(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101933439 A
(43)申请公布日 2011.01.05

(21)申请号 201010226645.9

(22)申请日 2010.07.15

(71)申请人 西南大学
地址 400715 重庆市北碚区天生路 2 号

(72)发明人 邹祥 郭霞 孙敏

(74)专利代理机构 重庆华科专利事务所 50123
代理人 康海燕

(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

一种利用植物油提高桑黄液体培养菌丝量的方法

(57)摘要

本发明提出一种运用植物油用于药用真菌桑黄菌液体培养并提高桑黄菌丝量的方法。本方法的桑黄发酵培养基参考专利申请号200810070224.4 公开的技术进行配制，培养基初始pH控制在5.5～7.5，灭菌温度115～121℃，灭菌时间30min。在发酵初始添加质量浓度为0.5～5%的不同种类的植物油，包括大豆油、橄榄油、菜籽油等，采用摇瓶发酵或发酵罐发酵工艺，接种量为5～15%，培养温度为24～28℃。本发明具有操作工艺简单，发酵生产成本低等优点，可用于桑黄菌液体大规模培养生产过程，同时还可用于其它药用真菌如灵芝、姬松茸、香菇等菌种的液体发酵生产过程。

CN 101933439 A

1. 一种利用植物油提高桑黄液体培养菌丝量的方法，其步骤如下：

(1) 配制桑黄发酵培养基；

(2) 培养基初始 pH 控制在 5.5 ～ 7.5，灭菌温度 115 ～ 121℃，灭菌时间 30min；

(3) 植物油添加：在发酵初始添加质量浓度为 0.5 ～ 5％的植物油；所述植物油为大豆油、橄榄油、菜籽油中的一种或多种；

(4) 发酵工艺：采用摇瓶发酵或发酵罐发酵工艺，接种量为 5 ～ 15％，培养温度为 24 ～ 28℃。

2. 根据权利要求 1 所述的利用植物油提高桑黄液体培养菌丝量的方法，其特征在于：所述摇瓶发酵工艺为：250mL 发酵摇瓶装液量 50mL，接种 5-15％ (V/V) 桑黄种子液，培养温度 25℃，转速 180-220r/min，发酵 6-10 天，发酵结束后用蒸馏水洗涤菌丝体 2-4 次，60℃烘干至恒重，天平称重获得菌体干重。

3. 根据权利要求 1 所述的利用植物油提高桑黄液体培养菌丝量的方法，其特征在于：所述发酵罐发酵工艺为：7L 搅拌式发酵罐装液量 5L，接种 5-15％ (V/V) 桑黄种子液，培养温度 25℃，发酵罐起始转速 180-220r/min，通气量 1 ： 1(V/V)，发酵罐转速根据罐内溶氧进行调节，发酵 6-10 天，发酵结束后用蒸馏水洗涤菌丝体 2-4 次，60℃烘干至恒重，天平称重获得菌体干重。

一种利用植物油提高桑黄液体培养菌丝量的方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域，具体涉及一种将植物油用于药用真菌桑黄菌液体培养过程并大幅度提高桑黄菌丝量的方法。

背景技术

[0002] 桑黄 (Phellinus igniarius) 又称火木层孔菌，属担子菌纲，层孔菌属，寄生于桑树树木之上，是一种珍稀的食药用真菌，桑黄主要活性成分为桑黄多糖，能提高机体免疫力，具有显著的抗肿瘤活性，极具开发价值。

[0003] 由于桑黄菌生理生态的复杂性、特殊性，桑黄子实体数量稀少，采用人工栽培的方式具有生产周期长、产量低等缺点，而液体深层培养技术大规模生产桑黄菌丝体以及其活性多糖物质是满足国内外市场需要的有效途径。在桑黄菌丝体中含有大量的多糖、黄酮等生物活性物质，因此在液体培养过程，提高桑黄菌丝量是采用深层培养技术工业应用的关键。植物油在发酵过程往往作为前体供应和消泡作用，同时由于油脂利用无阻遏效应，不易发生降解物的阻遏效应，有利于次级代谢产物合成，被广泛应用于众多抗生素发酵生产。但油脂是否对药用真菌桑黄菌丝生长产生影响，迄今没有相关报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于运用植物油用于药用真菌桑黄菌液体培养并提高桑黄菌丝量的方法。

[0005] 本方法使用的菌种是购于中国普通微生物菌种保藏管理中心 (CGMCC) 桑黄菌种（火木层孔菌，编号 5.95)，用于实现本发明目的的具体技术解决方案如下：

[0006] 1. 桑黄发酵培养基参考中国专利申请（邹祥等，专利申请号 200810070224.4) 进行配制；

[0007] 2. 培养基初始 pH 控制在 5.5 ～ 7.5，灭菌温度 115 ～ 121℃，灭菌时间 30min；

[0008] 3. 植物油添加，在发酵初始添加质量浓度为 0.5 ～ 5％的不同种类的植物油，包括（大豆油、橄榄油、菜籽油等）；

[0009] 4. 发酵工艺，采用摇瓶发酵或发酵罐发酵工艺，接种量为 5 ～ 15％，培养温度为 24 ～ 28℃；

[0010] 本发明所具有的优点

[0011] 在发酵培养基中添加植物油，能迅速提高深层培养过程桑黄菌丝生长量，摇瓶培养桑黄菌丝体产量最高可达 34.63g/L，比对照组提高了 182.9％；7L 发酵罐桑黄菌丝量最高可达 23.77g/L，比对照组提高了 207.1％，是目前深层培养桑黄菌丝体产量最高的报道；同时添加的植物油廉价易得，有利于工业化生产。本发明具有操作工艺简单，发酵生产成本低等优点，可用于桑黄菌液体大规模培养生产过程，同时还可用于其它药用真菌如灵芝、姬松茸、香菇等菌种的液体发酵生产过程。

具体实施方式

[0012] 实施例 1 :

[0013] 按专利 (邹祥等,专利申请号 200810070224.4) 配制本发明中所述的发酵培养基 1L,调节 pH 到 6.0 后,加入 1%的大豆油,将培养基分装到 250mL 的三角摇瓶中,装液量为 50mL,灭菌温度 115℃,时间 30min。

[0014] 桑黄菌丝培养 :采用摇瓶发酵工艺,在 250mL 三角摇瓶中按 10% (V/V) 的接种量接入桑黄种子液 5mL,摇瓶培养温度 25℃,转速 180r/min,发酵 7 天结束,离心获得菌丝体,用蒸馏水洗涤菌丝体 3 次,烘干至恒重,称重菌体干重达到 32.67g/L,比对照组提高了 166.9%。

[0015] 实施例 2 :

[0016] 按 (邹祥等,专利申请号 200810070224.4) 专利配制本发明中所述的发酵培养基 1L,调节 pH 到 6.0 后,加入 1%的橄榄油,将培养基分装到 250mL 的三角瓶中,装液量为 50mL,灭菌温度 115℃,时间 30min。

[0017] 桑黄菌丝培养 :采用摇瓶发酵工艺,在 250mL 三角摇瓶中按 10% (V/V) 的接种量接入桑黄种子液 5mL,摇瓶培养温度 25℃,转速 180r/min,发酵 7 天结束,离心获得菌丝体,用蒸馏水洗涤菌丝体 3 次,烘干至恒重,称重菌体干重达到 31.3g/L,比对照组提高了 155.7%。

[0018] 实施例 3 :

[0019] 按专利 (邹祥等,专利申请号 200810070224.4) 配制本发明中所述的发酵培养基 1L,调节 pH 到 6.0 后,加入 1%的菜籽油,将培养基分装到 250mL 的三角瓶中,装液量为 50mL,灭菌温度 115℃,时间 30min。

[0020] 桑黄菌丝培养 :采用摇瓶发酵工艺,在 250mL 三角摇瓶中按 10% (V/V) 的接种量接入桑黄种子液 5mL,摇瓶培养温度 25℃,转速 180r/min,发酵 7 天结束,离心获得菌丝体,用蒸馏水洗涤菌丝体 3 次,烘干至恒重,称重菌体干重达到 34.63g/L,比对照组提高了 182.9%。

[0021] 实施例 4 :

[0022] 按专利 (邹祥等,专利申请号 200810070224.4) 配制本发明中所述的发酵培养基 5L,调节 pH 到 6.0 后,加入 1%的菜籽油,将培养基装到 7L 的搅拌式发酵罐 (上海保兴生物工程装备有限公司) 中,装液量为 5L,灭菌温度 121℃,时间 30min。

[0023] 桑黄菌丝培养 :采用发酵罐培养工艺,按照 10% (V/V) 的接种量接入桑黄种子液 500mL,发酵罐培养温度 25℃,起始转速 200r/min,根据罐内溶氧浓度进行调节转速,控制溶氧浓度不低于 20%,发酵 6 天结束,离心收集菌丝体,用蒸馏水洗涤菌丝体 3 次,烘干至恒重,发酵 6 天桑黄菌丝量最高可达 23.77g/L,比对照组提高了 207.1%。