

黑木耳蛋白质中硒的分布规律研究

武 芸

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

摘 要: 采用补硒培养的富硒黑木耳, 经粉碎、脱脂, 提取可溶性蛋白质, 并通过分成 A、B、C、D、E 5 组进行分级盐析, 用石墨炉原子吸收光度法测定它们各组分中的含硒量。初步研究了黑木耳蛋白质中硒的分布规律。结果表明: 在各盐析组分中均有含硒蛋白质存在, 以 D 组硒含量最高, 其分布次序为 D>E>C>B>A。因此, 组分 D(70%~80% 硫酸铵饱和度) 是最适合开发成为补硒蛋白质食品或添加剂。

关键词: 黑木耳; 硒蛋白; 分布

中图分类号: S 646.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)11-0177-03

硒是人体必需的微量元素, 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], 中国约有 2/3 的地区属于国际公认的缺硒地区, 其中近 1/3 为严重缺硒地区, 我国食品营养学会已提出了成人补硒的标准(50~200 μg)。近年来, 随着人们营养保健意识的增强, 对黑木耳的研究也越来越深入。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, 有机硒是黑木耳中硒的主要赋存形态, 其中又以蛋白硒为主要存在形式, 因此, 研究黑木耳蛋白质中硒的分布规律, 可为富硒黑木耳中硒蛋白等产品的开发提供重要的理论依据。

1 材料与设备

1.1 试验材料

以黑木耳为载体, 采用低浓度 40~60 mg/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, 研究以此富硒黑木耳(子实体)为原料, 提取黑木耳硒蛋白。

1.2 样品预处理

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 2 h, 4℃ 5 000 r/min 离心 15 min 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。

作者简介: 武芸(1971-), 女, 湖北恩施人, 硕士, 现主要从事天然产物开发及食用菌富硒栽培等方面的相关工作。E-mail: wuyun2058@sohu.com。

基金项目: 国家民委科研资助项目(07HB03); 湖北民院青年基金资助项目(MYQ2006031)。

收稿日期: 2008-05-17

1.3 主要仪器与试剂

主要仪器: 样品粉碎机, 756MC-紫外分光光度计, RE-52 型旋转蒸发器, pH 计, HWS12 电热恒温水浴锅, DGX 型电热鼓风干燥箱, 磁力搅拌器, pH 计(PHS-3C), 电子天平, 冷冻干燥机, 低速大容量多管离心机, 双重蒸馏水器, 超纯水器, 微波消解系统(ETHOSPLUS, 意大利), 原子吸收分光光度计(PE-800, 美国)。

主要试剂: 无水乙醇、氯仿、异戊醇、丙酮、葡萄糖、葱酮、乙酸乙酯磷酸、硝酸、双氧水、浓硫酸、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-磷酸二氢钾等, 所有试剂均为分析纯, 所用水为双蒸水。

试剂: 硝酸(优级纯)、高氯酸(优级纯)、硒粉、亚硒酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、硫酸铵、碘酸钾、氨水、丙酮等均为分析纯, 样品处理及所有用水均为双蒸水。

主要仪器: MP-II 型溶出分析仪(山东电讯厂)、LXJ-II B 低速大容量多管离心机、FA 1004 型 1/10000 电子天平(上海天平仪器厂)、磁力搅拌器、CT-C-O 型热风循环烤箱、固体样品粉碎机(黄石)、40 目样品分离筛及玻璃器皿。

2 试验方法

2.1 可溶性蛋白质提取

准确称取富硒黑木耳脱脂干粉 5.00 g, 加 pH 8.6 的磷酸缓冲液 100 mL, 室温下搅拌提取 2 h, 4℃ 5 000 r/min 20 min 离心后取上清液。再在残渣中分别加入 50 mL 水搅拌重复提取 2 次, 合并 3 次所得提取液, 即得可溶性蛋白质溶液。

2.2 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 5 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,置于冰箱中静置过夜,5000 r/min 离心 20 min 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 100 mL,备用。

2.3 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[4]。

2.4 样品消化及硒含量的测定

分别取一定量的黑木耳脱脂干粉和组分蛋白质置于微波消解罐中,分别加入 7 mL 浓硝酸和 3 mL 浓双氧水,放入微波消解仪中,15 min 升温到 150 °C,10 min 升温到 205 °C,保温 40 min,待冷却后取出微波消解罐,将消化液转入到 100 mL 容量瓶中定容,石墨炉原子吸收光度法测定硒含量^[5]。

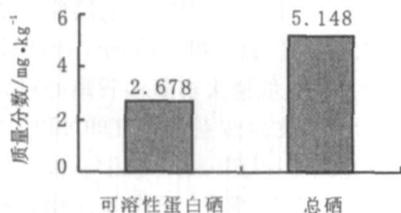


图1 硒的质量分数

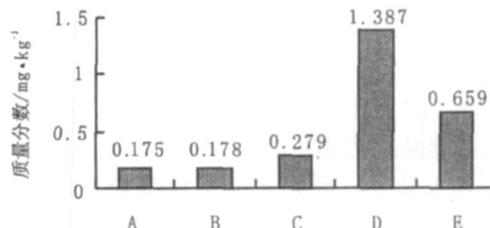


图2 盐析蛋白中硒的质量分数

3.2 黑木耳各盐析组分蛋白及其含硒比例

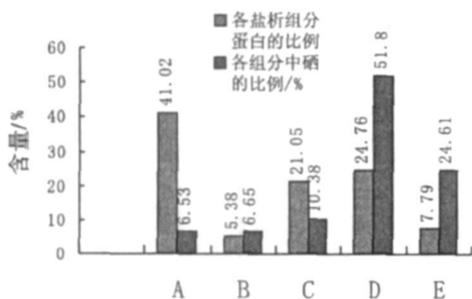


图3 黑木耳中各组盐析蛋白质及其含硒比例

图3显示,各盐析组分蛋白及其硒含量占总可溶性蛋白质的比例中,A组蛋白质含量占总可溶性蛋白质的比例最高(占41.02%),但硒含量较低(6.53%);而D组蛋白质含量占24.76%,在总可溶性蛋白质中所占比例不小,但含硒量较高(51.80%),显著高于其他组分,因此认为组分D在所有水溶性蛋白质的组分是一个最适合

3 结果分析

3.1 黑木耳可溶性蛋白质中硒含量及其分布

用石墨炉原子吸收光度法,分别对磷酸缓冲液提取的黑木耳可溶性蛋白质溶液和脱脂干粉进行硒含量测定,结果见图1。可溶性蛋白质含硒量为2.678 mg/kg,样品总硒的质量分数为5.148 mg/kg,其可溶性蛋白质的含硒量约占总含硒量的52.03%。可见,黑木耳中硒以硒蛋白为存在形式的占总硒一半以上。

为了获得高硒含量的蛋白质,采用分级盐析的方法,以20%为饱和梯度,把可溶性蛋白质分成A、B、C、D、E 5组进行分级沉淀后,检测分析各组盐析蛋白的含硒量(见图2)。由图2可知,以D组(70%~80%硫酸铵饱和度)蛋白质含硒量为最高(1.387 mg/kg),其次为E组(0.659 mg/kg),最少为A组(0.175 mg/kg),各组蛋白质的含硒量从高到低顺序为:D>E>C>B>A。

开发成为补硒蛋白质食品或添加剂,而组分B则是最值得进一步进行分离纯化高硒蛋白质的组分。

4 讨论

从黑木耳可溶性蛋白质盐析组分中硒含量及含硒比例分析,黑木耳中蛋白质硒是有机硒的主要存在形式,试验首次采用分级盐析的方法,把黑木耳蛋白质分组并检测各组的硒含量,以D组(70%~80%的硫酸铵盐析组)和E组硒含量较高,根据这一结论,可以为分离纯化得到含硒量高的蛋白质提供试验依据,为进一步开发利用黑木耳硒资源奠定了基础。

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] 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.
- [5] 王丽鑫, 胡晓荣, 李晖. 微波消解-石墨炉原子吸收法测定大鼠组织中的硒[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1447-1450.

双孢菇覆土应注意的几个问题

靳立荣

(青海省民和县官亭镇杏儿乡政府 青海 民和 810800)

摘要: 覆土是双孢菇栽培中的一项重要技术措施。其子实体必须在覆土之后才会发生,而且子实体是在覆土层中扭结长大的,不覆土就不能形成子实体。理想的覆土材料应是团粒结构好、孔隙多、保水力强、持水率高、酸碱度适中、病虫杂菌少的土壤。不同的覆土方法对产量和品质有着不同的影响,用泥炭土作覆土材料可比单纯用田园土或砻糠细土增产 20% 左右,而且提早出菇 3~4 d,出菇的密度也较大。

关键词: 双孢菇;覆土材料;覆土方法;产量

中图分类号: S 646.1⁺9 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2008)11-0179-02

近年来,青海省双孢菇种植依托农村丰富的作物秸秆、操作简便的温棚设施和不断成熟的技术,其栽培面积不断扩大,经济效益和社会效益不断突显,证明在农村发展双孢菇生产,无疑是一条非常好的增加农民收入的路子。但通过近年来的实践和对市郊区县生产户的调查发现双孢菇生产存在着产量不稳的问题,其原因除了菌种质量、温度、湿度、病虫防治等因素以外,覆土质量、覆土的方法也是影响出菇产量及商品性的主要因素之一。因此就双孢菇覆土的作用,覆土时应注意的方法提出几点建议,以供广大双孢菇种植户参考。

1 双孢菇覆土的作用

覆土是双孢菇栽培中的一项重要技术措施。其子实体必须在覆土之后才会发生,而且子实体是在覆土层

中扭结长大的,不覆土就不能形成子实体。双孢菇覆土的作用有以下几点。

覆土是使双孢菇由营养生长转入生殖生长的前提,尽管培养料菌丝长得非常好,如不覆上合适的泥土,子实体一般不会发生。而覆土后,双孢菇菌丝在营养较差的土层中由营养生长转向生殖生长。

覆土之后,土壤微生物的活动能刺激和诱导双孢菇子实体的形成。有人通过试验证实,将覆土材料进行高温消毒(80℃以上),则菌丝不能形成子实体。双孢菇的菌丝在新陈代谢过程中会产生乙稀、丙酮之类的挥发性物质,可激发土中微生物的活动,还可诱导子实体产生。土壤中微生物,如臭味假单孢杆菌及芽孢杆菌属中的一些种类对双孢菇子实体的形成有明显的刺激作用,可诱导菌丝生成更多的双孢菇。

覆土后,改变了培养料表面和土层中氧气、二氧化碳的比例。由于菌丝代谢过程中所产生的二氧化碳及土壤微生物的活动,使二氧化碳浓度增加,菌丝在高浓

作者简介: 靳立荣(1982-),女,本科,助理工程师,现从事农业技术推广工作。E-mail: 670272061@qq.com。
收稿日期: 2008-06-23

Study on the Selenium Rule in the Soluble Proteins of *Auricularia auricula* from the High-Se Cultivation

WU Yun

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

Abstract: This article primarily studied the distribution rule of selenium in the soluble proteins of *Auricularia auricula* from the high-Se cultivation. The soluble proteins abstracted from *Auricularia auricula* through adding selenium cultivation were classed to five groups of A, B, C, D, and E through grading salting out, and used atomic absorption spectrometer to determine the selenium content of all component parts. Results showed there were Se-protein in every group protein by salted out. The content of selenium was the highest in D, the quality fraction of the selenium was D > E > C > B > A. The group of D (The degree of saturation of ammonium sulfate was 70%~80%) was the fittest one for food additive.

Key words: *Auricularia auricula*; Selenium soluble protein; Distributed rule