

羊肚菌液体发酵研究进展

刘青青¹, 戴玄², 陈今朝²

(1. 四川理工学院 生物工程学院, 四川 自贡 643000; 2. 长江师范学院 生命科学与技术学院, 重庆 408000)

摘要:介绍了国内外羊肚菌液体发酵研究现状及主要研究方向,并说明了羊肚菌液体发酵具有较好的应用前景,旨在为工业化生产提供借鉴。

关键词:羊肚菌;液体发酵;研究进展

中图分类号:S 646.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)01-0190-04

羊肚菌(*Morchella esculenta* L. Pars)属盘菌纲盘菌目羊肚菌属的一类珍稀野生食(药)用真菌,俗称阳雀菌、羊肚菜、网兜蘑等,因其子实体上的小凹坑极似羊肚而得名^[1]。其子实体富含蛋白质、多糖、核酸、维生素及多种微量元素,有极高的药用价值^[2]。《本草纲目》中记载其“味甘寒,性平,无毒,益肠胃,化痰理气”,传统中医认为其有补脑提神、帮助消化及补肾壮阳等功效^[3]。现代医学还发现,羊肚菌能增强机体免疫能力、抗疲劳、减轻因化疗引起的毒副作用^[4]。

目前市场上的羊肚菌主要来源于野生资源,但由于其生长受温度、湿度、年降雨量等环境因素的影响,产量甚少且采集困难,导致供不应求,货源缺口很大,售价也一直居高不下。因此,羊肚菌的人工栽培成为了国内外众多研究者最感兴趣的课题之一,但除了美国科学家 Miller^[5-6]在 2004 年成功实现羊肚菌工厂化栽培并申请专利以外,其余成功栽培羊肚菌的案例大多还处于研究阶段,规模化生产产量极不稳定。研究显示,羊肚菌菌丝体中所含营养物质的种类及其含量都与子实体相似,其中人体必需氨基酸含量还略高于子实体^[7]。所以,利用现代发酵技术得到羊肚菌菌丝体及其它产物不仅填补了对羊肚菌子实体市场需求的空缺,还为羊肚菌的深层次开发奠定了基础。因此,通过液体发酵得到羊肚菌发酵产品的研究已成为当下热点。

1 羊肚菌液体发酵技术简介

羊肚菌液体发酵技术是利用现代生物技术,在生物反应器中,将野生羊肚菌在生长过程中所必需的碳源、氮源、无机盐、生长因子等营养物质溶于水中经过灭菌作为培养基,接入羊肚菌菌种,通入无菌空气并搅拌,严格控制外界条件,进行菌丝大量繁殖的过程^[8]。羊肚菌液体发酵具有较多优点:原料来源广泛,除工业葡萄糖、工业淀粉、麸皮等以外,玉米深加工废水、糖蜜废母液、各种大豆深加工废水等均可作为羊肚菌发酵培养基;菌丝生长快,生产周期短,由于发酵液中营养丰富且能够及时补给,发酵条件易于控制,得到大量羊肚菌菌丝体和生理活性物质,一般只需 2~7 d,且菌龄整齐;工厂化生产,无季节性要求,羊肚菌液体发酵充分利用了生物反应器的优势,通过对发酵环境的严格控制来获得羊肚菌菌丝体和代谢产物,便于管理和规模化生产^[9]。

2 羊肚菌液体发酵研究现状

2.1 国外研究现状

1958 年, Szuets^[10]首次通过液体发酵培养出羊肚菌菌丝体,并进行了 25 000 加仑的生产试验。此后,美、法等国开始了对羊肚菌液体发酵的研究,并将工业化生产获得的大量菌丝体添加到调味品中,深受消费者的喜爱,同时得到了羊肚菌单细胞蛋白,广泛应用于食品、医药和化工等行业的靛蓝色素等产物^[11-12]。研究者还尝试从羊肚菌菌丝体中分离得到多种药用成分, Tomita^[13]分离得到了一种比阿司匹林效价要高出 2~3 倍的血小板集落抑制因子; Iwahara 等^[14]从中获得一种可抑制酪氨酸酶的黑色素形成抑制剂; Gilbert^[15]还曾尝试将新鲜菌丝进行加工,从中提取香味物质等。

现在,国外已经能够进行 500 L 以下规模的菌丝体发酵生产,而且还出现了专用的羊肚菌发酵设备^[9]。目前,研究者致力于对羊肚菌发酵条件的优化,发酵产物

第一作者简介:刘青青(1990-),女,重庆人,硕士研究生,现主要从事微生物及酿酒生物技术等研究工作。E-mail: jgxf113414@163.com.

责任作者:陈今朝(1964-),男,重庆人,硕士,教授,现主要从事菌生物学和微生物学的教学与科研工作。E-mail: chenjinzhao@126.com.

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(cstc2012jjA80026);重庆市教委科技计划资助项目(KJ131311)。

收稿日期:2014-09-04

特别是胞外多糖的开发利用及其它成分的开发等研究。Nitha 等^[16]对羊肚菌菌丝体乙醇水溶液提取物的研究发现其具有抗氧化、抗炎症和抗肿瘤的作用;Mau 等^[17]研究发现羊肚菌菌丝体甲醇提取物具有抗氧化的作用,为进一步探明并研制羊肚菌药物打下了基础。Ranadive 等^[18]就曾将羊肚菌发酵液中的免疫活性物质根据化学性质分成凝集素、萜类化合物、蛋白质和糖四类,并研究了其在化学、医学和其它领域的应用,为羊肚菌液体发酵产品开发奠定了基础。Sandrina 等^[19]对从葡萄牙和塞尔维亚采集的 2 个羊肚菌品种菌丝体中化学成分、抗氧化活性成分和抗菌活性进行了分析比较,结果表明,2 个品种均富含碳水化合物和蛋白质,但也表现出了高抗氧化性。值得一提的是,通过对 5 种细菌的抑制试验显示,其对细菌的抑制效果均优于普通抗生素。这些研究都为羊肚菌液体发酵液成分的深度开发提供了新的思路。

2.2 国内研究现状

我国对羊肚菌液体发酵的研究较晚,20 世纪 90 年代末才逐渐有研究报道。王小雄等^[20]对采自甘南的尖顶羊肚菌进行人工驯化、组织分离后,经深层发酵得到发酵液和菌丝体,并测定了其中的营养成分。刘士旺等^[21]探索了羊肚菌的液体培养条件并通过正交实验筛选出摇瓶培养的培养基。赵良启等^[22]通过摇瓶正交实验研究了尖顶羊肚菌液体发酵的合适条件及最佳培养基配方。王秀云^[23]将液体培养的羊肚菌菌种均匀喷洒在腐乳乳胚上,经过发酵和腌制,得到了香味独特、营养丰富的羊肚菌腐乳。这些对羊肚菌液体发酵的初步探索都为后来的研究提供了思路和参考。

近几年来,我国羊肚菌液体发酵的研究仍处于中小试的阶段,但通过科研工作者的不懈努力,在对羊肚菌液体菌种生产及多糖发酵条件、发酵产物药用功能及利用发酵产物生产保健(功能)食品等方面的研究已经取得了较大进展。

2.2.1 羊肚菌液体菌种生产及多糖发酵条件研究 在液体发酵培养条件优化方面,研究者旨在提高羊肚菌胞外多糖得率和菌丝体产量,进行了一系列试验。谢占玲等^[24]研究了不同碳源和氮源对 5 株羊肚菌[*Morchella angusticeps*、*M. conica*、*Morchella* sp. (50647)、*Morchella* sp. (50648)和 *M. esculenta*]发酵的影响,筛选出最适合液体发酵的菌种为 *Morchella angusticeps*,最佳碳、氮源分别为可溶性淀粉和硫酸铵。在第 7 天时菌丝体含量最高为 5.76 g/L;第 12 天的时候胞外多糖含量最高为 2.17 g/L。崔华丽等^[25]则首先用 Plackett-Buman 设计试验,从诸多影响羊肚菌发酵的因素中筛选出主要影响因素,再利用响应面法和 Box-Behnken 设计试验得出了各影响因素的最佳水平。结果显示,羊肚菌胞外多糖最

佳发酵条件为:蔗糖 3.98%,转速 217.44 r/min,培养时间 5.98 d,在此条件下得到胞外多糖得率为 53.04%,与理论值仅有 1.64%的差距,但这个结果与谢占玲报道的胞外多糖最高产率相差较大,其原因可能是供试菌种及培养基和试验外界条件不同所导致。另有薛迎迎等^[26]利用单因素试验和正交实验对羊肚菌发酵培养基及发酵条件进行了优化,并进行发酵罐放大试验,监测胞外多糖含量,在发酵 108 h 时多糖含量达到 1.145 g/L。这一产率与 Meng 等^[27]报道的胞外多糖最高为 5.45 g/L 和李娟等^[28]报道的胞外多糖最高达 2.135 g/L 都还有较大差距。所以,对实验室的结果进行发酵罐放大试验,不断优化培养基的组成成分和发酵条件,降低发酵成本,提高发酵产物得率显得尤为重要。

2.2.2 羊肚菌液体发酵产物药用功能的研究 明建等^[29-30]研究了羊肚菌多糖 PMEP-1 降血脂作用和对大鼠肠道短链脂肪酸的影响。在降血脂研究中,通过选用与肥胖及血脂代谢、肿瘤细胞增殖相关的 PPARs 模型对羊肚菌多糖 PMEP-1 的生物活性进行高通量药物筛选及大鼠试验,结果显示 PMEP-1 具有降血脂功能,对高脂血症的发生、冠心病及动脉粥样硬化也有一定的预防作用,这为研制新型降血脂类药物奠定了基础。罗霞等^[31]的研究表明,羊肚菌菌丝体水提液对急性酒精性胃黏膜损伤的保护作用是通过增加胃黏液分泌和提高机体抗氧化能力来实现的。高明艳等^[32]的研究表明,尖顶羊肚菌菌丝体水提液能够不同程度抑制胃酸的分泌,减少胃液量和溃疡面积。但这些研究只初步探明了羊肚菌发酵液的药用价值,具体是哪种生物活性物质在发挥作用,都还需要进一步研究,才能更好地为人类所用。

2.2.3 羊肚菌液体发酵产物生产保健(功能)食品研究

张青等^[33]以羊肚菌发酵菌丝体为原料,研究了羊肚菌保健酒的制备工艺。通过单因素试验对酒精发酵料水比和初始糖度进行优化;正交实验对酵母接种量、发酵温度和时间进行优化,获得的羊肚菌保健酒色泽、风味俱佳。江洁等^[34]则利用豆渣为原料发酵生产羊肚菌菌丝体,并对酒精发酵和醋酸发酵条件进行优化,酒精度达 7%(V/V);醋酸含量达 5.04 g/100mL(达食醋标准),得到羊肚菌菌丝体发酵醋。王艳等^[35]从蛹虫草、大球盖菇、美味牛肝菌和羊肚菌等食用菌中筛选出具有较强耐锌和富锌能力的羊肚菌,研究了羊肚菌菌丝体富锌适宜的锌源、锌浓度和发酵条件。结果显示,利用 $Zn(CH_3COO)_2$ 作为锌源进行发酵,羊肚菌菌丝体的总富锌率可达 23.20%,富集锌的有机化程度达 37.71%。这些研究获得的产品既有羊肚菌的食药两用功能,又兼具保健功效,为羊肚菌液体发酵产物生产保健食品的研究和开发开辟了新道路,也为工业化生产提供了借鉴。

3 羊肚菌液体发酵的前景展望

3.1 利用液体发酵技术制备羊肚菌人工栽培菌种

羊肚菌人工栽培是当前研究的热点和难点,利用液体菌种接入固体料,具有流动快、易分散、发菌点多、萌发快等优点,能有效降低人工栽培时的污染率,加快人工栽培商业化的进程,将成为羊肚菌研究的新方向。

3.2 加强对羊肚菌发酵工艺和发酵设备的研究

羊肚菌液体发酵具有较好的工业发展前景,但目前的研究大多处于实验室研究阶段,所以需要羊肚菌发酵工艺进行不断改进。扩大发酵培养基原料的范围,以适应大型生物反应器的生产,提高发酵产物的得率,加快羊肚菌发酵产品走向市场的速度。另外,还没有针对我国羊肚菌主要品种而研发的发酵设备上市,所以针对我国羊肚菌品种的特点改进现有发酵设备,加快我国羊肚菌发酵工业化进程也将成为一个重要的研究项目。

3.3 羊肚菌液体发酵产物产业化开发及市场前景

羊肚菌多糖在抗肿瘤、抗疲劳及提高机体免疫力等方面有重要作用,还可用于治疗消化不良、痰多气短和胃虚弱等症状,是羊肚菌发酵液中重要的药用活性成分^[36]。此外,羊肚菌发酵液中也含有丰富的药用成分,但目前只能探明其药效,对于究竟是哪类生物活性物质在发挥关键作用,还需进一步研究。所以,深入挖掘羊肚菌多糖和发酵液的药用价值,开发出疗效显著、毒性低的新药,能够加快羊肚菌发酵产物产业化进程,具有广阔的市场前景。

此外,羊肚菌菌丝体本身富含锌、硒、锗、铁等微量元素,在发酵液中再添加一些元素,通过对添加种类、添加量及发酵时间的控制,使羊肚菌发酵产物中某些微量元素得到富集,并将发酵产物应用于食品添加剂、营养口服液或发酵饮料等方面,充分发挥其在保健、食品、化妆品等领域的应用潜力,以此带动羊肚菌的开发利用向纵深方向发展。具有较好的市场前景,也将成为未来研究的热点。

总之,随着现代生物科技的不断发展,特别是微生物学、蕈菌学、发酵工程等各领域的交叉渗透,以及人们对保健品及药品的日益关注,都将推动羊肚菌发酵产业快速发展。

参考文献

- [1] Jacquetant E, Les Morilles. La Bibliothèque des Arts Pairs [M]. LBDA, 1984.
- [2] 赵丹丹,李凌飞,赵永昌,等. 尖顶羊肚菌人工栽培[J]. 食用菌学报, 2010, 17(1): 32-35.
- [3] 李娟,王臻,姚良同,等. 羊肚菌多糖研究进展[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(4): 89-91.
- [4] Meng F Y, Liu X N, Jia L, et al. Optimization for the production of exopolysaccharides from *Morchella esculenta* SO-02 in submerged culture and its antioxidant activities *in vitro* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79: 700-704.

- [5] Miller S. Cultivation of *Morchella* [P]. US2004000090A1, 2004.
- [6] Miller S. Cultivation of *Morchella* [P]. US20040060230A1, 2004.
- [7] 康小虎,蔡亚东,孙宜法,等. 甘南州尖顶羊肚菌菌丝体液体发酵培养研究[J]. 中国食用菌, 2012, 31(6): 40-43.
- [8] 熊燕,车振明. 羊肚菌液体发酵的研究现状和展望[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 165-168.
- [9] 谢占玲,戚永跃. 一种新的肋脉羊肚菌 M8-13 液体发酵物在保健品及医药开发方面的应用[P]. 中国, 201010622986. 8. 2011-09-07.
- [10] Szuets J. Method of growing mushroom mycelium and the resulting products: United States, 2850841 [P], 1958.
- [11] 付晓燕. 羊肚菌菌丝体培养及菌丝分化研究[D]. 北京:首都师范大学, 2006.
- [12] 李秋蕊,富锺. 羊肚菌菌丝深层发酵的研究[D]. 吉林:吉林大学, 2005.
- [13] Tomita I. Platelet aggregation inhibitors isolation from *Morchella* for foods. Jpn Kokai Tokyo Koho [P]. JP0646798, 1994.
- [14] Iwahara M, Okayama Y. Skin-lightening cosmetics containing melanin formation inhibitor extracted from cultured *Morchella*. Jpn Kokai Tokyo Koho [P]. JP0725822, 1995.
- [15] Gilbert F A. The submerged culture of *Morchella* [J]. Mycologia, 1996, 52: 201-209.
- [16] Nitha B, Meera C R, Janardhanan K K. Anti-inflammatory and antitumor activities of cultured mycelium of morel mushroom, *Morchella esculenta* [J]. Curr Science, 2007, 92(2): 235-239.
- [17] Mau J L, Chang C N, Hung S J, et al. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Gri folia frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia [J]. Food Chemistry, 2004, 87(1): 111-118.
- [18] Ranadive K R, Belsare M H, Deokule S S, et al. Glimpses of antimicrobial activity of fungi from world [J]. Journal on New Biological Reports, 2013, 2(2): 142-162.
- [19] Sandrina A, Heleno, Stojković D, et al. A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Morchella esculenta* (L.) Pers. from Portugal and Serbia [J]. Food Research International, 2013, 51: 236-243.
- [20] 王小雄,付华,郑尚珍,等. 尖顶羊肚菌深层发酵菌丝体营养成分的研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 1997, 33(2): 38-40.
- [21] 刘士旺,梁宗琦,刘爱英. 羊肚菌液体培养研究初报[J]. 食用菌学报, 1998, 5(3): 31-37.
- [22] 赵启良,李志强,侯桂香. 羊肚菌液体发酵的研究[J]. 菌物系统, 1999, 18(1): 94-99.
- [23] 王秀云. 羊菌腐乳的酿造研究[J]. 中国酿造, 1999(4): 30-30.
- [24] 谢占玲,何智媛,唐龙清,等. 五株羊肚菌碳、氮源及适合发酵菌株的筛选[J]. 食用菌学报, 2009, 16(1): 43-46.
- [25] 崔华丽,刘增武,方玉明,等. 响应面法优化羊肚菌多糖的发酵条件[J]. 中药材, 2011, 34(5): 782-786.
- [26] 薛迎迎,任红兵,魏增余. 羊肚菌胞外多糖发酵优化研究[J]. 食品科技, 2011, 36(10): 239-242.
- [27] Meng F Y, Zhou B, Lin R S, et al. Extraction optimization and *in vivo* antioxidant activities of exopolysaccharide by *Morchella esculenta* SO-01 [J]. Bioresource Technology, 2010, 101: 4564-4569.
- [28] 李娟,刘敏,贾乐. 产胞外多糖泰山羊肚菌液体培养条件的优化[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(1): 80-82.
- [29] 明建,曾凯芳,赵国华,等. 羊肚菌水溶性多糖 PMEP-1 降血脂作用研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 285-288.

失地农民土地征收意愿及其影响因素分析

徐士璐

(河南农业职业学院,河南 郑州 451450)

摘 要:通过对河南省临颍县、修武县、新野县、新安县失地农民的深入调查,基于 705 户的调查数据,运用 Logistic 模型,分析了失地农民被征用土地的意愿与影响因素。结果表明:失地农民对征地补偿满意程度及对征地后生活改善预期、被征地在农民养老保障中的作用、农户家庭成员健康状况、受教育年限、是否有非农劳动技能等因素对失地农民土地征收意愿具有显著的影响。为此建议应当建立多元化征地补偿方式,提高补偿标准;建立健全我国农村社会保障体系,使失地农民没有后顾之忧;加强失地农民技能培训,完善农民就业与创业的帮扶机制。

关键词:土地征用;意愿;Logistic 模型;因素

中图分类号:F 323.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)01-0193-06

1 文献综述

在中国城镇化和工业化的进程中,将会有越来越多的土地被征收,这是当代中国的现实。耕地虽不可再生却是可持续的自然资源,许多农民视为赖以生存的“根”。诸多研究成果证明,农民对征地的满意度不高

(可以说非常低),袁铖于 2011 年研究表明许多在农民失去土地后生活水平在下降,征地制度的弊端在逐渐显露。探索如何解决土地征用问题,除破解城乡之间的差距,合理的补偿方式是正在努力寻求的答案。2013 年我国城镇化率达 53%,廖小军调研认为,我国 1 年失地农民增加了 200 多万人;随着我国城镇化水平的提高,韩俊的研究显示,2000—2030 年间占用耕地推测为 363.33 万 hm^2 以上,推算出失地农民(包括部分失地农民)超过 7 800 万人;王朝华调研指出,征地问题在一些地方演变成了相当严重的社会问题。面对政府与失地农民之间的矛盾,广大学者应正视土地征用中的现实难

作者简介:徐士璐(1981-),女,河南西峡人,硕士,讲师,研究方向为土地资源管理。

基金项目:河南省软科学计划资助项目(132400410883);郑州市技术与开发经费支持资助项目(131PRKXF448)。

收稿日期:2014-09-09

[30] 明建,曾凯芳,赵国华,等.羊肚菌多糖 PMEP-1 对大鼠肠道内短链脂肪酸的影响[J].食品科学,2010,31(19):367-371.

[31] 罗霞,魏巍,余梦瑶,等.尖顶羊肚菌对急性酒精性胃黏膜损伤保护作用研究[J].菌物学报,2011,30(2):319-324.

[32] 高明艳,郑林用,余梦瑶,等.尖顶羊肚菌菌丝体水提液对实验型胃溃疡的作用[J].菌物学报,2011,30(2):325-330.

[33] 张青,丁立孝,王莹,等.发酵箱羊肚菌保健酒的工艺研究[J].中国酿

造,2010(5):167-170.

[34] 江洁,王妍妍.羊肚菌菌丝体液体发酵醋的研制[J].食品工业科技,2010,31(10):223-225.

[35] 王艳,江洁,金李玲,等.羊肚菌菌丝体发酵液体培养富锌条件的优化[J].食品工业科技,2013,34(3):281-283.

[36] 吕晓莲,郭宏,贾建会,等.羊肚菌发酵产物功能性研究[J].食品科学,2013,34(1):311-314.

Research Progress on Liquid Fermentation of *Morchella esculenta* L. Pars

LIU Qing-qing¹, DAI Xuan², CHEN Jin-zhao²

(1. College of Biological Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Zigong, Sichuan 643000; 2. Life Science and Technology Institute, Yangtze Normal University, Chongqing 408000)

Abstract: The research status and main directions of liquid fermentation of *Morchella esculenta* L. Pars in China and abroad were reviewed. In order to provide reference to the industrial production, the good prospect of liquid fermentation of *Morchella esculenta* L. Pars was described.

Keywords: *Morchella esculenta* L. Pars; liquid fermentation; research progress