

中草药用于常压蒸汽灭菌

天津市南郊区太平村公社苏家园大队农科组

在农村常用的菌肥菌药土法生产中，培养基一般采用常压蒸汽间歇灭菌法。这种方法既费工又费燃料。如果用一次灭菌法，则需要连续蒸煮数小时。为了节省燃料和劳力，提高灭菌效果，我们选择具有抗菌作用的部分中草药，经处理后以不同的比例加入培养基中，在常压蒸汽下试验灭菌效率。经过多次试验，从42种中草药中选用其中艾叶、山椒、连翘等3种应用于生产，在两年的生产实践中，取得了良好的效果。

一、试管琼脂培养基试验

1. 药物准备:

艾叶 [*Artemisia argyi* Levl et Vant]: 为菊科植物艾的干叶。

山椒 [*Zanthoxylum piperitum* D. C.]: 为芸香科植物天椒的干果实和种子。

连翘 [*Forsythia suspensa* Vahl]: 为木樨科植物连翘的干果实。

将药材粉碎过筛(筛孔直径1.05毫米)备用。

2. 培养基成份(%): 土豆20, 葡萄糖2, 蛋白胨1, 磷酸二氢钾0.3, 硫酸镁0.15, 琼脂1.5, 自然pH。

3. 加药量: 艾叶、山椒、连翘药粉分别按培养基重的1/150, 1/200, 1/300加入培养基中。

4. 实验方法与结果: 将培养基各种配料与所试药粉混合后煮沸, 趁热分装在插有温度计的普通蒸锅中灭菌后, 放入30—32℃温箱中培养7天, 观察灭菌效果。结果见表1。

从表1中可以看出, 琼脂培养基中加入山椒(1/200), 连翘(1/300)常压蒸汽灭菌30分钟, 艾叶(1/150)灭菌60分钟, 效果良好。若培养基中不加药物, 则灭菌时间需延长到210分钟左右。

表1 试管琼脂培养基加中草药后常压蒸汽灭菌实验结果*

药物	浓度	灭菌时间(分钟)	染菌管数	染菌率(%)	染菌长势
艾叶	1:150	30	4	8	+
		60	0	0	
山椒	1:200	30	1	2	+
		60	0	0	
连翘	1:300	30	0	0	
		60	0	0	
对照	—	30	50	100	+++
		90	18	36	+++
		180	3	6	++
		210	0	0	

* 各项试验管数均为50只。

5. 微生物培养试验: 在以上未染菌的试管中(各取20支)接种灵芝等四种常用微生物, 在28—32℃温箱中培养7天后, 观察所加中草药, 对四种常用微生物营养体的生长无不良影响(与对照相同)。

自1976年2月以来, 我们将以上三种中草药应用于灵芝、紫孢侧耳、黑曲霉、酒精酵母等四种微生物的琼脂培养基斜面试管生产, 共作28批, 1,432管, 统计结果见表2。

表2 斜面试管培养基加中草药常压蒸汽灭菌效果统计

(1976年2月—1977年8月)

药物	浓度	斜面试管数	灭菌时间(分钟)	染菌管数	染菌率(%)
艾叶	1/150	308	45—60	11	3.57
山椒	1/200	484	45—60	7	1.45
连翘	1/300	640	45—60	9	1.41

二、灵芝瓶装培养基试验

1. 培养基成份: 锯末(栎木)75, 麸皮25, 水180, 自然pH。

2. 加药量: 艾叶、山椒、连翘分别为培养料干重的1/150、1/200、1/300。

3. 装瓶: 药粉用10倍自来水提前浸泡4小时, 然后将药液和适量的水拌入干料。和匀后

分装入 800 毫升棕色广口瓶中，压实。用两层报纸和一层牛皮纸封捆瓶口，放入装有温度计的蒸锅中灭菌。

4. 灭菌：使用的蒸锅，可容纳 800 毫升广口瓶 220 个。灭菌时间为：锅内温度上升到 100℃ 后持续 40 分钟，停火焖 4 小时。

5. 结果：将灭菌后的瓶子各处理分别取 100 瓶，未加药的灭菌瓶子做对照(100 瓶)放入 28—30℃ 温室中培养 5 天后，检查染菌情况。灭菌效果：艾叶、山椒、连翘和对照的染菌率分别为：2%、0.1% 和 44%。

6. 灵芝培养试验：将未染菌的瓶子各取 40 个接种灵芝，观察中草药对灵芝生长发育的影响。从子实体初现时间到子实体成熟天数以及子实体平均干重，均与对照相同。

1976 年 4 月以来，我们将上述三种中草药应用于生产灵芝的瓶装培养基灭菌，100℃ 灭菌 40—50 分钟，停火焖 4—6 小时，效果显著，染菌率能降低到 4.7% 以下。

表 3 灵芝瓶装培养基加中草药常压蒸汽灭菌效果统计
(1976 年 4 月—1977 年 8 月)

药 物	浓 度	试验瓶数	染菌瓶数*	染菌率(%)
艾 叶	1/150	4,280	203	4.7
山 椒	1/200	3,674	84	2.3
连 翘	1/300	1,846	37	2.0

* 染菌瓶数包括在接种和培养过程中造成的污染。

三、讨论

1. 培养基加中草药常压蒸汽灭菌，简便、经济、效率高，可节约燃料和劳力。但琼脂培养基加入中草药后颜色变暗，这是其缺点。

2. 试验表明，所用中草药确实有抑菌或杀菌的作用，究竟什么成份起作用有待进一步研究。另外，盛装培养基的容器空余部分和棉塞、瓶盖等难以接触到药物，灭菌不易彻底。因此容器要洗净，染有杂菌的棉塞、瓶盖必须经灭菌处理后才能使用。