agrocybe aegerita* [J]. *Journal of Edible Fungi*, 2011, 18(2):65–69. doi:10.16488/j.cnki.1005–9873.2011.02.018.
- [5] 阮晓东, 阮时珍, 阮梦玲, 李月桂, 黄巧珍, 陈强. 茶树菇野外大棚栽培高产新技术[J]. 食用菌, 2012(1): 47–50.
RUAN X D, RUAN S Z, RUAN M L, LI Y G, HUANG Q Z, CHEN Q. High-yield new technology for cultivation of *Agrocybe aegerita* in greenhouse [J]. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2012(1):47–50.
- [6] 吕国英, 张作法, 潘慧娟, 范雷法. 柱状田头菇(茶树菇)子实体物理改性后体外抗氧化活性研究[J]. 菌物学报, 2011, 30(2): 355–360. doi: 10.13346/j.mycosystema.2011.02.020.
LYU G Y, ZHANG Z F, PAN H J, FAN L F. Antioxidant activities of extracts from the physically modified fruiting bodies of *Agrocybe cylindracea* in vitro [J]. *Mycosystema*, 2011, 30(2): 355–360. doi: 10.13346/j.mycosystema.2011.02.020.
- [7] 张峰源, 张松, 曾剑锋, 罗炜杰. 云芝、灵芝和柱状田头菇胞外多糖对果蝇寿命的影响[J]. 生命科学研究, 2007, 11(2): 130–133. doi:10.3969/j.issn.1007–7847.2007.02.008.
ZHANG F Y, ZHANG S, ZENG J F, LUO W J. The effects of exopolysaccharides of *C. versicolor*, *G. lucidum* and *A. cylindracea* on fruit fly's life-span [J]. *Life Science Research*, 2007, 11(2):130–133. doi:10.3969/j.issn.1007–7847.2007.02.008.
- [8] 辛英姬, 方绍海, 王筱凡, 毛慧玲. 茶树菇多糖抑菌效果的试验[J]. 食用菌, 2011(4): 64–65. doi:10.3969/j.issn.1000–8357.2011.04.045.
XIN Y J, FANG S H, WANG X F, MAO H L. Experimental study on antibacterial effect of polysaccharides from *Agrocybe aegerita* [J]. *Edible Fungi*, 2011(4):64–65. doi:10.3969/j.issn.1000–8357.2011.04.045.
- [9] ZHAO C, SUN H, TONG X, QI Y. An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita* [J]. *Biochemical Journal*, 2003, 374(2):321–327. doi:10.1042/bj20030300.
- [10] YANG Q, YIN Y, PAN Y, YE X D, XU B, YU W H, ZENG H L, SUN H. Anti-metastatic activity of, *Agrocybe aegerita*, galectin (AAL) in a mouse model of breast cancer lung metastasis [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 41:163–170. doi:10.1016/j.jff.2017.12.058.
- [11] JING H, LI J, ZHANG J, WANG W, LI S, REN Z, GAO Z, SONG X, WANG X, JIA L. The antioxidative and anti-aging effects of acidic- and alkaline-extractable mycelium polysaccharides by *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018(106):1270–1278. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.08.138.
- [12] 张松, 刘金庆, 梅晓灯, 杨小兵, 黄冕. 茶树菇活性提取物抗氧化和延缓衰老作用的研究[J]. 营养学报, 2008, 30(3): 294–297. doi:10.3321/j.issn:0512–7955.2008.03.017.
ZHANG S, LIU J Q, MEI X D, YANG X B, HUANG M. Study on the antioxidative and antiaging effect of the bioactive extract from *Agrocybe aegerita* [J]. *Journal of Nutrition*, 2008, 30(3):294–297. doi:10.3321/j.issn:0512–7955.2008.03.017.
- [13] 王宗君, 廖丹葵. 茶树菇多糖抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(1): 50–55. doi:10.3969/j.issn.1005–6521.2010.01.016.
WANG Z Z, LIAO D K. Study on the anti-oxidant activity of polysaccharide in *Agrocybe Aegerita* [J]. *Food Research and Development*, 2010, 31(1):50–55. doi:10.3969/j.issn.1005–6521.2010.01.016.
- [14] 刘苏, 姜玥, 罗建平, 潘利华, 查学强. 5种食用菌多糖理化性质及免疫活性的比较研究[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 252–256. doi: 10.7506/spkx1002–6630–201513047.
LIU S, JIANG Y, LUO J P, PAN L H, ZHA X Q. Physicochemical properties and immunomodulating activities of polysaccharides from five species of edible mushrooms [J]. *Food Science*, 2015, 36(13):252–256. doi: 10.7506/spkx1002–6630–201513047.
- [15] 刘明, 肖自添, 邱耀明, 邱桂根, 何焕清. 茶树菇液体菌种培养基、培养条件的筛选及其应用[J]. 中国食用菌, 2016, 35(4): 39–42. doi:10.13629/j.cnki.53–1054.2016.04.010.
LIU M, XIAO Z T, QIU Y M, QIU G G, HE H Q. Optimization and application on liquid spawns cultivation medium of *Agrocybe cylindracea* [J]. *Edible Fungi of China*, 2016, 35(4):39–42. doi:10.13629/j.cnki.53–1054.2016.04.010.
- [16] 刘敏, 卢红, 黄媛媛, 荣群, 王谦. 茶树菇液体发酵条件研究[J]. 北方园艺, 2016(11): 142–144. doi:10.11937/bfy.201611037.
LIU M, LU H, HUANG Y Y, RONG Q, WANG Q. Study on liquid fermentation conditions of *Agrocybe Aegerita* [J]. *Northern Horticulture*, 2016(11):142–144. doi:10.11937/bfy.201611037.
- [17] 白瑞斌, 马玉玲, 张培, 王燕萍, 李应东, 胡芳弟. 苯酚–硫酸法结合校正因子法测定含半乳糖醛酸的多糖中的糖含量[J]. 中国药房, 2017, 28(21): 2974–2978. doi:10.6039/j.issn.1001–0408.2017.21.26.
BAI R B, MA Y L, ZHANG P, WANG Y P, LI Y D, HU F D. Content determination of saccharide in polysaccharides containing galacturonic acid by phenol–sulfuric acid method combined with calibration factor method [J]. *China Pharmacy*, 2017, 28(21):2974–2978. doi:10.6039/j.issn.1001–0408.2017.21.26.
- [18] 范文秀, 王振河. 杏鲍菇多糖的提取及含量测定[J]. 广东微量元素科学, 2006, 13(7): 53–56. doi:10.3969/j.issn.1006–446X.2006.07.012.
FAN W X, WANG Z H. Extraction and determination of polysaccharide from *Pleurotus eryngii* [J]. *Microelement Science in Guangdong*, 2006, 13(7):53–56. doi:10.3969/j.issn.1006–446X.2006.07.012.
- [19] 赵金凤, 刘朝贵. 茶树菇富硒液体发酵培养基的优化[J]. 食用菌, 2018(2): 21–24.
ZHAO J F, LIU C G. Optimization of liquid fermentation medium for se-enriched *Agrocybe cylindracea* [J]. *Edible Fungi*, 2018(2):21–24.
- [20] DANG H N, WANG C L, LAY H L. Effect of nutrition, vitamin, grains,

- and temperature on the mycelium growth and antioxidant capacity of *Cordyceps militaris* (strains AG-1 and PSJ-1) [J]. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 2018, 11(2):130-138. doi:10.1016/j.jrras.2017.11.003.
- [21] 管博文, 吴凡, 陈青君, 王丹, 师雨梦, 张国庆. 不同浓度碳源和氮源对灰树花胞外多糖液体发酵产量的影响 [J]. *中国农学通报*, 2015, 31(25): 75-78.
GUAN B W, WU F, CHEN Q J, WANG D, SHI Y M, ZHANG G Q. Effects of different concentrations of carbon and nitrogen sources on production of *Grifola frondosa* extracellular polysaccharides [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(25): 75-78.
- [22] 朱朝阳, 刘高强, 旷思敏, 周国英. 冬虫夏草真菌产胞外多糖发酵条件的优化 [J]. *食品科技*, 2013 (5) : 18-21. doi:10.13684/j.cnki.spkj.2013.05.028.
ZHU C Y, LIU G Q, KUANG S M, ZHOU G Y. Optimization of fermentation conditions of exo-polysaccharides by *Ophiocordyceps sinensis* in liquid fermentation [J]. *Food Science and Technology*, 2013(5):18-21. doi:10.13684/j.cnki.spkj.2013.05.028.
- [23] 陈少英. 茶树菇液体培养基条件的研究 [J]. *湖北师范学院学报: 自然科学版*, 2004, 24(2): 69-71. doi: 10.3969/j.issn.1009-2714.2004.02.021.
CHEN S Y. Study on the liquid culture conditions of *Agrocybe Aegerita* [J]. *Journal of Hubei Normal University (Natural Science)*, 2004, 24(2):69-71. doi: 10.3969/j.issn.1009-2714.2004.02.021.
- [24] 邓超, 汤鲁宏, 陈伟. 培养基的组成及培养条件对茶树菇多糖产量的影响 [J]. *天然产物研究与开发*, 2010 (1) : 136-139. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2010.01.032.
DENG C, TANG L H, CHEN W. The influences on the production of *Agrocybe aegirit* polysaccharides by the medium components and fermentation conditions [J]. *Natural Products Research and Development*, 2010(1):136-139. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2010.01.032.
- [25] 唐思煜, 赵优萍, 吴迪, 蔡成岗, 毛建卫. 桑黄液体深层发酵培养基优化研究 [J]. *浙江科技学院学报*, 2018 (3) : 193-198. doi:10.3969/j.issn.1671-8798.2018.03.003.
TANG S Y, ZHAO Y P, WU D, CAI C G, MAO J W. Study on optimal culture medium of submerged fermentation of *Phellinus linteus* [J]. *Journal of Zhejiang University of Science and Technology*, 2018(3):193-198. doi:10.3969/j.issn.1671-8798.2018.03.003.
- [26] 王正齐, 张薄博, 陈磊, 关锋. 响应面法优化樟芝胞外多糖的发酵条件 [J]. *食品工业科技*, 2018 (11) : 100-107. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.11.018.
WANG Z Q, ZHANG B B, CHEN L, GUAN F. Optimization of exopolysaccharide yield produced by submerged fermentation of *Antrodia cinnamomea* by response surface methodology [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2018(11):100-107. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.11.018.
- [27] 刘晓鹏, 姜宁, 夏冬冬, 马琼, 余丽琼. 猴头菌液体发酵培养基及工艺优化的研究 [J]. *广东农业科学*, 2014, 41 (18) : 79-82. doi:10.3969/j.issn.1004-874X.2014.18.020.
LIU X P, JIANG N, XIA D D, MA Q, YU L Q. Liquid fermentation culture medium and process optimization for *Hericium erinaceus* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41(18):79-82. doi:10.3969/j.issn.1004-874X.2014.18.020.
- [28] 孙荟林, 李明, 李守勉, 田景花. 茶树菇母种培养基最适碳氮比及碳源、氮源筛选 [J]. *北方园艺*, 2016 (14) : 148-151. doi:10.11937/bfyy.201614037.
SUN H L, LI M, LI S M, TIAN J H. Selection of optimal carbon / nitrogen ratio, carbon source and nitrogen source in mother culture medium of *Agrocybe aegerita* [J]. *Northern Horticulture*, 2016(14): 148-151. doi:10.11937/bfyy.201614037.
- [29] DIAMANTOPOULOU P, PAPANIKOLAOU S, AGGELIS G, PHILIPPOUSSIS A. Adaptation of *Volvariella volvacea* metabolism in high carbon to nitrogen ratio media [J]. *Food Chemistry*, 2016, 196:272-280. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.027.
- [30] 陈群, 李秀芹. 柱状田头菇液体发酵条件的研究及多糖含量的测定 [J]. *中国食用菌*, 2001, 20 (3) : 29-31. doi: 10.3969/j.issn.1003-8310.2001.03.023.
CHEN Q, LI X Q. Study on liquid fermentation conditions and determination of polysaccharide content in *Agrocybe aegerita* [J]. *Edible Fungi of China*, 2001, 20(3):29-31. doi: 10.3969/j.issn.1003-8310.2001.03.023.
- [31] 张文芝, 郭坚华. 微生物发酵工艺优化研究进展 [J]. *广东农业科学*, 2013, 40 (6) : 114-117. doi:10.3969/j.issn.1004-874X.2013.06.034.
ZHANG W Z, GUO J H. Research advances in microbial fermentation process optimization [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 40(6):114-117. doi:10.3969/j.issn.1004-874X.2013.06.034.
- [32] 李炳功, 耿伟涛, 赵琰明, 王金菊, 王艳萍. 灰树花液态深层发酵条件研究 [J]. *中国酿造*, 2018, 37 (4) : 61-65. doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2018.04.012.
LI B G, GEN W T, ZHAO Y M, WANG J J, WANG Y P. Optimization of submerged fermentation conditions of *Grifola frondosa* [J]. *China Brewing*, 2018, 37(4):61-65. doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2018.04.012.
- [33] 王储炎, 程俊文, 祝超. 黑芝菌发酵产生胞外多糖的工艺优化及其抗氧化活性 [J]. *浙江农业学报*, 2018, 30 (11) : 139-146. doi: 10.3969/j.issn.1004-1524.2018.11.18.
WANG C Y, CHENG J W, ZHU C. Optimization of extracellular polysaccharide production from *Fructificatio amaurodermatis* Rudae by liquid submerged fermentation and its antioxidant activity [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2018, 30(11):139-146. doi: 10.3969/j.issn.1004-1524.2018.11.18.

(责任编辑 张辉玲)