

真姬菇发酵液的抑菌谱及其稳定性研究

杨雯雯, 师俊玲, 杨保伟

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】**研究真姬菇发酵液的抑菌活性。**【方法】**制备真姬菇发酵液,采用杯碟法检测其对 7 种常见细菌和 4 种霉菌的抑制效果。以金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肠球菌、化脓链球菌、大肠杆菌和沙门氏菌为指示菌,考察真姬菇发酵液中多糖和去多糖组分的抑菌活性。以金黄色葡萄球菌为指示菌,考察不同温度(4, 37, 80, 100 和 121 ℃)、pH(2, 4, 5, 7, 8, 10 和 12)和金属离子(Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Fe^{3+})对发酵液抑菌活性的影响。**【结果】**真姬菇发酵液对参试的 6 种细菌有一定的抑制作用,对参试的枯草芽孢杆菌和 4 种霉菌基本无抑制作用;发酵液中的多糖无抑菌活性;温度和 pH 对发酵液的抑菌活性无显著影响,经过不同温度和 pH 处理后的发酵液,仍能保存 86% 以上的抑菌活性;供试金属离子对发酵液抑菌活性无显著影响, Zn^{2+} 和 Fe^{3+} 对发酵液的抑菌活性有一定促进作用,而 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 和 Ca^{2+} 稍有抑制作用。**【结论】**真姬菇发酵液在各种环境条件均具有较高的稳定性,对多种细菌具有较好的抑菌效果,在一些食源性病原菌的防治方面有一定的应用前景。

【关键词】 真姬菇; 发酵液; 抑菌活性; 稳定性

【中图分类号】 TQ920.9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)06-0194-05

Antibacterial characteristics of the liquid cell-free culture of *Hypsizigus marmoreus*

YANG Wen-wen, SHI Jun-ling, YANG Bao-wei

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The study aimed at evaluating the inhibitory stability of the liquid cell-free culture of *Hypsizigus marmoreus*. **【Method】** The liquid cell-free culture of *Hypsizigus marmoreus* was prepared and cylinder plate method was used in the paper to test the inhibitory activity of the liquid cell-free culture of *Hypsizigus marmoreus*. Normal food borne pathogens of 7 strains of bacteria and 4 strains of mold was used as indicators of the test on inhibiting activity. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* were used as indicators to indentify the inhibiting activity of polysaccharides and non-polysacchride compounds in cell-free liquid culture of *Hypsizigus marmoreus*. Finally, *Staphylococcus aureus* was used as the indicator to study the effects of different temperature (4, 37, 80, 100 and 121 ℃), pH(2, 4, 5, 7, 8, 10 and 12), and metal ions(Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} and Fe^{3+}) on the stability of the cell-free culture in inhibiting activity. **【Result】** The cell-free liquid culture showed significant inhibitory activity to 6 tested bacteria pathogens, but not to *Salmonella typhimurium* and the molds. Polysaccharides in the culture did not show inhibitory activity to all the bacterial pathogens. The antibacterial component, to *Staphylococcus aureus*, had good stability against heating and remained its antibacterial activity more than 86% in a wide range of pH. Metalions had no significant effect on the antibacterial activity of the cell-free culture of *Hypsizigus*

* [收稿日期] 2008-10-07

[基金项目] 西北农林科技大学青年学术骨干支持计划项目。

[作者简介] 杨雯雯(1984—),女,河南漯河人,在读硕士,主要从事食品生物技术研究。E-mail: zizi155199@yahoo.com.cn.

[通信作者] 师俊玲(1972—),女,陕西渭南人,副教授,主要从事食品生物技术研究。E-mail: sjlshi2004@yahoo.com.cn.

marmoreus. Zn^{2+} , Fe^{3+} ions could enhance the antibacterial activity of fermentation broth evidently, and Na^+ , Mg^{2+} , K^+ and Ca^{2+} slightly weakened antibacterial activity of the cell-free liquid culture. 【Conclusion】 The cell-free liquid culture of *Hypsizigus marmoreus* showed high stability in inhibiting *Staphylococcus aureus* various environmental conditions and high inhibitory activity to many pathogens. Therefore, the liquid culture of *Hypsizigus marmoreus* has great potential in biological control of some food borne pathogens.

Key words: *Hypsizigus marmoreus*; fermentation broth; antibacterial activity; stability

真姬菇(*Hypsizigus marmoreus*)又名蟹味菇、玉蕈,属担子菌门^[1],是一种稀奇珍贵食用菌,外形似螃蟹^[2],含有多种生物活性物质,具有多种营养价值和广泛的药用价值^[3]。据报道,真姬菇多糖具有良好的抗肿瘤活性^[4-5]。目前,真姬菇多糖主要从子实体中提取获得,存在生产周期长、成本高等不足。随着人们对液体培养技术研究的不断深入,液体培养已被成功地用于多种大型真菌的大规模生产^[6]。研究发现,真姬菇在液体培养过程中能够在细胞内、外同时积累多糖^[7]。王萍等^[8]已经优化确定了真姬菇在液体培养过程中菌体生长和多糖产生的条件。结合工程技术,液体培养法生产真姬菇多糖有望实现工业化生产。因而,真姬菇液体培养物的进一步加工利用将成为今后的研究热点之一。尽可能多地保留发酵物的功能活性,是对真姬菇发酵液进行加工利用的一个基本原则。掌握真姬菇发酵液的生理活性及其稳定性,可为其加工利用方式及条件的确定提供理论依据。

大多种真菌发酵液除具有较高的抗氧化活性外,还具有较高的抑菌活性,例如香菇 *C₉₁₋₃* 发酵液对大肠埃希菌、伤寒沙门菌、痢疾志贺菌具有较强的抑制作用^[9];榆耳发酵液对痢疾杆菌、伤寒杆菌、绿脓杆菌、肠炎沙门氏菌等多种致病菌具有很强的抑制作用^[10-12]。目前,对影响真菌发酵液抑菌活性稳定性的因素研究较少,仅限于温度和 pH^[10],而有关真姬菇多糖功能的研究多集中于其抗氧化活性方面,对其发酵液抑菌活性及其有效成分的研究至今尚未见报道。为此,本研究考察了真姬菇发酵液的抑菌活性及其在不同条件下的稳定性,并对其中主要的抑菌活性物质进行了初步鉴定,以期真姬菇的综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

真姬菇 ZJ-029; 抑菌活性检测用 G^+ 菌:金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肠球菌、化脓链球菌、枯草芽孢杆菌, G^- 菌:大肠杆菌、沙门氏菌,霉菌:扩展青

霉、圆弧青霉、皮落青霉、黑曲霉等,均由西北农林科技大学食品科学与工程学院微生物实验室保存。

1.2 培养基

牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(LB),用于检测细菌的抑菌活性;马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),用于检测霉菌的抑菌活性;细菌摇瓶培养基:无琼脂的牛肉膏蛋白胨培养基;真姬菇发酵培养基:葡萄糖 30 g/L,麦芽糖 10 g/L,豆粕粉 9 g/L, KH_2PO_4 2.5 g/L, MgSO_4 3 g/L, KNO_3 1 g/L, V_{B_1} 50 mg/L,自然 pH(约 6.0)。

1.3 真姬菇发酵液的制备

取 10 mL 真姬菇菌液,接种于装有 100 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中,于 25 °C、180 r/min 条件下摇床培养。8 d 后,取培养物,3 500 r/min 离心 15 min,取上清液(pH 6.1 左右),置 4 °C 冰箱中保存备用(1 周内使用)。试验所有操作均在无菌条件下进行。

1.4 真姬菇发酵液抑菌活性的检测

1.4.1 指示菌悬液的制备 将 G^+ 和 G^- 细菌活化培养 24 h 后,用无菌水调整菌体浓度为 1.0×10^8 cfu/mL,备用。将供试霉菌在 PDA 上培养 3 d 后,用无菌水收集孢子并调整孢子浓度为 1.5×10^7 cfu/mL,备用。

1.4.2 抑菌活性的检测 参考文献[13],采用杯碟法进行测定。培养过程中,用十字交叉法测量牛津杯周围的抑菌圈直径,每处理重复 2 次,结果取其平均值。

真姬菇发酵液抑菌成分分析和抑菌活性稳定性检测试验中的抑菌活性,均以处理后发酵液的抑菌活性保存率计,其计算公式为:

$$\text{抑菌活性保存率}/\% = \frac{A-B}{A_0-B} \times 100\%。$$

式中: A 为处理发酵液的抑菌圈直径, B 为牛津杯的外径, A_0 为未处理发酵液的抑菌圈直径。

1.4.3 真姬菇发酵液抑菌谱的测定 用杯碟法测定真姬菇发酵液对每种指示菌的抑菌活性,确定其抑菌谱。

1.5 真姬菇发酵液抑菌成分的初步分析

取真姬菇发酵液 20 mL 加入 2 倍体积无水乙醇,4 ℃冰箱过夜,离心(4 000 r/min,20 min)后分别收集上清液和沉淀。将沉淀用蒸馏水溶解,离心(4 000 r/min,20 min),取上清液,定容至 20 mL 即得真姬菇多糖溶液;上清液经 40 ℃减压加热,回收乙醇至无醇味后加蒸馏水定容至 20 mL,即得去糖真姬菇发酵液。以金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肠球菌、化脓链球菌、大肠杆菌和沙门氏菌等 6 种常见细菌为指示菌,分别测定上述真姬菇多糖溶液和去糖发酵液的抑菌活性。

1.6 真姬菇发酵液抑菌活性的稳定性分析

以金黄色葡萄球菌为抑菌活性检测用指示菌,对不同温度、pH 和金属离子处理后发酵液的抑菌活性进行检测,评价其在不同条件下的稳定性。

1.6.1 热稳定性 参考文献[14],取发酵液 10 mL,在 4,37,80,100 和 121 ℃下处理 30 min,待温度恢复至室温(25 ℃)后,按照 1.4.2 的方法测定发酵液的抑菌直径,以在室温(25 ℃)下保持 30 min 的发酵液为对照。

1.6.2 pH 稳定性 参考文献[15],取发酵液 20 mL,用 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调节 pH 分别为 2,4,5,7,8,10 和 12,在 4 ℃下保持 3 h 后,将发酵液 pH 调至其初始值(6.0~6.1),并恢复至室温后,

用 1.4.2 的方法测定其抑菌活性,以未调节 pH、在 4 ℃下保存相同时间的发酵液为对照。

1.6.3 金属离子稳定性 参考文献[14],在发酵液中分别无菌加入含 1 mol/L Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 的盐溶液(分别为 NaCl、 MgCl_2 、KCl、 CaCl_2 、 ZnSO_4 和 FeCl_3 溶液),使各种金属离子的最终浓度为 50 mmol/L,以未加金属离子的发酵液为对照,用 1.4.2 方法检测各样品的抑菌活性。同时,用蒸馏水配制 50 mmol/L 各种金属离子的水溶液作为离子对照,在 121 ℃灭菌 30 min 后检测其抑菌活性,以排除金属离子本身对指示菌的抑制作用。

2 结果与分析

2.1 真姬菇发酵液的抑菌谱

真姬菇发酵液对参试的大多数细菌有一定的抑制作用,但是对枯草芽孢杆菌、扩展青霉、圆弧青霉、皮落青霉、黑曲霉基本无抑制作用。由表 1 可以看出,真姬菇发酵液对大多数 G^+ 菌有较强的抑制作用,其中对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,对 G^- 菌大肠杆菌抑制作用高于沙门氏菌。金黄色葡萄球菌是口腔中的主要病原菌,大肠杆菌、沙门氏菌等为肠道病原菌,由此可以推测,口含、口服等均可能是真姬菇发酵液的合理利用方式。

表 1 真姬菇发酵液对供试菌的抑制作用

Table 1 Inhibitory activity of the cell-free culture of *Hypsizigus marmoreus* to the tested pathogens

试验编号 Code	指示菌 Species	发酵液抑菌圈直径/mm Diameter of the antibacterial zone	试验编号 Code	指示菌 Species	发酵液抑菌圈直径/mm Diameter of the antibacterial zone
1	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	26.00±1.41 a	4	化脓链球菌 <i>Streptococcus pyogenes</i>	14.25±3.18 cd
2	表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	14.00±1.41 d	5	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	17.75±0.35 b
3	肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	17.00±1.41 bc	6	沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	11.00±1.41 e

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note: Different letters after the numbers in a same line indicate significant difference ($P<0.05$). It is the same in the other tables.

2.2 真姬菇发酵液抑菌成分的初步分析

试验结果表明,真姬菇多糖溶液无抑菌活性,除去多糖的发酵液有抑菌活性,但其对不同指示菌的抑制活性均低于原始发酵液。表 2 给出了真姬菇去多糖发酵液相对于原始发酵液的抑菌活性保存率。由表 2 可以看出,去糖发酵液对各指示菌抑菌活性的保存率各不相同,对大肠杆菌抑菌活性的保存率最高,对表皮葡萄球菌抑菌活性的保存率最低。说明多糖不是真姬菇发酵液中的有效抑菌成分;发酵液中抑制不同菌种的有效组分不同。乙醇处理后,

真姬菇发酵液抑菌活性降低的可能原因为:(1)去除多糖后的发酵液再回调至原来体积时,发酵液中的有效成分浓度稍有降低;(2)乙醇的加入使部分抑菌活性物质变性或失活;(3)回收乙醇时的旋转蒸发操作,有可能使部分抑菌活性物质失活。至于其中的具体原因,尚有待进一步研究。

2.3 真姬菇发酵液抑菌活性的稳定性

2.3.1 热稳定性 由表 3 可知,经不同温度处理 30 min 的真姬菇发酵液,对金黄色葡萄球菌的抑菌能力并无显著降低,即使在 121 ℃灭菌条件下,其抑

菌活性仍能保持在 92% 以上。说明发酵液中的抑

的多种热处理,即使高温灭菌仍可能保持较高的活

菌成分具有很好的热稳定性,可以耐受生产上常规

性。

表 2 去糖真姬菇发酵液对供试菌抑菌活性的保持率

Table 2 Inhibitory activity of the cell-free culture of <i>Hypsizigus marmoreus</i> to the tested pathogens when polysaccharides were removed					
编 号 Code	指示菌 Species	抑菌活性保存率/% Residue inhibitory activity	编 号 Code	指示菌 Species	抑菌活性保存率/% Residue inhibitory activity
1	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	77.14±12.12 ab	4	化脓链球菌 <i>Streptococcus pyogenes</i>	88.24±12.95 a
2	表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	48.48±0.00 c	5	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	90.47±6.73 a
3	肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	61.11±7.86 bc	6	沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	86.36±12.85 e

表 3 温度对真姬菇发酵液抑菌活性的影响

Table 3 Effect of temperature on the inhibitory activity of the cell-free culture of <i>Hypsizigus marmoreus</i>			
试验编号 Code	温度/℃ Temperature	抑菌圈直径/mm Diameter of the antibacterial zone	抑菌活性保存率/% Residue inhibitory activity
1	4	24.00±1.41 a	88.89±7.85 a
2	37	23.75±1.77 a	90.49±5.59 a
3	80	24.75±0.35 a	94.34±0.15 a
4	100	24.00±2.12 a	89.32±12.38 a
5	121	24.50±0.00 a	92.95±1.81 a
6(CK)	25	26.00±1.41 a	

2.3.2 pH 稳定性 由表 4 可知,在不同 pH 下保

持 3 h 后,真姬菇发酵液对金黄色葡萄球菌的抑菌

活性无显著下降,抑菌活性的保存率均在 86% 以

上;pH 为 5 和 12 时,真姬菇发酵液的抑菌圈直径显

著低于对照($P<0.05$),但不同 pH 对抑菌活性保存

率无显著影响。总体而言,真姬菇发酵液中的抑菌

成分具有较宽的 pH 耐受范围,适合于多种 pH 条

件下的生产加工。

表 4 pH 对真姬菇发酵液抑菌活性的影响

Table 4 Effect of pH on the inhibitory activity of the cell-free culture of <i>Hypsizigus marmoreus</i>			
试验编号 Code	pH	抑菌圈直径/mm Diameter of the antibacterial zone	抑菌活性保存率/% Residue inhibitory activity
1	2	25.25±1.06 ab	95.83±5.89 a
2	4	24.00±0.00 ab	88.89±0.00 a
3	5	23.50±1.41 b	86.11±7.86 a
4	7	24.50±0.00 ab	91.67±0.00 a
5	8	24.00±0.71 ab	88.89±3.93 a
6	10	24.50±0.00 ab	91.67±0.00 a
7	12	23.50±0.71 b	86.11±3.93 a
8(CK)	6.1	26.00±1.41 a	

2.3.3 金属离子稳定性 金属离子对真姬菇发酵

液抑菌活性的影响结果见表 5。

表 5 金属离子对真姬菇发酵液抑菌活性的影响

Table 5 Effect of metal ions on the inhibitory activity of the cell-free culture of <i>Hypsizigus marmoreus</i>			
试验编号 Code	金属离子 Metal ions	抑菌圈直径/mm Diameter of the antibacterial zone	抑菌活性保存率/% Residue inhibitory activity
1	Na ⁺	24.50±0.71 b	91.67±3.93 b
2	K ⁺	25.75±0.35 ab	98.61±1.96 ab
3	Ca ²⁺	24.25±3.18 b	90.28±17.67 b
4	Mg ²⁺	25.75±1.06 ab	98.61±5.89 ab
5	Zn ²⁺	27.75±2.47 ab	109.72±13.74 ab
6	Fe ³⁺	29.50±0.71 a	119.44±3.93 a
7(CK)	原液 Original liquid	26.00±1.41 ab	

由表 5 可以看出,向真姬菇发酵液中添加 50

mmol/L 的不同的金属离子,Zn²⁺ 和 Fe³⁺ 对抑菌活

性有一定的促进作用;而 Na⁺、Mg²⁺、K⁺ 和 Ca²⁺ 对

发酵液的抑菌活性有轻微抑制作用,但未达显著水

平;添加 Fe^{3+} 发酵液的抑菌活性最大。离子对照组试验结果显示,只有 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 表现出一定的抑菌作用,其抑菌圈直径分别为 18.75 和 18.5 mm。由表 5 还可以看出,添加相同浓度的 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} ,发酵液的抑菌活性略高于未加金属离子的发酵液,其原因可能是 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 本身的抑菌作用所致,也可能是它们与发酵液中的抑菌成分产生了某种作用,增强了发酵液的抑菌活性。由上述结果可以推断,在加工过程中,当真姬菇发酵液与含 Fe^{3+} 的物质复配时,会使其抑菌活性有所提高;与含有以上其他金属离子的添加剂复配时,不会对其抑菌活性产生不利影响。

3 讨 论

本研究结果表明,真姬菇发酵液对多种病原性细菌表现出很强的抑菌作用,但对枯草芽孢杆菌和霉菌基本无抑制作用;发酵液中的有效成分在很宽的温度和 pH 范围内,均能保持较高的抑菌活性,多种金属离子对其抑菌活性无显著影响。表明,真姬菇发酵液能够耐受多种加工条件,加工适应性好。

根据已有报道,食用菌发酵液中的有效抑菌成分主要是一些小分子质量的蛋白、多肽、多糖、有机酸、挥发油倍半萜、酚和有机酸类物质等^[11-12]。由本研究结果可知,真姬菇发酵液中的抑菌活性物质,可能是除多糖以外的其他物质,这种物质具有很好的稳定性,但这种物质究竟是什么,尚待进一步研究。

[参考文献]

[1] 上官舟建.真姬菇生物学特性及栽培技术研究[J].中国食用菌,2004(1):16-18.
Shangguan Z J. The study on biological characteristics and cultivation techniques of *Hypsizygus marmoreus* [J]. Edible Fungi, 2004(1):16-18. (in Chinese)

[2] 丁湖广.蟹味菇生物特性及高产优质栽培技术[J].北京农业,2005(1):18-19.
Ding H G. The biological characteristics and high quality cultivation techniques of *Hypsizygus marmoreus* [J]. Beijing agriculture, 2005(1): 18-19. (in Chinese)

[3] 孙培龙,魏红福,杨开,等.真姬菇研究进展[J].食品科技,2005(9):54-55.
Sun P L, Wei H F, Yang K, et al. Study on *Hypsizygus marmoreus* [J]. Food Science and Technology, 2005(9): 54-55. (in Chinese)

[4] Tetsuro I. Beneficial effects of edible and medicinal mushrooms on health care [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2001, 3: 291-298.

[5] Ikekawa T, Saitoh H, Feng W, et al. Antitumor activity of *Hypsizygus marmoreus* Antitumor activity of extracts and pol-

ysaccharides [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1992, 40 (7): 1954-1957.

[6] 贺红.灵芝液体深层发酵技术研究进展及展望[J].基层中药杂志,2000,14(2):48-49.
He H. The research on *Ganoderma lucidum* in liquid cultivation [J]. Primary Journal of Chinese Materia Medica, 2000, 14(2): 48-49. (in Chinese)

[7] 刘少琴,赵紫华,马彩霞,等.药用真菌液体发酵培养的研究进展[J].中国现代中药,2006,8(7):28-32.
Liu S Q, Zhao Z H, Ma C X, et al. The research on medical Fungi in liquid cultivation [J]. Modern Chinese Medicine, 2006, 8(7): 28-32. (in Chinese)

[8] 王萍,师俊玲.真姬菇液体培养用菌种及其营养因子筛选[J].食品与发酵工业,2008,34(3):70-73.
Wang P, Shi J L. Optimization of nutrients for the growth and polysaccharide production of *Hypsizygus marmoreus* in liquid cultivation [J]. Food and Fermentation Industries, 2008, 34 (3): 70-73. (in Chinese)

[9] 宁安红,曹婧,黄敏,等.香菇 C_{91-3} 菌发酵液的抑菌作用的初步探讨[J].中国微生态学杂志,2001,13(1):18-21.
Ning A H, Cao J, Huang M, et al. The primary study of the bacteria inhibition with *lentinus C₉₁₋₃* fermentative liquid [J]. Chinese Journal of Microecology, 2001, 13(1): 18-21. (in Chinese)

[10] 陶申傲,李绩,岳国海,等.榆耳发酵液抑菌成分的初步研究[J].食品与发酵工业,2006,32(2):33-36.
Tao S A, Li J, Yue G H, Cai Y F, et al. Antibacterial component of fermentation broth of *Gloeostereum incarnatum* [J]. Food and Fermentation Industries, 2006, 32(2): 33-36. (in Chinese)

[11] 陈颖,朱继红,雷秀云,等.榆耳发酵液抑菌作用的探讨[J].中国食用菌,1990,9(4):5-6.
Chen Y, Zhu J H, Lei X Y, et al. The inhibitory effect of the fermentation broth of *Gloeostereum incarnatum* [J]. Edible Fungi of China, 1990, 9(4): 5-6. (in Chinese)

[12] 周建树,邢瑛,王志学.榆耳提取液抑菌作用的研究[J].微生物学杂志,1994,14(2):34-7.
Zhou J S, Xing Y, Wang Z X. Studies on the antibacteri alaction of *Gloeostereum incarnatum* [J]. Journal of Microbiology, 1994, 14(2): 34-7. (in Chinese)

[13] 张惟杰.复合多糖生化研究技术[M].上海:上海科学技术出版社,1987.
Zhang W J. Biochemistry technology of Polysaccharide [M]. Shanghai: Shanghai Sci-Tech Publishing Corporation, 1987. (in Chinese)

[14] 陶申傲.榆耳发酵工艺及其抑菌活性的研究[D].北京:北京化工大学,2006.
Tao S A. The study on the fermentation process and antibacterial activity of *Gloeostereum incarnatum* [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2006. (in Chinese)

[15] Hong K N, Na Y P, Shin H L, et al. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights [J]. Food Microbiology, 2002, 74(1/2): 65-72.