



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101372671 B

(45) 授权公告日 2010.09.29

(21) 申请号 200810157381.9

审查员 孙彦珂

(22) 申请日 2008.09.28

(73) 专利权人 鲁东大学

地址 264000 山东省烟台市芝罘区红旗中路  
186 号

(72) 发明人 程显好 盖宇鹏 孙慧涌 朱林  
丁娟 冯志彬 刘林德

(74) 专利代理机构 烟台信合专利代理有限公司  
37102

代理人 韩珺

(51) Int. Cl.

*C12N 1/14* (2006.01)

*C12R 1/00* (2006.01)

*C12R 1/645* (2006.01)

(56) 对比文件

张以俭等. 蚕蛹虫草母种培养基研究. 蚕学  
通讯 25 2. 2005, 25(2), 全文.

权利要求书 1 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

一种富锌蛹虫草子实体的人工培养方法及其  
培养基

(57) 摘要

本发明公开了一种富锌蛹虫草子实体的人工  
培养方法及其培养基,其培养基配方组分按重量  
份为:大米 40-65 份,酵母提取物 0.5-2.0 份,水  
60-85 份,硫酸锌 0.01-1.0 份,自然 pH 值;其人工  
培养方法包括培养基制备,分装,灭菌;冷却,接  
种;培养;采收子实体;烘干,制粒步骤;其操作简  
单,培养周期短,子实体产率高,无污染无废弃物,  
具有补锌功能,可以进行工厂化生产。

1. 一种用于培养富锌蛹虫草子实体的培养基,其特征在于其配方组分按重量份为:大米 4065 份,酵母提取物 0.5-2.0 份,水 60-85 份,硫酸锌 0.01-1.0 份。

2. 根据权利要求 1 所述的一种用于培养富锌蛹虫草子实体的培养基,其特征在于其配方组分按重量份为:大米 50 份,酵母提取物 1.0 份,水 75 份,硫酸锌 0.5 份。

3. 一种富锌蛹虫草子实体的培养方法,其特征在于包括培养基制备,灭菌,接种,培养,分离,粉碎步骤,具体工艺步骤为:

(1) 富锌培养基制备:

其配方组分按重量份为:大米 40-65 份,酵母提取物 0.5-2.0 份,水 60-85 份,硫酸锌 0.01-1.0 份,自然 pH 值;

(2) 培养基分装,灭菌:

将配制好的培养基分装于罐头瓶中,封口,在 120-130℃ 条件下灭菌 18-30 分钟;

(3) 冷却,接种:

灭完菌后取出培养基,自然冷却至 20℃ -30℃,在无菌条件下,接入蛹虫草菌种;

(4) 培养:

将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里,20-30℃ 培养 8-12 天,菌丝充分生长后,转移到 18-20℃、相对湿度 85% -95%、每天 11-13 小时散射光条件下培养 50-90 天;

(5) 采收子实体:

将长出的子实体用镊子采出,去掉子实体连接的培养基;

(6) 烘干,制粒:

将子实体置于 50-80℃ 气流干燥箱烘至恒重,粉碎后过 60-120 目筛,乙醇制粒,50-80℃ 干燥,整理装胶囊,用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体胶囊产品。

4. 根据权利要求 3 所述的一种富锌蛹虫草子实体的培养方法,其特征在于所述的步骤 3 中接入的蛹虫草菌种为固体培养的蛹虫草菌种。

5. 根据权利要求 3 所述的一种富锌蛹虫草子实体的培养方法,其特征在于所述的步骤 3 中接入的蛹虫草菌种为蛹虫草液体菌种,该蛹虫草液体菌种通过试管斜面菌种培养和三角瓶液体种子培养而成,具体工艺步骤为:

试管斜面菌种培养:

配制培养基:其重量比组分为:葡萄糖 1.0% -3.0%,蛋白胨 0.5% -1.0%,酵母提取物 0.1% -1.0%,琼脂粉 1.0% -2.0%,水余量,其 pH 值为 5.0-7.0;将蛹虫草菌种在无菌条件下接入试管斜面,15 ~ 30℃ 暗培养 5-10 天;

三角瓶液体种子培养:

配制培养基:其重量比组分为:葡萄糖 1.0% -3.0%,蛋白胨 0.5% -1.0%,酵母提取物 0.1% -1.0%,水余量,其 pH 值为 5.0-7.0,将配制好的培养基分装入锥形瓶中,封口后在 120 ~ 130℃ 条件下灭菌 18 ~ 30 分钟,取出培养基,自然冷却至 20℃ ~ 30℃,在无菌条件下接入培养后的斜面菌种,15 ~ 30℃ 培养 5 天 ~ 10 天。

## 一种富锌蛹虫草子实体的人工培养方法及其培养基

### 技术领域：

[0001] 本发明涉及一种富锌蛹虫草子实体的人工培养方法及其培养基，属于生药学技术领域。

### 背景技术：

[0002] 蛹虫草，又名北冬虫夏草，属于子囊菌亚门核菌纲球壳目麦角菌科虫草属，是我国名贵中药材之一。现代药学研究表明蛹虫草中含有核苷类、多糖类、虫草素、甾醇类等成分含量基本与冬虫夏草相同，对免疫系统，神经系统及心血管系统等疾病具有治疗效果，并有抗肿瘤和抗癌作用，是冬虫夏草理想的替代品，有广阔的发展前景。

[0003] 锌是微量元素的一种，在人体内的含量以及每天所需摄入量都很少，但对机体的性发育、性功能、生殖细胞的生成却能起到举足轻重的作用，故有“生命的火花”与“婚姻和谐素”之称。人体正常含锌量为 2-3 克。绝大部分组织中都有极微量的锌分布，其中肝脏、肌肉和骨骼中含量较高。锌是体内数十种酶的主要成分；锌还与大脑发育和智力有关。人体的睾丸、前列腺、精液当中，都含有高浓度的锌。当人体内锌的含量缺乏时，性功能会因此而低下，合成睾丸素酶发生紊乱，男子将会引起阳痿和脸上生长痤疮。锌对激发精子活动有着特殊的作用，缺锌会造成精子活动力的下降。长期处于缺锌状态而未能及时补充，可出现精子数量明显减少、睾丸萎缩，最后导致不育。

[0004] 锌在人体中虽为微量元素，但作用却非常之大。孩子缺锌，将直接影响体格及大脑的发育，还会出现厌食、免疫力减退等现象。锌可以提高人体免疫系统的敏感性，同时可以直接抑制病毒的活性，从而增强人体抗病能力；还可促进大脑蛋白合成，帮助神经系统的发育和完善。锌可促进味蕾细胞的发育，增强孩子的食欲，改善孩子厌食、偏食的状况，保证营养的全面摄入。

[0005] 世界卫生组织规定，成人每天锌的摄入量为 15 毫克，而我国对成年人的日推荐量为 12 ~ 15mg，而我国男子锌的摄入量大约才 9 毫克左右。膳食补充剂可以日服量为日推荐量的 1/3 ~ 1/2，即每天可以通过食物以外的方式补充 4mg ~ 7.5mg。

[0006] 国内外目前关于富锌蛹虫草子实体产品及其培养方法没有相应的报道。

### 发明内容：

[0007] 本发明的目的在于克服上述已有技术的不足而提供一种操作简单，培养周期短，子实体产率高，无污染无废弃物，具有补锌功能，可以进行工厂化生产的一种富锌蛹虫草子实体的人工培养方法及其培养基。

[0008] 本发明的目的可以通过如下措施来达到：一种用于培养富锌蛹虫草子实体的培养基，其特征在于其配方组分按重量份为：大米 40—65 份，酵母提取物 0.5—2.0 份，水 60—85 份，硫酸锌 0.01—1.0 份。

[0009] 为了进一步实现本发明的目的，其配方组分按重量份为：大米 50 份，酵母提取物 1.0 份，水 75 份，硫酸锌 0.5 份。

[0010] 一种富锌蛹虫草子实体的培养方法,其特征在于包括培养基制备,灭菌,接种,培养,分离,粉碎步骤,具体工艺步骤为:

[0011] (1) 富锌培养基制备:

[0012] 其配方组分按重量份为:大米 40—65 份,酵母提取物 0.5—2.0 份,水 60—85 份,硫酸锌 0.01—1.0 份,自然 pH 值;

[0013] (2) 培养基分装,灭菌:

[0014] 将配制好的培养基分装于罐头瓶中,封口,在 120—130℃ 条件下灭菌 18—30 分钟;

[0015] (3) 冷却,接种:

[0016] 灭完菌后取出培养基,自然冷却至 20℃—30℃,在无菌条件下,接入蛹虫草菌种;

[0017] (4) 培养:

[0018] 将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里,20—30℃ 培养 8—12 天,菌丝充分生长后,转移到 18—20℃、相对湿度 85—95%、每天 11—13 小时散射光条件下培养 50—90 天;

[0019] (5) 采收子实体:

[0020] 将长出的子实体用镊子采出,去掉子实体连接的培养基;

[0021] (6) 烘干,制粒:

[0022] 将子实体置于 50—80℃ 气流干燥箱烘至恒重,粉碎后过 60—120 目筛,乙醇制粒,50—80℃ 干燥,整理装胶囊,用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体胶囊产品。

[0023] 为了进一步实现本发明的目的,所述的步骤 3 中接入的蛹虫草菌种为固体培养的蛹虫草菌种。

[0024] 为了进一步实现本发明的目的,所述的步骤 3 中接入的蛹虫草菌种为蛹虫草液体菌种,该蛹虫草液体菌种通过试管斜面菌种培养和三角瓶液体种子培养而成,具体工艺步骤为:

[0025] 试管斜面菌种培养:

[0026] 配制培养基:其重量比组分为:葡萄糖 1.0%—3.0%,蛋白胨 0.5%—1.0%,酵母提取物 0.1%—1.0%,琼脂粉 1.0%—2.0%,水余量,其 pH 值为 5.0—7.0;将蛹虫草菌种在无菌条件下接入试管斜面,15—30℃ 暗培养 5—10 天;

[0027] 三角瓶液体种子培养:

[0028] 配制培养基:其重量比组分为:葡萄糖 1.0%—3.0%,蛋白胨 0.5%—1.0%,酵母提取物 0.1%—1.0%,水余量,其 pH 值为 5.0—7.0,将配制好的培养基分装入锥形瓶中,封口后在 120—130℃ 条件下灭菌 18—30 分钟,取出培养基,自然冷却至 20℃—30℃,在无菌条件下接入培养后的斜面菌种,15—30℃ 培养 5 天—10 天。

[0029] 本发明同已有技术相比可产生如下积极效果和显著的进步:申请人通过对蛹虫草子实体对锌离子富集规律的研究,了解到蛹虫草子实体的富集锌的能力高,本发明培养周期短,子实体产率高,无污染无废弃物,具有补锌功能。本发明采用特定的培养基以及培养方法培养的富锌蛹虫草子实体,可以增加产品的功效。并且富锌子实体在培养的过程中加入无机锌,通过蛹虫草菌在生长过程中对锌元素的吸收和转化,降低了锌对胃肠道的刺激,使锌能够更高效、更安全地被人体吸收利用。

[0030] 药理实验和临床实验数据表明,蛹虫草每天服用 3g 可以有显著的免疫调节作用。在蛹虫草子实体的培养过程中,采用本发明的培养基不仅原料易得且成本低,而且富锌蛹虫草产率高,达到每百克富锌 8 至 11 克,比天然蛹虫草富锌率高出 8000 至 10000 倍,可以使蛹虫草产品除了发挥虫草本身的药理作用之外,还能起到补充锌的作用。

[0031] 本发明可以通过设计培养基中的锌加入量,控制产品中的锌含量,获得所需要的锌含量的蛹虫草子实体。

#### 具体实施方式:

[0032] 下面对本发明的具体实施方式作详细说明:

[0033] 实施例 1:

[0034] (一) 菌种准备:

[0035] 低温保藏蛹虫草菌种:蛹虫草菌种蛹虫草 5.701,来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

[0036] 蛹虫草液体菌种:按下述工艺步骤培养:

[0037] (1) 试管斜面菌种培养(活化):

[0038] 配制培养基:葡萄糖 10g,蛋白胨 10g,酵母提取物 10g,琼脂粉 10g,水 960g,其 pH 值为 5.0,分装于试管中;将低温保藏菌种在无菌条件下接入试管斜面,15~30℃暗培养 5—10 天。

[0039] (2) 三角瓶液体种子培养:

[0040] 配制培养基:葡萄糖 10g,蛋白胨 10g,酵母提取物 10g,水 970g,其 pH 值为 5.0,将配制好的培养基分装入 500ml 锥形瓶中,每瓶装 200ml,封口后在 120~130℃条件下灭菌 18~30 分钟,取出培养基,自然冷却至 20~30℃;在无菌条件下每瓶接入 10ml—20ml 培养好的试管液体菌种,15~30℃,搅拌转速 120rpm,培养 5 天~10 天。

[0041] (二) 富锌培养基制备:

[0042] 其配方组分按重量份为:大米 40g,酵母提取物 0.5g,水 60g,硫酸锌 0.01g,自然 pH 值;

[0043] (三) 培养基分装,灭菌:

[0044] 将配制好的培养基分装于 500ml 罐头瓶中,食用菌专用封口膜封口,在 120—130℃条件下灭菌 18—30 分钟;

[0045] (四) 冷却,接种:

[0046] 灭完菌后取出培养基,自然冷却至 20℃-30℃,在无菌条件下,接入蛹虫草菌种;每瓶接入 2—10ml 培养好的蛹虫草液体菌种;

[0047] (五) 培养:

[0048] 将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里,20-30℃培养 8-12 天,菌丝充分生长后,转移到 18-20℃、相对湿度 85-95%、每天 11-13 小时散射光条件下培养 50—90 天;

[0049] (六) 采收子实体:

[0050] 将长出的子实体用镊子采出,去掉子实体连接的培养基;

[0051] (七) 烘干,制粒:

[0052] 将子实体置于 50—80℃气流干燥箱烘至恒重,粉碎后过 60—120 目筛,乙醇制粒,50—80℃干燥,整理装胶囊,用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体产品。

[0053] 实施例 2:

[0054] (一) 菌种准备:

[0055] 蛹虫草菌种:蛹虫草 5.701,来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

[0056] (二) 富锌培养基制备:

[0057] 其配方组分按重量份为:大米 65g,酵母提取物 2.0g,水 85g,硫酸锌 1g,自然 pH 值;

[0058] (三) 培养基分装,灭菌:

[0059] 将配制好的培养基分装于 500ml 罐头瓶中,食用菌专用封口膜封口,在 120—130℃条件下灭菌 18—30 分钟;

[0060] (四) 冷却,接种:

[0061] 灭完菌后取出培养基,自然冷却至 20℃ -30℃,在无菌条件下,接入固体培养的蛹虫草菌种;

[0062] (五) 培养:

[0063] 将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里,20-30℃培养 8-12 天,菌丝充分生长后,转移到 18-20℃、相对湿度 85-95%、每天 11-13 小时散射光条件下培养 50—90 天;

[0064] (六) 采收子实体:

[0065] 将长出的子实体用镊子采出,去掉子实体连接的培养基;

[0066] (七) 烘干,制粒:

[0067] 将子实体置于 50—80℃气流干燥箱烘至恒重,粉碎后过 60—120 目筛,乙醇制粒,50—80℃干燥,整理装胶囊,用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体产品。

[0068] 实施例 3:

[0069] (一) 菌种准备:

[0070] 蛹虫草菌种:蛹虫草 5.701,来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

[0071] 蛹虫草液体菌种:按下述工艺步骤培养:

[0072] (1) 试管斜面菌种培养(活化):

[0073] 配制培养基:葡萄糖 20g,蛋白胨 6g,酵母提取物 9g,琼脂粉 15g,水 950g,其 pH 值为 6.0,分装于试管中;将低温保藏菌种在无菌条件下接入试管斜面,15 ~ 30℃暗培养 5—10 天。

[0074] (2) 三角瓶液体种子培养:

[0075] 配制培养基:葡萄糖 20g,蛋白胨 6g,酵母提取物 9g,水 965g,其 pH 值为 6.0,将配制好的培养基分装入 500ml 锥形瓶中,每瓶装 200ml,封口后在 120 ~ 130℃条件下灭菌 18 ~ 30 分钟,取出培养基,自然冷却至 20 ~ 30℃;在无菌条件下每瓶接入 10ml—20ml 培养好的试管液体菌种,15 ~ 30℃,搅拌转速 120rpm,培养 5 天~ 10 天。

[0076] (二) 富锌培养基制备:

[0077] 其配方组分按重量份为:大米 45g,酵母提取物 1.0g,水 65g 份,硫酸锌 0.5g,自然 pH 值;

[0078] (三) 培养基分装, 灭菌:

[0079] 将配制好的培养基分装于 500ml 罐头瓶中, 食用菌专用封口膜封口, 在 120—130℃ 条件下灭菌 18—30 分钟;

[0080] (四) 冷却, 接种:

[0081] 灭完菌后取出培养基, 自然冷却至 20℃ -30℃, 在无菌条件下, 接入蛹虫草菌种; 每瓶接入 2—10ml 培养好的蛹虫草液体菌种;

[0082] (五) 培养:

[0083] 将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里, 20-30℃ 培养 8-12 天, 菌丝充分生长后, 转移到 18-20℃、相对湿度 85-95%、每天 11-13 小时散射光条件下培养 50—90 天;

[0084] (六) 采收子实体:

[0085] 将长出的子实体用镊子采出, 去掉子实体连接的培养基;

[0086] (七) 烘干, 制粒:

[0087] 将子实体置于 50—80℃ 气流干燥箱烘至恒重, 粉碎后过 60—120 目筛, 乙醇制粒, 50—80℃ 干燥, 整理装胶囊, 用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体产品。

[0088] 实施例 4:

[0089] (一) 菌种准备:

[0090] 蛹虫草菌种: 蛹虫草 5. 701, 来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

[0091] (二) 富锌培养基制备:

[0092] 其配方组分按重量份为: 大米 60g, 酵母提取物 1. 5g, 水 80g, 硫酸锌 0. 2g, 自然 pH 值;

[0093] (三) 培养基分装, 灭菌:

[0094] 将配制好的培养基分装于 500ml 罐头瓶中, 食用菌专用封口膜封口, 在 120—130℃ 条件下灭菌 18—30 分钟;

[0095] (四) 冷却, 接种:

[0096] 灭完菌后取出培养基, 自然冷却至 20℃ -30℃, 在无菌条件下, 接入蛹虫草菌种;

[0097] (五) 培养:

[0098] 将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里, 20-30℃ 培养 8-12 天, 菌丝充分生长后, 转移到 18-20℃、相对湿度 85-95%、每天 11-13 小时散射光条件下培养 50—90 天;

[0099] (六) 采收子实体:

[0100] 将长出的子实体用镊子采出, 去掉子实体连接的培养基;

[0101] (七) 烘干, 制粒:

[0102] 将子实体置于 50—80℃ 气流干燥箱烘至恒重, 粉碎后过 60—120 目筛, 乙醇制粒, 50—80℃ 干燥, 整理装胶囊, 用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体产品。

[0103] 实施例 5:

[0104] (一) 菌种准备:

[0105] 低温保藏蛹虫草菌种: 蛹虫草菌种蛹虫草 5. 701, 来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

[0106] 蛹虫草液体菌种 :按下述工艺步骤培养 :

[0107] (1) 试管斜面菌种培养 (活化) :

[0108] 配制培养基 :葡萄糖 30g, 蛋白胨 5g, 酵母提取物 5g, 琼脂粉 20g, 水 940g, 其 pH 值为 7.5, 分装于试管中 ;将低温保藏菌种在无菌条件下接入试管斜面, 15 ~ 30℃ 暗培养 5—10 天。

[0109] (2) 三角瓶液体种子培养 :

[0110] 配制培养基 :葡萄糖 30g, 蛋白胨 5g, 酵母提取物 5g, 水 960g, 其 pH 值为 7.5, 将配制好的培养基分装入 500ml 锥形瓶中, 每瓶装 200ml, 封口后在 120 ~ 130℃ 条件下灭菌 18 ~ 30 分钟, 取出培养基, 自然冷却至 20 ~ 30℃ ;在无菌条件下每瓶接入 10ml—20ml 培养好的试管液体菌种, 15 ~ 30℃, 搅拌转速 120rpm, 培养 5 天~ 10 天。

[0111] (二) 富锌培养基制备 :

[0112] 其配方组分按重量份为 :大米 50g, 酵母提取物 1.5g, 水 70g, 硫酸锌 0.5g, 自然 pH 值 ;

[0113] (三) 培养基分装, 灭菌 :

[0114] 将配制好的培养基分装于 500ml 罐头瓶中, 食用菌专用封口膜封口, 在 120—130℃ 条件下灭菌 18—30 分钟 ;

[0115] (四) 冷却, 接种 :

[0116] 灭完菌后取出培养基, 自然冷却至 20℃ -30℃, 在无菌条件下, 接入蛹虫草菌种 ;每瓶接入 2—10ml 培养好的上述蛹虫草液体菌种 ;

[0117] (五) 培养 :

[0118] 将接好种的富锌蛹虫草培养基置于恒温培养箱里, 20-30℃ 培养 8-12 天, 菌丝充分生长后, 转移到 18-20℃、相对湿度 85-95%、每天 11-13 小时散射光条件下培养 50—90 天 ;

[0119] (六) 采收子实体 :

[0120] 将长出的子实体用镊子采出, 去掉子实体连接的培养基 ;

[0121] (七) 烘干, 制粒 :

[0122] 将子实体置于 50—80℃ 气流干燥箱烘至恒重, 粉碎后过 60—120 目筛, 乙醇制粒, 50—80℃ 干燥, 整理装胶囊, 用钴 60 照射杀菌后包装即得富锌蛹虫草子实体产品。