

人工培养地木耳的群体显微结构及营养成分分析

阎春兰^{1,2}, 邓中洋¹, 胡征宇^{1,*}

(1.中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072; 2.中南民族大学生命科学院, 湖北 武汉 430074)

摘要:以人工培养的地木耳(*Nostoc commune* Vauch.)为材料,测定其生化组成,并对培养的地木耳显微结构进行观察。结果表明:地木耳表层藻丝较中央藻丝排列更加紧密,中央藻丝有或无单独胶鞘包裹;人工培养的地木耳含16种氨基酸,蛋白质含量为17.46%;脂肪含量为0.53%,低于野生地木耳中脂肪的含量;维生素含量较低;矿质元素含量远高于野生地木耳的含量;而砷、铅、汞、镉4种重金属元素含量较低,符合国家食品卫生标准。
关键词:人工培养;地木耳;营养;分析;结构

Colony Structure and Nutritional Composition Analysis of Cultivated *Nostoc commune* Vauch.

YAN Chun-lan^{1,2}, DENG Zhong-yang¹, HU Zheng-yu^{1,*}

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. College of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

Abstract: Cultivated *Nostoc commune* Vauch. was used as the raw material to determine its biochemical composition and structure. Results indicated that surface trichomes of cultivated *N. commune* exhibited more tight arrangement than that of the interiors. Meanwhile, some trichomes in the interior were enveloped by sheath. Cultivated *N. commune* contained 17.46% protein that was composed of 16 kinds of amino acids and 0.53% fatty acid. Compared to wild *N. commune*, lower fatty acid and vitamin contents were determined in cultivated *N. commune*, which, however, was rich in mineral elements and exhibited contents of heavy metals such as As, Pb, Hg and Cd that were much lower than the maximum threshold stipulated in the Chinese national food hygiene standards.

Key words: cultivation; *Nostoc commune* Vauch.; nutrition; analysis; structure

中国分类号: Q813.1; Q949.225

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)03-0022-04

地木耳(*Nostoc commune* Vauch.),学名普通念珠藻,又称地耳、地皮菜、地浆皮^[1],属于蓝藻门(Cyanophyta)、蓝藻纲(Cyanophyceae)、念珠藻目(Nostocales)、念珠藻科(Nostocaceae)、念珠藻属(*Nostoc*),是一种广泛分布在我国各地区的蓝藻,营养价值高,可以食用,具有一定的药用价值,与葛仙米(*N. sphaeroides*)、发菜(*N. flagelliforme*)是我国传统的天然食品^[1-2]。地木耳的生长受到自然界干旱少雨的限制,处于自生自灭状态;且近年来,由于环境污染和人类生产活动的影响,其野生资源急剧减少^[2]。为了对这一资源进行开发,目前国内已经出现几家从事葛仙米、地木耳生产的公司。本实验以人工培养的地木耳为材料,

对其生化组成进行测定,并对其显微结构进行观察,为今后改进培养方法、提高其营养价值提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

地木耳(*N. commune*)藻种^[3]由以色列本古里安大学荒漠研究所藻类实验室提供,对其进行分离纯化。藻体呈绿色,主要为球形或近球形,少数为哑铃形、椭圆形^[4]。采用自来水配制的BG-110培养基,利用本实验室设计的玻璃缸(55cm×20cm×45cm)和培养架在室温下通气进行大量培养,每10d更换一次培养液^[5-6]。

1.2 光学显微镜观察

收稿日期: 2009-04-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671611)

作者简介: 阎春兰(1977—),女,讲师,博士,研究方向为微生物分子遗传学与生理学。

E-mail: yancl77@yahoo.com.cn

* 通信作者: 胡征宇(1957—),男,研究员,博士后,研究方向为淡水藻类生物技术和藻类系统分类学。

E-mail: huzy@ihb.ac.cn

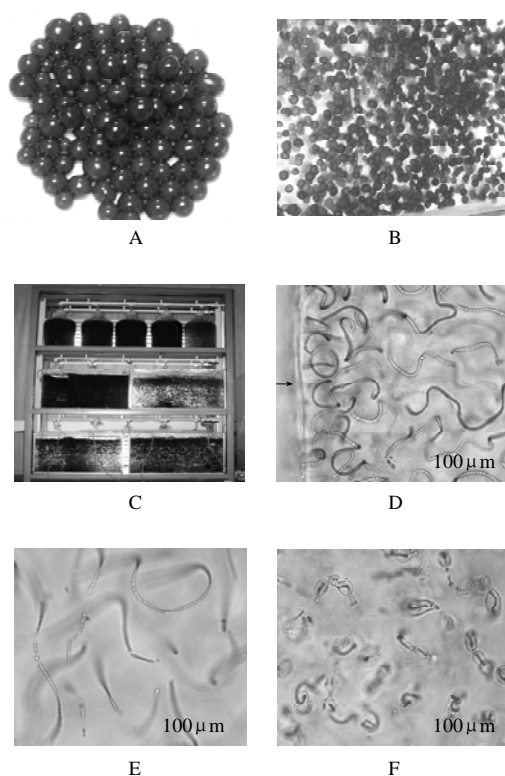
地木耳收获时挑选直径为10mm球形群体,用刀片徒手切片,得到群体中央的横切,厚度为0.2~0.6mm ($n \geq 8$)。用Leica DM 5000 B显微镜照相。

1.3 样品组分分析方法

蛋白质:凯氏定氮法^[7];氨基酸:高效液相色谱法^[8];脂肪:索氏提取法^[8];还原性糖:滴定法^[9];水分:直接干燥法^[8];VA、VE:高效液相色谱法^[8];VB₁、VB₂:荧光法^[7];胡萝卜素:层析法^[8];砷、汞:原子光谱法^[8];钾、钠、钙、镁、铁、磷、铅、镉:采用离子发射光谱法^[10]。

2 结果与分析

2.1 室内培养、解剖和显微镜观察



A.人工培养的地木耳群体;B.在玻璃缸中培养地木耳;C.本实验室设计的地木耳培养架;D.地木耳群体表层藻丝的排列,所有藻丝有共同胶被(箭头所示);E.群体中央的藻丝排列,藻丝外无单独的胶质鞘;F.群体中央的藻丝排列,单根藻丝外面有明显的胶质鞘。

图1 地木耳及藻丝形态

Fig.1 Morphology of *N. commune* and structure of trichomes

不同的文献对地木耳形态和颜色的描述不尽相同,常见为橄榄绿或褐绿色,也有黄或黄褐色,成熟群体为扁平皱褶膜状或波状片体^[2, 4, 11],也有文献报道地木耳群体为圆球状,亮绿色^[4-5]。本实验用到的地木耳群体呈球形,颜色亮绿(图1A),在人工培养条件下,群体直径可以达到25mm,培养过程与葛仙米室内大量培养

方法相同^[5]。室内大量培养地木耳时,接种密度通常为10~70g/L(鲜质量)。由日光灯提供光源,光强的波动范围为180~250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;由气泵向培养缸内泵入空气,泵入的空气起到搅拌作用(图1B、C),一方面使群体均匀的接受光能进行光合作用,另外也能向培养液中补入CO₂,排出O₂,以供藻体生长所需;培养温度控制在22~32℃为宜;室内培养的地木耳的生产率通常为2.5~6g/(L·d)(鲜质量)。

通过显微镜观察,地木耳群体内部是由大量藻丝和胶质所组成,藻丝不规则分布在胶质内,由营养细胞和少量的异形胞串连而成(图1D~F)。表层藻丝由共同胶被包裹,无独立的胶质鞘(图1D);而在不同的群体中,群体中心部位的藻丝有的无胶质鞘(图1E);有的有胶质鞘(图1F),与发菜相似^[12]。因此在同一群体中,有些群体表层的藻丝无自身的胶质鞘,中心的藻丝有自身的胶质鞘;或群体表层与中心的藻丝均无自身的胶质鞘。图1显示,地木耳群体表层的藻丝比群体中心藻丝排列更加致密,与Briones-Nagata等的研究结果一致^[4, 13-14],90%的光线被厚度为100 μm 的群体表层所吸收,越到群体中心,藻丝所能接收到的光线越弱^[15],可以推测地木耳由表层到群体中央藻丝分布逐渐变得稀疏是生理上的适应。藻丝在群体内排列方式也会随培养条件,如光强、温度的变化而发生改变^[14]。

2.2 蛋白质和脂肪分析

表1 地木耳的生化组成

Table 1 Biochemical composition of *N. commune* Vauch.

样品	占地木耳干质量百分比/%			
	蛋白质	粗脂肪	总糖	水分
人工培养地木耳	17.46	0.53	5.82	98.11
文献[16]	14.60	0.20	—	14.9
文献[17]	16.68	4.28	8.80	1.66
文献[18]	21.81	0.58	23.8	5.14
文献[19]	18.08	1.05	0.52	—
文献[4]	26.11	0.15	0.34	—
人工培养葛仙米 ^[20]	29.69	0.78	31.2	98.72

苗影志等^[16]、黄晓波等^[17]、盛家荣等^[18]、贺宝珍等^[19]、Briones-Nagata等^[4]均分析过地木耳的营养价值,但他们都是以野生的地木耳为实验材料,分析其营养价值。从表1可知,人工培养地木耳中蛋白质含量为17.46%,蛋白质含量略高于苗影志等^[16]的14.6%、黄晓波等^[17]的16.68%,低于Briones-Nagata等^[4]的26.11%、盛家荣等^[18]的21.81%、贺宝珍等^[19]的18.08%;而人工培养地木耳的粗脂肪含量较低,仅占干质量的0.53%,远低于野生地木耳的4.28%^[17]、1.05%^[19]。同时,作者也将人工培养的地木耳,与实验室培养的葛仙米的蛋白质和脂肪含量^[20]进行了比较,发现人工培养的地木耳中的蛋白质和

表2 地木耳氨基酸组成
Table 2 Amino acid composition of *N. commune* Vauch.

氨基酸组成	占地木耳干质量百分比/%																
	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	缬氨酸	蛋氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	酪氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	色氨酸
实验所测	2.64	1.06	0.85	2.06	1.00	1.59	1.37	0.11	1.06	1.43	0.74	1.00	0.74	0.16	0.90	0.53	—
文献[4]中所测	1.838	0.872	0.834	1.312	1.330	1.372	0.904	0.026	0.689	1.020	0.142	0.261	0.421	0.148	3.009	0.793	—

脂肪含量均低于人工培养的葛仙米。

由表2可知,地木耳的水解产物共测出16种氨基酸(色氨酸在预处理过程中被破坏),胱氨酸未被测出,天冬氨酸和谷氨酸的含量最高。与Briones-Nagata等^[4]的测定结果相比,除甘氨酸、精氨酸和脯氨酸外,人工培养的地木耳中各种氨基酸的含量均比野生地木耳中的氨基酸含量高。这16种氨基酸中,含有人体必需的7种氨基酸,必需氨基酸含量占总氨基酸的43.34%。说明人工培养的地木耳是一种高蛋白,低脂肪的健康食品,值得大力开发。同时也表明地木耳蛋白质含量在人工和野生环境中的含量变化很大。

本实验采用无氮培养基,今后可通过改变培养条件,在培养基中适当加入氮源,可进一步提高人工培养地木耳的蛋白质含量^[21]。

2.3 维生素分析

实验检测了人工培养地木耳的VA、VB₁、VB₂、VE含量,分别为1.37、0.53、0.21、0.21mg/100g(表3),除VA外,它们的含量比野生地木耳含量低^[17, 19],与人工培养的葛仙米中的含量差不多^[20]。因此,在今后的培养中需要进一步提高地木耳的维生素含量。

表3 地木耳维生素的组成
Table 3 Vitamin composition of *N. commune* Vauch.

维生素组成	维生素含量/(mg/100g)			
	人工培养地木耳	文献[17]	文献[19]	人工培养的葛仙米 ^[20]
VA	1.37	—	0.36	1.406
VB ₁	0.53	2.42	—	0.703
VB ₂	0.21	1.34	—	0.156
VE	0.21	—	0.38	0.705

2.4 矿质及重金属元素分析

表4 地木耳的金属元素组成
Table 4 Metal element composition of *N. commune* Vauch.

元素组成	金属元素含量/(mg/kg)		
	人工培养地木耳	螺旋藻 ^[23]	人工培养葛仙米 ^[20]
钾	7830.688	8599~16600	7936.508
钠	65.07937	1650~3410	83.59788
钙	32592.59	1390~5800	25608.47
镁	11164.02	3500~12200	5052.91
铁	624.3386	190~550	394.1799
磷	5455.026	3926~15000	7671.958

由表4可知,人工培养地木耳中钙、钾、磷、镁、硫的含量较为丰富,其中钙的含量高达32.5926mg/g,可能与人工培养过程中培养基中主要使用钾钙镁磷营养盐有关^[21]。在人工培养的地木耳中,钾的含量为7.8307mg/g,而钠的含量很低,钾与钠含量之比为120.33。高钾、低钠膳食有利于降低血压^[22],因而,人工培养的地木耳可以作为一种能降低血压的保健食品。将人工培养的地木耳与螺旋藻^[23]和人工培养的葛仙米^[20]中的矿质元素进行比较,发现三者的含量接近。同时测量了砷、铅、汞、镉4种重金属元素的含量(表5),分别为0.017、0.007、0.004、0.036mg/kg(鲜质量),远低于每千克鲜质量含量不超过0.5、0.5、0.3、0.1mg的国家食品卫生标准^[24-25],说明在人工培养的地木耳中砷、铅、汞和镉的含量符合国家食品卫生标准。在地木耳的人工培养基中,未加入砷、铅、汞、镉这4种重金属元素,其来源途径有待进一步研究。

表5 地木耳中重金属含量及与国家食品卫生标准的比较
Table 5 Comparison of heavy metal content in cultivated *N. commune* Vauch. and national food hygiene standards

元素组成	重金属含量/(mg/kg)	
	地木耳	国家食品卫生标准 ^[24]
砷	0.017	≤ 0.5
汞	0.004	≤ 0.3
镉	0.036	≤ 0.1
铅	0.007	≤ 0.5

相比较同样采用BG-110培养基培养的地木耳和葛仙米,在各种生化组成上差别不大。适当的改变培养基中的成分组成,应该可以进一步提高人工培养的地木耳中的蛋白质等成分的含量。

3 讨论

从本实验的研究结果来看,人工培养地木耳的蛋白质含量处于已检测的野生地木耳蛋白质含量的中间,大多数氨基酸的含量均比野生地木耳中含量高,而粗脂肪含量远低于野生地木耳,维生素含量较低,矿质元素含量远高于野生地木耳的含量,显示地木耳室内人工培养是成功的,作为一种高蛋白,低脂肪的健康食品,人工培养地木耳值得大力开发;同时可适当改变培养基的

组成, 提高人工培养地木耳的蛋白质等有效成分的含量。

地木耳群体的显微结构需进行进一步的研究, 研究群体内部结构和培养条件、群体韧性(弹性)之间的相互关系, 并可以此作为地木耳规模化培养方法、群体质量的判别依据。

参考文献:

- [1] 王新生. 几种常见野菜的药用与食疗[J]. 中国野生植物资源, 1995 (2): 56-59.
- [2] 李敦海, 刘永定. 近十年中国地木耳研究概况[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 408-412.
- [3] 邓中洋, 胡征宇, 况琪军, 等. 地木耳规模化培养的初步研究[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(6): 578-580.
- [4] BRIONES-NAGATA M P, MARTINEZ-GOSS M R, HORI K. A comparison of the morpho-cytology and chemical composition of the two forms of the cyanobacterium, *Nostoc commune* Vauch., from the Philippines and Japan[J]. J Appl Phycol, 2007, 19(6): 675-683.
- [5] 邓中洋, 况琪军, 胡征宇. 葛仙米室内规模化培养、群体显微结构及营养成分分析[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(5): 481-484.
- [6] 邓中洋, 胡征宇, 刘国祥, 等. 一种培养地木耳的方法, 中国: ZL 0311901.X[P].
- [7] 李建武, 肖能庚, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.
- [8] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1989.
- [9] HUANG Z B, LIU Y D, PAULSEN B S, et al. Studies on polysaccharides from three edible species of *Nostoc* (cyanobacteria) with different colony morphologies: Comparison of monosaccharide compositions and viscosities of polysaccharides from field colonies and suspension culture[J]. J Phycol, 1998, 34: 962-968.
- [10] 张志良. 植物生理实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [11] 王勋陵, 王静, 刘四清. 地木耳显微及亚显微结构的研究[J]. 植物学报, 1987, 29(5): 469-474.
- [12] 王勋陵, 顾云龙. 发菜的显微及亚显微结构的观察[J]. 植物学报, 1985, 26(5): 484-488.
- [13] DENG Zhongyang, YAN Chunlai, LU Fan, et al. Growth kinetics of 1-2 mm and 3-4 mm colonies of *Nostoc sphaeroides* (Cyanophyta) in outdoor culture [J]. Biotechnol Lett, 2008, 30: 1741-1746.
- [14] DENG Zhongyang, HU Qiang, LU Fan, et al. Colony development and physiological characterization of the edible blue-green alga, *Nostoc sphaeroides* (Nostocaceae, Cyanophyta)[J]. Prog Nat Sci, 2008, 18(12): 1475-1483.
- [15] GAO K, AI H. Relationship of growth and photosynthesis with colony size in an edible cyanobacterium, Ge-Xian-Mi *Nostoc* (Cyanophyceae) [J]. J Phycol, 2004, 40(3): 523-526.
- [16] 苗影志, 王维坚, 田青, 等. 长白山地藻食品: 全天然地耳营养保健饮料的研制[J]. 食品科学, 1996, 17(6): 44-46.
- [17] 黄晓波, 索有瑞. 地皮菜营养成分分析与评价[J]. 青海科技, 1999, 6 (3): 7-8.
- [18] 盛家荣, 范会钦, 曾令辉. 普通念珠藻的主要营养成分分析[J]. 广西师院学报: 自然科学版, 1998, 15(4): 68-70.
- [19] 贺宝珍, 李义先. 地木耳营养价值及其潜能研究[J]. 山西大学学报, 1991, 14(1): 93-96.
- [20] 邓中洋, 况琪军, 胡征宇. 葛仙米室内规模化培养、群体显微结构及营养成分分析[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(5): 481-484.
- [21] 沈银武, 黄泽波, 朱运芝, 等. 鱼腥藻营养成分分析[J]. 武汉植物学研究, 1994, 12(1): 61-64.
- [22] ZIEGLER E E, FILER L J J R. 现代营养学[M]. 7版. 闻芝梅, 陈君石, 译. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [23] 吴开国. 螺旋藻: 保健食品新资源和开发利用[M]. 海口: 南海出版公司, 1998: 72-73.
- [24] 中国标准出版社第一编辑室. 中国食品工业标准汇编: 水果、蔬菜及其制品卷[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- [25] 中国标准出版社第一编辑室. 食品卫生国家标准(3) [S]. 北京: 中国标准出版社, 1995: 105.