

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250108002

引用格式: 黄卉妍, 赵明, 李博文, 等. 黑木耳多糖、多肽营养饮品研制及其保健功能研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(7): 172-180.

HUANG HY, ZHAO M, LI BW, *et al.* Research on the development of *Auricularia auricula* polysaccharide and polypeptide nutritional beverage and its health function [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(7): 172-180. (in Chinese with English abstract).

黑木耳多糖、多肽营养饮品研制及其保健功能研究

黄卉妍^{1,2}, 赵明¹, 李博文¹, 杜婉嘉¹, 王传凯¹, 叶娟³, 孔祥辉^{1*}, 毛雪^{1*}

(1. 黑龙江省科学院微生物研究所, 哈尔滨 150010; 2. 黑龙江农垦职业学院护理学院, 哈尔滨 150010;
3. 杭州动商科技有限公司, 杭州 310000)

摘要: **目的** 研制一款富含黑木耳多糖和多肽的营养饮品, 并探究其在保健方面的生物活性。**方法** 以优质黑木耳为原料, 采用酶解法提取其内部的多糖和多肽, 通过体外实验评估其对血压的调节作用以及抗氧化活性, 并测定其含量。以感官评价作为关键指标, 通过对甜味剂、酸味剂和稳定剂的筛选, 最终确定最佳配方。**结果** 最佳配方为: 黑木耳多肽提取液添加量为 0.1%, 黑木耳多糖提取液添加量为 0.5%, 柠檬酸添加量为 0.04%, 蔗糖添加量为 6%, 多糖含量为 528.1 mg/100 mL, 多肽含量为 177.9 mg/100 mL 且对血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)抑制率为(58.61±0.72)%, 该饮品对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)清除率为(68.22±1.06)%, 羟基自由基清除能力为(70.31±0.68)%, 超氧阴离子清除能力为(61.70±0.37)%, 表明该饮品在调节血压、血糖及抗氧化方面具有较好的保健作用。**结论** 该饮品不仅保留了黑木耳的传统健康益处, 还通过科学配比和先进加工技术, 优化口感, 得到较高含量的多糖和多肽, 其生物活性的验证结果为黑木耳饮品在保健领域的商业化生产提供了科学依据。

关键词: 黑木耳; 多糖; 多肽; 酶解法; 黑木耳饮品

Research on the development of *Auricularia auricula* polysaccharide and polypeptide nutritional beverage and its health function

HUANG Hui-Yan^{1,2}, ZHAO Ming¹, LI Bo-Wen¹, DU Wan-Jia¹, WANG Chuan-Kai¹,
YE Juan², KONG Xiang-Hui^{1*}, MAO Xue^{1*}

(1. Institute of Microbiology Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150010, China;
2. School of Nursing, Heilongjiang Agricultural Reclamation Vocational College, Harbin 150010, China;
3. Hangzhou Dongshang Technology Co., Ltd., Hangzhou 310000, China)

ABSTRACT: Objective To develop a nutritional beverage rich in *Auricularia auricula* polysaccharide and polypeptide, explore its biological activity in health care. **Methods** Polysaccharides and polypeptide were extracted from high-quality *Auricularia auricula* by enzymatic hydrolysis. The regulation of blood pressure and antioxidant

收稿日期: 2025-01-08

基金项目: 黑龙江省重大科技成果产业化项目(CG24037)

第一作者: 黄卉妍(1996—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食药菌精深加工。E-mail: hhy244025132@163.com

*通信作者: 孔祥辉(1971—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为食药菌精深加工。E-mail: kxh29@126.com

毛雪(1990—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食药菌精深加工。E-mail: mx45792027@163.com

activity were evaluated by *in vitro* experiments, and the content was determined. With sensory evaluation as the key index, the best formula was finally determined by screening sweeteners, sour agents and stabilizers. **Results** The optimum formula was as follows: The addition amount of *Auricularia auricular* polypeptide extract was 0.1 %, the addition amount of *Auricularia auricular* polysaccharide extract was 0.5%, the addition amount of citric acid was 0.04%, the addition amount of sucrose was 6%, the polysaccharide content was 528.1 mg/100 mL, the polypeptide content was 177.9 mg/100 mL, and the angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition rate was (58.61±0.72)%. The scavenging rate of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was (68.22±1.06)%, the scavenging ability of hydroxyl radical was (70.31±0.68)%, and the scavenging ability of superoxide anion was (61.70±0.37)%, which indicated that the beverage had good health care effect in regulating blood pressure, blood glucose and antioxidant. **Conclusion** The beverage not only retains the traditional health benefits of *Auricularia auricular*, but also optimizes the taste through scientific matching and advanced processing technology to obtain higher content of polysaccharides and peptides. The verification results of its biological activity provide a scientific basis for the commercial production of *Auricularia auricular* beverage in the field of health care.

KEY WORDS: *Auricularia auricular*; polysaccharide; polypeptide; enzymatic hydrolysis; *Auricularia auricular* beverage

0 引言

黑木耳(*Auricularia auricular*)是我国最受欢迎的食药两用菌之一,除含有高碳水化合物、氨基酸、微量元素和维生素外还含有多种生物活性成分^[1],如多糖^[2]、多肽^[3]、黑色素^[4]、腺苷^[5]等。具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗辐射和降血脂等效果^[6-7]。黑木耳已成为公认的“天然健康食品”,越来越受到人们的青睐^[8]。

黑木耳多糖是一种天然高分子化合物^[9-10],主要从黑木耳的菌丝体或子实体中提取^[11]。其结构主要由 *D*-葡萄糖、*D*-甘露糖和 *D*-木糖等单糖通过 α -糖苷键相互连接而成^[12]。近年来,黑木耳多糖的结构、功能及其作用机制逐渐被揭示,其功能包括但不限于免疫调节^[13]、抗肿瘤^[14]、抗氧化^[15]、降血脂^[16]、抗凝血^[17]和降血糖^[18]等。李松岩等^[19]研究表明黑木耳多糖具有一定的抗炎、抗氧化作用,可以改善被动吸烟及 PM_{2.5} 对大鼠肺组织及气道造成的损伤。研究表明黑木耳多糖可以显著提高小鼠单核巨噬细胞白血病细胞(mouse leukemia cells of monocyte macrophage, RAW264.7)的吞噬能力以及诱导细胞因子肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-6 (interleukin-6, IL-6)的分泌^[20-21]。刘爽等^[22]通过动物实验表明,富硒木耳多糖可以改善1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)小鼠多饮多食症状、调节脂质代谢和氧化应激水平,降低炎症因子水平;黑木耳多糖所展现的生物活性,预示着其在功能性食品开发、保健产品制造以及药物研究领域拥有广泛的潜在应用价值。

黑木耳多肽是黑木耳中的另一重要活性成分,具有较高的营养价值和生物活性^[23]。近年来,关于黑木耳多肽的研究取得了显著进展,陶嘉等^[24]研究发现黑木耳多

肽对由棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂肪肝模型有降脂、降胆固醇和抗氧化的活性。研究表明,黑木耳多肽能够调节细胞的脂质代谢过程,具体机制为抑制脂肪酸合成相关基因的表达并促进脂肪氧化分解相关基因的活跃。此外,该多肽还展现出显著的抗氧化性能,不仅有效遏制了脂质氧化终产物(malondialdehyde, MDA)的积累,还增强了细胞内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性。

近年来,市场上对于黑木耳的加工和生产研究较为单一,导致其附加值偏低^[25-26]。本研究基于以往的实验成果,选择出营养价值较高的黑木耳品种,采用热水浸提法^[27]提取黑木耳中的蛋白质,然后通过蛋白酶酶解的方法提取多肽。此外,还利用提取蛋白后剩余的黑木耳渣进行多糖的制备,从而实现黑木耳的综合利用。通过单因素试验及感官评价确定最佳酶解方案、固形物及添加剂含量,确定黑木耳饮品配方、活性及微生物指标,获得具有营养保健功能,且味道清甜爽口的黑木耳饮品,对促进我国黑木耳产业的发展、推进食用菌精深加工、增加产品附加值具有积极的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑木耳产自黑龙江省尚志亚布力产区,黑龙江省科学院微生物研究所收集。

对硝基苯基- α -*D*-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl α -*D*-glucopyranoside, PNPG, 纯度 \geq 98%)、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)试剂、 α -淀粉酶(猪胰腺 50 KU)、阿卡波糖标准品(纯度 \geq 98%)(上海源叶生物科技有限公司);中温淀粉酶(4000 U/mL)、纤维素酶(10000 U/g)、木聚糖酶(20000 U/g)、果胶酶(30000 U/g)、酸性蛋白酶

(600000 U/g)(南宁东恒华道生物科技有限责任公司); 壳聚糖酶(100000 U/g)(武汉兴众诚科技有限公司); 葡聚糖酶(100000 U/g)(河北创之源生物科技有限责任公司); 木瓜蛋白酶(30000 U/g)、胰蛋白酶(40000 U/g)(宁夏夏盛实业集团有限公司); 中性蛋白酶(600000 U/g)、碱性蛋白酶(500000 U/g)(丹麦诺维信公司); 血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)标准品(0.1 U)、N-[3-(2-呋喃基)丙烯酰]-L-苯丙氨酸-甘氨酸-甘氨酸{N-[3-(2-furylacryloyl)]-L-phenylalanyl-glycyl-glycine, FAPGG}(美国西格玛奥德里奇公司); 0.1 mol pH 为 8.3 的硼酸钠缓冲液、甘氨酸(北京博奥拓达科技有限公司); 氢氧化钠、硫酸、无水乙醇、乙酸、正丁醇(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

PHS-3E PH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司); CR21N 高速冷冻离心机(日本日立 HITACHI 公司); Infinite 200 多功能酶标仪(瑞士帝肯 Tecan 公司); Master-R 双级反渗透纯水/超纯水机(上海和泰仪器有限公司); ME204/02 电子天平(精度 0.1 mg, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司); FW135 粉碎机(天津泰特斯仪器有限公司); ZQLY-300V 控温摇床(上海知楚仪器有限公司); PURA 恒温水浴锅(北京优莱博技术有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 多肽的提取

将洗净的黑木耳干燥后粉碎过 40 目筛, 得到黑木耳粉。参考热水浸提方法并进行部分改进^[25,28-29], 按照料液比 1:45 (*m:V*)加入蒸馏水, 充分搅拌至完全混匀, 振荡提取 1.5 h, 冷却后离心取上清。重复上述步骤, 将两次提取的上清液混合, 加入过饱和硫酸铵, 于 4 °C 冰箱静置过夜后离心, 取沉淀。将沉淀溶解后置于透析袋中进行透析、冷冻干燥, 得黑木耳蛋白。将黑木耳蛋白按料液比 1:70 (*m:V*)加入蒸馏水搅拌, 充分溶解, 涡旋混匀后分别加入酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶, 设定酶用量为 7000 U/g, 酶解时间 90 min, 70 r/min, 其他条件为 5 种酶各自最适条件, 酶解后沸水浴 10 min 使酶失活, 冷却后离心 10 min 取上清液冷冻干燥, 得黑木耳多肽, 测定各蛋白酶酶解产物的蛋白水解度和 ACE 抑制率。

1.3.2 多糖的提取

对上述实验后获得的黑木耳余渣进行酶解制备黑木耳

多糖, 取黑木耳渣 5 g, 固液比 1:60 (*m:V*)混合, 分别加入纤维素酶、中温淀粉酶、木聚糖酶、果胶酶、壳聚糖酶、葡聚糖酶, 设定酶用量为 10000 U/g, 酶解时间 120 min, 70 r/min, 其他条件为 6 种酶各自最适条件, 酶解后沸水浴 10 min, 冷却后离心 10 min, 上清液浓缩至体积的 1/3, 放入 4 °C 冰箱醇沉 12 h 后 10000 r/min 离心 10 min, 得到黑木耳多糖, 测定各酶解产物 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)清除率、羟基自由基清除能力、超氧阴离子自由基清除能力和多糖含量。

1.3.3 黑木耳饮品制备的工艺流程

黑木耳饮品制备的工艺流程图如图 1 所示。

1.3.4 黑木耳饮品最佳配方单因素试验

多肽提取液: 为澄清或略微浑浊的液体, 颜色为淡黄色; 若添加量不足, 则无法充分发挥其独特风味和营养特性, 难以提升饮品品质; 若添加量过多, 则可能产生异味, 影响口感的协调性。

多糖提取液: 呈透明至半透明状, 具有一定黏性, 颜色为浅黄色。若添加量过少, 则饮品的口感和质地提升不明显; 若添加量过多, 则会使饮品过于黏稠, 口感厚重, 还可能掩盖原有风味, 导致风味失衡。

基于多糖与多肽提取液具有以上特性, 故设计以下饮品最佳配方单因素试验:

(1) 黑木耳多肽提取液添加量对饮品品质的影响

蔗糖 6.0%, 柠檬酸 0.06%, 多糖提取液 0.5%。黑木耳多肽提取液添加量分别为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%。按相应比例严格调配, 进行感官评分。

(2) 黑木耳多糖提取液添加量对饮品品质的影响

蔗糖 6.0%, 柠檬酸 0.06%, 黑木耳多肽提取液 0.2%。黑木耳多糖提取液添加量分别为 0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%。按相应比例严格调配, 进行感官评分。

(3) 蔗糖添加量对饮品品质的影响

黑木耳多肽提取液 0.3%, 黑木耳多糖提取液 0.5%, 柠檬酸 0.06%, 蔗糖分别为 2%、4%、6%、8%、10%。按相应比例严格调配, 进行感官评分。

(4) 柠檬酸添加量对饮品品质的影响

黑木耳多肽提取液 0.3%, 黑木耳多糖提取液 0.5%, 蔗糖添加量 4%, 以柠檬酸添加量分别为 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%。按相应比例严格调配, 进行感官评分。

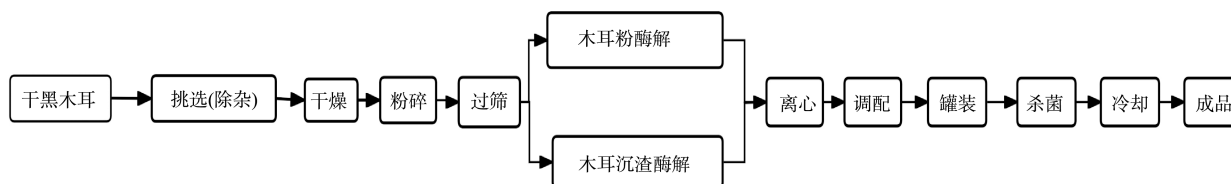


图 1 黑木耳饮品制备工艺流程

Fig.1 Preparation process of black *Auricularia auricula* beverage

1.3.5 保健活性测定

(1) ACE 抑制率测定

采用FAPGG法,参考YANG等^[30]的方法略作修改,缓冲液为0.1 mol/L pH 8.3的硼酸钠缓冲液,底物为1 mmol/L的FAPGG。将40 μL待测样品、80 μL底物和30 μL ACE溶液(5 mU/mL)按顺序加入到酶标板中,混合,利用酶标仪在340 nm波长处测定吸光度,记为 A_1 ,然后将酶标板在37℃下反应30 min后,测定吸光度记为 A_2 , $\Delta A=A_1-A_2$ 。计算ACE抑制率,计算公式(1)如下:

$$\text{ACE 抑制率}/\%=(1-\frac{\Delta A_a}{\Delta A_b})\times 100\% \quad (1)$$

式中: ΔA_a 为样品孔溶液吸光值在30 min内的变化, ΔA_b 为空白孔溶液吸光值在30 min内的变化。

(2) DPPH 自由基清除率测定

参考闫世芳等^[25]的方法并略作改动,将0.5 mL的酶解液与等量预先配制的0.5 mmol/L DPPH-乙醇溶液混合,在避光条件下反应30 min。随后,在517 nm波长下测定混合液的吸光度值,记为 A_3 。为了设置对照组,采用无水乙醇替代DPPH溶液进行相同的操作,并记录吸光度值 A_4 。同时,为建立空白组,使用无水乙醇替代样品溶液进行测量,得到吸光度值 A_0 。计算公式(2)如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\%=(1-\frac{A_3-A_4}{A_0})\times 100\% \quad (2)$$

(3)羟基自由基清除率测定

取各0.5 mL的酶解液、6 mmol/L的水杨酸乙醇溶液以及6 mmol/L的硫酸亚铁溶液,充分混合后,再加入0.5 mL 3%浓度的双氧水溶液,于37℃环境中反应30 min。随后,在510 nm波长下测定该混合体系的吸光度值,标记为 A_5 。为了设立对照组,采用等体积的去离子水替代双氧水溶液进行相同的操作,并记录其吸光度值 A_6 。同时,为了构建空白组,使用等体积的去离子水替换酶解液进行测量,得到的吸光度值记为 A_7 。计算公式(3)如下:

$$\text{羟基自由基清除率}/\%=(1-\frac{A_5-A_6}{A_7})\times 100\% \quad (3)$$

(4)超氧阴离子清除率测定:

在25℃的恒温水浴中,首先向4.5 mL的Tris-HCl缓冲液中添加1.0 mL酶解液,加入0.4 mL浓度为25 mmol/L的邻苯三酚溶液。混合液在25℃下反应4 min后,迅速向其中加入1.0 mL 8%的盐酸以停止反应。随后,使用分光光度计在320 nm波长处测定该混合体系的吸光度值,记录为 A_8 。为了进行对比实验,对照组采用等体积的去离子水替代邻苯三酚溶液,并测定其吸光度值 A_9 。同时,为了设立空白组,使用等体积的去离子水替换样品溶液进行测量,得到的吸光度值标记为 A_{10} 。计算公式(4)如下:

$$\text{超氧阴离子清除率}/\%=(1-\frac{A_8-A_9}{A_{10}})\times 100\% \quad (4)$$

1.3.6 黑木耳饮品的感官评价

对黑木耳饮品的综合品质进行感官品质鉴评。选定10名消费者(男女各半)进行品尝。采用综合评分体系对产品进行感官品质评估,每位评价者需针对各个配方组合进行打分,评分依据涵盖产品色泽、香气特征、组织状态以及口感滋味这4个维度,具体的感官评价标准参见表1。将每一组合评分的平均值作为感官品尝的指标,满分为100分,取其平均值为最终结果。

1.3.7 正交试验

为确定黑木耳饮品最佳配方,在以上单因素试验的基础上进行4因素3水平的正交试验,选用因素及水平见表2。

1.3.8 黑木耳饮品的理化指标

(1)多肽和多肽含量测定

多肽采用考马斯亮蓝方法测定:取饮品100 μL,加入5 mL考马斯亮蓝G250溶液,充分混合,放置2 min后在595 nm下测定吸光值,代入标准曲线查得数值为饮品多肽浓度。

多糖采用苯酚硫酸法测定:取饮品100 μL,于通风橱内加入6%苯酚溶液0.5 mL,浓硫酸2.5 mL,振荡摇匀,静置30 min。吸取200 μL于96孔板中,于490 nm处测得吸光值,代入标准曲线查得数值为饮品多糖浓度。

表1 黑木耳饮品感官评价

Table 1 Sensory evaluation of *Auricularia auricula* beverage

项目	优	良	中	差
颜色(30分)	27~30 色泽均匀、柔和无杂质	24~26 色泽均匀,但颜色略暗或略淡	20~23 色泽较均匀,较暗或较淡	0~19 色泽不均匀,分层,色泽严重褐变
气味(20分)	14~20 具有黑木耳特有的清香,香气协调、柔和	11~13 具有黑木耳特有的香气,香气不够柔和,过浓或过淡	9~10 具有黑木耳的香气,稍有异味或刺激味	0~8 有令人不愉快的气味,有严重异味
组织状态(10分)	9~10 浑浊度均匀一致,无析出现象,无沉淀	8 浑浊稍差,稍有析出现象,有轻微沉淀	6~7 浑浊,有分层,有沉淀出现	0~5 浑浊严重,呈絮状沉淀
滋味(40分)	36~40 具有黑木耳特有味道,酸甜适中、味觉协调柔和	30~35 具有黑木耳特有的滋味,口感不够协调,后味有明显差异	25~29 口味过淡,无后味,无异味	0~24 风味不正,酸甜比例严重失调或有严重异味

表 2 正交实验因素水平表

Table 2 Factor level table of orthogonal experimental

水平	因素			
	A(黑木耳多肽提取液添加量)/%	B(黑木耳多糖提取液添加量)/%	C(柠檬酸添加量)/%	D(蔗糖添加量)/%
1	0.1	0.4	0.02	2
2	0.2	0.5	0.04	4
3	0.3	0.6	0.06	6

(2)菌落总数测定

参照 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》的方法进行测定。

(3)大肠菌群测定

参照 GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验大肠菌群计数》的方法进行测定。

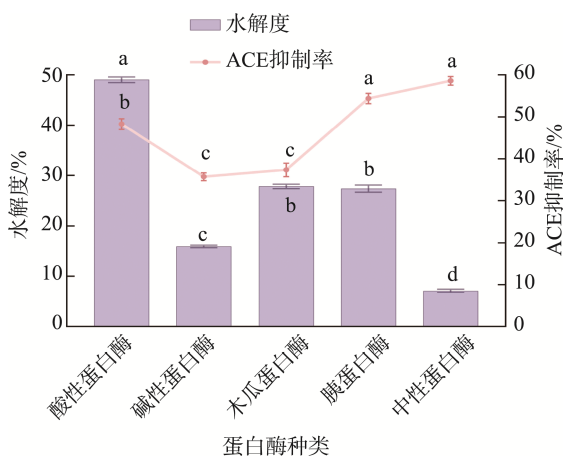
1.4 数据处理

实验重复 3 次,结果以平均值±标准偏差表示。采用 Excel 2021 软件对单因素试验结果进行数据分析,建立因素影响统计图。采用 IBM SPSS Statistics 21 软件进行正交实验设计及分析,采用 Origin 2021 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 黑木耳酶解蛋白酶筛选试验

在 5 种不同的蛋白酶的最佳温度和最佳 pH 条件下,对黑木耳蛋白进行酶解,并测定酶解液的水解度及 ACE 抑制率如图 2,其中,中性蛋白酶的酶解产物表现出最显著的 ACE 抑制活性,约为(58.61±0.72)%,且其水解度相对较低。这表明 ACE 抑制活性并不完全取决于蛋白质的水解程度。中性蛋白酶虽水解度低,但可能产生了具有高 ACE 抑制活性的特定肽段。因此,在后续的研究中,选择中性蛋白酶作为酶解多肽试验的酶源。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),图 3、4 同。

图 2 5 种蛋白酶对 ACE 抑制率和水解度的影响

Fig.2 Effects of 5 kinds of proteases on ACE inhibition rate and degree of hydrolysis

2.2 黑木耳酶解多糖筛选试验

将提完蛋白的黑木耳渣分别在 6 种酶的最适温度和最佳 pH 下进行酶解,测定酶解液的多糖得率。结果如图 3 所示,中温淀粉酶的酶解产物多糖得率最高为约(6.33±0.15)%。因此,选择中温淀粉酶进行木耳渣多糖试验的酶源。

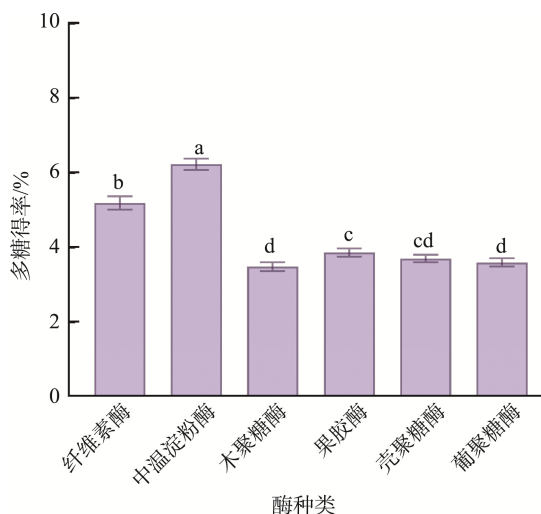


图 3 6 种酶对多糖得率的影响

Fig.3 Effects of 6 kinds of enzymes on polysaccharide yield

2.3 黑木耳饮品最佳配方单因素试验

如图 4A,随着黑木耳多肽提取液添加量的增加,感官评价得分呈现出先上升后下降的趋势。在添加量为 0.2% 时,感官评价平均分达到最高值,此时产品在感官上最受认可。但后续评分逐渐降低,这可能是由于黑木耳多肽提取液的增加,使产品质地发生变化,过于黏稠或产生沉淀,影响口感和饮用体验。故黑木耳多肽提取液在 0.2% 时为最适宜添加量。

如图 4B,随着黑木耳多糖提取液添加量的增加,感官评价得分展现出先增至峰值而后递减的趋势。多糖提取液添加量从 0.3% 增加到 0.5% 时达到峰值,感官评价平均分逐步上升达到峰值,这可能是由于适量增加多糖提取液,丰富了产品的风味、质地等感官特性,使其更符合评价者的喜好标准,从而提升了感官评分。当多糖提取液添加量从 0.5% 继续增加到 0.7% 时,感官评价平均分下降,可能是由于过多的多糖提取液导致产品过于黏稠,影响了口感的清爽度,或者风味过于浓郁甚至产生不良气味,破坏了产品原有的感官平衡,使得感官评分降低。故从实际效果来看,黑木耳多糖提取液添加量在 0.5% 时为最适宜添加量。

如图 4C,随着柠檬酸添加量的提升,感官评价得分展现出先上升后下降的趋势特征。当添加量为 0.04% 时达到感官评分最高值,这可能是由于柠檬酸添加量偏低时,饮品的风味不够清爽,甜味较为突出;而当柠檬酸的添加

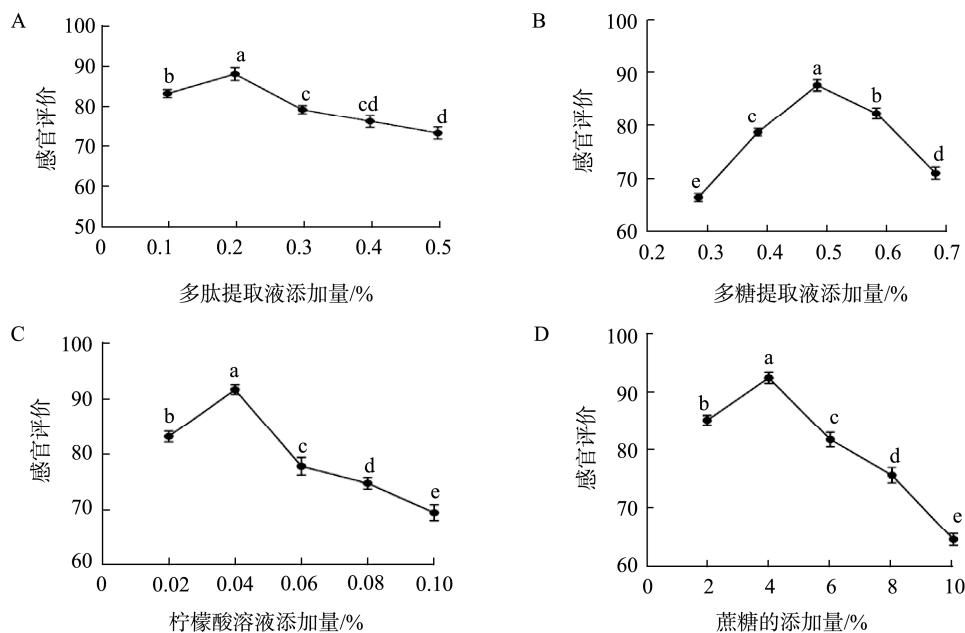


图 4 黑木耳饮品最佳配方单因素试验
Fig.4 Single factor test of the best formula of *Auricularia auricula* beverage

量过高时, 饮品则显得酸味过于浓烈, 以至于严重遮蔽了黑木耳的独特风味, 进而对饮品的整体口感造成了不利影响。故柠檬酸添加量在 0.04% 为最适宜添加量。

如图 4D, 蔗糖添加量的增长导致感官评价得分呈现出先逐步上升继而逐渐下降的变化趋势。当添加量达到 4% 时达到感官评价平均分峰值, 添加量继续增加时评分则不断下降, 这可能是由于随着糖量的增加, 掩盖了黑木耳提

取液本身的清香, 且甜味太重, 不符合人们对于保健饮品口感的定位, 故蔗糖添加量在 4% 为最适宜添加量。

2.4 正交试验

为确定黑木耳饮品最佳配方, 在以上单因素试验的基础上进行 4 因素 3 水平的正交试验, 选用因素及水平见表 2, 正交试验结果见表 3。

表 3 正交试验结果表
Table 3 Results table of orthogonal test

试验号	A(黑木耳多肽提取液添加量)/%	B(黑木耳多糖提取液添加量)/%	C(柠檬酸添加量)/%	D(蔗糖添加量)/%	感官评分
1	1	1	1	1	78
2	1	2	2	2	92
3	1	3	3	3	86
4	2	1	2	3	70
5	2	2	3	1	76
6	2	3	1	2	68
7	3	1	3	2	65
8	3	2	1	3	85
9	3	3	2	1	82
K_1	256	213	225	236	
K_2	214	253	244	228	
K_3	235	236	227	241	
k_1	85.3	71.0	75.0	78.7	
k_2	71.3	84.3	81.3	76.0	
k_3	78.3	78.7	75.7	80.3	
R	21	40	19	13	

通过直观分析,实验所考查的指标显示,感官评价得分越高则产品品质越优。根据表 3 的结果,各因素对黑木耳饮品品质的影响程度依次为 $B>A>C>D$ 。在综合考虑各因素的 K 后, $A_1B_2C_2D_3$ 方案被认为是最优选择。根据该方案,最佳配方为:黑木耳多糖提取液的添加量为 0.5%,黑木耳多肽提取液的添加量为 0.1%,柠檬酸的添加量为 0.04%,而蔗糖的添加量为 6%。得到黑木耳饮品呈淡灰色,质地均匀,有黑木耳的自然香气,口感清凉,酸甜适宜,较可口。

由于正交实验所得出的最优方案不在上述 9 组内,故要进行一组验证实验。经验证实验后感官评价得分为 91.3 分。故可确定 $A_1B_2C_2D_3$ 为最优方案。

2.5 黑木耳饮品抗氧化试验

按照正交试验得到的最佳配方配制成饮品后,进行体外抗氧化活性的测定,结果如图 5,黑木耳饮品在 DPPH 自由基清除试验中表现出较高的抗氧化活性,清除率为 $(68.22\pm 1.06)\%$ 。这表明该饮品能够有效地与 DPPH 自由基反应,从而减少自由基的数量。在羟基自由基清除试验中,黑木耳饮品的清除率为 $(70.31\pm 0.68)\%$ 。这一结果表明,该饮品在清除羟基自由基方面表现出显著的能力。同时,黑木耳饮品对超氧阴离子的清除率约为 $(61.70\pm 0.37)\%$,进一步说明其对超氧阴离子的清除效果也是相当显著的,这些结果均表明该饮品在体外实验中表现出较好的抗氧化效果。

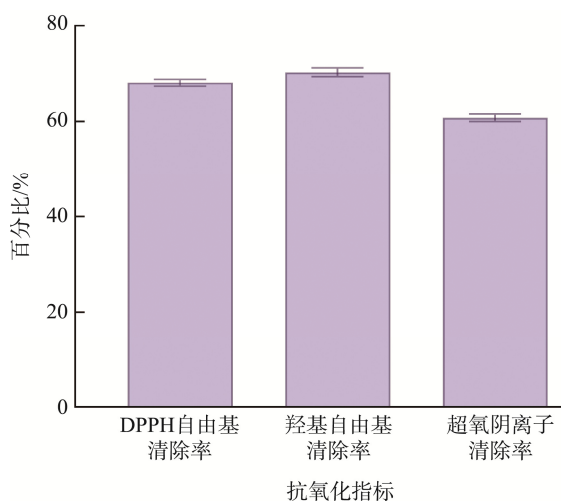


图 5 黑木耳饮品抗氧化能力结果

Fig.5 Results of antioxidant capacity of *Auricularia auricula* beverage

2.6 黑木耳饮品的理化指标分析

2.6.1 感官指标

该款黑木耳饮品色泽为均匀淡灰色,散发淡雅清香,酸甜比例适宜,口感宜人无异味;属清汁型,质地均匀,无沉淀、凝块与分层现象。

2.6.2 多糖和多肽含量测定

黑木耳饮品多糖含量为 528.1 mg/100 mL,多肽含量为 177.9 mg/100 mL。

2.6.3 菌落总数的测定

根据国家标准的菌落总数测定方法,黑木耳饮品的菌落总数测得为 36.71 CFU/mL,符合相关国家规定的标准(小于等于 100 CFU/mL)。

2.6.4 大肠菌群测定

根据国家标准的大肠菌群测定方法,黑木耳饮品的大肠菌群未检出,符合相关国家规定的标准(小于等于 3 MPN/100 mL)。

3 讨论与结论

将黑木耳酶解获取多肽后,创新性地利用提取多肽后的黑木耳残渣再提取多糖,充分利用实验材料,按照最佳工艺配方(黑木耳多肽提取液添加量为 0.1%,黑木耳多糖提取液添加量为 0.5%,柠檬酸添加量为 0.04%,蔗糖添加量为 6%)调配,灌装,杀菌,制得营养丰富,口感风味最佳,感官评分较高的黑木耳饮品。且经过测定,该款饮品中黑木耳多糖和多肽是黑木耳最重要的生物活性物质之一,多糖含量为 528.1 mg/100 mL,多肽含量为 177.9 mg/100 mL。目前 ACE 抑制剂的合成降压药应用广泛,但易引起支气管痉挛性呼吸困难、高血钾、肾功能损伤等副作用,现已有多位学者证实天然来源的 ACE 抑制肽具有健康稳定降血压的效果,本产品中多肽的 ACE 抑制率为 $(58.61\pm 0.72)\%$,体外证实具有较好的调节血压的作用。自由基是导致细胞损伤和衰老的重要因素。通过清除自由基有助于维护生物分子的稳定性,减缓氧化应激,从而可能对预防疾病和促进健康产生积极影响。该饮品的 DPPH 自由基清除率为 $(68.22\pm 1.06)\%$,羟基自由基清除能力为 $(70.31\pm 0.68)\%$,超氧阴离子清除能力为 $(61.70\pm 0.37)\%$,表明该饮品在抗氧化方面具有较好的保健作用。这些发现与黑木耳的传统健康益处相一致^[31],进一步验证了黑木耳多糖和多肽在保健食品领域的应用价值。此类研究结果具有一定的普遍性,可为其他类似食材的活性成分开发提供参考。随着消费者对健康饮食的日益重视,富含天然活性成分的饮品将更具竞争力。此外,该饮品的商业化生产有望带动黑木耳产业的升级和发展,实现经济效益与社会效益的双赢。

尽管这款饮品具有潜在的健康益处,展现出良好的发展前景,但仍存在一些局限性和待解决问题。例如,在提取过程中可能会产生少量其他成分,其对饮品生物活性的具体影响尚需进一步研究。未进行临床试验,以评估饮品在实际应用中的保健效果和安全性。未来将不断完善该产品的研发,继续深入研究黑木耳多糖和多肽在人体内的吸收、代谢及作用机制,为相关饮品的商业化开发提供坚实的科学依据。

参考文献

- [1] 杨淑蓉, 李延辉, 张丽, 等. 黑木耳活性成分及其在食品中的应用研究进展[J]. 中国果菜, 2024, 44(6): 21–26.
YANG JR, LI YH, ZHANG L, *et al.* Research progress on active ingredients of *Auricularia auricula* and its application in food [J]. Chinese Fruit and Vegetable, 2024, 44(6): 21–26.
- [2] 栗果, 邵莉, 毋瑞朋, 等. 黑木耳多糖的提取及免疫调节活性研究进展[J]. 轻工科技, 2024, 40(3): 22–26.
LI G, SHAO L, WU RP, *et al.* Research progress on extraction and immune regulatory activity of polysaccharides from black fungus [J]. Light Industry Technology, 2024, 40(3): 22–26.
- [3] LIN J, LIAO Y, YANG S, *et al.* Identification a novel *Ganoderma* FIP gene from *Ganoderma capense* and its functional expression in *Pichia pastoris* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2024, 40(2): 69.
- [4] 姚秀鸽, 郭燕, 韩闯, 等. 黑木耳黑色素研究进展[J]. 食用菌学报, 2024, 31(2): 127–134.
YAO XG, GUO Y, HAN C, *et al.* Research progress of *Auricularia auricula* melanin [J]. Journal of Edible Fungi, 2024, 31(2): 127–134.
- [5] 郑雪, 郑春英, 吴桐. HPLC 法测定黑木耳中腺苷及尿苷含量[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(32): 173–174, 181.
ZHENG X, ZHENG CY, WU T. Determination of adenosine and uridine in *Auricularia auricula* by HPLC [J]. Anhui Agricultural Science, 2018, 46(32): 173–174, 181.
- [6] 李博文, 毛雪, 姜威, 等. 黑木耳降血糖的研究进展及趋势分析[J]. 中国农学通报, 2024, 40(2): 143–51.
LI BW, MAO X, JIANG W, *et al.* Research progress and trend analysis on the hypoglycemic effect of *Auricularia auricula* [J]. Chinese Journal of Agronomy, 2024, 40(2): 143–51.
- [7] WANG J, MA Z, WANG C, *et al.* Melanin in *Auricularia auricula*: Biosynthesis, production, physicochemical characterization, biological functions, and applications [J]. Food Science & Biotechnology, 2024, 33(8): 1751–1758.
- [8] LI B, WANG S, LI F, *et al.* Construction, characterization, and in vitro hypolipidemic activity of *Auricularia auricula*-*judae* soluble dietary fiber-phenol complexes [J]. Food Bioscience, 2024, 58: 103657.
- [9] YU XT, XING SH, TAN MQ. Green synthesis of Zn²⁺ nanocarriers from *Auricularia auricula* fermentation broth with excellent antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2024, 442: 138386.
- [10] 马晟, 罗先群, 黄雪星, 等. 黑木耳多糖分离纯化及生物活性研究进展[J/OL]. 微生物学通报, 1-32. [2025-03-09]. <https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.240673>
MA S, LUO XQ, HUANG XX, *et al.* Research progress on isolation, purification and bioactivity of *Auricularia auricula* polysaccharide [J/OL]. Microbiology China, 1-32. [2025-03-09]. <https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.240673>
- [11] 马传贵, 张志秀, 冯杰, 等. 食用菌多糖活性及应用研究[J]. 食用菌, 2024, 46(4): 1–5, 9.
MA CG, ZHANG ZX, FENG J, *et al.* Study on the activity and application of polysaccharides from edible fungi [J]. Edible Fungi, 2024, 46(4): 1–5, 9.
- [12] 杨亚楠, 张素琴, 刘于嘉. 黑木耳的营养成分及功能[J]. 农产品加工, 2024(15): 91–93.
YANG YN, ZHANG SQ, LIU YJ. Nutritional components and functions of *Auricularia auricula* [J]. Agricultural Products Processing, 2024(15): 91–93.
- [13] PERERA N, YANG FL, CHIU HW, *et al.* Phagocytosis enhancement, endotoxin tolerance, and signal mechanisms of immunologically active glucuronoxylomannan from *Auricularia auricula*-*judae* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 495–505.
- [14] 黄东, 刘振东, 张彦龙. 黑木耳多糖的提取方法及抗肿瘤作用机制[J]. 高原农业, 2019, 3(6): 694–699.
HUANG D, LIU ZD, ZHANG YL. Extraction method and antitumor mechanism of *Auricularia auricula* polysaccharide [J]. Plateau Agriculture, 2019, 3(6): 694–699.
- [15] KHASKHELI GS, ZHENG W, SHEIKH AS, *et al.* Characterization of *Auricularia auricula* polysaccharides and its antioxidant properties in fresh and pickled product [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 81: 387–395.
- [16] 张廷婷, 赵文颖, 谢倍珍, 等. 黑木耳及其多糖对高脂饮食大鼠的降血脂和肠道菌群调节作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(9): 89–101.
ZHANG YT, ZHAO WY, XIE BZ, *et al.* Effects of *Auricularia auricula* and its polysaccharide on reducing blood lipids and regulating intestinal flora in rats fed with high-fat diet [J]. Chinese Journal of Food Science, 2021, 21(9): 89–101.
- [17] 王辰龙, 张子奇, 王曼, 等. 黑木耳多糖的提取分离及体外抗凝血作用研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(9): 238–241.
WANG CL, ZHANG ZQ, WANG M, *et al.* Extraction, separation and *in vitro* anticoagulant effect of *Auricularia auricula* polysaccharide [J]. Food Industry Science and Technology, 2013, 34(9): 238–241.
- [18] LU A, YU M, SHEN M, *et al.* Preparation of the *Auricularia auricular* polysaccharides simulated hydrolysates and their hypoglycaemic effect [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 1139–1145.
- [19] 李松岩, 沈楠, 代佳, 等. 黑木耳多糖对被动吸烟及 PM_{2.5} 暴露大鼠肺损伤的拮抗[J]. 环境与健康杂志, 2020, 37(3): 219–221, 283.
LI SY, SHEN N, DAI J, *et al.* Antagonistic effects of polysaccharides from *Auricularia auricula* on lung injury in rats exposed to passive smoking and PM_{2.5} [J]. Journal of Environment and Health, 2020, 37(3): 219–221, 283.
- [20] 庄伟. 黑木耳多糖的提取、结构解析及活性功能研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2020.
ZHUANG W. Extraction, structural analysis, and functional activity of

- polysaccharides from *Auricularia auricula* [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2020.
- [21] 庄伟, 屈咪, 赵迪, 等. 黑木耳多糖的结构组成及其免疫活性研究[J]. 食品科技, 2020, 45(2): 205–210.
- ZHUANG W, QU M, ZHAO D, *et al.* Study on the structural composition and immune activity of polysaccharides from *Auricularia auricula* [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(2): 205–210.
- [22] 刘爽, 曲孟, 齐欣, 等. 辐照富硒木耳多糖对 1 型糖尿病小鼠的降血糖作用研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(18): 334–343.
- LIU S, QU M, QI X, *et al.* Study on hypoglycemic effect of irradiated selenium enriched auricularia polysaccharide on type 1 diabetes mice [J]. Food Industry Science and Technology, 2024, 45(18): 334–343.
- [23] 陈香利, 周天天, 李庆伟, 等. 黑木耳营养功能、产品开发的现状与趋势[J]. 食药菌, 2021, 29(5): 380–387.
- CHEN XL, ZHOU TT, LI QW, *et al.* Current situation and trend of the nutritional function and product development of *Auricularia auricula* [J]. Edible and Medicinal Fungi, 2021, 29(5): 380–387.
- [24] 陶嘉, 唐超, 孟凡强, 等. 黑木耳多肽对棕榈酸诱导的脂肪肝细胞的降脂作用[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 106–113.
- TAO J, TANG C, MENG FQ, *et al.* The lipid-lowering effect of *Auricularia auricula* peptides on palmitic acid-induced fatty liver cells [J]. Food Science, 2022, 43(3): 106–113.
- [25] 闫世芳, 鲍玉花, 肖明, 等. 黑枸杞玫瑰复合饮料的研制及其品质和抗氧化活性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(9): 2972–2980.
- YAN SF, BAO YH, XIAO M, *et al.* Development of *Lycium ruthenicum* Murr. and *R. Setate*×*R. Rugosa* compound beverage and evaluation of its quality and antioxidant activity [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(9): 2972–2980.
- [26] 孟庆珍, 马德君. 白山市木耳产业发展的现状、问题及对策分析[J]. 北方园艺, 2024(22): 109–115.
- MENG QZ, MA DJ. Current situation, problems and countermeasures of *Auricularia auricula* industry development in Baishan City [J]. Northern Horticulture, 2024(22): 109–115.
- [27] 胡鹏. 灵芝芽多糖和蛋白的分离纯化、结构表征及其生物活性研究[D]. 吉林: 吉林化工学院, 2024.
- HU P. Isolation, purification, structural characterization and bioactivity of polysaccharides and proteins from *Ganoderma lucidum* buds [D]. Jilin: Jilin Institute of Chemical Technology, 2024.
- [28] 孟桥, 那治国, 王鑫, 等. 响应面法优化黑木耳蛋白质的提取工艺[J]. 食品工业, 2021, 42(2): 129–134.
- MENG Q, NA ZG, WANG X, *et al.* Optimization of protein extraction process from *Auricularia auricula* using response surface methodology [J]. The Food Industry, 2021, 42(2): 129–134.
- [29] 杨豪, 刘晓雪, 苏海冉, 等. 响应面法优化辣木叶蛋白提取工艺及凝集活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 150–157.
- YANG H, LIU XX, SU HR, *et al.* Optimization of extraction process and agglutination activity of *Moringa oleifera lam* protein by response surface methodology [J]. Food Industry Science and Technology, 2022, 43(6): 150–157.
- [30] YANG YJ, HE HY, WANG FZ, *et al.* Transport of angiotensin converting enzyme and renin dual inhibitory peptides LY, RALP and TF across Caco-2 cell monolayers [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 35: 303–314.
- [31] 刘晶, 骈跃斌, 杨杰, 等. 木耳营养保健功能及食品加工研究现状[J]. 食品安全导刊, 2021(18): 71–72.
- LIU J, PIAN YB, YANG J, *et al.* Research status of nutritional and health functions and food processing of *Auricularia auricula* [J]. China Food Safety Magazine, 2021(18): 71–72.

(责任编辑: 安香玉 韩晓红)