

# 灵芝菌丝体深层发酵工业化生产的研究

胡焕荣

(河北宝恩生物科技有限公司, 河北 沧州 061000)

**摘 要:** 目的: 采用生物发酵工程技术进行灵芝菌丝体多糖扩大生产; 方法: 利用农副产品(如玉米粉、豆粕粉)作培养基, 在发酵罐中, 根据其控制参数(如接种量、总糖量、还原糖、pH 值、通风量、罐压、温度、生长因子), 进行灵芝菌丝体多糖工业化扩大生产。结果: 经过 20 批容积为  $10\text{m}^3$ , 定容为  $7.5\text{m}^3$  发酵罐正常试验, 生产周期平均为 150h; pH 值从 6.5 降至 3.5; 放罐后灵芝菌丝体经均质和喷雾干燥后其干粉平均每罐重量为 66.1kg, 干粉平均收率为  $8.76\text{kg}/\text{m}^3$ , 干粉中纯多糖含量为  $68.5\text{g}/\text{kg}$ , 每罐纯多糖重量为 4.225kg。镜检菌丝壁上无明显“芽头与锁状联合”, 并有少量菌丝体自溶, 无杂菌。结论: 试验证明本工艺方案是成功的, 是值得推广的新工艺。

**关键词:** 灵芝多糖; 灵芝菌丝体; 生物发酵

Study on Commercial Production from Deep Submerged Fermentation of *Ganoderma lucidum* Mycelia

HU Huan-rong

(Hebei Bonherb Technology Co. Ltd., Cangzhou 061000, China)

**Abstract:** Objective: By bio-fermentation engineering to expand production of *Ganoderma lucidum* polysaccharide. Method: Minor farm products (such as maize powders, soybean powders) were used as culture media, after controlling parameters in fermenter (such as inoculation quantity, total saccharide quantity, pressure of fermenter, temperature and growth factor etc.) to increase production. Result: Twenty normal tests were studied. The volume of every fermenter was  $10\text{m}^3$ , the fermentation liquid  $7.5\text{m}^3$ , the average production cycle 150h and pH reduced from 6.5 to 3.5. After the mycelia fermented, the average weight of dry powders in every fermenter is 66.1kg by spray drying, the average recovery  $8.76\text{kg}/\text{m}^3$ , the content of pure polysaccharide  $68.5\text{g}/\text{kg}$  in the dry powders and the weight of the pure polysaccharide 4.225kg in every fermenter. There was no obvious vgerminate and lock like connection on the mycelia wall. There was a little mycelia dissolved with no other bacteria. Conclusion: It proves that the technology is successful. It is valuable to popularize.

**Key words** *Ganoderma lucidum* polysaccharide; *Ganoderma lucidum* mycelia; bio-fermentation

中图分类号: Q949.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0196-03

近 20 年来, 现代工业发酵生产技术的发展突飞猛进, 人们开始研究利用深层发酵技术来实现大规模生产真菌的产品, 如: 双孢蘑菇、密环菌、猴头菇菌、冬虫夏草菌、灵芝菌等十多种真菌已开始工业化深层发酵生产。事实证明, 利用发酵技术生产真菌, 具有容积大、产量高、生产周期短、无任何污染等特点, 它已成为医药和保健品、化妆品等原料的重要生产方式。

本文主要针对灵芝工业化生产研究。灵芝(*Ganoderma lucidum*)担子菌纲多孔菌科灵芝属植物。灵芝菌主要成分是灵芝多糖, 在我国古代的医药典籍《神农本草经》中, 将其列为中药上品, 现代医药已经证明, 灵芝功效作用可以概括为八个方面: (1) 抗血栓形

成; (2) 增强造血功能; (3) 改善高血脂症; (4) 防止动脉硬化; (5) 调节中枢神经; (6) 提高免疫功能; (7) 具有抗癌、抑制肿瘤作用; (8) 延缓衰老。由此可见, 人类对灵芝的开发利用, 将步入一个全新的阶段, 药食合璧、中西结合, 将使灵芝为人类健康作出新的贡献。

本人经过多年的研究, 从深山野生灵芝(赤芝)中分离出灵芝菌丝体菌种, 其菌丝体干粉中多糖含量达到  $70\text{g}/\text{kg}$  以上(野生灵芝中多糖含量为  $25\sim 30\text{g}/\text{kg}$ ), 它比野生灵芝的多糖含量高两倍以上。经  $1\text{m}^3$  种子罐中试以及 20 批  $10\text{m}^3$  发酵罐扩大生产, 其菌丝体干粉纯多糖含量达到  $60\text{g}/\text{kg}$  以上, 收率为  $8\text{kg}/\text{m}^3$  (与发酵液体积比), 发酵生产周期平均为 150h。针对目前人工种植灵芝生产周期长, 占地大, 产量低, 品质不稳定等缺点, 本工

收稿日期: 2005-04-19

作者简介: 胡焕荣(1963-), 男, 工程师, 研究方向为生物发酵及天然植物的提取与开发。

艺采用生物工程技术(深层发酵法)进行工业化生产,具有生产周期短,占地少,产量高,品质稳定,多糖收率高等特点。本人认为这是一条值得推广的新工艺。

## 1 材料与方法

1.1 灵芝菌种 自制。

1.2 原材料

1.2.1 主要原料 玉米粉、豆粕粉、葡萄糖、酵母膏。

1.2.2 生长因子 维生素B<sub>1</sub>。

1.2.3 矿质元素 磷酸二氢钾、硫酸镁。

1.2.4 其它物质 豆油。

1.3 主要设备

1.3.1 二级种子罐2台,容积1m<sup>3</sup>,定容0.7m<sup>3</sup>,4平叶一档搅拌,转速90r/min。

1.3.2 发酵罐2台,容积10m<sup>3</sup>,定容7.5m<sup>3</sup>,4平叶一档搅拌,转速90r/min。进风口采用环型分布器。

1.3.3 外环循蒸发器2台,蒸发量为500kg/h。

1.3.4 均质机1台。

1.3.5 高速离心喷雾干燥机1台,蒸发量为10kg/h。

1.4 培养基配方和控制条件

1.4.1 二级种子罐和发酵罐配方 玉米粉2%,豆粕粉1.2%,葡萄糖1.5%,酵母膏0.2%,磷酸二氢钾0.12%,硫酸镁0.04%,豆油0.2%,维生素B<sub>1</sub>50mg/L,pH值自然。

1.4.2 二级种子罐和发酵罐控制条件

1.4.2.1 培养基灭菌 罐内空消,蒸汽压力为1.5kg/cm<sup>2</sup>。罐内实消,夹层加热至100℃,直接加热至120℃,蒸汽压力为1kg/cm<sup>2</sup>,保温30min。

1.4.2.2 培养条件 罐内空气压力为0.4~0.5kg/cm<sup>2</sup>,温度为(27±1)℃,通风量为:0.3~0.5(m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>·s)。

1.4.2.3 二级种子质量指标 种龄为44h;pH值从6.0降至3.5;镜检菌丝体长分枝,菌丝壁上易见“芽头与锁状联合”,无杂菌;培养基的菌丝体湿净重为10~15g/100ml,气味清香,菌丝体球多,稍粘稠。

1.4.2.4 发酵罐终止质量指标 生产周期为150h;pH值从6.5降至3.5;镜检菌丝壁上无明显“芽头与锁状联合”,并有少量菌丝体自溶,无杂菌;发酵液的菌丝

体湿净重为73~81g/100ml。

1.4.2.5 外环循蒸发器控制条件 蒸发温度为70℃,真空度为0.08MPa以上。

1.4.2.6 均质控制条件 要求压力150MPa。

1.4.2.7 喷雾干燥控制条件 进风温度为150℃,出风温度为80~90℃。干粉含水量少于9%以下。

1.5 主要工艺流程

斜面菌种→一级摇床种子→二级种子罐菌种

浓缩液均质←外环循蒸发器浓缩←发酵罐扩大培养

↓

高速离心喷雾干燥机干燥→灵芝菌丝体干粉→成品

## 2 结果与讨论

### 2.1 二级种子单罐生产情况

表1 二级种子单罐生产情况

Table 1 The processing parameters in secondary fermenter of *Ganoderma lucidum* mycelia's culture

培养周期(h)	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44
温度(℃)	27	26	27	27	28	28	27	27	27	27	28	28
罐压(kg/cm <sup>2</sup> )	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4
风量(m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ·s)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
pH值	6.0		5.7		5.4		4.8		4.5	4.3	4.0	3.8
湿菌丝量(g/100ml)	3.4		3.7		5.4		7.0		13.5	14	15.8	16.6
总糖(g/100ml)	2.8		2.7		2.6		2.5		2.5		2.4	2.4
还原糖量(g/100ml)	1.5		1.5		1.6		1.7		1.7		1.8	1.8

从二级种子单罐的批报上分析:(1)种龄为44h;(2)pH值从6.0降至3.5;(3)镜检:菌丝体长分枝,菌丝壁上易见“芽头与锁状联合”,无杂菌;(4)培养基的菌丝体湿净重达到13.2g/100ml,(5)气味清香,菌丝体球多,稍粘稠。整个批报数据符合二级种子生产工艺要求。

### 2.2 发酵单罐生产情况

从发酵单罐的批报上分析:(1)生产周期为150h;(2)pH值从6.5降至3.4;(3)镜检:菌丝壁上无明显“芽头与锁状联合”,并有少量菌丝体自溶,无杂菌;(4)发酵液的菌丝体湿净重为77g/100ml。(5)放罐后培养基体积为7.5m<sup>3</sup>,经均质和喷雾干燥后菌丝体干粉重量为65kg,干粉收率为8.67kg/m<sup>3</sup>,干粉中纯多糖含量为65g/kg,纯多糖重量为4.225kg。

表2 发酵单罐生产情况

Table 2 The processing parameters in single fermenter of culture

培养周期(h)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150
温度(℃)	28	28	27	27	28	27	26	27	28	28	27	26	27	28	28	28
罐压(kg/cm <sup>2</sup> )	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
风量(m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ·s)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
pH值	6.0	5.8	5.6	5.2	5.0	4.8	4.7	4.6	4.5	4.3	4.1	3.9	3.7	3.6	3.5	3.4
湿菌量(g/100ml)	4.0	7.0	10	18	23	29	33	37	43	51	56	60	68	78	80	81
总糖(g/100ml)	2.9	2.9	2.8	2.8	2.7	2.6	2.6	2.5	2.5	2.4	2.3	2.3	2.2	2.1	2.0	1.9
还原糖(g/100ml)	1.5	1.8	1.9	1.9	1.9	1.8	1.7	1.7	1.7	1.7	1.6	1.6	1.6	1.5	1.5	1.4

表3 10批发酵生产情况  
Table 3 Production's parameters of ten batches

罐号	pH		罐压 (kg/cm <sup>2</sup> )	温度 (°C)	风量 (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ·h)	干粉收率 (kg/m <sup>3</sup> )	干粉重量 (kg)	纯多糖含量 (g/kg)	纯多糖重量 (kg)	生产周期 (h)
201	6.5	3.4	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.67	65	65	4.23	150
202	6.3	3.5	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.35	63	64	4.03	145
201	6.4	3.6	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.55	64	69	4.42	160
202	6.7	3.5	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	9.05	69	67	4.62	150
201	6.6	3.4	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	9.24	64	70	4.48	165
201	6.4	3.6	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.47	65	71	4.62	140
202	6.3	3.4	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.86	68	75	5.1	155
202	6.3	3.5	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.57	67	63	4.22	150
201	6.6	3.4	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	9.03	69	68	4.69	160
201	6.8	3.7	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.89	67	73	4.89	150
平均	6.5	3.5	0.5	27 ± 1	0.3~0.5	8.76	66.1	68.5	4.53	153

### 2.3 连续20批中选择有代表性的10批发酵生产情况

从表3中10批发酵生产情况可知：生产周期平均为150h；pH值从6.5降至3.5；放罐后灵芝菌丝体经均质和喷雾干燥后其干粉平均每罐重量为66.1kg，干粉平均收率为8.76kg/m<sup>3</sup>，干粉中纯多糖含量为68.5g/kg，每罐纯多糖重量为4.225kg。镜检菌丝壁上无明显“芽头与锁状联合”，并有少量菌丝体自溶，无杂菌。实践证明本工艺方案是成功的，是值得推广的新工艺。

## 3 发酵工艺条件结果分析

3.1 接种量 是整个发酵关键所在，本工艺始终保持在接种量10%。它大大提高了设备的利用率，降低了发酵周期，减少了杂菌污染机会。

### 3.2 营养条件的控制

3.2.1 碳源 本工艺主要采用玉米粉、豆粕粉、葡萄糖，实际生产证明总糖不能超过3.5%，特别是还原糖（葡萄糖）的用量不能超过3%，否则由于浓度过高而溶液渗透压过高，菌丝体中的水份会被吸到溶液中去，造成细胞脱水死亡。一般我们选择总糖量在3%左右，还原糖控制在1.5%左右。

3.2.2 氮源 氮源是灵芝菌丝体主要物质，氮源过少会导致菌丝体生命力较弱，出现菌丝体提前自溶。本工艺除玉米粉、豆粕粉中带入的氮源外，再采用酵母膏补充氮源，实践证明培养基中玉米粉2%，豆粕粉1.2%，葡萄糖1.5%，酵母膏0.2%，碳氮比是最佳的。

3.2.3 生长因子用量的控制 灵芝菌丝体生长中需要一定量维生素类物质，特别是维生素B<sub>1</sub>，它在灵芝生长过程中不能自己合成，必需从外界补充。实践证明在培养基中加入维生素B<sub>1</sub> 50mg/L（培养基），能促使菌丝体生长粗壮。

3.2.4 矿质元素用量的控制 灵芝菌丝体生长需要矿质元素，如铁、镁、磷、钾、钠、铜、锰、钼、铬等。这些元素只有磷是灵芝细胞核的一种主要成分，钾和镁是灵芝生长过程中辅酶主要的激活剂，其它矿质

元素需要量甚微，大多数培养基中都有，实践证明只要加入磷酸二氢钾0.12%，硫酸镁0.04%就能达到灵芝菌丝体的生长要求。

3.2.5 温度的控制 温度是菌丝体中酶反应的必须条件，在高温条件下酶反应快，菌丝体生长也快，但菌丝体容易衰老，不易积蓄多糖。在低温条件下，各种酶反应不协调，菌丝体也就停止生长。实践证明本菌种最佳生长温度为(27 ± 1)℃。

3.2.6 溶解氧的控制 无菌的氧气也是灵芝生长必备的条件，菌丝体深层发酵过程中氧气过多过少都会影响菌丝体生长。而培养基中溶解氧与通风量、罐压、搅拌的转速有关。通风量过大，易导致菌丝体衰老，并增加杂菌带入的机会；罐压过高，二氧化碳的含量增加，抑制灵芝菌丝体生长；搅拌的转速过快，导致菌丝体纤维组织损坏，培养基的稠密度增加，影响氧气在培养基中的溶解度。实践证明：通风量在1: 0.3~0.5m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>·h，罐压0.5kg/cm<sup>2</sup>，转速90r/min左右，灵芝菌丝体生长条件最佳。

3.2.7 pH值的控制 灵芝菌丝体生长过程中要求培养基呈微酸性状态，即pH值为5.5~6.5为最佳。当pH值低于3.5时，菌丝体就停止生长，并产生自溶现象。实际生产过程中培养基采用自然状态时，即pH为5.5~6.5。当菌丝体的pH值降到3.5时，其灵芝菌丝体中多糖含量已达到设计要求，故培养基中不再加入酸碱缓冲剂。

## 4 结 论

经过20批容积为10m<sup>3</sup>，定容为7.5m<sup>3</sup>发酵罐正常试验，生产周期平均为150h；pH值从6.5降至3.5；放罐后灵芝菌丝体经均质和喷雾干燥后其干粉平均每罐重量为66.1kg，干粉平均收率为8.76kg/m<sup>3</sup>，干粉中纯多糖含量为68.5g/kg，每罐纯多糖重量为4.225kg。镜检菌丝壁上无明显“芽头与锁状联合”，并有少量菌丝体自溶，无杂菌。试验证明本工艺方案是成功的，是值得推广的新工艺。