

文章编号:1673-1689(2009)02-0272-04

粪鬼伞菌丝体提取液的抗菌活性

王磊, 邱芳萍*, 王志兵, 解耸林, 田文莹

(长春工业大学 生物工程学院, 吉林 长春 130012)

摘要: 以深层发酵得到的粪鬼伞菌丝体为原料, 分别用水和80%的乙醇溶液进行超声波浸提, 对浸提液进行体外抗菌实验, 然后用与总糖浓度相同的多糖溶液和水提液对比进行抗菌试验。结果表明, 水提液对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度(MIC)为3.2 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌的MIC为1.6 mg/mL; 对大肠杆菌的最低杀菌浓度(MBC)为12.5 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的MBC为25 mg/mL; 对青霉和黑曲霉没有作用; 醇提液对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的MIC为50 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌、青霉和黑曲霉没有作用; 总糖质量浓度相同的多糖溶液和水提液具有等效的抑菌和杀菌能力。因此, 粪鬼伞多糖就是水提液中的主要抗菌活性物质。

关键词: 粪鬼伞; 菌丝体; 提取液; 抗菌活性; 多糖

中图分类号: TQ 920.1

文献标识码: A

Study on the Antibacterial Activity of Extracts from the Mycelium of Submerged-Cultured *Coprinus sterquilinus* Fr.

WANG Lei, QIU Fang-ping*, WANG Zhi-bing, XIE Song-lin, Tian Wen-ying

(College of Biological Engineering, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China)

Abstract: The antibacterial effects of the extracts from the submerged-cultured mycelium of *Coprinus sterquilinus* Fr were studied. The extracts were prepared in water and 80% ethanol respectively. 10.01 mg/mL polysaccharide solvent, which had the same concentration of sugar with the 5% water extract, both of them were tested their antibacterial activity. The water extracts of *Coprinus sterquilinus* Fr. mycelium showed high antibacterial effect than that of ethanol extracts. The MIC_{water extract} was 3.2 mg/mL for *E. coli* and *B. subtilis*, 1.6 mg/mL for *S. aureus*. The MIC_{ethanol extract} was 50 mg/mL for *E. coli* and *B. subtilis*. The MBC_{water extract} was 25 mg/mL for *B. subtilis* and *S. aureus*, 12.5 mg/mL for *E. coli* respectively. The water and ethanol extracts had no significant antibacterial effect on fungi. Polysaccharide solvent and water extract of the same concentration had the similar bactericidal capability. The results present here demonstrated that polysaccharide was the main antibacterial active substance of the water extract from the *Coprinus sterquilinus* Fr. mycelium.

Key words: *Coprinus sterquilinus* Fr., mycelium, extracts, antibacterial activity, polysaccharide

收稿日期: 2008-04-15

基金项目: 吉林省教育厅科技计划项目(200660)。

* 通讯作者: 邱芳萍(1955-), 女, 吉林长春人, 理学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事生物化学与分子生物学方面的研究。

Email: qfp2004@126.com

粪鬼伞(*Coprinus sterquilinus* Fr.),中文俗名粪生鬼伞,属担子菌亚门,层菌纲,伞菌目,鬼伞科,鬼伞属。幼嫩时可以食用,成熟后菌盖自溶成墨汁状,可药用,能益肠胃,化痰理气、解毒、消肿,经常食用有助于消化和治疗痔疮。春、秋季节于粪堆上散生或群生,分布于我国河北、江苏、台湾、广西、云南和东北等地区^[1]。

大量研究表明,包括药食用真菌在内的一些中药材提取物具有一定的抗菌能力^[2-4],而对其中的抗菌成分则很少报道,对香菇、灵芝和云芝等药食用真菌的研究很多,而国内外未见对粪鬼伞的研究报道,因此作者研究了粪鬼伞菌丝体提取液的抗菌活性。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 粪鬼伞菌丝体 由长春工业大学功能食品与生物技术研究所以筛选、保存的菌种,经深层发酵培养得到的菌丝体。

1.1.2 供试菌种 大肠杆菌(*E. coli*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、青霉(*P. sp*)、黑曲霉(*A. niger*),均由吉林大学生命科学学院提供。

1.1.3 培养基

- 1) 霉菌用培养基:马铃薯培养基(PDA);
- 2) 细菌用培养基:LB(Luria-Bertani)培养基。

1.2 实验方法

1.2.1 醇提液的制备 菌丝体冻干粉 10.0 g,加入溶剂 200 mL,处理后的提取液含生药量 0.05 g/mL,定义质量浓度为 5 g/dL,醇提液制备流程见图 1。

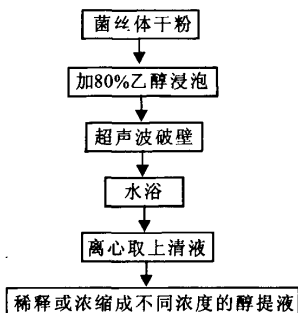


图1 醇提液制备的流程

Fig. 1 Preparation process of ethanol extracts

1.2.2 水提液与粗多糖的制备 水提液及粗多糖的制备流程见图 2。

1.2.3 供试菌液的制备 供试菌种经活化后,采用血细胞计数板法制得浓度为 $10^5 \sim 10^7$ CFU/mL

(霉菌用孢子)的菌悬液。

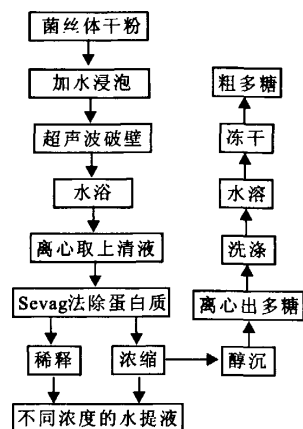


图2 水提液及粗多糖制备的流程

Fig. 2 Preparation process of water extracts and polysaccharide

1.2.4 管碟法测定最低抑制浓度(MIC)和最低杀菌浓度^[3](MBC) 采用 50、40、30、20、10、5、2.5、1.25、0.63、0.33、0.16 g/dL 共计 11 个质量浓度的水提液和醇提液,用来测定各种供试菌种的 MIC 和 MBC。

1.2.5 多糖的质量浓度测定 苯酚-硫酸法^[5]测定多糖冻干品及 5 g/dL 水提液中多糖的质量浓度。

1.2.6 粪鬼伞粗多糖抗菌活性的研究 抗菌活性的追踪是以金黄色葡萄球菌和大肠杆菌两种为指示菌,同样采用管碟法,将得到的粪鬼伞多糖配成与 5 g/dL 水提液总糖质量浓度相等的水溶液,二者对比进行抑菌试验。

2 结果与讨论

2.1 MIC 的测定

由表 1 可知,粪鬼伞菌丝体水提液对供试细菌有很明显的抑菌效果,对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的 MIC 均为 0.32% (相当于生药量 3.2 mg/mL),对金黄色葡萄球菌的 MIC 均为 0.16% (相当于生药量 1.6 mg/mL),而对供试霉菌没有明显抑制作用。由表 2 可知,粪鬼伞菌丝体醇提液对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌有一定的抑菌效果, MIC 均为 5% (相当于生药量 50 mg/mL),而对金黄色葡萄球菌和霉菌没有明显的抑制作用。

因为粪鬼伞属于担子菌纲伞菌目真菌,而青霉和黑曲霉属于子囊菌纲曲霉目真菌,可能由于二者亲缘关系较近,所以,粪鬼伞菌丝体提取液对青霉和黑曲霉没有明显的抑制作用。

表1 粪鬼伞菌丝体水提液对各供试菌种的抑菌能力

Tab.1 Inhibition capability of water extracts

抑菌圈直径/mm

供试菌种	质量浓度/(g/dL)										
	0.16	0.32	0.63	1.25	2.5	5	10	20	30	40	50
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	—	9.1	10.9	12.5	13.1	15.2	17.2	17.9	18.9	19.4	20.3
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	—	9.8	11.2	12.7	13.5	16.0	17.2	17.5	18.9	19.3	20.1
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	10.1	11.5	12.2	15.2	16.5	18.5	19.6	20.0	20.3	21.1	22.1
青霉 <i>P. sp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
黑曲霉 <i>A. niger</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注：“—”表明无明显抑制作用。

表2 粪鬼伞菌丝体醇提液对各供试菌种的抑菌能力

Tab.2 Inhibition ability of ethanol extracts

抑菌圈直径/mm

供试菌种	质量浓度/(g/dL)										
	0.16	0.32	0.63	1.25	2.5	5	10	20	30	40	50
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	—	—	—	—	—	8.5	8.9	9.3	9.5	9.6	9.8
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	—	—	—	—	—	9.1	10.3	11.5	11.7	12.1	12.4
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
青霉 <i>P. sp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
黑曲霉 <i>A. niger</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注：“—”表明无明显抑制作用。

2.2 MBC的测定

粪鬼伞菌丝体水提液能将实验用的细菌杀灭,最低杀菌浓度见表3。而粪鬼伞菌丝体醇提液就不具备将供试菌种杀灭的作用,只能起到一定的抑菌效果。

表3 粪鬼伞菌丝体水提液对部分供试菌种的MBC

Tab.3 MBC Water Extract for part of the testing stains

杀灭菌种	最低杀菌浓度(MBC)/(g/dL)
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	1.25
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	2.5
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	2.5

粪鬼伞菌丝体醇提取物,无论从抑菌的种类还是MIC和MBC而言,都不及水提物的抑菌效果好,这说明水配以超声波能很好地提取粪鬼伞菌丝体中的抗菌活性物质。

2.3 总糖含量测定

测定5 g/dL粪鬼伞菌丝体水提液的总糖质量浓度为6.84 mg/mL,粗多糖冻干品的总糖质量分数为682.30 mg/g。故与5 g/dL水提液中总糖质

量浓度相同的粗多糖溶液为10.01 mg/mL。

2.4 粪鬼伞粗多糖的抗菌活性

10.01 mg/mL粪鬼伞粗多糖溶液,以5 g/dL粪鬼伞菌丝体水提液为阳性对照,二者总糖质量浓度相等,以蒸馏水为空白对照,见表4。

表4 粪鬼伞粗多糖溶液与粪鬼伞菌丝体水提液的抗菌活性比较

Tab.4 Comparison of inhibition and bactericidal capability between polysaccharide solvent and water extract

	24 h 抑菌圈直径/mm		48 h 杀菌能力	
	多糖溶液	水提液	多糖溶液	水提液
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	17.9	18.1	++	++
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	16.8	17.5	++	++

3 结论

粪鬼伞菌丝体水提液和醇提液都有不同程度的抗菌活性。其中水提液对杆菌和球菌都有很强的抑制作用,水提液对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的

MIC 为 3.2 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 1.6 mg/mL; 对大肠杆菌 MBC 为 12.5 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌 MBC 为 25 mg/mL。而醇提液的抑菌效果就没有水提液的明显, 对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的 MIC 为 0.05 g/mL, 对金黄色葡萄球菌没有抑制效果。粪鬼伞菌丝体水提液和醇提液对青霉和黑曲霉都没有的抑制

作用。

冻干得到的粗多糖的质量分数为 682.30 mg/g。用与总糖质量浓度相同的 10.01 mg/mL 粗多糖溶液和 5 g/dL 粪鬼伞菌丝体水提液, 进行抗菌活性比较试验, 结果表明: 两者抑菌和杀菌能力相近, 可见粪鬼伞多糖即为水提液中主要的抗菌活性物质。

参考文献(References):

- [1] 黄年来. 中国大型真菌原色图鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 166.
- [2] Shan B, Cai Yi-zhong, Brooks J D, et al. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007(117): 112-119.
- [3] 买合布白·阿不都热依木, 古丽斯玛依·艾拜都拉, 艾克白尔·买买提, 等. 心草水提液和醇提液抑菌作用初步研究[J]. *食品科学*, 2006(12): 198-200.
MAHBUBA Abdureyim, GULSUMAY Abaidulla, AKBAR Mamat, et al. Preliminary study on the antibacterial of PWE and PAE from *Pleurosporum lindleyanum*[J]. *Food Science*, 2006(12): 198-200. (in Chinese)
- [4] Ye Zh Q, Lin Y X. The primary study on the antibacterial activity of the blazei agaricus[J]. *Journal of Food Science*, 2001(4): 82-84.
- [5] 张珏, 张志才, 王玉红, 等. 灵芝菌丝体碱提水溶性多糖工艺条件及对羟自由基的清除作用[J]. *食品与生物技术学报*, 2005(3): 98-100.
ZHANG Jue, ZHANG Zhi-cai, WANG Yu-hong, et al. Studies on water soluble polysaccharides from the mycelia of *Ganoderma lucidum* by alkaline extraction [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005(3): 98-100. (in Chinese)

(责任编辑: 李春丽)

《江南大学学报(自然科学版)》 征稿、征订启事

《江南大学学报(自然科学版)》(双月刊)是由教育部主管、江南大学(国家“211工程”重点建设高校)主办的自然科学类学术期刊。本刊主要刊载通信与控制工程、信息工程、机械工程、产品系统设计理论、纺织工程、应用化学、材料工程、土木工程、数理科学等学科的学术论文、研究报告, 以及反映学科前沿研究动态的高质量综述。

本刊优先刊登国家自然科学基金和省部级及其以上科研项目析出论文, 同时发表与企业及生产实际密切相关的实用性研究成果。热忱欢迎广大高校教学、科研人员及相关领域的专家、学者, 在读硕士、博士研究生赐稿。

本刊为 A4 开本, 128 页, 每册订价 8.00 元; 全年共 6 期, 48.00 元; 本刊邮发代号: 28-189, 全国各地邮局均可订阅, 亦可向本刊编辑部直接订购。本刊可破季订阅。热忱欢迎广大读者订阅本刊。

邮编: 214122

电子邮箱: xbzrkx@jiangnan.edu.cn

地址: 江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号

电话: 0510-85913519

《江南大学学报(自然科学版)》编辑部