

食药菌液体发酵及功能活性成分研究现状与展望

颜梦秋, 刘艳芳, 周帅, 唐传红, 冯杰*, 张劲松*

上海市农业科学院食用菌研究所 国家食用菌工程技术研究中心 农业农村部南方食用菌资源利用重点实验室, 上海 201403

颜梦秋, 刘艳芳, 周帅, 唐传红, 冯杰, 张劲松. 食药菌液体发酵及功能活性成分研究现状与展望[J]. 微生物学通报, 2023, 50(7): 3211-3231.

YAN Mengqiu, LIU Yanfang, ZHOU Shuai, TANG Chuanhong, FENG Jie, ZHANG Jingsong. Liquid fermentation technology and functional components of edible and medicinal fungi[J]. Microbiology China, 2023, 50(7): 3211-3231.

摘要: 利用食药菌液体发酵技术可获得品质稳定、产物可控、富含多种有效营养和活性成分的功能性原料。本文系统总结了食药菌液体发酵技术的研究现状和瓶颈, 以及食药菌液体发酵产物中的主要成分和功效, 并与栽培子实体进行了比较。通过对食药菌液体发酵技术瓶颈突破的展望, 为食药菌液体发酵产物的进一步应用提供参考。

关键词: 食药菌; 液体发酵; 功能成分; 子实体; 研究现状

Liquid fermentation technology and functional components of edible and medicinal fungi

YAN Mengqiu, LIU Yanfang, ZHOU Shuai, TANG Chuanhong, FENG Jie*, ZHANG Jingsong*

National Engineering Research Center of Edible Fungi, Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

Abstract: The use of liquid fermentation technology can obtain functional raw materials from edible and medicinal fungi with stable quality, controllable products, and various active ingredients. This paper systematically summarized the research status and bottlenecks of liquid

资助项目: 上海市现代农业产业技术体系(沪农科产字[2022]第 9 号); 现代农业产业技术体系专项资金(CARS-20); 上海市农业科学院卓越团队建设计划(2022A-03); 上海市农业科学院攀高计划(2022-2024)

This work was supported by the Shanghai Agriculture Research System ([2022]09), the Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-20), the Project of Shanghai Academy of Agricultural Sciences Excellent Team (2022A-03), and the Shanghai Academy of Agricultural Sciences Climbing Project (2022-2024).

*Corresponding authors. E-mail: FENG Jie, fengjie@saas.sh.cn; ZHANG Jingsong, syja16@saas.sh.cn

Received: 2022-10-08; Accepted: 2022-11-24; Published online: 2022-12-22

fermentation technology of edible and medicinal fungi, as well as the main components and efficacy of the liquid fermentation products of edible and medicinal fungi, and compared them with the cultivated fruiting bodies. Through the prospect of the breakthrough of liquid fermentation technology of edible and medicinal fungi, this paper is expected to provide references for the further application of liquid fermentation products of edible and medicinal fungi.

Keywords: edible and medicinal fungi; liquid fermentation; functional components; fruiting body; research progress

食药菌是指具有食用或已被证实具有药效的大型真菌。我国记载的药食两用真菌有 270 余种^[1-2]。对食药菌的利用从几千年前野生真菌采摘食用开始。随着现代科技的发展,食药菌的生产方式出现了人工栽培子实体和发酵生产菌丝体。目前已有 60 余种食药菌可实现人工栽培,其中 20 余种可进行商业化生产,如香菇、金针菇、双孢菇、平菇、木耳、杏鲍菇、灵芝等^[3-4]。近年来,食药菌液体发酵技术发展迅速,相较于传统的人工栽培和固体发酵技术,具有生产周期短、生产效率高、产品质量稳定且产物容易分离的特点,能有效提高目标产物的产量和生产效益,可广泛应用于工业生产^[5-6]。

20 世纪 40 年代,美国弗吉尼亚大学生物工程专家 Elmer 和 Caden 首次设计出用于微生物培养的生物反应器^[7],随即广泛用于抗生素的工业生产中,就此拉开了食用菌液体发酵的序幕。液体发酵(又称深层培养、浸没培养)是一种将菌丝体生长所需营养物质配制成液体培养基,再接入菌种进行培养的技术。1948 年美国 Humfeld 等首次采用液体发酵技术对双孢菇进行菌丝体培养^[8]。我国自 1958 年也开始对蘑菇、侧耳等的液体发酵开展研究。1963 年,随着羊肚菌液体发酵工业化生产试验的开展,液体发酵技术开始大规模地应用于食药菌的生产加工,先后开

展了灵芝、蜜环菌、银耳、香菇、冬虫夏草、平菇、黑木耳、云芝、安络小皮伞、麦角菌、猪苓、茯苓、金针菇、猴头菌、白蚁伞、草菇、竹荪等一系列食药菌的液体发酵培养^[1]。

目前,食药菌的液体发酵在医药、食品、饲料领域均有应用。食药菌液体发酵产物可分为菌丝体和胞外液,主要含有氨基酸、维生素、多糖、三萜、蛋白质、生物碱、甙类、甾醇类、黄酮类及抗生素等多种活性物质。其中,功能性活性物质的研究多以药用菌为主,以真菌多糖、三萜、黄酮、生物碱和蛋白质等的研究最为广泛,它们具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化衰老、降糖降脂等多个方面多种生物活性作用。如已进入市场的猴头菌片即是采用液体发酵的猴头菌菌丝体提取物制成的一种中成药,具有益气养血、扶正培本、养胃护胃的作用,在临床上已用于治疗气血病症引起的胃溃疡、十二指肠溃疡、慢性胃炎、萎缩性胃炎等消化道疾病^[9]。因此,利用食药菌的液体发酵原料加工的系列产品在开发功能性食品领域具有广阔的应用前景。

基于以上分析,本文系统总结了食药菌液体发酵技术的研究现状和存在的瓶颈,以及食药菌液体发酵产物中的主要成分和功效,并与栽培子实体进行了比较,以期食药菌液体发酵的应用和推广提供参考。

1 食药菌液体发酵技术的现状和瓶颈

1.1 食药菌液体发酵技术的现状

食药菌液体发酵生产的基本工艺流程: 试管菌种→一级种子摇瓶→二级种子→三级种子→发酵罐培养。其发酵周期大致可分为 4 个时期: 适应期、增殖期、稳定期和衰亡期。目前对液体发酵技术的研究以提高菌丝体生物量和目标功能成分的产量为主, 一般涉及培养基配方的优化、发酵过程参数的控制及多个因素的共同调控。

1.1.1 培养基组成

液体发酵培养基的组成不仅影响菌丝体形态和产量, 也可改变发酵产物的组成和得率。食药菌液体发酵培养基一般由碳源、氮源、碳氮比、pH、无机盐和微量元素、生长因子、外源物质等组成。通过对培养基的优化可提高菌丝体生物量和活性物质产量。表 1 总结了不同文献中对培养基组成的优化研究。

常用的碳源有葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、淀粉、糖蜜(工业副产物)等。食药菌对碳源的利用率低, 因此一般控制总糖含量在 3%左右、还原糖 1.5%左右^[10]。本团队前期探究了不同碳源

对灵芝发酵产胞内多糖的影响^[11], 结果表明影响胞内多糖产量的碳源由高到低依次为葡萄糖、蔗糖、羧甲基纤维素、淀粉, 并且在葡萄糖浓度为 20 g/L 以下时胞内多糖得率最高为 1.12 g/L。李洁等^[12]研究了混合碳源对灵芝发酵多糖的抗肿瘤活性影响, 结果表明, 葡萄糖、半乳糖和甘露糖以质量浓度比 1:1:1 为碳源, 以及葡萄糖和半乳糖质量浓度比 1:1 时, 获得的发酵多糖对肿瘤抑制率可达 80%–85%, 显著高于以葡萄糖和半乳糖为碳源时的抑制率(50%–60%), 可见不同碳源对发酵产物生物活性也会产生一定影响。

氮源是核酸、蛋白质等生物合成的重要来源。常用的氮源有酵母膏、黄豆饼粉、花生饼粉、玉米粉、蛋白胨、玉米浆、鱼粉、麸皮、酒糟、尿素等。刘锡等^[13]对比了多种氮源对红托竹荪菌丝生长速度的影响, 结果表明有机氮源即蛋白胨、酵母膏更适合红托竹荪菌丝生长。本团队在前期研究中发现, 在灵芝发酵的基础培养基中采用不同酵母粉对有机氮源进行复配, 可提高灵芝三萜的产量, 使用 3 种酵母粉 N-1、N-2、N-3 复配后灵芝三萜产量可达 0.514 g/L, 比 3 种氮源的对照组分别提高了 30%、157%和 74%^[14], 即复合氮源比单一氮源富含更多可被

表 1 食药菌液体发酵培养基组成、培养条件和研究结果

Table 1 Medium composition, culture conditions and research outcome of liquid fermentation of edible and medicinal fungi

培养基组成 Composition of culture medium	研究内容 Research content	研究结果 Research outcome	参考文献 References
碳源 Carbon source	玉米粉、豆粕粉、葡萄糖 Corn flour, soybean meal, glucose 葡萄糖, 蔗糖, 淀粉, 羧甲基纤维素 Glucose, sucrose, starch, carboxymethylcellulose (CMC)	总糖 3%以内, 葡萄糖 1.5%左右 Total sugar no more than 3%, glucose around 1.5% 最适碳源葡萄糖(20 g/L), 胞内多糖产量 1.12 g/L The optimum carbon source glucose (20 g/L), intracellular polysaccharide (IPS) 1.12 g/L	[10] [11]

(待续)

(续表 1)

培养基组成 Composition of culture medium	研究内容 Research content	研究结果 Research outcome	参考文献 References
	葡萄糖, 半乳糖, 甘露糖 Glucose, galactose, mannose	最适碳源 2 g/L 的混合碳源, 对 A431 和 MDA-MB-231 的抑制率达 80% The optimum carbon source 2 g/L mixture of carbon source, inhibition rate over 80% on tumor cells A431 and MDA-MB-231	[12]
氮源 Nitrogen source	豆饼粉, 酵母粉, 酵母提取物, 蛋白胨, 氯化铵 Soybean meal, yeast powder, yeast extract, peptone, ammonium chloride	最适氮源酵母粉(12 g/L), 胞内多糖产量 1.30 g/L The optimum nitrogen source yeast powder (12 g/L), IPS 1.30 g/L	[11]
	氯化铵、磷酸氢二铵、碳酸氢铵、硝酸镁、硝酸钠、尿素、蛋白胨、酵母膏 NH ₄ CL, NH ₄ H ₂ PO ₄ , NH ₄ CO ₃ , Mg(NO ₃) ₂ , NaNO ₃ , urea, peptone, yeast extract	最适氮源蛋白胨, 菌丝重量 0.61 g The optimum nitrogen source peptone, mycelium weight 0.61 g	[13]
	酵母提取物 N-1、N-2、N-3 Yeast extract N-1, N-2, N-3	最适氮源 N-1 (5.07 g/L), N-2 (3.78 g/L), N-3 (7.63 g/L), 三萜产量 0.514 g/L The optimum nitrogen source N-1 (5.07 g/L), N-2 (3.78 g/L), N-3 (7.63 g/L), triterpene yield 0.514 g/L	[14]
	牛肉膏, 蛋白胨, 酵母提取物, 大豆提取物, 多肽, 胰蛋白胨 Beef extract, peptone, yeast extract, soy extract, polypeptone, tryptone	最适氮源胰蛋白胨, 胞外多糖 1.87 g/L; 酵母提取物为氮源, 生物量 5.93 g/L The optimum nitrogen source tryptone, EPS 1.87 g/L, yeast extract, mycelial growth 5.93 g/L	[15]
碳氮比 Carbon-to-nitrogen ratio	10:1–50:1 10:1–50:1	在 20:1–30:1 之间, 菌丝生长速度快 Carbon-to-nitrogen ratio 20:1–30:1, pleurotus ostreatus mycelial growth well	[16]
无机盐和微量元素 Inorganic salts and trace elements	磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠 KH ₂ PO ₄ , K ₂ HPO ₄ , NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄	最适无机盐 KH ₂ PO ₄ 2.5 g/L, 胞内多糖 1.19 g/L The optimum inorganic salts KH ₂ PO ₄ 2.5 g/L, IPS 1.19 g/L	[11]
	锌 Zn	富锌(678 mg/kg), 多糖含量 7.32% Zn ²⁺ concentration (678 mg/kg), polysaccharide content 7.32%	[17]
	硒 Se	富硒 Na ₂ SeO ₃ (20 mg/kg), 有机硒含量 520 mg/kg Na ₂ SeO ₃ (20 mg/kg), organic selenium content 520 mg/kg	[18]
外源物质 Exogenous substance	金属离子(K ⁺ , Mg ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ²⁺ , Ca ²⁺) Metal ion (K ⁺ , Mg ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ²⁺ , Ca ²⁺)	最适金属离子 Fe ²⁺ (0.2%), 菌丝体浓度 7.299 g/L, 多糖浓度 0.720 g/L The optimum metal ion Fe ²⁺ (0.2%), cell concentration 7.299 g/L, polysaccharides concentration 0.720 g/L	[19]
	中草药提取物(当归、党参、甘草、黄芪) Chinese herbs (<i>Angelica sinensis</i> , <i>Codonopsis pilosula</i> , <i>Glycyrrhiza uralensis</i> , <i>Radix astragali</i>)	最适中草药提取物当归(60 g/L), 三萜产量 964.63 mg/L The optimum Chinese herbs <i>Angelica sinensis</i> (60 g/L), triterpenoids 964.63 mg/L	[20]
	Tween-80	Tween-80 (0.25%), 胞外多糖含量 1.02 g/L Tween-80 (0.25%), EPS 1.02 g/L	[21]

微生物利用的物质,更有利于菌丝体和活性物质的合成。Long 等^[15]考察了 6 种氮源对灵芝胞外多糖产量的影响,结果发现,蛋白胨为氮源时 EPS 产量最高为 1.87 g/L,但菌丝体生物量较低,而当氮源为酵母粉时生物量最高为 5.93 g/L。该结果表明菌丝体生物量与活性产物的获得并不总是保持一致。

在合适的碳氮比下,菌丝体生长速度快,有利于代谢产物积累。王小谭^[16]考察了秀珍菇在不同碳氮比(10:1–50:1 范围内)下的菌丝生长速度、菌丝生物量和胞外漆酶活性,结果表明最适碳氮比为 20:1,过高的碳氮比会抑制菌丝生长。

无机盐和微量元素主要用于维持菌丝体生长、繁殖及细胞内相关蛋白的稳定性。常用的有钾、磷、镁、铁、硫等。也有研究表明,锌是人体内多种酶的组成部分,摄入不足会影响生长发育等;硒也是人体内谷胱甘肽过氧化物酶的重要成分,具有提高机体免疫和抗衰老作用,而硒和锌可通过食用菌液体发酵富集转化为对人体有益的有机态^[17-18]。

生长因子则根据食药菌的种类不同而有所差异,主要分为维生素类、氨基酸类、生物碱类,常用的有玉米浆和麦芽汁。比如在灵芝的生长过程中不能合成 V_{B1},必须从外界补充^[10]。

外源物质可增强机体的抗性,提高有效成分的含量,在液体发酵中对代谢产物的影响方面起着重要作用。常用的包括金属离子、稀土元素、中药材提取物、油脂类物质、信号分子、木质素等^[18-27]。叶盛权等^[19]对比了含有不同金属离子(K⁺、Mg²⁺、Zn²⁺、Fe²⁺、Ca²⁺)的培养基对灵芝液态发酵多糖含量的影响,结果表明含 Fe²⁺的培养基发酵获得的生物量和胞外粗多糖含量最高,分别为 7.299 g/L 和 0.720 g/L。赵小瑞等^[20]在灵芝液态发酵培养基中加入 4 种中草

药提取物(当归、党参、甘草、黄芪),发现四者在不同浓度范围内对灵芝三萜的产生有促进作用,尤其是在 60 g/L 的当归添加下,胞外三萜产量可达 964.63 mg/L。Yang 等^[21]研究了 Tween-80 的添加对灵芝深层发酵生产灵芝胞外多糖(EPS)的促进作用,Tween-80 的添加量为 0.25%时菌丝生物量和胞外多糖产量在第 3 天最高,分别提高 19.76%和 137.50%;添加 Tween-80 发酵的 EPS 相比不添加 Tween-80 发酵的 EPS 具有更好的抗氧化活性,对 DPPH 自由基的抗氧化能力更强。

1.1.2 工艺参数优化

食药菌液体发酵过程中也可通过对生物反应器的参数进行控制,改变菌丝体形态、酶的活性、提高生物量或目标产物产量。一般可以调控温度、pH、搅拌速度、溶氧(通气量)等。液体发酵的目的不同,调控手段也有所差别。以生产液体菌种为目标,即追求大量高活性的菌丝体时,对菌丝状态(大小形态、含量)有要求,因此需要控制菌丝体处在对数期到稳定期的过程,以获得最大的菌丝生物量;而以定向富集某种活性成分为目标时,则以获得高活性成分的菌丝体为目标。现有液体发酵的目标产物多为多糖、三萜和漆酶。表 2 总结了已有文献报道中多种食药菌优化液体发酵工艺条件。

温度可影响胞内不同生化反应的发生和速率,从而影响菌丝生长和代谢产物的合成。食药菌液体发酵的温度一般控制在 22–32 °C 之间。崔月花等^[30]通过两阶段温度控制发酵提高了桑黄菌丝生长和胞外多糖的产量,相比恒温培养提高了 58.8%和 12.7%。Feng 等^[47]对灵芝液体发酵过程中不同发酵阶段温度的调控研究表明,在 0–61 h 时,32 °C 有利于菌丝生长;62–127 h 时,温度从 31 °C 降到 30 °C 可促进三萜合成;128 h 后,维持 29 °C 有利于三萜的稳

表2 不同食药菌液体发酵工艺参数优化

Table 2 Optimization of liquid fermentation process of edible and medicinal fungi

菌种 Strain	发酵工艺 Fermentation process	研究结果 Research outcome	参考文献 References
灵芝 <i>Ganoderma lucidum</i>	pH 5.5, 转速 100 r/min, 周期 96 h pH 5.5, stirring speed 100 r/min, fermentation period 96 h	胞内多糖 2.65 g/L, 生物量 25.20 g/L [10] (50 L 发酵罐) IPS 2.65 g/L, biomass 25.20 g/L (50 L fermentor)	
	2 L 发酵罐, 30 °C, 转速 450 r/min, 起始 pH 值为 5.5, 发酵过程中控制 pH 值为 4.0. 2 L fermentor, 30 °C, 450 r/min agitation, initial pH 5.5, during fermentation-controlled pH at 4.0	胞外多糖产量 2.32 g/L EPS 2.32 g/L	[28]
	3 L 发酵罐, 26 °C, pH 自然, 通气量 180 L/h, 转速 100 r/min, 添加油酸, 发酵周期 7 d 3 L fermentor, 26 °C, natural pH, 180 L/h aeration, 100 r/min agitation, additional oleic acid, fermentation period 7 d	生物量 11.67 g/L, 三萜含量 28.66 mg/g Biomass 11.67 g/L, triterpenes content 28.66 mg/g	[29]
裂蹄木层孔菌 <i>Inonotus linteus</i>	7 L 发酵罐, 23 °C, pH 自然, 通气量 2 L/min, 转速 150 r/min, 两阶段温度控制 7 L fermentor, 23 °C, natural pH, 2 L/min aeration, 150 r/min agitation, two-stage temperature control	生物量和胞外多糖产量分别为 9.97 g/L 和 94.03 mg/L Mycelial biomass 9.97 g/L, extracellular polysaccharide (EPS) yield 94.03 mg/mL	[30]
蛹虫草 <i>Cordyceps militaris</i>	5 L 发酵罐, 25 °C, pH 自然, 通气量 1 vvm, 转速 100 r/min 5 L fermentor, 25 °C, pH nature, aeration rate 1 vvm, agitation rate 100 r/min	胞外多糖 1.686 g/L EPS 1.686 g/L	[31]
	pH 自然, 静置培养 28 d Natural pH, static culture for 28 d	虫草素含量 2.05 g/L Cordycepin 2.05 g/L	[32-33]
真姬菇 <i>Hypsizygus marmoreus</i>	5 L 发酵罐, 25 °C, pH 6.0, 通气量 3 L/min, 鼓气式发酵 5 L fermentor, 25 °C, pH 6.0, 3 L/min aeration, aeration fermentation	液体菌种菌丝球的菌丝密度为 165 个/mL, 生物量为 17 g/L Liquid mycelial pellets density 165 spores/mL, biomass 17 g/L	[34]
灰树花 <i>Grifola frondosa</i>	10 L 气升式发酵罐, 25 °C, pH 4.5, 转速 100 r/min 10 L airlift bioreactor, 25 °C, pH 4.5, 160 L/min aeration, 100 r/min rotation	菌丝体生物量 1.65 g/100 mL Biomass 1.65 g/100 mL	[35]
蜜环菌 <i>Armillaria mellea</i>	600 mL 摇瓶, pH 5.0, 消泡剂(豆油) 0.1%, 培养周期 6 d 600 mL flask, pH 5.0, soybean oil 0.1%, fermentation period 6 d	胞外多糖含量 0.485 g/L, 菌丝体含量 20.8 g/L EPS 0.485 g/L, biomass 20.8 g/L	[36]
蒙古口蘑 <i>Tricholoma mongolicum</i>	pH 6.5, 温度 25 °C, 转速 150 r/min pH 6.5, 25 °C, 150 r/min agitation	胞内多糖 1.180 g/L, 胞外多糖 1.078 g/L IPS 1.180 g/L, EPS 1.078 g/L	[37]
松口蘑 <i>Tricholoma matsutake</i>	500 mL 摇瓶, pH 5.0, 25 °C, 转速 160 r/min, 接种量 10%, 发酵周期 10 d 500 mL flask, pH 5.0, 25 °C, rotating speed 160 r/min, inoculating amount 10%, fermentation period 10 d	生物量 12.94 g/L Biomass 12.94 g/L	[38]

(待续)

(续表 2)

菌种 Strain	发酵工艺 Fermentation process	研究结果 Research outcome	参考文献 References
裂褶菌 <i>Schizophyllum commune</i>	7 L 发酵罐, pH 自然, 温度 27 °C, 接种量 10%, 转速 200 r/min, 通气量 100 L/h, 发酵周期 3 d 7 L fermentor, natural pH, 27 °C, inoculum 10%, 200 r/min agitation, 100 L/h aeration, fermentation period 3 d	胞外多糖为分子量为 40 kDa 的 β -D-葡聚糖 EPS were purified to be β -D-glucan with MW of 40 kDa	[39]
红托竹荪 <i>Dictyophora rubrovolvata</i>	25 °C, 转速 150 r/min, 发酵周期 15 d 25 °C, 150 r/min, fermentation period 15 d	生物量 3.105 7 g/L Biomass 3.105 7 g/L	[40]
棘托竹荪 <i>Dictyophora indusiata</i>	pH 5.5–6.5, 发酵周期 9 d pH 5.5–6.5, fermentation period 9 d 50 L 发酵罐, 26 °C, 转速 100 r/min, 通气比 1.0 vvm, 培养周期 144 h 50 L fermentor, 26 °C, 100 r/min agitation, aeration ratio 1.0 vvm, fermentation period 144 h	生物量 1.123 5 g/100mL Biomass 1.123 5 g/100mL 胞内多糖最高为 1.43 g/L The highest IPS was 1.43 g/L	[41] [42-43]
羊肚菌 <i>Morchella</i> spp.	pH 6.0, 温度(24 \pm 1) °C, 接种量 10%, 转速 140 r/min, 发酵周期 6 d pH 6.0, (24 \pm 1) °C, inoculum 10%, 140 r/min agitation, fermentation period 6 d	生物量 14.11 g/L; 多糖含量 268.9 mg/L (114 h) Biomass 14.11 g/L; EPS 268.9 mg/L (114 h)	[44]
松茸 <i>Tricholoma matsutate</i>	pH 6.0, 26 °C, 转速 150 r/min, 发酵周期 5 d, pH 6.0, 26 °C, 150 r/min agitation, fermentation period 5 d	生物量 10.4 g/L Biomass 10.4 g/L	[45]
鼎湖鳞伞 <i>Pholiota dinnghuensis</i>	pH 自然, 28 °C, 转速 150 r/min, 通气量 0.75 vvm, 培养周期 8 d pH natural, 28 °C, 150 r/min agitation, aeration ratio 0.75 vvm, fermentation period 8 d	生物量 10.98 g/L Biomass 10.98 g/L	[46]

定合成, 产量可达 0.269 g/L。乔双逵等^[48]发现灵芝液态发酵过程中不同培养温度条件也会影响胞外多糖的抗肿瘤作用, 当培养温度为 30 °C 时, 所得胞外多糖对小鼠肝癌细胞 Hepa1-6 和人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制作用最大。

发酵培养基的 pH 值一般在 5.0–6.5 之间, 大部分食药真菌的发酵过程中, pH 会随着发酵进程而降低, 菌丝体会停止生长并产生自溶现象。通过调控 pH 可提高不同活性物质的产量。李平作等^[28]研究了灵芝液体发酵过程中 pH 值对灵芝胞外多糖的影响, 结果表明, 初始 pH 为 5.5 时有利于胞外多糖的形成, 发酵过程中控制 pH 值为 4.0 时, 胞外多糖产量达 2.32 g/L, 相比未调控 pH 时的 1.87 g/L 提高了 24%。本团

队在灵芝液态发酵过程中提出了四阶段 pH 控制策略, 获得菌丝体干重 14.18 g/L, 三萜产量 279.59 mg/L^[49]。乔双逵等^[48]研究了初始 pH 对灵芝菌丝体形态、胞外多糖产量及其抗肿瘤活性的影响, 结果表明, 初始 pH 值较高时(5.0–7.0)有利于胞外多糖的合成, pH 值较低时(3.0–4.0)有利于菌体的生长, 初始 pH 4.0 条件下获得的胞外多糖对小鼠肝癌细胞 Hepa1-6 和人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 具有更高的抑制作用。

搅拌有利于基质的混合和气泡的消除以加强溶氧。转速过低会导致溶氧降低, 菌丝生长缓慢, 过高的转速则会导致剪切力的提高而造成细胞损伤。Wang^[31]在蛹虫草的发酵培养中综合考虑生物量和胞外多糖产量, 确定最适

的搅拌转速 100 r/min。本团队在灵芝液态发酵的过程中,在发酵前 40 h,调整转速为 150 r/min,40 h 后调整为 100 r/min,得到三萜含量为 0.720 mg/100 mg^[50]。

溶氧的控制可通过无菌空气的通入量实现。前期菌丝量较少时,通气量可减少;发酵中期,需要加大通气量并提高搅拌速度以增加溶氧促进菌丝生长;发酵后期,菌丝生长稳定并进入次级代谢产物合成期,需氧量再次减少,可减少通气。王焱等^[34]对用于生产液体菌种的真姬菇液体发酵的 pH 和通气量进行优化,结果表明最适 pH 值为 6.0,最佳通气量为 3 L/min。本团队前期也在 5 L 发酵罐中考察通气量对灵芝液态发酵的影响,结果发现,当通气量为 9 L/min 时最大菌丝体得率达 15.42 g/L,通气量为 8 L/min 时灵芝三萜得率为 0.204 g/L,通气量为 6 L/min 时胞内多糖得率最高为 2.10 g/L,进一步提出了四阶段通气量调控策略,以提高生物量和胞内多糖得率^[51-52]。

1.2 食药菌液体发酵技术存在的瓶颈

随着食药菌液体发酵技术研究的不断深入,其在工业生产中应用的优势逐步得到认可,但由此带来的技术瓶颈问题也逐渐显现。食药菌液体发酵技术的瓶颈可以概括为 3 个方面。

(1) 食药菌液体发酵技术以实现工业化应用为目的,但规模化放大的应用研究较少。其中,工业化生产中使用的培养基与实验室规模(摇瓶和小型发酵罐)的培养基种类差别较大。食药菌液体规模化发酵培养基使用的碳源主要以淀粉和糖蜜类为主,氮源主要以豆粕、玉米粉、麸皮等农产品副产物为主。现有的优化研究一般都限于实验室规模,而且不同于工业化应用的培养基,放大研究较少。这就导致在培养基优化过程中往往对成本考虑不够全面,如实验室规模研究中常用的氮源酵母粉和酵母

膏,在工业上应用的可能性较小,与后续生产应用相脱节。此外,即使采用相同原料,放大实验是否会取得同样的效果也需考虑。

(2) 食药菌液体发酵用菌株多来源于栽培用菌株,在工业化发酵应用中的适应性缺乏相关的研究。同时,在食药菌发酵工艺放大的优化过程中,工艺本身还存在一定的提高空间,现有的食药菌发酵工艺是从其他微生物借鉴过来的,有很大的局限性。在实验室摇瓶和小试发酵罐获得的发酵工艺放大到工业化应用规模的研究也较少,另外,传统的分批发酵也应逐渐开展从补料分批发酵到连续发酵过渡的研究。本团队前期研究了 4 种补料方式对灵芝三萜合成影响,结果表明,指数补料方式获得的菌丝体干重达 17.68 g/L,灵芝三萜含量达 4.58 g/100 g 干菌丝体,比分批发酵提高了 65.70%和 100.88%^[53]。Wei 等^[54]通过补料蔗糖对灵芝菌丝体在 300 L 反应容器中的发酵进行研究,结果表明生物量达 25.5 g/L、胞外多糖 2.9 g/L、胞内多糖 4.8 g/L。Wang 等^[31]通过对蛹虫草重复分批发酵,结果表明单次发酵胞外多糖产量为 1.686 g/L,而重复分批发酵可以提高胞外多糖的产量达 5.713 g/L。Tang 等^[55]在灵芝摇瓶发酵中对 pH 和溶氧采取两阶段控制,同时在低转速下结合补料发酵,获得最大生物量 22.62 g/L、胞内多糖含量 4.74 g/L、灵芝酸 798.0 mg/L;逐步将发酵规模从摇瓶发展到 7.5、20、200 L 发酵罐中,并维持产物趋势的稳定性。

(3) 食药菌液体发酵现有设备的不适应性,使食药菌液体发酵的工业化应用还有进一步的提高空间。工业发酵常用的生物反应器有搅拌式和鼓气式两种。食药菌由于其自身代谢的特性,对溶解氧的要求较高;而且多种食药菌菌丝体对剪切力较为敏感,与搅拌式发酵罐相比,采用鼓气式发酵罐更有利于菌球

的形成^[56]。此外, 通过对探头的改进、创新, 增加可对中间产物、尾气进行检测的装置将进一步加快液体发酵技术的发展。此外, 现有研究采用的生物反应器规模一般为实验室的小试和中试规模, 放大后实验后还需进一步验证试验。

2 食药菌液体发酵的主要成分及功效研究

食药菌菌丝体生长过程中的代谢会分泌大量营养和活性成分, 不仅可以从菌丝体和胞外液中提取获得, 而且含有多糖、三萜、蛋白质、氨基酸、维生素、生物碱、甙类、甾醇类、黄酮类及抗生素等多种活性物质, 其中以三萜、多糖和蛋白质的研究最为广泛, 它们在免疫调节、抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、降糖降脂等多个方面发挥生物活性作用。

2.1 食药菌液体发酵的主要成分

2.1.1 多糖类

食药菌液体发酵多糖可分为胞内多糖 (intracellular polysaccharide, IPS) 和胞外多糖 (extracellular polysaccharide, EPS), 按糖组成可分为葡聚糖和杂多糖。葡聚糖以单一葡萄糖组成, 在空间构象上有 α 构型和 β 构型之分, 食药菌中活性葡聚糖多以 β 构型为主; 杂多糖则由多种单糖按不同摩尔比组成, 食药菌菌丝体的单糖组成多为果糖、木糖、甘露糖、核糖等^[57]。

发酵多糖具有抗肿瘤、提高免疫、抗氧化等功能。Jing 等^[58]从杏鲍菇中分离的两个不同分子量的胞外多糖组分具有抗氧化、抗肿瘤作用, 溶解度更好的低分子量胞外多糖具有较高活性。Assis 等^[59]发现侧耳菌的胞内外多糖都具有抗肿瘤活性。罗钦等^[60]对灵芝菌株进行液体发酵, 通过分离纯化获得的胞外均一多糖 EPS-2-1

和胞内多糖 IPS-2-1 具有对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除能力, 而且胞外多糖的抗氧化能力较好。Du 等^[61]从裂褶菌深层发酵菌丝体中分离出分子量为 2 900 kDa 的胞外多糖, 该多糖具有体外抑制 LPS 诱导的一氧化氮合成酶的表达水平, 具有一定的抗炎活性。

2.1.2 三萜类

食药菌三萜是羊毛甾烷类衍生物, 按照碳原子数可分为 C24、C27 和 C30; 根据结构可分为四环三萜和五环三萜; 依据官能团和侧链的不同, 可分为灵芝酸、灵芝醇、灵芝醛和灵芝内酯等, 其中以灵芝酸和灵芝醇类为主; 按极性又可分为中等极性三萜和低极性三萜^[62]。

菌丝体三萜类化合物的活性以抗肿瘤、抑菌为主。朱晓璐等^[63]采用硅胶柱色谱层析、反相柱层析和甲醇重结晶的方法从灵芝液体发酵菌丝体中分离获得的 4 个三萜类化合物都具有抑制肿瘤细胞 K562 和 L1210 增殖的效果。蔡程山^[64]研究了桑黄发酵总三萜的抑菌作用, 结果表明, 桑黄总三萜提取物对 Y35 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌均有抑制作用; 抗肿瘤试验结果表明, 该提取物能明显抑制结肠癌细胞 Caco-2 的增殖, 流式细胞术分析发现其阻滞了细胞周期, 诱导 Caco-2 的程序性凋亡; 抗氧化结果显示, 300 $\mu\text{g/mL}$ 总三萜提取物对羟基自由基、超氧阴离子、DPPH 自由基、ABTS 的清除能力都达到了 90% 以上。周旭等^[65]利用高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术 (HPLC-ESI-MS) 从三萜类提取物中发现 5 种具有抑制脂肪氧化酶的三萜成分。

2.1.3 蛋白质类

食药菌中富含丰富的蛋白质, 含量一般在 20%–50% 之间 (干重), 而且必需氨基酸占比合适^[66]。Kurbanoglu 等^[67]对在公羊角水解液中

双孢菇的深层培养进行研究,其蛋白质浓度为47%;通过氨基酸分析表明,双孢菇蛋白中含多种必需氨基酸,具有较高的营养价值。Rahgo^[68]对伊朗北部获得的一个新羊肚菌的发酵培养基优化后,蛋白质含量可达38%(其中必需氨基酸达到28.7%)。

食用菌蛋白质的营养评价指标有多种,如生物学评价、非生物学评价、基于必需氨基酸组成和消化率的综合性评价等。Gang等^[69]对蛹虫草液体发酵的蛋白质和氨基酸进行了评价,其蛋白质含量为21.1%,其氨基酸评分AAS、化学评分CS、必需氨基酸指数EAAI、生物价BV、营养指数NI、氨基酸相关比例SRCAA分别为62.41、38.74、88.37、84.63、18.61和25.57,其蛋白质比虫卵总必需氨基酸的模式值高2.52%,比FAO/WHO模式值高45.57%。

2.2 食药两用菌液体发酵与栽培中的主要成分比较

食药两用菌子实体中分离的主要活性成分为多糖、三萜、蛋白、生物碱、甾醇等,这些活性物质在抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、降糖降脂等方面发挥着作用^[70-71]。通过液体发酵分离的有效成分种类与子实体基本一致,甚至某些重要活性成分如多糖含量还高于子实体,但在一些研究中也表明子实体中也具有一些菌丝体中没有的成分如部分三萜类物质等。刘艳芳等^[72]对白肉灵芝子实体和液体发酵菌丝体的多糖、三萜、糖醇、核苷含量等进行比较,结果发现菌丝体多糖含量较高,为1.54%,显著高于子实体0.79%–0.87%;菌丝体多糖的分子量分布在 2.31×10^5 ,而子实体多糖分子量分布较宽在 3.27×10^4 – 1.95×10^6 之间;两者皆含有阿拉伯糖醇和甘露醇,菌丝体中还含有少量赤藓糖醇,菌丝体的核苷种类少于子实体,但胞苷、鸟苷、腺苷的含量高于子实体的;子实体中测出10种

已知三萜,菌丝体中只测出灵芝酸A和灵芝酮三醇,但其含量较高。张李阳等^[73]也发现灵芝发酵菌丝体与子实体中具备相同组分,但含量有所不同,菌丝体的粗多糖和多糖含量是子实体的2.26倍和3.5倍,粗蛋白含量是子实体的2.47倍,子实体的必需氨基酸占总氨基酸的58.4%,而菌丝体中该比例为45.2%。

研究表明,以不同营养价值评价标准评价食药两用菌中的蛋白质及氨基酸可能会有不同的结果。席亚丽等^[74]对荷叶离褶伞子实体和菌丝体蛋白质进行评价,发现子实体和菌丝体营养价值的高低略有不同,如子实体蛋白质的氨基酸组成更接近于标准鸡蛋蛋白的氨基酸组成,但菌丝体蛋白质氨基酸组成更接近FAO/WHO模式;然而以蛋白质营养均衡性作评价,菌丝体的营养价值优于子实体,子实体的必需氨基酸占比为40.2%,高于菌丝体的35.3%;菌丝体中部分氨基酸如赖氨酸、亮氨酸等高于子实体,其他氨基酸含量与子实体接近;菌丝体发酵液中蛋白质含量较低,只有缬氨酸、酪氨酸等6种氨基酸;菌丝体的化学评分、氨基酸评分分别为73.4和80.2,显著高于子实体的45.4和57.8,必需氨基酸指数子实体为76.8,菌丝体为70.7,菌丝体蛋白的营养价值略低于子实体,但子实体的营养指数16.4小于菌丝体的20.0。

表3总结了不同文献中食药两用菌菌丝体和子实体营养成分的比较,结果表明子实体和菌丝体中营养成分差异不大。除竹荪外,其他品种的菌丝体总糖都高于子实体;除灰树花外,其他品种的菌丝体蛋白含量都高于子实体;表3所列举的食药两用菌的菌丝体粗纤维都低于子实体,也反映出菌丝体可能更利于人体吸收利用。

2.3 食药两用菌液体发酵产物的生物活性

食药两用菌液体发酵菌丝体及胞外液提取物

表 3 不同食药菌子实体与发酵菌丝营养成分差异(g/100 g 干重)

Table 3 Nutrient composition difference between fruit body and fermented mycelia of different edible and medicinal fungi (g/100 g dry weight)

品种 Variety	来源 Origin	粗蛋白 Crude protein	纯蛋白 Protein	粗脂肪 Fat	粗纤维 Fiber	灰分 Ash	总糖 Total sugar	多糖 Polysaccharide	参考文献 References
荷叶离褶伞 <i>Lyophyllum decastes</i>	发酵菌丝 Mycelia (M)	28.3	—	2.78	5.32	6.06	54.7	1.77	[74-75]
	子实体 Fruitbody (F)	21.4	—	1.44	9.52	13.6	53.04	3.55	
灵芝 <i>Ganoderma lucidum</i>	M	27.42	19.22	8.12	1.06	6.98	30.54	—	[76]
	F	8.88	6.22	6.6	18.10	5.54	22.34	—	
紫芝 <i>Ganoderma sinense</i>	M	30.02	21.04	8.34	1.94	4.26	29.46	—	
	F	16.39	11.48	7.80	14.6	3.70	17.00	—	
川芝 6 号 <i>Ganoderma lucidum</i> (Chuanzhi No.6)	M	29.95	20.99	9.77	1.22	11.44	22.60	—	
	F	15.66	10.97	8.60	13.70	3.09	19.60	—	
灰树花 <i>Grifola frondosa</i>	M	21.70	—	2.53	10.34	6.05	57.20	—	[77]
	F	31.50	—	1.70	10.70	6.41	49.70	—	
竹荪 <i>Dictyophora indusiata</i>	M	24.82	—	2.09	6.60	—	51.50	—	[78]
	F	17.87	—	0.63	11.47	—	54.98	—	

—表示未检测

— means not detected.

在抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、抗菌、抗病毒等多方面发挥着活性作用。

2.3.1 抗肿瘤

食药菌的抗肿瘤作用表现在对肿瘤发生的预防和已产生肿瘤的杀伤作用。高虹等^[79]对巴西蘑菇发酵菌丝体醇提物的体内体外抑瘤活性进行了研究, 结果表明该提取物对人肝癌细胞 Bel-7402 的半抑制浓度为 1 507 $\mu\text{g/mL}$, 对 S180 荷瘤小鼠的肿瘤抑制也有一定作用, 生命延长率达 52.94%。黄静等^[80]发现松杉灵芝菌丝体和发酵液可通过提高小鼠的免疫功能, 从而达到抑制 H22 肝腹水瘤细胞的增殖作用。Fijatowska 等^[81]发现药用拟层孔菌菌丝体中含有的呋喃类、酚类和甾醇类化合物对 A549 肺癌、DU145 前列腺癌、A376 黑色素瘤细胞具有一定的抗氧化和抑制增殖的效果。于湘丽^[45]研

究了松茸粗多糖对 3 种人类肿瘤细胞的抑制率作用, 结果表明 10 mg/mL 多糖对黑色素瘤 B16、肝癌细胞 SMMC7721 和宫颈癌细胞 Hela 的抑制率分别为 63.54%、62.43%和 57.81%。朱晓璐等^[63]从灵芝液体发酵菌丝体中分离获得的 4 个三萜类化合物能有效抑制肿瘤细胞 K562 和 L1210 的增殖。李平作等^[28]对灵芝多糖和四环三萜酸抗肿瘤效果的研究结果表明, 单一多糖的平均抑制率为 51.2%, 混合样品达到 68.0%。该结果为发酵产品的有效复合使用提供了借鉴。

2.3.2 免疫调节

食药菌多糖的免疫调节作用也是其发挥其他功能如抗肿瘤作用的基础。李兆兰等^[82]分离的裂褶菌胞内均一多糖 SPG 具有恢复老龄小鼠脾淋巴细胞的增殖反应, 加强二硝基氯苯所

致小鼠迟发性皮肤过敏反应, 增强羊红细胞诱导的小鼠脾脏孔板形成细胞到成年小鼠的水平, 提高老龄小鼠的细胞免疫和体液免疫功能。李作美^[46]从鼎湖鳞伞液体发酵菌丝体中分离出 3 种均一多糖并在小鼠模型体内进行了免疫活性研究, 结果发现 3 种多糖可以恢复因环磷酰胺诱导产生的免疫力, 同时提高脾脏指数、迟发型超敏反应的耳肿胀度, 以及脾脏和血清中溶菌酶的活性。Carrieri 等^[83]从灵芝菌丝体中提取得到的水溶性杂多糖 GLP-3 可以被 toll 样受体识别, 通过激活巨噬细胞 RAW264.7 中的 MAPKS、PI3K/Akt 和 NF- κ B 信号通路来发挥免疫调节作用。

2.3.3 抗氧化

多种食药菌菌丝体及胞外液提取物具有抗氧化作用。胡文继^[84]从猴头菌发酵菌丝体中纯化的分子量为 36.1 kDa 的不规则线性均一多糖 PHEB, 具有改善阿兹海默病小鼠脑中的神经元损伤的作用。李作美^[46]从鼎湖鳞伞发酵菌丝体中纯化出 3 个多糖组分, 具有清除过氧化氢、DPPH 自由基、羟基自由基的抗氧化活性, 以及螯合亚铁离子(Fe^{2+})的作用。刘雨婷^[85]研究发现桦褐孔菌胞外多糖对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除活性优于菌丝体多糖。张强等^[86]采用碱溶酸沉法提取的羊肚菌菌丝体蛋白, 具有清除过氧化氢、DPPH 自由基、羟基自由基的抗氧化活性的作用, 其总抗氧化能力和还原力的 IC_{50} 值分别为 6.93 mg/mL 和 4.24 mg/mL。

2.3.4 抗菌及抗病毒

研究表明多种食药菌发酵液及发酵液提取物对常见的细菌有抑制作用。窦会娟等^[87]研究了香菇、鸡腿菇等 7 种常见食药菌液体发酵液对 3 种耐药菌肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌的抑菌效果, 结果表明各食药菌发酵液对金黄色葡萄球菌具有较好的抑菌

活性, 其中, 金针菇发酵液的抑菌圈直径最大为 6.733 mm, 抑菌率为 58.586%; 各食药菌发酵液对肺炎链球菌的抑菌活性较低, 鸡腿菇发酵液的抑菌圈直径最大为 4.433 mm, 抑菌率最高为 30.370%; 各食药菌发酵液对大肠杆菌的抑制率都小于 10%, 抑菌效果不佳。

2.4 食药菌液体发酵菌丝体与栽培子实体中活性物质功效比较

食药菌的子实体和菌丝体营养成分或比例上的差异, 造成其具有不同功效或功效水平也具有一定差别, 这也为企业选择合适的产品进行开发提供了依据。由于不同品种、不同栽培或发酵条件下产物的差异, 现有研究针对同一品种的发酶产物与栽培产物的功效对比较少, 现总结于表 4 中。于华崢等^[88]研究表明, 灵芝 (G0109) 菌丝体多糖在刺激巨噬细胞 Raw264.7 生成 NO 的效果要好于子实体多糖, 特别是在低剂量作用下, 这可能与两者在多糖含量、分子量、单糖组成及构型上的差异有关。蔡梦婷等^[89]对灵芝子实体和菌丝体的抗氧化活性进行了考察, 发现子实体水提液对羟基自由基的清除能力最强, 菌丝体水提液对过氧化氢的清除能力最强。张俊峰等^[90]对桑黄发酵菌丝体与子实体在石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇 4 个萃取相的成分和活性差异进行了研究, 结果表明菌丝体醇提物的总黄酮含量高于子实体, 菌丝体各萃取相抗氧化活性高于子实体, 而子实体抗肿瘤活性高于菌丝体, 并发现抗氧化活性和总黄酮含量显著相关。陈艳芳等^[91]通过优化刺芹侧耳菌丝体蛋白的碱提酸沉提取方式, 在最佳提取条件下, 菌丝体蛋白提取率达 39.02%, 其乳化性为 48%, 高于子实体蛋白 (6%), 但子实体蛋白的起泡性更好, 该结论也为刺芹侧耳菌丝体蛋白和子实体蛋白的区分应用提供借鉴。

表 4 不同食药菌子实体与发酵菌丝活性差异比较

Table 4 Comparison of bioactivity difference between fruit body and fermented mycelia of different edible and medicinal fungi

品种 Variety	来源 Origin	成分 Component	主要差异 Differences	活性功能 Bioactivity	参考文献 References
灵芝 G0109 <i>Ganoderma lucidum</i> G0109	发酵菌丝 Mycelia (M)	多糖 3.81% Polysaccharide content 3.81%	单糖组成: 葡萄糖、半乳糖; 分子量 1.412×10 ⁴ Da Monosaccharide composition: glucose, galactose; Mw: 1.412×10 ⁴ Da	刺激巨噬细胞 Raw264.7 生成 NO Stimulating macrophage	[88]
	子实体 Fruitbody (F)	多糖 0.59% Polysaccharide content 0.59%	单糖组成: 葡萄糖; 分子量 1.423×10 ⁴ Da、1.153×10 ⁴ Da Monosaccharide composition: glucose; Mw: 1.423×10 ⁴ Da, 1.153×10 ⁴ Da	RAW264.7 to release NO	
	M	水提液 Water extract	对过氧化氢的清除率 80.2% Hydrogen peroxide scavenging rate 80.2%	抗氧化能力 Antioxidant	[89]
	F	水提液 Water extract	对羟基自由基的清除率 62.9% Hydroxyl radical scavenging rate 62.9%		
	M	有机溶剂萃取 Organic solvent extract	对 DPPH、ABTS-阳离子清除率与黄酮 含量相关, 且整体优于子实体 DPPH radical and ABTS ⁺ radical scavenging rate correlated with total flavonoid content, the antioxidant activity is better than fruit body	抗氧化性、抗 肿瘤活性 Antioxidant and antitumor activity	[90]
桑黄纤孔菌 <i>Sanghuangporous sanghuang</i>	F	有机溶剂萃取 Organic solvent extract	子实体对肝癌细胞 HepG2 的抑制率高 于菌丝体 Have a better antitumor activity on inhibiting HepG2 cells		
刺芹侧耳 <i>Pleurotus eryngii</i>	M	蛋白纯度 68.3% Protein purity 68.3%	溶解性好, 乳化性好(48%) Better solubility and emulsifying activity 48%	蛋白功能特性 Functional properties of proteins	[91]
		蛋白纯度 61.85% Protein purity 61.85%	持水性好, 起泡性好 Better water holding capacity and foaming property		
	F	蛋白纯度 61.85% Protein purity 61.85%			

3 展望

食药菌富含丰富的营养物质, 但由于菌种、产地、气候、原料、栽培技术、生产加工、保藏等因素的差异, 使得野生采摘和人工栽培子实体的功效成分和含量变化较大。而食药菌的液体深层培养可通过对菌种、培养基质、环境等的控制使菌丝体处在最佳的生长环境下, 使其得以快速分裂生长, 同时通过调控也可定向获得高产量的活性物质。大量研究结果也表明菌丝体的营养成分与子实体类似, 因此,

利用液体发酵技术进行食药菌相关产品的工业化生产有广阔的前景。未来食药菌液态发酵的研究可以从两个方面重点展开研究。

3.1 食药菌液体发酵技术瓶颈的突破

食药菌液体发酵技术瓶颈的突破包括优质的菌株和规模化的发酵罐培养。从现有的研究情况来看, 食药菌液体发酵技术还存在一些瓶颈亟待解决。

1) 工程用优质菌株的选育

通过育种技术获得符合工业生产要求的优质菌株, 是提高食药菌液体发酵经济效益的

一个重要方向。可通过诱变、原生质体融合及基因工程对现有菌种进行改造,以改变其营养价值、风味、外观颜色等。目前,食药菌发酵工业使用的菌株多来源于栽培用菌株,菌株的适应性和稳定性差别较大,工业化生产应用极不稳定。李艳丽等^[92]对刺芹侧耳原生质体进行紫外诱变,获得了高产胞内胞外多糖和漆酶的菌株。杨珊等^[93]通过常压室温等离子诱变技术筛选出高产多糖的猴头菇菌株 321。此外品种选取也格外重要,菌丝体作为原料的进一步开发,必将受到市场上子实体原料的价格竞争。因此更应选取野外采摘难、人工栽培不易获取的菇类或是具有高经济价值代谢产物的菇类。比如冬虫夏草等名贵食用菌,其野生资源稀缺,人工栽培条件不成熟,通过液体发酵技术获得的具有活性成分虫草素的菌丝体弥补了资源的紧张。目前产业化的冬虫夏草菌丝体保健食品也已走进了千家万户。

2) 食药菌液体发酵设备的设计及规模化培养研究

对食药菌菌丝体的进一步开发要求其在生物反应器中达到规模化生长,获得的生理活性物质与小试规模具有相同或更好的产量。目前的生物反应器并不完全适合食药菌菌丝体的生长,要想开发出适合食用菌的生物反应器,就必须对食用菌液体深层发酵过程动力学及生长生理学有深入的认识。但随着计算机及检测技术的进步、图像分析系统及微电极等在发酵研究中的应用也日趋广泛,可以对重要的发酵参数进行实时检测,从而能更清楚地反映菌体在发酵罐内的生长方式、影响因素及其生理生化过程。随着这些研究的深入,才能更好地优化发酵条件并设计出适合食用菌菌丝体生长的发酵设备。

3) 对于食药菌工业化发酵技术的提升 食用菌种类繁多,从现有的报道中很

难总结出食用菌深层发酵的普遍特性;对于在发酵过程中各种因素对食用菌生长和代谢产物产生影响的机制进行深入研究的报道不多。加强根据食药菌生理生化特点应用中间补料,以及进一步过渡到连续发酵的方式,优化食药菌工业化发酵用培养基组成,提高产物的得率和生产率、降低成本,使更多的食用菌液体发酵产品走向商品市场。

3.2 食药菌液体发酵产品应用领域的拓展

食药菌液态发酵的产物主要包括菌丝体来源的胞内产物和胞外液有效成分。目前食药菌深层发酵产物的应用除了菌种制备外,主要用于食品/饲料、药品、日化用品的开发。在食品方面,已开发出具有增强活力的功能性固体饮料 MUD/WTR;在药品方面,已开发出可缓解慢性肾病的百灵胶囊(蛹虫草菌粉)、治疗慢性肝炎的云星胶囊(云芝菌粉)、猴头菌片(猴头菌丝体);在日用品领域,已有多种菌丝体提取物添加至化妆品(如御泥坊灵芝面膜)、洗护产品中,发挥美白、抗老等功效。但由于目前菌丝体的应用领域有限,市场上同类产品中以子实体为原料的产品更为常见。

现有食药菌真菌深层发酵的研究一般以菌丝生物量、总糖和总三萜产量为指标,对具有活性功能因子的挖掘程度还不足。未来,高附加值的保健食品、成分功效明确的药品是食药菌菌丝体进一步开发和应用的重要发展方向。因此,我们可从以下几方面进行深入研究:(1) 加大以药理活性为目标筛选合适的食药菌真菌品种,同时对其活性物质的合成途径进行深入研究。(2) 深入研究食药菌中功能因子的挖掘与开发,通过优化发酵产物分离技术,更好地提供稳定的活性物质。(3) 通过发酵调控手段,提高活性物质的产量。

REFERENCES

- [1] 游明乐. 中国食(药)用真菌发酵工程研究进展[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 327-331.
YOU ML. The food Chinese (medicine) uses the fungus fermentation engineering research progress[J]. Microbiology China, 2007, 34(2): 327-331 (in Chinese).
- [2] WU F, ZHOU LW, YANG ZL, BAU T, LI TH, DAI YC. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species[J]. Fungal Diversity, 2019, 98(1): 1-76.
- [3] 魏滔, 张长生, 陈琼华, 周玉萍, 田长恩. 灵芝真菌液体发酵及其产物应用的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(1): 336-351.
WEI T, ZHANG CS, CHEN QH, ZHOU YP, TIAN CE. Liquid fermentation of *Ganoderma* and application of its products[J]. Microbiology China, 2022, 49(1): 336-351 (in Chinese).
- [4] 王谦, 胡卫静. 大型食药菌真菌深层发酵研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 1240-1246.
WANG Q, HU WJ. Research progress on submerged fermentation of macroscopic edible fungi[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016, 7(3): 1240-1246 (in Chinese).
- [5] 邢燕, 杨晓彤, 杨庆尧. 灵芝液体深层发酵研究进展[J]. 工业微生物, 2007, 37(3): 63-67.
XING Y, YANG XT, YANG QY. Recent advances in liquid submerged fermentation for *Ganoderma* mushroom[J]. Industrial Microbiology, 2007, 37(3): 63-67 (in Chinese).
- [6] 郭尚, 王慧娟. 食用菌深层发酵技术及其应用[J]. 山西农业科学, 2013, 41(8): 885-888.
GUO S, WANG HJ. Submerged fermentation technology of edible fungus and its application[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2013, 41(8): 885-888 (in Chinese).
- [7] 杜德清, 王丽霞, 陈志生. 液体深层发酵技术在食用菌方面的应用[J]. 浙江林业科技, 2003, 23(3): 83-85.
DU DQ, WANG LX, CHEN ZS. Application of fermentation technique in edible mushroom cultivation[J]. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 2003, 23(3): 83-85 (in Chinese).
- [8] HUMFELD H, SUGIHARA TF. Mushroom mycelium production by submerged propagation[J]. Food Technology, 1949, 3: 353.
- [9] 上海市卫生局. 猴菇菌片[J]. 中草药通讯, 1978(1): 29-30.
Shanghai Health Bureau. Hougujun Pian[J]. Zhongcaoyao Tongxun, 1978(1): 29-30 (in Chinese).
- [10] 胡焕荣. 灵芝菌丝体深层发酵工业化生产的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(2): 196-198.
HU HR. Study on commercial production from deep submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* mycelia[J]. Food Science, 2006, 27(2): 196-198 (in Chinese).
- [11] FENG J, FENG N, TANG QJ, LIU YF, YANG Y, LIU F, ZHANG JS, LIN CC. Optimization of *Ganoderma lucidum* polysaccharides fermentation process for large-scale production[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2019, 189(3): 972-986.
- [12] 李洁, 丁重阳, 顾正华, 张梁, 石贵阳. 混合碳源对灵芝多糖发酵及其抗肿瘤活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(2): 129-135.
LI J, DING ZY, GU ZH, ZHANG L, SHI GY. Effects of mixed carbon sources on production and antitumor activity of *Ganoderma lucidum* exopolysaccharides by submerged culture[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(2): 129-135 (in Chinese).
- [13] 刘锡, 葛萃萃, 罗倩, 王莹, 向准, 刘忠玄, 杨澍雨. 红托竹荪液体菌种发酵条件配方优化研究[J]. 种子, 2021, 40(8): 127-131.
LIU X, GE CC, LUO Q, WANG Y, XIANG Z, LIU ZX, YANG SY. Study on optimization of fermentation conditions for liquid strains of *Dictyophora rubrovolvata*[J]. Seed, 2021, 40(8): 127-131 (in Chinese).
- [14] 翟双星, 冯杰, 唐庆九, 冯娜, 杨焱, 刘艳芳, 唐传红, 周帅, 张劲松. 复合有机氮源对灵芝三萜液态深层发酵的影响[J]. 菌物学报, 2018, 37(12): 1761-1770.
ZHAI SX, FENG J, TANG QJ, FENG N, YANG Y, LIU YF, TANG CH, ZHOU S, ZHANG JS. Effects of complex organic nitrogen source on triterpene production by *Ganoderma lingzhi* based on liquid submerged fermentation[J]. Mycosystema, 2018, 37(12): 1761-1770 (in Chinese).
- [15] LONG ZD, XUE Y, NING ZX, SUN JS, LI JG, SU Z, LIU QB, XU CP, YAN JK. Production, characterization, and bioactivities of exopolysaccharides from the submerged culture of *Ganoderma cantharelloideum* M. H. Liu[J]. 3 Biotech, 2021, 11(3): 145.
- [16] 王小谭. 碳氮源对秀珍菇液体培养及胞外酶活性的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2019.
WANG XT. Effects of carbon and nitrogen on liquid culture and extracellular enzyme activity of *Pleurotus geesteranus*[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2019 (in Chinese).

- [17] 孟江玲, 何德, 李翠新. 蛹虫草对金属锌的耐受性与富集特征[J]. 北方园艺, 2021(6): 123-128.
MENG JL, HE D, LI CX. Tolerance and enrichment characteristics of *Cordyceps militaris* to metal zinc[J]. Northern Horticulture, 2021(6): 123-128 (in Chinese).
- [18] 邓百万, 陈文强. 云芝液体培养及富集硒研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2000, 22(4): 21-24.
DENG BW, CHEN WQ. Study on accumulation of selenium in *Polystictus versicolor* in submerged culture[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2000, 22(4): 21-24 (in Chinese).
- [19] 叶盛权, 吴晖, 余以刚, 陈娜, 李金燕. 不同金属离子对灵芝多糖液态发酵的影响[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(1): 106-108.
YE SQ, WU H, YU YG, CHEN N, LI JY. Research for different metal ion in *Ganoderma lucidum* polysaccharides fermentation[J]. Food Research and Development, 2011, 32(1): 106-108 (in Chinese).
- [20] 赵小瑞, 贡建民, 艾对元, 张素玮, 赵风琴, 李宏珍, 贾亚莉. 4 种中草药提取物对灵芝液态发酵三萜产物形成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 97-103.
ZHAO XR, YUN JM, AI DY, ZHANG WW, ZHAO FQ, LI HZ, JIA YL. Effects of four kinds of Chinese herbs extracts on *Ganoderma* triterpenoids production of *Ganoderma japonicum* in submerged fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(3): 97-103 (in Chinese).
- [21] YANG XB, YANG YY, ZHANG YF, HE JH, XIE YZ. Enhanced exopolysaccharide production in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* by Tween 80 supplementation[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2021, 44(1): 47-56.
- [22] 叶丽云, 林强, 刘梅, 吴小平. 钙离子和水杨酸诱导灵芝多糖和三萜的合成[J]. 菌物学报, 2017, 36(2): 220-228.
YE LY, LIN Q, LIU M, WU XP. The synthesis of polysaccharides and triterpenoids of *Ganoderma lingzhi* induced by calcium ion and salicylic acid[J]. Mycosystema, 2017, 36(2): 220-228 (in Chinese).
- [23] 姚强, 高兴喜, 宫志远, 任鹏飞, 仇可新, 刘岩. 部分稀土元素对灵芝多糖和三萜类物质液体发酵的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 224-227.
YAO Q, GAO XX, GONG ZY, REN PF, QIU KX, LIU Y. Effects of some rare earth elements on liquid fermentation of *Ganoderma lucidum* to produce polysaccharides and triterpenoids[J]. Food Science, 2011, 32(5): 224-227 (in Chinese).
- [24] 朱强, 夏艳秋, 汪志君, 杨从发. 4 种中药对灵芝生长与发酵的影响[J]. 中国酿造, 2010, 29(7): 163-165.
ZHU Q, XIA YQ, WANG ZJ, YANG CF. Effects of four herbs on growth and fermentation of *Ganoderma lucidum*[J]. China Brewing, 2010, 29(7): 163-165 (in Chinese).
- [25] 辛燕花, 梁彬, 王颖霞, 刘阳, 白晓静. 灵芝-银杏双向液体发酵条件优化及抗氧化的研究[J]. 菌物学报, 2017, 36(10): 1427-1435.
XIN YH, LIANG B, WANG YX, LIU Y, BAI XJ. Optimization of the *Ganoderma lucidum*-*Ginkgo biloba* bi-directional liquid fermentation condition and antioxidation properties of its products[J]. Mycosystema, 2017, 36(10): 1427-1435 (in Chinese).
- [26] MA ZB, XU MM, WANG Q, WANG F, ZHENG HH, GU ZH, LI YR, SHI GY, DING ZY. Development of an efficient strategy to improve extracellular polysaccharide production of *Ganoderma lucidum* using L-phenylalanine as an enhancer[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2306.
- [27] 裴海生, 孙君社, 王民敬, 尹腾, 张秀清. 木质素对灵芝菌丝体生长的影响[J]. 农业工程学报, 2017, 33(6): 309-314.
PEI HS, SUN JS, WANG MJ, YIN T, ZHANG XQ. Effect of lignin on growth of *Ganoderma lucidum*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2017, 33(6): 309-314 (in Chinese).
- [28] 李平作, 章克昌. 灵芝胞外多糖的分离纯化及生物活性[J]. 微生物学报, 2000, 40(2): 217-220.
LI PZ, ZHANG KC. Isolation, purification and bioactivities of exopoly saccharides from fermented broth of *Ganoderma lucidum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2000, 40(2): 217-220 (in Chinese).
- [29] 苏晓薇, 唐庆九, 张劲松, 冯娜, 王金艳, 周帅, 冯杰, 俞苓. 油酸促进灵芝三萜液态深层发酵的工艺研究及规模化验证[J]. 菌物学报, 2021, 40(9): 2445-2460.
SU XW, TANG QJ, ZHANG JS, FENG N, WANG JY, ZHOU S, FENG J, YU L. Synthesis of triterpenes in liquid submerged fermentation of *Ganoderma lingzhi* promoted by oleic acid[J]. Mycosystema, 2021, 40(9): 2445-2460 (in Chinese).
- [30] 崔月花, 缪婧, 刘建凤, 陈清颖. 两阶段温度控制发酵对桑黄菌丝生长和胞外多糖产量的影响[J]. 食用菌学报, 2018, 25(4): 57-64.
CUI YH, MIAO J, LIU JF, CHEN QY. Effect of two-stage temperature control strategy on mycelial growth and exopolysaccharide production in submerged culture of *Phellinus linteus*[J]. Acta Edulis Fungi, 2018,

- 25(4): 57-64 (in Chinese).
- [31] WANG CC. Enhanced exopolysaccharide production by *Cordyceps militaris* using repeated batch cultivation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2019, 127(4): 499-505.
- [32] 温鲁, 夏敏, 宋虎卫, 蒋洁, 袁丞墅. 液体培养蛹虫草虫草素和腺苷的代谢量[J]. 微生物学通报, 2005, 32(3): 91-94.
WEN L, XIA M, SONG HW, JIANG J, YUAN CS. The metabolism yield of cordycepin and adenosine in *Cordyceps militaris* by liquid culture[J]. Microbiology, 2005, 32(3): 91-94 (in Chinese).
- [33] 刘艳芳, 唐庆九, 顾俊杰, 张劲松, 杨焱, 冯娜, 周帅, 魏东芝. 北冬虫夏草深层发酵高产虫草素工艺的优化[J]. 上海农业学报, 2010, 26(3): 26-30.
LIU YF, TANG QJ, GU JJ, ZHANG JS, YANG Y, FENG N, ZHOU S, WEI DZ. Optimization of submerged fermentation process of *Cordyceps militaris* to produce a high cordycepin content[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2010, 26(3): 26-30 (in Chinese).
- [34] 王焱, 连洁, 王竟夷, 廖晓晓, 班立桐, 王玉. 真姬菇液态发酵关键影响因素的优化[J]. 园艺与种苗, 2021, 41(10): 27-29, 33.
WANG Y, LIAN J, WANG JY, LIAO XX, BAN LT, WANG Y. Optimization of key factors affecting the liquid fermentation of *Hypsizygus marmoreus*[J]. Horticulture & Seed, 2021, 41(10): 27-29, 33 (in Chinese).
- [35] 裘娟萍, 孙培龙, 朱家荣, 钟卫鸿. 灰树花深层发工艺条件的研究[J]. 微生物学通报, 2001, 28(3): 33-35.
QIU JP, SUN PL, ZHU JR, ZHONG WH. Studies of the technological conditions for submerged culture of *Grifola frondosa*[J]. Microbiology China, 2001, 28(3): 33-35 (in Chinese).
- [36] 谭周进, 谢达平, 王征, 李立恒. 蜜环菌胞外多糖的发酵条件研究[J]. 微生物学通报, 2002, 29(3): 33-37.
TAN ZJ, XIE DP, WANG Z, LI LH. Studies on the production condition of exopolysaccharide from *Armillaria mellea*[J]. Microbiology China, 2002, 29(3): 33-37 (in Chinese).
- [37] 吴晓彤. 蒙古口蘑分子鉴定及其菌丝体液体发酵技术与应用[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学博士学位论文, 2014.
WU XT. Molecular identification and liquid fermentation of *Tricholoma mongolicum* and application of mycelium metabolite[D]. Hohhot: Doctoral Dissertation of Inner Mongolia University, 2014 (in Chinese).
- [38] 刘萍, 陶文沂, 许正宏, 敖宗华, 孙志浩, 尹光耀. 松口蘑深层发酵工艺的研究[J]. 微生物学通报, 2002, 29(5): 5-9.
LIU P, TAO WY, XU ZH, AO ZH, SUN ZH, YIN GY. Deep fermentation technique of *Tricholoma matsutake* mycelium[J]. Microbiology China, 2002, 29(5): 5-9 (in Chinese).
- [39] 冀颐之, 杜连祥. 深层培养裂褶菌胞外多糖的提取及结构研究[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 15-20.
JI YZ, DU LX. Extraction and structural study of schizophyllan from *Schizophyllum commune* by submerged cultivation[J]. Microbiology China, 2003, 30(5): 15-20 (in Chinese).
- [40] 卢征华, 文庭池, 徐彦军, 余刚江, 杨雨. 红托竹荪液体菌种培养基及培养条件优化[J]. 北方园艺, 2021(22): 124-129.
LU ZH, WEN TC, XU YJ, YU GJ, YANG Y. Optimization for the medium for liquid spawn and culture conditions of *Dictyophora rubrovolvata*[J]. Northern Horticulture, 2021(22): 124-129 (in Chinese).
- [41] 蔺银鼎, 马艳弘, 张福元, 牛颜冰. 竹荪液体培养基优化配方筛选及培养基营养变化特性的研究[J]. 食用菌学报, 2000, 7(4): 18-24.
LIN YD, MA YH, ZHANG FY, NIU YB. Study on the screening of optimal liquid medium formula and the characteristics of nutritional change in *Dictyophora indusiata* liquid medium[J]. Acta Edulis Fungi, 2000, 7(4): 18-24 (in Chinese).
- [42] 冯杰, 冯娜, 刘艳芳, 唐庆九, 周帅, 刘方, 张劲松, 杨焱. 面向规模化应用的竹荪多糖液态深层发酵工艺优化[J]. 食品科学, 2020, 41(2): 181-187.
FENG J, FENG N, LIU YF, TANG QJ, ZHOU S, LIU F, ZHANG JS, YANG Y. Optimization of medium components for large-scale production of intracellular polysaccharides from *Dictyophora indusiata* in submerged fermentation[J]. Food Science, 2020, 41(2): 181-187 (in Chinese).
- [43] 颜梦秋, 田振, 冯娜, 冯杰, 张劲松. 棘托竹荪发酵物的体外抗肿瘤活性[J]. 食用菌学报, 2016, 23(2): 75-78.
YAN MQ, TIAN Z, FENG N, FENG J, ZHANG JS. Inhibition of *in vitro* proliferation of selected cancer cell lines by extracts of *Dictyophora echinovolvata* mycelium and spent culture medium[J]. Acta Edulis Fungi, 2016, 23(2): 75-78 (in Chinese).
- [44] 王云龙. 羊肚菌液体发酵培养条件优化[D]. 大连: 大连工业大学硕士学位论文, 2014.

- WANG YL. The optimization of liquid fermentation conditions of *Morchella*[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian Polytechnic University, 2014 (in Chinese).
- [45] 于湘丽. 松茸菌液体发酵及多糖抗肿瘤活性的研究[D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2014.
- YU XL. Study of the liquid fermentation of *Tricholoma matsutake* and the anti-tumor activity of polysaccharides[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin University, 2014 (in Chinese).
- [46] 李作美. 鼎湖鳞伞液体发酵和菌丝体多糖的提取、纯化及生物活性的研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2012.
- LI ZM. The research on submerged fermentation vs extracted and purified of polysaccharide and biological activity of *Pholiota dinghuensis* BI[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [47] FENG J, FENG N, ZHANG JS, YANG Y, JIA W, LIN CC. A new temperature control shifting strategy for enhanced triterpene production by *Ganoderma lucidum* G0119 based on submerged liquid fermentation[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2016, 180(4): 740-752.
- [48] 乔双逵, 彭林, 丁重阳, 顾正华, 张梁, 石贵阳. 液体发酵条件对灵芝菌体形态及胞外多糖活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(10): 1070-1076.
- QIAO SK, PENG L, DING ZY, GU ZH, ZHANG L, SHI GY. Effect of different culture conditions on mycelium morphology and activity of exopolysaccharides from *Ganoderma lucidum* in submerged culture[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2014, 33(10): 1070-1076 (in Chinese).
- [49] 潘江安, 唐庆九, 冯娜, 唐传红, 王金艳, 刘艳芳, 袁峰, 徐国华, 颜梦秋, 谭贻, 张劲松, 周帅, 冯杰. 利用阶段 pH 控制提高灵芝深层发酵合成三萜能力的研究[J]. 食用菌学报, 2020, 27(2): 84-91.
- PAN JA, TANG QJ, FENG N, TANG CH, WANG JY, LIU YF, YUAN F, XU GH, YAN MQ, TAN Y, ZHANG JS, ZHOU S, FENG J. Enhanced triterpene biosynthesis in *Ganoderma lucidum* by staged pH control during submerged fermentation[J]. Acta Edulis Fungi, 2020, 27(2): 84-91 (in Chinese).
- [50] FENG J, FENG N, YANG Y, LIU F, ZHANG JS, JIA W, LIN CC. Simple and reproducible two-stage agitation speed control strategy for enhanced triterpene production by Lingzhi or reishi medicinal mushrooms, *Ganoderma lucidum* ACCC G0119 (higher basidiomycetes) based on submerged liquid fermentation[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2015, 17(12): 1151-1159.
- [51] 冯杰, 冯娜, 杨焱, 刘方, 贾薇, 张劲松. 通气量对灵芝菌丝体液态深层发酵合成灵芝三萜的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(9): 1564-1570.
- FENG J, FENG N, YANG Y, LIU F, JIA W, ZHANG JS. Effects of aeration rate on the production of triterpenes by *Ganoderma lucidum* G0119 in liquid submerged fermentation[J]. Natural Product Research and Development, 2015, 27(9): 1564-1570 (in Chinese).
- [52] 吴迪, 袁峰, 王国瑞, 周帅, 杨焱, 冯娜, 唐庆九, 刘艳芳, 朱增亮, 徐国华, 唐传红, 刘方, 张劲松, 冯杰. 基于通气量调控的灵芝菌丝体胞内多糖发酵工艺优化[J]. 食用菌学报, 2019, 26(1): 35-40.
- WU D, YUAN F, WANG GR, ZHOU S, YANG Y, FENG N, TANG QJ, LIU YF, ZHU ZL, XU GH, TANG CH, LIU F, ZHANG JS, FENG J. A aeration volume strategy for enhanced intracellular polysaccharide production by *Ganoderma lucidum* mycelium based on submerged culture[J]. Acta Edulis Fungi, 2019, 26(1): 35-40 (in Chinese).
- [53] 冯杰, 冯娜, 唐庆九, 颜梦秋, 杨焱, 周帅, 刘艳芳, 刘方, 张劲松. 补料方式对灵芝菌丝体液态深层发酵合成灵芝三萜的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(12): 57-62.
- FENG J, FENG N, TANG QJ, YAN MQ, YANG Y, ZHOU S, LIU YF, LIU F, ZHANG JS. Effects of different feeding methods on production of triterpenes by *Ganoderma lucidum* in submerged fermentation[J]. Food Science, 2017, 38(12): 57-62 (in Chinese).
- [54] WEI ZH, LIU LL, GUO XF, LI YJ, HOU BC, FAN QL, WANG KX, LUO YD, ZHONG JJ. Sucrose fed-batch strategy enhanced biomass, polysaccharide, and ganoderic acids production in fermentation of *Ganoderma lucidum* 5.26[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2016, 39(1): 37-44.
- [55] TANG YJ, ZHANG W, LIU RS, ZHU LW, ZHONG JJ. Scale-up study on the fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for the hyperproduction of ganoderic acid and *Ganoderma* polysaccharides[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(1): 404-408.
- [56] 尹川, 杜冰冰, 连洁, 张弘扬, 黄亮, 班立桐, 王玉. 气升式反应器中通气量和 pH 对双孢蘑菇液体菌种的影响[J]. 食品与发酵科技, 2021, 57(2): 35-39.
- YIN C, DU BB, LIAN J, ZHANG HY, HUANG L, BAN LT, WANG Y. Effects of aeration volume and pH on liquid seeds of *Agaricus bisporus* in 5 L air-lift reactor[J]. Food and Fermentation Sciences &

- Technology, 2021, 57(2): 35-39 (in Chinese).
- [57] 赵炳杰, 郭岩彬. 食用菌多糖的提取纯化及生物活性研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2022, 42(S1): 146-159.
ZHAO BJ, GUO YB. Advances in extraction, purification and bioactivity of polysaccharides from edible fungi[J]. China Biotechnology, 2022, 42(S1): 146-159 (in Chinese).
- [58] JING XY, MAO DB, GENG LJ, XU CP. Medium optimization, molecular characterization, and bioactivity of exopolysaccharides from *Pleurotus eryngii*[J]. Archives of Microbiology, 2013, 195(10): 749-757.
- [59] ASSIS IS, CHAVES MB, SILVEIRA MLL, GERN RMM, WISBECK E, JÚNIOR AF, FURLAN SA. Production of bioactive compounds with antitumor activity against sarcoma 180 by *Pleurotus sajor-caju*[J]. Journal of Medicinal Food, 2013, 16(11): 1004-1012.
- [60] 罗钦, 徐军伟. 液体发酵灵芝胞外多糖和胞内多糖的单糖组成及抗氧化活性[J]. 食用菌学报, 2021, 28(6): 135-142.
LUO Q, XU JW. Monosaccharide composition and antioxidant activity of extracellular polysaccharides and intracellular polysaccharides in liquid ferment of *Ganoderma lucidum*[J]. Acta Edulis Fungi, 2021, 28(6): 135-142 (in Chinese).
- [61] DU B, YANG YD, BIAN ZX, XU BJ. Characterization and anti-inflammatory potential of an exopolysaccharide from submerged mycelial culture of *Schizophyllum commune*[J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8: 252.
- [62] 徐慧, 陈蕾蕾, 赵双芝, 裴纪莹, 孙华, 辛雪. 灵芝菌丝体的三萜类化合物及其抗肿瘤活性研究进展[J]. 齐鲁工业大学学报(自然科学版), 2016, 30(4): 26-29.
XU H, CHEN LL, ZHAO SZ, QIU JY, SUN H, XIN X. Recent progress in anti-tumor activities of *Ganoderma* triterpene from the mycelia of liquid-cultured *Ganoderma lucidum*[J]. Journal of Qilu University of Technology (Natural Science Edition), 2016, 30(4): 26-29 (in Chinese).
- [63] 朱晓璐, 岳亚文, 张劲松, 冯杰, 唐庆九, 冯娜, 韩伟. 灵芝菌丝体中一个三萜类化合物的核磁归属及活性初探[J]. 菌物学报, 2020, 39(8): 1551-1558.
ZHU XL, YUE YW, ZHANG JS, FENG J, TANG QJ, FENG N, HAN W. NMR attribution and bioactivity evaluation of a triterpene in mycelia of *Ganoderma lingzhi*[J]. Mycosystema, 2020, 39(8): 1551-1558 (in Chinese).
- [64] 蔡程山. 桑黄液体发酵菌丝体总三萜的提取及活性分析[D]. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2018.
CAI CS. Extraction and activity analysis of total triterpenoids from mycelium of *Sanghuangporus sanghuang* liquid fermentation[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing Forestry University, 2018 (in Chinese).
- [65] 周旭, 庄思远, 李彦杰, 刘箬瑶, 刘春明, 李赛男, 张语迟. 赤灵芝中三萜类活性成分的提取筛选和质谱分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(6): 169-178.
ZHOU X, ZHUANG SY, LI YJ, LIU RY, LIU CM, LI SN, ZHANG YC. Extraction, screening and mass spectrometry analysis of active triterpenoid components in *Ganoderma lucidum*[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(6): 169-178 (in Chinese).
- [66] AHLBORN J, STEPHAN A, MECKEL T, MAHESHWARI G, RÜHL M, ZORN H. Upcycling of food industry side streams by basidiomycetes for production of a vegan protein source[J]. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture, 2019, 8(1): 447-455.
- [67] KURBANOGU EB. Submerged production of edible mushroom *Agaricus bisporus* mycelium in ram horn hydrolysate[J]. Industrial Crops and Products, 2004, 19(3): 225-230.
- [68] RAHGO Z, SAMADLOUIE HR, MOJERLOU S, JAHANBIN K. Statistical optimization of culture conditions for protein production by a newly isolated *Morchella fluvialis*[J]. BioMed Research International, 2019, 2019: 7326590.
- [69] GANG J, LIU H, LIU YH. Optimization of liquid fermentation conditions and protein nutrition evaluation of mycelium from the caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris* (ascomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2016, 18(8): 745-752.
- [70] BISHOP KS, KAO CHJ, XU YY, GLUCINA MP, PATERSON RRM, FERGUSON LR. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals[J]. Phytochemistry, 2015, 114: 56-65.
- [71] BABY S, JOHNSON AJ, GOVINDAN B. Secondary metabolites from *Ganoderma*[J]. Phytochemistry, 2015, 114: 66-101.
- [72] 刘艳芳, 唐庆九, 王金艳, 李传华, 冯娜, 王晨光, 唐传红, 张劲松. 白肉灵芝子实体和菌丝体活性成分的比较[J]. 食用菌学报, 2021, 28(4): 20-26.
LIU YF, TANG QJ, WANG JY, LI CH, FENG N, WANG CG, TANG CH, ZHANG JS. Comparison of

- bioactive components in fruiting body and fermented mycelium of *Ganoderma leucocontextum*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2021, 28(4): 20-26 (in Chinese).
- [73] 张李阳, 熊晓辉, 沈昌, 沈爱光. 灵芝子实体及其深层培养产物特性的研究[J]. *中国食用菌*, 1998, 17(1): 15-17.
- ZHANG LY, XIONG XH, SHEN C, SHEN AG. Comparative study on products of fruiting body and submerged fermentation of *Ganoderma* sp[J]. *Edible Fungi of China*, 1998, 17(1): 15-17 (in Chinese).
- [74] 席亚丽, 茆爱丽, 王晓琴, 桂建华, 王治江, 魏生龙. 荷叶离褶伞子实体、菌丝体及发酵液蛋白质营养价值评价[J]. *菌物学报*, 2010, 29(4): 603-607.
- XI YL, MAO AL, WANG XQ, GUI JH, WANG ZJ, WEI SL. Assessment for protein nutrition of fruit bodies, mycelia and fermentation broth of *Lyophyllum decastes*[J]. *Mycosystema*, 2010, 29(4): 603-607 (in Chinese).
- [75] 席亚丽, 王治江, 王晓琴, 魏生龙. 荷叶离褶伞子实体、菌丝体和发酵液营养成分比较分析[J]. *食品科学*, 2010, 31(6): 155-157.
- XI YL, WANG ZJ, WANG XQ, WEI SL. Comparative analysis of nutrients in fruit body, mycelia and fermentation broth of *Lyophyllum decastes*[J]. *Food Science*, 2010, 31(6): 155-157 (in Chinese).
- [76] 周选围, 林娟, 周良. 灵芝主要营养成分的测定分析[J]. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 1998, 26(S1): 219-222.
- ZHOU XW, LIN J, ZHOU L. Determine and analysis on primary nutritional components of *Ganoderma* spp.[J]. *Journal of Shaanxi Normal University (Natural Science Edition)*, 1998, 26(S1): 219-222 (in Chinese).
- [77] 孙培龙, 宣以巍, 裘娟萍. 灰树花菌丝体发酵及成分分析[J]. *食用菌*, 2001, 23(5): 4-5.
- SUN PL, XUAN YW, QIU JP. Fermentation and composition analysis of *Grifola frondosa* mycelia[J]. *Edible Fungi*, 2001, 23(5): 4-5 (in Chinese).
- [78] 马艳弘, 张福元. 竹荪子实体与菌丝体营养成分的测定分析[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2004, 24(4): 389-391.
- MA YH, ZHANG FY. Determination of the nutritive components of mycelia and fruitbody of *Dictyophora indusiata*[J]. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2004, 24(4): 389-391 (in Chinese).
- [79] 高虹, 谷文英, 丁霄霖. 巴西蘑菇发酵菌丝体醇提物的抑瘤活性[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, 25(6): 54-57.
- GAO H, GU WY, DING XL. Studies on antitumor activity of ethanol extracts from liquid-cultured mycelium of *Agaricus brasiliensis* sp[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(6): 54-57 (in Chinese).
- [80] 黄静, 李爱欣, 周贤, 王淑敏. 松杉灵芝发酵产物对 H22 肝腹水瘤小鼠免疫功能影响及抗肿瘤作用[J]. *药学研究*, 2016, 35(10): 575-578.
- HUANG J, LI AX, ZHOU X, WANG SM. The immune function and anti-tumor effects of *Ganoderma tsugae* fermentation product on H22 liver ascites tumor mice[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2016, 35(10): 575-578 (in Chinese).
- [81] FIJAŁKOWSKA A, MUSZYŃSKA B, SUŁKOWSKA-ZIAJA K, KAŁA K, PAWLIK A, STEFANIUK D, MATUSZEWSKA A, PISKA K, PĘKALA E, KACZMARCZYK P, PIĘTKA J, JASZEK M. Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis officinalis* in therapy of lifestyle diseases[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 20081.
- [82] 李兆兰, 李学信. 裂褶菌胞内多糖的分离纯化鉴定及其性质[J]. *真菌学报*, 1994, 13(4): 267-272.
- LI ZL, LI XX. Isolation, purification and identification of schizophyllan[J]. *Mycosystema*, 1994, 13(4): 267-272 (in Chinese).
- [83] CARRIERI R, MANCO R, SAPIO D, IANNACCONE M, FULGIONE A, PAPAIANI M, de FALCO B, GRAUSO L, TARANTINO P, IANNIELLO F, LANZOTTI V, LAHOZ E, CAPPARELLI R. Structural data and immunomodulatory properties of a water-soluble heteroglycan extracted from the mycelium of an Italian isolate of *Ganoderma lucidum*[J]. *Natural Product Research*, 2017, 31(18): 2119-2125.
- [84] 胡文继. 猴头菌发酵菌丝体纯化多糖的抗阿尔茨海默症活性研究[D]. 长春: 吉林大学博士学位论文, 2021.
- HU WJ. Study on the anti-alzheimer's disease activity of purified polysaccharides from *Hericium erinaceus* fermentation mycelium[D]. Changchun: Doctoral Dissertation of Jilin University, 2021 (in Chinese).
- [85] 刘雨婷. 液体培养条件对桦褐孔菌产活性多糖的影响研究[D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2021.
- LIU YT. Study on the effect of different liquid fermentation conditions on the active polysaccharides from *Inonotus obliquus*[D]. Changchun: Master's Thesis of Northeast Normal University, 2021 (in Chinese).

- [86] 张强, 吴彩娥. 羊肚菌菌丝体蛋白的理化特性及抗氧化活性[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(8): 1408-1415.
ZHANG Q, WU CE. Physicochemical properties and antioxidant activities of protein from *Morchella esculenta* mycelium[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2016, 28(8): 1408-1415 (in Chinese).
- [87] 窦会娟, 孙连海, 郭文涛. 食用菌发酵液对耐药菌的抑菌活性研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(7): 40-42.
DOU HJ, SUN LH, GUO WT. Antibacterial activity of mushroom fermentation broth to drug-resistant bacteria[J]. China Brewing, 2015, 34(7): 40-42 (in Chinese).
- [88] 于华峥, 刘艳芳, 周帅, 颜梦秋, 薛令坤, 唐庆九, 张劲松. 灵芝子实体、菌丝体及孢子粉中多糖成分差异比较研究[J]. 菌物学报, 2016, 35(2): 170-177.
YU HZ, LIU YF, ZHOU S, YAN MQ, XUE LK, TANG QJ, ZHANG JS. Comparison of the polysaccharides from fruiting bodies, mycelia and spore powder of *Ganoderma lingzhi*[J]. Mycosystema, 2016, 35(2): 170-177 (in Chinese).
- [89] 蔡梦婷, 唐庆九, 王益莉, 黄怡雯, 冯杰, 冯娜, 俞苓. 灵芝孢子、子实体和菌丝体的抗氧化活性比较[J]. 食用菌学报, 2018, 25(3): 72-76.
CAI MT, TANG QJ, WANG YL, HUANG YW, FENG J, FENG N, YU L. Comparison on antioxidant activity of spore, fruiting Body and mycelium of *Ganoderma lucidum*[J]. Acta Edulis Fungi, 2018, 25(3): 72-76 (in Chinese).
- [90] 张俊峰, 张忠, 汪雯翰, 张赫男, 冯娜, 吴迪, 刘艳芳, 杨焱. 桑黄菌丝体和子实体中次级代谢产物及其活性的比较[J]. 菌物学报, 2020, 39(2): 398-408.
ZHANG JF, ZHANG Z, WANG WH, ZHANG HN, FENG N, WU D, LIU YF, YANG Y. Comparison of active secondary metabolites between mycelia and fruiting bodies of *Sanghuangporous sanghuang*[J]. Mycosystema, 2020, 39(2): 398-408 (in Chinese).
- [91] 陈艳芳, 鲍大鹏, 陈洪雨, 冯杰, 罗颖, 张茜, 邹根, 赵勇. 液体深层发酵刺芹侧耳菌丝体蛋白提取及其功能特性[J]. 食用菌学报, 2021, 28(3): 112-121.
CHEN YF, BAO DP, CHEN HY, FENG J, LUO Y, ZHANG X, ZOU G, ZHAO Y. Extraction and functional properties of proteins in *Pleurotus eryngii* mycelium from submerged liquid fermentation[J]. Acta Edulis Fungi, 2021, 28(3): 112-121 (in Chinese).
- [92] 李艳丽, 金周雨, 李玉. 原生质体紫外诱变筛选刺芹侧耳高 EPS 含量菌株及其鉴定[J]. 中国农机化学报, 2016, 37(12): 98-102.
LI YL, JIN ZY, LI Y. Screening and identifying strains with high EPS content of *Pleurotus eryngii* by UV induced protoplast mutagenesis[J]. Journal of Chinese Agricultural Mechanization, 2016, 37(12): 98-102 (in Chinese).
- [93] 杨珊, 杨焱, 李巧珍, 吴迪, 杨瑞恒, 汪文翰, 张赫男. 常压室温等离子体诱变筛选高产多糖猴头菌株的研究[J]. 上海农业学报, 2019, 35(5): 6-11.
YANG S, YANG Y, LI QZ, WU D, YANG RH, WANG WH, ZHANG HN. Screening of high-yield polysaccharide *Hericium erinareus* by atmospheric and room temperature plasma mutagenesis[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2019, 35(5): 6-11 (in Chinese).