

蝙蝠蛾拟青霉菌丝体发酵的研究

姜文侠 孙武岳 马琳 梁程

(天津市工业微生物研究所 天津 300221)

摘要 用20t发酵罐培养蝙蝠蛾拟青霉。菌粉收率达2.5%，D-甘露醇含量大于8%，腺苷含量大于0.2%。对发酵过程中pH、总糖、还原糖、得率、折光等的变化规律进行了考察。确定以发酵液pH的升高和还原糖含量作为综合判断发酵终点的依据。

关键词 蝙蝠蛾拟青霉，深层发酵

分类号 Q939.97 **文献标识码** A **文章编号** 0253-2654(1999)-03-0192-194

STUDY ON FERMENTATION OF MYCELIUM OF *PAECILOMYCES HEPIALI*

Jiang Wenxia Sun Wuyue Ma Lin Liang Cheng

(Tianjin Research Institute of Industrial Microbiology, Tianjin 300221)

Abstract *Paecilomyces hepiali* is cultured in a 20t fermentor. The yield of microbe powder is 2.5%. Content of D-mannitol is more than 8% and adenosine is more than 0.2%. The regular of pH, total sugar, reducing sugar, yield and refractive index in the process of the fermentation are explored. The ascension of pH and the content of reducing sugar in fermentation liquid is defined as the basis for deciding the end of fermentation.

Key words *Paecilomyces hepiali*, submerged fermentation

冬虫夏草是名贵的中药材，具有补虚损，滋精气，补肺益肾，止血化痰，滋补强壮之功效^[1]。天然虫草有其严格的寄生性及特殊的生长环境，自然资源稀少，产量有限，而且价格昂贵，为改变这一局面，可用蝙蝠蛾拟青霉深层发酵的方法生产菌粉。因发酵菌粉在化学成份，药理作用及临床效果上与天然虫草基本一致^[2-3]，因此可作为代用品。以往的研究报道多集中在实验室和

小试阶段，对工业化的大罐深层发酵冬虫夏草工艺技术报道较少，为此我们在小试的基础上，考察了放大到20t发酵罐上的蝙蝠蛾拟青霉的发酵生长情况，确定了终止发酵的判断标准，并取得了很好的结果。

1998-06-22收稿，1998-11-09修回

1 材料和方法

1.1 菌种

蝙蝠蛾拟青霉 (*Paecilomyces hepiali* Chen et Dai), 本所保藏。

1.2 培养基

1.2.1 斜面培养基: 葡萄糖 2g, 蛋白胨 2g, 5% 麦麸汁 100mL, 无机盐 0.225g, 琼脂 1.8g, pH6.4~6.5, 1×10^5 Pa 灭菌 30min。

1.2.2 摇瓶培养基: 葡萄糖 2g, 蛋白胨 0.5g, 无机盐 0.225g, 5% 麦麸汁 100mL, pH6.4~6.5, 1×10^5 Pa 灭菌 30min。

1.2.3 发酵培养基: 葡萄糖 2g, 蔗糖 2g, 豆粕粉 2g, 无机盐 0.225g, 加水定容至 100mL, pH6.4~6.5, 1×10^5 Pa 灭菌 30min。

1.3 折光率的测定

将发酵液用滤纸过滤, 取清滤液用阿贝折光仪按文献 [4] 测定折光率。

1.4 总糖的测定

按文献 [5] 测定发酵液清滤液的总糖含量。

1.5 还原糖的测定

将发酵液用滤纸过滤, 按文献 [6] 测定清滤液中的还原糖含量。

1.6 收率的测定方法

取 100mL 发酵液, 用滤纸过滤, 将滤渣在 100~105℃ 干燥后称重, 滤渣的干重即为菌丝体的收率。

1.7 发酵液 pH 的测定

取发酵液, 有福光牌 WS 型袖珍数显 pH 计测定其 pH 值。

1.8 D-甘露醇含量的测定

按文献 [7] 法测定。

1.9 腺苷含量的测定

按文献 [7] 法测定。

2 结果和讨论

2.1 发酵工艺过程

斜面接种后在 25℃ 培养 7d, 斜面上长满白色菌丝后, 放入冰箱备用。

500mL 三角瓶, 装入摇瓶培养基 150mL, 灭

菌后接斜面菌种, 在 120r/min 摇床, 24℃ 培养 3d。

将摇瓶菌种接入 500L 发酵罐, 然后逐级放大接入 20t 发酵罐, 发酵培养, 中间定时取样分析。发酵结束后用板框压滤机压滤, 收集滤饼, 置 60~70℃ 干燥后粉碎, 即为发酵菌粉。

2.2 发酵液中可溶性物质含量的变化

菌体在发酵培养过程中, 不断地利用培养基中的可溶性物质, 转化为菌体自身的物质, 发酵液中可溶性物质的含量逐渐下降。我们将发酵液的清滤液的折光率作为发酵液中可溶性物质含量的代表, 发酵结束时折光率下降到 1.4% 左右, 如图 1。



图1 折光率曲线

2.3 培养基中总糖和还原糖的变化

测定发酵液的清滤液中总糖和还原糖, 其对时间变化曲线如图 2, 从图 2 中可见总糖和还原糖的含量随着发酵的进行而降低, 可见是被菌体利用了, 总糖下降的速率大于还原糖下降

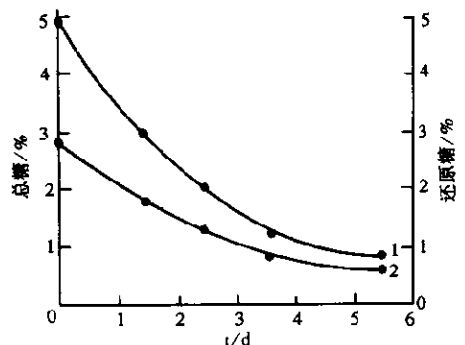


图2 总糖和还原糖的变化曲线

1 总糖, 2 还原糖

的速率,这说明该菌体在生长过程中,能产生酶将多糖分解。发酵结束后我们从清滤液中提取到了虫草多糖,故而在发酵结束时,总糖应高于还原糖的含量。至于蝙蝠蛾拟青霉所产生的酶系还有待于进一步分析。

2.4 菌丝体的收率变化

菌丝体的收率随发酵的进行而升高,在发酵第5d时最高,达到2.5%,以后收率下降。通过镜检观察发现菌丝出现空泡和碎片,说明菌体在培养的后期会发生自溶。

2.5 发酵液 pH 值的变化

发酵初期 pH 值下降较快,从第3d至第5d pH 稳定在3.5上下,变化不大,但从第5d开始 pH 值又开始回升。我们认为 pH 与菌体的代谢产物有关,发酵初期菌体产生虫草酸导致发酵液 pH 下降,而5d后培养基中养分基本消耗殆尽,菌体开始自溶,细胞质溶出,发酵液中氨基氮的含量增加,使 pH 上升,一旦菌体自溶加大,不仅使发酵液的过滤困难,还使一些有效成分随滤液流失,影响收率。

2.6 成品有效成份的含量

发酵菌粉成品中 D-甘露醇的含量在 8% 以

上,腺苷含量大于 0.2%,均超过我国卫生部部颁标准 WS₂-C₁-0001-90 的要求。

2.7 发酵终点的确定

大罐发酵生产中必须有快速判断发酵终点的手段,而该菌有效成份的分析测定所需时间长,不能适应生产的需要。通过对小试及大罐生产结果的分析,我们认为可从发酵液 pH 的回升和还原糖两方面综合分析判断发酵终点,如果发酵旺盛可将放罐时间提前,反之则应推迟,以期使有效成份和收率达到最佳水平。

参 考 文 献

- [1] 丁风平,姜文昌,陈家娟. 中国生化药物杂志, 1994, 15(4): 297~299.
- [2] 梁佩琼,陆大京. 食用菌, 1990, (3): 2~3.
- [3] 冯玉环,高凤仪. 实用医学杂志, 1994, 10(4): 413~414.
- [4] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典一九九〇年版二部. 北京: 化学工业出版社, 人民卫生出版社, 1990, 附录 18~19.
- [5] 天津轻工业学院等编. 工业发酵分析. 北京: 中国轻工业出版社, 1980. 7~14.
- [6] 姜文侠,孙武岳. 食品研究与发酵, 1997, 18(2): 58~61.
- [7] 中华人民共和国卫生部, 部标准, WS₂-C₁-0001-90, 发酵虫草菌粉. 1990.