

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C12M 1/00 (2006.01)

C12N 1/14 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710044206.4

[43] 公开日 2009年1月28日

[11] 公开号 CN 101353618A

[22] 申请日 2007.7.25

[21] 申请号 200710044206.4

[71] 申请人 上海市农业科学院

地址 201106 上海市闵行区南华街25号

[72] 发明人 高君辉 冯志勇

[74] 专利代理机构 上海世贸专利代理有限责任公司

代理人 李浩东

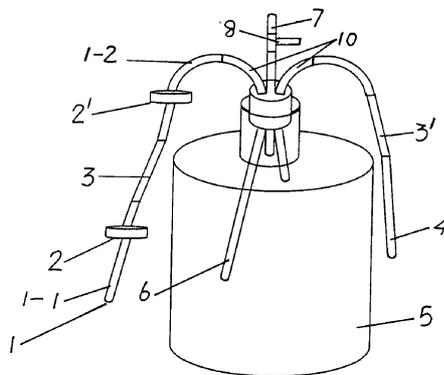
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

[54] 发明名称

食用菌液体菌种的生产方法及其发酵装置

[57] 摘要

本发明涉及一种食用菌液体菌种发酵装置，它主要包括罐体和设在罐口处的气管，其特征在于：罐口处设有一进气管、一平衡管和一排气管，罐体内设有一通气管，通气管与进气管通过金属弯管相连，罐体为透明塑料材质，罐口处设有一橡皮塞，橡皮塞上设有三个孔，进气管上依次设有第一和第三两个通气过滤器2、2'，第一和第三两个通气过滤器之间设有一金属过滤器3；排气管上设有一金属过滤器3'；平衡管上设有一阀门。本发明把灭菌及温度控制系统和培养发酵系统分开，通过外部高压灭菌设备对罐体、空气过滤器及管道进行灭菌，达到彻底灭菌的效果，保证了液体培养的成品率。采用的发酵罐体是透明的容器，便于观察和判断。



1、一种食用菌液体菌种发酵装置，它主要包括罐体和设在罐口处的气管，其特征在于：罐口处设有一进气管、一平衡管和一排气管，罐体内设有一通气管，通气管与进气管通过金属弯管相连，罐体为透明塑料材质，罐口处设有一橡皮塞，橡皮塞上设有三个孔，进气管上依次设有第一和第三两个通气过滤器(2、2')，第一和第三两个通气过滤器之间设有一金属过滤器(3)；排气管上设有一金属过滤器(3')；平衡管上设有一阀门。

2、根据权利要求1所述的一种食用菌液体菌种发酵装置，其特征在于：进气管、排气管与罐口之间通过金属弯管相连，金属弯管和平衡管分别穿过这三个孔与罐体的内腔相连，阀门为金属球阀，金属弯管为铜管或不锈钢管，罐体为透明的饮用水桶。

3、根据权利要求1所述的利用该发酵装置进行液体菌种的生产方法，其特征在于：所述的液体菌种生产的方法包括以下步骤：a、进行液体培养基的配置；b、将配置的食用菌液体培养基，放入发酵装置透明的罐体内，连同空气过滤装置及连接软管一起在高压灭菌锅中灭菌，灭菌温度118~121℃，时间1~1.5小时；c、然后进行冷却，冷却到20~25℃；d、在罐体瓶口接入已经发好的三角瓶液体菌种，盖上橡皮塞，连接所有管道；e、将空气泵连接在进气管(1-1)处，打开空气泵，空气随着进气管(1-1)，经过通气过滤器(2)、金属过滤器(3)、通气过滤器(2')的三级过滤；f、再通过管道(6)通入液体培养基中，同时提供的无菌空气在培养基中产生搅动，保证液体培养基中氧气供应的均匀，发酵过程产生废气和过剩的空气通过管道

(4) 排出罐外，管道(7)为压力平衡管，当发酵罐内的压力过高时，打开球阀(8)，平时球阀一般处在关闭状态；g、把接种后的发酵装置放入室内培养，室内温度控制在20~25℃，发酵时间为5~10天，发酵过程中通过透明的塑料瓶经常观察菌丝球形成情况和发菌质量；h、发酵完毕后进行栽培接种，把空气泵和排气管(4)连接，接种枪和连接管道接在进气管(1-2)位置上。打开空气泵后，空气通过过滤器(3')后对罐内产生的正压，液体菌种随着管道(6)和接种枪接入栽培瓶或栽培袋中。

4、根据权利要求3所述的液体菌种的生产方法，其特征在于：具体的食用菌液体发酵培养基配比的重量百分比为：黄豆粕0.5—2%、蔗糖1—5%、磷酸氢钾0.5—2%、硫酸镁0.2—1%，余量为水。

5、根据权利要求3所述的液体菌种的生产方法，其特征在于：具体的食用菌液体发酵培养基配比的重量百分比为：土豆汁5—15%、红糖0.5—3%、葡萄糖0.5—3%、麸皮汁1—5%、蛋白胨0.1—0.5%、磷酸氢钾0.1—0.5%、硫酸镁0.1—0.5%、维生素B0.1—0.2%，余量为水。

食用菌液体菌种的生产方法及其发酵装置

技术领域：

本发明专利涉及一种食用菌液体菌种发酵装置以及利用本装置进行液体菌种生产的方法技术，应用于食用菌液体菌种的制备和菌丝体生产方法技术。

背景技术：

目前，食用菌液体菌种发酵装置由金属罐体、加热灭菌系统、空气净化处理系统以及管道、阀门等组成。通过系统自身的灭菌系统对金属罐体和液体培养基进行灭菌，达到无菌的目的。但是在实际应用时由于系统比较复杂，往往造成灭菌不彻底，引起污染。同时由于采用金属罐体，液体菌种培养过程中只能通过罐体中间的观察孔来观察培养过程的菌丝生长情况，通常通过取样口取样后来判断菌丝生长及污染情况，不能直观地作出判断。同时由于使用了不锈钢金属罐体和整套灭菌系统，体积大、重量重、造价高，运输不方便，不利于在普通食用菌栽培户中推广应用。

发明内容：

为了克服现有设备中管路复杂，自身的灭菌系统很难彻底灭菌以及培养过程中不容易观察的的不足。本发明的目的在于提供一种食用菌液体发酵的装置以及利用本装置进行液体菌种生产的方法。

本发明解决其技术问题所采用的技术方案是：一种食用菌液体菌种发酵装置，它主要包括罐体和设在罐口处的气管，其特征在于：罐口处设有一进气管、一平衡管和一排气管，罐体内设有一通气管，通

气管与进气管通过金属弯管相连，罐体为透明塑料材质，罐口处设有一橡皮塞，橡皮塞上设有三个孔，进气管上依次设有第一和第三两个通气过滤器 2、2'，第一和第三两个通气过滤器之间设有一金属过滤器 3；排气管上设有一金属过滤器 3'；平衡管上设有一阀门。

利用该发酵装置进行液体菌种的生产方法，其特征在于：所述的液体菌种生产的方法包括以下步骤：a、进行液体培养基的配置；b、将配置的食用菌液体培养基，放入发酵装置透明的罐体内，培养基体积不超过罐体容积的 2/3, 连同空气过滤装置及连接软管一起在高压灭菌锅中灭菌，118~121℃，保持 1~1.5 小时；c、然后进行冷却，冷却到 20~25℃；d、在罐体瓶口接入已经发好的三角瓶液体菌种，盖上橡皮塞，连接所有管道；e、发酵装置放入 20~25℃ 的房间，将空气泵连接在进气管 1-1 处，打开空气泵，空气随着进气管 1-1，经过通气过滤器 2、金属过滤器 3、通气过滤器 2' 的三级过滤；f、已净化的空气通过管道 6 通入液体培养基中，同时提供的净化空气在液体培养基中产生搅动，保证液体培养基中氧气供应的均匀，发酵过程产生废气和过剩的空气通过管道 4 排出罐外，管道 7 为压力平衡管，当发酵罐内的压力过高时，打开球阀 8，平时球阀一般在关闭状态，根据不同的品种，发酵时间为 5~10 天，发酵过程中通过透明的塑料瓶经常观察菌丝球形成情况和发菌质量；g、发酵结束后进行栽培接种，把空气泵和排气管 4 连接，接种枪接在 1-2 位置上。打开空气泵后，空气通过金属过滤器 3' 后对罐内产生的正压，液体菌种随着管道 6 和接种枪接入灭菌后栽培瓶或栽培袋中。完成液体菌种发酵和接种。

本发明的有益效果是，把培养发酵系统和系统灭菌和温度控制系统分开，节省了管道，通过外部高压灭菌设备对罐体、空气过滤器及

管道进行灭菌，达到彻底灭菌的效果，保证了液体培养的成品率。采用的发酵罐体是透明的容器，能及时观察菌丝发酵的整个过程，及时掌握菌丝形成情况及质量情况，便于观察和判断。利用本发酵装置建立了发酵的方法技术，操作简单方便，便于在食用菌生产企业和栽培农户中推广应用。本装置结构简单，通过发酵罐的并联，可大量进行液体菌种培养和菌丝体生产；造价低廉，生产方法简便、实用，既可在规模化食用菌生产企业应用，又可在一般食用菌栽培农户中使用，也可应用菌丝体培养，干燥后作食品添加剂或食用菌保健产品。

附图说明：

图 1 为本发明一实施例的结构示意图

具体实施方式：

一种食用菌液体菌种发酵装置，它主要包括罐体 5 和设在罐口处的气管，其特征在于：罐口处设有一进气管 1、一平衡管 7 和一排气管 4，罐体 5 内设有一通气管 6，通气管 6 与进气管 1 通过金属弯管相连，罐体 5 为透明塑料材质，罐口处设有一橡皮塞 9，橡皮塞 9 上设有三个孔，该三个孔供进气管 1、平衡管 7 和排气管 4 穿越，进气管 1 依次设有第一和第三两个通气过滤器 2、2'，第一和第三两个通气过滤器之间设有一金属过滤器 3；排气管 4 上设有一金属过滤器 3'；平衡管 7 设有一阀门 8。实施时进气管、排气管与罐口之间通过金属弯管相连，金属弯管和平衡管分别穿过这三个孔与罐体的内腔相连，阀门为金属球阀，金属弯管为铜管或不锈钢管，罐体为透明的饮用水桶。

实施时配置的食用菌液体培养基，放入罐体为透明的矿泉水桶内，连同空气过滤装置及连接软管一起在高压灭菌锅中灭菌，灭菌温度 118~121℃，时间 1~1.5 小时，冷却后到 20~25℃后，在矿泉水

瓶口接入已经发好的三角瓶液体菌种，盖上橡皮塞，连接所有管道。空气泵连接在第一通气过滤器 2 前端管道的 1-1 处，打开空气泵，空气随着进气管 1-1，经过通气过滤器 2、金属过滤器 3、通气过滤器 2' 的三级过滤，通过金属弯管和管道 6 通入液体培养基中，同时提供的净化空气在培养基中产生搅动，保证液体培养基中氧气供应的均一。发酵过程产生废气和过剩的空气通过排气管 4 排出罐外。管道 7 为压力平衡管，当发酵罐内的压力过高时，打开球阀 8，平时球阀一般处在关闭状态。

三角瓶菌种在超静工作台或层流罩下接入装入灭完菌的液体培养基发酵罐中。根据不同的食用菌品种，把发酵装置放在 20~25℃ 培养室中进行发酵，在最佳的环境温度中发酵培养，培养时间为 5~10 天。

接种时把空气泵和排气管 4 连接，已灭菌的接种枪和连接管道接在 1-2 位置上。打开空气泵后，空气通过金属过滤器 3' 后对罐内产生的正压，液体菌种随着管道 6 和接种枪接入灭好菌的栽培瓶或栽培袋中。

本发酵装置及方法技术通过连接管道并联后连接到空气泵上，可大规模生产液体菌种。

下面对附图中的标识具体说明

1. 进气管 1，采用可高压灭菌的硅胶管，前端和空气泵连接，并和通气过滤器 2、金属过滤器 3、通气过滤器 2'、弯管 10 和通气管 6 连接；
2. 通气过滤器 2、2' 为可灭菌的装置，用于空气过滤；
3. 金属过滤器 3、3'，为可灭菌的装置，用于空气过滤；
4. 排气管 4，为可高压灭菌的硅胶管，通气培养过程中，产生的废气和多余的空气排出瓶外，和金属过滤器 3'、金属弯管 10 连接，超

过橡皮塞下部 20~50mm;

5. 罐体 5, 普通的矿泉水桶, 为可高压灭菌发酵装置;
6. 通气管 6 采用可高压灭菌的硅胶管, 将净化的空气通入液体培养中;
7. 平衡管, 可灭菌的乳胶管, 用于平衡罐内、外的压力;
8. 阀门, 金属球阀;
9. 橡皮塞, 可灭菌的橡皮塞, 上面打三个孔;
10. 金属弯管、直管, 使用铜管或不锈钢管。

具体实施内容

1. 本方法的流程为

液体培养基配置 → 灭菌 → 冷却 → 接种 → 通气培养 → 接入栽培瓶 (栽培袋), 具体为利用该发酵装置进行液体菌种的生产方法, 其特征在于: 所述的液体菌种生产的方法包括以下步骤: a、进行液体培养基的配置; b、将配置的食用菌液体培养基, 放入发酵装置透明的罐体内, 连同空气过滤装置及连接软管一起在高压灭菌锅中灭菌, 灭菌温度 118~121℃, 灭菌时间 1~1.5 小时; c、然后进行冷却, 冷却到 20~25℃; d、在罐体瓶口接入已经发好的三角瓶液体菌种, 盖上橡皮塞, 连接所有管道; e、将空气泵连接在进气管 1-1 处, 打开空气泵, 空气随着进气管 1-1, 经过第一过滤器 2、第二过滤器 3、第三过滤器 2' 的三级过滤; f、再通过金属弯管和管道 6 通入液体培养基中, 同时提供的无菌空气在培养基中产生搅动, 保证液体培养基中氧气供应的均匀, 发酵过程产生废气和过剩的空气通过管道 4 排出罐外, 管道 7 为压力平衡管, 当发酵罐内的压力过高时, 打开球阀 8, 平时球阀一般处在关闭状态, 发酵罐放入室内培养, 室内温度控制在 20~25℃, 发酵时间为 5~10 天, 发酵过程中通过透明的塑料

瓶经常观察菌丝球形成情况和发菌质量；g、然后进行接种，把空气泵和排气管4连接，已灭菌的接种枪和连接管道接在1-2位置上。打开空气泵后，空气通过过滤器3后对罐内产生的正压，液体菌种随着管道6和接种枪接入栽培瓶或栽培袋中。

2. 实施方法：

2.1 液体培养基配置：以豆粕、麸皮、酵母粉、蛋白胨中的至少一种作为氮源，以葡萄糖、蔗糖等作为C源，并添加少量的无机营养成分磷酸二氢钾、硫酸镁以及维生素和水，作为食用菌液体发酵培养基。由于实际操作时液体培养基的不同，因此它们的配置也有区别，以下是二个较为理想的配方。

2.1.1 具体的食用菌液体发酵培养基配比的重量百分比为黄豆粕0.5—2%、蔗糖1—5%、磷酸二氢钾0.5—2%、硫酸镁0.2—1%，余量为水。

2.1.2 具体的食用菌液体发酵培养基配比的重量百分比为：土豆汁5~15%、红糖0.5—3%、葡萄糖0.5—3%、麸皮汁1—5%、蛋白胨0.1~0.5%、磷酸二氢钾0.1~0.5%、硫酸镁0.1~0.5%、维生素B₀0.1~0.2%，余量为水。

例如：

(1) 金针菇液体培养基配方：

黄豆粕10g/L、蔗糖30g/L、磷酸二氢钾1g/L、硫酸镁0.5g/L、水1L。

(2) 杏鲍菇液体菌种培养基配方：

土豆汁10%、红糖1.5%、葡萄糖1%、麸皮汁3%、蛋白胨0.2%、磷酸二氢钾0.2%、硫酸镁0.1%、VB₁10mg/L。

2.2 灭菌：采用高压灭菌方法。培养基溶解、过滤后，在18.5L的矿

泉水桶中放入 12L 左右的配置的液体培养基，放入高压灭菌锅中，连同通气管道、过滤器、橡皮塞、金属弯管一起进行高压灭菌，灭菌温度 118~121℃，保持 1~1.5 小时。

2.3 冷却：放入冷却室或接种室冷却，冷却至 20~25℃。

2.4 接种：在超静工作台或无菌环境接入已经发好的三角瓶菌种，接种量为 1%~3%，按示意图连接所有管道和过滤装置。

2.5 通气培养：把接种后的发酵装置放入室内，在进气管 1-1 处通过软管和空气泵连接，连接处安装球阀，以调节进气量。室内温度控制在 20~25℃。根据不同的食用菌品种，一般发酵时间为 5~10 天。发酵过程中通过透明的塑料瓶经常观察菌丝球形成情况和发菌质量。

2.6 接种：液体菌种发酵结束后，管道重新进行连接，空气泵连接在 4 处，消毒过的接种枪和连接管道接在 1-2 处，通过空气泵产生的空气使瓶内产生压力，液体菌种随着管道 6 流向接种枪，通过接种枪的开关控制把菌种接入栽培瓶或栽培种袋中。完成接种工作。

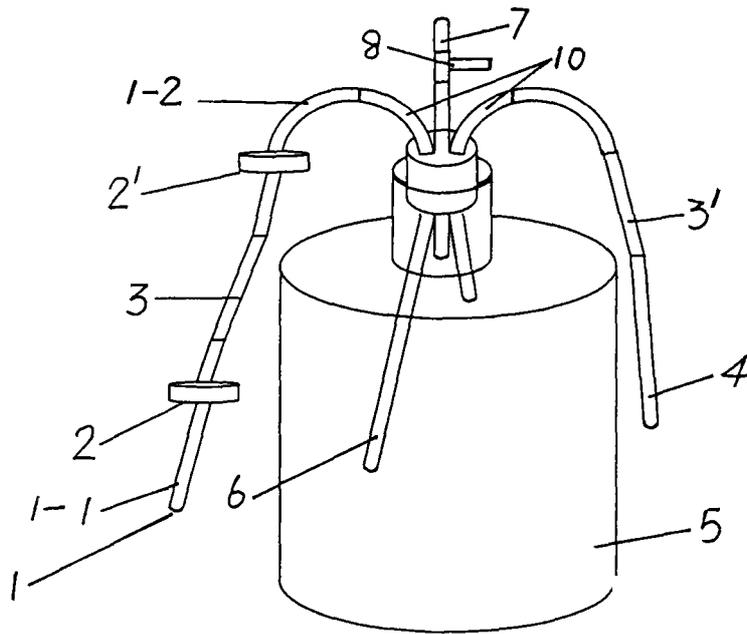


图 1