



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107446830 A

(43)申请公布日 2017.12.08

(21)申请号 201710891659.4

(22)申请日 2017.09.27

(71)申请人 晟源康生物科技有限公司

地址 266000 山东省青岛市黄岛区双珠路
金融广场1号楼908

(72)发明人 张桂珍 李翔 李刚

(74)专利代理机构 北京联瑞联丰知识产权代理
事务所(普通合伙) 11411

代理人 郑自群

(51)Int.Cl.

C12N 1/14(2006.01)

A23F 3/34(2006.01)

C12R 1/645(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

灵芝菌丝体的规模化制备方法、灵芝茶及其
制备方法

(57)摘要

本发明提出了一种灵芝菌丝体的规模化制备方法、灵芝茶及其制备方法,将灵芝菌种接种至含有摇瓶培养基的摇瓶中进行摇瓶培养,将培养好的摇瓶菌种的转接入一级种子罐中进行发酵培养,发酵培养结束后再转接入二级种子罐中发酵培养,发酵培养结束后再转接入发酵罐中进行发酵,然后放罐,将发酵液进行压滤,得湿灵芝菌丝体即可。灵芝茶的原料为:灵芝菌丝体60%~90%,显齿蛇葡萄叶10%~40%。制备方法:将灵芝菌丝体与显齿蛇葡萄叶按照适当配比混合均匀后进行初步烘干,然后装入砖茶压制模具中进行压制得到茶砖,再进行烘干直至茶砖的含水量小于5wt%,即可。该方法获得的灵芝茶能够适用于大规模工业化生产,并且各有效成分均高于传统的灵芝茶。

1. 一种灵芝菌丝体的规模化制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

将灵芝菌种接种至含有摇瓶培养基的摇瓶中进行摇瓶培养,将培养好的摇瓶菌种的转接入含有发酵培养基的一级种子罐中进行发酵培养,发酵培养结束后再转接入二级种子罐中发酵培养,二级种子罐发酵培养结束后再转接入发酵罐中进行发酵,然后放罐,将发酵液进行压滤,得湿灵芝菌丝体即可;

其中,一级种子罐的发酵培养的条件为:将发酵培养基的pH调至6.0~6.5,保持罐温25~28℃,罐压40~80kPa,搅拌速率100~150r/min,通气量1:0.2~0.4,发酵36~60小时;二级种子罐的发酵培养的条件为:将发酵培养基的pH调至6.0~6.5,保持罐温25~28℃,罐压40~60kPa,搅拌速率120~180r/min,通气量1:0.4~0.6,发酵36~48小时;发酵罐的发酵培养条件为:将发酵培养基的pH调至6.0~6.5,保持罐温25~28℃,罐压20~40kPa,搅拌速率120~200r/min,通气量的体积比为1:0.5~0.8,发酵96~120小时。

2. 根据权利要求1所述的灵芝菌丝体的规模化制备方法,其特征在于,摇瓶培养基与发酵培养基的配方相同,所述配方为:玉米粉1~5wt%、豆饼粉1~5wt%、葡萄糖1~5wt%、硫酸镁0.02~0.04wt%、磷酸二氢钾0.1~0.3wt%、维生素B1 0.001~0.005wt%,其余为水。

3. 根据权利要求1或2所述的灵芝菌丝体的规模化制备方法,其特征在于,所述一级种子罐的容积为100L,所述二级种子罐的容积为1吨,所述发酵罐的容积为10吨。

4. 根据权利要求1所述的灵芝菌丝体的规模化制备方法,其特征在于,摇瓶培养具体为:将灵芝菌种接种至一级摇瓶中,25~28℃培养72~108小时,然后再转一级摇瓶中的菌种接入二级摇瓶中,25~28℃培养36~60小时即可。

5. 根据权利要求4所述的灵芝菌丝体的规模化制备方法,其特征在于,所述一级摇瓶的容积为500ml,二级摇瓶的容积为5000ml。

6. 一种灵芝茶,其特征在于,按照重量百分数计算,包括以下原料:

由权利要求1所述的规模化制备方法得到的灵芝菌丝体60%~90%,显齿蛇葡萄叶10%~40%。

7. 根据权利要求6所述的灵芝茶,其特征在于,所述灵芝茶含有以下有效成分:多糖6wt%~8wt%,三萜2~4wt%,多肽15wt%~20wt%。二氢杨梅素1wt%~3wt%,有机硒1~8μg/100g。

8. 如权利要求6所述的灵芝茶的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

1) 灵芝菌丝体的制备:采用如权利要求1所述的灵芝菌丝体的规模化制备方法进行制备得到湿灵芝菌丝体;

2) 将灵芝菌丝体与显齿蛇葡萄叶按照配比进行混合均匀后进行初步烘干,使其含水量降至5~20wt%,然后装入砖茶压制模具进行压制得到茶砖,再进行烘干直至茶砖的含水量小于5wt%,即可。

9. 根据权利要求8所述的灵芝茶的制备方法,其特征在于,还包括将烘干后的茶砖进行辐照灭菌,然后进行抽真空密封。

10. 根据权利要求8所述的灵芝茶的制备方法,其特征在于,所述步骤2)的烘干的温度为50~80℃。

灵芝菌丝体的规模化制备方法、灵芝茶及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于微生物发酵技术领域,具体涉及一种灵芝菌丝体的规模化制备方法、灵芝茶及其制备方法。

背景技术

[0002] 灵芝是一种名贵中药材,也是一种药用真菌,在分类学上属于非褶菌目灵芝菌科灵芝属。灵芝自古以来就是滋补、强身、防病、治病的珍品。灵芝的主要有效成分有灵芝多糖、三萜类化合物、核苷酸、生物碱、氨基酸及微量元素等。现代医学研究结果表明,灵芝对多种疾病具有显著的疗效,特别是对心血管疾病、肝炎、肿瘤等疾病具有独特的疗效。因此,人们越来越重视对灵芝的应用和开发研究。近年来,对灵芝的应用已不限于药用,还用于制造各种功能性保健食品。

[0003] 显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*)是葡萄科蛇葡萄属的植物,是中国一种特有植物。显齿蛇葡萄叶子制成的茶称为藤茶,是土家族世代相传的“益寿神茶”,至今已有600多年的饮用历史。藤茶含有丰富的黄酮类物质,尤其是其中的二氢杨梅素,具有显著的抗氧化功效。根据民间长期的饮用实践和现代科学研究证实,藤茶具有生津止渴、甘喉润肺、护肝益血、降虚火、助消化、消炎解毒、降压减肥、润肤美容等功效,尤其适合肥胖和吸烟人士及酒后饮用。

[0004] 茶叶作为一种著名的保健饮品,是中国人民对世界饮食文化的贡献。茶与可可、咖啡并称当今世界的三大无酒精饮料,为世界三大饮料之首,深受世界人民喜爱。目前市场上已有多款灵芝茶产品及相关专利,但是这些产品中的绝大多数只是简单地把栽培的灵芝子实体与几种中药材按一定的比例混合所得。由于灵芝子实体是通过人工栽培获得,具有占地面积大、生产周期长、有效成分含量低,苦味过重、品质难以控制、难以避免重金属、农药的污染等系列缺点,因此总体而言,这种灵芝茶的科技含量低,产品品质低,销售情况和市场前景不够理想。

[0005] 另外,目前国内也有少数几种灵芝茶专利是用灵芝菌丝体制作的。例如“一种甜灵芝发酵茶的制备方法及甜灵芝发酵茶”(申请号CN201210123386.6),但其发酵规模很小,仅限于250mL的玻璃瓶,尚不具备产业化前景。再例如“灵芝菌丝体或灵芝茶及其双重发酵工艺”(CN200610035009.1),由于工艺本身的原因,发酵周期长达20~40天,生产效率低下,推广较难。

[0006] 由于开展灵芝大规模液体深层发酵具有投资资金多、技术含量高、人员素质要求高等门槛,目前为止对灵芝大规模工业化发酵的研究还不多,尤其在灵芝茶的生产上,仅有一些很小规模(几升到几十升)的固体、液体发酵研究,而缺乏对大规模发酵技术的研究。而当发酵增加到工业化规模时,培养基配方和各种参数的控制对整个发酵的质量起着相当重要的作用;不同规模的发酵,由于氧传递效益的差异,所需的培养基配方和综合控制参数都不同。如果将小规模发酵工艺直接套用于大规模发酵上,往往会出现培养基配方和发酵参数控制失调,导致大量菌丝衰老或自溶,使菌丝体产量很低,而且质量差,达不到工业化生

产的要求。尤其需要指出的是,上述各种灵芝茶产品和相关专利,最终生产出的灵芝茶都是粉末状,不但茶的形状不美观,而且只适合做成低端的袋泡茶产品。正是由于上述原因,造成已有的灵芝茶生产技术产量低、质量差,难以满足市场上对灵芝茶日益增长的需求。

发明内容

[0007] 本发明提出一种灵芝菌丝体的规模化制备方法,该制备方法获得的灵芝菌丝体质量好,便于制成砖茶。

[0008] 本发明的技术方案是这样实现的:

[0009] 一种灵芝菌丝体的规模化制备方法,包括以下步骤:

[0010] 将灵芝菌种接种至含有摇瓶培养基的摇瓶中进行摇瓶培养,将培养好的摇瓶菌种的转接入含有发酵培养基的一级种子罐中进行发酵培养,发酵培养结束后再转接入二级种子罐中发酵培养,二级种子罐发酵培养结束后再转接入发酵罐中进行发酵,然后放罐,将发酵液进行压滤,得湿灵芝菌丝体即可;

[0011] 其中,一级种子罐的发酵培养的条件为:将发酵培养基的pH调至6.0~6.5,保持罐温25~28℃,罐压40~80kPa,搅拌速率100~150r/min,通气量1:0.2~0.4,发酵36~60小时;二级种子罐的发酵培养的条件为:将发酵培养基的pH调至6.0~6.5,保持罐温25~28℃,罐压40~60kPa,搅拌速率120~180r/min,通气量1:0.4~0.6,发酵36~48小时;发酵罐的发酵培养条件为:将发酵培养基的pH调至6.0~6.5,保持罐温25~28℃,罐压20~40kPa,搅拌速率120~200r/min,通气量的体积比为1:0.5~0.8,发酵96~120小时。

[0012] 优选地,摇瓶培养基与发酵培养基的配方相同,所述配方为:玉米粉1~5wt%、豆粕粉1~5wt%、葡萄糖1~5wt%、硫酸镁0.02~0.04wt%、磷酸二氢钾0.1~0.3wt%、维生素B1 0.001~0.005wt%,其余为水。

[0013] 优选地,所述一级种子罐的容积为100L,所述二级种子罐的容积为1吨,所述发酵罐的容积为10吨。

[0014] 优选地,摇瓶培养具体为:将灵芝菌种接种至一级摇瓶中,25~28℃培养72~108小时,然后再转一级摇瓶中的菌种接入二级摇瓶中,25~28℃培养36~60小时即可。

[0015] 优选地,所述一级摇瓶的容积为500ml,二级摇瓶的容积为5000ml。

[0016] 本发明的另一个目的是提供一种灵芝茶,按照重量百分数计算,包括以下原料:

[0017] 由上述的规模化制备方法得到的灵芝菌丝体60%~90%,显齿蛇葡萄叶10%~40%。

[0018] 优选地,所述灵芝茶含有以下有效成分:多糖6wt%~8wt%,三萜2~4wt%,多肽15wt%~20wt%。二氢杨梅素1wt%~3wt%,有机硒1~8μg/100g。

[0019] 本发明的再一个目的是提供一种的灵芝茶的制备方法,包括以下步骤:

[0020] 1) 灵芝菌丝体的制备:采用上述的灵芝菌丝体的规模化制备方法进行制备得到湿灵芝菌丝体;

[0021] 2) 将灵芝菌丝体与显齿蛇葡萄叶按照配比进行混合均匀后进行初步烘干,使其含水量降至5~20wt%,然后装入砖茶压制模具进行压制得到茶砖,再进行烘干直至茶砖的含水量小于5wt%,即可。

[0022] 优选地,还包括将烘干后的茶砖进行辐照灭菌,然后进行抽真空密封。

[0023] 优选地,所述步骤2)的烘干的温度为50~80℃。

[0024] 本发明的有益效果:

[0025] 1、灵芝茶生产技术是工业化规模的十吨罐液体深层发酵技术。该技术具有占地少、周期短、产量高、产品有效成分含量高、自动化程度高、适于工业化生产等诸多优点。

[0026] 2、本发明所生产的灵芝茶有效成分含量分别为:多糖6wt%~8wt%,三萜2~4wt%,多肽15wt%~20wt%。二氢杨梅素1wt%~3wt%,有机硒1~8μg/100g。比以往的灵芝茶品质有显著的提高。灵芝茶有效成分的检测采用国标规定的方法或者行业认可的常规检测方法。其中灵芝茶中多糖含量检测方法采用硫酸-苯酚法,三萜含量检测方法采用香草醛-冰醋酸显色法,多肽的检测方法采用Folin-酚试剂法,二氢杨梅素的检测方法采用高效液相色谱法,色谱柱规格为25cm×4.6mm,5μm。流动相为甲醇—0.03%磷酸溶液,采用梯度洗脱,流速为0.8mL·min⁻¹,检测波长为290nm。有机硒的检测方法采用氢化物发生-原子荧光光谱法测定,具体测定步骤详见“氢化物发生-原子荧光光谱法测定水产品中有机硒和无机硒”[中国水产科学,2012,19(5):900-905]。

具体实施方式

[0027] 实施例1

[0028] 所用的摇瓶和发酵培养基的成分及其配比(重量百分比)为:玉米粉3,豆饼粉2,葡萄糖2,硫酸镁0.02,磷酸二氢钾0.2,维生素B10.005,其余为水。

[0029] 将新鲜的灵芝斜面菌种接入5个500mL(盛有摇瓶培养基100mL)三角瓶中,27℃下在摇床上培养96小时。然后把5瓶500mL摇瓶菌种分别倒入5个对应的5000mL(盛有1000mL摇瓶培养基)的三角瓶中,共得到5瓶5000mL摇瓶种,将5瓶摇瓶种于25℃下在摇床上培养48小时。然后将5瓶摇瓶种转接入一个100L(盛有60L发酵培养基)的种子罐中,调pH至6.0,保持罐温在26℃,罐压为60kPa,搅拌速率为130r/min,通气量为1:0.4,发酵48小时后,转接到一个1吨发酵罐(盛有600L发酵培养基)中,调pH至6.2,保持罐温为28℃,罐压为40kPa,搅拌速率为140r/min,通气量为1:0.4,发酵48小时后,转接到一个10吨罐(盛有6吨发酵培养基)中,调pH至6.5,保持罐温为27℃,罐压为30kPa,搅拌速率为150r/min,通气量为1:0.55,发酵100小时后,立即放罐,板框压滤,得到湿菌丝体。

[0030] 计算湿菌丝体的含水量,按照干品质量百分比9:1的比例,将湿菌丝体与适当比例的焙干的显齿蛇葡萄叶混合,搅拌均匀。湿菌丝体首先在50℃进行38小时的初步烘干,检测其含水量约15%。然后将其装入模具中压成10cm(长)×5cm(宽)×2cm(高)的长方体茶砖,在70℃再进行10小时的烘干,检测其含水量约为3%。取出茶砖,进行辐照灭菌,然后抽真空密封,即得到成品。

[0031] 采用国家药典规定的检测方法或者行业认可的检测方法测得灵芝茶有效成分含量分别为:多糖6.5%,三萜2.8%,多肽17%。二氢杨梅素2.5%,有机硒4μg/100g。

[0032] 实施例2

[0033] 摇瓶和发酵培养基的成分及其配比(重量百分比)为:玉米粉2,豆饼粉3,葡萄糖2.5,硫酸镁0.02,磷酸二氢钾0.1,维生素B10.003,其余为水。

[0034] 将新鲜的灵芝斜面菌种接入5个500mL(盛有摇瓶培养基100mL)三角瓶中,26℃下在摇床上培养105小时。然后把5瓶500mL摇瓶菌种分别倒入5个对应的5000mL(盛有1000mL

摇瓶培养基)的三角瓶中,共得到5瓶5000mL摇瓶种,将5瓶摇瓶种于28℃下在摇床上培养40小时。然后将5瓶摇瓶种转接入一个100L(盛有60L发酵培养基)的种子罐中,调pH至6.5,保持罐温在27℃,罐压为45kPa,搅拌速率为110r/min,通气量为1:0.2,发酵40小时后,转接到一个1吨发酵罐(盛有600L发酵培养基)中,调pH至6.5,保持罐温为26℃,罐压为45kPa,搅拌速率为160r/min,通气量为1:0.5,发酵42小时后,转接到一个10吨罐(盛有6吨发酵培养基)中,调pH至6.2,保持罐温为28℃,罐压为36kPa,搅拌速率为180r/min,通气量为1:0.75,发酵112小时后,立即放罐,板框压滤,得到湿菌丝体。

[0035] 计算湿菌丝体的含水量,按照干品质量百分比6:4的比例,将湿菌丝体与适当比例的焙干的显齿蛇葡萄叶混合,搅拌均匀。湿菌丝体首先在60℃进行32小时的初步烘干,检测其含水量约18%。然后将其装入模具中压成10cm(长)×5cm(宽)×2cm(高)的长方体茶砖,在80℃再进行8小时的烘干,检测其含水量约为2.8%。取出茶砖,进行辐照灭菌,然后抽真空密封,即得到成品。

[0036] 采用国家药典规定的检测方法或者行业认可的检测方法测得灵芝茶有效成分含量分别为:多糖7.2%,三萜2.5%,多肽19%。二氢杨梅素3%,有机硒7μg/100g。

[0037] 实施例3

[0038] 摇瓶和发酵培养基的成分及其配比(重量百分比)为:玉米粉2.5,豆饼粉1.5,葡萄糖1.5,硫酸镁0.03,磷酸二氢钾0.3,维生素B10.002,其余为水。

[0039] 将新鲜的灵芝斜面菌种接入5个500mL(盛有摇瓶培养基100mL)三角瓶中,28℃下在摇床上培养84小时。然后把5瓶500mL摇瓶菌种分别倒入5个对应的5000mL(盛有1000mL摇瓶培养基)的三角瓶中,共得到5瓶5000mL摇瓶种,将5瓶摇瓶种于27℃下在摇床上培养54小时。然后将5瓶摇瓶种转接入一个100L(盛有60L发酵培养基)的种子罐中,调pH至6.2,保持罐温在28℃,罐压为70kPa,搅拌速率为120r/min,通气量为1:0.3,发酵52小时后,转接到一个1吨发酵罐(盛有600L发酵培养基)中,调pH至6.0,保持罐温为27℃,罐压为60kPa,搅拌速率为170r/min,通气量为1:0.6,发酵40小时后,转接到一个10吨罐(盛有6吨发酵培养基)中,调pH至6.4,保持罐温为26℃,罐压为25kPa,搅拌速率为200r/min,通气量为1:0.8,发酵118小时后,立即放罐,板框压滤,得到湿菌丝体。

[0040] 计算湿菌丝体的含水量,按照干品质量百分比8:2的比例,将湿菌丝体与适当比例的焙干的显齿蛇葡萄叶混合,搅拌均匀。湿菌丝体首先在70℃进行28小时的初步烘干,检测其含水量约16%。然后将其装入模具中压成10cm(长)×5cm(宽)×2cm(高)的长方体茶砖,在60℃再进行12小时的烘干,检测其含水量约为4%。取出茶砖,进行辐照灭菌,然后抽真空密封,即得到成品。

[0041] 采用国家药典规定的检测方法或者行业认可的检测方法测得灵芝茶有效成分含量分别为:多糖6.8%,三萜3.2%,多肽18%。二氢杨梅素2.6%,有机硒4μg/100g。

[0042] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。