

# 巴西蘑菇抑菌作用的初步研究

叶竹秋 林跃鑫 福建师范大学生物工程学院 福州 350007

**摘要** 采用水提、醇提 2 种不同方法, 提取巴西蘑菇子实体中的抗菌有效成分。测定了 2 种提取物对 8 种食品腐败菌的最低抑菌浓度(MIC)。结果表明, 1、水提液的 MIC: 金色葡萄球菌、枯草杆菌均为 1.25%, 变形杆菌、大肠杆菌、桔青霉为 2.5%, 面包酵母、黑曲霉为 5%。2、醇提物的 MIC: 金色葡萄球菌、枯草杆菌、桔青霉和黑曲霉均为 1.25%, 变形杆菌为 2.5%, 大肠杆菌、啤酒酵母、面包酵母均为 5%。

**关键词** 巴西蘑菇 抑菌 最低抑菌浓度(MIC)

**Abstract** This paper studied the antibacterial effects of the fruiting bodies from *Agaricus blazei* through two different methods – water extracting or ethanol extracting. Tested by the MIC against 8 species of spoilage organisms, the results showed that: (1) the MIC of water extracts: both *S. aureus* and *B. subtilis* were 1.25%, *E. coli*, *P. ulgaria* and *P. citrinum* 2.5%, *A. niger* and *G. candidum* 5% and *S. cerevisiae* 10%; (2) the MIC of ethanol extracts: *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. citrinum* and *A. niger* were 1.25% respectively, *P. ulgaria* was 2.5%, *E. coli*, *S. cerevisiae* and *G. candidum* were 5%. These results provided scientific basis for exploiting this peculiar resource.

**Key words** *Agaricus blazei* Antibacterial (MIC Minimum Inhibition Concentration)

巴西蘑菇是一种珍贵的食、药用真菌, 富含多种有效成分, 其子实体多糖具有抗肿瘤、抗病毒、调节免疫功能和刺激干扰素形成等作用<sup>[1][2]</sup>, 因而倍受美食、保健、医药学界的极大青睐和关注。有关巴西蘑菇抗菌活性的研究还未见报道, 为进一步开发利用巴西蘑菇, 我们对其抑菌作用进行了初步探讨。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 巴西蘑菇: 由巴西学者赠送纯菌株栽培获得。

#### 1.1.2 供试菌种

细菌: 大肠杆菌 (*Escherichia. coli*); 变形杆菌 (*Proteus. ulgaria*); 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus. aureus*) 枯草杆菌 (*Bacillus. subtilis*)。

真菌: 啤酒酵母 (*Saccharomyces. cerevisiae*); 面包酵母 (*G. candidum*); 桔青霉 (*Penicillus. citrinum*) 黑曲霉 (*Aspergillus. niger*)。以上菌种均由本院微生物种保藏室提供。

#### 1.1.3 培养基

细菌培养基: 牛肉膏 5g, 蛋白胨 10g, NaCl 15g, 琼脂 15g, 水 1000ml, pH7.0 ~ 7.2。

霉菌培养基: 葡萄糖 (或蔗糖) 30g, NaNO<sub>3</sub> 3g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1g, KCl 0.5g, MgSO<sub>4</sub> · 7 · H<sub>2</sub>O 0.5g, FeSO<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O 0.01g, 琼脂 15g, 水 1000ml, pH 自然。

酵母培养基: 葡萄糖 10g, 蛋白胨 5g, 酵母膏 3g, 麦

芽汁 3g, 琼脂 15g, 水 1000ml, pH 自然。

#### 1.1.4 主要仪器

恒温培养箱, 水浴锅, 721 型分光光度计, 显微镜, 血球计数板。

## 1.2 方法

### 1.2.1 巴西蘑菇水提物、醇提物的制备

水提法: 称取干燥子实体粉末 50g, 装入 250ml 三角瓶中, 加入重蒸水 70ml, 90 ~ 100℃ 水浴 5h, 趁热过滤, 残渣再加重蒸水, 同法煮沸 5h, 过滤, 合并两次滤液, 定容至 125ml (浓度为 40%, 含量相当于 0.40g/ml) 细菌过滤器除菌, 4℃ 冰箱中保存, 备用。

醇提法: 称取干燥子实体粉末 50g, 装入 250ml 三角瓶中, 加入 95% 乙醇 50ml, 60℃ 水浴 5h, 滤出药液, 残渣再次提取 (相同条件下), 合并两次滤液, 定容至 125ml (浓度为 40%, 含量相当于 0.40g/ml), 细菌过滤器除菌, 4℃ 冰箱中保存, 备用。

### 1.2.2 供试菌液的制备

本实验采用比浊法<sup>[3]</sup>制备各种菌悬液, 具体过程如下:

#### 1.2.2.1 各种菌的 A-X 曲线及回归方程的建立:

以上菌种经斜面接种、培养 (细菌 37℃、24 ~ 36h, 霉菌 28℃、酵母 30℃、48 ~ 60h) 后, 用无菌水稀释, 制成一系列浓度的标准菌悬液 (霉菌滤去菌丝, 制成一系列浓度的标准单孢子悬液), 在  $\lambda = 560\text{nm}$  处测定各标准菌悬液对应的吸光值 A; 同时用血球计数板计数, 得出标准菌悬液对应的菌数 X (个/ml), 将所得吸光值 A 及

表1 巴西蘑菇水提物对8种食品腐败菌的MIC

供试菌	浓度(%)						
	1.25	2.5	5	10	20	30	40
金色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	8.5	9.5	11.3	12.5	13.8	14.4	16.0
枯草杆菌 <i>B. subtilis</i>	8.4	9.3	10.0	11.2	12.0	12.7	13.5
变形杆菌 <i>P. ulgaria</i>	8.0	8.1	9.2	10.5	11.6	12.0	13.3
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	8.0	9.2	9.9	12.0	13.0	14.5	15.5
啤酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	8.0	8.0	8.0	9.6	10.3	10.8	11.5
面包酵母 <i>G. candidum</i>	8.0	8.0	8.5	9.5	10.3	11.0	11.4
桔青霉 <i>Citrin P. um</i>	8.0	9.0	9.0	11.5	12.0	12.5	13.1
黑曲霉 <i>A. niger</i>	8.0	8.0	9.8	10.4	11.0	11.5	12.0
对照 <i>Control</i>	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0

表2 巴西蘑菇醇提物对8种食品腐败菌的MIC

供试菌	浓度(%)						
	1.25	2.5	5	10	20	30	40
金色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	9.6	11.0	11.2	12.1	12.5	12.5	12.8
枯草杆菌 <i>B. subtilis</i>	10.5	11.9	12.2	12.5	13.6	14.5	16.0
变形杆菌 <i>P. ulgaria</i>	8.0	8.8	9.1	10.0	10.5	11.5	12.2
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	8.0	8.0	8.5	9.5	10.3	11.8	12.0
啤酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	8.0	8.1	8.6	9.5	10.5	11.7	12.8
面包酵母 <i>G. candidum</i>	8.0	8.0	8.4	9.2	10.6	11.0	11.5
桔青霉 <i>Citrin P. um</i>	9.6	10.2	11.5	12.5	13.2	15.5	17.2
黑曲霉 <i>A. niger</i>	9.0	9.3	10.4	11.5	12.6	13.5	14.0
对照 <i>Control</i>	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0

表3 巴西蘑菇水提物、醇提物抑菌活性比较(MIC)

供试菌	水提液(%)	醇提液(%)	苯甲酸钠(%)	山梨酸钾(%)
金色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	1.25	1.25	0.3	0.2
枯草杆菌 <i>B. subtilis</i>	1.25	1.25	0.2	0.3
变形杆菌 <i>P. ulgaria</i>	2.5	2.5	0.3	0.5
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	2.5	5	0.2	1.0
啤酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	10	5	0.9	0.6
面包酵母 <i>G. candidum</i>	5	5	0.5	0.7
桔青霉 <i>Citrin P. um</i>	2.5	1.25	0.5	0.8
黑曲霉 <i>A. niger</i>	5	1.25	0.6	0.5
对照 <i>Control</i>	8.0	8.0	8.0	8.0

其对应的各标准菌悬液浓度 X 进行数据处理,绘出各种菌的 A - X 曲线,并得出相应的回归方程和相关系数 r,经 F 检验, A 与 X 相关性显著。

1.2.2.2 制备菌悬液:将各种菌挑取一环,稀释,比浊,根据以上各 A - X 曲线求得相应菌悬液浓度,试验中制备各供试菌液的浓度为  $10^4 \sim 10^6$  个/ml<sup>[4]</sup>。

1.2.3 最低抑菌浓度(MIC)测定

根据连续稀释法,分别将40%的巴西蘑菇水提液及醇提液配成30%、20%、10%、5%、2.5%、1.25%六个梯度的稀释液各50ml,备用。

采用双层平板法<sup>[41]</sup>测定提取物抗菌能力。下层培养基用供试菌培养基,上层为半固体琼脂5ml和0.2ml的供试菌液(霉菌用其孢子液),待平板凝固后用打孔器打直径8mm的孔,每孔各加0.5ml不同稀释

度的提取液,培养一定时间(细菌 37℃、24~36h,霉菌 28℃、酵母 30℃、48~60h)后,测量其抑菌圈的大小。

## 2 结果与讨论

### 2.1 巴西蘑菇水提物对各种菌的最低抑菌浓度(MIC)

以上结果显示,巴西蘑菇水提物对细菌、真菌均有一定的抑菌效果。其中对细菌的作用十分显著,尤其对金色葡萄球菌和大肠杆菌。对霉菌也有较强的抑制效果,对酵母的抑制作用相对弱些。

### 2.2 巴西蘑菇醇提物对各种菌的最低抑菌浓度(MIC)

以上结果显示,巴西蘑菇醇提物对六种微生物均有一定的抑制效果,特别对桔青霉和枯草杆菌其作用十分突出。醇提物对霉菌的抑制优于对细菌(枯草杆菌除外)和酵母的抑制。

### 2.3 水提物、醇提物的抑菌活性比较(MIC)

从表3看出,巴西蘑菇醇提液比水提液的抑菌作用更强。醇提液浓度在5%时对所有供试菌种均有抑制作用,水提液则要10%。二者抑菌作用均不如化学防腐剂苯甲酸钠和山梨酸钾。

食品由于保存不当易造成微生物的侵袭而导致腐

败。食品加工上采用的化学防腐剂虽然防腐效果较好,但均有一定的毒性,危害人体健康。因而,现在国内外食品防腐剂的研究重点已经转向寻找新的有效而安全的天然防腐剂<sup>[5,6]</sup>。很早以前,人们就利用食用菌具有抗菌能力进行防腐。我们的实验证明巴西蘑菇子实体对多种造成食品腐败的微生物具有一定的抗性,为其在这方面的开发利用提供一定的理论依据。对于其抗菌活性物质还有待进一步的研究。

## 参考文献

- 1 黄年来. 巴西蘑菇值得研究推广. 中国食用菌, 1994, 13(1):11~13.
- 2 黄年来. 巴西蘑菇值得研究推广. 中国食用菌, 1994, 13(2):8~9.
- 3 范秀容, 李广武等. 微生物学实验第二版. 高等教育出版社, 1989, 14.
- 4 秦红敏等. 竹荪的菌丝培养及其抗菌活性的初步研究. 微生物学报, 1999, 62:393~395.
- 5 [日]井上真由美著, 彭武厚等译. 微生物灾害及其防止技术. 上海:上海科学技术出版社, 1983.
- 6 Fields M. L. Fundamentals of Food Microbiology. AVI Publishing Company, 1978.

# 不同品种杭白菊中酚类物质含量和清除自由基活性的比较

于善凯 张英 浙江大学食品科学与营养系 杭州 310029

**摘要** 4种桐乡产杭白菊及黄菊和野菊,分别用乙醇-水体系进行热回流提取,用比色法测定醇提物中总酚和总黄酮含量,并用化学发光法检测其清除活性氧自由基的能力。结果表明不同品种间含量存在较大差异,总酚和总黄酮含量(以菊花干基计)最高的是异种大白菊,分别为9.76%和4.46%;最低的是黄山种野菊,分别为3.21%和1.99%。不同菊花均显示了良好的清除活性氧自由基的活性。清·OH和O<sub>2</sub>·<sup>-</sup>的IC<sub>50</sub>分别在0.54~1.98mg/ml和24.2~54.5μg/ml之间。其中清O<sub>2</sub>·<sup>-</sup>活性最强是大洋菊,最弱是软梗小洋菊,而清·OH能力最强为早小洋菊,最弱为异种大白菊。结果表明,菊花中酚类物质的含量高低与抗自由基活性强弱无明显的对应关系。

**关键词** 杭白菊 总黄酮 总酚 自由基清除剂

**Abstract** Six species chrysanthemum samples, including 4 Hangbaiju, 1 Huangju and 1 Yeju, were collected from the famous "Hangbaiju Kingdom of China", Tongxiang city, Zhejiang province. Fresh flower was dried by microwave oven assisted by hot air circulation, and extracted individually by thermal reflux with 70% ethanol-water solution. The contents of total phenols (TP) and total flavonoids (TF) of these extracts were measured by spectrophotometric analy-