

# 富锌姬松茸形态变化及生物活性<sup>①</sup>

邹祥<sup>1,2</sup>, 胡昌华<sup>1</sup>, 章克昌<sup>2</sup>

1. 西南师范大学现代生物医药研究所, 重庆 400715;

2. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 发酵技术国家工程研究中心, 江苏 无锡 214036

**摘要:** 采用透射电镜观察富锌培养姬松茸菌丝体形态, 结果显示富锌姬松茸菌丝形态发生显著变化. 通过小鼠抗肿瘤 S-180 动物试验, 表明: 富锌发酵液肿瘤抑制率为 58.14%, 明显高于无锌发酵液 30.2%, 富锌对肿瘤抑制有增效作用, 有机锌体内生物利用率较对照组提高了 11.4%, 为开发安全高效的补锌食、药品提供了一定的药理学依据.

**关键词:** 姬松茸; 富锌; 生物活性

中图分类号: Q81

文献标识码: A

姬松茸(*Agaricus blazei* Murill)又名巴西蘑菇,是一种珍稀药食两用菌,近年来国内外研究发现姬松茸子实体中含有丰富的抗肿瘤活性多糖、抑制肿瘤血管生成药物成分麦角甾醇等活性成分<sup>[1,2]</sup>,具有广阔的开发价值和空间,但目前对姬松茸抗肿瘤成分的研究主要以子实体多糖为研究对象.由于液体深层培养技术具有可降低生产周期、易于实现工业化生产等优点而被广泛应用于药用真菌活性产物的生产<sup>[3]</sup>,作者对姬松茸液体培养基组成<sup>[4]</sup>、工艺条件<sup>[5]</sup>进行了系统研究,并在液体培养产物中成功分离得到与子实体主要抗肿瘤活性组分类似的糖蛋白复合物,另文报道.据中国营养学会统计<sup>[6]</sup>,我国城乡居民锌摄入量占营养供给量标准的 50%左右,摄入量严重不足,研制开发高生物学利用率的补锌产品乃当务之急.如果能利用药用真菌具有富集微量元素的特性,协同生产补锌和免疫调节剂的食品、药品,则将大大提高对药用真菌资源的利用.笔者在已有研究基础上<sup>[7]</sup>,考察了富锌后姬松茸形态变化特征,并通过动物活体试验初步研究了富锌姬松茸发酵液的抗肿瘤活性和有机锌的体内生物利用率,为研制安全、高效的优质补锌保健食品或抗癌药物提供一定的药理学依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株

姬松茸(*Agaricus blazei* Murill AB-2)购自华中农业大学菌种中心.

#### 1.1.2 发酵培养基

无锌发酵培养基:玉米粉 2%,蔗糖 1%,酵母膏 0.5%,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3%,MgSO<sub>4</sub> 0.2%.

富锌发酵培养基:在无锌发酵液培养基基础上添加 300 mg/L 的 ZnSO<sub>4</sub>.

#### 1.1.3 含锌和无锌姬松茸发酵液

由江南大学工业生物技术教育部重点实验室提供,培养方法参照文献<sup>[7]</sup>,即 250 mL 三角瓶装液量 50 mL,接

① 收稿日期: 2003-10-29

作者简介: 邹祥(1976-),男,湖北仙桃人,讲师,主要从事生物制药过程工程的教学及研究工作.

种量 10%(体积分数),培养温度 26 ℃,转速为 160 r/min,发酵时间 108 h.

#### 1.1.4 有机锌菌丝体

按文献[7]方法制备.

#### 1.1.5 实验动物

清洁级雌性 ICR 小鼠由浙江中医学院实验动物中心提供,体质量 18~22 g.

#### 1.1.6 主要仪器

日立公司制造 H-7000 透射电镜,美国热电公司制造 M6 原子吸收光度计.

### 1.2 方法

#### 1.2.1 富锌菌丝体形态变化

用 H-7000 透射电镜对洗涤干净后的富锌菌丝体和对照菌丝体进行观察,其中对照菌丝体放大倍数 15 000 倍,富锌菌丝体放大倍数为 12 000 倍.

#### 1.2.2 受试物抑制小鼠 S180 移植瘤试验

选择接种后 7~10 d、肿瘤生长旺盛、健康良好的瘤源动物,颈椎脱臼处死,抽取其腹水,用生理盐水稀释成 1:3(V:V)的瘤细胞悬液.在每只小鼠右前肢腋下接种 0.2 mL 瘤细胞悬液,次日随机分组,每只每天按体质量灌胃给药,富锌发酵液、无锌发酵液每次剂量为 13 mL/kg,空白对照组为同等剂量无菌生理盐水,连续用药 10 d.停药次日处死小鼠,剥取瘤块称体质量,按下式计算肿瘤生长抑制率:

$$\text{肿瘤抑制率}(\%) = (1 - T/C) \times 100$$

其中,  $C$  为对照组平均瘤质量(mg),  $T$  为实验组平均瘤质量(mg).

#### 1.2.3 有机锌生物利用率试验

健康雌性 ICR 小鼠 30 只,体质量(20±2)g,随机分成 3 组,每组 10 只,分别为空白对照组(A)、无机锌 ZnSO<sub>4</sub> 组(B)和有机锌菌丝粉组(C).无机锌 ZnSO<sub>4</sub> 组和有机锌菌丝粉组每次给药剂量为 0.3 g/(kg·d)(含锌),空白对照组为生理盐水,连续用药 10 d.停药次日处死小鼠,取小鼠动脉血清,测定方法参考文献[8].

## 2 结果与讨论

### 2.1 富锌姬松茸菌丝形态变化

分别取富锌发酵液和无锌发酵液菌丝体,采用 H-7000 透射电镜拍照观察,实验结果见图 1 和图 2.



图 1 无锌菌丝电镜图(×15 000)

Fig.1 Transmission Electron Microscope Chart of no-Zn Mycelium

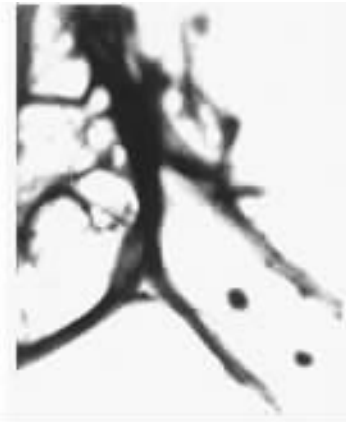


图 2 富锌菌丝电镜图(×12 000)

Fig.2 Transmission Electron Microscope Chart of Zn Enriched Mycelium

从图 1、2 可以看出,姬松茸富集了微量元素锌后导致菌丝体形态发生了明显的变化,富锌后菌丝粗壮.前期的研究发现锌元素能促进姬松茸的生长、多糖的合成以及发酵液必需氨基酸含量的增加<sup>[7]</sup>,本研究从电镜图片可以看出一定浓度的锌对姬松茸菌丝体生长有促进作用.

## 2.2 富锌发酵液抑制小鼠 S-180 移植瘤试验

将无菌生理盐水、富锌发酵液和无锌发酵液灌胃,考察对小鼠移植瘤 S-180 的抑制作用,分别称体质量、瘤质量,计算肿瘤抑制率(表 1).

由表 1 可以看出,在相同的剂量情况下,无锌发酵液和富锌发酵液对小鼠移植瘤均有明显的抑制作用,其中富锌发酵液肿瘤抑制率为 58.14%,效果要好于无锌发酵液,表明加入一定量的锌,通过姬松茸吸收转化后,在胞内与活性物质结合形成有机锌复合物,对移植瘤 S-180 的抑制有增效作用,具体锌在胞内和哪一类物质结合以及产生的生理机理还有待于实验进一步证实.

表 1 发酵液对小鼠移植瘤 S-180 的抑制作用

Table 1 Effect of Ferment Liquid on the Inhibition of Implanted S-180 in Mice

| 组 别   | 剂 量<br>/mL·(kg·d) <sup>-1</sup> | 天 数<br>/d | 平均体质量<br>/mg  | 平均瘤质量<br>/mg   | 抑 瘤 率<br>/% |
|-------|---------------------------------|-----------|---------------|----------------|-------------|
| 对 照 组 | 13                              | 10        | 27 ± 1.678    | 1.29 ± 0.488   | -           |
| 富锌发酵液 | 13                              | 10        | 27.22 ± 1.872 | 0.54 ± 0.150 * | 58.14       |
| 无锌发酵液 | 13                              | 10        | 28.25 ± 2.130 | 0.9 ± 0.216 *  | 30.2        |

注: \* 表示  $P < 0.05$  (与空白对照组比较).

## 2.3 有机锌生物利用率试验

锌在动物和人体内主要存在于血浆、红细胞、白细胞和血小板中,血清锌含量能够充分反映锌的吸收情况,不同锌源试验组表现出的血清锌浓度的显著差异说明血清锌可以作为锌利用率的敏感指标,作为生物体内吸收利用情况的判定依据<sup>[9]</sup>,同时血清锌含量与人体疾病也有一定的关系,糖尿病患者血清锌浓度一般低于正常人水平<sup>[10]</sup>. 本实验以小鼠动脉血清中锌浓度变化来评价锌的吸收利用率,实验结果见表 2.

表 2 小鼠体内血清锌浓度变化

Table 2 Changes of Blood Serum Zn in Mice

| 组 别                   | 剂 量/g·(kg·d) <sup>-1</sup> | 鼠 数/只 | 血清 Zn/mg·L <sup>-1</sup> |
|-----------------------|----------------------------|-------|--------------------------|
| 空白对照组                 | 0.3                        | 10    | 1.11 ± 0.156             |
| 无机锌 ZnSO <sub>4</sub> | 0.3                        | 10    | 1.143 ± 0.098 *          |
| 有机锌菌丝体粉               | 0.3                        | 10    | 1.29 ± 0.205 *           |

注: \* 表示  $P < 0.05$  (与空白对照组比较).

结果表明,有机锌菌丝体粉小鼠体内血清锌浓度高于无机锌,吸收效果要好于无机锌 ZnSO<sub>4</sub>,说明在动物体内代谢过程中,在相同剂量情况下,有机锌排出体外的锌元素要比无机锌少,从而也间接证实了有机态的补锌食品效果要好于无机食品.

## 3 结 论

开发优质、安全的补锌食品、药品是目前普遍关注的研究方向,特别是人体生物利用率高的天然补锌食品、药品. 本研究通过小鼠 S-180 移植瘤动物试验,表明无锌姬松茸发酵液和富锌姬松茸发酵液对 S-180 移植瘤均有抑制作用,其中富锌发酵液抑瘤率为 58.14%,无锌发酵液抑瘤率为 30%,富锌后对姬松茸抗肿瘤有明显的增效作用;锌生物利用率实验表明有机锌吸收效果要好于无机锌 ZnSO<sub>4</sub>. 因此,利用药用真菌姬松茸作为富集微量锌元素的载体,协同生产有机补锌食品和抗肿瘤复合多糖在技术路线上是可行的,同时在药理上进一步证实两者相互的增效作用,无疑对今后工业化生产以及开发利用药用真菌资源打下基础.

## 参考文献:

- [1] 黄年来. 姬松茸及药效[J]. 江苏食用菌, 1994, 3: 29-31.
- [2] Takeshi T, Yoshiyuki K, Hiromichi O. Isolation of an Antitumor Compound from *Agaricus blazei* Murill and its Mechanism of Action [J]. J Nutr, 2001, 131(5): 1409-1413.

- [3] 林树钱. 中国药用菌生产与产品开发[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [4] 邹祥,章克昌. 营养因子对姬松茸深层发酵的影响[J]. 生物技术,2003,13(1):22-24.
- [5] 邹祥,章克昌. 姬松茸深层培养工艺条件的研究[J]. 药物生物技术,2002,13(6):36-39.
- [6] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000.
- [7] 邹祥,章克昌. 富锌培养对姬松茸生长代谢的影响[J]. 无锡轻工大学学报,2003,19(2):95-98.
- [8] 王光金. 儿童血清中钠、锌、镁、铜、锌的原子吸收快速测定[J]. 光谱实验室,1992,9(5):17-19.
- [9] Schell T C, Komegay E J. Zinc Concentration in Tissues and Performame of Zinc from ZnO or ZnSO<sub>4</sub>[J]. J Anima Sci,1996,74(2):1584-1593.
- [10] 张光明,杨香玖,张希惠. 原子吸收光谱法测定糖尿病患者血清锌、镁、钙含量的研究[J]. 湖北医学院学报,1992,13(4):322-324.

## Morphology Changes and Biological Activity of *Agaricus blazei* Murill by Enriched Zn

ZOU Xiang<sup>1,2</sup>, HU Chang-Hua<sup>1</sup>, ZHANG Ke-Chang<sup>2</sup>

1. Institute of Modern Biopharmaceuticals, Southwest China Normal University, Chongqing 400715, China;

2. The key laboratory of Industry Biotechnology under Ministry of Education, National Engineering Reseach Center of Fermentation Technology, Southern Yanthze University, Wuxi Jiangshu 214036, China

**Abstract**: Morphology of enriched Zn *Agaricus blazei* Murill had prominently changed revealed by transmission electron microscope. Antitumor S-180 fat model of mice was established, pharmacology test showed that tumour inhibit rate of enriched Zn ferment liquid was 58.14%, obviously higher by 30.2% of no-Zn ferment liquid, and enriched Zn improved the effect of antitumor. Bioavailability rate of Organic Zn in mice was improved 11.4% as compared to inorganic Zn. , and these results have provided certain pharmacology resources for empoldering functional foods and drugs.

**Key words**: *Agaricus blazei* Murill; Zn enriched; biological activity

责任编辑 胡 杨