



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103184246 B

(45)授权公告日 2017.03.22

(21)申请号 201110460029.4

C12R 1/645(2006.01)

(22)申请日 2011.12.31

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103184246 A

李轶群等.麦角硫因的生物学功能及其应用.《食品工程》.2010,全文.

(43)申请公布日 2013.07.03

Dorothy S.Genghof.Biosynthesis of Ergothioneine and Hercynine by Fungi and Actinomycetales.《Journal of Bacteriology》.1970,正文“材料与方法”部分.

(73)专利权人 中国科学院天津工业生物技术研究所

地址 300308 天津市空港经济区西七道32号

审查员 张彬

(72)发明人 姜文侠 刘琦 周涛 杨萍

(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322

代理人 龙淳

(51)Int.Cl.

C12P 13/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54)发明名称

麦角硫因的生物合成制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:将大型真菌的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,摇床振荡条件下,培养;将发酵液于80~110℃,搅拌6~200min,使菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中;本发明的方法可以保证产品的安全性;原料来源广泛,价廉易得,可以满足食品安全的要求,没有原料养殖或栽培的季节性和不易储藏的限制,可实现常年规模化生产,生产周期短,生产效率高;通过优化菌丝体的发酵条件,提高和稳定麦角硫因的产率,工艺可以控制,生产规范,技术经济性好,生产成本低,为医药、食品饮料、功能食品、动物饲料、化妆品及生物技术等领域提供安全便宜的麦角硫因。

1. 一种麦角硫因的生物合成制备方法,其特征是包括如下步骤:

(1) 将大型真菌的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在16~35℃,100~300rpm摇床振荡条件下,培养6~11天;

(2) 将步骤(1)获得的发酵液于80~110℃,转数为1~500rpm的条件下,搅拌6~200min,使菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中;

所述培养基按重量份数由下述组分组成:10~60份的碳源、5~30份的有机氮源、0.5~10份的无机盐,加水至1000份,调节pH=5.0~6.5;

所述大型真菌为野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*)、肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 或花脸香蘑 (*Lepista sordida*)。

2. 根据权利要求1所述的一种麦角硫因的生物合成制备方法,其特征是所述碳源为蔗糖、果糖、山梨糖、甘露糖、乳糖、半乳糖、甘露醇、麦芽糖醇、山梨醇、甘油、脂肪、糊精、麦芽糊精、甜菜糖蜜、甘蔗糖蜜、马铃薯、玉米粉、木薯粉、芭蕉芋、红薯粉、大米粉、小麦粉、高粱粉、大麦粉或燕麦粉。

3. 根据权利要求1所述的一种麦角硫因的生物合成制备方法,其特征是所述有机氮源是以下物质的一种或多种的组合:酵母粉、玉米浆、麸皮、大豆蛋白、豆粕粉、豆饼粉、棉籽粉、花生饼粉、玉米蛋白粉、牛肉膏、蛋白胨、酪蛋白胨和胰蛋白胨。

4. 根据权利要求1所述的一种麦角硫因的生物合成制备方法,其特征是所述无机盐为 K_2SO_4 、 $MgCl_2$ 和 $(NH_4)H_2PO_4$ 至少一种。

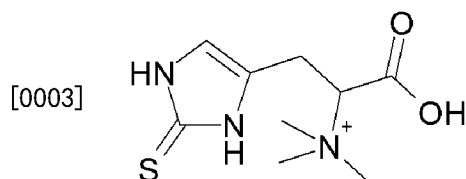
麦角硫因的生物合成制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于微生物发酵技术和手性化合物生物合成领域,具体地涉及一种麦角硫因的生物合成制备方法。

背景技术

[0002] 麦角硫因(L-Ergothioneine,EGT),化学名为2-巯基组氨酸三甲基内盐,是至今唯一为人们所知的天然2-硫代咪唑氨基酸(2-thio-imidazole)。麦角硫因的化学结构式如下:



[0004] 麦角硫因最初发现于黑麦麦角菌(*Claviceps purpurea*)中(TANRET C., Sur une base nouvelle retiree du seigle ergote, L-Ergothioneine Compt. Rend. Acad. Sci., 1909.149:222-224.)。其后报导,麦角硫因广泛分布于包括人类在内的动物红血球、肝脏等组织器官中(MELVILLE D.B. L-Ergothioneine. Vitam & Horm, 1958.17:155-204.)。它具有很强的抗氧化活性:清除活性氧族,螯合二价金属离子,激活抗氧化物酶,抑制超氧化物歧化酶(ARUOMA OI, Whiteman M, England TG, Halliwell B, Antioxidant Action of Ergothioneine assessment of its ability to scavenge peroxynitrite. BBRC, 1997.231:389-391.)。抑制各种血红素蛋白发生氧化反应等。由于麦角硫因的上述特性,决定了它在医药、食品饮料、功能食品、动物饲料、化妆品及生物技术等领域具有广泛的用途和市场前景。

[0005] 研究发现麦角硫因是许多微生物细胞的成分,合成麦角硫因的微生物主要有细菌目的分枝杆菌、蓝藻细菌(螺旋藻)(Carolin Pfeiffer, Tim Bauer, Barbara Surek, Edgar Schömig, Dirk Gründemann, Cyanobacteria produce high levels of ergothioneine. Food Chemistry, 2011:1-4.)、真菌目的担子菌和子囊菌等。虽然人体内存在麦角硫因,但人类、动物及高等植物体自身无法合成麦角硫因,必须通过饮食等方式从外界环境中摄取。

[0006] 麦角硫因的制备方法有三种:化学合成法、提取法以及生物发酵合成法。化学方法合成左旋的麦角硫因十分困难,几种合成方法都因局部或全部外消旋化而没有达到预期的产量,合成的难点是很难制备原料2-巯基咪唑,并且 α 位碳的酸性会使反应很容易发生外消旋作用。OXIS国际公司第一个研制出了高效、商业化合成麦角硫因的方法(XU J. and YADAN J.C., A new and convenient synthesis of imidazole-2-thiones from Imidazole. Synlett, 1995.3:239-241.)。并于1995年申请了专利,其方法是将巯基导入咪唑环。但由于化学合成产品的安全性难以得到保证,合成原料昂贵,合成成本高,产品的售价高,以至于限制了麦角硫因的应用。提取法是从食用菌的子实体、猪血、动物组织、麦角和

谷物中提取麦角硫因,但上述原料中麦角硫因的含量仍然很低,且存在原料的杂质多,药物残留,提取成本高及民族禁忌等问题。许多大型真菌具有合成麦角硫因的能力,但其子实体中麦角硫因的含量低,从大型真菌的子实体中提取麦角硫因的成本高。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于克服现有技术的不足,提供一种麦角硫因的生物合成制备方法。

[0008] 本发明的技术方案概述如下:

[0009] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0010] (1) 将大型真菌的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在16~35℃,100~300rpm摇床振荡条件下,培养6~11天,大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0011] (2) 将步骤(1)获得的发酵液于80~110℃,转速为1~500rpm的条件下,搅拌6~200min,使菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中;

[0012] 所述培养基按重量份数由下述组分组成:10~60份的碳源、5~30份的有机氮源、0.5~10份的无机盐,加水至1000份,调节pH=5.0~6.5。

[0013] 所述大型真菌为野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*)、肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*)或花脸香蘑 (*Lepista sordida*)。

[0014] 所述碳源是以下物质的一种或多种的组合:蔗糖、果糖、山梨糖、甘露糖、乳糖、半乳糖、甘露醇、麦芽糖醇、山梨醇、甘油、脂肪、糊精、麦芽糊精、甜菜糖蜜、甘蔗糖蜜、马铃薯、玉米粉、木薯粉、芭蕉芋、红薯粉、大米粉、小麦粉、高粱粉、大麦粉和燕麦粉。

[0015] 所述有机氮源是以下物质的一种或多种的组合:酵母粉、玉米浆、麸皮、大豆蛋白、豆粕粉、豆饼粉、棉籽粉、花生饼粉、玉米蛋白粉、牛肉膏、蛋白胨、酪蛋白胨和胰蛋白胨。

[0016] 所述无机盐为K₂SO₄、MgCl₂和(NH₄)₂HPO₄至少一种。

[0017] 本发明的优点:

[0018] 与目前的化学合成方法相比,这种发酵生产方式可以保证产品的安全性;原料来源广泛,价廉易得,可以满足食品安全的要求,没有民族禁忌;没有原料养殖或栽培的季节性和不易储藏的限制,可实现常年规模化生产,生产周期短,生产效率高;通过优化菌丝体的发酵条件,提高和稳定麦角硫因的产率,工艺可以控制,生产规范,技术经济性好,生产成本低,为医药、食品饮料、功能食品、动物饲料、化妆品及生物技术等领域提供安全便宜的麦角硫因。

具体实施方式

[0019] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的说明:

[0020] 实施例1

[0021] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0022] (1) 培养基制备:按重量份数称取30份的糊精、15份的酪蛋白胨、3份的K₂SO₄、2份的(NH₄)₂HPO₄和1.5份的MgCl₂,加水至1000份,调pH=5.5。

[0023] (2) 摇瓶培养:在500mL三角瓶装入150mL培养基,121℃灭菌20min;每个三角瓶接种花脸香蘑 (*Lepista sordida*)的菌丝体斜面菌种1cm²,于25℃,150rpm的条件下,摇床振

荡培养9天,花脸香蘑的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0024] (3) 培养结束后,将发酵液升温至90℃,300rpm搅拌30min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到细胞外的发酵液中,发酵液中麦角硫因含量为48mg/L。

[0025] 实施例2

[0026] (1) 培养基制备:按重量份数称取40份的甘油、15份的豆粕粉、3份的K₂SO₄、3份的(NH₄)₂HPO₄和1.5份的MgCl₂,加水至1000份,调pH=5.8;

[0027] (2) 摇瓶培养:在500mL三角瓶装入150mL培养基,121℃灭菌30min;每个三角瓶接种野生紫孢侧耳(*Pleurotus sapidus*)的菌丝体斜面菌种2cm²,于26℃,140rpm的条件下,摇床振荡培养10天,野生紫孢侧耳的菌丝体内大量合成积累麦角硫因。

[0028] (3) 培养结束后,过滤收集菌丝体,每克干燥菌丝体中麦角硫因含量为2.7mg。将1份体积的菌丝体和5份体积的水混合,升温至100℃,80rpm搅拌抽提20min,菌丝体内的麦角硫因被萃取到细胞外。

[0029] 实施例3:

[0030] 麦角硫因的检测方法:

[0031] 麦角硫因萃取液的前处理:麦角硫因萃取液于10000×g离心15min,进行固液分离,收集上清液,将上清液经孔径为3000Da分子量的超滤膜超滤,超滤的透过液用HPLC检测。

[0032] 麦角硫因的检测:检测仪器为高压液相色谱;Eclipse XDB-C18色谱柱(250mm×4.6mm,粒径5μm),采用两根柱串联进行检测;流动相为乙腈-水,乙腈:水为1:99;流速1.0mL/min,柱温30℃,检测波长254nm;进样量10μL。麦角硫因对照品溶液的浓度33mg/L。通过比较对照品和萃取液麦角硫因的峰面积,计算萃取液中的麦角硫因含量。

[0033] 菌丝体中麦角硫因含量的计算方法:每克干燥菌丝体中的麦角硫因含量(mg)=1L萃取液中麦角硫因的含量(mg)÷1L萃取液中干燥菌丝体的含量(g)。

[0034] 实施例4~28,培养基按重量份数的组成

[0035]

实施例	碳源 (份)	有机氮源 (份)	无机盐 (份)			水 (份)	pH
4	蔗糖 41	酪蛋白胨 30	K ₂ SO ₄ 1.5	MgCl ₂ 1.5	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3	923	5.6
5	果糖 38	玉米蛋白粉 16	K ₂ SO ₄ 1.6	MgCl ₂ 1.4	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2	941	5.8
6	麦芽糖醇 25	牛肉膏 14	K ₂ SO ₄ 1.8	MgCl ₂ 1.6	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2.5	955.1	6.0
7	山梨糖 20	豆饼粉 19	K ₂ SO ₄ 2	MgCl ₂ 1.8	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.5	953.7	6.1
8	玉米粉 33	蛋白胨 18	K ₂ SO ₄ 0.75	MgCl ₂ 0.75	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 1.5	946	5.7
9	麦芽糊精 25	麸皮 23	K ₂ SO ₄ 1.0	MgCl ₂ 1.0	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 1.8	948.2	5.7
10	甜菜糖蜜 19	棉籽粉 15	K ₂ SO ₄ 1.3	MgCl ₂ 2	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.2	959.5	5.4
11	甘蔗糖蜜 25	豆粕粉 18	K ₂ SO ₄ 1.8	MgCl ₂ 1.2	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2.9	951.1	5.5
12	马铃薯 60	大豆蛋白 5	K ₂ SO ₄ 0.2	MgCl ₂ 0.1	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 0.2	934.5	6.5
13	脂肪 10	酵母粉 16	K ₂ SO ₄ 2.5	MgCl ₂ 2.2	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.7	965.6	6.3
14	燕麦粉 36	胰蛋白胨 18	K ₂ SO ₄ 1.6	MgCl ₂ 1.7	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.4	939.3	6.2
15	乳糖 20	豆粕粉 16	K ₂ SO ₄ 2.3	MgCl ₂ 2.8	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.9	955	5.3
16	甘露醇 22	豆饼粉 15	K ₂ SO ₄ 1.9	MgCl ₂ 2	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3	956.1	5.4
17	小麦粉 32	玉米浆 15	K ₂ SO ₄ 0.75	MgCl ₂ 1.0	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 1.8	949.5	5.9
18	红薯粉 30	豆饼粉 19、酵 母粉 11	K ₂ SO ₄ 1.7	MgCl ₂ 1.3	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.4	933.6	6.0
19	大米粉 35	玉米蛋白粉 14	K ₂ SO ₄ 1.4	MgCl ₂ 1.4	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.2	945	5.8
20	甘露糖 25	大豆蛋白 15	K ₂ SO ₄ 1.7	MgCl ₂ 1.6	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2.9	953.8	5.5

[0036]

21	木薯粉 36	酪蛋白胨 20	K ₂ SO ₄ 2	MgCl ₂ 2.3	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.3	936.4	5.6
22	半乳糖 20	酵母粉 18	K ₂ SO ₄ 1.3	MgCl ₂ 1.1	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2.4	957.2	5.7
23	高粱粉 30	大豆蛋白 15	K ₂ SO ₄ 1.7	MgCl ₂ 1.8	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.8	947.7	5.5
24	大麦粉 31	花生饼粉 19	K ₂ SO ₄ 1.1	MgCl ₂ 1	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2.6	945.3	5.6
25	山梨醇 24	酪蛋白胨 20	K ₂ SO ₄ 3	MgCl ₂ 3	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 4	946	5.8
26	甘油 40	酵母粉 15	K ₂ SO ₄ 1.6	MgCl ₂ 1.4	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.2	938.8	5.7
27	糊精 30	酪蛋白胨 20	K ₂ SO ₄ 1.5	MgCl ₂ 1.8	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 2.9	943.8	5.7
28	芭蕉芋 23	牛肉膏 18	K ₂ SO ₄ 1.7	MgCl ₂ 1.4	(NH ₄)H ₂ PO ₄ 3.5	952.4	6.0

[0037] 实施例29

[0038] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0039] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在16℃,200rpm振荡条件下,培养10天;

[0040] (2) 将发酵液于50℃,转数为500rpm的条件下,搅拌200min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为17mg/L。

[0041] 本实施例的培养基是实施例8的配方制备的培养基。

[0042] 实施例30

[0043] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0044] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在35℃,100rpm振荡条件下,培养9天,使大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0045] (2) 将发酵液于110℃,转数为1rpm的条件下,搅拌6min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为14mg/L。

[0046] 本实施例的培养基是实施例5的配方制备的培养基。

[0047] 实施例31

[0048] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0049] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在25℃,300rpm振荡条件下,培养6天;

[0050] (2) 将发酵液于80℃,转数为300rpm的条件下,搅拌60min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为15mg/L。

[0051] 本实施例的培养基是实施例12的配方制备的培养基。

[0052] 实施例32

[0053] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0054] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在23℃,250rpm振荡条件下,培养11天,使大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0055] (2) 将发酵液于100℃,转数为100rpm的条件下,搅拌10min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为15mg/L。

[0056] 本实施例的培养基是实施例14的配方制备的培养基。

[0057] 实施例33

[0058] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0059] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在25℃,150rpm振荡条件下,培养9天,使大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0060] (2) 将发酵液于90℃,转数为500rpm的条件下,搅拌30min,使菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为51mg/L。

[0061] 本实施例的培养基是实施例27的配方制备的培养基。

[0062] 实施例34

[0063] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0064] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在23℃,130rpm振荡条件下,培养10天,使大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0065] (2) 将发酵液于80℃,转数为450rpm的条件下,搅拌50min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为42mg/L。

[0066] 本实施例的培养基是实施例26的配方制备的培养基。

[0067] 实施例35

[0068] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0069] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在27℃,170rpm振荡条件下,培养8天,使大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0070] (2) 将发酵液于85℃,转数为400rpm的条件下,搅拌70min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为35mg/L。

[0071] 本实施例的培养基是实施例11的配方制备的培养基。

[0072] 实施例36

[0073] 一种麦角硫因的生物合成制备方法,包括如下步骤:

[0074] (1) 将花脸香蘑 (*Lepista sordida*) 的菌丝体斜面菌种接种至装有培养基的三角瓶后,在28℃,120rpm振荡条件下,培养10天,使大型真菌的菌丝体内大量合成积累麦角硫因;

[0075] (2) 将发酵液于95℃,转数为400rpm的条件下,搅拌40min,菌丝体内的麦角硫因从细胞内转移到发酵液中,经检测,发酵液中麦角硫因含量为19mg/L。

[0076] 本实施例的培养基是实施例23的配方制备的培养基。

[0077] 实施例37

[0078] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例33的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例33, 培养基采用的是实施例28配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为22mg/L。

[0079] 实施例38

[0080] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例34的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例34, 培养基采用的是实施例24配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为14mg/L。

[0081] 实施例39

[0082] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例35的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例35, 培养基采用的是实施例21配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为48mg/L。

[0083] 实施例40

[0084] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例36的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例36, 培养基采用的是实施例19配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为17mg/L。

[0085] 实施例41

[0086] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例33的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例33, 培养基采用的是实施例7配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为15mg/L。

[0087] 实施例42

[0088] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例34的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例34, 培养基采用的是实施例18配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为20mg/L。

[0089] 实施例43

[0090] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例35的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例35, 培养基采用的是实施例13配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为12mg/L。

[0091] 实施例44

[0092] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例36的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例36, 培养基采用的是实施例16配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为14mg/L。

[0093] 实施例45

[0094] 用肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 替换实施例33的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例33, 培养基采用的是实施例20配制的, 发酵液中麦角硫因含量为16mg/L。

[0095] 实施例46

[0096] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例34的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例34, 培养基采用的是实施例4配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫

因含量为36mg/L。

[0097] 实施例47

[0098] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例35的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例35, 培养基采用的是实施例6配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为20mg/L。

[0099] 实施例48

[0100] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例36的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例36, 培养基采用的是实施例10配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为23mg/L。

[0101] 实施例49

[0102] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例33的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例33, 培养基采用的是实施例9配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为13mg/L。

[0103] 实施例50

[0104] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例34的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例34, 培养基采用的是实施例15配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为14mg/L。

[0105] 实施例51

[0106] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例35的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例35, 培养基采用的是实施例17配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为15mg/L。

[0107] 实施例52

[0108] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例36的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例36, 培养基采用的是实施例22配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为15mg/L。

[0109] 实施例53

[0110] 用野生紫孢侧耳 (*Pleurotus sapidus*) 替换实施例33的花脸香蘑 (*Lepista sordida*), 培养条件同实施例33, 培养基采用的是实施例25配制的, 经检测, 发酵液中麦角硫因含量为37mg/L。