



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103650920 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 26

(21) 申请号 201310728840. 5

(22) 申请日 2013. 12. 20

(71) 申请人 凌中鑫

地址 239300 安徽省阜阳市颍州区文峰办事处东岳东巷 72 号

(72) 发明人 凌中鑫

(51) Int. Cl.

A01G 1/04 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书2页

(54) 发明名称

一种富微灵芝菌丝体液体发酵的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,该方法包括:(1) 将菌株转接于斜面培养基上进行培养、活化,得到斜面菌种;(2) 将斜面菌种制成孢子悬液,接于液体培养基中,摇瓶培养,得到液体菌种;(3) 发酵培养基高温灭菌后冷却,再将液体菌种接入,摇瓶培养,得到含菌丝体的发酵液;(4) 通过过滤将菌丝体及发酵液分离,纯净水冲洗菌丝,洗去培养基,收集菌丝体,烘干,制得干菌丝体。技术关键是在发酵培养基中添加微量元素。本方法可以提高灵芝菌丝体中微量元素的含量;本方法易操作,成本低,适于工业生产。

1. 一种富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,其特征在于:该方法包括以下四个步骤:(1)将菌株转接于斜面培养基上进行培养、活化,得到斜面菌种;(2)将斜面菌种制成孢子悬液,接于液体培养基中,摇瓶培养,得到液体菌种;(3)发酵培养基高温灭菌后冷却,再将液体菌种接入,摇瓶培养,得到含菌丝体的发酵液;(4)通过过滤将菌丝体及发酵液分离,纯净水冲洗菌丝,洗去培养基,收集菌丝体,烘干,制得干菌丝体。技术关键是在发酵培养基中添加微量元素。本方法可以提高灵芝菌丝体中微量元素的含量。

2. 按照权利要求1所述的富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,其特征在于:所述方法的第二步中,所用的液体菌种培养基配方为:微量元素0.05% -0.5%,蛋白胨1.5%,蔗糖3%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.1-0.2%,水1000mL, pH7.5-8。

3. 按照权利要求1所述的富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,其特征在于:所述方法的第二步中,所用工艺条件是:液体菌种培养基装液量为60mL / 250mL三角瓶;液体菌种于24℃、转速160r / min下培养4d。

4. 按照权利要求1所述的富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,其特征在于:所述方法的第三步中,所用的培养基配方为微量元素0.1% -1.6%,蛋白胨1.5%,蔗糖3%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.1-0.2%,水1000mL, pH7.5-8。

5. 按照权利要求1所述的富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,其特征在于:所述方法的第三步中,所用工艺条件是:装液量200mL / 500mL三角瓶,采用6%接种量将种子液接入发酵摇瓶中,在23℃下摇150r / min转速培养10d。

6. 按照权利要求1所述的富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,其特征在于:所述微量元素及其比例为硒元素、铬元素、锌元素、锰元素和硼元素的比例为:10 : 10 : 3 : 3 : 1。

## 一种富微灵芝菌丝体液体发酵的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及真菌发酵工程,具体而言涉及灵芝富微液体发酵产菌丝体的生产方法。

### 背景技术

[0002] 灵芝又称灵芝草、神芝、芝草、仙草、瑞草,是多孔菌科植物赤芝或紫芝的全株。以紫灵芝药效为最好,灵芝原产于亚洲东部,中国分布最广的在江西,灵芝作为拥有数千年药用历史的中国传统珍贵药材,具备很高的药用价值,经过科研机构数十年的现代药理学研究证实,灵芝对于增强人体免疫力,调节血糖,控制血压,辅助肿瘤放化疗,保肝护肝,促进睡眠等方面均具有显著疗效。

[0003] 人们对灵芝的药理作用进行了大量的研究,证实其具有广泛的药理学活性及临床作用。经大量的研究证明,灵芝液体发酵生产的菌丝体与天然灵芝的成份极相似,并证明了它与天然灵芝有相似的药理作用与临床效果,

[0004] 灵芝化学成分主要含麦角甾醇 0.3%~0.4%,真菌溶菌酶及酸性蛋白酶、L-甘露醇、烯醇。在水溶性提取液中含有水溶性蛋白质,天门冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丙氨酸、色氨酸、苏氨酸、脯氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸等多种氨基酸,多肽及多糖类。尚含树脂、内酯、香豆精等。

[0005] 紫芝含麦角甾醇,有机酸为顺蓖麻酸,反丁烯二酸。此外,并含氨基酸、葡萄糖、多糖类、树脂及甘露醇。一般灵芝有生物碱、甾醇、内酯、香豆精、酸性树脂、氨基酸、油脂、还原性物质等反应。

[0006] 灵芝属的化学成分较为复杂,且因所用菌种、菌种产地、栽培方法、提取工艺、制剂方法不同而各异。灵芝属的子实体、菌丝体和孢子中含有多糖类、核苷类、呋喃类衍生物、甾醇类、生物碱类、蛋白质、多肽、氨基酸类、三萜类、倍半萜、有机锗、无机盐等。灵芝多糖是灵芝的主要有效成分之一,具有抗肿瘤、免疫调节、降血糖、抗氧化、降血脂与抗衰老作用。灵芝所含三萜类不下百余种,其中以四环三萜类为主,灵芝的苦味与所含三萜类有关。三萜类也是灵芝的有效成分之一,对人肝癌细胞具有细胞毒作用,也能抑制组织胺的释放,具有保肝作用和具有抗过敏作用等。

[0007] 人体总重量的万分之一以下的元素,如锌、铜、锰、铬、硒、钼、钴、氟等,称为微量元素。微量元素在人体内的含量真是微乎其微,如锌只占人体总重量的百万分之三十三。

[0008] 到目前为止,已被确认与人体健康和生命有关的必需微量元素有 18 种,即有铁、铜、锌、钴、锰、铬、硒、碘、镍、氟、钼、钒、锡、硅、锶、硼、铷、砷等。这每种微量元素都有其特殊的生理功能。尽管它们在人体内含量极小,但它们对维持人体中的一些决定性的新陈代谢却是十分必要的。一旦缺少了这些必需的微量元素,人体就会出现疾病,甚至危及生命。

[0009] 通过工艺方法的改进从而大幅度提高灵芝菌丝体中微量元素的含量势在必行。

### 发明内容

[0010] 本发明的目的在于提供一种富微灵芝菌丝体液体发酵的方法,以克服现有技术灵芝菌丝体中微量元素含量低的缺陷。

[0011] 经过系统的研究和试验后,提出了通过添加微量元素提高灵芝液体发酵虫草菌丝体重微量元素的产量的生产方法,方法包括:

[0012] (1) 将菌株转接于斜面培养基上进行培养、活化,得到斜面菌种;

[0013] (2) 将斜面菌种制成孢子悬液,接于液体培养基中,摇瓶培养,得到液体菌种;

[0014] (3) 发酵培养基高温灭菌后冷却,再将液体菌种接入,摇瓶培养,得到含菌丝体的发酵液;

[0015] (4) 通过过滤将菌丝体及发酵液分离,纯净水冲洗菌丝,洗去培养基,收集菌丝体,烘干,制得干菌丝体。

[0016] 所述方法的第二步中,所用的液体菌种培养基配方为微量元素 0.05% -0.5%,蛋白胨 1.5%,蔗糖 3%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1-0.2%,水 1000mL, pH7.5-8。

[0017] 所述方法的第二步中,所用工艺条件是:液体菌种培养基装液量为 60mL / 250mL 三角瓶;液体菌种于 24°C、转速 160r / min 下培养 4d。

[0018] 所述方法的第三步中,所用的培养基配方为微量元素 0.1% -1.6%,蛋白胨 1.5%,蔗糖 3%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1-0.2%,水 1000mL, pH7.5-8。

[0019] 所述方法的第三步中,所用工艺条件是:装液量 200mL / 500mL 三角瓶,采用 6% 接种量将种子液接入发酵摇瓶中,在 23°C 下摇 150r / min 转速培养 10d。

[0020] 所述微量元素及其比例为硒元素、铬元素、锌元素、锰元素和硼元素的比例为: 10 : 10 : 3 : 3 : 1。本发明的关键技术在于在发酵培养基中,同时加入硒元素、铬元素、锌元素、锰元素和硼元素。

[0021] 本发明提高了灵芝菌丝体中微量元素的含量,进而提高灵芝菌丝体的药效,具有重要意义,生产的菌丝可作为功能性食品、保健品,药品的原料;本方法易操作,成本低,适于工业生产。

### 具体实施方式

[0022] 实施例 1:将菌株转接于 PDA 斜面培养基上 25°C 下培养 7d、活化 2 次,得到斜面菌种;轻轻刮洗斜面菌种并将之制成孢子悬液,然后用无菌纱布(6 层)过滤掉悬液里的菌丝,每瓶液体菌种接入浓度适中的灵芝孢子,使制作的液体中的菌丝球细小而均匀,发酵液澄消透明。液体菌种培养基配方为:微量元素 0.05% -0.5%,蛋白胨 1.5%,蔗糖 3%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1-0.2%,水 1000mL, pH7.5-8,液体菌种培养基装液量为 60mL / 250mL 三角瓶;液体菌种于 24°C、转速 160r / min 下培养 4d,得到液体菌种。

[0023] 使用最优化的发酵培养基:微量元素 0.1% -1.6%,蛋白胨 1.5%,蔗糖 3%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1-0.2%,水 1000mL, pH7.5-8。所用工艺条件是:装液量 200mL / 500mL 三角瓶,采用 6% 接种量将种子液接入发酵摇瓶中,在 23°C 下摇 150r / min 转速培养 10d。得到大部分菌丝体形态为菌丝球的发酵液;经过滤将菌丝体与发酵液分离,再用纯净水冲洗菌丝,洗去培养基后,收集菌丝体,烘干。