

## 台湾线虫草人工培养物及其培养基成分分析

李扬眉, 丁海燕, 张颖裕, 李春如\*

(安徽农业大学微生物防治省重点实验室, 合肥 230036)

**摘要:** 对台湾线虫草摇瓶培养菌丝体、深层发酵菌丝体、固体培养子实体及除去子实体后的培养基等 4 种样品的多种成分进行了比较分析。结果表明, 粗脂肪、多糖在摇瓶菌丝体与发酵菌丝体的含量相当, 均高于子实体; 粗蛋白在摇瓶菌丝体、深层发酵菌丝体和子实体中的含量接近且较丰富; 甘露醇和胞苷在深层发酵菌丝体中的含量较高, 分别为  $3.41$  和  $2.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 麦角甾醇在子实体中含量最高, 达  $6.75 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 腺苷含量比较结果为, 摇瓶菌丝体( $1.57 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )>子实体( $1.32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )>深层发酵菌丝体( $0.96 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )>培养基( $0.61 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ); 常量元素 Ca、Mg 在摇瓶菌丝体( $3.30\times 10^2$ ,  $3.98\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )、深层发酵菌丝体( $6.71\times 10^2$ ,  $3.00\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )和子实体( $1.51\times 10^3$ ,  $3.2\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )的含量较为丰富; 微量元素 Zn、Cu 在子实体中的含量最高, Fe、Mn、Ni 和 Se 在深层发酵菌丝体中的含量最高; 摇瓶菌丝体中的 As 和 Cd 及深层发酵菌丝体中的 As 含量均低于  $0.20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 子实体中未检测出 Pb 的含量。

**关键词:** 台湾线虫草; 黄山被毛孢; 子实体; 菌丝体; 有效成分

中图分类号: Q939.99

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)06-0988-06

### Effective components in artificial culture of *Ophiocordyceps formosana* and its culture media

LI Yangmei, DING Haiyan, ZHANG Yingyu, LI Chunru

(Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Control, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** Various components in four samples of *Ophiocordyceps formosana* artificial cultures, i.e., flask culture mycelia, fermentative mycelia, solid culture fruiting bodies, and the culture media, were determined. The result showed that the contents of crude fat and polysaccharides were similar in flask culture mycelia and fermentative mycelia, higher than those in fruiting bodies. The content of crude protein was high and similar in flask culture mycelia, fermentative mycelia, and fruiting bodies. The contents of mannitol ( $3.41 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) and cytidine ( $2.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) were highest in fermentative mycelia and ergosterol ( $6.75 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) was highest in fruiting bodies. The content of adenosine was  $1.57 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  in flask culture mycelia,  $1.32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  in fruiting bodies,  $0.96 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  in fermentative mycelia, and  $0.61 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  in solid culture residues. The contents of macro-elements Ca and Mg were high in flask culture mycelia ( $3.30\times 10^2$ ,  $3.98\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), fermentative mycelia ( $6.71\times 10^2$ ,  $3.00\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), and fruiting bodies ( $1.51\times 10^3$ ,  $3.2\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). The contents of micro-elements Zn and Cu were highest in fruiting bodies and Fe, Mn, Ni and Se were highest in fermentative mycelia. The contents of As and Cd in flask culture mycelia and As in fermentative mycelia were lower than  $0.20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . The content of Pb in fruiting bodies was too low to be detected.

**Key words:** *Ophiocordyceps formosana*; *Hirsutella huangshanensis*; fruiting bodies; mycelia; effective components

泛义的虫草属包含了较多的真菌种类, 冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)是其中最著名的一个种。截至到 2014 年 3 月, 国际真菌名录数据库列出的种名已达 536 种, 目前在中国报道的已知虫草类真菌约 139 种<sup>[1]</sup>。很多种类具有抗病毒、抗肿瘤、

抗辐射、抗菌杀虫、提高人体免疫力等作用, 这在医药、食品和农业上具有重要的意义<sup>[2-6]</sup>。

台湾线虫草(*Ophiocordyceps formosana*)于 1981 年在台湾被首次发现, 2002 年发现在中国大陆黄山地区也有分布<sup>[7]</sup>, 并应用经典的分离方法得到其无

收稿日期: 2014-03-09

基金项目: 国家自然科学基金(30570004)和国家高技术研究发展计划项目(863 计划)(2007AA021506)共同资助。

作者简介: 李扬眉, 硕士研究生。E-mail: liyangmei89@163.com

\* 通信作者: 李春如, 博士, 教授。E-mail: chunruli@hotmail.com

性型, 经形态和分子生物学方法确证其无性型为一被毛孢属新种, 并命名为黄山被毛孢(*Hirsutella huangshanensis*)<sup>[8-9]</sup>。研究发现, 台湾线虫草中含有较多生物活性成分, 高分辨液质联用分析<sup>[10]</sup>初步推断天然台湾线虫草子实体提取物中可能含有甘露醇、醌茜素、油酸、麦角甾醇、硬脂酸、软脂酸及油酸等生物活性成分。此外, 其无性型黄山被毛孢菌丝体提取物中含有色素醌茜素和较强抑制 CHO 细胞的活性成分<sup>[11-12]</sup>。目前, 台湾线虫草子实体的人工培育技术已申请了发明专利<sup>[13]</sup>, 基本解决了野生台湾线虫草生长环境苛刻且资源不足的难题。成分分析是虫草资源开发的基础, 但是, 台湾线虫草的无性型菌丝体和人工培养子实体的成分较为系统的分析研究还未见报道。

本研究选用台湾线虫草的无性型—黄山被毛孢, 对其摇瓶培养菌丝体、深层发酵菌丝体、固体培养子实体及除去子实体的培养基的成分进行了分析, 为进一步研究台湾线虫草毒理和药理作用和开发出新的冬虫夏草替代品提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品来源** 黄山被毛孢 RCEF 0868 菌株由安徽农业大学虫生真菌研究中心提供。该菌株已保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏号为 CGMCC No. 4147。

摇瓶培养菌丝、子实体及培养基经冻干、粉碎, 密封保藏于 4℃ 冰箱中, 备用。深层发酵菌丝体用 30L 小型发酵罐于 25℃ 液体发酵培养 10 d, 经过滤、无菌水润洗 3 次后所得, 45℃ 烘干, 粉碎, 密封保藏于 4℃ 冰箱中, 备用。

**1.1.2 试剂和仪器** 试剂: 腺苷、胞苷、麦角甾醇标准样品购自美国 Sigma 公司, 甲醇为进口色谱纯, 其他试剂为国产分析纯。

主要仪器: SFL30-300L\*2 液体发酵设备(江苏大学); 冷冻干燥系统 LABCONCO FreeZone12(美国); 高效液相色谱(HPLC)分析仪(岛津公司); 全波长扫描酶标仪 Spectra Max M2(美国 Molecular device 公司); ICP6300(美国 Thermo Electron)。

**1.1.3 培养基** 摇瓶培养、深层发酵及固体培养的营养液均相同: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 10 g, 麦芽糖 10 g, 蛋白胨 10 g, MgSO<sub>4</sub> 1.5 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g, 柠檬酸三胺 0.4 g, 复合维生素 B 4 片·L<sup>-1</sup>, 加蒸馏水至 1000 mL, 1×10<sup>5</sup> Pa 灭菌 20 min。固体培养以大米为介质, 料液比为 1:2。

### 1.2 测定方法

**1.2.1 一般营养成分测定** 利用 HB43 Halogen Moisture Analyzer, 测定水分含量; 根据 GB/T15674-2009, 利用索氏提取法<sup>[14]</sup>测定粗脂肪的含量; 根据 GB/T15673-2009, 用微量凯氏定氮法<sup>[15]</sup>, 采用 SKD-200 型自动凯氏定氮仪测定粗蛋白的含量。

**1.2.2 多糖测定** 采用苯酚—硫酸法测定<sup>[16]</sup>。称取 1 g 待测样品, 溶于 40 mL 水中, 放置于 80℃ 水浴锅中浸提 2 次, 每次浸提 2 h。浸提后过滤, 将滤液浓缩。加入 3 倍体积的 95%乙醇进行醇沉(4℃ 冰箱中静置过夜), 抽滤分离, 弃上清液, 沉淀即为粗多糖, 烘干后备用。

**1.2.3 甘露醇测定** 采用高碘酸钠比色法<sup>[17]</sup>测定。精密量取样品溶液 100 μL, 加入 10 mL 刻度试管中, 加 1 mL 高碘酸钠溶液, 混匀, 室温放置 10 min, 加入 2 mL 0.1% L-鼠李糖溶液以除去过多的高碘酸钠, 混合后加 4 mL 新配制的 Nash 试剂于 53℃ 水浴加热 15 min 使其显色; 之后迅速冷却至室温, 利用 Spectra M2 酶标仪在 412 nm 处测定吸光度, 进行分析。以蒸馏水代替样品溶液, 用同样的方法操作作为对照, 测定其吸光度。

**1.2.4 麦角甾醇测定** 采用高效液相色谱法<sup>[14]</sup>。以 CHCl<sub>3</sub> 为溶剂, 配制系列浓度的麦角甾醇标准品溶液。精密称取 0.1 g 样品, 置于 20 mL 容量瓶, 用 CHCl<sub>3</sub> 定容, 超声波震荡 30 min, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 吸取 1 mL 上清液, 旋转蒸干。加 1 mL 甲醇溶解, 超声波震荡 30 min, 10000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 取上清 400 μL 供 HPLC 分析用。色谱柱为 Waters Spherisorb 5 μm ODS2, HPLC 色谱条件: 流动相 100%甲醇, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>; UV 检测波长 254 nm; 进样量 20 μL; 温度 40℃。

**1.2.5 核苷测定** 采用高效液相色谱法进行测定。参考丁婷的方法<sup>[18]</sup>对样品进行处理, 并用 70%的乙醇配制一系列标准样品。色谱柱为 Atantis dC18 5 μm 3.9 mm×150.0 mm, HPLC 色谱条件<sup>[19]</sup>: 流动相水: 甲醇=85:15; 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; UV 检测波长 260 nm; 进样量 10 μL; 温度 30℃。

**1.2.6 无机元素测定** 用 ICP6300 测定。将菌粉于 80℃ 烘干。精密称取 0.5 g 样品, 加 4 mL HNO<sub>3</sub>、1 mL HClO<sub>4</sub>, 稍稍震荡后, 于电热板加热。先低温后高温, 温度不超过 180℃。直到白烟冒尽, 溶液加热近干, 停止加热。冷却后加入 10 mL 去离子水, 超声混匀<sup>[20]</sup>。点火时的等离子状态: RF 1150, 泵速 50, 辅助气流量 0.5, 雾化器体流量 0.6。进样 5 mL, 检测。

### 1.3 数据分析

采用 SPSS17.0 软件对实验数据进行统计分析, 差异显著性水平为 0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 一般营养成分的比较分析

台湾线虫草 3 种培养物及其培养基的一般营养成分的含量见表 1。

结果表明, 摇瓶菌丝体(2.45 g·100g<sup>-1</sup>)与发酵菌丝体(2.30 g·100g<sup>-1</sup>)的粗脂肪含量相当, 均高于子实体和培养基中的粗脂肪含量(1.74 和 1.03 g·100g<sup>-1</sup>)。摇瓶菌丝体、深层发酵菌丝体和子实体中的粗蛋白含量差异不显著, 分别为 29.97、32.92 和 31.42 g·100g<sup>-1</sup>, 均高于培养基(12.66 g·100g<sup>-1</sup>)。与野生冬虫夏草的相应成分比, 台湾线虫草 3 种培

养物中粗脂肪含量均低于野生冬虫夏草(4.90 g·100g<sup>-1</sup>), 但是, 粗蛋白含量均高于野生冬虫夏草(25.30 g·100g<sup>-1</sup>)<sup>[21]</sup>。

### 2.2 多糖、甘露醇、麦角甾醇的分析

由表 2 可知, 4 种样品中多糖含量、甘露醇含量、麦角甾醇含量差异显著。多糖含量比较结果为: 摇瓶菌丝体(63.52 mg·g<sup>-1</sup>)>深层发酵菌丝体(62.91 mg·g<sup>-1</sup>)>子实体略低(53.52 mg·g<sup>-1</sup>)>培养基(25.19 mg·g<sup>-1</sup>)。深层发酵菌丝体中甘露醇含量最高达到 3.41 mg·g<sup>-1</sup>, 显著高于培养基中的含量(1.00 mg·g<sup>-1</sup>)。与野生冬虫夏草(88.32、78.45 mg·g<sup>-1</sup>)<sup>[22]</sup>比, 台湾线虫草 3 种培养物的多糖、甘露醇含量均略低。麦角甾醇含量比较结果为: 子实体(6.75 mg·g<sup>-1</sup>)>摇瓶菌丝体(4.58 mg·g<sup>-1</sup>)>深层发酵菌丝体(2.97 mg·g<sup>-1</sup>)>培养基(1.98 mg·g<sup>-1</sup>)。

表 1 台湾线虫草 3 种人工培养物及基质一般营养成分比较

成分 Component	摇瓶菌丝体 Flask culture mycelia	深层发酵菌丝体 Fermentative mycelia	子实体 Solid culture fruiting body	培养基 Culture medium
水分 Moisture	6.57±0.17 <sup>b</sup>	7.41±0.25 <sup>a</sup>	7.64±0.15 <sup>a</sup>	5.54±0.04 <sup>c</sup>
粗脂肪 Crude fat	2.45±0.15 <sup>a</sup>	2.30±0.00 <sup>a</sup>	1.74±0.14 <sup>b</sup>	1.03±0.02 <sup>c</sup>
粗蛋白 Crude protein	29.97±0.94 <sup>a</sup>	32.92±0.83 <sup>a</sup>	31.42±1.51 <sup>a</sup>	12.66±0.67 <sup>b</sup>

注: 表中所列数值为平均值±标准误差。下同。Note: the data in the table are average value ± standard error. The same below.

表 2 台湾线虫草 3 种人工培养物及基质中多糖、甘露醇、麦角甾醇的比较

成分 Component	摇瓶菌丝体 Flask culture mycelia	深层发酵菌丝体 Fermentative mycelia	子实体 Solid culture fruiting	培养基 Culture medium
多糖 Polysaccharide	63.52±0.25 <sup>a</sup>	62.91±0.20 <sup>a</sup>	53.52±3.46 <sup>b</sup>	25.19±0.48 <sup>c</sup>
甘露醇 Mannitol	2.11±0.01 <sup>c</sup>	3.41±0.02 <sup>a</sup>	2.40±0.01 <sup>b</sup>	1.00±0.01 <sup>d</sup>
麦角甾醇 Ergosterol	4.58±0.24 <sup>b</sup>	2.97±0.02 <sup>c</sup>	6.75±0.10 <sup>a</sup>	1.98±0.01 <sup>d</sup>

表 3 台湾线虫草 3 种人工培养物及基质中腺苷和胞苷含量

核苷 Nucleoside	摇瓶菌丝体 Flask culture mycelia	深层发酵菌丝体 Fermentative mycelia	子实体 Solid culture fruiting	培养基 Culture medium
腺苷 Adenosine	1.57±0.10 <sup>a</sup>	0.96±0.01 <sup>c</sup>	1.32±0.02 <sup>b</sup>	0.61±0.00 <sup>d</sup>
胞苷 Cytidine	0.75±0.12 <sup>c</sup>	2.44±0.11 <sup>a</sup>	1.33±0.23 <sup>b</sup>	0.29±0.04 <sup>c</sup>

### 2.3 核苷含量的分析

核苷类成分为虫草的主要有效成分之一, 具有扩张心脏和外周血管的药效作用, 其中尤以腺苷的作用最为显著, 且已作为质控指标。腺苷具有防止心律失常, 改善心脑血管血液循环等多种药理作用<sup>[19,23]</sup>。由表 3 可知, 腺苷含量比较结果为: 摇瓶菌丝体(1.57 mg·g<sup>-1</sup>)>子实体(1.32 mg·g<sup>-1</sup>)>深层发酵菌丝体(0.96 mg·g<sup>-1</sup>)>培养基(0.61 mg·g<sup>-1</sup>)。胞苷在深层发酵菌丝体中的含量最高, 为 2.44 mg·g<sup>-1</sup>, 显著高于摇瓶

菌丝体(0.75 mg·g<sup>-1</sup>)、子实体(1.32 mg·g<sup>-1</sup>)和培养基(0.29 mg·g<sup>-1</sup>)。与野生冬虫夏草相比, 除了培养基, 台湾线虫草 3 种培养物中腺苷、胞苷的含量均显著高于野生冬虫夏草(0.58, 0.46 mg·g<sup>-1</sup>)<sup>[21,24]</sup>。

### 2.4 无机元素的分析

由表 4 可知, 台湾线虫草 3 种人工培养物及基质中均含有丰富的代谢所必须的 Ca、Fe、Mg、Cu、Zn、Se 等多种矿质元素。Mg 在摇瓶菌丝体、深层发酵菌丝体和子实体中的含量相当丰富, 均显

著高于培养基, 是野生冬虫夏草( $14.20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )<sup>[25]</sup> 的其他 3 种培养物的 2~5 倍, 略高于野生冬虫夏草的 200 多倍。Ca 在子实体( $1.51\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )中的含量 ( $1.2\times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )<sup>[21]</sup>。

表 4 台湾线虫草 3 种人工培养物及基质中无机元素的含量

Table 4 Contents of inorganic elements in three kinds of artificial culture of *Ophiocordyceps formosana* and its culture media  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

元素 Element	摇瓶菌丝体 Flask culture mycelia	深层发酵菌丝体 Fermentative mycelia	子实体 Solid culture fruiting	培养物残基 Culture medium
Mg	$3.98\times 10^3$	$3.00\times 10^3$	$3.2\times 10^3$	$8.78\times 10^2$
Ca	$3.30\times 10^2$	$6.71\times 10^2$	$1.51\times 10^3$	$2.68\times 10^2$
Zn	27.7	73.98	97.31	14.63
Cu	5.2	12.86	21.05	1.31
Fe	69.47	$2.45\times 10^2$	30.69	10.28
Mn	4.19	18.47	10.17	3.81
Ni	2.95	12.38	3.04	0.35
Se	0.25	0.54	0.2	<0.20
Al	4.45	21.02	<0.20	11.9
As	<0.20	<0.20	0.71	0.22
Cd	<0.20	0.48	0.80	<0.20
Pb	0.35	1.39	0	0

微量元素 Zn、Cu 在子实体中的含量显著高于其他 3 种培养物。Zn 与核酸及蛋白质的合成及对细胞的生长有密切的关系, Cu 是保持农作物和畜禽健康成长必需的微量营养素, 子实体 Cu 的含量( $21.05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )明显高于野生冬虫夏草( $12.60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )。微量元素 Fe、Mn、Ni、Se 在深层发酵菌丝体中的含量显著高于其他 3 种培养物。其中, Ni 的含量是摇瓶菌丝体和子实体中的含量的 4 倍。深层发酵菌丝体中 Se 的含量是摇瓶菌丝体和子实体中的 2 倍, 是野生冬虫夏草( $0.18 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )的 3 倍<sup>[21]</sup>。

Al 在深层发酵菌丝体中的含量明显高于另外 3 种培养物, 子实体中 Al 的含量甚微。As、Cd、Pb 是对人体有害的 3 种微量元素。摇瓶菌丝体中 As、Cd 的含量均小于  $0.20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 深层发酵菌丝体中 As 的含量小于  $0.20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Cd 的含量为  $0.48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。子实体中 As、Cd 的含量相对较高, 分别为  $0.71 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.80 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。子实体和培养基中均未检出 Pb 的含量, 深层发酵菌丝体中为  $1.39 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 高于摇瓶菌丝体( $0.35 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )中 Pb 的含量, 但均显著低于天然冬虫夏草中 Pb 的含量( $2.80 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )<sup>[21]</sup>。

### 3 讨论

粗脂肪、多糖、甘露醇、胞苷及微量元素 Fe、Mn、Ni、Se 在深层发酵菌丝体中的含量明显高于子实体, 而腺苷、麦角甾醇及常量元素 Ca 在子实体中的含量显著高于深层发酵菌丝体, 说明不同的培养工艺对菌丝体和子实体生长过程中营养成分的

形成、转化和积累影响较大, 因而参考不同成分的营养价值和药效作用, 可以选择不同的培养工艺。液体深层发酵可以大量快速的生产虫草菌丝体, 深层发酵菌丝体的腺苷和麦角甾醇含量明显低于摇瓶菌丝体, 其他成分含量相当, 可以通过培养基和发酵条件的改进, 提高发酵产物中生物活性物质的产量。

3 种人工培养物中的粗蛋白、腺苷、胞苷的含量均高于野生冬虫夏草, 而粗脂肪含量均低于冬虫夏草<sup>[21,24]</sup>, 可考虑通过台湾线虫草的人工培养开发出令人满意的蛋白、核酸食品和营养保健品, 解决野生虫草资源贫乏的问题, 同时也满足人们对蛋白和核酸食品日益增加的需求。

虫草多糖是传统的滋补强壮药, 是虫草的主要有效成分之一, 能够增强人体免疫力, 还具有降血脂、血糖、胆固醇和脂蛋白, 抗辐射, 延缓衰老等多种药理作用<sup>[26-28]</sup>, 甘露醇便是其中被有关学者所熟知的一种, 具有利尿脱水、镇咳平喘祛痰和消除人体内强毒性自由基等多种药理作用<sup>[29]</sup>。台湾线虫草的多糖、甘露醇的含量较野生冬虫夏草略低<sup>[22]</sup>, 可考虑人工培养条件的改善等以提高培养物中多糖类物质的含量, 以进一步提高其食药价值。

Mg 和 Ca 是哺乳动物和人类正常生命活动所必需的常量元素, Mg 有助于调节人的心脏活动、降低血压、预防心脏病, Ca 除了是骨骼发育的基本原料外, 还具有参与神经递质的释放、调节酶的活性等多种代谢功能。Se 是人体必需的微量元素, 研究

报道 Se 具有提高动物免疫力作用<sup>[30]</sup>, 为国际医学界公认的抗癌元素<sup>[31-32]</sup>, 人体缺 Se 可引起某些重要器官的功能失调, 导致许多严重疾病发生。粗蛋白及常量元素 Mg 在 3 种培养物中的含量相当而且丰富, 说明在菌丝体和子实体的生长过程中蛋白质的合成比较稳定。有害元素 As、Cd、Pb 在这 3 种培养物不含或者含量甚微, 从食用的角度考虑, 菌丝体和子实体对机体没有危害。

台湾线虫草的固体培养基质的多种测定成分含量均比 3 种人工培养物低, 蛋白、微量元素、腺苷等成分含量低比较容易理解, 但是多糖含量也略低。初步分析认为虽然米饭中含有较多的淀粉质, 但是由于大米淀粉的自身特性及培养基粘性很大, 被水解或降解的可溶性多糖大部分已被菌丝生长所利用, 而本文检测到的多糖应是少量未被利用的可溶性多糖及菌体代谢过程中分泌的胞外多糖<sup>[33]</sup>, 究其原因可待进一步研究。另外, 培养物残基中 As、Cd 含量极低, 不含 Pb, 可以考虑作为饲料加工的原料。

#### 4 结论

台湾线虫草 3 种人工培养物中不仅含有丰富的蛋白质和多糖, 而且含有甘露醇、麦角甾醇、核苷、Mg、Ca、Fe、Zn、Se 等营养和有效成分。这些成分在 3 种培养物中的含量不尽相同。粗脂肪、多糖、甘露醇、胞苷及微量元素 Fe、Mn、Ni、Se 在深层发酵菌丝体中的含量高于子实体, 而腺苷、麦角甾醇及常量元素 Ca 在子实体中的含量又显著高于深层发酵菌丝体; 液体培养条件下, 摇瓶菌丝体的腺苷、麦角甾醇略高于深层发酵菌丝体, 其他相关成分在深层发酵菌丝体中较高。为了提高低含量有效成分的产量及最大化积累高含量的营养成分, 台湾线虫草的人工培养条件和培养工艺的优化有待深入研究。

与冬虫夏草相比, 从无性型菌丝体和固体培养子实体相关成分的含量看, 台湾线虫草具有冬虫夏草相似的营养价值和药用价值。

#### 参考文献:

- [1] 宋斌, 林群英, 李泰辉, 等. 中国虫草属已知种类及其分布[J]. 菌物研究, 2006, 4(04): 10-26.
- [2] Chen J Y, Lee S, Cao Y Q, et al. Ethnomycological use of medicinal Chinese caterpillar fungus, *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G. H. Sung et al. (Ascomycetes) in Northern Yunnan Province, SW China[J]. Int J Med Mushrooms, 2010, 12 (4): 427-434.
- [3] Chu H L, Chien J C, Duh P D. Protective effect of *Cordyceps militaris* against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells[J]. Food Chem, 2011, 129 (3): 871-876.
- [4] Gao B A, Yang J, Huang J, et al. *Cordyceps sinensis* extract suppresses hypoxia-induced proliferation of rat pulmonary artery smooth muscle cells[J]. Saudi Med J, 2010, 31(9): 974-979.
- [5] Kim H G, Song H, Yoon D H, et al. *Cordyceps pruinosa* extracts induce apoptosis of HeLa cells by a caspase dependent pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 128(2): 342-351.
- [6] Wu M F, Li P C, Chen C C, et al. *Cordyceps Sobolifera* extract ameliorates lipopolysaccharide-induced renal dysfunction in the rat[J]. Am J Chinese Med, 2011, 39(3): 523-535.
- [7] Li C R, Fan M Z, Huang B, et al. The genus *Cordyceps* and its allies from Anhui I [J]. Mycosystema, 2002, 21 (2): 167-171.
- [8] 李春如, 夏成润, 林英任, 等. 台湾虫草的被毛孢无性型新种及其对黄粉虫的侵染研究[J]. 菌物学报, 2005, 24(3): 349-355.
- [9] 左登平, 李春如, 黄勃, 等. 台湾虫草及其无性型关系的分子确证[J]. 菌物学报, 2008, 27(02): 224-229.
- [10] 何亚琼, 胡丰林, 王金彬, 等. 台湾虫草子实体提取物高分辨液质联用分析[J]. 安徽医药, 2010(03): 265-267.
- [11] 何亚琼, 胡丰林, 左登平, 等. 一种被毛孢中天然色素的提取分离和结构鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(11): 121-124.
- [12] Lu R L, Bao G H, Hu F L, et al. Comparison of cytotoxic extracts from fruiting bodies, infected insects and cultured mycelia of *Cordyceps formosana*[J]. Food Chem, 2014, (145): 1066-1071.
- [13] 李春如, 樊美珍, 董建飞. 一种人工培养台湾虫草子实体的方法: 中国, 102138437A[P]. 2011-08-03.
- [14] Yuan J P, Wang J H, Liu X. Distribution of free and esterified ergosterols in the medicinal fungus *Ganoderma lucidum*[J]. Appl Microbiol Biot, 2007, 77 (1): 159-165.
- [15] GB/T 15674-2009 食用菌中粗脂肪含量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [16] 鲁晓岩. 硫酸—苯酚法测定北冬虫夏草多糖含量[J]. 食品工业科技, 2002(4): 69-70.
- [17] 董钰明, 刘晖, 张军, 等. 比色法测定复方虫草颗粒中甘露醇的含量[J]. 中草药, 2001(8): 28-30.
- [18] 丁婷, 胡丰林, 耿德贵, 等. 冬虫夏草及其无性型菌株发酵液中核苷类成分的 hplc 法定量分析[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(6): 97-99.
- [19] Li S P, Su Z R, Dong T T X, et al. The fruiting body and its caterpillar host of *Cordyceps sinensis* show close resemblance in main constituents and anti-oxidation activity[J]. Phytomedicine, 2002, 9 (4): 319-324.
- [20] 万婕, 刘成梅, 刘伟, 等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法分析不同产地大豆中的矿物元素含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(2): 543-545.
- [21] Li C R, Li Z Z, Fan M Z, et al. The composition of *Hirsutiella sinensis*, anamorph of *Cordyceps sinensis*[J]. J Food Compos Anal, 2006, 19(8): 800-805.

- [22] 陈安徽, 李春如, 葛飞, 等. 古尼拟青霉小孢变种的主要有效成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 124-126.
- [23] Wang S W, Shiao M S. Pharmacological functions of Chinese medicinal fungus *Cordyceps sinensis* and related species[J]. J Food Drug Anal, 2000, 8 (4): 248-257.
- [24] 陈安徽, 邵颖, 樊美珍, 等. 细脚拟青霉深层发酵菌丝体核苷类成分分析[J]. 食品科学, 2009, 28(6): 235-237.
- [25] 陈安徽, 陈宏伟, 夏成润, 等. 几种虫草无性型菌株深层发酵菌丝体的有效成分分析[J]. 徐州工程学院学报, 2007(2): 5-9; 21.
- [26] Liu H G, Li T, Zhao Y L, et al. Determination of some metabolites of *Cordyceps sobolifera*[J]. Afr J Microbiol Res, 2011, 5(30): 5518-5522.
- [27] Deng G C, Hou S M, Tian D M, et al. Separation and determination of selenium polysaccharide in enriched-Se *Cordyceps militaris*[J]. Spectrosc Spect Anal, 2006, 26(3): 522-525.
- [28] Wang Y, Wang M, Ling Y, et al. Structural determination and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps sinensis*[J]. Am J Chinese Med, 2009, 37 (5): 977-989.
- [29] 孙成秀, 廖纪录, 龙小慧, 等. 甘露醇的临床新用途[J]. 新医学, 1996(1): 41-42.
- [30] Ryan-Harshman M, Aldoori W. The relevance of selenium to immunity, cancer, and infectious/inflammatory diseases[J]. Canadian Journal of Dietetic Practice and Research, 2005, 66(2): 98-102.
- [31] Thiry C, Ruttens A, De T L, et al. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food[J]. Food Chem, 2012, 130(4): 767-784.
- [32] Yan J, Wang F, Qin H B, et al. Natural variation in grain selenium concentration of wild barley, *hordeum spontaneum*, populations from Israel[J]. Biol Trace Elem Res, 2011, 142 (3): 773-786.
- [33] 秦俊哲, 张洁, 陈合, 等. 灵芝新型固体发酵菌质中活性成分的研究[J]. 食用菌, 2005(1): 8-10.