

基于主成分分析的白灵菇预煮液酶解研究

Study on enzymolysis of *Pleurotus nebrodensis* cooking juices based on principal component analysis

王肖莉¹ 薛淑静¹ 周 明^{1,2} 李 露¹

WANG Xiao-li¹ XUE Shu-jing¹ ZHOU Ming^{1,2} LI Lu¹

程 薇^{1,2} 关 健¹ 杨 德¹

CHENG Wei^{1,2} GUAN Jian¹ YANG De¹

(1. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北 武汉 430064;

2. 湖北农业科技创新中心农产品加工与核农技术分中心, 湖北 武汉 430064)

(1. Institute for Farm Products and Nuclear-Agricultural Technology, HAAS, Wuhan, Hubei 430064, China;

2. Farm Products Processing Research Sub-center of Hubei Innovation Center of Agricultural Science and Technology, Wuhan, Hubei 430064, China)

摘要:以游离氨基酸、可溶性糖、亮度 L^* 、绿红值 a^* 、蓝黄值 b^* 为评价指标,研究食用菌水解酶 A01、食用菌水解酶 A02、纤维素酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶 6 种酶对白灵菇预煮液的酶解效果。结果表明:6 种酶解液中游离氨基酸含量有极显著变化($P<0.05$),其中中性蛋白酶的效果最好,游离氨基酸含量提高了 55.0%;酶解液中可溶性糖含量有极显著变化($P<0.05$),其中纤维素酶使白灵菇预煮液可溶性糖含量提高了 41.28%;纤维素酶、风味蛋白酶可以明显提高预煮液的 L^* 值;风味蛋白酶降低预煮液的 a^* 值幅度最大;中性蛋白酶使预煮液的 b^* 值加大,其余的酶均降低了预煮液的 b^* 值;以主成分分析法综合比较酶解效果,得出风味蛋白酶的酶解效果最好。

关键词:白灵菇预煮液;酶解;主成分分析

Abstract: The effect of six enzymes was studied, as edible fungus hydrolase A01, Edible fungus hydrolase A02, cellulose, neutral protease, papain and flavourzyme on the content of free amino acid, resolvable sugar and L^* , a^* , b^* value in *Pleurotus nebrodensis* cooking juices. The results indicated that the influence on the content of free amino acid and resolvable sugar was the most significant. The a-

mount of free amino acid was increased by 55.0% after the neutral protease treatment; and the amount of resolvable sugar increased by 41.28% after cellulase treatment. The L^* value both increased apparent as the cellulase hydrolysis proceeded and neutral protease proceeded. The highest decrease of the a^* value was shown after the neutral protease treatment. The b^* value decreased after the neutral protease treatment, and increased after other five enzymes treatments. The flavourzyme treatment on the *Pleurotus nebrodensis* cooking juices can achieve the best result by principal component analysis method.

Keywords: *Pleurotus nebrodensis* cooking juices; enzymolysis; principal component analysis

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(编号:2012BAD36B05);公益性行业(农业)科研专项经费项目(编号:201303080);湖北省科技支撑计划项目(编号:2013BBA023, 2013BB1011);湖北省农业科技创新中心项目(编号:2014-620-007-001)

作者简介:王肖莉(1990—),女,湖北省农业科学院科研助理。

E-mail: dalicy@163.com

通讯作者:薛淑静

收稿日期:2015-05-08

白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)肉质细嫩,味美可口,具有很高的食用价值,在市场上享有“蚝菇王”、“素鲍鱼”的美称。白灵菇蛋白质含量为 14.7%,碳水化合物 43.2%,脂肪 4.31%,纤维素 15.4%;富含 18 种氨基酸,其中,赖氨酸、精氨酸等 8 种人体必需的氨基酸占总氨基酸的 35%,同时它还含有大量的磷、铁、钙等矿物元素和丰富的 V_{B1} 、 V_{B2} 、 V_C ^[1,2]。白灵菇中含有大量的真菌多糖,能增强机体免疫功能,具有抗病毒和抗肿瘤作用^[3,4]。预煮工艺是白灵菇生产罐头等必备的生产工序,在该过程中大量营养成分会溶于预煮液中。郑桂香等^[5]发现平菇杀青后干物质损失高达 23.45%;Biekman 等^[6]也提出双孢菇在漂烫过程中会损失部分甘露醇。在实际生产中预煮液基本处于废弃状态,极浪费资源。关于预煮液的应用研究主要集中在制作酱油、食醋、浸膏等初级

加工方面^[7-9]。本课题组^[10]前期对白灵菇预煮液的主要营养风味进行评价,开发了沙拉酱产品。但预煮液中残留有大量的白灵菇碎片且褐变严重,影响了后续加工产品的品质,目前尚无相关研究。酶技术不仅可以有效破坏食用菌细胞壁的致密结构,促进多糖、蛋白质等功能物质溶出,还可将大分子物质酶解为小分子物质,改善产品风味。本研究拟以游离氨基酸、可溶性糖、亮度 L^* 、绿红值 a^* 、蓝黄值 b^* 为评价指标,通过主成分分析法筛选不同的生物酶,对预煮液进行品质影响分析,以期改善预煮液的色度和风味,进一步提高预煮液的营养价值。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

白灵菇预煮液:可溶性固形物为 2%,吉阳食品(广水)有限公司;

食用菌水解酶 A01、纤维素酶:酶活力 1 万 U/g,南宁庞博生物工程有限公司;

食用菌水解酶 A02:酶活力 10 万 U/g,南宁庞博生物工程有限公司;

中性蛋白酶、风味蛋白酶:酶活力 6 万 U/g,武汉市华顺生物技术有限公司;

木瓜蛋白酶:酶活力 6 000 U/mg,武汉市华顺生物技术有限公司。

1.2 主要仪器与设备

全自动色差计:SC-80C 型,北京康光仪器有限公司;
紫外可见分光光度计:752 型,上海光谱仪器有限公司;
折光仪:WAY-2W 型,上海精密科学仪器有限公司;
笔式 pH 计:RPB20 型,上海罗素科技有限公司。

1.3 试验方法

分别采用食用菌水解酶 A01、食用菌水解酶 A02、纤维素酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶 6 种酶对白灵菇预煮液进行酶解,酶解条件见表 1,加酶量均为 0.2%,以游离氨基酸、可溶性糖含量和亮度 L^* 、绿红值 a^* 、蓝黄值 b^* 为评价指标进行分析。

表 1 6 种酶的酶解条件					
Table 1 The hydrolysis conditions of six enzymes					
序号	酶种类	pH	温度/℃	时间/h	底物可溶性固形物/%
CK	对照(不加酶)	—	常温	2	2
M1	食用菌水解酶 A01	6	55	2	2
M2	食用菌水解酶 A02	6	55	2	2
M3	纤维素酶	7	45	2	2
M4	中性蛋白酶	7	45	2	2
M5	木瓜蛋白酶	7	55	2	2
M6	风味蛋白酶	6	55	2	2

1.4 指标测定

- (1) 可溶性固形物:采用折光仪法;
- (2) 可溶性糖的测定:按 NY/T 1278—2007 执行;
- (3) 游离氨基酸的测定:按 GB/T 8314—2002 执行;
- (4) 色差的测定:采用 SC-80C 全自动色差计 L^* 值、 a^* 值、 b^* 值模式测定,其中 L^* 值表示明度指数,随着 L^* 的增大,亮度越大,越接近于白色; a^* 值表示绿红指数, $a^*=0$ 时为灰色, $a^*>0$ 时,取值越大越接近于纯红色,反之越小越接近于纯绿色; b^* 值表示蓝黄指数, $b^*=0$ 时为灰色, $b^*>0$ 时,取值越大越接近纯黄色,反之越小越接近于纯蓝色^[11]。

1.5 数据分析

采用 Excel 2010 和 DPS 7.05 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 酶解对白灵菇预煮液品质的影响

由表 2 可知,酶解对白灵菇预煮液游离氨基酸含量变化有极显著影响($P=0.000\ 1$),其酶解效果顺序为中性蛋白酶>食用菌水解酶 A01>木瓜蛋白酶>风味蛋白酶>食用菌水解酶 A02>纤维素酶。对于游离氨基酸来说,蛋白酶的作用效果要优于纤维素酶,这与酶的作用机理相关。纤维素酶是通过破坏细胞壁的致密结构,促进细胞内有效成分溶出;而蛋白酶是直接作用于蛋白质,将其降解为分子量较小的活性寡聚肽、氨基酸等。风味蛋白酶、木瓜蛋白酶、中性蛋白酶 3 种蛋白酶中风味蛋白酶的效果最差,主要是因为风味蛋白酶是内切酶和外切酶的混合酶,其主要作用是从蛋白质末端切除疏水氨基酸,使末端疏水氨基酸游离,以降低苦味等不良风味;木瓜蛋白酶和中性蛋白酶均具有较强的蛋白降解能力,其中,中性蛋白酶效果最好。

表 2 酶种类对白灵菇预煮液游离氨基酸和可溶性糖含量的影响 [†]				
Table 2 Effect of six enzymes on the content of free amino acid and resolvable sugar in <i>Pleurotus nebrodensis</i> cooking juices ($n=3$)				
酶种类	游离氨基酸		可溶性糖	
	含量/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	提高率/ %	含量/ ($10^{-2}\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	提高率/ %
对照	1.09±0.131 ^e	—	33.50±2.82 ^d	—
食用菌水解酶 A01	1.56±0.025 ^b	43.1	41.06±2.75 ^{bc}	22.57
食用菌水解酶 A02	1.21±0.030 ^d	11.1	34.50±3.35 ^d	3.00
纤维素酶	1.07±0.027 ^e	↓1.8	47.33±1.62 ^a	41.28
中性蛋白酶	1.69±0.017 ^a	55.0	37.70±3.05 ^{cd}	12.50
木瓜蛋白酶	1.53±0.010 ^b	40.3	42.87±2.41 ^{ab}	27.97
风味蛋白酶	1.40±0.020 ^c	28.4	46.27±1.55 ^a	38.12

[†] 同列中不同英文字母表示在 $P=0.05$ 水平上有显著性差异,有相同字母则差异不显著;↓表示与对照相比,下降率。

酶解对白灵菇预煮液可溶性糖含量变化有极显著影响 ($P=0.0001$),其酶解效果顺序为纤维素酶>风味蛋白酶>木瓜蛋白酶>食用菌水解酶 A01>中性蛋白酶>食用菌水解酶 A02。就可溶性糖来说,纤维素酶的作用效果优于蛋白酶,食用菌水解酶 A01 优于食用菌水解酶 A02。食用菌水解酶 A01 与食用菌水解酶 A02 是复合酶,各种酶之间的相互作用还需进一步研究。

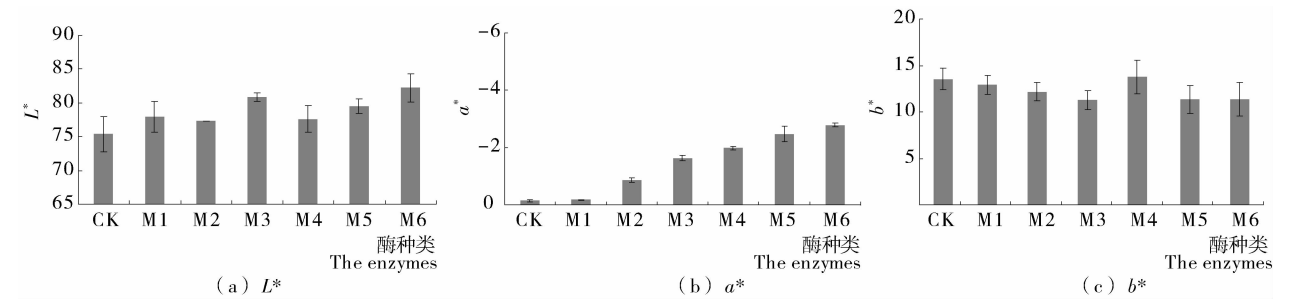


图 1 酶对白灵菇预煮液的 L^* 、 a^* 、 b^* 值影响
Figure 1 Effect of six enzymes on the L^* , a^* , b^* value in *Pleurotus nebrodensis*. cooking juices

2.2 基于主成分分析的酶解效果评价

对样品的游离氨基酸、可溶性糖、 L^* 、 a^* 、 b^* 进行主成分分析,结果见表 3。每个主成分皆反映了一定的原始变量的信息,特征值代表主成分反映原始变量信息的数量,其总和为原始变量的个数,即为 5。对原始数据进行处理,处理公式(1)~(4);

$$x_{ij}^* = \frac{x_{ij} - \overline{x_j}}{\text{var}(x_j)} \quad (i=1,2,\cdots,n; j=1,2,\cdots,p) \tag{1}$$

式中:
 x_{ij} ——第 i 个样品第 j 个指标;
 x_{ij}^* ——标准化处理的数值;
 $\overline{x_j} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n x_{ij}} \tag{2}$
 $\text{var}(x_j) = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_{ij} - \overline{x_j})^2 \quad (i=1,2,\cdots,n; j=1,2,\cdots,p) \tag{3}$

样本相关系数矩阵的计算:
$$\mathbf{R} = \begin{bmatrix} r_{11} & \cdots & r_{1p} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ r_{p1} & \cdots & r_{pp} \end{bmatrix} \tag{4}$$

式中:
 $r_{ij} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n x_{ij}^2 \quad (i,j=1,2,\cdots,p)$
用雅克比方法求相关系数矩阵 $\mathbf{R}$ 的特征值($\lambda_1, \lambda_2, \cdots, \lambda_p$)和相应的特征向量 $a_i = (a_{i1}, a_{i2}, \cdots, a_{ip}) \quad (i=1,2,\cdots,p)$ 。

特征值 $E = \frac{\lambda_i}{\sum_{i=1}^p \lambda_i}$, 百分率 $LH_i = \frac{E_i}{\sum_{i=1}^p E}$, 累计贡献率 $M_i = \sum_{i=1}^p LH_i$ 。主成分的特征值越大,表示该主成分反映的原始变量的信息越多^[12]。累计贡献率大于 85% 的主成分个数作为计算综合得分的主成分个数^[13,14],因此,第一、二主成分即可反应总体情况,达到降维的目的。

由图 1 可知,纤维素酶、风味蛋白酶可以明显提高预煮液的亮度 L^* ; 以 a^* 值降低量为评价指标,酶解效果顺序为风味蛋白酶>木瓜蛋白酶>中性蛋白酶>纤维素酶>食用菌水解酶 A02>食用菌水解酶 A01。

中性蛋白酶使预煮液的 b^* 值加大,即预煮液黄色稍加重,其余酶均降低了预煮液的黄色,其中纤维素酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶降低的幅度稍大。

其每个主成分系数计算公式^[15]:
$$W_i = \frac{LH_i}{\sum_{i=1}^n LH} \tag{5}$$

得出 $W_1 = 0.718, W_2 = 0.282$; 综合得分: $Y_i = A_i W_1 + B_i W_2$ 。由表 4 可知,风味蛋白酶酶解样品得分最高,其次是木瓜蛋白酶和纤维素酶酶解样品,对照样品的综合得分最低。

表 3 主成分的特征值及累计方差贡献率表		
Table 3 Table principal compounds cumulated variance contribution rate		
特征值 E	百分率 $LH/\%$	累计百分率 $\%$
3.122 6	62.452 4	62.452 4
1.225 1	24.502 5	86.954 9
0.419 0	8.380 5	95.335 4
0.155 6	3.112 5	98.447 9
0.077 6	1.552 1	100.000 0

表 4 不同样品标准化主成分得分及排名				
Table 4 Value and ranking between different samples of the comprehensive evaluation				
样品	主成分 1(A)	主成分 2(B)	综合得分	排名
CK	-2.784 0	-1.011 1	-2.28	7
M1	-0.895 7	0.518 8	-0.50	5
M2	-1.141 8	-0.786 8	-1.04	6
M3	1.914 6	-1.534 8	0.94	3
M4	-0.904 1	1.969 5	-0.09	4
M5	1.547 2	0.615 2	1.28	2
M6	2.263 9	0.229 2	1.69	1

3 结论

以游离氨基酸、可溶性糖、亮度 L^* 、绿红值 a^* 、蓝黄值 b^* 为评价指标,采用主成分分析法比较了食用菌水解酶 A01、

(下转第 71 页)

ysis[J]. Journal of Agricultural Research and Bee World, 2008, 47(1):87~88.

5 Benedetti S, Mannino S, Sabatini A G, et al. Electronic nose and neural network use for the classification of honey[J]. Apidologie, 2004, 35(4):397~402.

6 Jagdish C T, Joseph M K I. Floral classification of honey using mid-infrared spectroscopy and surface acoustic wave based z-Nose sensor[J]. J. Agric. Food Chem., 2005, 53(18):6 955~6 966.

7 Katarina B, Jozef Š. New Criterion for Evaluation of Honey Quantification of Royal Jelly Protein Apalbumin 1 in Honey by ELISA[J]. J. Agric. Food Chem., 2010, 58(15):8 776~8 781.

8 Mannaş D, Altuğ T. SPME/GC/MS and sensory flavour profile analysis for estimation of authenticity of thyme honey[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2007, 42(2): 133~138.

9 屠振华,朱大洲,籍保平,等. 基于近红外光谱技术的蜂蜜掺假识别[J]. 农业工程学报, 2011, 27(11):382~387.

10 Mishra S, Kamboj U, Kaur H, et al. Detection of jaggery syrup in honey using near-infrared spectroscopy [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2010, 61(3):306~315.

11 Simsek A, Bilsel M, Goren A C. ¹³C/¹²C pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS[J]. Food Chemistry, 2012, 130(4):1 115~1 121.

12 Ruiz-matute A I, Soria A C, Martinez-castro, et al. A new methodology based on GC—MS to detect honey adulteration with commercial syrups[J]. J. Agric. Food Chem., 2007, 55(18):7 264~7 269.

13 Ruiz-matute A I, Rodríguez-sánchez S, Sanz M L, et al. Detection of adulterations of honey with high fructose syrups from inulin by GC analysis[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2010, 23(3):273~276.

14 李军生,何仁,江权桢,等. 蜂蜜淀粉酶在鉴别蜂蜜掺假中的应用研究[J]. 食品科学, 2004, 25(10):59~62.

15 Bertelli D, Lolli M, Papotti G, et al. Detection of honey adulteration by sugar syrups using one-dimensional and two-dimensional high-resolution nuclear magnetic resonance[J]. J. Agric. Food Chem., 2010, 58(15):8 495~8 501.

16 Guo Wen-chuan, Liu Yi, Zhu Xin-hua, et al. Dielectric properties of honey adulterated with sucrose syrup[J]. Journal of Food Engineering, 2011, 107(1):1~7.

17 Veraverbeke E A, Irudayaraj J, Lammertyn J, et al. Fast aroma profiling to detect invert sugar adulteration with zNose™ [J]. J. Sci. Food Agric., 2005, 85(2):243~250.

18 张航,赵松林,陈卫军,等. 电子舌传感器快速检测油茶籽油中掺杂棕榈油[J]. 食品科学, 2013, 34(14):218~222.

19 田晓静,王俊,崔绍庆. 羊肉纯度电子舌快速检测方法[J]. 农业工程学报, 2013, 29(20):255~262.

20 贾洪锋,梁爱华,何江红,等. 电子舌对啤酒的区识别别研究[J]. 食品科学, 2011, 32(24):252~255.

21 Dias L A, Peres A M, Veloso A C A, et al. An electronic tongue taste evaluation: Identification of goat milk adulteration with bovine milk [J]. Sensors and Actuators, B. Chemical, 2009, 136(1):209~217.

22 曹仲文,张晓燕,周晓燕. 电子舌对鸡汤和人工勾兑高汤及其混合样品的识别[J]. 食品与机械, 2015, 31(1):14~17.

(上接第 37 页)

食用菌水解酶 A02、纤维素酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶对白灵菇预煮液的酶解效果,得出风味蛋白酶酶解效果最好。风味蛋白酶提高了白灵菇预煮液的游离氨基酸和可溶性糖含量,同时使预煮液更加清澈、透亮,可为提高其加工产品质量提供参考。

参考文献

1 赵占军,张勇,李毅,等. 白灵菇生理生化研究进展[J]. 山西农业科学, 2012, 40(3): 292~294.

2 薛淑静,李露,关键,等. 白灵菇预煮液主要营养与风味分析评价[J]. 农产品加工, 2013(10): 81~83.

3 胡清秀,邓华平. 百灵侧耳栽培技术的研究[J]. 食用菌学报, 2001, 8(4): 38~42.

4 杨海燕,张照红,谭惠林,等. 阿魏菇乙醇提取对 S(180)对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(7): 43~45.

5 郑桂春,李凤翔,崔喜江,等. 平菇杀青液的加工利用二例[J]. 河北农业科技, 1990(10): 25.

6 Biekman E S A, Kroese-Hoedeman H I, Schijvens E P H M. Loss of solutes during blanching of mushrooms (Agaricus bisporus) as a result of shrinkage and extraction[J]. Journal of Food

Engineering, 1996(28): 139~152.

7 刘才江,周兴光. 蘑菇浸膏和蘑菇酱油生产技术[J]. 食品科学, 1988(8): 62~63.

8 赵瑞英,郭素贤. 蘑菇调味品的加工[J]. 蔬菜, 2009(2): 26.

9 赵世萍,文有林,肖倬殷,等. 蘑菇预煮水的综合利用[J]. 四川医学院学报, 1977(1): 30~34.

10 薛淑静,李露,关键,等. 利用白灵菇副产物加工沙拉酱工艺配方研究[J]. 北京工商大学学报(自然科学版), 2011, 29(6): 37~38.

11 公丽艳,孟宪军,刘乃侨,等. 基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价[J]. 农业工程学报, 2014, 30(13): 276~285.

12 郭建华,郭宏文,邹东恢,等. 白酒酒醅发酵过程中酶活与酯类生成的相关性分析与主成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2003, 39(11): 44~49.

13 于秀林,任雪松. 多元统计分析[M]. 北京: 中国统计出版社, 1998: 154.

14 Xu Zi-xiang, Zhou De-yun, Luo Yi-ran. Fuzzy neural network based on principal component[J]. Computer Engineering and Applications, 2006, 42(5): 34~36.

15 于筑红,王知松,郑文宇,等. 不同包装条件下辣椒风味化合物的主成分分析[J]. 中国食品学报, 2014, 14(1): 285~292.