



真 菌 蛋 白

邢来君 周与良

(南开大学生物系,天津)

当今世界面临三大困境,即食品匮乏、能源危机、环境污染,均需要微生物发挥其重要作用。随着世界人口的增长,可耕土地的限制以及农牧业的发展不能满足人类的需求,因此,微生物在人类食品中所起的作用愈来愈受到重视。

(一) 研究历史

用来生产蛋白食品的微生物很多,包括细菌、藻类、酵母及霉菌等。其中以细菌和酵母菌为主的产品为单细胞蛋白(SCP),目前在英国、法国、意大利、美国、日本和苏联等国已形成了工业生产能力,规模最大的工厂年产量已达 20 万吨^[1,2]。另一种微生物蛋白是真菌蛋白(Mycoprotein),它是由丝状真菌经过发酵技术产生的一种多细胞蛋白质。

关于真菌蛋白的研究已有较长的历史。早在 50 年代就提出用真菌的菌丝体作为蛋白来源的设想,并相继做了大量的研究^[4]。美国人 Gray^[5,6] 于 60 年代对许多真菌做为蛋白来源的可能性进行了探索。加拿大 Guolph 大学的 Reade 等人^[7]研究了利用大麦谷粒培养烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)等曲霉属真菌来生产真菌蛋白。Waterloo 大学的 Moo-Yong 等人对纤维毛壳菌(*Chaetomium cellulolyticum*)在玉米芯基质上生长做了研究^[8]。危地马拉的 Rolz 等人^[9]报道了能利用甘蔗和咖啡废料的真菌。瑞典 Eriksson 等人^[10]用一种腐生的侧孢霉(*Sporotrichum pulverulentum*)在造纸厂废弃的纤维上发酵生长。这些研究为真菌蛋白的生产提供了科学的理论依据。

1974 年芬兰的 Tampella 公司建立了世界上第一座真菌蛋白工厂,该厂以亚硫酸废液为原料生产拟青霉(*Paecilomyces varioti*)蛋

白,年产 1 万吨^[11,12]。英国和法国也建立了不同规模的真菌蛋白工厂,分别以黑曲霉(*A. niger*)^[13]和圆弧青霉(*P. cyclopium*)^[14]为生产菌,以豆角和乳清为原料。但这些工厂的产品都是饲用蛋白。

真正以食用蛋白做为研究目标的是英国的 RHM 公司(Ranks Hovis McDongall)。它是欧洲第四大食品公司,从 1964 年开始此项研究,最初采用 *Penicillium notatum-chrysogenum* 生产真菌蛋白,但菌体蛋白含量仅为 25—28%,而且连续培养出现困难。从 1968 年起他们以葡萄糖或马铃薯淀粉为原料,通过大量筛选,从根霉、青霉、链格孢霉、镰刀菌等菌中经过 10 年的安全性试验,终于选出一株生长速度快、蛋白质含量高(40% 以上)且无毒的禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum* A3/5)。进行了年产 1000 吨的中试,并于 1981 年正式获政府批准用于食品 and 食品添加剂^[15-18]。

在我国,北京营养源研究所林伯荃等人筛出一株丝荑霉(*Papulospora sapidis*)做为真菌蛋白的生产菌株,进行了深入的研究^[19]。南开大学生物系周与良等人从 1986 年开始,在全国 15 个省市采集土样 1400 多个,从 3136 个菌株中筛出 12 株镰刀菌,对这些菌株进行了急性、亚急性毒性试验,摇瓶条件实验,10 升小罐的发酵实验,脱核酸实验及营养分析实验。预计 1991 年可投入中试发酵。

(二) 真菌蛋白的营养

真菌蛋白比酵母、细菌的单细胞蛋白味美,而且具有类似肉质的组织结构。真菌食品外观像牛排,具有咀嚼性和肉质性。英国 Byistal 肉类研究所已用真菌蛋白的结构作为鉴定比较肉类食品的参考标准^[20]。此外,多细胞和多核体

的丝状菌体的宽度比细菌大 10 倍左右,可用标准的盘式离心机提取,后工艺简单,产品易于加工成型^[16]。

真菌蛋白与牛肉、蘑菇相比较(见表 1)^[16],除了蛋白含量低于牛肉外,其优点是脂肪含量明显低于牛肉。可食性粗纤维高于牛肉而低于蘑菇。可食性粗纤维利于人的胃肠蠕动从而有助于消化作用,能吸附肠道内的许多有害和致癌的成分并排出体外,而牛肉却不含这种物质。同时,真菌蛋白具有丰富的酶系和多种氨基酸、维生素、无机盐、糖类等,且不含胆固醇。不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸之比为 4:1。因此,该食品结构更符合人类需求,因而真菌蛋白这一肉类代用品将有广阔的市场。

表 1 真菌蛋白与瘦牛肉和蘑菇的营养成分比较

占干物质质量 (%)	品名	RHM	瘦牛肉	双孢蘑菇
成分	真菌蛋白			
蛋白质	44.3	68.2	26.3	
RNA	1.1	Tr.	2.66	
脂肪	13.8	30.2	1.80	
灰分	3.1	1.6	12.0	
可食纤维与碳水化合物	37.5	0	70.3	

真菌蛋白的氨基酸含量同联合国粮农组织提出的理想含量十分相近,与其它几种微生物的 SCP 相比较,在氨基酸组成上,尤其是赖氨酸和蛋氨酸含量并不亚于其它几种微生物的 SCP(见表 2)^[20]。

此外,真菌蛋白可以制成多种类型的产品,如汤料、强化饮料、饼干和鸡肉、火腿以及牛肉的仿制品等。

(三) 真菌蛋白的发酵生产

近年来真菌的营养及生理学研究发展很快。真菌需要有机的碳源做为营养,为合成生物大分子提供骨架,同时为生命活动提供能量。真菌能够利用的碳源范围广泛,包括小分子的糖类、酒精、淀粉、小分子蛋白、脂肪、多糖和几

表 2 几种微生物蛋白中必需氨基酸含量的比较

含量 (%)	品名	假丝酵母	细菌蛋白	小球藻	螺旋藻	真菌蛋白
氨基酸						
亮氨酸	9.1	5.6	6.8	8.0	7.2	
异亮氨酸	6.0	3.6	3.1	6.0	3.6	
缬氨酸	7.3	4.5	4.8	6.5	5.8	
赖氨酸	7.1	6.5	4.9	4.6	7.0	
蛋氨酸	1.6	2.0	1.4	1.4	2.3	
苯丙氨酸	5.3	2.5	3.5	5.0	3.5	
苏氨酸	6.1	4.0	3.9	4.6	3.9	
色氨酸	1.5	0.9	1.8	1.4	3.4	

丁质等^[21]。一般来讲,淀粉是真菌最广泛利用的碳源,而且霉菌转化淀粉为蛋白质的效率很高(表 3)。RHM 公司的 A3/5 菌株可以把 1 公斤淀粉转化为 136 克蛋白,而同样数量的淀粉喂鸡,只能转换成 47 克蛋白,猪为 41 克,牛为 14 克^[15]。

氮源对真菌的生长和发育也是必需的。真菌吸收外界氮源用于合成氨基酸、蛋白质、核酸、嘌呤、嘧啶及多种维生素等^[22]。有机氮源与无机氮源比较,前者更利于真菌生长,但在无机氮源中的氨也适于真菌生长,而且氨盐与有机氮源相比较价格便宜^[21]。所以在真菌蛋白的生产中一般都利用氨盐做为氮源。真菌生长和繁殖还需要一些无机离子,如镁、磷、钾、硫、钙等。需要量较小,但如果缺少则减缓菌丝的生长和繁殖。

真菌菌体蛋白含量的多寡、除了菌丝本身的特性所决定的以外,改变周围环境的营养成分也是一个重要因素,尤其是 C/N 比值。所以许多报告中对培养基配方的选择做了大量的工作。

真菌蛋白的生产工艺一般采用间歇发酵和连续发酵法。在发酵罐内菌丝的长度是可以控制的。真菌的生长速度并不亚于酵母菌,它的倍增时间与酵母菌相似(表 4)^[20]。真菌在发酵罐内生长的时间愈长其菌丝就愈长,最终产品的菌丝就愈粗,这对于做成仿肉食品来说是重要的。

RHM 公司采用连续发酵法,大大提高了

表 3 在淀粉和糖蜜基质中一些真菌培养物中总氮 (TN)、氮氮 (AN) 和非蛋白氮 (NPN) 含量

菌 名	碳 源	TN(×6.25)	AN(×6.25)	NPN
<i>Pen. chrysogenum-notatum</i> IMI 138291	糖蜜	6.81(42.5)	5.41(33.8)	20.5
	淀粉	6.58(41.1)	5.18(32.4)	21.0
<i>Fusarium</i> sp.	糖蜜	9.00(56.3)	5.23(32.7)	41.8
<i>Aspergillus oryzae</i> NRRL 3487	淀粉	8.03(50.2)	4.60(28.7)	42.6
	糖蜜	6.76(42.3)	4.18(26.1)	38.2
<i>Neurospora sitophila</i>	淀粉	10.50(65.7)	5.70(35.6)	45.6
	糖蜜	8.10(50.6)	5.40(33.7)	33.5
<i>F. culmorum</i> IMI 154216	糖蜜	9.52(59.5)	6.26(39.2)	34.2
<i>F. solani</i> IMI 154217	淀粉	9.13(57.0)	7.32(45.7)	19.7
<i>F. moniliforme</i> IMI 154215	糖蜜	8.25(51.5)	5.70(35.6)	30.9
<i>A. niger</i>	糖蜜	7.66(47.9)	4.08(25.5)	46.6
<i>Alternaria tenuis</i>	淀粉	8.98(56.1)	4.54(28.3)	49.4
	糖蜜	7.94(49.5)	3.57(22.3)	55.0
<i>N. sitophila</i>	糖蜜	8.49(53.0)	5.01(31.3)	41.0
<i>Trichoderma viride</i>	淀粉	10.20(63.7)	5.66(35.4)	44.5
<i>P. chrysogenum</i>	糖蜜	7.72(48.2)	4.29(26.8)	44.3
	乳清	9.00(56.3)	6.64(41.5)	26.0
<i>Malbranchea</i> sp.	糖蜜	6.75(42.2)	4.45(27.8)	34.0
<i>F. graminearum</i> IMI 154209	淀粉	8.64(54.0)	6.74(42.1)	22.0
<i>Agaricus bisporus</i>	有机培养料	5.15(32.8)	3.10(19.4)	41.0

表 4 在葡萄糖基质上一些真菌的最大生长速率 (μMax)

菌 名	温度 (°C)	μMax (h ⁻¹)	td(倍增时间;h)
<i>Aspergillus niger</i>	30	0.20	3.46
<i>A. nidulans</i>	30	0.215	3.23
<i>Penicillium chrysogenum</i>	25	0.123	5.65
<i>Mucor hiemalis</i>	25	0.17	4.1
<i>Fusarium avenaceum</i>	25	0.18	3.8
<i>F. graminearum</i>	30	0.28	2.48
<i>Verticillium agaricinum</i>	25	0.24	2.9
<i>Geotrichum candidum</i>	25	0.41	1.7
	30	0.61	1.1
<i>Neurospora sitophila</i>	30	0.40	1.73

生产率。如果间歇发酵一罐需 48 小时,在同一时间连续发酵法收率可增加 5 倍。该公司实验车间用两个 1.3 吨级发酵罐每周可生产 1—2 吨真菌蛋白,生产率为每小时每吨发酵液收 3—3.5kg 干重的菌体。

发酵结束时,从发酵罐内收取的产物是泥浆状的具有蘑菇香味的真菌蛋白,只需要脱核酸、洗涤、压榨即可得到纤维状的产品^[20]。

(四) 真菌蛋白的安全性

采用真菌的菌丝体做为蛋白食品,尤其是以镰刀菌属的菌种发酵生产真菌蛋白,其关键问题之一是菌株及其产物是否有毒。长期食用是否会在人体内产生累积效应而致畸或致癌^[23]。

自 60 年代人们发现黄曲霉毒素的致癌性以后,对真菌毒素的研究进入一个活跃时期。尤其是镰刀菌毒素^[24-26],按其毒素的化学结构及对动物的毒性大体可分为以下四类^[27]: (1) 单端孢霉毒素(trichothecenes),以 T-2 为代表,主要引起造血细胞组织的坏死,用常规检测毒性的方法即可检出; (2) 玉米赤霉烯酮,又称 F-2,系雌性发情激素 (zearealenone),可引起雌性小白鼠子宫重量增加; (3) 丁烯酸内酯 (butenolide) 腹腔注射引起小白鼠死亡; (4) 串珠镰刀菌素 (moniliformia) 小公鸡口服引起死亡。上述四种毒素均在低温 15℃ 左右的大米、玉米、小麦固体培养基上产毒。

英国 RHM 公司对禾谷镰刀菌 A3/5 菌株进行了十年的安全性试验,对其致畸、致癌、传

代进行了实验,并对志愿人员的皮肤、眼睛曝光效果、雌激素和新生儿的影响做了详细的试验,实验报告写了24卷共200万字。于1981年正式获得政府批准用于食品。并与ICI(帝国化学公司)合作,年产量达1000吨,取名为New Era Foods(新时代食品)。RHM公司进行此项研究前后耗资2000万美元。

我国北京营养源研究所筛选的丝基霉与北京卫生防疫中心于1989年通过了安全性试验,获卫生部批准食用。南开大学生物系筛选的镰刀菌目前处于毒性实验阶段,在实验室内进行家兔皮肤实验、抑菌实验、发芽实验,这三项毒性实验阴性者再进行Ames实验、微核实验、精子致畸实验,此后进入慢性毒性实验。

真菌蛋白的另一项重要的安全性试验是控制核酸(RNA)含量。真菌蛋白同细菌、酵母菌一样具有较高的核酸含量,通常在8—25%范围内。若仅做为饲料则无问题,做为食品,因人类缺乏尿素酶,RNA的嘌呤分解代谢产物尿酸不能进一步被氧化,容易形成尿酸盐结晶而积存,从而引起组织、关节疼痛(即痛风)。因而国际卫生组织(WHO)和Protein Advisory Group(PAG)规定人类每天从真菌蛋白摄取量不得超过2克RNA,加上其它来源摄入的RNA每天不能超过4克^[2]。于是如何降低RNA的量成了真菌蛋白生产工艺中的一个重要问题。

1970年Manl等人^[28]首先发明了热震法(Heat shock)降低RNA含量,即利用菌体自身的RNase将RNA降解为单核苷酸,而单核苷酸可渗出胞外,从而使体内氨基酸成分受影响极小。Manl的方法被Towersey^[29]简化,可将原来的8%RNA降至1%左右,从而达到WHO所规定的标准。

(五) 结语

当今世界粮食已成为“战略武器”和政治斗争的筹码,因此,用工业方式生产食用蛋白具有重要的战略意义。在我国发展真菌食用蛋白的意义表现在以下几个方面。

1. 我国国民的食品构成以淀粉为主,蛋白含量低,影响人民体质,需要补充蛋白食品。真

菌蛋白味美,有类似于肉质的组织结构,高蛋白低脂肪,氨基酸组成齐全,富含维生素和微量元素,营养价值优于肉质而又具保健功能,它更适合于现代人的营养要求,是一种价廉的保健营养食品。

2. 用发酵法生产真菌蛋白不受土地、气候、光照条件的制约,而且生产速度快而稳定。一个1.5m³的发酵罐每年达到50吨的生产能力。这种工厂式的生产占地少,全年连续生产,可为我们提供稳定的蛋白质来源。

3. 真菌蛋白的生产可利用多种原料,还可利用其它农副产品及工业产品的下脚料,如糖蜜废水、面筋水洗液、粉丝厂废水等。又由于这类工厂设备简单可以在中小企业推广。

4. 生产真菌蛋白的投资是各种蛋白质生产方式中最低的,它分别是养鱼业、养鸡业、养猪业所需投资的36%、30%、8%。同时由于后处理简单,只需压榨、脱水、洗涤即可,无环境污染。

5. 真菌蛋白的研究是一项既有实用价值又有理论意义的课题,而且涉及生物学、营养学、毒理学、微生物工程、食品工程等多学科。因此,这一课题的开发亦对我国食品科学事业有一定的促进作用。

参 考 文 献

1. Miller BM: Industrial Microbiology. Warren Liscky McGraw-Hill Book Company, New York, Chapter, 13: 559, 1976.
2. Solomons GL: Single Cell Protein Critical Rev in Biotechnology, Boca Raton Florida, CRC Press (in press) P. 21—58, 1983.
3. Tuse D: 应用微生物, 2: 13—18, 1986.
4. Gilbert FA and RF Robinson: Food From Fungi Econ Bot., 11: 126. 1975.
5. Gray WD: Rev. Food Technol., 1: 225, 1970.
6. Gray WD: U. S. Patent, 3 151 038, 1964.
7. Reade AE and RH Smith: J. Appl. Chem. Biotechnol., 25: 785, 1975.
8. Moo-Yong M et al.: The Waterloo Process For SCP Production From Waste Biomass, Process Biochem., P. 39. 1979.
9. Rolz C: Utilization of Cane and Coffee Processing By products as Microbial Protein Substrates, in Single Cell Protein II. Tannenbaum SR and Wang DIC, Eds. MIT

(下转第159页)

- press Cambridge, Mass., P. 273, 1975.
10. Eriksson KE and K Larsson: *Biotechnol. Bioeng.*, 17: 327, 1975.
 11. Romantschuk H: The Pekilo Process: Protein From Spent Sulphite Liquor, In *Single Cell Protein II* Tannenbaum S R and Wang D I C, Eds., MIT Press, Cambridge, Mass., P. 334, 1975.
 12. Romantschuk H and M Lehtomaki: *Operation Experiences of First Full Scale Pekilo SCP-mill Application*, *Process Biochem.*, P. 16, 1978.
 13. Imrie FKE and AJ Vlitos: *Production of fungal Protein from Carob*, In *single Cell Protein II*, Tannenbaum S R and Wang D I C, Eds., MIT Press, Cambridge, Mass., P. 344, 1975.
 14. Kosman W: A Better Way to Make Protein From Whey? *Chem. Eng.*, P. 36, March 13, 1978.
 15. Anderson C and GL Solomons: *The Applied Mycology of Fusarium*, Symposium of The British Mycological Society Held at Queen Mary College, London, Cambridge Press, P. 231—246, 1982.
 16. Edelman J Fewell A and GL Solomons: *Mycoprotein—A New Food*, *Nutrition Abstracts and Reviews in Clinical Nutrition—Series A*, Vol. 53(6), 1963.
 17. Solomons GL and GW Scammell: U. S. Patent, 4 294 929, 1981.
 18. Solomons GL and GW Scammell: U. S. Patent, 3 937 654, 1976.
 19. 林伯荃等: *微生物学通报*, 17(5): 267—271, 1990.
 20. 林伯荃: *工业微生物*, 6: 12—14, 1985.
 21. Garraway MO and RC Evans: *Fungal Nutrition and Physiology*, John Wiley Sons, New York, 1984.
 22. Pateman JA: *Nitrogen Metabolism*, In Smith J E and Berry DR, Eds., *The Filamentous Fungi*, New York, Wiley, p. 159—237, 1976.
 23. Maurice OM and JE Smith: *The Applied Mycology of Fusarium*, Cambridge University Press, 1984.
 24. 匡开源等: *真菌学报*, 4(3): 193—196, 1985.
 25. 张树荣等: *微生物学通报*, 10(2): 59—63, 1983.
 26. Burmeister HR and CW Hesseltine: *Applied Microbiology*, 20(3): 437—440, 1970.
 27. 孟昭赫: *国外医学参考资料(卫生学分册)*, 2: 80—89, 1975.
 28. Maul SB and AJ Sinsky: *Nature* (London), 228: 181, 1970.
 29. Towersey DJ: British, Patent 1 440 642, 1976.
 30. Anderson C et al.: *The Growth of Microfungi on Carbohydrates*, in *Single Cell Protein II*, Tannenbaum S R and Wang D I C, Eds., MIT Press, Cambridge, Mass., P. 314, 1975.