

工业化培育北虫草生物活性成分含量变化的研究*

□张倩 唐永范 唐亮 徐三妹

(上海国宝企业发展中心 上海 201203)
上海国宝生物工程研究所

摘要:目的:明确工业化培育北虫草的主要生物活性成分在不同生长时期含量变化的规律。方法:采用 HPLC 和苯酚硫酸法,分别对不同生长时期的工业化培育的北虫草的虫草素、腺苷和虫草多糖含量的变化进行了跟踪。结果:培养周期内虫草素含量随生长期增长而不断增高,而腺苷和虫草多糖含量均在第 40d 达到最高值。结论:本研究结果对工业化生产,合理有效地控制北虫草产品生物活性成分的含量,具有一定指导意义。

关键词:北虫草 虫草素 腺苷 虫草多糖

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.03.025

北虫草又名北冬虫夏草(*Cordyceps militaris*),属于子囊菌亚门、核菌纲、球壳目、麦角菌科、虫草属。人工培育的北虫草,由于与天然冬虫夏草的主要药理活性成分相近,被认为是日益枯竭的冬虫夏草资源的理想替代品,近年来已经成为研究热点^[1-2]。人工培育北虫草并获得成功的报道很多,国内外学者在菌种分离选育、培养基和培养条件优化等方面都进行了深入研究^[3-4],但关于工业化培育北虫草的主要生物活性成分,在不同生长时期含量变化的研究则未见报道。

本文采用 HPLC 和苯酚硫酸法,分别对不同生长时期的工业化培育的北虫草的虫草素、腺苷和虫草多糖含量的高低变化进行了跟踪,揭示了其生长过

程中这 3 种主要生物活性成分含量的变化规律,对根据生产和药用需求,合理有效地控制北虫草产品中生物活性成分的含量具有指导意义。

一、材料与方法

1. 实验材料

上海国宝企业发展中心提供,其工业化培育北虫草试产规模年产量 100kg 左右。

2. 取样方法

取样部位为北虫草子实体。工业化培育北虫草周期为 60d,其中前 30d 主要是菌丝体生长,因此,取样时间范围定为从子实体原基突起长成子实体至子实体衰老、子囊果大部分脱落这一阶段,分别在北虫草接种后的第 35、40、45、50、55、60、65、70d 取样,每次平行取不同菌株样品 5 份。

收稿日期: 2011-03-07

修回日期: 2011-04-21

* 科学技术部“十一五”国家 863 计划重点项目(2007AA021502):北冬虫夏草人工替代品规模化生产关键技术,负责人:唐亮。

** 通讯作者:唐亮,博士,主要研究方向:工商管理,Tel:021-53968185,E-mail:tl_sh@126.com。

3. 测定方法

(1) 虫草素和腺苷含量的测定。

按照高效液相色谱法(药典 2000 版附录 VID)^①。色谱柱: C₁₈ 柱, 流动相: 甲醇: 水=15: 85, 检测波长: 258nm, 称样量: 0.25g/25mL, 进样量: 20 μ L, 计算方法: 外标法。

(2) 虫草多糖含量的测定。

按照中华人民共和国农业行业标准 NY/T 1676-2008, 对样品中的多糖进行测定。

二、结果与分析

1. 测定结果的方差分析

运用 SAS 软件, 对不同生长时期的北虫草的虫草素、腺苷和虫草多糖含量的测定结果进行了方差分析。分析结果显示, 5 份平行样品之间上述 3 种生物活性成分的含量均无显著差异 ($P>0.05$), 表明这 3 种成分的变化规律对工业化培育北虫草的各菌株普遍适用, 没有菌株依赖性。

2. 虫草素含量的变化

因为各平行样品的虫草素含量间无显著差异, 所以将北虫草不同生长时期的虫草素含量取了平均值, 结果见表 1 和图 1。从图表中可以看到随着生长时间增长, 虫草素含量一直呈增高趋势。虫草生长的第 35~50d, 虫草素含量的增加比较缓慢, 从第 50d 开始, 虫草素含量急剧增高, 第 70d 的虫草素含量是第 50d 的 3.47 倍。

3. 腺苷含量的变化

因为各平行样品的腺苷含量间无显著差异, 所以将北虫草不同生长时期的腺苷含量取了平均值, 结果见表 2 和图 2。结果显示, 培育前期腺苷含量的高低变化比较明显: 从生长第 35~40d, 腺苷含量增高了 2.6 倍。从第 50~70d, 腺苷含量在 0.10% 上下波动, 相对较稳定。

4. 虫草多糖含量的变化

因为各平行样品的虫草多糖含量间无显著差异, 所以将北虫草不同生长时期的虫草多糖含量取了平均值, 结果见表 3 和图 3。结果显示, 生长到 35~70d, 虫草多糖的含

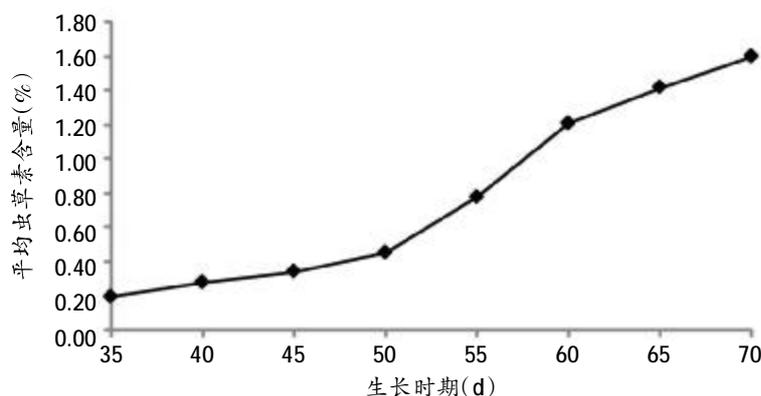


图 1 不同生长时期虫草素含量的变化

表 1 不同生长时期的虫草素含量(\bar{x})

生长时期(d)	35	40	45	50	55	60	65	70
平均虫草素(%)	0.20	0.28	0.35	0.46	0.78	1.21	1.42	1.60

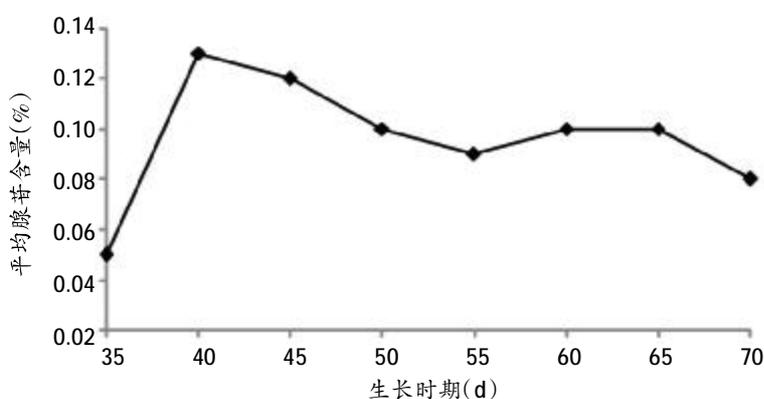


图 2 不同生长时期腺苷含量的变化

表 2 不同生长时期的腺苷含量(\bar{x})

生长时期(d)	35	40	45	50	55	60	65	70
平均腺苷(%)	0.05	0.13	0.12	0.10	0.09	0.10	0.10	0.08

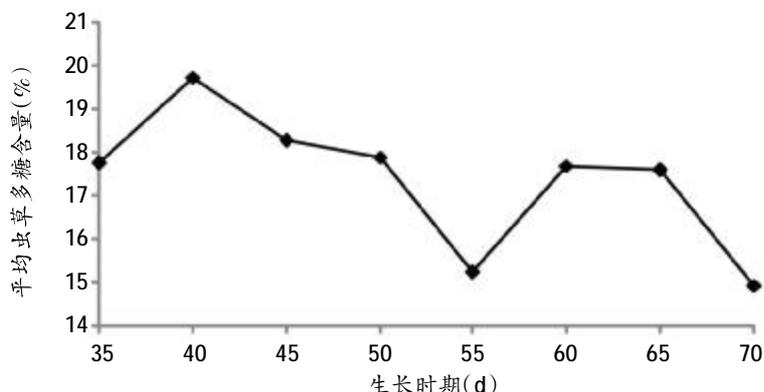


图 3 不同生长时期虫草多糖含量的变化

表 3 不同生长时期的虫草多糖含量(\bar{x})

生长时期(d)	35	40	45	50	55	60	65	70
平均虫草多糖(%)	17.76	19.74	18.29	17.9	15.22	17.70	17.61	14.93

量变化不大,第40d时虫草多糖含量最高,为19.74%,第70d最低,为14.93%。此外,在第50d、55d、60d,虫草多糖含量的变化呈V字型,经历了急剧降低又迅速回升的过程。

三、讨 论

北虫草富含多种药理活性物质,其中虫草素、腺苷和虫草多糖的药用价值最为显著。虫草素是一种具有抗菌活性的核苷类物质,对核多聚腺苷酸聚合酶有很强的抑制作用^[6];腺苷则是一种遍布人体细胞的内源性核苷,可直接进入心肌经磷酸化生成腺苷酸,参与心肌能量代谢;虫草多糖是一种高度分枝的半乳甘露聚糖,能促进淋巴细胞转化,提高血清IgG的抗体含量和机体的免疫功能,增强机体自身抗癌抑癌的能力^[7]。

根据本文研究结果,在工厂化培育北虫草的培养周期内,生长时间越长,北虫草子实体中虫草素的含量越高,因此,如果作为抗菌抗癌用药或是提取虫草素的原材料,工厂化培育的北虫草越晚采收越好;如果作为心血管用药或是免疫调节剂,则在北虫草接种后的40d左右采收较好,因为此时腺苷和虫草

多糖含量较其他时间更高。当然,工业化培育北虫草还受到产量、成本、能耗等多方面因素的影响,要实现更大经济效益,还需将要药理活性成分含量的变化规律与这些因素综合起来考虑,以确定合理的工业化北虫草采收时间。

参考文献

- 1 崔星明. 食(药)用真菌种质资源研究. 上海农业学报, 2000, 16 (3):94~96.
- 2 邵力平. 真菌分类学. 北京: 中国林业出版社, 1984:109.
- 3 郑晴霞, 彭菲, 王凤翔. 蛹虫草的人工培育及组织学研究. 湖南农业大学学报, 1995, 21(6):581.
- 4 张显科, 刘文霞. 不同培养料栽培蛹虫草实验研究. 中国食用菌, 1997, 16(2):21.
- 5 国家药典委员会. 中华人民共和国药典第一部. 北京: 化学工业出版社, 2000:89~499.
- 6 Xiaoxia Zhou, Claudius U. Meyer, Peter Schmidtke, et al. Effect of cordycepin on interleukin - 10 productions of human peripheral blood mononuclear cells. European Journal of Pharmacology, 2002, (453):309~317.
- 7 Yua R M, Wang L, Zhang H, et al. Isolation, purification and identification of polysaccharides from cultured Cordyceps militaris. Fitoterapia, 2004, 75(7-8):662-666.

Study on Changing Rules of Bioactive Ingredients in Industrial Bred Cordyceps militaris

Zhang Qian, Tang Yongfan, Tang Liang, Xu Sanmei

(Shanghai Guobao Enterprise Development Center, Shanghai 201203, China;

Shanghai Guobao Bioengineering Institute, Shanghai 201203, China)

Abstract: This study aimed to identify changing rules of main contents of bioactive ingredients in the Cordyceps militaris. Contents of cordycepin, adenosine and cordyceps polysaccharide in industrial bred Cordyceps militaris are monitored by high-performance liquid chromatography (HPLC) and phenol-sulfuric acid method. The results showed that during studied period, the content of cordycepin raises along with the increased breeding time. The contents of both adenosine and cordyceps polysaccharide reach the peak value on the 40th days. This study result provides guidance for the industrial breeding of Cordyceps militaris. Content of bioactive ingredients in the Cordyceps militaris can be reasonably and effectively controlled.

Keywords: Cordyceps militaris, cordycepin, adenosine, cordyceps polysaccharide

(责任编辑:李沙沙,责任译审:王 晶)