

杏鲍菇工厂化栽培条件的响应面优化研究

林 凯¹,李宗堂²,肖 奎²,李 可¹,向文良¹,张 庆^{1*}

(1. 西华大学生物工程学院,四川成都 610039;2. 四川榕珍菌业有限公司,四川成都 611733)

摘要 [目的]建立杏鲍菇工厂化栽培条件的理论预测模型,提高其生物学转化率。[方法]运用 Plackett-Burman 试验设计,对影响杏鲍菇生物转化率的主要影响因子进行筛选,通过 Box-Behnken 试验设计和响应面优化分析影响因素,得到最佳栽培条件。[结果]Plackett-Burman 试验表明,影响杏鲍菇生物转化率的主要因子为温度、湿度和含水量;Box-Behnken 试验得最佳栽培条件为:温度 15.13℃,湿度 91.02%,含水量 66.00%,优化栽培参数后,杏鲍菇的生物转化率达到 92.10%,比优化前提高了 6.40%。[结论]响应面分析法有效提高了杏鲍菇生物转化率,可为杏鲍菇的工厂化高效高产栽培提供参考。

关键词 杏鲍菇;栽培条件;生物转化率;响应面优化

中图分类号 S646.1⁺4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)10-04602-04

Study on Optimization of the Cultural Conditions Using Response Surface Analysis for Factory Cultivation of *Pleurotus eryngii*

LIN Kai et al (College of Biological Engineering, Xihua University, Chengdu, Sichuan 610039)

Abstract [Objective] To establish the theoretical prediction model of the cultural conditions for factory cultivation of *Pleurotus eryngii*, so as to improve its biotransformational rate. [Method] Plackett-Burman experiment design was used to screen out the key factors which may influence factors affecting the biotransformational rate of *Pleurotus eryngii*. The Box-Behnken experiment design and response surface analysis were used to determine the optimal cultural conditions. [Result] The results of Plackett-Burman experiment showed that the biotransformational rate of *Pleurotus eryngii* was mainly influenced by temperature, humidity and water content. The optimum cultural conditions that was obtained from Box-Behnken experiment were as follows: temperature of 15.13℃, humidity of 91.02% and water content of 66.00%. The biotransformational rate of *Pleurotus eryngii* was up to 92.10% which improved 6.40% than the experiment before optimization. [Conclusion] The response surface design effectively improved the biotransformational rate of *Pleurotus eryngii*, which could provide reference for factory cultivation *Pleurotus eryngii* with high-efficiency and high-yield.

Key words *Pleurotus eryngii*; Cultural conditions; Biotransformational rate; Response surface optimization

杏鲍菇[*Pleurotus eryngii*(DC. ex Fr.)Quel],是一种珍贵的药食皆宜的真菌^[1-2]。杏鲍菇肉质肥厚、质地脆嫩、口感极佳,是世界卫生组织(WTO)和联合国粮农组织(FAO)推荐食用的16种珍稀食用菌之一^[3-4]。同时,对其药用功效研究发现,杏鲍菇可显著提高人体免疫功能,并有抗癌、降血脂、润肠胃、美容的功效^[5]。近几年杏鲍菇人工栽培得到了飞速发展,我国从20世纪90年代后期开始引种栽培,目前已成为产量增长最快的国家之一^[6]。但我国的杏鲍菇品质并不高,出口菇所占比例较低^[7],经济效益不好,这主要是由于对杏鲍菇栽培条件的认识不够,不能进行适宜的调控。因此,优化栽培条件是提高杏鲍菇生物转化率的有效途径之一。

响应面分析法是一种优化试验条件和加工工艺参数的有效方法,广泛应用于生物工程、食品工业和化学化工等方面。该方法优化效率高,目标值的优化条件能用较少的试验数据被推算出来^[8]。因此,笔者利用响应面分析法,以杏鲍菇的生物转化率为考察指标,对影响杏鲍菇生物转化率的一些关键因素进行研究,获得高效高产杏鲍菇的工厂化栽培条件,为杏鲍菇的工业化生产运用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株。菌株杏鲍菇母种引自四川省成都市榕珍菌业

有限公司。

1.1.2 母种培养基。木屑30%,甘蔗渣10%,玉米芯20%,豆粕8%,麸皮10%,玉米粉10%,CaCO₃1%,石灰1%。

1.2 方法

1.2.1 菌袋制作。按试验配方准确称量培养原料,使含水量在64%~66%,装入17cm×35cm聚丙烯平底塑料袋,每袋装干料0.5kg,每个配方3次重复,每次重复10袋。装好料后打通气孔,套颈圈,加海绵体盖,于高压釜中,0.135MPa灭菌3h。灭菌后,无菌条件下将栽培袋一头接种,转入栽培房,控制温度在22℃,空气相对湿度在60%~65%,黑暗培养^[9]。

1.2.2 出菇管理。待菌丝长满袋后在发菌室存放10d进行后熟,然后移入出菇房,进行搔菌处理,以刺激料面菌丝的新陈代谢,促进子实体原基形成与分化。待原基形成后开袋,卷起袋口,在温度16℃、光照强度控制300lx、空气相对湿度85%、CO₂浓度1500~2000mg/L条件下进行管理出菇。当菌盖张开平展,边缘稍内卷,顶部颜色变浅,孢子尚未弹射时即可采收。

1.2.3 产量测定。按以下公式计算生物学转化率:

$$\text{生物学转化率} = \frac{\text{杏鲍菇重量(g)}}{\text{培养料干重(g)}} \times 100\%$$

1.2.4 环境因子优化试验设计。

1.2.4.1 Plackett-Burman 设计。采用 Plackett-Burman 设计法和 Design-Expert 7.0 数据处理软件创建试验次数 N=12 的试验,对影响生物转化率的温度(A)、湿度(B)、含水量(C)、pH(D)、CO₂(E)、光照(F)、CaCO₃(G)和石灰(H)8个

基金项目 成都市科技攻关计划(10GGZD21NC268)。

作者简介 林凯(1989-),男,四川资中人,硕士研究生,研究方向:食品生物技术。*通讯作者,博士,从事食品生物技术研究,E-mail:biozhangq@163.com。

收稿日期 2013-03-11

因素进行考察,另设 3 个虚拟列(J、K、L)以考察试验误差,每个因素选高(+1)低(-1)2 个水平(表 1),以生物转化率为响应值考察各因素对杏鲍菇产量影响的显著性。

表 1 Plackett-Burman 试验因素与水平								
水平	因素							
	温度(A) //℃	湿度(B) %	含水量(C) // %	pH (D)	CO ₂ (E) mg/L	光照(F) //lx	CaCO ₃ (G) // %	石灰(H) %
-1	10	75	60	6.0	1 000	100	0	0
1	16	95	68	7.0	6 000	500	1	1

1.2.4.2 最陡爬坡试验。最陡爬坡法以试验值变化的梯度方向为爬坡方向,根据各因素效应值的大小确定变化步长,建立有效的响应面拟合方程。

1.2.4.3 响应面分析。响应面分析法中的 Box-Behnken 试验设计是一种寻找多因素系统中最佳条件的数学统计方法。根据 Plackett-Burman 试验设计结果,确定 3 个主要影响因素,利用 Box-Behnken 中心组合设计出 15 个试验的响应面分析试验,做进一步的工厂化杏鲍菇栽培条件的选择优化。

2 结果与分析

2.1 Plackett-Burman 试验结果 Plackett-Burman 试验设计对温度(A)、湿度(B)、含水量(C)、pH(D)、CO₂(E)、光照(F)、CaCO₃(G)和石灰(H)等 8 个对杏鲍菇生长有影响的因素进行考察,试验设计编码表及杏鲍菇生物转化率结果见表 2。

表 2 Plackett-Burman 试验设计编码及结果									
试验号	因素								生物转化率//%
	A	B	C	D	E	F	G	H	
1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	53.9
2	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	53.3
3	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	60.2
4	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	52.9
5	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	65.5
6	1	1	-1	1	-1	1	1	1	64.6
7	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	67.9
8	-1	1	-1	-1	1	1	1	-1	59.9
9	1	-1	1	-1	1	1	1	1	62.6
10	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	62.3
11	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	65.7
12	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	63.1

以 Design-Expert 7.0 数据处理软件对试验结果做进一步分析,结果见表 3。由分析结果可知,温度和湿度 2 个因素对杏鲍菇的生物转化率影响极显著,*P* 值均小于 0.01;含水量对杏鲍菇的生物转化率影响显著,*P* 值大于 0.01 而小于 0.05;而其他 5 个因素的影响均不显著。因此,将温度、湿度及含水量这 3 个因素做进一步的响应面分析试验。

2.2 最陡爬坡试验结果 由 Plackett-Burman 试验结果可知,温度、湿度和含水量 3 个因素对杏鲍菇生物转化率影响显著(有显著正效应)。因此,以这 3 个因素为主设计最陡爬坡试验。由于其他因素在上述含量范围内对杏鲍菇生物转化率影响不显著,从节约能源考虑,光照强度和二氧化碳浓度分别选 100 lx 和 1 000~6 000 mg/L,CaCO₃ 和石灰的添加量均为 1%,pH 为 6~7。最陡爬坡试验结果见表 4。

表 3 试验因素水平及影响		
因素	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
温度(A)	41.37	0.005 8
湿度(B)	49.98	0.007 6
含水量(C)	1.17	0.045 3
pH(D)	10.98	0.358 9
CO ₂ (E)	7.849E-003	0.935 0
光照(F)	0.038	0.857 9
CaCO ₃ (G)	0.071	0.807 6
石灰(H)	2.16	0.237 7

注:*P*<0.05 为影响显著;*P*<0.01 为影响极显著。

表 4 最陡爬坡试验设计与结果				
试验号	因素			生物转化率 %
	温度//℃	湿度// %	含水量// %	
1	10	75	60	82.3
2	13	80	62	85.0
3	15	85	64	90.8
4	17	90	66	89.6
5	19	95	68	84.2

2.3 响应面分析结果

2.3.1 Box-Behnken 设计及结果。根据 Plackett-Burman 试验及最陡爬坡试验设计结果,采用 Box-Behnken 试验设计 3 因素 3 水平的响应面分析试验,共 12 个析因点和 5 个区域中心点(零点)。析因点是自变量取值在各因素所构成的三维顶点,区域中心点用以估计试验,各参数所代表的因素及水平如表 5 所示,Box-Behnken 试验设计及结果见表 6。

表 5 Box-Behnken 试验设计因素与水平			
水平	因素		
	温度(A) //℃	湿度(B) // %	含水量(C) // %
-1	13	85	62
0	15	90	64
1	17	95	66

表 6 Box-Behnken 试验设计与结果				
试验点	因素			生物转化率 %
	A	B	C	
1	1	1	0	87.3
2	0	0	0	91.5
3	0	0	0	91.5
4	-1	0	-1	89.1
5	0	0	0	91.5
6	-1	-1	0	87.1
7	-1	0	1	89.6
8	0	-1	-1	87.0
9	0	-1	1	87.8
10	0	0	0	91.5
11	-1	1	0	86.9
12	0	0	0	91.5
13	0	1	1	91.1
14	1	0	-1	88.4
15	1	0	1	90.1
16	0	1	-1	89.8
17	1	-1	0	86.2

2.3.2 二次回归拟合及方差分析。以杏鲍菇生物转化率为响应值,利用 Design-Expert 7.0 数据处理软件对 17 个试验点的

响应值进行分析,经二次多元回归拟合,确定生物转化率预测值对温度、湿度、含水量的二元多次回归方程,结果见表 7。

表 7 回归系数显著性分析

项	F 值	P 值
常量	13.21	0.001 3
A	0.13	0.732 7
B	12.64	0.009 3
C	4.77	0.065 3
AB	0.87	0.381 5
AC	0.74	0.417 3
BC	0.13	0.730 1
A ²	39.23	0.000 4
B ²	54.30	0.000 2
C ²	0.049	0.831 4

注:P<0.01 为极显著;P<0.05 为显著。

由回归系数的显著性分析结果可知,该模型的 F 值为 13.21,模型的 P 值为 0.001 3,说明该模型是显著的。回归方程中 A²、B² 和 B 影响极显著,其他项的系数均不显著,说

明试验因子 B 在所设范围内和二次项 A²、B² 对响应值都有很大关系,A、C 在设定的范围内对杏鲍菇生物转化率影响不显著。运用 Design-Expert 7.0 软件回归拟合试验数据,得到二次多项式回归方程为: $Y=91.50-0.087A+0.88B+0.54C+0.32AB+0.30AC+0.13BC-2.13A^2-2.50B^2-0.075C^2$ 。

回归方差显著性检验表明,该模型 R² 为 0.944 4,说明该模型与实际试验拟合度较好,失拟较小,不需要引入更高次数的项,该模型可以用于杏鲍菇栽培条件优化的理论预测。由响应面分析结果可知,最优的工厂化杏鲍菇栽培条件为温度 15.13 ℃,湿度 91.02%,含水量 66.00%,此条件下杏鲍菇最大生物转化率理论值为92.10%。

2.3.3 响应面曲面及等高线分析。为了使各因素及其交互作用能有效、直观地反映,利用 Expert-Design 7.0 分析软件处理,绘制响应面曲线及等高线,见图 1~3。响应面图形是响应值对试验因子所构成的三维曲线图形,可以形象地看出各参数间的交互作用。

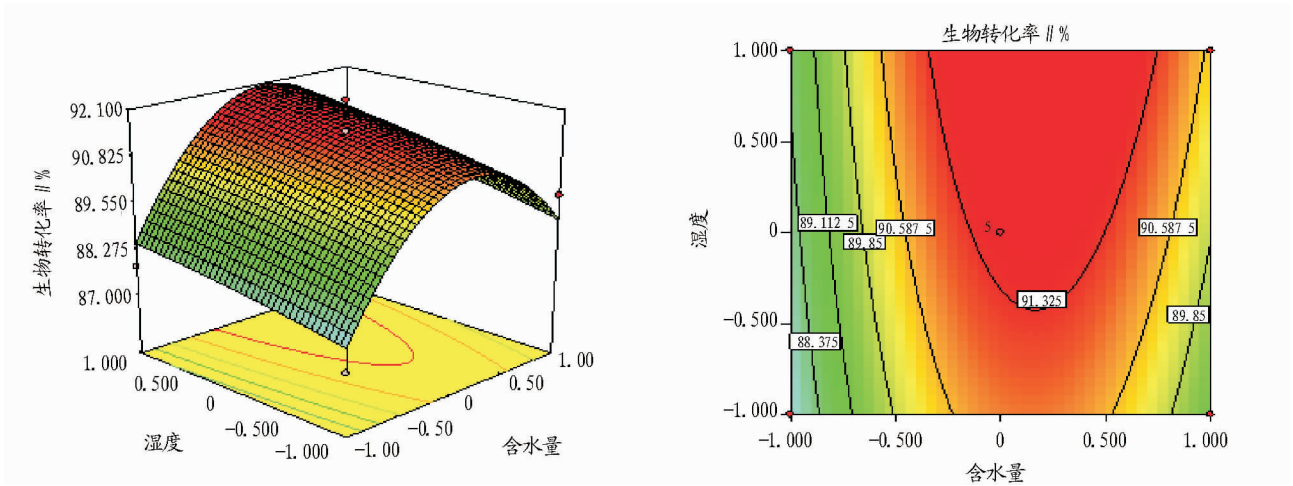


图 1 湿度(B)和含水量(C)对杏鲍菇生物转化率影响的曲面和等高线

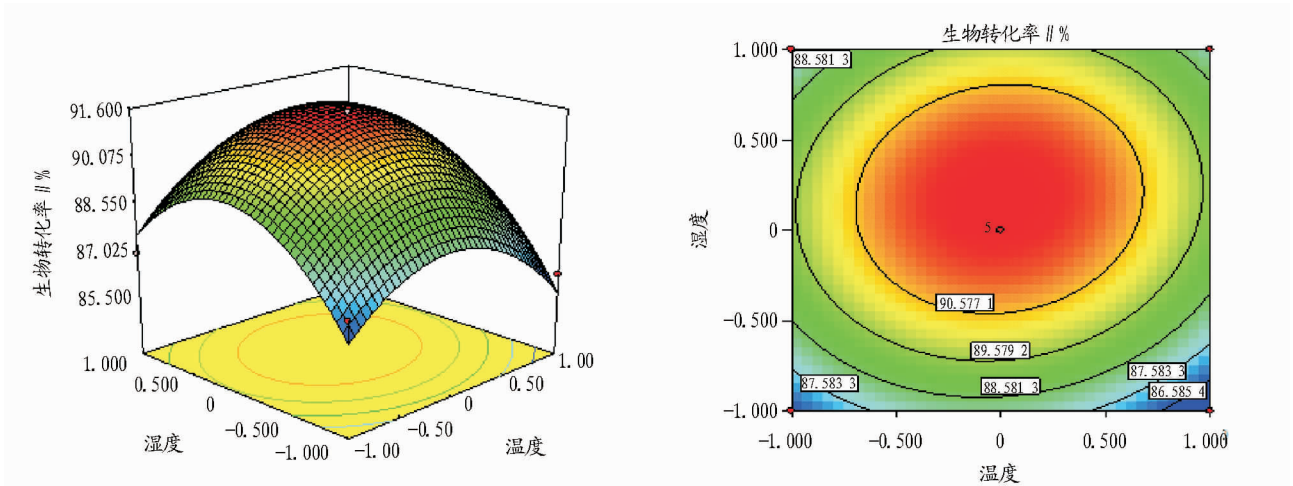


图 2 温度(A)和湿度(B)对杏鲍菇生物转化率影响的曲面和等高线

图 1 表明,当温度位于中心水平时,湿度和含水量对杏鲍菇生物转化率的交互作用较显著,因为等高线的性状反应了交互作用的显著性,等高线接近圆形则交互作用较显著。

由曲面图及等高线图可以直观看出湿度和含水量的交互作用较显著。图 2 是含水量位于中心水平时,湿度和温度对杏鲍菇生物转化率影响的曲面图及等高线图。可以看出等高

线图呈圆形,交互作用不显著。图 3 是当温度位于中心水平时的交互作用较显著,含水量和湿度对杏鲍菇生物转化率影

响的曲面图及等高线图。可以看出等高线成椭圆形,交互作用较显著。

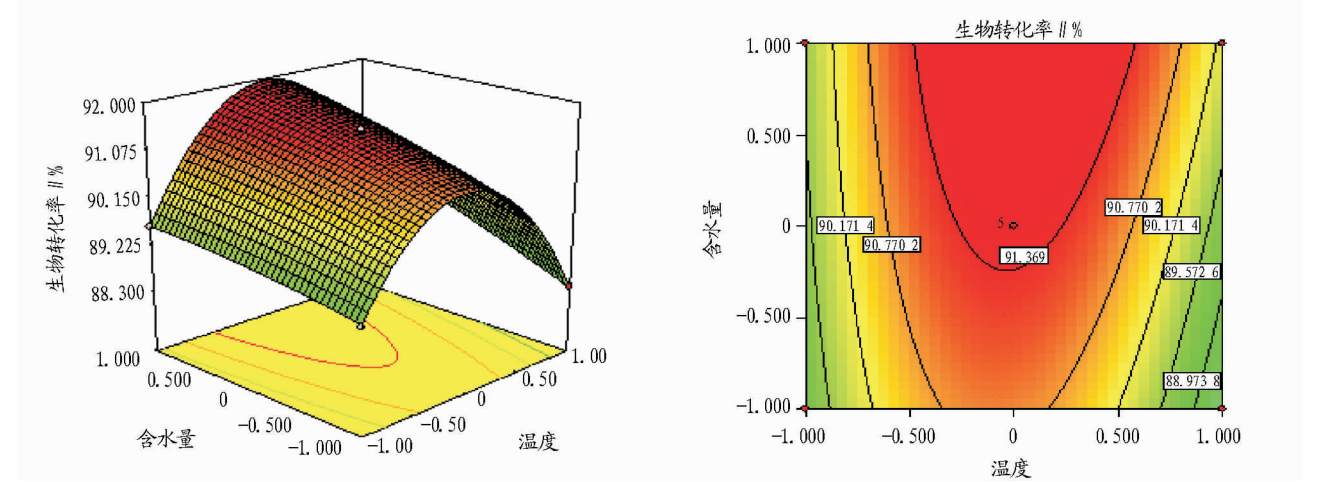


图3 温度(A)和含水量(C)对杏鲍菇生物转化率影响的曲面和等高线

2.3.4 最高生物转化率条件的确定及验证试验。为检验结果的可靠性,参照上述最优条件:温度为 15.13℃,湿度为 91.02%,含水量为 66.00%,此时的最高生物转化率为 92.10%,进行工厂化杏鲍菇栽培的试验,重复 3 次。经过 3 次重复试验,测得杏鲍菇的生物转化率为分别为 91.70%、92.30%、91.90%,平均值为 92.00%,与理论预测值基本吻合。因此,利用响应面分析得到杏鲍菇工厂化栽培参数条件准确可靠,具有实际应用价值。

3 结论

试验表明,Plackett-Burman 试验设计能够较好地筛选出工厂化杏鲍菇栽培的参数即温度、湿度和含水量对杏鲍菇生物转化率的影响显著;用响应面分析中的 Box-Behnken 设计可实现参数的最佳化,优化后的参数为:温度 15.13℃、湿度 91.02%、含水量 66.00%。优化参数后所得试验结果与回归模型预测吻合较好,说明所建立的回归模型是可靠的,可以较准确预测工厂化杏鲍菇的生物转化率。在响应面法优化

的反应参数下,杏鲍菇的生物转化率达到 92.10%,比优化前提高了 6.40%。

参考文献

[1] 李月梅,采俊香,牛瑞青.不同基质配方工厂化栽培杏鲍菇研究[J].食用菌,2012(7):177-179.
[2] 赵大刚,陶鸿,卜文文,等.利用玉米芯栽培杏鲍菇技术研究[J].食用菌,2012(5):168-170.
[3] 刘宇,陈文良,林秀敏,等.不同配方培养料对杏鲍菇生长的影响[J].食用菌学报,2004,11(2):37-40.
[4] 杨永红.杏鲍菇干袋覆土混合式高产栽培技术[J].食用菌,2008(2):43-44.
[5] 荣瑞芬,李鸿玉,叶磊,等.杏鲍菇营养及功能成分分析测定[J].亚太传统医药,2007(5):85-87.
[6] 于海龙,杨娟,尚晓冬,等.工厂化生产中相对湿度对杏鲍菇生长的影响[J].上海农业学报,2011,27(4):18-21.
[7] 于海龙,郭倩,杨娟,等.不同温度下工业化瓶栽杏鲍菇生长分析[J].食用菌学报,2009,16(3):20-24.
[8] 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.
[9] 张柏松,宫志远,于淑芳,等.不同培养料对杏鲍菇形态及产量的影响[J].山东农业科学,2003(4):25-26.

(上接第 4550 页)

[19] 苏延桂,李新荣,贾荣亮,等.腾格里沙漠东南缘苔藓结皮对荒漠土壤种子库的影响[J].应用生态学报,2007,18(3):504-508.
[20] LI X R, JIA X H, LONG L Q, et al. Effects of biological soil crusts on seed bank, germination and establishment of two annual plant species in the Tengger Desert (N China) [J]. Plant and Soil, 2005, 277: 375-385.
[21] HAWKES C V. Effects of biological soil crusts on seed germination of four endangered herbs in a xeric Florida shrub land during drought [J]. Plant Ecology, 2004, 170: 121-134.
[22] 龙利群,李新荣.土壤微生物结皮对两种一年生植物幼苗存活和生长的影响[J].中国沙漠,2003,23(6):656-660.
[23] DEINES L, ROSENTERETTER R, ELDRIDGE D J, et al. Germination and

seedling establishment of two annual grasses on lichen-dominated biological soil crusts [J]. Plant Soil, 2007, 295: 23-35.
[24] PRASSE B, BORNKAMM R. Effects of Microbiotic soil surface crusts on emergence of vascular plants [J]. Plant Ecology, 2000, 150: 65-75.
[25] 于云江,林庆功,石庆辉,等.包兰铁路沙坡头段人工植被区生境与植被变化研究[J].生态学报,2002,22(3):133-139.
[26] 姚月峰,满秀玲,刘畅,等.封育对沙地油蒿群落生物量及其土壤水分影响[J].东北林业大学学报,2007,5(1):37-39.
[27] RAM A, AARON Y. Negative and positive effects of topsoil biological crusts on water availability along a rainfall gradient in a sandy arid area [J]. Catena, 2007, 70: 437-442.