

文章编号:1673-1689(2007)05-0104-06

## 8 味中药对黑木耳发酵的影响

陈丽华<sup>1</sup>, 章克昌<sup>2</sup>

(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:** 研究不同中药对黑木耳液体培养中生物量的影响, 并对添加不同中药的黑木耳发酵液的体外活性进行了比较。研究表明, 丹参和绞股蓝抑制黑木耳的生长; 决明子对黑木耳的生物量没有大的影响; 红曲、银杏叶、何首乌、葛根和苦荞都能促进黑木耳的生长。由体外活性试验结果显示, 在黑木耳发酵过程中添加红曲、葛根和苦荞, 不能增强黑木耳的降血脂功效, 而添加何首乌、银杏叶和决明子能增强黑木耳的降脂功效。

**关键词:** 中药; 黑木耳; 发酵; 生物量; 活性

**中图分类号:** TQ 920

**文献标识码:** A

### Effects of Eight Kinds of Chinese Traditional Medicines on Submerged Fermentation of *Auricularia auricular*

CHEN Li-hua<sup>1</sup>, ZHANG Ke-chang<sup>2</sup>

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

**Abstract:** The effect of different Chinese traditional medicines on the biomass and the vitro activity of *Auricularia auricular* in submerged culture were studied in this manuscript. It was found that: 1) *Salvia miltiorrhiza* bge and *Gynostemma pentaphyllum* could inhibit the growth of *Auricularia auricular*; 2) *Cassia obtusifolia* has little effect on the growth of *Auricularia auricular*; 3) Red koji, *Ginkgo biloba*, *Radix polygoni multiflori*, *Redices pueraria* and *Fagopyrum tataricum* could enhance the growth of *Auricularia auricular*; 4) The vitro activity experiments indicated that red koji, *Redices pueraria* and *Fagopyrum tataricum* did not improve the ability of *Auricularia auricular* to reduce blood lipid, while *Radix polygoni multiflori*, *Ginkgo biloba* and *Cassia obtusifolia* could increase the ability of reduce blood lipid.

**Key words:** chinese traditional medicine; *Auricularia auricular*; submerged fermentation; biomass; activity

黑木耳(*Auricularia auricular*)属担子菌亚门, 担子菌纲, 木耳目, 木耳科, 木耳属。它是一种食药

兼用菌, 有滋补强壮、扶正固本之功效<sup>[1]</sup>。研究发现, 黑木耳作为我国珍贵的药用和食用的胶质真

收稿日期: 2006-09-10.

作者简介: 陈丽华(1977-), 女, 江苏启东人, 生物化工专业硕士研究生。Email: kasy163@163.com

通讯作者: 章克昌(1935-), 男, 江苏常州人, 教授, 博导, 主要从事再生资源工程、酶工程、生物制药方面的研究。

菌,有着很重要的药理作用,如调节免疫功能、降血脂、抗血栓、抗衰老、抗肿瘤、抗凝血等作用<sup>[2-4]</sup>。

目前,国内外对黑木耳的研究报道主要是围绕子实体及子实体中的多糖,包括子实体的降脂膳食、高产栽培、子实体中多糖的提取、多糖的消炎功效、抗凝血活性及多糖的相对分子质量等方面的研究;而在黑木耳液体深层培养方面,则主要是围绕黑木耳胞内外多糖的提取工艺、分离纯化及多糖的性质、结构等<sup>[5-8]</sup>。对于在黑木耳的液体培养基中加入中药来强化黑木耳的降脂功效的研究,国内外还未见有报道。为此,作者就选取了8味中药加到黑木耳液体培养基中进行发酵,以观察中药成分对黑木耳菌丝体生长的影响,并通过对发酵液进行体外活性实验,观察黑木耳对中药成分的转化效果。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

1.1.1 菌种 黑木耳(*Auricularia auricula*),由江南大学生物工程学院生物资源实验室筛选保藏;掷孢酵母:由中国医学科学院医药生物技术研究所药用微生物保藏中心提供。

### 1.1.2 培养基

1) 麸曲培养基(组分 g/L):粗麸皮 750。

2) 掷孢酵母培养基(组分 g/L):葡萄糖 20,蛋白胨 10,琼脂 20,pH 7.5。

液体种子培养基(组分 g/L):葡萄糖 20,蛋白胨 7,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,MgSO<sub>4</sub> 1。

摇瓶发酵基础培养基(组分 g/L):葡萄糖 20,蛋白胨 7,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,MgSO<sub>4</sub> 1。

1.1.3 中药材 红曲、决明子、何首乌、银杏叶、苦荞、葛根、丹参和绞股蓝,粉碎后过 60 目筛备用。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 接种培养

1) 麸曲培养:取 15 g 粗麸皮,加 20 mL 水,搅拌均匀后,121.5 °C 灭菌 60 min。冷却后,从斜面接入黑木耳菌种,29 °C 恒温箱中培养 7 d。

2) 液体种子培养:将培养好的麸曲每瓶转接 4 瓶一级摇瓶,摇瓶条件:250 mL 三角瓶装液量 100 mL,培养温度 29 °C,转速 150 r/min,培养时间 2 d。

3) 发酵培养:在二级摇瓶中加入中药固体粉末和发酵基础培养基,摇瓶条件:250 mL 三角瓶,液体菌种接种体积分数为 8%,装液量为 80 mL,培养温度 29 °C,转速 150 r/min,培养 4 d。

1.2.2 中药水提液的制备 取等量的中药材(已

粉碎)与 80 mL 发酵基础培养基在 250 mL 三角瓶中混合,121.5 °C 灭菌 45 min 后,不接种直接上摇床,摇瓶条件与接种摇瓶完全一样。

1.2.3 生物量计算 将培养液离心(3 000 r/min 离心 20 min),沉淀用水洗 3 次,收集菌丝体,105 °C 烘干至恒重,称重得生物量。

#### 1.2.4 体外活性试验

1) 杯碟法:将掷孢酵母刮入 pH 7.4 的磷酸钠缓冲液,配置成 OD 值为 0.4(波长在 650 nm 处)的菌悬液。向灭菌平皿中倒 15 mL 掷孢酵母培养基,待凝固后,移取 9 mL 的掷孢酵母培养基和 1 mL 的菌悬液混合,充分振荡后倒于掷孢酵母固体平板培养基上。用镊子夹取牛津杯放置平皿菌层上,定量样品加入杯内(样品与杯面平为准)。最后将平皿放入 28.5 °C 恒温培养箱中培养 48 h 左右,再用游标卡尺测量抑菌圈直径大小,以确定样品抑菌活性(牛津杯直径 7.64 mm)。

2) 固体稀释法:取 10 mL 灭菌发酵液或水提液与 5 mL 灭菌掷孢酵母培养基混合,摇匀,在无菌条件下调 pH 值至 7.2~7.3 左右,再用移液管移入 OD 为 0.4 的菌悬液,摇匀后,倒入灭菌后平皿中,将平皿放入 28.5 °C 恒温培养箱中培养,每隔 12 h 观察各个平皿中酵母菌的长势情况,用蒸馏水配制相应的培养基作对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 中药对生物量的影响

2.1.1 不同品种中药影响的比较 培养基中分别添加 8 味不同的中药,接种培养后所得生物量见表 1。其中对照样为不添加中药培养的结果,其他条件相同。由表 1 可见,在中药质量浓度为 10 g/L,即添加量为 1 g/dL 时,加绞股蓝和丹参的样品生物量比对照样低得多,说明这两种中药对黑木耳的生长存在抑制作用,而何首乌、葛根、红曲、苦荞、银杏叶样品的生物量比对照样高得多,说明这些中药对黑木耳的生长有一定的促进作用。决明子对黑木耳生长的影响较小。

表 1 中药对黑木耳生物量的影响

Tab. 1 Effect of different Chinese medicines on biomass

中 药	中药用量/(g/L)	生物量/(g/L)
对照	0	8.1
决明子	10	8.4
何首乌	10	12.46
绞股蓝	10	3.8
红曲	10	10.52

续表 1

中药	中药用量/(g/L)	生物量/(g/L)
葛根	10	11.54
苦荞	10	11.13
银杏叶	10	11.18
丹参	10	1.36

为了确认丹参和绞股蓝对黑木耳的抑制作用,分别在0.25、0.5、0.75 g/dL时添加这两味中药,结果见图1、2。由图1、2可知,随着绞股蓝用量的增加,它对黑木耳生长的抑制作用呈剂量效应:当绞股蓝用量为0.25 g/dL时,对黑木耳的生长抑制率为11%;当添加量为0.5 g/dL和0.75 g/dL时,抑制率逐渐上升,分别为38.3%和51.9%;与绞股蓝相比,丹参对黑木耳的生长抑制作用更强。添加量为0.25 g/dL时,它对黑木耳的抑制率已达到85.4%,当其添加量为0.75 g/dL时,它对黑木耳的抑制率高达87.9%。

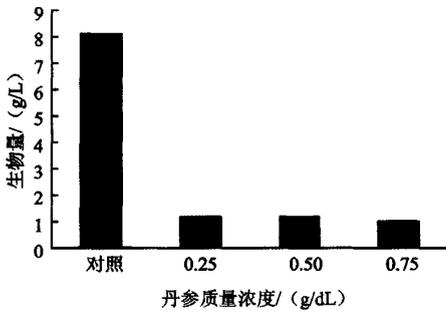


图1 丹参对黑木耳发酵的影响

Fig. 1 Effect of salvia miltiorrhiza bge on the fermentation of Auricularia auricula

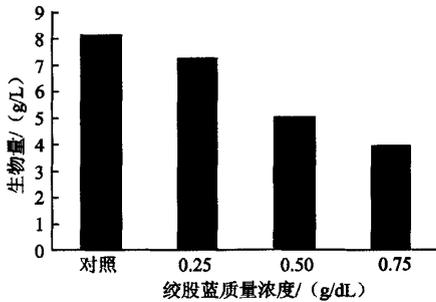
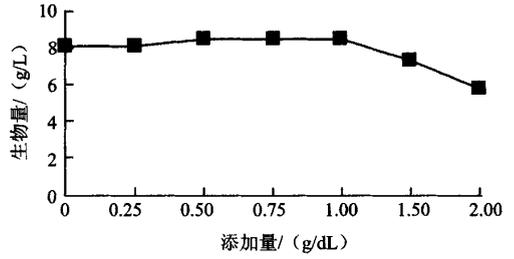


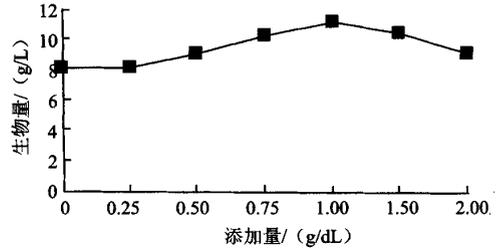
图2 绞股蓝对黑木耳发酵的影响

Fig. 2 Effect of gynostemma pentaphyllum on the fermentation of Auricularia auricula

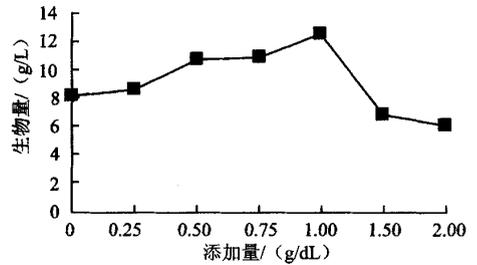
2.1.2 中药用量的影响 取对黑木耳生长没有很强抑制的6味中药,以不同的质量浓度添加,分别为0.25、0.5、0.75、1、1.5、2 g/dL,研究不同中药添加量对黑木耳生物量的影响,结果见图3(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)所示。



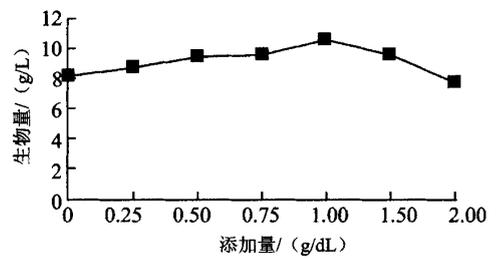
(a) 决明子



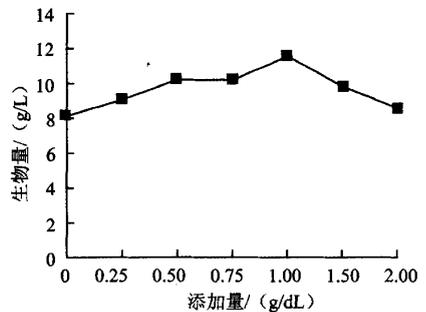
(b) 银杏叶



(c) 何首乌



(d) 红曲



(e) 葛根

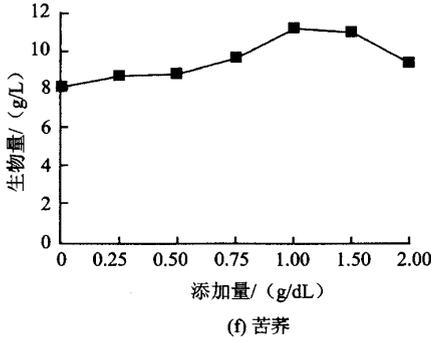


图 3 中药用量对黑木耳生物量的影响

Fig. 3 Effect of different dosages of Chinese medicines on *Auricularia auricula* biomass

从图 3 可见,加葛根、银杏叶和苦荞的样品,在低剂量时,生物量呈上升趋势,且在 1 g/dL 添加量时达到峰值,随着中药量的不断增加,生物量又开始呈下降趋势,但生物量的绝对值却比不加中药的对照样高。这说明这 3 味中药对黑木耳的生长既存在促进因子,又存在抑制因子,促进因子使生物量比对照样的大,而中药用量的增加使抑制因子的作用增强,从而使得生物量下降。何首乌和红曲在添加量均为 1 g/dL 时,生物量达到峰值;随着用量的增加,生物量呈现下降趋势,且分别在 1.5 g/dL 添加量和 2 g/dL 添加量时抑制黑木耳的生长。决明子在低于 1 g/dL 用量时,对黑木耳的生长无明显的影响;在高于 1 g/dL 用量时,则逐渐对黑木耳的生长产生抑制。

2.2 “杯碟法”体外活性效果比较

为观察黑木耳在降脂功效上对中药成分的转化效果,决明子、银杏叶、葛根、苦荞、何首乌和红曲各以 0.25, 0.5, 0.75, 1 g/dL 4 个质量浓度添加,并对各个中药的各个质量浓度的水提液以及添加中药后的黑木耳发酵液作体外活性研究。

2.2.1 中药水提液体外活性的比较 不同中药经水提后的活性结果比较见表 2。决明子、银杏叶、葛根、苦荞、何首乌的水提液都没有抑菌圈产生,即没有抑制作用;而红曲的水提液有很强的抑菌活性,除了 0.25 g/dL 用量时抑菌圈直径小于 20 mm,其余直径都超过了 24 mm,尤其当添加量为 1 g/dL 时,抑菌圈直径达 27.74 mm。

2.2.2 中药经黑木耳转化后活性效果比较 不同中药经黑木耳转化后的活性结果比较见表 3。单独的黑木耳发酵液与添加葛根、苦荞的黑木耳发酵液均无抑菌圈产生;而添加决明子的黑木耳发酵液,抑菌圈直径在 13.21~18.18 mm 范围,且在 0.75

g/dL 用量时抑菌圈直径达最大值;添加何首乌的黑木耳发酵液,其抑菌圈直径随着用量的增加而增大,且在添加量为 1 g/dL,即生物量达峰值时抑菌圈直径达最大值 18.1 mm;银杏叶在 4 个添加量水平上,发酵液的抑菌圈直径也随着用量的增加而增大;添加红曲的黑木耳发酵液,抑菌圈直径在各个剂量水平上均稍大于其他几味中药。

表 2 不同中药经水提后的活性结果比较

Tab. 2 Comparison of vitro activity of water extract from different Chinese traditional medicines

中药	抑菌圈直径/mm			
	0.25 g/dL	0.5 g/dL	0.75 g/dL	1 g/dL
红曲粉	17.52	24.45	26.85	27.74
何首乌	-	-	-	-
决明子	-	-	-	-
银杏叶	-	-	-	-
葛根	-	-	-	-
苦荞	-	-	-	-

注:“-”表示无抑菌圈。

表 3 不同中药经黑木耳转化后的活性结果比较

Tab. 3 Comparison of vitro activity of Chinese medicines converted by *Auricularia auricula*

中药	抑菌圈直径/mm			
	0.25 g/dL	0.5 g/dL	0.75 g/dL	1 g/dL
黑木耳(对照)	-	-	-	-
决明子	13.21	17.25	18.18	15.29
何首乌	15.24	15.69	16.75	18.10
银杏叶	15.78	16.01	16.47	16.79
红曲粉	17.12	18.14	18.23	*
葛根	-	-	-	-
苦荞	-	-	-	-

注:“\*”表示红曲添加量为 1 g/dL 时,发酵液量极少,特别粘稠,且有泡沫产生,滴入牛津杯后无法扩散。“-”表示无抑菌圈。

从“杯碟法”的实验结果可以看出,苦荞和葛根的水提液与添加这两味中药的发酵液均没有活性;添加决明子、何首乌和银杏叶的黑木耳发酵液,在活性效果上要比单独的黑木耳发酵液及各自的水提液强,表明这 3 味中药可以提升黑木耳在降血脂方面的功效。红曲水提液的活性效果在各个添加

量上均明显优于添加红曲的黑木耳发酵液,这可能是由于发酵过程中黑木耳逆向转化了红曲的活性成分。

### 2.3 “固体稀释法”体外活性效果比较

考虑到黑木耳属胶质真菌,发酵液较粘,故对由“杯碟法”选出的红曲、决明子、何首乌和银杏叶这4味中药,针对它们的水提液及添加中药后的黑木耳发酵液,用“固体稀释法”再做活性确认。以4味中药抑菌活性较好的质量浓度添加,即决明子添加0.5 g/dL和0.75 g/dL、何首乌添加0.75 g/dL和1 g/dL、银杏叶添加0.75 g/dL和1 g/dL以及红曲添加0.75 g/dL。

**2.3.1 不同中药水提液抑菌活性比较** 不同中药水提液抑菌活性比较见表4。红曲添加量为0.75 g/dL时,其水提液完全抑制掷孢酵母的生长;而其余3味中药的水提液对掷孢酵母没有抑制作用。

表4 不同中药水提液抑菌活性比较

Tab. 4 Comparison of inhibition activity of water extract from Chinese traditional medicines

中药	时间/h			
	36	48	60	72
空白	+	++	+++	++++
红曲 0.75 g/dL	-	-	-	-
决明子 0.5 g/dL	+	++	+++	++++
决明子 0.75 g/dL	+	++	+++	++++
何首乌 0.75 g/dL	+	++	+++	++++
何首乌 1 g/dL	+	++	+++	++++
银杏叶 0.75 g/dL	+	++	+++	++++

注:“-”表无菌生长;“+”越多,酵母菌长势越好

**2.3.2 红曲不同添加量的抑制活性比较** 为观察红曲水提液的活性强度随添加量的变化,在0.25, 0.5, 0.75, 1 g/dL 4个剂量上添加红曲,每12 h观察其体外活性。结果表明:添加了这4个剂量的红曲水提液,在72 h内都未见有酵母菌的生长;表明这4个剂量的红曲水提液对酵母的抑制活性都很强。

**2.3.3 中药经黑木耳发酵后活性结果比较** 考虑到“固体稀释法”的表现特点,在表3的基础上,分别向黑木耳发酵培养基中添加决明子0.5 g/dL和0.75 g/dL;何首乌0.5 g/dL和0.75 g/dL;银杏叶0.75 g/dL和1 g/dL;红曲0.25 g/dL进行发酵,并对发酵液进行活性测试,结果见表5。

表5 中药经黑木耳转化后的活性结果

Tab. 5 The vitro activity of Chinese traditional medicines converted by *Auricularia auricula*

中药	时间/h			
	36	48	60	72
空白	+	++	+++	++++
黑木耳	-	+	++	+++
红曲 0.25 g/dL	-	+	++	+++
决明子 0.5 g/dL	-	+	++	+++
决明子 0.75 g/dL	-	+	++	+++
何首乌 0.75 g/dL	-	+	++	+++
何首乌 1 g/dL	-	+	++	+++
银杏叶 0.75 g/dL	-	+	++	+++
银杏叶 1 g/dL	-	+	++	+++

注:“-”表无菌生长;“+”越多,表酵母菌长势越好;“\*”,表同一水平上的酵母菌长势好。

由表5可见,单独的黑木耳发酵液有抑菌活性,这与“杯碟法”的结果有差异。分别添加0.75 g/dL和1 g/dL银杏叶的黑木耳发酵液以及分别添加0.75 g/dL决明子,1 g/dL何首乌的发酵液,也都有一定的活性;而分别添加0.5 g/dL决明子、0.75 g/dL何首乌的发酵液,活性稍弱。由表5可知:红曲用量为0.25 g/dL的黑木耳发酵液,虽有一定的活性,但活性强度远不如红曲的水提液,这和“杯碟法”的试验结果一致。

## 3 结 语

1)研究表明,何首乌、红曲、葛根、银杏叶和苦荞这5味中药在低添加量时,均可增加黑木耳的生物量,随着添加量的升高,生物量在一定剂量下都出现了峰值。决明子在添加量低于1 g/dL时,对黑木耳的生长影响不明显,当高于1 g/dL添加量时,则开始抑制黑木耳的生长。丹参和绞股蓝均不促进黑木耳的生长,且丹参对黑木耳的生长抑制作用很强。

2)从“杯碟法”的实验结果可看出:在黑木耳发酵过程中添加红曲、苦荞和葛根,不能增强黑木耳的降血脂功效,而添加何首乌、银杏叶和决明子能增强黑木耳的降脂功效。从“固体稀释法”的实验结果可看出,黑木耳本身也有一定的降脂活性。

## 参考文献(References):

- [1] 周国华,于国萍. 黑木耳多糖降血脂作用的研究[J]. 现代食品科技, 2005, 1: 46-48.  
ZHOU Guo-hua, YU Guo-ping. Effect Study of *Auricularia* polysaccharide on reducing blood lipid[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2005, 1: 46-48. (in Chinese)
- [2] 吴春敏,陈琼华. 毛木耳多糖的分离、分析及免疫药理活性的研究[J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(2): 97-100.  
WU Chun-min, CHEN Qiong-hua. Isolation, analysis and immune activities of polysaccharide from *Auricularia polytrichasacc*[J]. **Journal of China Pharmaceutical Univeristy**, 1991, 22(2): 97-100. (in Chinese)
- [3] 陈和生,孙振亚. 黑木耳多糖的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(5): 300.  
CHEN He-sheng, SUN Zhen-ya. Studies on polysaccharides of *Auricularia auriculajudae*[J]. **Lishizhen Medicine and Medical Research**, 2003, 14(5): 300. (in Chinese)
- [4] 蔡小玲,章佩芬,何有明,等. 黑木耳多糖、红菇多糖的降胆固醇作用研究[J]. 深圳中西医结合杂志, 2002, 12(3): 137-139.  
CAI Xiao-ling, ZHANG Pei-fen, HE You-ming, et al. The role of reducing blood cholesterin of *Auricularia* polysaccharide and russula polysaccharide [J]. **Shenzhen Journal of Integrated Traditional Chinese and Westem Medicine**, 2002, 12(3): 137-139. (in Chinese)
- [5] Yoon S J, Yu M A, Pyun Y R, et al. The nontoxic mushroom *Auricularia auricula* contains a polysaccharide with anti-coagulant activity mediated by antithrombin [J]. **Thrombosis Research**, 2003, 112(3): 151-158.
- [6] Kiho T, Sakai M, Tanaka S U. Anti-inflammatory effect of the polysaccharide from the fruit bodies of *Auricularia* species[J]. **Carbohydrate Research**, 1985, 142(2): 344-351.
- [7] 肖彩霞,王玉红,章克昌. 黑木耳深层发酵工艺条件的研究[J]. 生物技术, 2004, 14(5): 70-72.  
XIAO Cai-xia, WANG Yu-hong, ZHANG Ke-chang. Studies on submerged fermentation of *Auricularia auricular*[J]. **Biotechnology**, 2004, 14(5): 70-72. (in Chinese)
- [8] 王金凤. 木耳多糖提取工艺研究[J]. 食品科学, 2004, 25(6): 143-146.  
WANG Jin-feng. Studies on the extracting technology of polysaccharide from *Auricularia* [J]. **Food Science**, 2004, 25(6): 143-146. (in Chinese)

(责任编辑:李春丽)