

食用菌液体培养技术

蒋中海 杨丽萍

(黑龙江省鸡西市师范学校)

以往,人们用各种方法栽培食用菌,都注重培养硕大的子实体。现在人们正探索用液体培养与子实体具同样营养价值的菌丝体。这是现代化规模生产微生物产品的基本方法,也是现代食用菌生产的发展方向。

一、食用菌液体培养的意义

(一) 固体菌种与液体菌种的比较

传统的固体菌生产是从试管斜面菌种(一级菌种),菌种瓶、玻璃罐头瓶、塑料袋菌种(二、三级菌种),都是固体菌种。固体菌种生产周期长,从一级种至生产种培养好需一~二个月的时间。而液体培养菌种具有很多明显的优点。第一,生产周期短。制备液体种只需2~7天,一个周期也不过二十天。用液体菌作一级种,接种在二级或三级种上都行。因液体菌具流动性,发育点多而均匀,一般比固体二、三级菌提前10~20天完成发育阶段。第二,菌令上下一致。固体种待菌丝长到底部,上部菌丝已近老熟,下部菌丝与上部菌丝菌令相差20~30天。液体菌种是流动均一体系,各处菌令同步。培养2~7天菌丝体正是生长指数期,以这样的菌丝接种后,延滞期短、生长旺盛。第三,液体菌接种手续简便,可通过拌料等多种形式接种,便于机械化、自动化进行大规模生产,同时杂菌污染率很少。

(二) 子实体与菌丝体营养价值的比较

用传统方法培养出的子实体与液体培养出的菌丝体,两者所含蛋白质、维生素等营养物质的量相差无几。此外,用液体培养出的菌丝体可烹调美味的菜肴。还可作为制造啤酒等液体饮料的上等原料。

(三) 子实体与菌丝体的经济价值比较

生产子实体周期长(1~2)月,占地面积大,

管理不便。培养一瓶固体菌种30~35天,而培养一瓶液体种只需2~7天。

我国市场上供应的菇蕈类药物,如猴头片、灵芝片、密环片、安络痛片等,其生产原料虽然可以从子实体中提取,但无论从生产成本、生产周期来说,均不如从菌丝体中提取合算。

二、食用菌液体培养方法

(一) 菌种的选择

适合液体培养的食用菌种类很多,据统计有五十多种。常见的有香菇(*Lentinus edodes*),平菇(*Pleurotus ostreatus*),凤尾菇(*Pleurotus sajorcalu*),金针菇(*Flammulina velutipes*),银耳(*Jremella fuciformis*),黑木耳(*Auricularia auricula*),猴头菌(*Hericium erinaceus*)草菇(*Volvariella volvacea*),密环菌(*Armillaria mellea*),茯苓(*Poria cocos*),羊肚菌(*Morchella esculenta*)等。

(二) 实验器材

三角瓶(500ml、100ml、50ml)、大试管(20×200)、往复式自动摇床、接种刀、接种针、酒精灯、无菌室(或超净工作台)、药品、菌种、棉塞、灭菌锅、酸碱度量计、天平(普通天平和分析天平各一台)。

(三) 培养方法

液体菌种培养分摇床振荡培养和种子罐、发酵罐深层通气培养。用于小批量生产的菌种可以将培养好的培养液分装300、500、1000、5000毫升的三角瓶(装量分别为50、100、200、1000毫升),将瓶口用6~8层纱布中间夹一些脱脂棉,厚度以对着阳光看不到透过来的光点为好,其外部用一层牛皮纸包扎。灭菌后,按无菌操作接入生长旺盛的斜面一

级试管菌种，每支可接4~6瓶。接种后菌丝面向上，静止培养48小时后，再置摇瓶机上振荡培养，振幅为8~12厘米。

种子发酵罐液体菌种生产工艺流程是：摇瓶种子→一级种子罐（501³）→二级种子罐（5001³）→三级种子罐（5吨或10吨）的培养罐内进行深层通气培养而生产大批量液体菌种的。发酵食用菇用的发酵罐同生产抗生素、味精等用的发酵罐相似，但食用菌不宜于用微孔注射法接种，因此在一级种子罐上需要安装附有阀门的接种管，以便由此接入摇瓶种子。接种用接种器，一般采用接种口用火焰封口，利用罐内负压自然接种，整个接种过程必须保证严格无菌，否则会造成整批污染倒罐。接种量一般为10%。进入发酵罐的空气必须通过总过滤器和分过滤器以除菌，总过滤器的过滤介质为棉花——活性炭——棉花，分过滤器的过滤介质为超细玻璃纤维纸。培养中要严格控制温度在25~27℃。还要经常检查菌丝生长情况，通过油镜镜检、无细菌及霉菌。活力检查：镜检菌球边缘部分菌丝分枝细密，着色力强。出菇能力检查：香菇、平菇、凤尾菇的菌丝镜检有锁状联合结构，醪液静止培养有原基形成。菌丝球的大小：80%菌球直径小于1mm。同时分析，培养成分消耗（残糖量、PH变化）以掌握放罐时间。因每批生产量大、特别适于机械化自动化大批量生产接种用。

三、液体培养基要求

（一）水质必须是经过处理的，理化指标，化验检查必须是合格的。

（二）碳源：除葡萄糖、糖蔗、麦芽糖、果糖淀粉外，更多的是玉米浸液（淀粉生产中副产品）、废糖母液（葡萄糖生产的下脚料）废糖密（制糖副产品）。糖的浓度一般为2~6%，糖过大不仅降低氧的溶解度，而且由于渗透压的增加而降低了水活度，这些都有害于菌丝生长。菌丝生长量一般为耗糖量20~40%。

（三）氮源：除蛋白胨、黄豆饼粉、酵母浸液、尿素、蚕蛹粉、玉米浆等有机氮外，还有许多硝酸盐、铵盐等无机氮源均可作为深层培养的氮源。食用菌对氨基酸的最大需要量为20~50微克/ml，在培养基中一般用小分子量的肽来提供。

（四）碳氮比：液体培养中，一般要求碳氮比为8—80:1。双孢蘑菇在液体培养中碳氮比为18:1获得最高干重菌丝。紫丁香菇碳氮比在25—28:1

时，培养21~28天获得最高菌丝干重。但大多数食用菌菌丝在20:1时生长最快。

（五）维生素：食用菌在液体培养中维生素需要量一般为1-5微克/毫升，但多数食用菌可以自身合成。但金针菇、香菇等在液体培养时需补加维生素B₁和生物素（VH）。维生素B₁浓度为100微克/升。麸皮、玉米浆、酵母膏中富含维生素，在培养基中含有这类成分时，可以不加或少加维生素。

（六）无机盐：在食用菌生长发育中需一定量的矿质营养，常加的有KH₂PO₄、K₂HPO₄、MgSO₄、NaCl、CoCl₂、FeSO₄、等。不同的食用菌其需要矿质元素也不一样。食用菌以磷、钾、镁、钙矿质元素最为重要。

（七）PH值：培养液值一般在5.0~6.0为合适。

四、实用培养液配方

（一）适于侧耳蘑菇等多种食用菌

葡萄糖3%、豆饼粉2%、玉米粉1%、酵母粉0.5%、磷酸二氢钾0.1%、碳酸钙0.2%、硫酸镁0.15%、水适量、PH自然；

（二）香菇：淀粉70~90g、葡萄糖10g、玉米浆15~20g、KH₂PO₄5g、ZnSO₄9mg、发酵时间14天，得率25g/l；

（三）平菇酵母膏50g，干血粉250g，玉米粉250g，KH₂PO₄5g，水10L，PH7.发酵6~8天；

（四）金针菇、滑菇、平菇：淀粉3%，脱脂大豆0.4%，酵母膏0.4%，KH₂PO₄0.1%，MgSO₄0.1%，CaCl₂0.01%，FeSO₄0.0003%，ZnSO₄0.0003%，MnSO₄0.0002%，甲基纤维素1%，PH5.6，发酵时间96小时，得率金针菇10.6g/l，滑菇8.2g/l，平菇13.0g/l；

（五）茯苓葡萄糖25g、酵母膏3.5g，玉米浆（含氮7.1%）1.8g，H₂PO₄10g，MgSO₄0.5g，CaCl₂0.06g，ZnSO₄4mg，MnSO₄5mg，柠檬酸铁5mg，硫胺素0.1mg，水1000ml；

（六）松口蘑：a 葡萄糖2%，酵母膏0.2%、b 葡萄糖2%多价蛋白胨0.2%，KH₂PO₄0.1%，MgSO₄0.5%，硫胺素100μg/l，振荡频率：70次/分，24℃培养40天，得率：99/l；

（七）羊肚菌1966 酵母膏25g，玉米浆25g，酪蛋白水解液100g，淀粉150g，NaCl10g，CaCO₃50g 水100,000ml。

(八) 适于侧耳蘑菇、香菇、草菇、木耳、猴头等, 淀粉3—6%, 蔗糖1%, 磷酸二氢钾0.3%, 硫酸镁0.15%, 酵母膏0.1%, 水适量, pH6.0。

五、液体菌种的使用

食用菌的液体种有三个用处: (一) 作为液体菌种, 栽培食用菌; (二) 生产菌丝体作食品或饲料; (三) 提取代谢产物。

(一) 液体菌种

1. 用液体菌种来生产原种或栽培种作为液体菌种在无菌条件下倒在灭菌的二级种固体培养料上, 接种量15~30%, 菌丝球应把料面覆盖。接种器可使用100ml注射器, 去掉针头, 改用内径1~2毫米, 长10~12厘米不锈钢管更为方便。接种器应先在沸水中煮30'杀菌, 接种后留下的接种针针口应以胶布封口。接种后菌丝片段能在固体培养基上同步生长, 3~5天后就能发满全瓶, 比常规法快十倍。用液体菌种生产的原种或栽培种, 由于菌龄短, 生活力强, 用它来扩大成栽培种或进行播种生产, 污染率低。

2. 由深层发酵制备的液体菌种, 可直接拌入栽培料中, 栽培出菇。拌种量为20~100%。在开放式生料配料培植中, 亦可直接用液体菌种拌料后装袋或压块, 进行生产。凤尾菇、金顶蘑, 平菇美味侧耳和金针菇等经拌料后10~20天内即可出菇。香菇老法生产从一级种到三级种制备周期110天, 用液体种40天内即可出菇, 出菇密, 产菇期集中。

(二) 菌丝体食品或饲料

已知深层发酵培养食用菌的菌丝体有很高的蛋白质含量和完善的氨基酸组成。是人类和动物蛋白质食品的良好来源。

1978年印度学者Samaipat, N, 用葡萄糖酪蛋白水解物培养基深层培养平菇, 羊肚菌和草菇, 发现其菌丝体的粗蛋白含量高达47.6%, 39.16%、34.70%、此外还含有维生素B₁、B₂、尼克酸、泛酸、B₆及B₁₂。

用食用菌的深层培养菌丝体来喂养动物, 效果很好。Torev, A 报导, 在鸡饲料中添加3~5%的干菌丝体, 鸡肉生长率比对照增加13~22%, 产蛋率提高14~18%。

用深层培养菌丝体, 可制成健康饮料。国外市场上已有“香菇粒”, “身健力”、“灰树花”饮、料。用香菇菌丝体制的香菇粒 (Mushroom gran-

ule) 含17%蛋白质, 1.5%脂肪, 67.7%碳水化合物及维生素B₁ (14.4mg) B₂ (3.5mg) 维生素C (23mg) 等营养成分, 有预防疾病, 增强体质功效。一般日服2次, 每次8~10粒; 若用减肥及降低胆固醇可每日早晚空腹服15粒。

身健力 (C-Kin) 是香菇菌丝体细胞提取液。含37种酶、15种游离氨基酸和多种维生素。据测定, 其营养成分比香菇子实体高4倍, 是孕妇补养、婴孩发育、中老年保健及妇女美容润肤等用之有效。

(三) 代谢产物

从食用菌的深层醪液中, 可提取不少有用的药物和生化产品, 从茯苓和金针菇中可得到茯苓多糖 (Pachynaran)、火菇菌素 (Flammulin); 从香菇醪液中提取香菇多糖 (Lentinan) 和糖肽 (K2-2), 这些多糖都是一类免疫刺激剂, 还具有抑制肿瘤效应。此外, 在秋口蘑发酵醪液中还可提取到香味极好的松口蘑油 (1-Octen-3-ol) 和甲基桂皮酸 (Methyl cinnamate); 从香菇醪液中可提取香菇香精 (Lentionine) 等, 食用菌液体深层发酵工艺前景广阔, 为人类获取食品、饮料、动物饲料及药物等具有重大意义。

植物性除臭液

日本某电子公司开发成一种植物性除臭液, 其除臭效率比普通活性炭高100倍以上。

以除臭液是从杉、松、车前草等植物中提取出含有羟基的有机化合物互相化合, 再经热处理精制而成。药效快速, 能消除一切有机性、无机性恶臭, 也能消除散发在空气中的臭味, 除臭效果比一般芳香剂或脱臭剂好。使用时将原液稀释至250~1000倍, 适用于厕所、垃圾堆、医院、工厂、畜产物、冰箱等需要除臭的场合。售价为18升装原液每罐15万日元。(南京孝陵卫江苏农科院 张静丽)

