

灰褐牛肝菌 (*Boletus griseus*) 子实体的营养评价及蛋白质组分分析

鲍长俊, 常惟丹, 庄永亮, 孙丽平*

(昆明理工大学云南省食品安全研究院, 云南 昆明 650500)

摘要: 测定灰褐牛肝菌子实体的基本成分、单糖、脂肪酸和氨基酸组成, 矿物质含量及其蛋白质连续累进组分的含量, 并对其蛋白质的营养价值进行系统评价。结果表明: 灰褐牛肝菌子实体中粗蛋白质量分数为28.22%; 葡萄糖含量最高, 为258.04 mg/g; 17种脂肪酸被检出, 亚油酸、油酸和棕榈酸分别占脂肪酸总量的35.91%、28.46%和24.50%; 游离氨基酸共检出29种, 其中Tyr和Ala含量较高, 甜味氨基酸和鲜味氨基酸分别占游离氨基酸总量的23.37%和12.69%; 水解氨基酸中必需氨基酸含量较高, 占氨基酸总量的38%, 其氨基酸评分、必需氨基酸指数、生物价、营养指数和氨基酸比值系数分别为71.88、69.93、64.52、19.73和50.05。灰褐牛肝菌富含Mg、Fe、Zn、Cu, 同时有毒元素Cd含量相对较高。蛋白质连续累进组分中清蛋白含量最高, 占总蛋白的65.62%, 但其Cd含量较高, 占总Cd量的38.79%。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析表明清蛋白和球蛋白的分子量分布主要在40 kD, 差异热量扫描分析表明其热变性温度分别为125.04 °C和75.04 °C。结果表明, 灰褐牛肝菌子实体的营养价值较高, 但是由于Cd元素含量较高, 可能存在一定的健康风险。

关键词: 灰褐牛肝菌; 氨基酸组成; 营养价值评价; 镉元素; 热变性温度

Nutritional Characteristics and Protein Composition of Fruiting Bodies of *Boletus griseus*

BAO Changjun, CHANG Weidan, ZHUANG Yongliang, SUN Liping*

(Yunnan Institute of Food Safety, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: The proximate composition, monosaccharide composition, fatty acid and amino acid compositions, and mineral contents of the fruiting bodies of *Boletus griseus* were detected and the protein composition of the mushroom was evaluated by successive extraction. Besides, the nutritional value of proteins of the mushroom was also assessed systematically. Results showed that the crude protein content in the mushroom was 28.22% and the glucose content was 258.04 mg/g. A total of 17 fatty acids were detected, with linoleic acid, oleic acid and palmitic acid accounting for 35.91%, 28.46% and 24.50% of the total fatty acids, respectively. A total of 29 free amino acids were detected, among which, Tyr and Ala showed the highest contents. Sweet amino acids and umami amino acids accounted for 23.37% and 12.69% of the total free amino acids, respectively. The amino acid score (AAS), essential amino acid index (EAAI), biological value (BV), nutritional index (NI) and score of ratio coefficient of amino acid (SRCAA) of essential amino acids in the protein hydrolysate of *Boletus griseus*, which accounted for 38% of the total amino acids, were 71.88, 69.93, 64.52, 19.73 and 50.05, respectively. *B. griseus* contained high levels of Mg, Fe, Zn, and Cu. Meanwhile, the toxic element Cd was also at a relatively high level. Furthermore, albumin was the most prominent protein in the mushroom, accounting for 65.62% of the crude protein, but the content of Cd in albumin accounted for 38.79% of total Cd. The molecular masses (m_w) of albumin and globulin in *Boletus griseus* were identified by SDS-PAGE to be around 40 kD. Differential scanning calorimetry (DSC) results showed the thermal denaturation temperatures of the two proteins were 125.04 and 75.04 °C, respectively. In conclusion, the results indicated that *B. griseus* showed high nutritional quality, but its consumption could pose considerable health risk due to the high content of Cd.

Key words: *Boletus griseus*; amino acid composition; nutritional value assessment; Cd; thermal denaturation temperature

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720012

中图分类号: S646.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 20-0083-07

收稿日期: 2016-12-08

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (21267013)

作者简介: 鲍长俊 (1990—), 男, 硕士, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: 809353681@qq.com

*通信作者: 孙丽平 (1981—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品质量与安全控制。E-mail: kmlpsun@163.com

引文格式:

鲍长俊, 常惟丹, 庄永亮, 等. 灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)子实体的营养评价及蛋白质组分分析[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 83-89. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720012. <http://www.spkx.net.cn>

BAO Changjun, CHANG Weidan, ZHUANG Yongliang, et al. Nutritional characteristics and protein composition of fruiting bodies of *Boletus griseus*[J]. Food Science, 2017, 38(20): 83-89. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720012. <http://www.spkx.net.cn>

牛肝菌是真菌系担子菌亚门层菌纲牛肝菌目中的重要类群, 因其肉质肥厚, 极似牛肝而得名。可食牛肝菌是一类重要的野生食用菌资源, 味道鲜美、食药价值高, 同时其产量高、种类多、子实体质地坚实、耐储运、易加工, 具有很高的经济价值。灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)属于担子菌亚门(Basidiomycotina)、层菌纲(Hymenomycetes)、伞菌目(Agaricales)、牛肝菌科(Boletaceae)、牛肝菌属(*Boletus*), 因其味微酸, 有地方称其为“酸牛肝”, 在我国主要分布在广西、四川、云南等地^[1]。灰褐牛肝菌的生长期长、产量大、价格相对较便宜, 是当地人喜爱的野生食用牛肝菌之一。

对野生食用菌的安全、营养和功能性进行分析和评价是食品科学的一个研究热点。这主要是食用菌特别是野生食用菌对典型有害元素如Cd、Pb、Hg、As等^[2-3]具有富集甚至超富集作用; 野生食用菌品种繁多, 菌体富含真菌多酚、真菌多糖(含膳食纤维)、非蛋白氨基酸、生物碱、色素等生物活性物质, 可进行生物活性物质的广泛筛查; 一旦筛选到高活性目标物质, 可进行菌种纯化, 可控化菌丝发酵, 低成本、低环境污染获得大批量的原料物质。为支持云南野生食用牛肝菌产业的健康发展, 本课题组在野生食用牛肝菌重金属安全性、营养和功能价值分析等方面展开研究。主要对灰褐牛肝菌的营养和安全性进行了探讨, 通过对基本组成成分的分析, 测定其单糖、脂肪酸、氨基酸的组成, 矿物质成分及其蛋白质的组成, 并对其蛋白质营养价值进行评价, 以期对灰褐牛肝菌的综合利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜灰褐牛肝菌采集自云南省昆明市木水花野生菌交易市场, 根据食用菌图鉴进行鉴定, 剔除幼小的菌蕾和损伤腐烂的子实体。削除样品表面不可食部分, 先后用流动水和超纯水清洗, 切片冷冻干燥, 研磨粉碎, 过40目筛, 储存于棕色干燥器中备用。

1-苯基-3-甲基-5-吡唑酮(3-methyl-1-phenyl-5-pyrazolone, PMP, 色谱纯), D-(+)-葡萄糖、D-(+)-半乳糖、L-鼠李糖、L-(+)-阿拉伯糖、

D-(+)-半乳糖醛酸、D-木糖、L-岩藻糖、D-甘露糖单糖标准品 美国Sigma公司; 三氟乙酸、乙腈(均为色谱纯) 美国Merck公司。

1.2 仪器与设备

LGJ-12真空冷冻干燥机 北京松源华兴科技发展有限公司; TDL-40B型离心机 上海安亭科学仪器有限公司; TU-1901紫外-可见光光度计、PF51原子荧光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; 1260高效液相色谱仪 美国Agilent公司; QP2010 Ultra气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司; NOVA400P原子吸收光谱仪 德国耶拿公司; L-8900氨基酸分析仪 日本日立公司; DYCZ-25E型电泳仪 北京六一生物科技有限公司; DSC 214 Polyma型差示扫描量热仪 德国耐驰公司。

1.3 方法

1.3.1 基本成分测定

水分含量测定: 参考GB 5009.3—2010《食品中水分的测定》第一法, 结果以鲜质量计; 粗灰分含量测定: 参考GB 5009.4—2010《食品中灰分的测定》; 粗蛋白含量测定: 参考GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》; 粗脂肪含量测定: 参考GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》; 粗灰分、粗蛋白和粗脂肪含量均以干质量计; 多酚含量测定采用福林-酚法^[4], 结果以mg/g干质量计; 碳水化合物含量按下式计算:

碳水化合物含量=1-(粗蛋白+粗脂肪+粗灰分)

1.3.2 单糖组成测定

采用PMP柱前衍生-高效液相色谱法测定单糖组成^[5]。准确称取0.1 g样品于10 mL硬质玻璃水解管中, 加入2 mL 3 mol/L三氟乙酸溶液, 置于110 °C烘箱水解4 h。水解结束后调节pH 7.0, 定容后5 000 r/min离心10 min; 取上清液1 mL加入1 mL 0.5 mol/L的PMP溶液和1 mL 0.3 mol/L的NaOH溶液, 混匀后70 °C衍生30 min; 加入1 mL的0.3 mol/L的盐酸溶液进行中和; 将混合物用10 mL的氯仿萃取3次以去除剩余的PMP, 取上层水相进行高效液相色谱分析。

检测条件: 检测波长250 nm; 柱温为室温; 流速1.0 mL/min; 流动相A为15%乙腈+85% 0.05 mol/L磷酸缓冲液(KH₂PO₄-NaOH, pH 6.9); 流动相B为40%

乙腈+60% 0.05 mol/L磷酸缓冲液 ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$, pH 6.9); 梯度洗脱, 0~30 min为0%~40% B, 并保持40%溶剂B 10 min; 进样体积20 μL 。每种单糖的含量以mg/g干质量计。

1.3.3 脂肪酸组成测定

索氏抽提法提取脂肪, 并采用酸催化酯化: 在提取得到的脂肪中加入10 mL甲醇-浓硫酸溶液 (20:1, V/V), 2 mL正己烷, 于90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内酯化30 min。冷却后用正己烷萃取, 取上层溶液用无水硫酸钠干燥, 取上清液过膜, 采用气相色谱-质谱分析^[6]。

1.3.4 氨基酸组成分析

1.3.4.1 游离氨基酸组成测定

准确称取0.1 g样品于15 mL离心管中, 加入10 mL 5%三氯乙酸溶液, 摇匀后室温静置1 h, 10 000 r/min离心10 min, 取上清液过膜后, 采用日立L-8900氨基酸分析仪的生理体液分析系统测定其游离氨基酸组成, 结果以mg/g干质量计。

1.3.4.2 水解氨基酸组成测定

准确称取0.1 g样品于15 mL硬质玻璃水解管中, 加入6 mL 6 mol/L盐酸溶液, 置于110 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱水解22 h。水解结束待完全冷却后转移到50 mL离心管中, 调节pH值在2~2.5之间, 定容至25 mL, 取4 mL水解液10 000 r/min离心10 min, 取上清液过膜后, 采用日立L-8900氨基酸分析仪的水解蛋白分析系统测定其水解氨基酸组成, 结果以mg/g干质量计。

1.3.4.3 色氨酸含量的测定

参考GB/T 15400—1994《饲料中色氨酸测定方法 分光光度法》, 准确称取0.1 g样品于15 mL硬质玻璃水解管中, 加入10 mL 5 mol/L氢氧化钠溶液 (含5%氯化亚锡), 置于110 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱水解20 h。水解结束待完全冷却后转移到50 mL离心管中, 调节pH值至7.0, 定容至50 mL, 5 000 r/min离心10 min, 上清液用对二甲氨基苯甲醛法于波长590 nm处比色测定其色氨酸含量, 结果以mg/g干质量计。

1.3.5 蛋白质营养价值评价

氨基酸评分 (amino acid score, AAS)、必需氨基酸指数 (essential amino acid index, EAAI)、生物价 (biological value, BV)、营养指数 (nutritional index, NI)、氨基酸比值系数分 (score of ratio coefficient of amino acid, SRCAA) 分别按照文献[7-9]的方法进行测定和评分。

1.3.6 矿质元素含量测定

准确称取0.2 g样品于50 mL三角瓶中, 加入10 mL混酸 (V (高氯酸): V (硝酸)=1:4), 封口浸泡过夜, 之后加盖小漏斗于电热板上消解至冒白烟, 待消化液至透明或略带浅黄色, 余液约2~3 mL后加入10 mL去离

子水于电热板上继续加热赶酸至1~2 mL液体, 定容至250 mL塑料容量瓶中待测。用原子荧光光谱仪分析Hg、As含量, 原子吸收光谱仪测定Pb、Cd、Mg、Fe、Zn和Cu含量, 结果均以mg/kg干质量计。

1.3.7 蛋白质组分分析

蛋白质组分的连续累进提取分离^[10]: 准确称取2 g样品, 加入20 mL提取溶剂, 混合后磁力搅拌, 每种组分的提取溶剂、提取次数、提取时间见表1。清蛋白和球蛋白在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行, 其余在室温条件下提取。提取后的混合物5 000 r/min离心15 min, 收集上清液, 采用凯氏定氮法测定其蛋白质的含量。

表1 蛋白质组分的连续累进提取分离方法

Table 1 Extraction of protein fractions with the successive extraction methods

组分	提取溶剂	提取次数	提取时间/min
清蛋白	水	2	60、30
球蛋白	0.5 mol/L氯化钠溶液	2	60、30
醇溶蛋白	55%异丙醇溶液	3	60、30、15
类醇溶蛋白	55%异丙醇溶液和0.6% 2-巯基乙醇溶液	2	30、30
类谷蛋白	pH 10硼酸盐缓冲液和0.6% 2-巯基乙醇溶液和0.5 mol/L氯化钠溶液	3	60、30、15
谷蛋白	pH 10硼酸盐缓冲液和0.6% 2-巯基乙醇溶液和0.5%十二烷基硫酸钠溶液	3	60、30、15

1.3.8 清蛋白和球蛋白分子质量测定

收集1.3.7节中提取的清蛋白和球蛋白, 纯化后冷冻干燥, 采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacryl amide gel electrophoresis, SDS-PAGE)^[11], 10%分离胶、5%浓缩胶, 考马斯亮蓝R-250染色, 10%醋酸-20%甲醇洗脱液脱色, 直至蛋白条带清晰。

1.3.9 清蛋白和球蛋白热变性温度测定

收集1.3.7节中提取的清蛋白和球蛋白, 纯化后冷冻干燥, 称取一定量的样品于差示扫描量热仪坩埚中, 坩埚加盖密封后, 以空坩埚作为参比, 从0 $^{\circ}\text{C}$ 加热至250 $^{\circ}\text{C}$ 。升温速率为10 K/min, 样品室的氮气流量为20 mL/min。

1.4 数据统计

每个实验均重复3次, 测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 灰褐牛肝菌的基本组成成分

表2 灰褐牛肝菌的基本组成成分

Table 2 Proximate composition of *B. griseus*

基本组成	水分 质量分数/%	粗蛋白 质量分数/%	粗脂肪 质量分数/%	粗灰分 质量分数/%	碳水化合物 质量分数/%	多酚含量/ (mg/g)
灰褐牛肝菌	88.12 $\pm$ 0.14	28.22 $\pm$ 0.41	2.44 $\pm$ 0.17	7.60 $\pm$ 0.14	61.74 $\pm$ 0.24	7.74 $\pm$ 0.31

由表2可知,新鲜灰褐牛肝菌子实体的水分质量分数为88.12%,与其他食用牛肝菌的水分含量相当^[12-13]。蛋白质是食用菌的主要营养成分之一,灰褐牛肝菌的粗蛋白质量分数为28.22%,高于常见栽培食用菌中的平菇、金针菇以及野生菌中美味牛肝菌、铜色牛肝菌和网柄牛肝菌等^[14];粗脂肪质量分数为2.44%,略低于李兴奎等^[15]的研究结果;粗灰分质量分数为7.60%,与常见食用菌一致。此外,灰褐牛肝菌子实体中碳水化合物质量分数和多酚含量分别为61.74%和7.74 mg/g。总体上,灰褐牛肝菌具有高蛋白、低脂肪的特点。

2.2 灰褐牛肝菌的单糖组成分析

表3 灰褐牛肝菌中的单糖组成
Table 3 Monosaccharide composition of *B. griseus*

单糖	甘露糖	鼠李糖	半乳糖醛酸	葡萄糖	半乳糖	木糖	岩藻糖	阿拉伯糖
含量/(mg/g)	48.33	5.69	28.98	258.04	9.19	2.56	5.93	ND

注:ND.未检出。

如表3所示,检出7种单糖组分,其中葡萄糖含量最高,为258.04 mg/g,其次是甘露糖,为48.33 mg/g,木糖含量较低,阿拉伯糖未检出。此外,灰褐牛肝菌中半乳糖醛酸含量较高,为28.98 mg/g。

2.3 灰褐牛肝菌的脂肪酸组成分析

表4 灰褐牛肝菌中的脂肪酸组成(占脂肪酸总量)
Table 4 Fatty acid composition of *B. griseus* (relative to total fatty acids)

脂肪酸种类	相对含量/%	脂肪酸种类	相对含量/%
九烷酸C _{9:0}	0.01	亚油酸C _{18:2}	35.91
十二烷酸C _{12:0}	0.02	花生酸C _{20:0}	0.41
豆蔻酸C _{14:0}	0.41	花生二烯酸C _{20:2}	0.21
十五烷酸C _{15:0}	0.66	花生三烯酸C _{20:3}	0.15
棕榈酸C _{16:0}	24.50	二十一烷酸C _{21:0}	0.06
棕榈油酸C _{16:1}	2.88	山嵛酸C _{22:0}	0.86
棕榈二烯酸C _{16:2}	0.48	木焦油酸C _{24:0}	1.09
十七烷酸C _{17:0}	0.20	饱和脂肪酸	31.91
硬脂酸C _{18:0}	3.70	多不饱和脂肪酸	36.95
油酸C _{18:1}	28.46	单不饱和脂肪酸	31.34

研究显示,亚油酸、油酸和棕榈酸是野生菌中最主要的脂肪酸组成^[6,16-17]。由表4可知,灰褐牛肝菌中共检出17种脂肪酸,亚油酸、油酸和棕榈酸相对含量较高,分别为脂肪酸总量的35.91%、28.46%和24.50%。亚油酸是灰褐牛肝菌中含量最高的脂肪酸,且亚油酸是有助于野生菌产生风味的前体物质^[17]。此外,灰褐牛肝菌中含有较高的多不饱和脂肪酸,这与Kalač^[16]的研究结果一致。

2.4 灰褐牛肝菌的氨基酸组成分析

游离氨基酸是野生食用菌中重要的非挥发性滋味物质。由表5可知,灰褐牛肝菌的游离氨基酸种类比较丰富,共检出29种,总量为36.16 mg/g,其中酪氨酸(Tyr)含量最高,为7.90 mg/g,其次是丙氨酸(Ala),为4.60 mg/g。甜味氨基酸(Thr、Ser、Gly和

Ala)和鲜味氨基酸(Asp和Glu)分别占游离氨基酸总量的23.37%和12.69%。灰褐牛肝菌的游离氨基酸总量高于已报道的野生菌美味牛肝菌、褐环乳牛肝菌和点柄粘盖牛肝菌^[18],但低于食药菌姬松茸^[19]。此外,灰褐牛肝菌还含有对婴幼儿智力发育有利的牛磺酸和解毒护肝的鸟氨酸。

表5 灰褐牛肝菌的游离氨基酸组成
Table 5 Free amino acid composition of *B. griseus*

氨基酸	含量/(mg/g)	氨基酸	含量/(mg/g)	氨基酸	含量/(mg/g)
Asp	1.82	Leu	0.61	P-Ser	0.51
Thr	1.12	Tyr	7.90	PEA	0.37
Ser	1.86	Phe	0.17	a-AAA	1.84
Glu	2.77	Lys	0.92	a-ABA	0.27
Gly	0.87	His	0.65	b-Ala	0.38
Ala	4.60	Arg	2.26	b-AiAB	0.17
Cys	0.20	Pro	1.06	g-ABA	1.40
Val	1.15	Orn	0.54	EOH ₂ NH	0.72
Met	0.36	Taurine	0.37	Hylys	0.13
Ile	0.70	Cy ₂ H ₃	0.44		

表6 灰褐牛肝菌的水解氨基酸组成
Table 6 Hydrolytic amino acid composition of *B. griseus*

氨基酸种类	含量/(mg/g)	氨基酸种类	含量/(mg/g)
Asp	22.01	Tyr	6.43
Thr	11.98	Phe	7.87
Ser	12.15	Lys	12.68
Glu	30.79	His	5.67
Gly	11.12	Arg	14.26
Ala	17.64	Pro	12.64
Cys	2.45	Trp	6.93
Val	12.03	氨基酸总量	219.15
Met	9.31	必需氨基酸	83.99
Ile	8.99	必需氨基酸/氨基酸总量	0.38
Leu	14.20		

本实验进一步对灰褐牛肝菌中18种水解氨基酸含量进行测定。由表6可知,灰褐牛肝菌水解氨基酸总量为219.15 mg/g,其中谷氨酸(Glu)含量最高,为30.79 mg/g,占总氨基酸含量的14.05%,与文献^[15]报道相似。氨基酸的营养价值主要由必需氨基酸的种类、数量和组成比例决定,灰褐牛肝菌中必需氨基酸与氨基酸总量的比值为0.38,高于孙灿等^[20]报道的0.30,比较接近理想蛋白质的要求。

2.5 灰褐牛肝菌的蛋白质营养价值评价分析

根据灰褐牛肝菌的氨基酸组成,进一步对蛋白质的质量进行分析。如表7所示,灰褐牛肝菌子实体蛋白质的AAS为71.88,高于常见食用菌姬松茸、香菇和黑木耳^[21]。由AAS可知灰褐牛肝菌的第1限制性氨基酸为亮氨酸。此外,灰褐牛肝菌中含硫氨基酸评分较高,不同于以前的报道含硫氨基酸为菌类第1限制性氨基酸^[21]。

表7 灰褐牛肝菌子实体蛋白质质量分析
Table 7 Quality scores of protein in *B. griseus*

蛋白质质量评价	评分
Thr	106.13
Cys+Met	119.06
Val	85.26
Ile	79.64
Leu	71.88
Phe+Tyr	84.46
Lys	81.70
Trp	245.57
AAS	71.88
EAAI	69.93
BV	64.52
NI	19.73
SRCAA	50.05

EAAI用于评价食物蛋白质的质量,数值越接近100,说明食物蛋白与标准蛋白组成越接近,营养价值越高。灰褐牛肝菌子实体蛋白质的EAAI为69.93,高于已报道的鸡腿菇、姬松茸和美味牛肝菌等^[21-22]。BV表示蛋白消化吸收后的利用程度,数值越高表明吸收消化后利用程度越高,灰褐牛肝菌的BV为64.52,均高于美味牛肝菌^[22]和其他一些常见的野生菌^[23]。NI综合考虑了食品中蛋白质的百分含量和必需氨基酸组成2个因素,NI超过10说明蛋白营养价值较好,灰褐牛肝菌的NI为19.73,高于滑菇^[24]、美味牛肝菌^[22]以及一些常见食用菌^[21]。SRCAA表示蛋白质的氨基酸组成的均衡性,SRCAA越接近100,其蛋白质氨基酸组成与推荐模式氨基酸组成越一致,对氨基酸平衡所做的贡献就越大。灰褐牛肝菌的SRCAA为50.05,高于常见的野生菌^[23]。

2.6 灰褐牛肝菌的矿质元素含量分析

表8 灰褐牛肝菌的矿质元素含量分析
Table 8 Mineral elements and their contents in *B. griseus*

矿质元素	含量/(mg/kg)
Mg	983.82±26.79
Cu	31.85±0.97
Fe	188.89±9.36
Zn	123.42±2.81
Cd	13.22±0.54
Pb	0.65±0.14
Hg	0.10±0.07
As	0.40±0.07

野生菌子实体能够累积大量的常量和微量元素,同时也能富集一些有毒的元素,如As、Hg、Cd和Pb^[25]。由表8可知,Mg是灰褐牛肝菌中含量最高的元素,含量为983.82 mg/kg,高于以前的报道^[15],其次是Fe、Zn和Cu,与Liu Yuntao等^[26]对中国西南5种牛肝菌矿质元素的研究结果相一致。Mg、Fe、Zn和Cu是人体必需的常量和微量元素,因此,灰褐牛肝菌可以作为补充这些必需元素的良好食物来源。不过,灰褐牛肝菌含有典型有毒元素As、Hg、Cd和Pb,其中As、Hg和Pb的含量低于国

家限量标准,但是Cd含量相对较高,远超过国家限量标准,表明灰褐牛肝菌对Cd具有明显的富集作用,具有潜在的健康风险,需要引起重视。

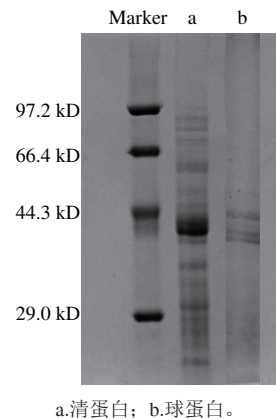
2.7 灰褐牛肝菌蛋白质组分分析

表9 灰褐牛肝菌子实体蛋白质组分
Table 9 Protein fractions and their contents in *B. griseus*

组分	清蛋白	球蛋白	醇溶蛋白	类醇溶蛋白	类谷蛋白	谷蛋白
蛋白质量分数	65.62±3.57	16.00±0.19	3.97±0.18	0.56±0.10	2.06±0.16	9.10±0.15
Cd质量分数	38.79±1.27	30.87±2.14	8.30±0.89	8.47±0.93	11.02±1.01	2.04±0.08

采用连续累进提取法测定了灰褐牛肝菌蛋白的组成,如表9所示,其中清蛋白质量分数最高,为65.62%,其次是球蛋白(16.00%)和谷蛋白(9.10%),其他的蛋白组分均低于5%。清蛋白是必需氨基酸的重要来源,容易被人体消化吸收,其含量高低对蛋白质的品质具有重要的影响。灰褐牛肝菌子实体中清蛋白含量显著高于Petrovsk等^[27]测定的几种牛肝菌,且与人血清蛋白中清蛋白含量相当,表明灰褐牛肝菌子实体蛋白质品质较高。考虑到灰褐牛肝菌中Cd含量较高,对不同组分的Cd含量进行了测定,清蛋白和球蛋白中Cd质量分数较高,分别为38.79%和30.87%,说明灰褐牛肝菌中的Cd主要存在于可溶性物质中,需要进一步提高其健康风险评估。

2.8 清蛋白和球蛋白分子质量分析



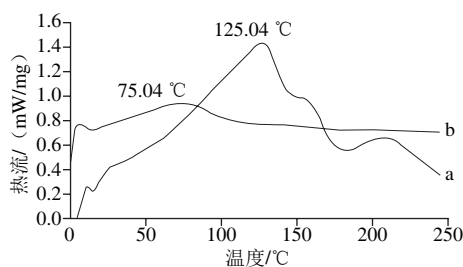
a.清蛋白; b.球蛋白。

图1 蛋白组分的SDS-PAGE图谱

Fig. 1 SDS-PAGE pattern of protein fractions

采用SDS-PAGE测定清蛋白和球蛋白的分子质量分布,如图1所示。清蛋白组分复杂,在80、60、40 kD和30 kD附近有明显条带,其中40 kD条带最清晰;球蛋白在40 kD附近有3个条带。由表9可知,清蛋白和球蛋白的Cd含量较高。研究表明,蛋白质对于Cd的吸附有重要的贡献。Meisch等^[28]从大孢蘑菇中提取出一种Cd结合蛋白,分子质量约12 kD,陈露等^[29]从大米中提取了分子质量为14 kD的Cd结合蛋白。因此,灰褐牛肝菌的清蛋白和球蛋白的部分组分可能会有较高的Cd吸附能力,需要进一步研究。

2.9 热变性温度分析



a.清蛋白; b.球蛋白。

图2 蛋白组分的差示扫描量热图

Fig. 2 DSC curves of protein fractions

热变性温度是评价蛋白质加工性的一个主要因素,随着温度的升高,蛋白质变性,其三、四级结构发生变化,导致产品的功能特性显著降低甚至丧失,差示扫描量热仪扫描可以评价蛋白质的热变性温度。如图2所示,灰褐牛肝菌蛋白组分中清蛋白的变性温度为125.04 °C,球蛋白为75.04 °C。清蛋白的变性温度显著高于球蛋白,结果与蔡联辉等^[30]研究的莲子蛋白一致。清蛋白的变性温度高可能与其蛋白质组成的复杂性及含有的色素和多酚有关。吕晓亚等^[31]研究发现辣木叶水溶性蛋白的变性温度为113.7 °C,略低于本实验研究结果,表明灰褐牛肝菌子实体的蛋白具有较好的热稳定性。

3 结论

灰褐牛肝菌子实体中蛋白质质量分数较高,为干质量的28.22%,高于常见的食用菌。在17种脂肪酸中,亚油酸、油酸和棕榈酸相对含量分别为35.91%、28.46%和24.50%。子实体中游离氨基酸和水解氨基酸种类较为丰富,必需氨基酸/氨基酸总量为0.38,接近理想蛋白质的要求。蛋白质的AAS为71.88,第1限制性氨基酸为亮氨酸,其EAAI、BV、NI和SRCAA分别为69.93、64.52、19.73和50.05。子实体富含矿质元素Mg、Fe、Zn、Cu,但有毒元素Cd含量相对较高,表明灰褐牛肝菌可能具有潜在的食用健康风险。灰褐牛肝菌子实体中清蛋白质量分数最高,占粗蛋白的65.62%,明显高于常见的食用菌,但Cd质量分数较高,占总Cd量的38.79%。清蛋白组分复杂,在80、60、40 kD和30 kD附近有明显条带,其中40 kD条带最清晰,球蛋白在40 kD附近有3个条带。热变性温度显示灰褐牛肝菌子实体的蛋白具有较好的热稳定性。综上,灰褐牛肝菌具有较高的营养价值,但是由于有毒元素Cd含量较高存在一定的食用健康风险,需要引起重视。

参考文献:

- [1] 卯晓岚. 中国蕈菌[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [2] FALANDYSZ J, BORVIČKA J. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms-health benefits and risks[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 97(2): 477-501. DOI:10.1007/s00253-012-4552-8.
- [3] OKORO I O. Proximate and mineral analysis of some wild edible mushrooms[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(30): 7720-7724. DOI:10.5897/AJB11.590.
- [4] 唐远龙, 杨成涛, 庄永亮, 等. 云南主产区夏黑果皮营养成分及抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(6): 147-150. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2016.06.021.
- [5] 杨兴斌, 赵燕, 周四元, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法分析当归多糖的单糖组成[J]. *分析化学*, 2005, 33(9): 1287-1290. DOI:10.3321/j.issn:0253-3820.2005.09.022.
- [6] PEDNEAULT K, ANGERS P, GOSSELIN A, et al. Fatty acid composition of lipids from mushrooms belonging to the family *Boletaceae*[J]. *Mycological Research*, 2006, 110(10): 1179-1183. DOI:10.1016/j.mycres.2006.05.006.
- [7] BANO Z, RAJARATHRAM S. *Pleurotus mushroom as a nutrition food*[M]//Tropical mushroom: biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982: 363-380.
- [8] FAO. No. 24 Amino acid content of foods and biological data on proteins[S].
- [9] 王芳, 乔璐, 张庆庆, 等. 桑叶蛋白氨基酸组成分析及营养价值评价[J]. *食品科学*, 2015, 36(1): 225-228. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201501043.
- [10] PETROVSKA B B. Protein fraction in edible Macedonian mushrooms[J]. *European Food Research and Technology*, 2001, 212: 469-472. DOI:10.1007/s002170000285.
- [11] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 72-85.
- [12] 周玲仙, 殷建忠. 云南野生食用牛肝菌营养成分分析及评价[J]. *食用菌*, 2008, 30(4): 61-62. DOI:10.3969/j.issn.1000-8357.2008.04.044.
- [13] 朱萍, 郭永红, 丁晓雯. 四种鲜牛肝菌成分分析[J]. *中国食用菌*, 2006, 25(4): 44-46. DOI:10.3969/j.issn.1003-8310.2006.04.014.
- [14] SANDRINA A H, LILLIAN B, MARIA J S, et al. Targeted metabolites analysis in wild *Boletus* species[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44(6): 1343-1348. DOI:10.1016/j.lwt.2011.01.017.
- [15] 李兴奎, 王元忠. 灰褐牛肝菌子实体营养成分分析[J]. *中国食用菌*, 2007, 26(1): 55-56. DOI:10.3969/j.issn.1003-8310.2007.01.01.
- [16] KALAČ P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review[J]. *Food Chemistry*, 113(1): 9-16. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.07.077.
- [17] RIBERO B, PINHO P G D, ANDRADE P B, et al. Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: a comparative study[J]. *Microchemical Journal*, 2009, 93(1): 29-35. DOI:10.1016/j.microc.2009.04.005.
- [18] RIBERIRO B, ANDRADE P B, SILVA B M, et al. Comparative study on free amino acid composition of wild edible mushroom species[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(22): 10973-10979. DOI:10.1021/jf802076p.
- [19] KIM M Y, CHUNG L M, LEE S J, et al. Comparison of free amino acid, carbohydrates concentrations in Korean edible and medicinal mushrooms[J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(3): 386-393. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.07.045.
- [20] 孙灿, 林佑, 万玉萍, 等. 云南省常见野生食用菌的氨基酸含量[J]. *植物分类与资源学报*, 2012, 34(1): 89-92. DOI:10.3724/SP.J.1143.2012.11102.

- [21] 姜萍萍, 韩烨, 顾赛红, 等. 五种食用菌氨基酸含量的测定及营养评价[J]. 氨基酸和生物资源, 2009, 31(2): 67-71. DOI:10.3969/j.issn.1006-8376.2009.02.018.
- [22] 江洁, 李学伟, 金怀刚. 美味牛肝菌菌丝体与子实体蛋白质营养价值的评价[J]. 食品科学, 2013, 34(3): 253-256.
- [23] 罗正明, 刘秀丽, 贾艳青, 等. 四种五台山野生食用菌蛋白质营养价值评价[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 249-254. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.02.067.
- [24] 江洁, 李文静. 滑菇菌丝体和子实体蛋白质营养价值的评价[J]. 食品科学, 2013, 34(21): 321-324. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201321064.
- [25] WANG X M, ZHANG J, WU L H, et al. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China[J]. Food Chemistry, 2014, 151(20): 279-285. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.11.062.
- [26] LIU Y T, CHEN D, YOU Y X, et al. Nutritional composition of boletus mushrooms from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2016, 211: 83-91. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.05.032.
- [27] PETROVSKA B B, KULEVANOVA S, UGRINOVA L, et al. Protein fractions in some Macedonian edible Boletaceae mushrooms[J]. Planta Medica, 2007, 73(9): 937-938. DOI:10.1055/s-2007-987147.
- [28] MEISCH H, BECHMANN I, SCHMITT J. A new cadmium-binding phosphoglycoprotein, cadmium-mycophosphatin, from the mushroom, *Agaricus macrosporus*[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology, 1983, 745(3): 259-266. DOI:10.1016/0167-4838(83)90057-2.
- [29] 陈露, 陈季旺, 蔡俊, 等. 大米镉结合蛋白的分离纯化及纯度鉴定[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 60-64. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201613011.
- [30] 蔡联辉, 曾虹燕, 王亚举, 等. 莲子蛋白质的氨基酸组成及其营养评价[J]. 营养学报, 2010, 32(5): 503-506. DOI:10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2010.05.013.
- [31] 吕晓亚, 白新鹏, 伍曾利, 等. 辣木叶水溶性蛋白的超声-微波萃取及其性质研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 212-216. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2016.05.033.