

灵芝菌粉，液体发酵后固液分离，多糖含量5-20%

产品名称	灵芝菌粉，液体发酵后固液分离，多糖含量5-20%
公司名称	安徽金寨乔康药业有限公司
价格	.00/个
规格参数	主要成分:灵芝多糖 提取来源:灵芝菌发酵 外观:黄棕色粉末
公司地址	安徽金寨现代产业园区
联系电话	15385906608

产品详情

主要成分	灵芝多糖	提取来源	灵芝菌发酵
外观	黄棕色粉末	检测方法	UV
含量	10%，20%，30%，50%（%）	应用剂型	胶囊，片剂
临床应用	提高免疫功能	包装	25kg纸板桶
保存期	24（月）		

一、灵芝菌丝体被成为“灵芝胎盘”，由灵芝孢子萌发形成菌丝(灵芝菌丝不断地分解，吸收养份，在合适的光照，空气，温度等其它条件配合时就形成了灵芝子实体。子实体成熟后弹射孢子粉，也就形成了灵芝的生活史，灵芝子实体所需要的构成物质，有一半以上的营养物质来源于菌丝体中的贮存养份)，灵芝菌粉具有灵芝相同的有效成分，其中粗多糖及灵芝多糖和蛋白质的含量远远高于天然灵芝，该品及相关制剂可宁心安神、健脾和胃。用于失眠健忘、身体虚弱、神经衰弱等。灵芝菌丝发酵粉，辅助治疗效果较灵芝、灵芝粉要好，有时作用效果和破壁灵芝孢子粉差不多。灵芝菌发酵菌丝体，烘干粉碎，价格优惠质量好。

二、灵芝菌粉发酵工艺：

灵芝是我国古代劳动人民用之已久的一类珍贵的药用真菌，具有补中、固肾、补肺、止血的功用，对多种慢性病有一定疗效。灵芝多糖对肉瘤s180、肿瘤ah-b，埃利希氏腹水瘤及腺瘤有明显的抑制活性，并能迅速恢复和提高机体免疫能力，治疗爱滋病的报道更引人瞩目，掀起了一场“灵芝研究热”[1]。

灵芝及其多糖广泛应用在医药、食品等领域，市场需求量与日俱增，但目前灵芝多糖的生产几乎都是从子实体中提取，灵芝野生资源缺乏，人工栽培的周期长(2~3个月以上)，占地面积大，又受季节限制，从而影响了灵芝的充分利用，而利用深层培养技术生产灵芝，周期短(7~10d)、成本低、产量大，具有工业化的生产前景，选取合适的培养基、适当的分离纯

化方法，提取灵芝多糖是本研究的最终目的。我们对发酵培养基优化及灵芝多糖提取的工艺进行了深入研究，不仅多糖获得了分级分离，而且对多糖组成成分也进行了分析。

1 灵芝培养基的优化

1.1 菌株：紫芝 g989菌株由中国轻工食品发酵研究所提供。

1.2 最优化培养基的筛选：将保存的菌种从4℃的冰箱中取出，在28℃下活化，然后在无菌操作台上用接种针将母种接至pda培养基上，置于培养箱中(28℃以下)培养1周。然后将其接种至种子培养基中，放置于摇床上(28℃，120 r/min)发酵1周。下摇床后，将种子接到正交实验培养基中发酵1周(见表1)。

表1 正交实验优化培养基

瓶号 碳源 氮源 起始

ph值 菌丝体

干重(g) 粗多糖

干重(g)	1#	3.6%葡萄糖	0.4%蛋白胨	5.0	1.562	0	0.071	92#	3.6%葡萄糖	0.4%黄豆粉	6.0	1.020	2	0.057	23#
		3.6%葡萄糖	0.4%硫酸铵	7.0	0.460	3	0.016	44#	3.6%蔗糖	0.4%蛋白胨	6.0	0.599	8	0.006	75#
		3.6%蔗糖	0.4%黄豆粉	7.0	0.489	3	0.039	86#	3.6%蔗糖	0.4%硫酸铵	5.0	0.387	3	0.019	97#
		3.6%麦芽糖	0.4%蛋白胨	7.0	1.358	3	0.044	28#	3.6%麦芽糖	0.4%黄豆粉	5.0	1.274	1	0.047	69#
		3.6%麦芽糖	0.4%硫酸铵	6.0	0.572	9	0.047	1							

接种量：8 毫升/瓶；摇床转速：120 r/min；温度：28℃；其余成分：kh₂po₄ 0.1%，vit b₁ 0.005%，mgso₄*7h₂o 0.05%。

将1周后的发酵液离心(20℃，3 000 r/min)10 min，离心后的上清液在水浴锅中浓缩(60℃)，浓缩液中加入等体积 85% 工业酒精沉淀，放置于冰箱中过夜。然后将浓缩液离心(20℃，3 800 r/min)，将离心的沉淀物放置于烘箱中(80℃以下)，烘干并称重，即得胞外粗多糖产量。离心后得到的菌丝体放置于烘箱中(80℃以下)烘干，称重。

1.3 发酵参数的测定：利用 dns 法测定发酵液中还原糖的变化 [3]，利用蒽酮法测定发酵液中总糖的变化 [4]；利用甲醛滴定法测定发酵液中氨基氮的变化 [5]；以及利用 ph 计测定发酵液中 ph 值的变化。

1.4 灵芝的菌丝体形态：本实验用 h-800 透射电镜对灵芝菌丝体的形态进行观察(如图1所示)，灵芝菌丝体长势茂盛，菌丝很饱满。

图1 灵芝菌丝体电镜照片

1.5 灵芝胞外多糖的提取分离纯化：将依前述方法得到的粗多糖加热水溶解，然后趁热真空抽滤，滤液冷却后加入氯仿与正丁醇以 4 : 1 混合液，搅拌，再离心，离心后取上层多糖水溶液加入活性炭脱色，过滤的清液用 85% 工业酒精沉淀，然后用丙酮，无水乙醇依次洗涤，在真空干燥器中干燥得总多糖。

1.6 多糖组分分析 [6]：sephadex g-200 柱层析，流速 0.5 ml/min，洗脱剂为 0.5 mol/l nacl 溶液，多糖用蒽酮法检测。

1.7 多糖组成分析：裁剪 10 cm × 23 cm 的新华滤纸，在滤纸的底端 3 cm 处用铅笔划线作为样品的起点线，用毛细管分别吸取待测样品及葡萄糖、果糖、半乳糖、木糖、甘露糖等单糖溶液，在样品的起点线上每隔 2 cm 点一个样，将点好样品的滤纸悬挂在盛有乙酸乙酯-水-吡啶(60 20 25)展层剂的层析缸中，密闭层析缸饱和，然后将其底部浸入展层，用苯胺-二苯胺系统显色(即苯胺 4 g，二苯胺 4 ml,85%的磷酸 70 ml)，用吹风机吹干后，放置于烘箱中，105 烘烤 5 min。其中待测样品是粉碎后溶于 1 mol/l 硫酸中，封管，然后在沸水浴中水解 6 h，加入 BaCO_3 ，中和硫酸后过滤即得。

2 结果与讨论

2.1 最优培养基的筛选：根据对正交实验培养基发酵所得到的粗多糖及菌丝体进行统计分析，得出氮源是主要因素，碳源其次，pH 值影响最小，并且由于黄豆粉中含糖，影响发酵参数的测定，而较酸的环境也不利于微生物的生长。故最后确定的较优化的组合为：碳源为葡萄糖 3.6%，氮源为蛋白胨 0.4%，pH 值 6.0，酵母膏 0.2%， KH_2PO_4 0.1%， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%，vit b10.005%。每升发酵液产干菌丝体 15.6 g，粗多糖产量达 37.5 g/kg 干菌体。

2.2 发酵过程中参数的变化：通过跟踪测定发现发酵过程中还原糖逐渐减少，这是因为灵芝在不断地利用还原糖(即葡萄糖)，到发酵终点，葡萄糖几乎全被利用完。总糖只是在极小的范围内波动，即虽然还原糖被不断消耗了，但还原糖又被转变为其它的糖类，总糖含量始终不变；氨基氮先是在很小范围内变化，然后逐渐降低，因为刚开始灵芝生长缓慢，蛋白质的生成与消耗几乎持平，随后灵芝生长旺盛，蛋白质呈逐渐下降趋势；pH 值是不断降低的，说明在发酵中有酸类物质分泌到胞外，即灵芝酸。

2.3 胞外多糖的分离纯化：通过紫外分析可知，我们所得到的灵芝多糖在 260 nm 及 280 nm 处无吸收峰，也就是说无核酸及蛋白质存在，基本上证明多糖无其他杂质，且通过发酵得到的多糖提取率为 37.5 g/kg 干菌体，比文献报道 [2] 34.4 g/kg 干菌体有提高。

2.4 胞外多糖组分的层析分析：通过凝胶层析所得到的洗脱曲线见图 2。

图 2 胞外多糖的洗脱曲线

从图 2 可以看出，胞外多糖的成分复杂，分子量大小不一，共有 5 个组分。

2.5 多糖的单糖组成分析：

2.5.1 纸层析：通过纸层析测定 Rf 值与已知单糖比较可知灵芝胞外多糖组分是由葡萄糖、甘露糖、果糖组成的。

2.5.2 胞外多糖红外分析：通过胞外多糖红外光谱看出 840 cm^{-1} 及 761 cm^{-1} 附近无吸收峰， 892 cm^{-1} 处有吸收峰，表明灵芝胞外多糖具有 β -D-糖苷键； 800 cm^{-1} 处有一微弱的吸收峰表明有甘露糖存在； 1110 cm^{-1} 处有吸收表明灵芝多糖的单糖为六元环结构； 3400 cm^{-1} 处的强吸收峰为糖分子中缔三羟基的伸缩振动吸收峰。

2.5.3 气相色谱分析：将胞外多糖组分 1 的酸水解液乙酰化后作气相色谱，其结果如表 2 所示。乙酰化方法是：取 20 mg 灵芝多糖溶于 3 ml 5 mol/l 硫酸中，封管在沸水中水解 8 h，水解液加入适量 BaCO_3 中和，过滤。滤液中加入 15 mg NaBH_4 ，放置过夜，然后加入适量乙酸分解过量的 NaBH_4 ，重复 4 次。将上面得到的溶液在 105 的烘箱中烘干，冷却后转入真空耳塞管，加入 1 ml 乙酸酐，0.5 ml 吡啶，然后在 100 下反应 2 h，反应液冷却后加入 1 ml 水，放入表面皿中蒸发至干。最后用 1 ml 氯甲烷提取，提取液可直接进行气相色谱分析(见表 2)。

表2 胞外多糖的气相色谱分析

保留时间

(min)峰面积 含量

(%)校正因子3.232 3973 5.214 1.000e+0003.813 219 0.287 1.000e+0004.250 615 0.807 1.000e+0005.548 71389 93.691
1.000e+000合计 76196 100.00

从表2我们可以看出，灵芝胞外多糖组分1是由3种单糖组成的，结合纸层析的结果可知灵芝胞外多糖中含有甘露糖、果糖、葡萄糖，其中果糖是首次报道。address: sun dongping, college of chemical engineering, nanjing university of technology, nanjing

孙东平 男，1970年生，江苏灌云人，现为南京理工大学化工学院博士研究生，讲师，主要从事糖化学及微生物生理、生化研究工作，发表学术论文多篇，参与国家自然科学基金等多项科研工作。

参考文献

- 1，黄为群，吴其威，黄瑞珊，等.上海交通大学学报，1994，28(2)：83
- 2，罗立新，姚汝华，周少奇.食品工业科技，1998，(3)：6
- 3，孙东平.液体发酵红曲的应用研究.南京大学硕士研究毕业论文，1997：19
- 4，袁玉荪，朱婉华，陈钧辉.生物化学实验.北京：高等教育出版社，1995：13
- 5，袁玉荪，朱婉华，陈钧辉.生物化学实验.北京：高等教育出版社，1995：65
- 6，张承圭，王传怀，袁玉荪，等.生物化学仪器分析.北京：高等教育出版社，1990：203

三、灵芝菌粉的功效作用：

[功效与应用]

灵芝扶正固本，清除自由基，保护心血管系统，安神镇静，保肝抗炎。灵芝的应用范围非常广泛。就中医辩证看，由于本品入五脏肾补益全身五脏之气，所以无论心、肺、肝、脾、肾脏虚弱，均可服之。灵芝所治病种涉及呼吸、循环、消化、神经、内分泌及运动等各个系统；涵盖内、外、妇、儿、五官各科疾病。其根本原因，就在于灵芝扶正固本，增强免疫功能，提高机体抵抗力的巨大作用。它不同于一般药物对某种疾病而起治疗作用，亦不同于一般营养保健食品只对某一方面营养素的不足进行补充和强化，而是在整体上双向调节人体机能平衡，调动机体内部活力，调节人体新陈代谢机能，提高自身免疫力，促使全部的内脏或器官机能正常化。其明显表现在如下方面：

十、美容作用

民间称灵芝为"长生不老"药，主要在于它具有养颜护肤之功效，能延缓人体衰老。灵芝能保持和调节皮肤水份，恢复皮肤弹性，使皮肤湿润、细腻，并可抑制皮肤中的黑色素的形成和沉淀，因此用灵芝制成的各种美容制品亦成为护肤美容中的新贵，若与内服灵芝合用内标本兼顾，则可全身肌肤都可起到滋润和保护作用，可令全身肌肤光滑细腻，并能有效防止细菌对肌肤的侵袭。

除此之外，在其它方面，灵芝还有众多卓越的功效，如可刺激骨髓造血，升高白血球，可用于各种原因（如放射线药物、血液性）引起的白细胞减少症；通过提高机体的免疫能力，抵抗顽固性病毒的侵袭；还可帮助机体，提高对各种不良环境（如高原缺氧等）的耐受性；以及可抑制子宫平滑肌过度收缩，治疗功能性子宫出血；此外对视网膜色素变性，脑发育不全症，进行性肌营养不良和萎缩性肌强直症，灵芝都具有很显著的临床疗效。再者，进一步研究揭示，灵芝还有好的镇痛作用，对头痛，腰痛、神经痛、癌症疼痛等都有良好的效果。