

三种杜仲原料栽培平菇效果的比较

张昌伟¹, 彭 胜¹, 张琳杰¹, 彭密军^{1,*}, 张水寒², 肖 娟²

(1. 吉首大学 林产化工工程湖南省重点实验室, 湖南张家界 427000;

2. 湖南省中医药研究院, 湖南长沙 410013)

摘 要: 采用矮林杜仲叶、乔林杜仲叶和乔林杜仲叶渣替代 40% 棉籽壳栽培平菇, 考察其对平菇菌丝生长过程和平菇蛋白质、脂肪以及相关微量元素含量的影响, 并采用紫外可见分光光度法测定了各组平菇总黄酮的含量、荧光法测定了各组平菇硒的含量。结果表明, 乔林杜仲叶渣组平菇发菌实验结果最好, 且蛋白质、脂肪、Cu 和 Mn 含量最高, 分别为对照组的 1.13、1.73、3.75、2.71 倍; 乔林杜仲叶组平菇总黄酮、Ca、Na、K 和 Mg 含量最高, 分别为对照组的 1.49、2.20、7.20、1.08、1.03 倍; 矮林杜仲叶组平菇 Fe、Zn 和 Se 含量最高, 分别为对照组的 1.72、2.10、2.38 倍, 且硒的含量为 $0.07524 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 达到了富硒标准。

关键词: 杜仲叶, 杜仲叶渣, 平菇, 总黄酮, 硒

Effects of three kinds of *Eucommia ulmoides* Olive raw materials on the cultivation of *pleurotus*

ZHANG Chang-wei¹, PENG Sheng¹, ZHANG Lin-jie¹, PENG Mi-jun^{1,*}, ZHANG Shui-han², XIAO Juan²

(1. Key Laboratory of Hunan Forest Products and Chemical Industry Engineering, Jishou University, Zhangjiajie 427000, China;

2. Institute of Hunan traditional Chinese medicine, Changsha 410013, China)

Abstract: Leaves of coppice, leaves and leaves residual of high-forest tree of *Eucommia ulmoides* Olive were used to replace 40% cotton seed hull to cultivate *pleurotus*, and its effects on the process of mycelial growth and contents of protein, fat, related trace element of *pleurotus* were studied. Meanwhile, ultraviolet and visible spectrophotometer was used to measure the content of total flavonoid, and fluorescence spectroscopy was used to measure the content of selenium of *pleurotus*. Results showed that the process of mycelial growth were the best in the group of leaves residual of high-forest tree, and the contents of protein, fat, copper and manganese were the highest, which were 1.13, 1.73, 3.75 and 2.71 times as much as the blank group, respectively. In the group of leaves of high-forest tree, the contents of total flavonoid, calcium, sodium, potassium and magnesium were the highest, which were 1.49, 2.20, 7.20, 1.08 and 1.03 times same with the blank group, respectively. In the group of leaves of coppice, the contents of iron, zinc and selenium were the highest, which were 1.72, 2.10 and 2.38 times the same as the blank group, respectively. In addition, the content of selenium of *pleurotus* was $0.07524 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ in the group of leaves of coppice, which reached the standard of selenium enrichment.

Key words: leaves of *Eucommia ulmoides* Olive; leaves residual of *Eucommia ulmoides* Olive; *pleurotus*; total flavonoid; selenium

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)01-0052-04

收稿日期: 2013-05-20 * 通讯联系人

作者简介: 张昌伟(1987-), 男, 硕士, 研究方向: 林产资源化学。

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划(2011BAI01B08); 湖南省科技厅项目(2012FJ4294); 湖南省教育厅高校产业化培育项目(11CY015); 湖南省高校“林产资源化学与林化产品开发”科技创新团队支持计划资助项目(湘教通(2010)212号)。

我国具有丰富的杜仲资源, 除散生大量野生株外, 人工栽培面积已达 35 万公顷^[1]。杜仲中含有环烯醚萜类、木脂素类、黄酮类和微量元素等多种化学成分^[2-3]。研究表明, 杜仲叶与皮的化学成分和药理作用相似, 可以代皮入药^[4-5]。但是, 由于传统栽培的杜仲树为乔林, 高度可达 25m 以上^[6], 导致采叶十分困难。为了解决这一难题, 对杜仲树进行矮化的

[10] 赵金伟, 李范洙, 张先. 苹果梨酚类物质抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 170-172.

[11] 逢楠楠, 于勇, 毕开顺, 等. GC 法同时测定芫花中棕榈酸与亚油酸的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(1): 47-50.

[12] Awika JM, Rooney LW, Wu X L, et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23): 6657-6662.

研究开始兴起。吕强等人研究表明,矮化后的杜仲叶不仅易于采摘且叶及枝皮中的多种活性成分高于杜仲乔林,值得大力推广^[7]。此外,杜仲叶在中药提取行业中的大量使用产生了大量的杜仲叶渣,大量的杜仲叶渣被直接丢弃,焚烧,不仅浪费了资源且污染了环境。平菇性味甘、温,具有追风散寒、舒筋活络的功效。平菇既是美食,又具有较高的食用价值和药用价值^[8],且其中的蛋白多糖体对癌细胞有很强的抑制作用,能增强机体免疫功能。传统采用棉籽壳栽培平菇,但是,随着棉籽壳价格的不断上涨,栽培平菇的成本也不断增加。目前,利用一些中药提取废弃物替代部分棉籽壳栽培食用菌已取得明显的效果^[9-10]。但是,系统地考察杜仲叶和渣栽培平菇的研究少见报道。本课题组前期对不同比例杜仲叶渣栽培平菇的效果进行了研究,结果表明,杜仲叶渣替代40%棉籽壳栽培平菇时的发菌实验结果最好。本实验在此基础上分别用矮林杜仲叶、乔林杜仲叶和乔林杜仲叶渣替代40%棉籽壳栽培平菇,系统地考察了这三种杜仲原料对平菇菌丝生长过程和相关成分含量的影响,期望为废弃物的再次利用和开辟杜仲叶资源利用新途径提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

矮林杜仲叶、乔林杜仲叶 于2012年7月22日采自吉首大学张家界校区杜仲实验基地,经吉首大学谷伏安副教授鉴定为杜仲科杜仲属杜仲叶,乔林杜仲叶渣是乔林杜仲叶经提取绿原酸后的废弃物;平菇母种 山东腾飞应用真菌研究所;棉籽壳、石膏粉、麸皮 张家界农贸市场;氯化钾、氯化钠、碳酸钙、纯镁、纯锌、铁粉、金属铜、金属锰、元素硒等 均为光谱纯;氧化铜、氯化钾、盐酸、硝酸、高氯酸等 均为国产优级纯;环己烷、EDTA、盐酸羟胺、氢溴酸、偏钒酸铵、氢氧化钠、2,4-二硝基酚、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、硼酸、乙醇、冰醋酸、磷酸、乙醚、对二甲氨基苯甲醛等 均为国产分析纯;芦丁(纯度大于95%) 中国食品药品检定研究院;2,3-二氨基萘(纯度大于97%) 国家标准物质中心。

F-7000 荧光分光光度计、UV-3900 紫外可见分光光度计 日立高新技术公司;AA-680 原子吸收光谱仪、SM-52 高压蒸汽灭菌器、AEG-220 型万分之一天平 日本岛津公司;KDN-AZ 智能型定氮仪 上海新嘉电子有限公司。

1.2 实验方法

按表1准确称取配方原料,加入适量水,室外堆集发酵12d,每隔3d翻堆一次。发酵结束后,装袋($n=20$)、灭菌、接种、放入温度为25℃的培养室中培养。当满袋后的平菇菌丝扭结成米粒状时,打开菌种袋两端,每天喷水1~2次,待平菇菌盖略展平时采菇。将采摘的新鲜平菇50℃烘干、粉碎、过80目筛,备用。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 三种杜仲原料相关成分含量的测定 蛋白质采用凯氏定氮法测定^[11];脂肪采用索氏提取法测定^[12];可溶性总糖采用紫外可见分光光度法测定^[13];

Ca、Fe、Zn、Na、K、Mg、Cu、Mn 采用火焰原子吸收分光光度法测定^[14];绿原酸和京尼平苷酸采用高效液相色谱法,总黄酮采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法,桃叶珊瑚苷采用对二甲氨基苯甲醛显色法测定^[15];硒采用荧光法测定^[16]。

表1 各组平菇培养基配方
Table 1 Medium formula of *pleurotus* in each group

组别	比例(%)					
	麸皮	石膏粉	葡萄糖	石灰粉	棉籽壳	杜仲原料
对照组	10	1	1	0.5	87.5	0
矮林杜仲叶组	10	1	1	0.5	52.5	35
乔林杜仲叶组	10	1	1	0.5	52.5	35
乔林杜仲叶渣组	10	1	1	0.5	52.5	35

1.3.2 菌丝生长过程中相关现象的记录 平菇菌种接种完毕后,放入恒温室中培养3~5d,标记此时平菇菌丝的生长位置,每隔5d测定一次平菇菌丝生长速度。平菇菌丝生长期间,观察并记录菌丝长势和各组平菇菌丝满袋时间,待出菇时,称量并记录各组采摘的平菇鲜重。

1.3.3 平菇蛋白质、脂肪、微量元素及硒元素的测定 测定方法同1.3.1。

1.3.4 平菇总黄酮的测定 采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法测定^[15]。准确称取平菇干样5.0g,用60%的乙醇浸泡过夜,再用超声波辅助提取1h,过滤至50mL的容量瓶中,重复两次,用60%的乙醇定容至刻度。准确吸取平菇提取液2mL于10mL容量瓶中,加含5%亚硝酸钠水溶液0.3mL,摇匀,静置6min,再加含10%硝酸铝水溶液0.3mL,摇匀,静置6min;再加含1.0mol/L的氢氧化钠溶液4mL,摇匀静置15min,用蒸馏水定容至刻度,于506nm测定吸光度。

2 结果与分析

2.1 三种杜仲原料相关成分的含量

由表2、表3可知,三种杜仲原料中均含有丰富的营养成分、活性成分和微量元素等物质,其中的营养成分和微量元素如蛋白质、脂肪、可溶性总糖、Ca、Na、K等可以作为碳源、氮源和无机盐,为平菇的生长提供充足的营养需求。绿原酸、桃叶珊瑚苷、总黄酮和京尼平苷酸等具有显著的药理活性,这些物质对动植物的生命活动都具有重要的调节作用。矮林杜仲叶和乔林杜仲叶中含有丰富的绿原酸、桃叶珊瑚苷和总黄酮等活性物质,乔林杜仲叶渣虽然是乔林杜仲叶经提取绿原酸后的废弃物,但是仍然含有比较丰富的桃叶珊瑚苷、总黄酮等活性物质。矮林杜仲叶、乔林杜仲叶和乔林杜仲叶渣可以替代部分棉籽壳栽培平菇,并且,其中的活性物质可以为平菇富集这些活性成分提供可能。

2.2 各组平菇菌丝长势、生长速度、满袋时间和生物学效率

由表4可知,菌丝满袋时间:对照组<乔林杜仲叶渣组<乔林杜仲叶组<矮林杜仲叶组;菌丝生长速度:对照组>乔林杜仲叶渣组>乔林杜仲叶组>

表2 三种杜仲原料中的相关营养成分和活性成分含量

Table 2 Contents of related nutrients and active ingredients in the three kinds of *Eucommia ulmoides* olive raw materials

组别	含量(%)						
	蛋白质	脂肪	可溶性总糖	绿原酸	京尼平苷酸	桃叶珊瑚苷	总黄酮
矮林杜仲叶	15.32	0.1252	4.352	1.803	0.1440	5.253	9.352
乔林杜仲叶	14.91	0.1341	4.192	2.061	0.1632	3.674	6.951
乔林杜仲叶渣	12.96	0.1282	3.195	0.1154	0.01071	1.132	0.4363

表3 三种杜仲原料中的相关微量元素含量

Table 3 Contents of related trace elements in the three kinds of *Eucommia ulmoides* olive raw materials

组别	含量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)								
	Ca	Fe	Zn	Na	Mg	Cu	Mn	K	Se
矮林杜仲叶	13300	206.4	45.24	2820	58.12	4.322	16.92	7473	0.08522
乔林杜仲叶	9902	201.2	78.52	3063	62.91	4.151	16.21	5854	0.05833
乔林杜仲叶渣	5163	327.1	19.24	1301	50.93	4.324	16.93	7145	0.05261

表4 各组平菇发菌实验结果

Table 4 Experimental result of the process of mycelial growth in each group

组别	菌丝满袋时间(d)	菌丝生长速度($\text{cm}\cdot\text{d}^{-1}$)	菌丝长势	生物学效率(%)
对照组	22	0.68	+++	113.3
矮林杜仲叶组	30	0.52	++	65.73
乔林杜仲叶组	27	0.57	++	82.92
乔林杜仲叶渣组	24	0.63	+++	101.2

注:+++表示菌丝粗壮、浓密、洁白、生长旺盛;++表示菌丝粗细均匀,较浓密、洁白、生长旺盛;+表示菌丝细弱、稀疏、发黄、生长不旺盛。

表5 各组平菇蛋白质、脂肪和总黄酮的含量

Table 5 Contents of protein and fat of *pleurotus* in each group

组别	蛋白质(%)	脂肪(%)	总黄酮(%)
对照组	29.24 ± 0.07^a	0.3841 ± 0.0016^a	0.1234 ± 0.0006^a
矮林杜仲叶组	31.62 ± 0.07^b	0.4692 ± 0.0004^b	0.1423 ± 0.0008^b
乔林杜仲叶组	32.30 ± 0.05^c	0.4983 ± 0.0008^c	0.1842 ± 0.0009^c
乔林杜仲叶渣组	33.15 ± 0.02^d	0.6802 ± 0.0011^d	0.1642 ± 0.0008^d

注:邓肯氏方差分析,不同字母表示,差异显著($p < 0.05$),表6同。

矮林杜仲叶组;生物学效率:对照组>乔林杜仲叶渣组>乔林杜仲叶组>矮林杜仲叶组;菌丝长势:乔林杜仲叶渣组与对照组长势接近,且乔林杜仲叶组与矮林杜仲叶组均没有对照组长势好。造成这些现象的原因可能是因为矮林杜仲叶和乔林杜仲叶中的绿原酸、总黄酮等物质的含量远远高于乔林杜仲叶渣,而这些物质具有抗菌作用,在一定程度上抑制了平菇菌丝的生长。综上所述,乔林杜仲叶渣替代40%棉籽壳栽培平菇时的发菌实验结果最好。

2.3 各组平菇蛋白质、脂肪和总黄酮的含量

由表5可知,四组平菇蛋白质、脂肪和总黄酮含量之间均存在显著性差异,且三种杜仲原料栽培的平菇中的蛋白质、脂肪和总黄酮的含量均高于对照组,其中,乔林杜仲叶渣组平菇蛋白质、脂肪含量最高,分别为对照组的1.13、1.73倍,乔林杜仲叶组平菇总黄酮含量最高,为对照组的1.49倍。三种杜仲原料替代部分棉籽壳栽培平菇均增加了栽培基质的孔隙度,这可能有利于平菇菌丝对相关营养成分和活性成分的吸收和积累。蛋白质和脂肪是食用菌中常见的营养成分,也是人体必需的营养物质;总黄酮具

有很强的抗氧化和清除自由基作用,是许多中草药的有效成分^[17-18];利用这三种杜仲原料栽培平菇可以在一定程度上提高平菇的食用价值和药用价值。

2.4 各组平菇相关微量元素的含量

由表6可知,四组平菇中均含有较为丰富的Ca、Fe、Zn、Na、K、Mg、Cu、Mn等微量元素,且三种杜仲原料栽培的平菇中的Ca、Fe、Zn、Na、K、Mg含量均与对照组存在显著性差异。其中,矮林杜仲叶组平菇Fe和Zn含量最高,分别为对照组的1.72、2.10倍;乔林杜仲叶组平菇Ca、Na、K和Mg含量最高,分别为对照组的2.20、7.20、1.08、1.03倍;乔林杜仲叶渣组平菇Cu和Mn含量最高,分别为对照组的3.75、2.71倍。三种杜仲原料本身的Ca、Fe、Zn、Na、K、Mg、Cu、Mn等微量元素的含量存在着差别,以及三组平菇菌丝长势不同可能是造成栽培所得平菇中的相关微量元素含量产生差异的原因。K、Na、Mg是血液和体液以及许多代谢过程的必需组分;Ca对维持细胞通透性,抑制神经系统兴奋,降低毛细血管通透性起重要作用;Fe是血红蛋白的重要组成部分;Cu可帮助铁质传递蛋白,在血红素形成过程中扮演催化的重要角

表6 平菇相关微量元素的含量
Table 6 Contents of related trace elements in *pleurotus*

组别	含量(μg·g ⁻¹)							
	Ca	Fe	Zn	Na	K	Mg	Cu	Mn
对照组	64.61 ± 0.16 ^a	88.62 ± 0.20 ^a	43.81 ± 0.20 ^a	312.3 ± 2.2 ^a	2732 ± 6 ^a	78.82 ± 0.15 ^a	6.20 ± 0.02 ^a	6.20 ± 0.02 ^a
矮林杜仲叶组	97.12 ± 0.22 ^b	152.3 ± 2.3 ^b	92.04 ± 0.10 ^b	1921 ± 8 ^b	2251 ± 9 ^b	58.03 ± 0.14 ^b	8.19 ± 0.02 ^a	6.24 ± 0.02 ^a
乔林杜仲叶组	142.2 ± 1.3 ^c	117.0 ± 1.8 ^c	41.82 ± 0.19 ^c	2250 ± 4 ^c	2942 ± 4 ^c	80.91 ± 0.14 ^c	6.25 ± 0.03 ^b	10.14 ± 0.15 ^b
乔林杜仲叶渣组	36.91 ± 0.23 ^d	135.4 ± 3.0 ^d	62.31 ± 0.23 ^d	1452 ± 6 ^d	2504 ± 5 ^d	43.72 ± 0.18 ^d	23.24 ± 0.24 ^c	16.83 ± 0.21 ^c

色;Zn、Mn 是人体上千种酶的组成成分和激活因子。微量元素虽然含量很少,但缺乏任何一种都会对人体造成很大的影响。利用这三种杜仲原料栽培富含某些微量元素的特色平菇,对缓解微量元素缺乏症有重要的意义。

2.6 平菇硒的含量

由表 7 可知,四组平菇硒含量之间均存在极显著差异,且三种杜仲原料栽培的平菇中的硒含量均比对照组高。三种杜仲原料均含有较为丰富的硒,尤以矮林杜仲叶为最高,平菇硒含量为对照组的 2.38 倍。平菇菌丝在生长过程中可能吸收转化了其中的一部分硒,造成平菇中的硒含量增加,其相关机理有待进一步深入研究。食用菌的富硒范围是 0.05~0.2μg·g⁻¹,矮林杜仲叶栽培的平菇达到了富硒标准。硒具有提高人体免疫力、防癌抗癌、防止心脑血管疾病、抗氧化和延缓衰老等功能^[19],采用矮林杜仲叶替代 40% 棉籽壳栽培平菇可以提高平菇的药用价值。

表 7 各组平菇中硒的含量
Table 7 Contents of Selenium of *pleurotus* in each group

组别	硒含量 (μg·g ⁻¹)	差异显著性	
		0.05	0.01
对照组	0.03162	a	A
矮林杜仲叶组	0.07524	b	B
乔林杜仲叶组	0.03962	c	C
乔林杜仲叶渣组	0.04513	d	D

注:邓肯氏方差分析,大小写字母分别代表差异极显著($p < 0.01$)和差异显著($p < 0.05$)。

3 结论

乔林杜仲叶渣组的发菌实验结果最好,且栽培所得平菇中的蛋白质、脂肪、Cu 和 Mn 的含量最高,分别为对照组的 1.13、1.73、3.75、2.71 倍。利用杜仲叶渣替代部分棉籽壳栽培平菇不仅可以降低栽培成本、提高平菇的营养成分含量,而且可以使废弃物得到再次利用,保护了环境。矮林杜仲叶组和乔林杜仲叶组的发菌实验结果较好,且矮林杜仲叶组平菇 Fe 和 Zn 的含量以及乔林杜仲叶组平菇 Ca、Na、K 和 Mg 的含量最高,分别为对照组的 1.72、2.10、2.20、7.20、1.08、1.03 倍。此外,乔林杜仲叶组平菇总黄酮含量最高,为对照组的 1.49 倍;矮林杜仲叶组平菇硒含量最高,为 0.07524μg·g⁻¹,是对照组的 2.38 倍,达到了富硒标准。这些数据可为栽培富含某些微量元素的特色平菇以及开辟杜仲叶资源利用新途径提供一定的理论指导。

参考文献

[1] 贺榆霞,贺建超,李俊志,等.杜仲叶渣栽培平菇实验初报[J].陕西农业科学,2011(1):33-34.
[2] Li Y P,Chen X Q,Peng M J,*et al.* Simultaneous determination of geniposidic acid, chlorogenic in *Eucommia* by HPLC [J]. Journal of Central South University of Technology,2003,10(3):198-201.
[3] 刘慧,张盛,刘仲华.HPLC 法同时测定杜仲皮中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷和松脂醇二葡萄糖苷[J].中草药,2012,43(8):1547-1549.
[4] Ye W F. Advance in studies on chemical ingredient and pharmacological activities of *Eucommia ulmoides* Olive leaves and Their Utility[J].Journal of chemical industry of forest products, 2004,38(5):40-44.
[5] Zhang K J.A comparison between active component content in the bark and leaves of *Eucommia ulmoides* [J]. Journal of northwest forestry college,1996,11(2):42-46.
[6] 李芳东.杜仲[M].北京:中国中医药出版社,2001.
[7] 吕强,彭密军,彭胜,等.不同栽培模式对杜仲叶及枝皮中多种活性成分含量的影响[J].经济林研究,2012,30(1):73-76.
[8] 洪坚平,来航线.应用微生物学[M].北京:中国林业出版社,2005:147.
[9] 卢成英,钟以举.杜仲叶渣栽培食用菌研究初报[J].中国林副特产,2000(3):3-4.
[10] 黄文豪,董儒贞,李钦,等.杜仲叶、枝栽培功能型杜仲香菇配方实验[J].食用菌,2012(3):27-28.
[11] GB5009.5-2012,食品中蛋白质的测定[S].
[12] GB/T5009.6-2003,食品中脂肪的测定[S].
[13] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
[14] GB5413.21-2012,婴幼儿食品和乳品中钙、铁、钠、锌、钾、镁、铜和锰的测定[S].
[15] 吕强,彭密军,兰文莉,等.不同处理方法对杜仲皮及叶中多种活性成分含量的影响[J].林产化学与工业,2012,32(1):75-79.
[16] GB5009.93-2003,食品中硒的测定[S].
[17] 崔永咧,余龙江,敖明章,等.甘草总黄酮对油脂抗氧化作用研究[J].食品科学,2007,28(11):119-121.
[18] 延奎,刘会青,邹永青,等.黄酮类化合物生理活性及合成研究进展[J].有机化学,2008,28(9):1534-1544.
[19] 沈妮芬.食用菌中硒元素含量的测定[J].现代农业科技,2011(13):329-330,333.