

富硒黑木耳营养成分研究

武芸

(湖北省生物资源保护与利用重点实验室, 湖北民族学院生物技术研究所, 湖北 恩施 445000)

摘 要: 以富硒黑木耳为原料, 对其相关营养成分进行提取和分离。结果显示, 样品总硒的质量分数为 5.148mg/kg, 蛋白硒占总硒的质量分数为 52.03%, 多糖硒占总硒的质量分数为 22.64%。施硒量与富硒黑木耳中粗纤维质量分数成反比; 而施硒量对富硒黑木耳中粗灰分质量分数影响不大。

关键词: 黑木耳; 富硒; 营养成分

Study on Nutritional Components of Selenium- enriched *Auricularia auricula*

WU Yun

(Key Laboratory of Biologic Resources Protection and Utilization of Hubei Province, Institute of Bioechnology, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China)

Abstract: The nutritional components were extracted from selenium-enriched *Auricularia auricula*, and the selenium content in the components was analyzed. Results showed that total selenium content in *Auricularia auricula* is 5.148 mg/kg. The selenium in protein accounts for 52.03% of total selenium, the selenium in polysaccharide accounting for 22.64%. The addition amount of selenium is positively proportional to mass fraction of coarse fiber in *Auricularia auricula*, but no effect on coarse ash.

Key words: *Auricularia auricular*; selenium enrichment; nutrition components

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)08-0087-04

硒是人体必需的微量元素, 是人体内最强的抗氧化酶——谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的重要组成部分, 具有抗氧化、抗衰老、保护细胞损伤、提高人体免疫、预防癌变、排毒、养颜等多重生物学功能^[1-2], 我国 72% 的国土为不同程度的缺硒区, 其中近 1/3 为严重缺硒地区, 形成食物链的普遍低硒状态, 只靠天然食品补硒确实难以从根本上改善缺硒状况。如何合理、安全地满足人和动物硒的需要, 保护人和动物的健康是当前人和动物营养所要迫切解决的问题。我国食品营养学会已提出了成人补硒的标准(50~200 μg)。

黑木耳是一种药食兼用价值较高的山珍食品^[3], 已有研究表明, 黑木耳具有很强的富硒能力, 并已研究了富硒木耳的栽培及其营养成分^[4-5], 但黑木耳中硒的分布规律及赋存形态还未见报道。本研究以富硒黑木耳为原料, 初步探讨黑木耳富硒子实体的营养成分, 通过对其相关营养成分进行提取和分离, 并测定硒蛋白和硒多糖等大分子有机硒含量, 为新一类补硒剂产品和含有有机硒药物或保健食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

收稿日期: 2008-05-12

基金项目: 国家民委科研项目(07HB03); 湖北民族学院青年基金项目(MYQ20060311)

作者简介: 武芸(1971-), 女, 硕士, 主要从事天然产物开发、食用菌富硒栽培研究。E-mail: wuyun2058@sohu.com

1.1 材料

以黑木耳为载体, 采用低浓度(20~40mg/kg)的亚硒酸钠溶液直接添加到培养料中的方法将无机硒富集到黑木耳体内, 获得了富硒黑木耳, 并以其子实体为原料, 分析富硒黑木耳的硒含量、硒多糖、硒蛋白等营养成分。

1.2 样品的预处理

将富硒黑木耳(子实体)样品用自来水洗净, 再用双重蒸馏水冲洗, 于 50~55℃烘箱中烘干, 磨粉过 40 目筛孔后, 加入适量丙酮搅拌脱脂 2h, 4℃ 5000r/min 离心 15min 后弃去上清液, 再加入丙酮重复脱脂 3 次, 将脱脂粉于 50~55℃烘干后, 置于干燥器内贮存, 备用。

1.3 试剂

硝酸、双氧水、95% 乙醇、无水乙醇、氯仿、正丁醇、葡萄糖、石油醚、蒽酮、浓硫酸、HClO₄、异戊醇、丙酮、蒽酮、乙酸乙酯磷酸、盐酸、氢氧化钠、硫酸铵、氯化钠、氯化钡、牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G-250、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、酸洗石棉、乙醚、正辛醇等均为分析纯, 由恩施州人合商贸有限责任公司提供; 所用水为双蒸水。

1.4 仪器与设备

FA1004 电子天平; SZ-93 双重蒸馏水器、RE-52 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器公司; ETHOSPLUS 微波消解系统; PE-800 原子吸收分光光度计 美国 PE 公司; 样品粉碎机; 756MC- 紫外分光光度计; HWS12 电热恒温水浴锅 上海一恒科技有限公司; DGX 型电热鼓风干燥箱 上海福玛实验设备有限公司; S21-3 磁力搅拌器 上海司乐仪器厂; PHS-3C pH 计; 冷冻干燥机; 低速大容量多管离心机 上海安亭科学仪器厂; B-191 喷雾干燥仪; 电热恒温箱; 高温炉; 消煮器; 过滤装置; 滤器; 古氏坩锅; 干燥器。

1.5 方法

1.5.1 硒含量的测定

总硒的测定: 称取黑木耳干粉样品 0.2g, 加 7.0ml HNO_3 放置过夜, 再加 2.0ml H_2O_2 , 微波消解系统进行消化 30min, 冷却后用少量超纯水溶解, 并定容到 25.00ml, 用原子吸收光度法测定含硒量。

多糖和蛋白质中硒含量的测定方法同上。

1.5.2 硒多糖含量的测定

1.5.2.1 可溶性硒多糖的提取与分离

硒多糖的提取: 称取一定量的富硒黑木耳脱脂干粉, 加入适量双蒸水, 在沸水浴中提取 2h, 再重复 2 次, 合并三次所得提取液, 即得水溶性多糖提取液。在提取水溶性多糖后的残渣中先后加入适量的 0.1mol/L NaOH 和 0.1mol/L HCl 溶液依次提取, 操作同上, 分别得碱溶性多糖提取液和酸溶性多糖提取液。

硒多糖的分离: 将水溶性提取液转入到分液漏斗中, 加入等体积的 Sevag 试剂, 剧烈振荡 5min, 静置 2h, 放出下层有机层和两相之间的蛋白质沉淀。再加入等体积的 Sevage 试剂重复脱蛋白 7 次。取出水相, 测量其体积后, 加入 4 倍体积的乙醇, 醇析过夜, 5000r/min 10min 离心后, 弃去上清液, 分别加入 20ml 水充分溶解后, 加入 4 倍体积的乙醇, 5000r/min 10min 离心后, 弃去上清液, 再重复溶解醇析两次。再依次用丙酮、乙醚洗涤三次, 烘干, 此即水溶性粗多糖。同样方法分离得到碱溶性粗多糖和酸溶性粗多糖。再分别用双蒸水、0.1mol/L NaOH 和 0.1mol/L HCl 充分溶解后定溶到 100ml, 备用。

1.5.2.2 硒多糖含量的测定

多糖含量测定采用蒽酮比色法^[6]。

1.5.3 硒蛋白含量的测定

1.5.3.1 可溶性蛋白质提取

准确称取富硒黑木耳脱脂干粉 5.00g, 加 pH 8.6 的磷酸缓冲液 100ml, 室温下搅拌提取 2h, 4℃ 5000r/min 离心 20min 后取上清液。再在残渣中分别加入 50ml 水搅

拌重复提取两次, 合并三次所得提取液, 即得可溶性蛋白质溶液。

1.5.3.2 可溶性蛋白质分级盐析及含量测定

根据硫酸铵饱和梯度 20%、40%、60%、80%、100%, 将所沉淀的蛋白质分成 A、B、C、D、E 五组。从 20% 硫酸铵饱和度开始盐析, 在溶液中缓慢加入固体硫酸铵, 边加入边缓慢搅拌至饱和度后, 于冰箱中静置过夜, 5000r/min 离心 20min 分离, 上清液继续加入硫酸铵提高一个饱和度, 如前盐析分离, 直至饱和度达到 100%。将各组沉淀蛋白分别用少量提取液溶解后转入透析袋, 用去离子水透析至饱和氯化钡检测透析液中无沉淀为止, 并将透析袋中的蛋白质取出, 用水充分溶解后定容到 100ml, 备用。

1.5.3.3 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[7]。

1.5.4 粗纤维(CF)的测定

粗纤维含量的测定采用中华人民共和国国家标准 (GB6434 - 86) 进行测定。

1.5.5 粗灰分的测定

粗灰分含量的测定采用中华人民共和国国家标准 (GB/T 6438 - 92) 进行测定。

2 结果与分析

2.1 硒在黑木耳中的赋存形态

为研究富硒黑木耳中硒的赋存状态, 采用石墨炉原子吸收分光光度法测定了黑木耳干样的总硒、各蛋白组分硒、各多糖组分硒的含量, 结果如下: 样品总硒的质量分数为 5.148 mg/kg, 各蛋白组分硒的质量分数之和为总蛋白硒(2.68mg/kg), 各多糖组分硒的质量分数之和为总多糖硒(1.17mg/kg), 二者之和为 74.67%。这说明有机硒为富硒黑木耳中硒的主要赋存状态, 其中以蛋白硒为主。

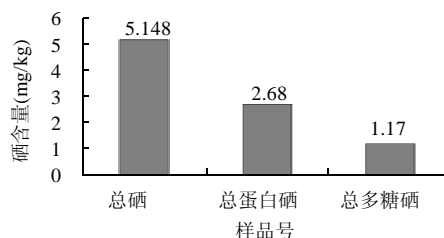


图1 硒在墨木耳中的赋存形态及其分布

Fig.1 Distributed forms of selenium in main components of *Auricularia auricula*

2.2 富硒黑木耳中可溶性多糖的含硒量

从黑木耳中提取出水溶性多糖、碱溶性多糖和酸性多糖, 并分别测定各多糖组分含硒的质量分数, 来

研究硒在不同的黑木耳多糖中的分布情况,结果见表1所示。由表1可知,多糖硒占黑木耳总硒的22.64%,其中以酸溶性多糖硒质量分数较高,占总硒的12.65%,水溶性多糖硒和碱溶性多糖硒次之。

表1 硒在黑木耳可溶性多糖中的分布

Table 1 Distributed forms of selenium in soluble polysaccharides from *Auricularia auricula*

多糖的形态	不同多糖的质量 分数(mg/kg)	不同多糖中硒的 质量分数(mg/kg)	硒占总硒的比例(%)
水溶性多糖	18950	26.36	5.12
碱溶性多糖	15265	25.07	4.87
酸溶性多糖	17026	65.12	12.65

2.3 富硒黑木耳中可溶性蛋白质的含硒量

利用蛋白质在不同溶剂中的溶解性,将黑木耳可溶性蛋白质分成水溶蛋白、盐溶蛋白、弱酸溶和弱碱溶蛋白四组,并研究硒在各蛋白质组分中的分配情况,结果(表2)表明:黑木耳的四组蛋白质中都含有硒,其中硒的分布情况是:水溶性蛋白>弱碱溶性蛋白>盐溶性蛋白>弱酸溶性蛋白,水溶性蛋白质中硒的质量分数可高达79.07mg/kg,说明水溶性蛋白质中含有较多的微量元素硒。从表1还可看出:蛋白质硒占黑木耳总硒的52.03%,其中又以水溶蛋白和弱碱溶蛋白含量较高,分别占总硒的24.36%和11.58%。

表2 硒在黑木耳可溶性蛋白质中的分布

Table 2 Distributed forms of selenium in soluble proteins from *Auricularia auricula*

蛋白质的形态	不同蛋白质的 质量分数(mg/kg)	不同蛋白质中硒的 质量分数(mg/kg)	硒占总硒 的比例(%)
水溶性蛋白	13136	79.07	24.36
盐溶性蛋白	5048	35.32	8.86
弱酸溶性蛋白	2165	21.78	7.23
弱碱溶性蛋白	3638	44.17	11.58

2.4 黑木耳中粗纤维的质量分数

以黑木耳为载体,在菌蕾直径为5~10mm时,分别用含硒量为0、1、3、5、7和9μg/ml的亚硒酸钠溶液每天两次直接喷施到菇体和料面上,当子实体成熟后,及时采收,并依次标号为0~5号样品。粗纤维和粗灰分的测定采用0~5号样品为原料。

利用在硫酸作用下,样品中的糖、淀粉、果胶质和半纤维素经水解除去后,再用碱处理,除去蛋白质及脂肪酸,遗留的残渣为粗纤维。表3结果表明:6组样品中都含有粗纤维。0号样品为没有施硒肥的,其粗纤维质量分数为7.42%;当开始施硒肥时,其粗纤维质量分数也开始下降,且随着施硒肥量的增加,其粗纤维质量分数下降得越多。可见,黑木耳中粗纤维的质量分数与其富积硒的含量有一定的关系:随着子实体含

表3 黑木耳中粗纤维质量分数

Table 3 Mass fraction of coarse fiber in *Auricularia auricula*

样品号	试样重量(g)	处理前质量(g)	处理后质量(g)	粗纤维的质量分数
0	1.0244	36.2227	36.1568	0.06435932
0'	1.0294	34.3847	34.3231	0.05984068
1	1.0199	36.3609	36.3031	0.05663291
1'	1.0064	36.1342	36.0769	0.05696709
2	1.0036	38.0884	37.0439	0.04432369
2'	1.0072	38.5919	38.5465	0.04507631
3	1.0040	36.2552	36.2113	0.04375451
3'	1.0047	36.4051	36.3617	0.04324549
4	1.0058	40.3137	40.2709	0.04254645
4'	1.0028	36.1134	36.0712	0.04205355
5	1.0043	33.6418	33.6001	0.04149567
5'	1.0020	35.0884	35.0466	0.04170433

硒量的增加,黑木耳中粗纤维的质量分数呈现递减的趋势。

2.5 黑木耳中灰分元素

把黑木耳粉末在600℃下灰化,所得残渣即黑木耳中的灰分元素。表4结果表明:6个样品中都有灰分元素。随着施硒量的增加,粗灰分质量分数随着0号样品的粗灰分质量分数上下波动。可见,施硒肥量对粗灰分质量分数几乎没有多大影响。

表4 黑木耳中粗灰分平均质量分数

Table 4 Mass fraction of coarse ash in *Auricularia auricula*

样品号	坩锅重量(g)	试样重量(g)	灰化后坩锅重(g)	灰分重(g)	粗灰分的质量分数
0	33.7617	1.0053	33.801	0.0493	0.049092808
0'	35.1226	1.0006	35.1602	0.0476	0.047577454
1	35.6587	1.0022	35.7101	0.0514	0.051287168
1'	36.8788	1.003	36.9283	0.0495	0.049351944
2	35.3428	1.0028	35.3881	0.0453	0.045173514
2'	34.3544	1.0039	34.3987	0.0443	0.044127901
3	35.051	1.0023	35.0906	0.0396	0.039509129
3'	35.5995	1.004	35.6412	0.0417	0.041533865
4	39.212	1.005	39.2578	0.0458	0.045572139
4'	33.6835	1.0043	33.7321	0.0486	0.048391915
5	34.0788	0.5006	34.1029	0.0241	0.048142229
5'	36.428	0.5022	36.4545	0.0265	0.052767822

3 讨论

富硒黑木耳的主要含硒组分为有机态,其中以蛋白质为存在形态的含量最高,在非蛋白质或多糖中也有硒的分布。酸溶性多糖硒质量分数比水溶性多糖硒和碱溶性多糖硒要高,占总硒的12.65%。蛋白质的四个组分硒中以水溶性蛋白硒形式存在的硒最多。

富硒黑木耳中都有一定量的粗纤维和粗灰分。黑木耳中粗纤维的质量分数与其富积硒的含量有一定的规

律：随着子实体含硒量的增加，黑木耳中粗纤维的质量分数呈现递减的趋势，而施硒量对富硒黑木耳中粗灰分质量分数影响不大。可见，施硒量对黑木耳中粗纤维的质量分数呈正相关性，对黑木耳中粗灰分的质量分数基本上不产生影响。

黑木耳具有很强的富硒能力，以黑木耳为载体进行富硒栽培，可得到富硒木耳，且子实体在富硒的同时还收到了改善品质的效果。在适宜硒浓度范围内，无机硒进入菌丝体后可转化为有机硒，其中以蛋白硒为主；施硒改变了粗纤维的含量，从而改善了子实体的品质。富硒黑木耳中硒多糖、硒蛋白的开发，可成为新的一类补硒剂产品，具有进一步开发利用的价值和广阔的应用前景。

参考文献：

- [1] 徐辉碧. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉：华中理工大学出版社, 1994: 104-194.
- [2] 陈春英, 高秋华, 涂欢, 等. 箬叶硒多糖提取物液生物活性的初步研究[J]. 微量元素与健康研究, 1994(硒专刊): 33.
- [3] 李红卫. 黑木耳的营养[J]. 中国果蔬, 2004(2): 47.
- [4] 梁英, 杨宏志, 陈艳. 富硒香菇、木耳营养成分分析[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2000, 12(4): 66-69.
- [5] 张白岩, 张天扬, 梁英, 等. 富硒木耳栽培硒多糖提取及抗铅抗汞的研究[J]. 农业环境保护, 2002, 21(4): 309-313.
- [6] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997(5): 53-56.
- [7] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技巧[M]: 2版. 北京: 高等教育出版社, 1996: 138.