

# 食藥用菇類液體菌種栽培技術之潛力

撰文/石信德

## 前言

菇類是人類日常生活中所不能欠缺的食物，也是農業重要產值來源，我國洋菇罐頭外銷量在1960-1970年代為世界第一，曾有洋菇王國的美譽。台灣目前栽種生產的菇類有香菇、金針菇、杏鮑菇、秀針菇、洋菇、鴻喜菇（白精靈或白玉菇）、木耳、靈芝、草菇、高溫菇、蠔菇、夏季鮑魚菇、巴西磨菇、柳松菇、茶樹菇、珊瑚菇及猴頭菇等，總產值接近新台幣100億元。其中以太空包推廣栽培香菇數量已達1億6千萬包，占台灣鮮銷市場75%以上，產值達新台幣2億4,000萬元；另外，杏鮑菇自動化生產技術與品種改良已推廣商業化生產。近年來隨著消費型態的改變，各種食藥用菇類因具有對人體特殊生理活性的物質，如多醣體、三萜類、麥角固醇、核苷酸、蛋白多醣、核酸、有機鍍、食用纖維等，具抗腫瘤、免疫調節、降血壓、降血糖、降膽固醇、抗細菌及病毒及延緩骨質疏鬆等保健功效，成為新興健康食品及保健產品所開發的對象。菇類產品之生產主要分為子實體及菌絲體，子實體經由段木栽培、木屑太空包或栽培瓶生產；菌絲體則需依賴液態培養而得。菇類生產需經菌種製作與培養、培養基質製作與菌種接種培養、出菇管理等三階段過程。一般菌種培養階段均利用麥粒、裸麥、高粱等穀類種子或木屑為主配方製作固體菌種，再接種至培養基質中擴大培養，往往耗時費力，且

易受雜菌污染或其菌絲有生長不正常之現象發生，是目前菇類產業經營上所遭遇到的問題。相較於固體菌種，液態菌種係指生長在液體培養基中的菌種或菌絲體，在產業應用上又稱為深層發酵或深層培養。為因應菇類產業朝向自動化、規模化與國際化，菇類液體菌種之開發與應用已成為未來發展的趨勢。

## 液體菌種發展概況

1948年美國Humfeld氏首先採用並報導液體培養技術可以培養蘑菇 (*Agaricus campestris*) 菌絲體後，利用深層發酵技術培養各種食、藥用菌引起人們的極大重視。1958年Szuvecs氏是第一個人用發酵槽來培養羊肚菌 (*Morehelia esculenta*)，從此食用菌液體培養菌種的成功例子相繼出現。1975年日本杉恒武等人曾用1%的有機酸和0.5%的酵母膏作為培養基得到大量的香菇菌絲體。1960年中國陳美聿等人對香菇進行深層培養研究後，大陸方面針對數十種食用菌已經有許多液體培養的研究。全世界已有許多食藥用菇類被嘗試開發做液體菌種，包括：牛樟芝 (*Antrodia cinnamomea*)、洋菇 (*Agaricus bisporus*)、蘑菇 (*Agaricus compestris*)、巴西蘑菇 (*Agaricus brasiliensis*)、黑木耳 (*Auricularia auricula*)、毛木耳 (*Auricularia polytricha*)、金針菇 (*Flammulina velutipes*)、北冬蟲夏草 (蛹蟲草) (*Cordyceps militaris*)、舞菇 (*Grifola frondosi*)、

靈芝 (*Ganoderma lucidum*)、猴頭菇 (*Hericium crinaceus*)、香菇 (*Lentinus edodes*)、滑菇 (*Pholiota nameko*)、玉米菇 (*Pleurotus citrinopileatus*)、杏鮑菇 (*Pleurotus eryngii*)、香蕈 (*Pleurotus ferulae*)、蠔菇 (*Pleurotus oyster*)、鳳尾菇 (*Pleurotus sajorcaju*)、美味側耳 (*Pleurotus sapidus*)、草菇 (*Volvariella volvacea*) 等 70 餘種。據文獻指出由實驗室或小規模試驗結果發現，絕大多數的食藥用菇類的菌絲均能在適宜的培養條件下於液體培養基中生長，並生產出符合標準的液體菌種。近年來在荷蘭、美國、英國、大陸、日本及韓國，均有利用液態菌種進行菇類商業化生產的案例，這些菇類如羊菇、杏鮑菇、金針菇、香菇及黑木耳等。

## 液體菌種的製作、操作流程及培養的條件

### (一) 生產設備

#### 1. 搖床

利用三角玻璃燒瓶內的液體培養基於搖床中振盪培養生產。搖床的特性會影響氧氣的質傳效應，進而影響菌體的生長，因此通常根據實際情況選擇培養時的搖床種類及振盪速度。搖床的型式通常為往復式及旋轉式，往復式的回轉速度為 80-140

rpm、旋轉式的回轉速度為 60-300rpm。

#### 2. 生物反應器或醱酵槽

利用攪拌式(圖一)或氣舉式醱酵槽(圖二)可進行菇類的液體菌種生產或特定代謝產物如菇類多醣體或三萜類等之深層培養。

### (二) 培養基

#### 1. 菇類的液體菌種醱酵培養基組成

包括碳素源、氮素源、無機鹽、水分及其他微量元素等。根據不同菇類之生長考量其營養需求、原料來源、價格而設計其配方。常用的原料有糖蜜、葡萄糖、砂糖、蔗糖、澱粉、馬鈴薯等充作碳源；玉米粉、黃豆粉、蛋白朊、酵母抽出物等充作氮源，此外，亦有添加維生素或無機鹽等。這些配方經高溫 (121°C) 及高壓 15psi (100KPa) 滅菌 30 分鐘後備用。

#### 2. 配方實例

(1) 金針菇培養基配方為澱粉30公克/每公升、葡萄糖40公克/每公升、蛋白朊0.7公克/每公升、硫酸鎂0.3公克/每公升、磷酸二氫鉀0.7公克/每公升、B1維生素1.2毫克/每公升及1公升水。



圖一 攪拌式醱酵槽



圖二 氣舉式醱酵槽

(2) 北冬蟲夏草培養基配方為葡萄糖20公克/每公升、馬鈴薯200公克/每公升、黃豆粉10公克/每公升、蛋白朊20公克/每公升、牛肉抽出物3公克/每公升、B1維生素20毫克/每公升、B2維生素10毫克/每公升及1公升水。

### (三) 操作流程

#### 1. 搖瓶操作

利用接種棒刮取已經成長在固態培養基的菇類菌絲塊(大小約為 0.5x0.5 公分)或 0.5-3% 接菌量(體積比)，於無菌操作箱中接種至三角燒瓶後，於適當溫度下進行(3-7 天)搖床培養。

#### 2. 發酵槽操作

利用於搖瓶前培養之菌種進行擴大的菌種發酵生產。此階段的接菌量通常為培養基的 10-20% (體積比)。接種用的前培養菌種若先經均質化處理，再接種到液體培養基中，則可以提高培養效率。

### (四) 液體菌種培養的條件

#### 1. 溫度

大多數的菇類菌絲體生長具有廣泛的溫度適應範圍，一般以 18-30°C 較為適合，過高或過低的溫度均會影響其產量。

#### 2. 攪拌和通氣

經過除菌處理的空氣，方能進入發酵槽。氧氣供應量會直接影響菌體的生長代謝作用，因此為了增進通氣效率及使每一個菌體細胞獲得充足的氧氣生長，必須透過攪拌來增加培養液中的氧氣。通氣的另一個作用是維持槽體的正壓，以防止空氣中雜菌污染培養液。攪拌速度通常為 150-180rpm/分鐘；通氣量則維持在 1-5vvm。

### 液體菌種的分析及檢查

#### (一) 生物質量

根據菌絲量及菌絲球大小判定液態菌種之質

量。菌絲量係經離心去除醱酵上清液秤量鮮重，或將含水菌絲於烘箱中烘乾後秤量乾重。菌絲球則須 80% 以上的菌絲球直徑小於 1 毫米 (mm)。

#### (二) 純度分析

用以判斷液態菌種是否遭受污染或不良生長。包括：

##### 1. 感官分析

成熟的液態菌種具有菇類特有的味道，其醱酵液較為澄清透明，若有雜菌(通常為細菌)污染時呈現混濁且具有異味(如酸、臭等)。

##### 2. 顯微鏡觀察

發酵過程中定時取樣，於光學顯微鏡下觀察菌絲體狀態，若發現異常菌絲體表示菌絲生長不良。

### 液態菌種的接種

係利用接種工具如分注器、接種槍或接種器將熟成的液態菌種接種至太空包或產瓶(圖三)，或是例如將牛樟芝液態菌種以噴槍接種在段木上，以進行後續的出菇管理階段。一般產瓶接菌量為 0.5-3% (體積比)。近年來亦有廠商開發液態菌種專用



圖三 北冬蟲夏草無菌環境接種過程中，利用液態培養的菌絲做為菌種

的接種平台機器，可確保在無菌狀態下進行接種工作，不過這類機器造價較為昂貴，較適合較大規模的企業使用。

### 杏鮑菇的液體菌種栽培

杏鮑菇 B012 及 ESPS 品種（農試所育成品種）之菌絲經過均質後接種至 YS 液體培養基，培養條件為 24° C、150rpm/min 暗培養 3 天即可得液體菌種。在杏鮑菇 B012 及 ESPS 品種液體培養 3 天後，分別取 5、10、20、30 ml 接入栽培瓶或太空包，並以木屑菌種作為對照組，培養於 24±1° C 環境中，並觀察各接種量對菌絲生長之影響。待菌絲長滿後移入 15° C，二氧化碳 1500ppm，相對溼度 90% 下使之長出子實體，並調查產量及產值。

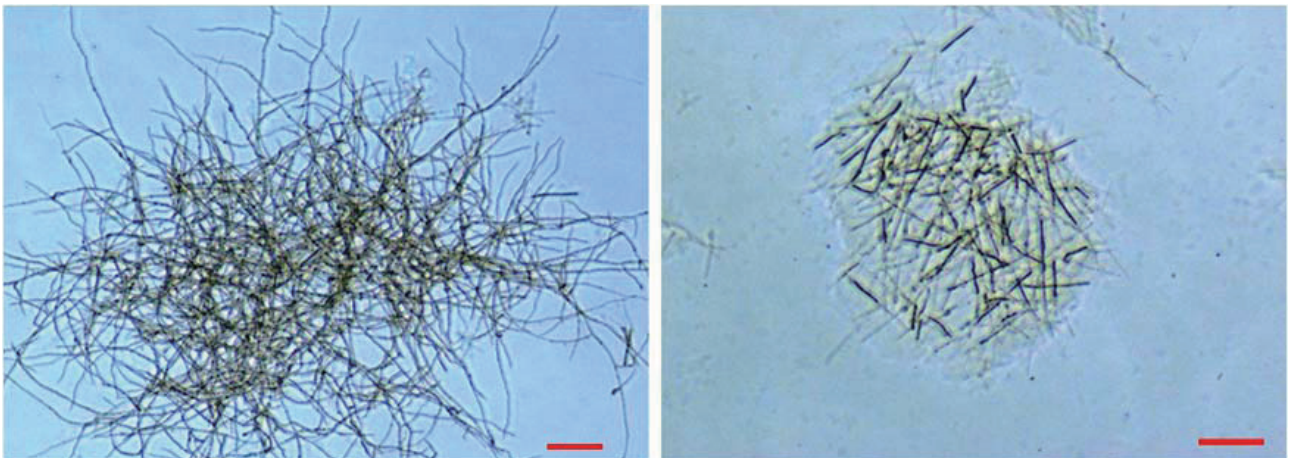
收穫後的杏鮑菇液體菌種，於光學顯微鏡下可觀察到逐漸形成的菌絲團（圖四），其總菌落數為 103CFU/ 毫升。試驗結果顯示，隨著接種量增加，菌絲長滿速度隨之增快，B12 品種分別接種 20 及 30ml 之接種量的菌絲長滿天數均為 20 天，ESPS 接種 30 ml 之菌絲生長天數為 17.6 天，而 B12 及 ESPS 品種分別接種 5 及 10ml 時其菌絲介於 23.6-27.3 天長滿，對照之木屑菌種所長的菌絲平均長滿天數則為 24 天。杏鮑菇液體菌種生產之子實體產

量除 B12 品種接種 20ml 之平均產量為 165.38g/ 瓶外，其他不同接種量 (5ml,10ml 及 30ml) 之產量介於 181.7-191.38g/ 瓶，而 ESPS 品種之平均產量為 179.5-185.5g/ 瓶，顯示液體接種產量顯著高於固態接種的產量 (165.7g/ 瓶) (圖五及表一)。試驗結果顯示液體菌種有利於杏鮑菇生產，可節省約 24-26 天的固體菌種之製備及培養時間、木屑培養基之成本、7-10 天接菌後菌絲生長時間及增加庫房設施使用效率等。

### 結論

應用液體菌種栽培食藥用菇類的優點有：(1) 降低生產成本；(2) 提升菌種產能（其生長速率快及高養分利用效率）；(3) 菌齡較短（生長週期短）、純度較高及活力強；(4) 縮短栽培時間及提早出菇（圖六）；(5) 增加庫房周轉率及節省人力及固態菌種生產空間；(6) 可增加菌種自動化生產，減少勞力；(7) 菌種接種一致性。雖然液體菌種有許多好處，不過仍須注意事項有：(1) 從事菌種篩選及改良；(2) 考量適當的設備投資；(3) 注重乾淨的生產環境；(4) 建立標準操作技術及流程；(5) 增加菌種的櫥架壽命。

菇類是傳統農業中初級農產品，開發成保健食品有助於產業的發展，更可以利用菇類作為生物工



圖四 光學顯微鏡下之杏鮑菇菌絲球型態（游標尺寸為0.1毫米）



圖五 農試所育成之B012及ESPS杏鮑菇子實體（上排為木屑固態菌種栽培，下排為液體菌種栽培）



圖六 金針菇出菇情形（左為固體菌種栽培，右為液體菌種栽培）

廠（或分子農場）製造高附加價值的醫藥用途蛋白質。因應未來的菇類產業發展趨勢，開發液體菌種栽培及生產食藥用菇類具有相當的應用潛力，也是生物技術產業的重要環節（圖七）。

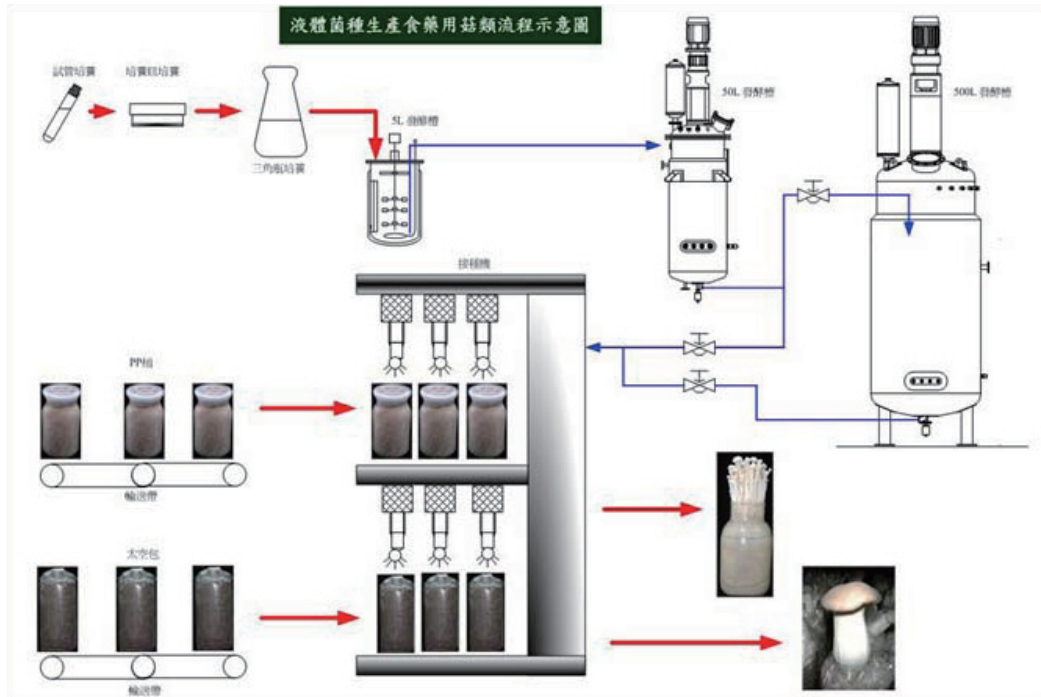
AgBIO

石信德 行政院農業委員會農業試驗所 植物病理組 副研究員

表一 杏鮑菇液體菌種接菌量對產量之影響

品種與接菌量/毫升	介質平均重量 (公克/瓶)	杏鮑菇 平均鮮重* (公克/瓶)	乾物重 (出菇前公克/瓶)	生物效率 (%)	乾物質損失率 (%)	
B12	木屑	780.17	167.25±16.7 b	257.58	64.93	9.98
	5	777.16	191.38±15.7 a	248.58	76.18	14.51
	10	783.75	181.75±17.5 ab	254.17	71.51	12.10
	20	766.60	165.38±31.1 b	247.44	67.04	7.03
	30	773.50	187.88±18.2 a	250.85	74.90	9.09
ESPS	木屑	788.71	165.75±5.6 b	253.28	65.19	15.38
	5	629.16	185.50±16.9 a	165.93	74.53	14.14
	10	757.83	179.50±12.0 a	241.36	74.37	12.45
	20	764.50	181.13±25.3 a	244.77	74.00	16.13
	30	784.66	185.50±15.5 a	251.82	72.03	13.65

\*杏鮑菇平均鮮重(LSD 0.05)



圖七 液體菌種生產食藥用菇類流程示意圖

#### 參考文獻

1. 呂作舟 (2008) 食用菌無害化栽培與加工。化學工業出版社，頁487。
2. 陳美杏、呂昀陞、石信德 (2010) 新興菇類的栽培與發展。科學發展，446:8-15。
3. Eyal, J. (1991) *Mushroom mycelium grown in submerged culture - Potential food applications*. In: Goldberg I, Williams R, eds. *Biotechnology and Food Ingredients*. Van Nostrand Reinhold, New York. pp.31-64.
4. Friel, M. T. and McLoughlin, A. J. (2000) *Production of a liquid inoculum/spawn of Agaricus bisporus*. *Biotechnology Letters* 22:351-354.
5. Kawai G, Kobayashi H, Fukushima Y, Ohsaki K (1995) *Effect of liquid mycelial culture used as a spawn on sawdust cultivation of shiitake (Lentinula edodes)*. *Mycoscience* 37:201 - 207.
6. Leatham, G. F. and Griffin, T. J. (1984) *Adapting liquid spawn Lentinus edodes to oak wood*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 20:360-363.