

ICP-MS法测定粗柄羊肚菌中无机元素含量

张倩茹¹ 曾阳^{1,2} 孙玉侠¹ 雷艳⁴ 余涛¹ 赵得萍^{3*}

(1青海师范大学生命与地理科学学院,青海西宁810008;2青藏高原环境与资源教育部重点实验室,青海西宁810008;

3中国科学院西北高原生物研究所,青海西宁810008;4富县沙梁中学,陕西延安727500)

摘要 目的:分析青藏高原野生粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中无机元素的含量。方法:采用ICP-MS法对粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中无机元素的含量进行测定。结果:粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中元素Mg、Zn、Cu、Pb、Hg和Se含量相当,重金属Pb、Cd、As、Hg含量符合国家食品安全标准。结论:可通过发酵培养菌丝体来代替羊肚菌子实体,解决日益紧缺的粗柄羊肚菌资源匮乏问题。

关键词 粗柄羊肚菌 子实体 菌丝体 ICP-MS 无机元素
文章编号 1000-8357(2016)04-0059-02

羊肚菌为子囊菌亚门(Ascomycotina),属马鞍菌科(Helvellaceae)羊肚菌属(*Morchella*),中医认为羊肚菌具有化痰理气、补肾、壮阳、补脑、提神的功效^[1]。羊肚菌营养丰富,含有多种抗病毒、抗肿瘤的活性物质,其中含有的无机元素是生物体内的主要载体^[2]。虽然微量元素在人体内含量不多,但有极为重要的生理功能,参与了生物体内酶、维生素、激素、核酸等的代谢合成,在维持机体正常的能量转换和新陈代谢等方面意义重大^[3]。

目前关于羊肚菌无机元素含量的测定报道较少。文献记载,王元忠^[4]等人采用原子吸收法测定了黑脉羊肚菌(*Morchella angusticeps*)微量元素K、Na、Ca、Mg、Cu、Fe、Zn、Mn、Mo的含量,而关于粗柄羊肚菌(*Morchella crassipes*)元素含量的测定尚未见报道。笔者选用粗柄羊肚菌对其进行元素含量的测定。文献报道,常规检测大量元素和微量元素含量的方法主要有原子荧光光谱法^[5]、原子吸收光谱法^[6]、ICP-AES^[7]及ICP-MS^[8]等。由于ICP-MS法的精密度、准确度、灵敏度高,基体效应小、检出限低、线性范围宽和多元素同时测定等优点突出。因此,通过电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中包括重金属元素在内的无机元素的含量,为羊肚菌的食(药)用价值开发及安全食用提供了科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试菌种 粗柄羊肚菌于2013年5月采摘于青海省民和县古鄯驿,由青海师范大学生命与地理科学学院刁治民教

授鉴定为*Morchella crassipes*。粗柄羊肚菌菌株由孢子接种得到。

1.2 主要试剂和仪器 葡萄糖(长沙升阳化工材料有限公司),Agar(WOLSEN),酵母膏(北京奥博星生物技术有限责任公司),HNO₃(优级纯),H₂O₂(优级纯重蒸馏),KH₂PO₄(天津市福晨化学试剂厂),MgSO₄·7H₂O(天津市永大化学试剂有限公司),元素标准溶液(1000 μg/mL)北京国家标准物质研究中心,超纯水实验室自制。7500 c电感耦合等离子体质谱仪(美国Agilent科技有限公司),安东帕MW3000微波消解仪(Anton Paar),WGP-350隔水式电热恒温培养箱(上海天呈实验仪器制造有限公司),HZQ-F160型高低温恒温振荡培养箱(上海一恒科技有限公司),LDZX-50KBS立式压力蒸汽灭菌器(上海沪粤明科学仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 培养基及培养方法 斜面培养基:新鲜马铃薯200 g,新鲜黄豆芽50 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,酵母膏3 g, KH₂PO₄ 1.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g,加水至1000 mL。无菌接种后25℃培养10 d,得到粗柄羊肚菌一级菌丝体,4℃低温保存,用于液体发酵。

液体培养基:新鲜马铃薯200 g,新鲜黄豆芽50 g,葡萄糖20 g, KH₂PO₄ 1.0 g,加水至1000 mL。于500 mL锥形瓶中加入300 mL培养液,121℃、0.15 MPa下灭菌30 min,25℃下,按10%的接种量吸取培养液接种,加入10粒玻璃珠,置于恒温振荡培养箱,转速150 r/min,避光恒温振荡培养7 d,得到粗柄羊肚菌液体发酵菌丝体,4℃低温保存,备用。

1.3.2 系列标准溶液的制备 分别移取适量的1000 μg/mL的Mg、K、Ca、Cr、Cu、Zn、As、Se、Mo、Cd、Hg和Pb的标准溶液,用1% HNO₃逐级稀释配制成一系列的标准溶液,配置浓度见表1。

1.3.3 样品的消解 粗柄羊肚菌子实体和菌丝体经50℃烘干,研碎,过80目筛备用。准确称取0.20 g样品,加入6 mL 65% HNO₃摇匀,再加2 mL 47% H₂O₂进行消解,消解程序见表2。消解结束后冷却,洗涤后添加超纯水稀释,称重法定至20.0 g,静置24 h后分析,并用相同的方法制备样品空白。

1.3.4 样品的测定 将处理好的粗柄羊肚菌子实体和菌丝体样品分别在相应的ICP-MS系统工作条件下测定其元素含量,ICP-MS工作参数见表3,每个样品平行测定3次,取其平均值。

收稿日期:2016-03-27一稿;2016-05-05修改稿。

基金项目:青海省药用动植物资源重点实验室资助(项目编号:2014-z-y25)。

作者简介:张倩茹,在读硕士,主要从事药理学研究。联系电话:13997380645。

*通讯作者:赵得萍,硕士,主要从事科技管理。

表1 标准溶液 单位:μg/mL

元素	STD0	STD1	STD2	STD3	STD4
Mg	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
K	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Ca	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Cr	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Cu	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Zn	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
As	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Se	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Mo	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Cd	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1
Hg	0.00	0.001	0.002	0.005	0.01
Pb	0.00	0.01	0.02	0.05	0.1

表2 微波消解程序

程序	功率/W	爬坡时间/min	保持时间/min	风冷降温/℃
1	800	5	10	1
2	1200	5	20	1
3	0	0	15	1

表3 电感耦合等离子体质谱仪工作参数

项目	工作参数	项目	工作参数
入射功率	1500 W	辅助气流量	0.26 L/min
F电压	1.71 V	载气流量	0.87 L/min
蠕动泵	0.1 rp/s	雾化室温度	2℃

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制 根据表1配制的系列标准溶液,分别对各种元素进行测定并绘制标准线,结果见表4。结果表明各元素相关系数良好,在0.99~1。

表4 标准曲线回归方程

元素	回归方程	相关系数
Mg	$y=99.959x+0.5442$	0.9997
K	$y=99.98x+0.4196$	0.9999
Ca	$y=96.673x+238.17$	0.9965
Cr	$y=1.0001x-0.0014$	1.0000
Cu	$y=0.9903x-0.5649$	0.9972
Zn	$y=1.0000x-0.0023$	0.9998
As	$y=1.0003x-0.0031$	0.9998
Se	$y=1.0001x-0.0019$	0.9996
Mo	$y=0.9991x+1.6349$	0.9927
Cd	$y=1.0000x+0.0008$	0.9998
Hg	$y=0.5028x-0.0209$	0.9993
Pb	$y=0.9554x+3.229$	0.9916

2.2 粗柄羊肚菌中无机元素含量的测定结果 通过ICP-MS法系统检测了粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中12种无机元素的含量,见表5。结果表明,子实体和菌丝体中含量最高的无机元素是K,其次是Ca、Mg、Zn。子实体中Mg、Zn、Cu、Pb、Hg和Se元素的富集量与菌丝体中相应的6种元素富集量相当。同《食物成分表》^[9]中其它菌类的含量相比,粗柄羊肚菌子实体的Ca、K、Mg、Se以及人体容易缺乏的微量元素Zn的

含量较高。粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中富集的重金属Pb、Cd、As、Hg含量均在国家规定的食品安全标准范围内(表6),符合国家食品安全条例,可以安全食用。

表5 粗柄羊肚菌子实体及其菌丝体中无机元素含量

元素	子实体元素含量/(μg·g ⁻¹)	菌丝体元素含量/(μg·g ⁻¹)
Mg	40.650	40.710
K	354.770	575.580
Ca	83.500	65.090
Cr	0.160	0.040
Cu	0.680	0.350
Zn	1.620	1.270
As	0.025	0.004
Se	0.001	0.001
Mo	0.006	0.135
Cd	0.031	0.003
Hg	0.026	0.020
Pb	0.013	0.012

表6 粗柄羊肚菌子实体及其菌丝体中重金属元素含量

重金属元素	Cd	As	Hg	Pb
子实体富集量/(μg·g ⁻¹)	0.031	0.025	0.026	0.013
菌丝体富集量/(μg·g ⁻¹)	0.003	0.004	0.020	0.012
食品安全标准/(μg·g ⁻¹)	≤1.0	≤1.0	≤0.2	≤2.0

3 小结与讨论

无机元素是药用原料不可缺少的部分,中药的药理活性表现为多种组分的协同效应,不仅与所含的有机成分有关,还与无机元素的含量密切相关^[10]。K、Mg、Cu、Mo和Zn被称为是与人体生命攸关的元素,这些元素对人类的生长发育、细胞代谢、造血功能和免疫功能有着重要的作用^[11]。Mo是黄嘌呤氢化酶/脱氢酶、醛氧化酶和亚硫酸盐氧化酶的组成成分,其为人体及动植物必需的微量元素,Mo不足表现为生长发育迟缓甚至死亡。Zn、Cu是人体中重要的辅酶因子,对细胞分裂,核酸及脂肪代谢起重要作用,缺乏这两种元素将导致生育和生殖机能下降,中枢神经肌感觉障碍。同《食物成分表》中其它菌类的含量相比,粗柄羊肚菌子实体的Ca、K、Mg、Se以及人体容易缺乏的微量元素Zn的含量较高。

由粗柄羊肚菌子实体和菌丝体中元素平均含量的结果可知,子实体中元素Mg、Zn、Cu、Pb、Hg和Se的富集量与菌丝体中相应的6种元素富集量相当,同时,重金属Pb、Cd、As、Hg含量均在国家规定的食品安全标准范围内,可安全食用。由于目前粗柄羊肚菌资源有限,且人工栽培困难,因而,可以通过发酵培养菌丝体来代替羊肚菌子实体,进而研究开发附加值高的粗柄羊肚菌产品来满足人们的需要。

参考文献

- [1] 刁治民,杨秀玲,韩彦艳,等.真菌工程学[M].西北农林科技大学出版社,2011:87.
- [2] 兰进,曹文琴,徐锦堂.中国羊肚菌属真菌资源[J].资源科学,1999,21(2):58-63.
- [3] 王福梯.中国生物微量元素研究的现状与展望[J].生命科学,

科学搭建遮阳棚确保香菇安全越夏

李红梅

(西峡县农业科学研究所,河南西峡 474500)

关键词 室外遮阳棚 越夏 光照 温度 相对湿度

文章编号 1000-8357(2016)04-0061-02

春栽袋料香菇安全越夏是保证香菇产量和质量的重要因素,香菇越夏目前都是在室外遮阳棚内进行的,荫棚搭建的是否科学合理,关系到香菇能否安全越夏。

袋料香菇越夏,荫棚要通风、透光(散射光)、遮阳,避免阳光直射。只有这样,才能保证菌棒安全越夏,正常转色,达到最佳效果。近年来,发现绝大部分菇农搭建的荫棚,只注重遮阳,而忽略了通风和光线问题,遮阳网高度不够,四周围得严严实实。在夏季高温条件下,菌棒处于闷热不透气的环境中,轻则菌棒流黑水,转色发黑无光泽,出菇稀疏;严重的整棚菌棒烂掉(即烧菌),前功尽弃,损失惨重。笔者从荫棚搭建步骤、遮阳棚管理过程注意事项、荫棚内香菇管理事项等几个方面阐述室外荫棚在香菇生产整个过程中的重要意义,为广大菇农和同行提供参考。

1 香菇荫棚搭建(越夏)场所选择

菇棚宜选择在光照充足,通风良好,近水源,排水性好,地势平坦交通便利之地。菇棚坐北朝南,呈东西走向搭建,要具备抵御风吹雪压能力,棚顶覆盖物和四周遮阳物要便于调节,以利于创造一个适宜香菇越夏和生长发育的环境条件。作为无公害香菇栽培的出菇场所,应选择不受污染源影响或污染物含量限制在允许范围之内,生产环境良好的区域,其出菇管理用水,土壤质量、空气质量必须达到相应标准。菇农也可以依据当地地理优势,选择在高大乔木树林内

收稿日期:2016-03-12一稿;2016-05-11修改稿。

作者简介:李红梅,本科学历,农艺师,从事食用菌栽培育种方面研究。联系电话:13782025094。

2012,24(08):713-730.

[4] 王元忠,李涛,李兴奎,等.黑脉羊肚菌元素测定[J].中国食用菌,2006,25(2):42-43.

[5] LIU Z F, SUN H W, SHEN S G, et al. Simultaneous determination of total arsenic and total selenium in Chinese medicinal herbs by hydride generation atomic fluorescence spectrometry in tartaric acid medium[J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 550(1): 151-155.

[6] SÉRGIO L C, ANDERSON S, GEOVANI C, et al. Direct determination of iron and manganese in wine using the reference element technique and fast sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2007, 74(4): 699-702.

[7] TU Y G, ZHAO Y, XU M S, et al. Simultaneous Determination of 20 Inorganic Elements in Preserved Egg Prepared with Different

搭建香菇越夏场所,依靠高大树林遮阳,既可节省耗材,又符合香菇生长的自然环境,通风遮阳,小环境条件优越。更有利于香菇越夏生长。

2 遮阳棚材料选择

香菇棚搭建所需材料主要有:水泥柱或钢管或粗大木材、12#钢丝或铁丝、遮阳网、塑料膜。水泥柱或钢管或粗大木材用做搭建阳棚的立柱。一般要求柱高在7 m以上,水泥柱直径要在20 cm以上、钢管直径在5 cm以上,粗大木材直径要在20 cm以上。12#钢丝或铁丝用于扯拉遮阳网,最好用不生锈钢丝,以防生锈缩短使用寿命,钢丝也不能太细,太细起不到支撑作用。遮阳网应选用黑色的,因为黑色吸热,隔热效果好;并且遮阳网应采用平织手法制造而成,经纱为圆丝,纬纱为扁丝,边幅用光边机锁边,从而保证使用的时候边幅足够牢固。香菇遮阳网规格以棚而定,但要保证遮光率在70%以上,采用聚乙烯(HDPE)为原材料,经紫外线稳定剂及抗氧化处理,具有抗拉力强、耐老化、耐腐蚀、耐辐射、轻便等特点;而且无异味、臭味等现象。塑料膜有保温防水防雨淋作用,也是不可缺少。

3 香菇遮阳棚的搭建方法

遮阳棚是袋栽香菇越夏的场所,香菇菌袋要在荫棚内度过5个月时间。以栽培2000袋香菇为例,棚长可根据地形来定,一般以9 m为宜,在野外通风条件好的可以搭2.5 m为宜。高棚层架菇棚一般分为内棚和外棚,外棚用于遮阳,创造香菇生长的适宜环境;内棚用于排放菇棒,备有塑料膜,具有保温保湿作用。

Metal Ions by ICP-AES[J]. Food Analytical Methods, 2013, 6(2): 667-676.

[8] NOMVANO M, PHILISWA N, CATHERINE N. A rapid microwave-assisted acid extraction method based on the use of diluted HNO₃-H₂O₂ followed by ICP-MS analysis for simultaneous determination of trace elements in coal samples[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2015, 95(5): 453-455.

[9] 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所. 食物成分表[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.

[10] 张明昶,麻秀萍,徐文芬.微量元素与六味地黄丸组方关系研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):100-103.

[11] 郭璟,谢占玲.青海不同地区羊肚菌中矿物元素含量的测定及分析[J].食用菌,2015,37(3):58-60.