

本实验采用常温发酵，发酵时间因使用的水果香型而异，一般控制醋酸醪液的酸度小于2.75(g/100ml)的范围内。

醋酸发酵过程中，醋酸菌种选杂木屑固定。菌种固定后，可被杂木屑长期吸附，但其活性受醋酸醪液的酸度和溶氧量的影响。由于本工艺的酸度控制在低于2.75(g/100ml)的范围内以及采用半连续发酵，所以，醋酸菌的活性主要受溶氧量的影响。鉴此，本工艺采用发酵液循环回流的方法以增加醋酸醪液中的溶氧量，必要时通入空气和补加醋酸菌液。

〈三〉勾兑工序

单一的以籼米为原料制成的醋酸发酵液并不是消费者所喜欢的饮料，所以，本工艺采用勾兑的方法把醋酸发酵液勾兑成果汁型和果味型醋酸发酵饮料。

1、果汁型

果汁型醋酸发酵饮料的特点是在醋酸发酵醪液中加入一定量的天然果汁，并添加砂糖等呈味物质校正风味。果汁型勾兑工艺的关键是选择天然果汁与醋酸醪液的混合时间。混合时间过长，天然果汁中的营养成分会被醋酸菌消耗，从而降低饮料的营养价值；混合时间过短，天然果汁的风味与醋酸醪液的风味难以协调，从而降低饮料的质量。据辅助实验和资料得到：混合时间以3天为宜。

天然果汁与醋酸醪液混合以后应在低温条件下贮存，前期应适当搅拌，后期应静置。低温有利于混合液的澄清并能抑制醪液中残留醋酸菌的二次发酵。

2、果味型

果味型醋酸发酵饮料的特点是向醋酸发酵液中添加果味香精、砂糖、柠檬酸、食用色素等来呈现水果风味。果味型勾兑工艺的关键是正确处理醋酸发酵液中的醋酸含量和选择合适的果味香精。醋酸易挥发，有较强的刺激性，对醋酸含量过高的发酵液，则应采用水浴的方法除去部分醋酸，降低醋酸发酵液的刺激性，使之能与果味香精相协调，并适当添加挥发度较低的有机酸来弥补因醋酸挥发而被降低的酸味强度，得到与香型相适应的糖酸比。在果味香精的选择中，根据醋酸发酵液的特点，宜选择香味柔和的水果香精。

六、结论

1、醋酸发酵饮料可以用籼米为原料，采用糖化、酒精发酵、醋酸发酵分阶段进行的方式，醋酸醪液的酸度应控制在小于2.75(g/100ml)的范围内；

2、使用香味柔和的天然果汁或水果香精等可以把醋酸发酵液勾兑成具水果风味的醋酸发酵饮料。

参考文献

- (1) 上海市粮油工业公司技校等，发酵调味品生产技术，中册，轻工业出版社(1984)。
- (2) 无锡轻工业学院等，微生物学，轻工业出版社，(1980)。
- (3) 蒋家新，呈味物质的同步呈味和异步呈味作用初探，中国调味品，(1985，1)。
- (4) 中野政弘，发酵食品，柴琳株式会社，(昭和58)。
- (5) 太田静行，食品调味论，幸书房，(1976)。
- (6) 赤星亮一，香料的化学，大日本图书，(1983)。

食用真菌发酵饮料的研制

浙江省微生物研究所 王利火 沈家骥 葛珠福

食用真菌是指可供人们食用的大型真菌。目前世界各地可供食用的真菌种类有2000多种，常见的约有600余种。食用真菌具有高蛋白、低脂肪、营养价值高的特点。一般干菇含蛋白

白质30%，鲜菇含蛋白质3~5%。据报导，食用菇类的营养价值仅次于牛奶。南斯拉夫的D Stanimirovic等测定了15种蘑菇的总氮含量、蛋白质的氨基酸组成和生物价，发现有些

蘑菇的蛋白质具有比牛肉更高的营养价值。从必需氨基酸占蛋白质氨基酸总量的比例看，平菇与大豆相当。菇类都含有多种维生素，如香菇中含有维生素B₁、B₂、C及一般蔬菜中缺乏的维生素D原等。除了营养价值之外，不少食用真菌还具有相当高的药用价值，这在《神农本草经》、《本草纲目》中都有记载。正因为食用真菌兼有食用和药用价值，因而被称为“健康食品”，并且声誉日隆，发展很快。有些专家认为食用菌类食品将在21世纪成为人类的主要食品之一。

然而目前食用真菌的开发利用仍以农业栽培为主。人们历来只是采食它的子实体，而子实体的生产又受到季节和原材料的限制，发展食用菌生产受到很大影响。食用真菌子实体由菌丝组成，从发育生理上讲，菌丝体是合成营养阶段，子实体是消耗营养阶段，所以菌丝体的营养一般要高于子实体。根据这一特点，国内外许多科学工作者对食用真菌的深层发酵进行了研究，并在调味品生产，医药提取及液体菌种生产方面得到了应用。由于用工业深层发酵法生产食用菌蛋白质，与通过饲养牲畜来获取蛋白质相比，具有时间短，效率高，成本低的特点，因而对发酵产物的综合利用潜力很大，有待人们进一步开发。正是从这一点出发，我们对7种不同食用菌的深层发酵和利用发酵产物生产食用真菌营养饮料进行了研究。

一、材料和方法

(一) 菌种

毛柄金钱菌(*Clytiea velutipes*)，紫孢侧耳(*Pleurotus sapidus*)，黑木耳(*Auricularia auricula*)，灵芝(*Ganoderma lucidum*)，猴头菌(*Hericiumerinaceus*)滑菇(*Pholiota nameko*)以及本所选育的香菇(*Lentinus edodes* 120#)。

(二) 培养基

1. 斜面培养基：PDA培养基
2. 发酵培养基：玉米粉25g，黄豆粉10g，酵母粉2g，MgSO₄·7H₂O 0.5g，KH₂PO₄ 1g，K₂HPO₄ 0.25g，ZnSO₄微量，MnCl₂微量，水1000

ml。

(三) 深层发酵试验

1. 香菇深层发酵试验

①一级摇瓶种子：500ml三角瓶内装50ml液体培养基，经15磅20分钟灭菌，冷却后接入斜面菌种，置25℃恒温振荡培养室，培养4~6天。

②二级摇瓶种子：300ml三角瓶内装500ml液体培养基，经灭菌冷却后，接入一级摇瓶种子，置25℃恒温振荡培养室，培养3~5天。

③一级种子罐种子：100立升种子罐定容75立升，罐温：25±1℃；罐压：0.5kg/cm²；通气量：1:0.3~1:0.5(V/V分)；培养时间60~72小时。

④二级种子罐种子：1000立升罐定容750立升，其它条件同一级种子罐。

⑤三级深层发酵：7000立升罐定容5000立升，罐温25~27℃；罐压：0.5kg/cm²；通气量：1:0.3~1:0.8(V/V分)；培养时间110~120小时。

2. 毛柄金线菌、紫孢侧耳、黑木耳、灵芝、猴头菌、滑菇深层发酵试验：

①菌种活化：培养条件同香菇。培养时间：毛柄金线菌、黑木耳、猴头为10~12天；灵芝、紫孢侧耳、滑菇7~10天。灵芝斜面菌种培养时间若过长，接入摇瓶之前，接种物应先在装有玻璃珠、无菌水的三角瓶内打碎。

②一级摇瓶种子：500ml三角瓶内装100ml液体培养基，其它条件同香菇。培养时间：毛柄金线菌、黑木耳、猴头为4~6天，紫孢侧耳、滑菇3~4天。

③二级摇瓶培养：5000ml三角瓶内装入600ml培养液，经灭菌冷却后，按10~15%的接种量接入一级摇瓶种子，25~26℃振荡培养2~4天。

④血清瓶培养：10000ml血清瓶装入5000ml培养液，进行间歇高压蒸汽灭菌。冷却后按10~15%接种量接入二级摇瓶种子，置25~26℃恒温室内通气培养，通气量为1:0.4~1:0.5(V/V分)。

(四) 饮料配制试验

1、菌丝体分离：用过滤或离心法，将发酵液菌丝体分离，收集上清液。

2、营养成分提取：将菌丝体与适量的水和纤维素酶液混匀，在40~55°C中进行酶解处理，使菌丝体内的营养成分游离到菌丝体外，经离心或过滤获得营养成分提取液。

3、将1、2两部分获得的上清液和营养提取液合并，作为发酵营养饮料原液。

4、配糖配酸：在原液中配入糖液和食用酸（如柠檬酸），使具有天然风味的饮料在酸甜程度上更适合人们的口味。

5、将配制好的饮料原液，经加热、冷却、澄清、灌装、灭菌等一系列工序，加工成真菌饮料。

二、试验结果

(一) 深层发酵试验结果

食用真菌的深层发酵、从菌丝体的生长量

表2 深层发酵香菇菌丝体营养成分

水分(%)	蛋白质(%)	脂肪(%)	碳水化合物(%)	灰分(%)	钙(mg/100g)	磷(mg/100g)	铁(mg/100g)	胡萝卜素(mg/100g)	核黄素(mg/100g)	尼克酸(mg/100g)
89.5	2.03	0.63	7.44	0.40	32.02	47.35	21.50	微量	0.07	0.16

果：

我们将毛柄金钱菌、紫孢侧耳、黑木耳、灵芝、猴头、滑菇等6种真菌饮料及香菇发酵上清液送浙江省丝科院中心分析室用日立835-50型氨基酸分析仪测定，结果（见表3）表明6种真菌饮料含氨基酸总量和必需氨基酸比例均

看，摇瓶（含血清瓶）阶段生长较慢，时间较长。在发酵罐培养中，由于液体翻滚充分，溶氧效率高等原因，菌丝体生长比摇瓶快，96小时后生物量就可达20%以上，时间明显缩短。表1的生物量是摇瓶培养的发酵液100ml经3000 rpm离心20分钟测得的结果。

表1 七种食用真菌液体发酵结果

食用菌名称	初始pH值	时间(小时)	最终pH值	生物量(%)
香 菇	5.5	144~168	3.4~3.2	22~32
毛柄金钱菌	5.5	120~144	5.5~5.4	30~40
猴 头 菌	5.5	144~168	5.2~5.1	24~27
灵 芝	5.5	144~168	4.6~4.4	27~35
黑 木 耳	5.5	96~120	6.8~7.0	28~33
紫 孢 侧 耳	5.5	72~96	5.5~5.4	40~46
滑 菇	5.5	96~120	4.6~4.4	32~38

(二) 深层发酵菌丝体营养成分分析结果

为明确深层发酵培养的菌丝体的营养成分，我们选香菇菌丝体为代表，请浙江省轻工业研究所分析室测定，结果见表2。

(三) 食用真菌发酵营养饮料氨基酸分析结

高。香菇发酵上清液氨基酸总含量为557.3mg/ml，其中必需氨基酸所占比例为28.03%。由于发酵营养饮料是由上清液和营养成分提取液合并而成，所以香菇发酵饮料的氨基酸含量将高于上述数据。

(四) 真菌发酵饮料矿物元素分析结果

表3 六种食用真菌饮料氨基酸分析结果

(单位：mg/100ml)

氨基酸种类	毛柄金钱菌	紫孢侧耳	黑木耳	灵芝	猴头	滑菇
天门冬氨酸	56.275	37.226	31.343	40.817	48.600	35.930
苏氨酸	20.668	15.250	11.433	15.674	17.968	15.926
丝氨酸	22.638	16.522	11.636	15.449	19.698	16.238
谷氨酸	120.312	65.274	53.060	74.099	75.082	50.301
甘氨酸	24.435	17.645	13.202	17.581	21.578	15.137
丙氨酸	22.926	25.838	12.757	20.075	24.62	19.290
胱氨酸	9.333	6.435	7.876	7.032	8.184	8.474
缬氨酸	21.964	18.453	13.041	16.082	20.065	17.284
蛋氨酸	7.109	8.262	7.547	7.969	7.770	10.033
异亮氨酸	18.370	13.911	9.636	11.595	14.311	13.440

氨基酸种类	毛柄金钱菌	紫孢侧耳	黑木耳	灵芝	猴头	滑菇
亮氨酸	28.611	10.565	14.672	20.545	21.638	22.040
酪氨酸	13.678	2.848	4.469	12.916	12.712	9.076
苯丙氨酸	17.582	9.894	9.050	14.959	15.050	12.687
赖氨酸	21.763	15.932	10.165	19.434	20.050	11.378
氮	10.650	12.373	30.933	12.919	8.803	8.377
组氨酸	9.714	11.190	4.545	11.300	11.946	9.349
精氨酸	23.349	20.695	10.705	18.935	19.500	19.547
脯氨酸	21.577	13.802	12.432	15.433	21.419	16.101
必需氨基酸总量	136.067	92.267	75.544	106.258	116.852	102.788
必需氨基酸(%)	28.90	28.64	28.17	30.12	30.04	33.09

以香菇发酵饮料为例，用XRF法对其中所含矿物质元素进行了分析，结果见表4。

表4 香菇发酵营养饮料矿物质元素含量

元素	K	Ca	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Sr
含量(微克/毫升)	4.28×10^8	122.6	4.75	2.7	0.94	4.38	0.78	0.38

三、讨 论

近几年来，随着人民生活水平和知识化程度的提高，对饮料的嗜好和需求，已经和正在发生着巨大变化。含酒精饮料正在向低酒度方向发展，不含酒精的软饮料正向着营养和保健方向发展。在这种形势下，研究和开发食用真菌发酵饮料有着特别重要的意义，它将为饮料王国增添一支奇峰突起的新军。

对深层发酵真菌饮料的研究表明，这类饮料与其子实体一样，有着丰富的营养。它们都由17种氨基酸组成，并都含有人体必需的8种氨基酸(日立835-50型氨基酸分析仪不能测色氨酸含量，但有报导证明食用菌中确含有色氨酸)，其中主粮中缺少的赖氨酸、亮氨酸的含量很高。必需氨基酸占氨基酸总量的比例也很高，滑菇为33.9%，猴头、灵芝为30%以上，毛柄金钱菌等也在28%以上。除丰富的氨基酸成份外，真菌发酵饮料还含有多种维生素和对人体有益的矿物质元素。这些都从营养学的角度保证了饮料的质量。

真菌发酵饮料不仅营养丰富，而且还含有

担子菌多糖等药用成份。我们曾在实验室中用酒精粗提出含有这类多糖的胶状物质，从而证实了真菌发酵饮料具有与子实体一样的药用价值。近年来国内外医药界的研究表明，食用真菌所含的多糖具有显著的抑制肿瘤作用，同时也可以预防肝硬化，消除尿结石，增进人民健康。这类药用成份的存在，使真菌发酵营养饮料具有非常特殊的保健价值的是其它饮料所无法比拟和代替的。

由于菌丝体深层发酵与子实体栽培的生理环境不同，发育阶段不同，因而不能指望真菌发酵营养饮料具有与子实体一样的风味。但我们所研究的真菌饮料在风味上确有其独特之处。如紫孢侧耳饮料具有人们熟悉的菇香杏仁味，灵芝饮料色似蜂蜜，有一种独特的清香味。这些天然风味也增添了真菌发酵营养饮料的特色。

由于我们筛选的培养基以食用淀粉为主，添加的无机盐也均对人体无害，所以饮用真菌发酵营养饮料是绝对安全的。采用这一培养基，可使食用菌深层发酵培养的生物量达到较高水平(见表1)。而足够的生物量正是使培养基成分充分转化、发酵产物和菌丝体营养成分提取量达到较高浓度的保证。

食用真菌深层发酵时间比其它微生物的发酵时间要长一些，其中香菇等对发酵的技术要求较高，因此发酵前必须加强对设备的检修和操作人员的技术培训。