

樟芝深层发酵菌丝体提取物对食源性致病菌的抑制作用

李华祥¹, 石瑀¹, 蒋文浩², 王娟娟¹, 陆春雷¹, 高亚军¹, 贾禄强¹, 杨振泉^{1*}

(¹扬州大学食品科学与工程学院 江苏扬州 225127

²江南大学食品学院 江苏无锡 214122)

摘要 樟芝是一种珍稀食药两用大型真菌,具有解酒保肝、抗肿瘤、抗病毒、调节免疫等多种生物活性。本文以成本低廉且易获得的樟芝深层发酵菌丝体为原料,用甲醇、乙醇、乙酸乙酯及水提取樟芝菌丝体中的活性物质,采用牛津杯法检测上述 4 种樟芝菌丝体提取物对 15 株食源性致病菌的抑制作用,结果表明樟芝菌丝体甲醇提取物抑菌谱最广,对其中 7 株致病菌(金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、河流弧菌、创伤弧菌、最小弧菌、霍乱弧菌及副溶血性弧菌)的生长抑制效果均较为显著;随后检测了 4 种樟芝菌丝体提取物对测试菌的最小抑菌浓度(MIC),结果樟芝菌丝体不同提取物对测试菌的最小抑菌质量浓度范围为 0.3~41.0 mg/mL;最后,采用平板菌落计数法验证樟芝甲醇提取物对金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌及最小弧菌的抑菌效果,结果樟芝菌丝体甲醇提取物在最小抑菌浓度下对上述 3 种菌的最大抑菌率均在 92%以上,抑菌效果极为显著。本研究成果为开发安全高效、功能多样的新型食品抑菌剂提供了新思路。

关键词 樟芝; 提取物; 抑菌; 食源性致病菌

文章编号 1009-7848(2022)03-0047-06 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.03.006

樟芝 (*Antrodia camphorate* 或 *Taiwanofungus camphoratus*), 又名牛樟芝、牛樟菇等, 是一种大型珍稀食药两用真菌, 属于担子菌纲、多孔菌目、薄孔菌属, 素有“药芝之王”、“森林红宝石”之美誉^[1-2]。国内外大量研究证实樟芝在保肝、抗癌、抗肿瘤、抗病毒、抗炎症、抗氧化、降血压、降血脂、缓解疲劳及调节免疫等方面具有显著功效^[3-5]。随后, 研究者们从樟芝子实体及发酵菌丝体中分离出百余种活性物质, 主要包括三萜类、多糖类及苯环类等, 具有较大的研究潜力及开发价值^[6]。

国外学者 Geethangili 等^[7]研究发现, 樟芝的氯仿及正己烷提取物均能显著抑制幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 的生长。Lien 等^[8]发现, 樟芝的 3 种有机溶剂 (乙醇、氯仿及乙酸乙酯) 提取物均对口腔细菌变异链球菌 (*Streptococcus mutans*) 和牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*) 的生长具有显著抑制效果, 其 MIC 值为 4~16 $\mu\text{g/mL}$ 。国内学者杨淑贤等^[9]及汪雯翰等^[10]发现, 樟芝的 3 种有机溶剂 (甲醇、氯仿及正丁醇) 提取物均对金黄

色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌的生长具有显著抑制效果。李娟等^[11]发现, 樟芝乙酸乙酯提取物对 7 种多重耐药性人体致病细菌的生长具有显著抑制效果。

有关樟芝菌丝体提取物在抑制食源性致病菌方面的研究较少, 尤其是对副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 及霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 等弧菌和阪崎肠杆菌 (*Enterobacter sakazakii*) 的生长抑制效果研究尚显不足。本文以成本低廉且较易获得的樟芝深层发酵菌丝体^[12]为原料, 研究樟芝菌丝体不同提取物对 15 种食源性致病菌的抑制作用, 进一步补充和完善樟芝活性物质在抑菌方面的研究, 为开发新型安全高效、功能多样的食品奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌株 本文所用樟芝及所有食源性致病菌菌株均为本实验室保藏菌株^[13]。

1.1.2 试剂 本文中培养樟芝斜面所用的 PDA 培养基、培养食源性致病菌所用的 LBS 培养基及 LB 培养基, 上海生工; 用于配制樟芝发酵培养基的相关试剂及其它常规试剂 (分析纯), 国药集团 (中国)。

收稿日期: 2021-03-13

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK20190890); 国家自然科学基金项目 (32001661, 32102100)

作者简介: 李华祥 (1985—), 男, 博士, 讲师

通信作者: 杨振泉 E-mail: yangzq5730@163.com

1.2 方法

1.2.1 樟芝菌丝体的收集 根据樟芝深层发酵的前期研究成果,采用5 L发酵罐按照文献[14]中的培养基配方(葡萄糖2%,酵母浸出粉0.2%, $MgSO_4$ 0.15%, KH_2PO_4 0.3%,pH 4.5)和发酵条件(接种量为 1×10^6 spore/mL,26 °C,150 r/min,发酵10 d)进行樟芝深层发酵,结束后用4层纱布过滤并收集樟芝菌丝体。

1.2.2 樟芝活性物质的提取 将樟芝菌丝体与甲醇、乙醇、乙酸乙酯或蒸馏水按料液比为1:10的比例混合,超声处理45 min后,静置过夜。然后离心(8 000 r/min,10 min,4 °C)收集上清液,即得樟芝菌丝体提取液^[15]。

将樟芝有机溶剂提取液70 °C水浴蒸干后,称重并用DMSO溶剂复溶;将樟芝水提取液真空冷冻干燥,称重后用水复溶。最终获得已知浓度的樟芝菌丝体提取液。

1.2.3 致病菌的培养及稀释 参照石瑀等^[16]的方法,将食源性致病菌分别接种于LBS培养基(弧菌)及LB培养基(非弧菌)中,37 °C培养12 h。再用无菌生理盐水梯度稀释(梯度为10,共稀释10个梯度)并吸取100 μ L各稀释菌液均匀涂布于平板上,培养10~12 h后进行菌落计数。最后,根据菌落计数结果将每个测试菌的培养液用生理盐水稀释到 1×10^5 CFU/mL备用。

1.2.4 抑菌谱的测定 测定樟芝菌丝体提取物的部分抑菌谱时,我们采用的是牛津杯法^[17],具体操作参照陆春雷等^[13]和石瑀等^[16]的方法,每个试验组均设置3个生物重复。

1.2.5 最小抑菌浓度的测定 测定樟芝菌丝体提取物对食源性致病菌的最小抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)时采用二倍稀释法^[18],具体操作参照陆春雷等^[13]和石瑀等^[16]的方法,设置生理盐水空白对照组及DMSO溶剂对照组,每个组均设置6个生物重复。我们将溶剂无抑菌效果(即根据分光光度计检测及肉眼观察结果,判断抑菌率为0)且樟芝菌丝体提取物完全抑菌(即根据分光光度计检测及肉眼观察结果,判断抑菌率为100%)时所对应的樟芝菌丝体提取物最低添加浓度视为相应的最小抑菌浓度。

1.2.6 抑菌效果验证 测定樟芝菌丝体甲醇提取

物对各测试菌的抑菌率时,我们采用的是平板菌落计数法^[19]。根据最小抑菌浓度的检测结果,我们选取副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌及最小弧菌3株菌株作为测试菌以验证樟芝甲醇提取物的抑菌效果。具体操作参照陆春雷等^[13]和石瑀等^[16]的方法,此处以检测樟芝菌丝体甲醇提取物对金黄色葡萄球菌抑制效果的操作为例进行简要描述。即采用20 mL玻璃试管为容器,LB培养基的装液量为5 mL,接入100 μ L浓度为 1×10^5 CFU/mL的金黄色葡萄球菌菌液,再加入400 μ L质量浓度为10 mg/mL的樟芝菌丝体甲醇提取液(此浓度在最小抑菌浓度检测试验中抑菌效果理想且对应的溶剂无抑菌效果),将试管置于37 °C、120 r/min摇床中培养,并于8,10,12 h分别取样进行平板菌落计数。以相同体系中添加400 μ L无菌生理盐水代替樟芝菌丝体甲醇提取液的试管作为空白对照组,每组设置3个生物重复,根据菌落计数结果计算樟芝菌丝体甲醇提取物对测试菌株的抑菌率。检测樟芝菌丝体甲醇提取物对副溶血性弧菌及最小弧菌的抑菌率时,除了将LB培养基替换成LBS培养基以外,其余操作均与检测樟芝菌丝体提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌率操作相同。

2 结果与分析

2.1 樟芝菌丝体提取物的抑菌谱

按1.2.2节中的方法,获得质量浓度分别为49.6,17.6,44.0,82.0 mg/mL的樟芝菌丝体甲醇提取液(ME)、乙醇提取液(AE)、乙酸乙酯提取液(EE)及水提液(WE)。分别吸取500 μ L上述4种樟芝菌丝体提取液并将质量浓度统一稀释至15 mg/mL后,按1.2.4节中的方法检测樟芝菌丝体不同提取物对15株食源性致病菌的抑制效果,获得各樟芝菌丝体提取物的部分抑菌谱,结果如表1所示。

由表1可以看出,4种樟芝菌丝体提取物对大肠杆菌、沙门氏菌及6株阪崎肠杆菌均无明显抑制作用,但对金黄色葡萄球菌的生长均呈现显著抑制作用。此外,樟芝菌丝体甲醇提取物对5株弧菌及蜡样芽孢杆菌均有较好的生长抑制效果;樟芝菌丝体乙醇提取物对河流弧菌及创伤弧菌有较好的生长抑制效果;樟芝菌丝体乙酸乙酯提取

表 1 樟芝菌丝体不同提取物的抑菌谱

Table 1 The antibacterial spectrum of different extracts from mycelia of *Antrodia camphorata*

测试菌	抑菌效果			
	ME	AE	EE	WE
金黄色葡萄球菌	+++	+++	++	+
副溶血性弧菌 21617	++	-	-	-
霍乱弧菌 23794	+	-	-	+
河流弧菌 1.1609	+	++	-	-
创伤弧菌 10383	+	++	-	+
最小弧菌 21613	++	-	-	-
蜡样芽孢杆菌	+	-	-	-
大肠杆菌	-	-	-	-
沙门氏菌	-	-	-	-
阪崎肠杆菌 21545	-	-	-	-
阪崎肠杆菌 21569	-	-	-	-
阪崎肠杆菌 1.1593	-	-	-	-
阪崎肠杆菌 22919	-	-	-	-
阪崎肠杆菌 21673	-	-	-	-
阪崎肠杆菌 21612	-	-	-	-

注:ME:樟芝菌丝体甲醇提取物;AE:樟芝菌丝体乙醇提取物;EE:樟芝菌丝体乙酸乙酯提取物;WE:樟芝水提取物;上述 4 种樟芝菌丝体提取物的原液质量浓度均为 15 mg/mL;“+”表示有抑菌效果,“+”越多表示抑菌效果越显著;“-”表示无明显的抑菌效果。

物仅对金黄色葡萄球菌的生长有较为显著的抑制效果;樟芝菌丝体水提取物对霍乱弧菌及创伤弧菌有较好的生长抑制效果。可见,樟芝菌丝体甲醇提取物的抑菌谱最广,能显著抑制 15 株测试菌中 7 株菌株的生长。

2.2 樟芝菌丝体提取物的最小抑菌浓度

在检测出不同樟芝菌丝体提取物的部分抑菌谱后,我们进一步检测了 4 种樟芝菌丝体提取物对其所对应测试菌株的最小抑制浓度,结果如表 2 所示。

由表 2 可知,DMSO 对食源性致病菌的生长有一定的抑制作用,但抑制效果随浓度的降低而减弱,直至几乎无抑菌效果。将用 DMSO 溶解的樟芝菌丝体提取物的抑菌效果与相同浓度的 DMSO(表中同一列数据)抑菌效果相比较后得出,4 种樟芝菌丝体提取物均对 7 株测试菌的生长有显著抑制作用,且最小抑菌质量浓度在 0.3~41.0 mg/mL 之间。其中,樟芝菌丝体乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最小抑菌质量浓度最低,为 0.3 mg/mL;樟芝菌丝体水提取物对弧菌的最小抑菌质量浓度最高,为 41.0 mg/mL。

表 2 不同樟芝菌丝体提取物对测试菌的抑制作用

Table 2 The antibacterial activity of extracts from mycelia of *Antrodia camphorata* on test bacteria

样品		不同浓度樟芝菌丝体提取物的抑菌率/%							
		2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×
金黄色葡萄球菌	DMSO	100	100	100	27.2 ± 10.6	0	0	0	0
	ME	100	100	100	100	100	100	70.4 ± 2.8	47 ± 1.8
	AE	100	100	100	100	100	100	52.3 ± 2.1	46.3 ± 1.9
	EE	100	100	100	100	100	74.2 ± 2.5	48.3 ± 1.9	32.3 ± 1.3
	WE	100	100	70.2 ± 2.7	21.2 ± 0.8	0	0	0	0
副溶血性弧菌	DMSO	100	100	67.4 ± 2.7	0	0	0	0	0
	ME	100	100	100	100	62.8 ± 1.1	28.1 ± 0.4	0	0
	WE	100	45.2 ± 1.5	20.7 ± 0.7	8.9 ± 0.3	0	0	0	0
霍乱弧菌	DMSO	100	100	52.2 ± 2.9	0	0	0	0	0
	ME	100	100	100	100	62.8 ± 2.1	20.7 ± 0.8	0	0
	WE	100	45.2 ± 1.5	20.7 ± 0.7	8.9 ± 0.3	0	0	0	0
河流弧菌	DMSO	100	100	0	0	0	0	0	0
	ME	100	100	100	30.3 ± 1.2	8.9 ± 0.4	0	0	0
	AE	100	100	100	32.2 ± 1.3	10.1 ± 0.4	0	0	0
创伤弧菌	DMSO	100	100	0	0	0	0	0	0
	ME	100	100	100	51.2 ± 2.0	23.8 ± 0.9	8.9 ± 0.3	0	0
	AE	100	100	100	68.8 ± 2.6	42.7 ± 1.6	8.6 ± 0.3	0	0
	WE	100	60.2 ± 2.3	25.6 ± 1.1	0	0	0	0	0

(续表 2)

样品		不同浓度樟芝菌丝体提取物的抑菌率/%							
		2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×
最小弧菌	DMSO	100	100	100	0	0	0	0	0
	ME	100	100	100	100	44.8 ± 1.7	14.6 ± 0.5	0	0
蜡样芽孢杆菌	DMSO	100	100	61.2 ± 2.3	0	0	0	0	0
	ME	100	100	100	100	53.3 ± 1.4	10.6 ± 0.5	0	0

注:2×:原液稀释 2 倍(其余以此类推);DMSO:溶剂对照,同一种测试菌对应的同一列数据中 DMSO 溶剂浓度相同(水提取物不设溶剂对照);ME:樟芝菌丝体甲醇提取物(原液质量浓度为 49.6 mg/mL);AE:樟芝菌丝体乙醇提取物(原液质量浓度为 17.6 mg/mL);EE:樟芝菌丝体乙酸乙酯提取物(原液质量浓度为 44.0 mg/mL);WE:樟芝菌丝体水提取物(原液质量浓度为 82.0 mg/mL)。

2.3 樟芝菌丝体甲醇提取物的抑菌效果验证

由于樟芝菌丝体甲醇提取物的抑菌谱最广,抑菌效果最好。因此选择樟芝菌丝体甲醇提取物及 3 株致病菌(金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌及最小弧菌)作为樟芝代表提取物及测试菌代表菌株,用 20 mL 试管体系培养,并用平板菌落计数法进一步验证樟芝菌丝体提取物对测试菌的抑制效果。

2.3.1 测试菌生长曲线的测定 首先测定了金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌以及最小弧菌 21613 的生长曲线,以确定最佳取样时间,结果如图 1 所示。

由图 1 可知,副溶血性弧菌和最小弧菌的迟滞期、对数期和稳定期分别为 0~4 h, 4~10 h 和 10~12 h;金黄色葡萄球菌的迟滞期、对数期和稳定期分别为 0~6 h, 6~10 h 和 10~12 h。可见,当培养 8 h 和 10 h 时,3 种菌均处于对数期中期及对数期末期;培养 12 h 时,3 种菌均处于稳定期。因此,后续检测樟芝甲醇提取物的抑菌率时,我们分

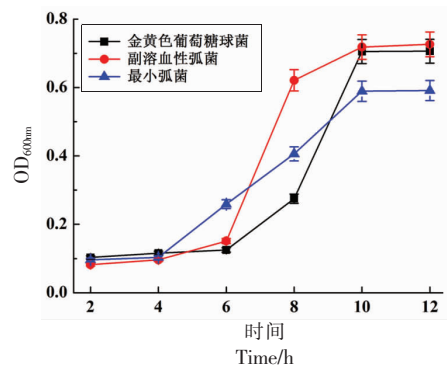


图 1 测试菌的生长曲线

Fig.1 The growth curve of test bacteria

别取培养 8, 10 h 及 12 h 的菌液进行涂布及菌落计数。

2.3.2 樟芝菌丝体甲醇提取物的抑菌效果 采用平板菌落计数法,检测樟芝甲醇提取物在最小抑菌浓度下对金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌及最小弧菌不同培养时间的抑菌率,以进一步验证其抑菌效果,结果如表 3 所示。

表 3 樟芝菌丝体甲醇提取物对测试菌的抑菌率

Table 3 The antibacterial rate of methanol extracts from mycelia of *Antrodia camphorate* on test bacteria

测试菌	樟芝菌丝体甲醇提取物抑菌率/%		
	8 h	10 h	12 h
金黄色葡萄球菌	60.0 ± 2.6 ^a	85.4 ± 3.4 ^b	92.1 ± 3.6 ^c
副溶血性弧菌 21617	93.3 ± 3.5 ^c	72.3 ± 2.6 ^b	56.9 ± 1.8 ^a
最小弧菌 21613	95.7 ± 3.8 ^c	87.2 ± 3.3 ^b	76.9 ± 3.1 ^a

注:当测试菌为金黄色葡萄球菌时,樟芝菌丝体甲醇提取物的添加终质量浓度为 0.8 mg/mL;当测试菌为副溶血性弧菌和最小弧菌时,樟芝菌丝体甲醇提取物的添加终质量浓度为 3.1 mg/mL;同一行中不同字母表示在 0.05 水平上差异显著。

由表 3 可知,樟芝菌丝体甲醇提取物对两株弧菌的抑菌率在对数期中期达到最大值;而樟芝菌丝体甲醇提取物对金黄色葡萄球菌的抑制效果随培养时间点的增加而增强,在稳定期时抑菌率

达到最大值。上述结果表明,樟芝菌丝体甲醇提取物确实能显著抑制金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌以及最小弧菌的生长,且最大抑菌率均在 92% 以上,抑菌效果较为理想,从而进一步证实了抑菌

谱试验及最小抑菌浓度试验数据的可靠性。

3 结论

樟芝菌丝体提取物对 15 株食源性致病菌中的 7 株(霍乱弧菌、副溶血性弧菌、河流弧菌、创伤弧菌、最小弧菌、金黄色葡萄球菌及蜡样芽孢杆菌)具有较好的抑制效果,且不同提取物对测试菌的最小抑菌质量浓度范围在 0.3~41.0 mg/mL 之间。其中,樟芝菌丝体甲醇提取物的抑菌谱最广,抑菌效果最显著;平板菌落计数试验结果表明,樟芝菌丝体甲醇提取物对金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌及最小弧菌的最大抑菌率均在 92% 以上,抑菌效果极其显著,进一步证实了樟芝菌丝体提取物的抑菌效果。本研究结果较具开发价值及应用前景。

参 考 文 献

- [1] LU M C, EL-SHAZLY M, WU T Y, et al. Recent research and development of *Antrodia cinnamomea*[J]. *Pharmacol Therapeut*, 2013, 139(2): 124-156.
- [2] 陈稳竹, 钟建荣, 杨善岩. 牛樟芝的研究现状·问题与展望[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(27): 25-28, 53.
CHEN W Z, ZHONG J R, YANG S Y. Research advances, issues and perspectives of *Taiwanofungus camphorates* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, 46(27): 25-28, 53.
- [3] GANESAN N, BASKARAN R, VELMURUGAN B K, et al. *Antrodia cinnamomea*-An updated minireview of its bioactive components and biological activity [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2019, 43(8): e12936.
- [4] CHANG C J, LU C C, LIN C S, et al. *Antrodia cinnamomea* reduces obesity and modulates the gut microbiota in high-fat diet-fed mice [J]. *International Journal of Obesity*, 2018, 42(2): 231-243.
- [5] HUANG H, WANG S L, NGUYEN V, et al. Isolation and identification of potent antidiabetic compounds from *Antrodia cinnamomea* -An Edible Taiwanese Mushroom [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2864.
- [6] CHEN Y R, CHANG K T, TSAI M J, et al. *Antrodia camphorata* profoundly exalted the reversion of activated hepatic stellate cells by the alteration of cellular proteins [J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2014, 69: 150-162.
- [7] GEETHANGILI M, FANG S H, LAI C H, et al. Inhibitory effect of *Antrodia camphorata* constituents on the helicobacter pylori-associated gastric inflammation [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(1): 149-153.
- [8] LIEN H M, TSENG C J, HUANG C L, et al. Antimicrobial activity of *Antrodia camphorata* extracts against oral bacteria [J]. *Plos One*, 2013, 9(8): e105286.
- [9] 杨淑贤, 赵青舟, 单宇, 等. 牛樟芝对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的保护作用 [J]. *现代食品科技*, 2018, 34(2): 1-7.
YANG S X, ZHAO Q Z, SHAN Y, et al. Protective effects of *Antrodia cinnamomea* on chronic liver injury induced by carbon tetrachloride in rats [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(2): 1-7.
- [10] 汪雯翰, 孙太萍, 杨海芮, 等. 樟芝子实体和菌丝体萃取物的抑菌及抗氧化活性 [J]. *食用菌学报*, 2016, 23(2): 79-83.
WANG W H, SUN T P, YANG H R, et al. Antibacterial and anti-oxidant properties of extracts derived from fruit bodies and mycelia of *Taiwanofungus camphoratus* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2016, 23(2): 79-83.
- [11] 李娟, 王毅, 樊丽, 等. 牛樟芝发酵液提取物抗耐药性细菌活性研究 [J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 35(1): 96-101.
LI J, WANG Y, FAN L, et al. Antimicrobial studies on *Antrodia cinnamomea* against multi-drug resistant human pathogenic bacteria [J]. *Journal of Fujian Normal University (Natural Science Edition)*, 2019, 35(1): 96-101.
- [12] 李华祥, 陆震鸣, 耿燕, 等. 樟芝深层发酵工艺研究进展 [J]. *菌物学报*, 2017, 36(10): 1332-1345.
LI H X, LU Z M, GENG Y, et al. Recent advance in submerged fermentation of *Taiwanofungus camphoratus* [J]. *Mycosystema*, 2017, 36(10): 1332-1345.
- [13] 陆春雷, 赵雨菡, 姜金源, 等. 樟芝深层发酵液萃取物对食源性致病菌的抑制效果 [J]. *中国食用菌*, 2021, 40(6): 69-73, 79.
LU C L, ZHAO Y H, JIANG J Y, et al. The antibacterial effect of submerged fermentation broth ex-

- tracts from *Antrodia camphorata* on food-borne pathogens[J]. *Edible Fungi of China*, 2021, 40(6): 69-73, 79.
- [14] 李华祥. 樟芝无性孢子介导的高效循环发酵策略及其产孢分子机制解析[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- LI H X. Arthroconidia-mediated repeated batch fermentation strategy for *Antrodia camphorata* and underlying mechanism of asexual sporulation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [15] 李娇妹. 杏鲍菇三萜类化合物提取纯化工艺及抑制肿瘤活性研究[D]. 天津: 天津大学, 2015.
- LI J M. Isolation, structures, and antitumor activity of triterpenoids from *Pleurotus eryngii* [D]. Tianjin: Tianjing University, 2015.
- [16] 石瑀, 张雨佳, 任怡琳, 等. 牛樟树提取物对食源性致病菌的抑制效果[J]. *食品科技*, 2021, 46(4): 168-172, 179.
- SHI Y, ZHANG Y J, REN Y L, et al. Antibacterial effect of *Cinnamomum kanehirae* hay extract on food-borne pathogens[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(4): 168-172, 179.
- [17] 周芳, 熊海涛, 张江, 等. 牛津杯法测定抗菌肽对四种有害微生物的抑制效果[J]. *饲料工业*, 2018, 39(6): 48-51.
- ZHOU F, XIONG H T, ZHANG J, et al. The inhibitory effect of antimicrobial peptide against four kinds of harmful microorganisms by the Oxford cup method[J]. *Feed Industry*, 2018, 39(6): 48-51.
- [18] 陈璇, 张飞飞, 陈志永, 等. 不同测定方法对聚维酮碘杀菌效果的比较研究[J]. *水产科学*, 2018, 37(3): 348-353.
- CHEN X, ZHANG F F, CHEN Z Y, et al. Bactericidal efficacy comparison of povidone iodine on *Aeromonas hydrophila* between detection methods[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(3): 348-353.
- [19] 张雪, 谈诗谣, 钱斯日古楞, 等. 一株解淀粉芽孢杆菌的特性及抑菌活性研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(5): 1251-1257.
- ZHANG X, TAN S Y, QIAN S R G L, et al. Study on the characteristics and antibacterial activity of a *Bacillus amylolique faciens* [J]. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2018, 45(5): 1251-1257.

The Antibacterial Effect of Extracts from *Antrodia camphorata* Mycelium by Submerged Fermented on Food-borne Pathogens

Li Huaxiang¹, Shi Yu¹, Jiang Wenhao², Wang Juanjuan¹, Lu Chunlei¹,
Gao Yajun¹, Jia Luqiang¹, Yang Zhenquan^{1*}

¹*School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, Jiangsu*

²*School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu*

Abstract *Antrodia camphorata* is a precious edible and medicinal mushroom, which has many biological activities such as hepatoprotective, anti-cancer, anti-tumor, anti-virus, anti-oxidation, and immune regulation. In this study, the mycelium of *Antrodia camphorata* by submerged fermentation, were used to extract the active substances with methanol, ethanol, ethyl acetate and water. Then, the Oxford cup method was used to detect the antibacterial spectrum of the 4 kinds of extracts from mycelium of *Antrodia camphorata* on 15 food-borne pathogenic bacteria. It was found that the methanol extract from mycelium of *Antrodia camphorata* had the broadest antibacterial spectrum and significant inhibitory effect on 7 pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio fluvial*, *Vibrio vulnificus*, and *Vibrio minimal*). Subsequently, the two-fold gradient dilution method was used to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) of the extracts from mycelium of *Antrodia camphorata* on the tested bacteria. It was found that the MIC are from 0.3 to 41.0 mg/mL. Finally, the plate colony counting method was used to further verify the antibacterial activity of methanol extract from mycelium of *Antrodia camphorata* on *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio minimum*, it was found that the maximum antibacterial rates of the methanol extract from mycelium of *Antrodia camphorata* are all more than 92% at the minimum inhibitory concentration. This study expands the application of *Antrodia camphorata* in the food engineering field, and provide a new perspective for the development of new food bacteriostatic agents that are safe, efficient, and multifunctional.

Keywords *Antrodia camphorata*; extract; antibacterial; food-borne pathogen