

# 稀土元素镨、钕、铒对红菇多糖 深层发酵的影响

李增利

(江苏科技大学南徐学院食品与环境系, 江苏 镇江 212004)

**摘 要:** 研究了稀土元素镨、钕、铒对红菇深层发酵中红菇菌丝生物量、胞外多糖(EPS)、胞内多糖(IPS)、总多糖(TPS)、最终 pH 和多糖产率的影响。研究结果显示: 稀土元素显著影响着菌丝生物量、EPS、IPS、TPS、最终 pH 和多糖产率; 其影响水平受限于稀土元素的种类和稀土元素含量, 适当剂量的稀土元素镨、钕具有促进红菇菌丝体生长作用和代谢产物的积累, 而过高浓度的稀土元素则会造成对细胞生长和多糖产物抑制作用。在添加适宜的剂量稀土元素镨时能够获得较高的生物量、胞外多糖产量、胞内多糖产量、总多糖和胞外多糖产率, 其分别达到  $24.63 \pm 0.62\text{g/L}$ 、 $1.730 \pm 0.065\text{g/L}$ 、 $79.03 \pm 0.00\text{mg/g}$ 、 $3.511 \pm 0.028\text{g/L}$ 、 $7.60\% \pm 0.15\%$ 。

**关键词:** 红菇; 深层发酵; 多糖; 稀土元素; 镨; 钕; 铒

Effects of Rare Earth Elements of Praseodymium, Neodymium and Erbium on Production of Polysaccharide by Submerged Fermentation of *Russula* sp.

LIZeng-li

(Department of Food and Environment, Nanxu College, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212004, China)

**Abstract:** Rare earth elements(REE) of praseodymium, neodymium and erbium were added into the media to investigate their

收稿日期: 2007-08-12

作者简介: 李增利(1966-), 男, 副教授, 主要从事食品加工方面的研究。

其他有机酸副产物的原因, 可能经过诱变糖代谢的路径发生变化, 其具体原因还需进一步研究。

对琥珀酸产生菌进行紫外亚硝基胍复合诱变与激光照射诱变后, 筛选到的菌株 SH-24 发酵液中琥珀酸浓度达到  $21.25\text{g/L}$ , 较诱变前提高了 343 倍。证明作为传统诱变方法, 复合诱变较之激光照射诱变能够大幅度提高琥珀酸产率, 仍然是微生物诱变育种的重要方法, 激光照射作为一种新型诱变剂, 其诱变机理尚未研究清楚, 但是操作简单, 与传统诱变方法相结合, 是提高诱变效果的好方法。

## 3 结 论

3.1 菌株 S-1 经紫外亚硝基胍复合诱变后, 筛选到一支菌株 S-57, 相同条件下摇瓶发酵液中琥珀酸浓度为  $16.63\text{g/L}$ 。

3.2 菌株 S-57 经过 He-Ne 激光诱变后筛选到菌株 SH-

24, 相同条件下摇瓶发酵液中琥珀酸浓度为  $21.25\text{g/L}$ , 产量较未诱变前提高 343 倍。

## 参考文献:

- [1] 王庆昭, 吴魏, 赵学明. 生物转化法制取琥珀酸及其衍生物的前景分析[J]. 化工进展, 2004, 23(7): 794-799.
- [2] 李春丽, 陈新志, 赵新丽. 丁二酸的制备及用途[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 1999, 17(6): 21-25.
- [3] 詹晓北, 朱一晖, Wang Dong-hai. 琥珀酸发酵生产工艺及其产品市场[J]. 食品科技, 2003(2): 44-49.
- [4] 栾雨时, 包永明. 生物工程实验技术手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 131.
- [5] 王水顺, 林进哲, 张金玮, 等. 复合酶高产菌株选育的研究[J]. 药物生物技术, 2001, 8(6): 317-321.
- [6] 戴得慧, 郭爱莲, 蒋家新. He-Ne激光对红曲霉 $M_{20}$ 的原生质体诱变育种[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 75-78.
- [7] AGARWAL L, ISAR J, SAXENA R K. Rapid screening procedures for identification of succinic acid producers[J]. Biochem Biophys Methods, 2005, 63: 24-32.

effects on the mycelial growth and polysaccharide formation by *Russula* sp. The experiments were carried out in freely suspended cultures using shake flasks. The results indicate that the extent of stimulation or inhibition were associated with the types and levels of rare earth elements. REE at a lower level of concentration led to a significant increase in cell concentration, production of extra cellular polysaccharide (EPS) and intracellular polysaccharide (IPS) in a submerged cultivation. In contrast, REE at a higher level of concentration led to a drastically suppressed both mycelial growth and polysaccharide formation. Rare earth elements of praseodymium, neodymium were beneficial to the promotion of the cell growth and product biosynthesis. The optimal production of biomass, EPS, IPS, TPS and yield of polysaccharides was  $24.63 \pm 0.62$  g/L,  $1.730 \pm 0.065$  g/L,  $79.03 \pm 0.00$  mg/g,  $3.511 \pm 0.028$  g/L,  $7.60\% \pm 0.15\%$ , respectively.

**Key words:** *Russula* sp.; submerged fermentation; polysaccharide; rare earth elements; praseodymium; neodymium; erbium

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)12-0312-05

高等真菌含有各种有价值的天然生物活性物质,红菇(*Russula*)是一类大型菌根真菌,其中多数具有药食功能,长期以来被作为一种名贵的药食兼用真菌而受到人们重视。红菇中含有降胆固醇、治疗失血性贫血、提高机体免疫力、抗癌、抗炎、促进血小板凝聚、增强血管收缩等功效的红菇多糖、脑苷脂类物质(cerebrosides)、麦角甾醇(ergosterol)和挥发油等脂类、酸类、萜类和杂环衍生物等一类功能成分<sup>[1-4]</sup>。目前尚不能人工栽培出菇<sup>[5]</sup>,利用深层发酵法生产红菇菌丝体替代红菇子实体满足市场对红菇的需求已为研究者瞩目。

有关稀土(RE)生物化学、毒理学、药理学、人体组织学、临床医学以及稀土环境科学方面的研究正在广泛地开展中,并且取得了不少研究成果,在中国已经使用稀土元素(REE, rare earth elements)作为微量元素肥料用于农作物,并在研究其对作物产量和质量的影响。有关稀土元素对于促进食用真菌细胞代谢和菌丝生长,增加食用菌产量的研究虽有报道<sup>[6-10]</sup>,但稀土元素对红菇发酵的研究尚未见报道。本实验旨在研究稀土元素镨、钕、钇对红菇深层发酵中红菇菌丝生物量,胞外多糖(EPS)、胞内多糖(IPS)和多糖产率等的影响,为提高红菇发酵水平和增加稀土元素应用价值进行了一些探索。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

红菇(*Russula* sp.),菌株来源于江苏科技大学食品与环境实验中心保藏菌种。

菌株以MED150培养基于培养皿中进行活化,经过4d,28℃培养后,置于4℃下保存,此即为固体种子培养基之菌源,用于接种于固体种子培养基<sup>[11]</sup>。

### 1.2 试剂及培养基

#### 1.2.1 试剂

氧化镨、氧化钕、氧化钇、硝酸镧、氧化钕、

硝酸铈、盐酸、三氯甲烷、正丁醇、葡萄糖、酵母粉、磷酸二氢钾、硫酸镁、氯化钠、硫酸、苯酚、麦芽浸粉、蛋白胨、氯化钙、磷酸氢二铵、三氯化铁、V B<sub>1</sub>、琼脂等。

#### 1.2.2 培养基

母种斜面培养基和固体种子培养基配制见文献[12];发酵液基础培养基配制见文献[13]。

### 1.3 仪器

DS-I发酵自动控制系统,HYG-II回转式恒温调速摇瓶柜,SB-JS-2水平洁净工作台,HPS-280生化培养箱,TDL-5台式低速大容量离心机,YXQ-LS-SOSI立式压力蒸汽灭菌器,UV751GD紫外/可见分光光度计,TGL-16B离心机;旋转蒸发器、透析袋(MWC0:14kDa),游标卡尺、透析袋夹(35mm),无菌培养容器封口膜(11×11cm),微孔滤膜(0.8μm)等。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 发酵种子菌碟的制作

用自制专用打孔器,从红菇菌源培养基皿中,钻取直径大小为4.40mm的红菇菌丝块接入装有固体种子培养基(PDA)培养皿正中央,待菌丝长满皿后(28℃,10d),沿着培养皿等半径的部位,通过使用一个自制的菌块切割圈,获得相应的直径为8.00mm的菌丝碟,供作为摇瓶培养之菌种。

#### 1.4.2 稀土培养基制备及发酵

根据对红菇培养基的研究,采用1.2.2所述的发酵培养基为基料,各组摇瓶中分别按比例定量加入预配制好的稀土元素(REE)镨、钕、钇的使用液(REE含量为1.0mg/ml),以1mol/L的NaOH调节pH值至6.30(灭菌后pH6.00)<sup>[13]</sup>,定容至100ml,分别制得含镨、钕、钇量为:0、10、20、50、100、200、300、500mg/L的三组发酵培养基,分别灭菌,备用。含镨、钕、钇的三组发酵培养基分别进行分批发酵:取等量的菌丝块接入装有培养基的各个摇瓶中,置于摇床中发酵,发

醇温度调至 28℃；转速为 160r/min；发酵进行到 140h 时立即中止发酵<sup>[13]</sup>，及时测定发酵液 pH 及菌丝生物量，并立即进行样品液处理以测定发酵残糖、红菇胞内外多糖等。

1.4.3 菌丝体生物量测定法

发酵液于 3000r/min 的条件下高速离心 5min，取出发酵上清液，贮存于-20℃，然后进行发酵液多糖及残糖分析等<sup>[14]</sup>；取下层沉淀物，加入 60% 的蔗糖溶液，进行高速密度梯度离心 5min，通过使用预恒量的滤膜进行真空抽滤收集菌丝，洗净蔗糖后，将菌丝烘干至恒量，测定菌丝质量(DM)<sup>[11-12, 15-16]</sup>。

1.4.4 发酵液及菌丝体多糖提取及测定

发酵滤液(或菌丝体多糖提取液)以 Sevag 试剂萃取三次，直至除去蛋白质，取 2ml 脱蛋白液装入透析袋内，先用流动自来水透析 48h，再用蒸馏水透析 48h。取出透析液定容至 10ml。用苯酚-硫酸法分别测定出红菇发酵液及红菇菌丝体多糖的含量<sup>[12]</sup>。

2 结果与分析

采用 SAS 统计分析软件对添加稀土元素后红菇发酵实验所获得的 EPS、IPS、RS、TPS、Yield 等实验数据结果进行方差分析、均值估计和比较，并进行相关性分析，结果见表 1~3。

2.1 稀土元素镨对红菇液体发酵的影响

由表 1 可知：稀土元素镨对红菇的液体发酵有显著的影响( $p \leq 0.01$ )。适当浓度的稀土元素镨能够刺激红菇的菌丝的生长、提高菌丝生物量，当稀土元素镨的添加量为 300mg/L 时，菌丝生物量提高得较多达到  $24.63 \pm 0.62$ g/L；镨对红菇胞外多糖的代谢亦有显著影响，低浓度时有一定的促进作用，当元素镨为 100mg/L 时，EPS 达到  $1.730 \pm 0.065$ g/L，稍高时则胞外多糖则会下降；REE 镨对红菇胞内多糖的代谢影响亦显著，在镨为 50mg/L 时，出现 IPS 最高值为  $79.03 \pm 0.00$ mg/g；实验结果显示，胞内多糖对镨浓度较为敏感，影响效果随浓度变化差异较大；最高的总多糖以及胞外多糖产率均在加入稀土元素镨浓度为 100mg/L 时出现，分别为  $3.511 \pm 0.028$ mg/L、 $7.261\% \pm 0.064\%$ 。较高浓度(500mg/L)的稀土元素镨会抑制液体发酵，从碳源的转化和利用(残糖率)、总多糖(TPS)等都可以明显地反映出，且过高浓度 REE 会导致发酵液形成一个较低的最终 pH。

2.2 稀土元素钕对红菇液体发酵的影响

由表 2 可知：稀土元素钕对红菇的液体发酵有显著影响。适当浓度的稀土元素钕能够显著( $p < 0.025$ )刺激红菇的菌丝的生长、提高菌丝生物量，稀土元素钕为 300mg/L 时，菌丝生物量提高达到  $23.98 \pm 0.55$ g/L；钕对红菇胞外多糖的代谢亦有显著影响( $p < 0.05$ )，低浓度时有一定的促进作用，钕元素含量为 20mg/L 时，EPS 达到  $1.684 \pm 0.089$ g/L，REE 稍高时则胞外多糖则会显著下降；稀土元素钕对红菇胞内多糖的代谢影响亦显著( $p$

表 1 稀土元素镨对红菇液体发酵中菌丝体生物量、多糖的影响

Table 1 Effects of praseodymium on biomass, polysaccharides and yield of polysaccharides in submerged cultures

REE (mg/L)	生物量(g/L)	EPS (g/L)	IPS (mg/g)	TPS (g/L)	残糖(%)	最终 pH	产率(%)
0	$20.46 \pm 0.40^d$	$1.482 \pm 0.077^{bc}$	$64.52 \pm 1.19^{bc}$	$2.802 \pm 0.128^{cd}$	$17.96 \pm 0.15^a$	$4.82 \pm 0.11^a$	$7.243 \pm 0.235^a$
10	$22.32 \pm 0.30^{bcd}$	$1.561 \pm 0.096^{ab}$	$71.67 \pm 4.46^{ab}$	$3.161 \pm 0.218^{abc}$	$10.97 \pm 0.96^{bcd}$	$4.77 \pm 0.07^{ab}$	$6.993 \pm 0.338^{ab}$
20	$21.45 \pm 0.61^{cd}$	$1.556 \pm 0.077^{ab}$	$44.23 \pm 4.31^e$	$2.506 \pm 0.197^d$	$17.65 \pm 0.45^a$	$4.79 \pm 0.10^{ab}$	$7.251 \pm 0.155^a$
50	$22.61 \pm 0.74^{abc}$	$1.459 \pm 0.033^{bc}$	$79.03 \pm 0.00^a$	$3.245 \pm 0.091^{ab}$	$13.55 \pm 1.19^b$	$4.84 \pm 0.10^a$	$6.455 \pm 0.067^{ab}$
100	$23.84 \pm 1.11^{ab}$	$1.730 \pm 0.065^a$	$74.83 \pm 5.06^{ab}$	$3.511 \pm 0.028^a$	$9.97 \pm 1.19^{cd}$	$4.66 \pm 0.01^{abc}$	$7.261 \pm 0.064^a$
200	$23.05 \pm 0.09^{abc}$	$1.445 \pm 0.010^{bc}$	$59.27 \pm 2.68^{cd}$	$2.811 \pm 0.046^{cd}$	$12.44 \pm 1.12^{bc}$	$4.58 \pm 0.00^{bc}$	$6.272 \pm 0.020^b$
300	$24.63 \pm 0.62^a$	$1.321 \pm 0.058^c$	$67.68 \pm 2.97^{bc}$	$2.987 \pm 0.089^{bc}$	$8.66 \pm 0.97^d$	$4.49 \pm 0.02^{cd}$	$5.369 \pm 0.371^c$
500	$21.96 \pm 0.37^{bcd}$	$1.386 \pm 0.061^{bc}$	$51.49 \pm 2.97^{de}$	$2.517 \pm 0.107^d$	$18.49 \pm 0.74^a$	$4.31 \pm 0.02^d$	$6.317 \pm 0.383^b$

注：同一列中不同角标字母表示差异显著( $p < 0.01$ )。

表 2 稀土元素钕对红菇液体发酵中菌丝体生物量、多糖的影响

Table 2 Effects of neodymium on biomass, polysaccharides and yield of polysaccharides in submerged cultures

REE (mg/L)	生物量(g/L)	EPS (g/L)	IPS (mg/g)	TPS (g/L)	残糖(%)	最终 pH	产率(%)
0	$21.11 \pm 0.06^c$	$1.516 \pm 0.119^{AB}$	$61.68 \pm 8.18^{BC}$	$2.817 \pm 0.288^B$	$7.13 \pm 0.30^c$	$4.78 \pm 0.01^{bc}$	$7.183 \pm 0.585^{ab}$
10	$21.17 \pm 0.71^c$	$1.453 \pm 0.030^{BC}$	$74.62 \pm 5.65^A$	$3.030 \pm 0.037^{AB}$	$8.60 \pm 0.59^b$	$4.87 \pm 0.11^{bc}$	$6.863 \pm 0.089^{ab}$
20	$22.16 \pm 0.73^{bc}$	$1.684 \pm 0.089^A$	$69.99 \pm 5.35^{AB}$	$3.233 \pm 0.022^A$	$6.45 \pm 0.52^{cd}$	$5.16 \pm 0.21^{ab}$	$7.599 \pm 0.153^a$
50	$23.00 \pm 0.49^{ab}$	$1.274 \pm 0.074^C$	$69.04 \pm 0.74^{AB}$	$2.862 \pm 0.091^{AB}$	$5.87 \pm 0.45^{cde}$	$5.39 \pm 0.22^a$	$5.536 \pm 0.206^c$
100	$22.71 \pm 0.05^b$	$1.442 \pm 0.104^{BC}$	$39.08 \pm 1.49^E$	$2.329 \pm 0.072^{CD}$	$5.08 \pm 0.37^e$	$4.89 \pm 0.29^{abc}$	$6.351 \pm 0.444^{bc}$
200	$23.33 \pm 0.13^{ab}$	$1.327 \pm 0.119^{BC}$	$42.55 \pm 5.50^E$	$2.319 \pm 0.253^{CD}$	$6.08 \pm 0.59^{cde}$	$4.96 \pm 0.20^{ab}$	$5.686 \pm 0.477^c$
300	$23.98 \pm 0.55^a$	$1.306 \pm 0.119^{BC}$	$57.48 \pm 2.23^{CD}$	$2.683 \pm 0.141^{BC}$	$5.77 \pm 0.60^{de}$	$5.05 \pm 0.21^{ab}$	$5.451 \pm 0.621^c$
500	$22.20 \pm 0.13^{bc}$	$0.927 \pm 0.089^D$	$48.02 \pm 5.20^{DE}$	$1.992 \pm 0.198^D$	$10.29 \pm 0.15^a$	$4.38 \pm 0.03^c$	$4.178 \pm 0.427^d$

注：同一列中不同角标字母表示差异显著，字母大写表示  $p < 0.05$ ，字母小写表示  $p < 0.025$ 。

表3 稀土元素铒对红菇液体发酵中菌丝体生物量、多糖的影响

Table 3 Effects of erbium on biomass, polysaccharides and yield of polysaccharides in submerged cultures

REE (mg/L)	生物量(g/L)	EPS (g/L)	IPS (mg/g)	TPS (g/L)	残糖(%)	最终 pH	产率(%)
0	22.38 ± 0.01 <sup>BC</sup>	1.566 ± 0.077 <sup>A</sup>	64.52 ± 5.95 <sup>A</sup>	3.010 ± 0.055 <sup>a</sup>	5.77 ± 0.15 <sup>c</sup>	5.25 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.998 ± 0.341 <sup>a</sup>
10	21.51 ± 0.51 <sup>C</sup>	1.409 ± 0.062 <sup>BC</sup>	64.31 ± 3.87 <sup>A</sup>	2.793 ± 0.053 <sup>a</sup>	7.08 ± 0.37 <sup>b</sup>	4.98 ± 0.36 <sup>ab</sup>	6.554 ± 0.445 <sup>ab</sup>
20	22.52 ± 0.22 <sup>BC</sup>	1.316 ± 0.074 <sup>C</sup>	54.11 ± 4.01 <sup>BC</sup>	2.534 ± 0.153 <sup>b</sup>	3.61 ± 0.37 <sup>d</sup>	5.31 ± 0.06 <sup>a</sup>	5.847 ± 0.387 <sup>b</sup>
50	22.73 ± 0.20 <sup>AB</sup>	1.463 ± 0.074 <sup>AB</sup>	62.95 ± 1.93 <sup>AB</sup>	2.894 ± 0.018 <sup>a</sup>	4.08 ± 0.15 <sup>d</sup>	5.32 ± 0.05 <sup>a</sup>	6.439 ± 0.383 <sup>ab</sup>
100	22.72 ± 0.53 <sup>AB</sup>	1.568 ± 0.015 <sup>A</sup>	40.87 ± 4.31 <sup>D</sup>	2.496 ± 0.091 <sup>b</sup>	3.61 ± 0.37 <sup>d</sup>	5.27 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.907 ± 0.226 <sup>a</sup>
200	23.01 ± 0.78 <sup>AB</sup>	1.411 ± 0.059 <sup>BC</sup>	48.12 ± 3.57 <sup>CD</sup>	2.517 ± 0.104 <sup>b</sup>	3.93 ± 0.07 <sup>d</sup>	4.67 ± 0.20 <sup>bc</sup>	6.139 ± 0.466 <sup>ab</sup>
300	23.59 ± 0.35 <sup>A</sup>	1.374 ± 0.022 <sup>BC</sup>	45.81 ± 4.76 <sup>CD</sup>	2.454 ± 0.118 <sup>b</sup>	3.72 ± 0.37 <sup>d</sup>	4.55 ± 0.06 <sup>bc</sup>	5.825 ± 0.182 <sup>b</sup>
500	21.65 ± 0.49 <sup>C</sup>	0.969 ± 0.059 <sup>D</sup>	40.97 ± 1.49 <sup>D</sup>	1.856 ± 0.048 <sup>c</sup>	8.66 ± 0.67 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.06 <sup>c</sup>	4.474 ± 0.172 <sup>c</sup>

注：同一列中不同角标字母表示差异显著，字母大写表示  $p < 0.05$ ，字母小写表示  $p < 0.025$ 。

$< 0.05$ )，IPS 最高值在稀土元素铒为 10mg/L 时出现，为  $74.62 \pm 5.65\text{mg/g}$ 。实验结果显示：与稀土元素镨相类似，胞内多糖对铒浓度较为敏感，影响效果随浓度变化差异较大；最佳的总多糖以及胞外多糖产率均在 REE (铒)浓度为 20mg/L 时出现，分别为  $3.233 \pm 0.022\text{mg/L}$ 、 $7.599\% \pm 0.153\%$ 。较高浓度(500mg/L)的稀土元素铒会抑制红菇液体发酵，从胞外多糖的产量、碳源的转化和利用率、总多糖(TPS)、最终 pH、产率等均处于一个显著( $p < 0.025$ )的最低值可以明显地得到反映。

### 2.3 稀土元素铒对红菇液体发酵的影响

由表 3 可知：稀土元素铒对红菇的液体发酵有显著影响。REE 铒对红菇菌丝生物量有显著的影响( $p < 0.05$ )，适当浓度的稀土元素铒能够刺激红菇的菌丝的生长、提高菌丝生物量，稀土元素铒含量为 300mg/L 时，菌丝生物量提高达到  $23.59 \pm 0.35\text{g/L}$ ；REE 铒对红菇胞外多糖的代谢亦有显著的影响( $p < 0.05$ )，但这种影响仅仅表现在对红菇胞外多糖的抑制作用；REE 铒对红菇胞内多糖(IPS)的代谢亦有显著影响( $p < 0.05$ )，与铒对 EPS 的影响类似，REE 铒对 IPS、TPS 也仅表现为抑制作用；当 REE 铒浓度为 100mg/L 时胞内多糖(IPS)、胞外多糖(EPS)表现为与未添加 REE 的样本没有差异。与稀土元素镨、铈相类似，较高浓度(500mg/L)的铒会抑制液体发酵，从胞外多糖的产量、碳源的转化和利用率、总多糖(TPS)、Final pH、Yield 等均处于一个显著( $p < 0.025$ )的最低水平值可以明显地反映，总体看稀土元素铒对红菇的液体发酵的促进作用远不及其抑制作用。

综上所述，稀土元素低剂量时具有促进生物机体生长作用，菌丝体生物量受稀土元素的影响相对于胞外多糖的形成和胞内多糖的形成较不敏感，代谢产物在相对较低较窄的浓度范围内，会因浓度不同出现较大的差异，而在高浓度时则会造成对生物机体的伤害。稀土元素的作用和激素有相似之处，稀土元素具有类似钙的原子结构特征和相应的理化特性，稀土元素可激活许多酶系统，充当金属活化剂作用，它不但占据钙的位置与生物大分子结合，而且还可以取代包括已结合的 Ca，

作用机制可能与钙调酶(calcium-coordinating enzymes)有关<sup>[9,17-18]</sup>。稀土元素铒与镨、铈对红菇发酵的影响的差异可能与其在镧系元素中的位置有关。此外还发现高浓度的稀土元素离子对红菇菌丝的抑制或毒害作用在固体培养时较在液体培养时更为明显(通过测定菌落直径，数据未列出)，在培养后期对菌丝体抑杀作用较为突出，这可能与不同培养形态下菌丝体自我保护系统菌丝体细胞膜上选择性吸收过量的非必需金属元素的离子通道自由排出离子作用效果和毒害作用累积有关。

### 3 结 论

研究认为稀土元素对红菇菌丝体发酵及其代谢产物具有显著的影响，其影响程度受制于稀土元素的种类，稀土元素镨、铈、铒对红菇菌丝生长及其产物代谢的影响力顺序位：镨>铈>铒。稀土元素对红菇菌丝体发酵的影响效果显著受培养液中稀土元素含量制约，适当剂量时具有促进生物机体生长和代谢产物的积累作用，而高浓度时会造成对细胞生长和多糖产物抑制作用。在稀土元素镨适宜的剂量下能够获得较高的红菇菌丝生物量、胞外多糖产量、胞内多糖产量和总多糖和胞外多糖产率，分别达到  $24.63\text{g/L}$ 、 $1.730\text{g/L}$ 、 $79.03\text{mg/g}$ 、 $3.511\text{g/L}$ 、 $7.60\% \pm 0.15\%$ 。稀土元素在一定剂量范围内的浓度-效应关系(concentration-effect relationship)和稀土元素对生物机体的剂量效应机理有待于进一步研究和揭示。

### 参考文献：

- [1] VIDARI G, CHE Z, GARLASCHELLI L. New nardosinane and aristolane sesquiterpenes from the fruiting bodies of *Russula lepida*[J]. Tetrahedron Letters, 1998, 39: 6073-6076.
- [2] FRIÖDE R, BRIÛCKEIMANN M, STEFFAN B, et al. A novel type of triterpenoid quinone methide pigment from the toadstool *Russula flavidula* (Agaricales) [J]. Tetrahedron, 1995, 51(9): 2553-2560.
- [3] CLERICUZIO M, PAN F, HAN F, et al. Structure and absolute configuration of protoilludanesesquiterpenes from *Russula delica*[J]. Tetrahedron, 1997, 53(28): 9735-9740.
- [4] OHTA T, TAKAHASHI A, MATSUDA M, et al. A novel optically

# 牛乳温度 - 时间 - 容许期(TTT)曲线的实验确定

谷雪莲<sup>1</sup>, 刘彦臣<sup>2</sup>, 刘宝林<sup>1</sup>, 华泽钊<sup>1</sup>, 王 欣<sup>1</sup>

(1. 上海理工大学食品与生物技术研究所, 上海 200093 2. 东北电力大学自动化学院, 吉林 吉林 132012)

**摘 要:** 为了获得精确的杯装牛乳的时间 - 温度 - 容许期(TTT)曲线, 本实验研究了牛乳在 4、10、15、20、25℃恒温过程中品质变化, 并选择了新鲜度和菌落总数两个参数作判断依据, 结合标准的要求、实验数据和线性插值的方法确定了杯装牛乳的 TTT 曲线。同时用 Gompertz 方程描述细菌生长情况。研究结果表明, Gompertz 方程对菌落总数的拟合效果较好。在 4、10、15、20、25℃下, 菌落总数超过 30000 个/ml 的大约时间分别为 5、4.5、4、3、1d, 新鲜度分别在 5、4.5、4.5、3、1d 内超过 20℃T。TTT 曲线符合电子式时间温度指示器的运行要求。

**关键词:** TTT 曲线; 时间 - 温度指示器; 货架期; 牛乳

## Experimental Definition on TTT of Cap-packaged Dmilk

GU Xue-lian<sup>1</sup>, LIU Yan-chen<sup>2</sup>, LIU Bao-lin<sup>1</sup>, HUA Ze-zhao<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>1</sup>

(1. Institute of Food and Biological Technology, Shanghai University of Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. School of Automation Engineering, Northeast Dianli University, Jilin 132012, China)

**Abstract:** This work mainly aimed at obtaining the curve of TTT. The change of milk quality was investigated at isothermal conditions. The curve of TTT was obtained by biochemical analysis and linear interpolation. The bacteria growth of milk was described by Gompertz equation. The results showed that the TBC was fitted better by Gompertz equation. When milk was stored

收稿日期: 2007-08-25

作者简介: 谷雪莲(1972-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品质量安全。

- active chlorohydroquinone tetramer from the mushroom *Russula subnigricans*[J]. Tetrahedron Letters, 1995, 36(29): 5223-5226.
- [5] 黄福常, 莫天硯, 刘斌. 环境因素对正红菇纯培养的影响及红菇菌剂制备研究[J]. 广西农业大学学报, 1998, 17(1): 40-45.
- [6] 陈立红, 闫伟. 稀土对蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum*)及四种菌根真菌菌丝体生长的影响[J]. 内蒙古大学学报: 自然科学版, 2002(3): 295-297.
- [7] 李淑芬, 李希博, 李颖, 等. 中国内蒙稀土作用于食用菌的研究[J]. 中国食用菌, 2002(4): 16-17.
- [8] STIJVE T, ANDREY D, LUCCHINI G, et al. Lanthanides and other less common metals in mushrooms[J]. Deutsche Lebensmittel Rundschau, 2002, 98(3): 82-87.
- [9] WANG D, WANG C, YE S, et al. Effects of spraying rare earths on contents of rare earth elements and effective components in tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23): 6731-6735.
- [10] 余冬芳, 樊卫国, 徐彦军. 稀土微肥对大球盖菇原种菌丝体生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(8): 2327-2327, 2329.
- [11] FANG Q H, ZHONG J J. Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites-ganoderic acid and polysaccharide[J]. Biochemical Engineering Journal, 2002(10): 61-65.
- [12] 李增利. 深层发酵生产红菇菌丝体和多糖的培养基优化研究[J]. 食品科学, 2006(10): 350-354.
- [13] 李增利. pH值及培养时间对红菇多糖深层发酵的影响[J]. 食品科技, 2006(12): 21-25.
- [14] TANG Y J, ZHONG J J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31: 20-28.
- [15] BEROVIC M, HABIJANIC J, ŽORE I, et al. Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 103: 77-86.
- [16] CABO M L, MURADO M A, GONZALEZ M P, et al. Effects of aeration and pH gradient on nisin production. A mathematical model[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 29: 264-273.
- [17] 邱关明, 李幼荣, 陈石燕, 等. 稀土对生物机体剂量效应机理的研究进展[J]. 稀土, 2003, 24(1): 49-56.
- [18] ARUGUETE D M, ALDSTADT J H, MUELLER G M. Accumulation of several heavy metals and lanthanides in mushrooms (*Agaricales*) from the Chicago region[J]. The Science of the Total Environment, 1998, 224: 43-56.