

种植食用菌综合利用玉米芯的研究

岳新叶, 蔡静平*, 朱利, 张敏
(郑州工程学院生物工程系, 河南 郑州 450052)

摘 要: 本文主要研究以玉米芯为主要原料种植平菇苏引 6 号, 并研究种植基质的综合利用。结果表明, 四次采菇的收获总量达到培养原料重量的 116.7%; 第三次采菇后基质中的低聚木糖生成率以木二糖计可达原料的 4.86% (干基); 用 10 倍量的 pH5 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液, 25℃浸提基质中的木聚糖酶可获得最高的收率, 其中第二次出菇期间基质的木聚糖酶可达 155.9U/g(干基)。
关键词: 食用菌; 玉米芯; 低聚木糖; 木聚糖酶

Studied on the Edible Mushrooms by Comprehensive Utilization of Corncob

YUE Xin-ye, CAI Jing-ping*, ZHU Li, ZHANG Min
(Department of Biological Engineering, Zhengzhou Institution of Technology, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: The planting of Pleurotus mushroom Suyin No.6 based on the corncob medium and the comprehensive utilization of the media were investigated. The results indicated that the gross mushroom outputs in all four times were as many as 116.7% of the culture medium weight. The maximal transform rate of xylobiose was 4.86% during the third mushroom collection. The best

收稿日期: 2003-12-16 * 通讯作者
作者简介: 岳新叶(1975-), 男, 硕士研究生, 研究方向为粮食食品微生物。

表 4 欧李仁蛋白浓度对起泡性的影响
Table 4 Effect of concentration of cerasus humilis kernel protein on foaming

| Concentration(%) | Foaming(%) | Time(min) | | | |
|------------------|------------|-----------|----|----|----|
| | | 10 | 30 | 60 | 90 |
| 1 | 34 | 23 | 21 | 19 | 17 |
| 3 | 57 | 45 | 42 | 40 | 37 |

表 5 pH 值对欧李仁蛋白起泡性的影响 (蛋白浓度为 1%)
Table 5 Effect of pH on the foaming property of cerasus humilis kernel protein(concentration of protein: 1%)

| pH | Foaming(%) | Time(min) | | | |
|----|------------|-----------|----|----|----|
| | | 10 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 22 | 15 | 4 | - | - |
| 9 | 34 | 29 | 26 | 25 | 21 |

的起泡性和泡沫稳定性在碱性条件下优于酸性条件; 在碱性条件下, 其起泡性能虽仅为大豆蛋白的 1/3, 但其泡沫稳定性趋势强于大豆蛋白。

3 结 论

从脱脂欧李仁粕中提取到的欧李仁蛋白主要由 9 种亚基组成, 含量最高的亚基分子量为 30000 左右。欧李

仁蛋白的等电点为 4, 其变性温度和大豆蛋白相近。测定了欧李仁蛋白在不同浓度和 pH 值条件下的乳化特性和起泡特性。

参 考 文 献:

[1] 石村民, 陈春原. 内蒙古果树生产现状、问题、潜力及发展对策[J]. 内蒙古农业科技, 1997, (6): 17-19.
[2] 薛勇, 陈玮, 程霜, 等. 双溶剂浸出法提取欧李仁油的研究[J]. 郑州工程学院学报, 2003, 24(1): 20-23.
[3] 肖咏梅, 陈玮, 王多荣, 等. 己烷-乙醇-水双相溶剂浸出法提取欧李仁油的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(4): 14-17.
[4] 赵亚华. 生化实验技术教程[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000. 40-42.
[5] 潘秋琴, 沈蓓英, 程霜. 花生蛋白质的磷酸化改性[J]. 中国油脂, 1997, 22(1): 25-29.
[6] 郭兴凤. 豌豆蛋白的功能特性研究[J]. 郑州粮食学院学报, 1996, 17(1): 69-73.
[7] 杨晓泉, 陈中, 赵谋民. 花生蛋白的分离及部分性质研究[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(5): 25-28.

extraction effect of xylanase in the culture medium was obtained when 10 times of pH5 citric acid-sodium hydrogen phosphate buffer were used and maintained at 25℃, while the xylanase was extracted in 155.9 U/g (dry basis) during the second mushroom collection.

Key words: corncob; edible mushroom; xylo-oligosaccharide; xylanase

中图分类号: TS219

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2005)03-0141-04

玉米芯是一种常见的农业副产品, 每年我国大约可产玉米芯 4000 万吨, 其成分中含有 30% 左右的木聚糖, 是工业生产木糖醇的重要原料, 也是生产低聚木糖——一类可显著促进人体肠道双歧杆菌的增殖的功能性低聚糖的重要原料。但是, 由于玉米芯处理、加工和利用的难度较大, 至今有很大一部分被人为烧掉或被废弃后自然腐烂, 如何更有效地利用这些农业副产品是人们一直关注的课题^[1]。

食用菌一般对纤维素、半纤维素等多糖物质有很强的分解能力, 它们可以利用玉米芯中的木聚糖为碳源生长, 生产食用菌产品。虽然以玉米芯为基质生产食用菌的产率较低, 但由于成本相对低廉, 使其成为目前玉米芯生产利用的主要途径。本研究课题是要通过选择适当的食用菌菌株, 在利用玉米芯种植食用菌的同时, 从种植基质中分离低聚木糖或木聚糖酶, 从而提高玉米芯的利用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米芯 郑州市郊购得; 化学试剂 均为国产分析纯试剂; 菌种 本实验室保藏的菌种; 菌种培养基 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(简称: PDA)。

1.2 实验方法

1.2.1 木聚糖的提取^[2,3]

将玉米芯粉碎后, 取 40 目筛下物, 加入充足的水煮沸 1h, 除去可溶性杂质后, 用 6% 的 NaOH 室温下浸提 24h, 离心除去不溶物, 清液用 HCl 中和到 pH 值为 4.6 左右, 取沉淀物反复用蒸馏水洗涤到中性, 沉淀物即为自制木聚糖, 于 4℃ 下保藏备用。

1.2.2 还原糖浓度的测定

3,5-二硝基水杨酸(DNS)法。

1.2.3 总糖的测定

取 5ml 提取液, 加入等体积的 6mol/L 的盐酸, 在沸水浴中水解 1h, 经中和到 pH 值为 7 后定容到 50ml, 再用 DNS 法测定还原糖浓度。

1.2.4 粗酶液的提取

称取一定量的固体培养基, 加入 10 倍体积的 pH 值为 5.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液, 25℃ 搅拌浸泡 2h, 过滤即得粗酶液。

1.2.5 木聚糖酶活力的测定^[4]

在 20ml 具塞试管中加入 0.5ml 的 1% 的木聚糖(自制)溶液在 28℃ 水浴中保温 5min, 再加入 0.5ml 酶液, 使总体积为 1ml, 准确反应 10min, 立即加入 0.5ml 的水杨酸试剂终止反应, 显色后测定还原糖浓度。同时作对照: 在试管中加入 0.5ml 酶液, 立即加入 0.5ml 的水杨酸试剂使酶失活, 再加入 0.5ml 木聚糖溶液, 保温, 显色, 测定还原糖浓度。酶活力单位(U)定义为在上述实验条件下, 每分钟催化产生 1μg 木糖所需的酶量。

1.2.6 低聚木糖种类的分析^[5]

取适当浓度的提取液在硅胶 G 薄层板上点样, 以 D 木糖为标准样, 用上行法展开(展开剂为正丁醇:乙酸:水 = 3:1:1), 薄板自然风干后再用显色剂(0.5g 3,5-二羟基甲苯溶于 100ml 20% 的硫酸中)喷板, 在 90℃ 烘箱中显色 10min, 比较色斑的位置及色泽大小等, 以确定提取液中低聚木糖的种类和相对浓度。

2 结果与讨论

2.1 菌种筛选

利用粉碎玉米芯或从玉米芯中分离的粗木聚糖作为唯一碳源, 分别配制固体和液体选择性培养基, 对 8 株常见的食用菌菌株进行接种、培养。结果显示(表 1), 同一菌种在固体和液体培养基中的生长表现相同, 其中平菇苏引 6 号、平菇夏王 40 生长状态良好, 表明这两个菌种有较强的木聚糖分解能力。

表 1 菌种在固、液培养基上生长情况
Table 1 The status of the fungus planted in firm and liquid corncob medium

| 菌株 Fungus | 固体培养基 Firm medium | 液体培养基 Liquid medium |
|----------------------------------|----------------------|------------------------|
| 平菇苏引 6 号 Pleurotus Suyin No.6 | +++ | +++ |
| 平菇夏王 40 Pleurotus Xiwang No.40 | +++ | +++ |
| 香菇 L939 Lentinus edodes L939 | — | — |
| 香菇 L931 Lentinus edodes L931 | — | — |
| 白针菇 F21 Flammulina velutipes F21 | — | — |
| 草菇 V34 Volvariella volvaced V34 | ++ | + |
| 鸡腿菇 D526 Coprinus comatus D526 | + | + |
| 鸡腿菇 D8 Coprinus comatus D8 | — | — |

注: 固体培养基: 玉米芯粉:麸皮 = 4:1, 水分 60%; 液体培养基: 粗制木聚糖 2%, 蛋白胨 0.1%。

进一步对两种平菇的培养产物进行分析表明, 平苏 6 号的发酵产物有木糖及木二、三、四糖; 夏王 40 产

物与平苏6号相似,但分解物产量相对较低。所以选择平菇苏引6号(以下简称:平6菌)作为试验菌种。

2.2 平6菌种植与低聚木糖的产生

将平6菌接种在玉米芯粉(80g),麦麸(19g),石膏(1g),尿素(0.1g),水分60%~70%的培养基中,培养容器是750ml的菌种瓶,维持26~27℃,15d左右菌丝可布满培养瓶,第一次出菇的时间在20d左右,(出菇温度30℃),每潮菇之间相隔时间大约为7d。

2.2.1 食用菌生产

平6菌在以玉米芯为主要成分的基质中培养,前三次出菇重量比较稳定(图1),三次出菇总量折合物料转化率达101.2%;第四次的出菇量有明显下降,产量仅为前次的50%左右。累计四次采菇的总量为培养料用量的116.7%。

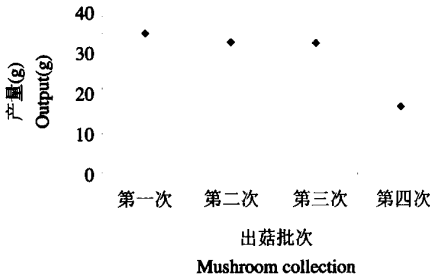


图1 各批次平菇的产量变化

Fig.1 Changes of mushroom output in every collection

2.2.2 培养基干重变化

随着平6菌在基质中的生长,基质的干重(不包括平菇重量)呈不断下降趋势(图2),其中第一次出菇的干重下降最明显,达到28.4%,表明平6菌在这一期间的代谢活动最为旺盛。培养基经四次出菇后的总干重下降为46%,可见平6菌对所配基质有较高的利用率。

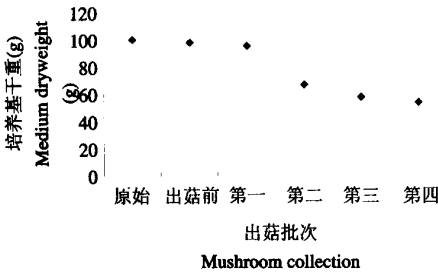


图2 培养基干重的变化

Fig.2 Changes of the medium dryweight

2.2.3 培养基低聚糖变化

浸取平6菌各培养阶段培养基内的可溶性糖,以薄层法进行低聚糖的定性和半定量分析,显示提取产物中主要为木二糖,其中含有少量的木糖。

用“两次测定法”(即对提取液分别进行直接检测

和先水解后检测)检测平6菌各培养阶段的基质还原糖含量,表明第三次出菇后基质的还原糖含量最高,达到24.3mg/g(图3),水解后的还原糖检测值为50.4mg/g,基本上为木二糖的两倍关系。如果将直接检测的还原糖值换算成木二糖,则培养基质的低聚木糖转化率为4.86%(干基)。

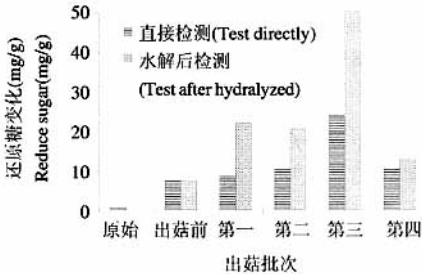


图3 培养基还原糖的变化

Fig.3 Changes of the reduce sugar in the medium

2.3 平6菌种植与木聚糖酶的生产

除了可以在平6菌种植基质中提取低聚木糖,也可在基质中提取有重要应用价值的木聚糖酶。

2.3.1 培养基中木聚糖酶酶活的变化

当平6菌在培养基内布满菌丝直到完成四次出菇,基质中的木聚糖酶基本上在100~150U/g区间内变化(图4),其中第二次出菇后基质中的酶活最高,达到155.9U/g。因此,可用适当方法将木聚糖酶从基质中分离出来。

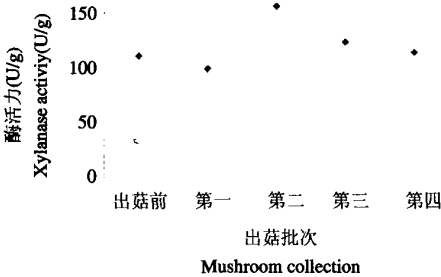


图4 不同时期培养基木聚糖酶活的变化

Fig.4 Activity changes of the xylanase in the medium

2.3.2 木聚糖酶的分离条件

2.3.2.1 缓冲液pH值对酶活的影响

分别用不同pH值的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液25℃浸提培养基质,结果表明(图5),当缓冲液pH为5时,提取液酶活最高。

2.3.2.2 缓冲液用量对酶活力的影响

分别用不同量pH5的缓冲液浸提培养基质,结果表明(图6),缓冲液用量为固体培养基的10倍体积以下时,增大缓冲液用量总酶提高比较明显;达到10倍体积时,

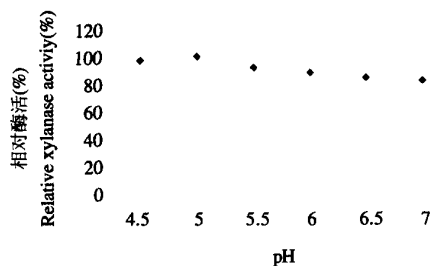


图5 缓冲液 pH 值对酶提取的影响

Fig.5 The influence by buffer pH on xylanase activity

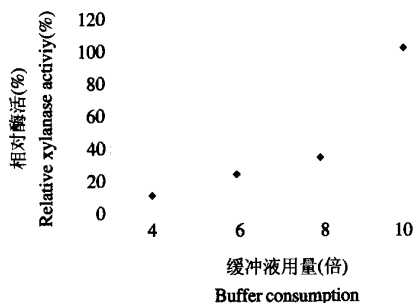


图6 浸提液用量对酶活的影响

Fig.6 The influence by the buffer consumption on xylanase activity

提取的酶量达到一个高点,继续增大浸提液的量对酶活提高的影响很小。

2.3.2.2 浸提温度的影响

温度对木聚糖酶的浸提有比较明显的影响,在 25℃ 条件下可以获得最大的浸提液酶活(图 7)。

玉米芯是一类廉价的农产品副产物,寻找合理的利用手段有利于减少环境污染(焚烧、腐烂),避免资源浪

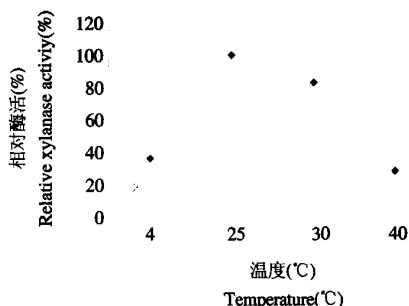


图7 浸提温度对酶活的影响

Fig.7 The influence by the temperature during extraction on the xylanase activity

费,促进农业的可持续发展。本试验在利用玉米芯生产平菇的同时制取低聚木糖或木聚糖酶,虽然在产率上并不算高,但其综合成本相对较低。因此,这一生产方式的实施有可能解决常规低聚木糖、木聚糖酶生产发展中成本过高的瓶颈问题^[5]。

参考文献:

- [1] 石波,李里特.玉米芯酶法制取低聚木糖的研究[J].中国农业大学学报,2001,6(2): 92-95.
- [2] 蔡静平,黄淑霞,曾实.真菌分解玉米芯生产低聚木糖的研究[J].微生物学通报,1997,24(2): 91-94.
- [3] 关宏,翟丽萍,等.低聚木糖生产用木聚糖酶的制备和测定[J].齐齐哈尔大学学报,2001,17(2): 9-11.
- [4] 李莲,罗长才.饲用酶制剂中木聚糖酶学性质的研究[J].动物医学与动物科学,2002,19(11).
- [5] M J Vazquez, J L Alonso, H Dominguez, et al. Xylooligosaccharide: manufacture and applications[J]. Trends in Food Science and Technology, 2000, (11): 387-39.

信息

日本密切关注进口中国大葱的状况

据日本《产经新闻》报道,日本农林水产部表示,日本有关方面目前正密切关注进口价格低廉的中国大葱是否会冲击日本菜市、并对日本农民利益造成影响的问题,日本政府目前还不准备在短期内对中国大葱采取进口限制的措施。2004年,日本多次遭到大台风的袭击,许多农田受损。日本菜市场上曾一度出现供不应求的状况,蔬菜价格大涨。当时,日本曾大量进口中国大葱,当作是“救急”,以弥补日本蔬菜的空档。然而现在,日本政府接到日本相关农业组织的投诉,称日本若继续以同样进度进口中国大葱,将会破坏日本市场上的大葱价格,打击日本农民利益。鉴于此,日本有关方面正密切关注进口的中国大葱价格。有评论指出,其实,日本国内过高的流通费也是致使日本蔬菜无法和中国蔬菜竞争的原因。因此,日本政府在考虑是否采取进口限制措施以前,有必要对其国内蔬菜市场本身存在的问题进行研究。