

- [20] Yang Y, Li F, Li Y, et al. Nicotinamide n-methyltransferase inhibitor synergizes with sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor to protect renal tubular epithelium in experimental models of type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Complications, 2025, 39(2):108952.
- [21] Abdulkhaliq A A, Alasiri G, Khan J, et al. SIRT1 in Aging and Diseases[J]. J Cell Biochem. 2025, 126(10): e70069.
- [22] Xie J, Che S, Liu J, et al. SIRT1: potential target in glucocorticoid-resistant diseases[J]. Front Immunol, 2025, 16(1): 1514745.
- [23] Luo Y, Wu H, Min X, et al. SIRT1 prevents noise-induced hearing loss by enhancing cochlear mitochondrial function[J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1):160.
- [24] 高晓卫,刘迎迎,于潇,等. 白花丹素介导sirt1-FOXO1通路对糖尿病肾病大鼠氧化应激损伤的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(1):170-174.
- [25] 吴朋. 血清GADA、CypA、SIRT1在糖尿病肾病中的表达及早期诊断价值分析[J]. 四川生理科学杂志, 2024, 46(10): 2297-2299.
- [26] Liu A, Zhu X J, Sun W D, et al. Nicotinamide N-methyltransferase as a potential therapeutic target for neurodegenerative disorders: Mechanisms, challenges, and future directions[J]. Exp Neurol, 2025, 389(1): 115253.
- [27] Wang Y, Zeng J, Wu W, et al. Nicotinamide N-methyltransferase enhances chemoresistance in breast cancer through SIRT1 protein stabilization[J]. Breast Cancer Res, 2019, 21(1): 64.
- [28] Zhang S F, Mao X J, Jiang W M, et al. Qian Yang Yu Yin Granule protects against hypertension-induced renal injury by epigenetic mechanism linked to Nicotinamide N-Methyltransferase (NNMT) expression[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 255(1): 112738.
- (收稿日期:2025-12-19)

桑黄-黄芪双向固体发酵菌质的制备及其对人结肠癌HCT116细胞的抑制作用

郑晓悦¹, 王雅鑫², 宋永学³, 付文亮^{1*}

(1.承德医学院基础医学院, 河北 承德 067000; 2.邢台医学院临床实践教学部, 河北 邢台 054000;

3.承德医学院生物与食品科学系, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 以黄芪为发酵基质、桑黄为菌种进行双向固体发酵,探讨发酵菌质对结肠癌HCT116细胞体外抗肿瘤活性。**方法** 菌种经一级种(马铃薯葡萄糖琼脂培养基)和二级种(高粱培养基)扩繁后,接种至三级种黄芪发酵基质中进行双向固体发酵。发酵结束后,采用蒽酮-硫酸法、 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法和Folin-Ciocalteu法分别测定发酵菌质与黄芪原料中总多糖、总黄酮和总多酚含量;采用单因素试验优化碳酸氢钠(NaHCO_3)添加量、含水量等工艺参数以筛选最优发酵条件;CCK-8法检测各组细胞存活率,比较发酵菌质与黄芪原料的抗肿瘤活性。**结果** 与黄芪原料相比,发酵菌质总多糖含量由 $14.02\pm 0.01\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 显著增加至 $37.61\pm 0.22\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.01$);发酵菌质总黄酮含量由 $17.49\pm 0.05\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 降低至 $16.34\pm 0.06\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.05$),总多酚含量由 $4.88\pm 0.20\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 降低至 $3.47\pm 0.13\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.05$);最优工艺为 NaHCO_3 添加量2.0%、含水量59%,此条件下菌丝生长天数最短;CCK-8结果显示,发酵菌质提取物对人结肠癌HCT116细胞的半数抑制浓度(IC_{50})为 $1.835\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,黄芪提取物 IC_{50} 为 $7.590\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,提示黄芪经桑黄固体发酵后,发酵菌质提取物对HCT116细胞的体外增殖抑制作用较黄芪提取物明显增强($P<0.05$)。**结论** 桑黄-黄芪进行双向固体发酵可显著提升菌质中的多糖成分,其菌质提取物较黄芪提取物具有更强的抗肿瘤活性。

关键词: 桑黄;黄芪;双向固体发酵;多糖;工艺优化;抗肿瘤活性

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2026)05-0402-07

作者简介:郑晓悦(2002—),女,硕士研究生在读,研究方向:中药抗肿瘤。

*通信作者:付文亮(1983—),男,博士,副教授,研究方向:中药抗肿瘤;E-mail: fuwenliang@edmc.edu.cn。

桑黄(*Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst.)隶属于锈革孔菌科(*Hymenochaetaceae*),是一种寄生于阔叶树上的多年生木质腐朽真菌。据本草考证,桑黄入药最早可追溯至汉代《神农本草经》,其中记载桑耳(桑黄的古称)“属上经,性味甘平,无毒,久服轻身”,主治女子漏下赤白汁、血病癥瘕积聚、阴痛、阴阳寒热无子等症^[1]。此后《新修本草》《本草纲目》等均有收载,历代医家多用其治疗血崩、血淋、脱肛泻血、带下、经闭及癥瘕积聚等疾患^[1-2]。现代药理与化学研究表明^[3-5],桑黄的菌丝体及子实体中富含多种生物活性物质,主要成分涵盖多糖、多酚、黄酮、萜类、甾醇、吡喃酮类以及生物碱等,是桑黄发挥抗癌、降血糖、抗氧化和抗炎等活性的重要物质基础。

黄芪(*Astragali Radix*)为豆科植物蒙古黄芪[*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge]或膜荚黄芪[*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) P.K. Hsiao]的干燥根,是中医常用的补气要药,素有“补气诸药之最”的美誉。现代药理学研究证实^[6],黄芪富含多糖类、黄酮类及皂苷类等活性成分,具有抗氧化、免疫调节、降血糖及保护心血管等多种生物活性。然而,传统的热水提取法存在活性成分溶出率低、能耗高等问题,对原料的利用率较低^[7]。在此背景下,微生物发酵技术为黄芪的现代化开发提供了创新路径。双向固体发酵技术是20世纪90年代由庄毅等^[8]首创的一种新型中药发酵工程。该技术以具有活性成分的中药材或药渣替代传统营养型基质,与药用真菌构成发酵组合。在发酵过程中,中药基质为真菌生长提供碳源、氮源等营养,真菌分泌的丰富胞外酶系(如纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶等)分解中药材的细胞壁结构,促使基质中的有效成分发生转化,产生新的活性成分和药理功能^[9-11]。

本研究以黄芪为发酵基质、桑黄为发酵菌种,采用双向固体发酵技术制备桑黄-黄芪发酵菌质,测定发酵菌质与黄芪原料中总多糖、总黄酮、总多酚等的含量差异,通过筛选 NaHCO_3 添加量及含水量对发酵制备工艺进行优化,并以结肠癌HCT116细胞为模型,比较发酵菌质与黄芪醇提物的体外抗肿瘤活性,为桑黄发酵黄芪菌质的开发利用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

粗毛纤孔菌由承德医学院蚕业研究所桑黄研究团

队提供(编号183-1);黄芪购自河北省安国市药材市场;蒽酮、没食子酸、芦丁标准品购自上海源叶生物科技有限公司;福林酚(Folin-Ciocalteu)试剂购自北京蓝博斯特生物科技有限公司;浓硫酸、无水乙醇购自国药集团化学试剂有限公司;葡萄糖、亚硝酸钠(NaNO_2)、九水硝酸铝 $[\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$ 、氢氧化钠(NaOH)、碳酸钠(Na_2CO_3)购自上海麦克林生化科技有限公司;DMEM基础培养基、胎牛血清购自武汉普诺赛生命科技有限公司;青霉素链霉素溶液购自北京索莱宝科技有限公司;CCK-8试剂购自上海伟寰生物科技有限公司。主要仪器包括恒温培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司)、生物安全柜(青岛海尔特种电器有限公司)、全波长酶标仪(美国BioTek公司)、电子天平(常州奥豪斯仪器有限公司)、离心机(德国Eppendorf公司)、旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司)、冷冻干燥机(北京四环福瑞科仪公司)、压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂)、超声波清洗器(昆山洁力美超声仪器有限公司)等。

1.2 菌质制备工艺

1.2.1 培养基 一级种(马铃薯葡萄糖琼脂培养基, PDA):马铃薯200 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,水1 000 mL;二级种(高粱培养基):高粱88%,黄芪粉10%,碳酸钙1%,石膏1%,含水量约60%;三级种(发酵基质培养基):黄芪(切片需提前粉碎),含水量50%,装瓶量约60%。

1.2.2 菌种活化与接种 将冷藏保存的粗毛纤孔菌菌种转接于PDA平板,在28℃、相对湿度40%条件下培养12 d,获得一级种;高粱经1%石灰水浸泡18 h、煮沸沥干后,添加1%碳酸钙、1%石膏和10%黄芪粉,混匀分装、打孔,126℃高压灭菌120 min后冷却备用。在无菌条件下将PDA菌落切为0.5 cm×0.5 cm菌块,接种至高粱培养基,每70 g干料培养基接种5块菌块,28℃恒温培养至菌丝长满基质。

1.2.3 双向固体发酵 基质预处理:将黄芪片均匀切为小块后,60℃干燥至恒重,加水调节含水量至50%,拌匀后分装于350 mL玻璃培养瓶中,每瓶装干料约70 g,126℃高压灭菌120 min,冷却后备用。接种:在超净工作台内(紫外预照30 min),用无菌镊子夹取高粱菌块,按10%的接种量(菌块湿重/培养基干重,w/w)接入灭菌冷却后的黄芪固体发酵培养基表面及中心,轻压平整,使菌种与基质充分接触。置于恒温培养箱中,按实验条件(温度

28℃,相对湿度40%)培养。培养期间定期观察并拍照记录菌丝生长情况,待菌丝长满培养基表面时记录满瓶生长天数,菌质呈黄褐色时终止发酵。

1.2.4 优化发酵菌质的发酵条件 采用序贯单因素试验法,优化发酵菌质的发酵条件。以菌丝长满培养基所需天数为评价指标,筛选 NaHCO_3 添加量的最优水平;在确定 NaHCO_3 最优添加量后,固定该条件进一步筛选最适含水量。(1) NaHCO_3 添加量单因素试验:采用固定含水量56%,设置 NaHCO_3 添加量分别为0%、2%、4%,以菌丝长满瓶所需天数为评价指标,筛选促进桑黄生长的最适 NaHCO_3 添加量;每组3个平行。(2)含水量单因素试验:在确定最优 NaHCO_3 添加量的基础上,固定该条件,以56%含水量为中间参考水平,向两侧扩展设置含水量梯度为50%、53%、56%、59%、62%,考察不同含水量对桑黄菌丝生长的影响。以菌丝长满瓶所需天数为主要评价指标,同时观察并拍照记录培养期间基质状态(干湿程度、有无积水、通气性等);每组3个平行。

1.3 活性成分提取与测定

1.3.1 样品预处理 将发酵结束的菌质烘干(60℃)至恒重、粉碎、过80目筛,黄芪原料控制含水量为50%,装瓶后126℃高压灭菌120 min,烘干至恒重、粉碎、过80目筛;密封保存于4℃中备用。

1.3.2 总多糖含量测定 采用蒽酮-硫酸法测定黄芪原料与发酵菌质的总多糖含量。以葡萄糖为对照品,精密配制0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 系列标准溶液,取上述系列标准溶液各2.0 mL加入蒽酮-硫酸试剂6.0 mL,混匀后于100℃沸水浴加热10 min,冷水冷却10 min,以试剂空白为对照,在625 nm处测定吸光度,绘制标准曲线。样品经水提(料液比1:30,80℃,300 W超声30 min,重复2次)、离心合并上清液后,加4倍体积无水乙醇于4℃醇沉过夜,离心收集沉淀,以80%乙醇润洗2次,复溶并定容,采用与标准溶液相同的显色反应条件,测定其在625 nm处的吸光度值。

1.3.3 总黄酮含量测定 采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法测定黄芪原料与发酵菌质的总黄酮含量。以芦丁为对照品,精密配制0.020、0.039、0.078、0.1563、0.3125、0.625、1.250 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 系列标准溶液,取上述系列标准溶液各5.0 mL依次加入5% NaNO_2 溶液0.3 mL(静置6 min)、10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液0.3 mL(静置6 min)、4% NaOH 溶液4.0 mL,以

60%乙醇定容至10 mL,摇匀静置15 min,以试剂空白为对照,于510 nm处测定吸光度,绘制标准曲线。样品以60%乙醇超声提取(料液比1:25,60℃,300 W,30 min,重复2次),离心合并上清液并定容,采用与标准溶液相同的显色反应条件,测定其在510 nm处的吸光度值。

1.3.4 总多酚含量测定 采用Folin-Ciocalteu法测定黄芪原料与发酵菌质的总多酚含量。以没食子酸为对照品,配制0、10、20、30、40、50、60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 系列标准溶液,取上述系列标准溶液各1.0 mL加入Folin-Ciocalteu试剂1.0 mL,摇匀后加蒸馏水5.0 mL混匀,1 min后加入12% Na_2CO_3 溶液2.0 mL,室温避光显色2 h,以试剂空白为对照,于760 nm处测定吸光度,绘制标准曲线。样品提取方法同总黄酮,采用与标准溶液相同的显色反应条件,测定其在760 nm处的吸光度值。

1.4 体外抗肿瘤活性测定

1.4.1 醇提物冻干粉制备 取预处理后的黄芪原料粉末和发酵菌质粉末适量,按料液比1:25加入60%乙醇,60℃、300 W超声30 min,重复两次,12 000 rpm离心15 min,合并2次上清液。提取结束后,用旋转蒸发器(40~50℃,-0.09 MPa)减压浓缩至原体积的五分之一,加入适量水再次旋蒸至五分之一(去除乙醇),然后冷冻干燥,得到醇提物冻干粉。精密称取适量冻干粉,溶解后-20℃保存备用。使用前用完全培养基稀释至所需浓度。

1.4.2 细胞培养 人结肠癌细胞HCT116(货号:STCC10803G),购自赛维尔生物科技有限公司,置于含10%胎牛血清、1%青霉素链霉素的DMEM完全培养基中,37℃、5% CO_2 恒温培养箱中常规培养。每2 d传代1次,取对数生长期细胞用于后续实验。

1.4.3 CCK-8法测定细胞存活率 取对数生长期HCT116细胞,胰酶消化后离心收集,以完全培养基重悬并调整细胞密度为 1×10^4 个/mL,按每孔100 μL 接种于96孔板中,边缘孔以无菌PBS填充,置于培养箱中预培养24 h使细胞贴壁。待细胞贴壁后,吸弃原培养基,加入含不同浓度冻干粉的培养基(黄芪冻干粉终浓度为0.00、0.64、1.28、2.56、5.12、10.24 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,菌质冻干粉终浓度为0.00、0.16、0.32、0.64、1.28、2.56 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),同时设置空白对照组(仅含完全培养基,不含细胞)和阴性对照组(含细胞和完全培养基,不含药物),每组设3个复孔,继续培养24 h。培养结束后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,轻轻振荡混匀,避光孵育1 h,

用酶标仪测定450 nm处吸光度(A)值,按以下公式计算细胞存活率,并采用GraphPad Prism软件绘制量效曲线,计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

细胞存活率%=(A样品-A空白对照)/(A阴性对照-A空白对照)×100%

$$\text{细胞存活率}\% = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白对照}}}{A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{空白对照}}} \times 100\%$$

1.5 统计学分析

所有实验进行3次生物学重复,结果以均数±标准差

($\bar{x} \pm s$)表示;采用GraphPad Prism软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和Duncan多重比较; $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 菌种活化与培养

(1)菌种活化:经28℃恒温培养12 d后,桑黄菌丝生长旺盛。如图1所示,菌丝浓密,呈典型的绒毛状,沿培养基表面呈放射状均匀扩展,边缘整齐清晰,菌落直径达8~10 cm。

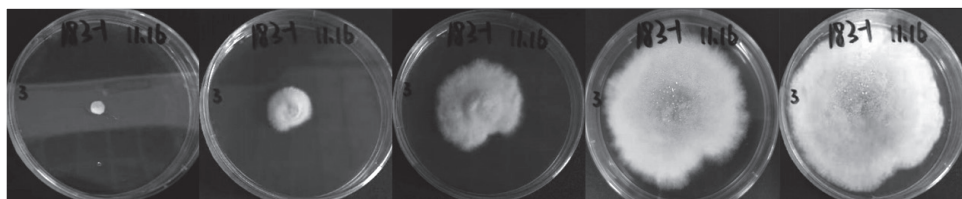


图1 一级种菌丝生长状态(从左到右依次为0、3、6、9、12 d)

(2)二级种培养:经28℃恒温培养12 d后,菌丝已完全定植。如图2所示,高粱粒表面被洁白浓密的菌丝覆盖,

菌丝体与基质结合紧密,且无杂菌污染,表明菌种活力强,可进行后续接种。



图2 二级种菌丝生长状态(从左到右依次为0、3、6、9、12 d)

2.2 桑黄-黄芪双向固体发酵

培养期间定期观察菌丝生长状态,桑黄在黄芪基质上的生长状态与二级种培养阶段存在差异。与二级种相比,双向固体发酵过程中的菌丝蔓延速度相对较慢,随着培养时间的延长,菌丝不仅完全覆盖基质表面,菌质颜色也发生了明显变化,由初期的白色逐渐转变为均匀的黄

褐色。如图3所示,接种后10 d,培养基表面可见白色绒毛状菌丝萌发;20 d菌丝逐渐扩展,覆盖培养基表面;30 d菌丝浓密,基质颜色由浅黄转为黄褐色;36 d菌丝长满瓶,菌质呈均匀黄褐色,即得双向固体发酵菌质。

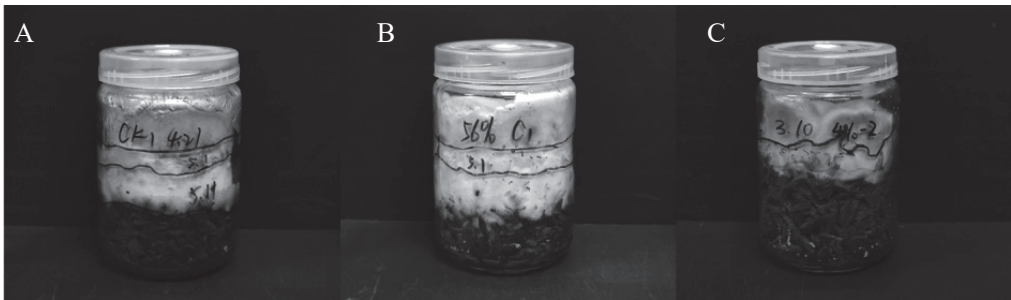


图3 桑黄发酵黄芪菌丝生长状态(从左到右依次为0、10、20、30、36 d)

2.3 发酵条件筛选优化

(1)NaHCO₃添加量。图4为不同NaHCO₃添加量下桑黄菌丝生长状态(培养20 d)。在未添加NaHCO₃(0%)的对照组中,菌丝生长相对缓慢(图4A),长满培养基需29.67±1.15 d;当NaHCO₃添加量增加至2%时,菌丝生长状态最佳(图4B),长满培养基所需时间缩短至26.00±1.00 d,

较对照组缩短了12.4%;当NaHCO₃添加量继续增加至4%时,菌丝生长受到明显抑制(图4C),长满培养基天数延长至50.00±1.73 d,较2%组延长了92.3%(表1)。因此,选择2%为促进桑黄菌丝生长的最适NaHCO₃添加量。



注:A. 0% NaHCO₃;B. 2% NaHCO₃;C. 4% NaHCO₃。

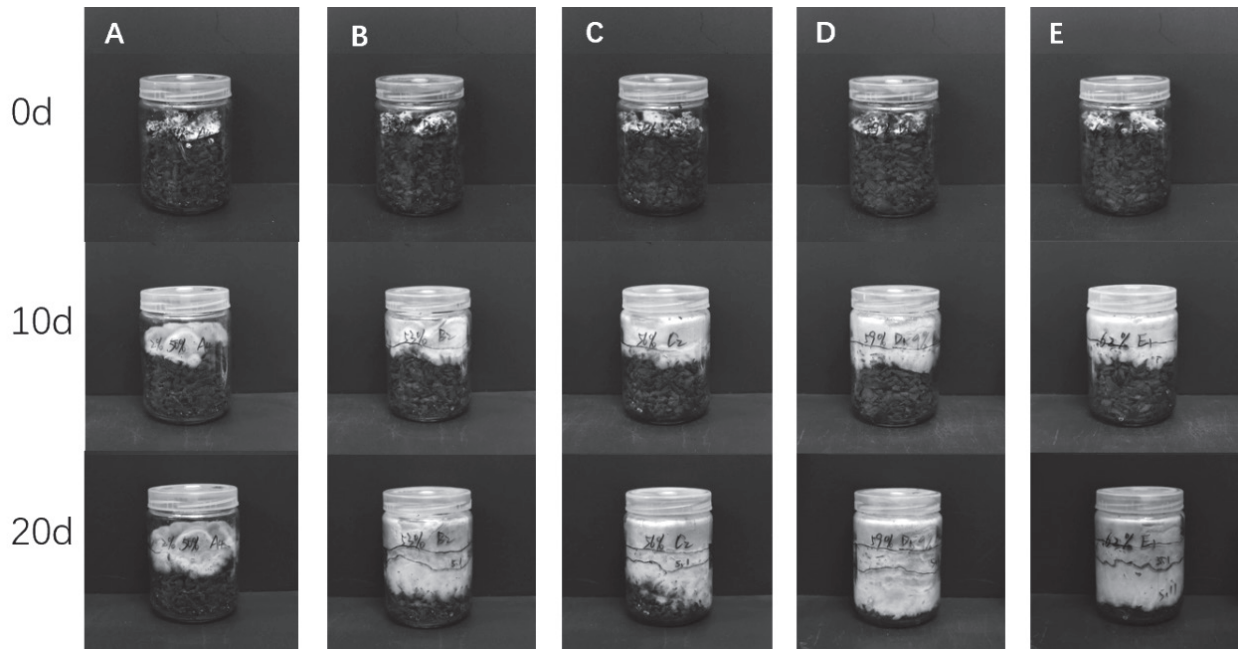
图4 不同NaHCO₃添加量下桑黄菌丝生长状态(培养20 d)

表1 NaHCO₃添加量对桑黄菌丝生长天数的影响
(含水量56%, n=3, $\bar{x} \pm s$)

NaHCO ₃ 添加量(%)	生长天数(d)	菌丝生长状态
0	29.67±1.15	菌丝萌发较慢,扩展速率低
2	26.00±1.00	菌丝洁白浓密,扩展迅速
4	50.00±1.73	菌丝生长受抑制,色泽偏暗

(2)含水量。图5为不同含水量下桑黄菌丝生长状态(培养第0、10、20 d)。在固定NaHCO₃添加量2%的条件下,

下,含水量为59%时桑黄菌丝长满培养基所需天数最短,生长速度最快;含水量为62%时生长天数与59%相近,但培养后期瓶底出现明显积水,基质通气性显著下降;含水量为56%时基质状态适中,但菌丝长势一般;含水量低于56%时,基质偏干,菌丝生长速率随含水量降低而减慢(表2)。综合考虑生长速率与基质状态,确定59%为最适含水量。



注:A.含水量50%;B.含水量53%;C.含水量56%;D.含水量59%;E.含水量62%。

图5 不同含水量下桑黄菌丝生长状态

表2 含水量对桑黄生长天数的影响(2%NaHCO₃,n=3, $\bar{x}\pm s$)

含水量(%)	生长天数(d)	菌丝生长状态	基质状态
50	33.67±2.08	菌丝生长缓慢	偏干, 基质松散
53	27.33±1.53	菌丝扩展较慢	稍干
56	26.00±1.00	菌丝生长一般	适中
59	22.67±1.53	菌丝洁白浓密, 扩展迅速	适宜, 软硬适中
62	24.67±0.58	菌丝生长较快	瓶底有积水, 通气性差

2.4 黄芪原料与发酵菌质活性成分含量比较

如表3所示,与黄芪相比,发酵菌质总多糖含量由14.02±0.01 mg·g⁻¹显著增加至37.61±0.22 mg·g⁻¹($P<0.01$);发酵菌质总黄酮含量由17.49±0.05 mg·g⁻¹显著降低至16.34±0.06 mg·g⁻¹($P<0.05$);发酵菌质总多酚含量由4.88±0.20 mg·g⁻¹显著降低至3.47±0.13 mg·g⁻¹($P<0.05$)。

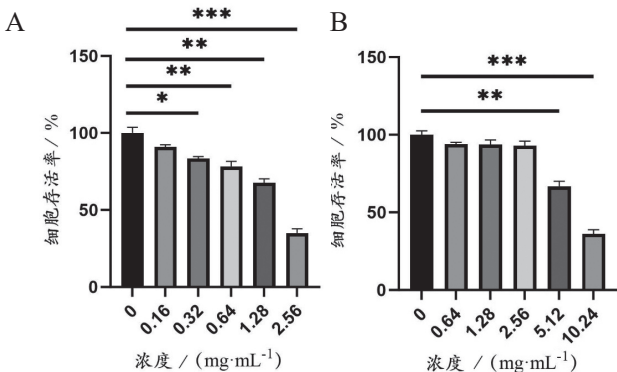
表3 黄芪与发酵菌质的总多酚、总黄酮、总多糖含量对比($\bar{x}\pm s$,n=3,mg·g⁻¹)

样品	总多酚含量	总黄酮含量	总多糖含量
黄芪	4.88±0.20	17.49±0.05	14.02±0.01
发酵菌质	3.47±0.13*	16.34±0.06*	37.61±0.22**

注:与黄芪组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

2.5 HCT116细胞存活率测定

如图6所示,发酵菌质提取物和黄芪提取物均可抑制HCT116细胞增殖,且随药物浓度增加,HCT116细胞存活率逐渐降低。采用非线性回归拟合计算IC₅₀值,发酵菌质提取物冻干粉对人结肠癌HCT116细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)为1.835 mg·mL⁻¹,低于黄芪提取物冻干粉(7.590 mg·mL⁻¹),提示发酵菌质提取物对HCT116细胞具有更强的体外增殖抑制活性。



注:A.CCK-8法检测不同浓度发酵菌质提取物;B.黄芪提取物处理后HCT116细胞存活率;* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

图6 CCK-8法检测不同浓度发酵菌质提取物和黄芪提取物处理后HCT116细胞存活率

3 讨论

双向固体发酵技术可使发酵产物兼具真菌与中草药的特性,甚至可能产生全新的药理功能,且支持多种发酵组合,可以通过选择不同的真菌菌种与中草药品种进行搭配,获得多样化的发酵产物,从而满足不同领域的需求。目前,该技术已在灵芝、茯苓等真菌与黄芪、虎杖等中药材中的发酵中取得良好效果^[12-14],但桑黄-黄芪组合的抗结肠癌活性研究,国内外尚属空白。已有研究表明^[9-11],经过发酵后的中药材,其活性成分含量及生物利用度可得到显著提升。将冠突散囊菌与桑黄共培养并分别固体发酵金银花(叶)、葛根和黄芪,结果显示发酵黄芪的总黄酮含量显著提高,药效增加^[9];非解乳糖链球菌发酵后的黄芪各部位的粗多糖、总黄酮和总皂苷成分含量均显著增加^[10];蝉拟青霉与黄芪双向发酵后菌质中总多糖水平上升,总黄酮含量下降,发酵的研究表明^[11],说明不同发酵菌种对药材活性成分的转化具有选择性差异。本研究以桑黄为菌种、黄芪为基质,采用双向固体发酵技术制备桑黄-黄芪发酵菌质,黄芪原料与发酵菌质活性成分含量比较结果显示发酵菌质总多糖含量较黄芪原料显著增加,而总黄酮和总多酚含量均降低。这一“多糖富集、酚类消耗”的转化规律可能与以下机制有关:桑黄菌丝体合成大量胞外多糖,同时分泌纤维素酶、淀粉酶将基质大分子降解为可溶性糖,导致多糖含量升高;而黄酮、多酚类成分作为易利用碳源被代谢消耗,或在多酚氧化酶作用下氧化降解。

研究发现,桑黄多糖能够有效调节机体免疫功能,增强免疫细胞活性^[15-16];黄酮与多酚类物质则表现出显著的抗氧化与抗肿瘤活性^[17-19]。传统中医认为,黄芪性温、味甘,具有健脾补中、升阳举陷、益卫固表、利尿、托毒生肌的功效具有免疫调节、抗氧化、抗炎等多种生物活性^[20]。本研究将桑黄和黄芪两种天然产物通过双向发酵技术结合,发酵菌质的体外增殖抑制活性明显增强,有望产生协同增效作用,为结肠癌治疗提供新策略。这一现象可能与发酵过程中桑黄分泌的胞外酶对黄芪细胞壁结构的破坏有关,促进了活性成分的释放与转化以及大分子鞣质、蛋白质等杂质的降解,提高了活性小分子的相对浓度和溶出率;同时,发酵过程中可能产生了具有抗肿瘤活性的新成分或改变了原有活性成分的比例,共同构成了发酵

菌质的药效物质基础^[21]。

双向固体发酵不仅是简单的“1+1”叠加,而是期望通过桑黄的生物转化作用,将黄芪中的大分子物质降解为更易吸收的小分子,或产生新的活性化合物,从而“激活”或“放大”黄芪的抗癌潜能,拓宽其应用范围。本研究发现,桑黄-黄芪进行双向固体发酵可显著提升发酵菌质中的多糖成分,发酵菌质醇提物具有更强的抗肿瘤活性,该工艺可为桑黄-黄芪发酵产品在抗肿瘤辅助制剂及功能性食品领域的开发提供实验依据。利用双向固体发酵技术可提高对桑黄资源的开发利用,对黄芪的价值提升也具有重要意义;同时,双向固体发酵的生产条件相对可控,相较于液态发酵无需严格的无菌环境,且操作简单、成本低廉,更适合工业化大规模生产。此外,该技术还能有效利用中草药药渣,减少资源浪费并降低环境污染,具有良好的经济效益与社会效益。

参考文献

- 菌质的药效物质基础^[21]。

双向固体发酵不仅是简单的“1+1”叠加,而是期望通过桑黄的生物转化作用,将黄芪中的大分子物质降解为更易吸收的小分子,或产生新的活性化合物,从而“激活”或“放大”黄芪的抗癌潜能,拓宽其应用范围。本研究发现,桑黄-黄芪进行双向固体发酵可显著提升发酵菌质中的多糖成分,发酵菌质醇提物具有更强的抗肿瘤活性,该工艺可为桑黄-黄芪发酵产品在抗肿瘤辅助制剂及功能性食品领域的开发提供实验依据。利用双向固体发酵技术可提高对桑黄资源的开发利用,对黄芪的价值提升也具有重要意义;同时,双向固体发酵的生产条件相对可控,相较于液态发酵无需严格的无菌环境,且操作简单、成本低廉,更适合工业化大规模生产。此外,该技术还能有效利用中草药药渣,减少资源浪费并降低环境污染,具有良好的经济效益与社会效益。

参考文献

 - [1] 包海鹰,杨烁,李庆杰,等. “桑黄”的本草补充考证[J]. 菌物研究,2017,15(4):264-270.
 - [2] 张越,方锦,姚亮,等. 桑黄药材的历史沿革与变迁[J]. 中华中医药杂志,2024,39(11):5713-5718.
 - [3] 于艳杰,王芳芳,马红红,等. 桑黄生物活性成分及药理作用研究进展[J]. 特种经济动植物,2022,25(10):94-99.
 - [4] Liu T, Zhao M, Zhang Y, et al. Polysaccharides from *Phellinus linteus* attenuate type 2 diabetes mellitus in rats via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 262(Pt 1): 130062.
 - [5] 许瀛引,董茜,张谦,等. 桑黄多糖对溃疡性结肠炎的干预作用[J]. 菌物学报,2025,44(6):133-147.
 - [6] Zhang Y, Chen Z, Chen L, et al. *Astragali radix* (Huangqi): a time-honored nourishing herbal medicine[J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 119.
 - [7] 宫安东,宋梦鸽,王高瞻,等. 黄芪中黄芪多糖的提取工艺研究进展[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版),2022,35(1): 168-172.
 - [8] 庄毅. 药用真菌新型(双向型)固体发酵工程[J]. 中国食用菌,2002(4):3-6.
 - [9] 陆承云. 两种药用真菌新化合物发现及其对中药材的转化作用[D]. 贵阳:贵州师范大学,2018.
 - [10] 苏贵龙. 益生菌FGM发酵对黄芪根、茎、叶主要活性成分含量的影响研究[D]. 北京:中国农业科学院,2017.
 - [11] 赵崇妍,杨芳,屈青松,等. 蝉拟青霉/黄芪双向发酵体系建立及成分研究[J]. 世界中医药,2018,13(12):3195-3198.
 - [12] 杨英歌,李荣,宋凯,等. 灵芝-黄芪药渣固体双向发酵工艺优化及菌质多糖对肠癌HCT116的抑制作用研究[J]. 中国食品添加剂,2023,34(11):110-118.
 - [13] 谢炎福,杜苗苗. 红曲霉和虎杖共发酵体系的初步研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):272-275.
 - [14] 金兴聪,卢建秋,崔议方,等. 黄芪-茯苓双向固体发酵菌质对高尿酸血症小鼠的改善作用研究[J]. 中国现代中药, 2023,25(6):1245-1251.
 - [15] Lu J, Su M, Zhou X, et al. Research Progress of Bioactive Components in *Sanghuangporus* spp[J]. *Molecules*, 2024, 29(6): 1195.
 - [16] Chen L, Pan J, Li X, et al. Endo-polysaccharide of *Phellinus igniarius* exhibited anti-tumor effect through enhancement of cell mediated immunity[J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(2): 255-259.
 - [17] 孙恺婧,刘馨泽,金鑫,等. 暴马桑黄的抗肿瘤活性成分及其作用机制研究进展[J]. 生物技术进展,2024,14(6):929-936.
 - [18] Zhou X, Shi Q, Li J, et al. Medicinal fungus *Phellinus igniarius* alleviates gout in vitro by modulating TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1011406.
 - [19] Liu X, Cui S, Dan C, et al. *Phellinus baumii* Polyphenol: A Potential Therapeutic Candidate against Lung Cancer Cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16141.
 - [20] 赵彦鑫,李晓娜,王玉婕,等. 黄芪及其有效成分抗肝癌作用研究进展[J/OL]. 中医学报,2026-09-24. <https://link.cnki.net/urlid/41.1411.R.20250818.1422.050>.
 - [21] Chen C Y, Zhang R, Zhang L J, et al. Biotransformation and bioaccessibility of active ingredients from *Radix Astragali* by *Poria cocos* during solid-state fermentation and in vitro digestion and antioxidant activity evaluation [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 6888.

(收稿日期:2026-09-02)

(中医中药栏目编辑:王松月)

[illegible]