

文章编号:1673-1689(2008)02-0123-04

10 种中药对灵芝液体发酵的影响

刘媛, 丁重阳, 章克昌*, 石贵阳

(食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要: 观察中药对灵芝菌液体发酵过程中生物量和灵芝酸的影响。结果证明金银花、淡豆豉、淡竹叶、连翘和甘草的添加对灵芝菌的生长及发酵液中灵芝酸的产生均有一定促进作用;薄荷、芦根对灵芝菌生长有促进作用,但不能促进发酵液中灵芝酸的产生。

关键词: 灵芝;中药;发酵;灵芝酸

中图分类号: TQ 920.6

文献标识码: A

Effect of 10 Kinds of Chinese Traditional Medicines on Submerged Cultivation of *Ganoderma lucidum*

LIU Yuan, DING Zhong-yang, ZHANG Ke-chang*, SHI Gui-yang

(Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Ten kinds of Chinese traditional medicines were added into the medium for culturing a fungus *Ganoderma lucidum*. The results showed that the mycelial biomass and extracellular ganoderic acid contents increased when *Flos Lonicerae*, *Semen Sojae Preparatum*, *Herba Lophatheri*, *Fructus Forsythiae* and *Radix Glycyrrhizae* were added. There were increases on mycelial biomass but no change on extracellular ganoderic acid contents when *Rhizoma Phragmitis* and *Mentha haplocalyx* were added.

Key words: *Ganoderma lucidum*; Chinese traditional medicine; fermentation; ganoderic acid

灵芝(*Ganoderma lucidum*)是一种珍贵的药用真菌,属于担子菌门,灵芝科,灵芝属。自古以来,灵芝被人们视为“仙草”,具有滋补强壮,扶正固本作用,长期以来被看作珍贵的中药材。

灵芝酸是近年来发现的灵芝中除了多糖和肽类外又一种具有明显药理活性的化合物,有保肝、抑制组胺释放、抑制胆固醇合成、抗过敏、镇痛、止咳祛痰等功效^[1-2]。国内外很多学者都对灵芝酸做

了研究报道^[3-6]。近年来有学者提出了中药发酵制药技术,因此在深层发酵培养基中添加适量的中药,使灵芝菌在代谢过程中可能对中药的一些成分进行转化,而中药的某些成分也可能促进灵芝菌的生长和活性物质产生,从而进一步增强灵芝的功效。但目前的研究多是中药对灵芝菌的生物量及多糖的影响,对发酵代谢产物灵芝酸的影响报道较少^[7-9]。作者研究了 10 种具有消炎功效的中药对

收稿日期:2007-03-31.

作者简介:刘媛(1982-),女,湖北随州人,发酵工程硕士研究生.

* 通讯作者:章克昌(1935-),男,江苏常州人,教授,博导.主要从事生物资源、生物制药的研究.

Email:zhang8586@yeah.net

灵芝菌液体培养的影响,观察中药对灵芝菌生长和代谢产物灵芝酸的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

灵芝(*Ganoderma lucidum*):由江南大学生物工程学院生物资源实验室筛选保藏。

斜面保藏培养基成分:PDA。

种子培养基成分(g/L):玉米粉 20,麸皮 10,豆饼粉 10,葡萄糖 20, KH_2PO_4 1.5, MgSO_4 1; 自然 pH。

发酵基础培养基成分(g/L):玉米粉 15,麸皮 10,豆饼粉 5,葡萄糖 20, KH_2PO_4 1.5; 自然 pH。

中药材:金银花,连翘,桔梗,甘草,牛蒡子,荆芥,淡竹叶,淡豆豉,芦根,薄荷; 购自无锡山禾药店,粉碎后过 60 目筛备用。

1.2 方法

1.2.1 灵芝一级种子培养 250 mL 的三角瓶,装液量 80 mL,接种 2~3 块 5 mm×5 mm 大小的斜面菌块,于旋转式摇床培养。培养条件为:30 ℃, 150 r/min 培养 7 d。

1.2.2 灵芝发酵培养 在发酵基础培养基中加入中药固体粉末。培养条件:250 mL 的三角瓶,装液量为 80 mL,液体菌种接种量为体积分数 8%,培养温度 30 ℃,转速 150 r/min,培养 4~6 d。

1.2.3 生物量的计算 取发酵液测体积 V , 3 000 r/min 离心 20 min,沉淀用自来水洗涤多次,收集菌丝体,60 ℃烘干至恒重,称重计算生物量。

$$\text{生物量}/(\text{g/L}) = \text{DCW} \times 1\,000 / V$$

式中 DCW 为细胞干重(g); V 为发酵液体积(mL)。

1.2.4 胞外灵芝酸的测定 按参考文献[10]的方法进行测定。

2 结果与分析

2.1 中药对生物量的影响

2.1.1 不同中药对灵芝菌生物量的影响 培养基中分别加入 10 种不同中药,中药添加量相同,接种培养后所得生物量如表 1 所示,其中的对照样为不添加中药的发酵培养结果,其他条件相同。从表 1 可见,加桔梗、淡豆豉、牛蒡子和荆芥样品的生物量比对照样高得多,说明这些中药对灵芝的菌丝生长可能有一定的促进作用;加连翘、甘草和金银花的样品生物量比对照样低得多,说明这些中药对灵芝菌的生长可能存在抑制作用;加薄荷、芦根和淡竹

叶样品的生物量比对照样略高,说明这些中药可能不影响灵芝菌的生长。

表 1 中药对生物量的影响

Tab. 1 Effect of Chinese traditional medicine on the mycelial biomass

中药名称	添加量/(g/L)	生物量/(g/L)
对照	0	6.4
连翘	5	5.7
桔梗	5	9.1
金银花	5	2.6
甘草	5	5.9
淡豆豉	5	8.9
牛蒡子	5	9.7
荆芥	5	8.5
薄荷	5	7.5
芦根	5	6.7
淡竹叶	5	7.2

2.1.2 中药添加量的影响 在发酵基础培养基相同的条件下,改变中药添加量,灵芝的生物量也受到影。结果如图 1-3 所示。

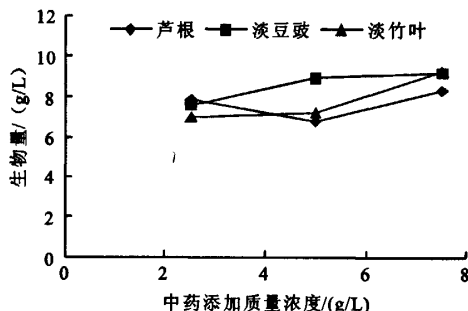


图 1 芦根,淡竹叶和淡豆豉对菌丝生物量的影响

Fig. 1 Effect of *Rhizoma Phragmitis*, *Herba Lorophatheri* and *Semen Sojae Preparatum* on the mycelial biomass

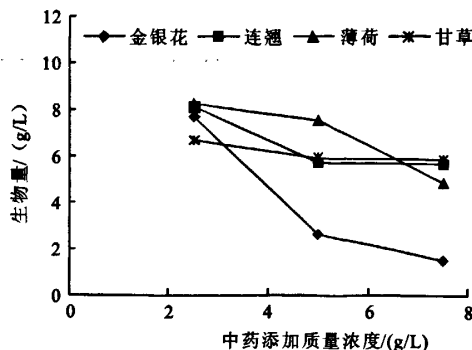


图 2 金银花,连翘,薄荷和甘草对菌丝生物量的影响

Fig. 2 Effect of *Flos Lonicerae*, *Fructus Forsythiae*, *Mentha haplocalyx* and *Radix Glycyrrhizae* on the mycelial biomass

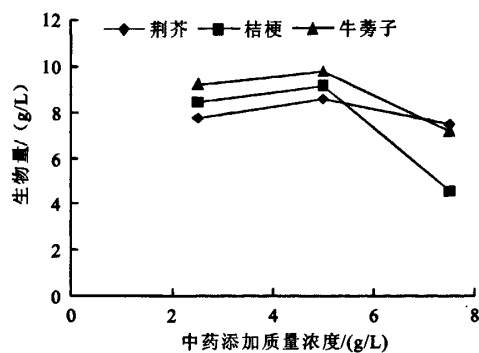


图 3 荆芥,桔梗和牛蒡子对菌丝生物量的影响
Fig.3 Effect of *Herba Schizonepetae*, *Radix Platycodi* and *Fructus Arctii* on the mycelial biomass

从图 1 可见,淡竹叶和淡豆豉两味中药表现出对灵芝菌生物量的促进作用的现象,随着中药添加量的增加生物量也相应增加。说明这两味中药的加入有利于灵芝菌的生长。这种促进作用,可能是由于中药提供了额外的营养,也可能由于中药中的某些成分对灵芝菌的生长起了刺激作用。加芦根的样品生物量随着中药量的增加表现为先减少后增加,但生物量的绝对值比不加中药的对照样高。说明芦根对灵芝菌的生长可能同时存在促进因子和抑制因子,促进因子使生物量比对照样的大,抑制因子则会使生物量有所下降。

由图 2 可见,加金银花、连翘、薄荷和甘草的样品生物量随着中药量的增加而减少,但在较小中药添加量情况下加这 4 味中药的样品生物量比对照样高。说明它们在较小添加量下对灵芝菌的生长起促进作用。金银花和甘草在 3 g/L 的添加量下不会抑制灵芝菌丝的生长;连翘在 4 g/L 的添加量,薄荷在 6 g/L 的添加量下均不会抑制灵芝菌丝的生长。

由图 3 可见,加桔梗、荆芥、牛蒡子的样品生物量随着中药量的增加表现为先增加后减少。说明这 3 味中药在一定的用量下对灵芝菌的生长有促进作用,而超过这个用量反而会对灵芝菌的生长起抑制作用。

2.2 中药对灵芝酸含量的影响

不同中药种类及添加量对灵芝菌在液体培养条件下产生胞外灵芝酸含量的影响结果见表 2。

从表 2 可见,芦根、桔梗、荆芥 3 味中药的添加没有增加发酵液中灵芝酸的含量,随着中药添加量的增加,灵芝酸含量的数值虽然有所增加,但很可能是中药本身的三萜类物质起作用。薄荷、牛蒡子的添加使得发酵液中的灵芝酸含量绝对值比对照样高,随着中药添加量的增加,灵芝酸含量表现为先减少后增加,说明较小的中药添加量可能会提高

灵芝发酵液中的灵芝酸含量。添加金银花、连翘和淡竹叶的灵芝菌发酵液中的灵芝酸含量比对照样明显增加,随着中药添加量的增加而增加,说明这 3 种中药对灵芝发酵产生灵芝酸可能有促进作用,也可能是中药本身三萜类物质起作用。加淡豆豉和甘草的灵芝发酵液中灵芝酸含量绝对值高于对照样,说明这两种中药的添加可能影响了灵芝发酵的代谢产物的产生,提高了灵芝酸的产生。随着中药添加量的增加,灵芝酸含量表现为先增加后减少,说明这两种中药的添加对灵芝酸含量的增加不是由于中药本身的三萜类物质带来的,它们对灵芝菌液体发酵产生灵芝酸有促进作用。

表 2 中药对胞外灵芝酸的影响
Tab. 2 Effect of Chinese traditional medicine on extracellular ganoderic acid contents

中药名称	中药添加量/ (g/L)	胞外灵芝酸产量/ (g/L)
对照样	0	0.212
芦根	2.5	0.204
	5	0.237
	7.5	0.250
金银花	2.5	0.310
	5	0.420
	7.5	0.476
桔梗	2.5	0.206
	5	0.232
	7.5	0.228
薄荷	2.5	0.240
	5	0.229
	7.5	0.262
淡竹叶	2.5	0.266
	5	0.290
	7.5	0.318
淡豆豉	2.5	0.279
	5	0.289
	7.5	0.282
荆芥	2.5	0.202
	5	0.230
	7.5	0.220
连翘	2.5	0.273
	5	0.298
	7.5	0.306
甘草	2.5	0.292
	5	0.335
	7.5	0.298
牛蒡子	2.5	0.262
	5	0.244
	7.5	0.274

3 结 语

研究表明,淡豆豉、淡竹叶和芦根中药的添加对液体发酵灵芝菌的生长起促进作用,且灵芝菌生物量随着中药添加量的增加而增加;桔梗、牛蒡子和荆芥在一定添加量范围内对灵芝菌的生长起促进作用,超过定范围反而会抑制灵芝菌的生长;金银花、薄荷、甘草和连翘4味中药在较小添加量时对灵芝菌生长起促进作用,这有利于增加灵芝发酵液的药用价值并减少中药用量。芦根、桔

梗、荆芥的添加对发酵液中灵芝酸含量没有大的影响;金银花、淡竹叶和连翘的添加可能会提高灵芝发酵液中灵芝酸含量,但也可能是由于中药本身的三萜类物质起作用,这还有待于液相分析确定;薄荷、牛蒡子在较小添加量下可以稍微提高灵芝发酵液中灵芝酸含量;淡豆豉、甘草在一定的添加量内对发酵液中灵芝酸的产生起促进作用,这将为灵芝发酵类产品的研究开发提供一定的依据。中药对灵芝代谢产物产生的影响也可能对灵芝发酵液的疗效产生某些影响,对此将另作报道。

参考文献(References):

- [1] Lin Z B, Li C H, Lee S S, et al. Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest[J]. *Life Sci*, 2003, 72:2381-2390.
- [2] Hajjaj H, Mace C, Robert M, et al. Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71:3653-3658.
- [3] Hirota M, Ino C. Studies on the metabolites of higher fungi ganoderic acids T, S and R newtriterpenoids from the cultured mycelia of *Ganoderma lucidum*[J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(5):2282-2286.
- [4] 陈若芸, 于德泉. 灵芝三萜化学成分研究进展[J]. *药学报*, 1990, 25(12): 940-953.
CHEN Ruo-yun, YU De-quan. Advances of researches on triterpene constituents of *ganoderma lucidum*[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 1990, 25(12):940-953. (in Chinese)
- [5] 王芳生, 蔡辉, 杨峻山, 等. 赤芝子实体中灵芝酸类成分的研究[J]. *药学报*, 1997, 32(6): 447-450.
WANG Fang-sheng, CAI Hui, YANG jun-shan, et al. Studies on the ganoderic acid, a new constituents from the fruiting body of *Ganoderma lucidum*(FR.) karst[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 1997, 32(6): 447-450. (in Chinese)
- [6] 李平作, 章克昌. 灵芝发酵菌丝体中灵芝酸的分离纯化及生物活性检测[J]. *天然产物研究与开发*. 1999, 11(4): 67-70.
LI Ping-zuo, ZHANG Ke-chang. Isolation, purification and anti-microbial activity of ganoderic acids M1 from the fermented mycelia of *Ganoderma lucidum*[J]. *Natural Product Research and Development*, 1999, 11(4): 67-70. (in Chinese)
- [7] 李雁群, 章克昌. 12味中药对灵芝菌液体培养的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2003, 29(3): 38-40.
LI Yan-qun, ZHANG Ke-chang. The effect of 12 kinds of chinese traditional medicines on submerged cultivation of *ganoderma lucidum*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2003, 29(3): 38-40. (in Chinese)
- [8] 王林, 章克昌, 王玉红. 五味中药对灵芝菌液体发酵过程的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2004, 30(5): 46-47.
WANG Lin, ZHANG Ke-chang. The effect of chinese traditional medicines on submerged fermentation of *ganoderma lucidum*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2004, 30(5): 46-47. (in Chinese)
- [9] 王玉红, 丁重阳, 章克昌. 苦荞对灵芝发酵生产灵芝酸的影响[J]. *食品与发酵工业*. 2002, 29(9): 95-97.
WANG Yu-hong, DING Zhong-yang, ZHANG Ke-chang. The effect of bitter buckwheat on ganoderic acid in *ganoderma lucidum* fermentation[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2002, 29(9): 95-97. (in Chinese)
- [10] 钱竹. 灵芝酸液体发酵及其分离纯化的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006.

(责任编辑: 杨 萌)