

生物法提取杜仲胶菌株筛选及发酵条件优化

丁奋霞¹, 苏印泉^{1*}, 杜双田², 张强¹, 中泽庆久³, 堤雅史³

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100; 3. 大阪大学, 日本大阪府 565-0871)

摘要:采集杜仲老林区的土壤和腐殖质,以杜仲皮作为基质多次富集培养,分离其优势菌,通过测定其发酵性能指标并建立菌株综合选择指数,筛选生物法提取杜仲胶的优良菌株,并研究优良菌株的发酵适宜条件。筛选出了优良菌株 P-24,该菌株具有降解能力强,发酵周期短,杜仲胶的发酵损失率小等优点,其适宜的发酵温度为 30 ℃、基质含水率 65%、初始 pH7.0,在此条件下发酵 12 d,杜仲皮的发酵物去除率可达 93.02%,发酵剩余物中杜仲胶的含量为 74.71%,杜仲胶的得率为 5.25%。筛选优良菌株是生物法提取杜仲胶的关键;菌株 P-24 在实际生产中具有一定的应用价值。

关键词:杜仲胶;菌株筛选;固体发酵;发酵降解率

中图分类号:S789.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2012)02-0149-06

Screening Strains for Extraction of Rubber from the Bark of *Eucommia ulmoides* and Optimization of Fermentation Conditions

DING Fen-xia¹, SU Yin-quan^{1*}, DU Shuang-tian², ZHANG Qiang¹,
NAKAZAWA Yoshihisa³, TSUTSUMI Masafumi³

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3. Osaka University, Osaka Prefecture 565-0871, Japan)

Abstract: Strains in the soil and humus samples from *Eucommia ulmoides* forest were screened for the fermentation of *E. ulmoides* bark and for the extraction of *Eucommia* rubber. Then predominant strain was isolated. Fermentation conditions of predominant strain was optimized. The results showed that strain P-24 was efficient strain with stronger capacity to degrade *Eucommia* bark with short fermentation period, low loss rate of the rubber. The optimal conditions of strain P-24 for fermentation may get when the medium moisture content was 65%, initial pH was 7.0, fermentation temperature was 30 ℃, fermentation time was 12 d, and fermentation removing rate was 93.02%, rubber content was 74.71% after the bark was fermented, and yield rate of rubber was 5.25%.

Key words: *Eucommia* rubber; strain screening; solid fermentation; fermentation degradability rate

杜仲(*Eucommia ulmoides*)是中国特有的珍贵经济树种,其树皮、叶及种皮中含有丰富的杜仲胶^[1]。杜仲胶为一种天然高分子材料,其独特的橡塑二重性使其成为新材料开发领域中的研究热点^[2-3]。传统的化学法提取杜仲胶产出率低、提取过程复杂、对环境污染严重且生产成本低^[4-5]。近年来

研究发现,微生物发酵法提取杜仲胶能有效破坏杜仲原料中纤维素、黏结素等结构,提高纤维素类物质的降解率,使杜仲胶体暴露在外,从而简化了提取和纯化杜仲胶的后续工序^[6-7]。关于杜仲胶的生物法提取研究目前还处于探索阶段,目前并未选出理想的菌株用于生产实践。为此,本试验在大量分离菌

收稿日期:2011-04-08 修回日期:2011-05-08

基金项目:中日(NEDO)合作项目(K332020908);陕西省日元贷款项目(K332020023)。

作者简介:丁奋霞,女,在读硕士,研究方向为资源植物利用。E-mail:dingfenxia0828@yeah.net

* 通讯作者:苏印泉,男,教授,主要从事资源植物开发利用教学与研究。E-mail:syq009@126.com

种的基础上,采用了杜仲皮的发酵降解率、发酵物去除率、发酵剩余物中的杜仲胶含量、杜仲胶得率、杜仲胶的发酵损失率 5 个指标建立菌株综合选择指数,筛选生物法提取杜仲胶的优良菌株,并对筛选的优良菌株进行了发酵条件的优化,旨在为生物法提取杜仲胶提供优良菌株及生产工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 杜仲皮 采自西北农林科技大学林学院苗圃 1 年生杜仲枝条。

1.1.2 样品 微生物分离样品采自河南灵宝和陕西安康、杨陵等地的杜仲老林区土壤及杜仲种皮腐殖质。

1.1.3 培养基 菌种分离培养基:杜仲皮 100 g,琼脂粉 12 g,水 1 000 mL(pH=6.5);固体发酵培养基:杜仲皮 99%,葡萄糖 1%,加水调节至含水率 65%(pH=6.5)。以上培养基均于 121 ℃ 灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种分离 将采集的样品接种于固体发酵培养基,于(25±1)℃条件下培养 10 d,再转接新的固体发酵培养基,如此富集培养 3 次后从中取样,按样品质量稀释 10⁻⁹、10⁻¹⁰ 和 10⁻¹¹,涂布接种于菌种分离培养基上,置于(25±1)℃条件下培养,挑取生长速度快,菌落数量占优势的菌株,经纯化后于 PDA 斜面培养基上保藏。

1.2.2 液体菌种的制备 将上述分离的各个菌株活化后,分别接入液体 PDA 培养基中,在(25±1)℃、150 r·min⁻¹的条件下于 SKY-1102C 恒温振荡器中培养 4 d 备用。

1.2.3 固体发酵 采用固体发酵培养基,定量接种上述制备的液体菌种,于(28±1)℃下恒温培养 12 d,测定以下评价指标,每个菌株设 3 次重复。

1.2.4 菌株发酵性能指标的测定

1.2.4.1 杜仲皮的发酵降解率

发酵降解率(S_1)=[(发酵前杜仲皮质量-发酵后杜仲皮质量)/发酵前杜仲皮质量]×100%

1.2.4.2 发酵物去除率发酵结束后 对发酵材料适度机械碾压,用 K2.99M 高压清洗机充分冲洗。将冲洗后得到的剩余物置于 D2F-3 真空干燥箱中干燥至恒重,计算发酵物去除率:

发酵物去除率(S_2)=[(发酵前杜仲皮质量-冲洗后剩余物质量)/发酵前杜仲皮质量]×100%

1.2.4.3 剩余物中的杜仲胶含量 采用文献[8]的

方法对冲洗剩余物中的杜仲胶浸提,按下式计算:

剩余物中的杜仲胶含量(S_3)=杜仲胶质量/冲洗后剩余物质量×100%

杜仲胶得率(S_4)=杜仲胶质量/发酵前杜仲皮质量×100%=(100%-发酵物去除率)×剩余物中的杜仲胶含量

1.2.4.4 杜仲胶的发酵损失率 采用文献[8]的方法测定供试杜仲皮中杜仲胶得率为 6.02%。杜仲胶的发酵损失率指不同菌株在杜仲皮发酵过程中对杜仲胶的分解作用所形成的损失,冲洗过程造成的胶体损失视为系统误差,不影响菌株性能的评价。

杜仲胶的发酵损失率(S_5)=6.02%-杜仲胶得率

1.2.4.5 菌株综合选择指数 为了克服采用单一指标对菌株评价的片面性,依据多年菌种筛选的经验并参考多指标综合评价赋权法^[9-10],对上述指标给予不同的权重,以确定不同菌株的综合选择指数,按下式计算:

菌株综合选择指数=0.05× S_1 +0.4× S_2 +0.45× S_3 +0.1× S_4 - S_5

1.2.5 验证性试验 采用固体发酵培养基,调节其含水率至 65%,定量接种选出的优良菌株的液体菌种,于(28±1)℃,发酵 12 d,测定其发酵性能指标,每个菌株设 3 次重复。

1.2.6 菌株 P-24 对杜仲皮发酵条件的优化 在优势菌株 P-24 的发酵过程中,对影响其发酵性能指标的主要因素进行单因素优化试验,以确定杜仲胶提取的适宜工艺参数。每个试验水平均重复 3 次。

发酵时间对发酵性能指标的影响采用固体发酵培养基,定量接入菌株 P-24,于(28±1)℃下恒温培养 12 d,每隔 2 d 取样 1 次,根据菌株综合选择指数中各指标的权重系数来选择主要发酵性能指标,测定其主要发酵性能指标(发酵物去除率、剩余物中的杜仲胶含量及杜仲胶得率)。

基质含水率对发酵性能指标的影响用蒸馏水调节固体发酵培养基,使其含水率分别为 45%、50%、55%、60%、65%和 70%,定量接入菌株 P-24,于(28±1)℃下恒温培养 12 d,测定其主要发酵性能指标。

基质初始 pH 对发酵性能指标的影响采用固体发酵培养基,调节其初始 pH 分别为 4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0,定量接入菌株 P-24,于(28±1)℃下恒温培养 12 d,测定其主要发酵性能指标。

发酵温度对发酵性能指标的影响采用固体发酵培养基,初始 pH 为 7.0,定量接入菌株 P-24,分别置于 20、25、30、35 ℃和 40 ℃条件下培养 12 d,测定其主要发酵性能指标。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离及发酵性能指标的测定

经过富集培养,挑选出了生长速度快,菌落数量有明显优势的菌株 27 株,对这 27 株菌株分别进行杜仲皮发酵试验(表 1)。由表 1 可见,(1)初选的 27 株菌株对杜仲皮的发酵降解率为 40.44%~68.04%。其中,菌株 MT-6 的发酵降解率最大,为 68.04%。可见原料经过微生物发酵后,其质量大大减少,且不同的菌株对杜仲皮中纤维素类物质的降解率存在很大差异。经不同菌株发酵后的试验材料经高压冲洗后,发酵物去除率达 85.47%~93.07%,其中菌株 MT-4 及 P-29 的发酵物去除率

分别为 93.07%、92.76%,均高于其他菌株。表明初筛的菌株对杜仲皮均有一定的降解作用,不同的菌株降解作用不同。通过微生物发酵及高压冲洗可去除大部分纤维类物质,使提取材料的质量大幅度减少,有利于杜仲胶的提纯。(2)经不同菌株的发酵,发酵剩余物中的杜仲胶含量(S_3)差异很大。其中菌株 P-24、MT-4 和 MT-6 的 S_3 值明显高于其他菌株,分别为 72.57%、65.71%和 65.53%。表明这 3 株菌株对杜仲皮中纤维类物质的去除具有较强的作用。(3)不同菌株对杜仲皮发酵后杜仲胶的得率也有较大的差异,杜仲胶得率较高的菌株依次为 P-24、P-57 和 MT-1。其中,菌株 P-24 的杜仲胶得率最大为 5.25%。

表 1 初选的 27 株菌株的发酵性能指标

Table 1 Fermentation properties of 27 strains for the extraction of rubber

菌株编号	发酵降解率 (S_1)/%	发酵物去除率 (S_2)/%	发酵物中的杜仲胶 含量(S_3)/%	杜仲胶得率 (S_4)/%	发酵损失率 (S_5)/%
F-4	57.80±0.47	91.34±0.49	42.31±2.42	3.66±0.03	2.36±0.03
F-10	44.40±1.23	89.01±0.26	43.63±0.50	4.79±0.06	1.23±0.06
F-11	40.44±0.23	85.47±1.16	30.99±0.93	4.49±0.20	1.53±0.11
F-12	58.21±1.45	91.68±0.74	48.94±1.14	4.07±0.32	1.95±0.13
F-13	52.48±2.31	89.57±0.53	46.12±2.28	4.80±0.11	1.22±0.15
MT-1	51.84±0.18	91.49±0.45	58.34±1.98	4.98±0.32	1.05±0.14
MT-4	60.84±2.92	93.07±0.46	65.71±3.03	4.54±0.29	1.48±0.09
MT-6	68.04±1.44	92.57±0.46	65.53±3.82	4.87±0.35	1.15±0.06
P-22	61.65±1.87	92.33±0.53	59.89±0.29	4.59±0.21	1.43±0.17
P-24	59.23±1.18	92.73±0.63	72.57±3.21	5.25±0.16	0.77±0.01
P-25	57.33±1.75	91.40±0.40	47.22±0.77	4.06±0.16	1.96±0.16
P-28	60.33±0.94	92.66±0.26	52.96±2.40	3.88±0.04	2.14±0.04
P-29	59.98±0.90	92.76±1.36	60.52±1.04	3.82±0.19	2.20±0.19
P-30	53.86±0.99	92.70±0.44	56.36±3.14	4.08±0.15	1.93±0.17
P-32	46.42±0.98	89.03±0.50	35.07±1.06	3.84±0.06	2.18±0.06
P-33	42.74±0.03	90.92±0.34	51.32±1.93	4.66±0.07	1.36±0.07
P-35	50.53±1.81	91.47±0.93	53.38±3.02	4.51±0.17	1.51±0.17
P-40	51.97±1.41	91.55±0.27	57.53±2.48	4.86±0.20	1.16±0.15
P-44	53.29±1.27	91.63±1.00	51.18±4.21	4.30±0.30	1.72±0.18
P-45	52.66±0.35	90.68±0.54	47.52±0.61	4.42±0.22	1.60±0.22
P-47	58.33±0.69	91.92±0.18	46.79±0.84	3.78±0.02	2.24±0.02
P-50	52.35±2.96	91.25±0.72	50.44±3.34	4.40±0.11	1.62±0.11
P-56	49.99±0.97	90.67±0.57	48.43±1.60	4.51±0.13	1.51±0.13
P-57	44.33±1.38	90.65±0.82	53.91±2.75	5.02±0.18	1.00±0.11
P-62	57.49±1.82	88.55±1.71	41.13±1.80	4.66±0.23	1.36±0.23
P-64	51.38±1.10	91.47±0.69	48.59±1.23	4.14±0.23	1.88±0.23
P-65	58.91±2.05	91.49±0.45	50.53±1.40	4.30±0.15	1.73±0.15

采用微生物发酵,高压清洗机冲洗发酵材料的研究方法,杜仲胶的损失主要由菌株对杜仲胶的分解作用及发酵物冲洗对杜仲胶的损失 2 部分构成。为了比较方便,将冲洗过程造成的胶体损失视为系统误差,所以表 1 中杜仲胶的损失率的差异即为不同的菌株形成的。由于不同的菌株产生的酶系不同,有些酶对杜仲胶具有较强的分解作用,进而造成部分胶体在发酵过程中有较大的损失。在其他发酵

性能指标优良的情况下,菌株对杜仲皮发酵后,杜仲胶的发酵损失率越小,该菌株发酵性能就越好。由表 1 可见,菌株 P-24 的发酵后杜仲胶的损失率最小,为 0.77%;而菌株 F4 的发酵损失率最大,为 2.36%。由此可见不同的菌株对杜仲胶的分解能力相差很大,因此在采用生物法提取杜仲胶时,要尽量避免使用分解杜仲胶的菌株。

由表 1 还可以看出,菌株 P-24、MT-6、P-29、

MT-4 在发酵降解率及发酵物去除率这 2 个指标上的表现均优于其他菌株,但是菌株 P-29 在杜仲胶得率及发酵损失率上的表现并不理想。表明采用单一指标很难确定菌株的优劣。

2.2 菌株综合选择指数的确定

优良菌株的筛选,必须同时满足 2 个基本条件:一是菌株对杜仲皮的降解能力强,菌株通过释放胞外酶降解杜仲皮中的纤维素、木质素、果胶等大分子物质,降低杜仲胶与杜仲皮中的纤维类物质的结合程度,从而达到生物提取的目的;二是菌株对杜仲胶的降解能力要很低,即菌株的杜仲胶的发酵损失率要低。在研究中发现,大部分霉菌不仅可以降解杜仲皮中的纤维类物质,同时也可以降解杜仲胶,因此

杜仲胶的发酵损失率是菌株筛选中的重要指标。

由表 2 可见,不同菌株间综合选择指数不同,以菌株 P-24 的综合选择指数最大,其次依次为 MT-6、MT-4、P-22 及 P-29;其综合选择指数分别为 0.724 7、0.692 5、0.688 1、0.660 0 和 0.655 2。结合表 1 可见,菌株 P-22 的各项发酵性能指标并非明显高于其他菌株,但是通过综合选择指数的计算,其整体发酵性能优良,可以作为生产备用菌株。虽然菌株 P-29 其他发酵性能指标均良好,但其杜仲胶的发酵损失率达 2.20%,杜仲胶得率仅为 3.82%,表明菌株 P-29 对杜仲胶有较强的分解作用,因此不能作为生产菌株。综上所述,菌株 P-24、MT-6、MT-4 及 P-22 的综合选择指数较高,可用进一步选育提高。

表 2 初选 27 株菌株的综合选择指数

Table 2 Comprehensive selection index of 27 strains from preliminary screening

菌株编号	综合选择指数	菌株编号	综合选择指数	菌株编号	综合选择指数
F-4	0.564 7	P-24	0.724 7	P-44	0.610 6
F-10	0.567 1	P-25	0.591 2	P-45	0.591 4
F-11	0.490 7	P-28	0.621 6	P-47	0.588 8
F-12	0.600 7	P-29	0.655 2	P-50	0.606 3
F-13	0.584 7	P-30	0.636 3	P-56	0.595 0
MT-1	0.648 9	P-32	0.519 2	P-57	0.622 4
MT-4	0.688 1	P-33	0.607 0	P-62	0.559 1
MT-6	0.692 5	P-35	0.620 8	P-64	0.595 6
P-22	0.660 0	P-40	0.649 9	P-65	0.609 8

2.3 验证性试验

综合比较前期菌株筛选的结果,对选出的菌株 P-24、MT-6、MT-4 及 P-22 作进一步验证性试验(表 3)。经反复试验,菌株 P-24、MT-6 及 MT4 的发酵性能稳定。但是菌株 P-22 的发酵降解率降低了 2.53%,发酵物去除率下降了 1.28%,剩余物中

的杜仲胶含量下降了 8.60%,可见菌株 P-22 的发酵性能不稳定,不宜作为生产菌株。菌株 P-24 对杜仲皮的发酵降解率为 58.88%,发酵物去除率为 92.60%,剩余物中的杜仲胶含量为 71.04%,杜仲胶得率为 5.25%,发酵损失率 0.77%,其发酵性能仍高于其他菌株。

表 3 验证性试验结果

Table 3 Result of confirmatory test

菌株编号	发酵降解率 (S ₁)/%	发酵物去除率 (S ₂)/%	发酵物中的杜仲胶 含量(S ₃)/%	杜仲胶得率 (S ₄)/%	发酵损失率 (S ₅)/%
P-24	58.88±1.11	92.60±0.37	71.04±3.07	5.25±0.11	0.77±0.02
MT-6	67.02±1.00	92.28±0.41	63.21±2.78	4.88±0.30	1.14±0.07
MT-4	59.87±2.26	92.87±0.35	63.81±2.29	4.55±0.21	1.47±0.21
P-22	59.12±1.93	91.05±0.64	51.29±0.38	4.59±0.27	1.43±0.18

2.4 菌株 P-24 对杜仲皮发酵条件的优化

2.4.1 发酵时间对杜仲皮降解效果的影响 由图 1 可见,(1)菌株 P-24 发酵过程中,杜仲胶得率基本不变。说明该菌株对杜仲胶的分解作用很小;(2)随着发酵时间的延长,杜仲皮的发酵去除率缓慢增加,在发酵的第 8 天基本稳定;(3)杜仲皮发酵后冲洗剩余物中的杜仲胶含量随发酵时间的变化迅速上升,在发酵的第 12 天达到最大值。在发酵第 12 天,杜仲皮发酵去除率达 92.78%,杜仲皮发酵后冲洗剩

余物中的杜仲胶含量达 72.71%。可见随着发酵时间的延长,对杜仲皮中纤维类物质的降解作用不断地增强,使杜仲胶与杜仲皮中的纤维类物质之间的结合力降低,通过高压冲洗,使杜仲胶与纤维类物质分离。从而提高了冲洗剩余物中的杜仲胶含量。从冲洗剩余物中杜仲胶含量与时间的变化曲线可见,杜仲皮的发酵时间以 12 d 为宜。

2.4.2 基质含水率对杜仲皮降解效果的影响 微生物的生长对基质的含水率有一定的要求,基质含

水率过高或过低都会影响微生物的生长代谢^[11]。由图 2 可见,菌株 P-24 对杜仲皮的发酵去除率、杜仲皮发酵后冲洗剩余物中的杜仲胶含量与基质含水率有一定的关系,当基质含水率在 50%~65%时,二者随基质含水率的增加而增大;当含水率为 65%时,发酵去除率及剩余物中的杜仲胶含量均达到最大值,分别为 92.78%和 72.81%。当基质含水率进一步提高时,发酵去除率及剩余物中的杜仲胶含量均有所下降。因此,基质含水率以 65 %为宜。

2.4.3 基质初始 pH 对杜仲皮降解效果的影响 基质 pH 值是影响微生物生长的环境条件之一,pH 值过低或过高均会影响微生物的生长繁殖^[12]。由图 3 可知,菌株 P-24 在中性条件下的发酵效果最好,当 pH 值为 7.0 时,发酵物去除率、剩余物中的杜仲胶含

量达到最大值,分别为 92.90%和74.06%。

2.4.4 发酵温度对杜仲皮降解效果的影响 温度是微生物生长繁殖的重要条件,每种微生物都有其适宜的发酵温度范围^[13]。由图 4 可见,发酵温度对发酵效果的影响较大。当发酵温度为 20 ℃时,菌株 P-24 生长缓慢,形成的菌丝体数量较少,其发酵物去除率仅为 85.94%,剩余物中的杜仲胶含量仅为 37.33%;当发酵温度为 30℃时,发酵物去除率和剩余物中的杜仲胶含量分别为 93.02%及 74.71%。之后随着温度的升高,发酵物去除率及冲洗剩余物中的杜仲胶含量均有所降低。因此,菌株 P-24 发酵的最适宜温度应为 30℃。

综上所述,菌株 P-24 的适宜发酵条件为:温度 30℃、基质含水率 65%、初始 pH7.0,发酵时间 12 d。

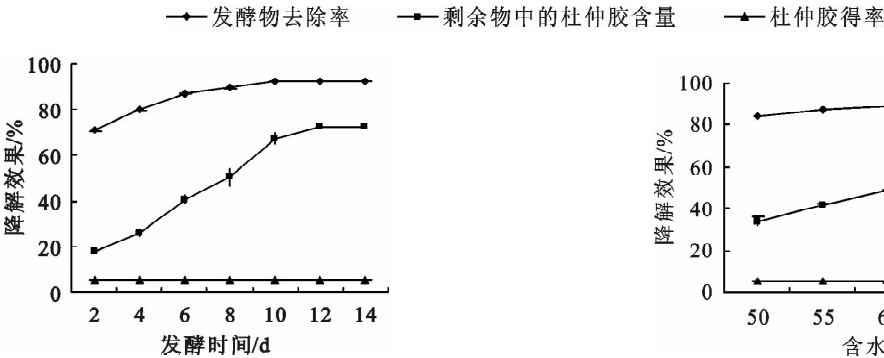


图 1 发酵时间对杜仲皮降解效果的影响

Fig.1 Effects of fermentation time on degradability result of *E. ulmoides* bark

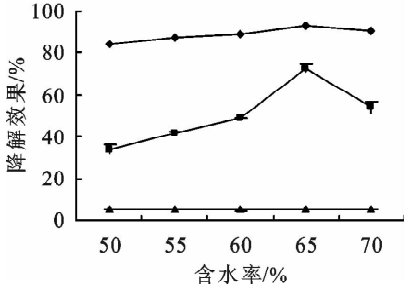


图 2 含水率对杜仲皮降解效果的影响

Fig.2 Effects of moisture rate on degradability result of *E. ulmoides* bark

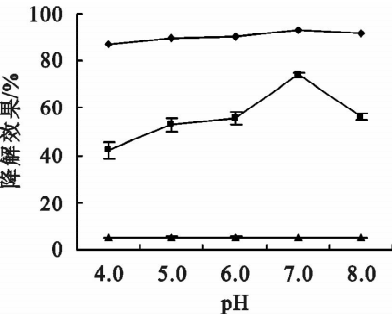


图 3 初始 pH 对杜仲皮降解效果的影响

Fig.3 Effects of initial pH on degradability result of *E. ulmoides* bark

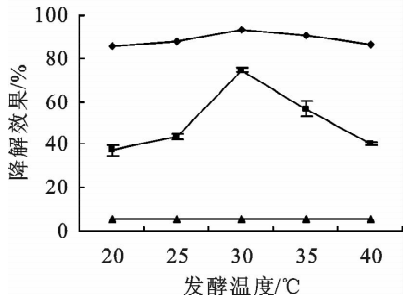


图 4 发酵温度对杜仲皮降解效果的影响

Fig.4 Effects of culture temperature on degradability result of *E. ulmoides* bark

3 结论与讨论

菌株综合选择指数在杜仲皮发酵提取杜仲胶优良菌株筛选中的应用是可行的。采用菌株综合选择指数进行杜仲胶生物提取菌株的筛选具有简单易行,实用性强的特点,试验选择的菌株 P-24 经过多次发酵试验,具有发酵周期短,降解能力强,得胶率高的优点,可以进一步推广应用。但采用菌株综合选择指数是对不同的选择指标都给予相应的权重系

数,要求菌株筛选者具有丰富的微生物实践经验。

分离及筛选得到能用于杜仲胶提取的优良菌株 P-24、MT-6、P-22 及 P-57,其中 P-24 的发酵性能最优,可以作为进一步选育的材料。

确定了菌株 P-24 发酵提取杜仲胶的适宜工艺参数,即发酵温度 30 ℃、基质含水率 65%、初始 pH7.0、发酵时间为 12 d。在此条件下,杜仲皮发酵去除率为 93.02%,发酵后冲洗剩余物中的杜仲胶含量达 74.71%,杜仲胶得率为 5.25%,在生产上具

有一定的实际应用价值。

同菌株对杜仲胶的降解能力有较大的差异,从分离的 27 个菌株看,杜仲胶的发酵损失率在0.77%~2.36%之间,据张檀^[14]等报道,用平菇菌发酵杜仲叶,会造成杜仲胶的降解,杜仲胶得率仅为0.03%。本试验的菌株 F-4、P-47、P-29,其发酵损失率分别为 2.36%、2.24%、2.20%,表明菌株 F-4、P-47、P-29 对杜仲胶有较强的分解作用,不宜作为生产菌株。研究发现,菌株对发酵材料的降解能力与杜仲胶的发酵损失率之间没有直接关系,可能是不同霉菌在降解材料中纤维类物质及杜仲胶时,所产生的酶系不同,有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 周政贤.中国杜仲[M]. 贵阳:贵阳出版社,1993.
ZHOU Z X. *Eucommia ulmoides* in China [M]. Guiyang: Guizhou Press, 1993. (in Chinese)

[2] 宋磊,张学俊,董大鹏. 杜仲胶性质及提取研究的进展[J]. 贵州化工,2006,31(4):4-8.
SONG L, ZHANG X J, DONG D P. A review of the properties and extraction of *Eucommia* rubber [J]. Guizhou Chemical Indutry, 2006, 31(4):4-8. (in Chinese)

[3] 朱峰,岳红,祖恩峰,等. 新型功能材料杜仲胶的研究与应用[J]. 安徽大学学报:自然科学版,2005,29(3):89-93.
ZHU F, YUE H, ZU E F, *et al.* The study and application of *Eucommia ulmoides* gum [J]. Journal of Anhui University: Nat. Sci. Ed., 2005, 29(3):89-93. (in Chinese)

[4] 徐咏梅,苏印泉,彭峰,等. 杜仲乔林与叶林树皮中次生代谢物含量的比较[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(4):55-57.
XU Y M, SU Y Q, PENG F, *et al.* Study on the contents of secondary metabolites in the bark of high forest tree model and leaf-oriented tree model of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed., 2006, 34(4):55-57. (in Chinese)

[5] 岳杰,苏印泉,李雪红,等. 杜仲不同无性系叶中杜仲胶含量及相对分子质量研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(4):51-54.
YUE J, SU Y Q, LI X H, *et al.* Study on the content and the molecual weight of *Eucommia ulmoides* gum in different clones [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed., 2006, 34(4):51-54. (in Chinese)

[6] 张学俊,宫本红,王庆辉,等. 酶水解杜仲纤维素细胞壁及长丝杜仲胶的提取[J]. 天然产物研究与开发,2009(21):115-121.
ZHANG X J, GONG B H, WANG Q H, *et al.* Hydrolysis of plant cell wall of *Eucommia ulmoides* by cellulase and extrac-tion of long silk gum [J]. Natural Product Research and De-

velopment, 2009(21):115-121. (in Chinese)

[7] 苏印泉,任钊,杜双田,等. 微生物固体发酵提取杜仲胶工艺参数的筛选[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2010,38(7):155-160.
SU Y Q, REN Z, DU S T, *et al.* Screening parameters for the extraction of *Eucommia* rubber by microbial solid fermentation [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed., 2010, 38(7):155-160. (in Chinese)

[8] 张学俊,王庆辉,宋磊,等. 不同温度条件下溶剂循环溶解析出提取杜仲胶[J]. 天然产物研究与开发,2007(19):1062-1066.
ZHANG X J, WANG Q H, SONG L, *et al.* The solution-precipitation of *Eucommia ulmoides* gum in petroleum ether at different temperatures to extract the gum [J]. Natural Prod-uct Research and Development, 2007(19):1062-1066. (in Chi-nese)

[9] 杨宇. 多指标评价中赋权方法评析[J]. 统计与决策,2006(7):17-19.

[10] 谢学铭,郑健. 基于模型主观赋权法的多目标决策研究[J]. 中国西部科技,2009(5):7-8.
XIE X M, ZHENG J. To study on multi-objective decision-making based on cloud-model subjective weight determination [J]. Science and Technology of West China, 2009(5):7-8. (in Chinese)

[11] 徐忠,汪群慧,姜兆华. 大豆秸秆纤维素固态发酵及酶解条件的研究[J]. 林产化学与工业,2004(12):107-110.
XU Z, WANG Q H, JIANG Z H. Study on conditions of solid substrate fermentation and enzymolysis of soybean stalk [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2004(12):107-110. (in Chinese)

[12] 刘韞滔,龙淑霞,传南,等. 纤维素降解菌 L-06 的筛选、鉴定及其产酶条件的分析[J]. 生物工程学报,2008,24(6):1112-1116.
LIU W T, LONG S X, CHUAN N, *et al.* Screening, identi-fying of cellulose-decomposing strain L-06 and its enzyme-producing conditions [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2008, 24(6):1112-1116. (in Chinese)

[13] 南宏伟,林思祖,曹光球,等. 相思树根瘤菌优良抗逆性菌株的筛选[J]. 西北林学院学报,2009,24(3):139-143.
NAN H W, LIN S Z, CAO G Q, *et al.* Screening of rhizobi-um strains strong resistance to stresses isolated from *Acacia* spp. [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(3):139-143. (in Chinese)

[14] 张檀,郑瑞杰,李晓明,等. 微生物在杜仲叶胶提取中的作用研究[J]. 西北林学院学报,2006,21(3):101-104.
ZHANG T, ZHENG R J, LI X M, *et al.* A study on the function of microorganism in extracting gutta-percha [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2006, 21(3):101-104. (in Chinese)