



食藥用菇蕈之深層發酵與液體 菌種



菇類的膳食功能與生活機能

- ❧ 國內食用及藥用菇消費量近些年來顯著提高，根據調查數據保守估計，國人每人每年菇類消費量已高達5公斤以上，達到已開發國家之消費水準。
- ❧ 在國內民眾健康意識抬頭以及認知食品衛生安全之重要性下，加上消費者對菇類之膳食功能與生活機能的認同，直接跟間接都促進了菇類生鮮以及保健食品市場的高度成長。



菇類的液態發酵





發酵

- ❧ 最初發酵是用來描述**酵母菌**作用於果汁或麥芽汁產生氣泡的現象，或者是指酒的生產過程，是為原始的發酵。
- ❧ 在生化和生理學意義上，發酵指微生物在**無氧**條件下，分解各種**有機物質**產生能量的一種方式，或者更嚴格地說，發酵是以有機物作為電子受體的**氧化還原**產能反應。如葡萄糖在無氧條件下被微生物利用產生**酒精**並放出二氧化碳。



工業生產上的發酵

- ❧ 微生物細胞或是生物質作為產物：single cell protein, bakers yeast, lactobacillus, etc.
- ❧ 微生物酵素：catalase, amylase, protease, pectinase, glucose isomerase, cellulase, hemicellulase, lipase, lactase, streptokinase, etc.
- ❧ 微生物代謝物：
 - 主要代謝：ethanol, citric acid, glutamic acid, lysine, vitamins, polysaccharides etc.
 - 二次代謝: all antibiotic fermentation
- ❧ 重組產物: insulin, HBV, interferon, GCSF, streptokinase
- ❧ 生物轉化物: steroid biotransformation, etc.

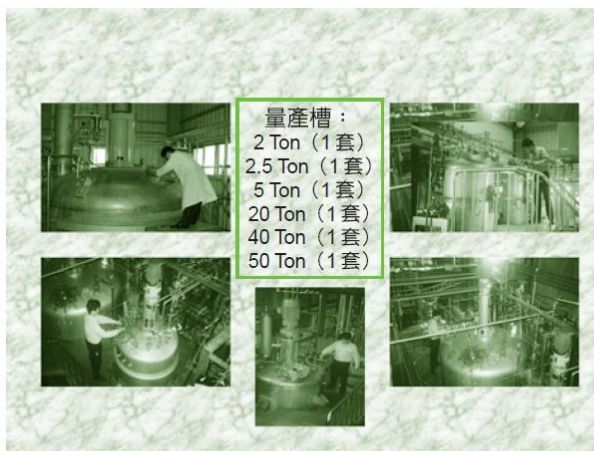


表一 靈芝不同培育方式之比較

培養型態	靈芝的培育方式	多醣體含量	產物	栽培時間
固體培養	段木栽培法	1.55 %	子實體	120~200天
	太空包（木屑培養基栽培法）	1.55 %	子實體	90~120天
液態培養	液態發酵法	5.43 %	生長菌絲體及發酵液	6~12天



圖四、上游生產設備



圖六、中游生產設備 -2



圖七、下游生產設備



培養

- ∞ 批次培養(batch culture)
- ∞ 補料批次培養(Fed-batch culture)
- ∞ 半連續培養(semi-continuous)
- ∞ 連續培養 (continuous)



批次培養(batch culture)

- ❧ 培養基中接入菌種以後，沒有物料的加入和取出，除了空氣的通入和排氣。整個過程中菌的濃度、營養成分的濃度和產物濃度等參數都隨時間變化。
- ❧ 批次培養的操作簡單，周期短，污染機會少，生產過程和產品質量容易掌握。然而產率低，不適用於測定動力學數據。



補料批次培養(Fed-batch culture)

- 指在批次培養過程中補入新鮮的料液，以克服營養不足而導致的發酵過早結束的缺點。在此過程中只有料液的加入沒有料液的取出，所以發酵結束時發酵液體積比發酵開始時有所增加。
- 在這樣一種系統中可以維持低的基質濃度，避免快速利用碳源的阻遏效應；可以通過補料控制達到最佳的生長和產物合成條件；還可以利用計算機控制合理的補料速率，穩定最佳生產效率。同時，由於沒有物料取出，產物的積累最終導致比生產速率的下降。由於有物料的加入增加了污染機會。



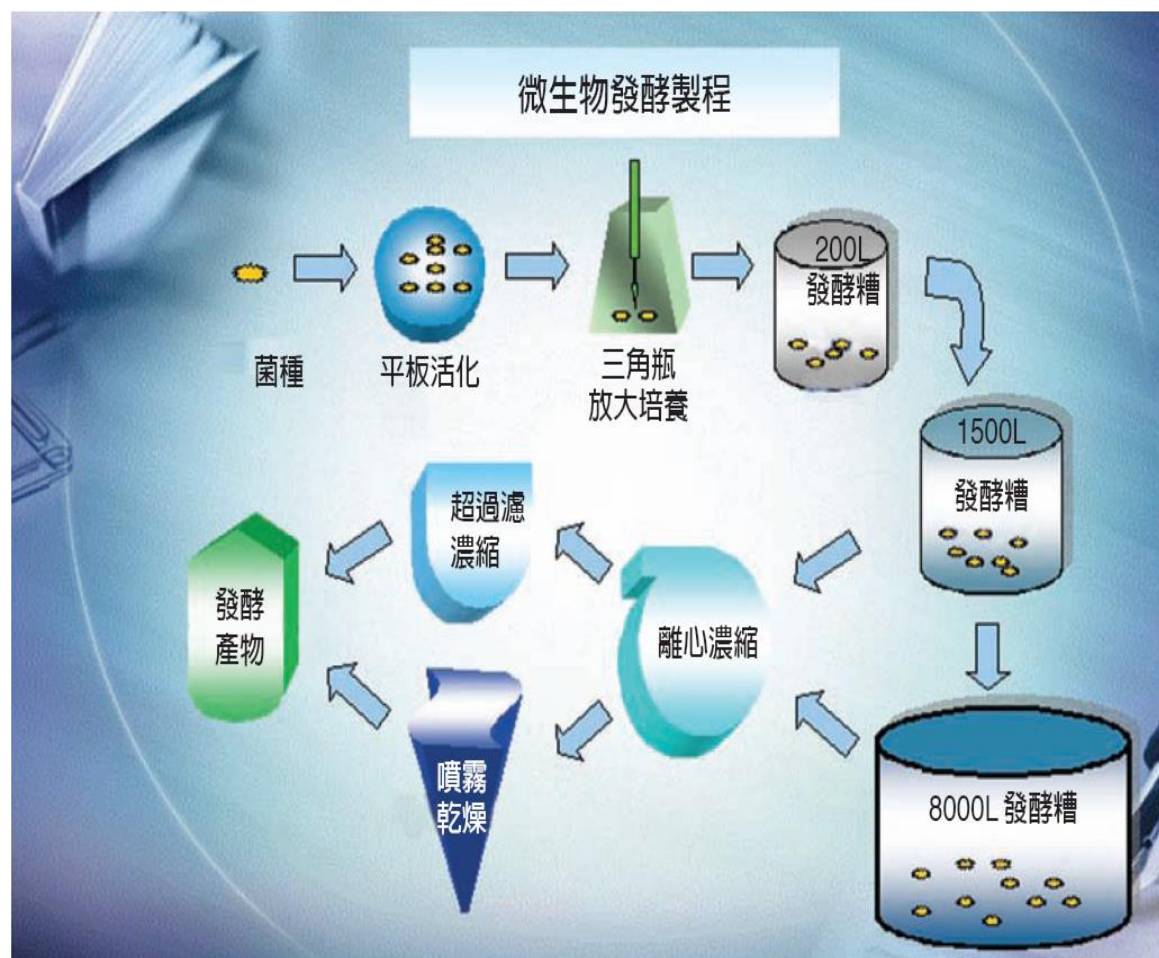
半連續培養(semi-continuous)

- 在補料分批培養的基礎上間歇放掉部分發酵液（帶放）稱為**半連續培養**。某些品種採取這種方式，如**四環素**發酵。
- 放掉部分發酵液，再補入部分料液，使代謝有害物得以稀釋有利於產物合成，提高了總產量。然而這樣做也導致代謝產生的前體物被稀釋，提取的總體積增大。



連續培養 (continuous)

- ❧ 發酵過程中一邊補入新鮮料液一邊放出等量的發酵液，使發酵罐內的體積維持恆定。達到穩態後，整個過程中菌的濃度，產物濃度，限制性基質濃度都是恆定的。
- ❧ 在**連續培養**中控制稀釋速率可以使發酵過程最優化。發酵周期長，可以得到高的產量。然而假如菌種不穩定的話，長期連續培養會引起**菌種退化**，降低產量。長時間補料染菌機也會大大增加。所以這樣發酵方式在實際生產中並不常用。





恆溫震盪培養

∞ 目的在於培養菌種(starter), 使可以因應後續的大量利用。

1. 三角錐型瓶

- ①同一個時段內進行不同培養條件的測試
- ②相同試驗條件的再現性驗證

2. 恆溫振盪培養箱

- ①恆溫振盪培養箱是俗稱的搖瓶機，三角錐型瓶搭配使用
- ②主要的功能有活化菌種、篩選菌種、測試最佳的生長條件和最佳化培養基配方等各方面的研究



氣升(舉)式發酵槽

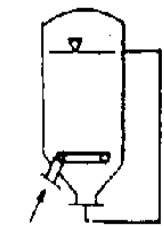
1. 氣泡塔發酵槽

- ① 氣泡塔發酵槽的外型特點在於其反應器的高度比較高
- ② 相較於攪拌式發酵槽，其操作成本約為其30%，因此具有操作成本上的優勢

2. 氣舉式發酵槽

- ① 最大的特色是在槽體內增設一個同心圓柱管或槽體外增設一具導流管
- ② 與氣泡塔發酵槽比較，則因為發酵槽內部具有導流的裝置，故液相的流態相較穩定
- ③ 氣、液的接觸面積相對較小，所以氧氣質傳速率較氣泡塔差。

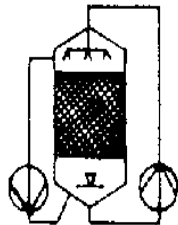
(c) 氣泡柱反應器 壓力循環反應器 (d) 滴露反應器



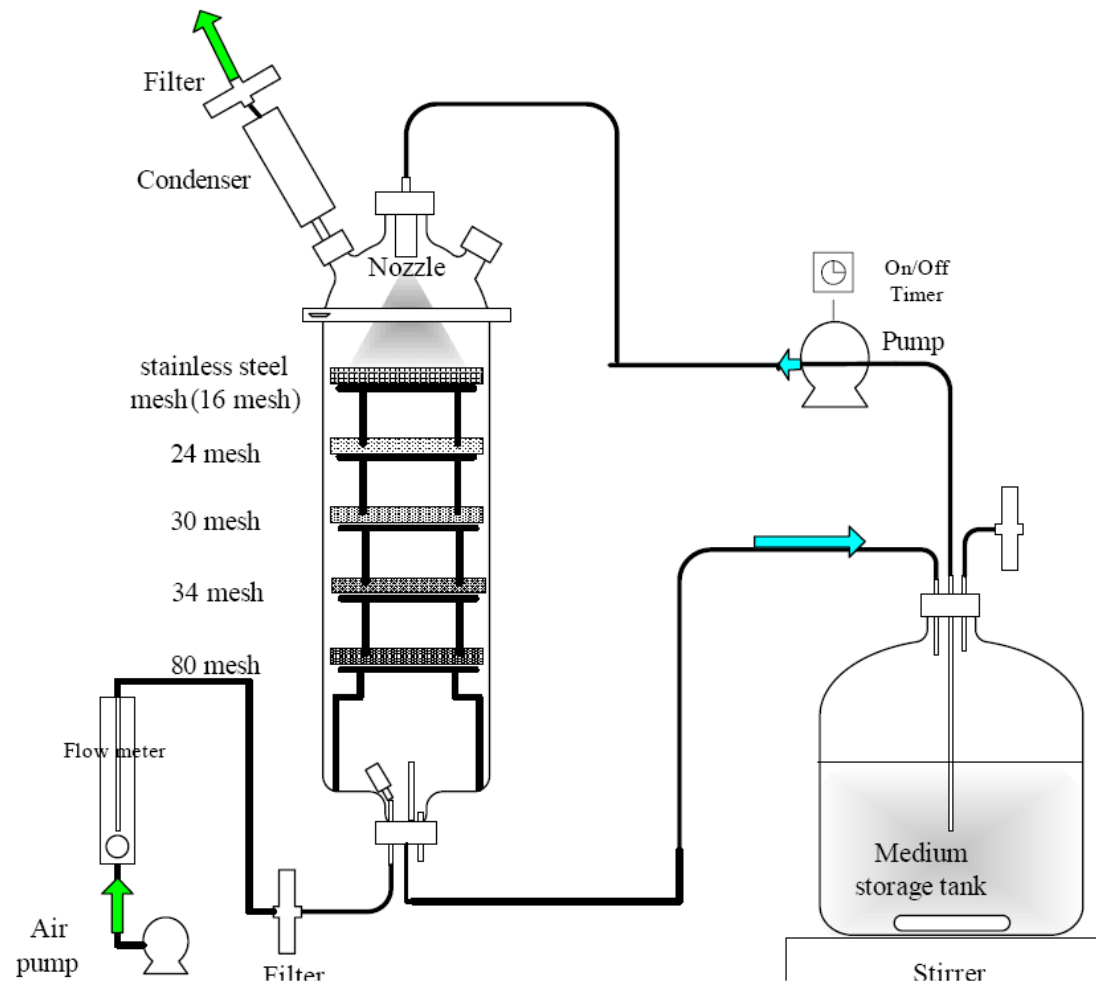
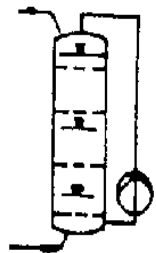
氣舉循環反應器



篩板反應器



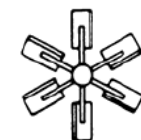
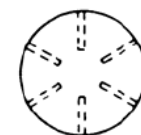
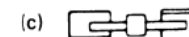
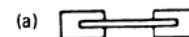
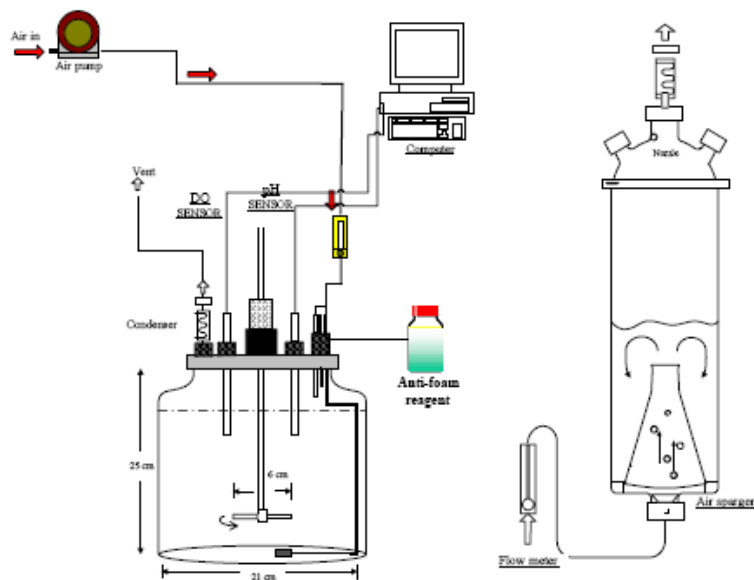
葉輪反應器





通氣式機械攪拌發酵槽

- ①通氣式機械攪拌發酵槽因為其攪拌葉的攪拌功能，使得發酵液混合均勻、溶氧速率增加、酸鹼調控與溫控穩定
- ②機械攪拌器的主要功能在於使液相充份混合
- ③機械攪拌的**剪切力**會使得培養於發酵槽中的生物體受到傷害





發酵過程的重要參數

一、物理參數

1. 溫度

溫度會影響微生物生長的速度

2. 槽體內壓力

通氣式發酵槽必須對槽內的微生物提供氧氣維持槽體內為正壓的狀態，能避免外界空氣中的雜菌

3. 攪拌轉速

各個時期的溶氧會有不同的需求，適時適度調整攪拌葉的轉速，將有助於對發酵系統提供合適的溶氧速率。

4. 氣體流量

空氣流量過大，會增加液相發酵液的蒸發速率

5. 溶氧濃度值(DO)

監測溶氧濃度值的目的，在於掌握菌體生長過程的變化與進度



發酵過程的重要參數

二、化學參數

1. 基質濃度

- ① 基質濃度過低，微生物將因食物不足而逐漸死亡
- ② 氮源是細胞、酵素等胺基酸、蛋白質的主成份元素，足量的氮源才能使微生物的數量與質量隨時間逐漸增加

2. 酸、鹼度值

生物體產生的有機酸或有機鹼累積在發酵液中



發酵過程的重要參數

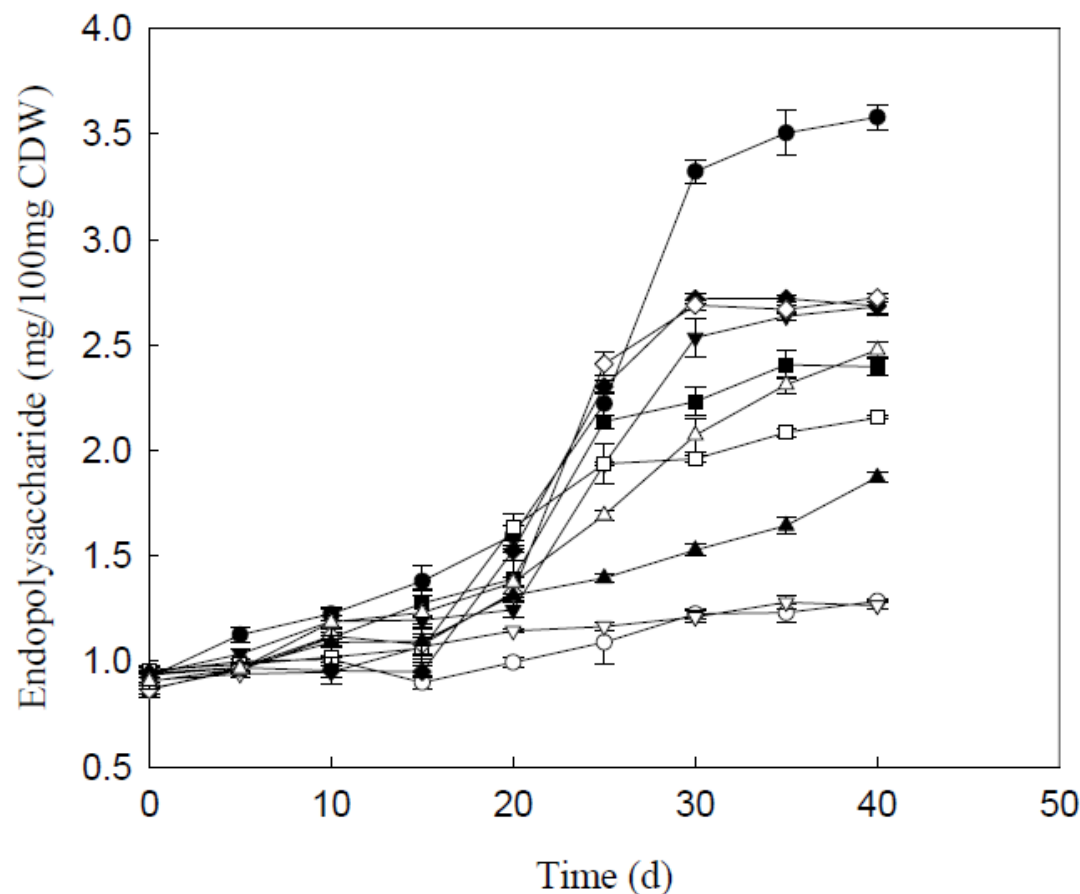
三、生物參數

1. 菌體量（菌體濃度或乾重）

- ① 發酵的初步成果取決於發酵槽內菌體的多寡
- ② 較多的微生物菌體量，預期會有較高的代謝物生產效益或微生物收益
- ③ 菌體量多寡的決定方式，則可以透過測定菌體濃度或乾重的方式來決定

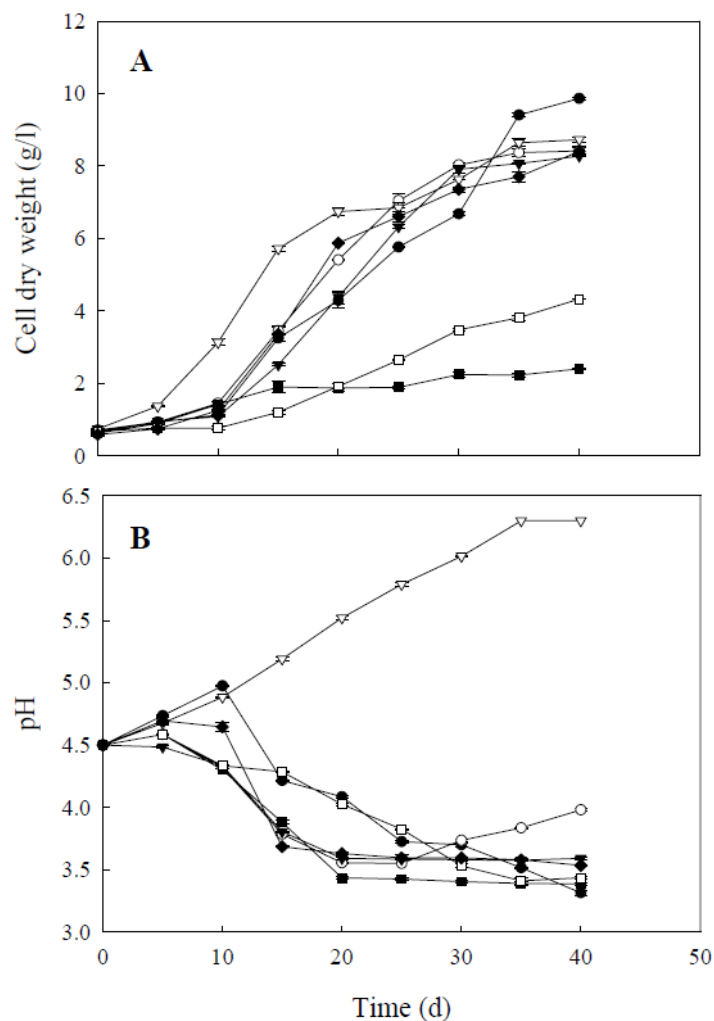
2. 比生長速率

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S}$$



圖十二、以不同種類碳源培養 *T. matsutake* BCRC 36614 過程中，胞內多醣產生之情形。

Fig 12. Time course of content of endopolysaccharide produced by *T. matsutake* BCRC 36614 cultivated in media with various carbon sources. ●, glucose ; ○, fructose ; ▼, maltose ; ▽, sucrose ; ■, lactose ; □, xylose ; ◆, mannose ; ◇, malt extract ; ▲, brown sugar ; △, molasses.

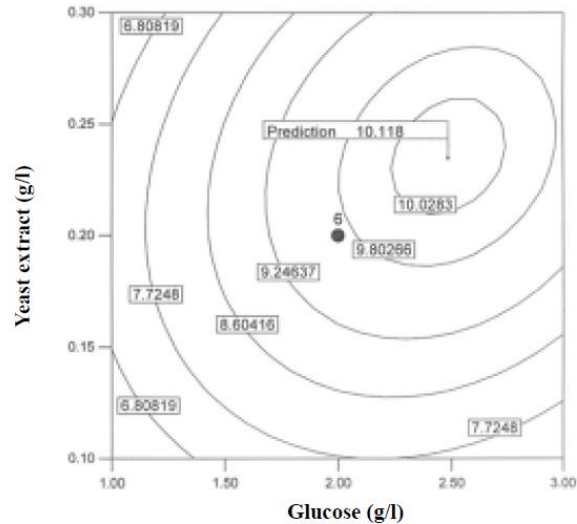


圖十五、以不同胺基酸及銨態氮培養 *T. matsutake* BCRC 36614 過程中，菌體生長(A) 及培養液 pH (B)變化之情形。

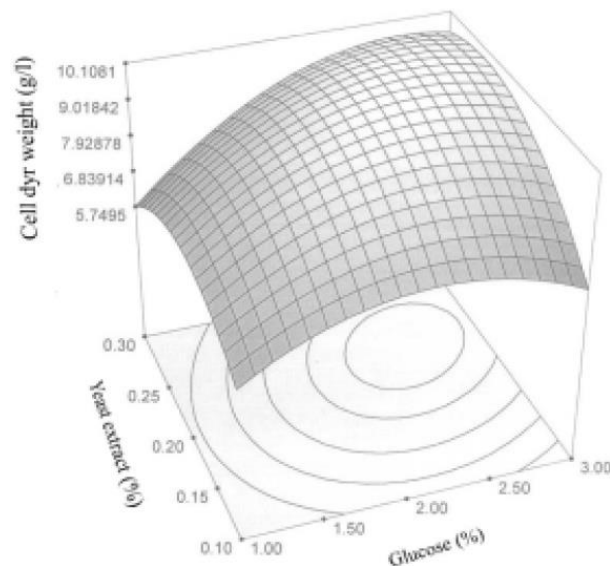
Fig 15. Growth (A) and the change of medium pH (B) during cultivation of *T. matsutake* BCRC 36614 in media with various amino acid and ammonium nitrogen source. ●, L-arginine; ○, L-valine; ▼, L-glutamine; ▽, L-glutamic acid; ■, Ammonium nitrate; □, Ammonium tartrate; ◆, without addition.



A



B



圖二十三、在固定 peptone 及 L-arginine 濃度為 0.2 %之狀況下，glucose 及 yeast extract 濃度對 *T. matsutake* BCRC 36614 菌體生長之等高線圖(A)及反應曲面圖 (B)。

Fig 23. Contour plot (A) and response surface curve (B) to study the effect of glucose and yeast extract on biomass production of *T. matsutake* BCRC 36614 at constant peptone and L-arginine of 0.2 %. ●: Design point.



發酵條件控制

溫度監測及控制

>發酵過程中溫度的監測通常利用熱電耦來進行

>以循環冷卻水(冰水機)及加熱器(包覆式或夾層式)

酸鹼度值的監控與控制

發酵過程以pH meter監控

調控發酵液酸鹼值的方法主要有兩種

①直接添加固定濃度的酸、鹼液

②加入適量的緩衝劑作為調控

液面發泡現象的抑制

一、物理消泡法

透過機械的方式消泡槳將泡沫打破

二、化學消泡法

以添加物阻斷泡沫形成



菇類液態發酵之應用

- 保健產品之開發：紅麴、靈芝多醣體
- 藥品開發
- 液態菌種之利用





Table 1. Current state of cultivation of mushrooms/macrofungi in bioreactors

Mushroom	Production	Scale	Results
<i>Agaricus brasiliensis</i> (synonym: <i>Agaricus blazei</i> ss. Heinem.) (5)	Polysaccharide	5-L agitated bioreactor with two six-bladed turbine impellers	(1.67±0.08) g/L
	Ergosterol		25 mg/g (DM)
<i>Agrocybe cylindracea</i> (synonym: <i>Agrocybe aegerita</i>) (6)	EPS	5-L stirred-tank reactor (KoBioTech Co., Seoul, Korea) working volume of 3 L	3.0 g/L
	EPS	5-L bioreactor (B. Braun, Germany)	148 mg/L
<i>Antrodia camphorata</i> (7,8)	Polysaccharide	500-L fermenting tank containing 350 L of cultural medium	23.2 % (yield)
	Total polyphenols		71 mg/g
	Crude triterpenoids		108 mg/g
<i>Auricularia polytricha</i> (9)	Exobiopolymer	5-L stirred-tank fermentor (KoBioTech Co., Seoul, Korea) with working volume of 3 L	3.1 g/L
<i>Collybia maculata</i> (10)	EPS	5-L stirred-tank reactor with working volume of 3 L	3.94 g/L
<i>Cordyceps militaris</i> (11)	Cordycepin	30-L centrifugal impeller bioreactor (CIB) with working volume of 21 L	188.3 mg/L
<i>Cordyceps sinensis</i> (12)	Cordycepin	5-L bioreactor (TopBio, Taiwan) with working volume of 3 L	1.9 µg/g
	Adenosine		2.7 µg/g
<i>Grifola frondosa</i> (13,14)	EPS	5-L stirred-tank bioreactor (KoBioTech Co., Incheon, Korea)	5.3 g/L
		5-L airlift bioreactor (Best Korea Co. Ltd., Daejeon, Korea)	4.53 g/L
	Exopolymer	15-L bioreactor (Biostat C10-3, B. Braun, Germany)	1.252 g/L
<i>Inonotus obliquus</i> (15)	Endopolysaccharide and EPS	300-L bioreactor (stirred type, KoBioTech Co., Seoul, Korea)	0.495 g/L
<i>Phellinus</i> (<i>P. baumii</i> , <i>P. gilvus</i> and <i>P. linteus</i>) (16)	EPS	5-L stirred-tank reactor (KoBioTech Co., Seoul, Korea) with working volume of 3 L	<i>P. baumii</i> 3.59 g/L <i>P. gilvus</i> 5.30 g/L <i>P. linteus</i> 2.43 g/L
<i>Phellinus gilvus</i> (17)	EPS	5-L stirred-tank reactor (KoBioTech Co., Seoul, Korea) with working volume of 3 L	5.3 g/L
<i>Sarcodon aspratus</i> (18)	EPS	5-L stirred-tank reactor (KoBioTech Co., Seoul, Korea) with working volume of 3 L	2.68 g/L
<i>Schizophyllum commune</i> (19)	L-Malic acid	12-L standard bubble column fermentor with working volume of 10 L	Yield<20 %
		8-L external-loop airlift column fermentor with working volume of 7.2 L	Yield>40 %
		5-L airlift reactor (Best Korea Co Ltd., Daejeon, Korea)	3.05 g/L

EPS – extracellular polysaccharide



表二、菇類的藥效成分

Table 2. Medicinal composition of mushroom.

藥 效	成 分	菇 名
1. 抗菌作用	grifolin, coriolin, illudin 等	各種菇類
2. 抗病毒作用	蛋白質, β -葡聚糖	香菇, 多孔菌
3. 強心作用	volvatoxin	草菇
	flammutoxin	金針菇
4. 降低膽固醇作用	eritadenine	香菇
5. 降低血糖作用	ganoderan, 肽聚糖	靈芝
6. 降低血壓作用	糖蛋白質	舞茸, 靈芝
		香菇, 西洋蘑菇
7. 抗血栓作用	lentinacin, 5'-GMP	香菇, 西洋蘑菇
8. PHA 芽生化抑制作用	γ -GHB	西洋蘑菇
9. 抗腫瘤作用	β -葡聚糖	各種菇類
	RNA 複合體	巴西蘑菇

PHA: phytohemagglutinin, GHB: γ -L-glutaminy-4-hydroxy benzene

(水野卓・川合正允, 1997)





菇類液體菌種

菇類液體菌種為近年來各國菇類產業積極投入研究之項目，雖然菇類的液體發酵技術最早在1948年即由Humfeld提出利用液體發酵技術來生產洋菇菌絲，但早期較少利用菇類發酵後所得菌絲體作為栽培菌種之研究，其主要原因在傳統攪拌式發酵槽較為昂貴，且缺乏適宜之接種設備等因素，但近年來日本、韓國與中國大陸已相繼針對發酵槽與接種設備進行研發，並已獲得便宜且可供大量生產之液態菌種相關設備，也因此加速菇類液態菌種之研究。目前在許多菇類皆有相關之研究，如香菇、平菇、木耳、鴻喜菇、杏鮑菇與金針菇等，其中又以金針菇研究發展最為成功，目前在大陸、韓國與日本已有許多業者開始利用液體菌種來大量生產金針菇，且已獲得相當好之成效。



液體菌種之優點

- ❧ 生長周期短(3-7天)
- ❧ 菌齡一致
- ❧ 菌種成本低
- ❧ 接種可自動化
- ❧ 縮短養菌時間
- ❧ 提高產量
- ❧ 菌種易於儲藏



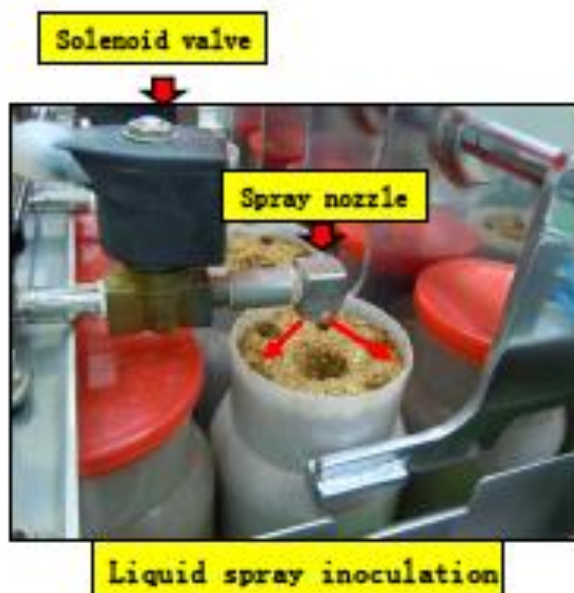
接種可自動化





縮短養菌時間

□ 液体菌种接种后 2-3天的表面



接种后2天



接种后 3 ~4天

※ 接种后 2 ~ 3天内菌丝长满培养基表面，防止杂菌污染。



□ 锯末菌种和液体菌种不同点



○ 中间孔不能破坏



袋栽金針菇

提高產量

表 2 液体菌种与固体菌种生产性能的比较

菌种类型	接种日期 (日/月)	满袋日期 (日/月)	头潮菇采期 (日/月)	二潮菇采期 (日/月)	产量 /kg	生物学 效率/%
液体菌种	1/9	27/9	15/10	14/11	38.84	86.3
固体菌种	1/9	8/10	25/10	23/11	36.22	80.5

注：棉子壳培养基；干料重 500 g/袋，接种量：20 mL/袋。以两潮菇产量计算生产周期和生物学效率。

（柴與祈, 2010）



金針菇

表、接種不同菌量的液態菌種對於瓶栽金針菇出菇特性的影響

Table 2. Effect of inoculums' size of liquid spawn of golden mushroom (*Flammulina velutipes*) isolate G7 culture on sawdust medium with plastic bottle for 1st flush^z

Inoculums' size	Average yield (g/bottle)	Production efficiency (%)	Days of complete spawn run	pH value ^y	Water content ^y
5 ml	99.8 ab	56.8 b	17	5.74	61.75
10 ml	111.5 a	69.4 a	15	5.78	63.0
20 ml	102.3 ab	61.2 ab	14	6.87	61.24
30 ml	93.6 b	53.4 b	14	6.78	62.29
CK ^x	99.3 ab	60.5 ab	20	6.82	62.22



表 1 灰树花液体种和固体种在原种培养基上的生长情况

Table 1 The growth status of liquid species and solid species associated with *Grifola frondosa* on original media

菌种类型	菌丝萌发	菌丝满袋	菌丝长势	未发满瓶
Type of strain	Germiation of mycelium // d	Full of mycelium // d	Growth potential of mycelium	Not full of bag // 瓶
液体菌种 Liquid	5	26	粗壮洁白均匀 Strong, whiteness and evenness	0
固体菌种 Solid	7	41	上下不一致, 较稀疏 Unequal between up and bottom, sparse	2

表 3 灰树花液体种和固体种的栽培结果对比

Table 3 The cultivation results of liquid species and solid species of *Grifola frondosa*

菌种类型	原基形成袋	原基形成率	出菇袋	出菇率	子实体总产量	袋平均产量	生物学效率
Type of strain	The bags forming primordium // 袋	Rate of primordium formation // %	Bags of mushroom emergence // 袋	Rate of mushroom emergence // %	Total yield of fruiting body // g	Per bag yield g	Biological efficiency %
液体菌种 Liquid	180	100.0	178	98.9	17 996.5	101.1	56.8
固体菌种 Solid	175	97.2	150	83.3	13 098.8	87.3	49.9



液體菌種在台灣之應用

☞ 金針菇

☞ 香菇





金針菇液體菌種



大田生技農場
DA TIAN FARM

大田大仁哥多年研發
用心栽培 請您細細品嘗

FRESH HEALTH

新鮮・健康



【2013/4/29】大田生技農場-滿天星菇上市欲購從速04...

關於大田

關於大田

技術認證

生產流程

產品介紹/訂購

最新消息

聯絡我們

行程推估

交通方式

● 客服專線 ●



TEL 電話
04-8863788

FAX 傳真
04-8863789

ADD 大田位置 彰化縣芬苑鄉
新生村第4鄰路二段489號

關於大田

WELCOME TO DA TIAN FARM

品質優良 通過ISO9001之認證
大田大仁哥多年研發 用心栽培 請您細細品嘗

大田生技農場位於彰化縣芬苑鄉，創立於民國99年2月，農場占地約2公頃，廠長李嘉仁從事多年金針菇研發 / 栽培 / 生產 / 買賣，從原料嚴選，栽培介質採100%玉米心，全程使用RO逆滲透純水噴灑，嚴選獨家液態菌種在無菌的培養環境及嚴格監控環境設備低溫3度C栽培下，對於溫度及乾濕度、CO2的變化嚴格監控管理，最後以手





久川養菌園

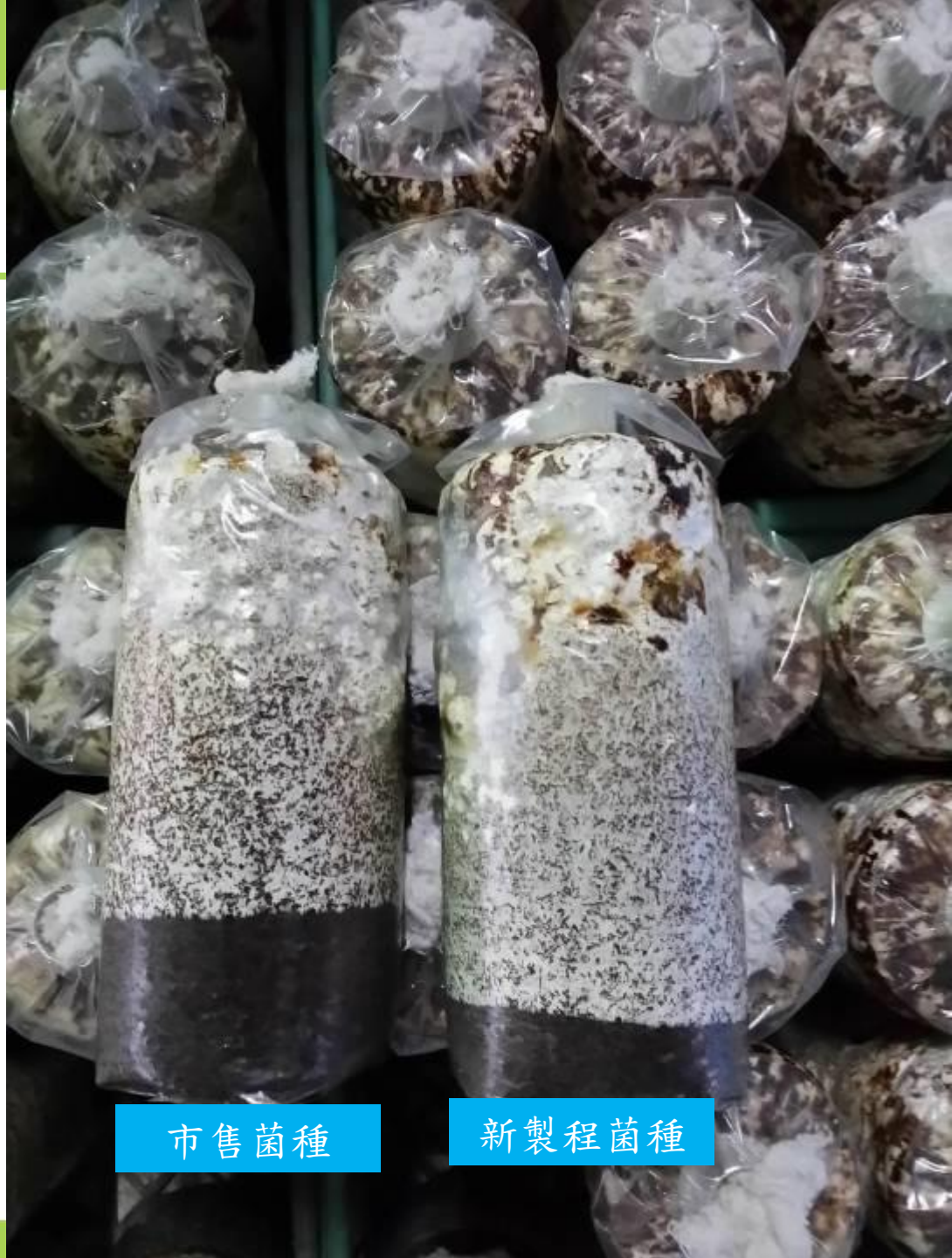
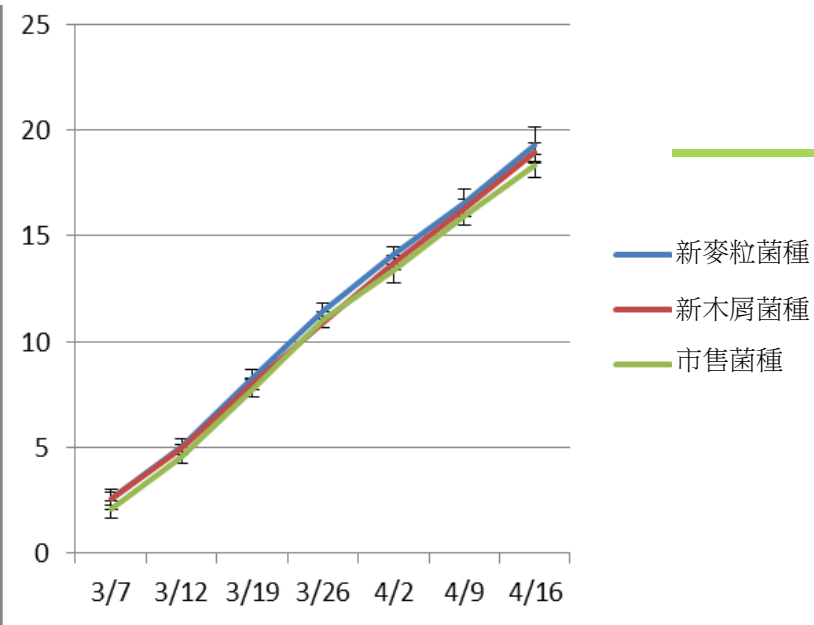




發展香菇液態菌種簡易生產技術

- ∞ 協助業者建立菌種生產標準流程與新式菌種製作流程之建立
- ∞ 碳源、氮源的篩選
- ∞ 轉速





市售菌種

新製程菌種



新製菌種與業者菌種之黑湯程度比較





溫室香菇太空包生長情形

Kind of spawn	Total No. of sawdust bag	No of black water formation in sawdust bag	Percentage (%)
Wheat spawn made in this study	221	81	36.65
Sawdust spawn made in this study	672	161	23.96
Wheat spawn bought from farmer	657	480	73.06



成果→農民協助前日

「菇類液體菌種簡易生產技術」簡介

對菇類傳統製程進行改良，進而縮短香菇菌種製作時程與減少菇類菌種製作之成本，提升菇類菌種活力，避免目前因菇類菌種退化導致如：香菇產量下滑等問題。

本技術是以簡易之氣舉式發酵系統進行菇類液態菌種之生產，藉由 5~20 公升之容器配合小型幫浦提供空氣進行液態菌種之製作，搭配本所開發之各式菇類菌種最適液體發酵配方與條件，可在 5~7 天內完成如香菇、木耳、洋菇、杏鮑菇、秀珍菇與鴻喜菇等菇類之液態菌種之製作，若以所生產之各式菇類液態菌種接種於 700 ml 之麥粒或木屑培養基中，可使此麥粒或木屑菌種於 20~30 天內完成走菌，減少菌種製作時間約 14~21 天，並可降低使用固體菌種之成本耗損。



圖 1. 簡易型菇類液態發酵設備。



圖 2. 應用液態菌種生產之香菇菌種接種之情形。左為市售菌種，右為新



102 羊耳菇止以菇





生活

香菇菌種弱化減產 水保局移轉新技術改善

2014-07-16 13:23

〔記者張瑞楨／台中報導〕台灣香菇產值約30億元，台中市新社區就佔了20億元，不過，近年因氣候異常等因素，導致香菇菌種弱化而減產，幅度高達3分之1，農委會水土保持局台中分局跨域整合，研發出營養液栽培菌絲球新技術，今天技術移轉給新社區協澄社區發展協會，這項新技術將可克服菌種弱化導致的生長停滯、產量降低與環境適應力降低等問題。



農業試驗所助理研究員呂昀陞（圖右）解釋「液體菌種」技術。（記者張瑞楨攝）

不過，在製程技術轉移之外，包括太空包栽培材料的研發，以及新香菇菌種的取得，及廢棄太空包轉換成燃料等技術開發，菇農也殷切期待，新社區農會總幹事羅文正說，農會希望能加強上述技術研發，他指出，這2至3年來，新社香菇因栽培材料欠佳與氣候變遷等因素，菌種弱化減產，日本一個太空包1.3公斤，可培育出500公克香菇，新社往年一個太空包重達1.5公斤，能培育出300公克香菇，這2至3年卻降低到200公克，新社區共有1億個香菇包，減產產值從30億元下滑至20億元。

受委託研發技術的農委會農業試驗所助理研究員呂昀陞解釋說，栽培香菇之前，要先培養菌絲，菇農用麥粒栽培，必須常翻動，菌種會逐漸弱化，包括生長慢，產量降低且環境適應力變差。

他說，新技術是用成分低列為商業機密的





副本

合約編號：農試技轉字第 0289 號

「香菇液體菌種簡易生產技術」
非專屬技術移轉契約書

甲方：行政院農業委員會農業試驗所

乙方：臺中市新社區協成社區發展協會

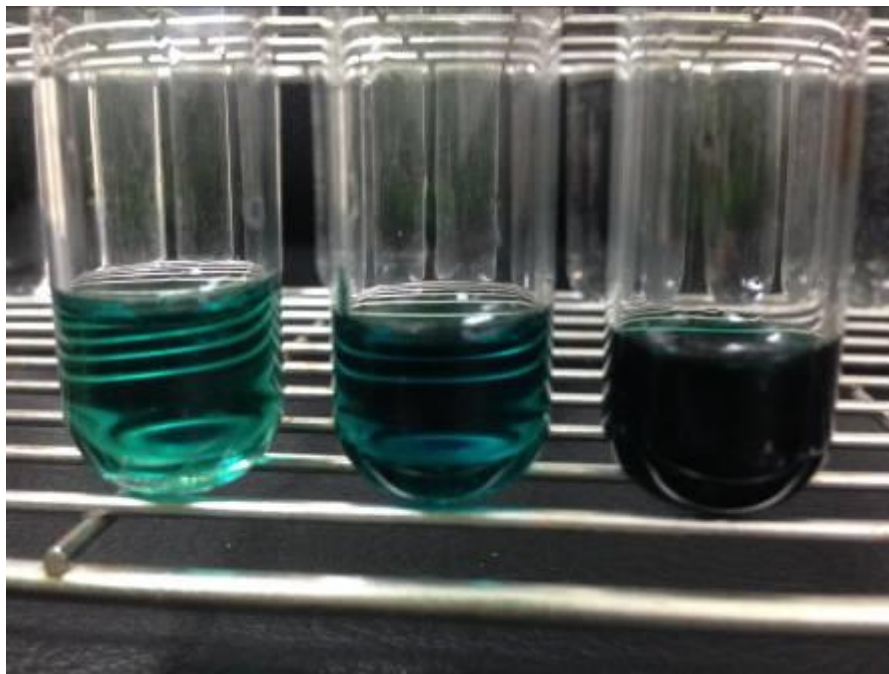
中華民國 103 年 1

授權項目	授權廠商或農戶	授權形式 及 年限	授權金 (萬元)	授權日期
杏鮑菇液態菌種 簡易生產技術	1.曾榮煌	非專屬3年	10	2014-11-25
	2.吉澧生物科技有限公司	非專屬3年	10	2014-12-15
木耳液態菌種 簡易生產技術	趙若妤	非專屬3年	10	2014-11-25



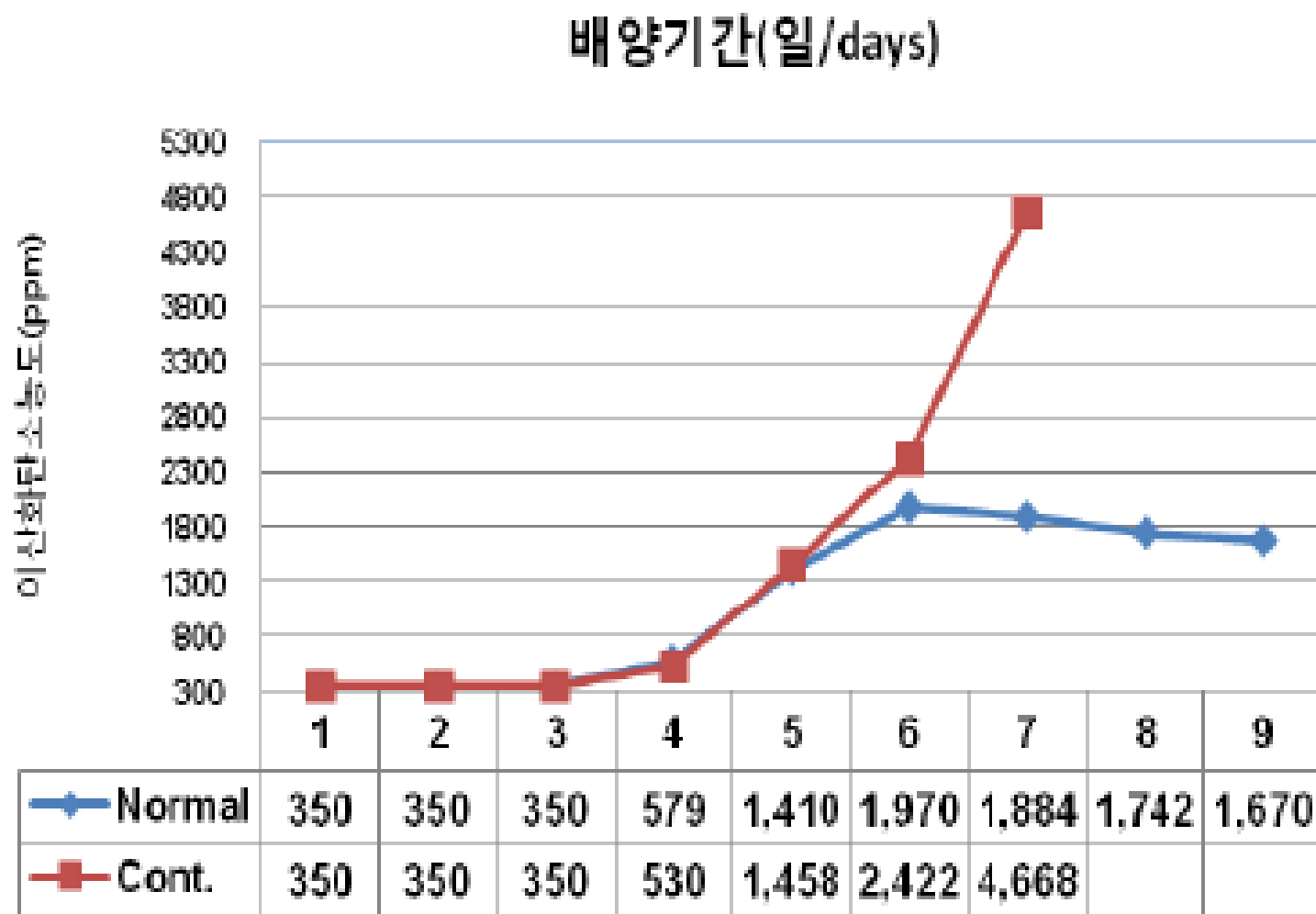
液態菌種需注意的地方

- ❧ 污染的及早發現及檢測
- ❧ 原種與木屑種一樣，須先做出菇試驗確定菇體的產量和品質，以求生產能夠穩定。





□ 液体灌培养时，正常培养和污染灌内的二氧化碳浓度的比较





菌種活力檢測技術



脫色的實驗結果顯示KW-1和KW-2的活性較好，YH-2和YHB-2已經失去活性不能繼續使用。



結語

- 液體菌種為現今菇類產業發展之重點，雖然在我國目前發展上略遜於周邊國家，但由於台灣過去在發酵技術上有相當優秀之技術背景，因此如能有效利用液體菌種改善現今菇類產業之困境，相信可有效提升國內菇類產業之產量與產值。



謝謝
敬請指教