



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103667082 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 22

(21) 申请号 201310680901. 5

59.

(22) 申请日 2013. 12. 12

(73) 专利权人 吉林修正药业新药开发有限公司
地址 130103 吉林省长春市高新区顺达路
1369 号

李立恒, 等. 蜜环菌深层发酵产多糖的研究. 《湖南农业大学学报(自然科学版)》. 2003, 第 29 卷 (第 5 期), 428 — 430.

审查员 宋智刚

(72) 发明人 常红 白冰 高红梅 赵源慧
李君海 吴小玲 杨喆茗

(74) 专利代理机构 吉林省长春市新时代专利商
标代理有限公司 22204
代理人 孙国振

(51) Int. Cl.

C12N 1/14(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1986771 A, 2007. 06. 27, 权利要求 2 — 4.
袁媛, 等. 蜜环菌液体深层发酵培养基的优选. 《农产品加工(学刊)》. 2009, (第 7 期), 57 —

权利要求书1页 说明书2页

(54) 发明名称

一种蜜环菌浓缩液的制备方法

(57) 摘要

一种蜜环菌浓缩液的制备方法, 包括: 将菌株接种到无菌培养基上, $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 3 ~ 4 天得到菌丝体; 按重量份数比例取葡萄糖 3 ~ 5 份、蛋白胨 1 ~ 3 份、酵母浸膏 1 ~ 3 份、 KH_2PO_4 0. 1 ~ 0. 5 份、 MgSO_4 0. 1 ~ 0. 5 份、NaCl 0. 001 ~ 0. 003 份、维生素 B1 0. 05 ~ 0. 1 份, 加入纯化水 100~150 份后混合均匀得培养液; 将菌丝体接种于培养液中, 在 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、转速 100rpm ~ 500rpm、通气量 100 ~ 150L/h、PH 值为 5. 0 左右的条件下发酵 3 ~ 5 天; 收集发酵液, 将发酵液过滤后减压浓缩至密度为 1. 030 ~ 1. 035 (20°C) 即得。本发明的积极效果是: 明确了培养基组成, 利于生产操作。缩短了生产周期。发酵液产量较高。发酵液中腺苷含量较原生产工艺高。

1. 一种蜜环菌浓缩液的制备方法,其特征是包括以下步骤;

(1) 将蜜环菌菌株接种到无菌培养基上,27℃ ±1℃培养 3 ~ 4 天得到菌丝体备用;

(2) 制备无菌培养液:按重量份数比例取葡萄糖 3 ~ 5 份、蛋白胨 1 ~ 3 份、酵母浸膏 1 ~ 3 份、KH₂PO₄0.1 ~ 0.5 份、MgSO₄0.1 ~ 0.5 份、NaCl 0.001 ~ 0.003 份、维生素 B10.05 ~ 0.1 份,加入纯化水 100 ~ 150 份后混合均匀;

(3) 发酵:将步骤(1)所得到的菌丝体接种于步骤(2)制得的液体培养液中,在 27℃ ±1℃、转速 100rpm ~ 500rpm、通气量 100 ~ 150L/h、pH 值为 5.0 左右的条件下发酵 3 ~ 5 天;

(4) 浓缩:收集发酵液,将发酵液过滤后减压浓缩至密度为 20℃时 1.030 ~ 1.035,即可。

一种蜜环菌浓缩液的制备方法

技术领域：

[0001] 本发明属于制药领域，具体涉及中药原料药蜜环菌浓缩液的制备方法。

背景技术：

[0002] 蜜环菌 [*Armillaria mellea*(Vahl ex Fr.) Quel] 是属于白蘑科 (*Tricholomataceae*) 蜜环菌属 [*Armillaria*(Fr.) Staude.] 的药食兼用菌是一种与传统中药天麻 (*Gastrodia elata* Blume) 共生的著名的药用真菌。经国内外多年的研究，分离得到了蜜环菌多糖、倍半萜类化合物和嘌呤类化合物等多种活性成分。蜜环菌子实体具有催眠、镇静、抗眩晕、改善心脑血管血液循环及较强的脑保护作用，可以治疗多种疾病，并可提高机体免疫功能。蜜环菌是我国滋补保健类中药材之一，倍受国内外学者青睐。目前，蜜环菌已在药品和保健食品领域应用广泛，特别是以其为重要成分的中成药脑心舒，在市场上颇有影响。蜜环菌是天麻的共生菌，有研究证明，蜜环菌的菌丝及发酵液有与天麻相类似的药理作用。因此，加大蜜环菌液体发酵培养，优化发酵培养条件可满足该品种的需求。但由于法定标准中对蜜环菌浓缩液的培养基组成不明确，现有的蜜环菌浓缩液制备方法存在培养周期长，腺苷含量不确定等不足，影响大规模的生产。

发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种蜜环菌浓缩液的制备方法，克服现有的浓缩液制备方法存在的上述不足。

[0004] 本发明的蜜环菌浓缩液制备方法包括以下步骤：

[0005] 1、将蜜环菌菌株接种到无菌培养基上， $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 3 ~ 4 天，得到菌丝体备用；

[0006] 2、制备无菌培养液：按重量份数比例取葡萄糖 3 ~ 5 份、蛋白胨 1 ~ 3 份、酵母浸膏 1 ~ 3 份、 KH_2PO_4 0.1 ~ 0.5 份、 MgSO_4 0.1 ~ 0.5 份、 NaCl 0.001 ~ 0.003 份、维生素 B 0.05 ~ 0.1 份，加入纯化水 100-150 份后混合均匀。

[0007] 3、发酵：将步骤 1 所得到的菌丝体接种于步骤 2 制得的液体培养液中，在 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、转速 100rpm ~ 500rpm、通气量 100 ~ 150L/h、PH 值为 5.0 左右的条件下发酵 3 ~ 5 天；

[0008] 4、浓缩：收集发酵液，将发酵液过滤后减压浓缩至密度为 1.030 ~ 1.035 (20°C) 即得。

[0009] 本发明的积极效果是：明确了培养基组成，利于生产操作。缩短了生产周期，本发明周期 6-9 天，现有的方法 10-13 天。发酵液产量较高，是现有方法的 1.15 倍。发酵液中腺苷含量较原生产工艺高。本发明制备的蜜环菌浓缩液腺苷含量高于 0.45mg/ml，现有方法制备的蜜环菌浓缩液腺苷含量低于 0.40mg/ml。

具体实施方式

[0010] 实施例 1

[0011] 1、将蜜环菌菌株接种到无菌培养基上， $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 3 天得到菌丝体备用；

[0012] 2、制备无菌培养液：按重量份数比例取葡萄糖 3 份、蛋白胨 3 份、酵母浸膏 1 份、 KH_2PO_4 0.1 份、 MgSO_4 0.5 份、 NaCl 0.003 份、维生素 B1 0.05 份，加入纯化水 100 份后混合均匀；

[0013] 3、发酵：将菌丝体接种于液体培养液中，于 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，转速 100rpm，通气量 100L/h，PH 值为 5.0 左右发酵 3 天；浓缩：收集发酵液，将发酵液过滤后减压浓缩至密度为 1.032 (20°C) 即得。

[0014] 实施例 2

[0015] 1、将蜜环菌菌株接种到无菌培养基上， $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 4 天得到菌丝体备用；

[0016] 2、制备无菌培养液：按重量份数比例取葡萄糖 5 份、蛋白胨 1 份、酵母浸膏 3 份、 KH_2PO_4 0.5 份、 MgSO_4 0.1 份、 NaCl 0.001 份、维生素 B1 0.1 份，加入纯化水 150 份后混合均匀。

[0017] 3、发酵：将步骤 1 所得到的菌丝体接种于步骤 2 制得的液体培养液中，在 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、转速 500rpm、通气量 150L/h、PH 值 5.0 左右的条件下发酵 5 天；

[0018] 4、浓缩：收集发酵液，将发酵液过滤后减压浓缩至密度为 1.030 ~ 1.035 (20°C) 即得。