

文章编号:1673-1689(2009)05-0705-04

竹黄发酵菌丝与竹黄子座成分比较分析

梁晓辉^{1,2}, 蔡宇杰^{1,2}, 廖祥儒^{*1,2}, 魏兆媛^{1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 对一株产萆薢类色素的竹黄无性株 *Shiraia* sp. SUPER-H168 以及竹黄子座的化学成分进行了对比分析, 包括常规成分、总氨基酸、脂肪酸、无机元素、生物活性成分等。结果表明: 二者的竹红菌素质量分数(4.23 mg/g, 3.58 mg/g)接近, 优势脂肪酸均为不饱和脂肪酸; 其他指标差别比较大。

关键词: 子座; 竹黄无性株 *Shiraia* sp. SUPER-H168; 成分

中图分类号: R 915; R 917

文献标识码: A

Analysis of the Chemical Compositions of *Shiraia* sp. SUPER-H168 Fermented Mycelia and the Stromata of *Shiraia bambusicola*

LIANG Xiao-hui^{1,2}, CAI Yu-jie^{1,2}, LIAO Xiang-ru^{*1,2}, WEI Zhao-yuan^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;
2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In this manuscript, the content of the basic components, amino acids, fatty acids, inorganic metal ions and bioactive ingredients in the *Shiraia* sp. SUPER-H168 mycelia and the stromata were determined and compared. The results indicated the contents of total hypocrellins (4.23 mg/g and 3.58 mg/g respectively) in *Shiraia* sp. SUPER-H168 mycelia were identical to that of the stromata. The superior fatty acids were unsaturated fatty acid in *Shiraia* sp. SUPER-H168 mycelia and the stromata. However, for the other components, a great difference between *Shiraia* sp. SUPER-H168 mycelia and the stromata was detected.

Key words: stromata, *Shiraia* sp. SUPER-H168, composition

竹黄(*Shiraia bambusicola*)又名赤团子、苦竹花、竹花、竹三七、赤竹团子、竹茧、竹参、竹三七、血三七等^[1], 为药用真菌竹黄的子座。该菌隶属于子囊菌亚门, 核菌纲, 球壳目, 肉座菌科, 竹黄属^[2]; 亦有学者认为竹黄属应归于假球壳目, Phaeosphaeriaceae 科^[3]。竹黄主要寄主为箭竹属(*Fargesia*

sp.)和短穗竹属(*Brachystachyum* sp.)植物, 主要分布在江西、浙江、江苏、湖北、湖南、安徽、贵州、福建和云南等我国南方各省, 以及亚洲的日本^[4]。竹黄的药用价值主要体现在抗炎、镇痛、抗菌、抗肿瘤及抗毒副作用等方面。其主要功能性成分为竹红菌素, 包括竹红菌甲素(hypocrellin A, HA)和竹红

收稿日期: 2008-10-27

基金项目: 江南大学人才引进基金项目(006626)。

作者简介: 梁晓辉(1978-), 男, 河北无极人, 发酵工程博士研究生, 主要从事竹黄及竹红菌素发酵研究。

* 通讯作者: 廖祥儒(1964-), 男, 江西南康人, 理学博士, 教授, 博士生导师。主要从事生物转化与生物催化研究。

菌乙素(hypocrellin B, HB),具有消炎、杀菌、抗癌、抑制 HIV- I 型病毒等功效。目前竹红菌素在临床上用于治疗外阴白色病变,软化疤痕疙瘩(肥厚性瘢痕),光疗皮肤淀粉样苔藓、牛皮癣、头癣等皮肤病,以及白癜风的治疗。此外,竹红菌素还可以制成新型的光敏杀虫剂和杀菌剂,是很具有潜力的光活化农药^[5]。

由于竹黄子座天然产量有限,故人们开始用分离的竹黄菌株进行人工发酵来生产其菌丝体和竹红菌素,但目前尚未取得突破性进展。在之前的研究中,作者筛选到一株产花靛类色素的竹黄无性株 *Shiraia* sp. SUPER-H168^[6]。作者以天然竹黄子座作为对比,对竹黄无性株 *Shiraia* sp. SUPER-H168 的化学成分进行了较为全面的分析,以期为人工发酵竹黄菌丝替代天然子座提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

竹黄无性株 SUPER-H168,作者所在实验室保藏。竹黄子座采于无锡马山。

1.2 培养基

1.2.1 斜面培养基(g/L) 土豆汁 200,葡萄糖 20,琼脂 20; pH 自然。

1.2.2 发酵培养基(g/L) 葡萄糖 27,酵母膏 3, K₂HPO₄ 1, MgSO₄ · 7H₂O 0.5, KCl 0.5, FeSO₄ · 7H₂O 0.01;调 pH 至 6.0。

1.3 主要仪器

Waters 2690 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司制造; UV- 3000 型紫外可见分光光度计,日本日立公司制;旋转蒸发仪,上海青浦沪西分析仪器厂制; Agilent 1100 型氨基酸自动分析仪,美国 Agilent 公司制; PE/3030 型原子吸收分光光度计,美国 PE 公司制;岛津 GC201 型气相色谱仪,日本

岛津公司制。

1.4 方法

1.4.1 样品的制备 将无菌水(含质量分数 0.1% Tween 80)倒入经活化过的平板上,制成孢子悬液(1×10⁶个/mL),取 5 mL 孢子悬液接入装液量为 45 mL/250 mL 的三角瓶中。于温度 30 ℃,转速 200 r/min 的摇床内培养 3 d,获得红色粘稠菌体发酵液,过滤后收集其菌体,烘干至恒重,研成粉末并过 60 目分样筛后备用。竹黄子座烘至恒重后亦按上述方法处理。

1.4.2 常规成分分析 水分:105 ℃干燥法;灰分:灼烧法;粗脂肪:索氏抽提法;粗蛋白:凯氏定氮法;粗纤维:重量法;还原糖:DNS 法。上述指标测定按文献[7]进行。

1.4.3 总氨基酸分析 采用氨基酸自动分析仪测定。因被酸水解,色氨酸未能检出。

1.4.4 脂肪酸成分分析 按参考文献[8]的方法,采用气相色谱法。

1.4.5 无机元素分析 采用火焰原子吸收法测定。

1.4.6 竹红菌素含量测定 竹红菌素总量按照文献[9]测定。

1.4.7 甘露醇含量测定 参考药典 2005 版测定。

1.4.8 麦角固醇含量测定 按照文献[10]所提供的方法进行。

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 常规成分分析 由表 1 可见,发酵菌丝中的水分、粗脂肪、粗纤维、粗蛋白的质量分数低于天然子座的,而粗灰分、还原糖质量分数则高于子座的,其中还原糖约是子座的 5 倍。

表 1 发酵菌丝及天然子座中常规成分分析

Tab. 1 Conventional components of the fermentation mycelia and the stromata

样品	常规成分质量分数指标/%					
	粗灰分	粗脂肪	水分	粗纤维	还原糖	粗蛋白
子座	3.06	10.80	9.18	13.84	2.21	29.25
发酵菌丝	5.16	4.24	8.96	9.72	11.94	13.78

2.1.2 总氨基酸分析结果 竹黄发酵菌丝中氨基酸测定结果及其与天然子座的相应成分的比较如表 2 所示。分析结果表明,二者的氨基酸种类一致,但含量差别很大。总而言之,菌丝体中各个种类氨基酸含量均低于天然竹黄子座的,子座的氨基

酸总量为菌丝体的 2.84 倍。

2.1.3 脂肪酸分析结果 脂肪酸的分析结果如表 3 所示。可以看出,发酵菌丝和天然子座各脂肪酸种类之间的相对含量有所不同。其中,菌丝体的硬脂酸、油酸的相对含量明显高于天然子座的,而肉

豆蔻酸、亚麻酸、亚油酸的相对含量与天然子座的接近;棕榈酸、棕榈油酸的相对含量明显低于天然子座的。另外,在发酵菌丝中还检测到了十四烯酸,而天然子座中未能检测到。

表 2 发酵菌丝和竹黄子座总氨基酸质量分数分析

Tab.2 The total amino acid content of the fermentation mycelia and the stromata

名称	氨基酸质量分数/(mg/g)	
	竹黄子座	发酵菌丝
Asp	10.92	3.43
Glu	11.59	3.66
Ser	5.94	1.98
His	2.13	0.56
Gly	5.02	1.37
Thr	5.57	1.81
Arg	5.29	4.34
Ala	6.81	2.45
Tyr	3.40	0.89
Cys-s	0.36	0.02
Val	4.98	1.92
Met	0.67	0.31
Phe	3.92	1.30
Ile	4.16	1.41
Leu	7.13	2.13
Lys	4.71	1.75
Pro	3.36	1.33
合计	85.96	30.66

表 3 发酵菌丝和天然子座的脂肪酸相对含量分析

Tab.3 The fatty acid content of the fermentation mycelia and the stromata

名称	脂肪酸相对含量/%	
	天然子座	发酵菌丝
棕榈酸	22.45	15.89
棕榈油酸	2.27	0.56
硬脂酸	4.89	7.16
油酸	25.16	30.75
亚油酸	41.92	41.85
亚麻酸	0.98	1.21
十四烯酸	—	0.054
肉豆蔻酸	0.13	0.16

注:“—”表示未检出

2.1.4 无机元素分析结果 无机元素的分析结果如表 4 所示。可以看出,发酵菌丝中的元素 Na 质量分数特别高,是天然子座中的 63.48 倍;而 K 的含量远远低于天然子座的,约是其含量的 18%;发酵菌丝中的微量元素 Fe、Cu、Se 的质量分数高于天然子座的;发酵菌丝中有害元素 Cd 的质量分数与天然子座的相近,Pb 和 Hg 的质量分数低于天然子

座的;二者均未检出 As。

表 4 发酵菌丝和天然子座常见无机元素质量分数

Tab.4 The content of inorganic elements in the fermentation mycelia and the stromata

名称	常见无机元素质量分数/(μg/g)	
	天然子座	发酵菌丝
Al	77.24	57.41
Cd	0.022	0.022
Pb	0.015	0.011
Hg	0.003 2	0.002 1
Zn	19.91	17.57
Fe	75.52	91.39
Na	36.93	2 344.23
K	12 320.54	2 217.76
Cu	12.32	14.67
Mg	448.63	230.32
Ca	664.75	739.31
Se	0.072	0.13
As	—	—

注:“—”表示未检出

2.1.5 生物活性成分分析 发酵菌丝和天然子座的生物活性成分分析见表 5。可见,发酵菌丝的竹红菌素总含量与天然子座的接近。麦角固醇和甘露醇的质量分数亦低于天然子座的。

表 5 发酵菌丝与天然子座的活性成分质量分数

Tab.5 Comparison of the bioactive ingredients in the fermentation mycelia and the stromata

名称	活性成分质量分数/(mg/g)	
	天然子座	发酵菌丝
总竹红菌素	4.23	3.58
麦角固醇	6.69	4.64
甘露醇	4.59	0.52

3 讨论

竹黄子座和竹黄无性株 SUPER-H168 发酵菌丝的对比研究表明,二者竹红菌素的总量接近,后者的产量稍低。因竹红菌素是竹黄子座的主要活性成分,故发酵菌丝可以在一定程度上替代子座。二者其他成分如粗脂肪、粗蛋白、总氨基酸含量均是子座占优势,这说明子座的营养成分积累较多;活性成分的其他成分如麦角固醇和甘露醇的含量均是子座的较高。提高菌丝中活性成分的含量将是后面进一步工作的重点,其中最重要的是提高竹红菌素的产量。目前人们对竹黄的组分研究较少,相关报道也不多。王凤芳对竹黄子座的营养成分进行了较为全面的分析,测得其粗蛋白质量分数为

14.40%,粗灰分质量分数为3.46%,粗脂肪质量分数为3.81%,总还原糖质量分数为1.77%^[11]。上述指标除了粗灰分和还原糖含量与作者测定的结果较为接近外,其余差别都比较大,而与竹黄无性株 SUPER-H168 发酵菌丝的相应成分的含量接近。作者测得的竹黄子座的相关成分含量较高,粗脂肪和粗蛋白含量比王凤芳测定的几种食用菌如黑木耳(*Auricularia auricula*)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)、香菇(*Lentinus edodes*)、银耳(*Tremella fuciformis*)等的都高^[11]。这说明作者所用的竹黄子座样品具有较高的营养价值,这可能是由于材料产地不同所致。李聪等对竹黄子座的部分氨基酸如 Asp、Glu、Ser、Gly、Pro、Tyr 进行了测定,其结果分别为(单位 mg/hg):4.62、8.77、14.71、21.02、31.17、295.28^[12],均低于作者测得子座的氨基酸含量,这可能也与产地不同有关。

竹黄子座与发酵菌丝的成分如脂肪、蛋白质、氨基酸含量和金属离子含量差异较大。造成这种

差异的原因可能是由于生长条件不同,也可能与生长发育时间有关。竹黄子座一般经过两个月的时间才能在竹子的嫩枝上发育成熟,其营养积累应较多,故脂肪、蛋白质和氨基酸总量高于仅经过3d培养的发菌丝。发酵菌丝和子座中大部分金属元素含量的差别不是太大,但某些金属元素如 Na、K、Mg 含量的差别很大。造成这种现象的原因可能是二者对不同金属离子的富集能力不同。竹黄子座富集 K、Mg 的能力较强,而发酵菌丝富集 Na 的能力较强,后者的硒(Se)含量比子座的高,但未能达到富硒食品的水平。

总之,竹黄子座的营养成分比较丰富,发酵菌丝营养成分虽然不及子座,但适合用于生产竹红菌素。竹黄是一种竹寄生菌,大面积发生时常常引起竹林衰败,但其本身又是一种很有潜力的药用资源。竹黄无性株 SUPER-H168 可以在人工条件下实现竹红菌素的生产,故对于竹红菌素的开发和竹林的保护具有重要意义。

参考文献(References):

- [1] 钟树荣,赵海,李安明,等.一种尚待开发的中药——竹黄[J].中草药,2002,33(4):372-374.
ZHONG Shu-rong, ZHAO Hai, LI An-ming, et al. Potential TCM-*Shiraia bambusicola* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2002, 33(4): 372-374. (in Chinese)
- [2] 贾小明,徐晓红,庄百川,等.药用竹黄菌的生物学研究进展[J].微生物学通报,2006,33(3):147-150.
JIA Xiao-ming, XU Xiao-hong, ZHUANG Bai-chuan, et al. The progress of biological research of medicinal fungus *Shiraia bambusicola* [J]. *Microbiology*, 2006, 33(3): 147-150. (in Chinese)
- [3] CHENG T F, JIA X M, MA X H, et al. Phylogenetic study on *Shiraia bambusicola* by rDNA sequence analyses[J]. *J Basic Microbiol*, 2004, 44(5):339-350.
- [4] 赖广辉,傅乐意.竹黄主要寄主植物的研究[J].中国野生植物资源,2000,19(1):8-11.
LAI Guang-hui, FU Le-yi. Study on the main host plants of *Shiraia bambusicola* [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2000, 19(1): 8-11. (in Chinese)
- [5] 肖仔君,陈惠音,杨汝德.竹红菌素[J].中国食品添加剂,2003(4):74-76.
XIAO Zi-jun, CHEN Hui-yin, YANG Ru-de. Hypocrellin[J]. *China Food Additives*, 2003(4): 74-76. (in Chinese)
- [6] Liang X H, Cai Y J, Liao X R, et al. Isolation and identification of a new hypocrellin A-producing strain *Shiraia* sp. SUPER-H168[J]. *Microbiol Res*, 2009, 164: 9-17.
- [7] 无锡轻工业学院,天津轻工业学院.食品分析[M].北京:轻工业出版社,1990.
- [8] 张龙翔,张庭芳,李令媛.生化实验方法和技术[M].北京:高等教育出版社,1990.
- [9] 刘为忠,李聪,陈远腾,等.萜醌类化合物总量的测定[J].云南化工,2000,27(2):35-37.
LIU Wei-zhong, LI Cong, CHEN Yuan-teng, et al. Determination of the total quantity of perylene quinonoids[J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2000, 27(2): 35-37. (in Chinese)
- [10] 谢和金,卢毅,邱咏梅,等.高效液相色谱法测定酵母中麦角固醇含量[J].生物工程进展,2000,20(4):75-76.
XIE He-jin, LU Yi, QIU Yong-mei, et al. Determination of ergosterol in yeast by HPLC[J]. *Progress in Biotechnology*, 2000, 20(4):75-76. (in Chinese)
- [11] 王凤芳.药用真菌-竹黄成分的分析测定[J].食品工业,2007(3):17-19.
WANF Feng-fang. Analysis and determination of components in the *Shiraia bambusicola* [J]. *The Food Industry*, 2007 (3): 17-19. (in Chinese)
- [12] 李聪,汪汉卿,谢金伦,等.肉座菌科三种药用真菌的化学成分分析比较[J].中草药,2000,31(4):250-251.
LI Cong, WANG Han-qing, XIE Jin-lun, et al. A comparative study of chemical Components in three kind of fungi of Hypocreaceae [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2000, 31(4): 250-251. (in Chinese)

(责任编辑:秦和平)