

579, 1958

- 11 Nikolaeva T L Hydnaceae Fungi, Indian National Scientific Documentation, New Delhi, 304—305, 320—328, 1977

- 12 Kazuya Hashimoto and Zenjiro Takahashi Mushroom Science IX (Part I), Proceedings of the Ninth International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi, Tokyo, 137—143, 1974

## 食用真菌蛋白——美味丝蕈霉 D-100 的研究

### I. 菌种的选育与鉴定\*

林伯荃 李淑敏 任 杰 路 戈

(北京市营养源研究所, 真菌工程室)

**摘要** 从 8 属 11 种的 291 个真菌菌株中筛选出一株可用于生产食用真菌蛋白的优良菌种。根据其形态与生理特性, 该菌与迄今所发表的已知丝蕈霉菌种都有明显不同。因而被确定为一个新种——美味丝蕈霉 *Papulospora sapidus*。有汉文与拉丁文描述。

**关键词** 食用真菌蛋白, 美味丝蕈霉

为解决人们对蛋白质食品日益提高的需求和市场瘦肉类食品供不应求的矛盾, 除积极发展畜牧业外, 发展食品蛋白生产的生物新技术是一条高效率的新途径。利用廉价的低蛋白原料, 通过微生物发酵工艺和其它新生物技术, 生产出蛋白质含量较高的食用真菌蛋白。实现了肉食品的工业化生产, 这在我国食品工业的发展上是一项具有深远意义的工作。

在真菌中有一些丝状真菌可将含有淀粉、无机氮和必要矿物质营养的基质, 转化为可食用的真菌蛋白。这种蛋白质不但具有类似瘦肉的组织结构, 而且具有咀嚼性和肉质性, 味道鲜美, 用以制成的仿肉食品可以假乱真。单细胞蛋白一般用做饲料, 再提供畜牧业生产肉食品, 而食用真菌蛋白是直接用作食品。这样可以减少蛋白质转化的环节, 是解决人类蛋白食品源的更为直接有效的办法。

英国 RHM 公司 1964 年就开始了这项研究。他们获得了一株能利用淀粉、糖类的无毒真菌菌株——禾本科镰孢 *Fusarium graminearum*, 研究了它的发酵工艺和加工成仿肉食品的方法, 并做了系统的安全试验<sup>[1]</sup>, 1981 年正式获准用于食品。美、法等国家的科学家也有不

同程度的研究, 但尚未商品化。

我们从 1982 年开始进行食用真菌蛋白的菌种选育。从大量的无毒丝状真菌菌株中, 最后筛选出美味丝蕈霉 D-100 菌株。该菌能利用玉米、大米、小麦、土豆和红薯等淀粉原料进行发酵。经加工而成的鲜菌体具有类似瘦肉的丝状结构, 味美。1985 年北京卫生防疫站毒理室对此菌进行了国家卫生部规定的四个阶段的安全试验和营养价值评定。证明其无毒。同时, 我们对菌体生产工艺, 加工方法和连续发酵等进行了研究。1988 年获得了专利。1989 年通过了全部鉴定。1989 年底正式获准用于食品。

本文报道了该菌的菌种选育与鉴定工作。

### 材料与 方法

#### (一) 菌种来源

291 株供试菌由本室菌种保藏组提供。归属于 8 属 10 个种, 在一般情况下均不产生真菌

\* 本文的菌种鉴定部分得到了北京农业大学李季伦教授和美国 Wisconsin 大学 E. B. Smalley 教授的审阅与指导, Smalley 教授并赠予 ATCC 的近似种 *Papulospora pennosa* 供鉴定时对比用, 特此一并致谢。

毒素,生长速度快,可以利用淀粉为碳源。鉴定用的近似种 *Fusarium graminearum* 由美国菌种保藏中心 ATCC 提供。

## (二) 选方法

1. 斜面生长比较: 将上述 291 个菌株接种在淀粉琼脂斜面(淀粉 2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.2%,  $\text{MgSO}_4$  0.1%, 琼脂 2%) 上, 30℃ 培养一周。在属于 8 属 10 种的 291 株菌中, 在每个菌种中选出一株生长最好的菌株进行摇瓶比较试验。

2. 摇瓶比较试验: 采用玉米淀粉培养基\*, 160r/min 34℃ 培养 20 小时, 再以 2% 的接种量在相同培养基上转接一次, 相同条件下再培养 20 小时。发酵液通过 80 目滤布, 将滤过液与菌体分开。分别测定其转化淀粉的能力, 菌体产量, 菌体蛋白含量和口味等。进行比较后确定其最佳菌株。

摇瓶比较试验重复做三批, 每批每个菌株做 3 瓶。所得结果是总平均值。最后将最佳菌株在 10 升发酵罐(日本丸菱 M-D500 型)上进行 3 批发酵试验, 以验证该菌株的发酵性能。并

将该菌株进行分类鉴定。

## (三) 测定方法

还原糖用 3,5-二硝基水杨酸法测定。淀粉含量的测定是用: 淀粉% = 总还原糖% - 可溶性还原糖%  $\times 0.9$  计算的。淀粉利用率是培养后培养液中淀粉含量和培养前比消失的百分率。粗蛋白含量是用微量凯氏定氮法使用 BUCHI 全自动定氮仪测定的。蛋白质含量提高的百分率是发酵后菌体蛋白含量与发酵前固形物蛋白含量的百分比。干物重的测定是将发酵液用 80 目滤布过滤所收取的菌体, 在 105℃ 下烘干, 称重并计算每升发酵液所获得的菌体干重。菌体口味的鉴定是将收取的菌体洗净, 切片, 用植物油煎熟后品尝, “++” 示无霉味有鲜味, “+” 示无霉味, “-” 示有霉味。

## 试 验 结 果

### (一) 摇瓶比较试验

在斜面上比较所得的归属于 8 属 10 个菌种的 291 株菌中, 每种挑选出一个生长最好的菌株进行主要生产性能的比较, 结果见表 1。

表 1 8 属 10 菌种的比较

菌号	菌 名	淀粉利用率(%)	菌体得率 (干物重 g/L)	菌体粗蛋白(%)	蛋白提高率(%)	口味
D-100	美味丝茎霉 <i>Papulospora sapidus</i>	75.54	24.05	38.10	215	++
70	链孢霉 <i>Neurospora</i> sp	48.06	5.36	31.25	176	-
542	木霉 <i>Trichoderma</i> sp	76.52	20.90	38.40	216	-
518	拟青霉 <i>Paecilomyces</i> sp	9.58	<2	/	/	/
151	黑曲霉 <i>Asperillus niger</i>	59.84	8.94	29.37	165	-
501	米曲霉 <i>Aspergillus oryzae</i>	54.56	4.15	35.65	201	+
2	禾本科镰孢 <i>Fusarium graminearum</i>	18.50	4.24	37.65	212	+
6	根霉 <i>Rhizopus</i> sp	49.50	5.50	32.54	184	-
572	点青霉 <i>Penicillium notatum</i>	33.50	<2	/	/	/
11	溜曲霉 <i>Aspergillus tamaris</i>	82.44	23.65	31.84	179	-

从表 1 结果看, 在玉米淀粉培养基, 34℃, 摇瓶培养 20 小时的条件下, 以美味丝茎霉、木霉和溜曲霉的菌体得率最高, 每升超过 20g; 黑曲霉次之, 每升超过 8g; 链孢霉、米曲霉、禾本科 孢和根霉每升超过 4g; 而拟青霉和点青霉最差, 每升不到 2g。从得率最高的三个菌株分析, 木霉和溜曲霉虽然淀粉利用率和菌体蛋白

含量较高, 发酵性能亦好, 但口味较差, 品尝有霉味。美味丝茎霉不仅淀粉利用率和菌体蛋白含量高, 而且生长速度快, 品尝无霉味有鲜味。由此得出美味丝茎霉是用于生产食用真菌

\* 玉米淀粉培养基(%): 玉米粉 2, 黄豆粉 0.2,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.2,  $\text{MgSO}_4$  0.1。

蛋白的最佳菌株。

美味丝蕈霉 D-100 在 10 升发酵罐上的 3 次验证结果是: 发酵时间由 20 小时缩短为 12—16 小时, 淀粉利用率平均 75.65%。菌体得率 20.14g/L, 菌体粗蛋白含量 35.77%。菌体得率与粗蛋白含量略低于摇瓶试验, 估计其主要原因是所使用的原料加工较粗, 收取时有损失。

## (二) 美味丝蕈霉的鉴定

丝蕈霉属 *Papulospora* 由 Preuss 于 1851 年建立, 凡真菌半知菌产生类菌核 (bulbils) 的种均列入此属。J.W. Hotson<sup>[2]</sup> 于 1912 年全面地概括了以前的工作, 1917 年<sup>[3]</sup> 进行修正, 做了检索, 并详细地描述了丝蕈霉属的 18 个种。

至今已有 24—26 个种<sup>[4-11]</sup>, 其中以耐热, 能分解纤维素的 *Papulospora thermophila* 菌株研究最多。我国对此属研究甚少, 只有魏景超<sup>[12]</sup> 记载过此属的两个种。

丝蕈霉属的主要特征为: 在各种培养基及天然基质上不产生任何无性或性孢子, 菌丝开始为浅色, 由小球状细胞密集或成簇组成类菌核, 类菌核外层分化不明显, 供繁殖用。我们所得的美味丝蕈霉附合丝蕈霉属的特征, 其类菌核为深褐—黑色。

1. 美味丝蕈霉和几种已知丝蕈霉的比较: 将美味丝蕈霉和类菌核为深褐—黑色的 7 个已知菌种比较, 结果见表 2。

从表 2 可以看出, 美味丝蕈霉不同于其他

表 2 深褐—黑色类菌核的丝蕈霉菌种的比较

菌 名	原基形式	大部分成熟菌丝颜色	类菌核直径 (μm)	锁状联合	其他特点	栖地
<i>Papulospora pannosa</i>	间生	深烟色	350	—		兔粪, 山羊粪 玉米棒
<i>P. anomala</i>	间生	白色	125—175	+		栎木片
<i>P. coprophila</i> (嗜粪丝蕈霉)	侧生, 分枝螺旋状	白色	30—40	—	类菌核有 2—6 个中心细胞	马粪, 稻草, 洋葱
<i>P. nigra</i>	间生, 螺旋状	烟色	125—175	+		旧纸板, 硬木片
<i>P. atra</i>	间生或侧生	深烟色	44×59 —110×220	—		葡萄根
<i>P. gladioli</i> ( <i>P. dogei</i> )	侧生, 螺旋状	白色	24—46	—	类菌核有 1—6 个黑棕色中心细胞	贮藏球茎
<i>P. appendicularis</i>	侧生	白色	32—100	—	菌丝两侧产生瓶状小梗	土壤有机质
<i>P. sapidus</i> (美味丝蕈霉)	间生	白色	52×78 —104×142	—		含纤维有机质

表 3 美味丝蕈霉与 *P. pannosa* 的比较

特 性	<i>P. pannosa</i>	美味丝蕈霉
在各种培养基上的菌落质地	蓬松状	匍匐状
菌丝颜色	大部分成熟菌丝深烟色	大部分成熟菌丝白色
类菌核表面细胞数(个)	200—300	60—155 (平均 92.4)
类菌核直径(μm)	350	95.37—143.09
类菌核结构	较紧, 中心细胞被压挤为多角形	较松, 中心细胞仍为球形

7 个产生深褐—黑色类菌核的丝蕈霉。从它们的主要特性, 即原基间生, 非螺旋状, 无锁状联

合来看, 它的近似种为 *P. pannosa*。

2. 美味丝蕈霉与 *P. pannosa* 的比较 (表 3):

根据表 3 的比较, 美味丝蕈霉和 *P. pannosa* 在菌落质地, 成熟菌丝颜色, 类菌核的大小, 表面细胞数和结构等特征上有明显区别。故初步认为美味丝蕈霉是丝蕈霉属的一个新种, 由于该种的一个菌株可以制成类似瘦肉的美味食品, 故暂定名为美味丝蕈霉。

3. 美味丝蕈霉种的形态描述:

原基间生或端生, 菌丝白色, 匍匐状, 有隔, 气生菌丝宽 2.07—20.72 μm。基质菌丝宽

3.11—20 72  $\mu\text{m}$ , 无锁状联合, 无孢子。类菌核气生或在基质内产生, 近乎球形或不规则形, 直径 51.71—210 16  $\mu\text{m}$ , 表面细胞球形 60—155 个, 类菌核成熟时为深褐—黑色(图 1)。

栖地: 生长在我国河北, 云南和海南岛等地区含纤维质土壤中。

*Papulospora sapidus* sp. nov. Lin  
Primordiales intercalarium vel terminatricum  
Mycelium album procumbens septatis, superficiali hyphis 2 07—20 72  $\mu\text{m}$  diametro, submersis hyphis 3 11—20 72  $\mu\text{m}$  diametro  
Clamp-connectivum absunt Conidia absunt  
Bulbulis aërialibus vel submersis, subglobosis vel regularibus 52  $\times$  78—104  $\times$  142  $\mu\text{m}$  diametro  
Cellula superficialis globosis 60—155  
Bulbilli colore maturi brunnei vel nigri (Fig. 1)

Hab in fibrillosus terra China

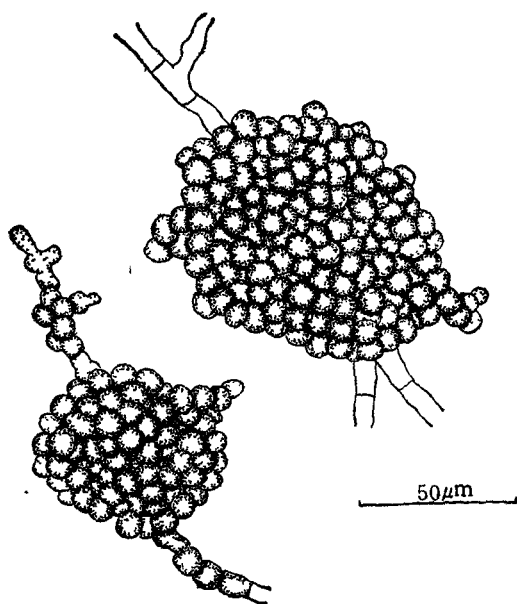


图 1 美味丝蓍霉 *Papulospora sapidus* 的类菌核

## 讨 论

选择用于生产食用真菌蛋白的菌株, 首要条件是无毒, 虽然, 最终要靠全套安全试验来验证, 但在选育开始就得考虑参试菌株的毒性问题, 这一问题可从文献资料和是否被食用或饲用过来判断。我们曾考虑选用食用菌侧耳和香菇, 在安全上是保证的, 但实验中发现这些菌发酵温度较低 (25 $^{\circ}\text{C}$  左右), 发酵周期较长, 一般需 72 小时以上, 而且菌体蛋白含量亦较低 (15—25%)。饲用单细胞蛋白的工业用真菌如拟青霉、瘤曲霉和黑曲霉等的主要问题是口味不佳。英国 RHM 公司所用的无毒株禾本科镰孢, 安全, 口味好, 但存在着发酵温度较低 (30 $^{\circ}\text{C}$ ), 周期较长 (24 小时), 核酸含量高 (7—12%) 需要降解因而工艺复杂等问题影响在我国推广, 而且禾本科镰孢又是一个常见的产生多种真菌毒素的菌种, 极易发生变异, 长期在我国推广食用后果令人担忧。美味丝蓍霉 D-100 在发酵特性和口味方面有一定优点, 是目前适于在我国生产食用真菌蛋白的优良菌株, 但是该菌株的菌体蛋白质含量还不够理想, 所以在此基础上进一步选育是十分必要的。

## 参 考 文 献

- 1 Edelman J et al Nutrition Abstracts and Reviews in Clinical Nutrition Series A 53, 6, 471—480, 1983
- 2 Hotson J W Proc Amer Acad Arts Sci 48 225—306 1912
- 3 Hotson J W Bot Gaz 64 256—284, 1917
- 4 Hotson J W Amer J Bot 16 219—220, 1928
- 5 Dodge B O Bull Terry Bot Club 68 289—294, 1941
- 6 Hotson H H Mycologia 34 391—398, 1942
- 7 Hotson H H Mycologia 34 52—58, 1942
- 8 Fergus C L Mycologia 63 426—431, 1971
- 9 Luella K Weresub Can J Bot 49 2203—2212, 1971
- 10 Chapman E S Mycologia 68 678—681, 1976
- 11 Kane B E Mycologia 65 1087—1100, 1973
- 12 魏景超: 真菌鉴定手册, 上海科技出版社, 上海, 1979.