

赵爽,陈杰,许峰,等. 北京地区几种人工栽培食用菌生物指标的测定[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):293-295.

北京地区几种人工栽培食用菌生物指标的测定

赵爽,陈杰,许峰,刘宇,耿小丽,王守现,孟莉莉

(北京农林科学院植物保护环境保护研究所,北京 100097)

摘要:为了扩大对人工种植食用菌的评价和利用,对实验室保藏菌种长根菇、大杯伞和鲍鱼菇进行出菇培养。收集子实体,检测蛋白质含量及蛋白酶、漆酶、磷酸酶的活性,评价这 3 种人工栽培食用菌的生物指标,发掘出可用于深度加工的品种。研究发现,鲍鱼菇子实体中蛋白质含量相对较高,占子实体鲜重的 3.73%;大杯伞具有较高的漆酶活性,酶活力为 15.60 U/mg;长根菇具有较高的磷酸酶活性,酶活力为 106.35 U/mg。在 3 种人工种植食用菌中均未检测到蛋白酶的活性。比较结果证明,鲍鱼菇子实体中蛋白质含量较高,从营养角度分析具有很高的食用价值;而大杯伞的漆酶活性较高,可以成为工业生产的原料菌种,值得进一步研究和开发。

关键词:食用菌;蛋白质含量;蛋白酶;漆酶;磷酸酶

中图分类号: S646.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0293-02

我国是一个地大物博的国家,食用菌资源极其丰富,已知的食用菌就有 350 多种^[1]。有人视其为“植物性食品顶峰”,罗马人誉它为“上帝的食物”,中国人视其为“生命之灵丹妙药”^[2]。食用菌不仅味道鲜美、质地脆嫩,而且营养价值高,含有蛋白质、维生素、氨基酸及铁、钙、硒等多种物质。3 000 年前的人类就已经认识到了食用菌在营养和保健功能上的价值,这些内容在《周礼》《尔雅》等古籍中都有记载,并且都已得到了现代科学的证实^[3]。食用菌以其独特的口感、营养价值和食用药用价值受到越来越多人的青睐。

食用菌蛋白质中氨基酸种类比较齐全,含 17~18 种氨基酸,其中包括人体必需的 8 种氨基酸。18 种氨基酸的总量为 10.71%~24.81%,8 种人体必需氨基酸在总氨基酸中的比例为 30%~50%^[4]。目前由于食用菌多糖作为辅助药物毒性极小,且在治疗肿瘤、心血管疾病、肝炎、糖尿病等疾病上显示出特殊的疗效^[5],因此受到研究者广泛的重视。由于微生物生长周期快,培养条件相对简单,近年来菌类已成为功能产物提取加工的重要来源,微生物发酵工业也受到了越来越多的重视。目前对食用菌营养物质的提取及综合性酶活性检测的报道相对较少。本研究选取北京地区几种人工种植食用菌鲍鱼菇、长根菇和大杯伞为材料,检测了子实体内蛋白质含量及蛋白酶、磷酸酶、漆酶的活性几项指标,并对其进行比较评价,为这几个品种的深度加工、功能发酵等研究领域提供基础数据,同时也为拓展生物酶的材料来源及扩大其研究范围提供前期工作基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

收稿日期:2013-01-14

基金项目:北京市农林科学院科技创新能力建设专项(编号:KJCX201101002)。

作者简介:赵爽(1982—),女,北京人,博士,助理研究员,从事食用菌产品营养及加工方向研究。Tel:(010)51503432;E-mail:shuangzhaow@126.com。

本研究中的供试材料长根菇、大杯伞和鲍鱼菇为笔者所在实验室多年保藏的菌株,通过栽培获得食用菌的子实体,用于研究检测。

1.2 试剂

二喹林甲酸 BCA 蛋白定量试剂盒,购于北京博迈德科技公司;酪蛋白和 4-硝基苯基磷酸二钠盐(PNPP),购于美国 Sigma 公司;2,2-联氨基双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)购于美国 Amresco 公司;苯酚、浓硫酸、乙醇、氯化钠(NaCl)、氢氧化钠(NaOH)、乙酸钠、乙酸均为分析纯,购自北京化学试剂公司。

1.3 试验仪器

MSC 1.2 型生物安全柜,美国 Thermo 公司;VERSA max 型全波长酶标仪,美国 Molecular Devices 公司;AR2140 型精密天平,美国奥豪斯公司;UV9100 系列紫外可见分光光度计,北京莱伯泰科仪器有限公司;水浴锅,北京精科华瑞有限公司;TGL-16G 型飞鸽牌离心机,上海安亭科学仪器厂。

1.4 试验方法

1.4.1 粗蛋白或酶液样品的制备 称取子实体 0.1 g,加入 1 mL 去离子水,研磨至组织破碎后,12 000 r/min 离心 10 min,取上清,即为粗蛋白或酶液样品。

1.4.2 蛋白质含量测定标准曲线的制作 利用标准样品小牛血清蛋白(BSA)分别配制 25、50、100、200、300、400、500 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,采用 BCA 蛋白定量试剂盒制作标准曲线。将不同样品的蛋白提取液进行适当的梯度稀释后,采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质含量。

1.4.3 蛋白酶活性的测定 用 0.1 mol/L、pH 值 7.2 的磷酸缓冲溶液将酪蛋白配制成 1% 的溶液,作为酶反应的底物,储存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内待用。取粗酶液 20 μL 加入 140 μL 底物,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15 min,加入 540 μL 的 5% 三氯乙酸(TCA)终止反应,12 000 r/min 离心 5 min,取上清在波长 280 nm 处测量吸光度。以水浴前加入 5% TCA 终止反应样品作为对照。酶活力单位定义为:37 $^{\circ}\text{C}$ 下每 min 每 mL 反应体系在 280 nm 处产生 0.001 个吸光度所需的酶量^[6]作为 1 个酶活力单位。

1.4.4 磷酸酶活性的测定 用去离子水将 PNPP 配制成

18 mmol/L 的溶液作为反应底物,避光储存于 -20 ℃ 冰箱内待用。取粗酶液 25 μL 加入 275 μL 去离子水,加入 0.3 mL 0.1 mol/L、pH 值 5.0 的醋酸钠缓冲溶液后,再加入 30 μL PNPP 底物,37 ℃ 反应 15 min,加入 300 μL 的 0.5 mol/L NaOH 终止反应,在波长 400 nm 处测量吸光度,以去离子水代替酶液进行反应作为对照。酶活力单位定义为:37 ℃ 时每 min 每 mg 酶水解底物的量(μmol/L)^[7]。

1.4.5 漆酶活性的测定 取 10 mg ABTS 加入 150 μL 乙酸,用去离子水定容到 30 mL,所得溶液作为反应底物,避光储存于 -20 ℃ 冰箱内待用。取粗酶液 10 μL 加入 190 μL 上述底物,37 ℃ 反应 5 min 后,立即在波长 402 nm 处测量吸光度,以去离子水代替酶液进行反应作为对照。酶活力单位定义为:37 ℃ 时每 min 每 mg 反应体系在 402 nm 处产生 1 个吸光度所需要的酶量^[8]。

2 结果与分析

2.1 标准曲线和样品蛋白质含量

蛋白质含量的标准曲线见图 1。由标准曲线可以得出蛋白质含量的线性方程为 $y = 0.002\ 2x + 0.047\ 6$, $r^2 = 0.992\ 6$,当蛋白质含量在 50 ~ 500 μg/mL 范围内,溶液蛋白浓度与 562 nm 处吸光度呈现一次线性关系,因此制备待测样品时,需要使样品浓度在线性区间内,才能保证测定数据的准确性。根据 BCA 蛋白定量试剂盒测定 3 种食用菌中蛋白质的含量结果见表 1。通过检测发现:在供试的 3 种人工栽培菌中,鲍鱼菇的蛋白质含量最高,占子实体鲜重的 3.73%;其次为大杯伞,蛋白质含量占子实体鲜重的 2.56%;含量最低的为长根菇,仅占子实体的 1.56%。

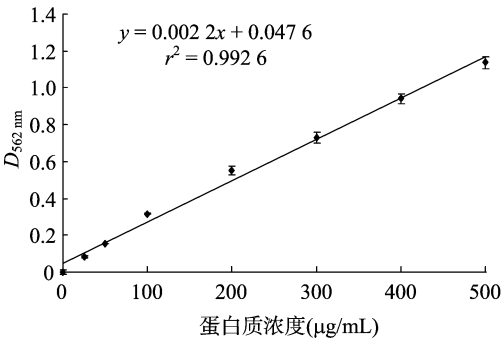


图1 蛋白质含量标准曲线

表 1 3 种人工栽培食用菌子实体蛋白含量的测定结果

| 食用菌品种 | 蛋白含量(%) |
|-------|--------------|
| 长根菇 | 1.56 ± 0.05a |
| 大杯伞 | 2.56 ± 0.17b |
| 鲍鱼菇 | 3.73 ± 0.17c |

注:数据结果以平均数 ± 标准差表示(n = 3);经单因素方差分析,其中 a、b、c 表示的是相互比较具有显著性差异(P < 0.05);蛋白含量为占子实体鲜重的百分数。

2.2 生物酶活性

鲍鱼菇、长根菇、大杯伞子实体中蛋白酶、磷酸酶和漆酶活性的测定结果见表 2。由表 2 可见,供试的 3 种食用菌中都表现有磷酸酶的活性,其中长根菇的磷酸酶活性最高,酶活性为 106.35 U/mg,鲍鱼菇的最低,为 9.97 U/mg;大杯伞和长根菇具有漆酶的活性,酶活性分别为 15.60、2.94 U/mg。供

表 2 3 种人工栽培食用菌子实体生物酶活性测定结果

| 食用菌品种 | 酶活性(U/mg) | | |
|-------|-----------|-------|--------|
| | 蛋白酶 | 漆酶 | 磷酸酶 |
| 长根菇 | 106.93 | 2.94 | 106.35 |
| 大杯伞 | 21.44 | 15.60 | 74.68 |
| 鲍鱼菇 | 54.66 | 0.84 | 9.97 |

试的 3 种栽培菌中虽然都能检测出极其微弱的蛋白酶活性,但是从开发应用的角度分析,可认为均缺乏蛋白酶活性。

3 讨论与结论

蛋白质是动植物体内必需的营养物质,是生长和发育必不可缺的,也是很多功能活性物质的来源。食用菌中含有丰富的蛋白质,约占干重的 19% ~ 35%,其含量远远高于水果蔬菜和粮食类^[6]。蛋白酶、漆酶、磷酸酶是目前被广泛应用的 3 种酶类,在食用菌体内都属于蛋白类物质。蛋白酶是催化蛋白质水解的酶类,在植物和微生物中含量丰富。工业上生产蛋白酶制剂主要利用枯草杆菌、栖土曲霉等微生物进行发酵生产制备。检测和评价蛋白酶有助于拓展蛋白酶的来源渠道。漆酶是一种木质素过氧化酶,由于其非特异性的氧化能力受到广泛关注,被认为在制浆造纸、纺织、食品、化妆品、环保、纳米生物技术等领域有着广泛的用途^[9]。磷酸酶是一种能将对应底物去磷酸化的酶,能够促进动植物体对磷元素的吸收。检测和评价菌株中蛋白质含量和生物酶活性,能够为食用菌后续的发酵、产品开发和利用提供重要的理论依据。

本研究以鲍鱼菇、长根菇和大杯伞为试材,鲍鱼菇、大杯伞和长根菇子实体中蛋白质含量依次递减,后 2 种食用菌与鲍鱼菇相比蛋白质含量均达到显著性差异的程度。目前对这 3 种人工种植食用菌资源蛋白质含量的检测数据报道较少,本研究首次对这 3 种栽培品种进行了测定比较和评价。磷酸酶是动植物体中普遍存在的一种酶类,能够增加动植物体对磷元素的吸收,检测发现供试的 3 种人工种植食用菌中都含有一定的磷酸酶活性,只是活性高低不同,也印证了磷酸酶是生物体内一类参与代谢的功能酶。其中长根菇磷酸酶活性最高,达到 106.35 U/mg。漆酶是一种结合多个铜离子的蛋白质,属于铜蓝氧化酶,存在菇、菌及植物中。漆酶可存活于空气中,发生反应后唯一的产物就是水,因此本质上是一种环保型酵素。由于这几年环保意识逐渐被人所重视,因此近年来漆酶也成为众多学者的研究对象。漆酶具有更为广泛的底物作用范围,对各种酚类、芳胺及其衍生物等都具有催化氧化作用,可以应用在纺织、染色等领域中^[10]。本研究中发现,大杯伞中含有较高的漆酶活性,具有开发应用的研究价值,下一步可以探索大杯伞漆酶的发酵工艺,为漆酶的生产提供更多的菌物来源。

参考文献:

[1]刘 颖.我国食用菌产业发展存在的问题及对策研究[D].北京:中国农业大学,2005:1-32.
[2]谭 伟,谢丽源,甘炳成,等.食用菌与农业循环经济探讨[J].西南农业学报,2005,18(专刊):145-148.
[3]梁 敏,邹东恢.食用菌的功能性与产业开发[J].食品研究与开发,2006,27(4):99-101.

郭克婷. 粤北地区 5 种芳香植物成分分析[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 295–296.

粤北地区 5 种芳香植物成分分析

郭克婷

(韶关学院英东农业科学与工程学院, 广东韶关 512005)

摘要:对粤北地区 5 种芳香植物含水量、可溶性糖及可溶性蛋白含量进行测定。结果表明:5 种芳香植物叶片含水量高低顺序是:罗勒>蕺菜>毒芹>薄荷>紫苏,可溶性糖含量为 2.36%~6.48%,可溶性蛋白含量为 1.109~2.630 mg/g;5 种芳香植物茎的可溶性糖含量为 1.08%~4.73%,可溶性蛋白含量为 0.804~3.050 mg/g;毒芹茎的可溶性糖、可溶性蛋白含量相对高于叶片。

关键词:芳香植物;可溶性糖;可溶性蛋白;含水量

中图分类号: TQ654.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0295-02

芳香植物是指具有芳香气味的植物,大多数芳香植物还具有药用功效^[1]。芳香植物研究在国外受到广泛重视,近几年芳香植物研究在我国也越来越受重视,目前我国有关芳香植物的研究主要集中在栽培技术、精油提取、精油含量测定等方面。朱鑫等对芳香植物及其栽培技术进行了探讨^[2],魏小兰等对 6 种芳香植物精油提取及综合品质进行了研究^[3],周荣汉对国产野生薄荷挥发油化学组分变异及其化学型进行了研究^[4],刘金荣等测定了 3 种野生薄荷挥发油化学成分^[5]。上述研究为综合开发利用芳香植物资源奠定了基础。因植物内含物含量随植物生长而发生变化,要科学开发利用芳香植物资源,须了解其内含物如可溶性糖、可溶性蛋白含量的变化规律,而相关研究尚未见报道。本研究对粤北地区 5 种不同芳香植物茎、叶中可溶性糖、可溶性蛋白含量进行了分析,以期对粤北地区芳香植物资源的合理开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为罗勒、蕺菜、毒芹、薄荷、紫苏等 5 种粤北地区常见芳香植物,采自韶关学院生态园,4 月 20—25 日进行播种和扦插,采样时间为 7 月 1 日和 9 月 1 日,采集样品为相同片区内生长的植物。将样品用塑料袋包裹好并做好相应标记带回实验室,测定各项指标。考虑到不同部位叶片营养成分含量不同,对每株样品都分别取其外部、中部、内部的叶片剪

碎后混合取样,然后将植物分成茎、叶两部分,用于水分、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量测定。

1.2 测定方法

水分含量测定采用直接干燥法(GB/T 5009.3—2010);可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[6];可溶性蛋白含量测定采用考马斯兰法^[7]。每个处理重复 3 次。试验数据用 SPSS 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 5 种芳香植物叶片含水量变化

从表 1 可以看出,5 种芳香植物叶片含水量在 71.90%~88.18%,在 7 月份和 9 月份取样的 5 种芳香植物叶片含水量变化趋势基本一致。7 月份罗勒、蕺菜、毒芹、薄荷、紫苏含水量分别是 88.18%、87.25%、84.88%、73.48%、72.26%,其中含水量较高的罗勒、蕺菜叶片含水量与其他 3 种植物叶片差异显著;9 月份罗勒、蕺菜、毒芹、薄荷、紫苏含水量分别是 86.87%、86.21%、80.16%、79.05%、71.90%,其中含水量较高的罗勒、蕺菜叶片含水量与其他 3 种植物叶片差异显著。

表 1 5 种芳香植物叶片含水量和可溶性糖含量、可溶性蛋白含量

| 植物名称 | 水分 (%) | | 可溶性糖 (%) | | 可溶性蛋白 (mg/g) | |
|------|--------|--------|----------|-------|--------------|--------|
| | 7 月 | 9 月 | 7 月 | 9 月 | 7 月 | 9 月 |
| 薄荷 | 73.48c | 79.05b | 4.61a | 2.36d | 1.597b | 1.109c |
| 罗勒 | 88.18a | 86.87a | 3.49d | 2.68d | 1.386c | 1.114c |
| 紫苏 | 72.26c | 71.90c | 3.77c | 6.48a | 1.772a | 1.783b |
| 蕺菜 | 87.25a | 86.21a | 3.71cd | 3.96c | 1.640ab | 1.750b |
| 毒芹 | 84.88b | 80.16b | 4.19b | 4.79b | 1.640ab | 2.630a |

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

收稿日期:2013-03-01

基金项目:韶关学院科研项目(编号:2010-107)。

作者简介:郭克婷(1964—),女,河南安阳人,高级实验师,主要从事植物学实验教学和科研工作。E-mail:459536795@qq.com。

[4]钟耀广,刘长江,林楠,等.食用菌活性成分研究现状[J].食品研究与开发,2007,28(10):170-172.

[5]金茜,朱彬,罗宿星,等.食用菌多糖生物活性的研究进展[J].遵义师范学院学报,2010,12(4):75-78.

[6]Cui L, Liu QH, Wang HX, et al. An alkaline protease from fresh fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus citrinopileatus* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 75(1): 81-85.

[7]赵爽,刘宇,殷贝贝,等.北京地区夏季野生食用菌生物指标

的测定[J].中国农学通报,2011,27(2):429-433

[8]Wang H X, Ng T B. A laccase from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72(3): 508-513.

[9]杨清香,李学梅,陈建军,等.食用菌液体发酵产漆酶的研究[J].安徽农业科学,2007,35(27):8558-8559.

[10]周易勇.漆酶的应用[J].中国生漆,1990,9(3):20-22.