

# 低频交变磁场对樟芝液态发酵的影响

朱莉萍, 马海乐, 陆敏, 吴平

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:** 使用实验室自主研发的磁场设备, 以樟芝为研究对象, 以菌丝体生物量提高率为指标, 通过单因素和正交优化试验, 研究低频交变磁场对樟芝液态发酵的影响, 确定最优磁场参数, 并借助扫描电镜, 对比常规液态发酵和磁场辅助液态发酵所得菌丝体的微观形态的差异。结果显示, 当磁感应强度为 80 Gs, 磁处理初次介入时间为接种 3 d 后, 每天磁处理时长为 4 h 时, 磁场对樟芝菌丝体的生长促进作用最强。在此条件下, 菌丝体生物量提高率为 15.87%, 多糖增长率为 24.26%, 总三萜增长率为 26.85%。扫描电镜结果显示, 磁场辅助樟芝液态发酵所得菌丝体比常规液态发酵菌丝体表面更加粗糙, 结构更加松散, 褶皱更为明显。实验结果表明, 低频交变磁场辅助樟芝液态发酵可以提高其菌丝体生物量、多糖和三萜产量。

**关键词:** 樟芝; 交变磁场; 液态发酵; 菌丝体

**文章编号:** 1673-9078(2019)08-153-159

**DOI:** 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.8.023

## Effects of Low-intensity Alternating Magnetic Field on Liquid Fermentation of *Antrodia camphorata*

ZHU Li-ping, MA Hai-le, LU Min, WU Ping

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** The effects of low-frequency alternating magnetic field on the liquid fermentation of *Antrodia camphorata* were studied using the self-developed equipment, and single factor and orthogonal optimization experiments were conducted to determine the optimal magnetic field parameters based on the index of the growth rate for mycelial biomass. Scanning electron microscopy (SEM) was used to compare the differences in the morphology of mycelia obtained by the traditional liquid fermentation and the magnetic field-assisted liquid fermentation. The results showed that when the magnetic induction intensity was 80 Gs, initial magnetic treatment was 3 d after inoculation followed by daily treatment for 4 h, the magnetic field stimulated the greatest growth of *Antrodia camphorata*. Under these conditions, the growth rate for the mycelial biomass of *Antrodia camphorata*, increasing rate of polysaccharides, and increasing rate of triterpenoid were 15.87%, 24.26% and 26.85%, respectively. The SEM results revealed that the mycelia of the *Antrodia camphorata* treated by the magnetic field had rougher surface with more wrinkles and looser structures than those obtained by traditional liquid fermentation. The experimental results showed that the liquid fermentation of *Antrodia camphorata* assisted by low-frequency alternating magnetic field can increase the yields of mycelial biomass, polysaccharides and triterpenoids.

**Key words:** *Antrodia camphorata*; alternating magnetic field; liquid fermentation; mycelia

樟芝(*Antrodia camphorata*), 又名牛樟芝、红樟菇等, 是一种珍稀食药真菌, 属于担子菌纲、非褶菌目、多孔科、多年生担子菌。野生樟芝生长在台湾的牛樟树腐朽树干内壁, 具有解酒、保肝、消肿、止痛等功效<sup>[1-3]</sup>。樟芝的主要代谢产物为多糖和三萜类物

收稿日期: 2019-01-08

基金项目: 江苏现代农业产业技术体系建设项目(JATS[2018]319)江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 朱莉萍(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品物理加工技术

通讯作者: 马海乐(1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品物理加工技术

质<sup>[4]</sup>, 其中樟芝多糖具有抗肿瘤、抗乙肝病毒等功能, 三萜类化合物具有调节机体免疫、抗氧化、抗炎、降血压等功能<sup>[5]</sup>。由于樟芝的寄主专一性、数量稀少、生长缓慢以及人工栽培的困难, 导致其价格昂贵。为了弥补野生樟芝资源的匮乏, 多采取人工培养的方法获得樟芝的有效成分。液体发酵具有生产效率高、周期短和易于规模化等优点, 不受地域、气候、病虫害等条件制约, 具有广阔的开发应用前景<sup>[6]</sup>。近年来, 不少学者就樟芝液态发酵做了大量的研究, 主要集中在优化培养基配方、优化发酵条件和发酵方式等方法来提高液体发酵效率, 但该类方法只适用于某种特定的菌种, 无法普遍适用。

生物磁学是一门新型边缘学科,磁场可按磁场强度和方向分为稳恒磁场、交变磁场、脉动磁场和脉冲磁场等。稳恒磁场又称为静磁场,是磁场强度和方向保持不变的磁场;交变磁场是磁场强度和方向规律变化的磁场,频率在 30~300 kHz 的磁场称为低频交变磁场。国内外目前已有利用磁场促进微生物生长或促进某种微生物代谢产物合成的相关报道。王蓓等<sup>[7]</sup>发现静磁场可以促进樟芝菌丝的生长和三萜产量的增长,菌丝产量增长率约 23.53%,三萜产量增长率达到 28.19%。李心怡等<sup>[8]</sup>发现交变磁场可以促进灰树花的生长,各营养成分含量均有所上升。Taskin 等<sup>[9]</sup>发现低强度静磁场可以促进菌丝产量和蔗糖酶活。Santos 等<sup>[10]</sup>发现磁场对酿酒酵母菌丝产量和谷胱甘肽的产量均有促进作用。本文以樟芝菌丝体生物量提高率为指标,初步探索低频交变磁场对樟芝液态发酵的影响,为进一步工业化生产提供新思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌株

樟芝菌 (*Antrodia camphorate* ATCC 200183), 购自美国菌种保藏中心。

### 1.2 主要仪器设备

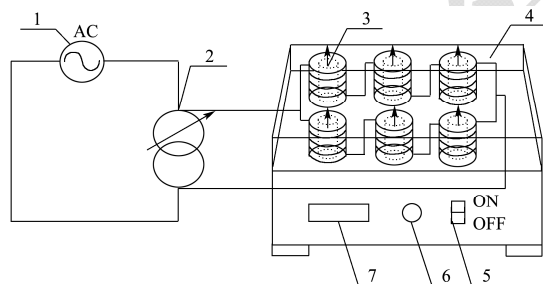


图 1 低频交变磁场设备示意图

Fig.1 Schematic diagram of low-intensity alternating magnetic field equipment

注: 1.220 V 交流电源 2.单向接触调压器 3.磁场线圈 4.摇床 5.摇床开关 6.摇床转速调节按钮 7.转速显示屏。

磁场摇床, 课题组自主研发(见图 1); JZ5002 型电子天平, 上海天平仪器厂; BST600 高精度高斯计, 杭州帕菲科技有限公司; G154DWS 型立式灭菌锅, 南京庚辰科学仪器有限公司; SW-CJ-2D 型超净工作台, 上海苏达实验仪器有限公司; PSX-280H 型恒温培养箱, 宁波莱福科技有限公司; HYL-C 型摇床, 太仓市强乐实验设备有限公司; LD5-2A 型离心机, 北京医用离心机厂; ALPHA 2-4 型冷冻干燥机, 德国 Marin Christ 公司; HH-S 型数显恒温水浴锅, 江苏省

金坛市医疗仪器厂; Cary Elipes100 紫外可见分光光度计, 美国 Varian 公司; HITACHI S-570 扫描电子显微镜, 美国 Agilent 公司。

本试验所使用的低频交变磁场设备示意图如图 1 所示, 磁感应强度通过高斯计测定, 磁场置于恒温箱中, 培养温度通过恒温箱控制。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 培养基的配制

斜面培养基: 将马铃薯去皮切块, 称取 200 g, 加入适量水, 于电磁炉上煮沸 20 min, 四层纱布过滤, 滤液中趁热加入葡萄糖 20 g, 加水定容至 1000 mL, 分装至 500 mL 三角瓶中, 每瓶 250 mL, 每瓶加入琼脂粉 5 g, 八层纱布加两层报纸封口置于灭菌锅中, 在 121 °C 下灭菌 20 min。

种子液培养基: 将马铃薯去皮切块, 称取 200 g, 加入适量水, 于电磁炉上煮沸 20 min, 四层纱布过滤, 滤液中趁热加入葡萄糖 20 g, 加水定容至 1000 mL, 分装至 250 mL 三角瓶中, 每瓶 100 mL, 八层纱布加两层报纸封口置于灭菌锅, 在 121 °C 下灭菌 20 min。

液态发酵培养基: 称取 30 g 玉米粉、5 g 黄豆粉、1 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.5 g  $KH_2PO_4$ , 加入 1000 mL 水, 于电磁炉上煮沸 30 min, 四层纱布过滤。加水定容至 1000 mL, 分装至 250 mL 的三角瓶中, 每瓶 100 mL, 八层纱布加两层报纸封口置于灭菌锅中, 在 121 °C 下灭菌 20 min。

#### 1.3.2 培养方法

菌种保存方法: 将樟芝菌 (*Antrodia camphorata*) 接种于斜面培养基, 27 °C 恒温培养 15 d, 置于 4 °C 冰箱中备用。每 3 个月转接一次, 长期保存的菌种以石蜡油封存。

种子液培养方法: 从活化后的斜面上, 用接种铲切取 0.5 cm<sup>2</sup> 带培养基的菌体, 转接入装有 100 mL 种子液培养基的 250 mL 三角瓶中, 于 27 °C、140 r/min 条件下培养 7 d。

发酵培养: 以 10% 的接种量, 将种子液接入装有 100 mL 液态发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 于 27 °C、150 r/min 条件下培养 7 d。

#### 1.3.3 樟芝液态发酵生长曲线的测定

以接种量为 10%, 装液量为 100 mL, 温度为 27 °C, 摇床转速为 150 r/min, 进行樟芝液态发酵。以培养时间为横坐标, 菌丝体生物量为纵坐标, 绘制生长曲线。如图 2 所示, 樟芝菌种的停滞期约处于 0~1 d, 对数生长期约处于 1~6 d, 培养 6 d 后进入稳定生长期, 而约 9 d 后菌体自溶, 菌丝体生物量开始下降, 进入

衰亡期。因此,可以在6~9 d结束发酵,收集菌丝体。

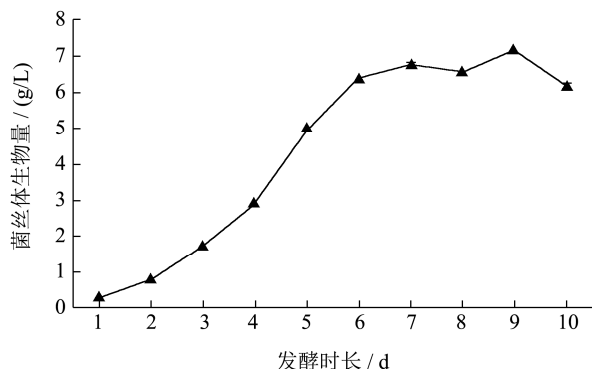


图2 樟芝液态发酵生长曲线

Fig.2 The growth curve of *Antrodia camphorata* liquid fermentation

### 1.3.4 磁场辅助樟芝液态发酵单因素试验

以10%的接种量,将种子液接入发酵培养基中。接种后将对照组置于恒温摇床中,于27℃、150 r/min条件下培养7 d。同时将试验组置于恒温摇床中,于27℃、150 r/min条件下先培养一段时间,之后每天于同一时间点将试验组放入磁场摇床,施加一定时长和一定磁感应强度的磁场,处理结束后将试验组放回恒温摇床中,共培养7 d。每个处理3个平行。以樟芝菌丝体生物量提高率为指标,选择磁处理初次介入时间、磁处理方式、磁处理时长、磁处理天数和磁感应强度为主要影响因素进行单因素试验,考察各因素对樟芝菌丝体生物量提高率的影响。

### 1.3.5 磁场辅助樟芝液态发酵正交试验

在单因素试验的基础上,选取磁处理时长、磁处理天数和磁感应强度三个因素进行三因素三水平正交试验设计,以菌丝体生物量提高率为指标,优化磁场参数。每个处理3个平行。

### 1.3.6 樟芝菌丝体生物量的测定

发酵结束后,四层纱布过滤,用蒸馏水洗涤3次,收集菌丝球,冷冻干燥36 h,结束后称量,即可得出单位体积生物量。菌丝体生物量提高率的计算公式如下:

$$L(\%) = \frac{m-n}{n} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中:L为菌丝体生物量提高率,m为磁场处理后的菌丝体生物量,n为对照组菌丝体生物量。

### 1.3.7 樟芝菌丝体水溶性粗多糖的提取

参照李羿<sup>[11]</sup>的方法略作改动。将冻干的菌丝体磨成粉末,过60目筛,准确称取0.2 g菌丝粉于10 mL离心管中,加入6 mL蒸馏水沸水浴2 h,6000 r/min离心20 min取上清液,加入95%乙醇12 mL,于4℃冰箱静置12 h,4000 r/min离心20 min,收集沉淀,

挥干后得菌丝体粗多糖,加适当蒸馏水溶解得粗多糖溶液。

### 1.3.8 樟芝菌丝体水溶性粗多糖的测定<sup>[12]</sup>

#### 1.3.8.1 葡萄糖标准曲线的绘制

准确称取干燥至恒重的葡萄糖标准品10 mg,加蒸馏水溶解,定容至100 mL,摇匀,配成0.1 mg/mL的葡萄糖溶液。分别吸取0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL于具塞试管中,用蒸馏水补至2 mL,然后分别加入1.0 mL 6%苯酚溶液和5 mL浓硫酸,混匀,沸水浴20 min,取出后冷却至室温,在490 nm处测定吸光度,以葡萄糖质量为横坐标,吸光度为纵坐标,作图得到标准曲线(图3),其回归方程为:Y=8.3343X+0.024, R<sup>2</sup>=0.9932。

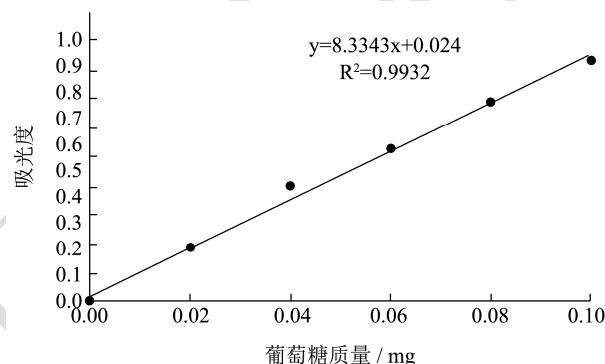


图3 葡萄糖标准曲线

Fig.3 Standard curve of glucose

#### 1.3.8.2 粗多糖含量测定

准确吸取樟芝粗多糖溶液1 mL,稀释100倍,取稀释液1 mL进行粗多糖含量的测定,检测方法同1.3.8.1中苯酚硫酸法。根据葡萄糖标准曲线计算出粗多糖溶液的多糖质量浓度。

#### 1.3.8.3 樟芝菌丝体多糖得率

$$\text{多糖得率}(\%) = \frac{C_1 \times V \times n}{m} \times 10^{-1} \quad (2)$$

式(2)中:C<sub>1</sub>为多糖质量浓度,mg/mL;V为提取液体积,mL;n为稀释倍数;m为菌丝粉质量,g。

### 1.3.9 樟芝菌丝体三萜类化合物的提取

参照陆震鸣<sup>[13]</sup>的方法略作改动。准确称量0.1 g菌丝粉于10 mL离心管中,加入无水乙醇5 mL,于75℃水浴2 h,取出冷却至室温,5000 r/min离心15 min后取上清液,80℃水浴蒸干,冷冻干燥得粗提三萜化合物。

### 1.3.10 樟芝菌丝体总三萜含量的测定

#### 1.3.10.1 齐墩果酸标准曲线的绘制

参照孟宪军<sup>[14]</sup>的方法略作改动。准确称取干燥至恒重的齐墩果酸标准品25 mg,加无水乙醇溶解,定容至25 mL,摇匀,配成1 mg/mL的齐墩果酸标准溶

液。分别吸取齐墩果酸标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于离心管中，不足的部分用无水乙醇补至 1 mL，混匀后分别取 0.2 mL 于 15 mL 具塞试管中，80 °C 水浴加热挥尽乙醇溶剂，之后分别加入新配制的 5% 的香草醛-冰醋酸溶液 0.3 mL、高氯酸 1.0 mL，混匀后，60 °C 水浴 15 min，取出后冷却至室温，加冰醋酸 10 mL，在 548 nm 处测定吸光度值，以齐墩果酸质量为横坐标，吸光度为纵坐标，作图得到标准曲线(图 4)，其回归方程为： $Y=4.1571X-0.0097$ ， $R^2=0.9946$ 。

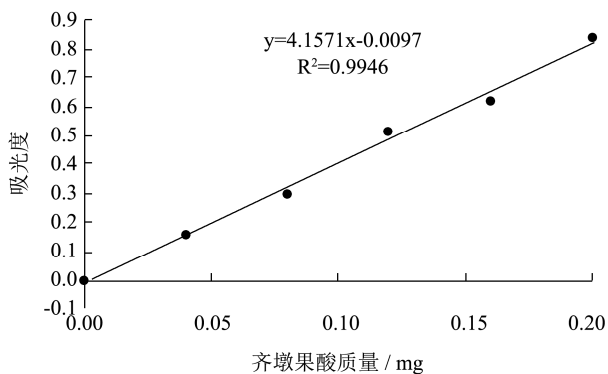


图 4 三萜类化合物标准曲线

Fig.4 Standard curve of the triterpenoids

### 1.3.10.2 总三萜含量的测定

取 0.2 mL 上清液置于 15 mL 具塞试管中，按照 1.3.10.1 中的方法测定总三萜含量。根据标准曲线计算出提取液中的总三萜质量浓度。

### 1.3.10.3 樟芝菌丝体总三萜得率

$$\text{总三萜得率}(\%) = \frac{C_2 \times V \times n}{m} \times 10^{-1} \quad (3)$$

式(3)中： $C_2$ 为总三萜质量浓度，mg/mL； $V$ 为提取液体积，mL； $n$ 为稀释倍数； $m$ 为菌丝粉质量，g。

### 1.3.11 菌丝体扫描电镜观察

将对照组和试验组的菌丝球用三倍体积的 2.5% 戊二醛固定液于 4 °C 冰箱中固定 12 h。观察前用 0.1 M, pH 7.0 的 PBS 缓冲液清洗 3 次，每次 15 min。依次用 30%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 和 100% 体积浓度的乙醇溶液对样品进行梯度脱水，每次 15 min，再用含饱和硫酸钠的无水乙醇脱水 15 min，之后进行 CO<sub>2</sub> 临界点干燥。将干燥后的样品粘附于导电胶上，喷金，置于扫描电镜观察室中进行观察。

### 1.3.12 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理，采用 Tukey 检验， $p < 0.05$  表示差异显著，用不同字母表示差异显著。图中数据用三次测定的平均值和标准偏差的形式表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 磁场辅助樟芝液态发酵单因素试验

#### 2.1.1 磁处理初次介入时间对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

通过前期预试验，将磁感应强度设为 70 Gs，一次性磁处理时长为 12 h，磁处理初次介入时间分别设定为：接种后 0、1、2、3、4、5、6 d。结果如图 5 所示，在接种 3 d 后进行磁场处理，樟芝菌丝体生物量提高率最高，与其他介入时间有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。此时樟芝菌种处于快速生长的对数期，有研究表明，处于对数期的微生物对外界环境比较敏感，作用效果较为明显<sup>[15]</sup>，这与林影<sup>[16]</sup>和吴平等<sup>[17]</sup>的研究结果类似。因此，后续试验选择在接种 3 d 后进行磁场处理。

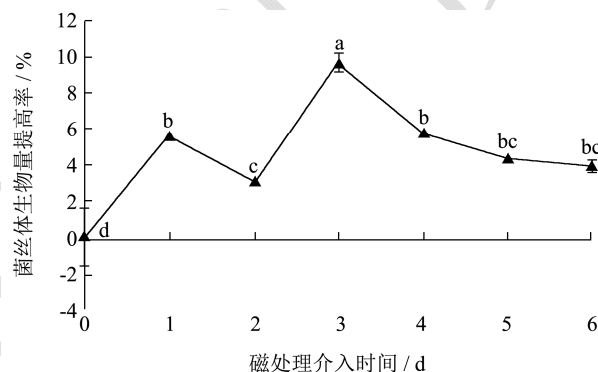


图 5 磁处理初次介入时间对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

Fig.5 Effect of magnetic treatment first start time on biomass increase of *Antrodia camphorata*

注：不同字母表示组间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )，下同。

#### 2.1.2 磁处理方式对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

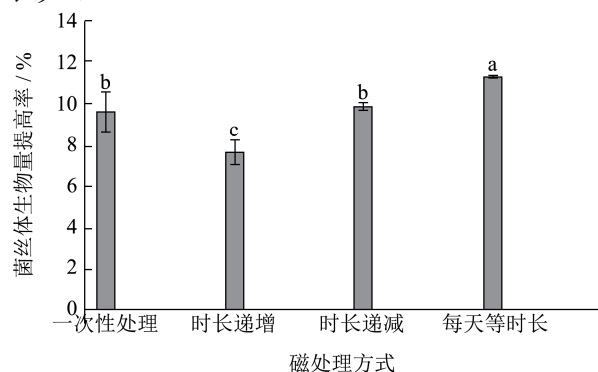


图 6 磁处理方式对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

Fig.6 Effect of magnetic process mode on biomass increase of *Antrodia camphorata*

将磁感应强度设为 70 Gs，磁处理初次介入时间为接种 3 d 后，磁处理方式分别为：一次性处理 12 h、时长递增（即接种 3 d 后依次磁处理 1.5、2.5、3.5、4.5 h）、时长递减（即接种 3 d 后依次磁处理 4.5、3.5、

2.5、1.5 h)、每天等时长(即接种3 d后每天磁处理3 h)。结果如图6所示,在接种3 d后每天磁处理3 h,樟芝菌丝体生物量提高率最高,与其他3种磁处理方式有显著性差异( $p<0.05$ )。因此,后续试验选择在接种3 d后每天磁处理3 h。

### 2.1.3 磁处理时长对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

将磁感应强度设为70 Gs,在接种3 d后进行每天等时磁场处理,磁处理时长分别为:2、3、4、5、6、7 h。结果如图7所示,随着磁处理时长的增加,菌丝体生物量提高率呈现先上升后下降的趋势,说明适当的磁处理可以促进樟芝生物量的提高,磁处理时间过长则会抑制樟芝的生长,这与高梦祥等<sup>[18]</sup>的研究结果类似。有报道称<sup>[19]</sup>,外加磁场通过影响微生物体内和外部环境的某些顺磁性金属元素,来改变相关的蛋白质和酶的结构和活性,从而影响到微生物的生长。而且,细胞膜在外加磁场的作用下,流动性和选择透过性也会发生改变,从而影响到菌丝周围环境中的营养物质的分配和交换,进而对菌丝体的生长产生影响。这可能是磁场促进樟芝生物量提高的原因,具体机制还有待进一步探究。每天磁处理4 h,樟芝菌丝体生物量提高率最高,与3 h相比有显著性差异( $p<0.05$ ),与5 h相比无显著性差异( $p>0.05$ ),为节约能源选择每天磁处理4 h进行后续试验。

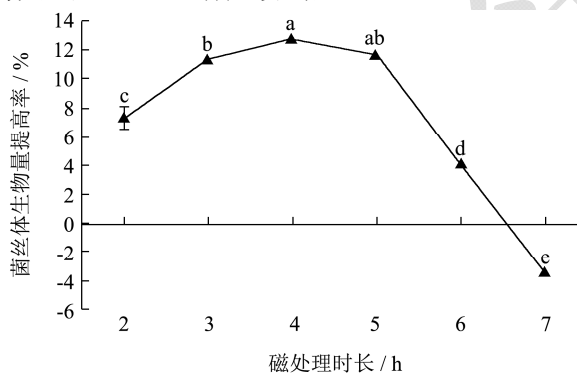


图7 磁处理时长对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

Fig.7 Effect of magnetic treatment duration time on biomass increase of *Antrodia camphorata*

### 2.1.4 磁处理天数对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

将磁感应强度设为70 Gs,在接种3 d后每天磁处理4 h,磁处理天数分别为:1、2、3、4 d,总共发酵7 d。结果如图8所示,随着磁处理天数的增加,樟芝菌丝体生物量提高率呈现上升趋势。说明磁场作用的触发需要一定的阈值,磁场处理需要达到一定的时间,才能导致生物量的改变。磁处理天数为4 d时,樟芝菌丝体生物量提高率最高,与其他磁处理天数有显著

性差异( $p<0.05$ )。因此,后续试验选择磁处理天数为4 d。

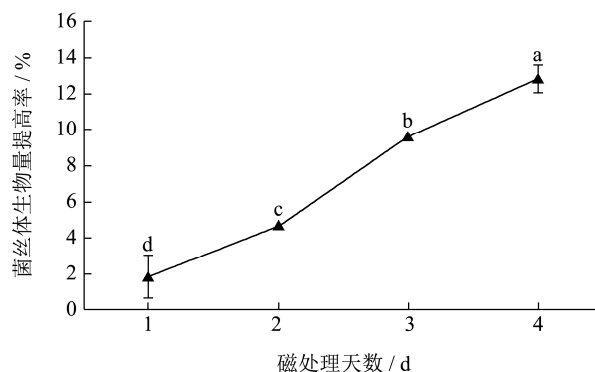


图8 磁处理天数对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

Fig.8 Effect of days of magnetic treatment on biomass increase of *Antrodia camphorata*

### 2.1.5 磁感应强度对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

在接种3 d后每天磁处理4 h,磁感应强度分别为:40、50、60、70、80、90和100 Gs。结果如图9所示,随着磁感应强度的增加,樟芝菌丝体生物量提高率呈现先上升后下降的趋势。在磁感应强度为100 Gs时,磁场抑制了樟芝的生长,这一现象验证了磁场作用的阈值性。磁场具有阈值性,对于不同生物或同种生物的不同层次,要使可观测到的指标发生变动,则需要达到一定强度,并且需有一定的作用时间<sup>[20,21]</sup>。磁感应强度为80 Gs时,菌丝体生物量提高率最高,且与70和90 Gs相比有显著性差异( $p<0.05$ ),因此,磁感应强度选为80 Gs。

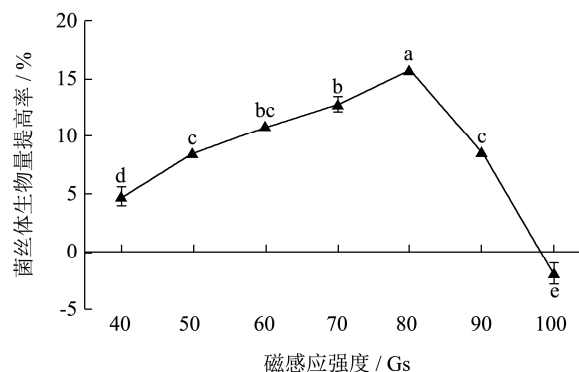


图9 磁感应强度对樟芝菌丝体生物量提高率的影响

Fig.9 Effect of magnetic field intensity on biomass increase of *Antrodia camphorata*

## 2.2 磁场辅助樟芝液态发酵正交试验

通过单因素试验筛选出对菌丝体生物量提高率影响较大的三个因素为磁处理时长、磁处理天数、磁感应强度,因此选取这三个因素进行三因素三水平正交试验设计。正交试验因素水平见表1,试验结果见表2。

由极差分析结果可知,对樟芝菌丝体生物量提高率影响程度从大到小的顺序依次是磁处理天数、磁处理时长、磁感应强度。最优磁场条件组合为: A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,但这组水平不在正交表中,对该组水平进行三次验证试验,得到菌丝体生物量提高率为 15.87%,高于正交试验表中每一项试验结果,确定最优磁场条件为磁处理时长为 4 h,磁处理天数为 4 d,磁感应强度为 80 Gs。

表 1 正交试验设计表 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)

水平	A 磁处理 时长/h	B 磁处理 天数/d	C 磁感应 强度/Gs
1	3	2	70
2	4	3	80
3	5	4	90

表 2 正交试验结果

试验号	A 磁处理 时长/h	B 磁处理 天数/d	C 磁感应 强度/Gs	菌丝体生物量 提高率/%
1	3	2	70	2.99
2	3	3	80	10.45
3	3	4	90	10.03
4	4	2	80	6.20
5	4	3	90	11.64
6	4	4	70	12.78
7	5	2	90	5.43
8	5	3	70	9.45
9	5	4	80	13.28
k1	7.82	4.87	8.41	
k2	10.21	10.51	9.98	
k3	9.39	12.03	9.03	
R	2.38	7.16	1.57	
优水平	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	

### 2.3 樟芝菌丝体中主要活性物质测定结果

表 3 普通发酵与磁场辅助发酵获得的菌丝活性物质含量比较

指标	对照组	试验组
多糖	5.73%±0.29%	7.12%±0.19%
三萜	1.08%±0.01%	1.37%±0.02%

对照组和试验组菌丝体主要活性物质测定结果见表 3。与对照组相比,试验组菌丝体中的多糖和三萜含量均升高。多糖和三萜含量增加可能是因为磁场辅助液态发酵能够促进菌丝体的生长,从而使菌丝体在

发酵结束时能够积累更多的多糖和三萜类物质,因此含量稍高于对照组。

### 2.4 菌丝体扫描电镜观察结果

对照组和试验组菌丝体扫描电镜差异如图 10 所示。图 10a 为对照组菌丝体,表面光滑饱满,菌丝直径一致且弯折较少。图 10b 为试验组菌丝体,表面粗糙,结构更加松散,出现褶皱,菌丝体变粗且弯折较多,这与李心怡等<sup>[11]</sup>的研究结果类似。试验组菌丝体表面结构更加松散,有利于营养物质和代谢产物等的传递运输,可能有利于菌丝体生物量的提高。

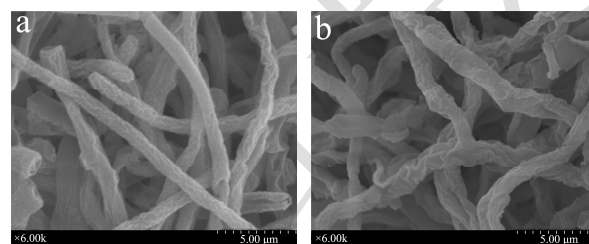


图 10 对照组 (a) 和试验组 (b) 扫描电镜差异

Fig.10 SEM difference of mycelia from control group (a) and experimental group (b)

## 3 结论

当磁感应强度为 80 Gs,在接种 3 d 后进行磁场处理,每天磁处理 4 h 时,磁场对樟芝菌丝体的生长促进作用最强。在该条件下,樟芝菌丝体生物量提高率为 15.87%,多糖得率为(7.12%±0.19)%,相比对照组增加了 24.26%,总三萜得率为(1.37%±0.02)%,相比对照组增加了 26.85%。扫描电镜结果显示,低频交变磁场处理后的菌丝体表面粗糙,出现褶皱,菌丝体变粗,且表面结构更加松散。综上所述,磁处理初次介入时间、磁处理时长、磁感应强度等因素均会对菌丝体的生长产生影响,磁处理对樟芝的液态发酵有着显著的促进作用。

### 参考文献

[1] Liao Pei-Chun, Kuo Dai-Chang, Lin Chia-Chia, et al. Historical spatial range expansion and a very recent bottleneck of *Cinnamomum kanehirae* Hay. (Lauraceae) in Taiwan inferred from nuclear genes [J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10(3): 124

[2] Pan Min-Hsiung, Lai Ching-Shu, Ho Chi-Tang. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids [J]. Food & Function, 2010, 1(1): 15-31

[3] 贺元川,陈仕江,贺宗毅,等.樟芝三萜研究进展[J].重庆中草药研究,2012,2:19-25

- HE Yuan-chuan, CHEN Shi-jiang, HE Zong-yi, et al. Research progress on triterpenoids of *Anrodia camphorate* [J]. Research on Chinese herbal medicine in Chongqing, 2012, 2: 19-25
- [4] 张宏海,张仲欣,马海乐.樟芝深层液体发酵条件的试验研究[J].食品与药品,2008,10(5):18-21  
ZHANG Hong-hai, ZHANG Zhong-xin, MA Hai-le. Experiment study on submerged fermentation condition of *Anrodia camphorate* [J]. Food and Drug, 2008, 10(5): 18-21
- [5] ShenYuh-Chiang, Wang Yea-Hwey, ChouYueh-Ching, et al. Evaluation of the anti-inflammatory activity of zhankuic acids isolated from the fruiting bodies of *Anrodia camphorate* [J]. Planta Medica, 2004, 70(4): 310-314
- [6] 顾顺明,孙晔,王潞江,等.发酵法生产灰树花菌丝体的研究[J].工业微生物,2003,33(4):1-4  
GU Shun-ming, SUN Ye, WANG Lu-jiang, et al. Fermentative production for *Grifala frondosa* mycelia [J]. Industrial Microbiology, 2003, 33(4): 1-4
- [7] 王蓓,王薇薇,马海乐,等.静磁场辅助液态发酵对樟芝菌丝体及三萜产量的影响[J].中国农业科技导报,2015,17(5):99-105  
WANG Bei, WANG Wei-wei, MA Hai-le, et al. Effect of statistical magnify field-assisted liquid fermentation on yield of myceliaand triterpenoid of *Anrodia camphorate* [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2015, 17(5): 99-105
- [8] 李心怡,叶晓非,马海乐,等.低强交变磁场促进灰树花液体发酵及其生物学窗效应研究[J].食品与发酵工业,2017,43(8):53-58  
LI Xin-yi, YE Xiao-fei, MA Hai-le, et al. Stimulation of low-intensity alternating magnetic field on *Griflola frondosa* liquid fermentation and its preliminary study of biological window effects [J]. Food and Fermentation Industry, 2017, 43(8): 53-58
- [9] Mesut Taskin, Nevzat Esim, Mucip Genisel, et al. Enhancement of invertase production by *Aspergillus niger* OZ-3 using low-intensity static magnetic fields [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2013, 43(2): 177-188(12)
- [10] Lucielen Oliveira Santos. Effects of magnetic fields on biomass and glutathione production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Process Biochemistry, 2010, 45(8): 1362-1367
- [11] 李羿,万德光,杨胜.茯苓发酵液中多糖的提取分离[J].化学研究与应用,2006,18(9): 1099-1101  
LI Yi, WAN De-guang, YANG Sheng. Extraction and isolation of polysaccharide fermentation liquid of *Poria cocos* [J]. Chemical Research and Application, 2006, 18(9): 1099-1101
- [12] 徐慧,赵双枝,刘孝永,等.响应面法优化鹿角灵芝产胞内多糖的液体发酵工艺[J].江苏农业科学,2018,46(23):215-220  
XU Hui, ZHAO Shuang-zhi, LIU Xiao-yong, et al. Response surface methodology was used to optimize the liquid fermentation of intracellular polysaccharide from *Ganoderma amboinense* [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2018, 46(23): 215-220
- [13] 陆震鸣.樟芝深层液态发酵及其三萜类化合物的研究[D].无锡:江南大学,2009  
LU Zhen-ming. Study of submerged culture of *Anrodia camphorata* and its triterpenoids [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009
- [14] 孟宪军,李斌,李元魁,等.响应面法优化微波辅助提取北五味子总三萜工艺[J].食品与生物技术学报,2011,30(6):20-24  
MENG Xian-jun, LI Bin, LI Yuan-su, et al. Optimization for microwave-assisted extraction of total triterpenoids from schisandra chinensis by response surface method [J]. Journal of Food and Biotechnology, 2011, 30 (6): 20-24
- [15] 王合利,马海乐,祝子坪,等.大肠杆菌的脉冲磁场杀菌效果及规律性的研究[J].食品工业科技,2008(7):79-81  
WANG He-li, MA Hai-le, ZHU Zi-ping, et al. Sterilization effect and regularity of *E. coli* by pulsed magnetic field [J]. Food Industry Science and Technology, 2008 (7): 79-81
- [16] 林影.磁场对脆壁克鲁维氏酵母细胞生长及菊糖酶生物合成作用的研究[D].广州:华南理工大学,1997  
LIN Ying. Effect of magnetic field on the cells growth and inulinase biosynthesis of *Kluyveromyces fragilis* [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 1997
- [17] 吴平,曾义,王薇薇,等.格氏李斯特菌脉冲磁场杀菌效果研究[J].食品工业科技,2015,36(7):127-131  
WU Ping, ZENG Yi, WANG Wei-wei, et al. Study on the sterilization effect of pulsed magnetic fields on *Listeria grayi* [J]. Food Industry Science and Technology, 2015, 36(7): 127-131
- [18] 高梦祥,夏帆,胡秋冬.交变磁场对啤酒酵母的生长促进效应[J].农业机械学报,2007,38(7):91-93  
GAO Meng-xiang, XIA Fan, HU Qiu-dong. Stimulation of alternating magnetic field on *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Agricultural Machinery, 2007, 38(7): 91-93