

翁 梁,温 鲁. 不同配方下固体培养蛹虫草活性成分含量比较[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):351-353.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.125

不同配方下固体培养蛹虫草活性成分含量比较

翁 梁¹,温 鲁²

(1. 江苏食品药品职业技术学院食品与营养工程学院,江苏淮安 223003; 2. 淮阴师范学院资源微生物研究所,江苏淮安 223300)

摘要:以蚕蛹、黄豆、玉米糝、蛋白胨为原料固体栽培蛹虫草,研究不同配方培养基对蛹虫草虫草素、腺苷、多糖、虫草酸含量的影响。结果表明,配方 5 下蛹虫草虫草素含量最高,配方 1 下腺苷含量最高,配方 4 下多糖、虫草酸含量最高,在纯蛹培养基中添加适量黄豆、玉米糝、蛋白胨有利于蛹虫草活性物质的提高。

关键词:蛹虫草;配方培养基;虫草素;腺苷;多糖;虫草酸

中图分类号: S567.3⁺50.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)11-0351-02

蛹虫草[*Cordyceps militaris* (L. ex Fr.) Link]别称北冬虫夏草、北虫草等,是冬虫夏草的近缘种,也是虫草属真菌的模式种^[1],其活性成分和医疗保健功效与冬虫夏草相近。冬虫夏草由于生境特殊、寄主单一、产量较低,加之人工培育技术难以突破,市场价格高昂。蛹虫草可以进行人工培育,其主要活性成分有虫草素、腺苷、多糖、虫草酸,特别是虫草素含量远高于冬虫夏草^[2],在药理或临床试验中可作为冬虫夏草的替代品。蛹虫草人工培养方式有固体培养、液体发酵、有蚕培养、蛹培养,还有用大米、小麦代料栽培或添加微量元素等,并在一些地区形成规模,但培育的蛹虫草活性成分含量不高。目前,以提高蛹虫草活性物质含量为指标,对蛹虫草发酵条件的优化研究从未间断,也取得了很大进展^[3-5]。本研究采用固体培养,以蚕蛹作为基础培养基,适量添加黄豆、玉米糝、蛋白胨,比较不同配方对蛹虫草中虫草素、腺苷、多糖、虫草酸含量的影响,以期对蛹虫草活性物质含量研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菌种:蛹虫草 H-3 麦粒菌种,江苏食品药品职业技术学院食品与营养工程学院食用菌课题组自行培育。

材料:蚕蛹(江苏省淮安市丝织厂),蛋白胨(生化试剂,国药集团化学试剂有限公司),黄豆、玉米糝购自江苏省淮安市农贸市场。

药品与试剂:磷酸二氢钾、硫酸镁、硫酸钙、葡萄糖、D-甘露醇、高碘酸钠、乙酸铵、冰醋酸、无水乙醇、苯酚、98%浓硫酸、磷酸氢二钾、四氢呋喃等均为分析纯,培养用水为自来水,分析用水为双蒸水。虫草素对照品、腺苷对照品由上海化学试剂公司进口分装。

1.2 仪器设备

培养设备:高压蒸汽灭菌锅,超净工作台,恒温培养箱;样品处理设备:电热恒温鼓风干燥箱,粉碎机,台式离心机,电子

天平,微波炉等;检测设备:美国 Waters 高效液相色谱仪系统(600Epump,600controller,2487 紫外检测器,In-line Degasser AF 在线脱气机,Empower 色谱数据管理系统)。

1.3 方法

1.3.1 培养基配制 配方 1:蚕蛹 200 g(蚕蛹干质量 100 g,按 50%折算,下同),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,5 mL 水。配方 2:蚕蛹 140 g,黄豆 30 g(蚕蛹与黄豆质量比为 7:3),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,45 mL 水。配方 3:蚕蛹 120 g,黄豆 40 g(蚕蛹与黄豆质量比为 6:4),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,60 mL 水。配方 4:蚕蛹 100 g,黄豆 50 g(蚕蛹与黄豆质量比为 5:5),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,75 mL 水。配方 5:蚕蛹 140 g、玉米糝 30 g(蚕蛹与玉米糝质量比为 7:3),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,30 mL 水。配方 6:蚕蛹 120 g、玉米糝 40 g(蚕蛹与玉米糝质量比为 6:4),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,40 mL 水。配方 7:蚕蛹 190 g、蛋白胨 5 g(蚕蛹与蛋白胨质量比为 95:5),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,10 mL 水。配方 8:蚕蛹 180 g、蛋白胨 10 g(蚕蛹与蛋白胨质量比为 9:1),加 1.5% 硫酸钙,0.1% 磷酸二氢钾,0.05% 硫酸镁,2% 红糖,20 mL 水。

1.3.2 接种培养 将配制好的培养基于 115 ℃ 灭菌 90 min,冷却。在超净工作台上按无菌操作要求接入蛹虫草 H-3 菌种,每瓶接 6 粒麦粒菌种,置培养箱中于 25 ℃ 下培养,培养结束后将培养物于 60 ℃ 烘干,粉碎待测。

1.3.3 样品处理 采用微波法提取样品^[6]。称取一定量样品粉末,用水作提取介质,料液比 1:100,经微波法辅助提取,并将提取液离心得上清液,备用。

1.3.4 虫草素与腺苷测定 采用 HPLC 法测定蛹虫草虫草素与腺苷^[6],上清液经 0.2 μm 微孔滤膜压滤,色谱条件为:Waters Nova-pak C₁₈(3.9 mm×300.0 mm,4 μm);流动相为 KH₂PO₄-K₂HPO₄+1%(体积分数)四氢呋喃缓冲液,pH 值为 6.86,流速为 1.0 mL/min,检测波长 260 nm。虫草素标准曲线回归方程为 $y = 3.10 \times 10^6 x - 1.34 \times 10^4$, $r = 0.9999$;腺

收稿日期:2014-01-21

作者简介:翁 梁(1982—),男,江苏高邮人,硕士研究生,讲师,研究方向为生物活性物质与功能食品。E-mail: wjwengliang@126.com。

苷标准曲线回归方程为 $y = 3.55 \times 10^6 x - 5.72 \times 10^3$, $r = 0.999\ 9$; 式中 y 为色谱峰面积, x 为虫草素或腺苷的进样量。

1.3.5 蛹虫草多糖测定 蛹虫草多糖测定采用苯酚－硫酸法^[7-8]。多糖在酸性条件下水解成葡萄糖等单糖, 用葡萄糖配制系列标准溶液, 于 490 nm 处测定吸光度, 得到葡萄糖含量($C_{\text{葡萄糖}}$)与吸光度(D)的回归方程: $D = 7.354\ 2C_{\text{葡萄糖}} + 0.053\ 2$, $r = 0.999\ 6$ 。

1.3.6 虫草酸测定 采用高碘酸钠比色法测定虫草酸^[9]。虫草酸的化学成分为 D -甘露醇, 用甘露醇配制系列标准溶液, 于 420 nm 处测定吸光度, 得到甘露糖含量($C_{\text{甘露糖}}$)与吸光度(D)的回归方程: $C_{\text{甘露糖}} = 104.550\ 0D + 0.301\ 2$, $r = 0.999\ 9$ 。

2 结果与分析

2.1 不同配方培养基对蛹虫草虫草素含量的影响

蚕蛹营养丰富, 蛋白质含量高, 而且蛋白质中氨基酸种类齐全, 可直接作为蛹虫草生长的培养基。由表 1 可知, 试验所用 8 种培养基均适合蛹虫草生长, 虫草素含量也较高, 其中配方 5 下蛹虫草虫草素含量最高, 达 4.75 mg/g。配方 5 和配方 6 虫草素含量差异显著, 配方 5、6 与配方 1、2、3、4、7、8 虫草素含量差异极显著。从表 1 还可见, 配方 5、6、7、8 虫草素含量大于配方 1, 说明在纯蛹培养基中添加适量玉米糝、蛋白胨有利于虫草素积累; 配方 2、3、4 虫草素含量小于配方 1, 说明在纯蛹培养基中添加黄豆未能提高蛹虫草虫草素含量。

表 1 不同配方培养基对蛹虫草虫草素含量的影响

配方	虫草素含量 (mg/g)	差异显著性	
		0.05	0.01
5	4.75 ± 0.08	a	A
6	4.60 ± 0.10	b	A
8	4.42 ± 0.07	c	B
7	4.40 ± 0.09	c	B
1	4.39 ± 0.10	c	B
2	3.98 ± 0.10	d	C
4	3.82 ± 0.10	e	D
3	3.71 ± 0.12	e	D

注: 不同大写、小写字母分别代表在 0.01、0.05 水平上差异显著。下同。

2.2 不同配方培养基对蛹虫草腺苷含量的影响

由表 2 可知, 配方 1 下蛹虫草腺苷含量最高, 达 0.55 mg/g, 其次为配方 5, 配方 8 下蛹虫草腺苷含量最低。配方 1、5 与配方 2、3、4、6、7、8 腺苷含量差异极显著。试验表明, 在纯蛹培养基中添加黄豆、玉米糝、蛋白胨均未能显著提高蛹虫草腺苷含量。

表 2 不同配方培养基对蛹虫草腺苷含量的影响

配方	腺苷含量 (mg/g)	差异显著性	
		0.05	0.01
1	0.55 ± 0.07	a	A
5	0.49 ± 0.06	a	A
3	0.38 ± 0.08	b	B
2	0.32 ± 0.06	b	B
4	0.27 ± 0.06	b	B
6	0.23 ± 0.04	b	B
7	0.22 ± 0.05	b	B
8	0.17 ± 0.04	c	C

2.3 不同配方培养基对蛹虫草多糖含量的影响

表 3 显示, 配方 4 下蛹虫草多糖含量最高, 达 75.67 mg/g, 配方 8 下蛹虫草多糖含量最低。配方 2、3、4 和配方 1、5、6、7、8 多糖含量差异极显著, 配方 5、6 和配方 1、7、8 多糖含量差异极显著, 说明在纯蛹培养基中添加适量黄豆、玉米糝有利于蛹虫草多糖的产生和积累。

表 3 不同配方培养基对蛹虫草多糖含量的影响

配方	多糖含量 (mg/g)	差异显著性	
		0.05	0.01
4	75.67 ± 3.61	a	A
2	70.36 ± 4.14	b	A
3	67.34 ± 3.12	b	A
5	56.41 ± 4.12	c	B
6	55.62 ± 2.59	c	B
1	36.32 ± 3.70	d	C
7	32.27 ± 2.76	d	C
8	30.44 ± 2.08	d	C

2.4 不同配方培养基对蛹虫草虫草酸含量的影响

由表 4 可知, 配方 4 下蛹虫草虫草酸含量最高, 达 76.73 mg/g, 配方 3 下蛹虫草虫草酸含量最低。配方 4 和其他配方下的虫草酸含量差异极显著。

表 4 不同配方培养基对蛹虫草虫草酸含量的影响

配方	虫草酸含量 (mg/g)	差异显著性	
		0.05	0.01
4	76.73 ± 4.70	a	A
1	59.63 ± 3.53	b	B
5	55.06 ± 3.86	b	B
6	47.61 ± 3.97	c	BC
7	46.84 ± 3.56	c	BC
8	43.11 ± 3.51	c	C
2	39.85 ± 4.10	c	C
3	31.07 ± 4.22	d	D

3 结论与讨论

本研究对不同配方培养基处理下的蛹虫草中虫草素、腺苷、多糖、虫草酸含量进行了比较。结果表明, 配方 5(蚕蛹与玉米糝质量比为 7:3)下蛹虫草虫草素含量最高, 说明在纯蛹培养基中添加适量玉米糝可显著提高虫草素含量; 在纯蛹培养基中添加适量黄豆、玉米糝有利于蛹虫草多糖的产生和积累; 配方 4(蚕蛹与黄豆质量比为 5:5)下蛹虫草虫草酸含量最高。综上, 以纯蛹为基础培养基, 添加适量黄豆、玉米糝、蛋白胨有利于蛹虫草虫草素、多糖、虫草酸含量的提高。但在该试验条件下, 腺苷含量没有显著提高。如要提高腺苷含量, 还须进一步研究。

蚕蛹营养价值高, 可直接作为蛹虫草的培养基, 添加适量黄豆、玉米糝后培养基碳氮比更加合理, 有利于蛹虫草活性物质产生和积累。如果再配合其他育种技术, 会使活性成分总量得到进一步提高。在纯蛹培养基中添加其他成分能否进一步提高蛹虫草中虫草素、腺苷、多糖、虫草酸含量, 还须深入研究。

董高峰,杨 威,张 强,等. 昭通烟区烤烟表面颜色特征分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):353–355.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2014.11.126

昭通烟区烤烟表面颜色特征分析

董高峰¹, 杨 威¹, 张 强¹, 殷沛沛¹, 王保兴¹, 陆文林², 耿声琮², 游堂贵², 冯 茜¹

(1. 云南烟草科学研究院, 云南昆明 650106; 2. 云南省烟草公司昭通市公司, 云南昭通 657000)

摘要:为分析昭通烟区不同产地烤烟表面颜色特征,以昭通烟区 150 个 C3F 等级烟叶样品为试验材料,对烟叶样品的表面颜色进行量化分析,并对测量数据进行多重比较和聚类分析。结果表明,昭通烟区烟叶表面颜色指标空间分布特征:明度(L^*)为 46.84 ~ 72.47、红度(a^*)为 8.59 ~ 15.40、黄度(b^*)为 43.04 ~ 53.74、颜色饱和度(C^*)为 45.28 ~ 55.62,色调角(h^*)为 71.73 ~ 79.99;昭通烟区不同品种烟叶的明度、黄度、颜色饱和度差异达到显著或极显著水平,红度和色调角差异未达到显著水平;昭通烟区不同产地烟叶的表面颜色存在显著或极显著差异;7 个烟叶产地分为 3 大类:第 1 类包括大关县、镇雄县 2 个产地,其烟叶表面颜色的红度较高,但明度和色调角较低,第 2 类包括鲁甸县、昭阳区、彝良县、巧家县 4 个产地,其烟叶明度、黄度、颜色饱和度和色调角较高,第 3 类为威信产地,其烟叶红度、黄度和颜色饱和度较低。

关键词:烤烟;颜色;多重比较;聚类分析;云南昭通

中图分类号: TS44⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2014)11–0353–03

初烤烟叶表面颜色是烤烟外观的重要特征之一,它是国家烤烟分级标准中第 2 分组因素。研究表明,烤烟颜色与烟叶物理特性、化学成分、致香成分、感官质量等密切相关^[1–9]。初烤烟叶表面颜色特征受部位、成熟度、栽培技术、调制工艺等多种因素的影响较大^[10–11]。魏春阳等研究表明,相同色域烟叶的颜色在不同产地间存在较大差异,同为桔黄色的烤烟,黄淮地区多为浅色桔黄,西南地区多为金黄,而东南地区则多为深色桔黄,不同产地之间烟叶表面颜色的明度、黄度、红度和饱和度等差异明显;烤烟品种对烤烟表面颜色的影响小于区域生态的影响^[12–13]。

目前,对昭通烟区烤烟产量、生态条件、烟叶的化学成分特征等研究^[14–17]较多,针对昭通烟区烟叶表面颜色特征的研究未见公开报道。为此,以昭通烟区烤烟样品为材料,借助色差仪,采用明度、黄度、红度、饱和度和色调角均匀颜色空间的

颜色表征方法,对昭通不同品种初烤烟烟叶的表面颜色进行测量和分析,以揭示昭通烟区烤烟叶表面颜色的特征,为昭通烟区烤烟的生产和利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

选取云南省昭通市昭阳区、巧家县、镇雄县、威信县、彝良县、鲁甸县、大关县 7 个县、区 2011 年生产的烤烟,品种为 K326、KRK26、PVH19、红花大金元,云烟 203、云烟 87、云烟 97、云烟 99 共计 8 个。按照国家烤烟分级标准,选取 C3F 等级的初烤烟 3 kg,等级合格率达到 85% 以上,共选取 150 份样品。

1.2 检测方法

参考文献[7][12],利用 CR–400 色彩色差仪(KONICA MINOLTA)对样品进行检测。测定的色度学指标主要包括明度值(L^*)、红绿色度值(a^* ,正值代表红度,负值代表绿度)、黄蓝色度值(b^* ,正值代表黄度,负值代表蓝度)、颜色饱和度(C^*)、色调角(h^*)。

1.3 分析方法

数据利用 Microsoft Excel 2003 和 DPS 7.05 进行统计分析,多重比较采用 LSD 法。对数据进行标准化处理,采用卡方距离、可变内平均法进行聚类分析。

影响[J]. 安徽农业科学,2007,35(29):9293–9294.

[6] 翁 梁,温 鲁. TLCs 与 HPLC 对比测定虫草中虫草素和腺苷含量[J]. 江苏农业学报,2008,24(4):539–540.

[7] 翁 梁,温 鲁,杨 芳,等. 不同提取方法对蛹虫草多糖抗氧化性的影响[J]. 食品科技,2008,33(11):180–182.

[8] 汪 琼,徐增莱,吕 晔. 微波消解 ICP–MS 法测定冬虫夏草中 30 种无机元素含量[J]. 江苏农业科学,2013,41(2):269–270.

[9] 温 鲁,翁 梁,朱明伟,等. 不同林区蛹虫草活性成分含量的比较[J]. 林业科学,2008,44(8):149–151.

收稿日期:2014–01–03

基金项目:云南省烟草专卖局资助项目(编号:2010YN24)。

作者简介:董高峰(1983—),男,河南信阳人,硕士,主要从事卷烟原料研究。E-mail:dgfeng2009@163.com。

通信作者:张 强,博士,主要从事卷烟原料研究。E-mail:qinagzhang@126.com。

参考文献:

- [1] 敬一兵,陆鲁生. 虫草[M]. 昆明:云南科技出版社,1986:24.
- [2] 韦会平,肖 波,胡开治. 蛹虫草药用价值考[J]. 中药材,2004,27(3):215–217.
- [3] 林群英,宋 斌,李泰辉. 蛹虫草研究进展[J]. 微生物学通报,2006,33(4):154–157.
- [4] 翁 梁,温 鲁. 硒和钙对蛹虫草活性物质含量的影响[J]. 北方园艺,2012(22):159–161.
- [5] 王志高,温 鲁,袁小转,等. 加硒对蛹虫草主要活性成分含量的