

复合食用菌浸提液澄清工艺研究

李风顺¹,姚凤宏²,王晴华²,姚倩²,阮美娟²

(1.山东九发食用菌股份有限公司,山东烟台 264100;2.天津科技大学,天津 300457)

摘要:研究自然静置法及酶法对复合食用菌浸提液澄清效果的影响,采用响应面分析木瓜蛋白酶澄清复合食用菌浸提液最优条件,并与自然静置澄清复合食用菌浸提液方法进行对比。结果表明,复合食用菌浸提液的最佳酶解条件为:反应温度为65℃,添加量0.1%,时间2h,在此条件下,浸提液获得最大透光率96。响应面优化后得到复合食用菌浸提液回归方程的相关系数为0.9965,模型拟合程度很好。自然静置法澄清复合食用菌浸提液:静置时间4h,透光率89。酶法澄清比自然静置澄清法节省50%的时间,透光率提高7。

关键词:复合食用菌浸提液,澄清,静置法,酶法

Study on clarifying process of compound fungus leaching liquor

LI Feng-shun¹, YAO Feng-hong², WANG Qing-hua², YAO Qian², Ruan Mei-juan²

(1. Shandong Jiufa Edible Fungus Co.Ltd, Yantai 264100, China;

2. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The effects of different clarification methods on the compound fungus leaching liquor clarification were studied with the response surface designing. The optimized enzymic clarification condition was that: under 65℃, 0.1% enzyme was added, and treated for 2h, the maximal light transmittance rate was 96. The correlation coefficient R^2 was 0.9965 which indicated the model fitted well. Compared to the nature precipitation method, treated 4h, the light transmittance was 89, the enzymic method was better. 50% time was shortened and clarification effect was improved.

Key words: compound fungus leaching liquor; clarification; nature precipitation; enzymic clarification

中图分类号:TS201.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2008)03-0166-03

茶树菇是一种具有较高营养价值的珍稀食用菌,被人们称为“中华神菇”。据国家食品质量监督检验中心测定,它富含人体所需的天门冬氨酸、谷氨酸等十七种氨基酸(特别是人体不能合成的八种必需氨基酸)和十多种矿物质、微量元素与抗癌多糖,其药用保健疗效高于其他食用菌。茶树菇具有美容、抗衰老、降血压、健脾胃、防病抗病、降低胆固醇、增强免疫功能、抑制肿瘤等作用,是一种集营养、保健于一身的食疗两用珍稀食用菌。本研究以茶树菇为主,和其它食用菌进行复配。复合食用菌浸提液中含有丰富的蛋白质,是沉淀的主要物质之一,采用蛋白酶进行澄清处理,分解其中的蛋白质,使整个溶液澄清无沉淀,对于食用菌澄清型饮料,是必须解决的关键问题,实验得出了澄清工艺的最优条件,为澄清型食用菌饮料的工业化提供了理论和实践参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

复合食用菌浸提液 实验室自制;木瓜蛋白酶(6000u/mg) 联星生物公司;碱性蛋白酶(10×10^4

单位/g)、中性蛋白酶(50000 单位/g) 海宁金潮公司。

SP-2102PC 紫外分光光度计 上海光谱仪器有限公司;SHB-Ⅲ循化水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;Pocket Refractometer Pal-1 手持式糖度计 Tokyo Tech. Award ATAGO。

1.2 实验方法

1.2.1 澄清度评定方法 采用感官评定法,进行初步观察对比。用紫外分光光度计在620nm下用1cm比色皿测定透光值(T° 值),以蒸馏水为空白。

1.2.2 自然静置澄清工艺 提取等量浸提液,分别静置0、1、2、3、4、5h。抽滤后评价澄清效果,以透光率(T°)为考核指标,结合感官评定结果,综合评判自然静止澄清效果。

1.2.3 酶澄清效果

1.2.3.1 不同酶的澄清效果实验 选用木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶及中性蛋白酶,在它们各自的最佳作用条件下进行酶处理,木瓜蛋白酶:温度65℃,时间2h,添加量0.1%;碱性蛋白酶:温度55℃,时间2h,添加量0.2%;中性蛋白酶:温度50℃,时间2h,添加量0.2%。以透光率(T°)为考核指标,结合感官评定结果综合评判三种酶各自的澄清效果,从中选择出澄清效果最理想的酶。

表2 自然静置澄清效果

| 静止时间(h) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---------|----|------|------|------|------|------|
| 感官状态 | 微混 | 澄清透明 | 澄清透明 | 澄清透明 | 澄清透明 | 澄清透明 |
| 透光率(T°) | 82 | 85 | 86 | 86 | 89 | 89 |

表5 方差分析表

| 方差来源 | 自由度 | 偏差平方和 | 均方和 | F 值 | P 值 |
|--------------------------------|-----|----------|----------|----------|----------|
| X ₁ | 1 | 0.000025 | 0.000025 | 0.627669 | 0.464124 |
| X ₂ | 1 | 0.000128 | 0.000128 | 3.279249 | 0.129927 |
| X ₃ | 1 | 0.000024 | 0.000024 | 0.627669 | 0.464124 |
| X ₁ *X ₁ | 1 | 0.015222 | 0.015222 | 389.9824 | 0.0001 |
| X ₁ *X ₂ | 1 | 0.00003 | 0.00003 | 0.774979 | 0.418977 |
| X ₁ *X ₃ | 1 | 0.00021 | 0.00021 | 5.386422 | 0.06798 |
| X ₂ *X ₂ | 1 | 0.025872 | 0.025872 | 662.8262 | 0.0001 |
| X ₂ *X ₃ | 1 | 2.5E-7 | 2.5E-7 | 0.006405 | 0.939318 |
| X ₃ *X ₃ | 1 | 0.021726 | 0.021726 | 556.6053 | 0.0001 |
| 一次项 | 3 | 0.000177 | 0.000059 | 1.511529 | 0.319615 |
| 二次项 | 3 | 0.054601 | 0.0182 | 466.2751 | 0.0001 |
| 交互项 | 3 | 0.000241 | 0.00008 | 20.55935 | 0.224815 |
| 误差 | 5 | 0.000195 | 0.000039 | | |
| 纯误差 | 2 | 0.000093 | 0.000046 | | |
| 总和 | 14 | 0.055214 | | | |

1.2.3.2 酶澄清工艺优化 选择酶作用时间(min)、温度(℃)、添加量3个因素,按表1因素水平进行酶作用的优化实验,实验仍以透光率(T°)和过滤所需时间为考核指标,结合感官评定结果,综合评判酶的澄清效果,从中选择出澄清效果最理想的酶处理工艺条件。

表1 因素水平表

| 水平 | X ₁ 酶作用 温度(℃) | X ₂ 添加量 (%) | X ₃ 酶作用 时间(h) |
|----|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| -1 | 60 | 0.05 | 1 |
| 0 | 65 | 0.1 | 2 |
| 1 | 70 | 0.15 | 3 |

2 结果与讨论

2.1 自然静置澄清效果

自然静置澄清效果实验结果见表2。

由表2结果可知,总的的趋势是透光率随自然静置时间的延长而增大,过滤所需时间随静置时间的延长而缩短,但当静置时间超过4h时,上述变化的幅度明显减小,综合考虑生产周期等因素,采用静置澄清时,时间取4h比较合理。

2.2 酶澄清效果

2.2.1 酶种类选择 三种酶分别在各自的最佳作用条件下进行酶澄清实验,结果见表3。

表3 三种酶的澄清效果

| 酶种类 | 不添加酶 | 木瓜蛋白酶 | 碱性蛋白酶 | 中性蛋白酶 |
|---------|------|-------|-------|-------|
| 感官状态 | 微混 | 澄清透明 | 澄清透明 | 澄清透明 |
| 色泽 | 浅琥珀色 | 深琥珀色 | 琥珀色 | 琥珀色 |
| 透光率(T°) | 82 | 96 | 85 | 88 |

由表3结果可知,三种酶的澄清效果以木瓜蛋白酶的效果最佳,其次为中性蛋白酶,碱性蛋白酶的最差。

2.2.2 木瓜蛋白酶澄清工艺优化 选择温度(X₁)、添加量(X₂)、时间(X₃)三因素,以透光率(Y₁)为观

察指标,进行响应面优化,实验方案及结果分析见表4~表6。

表4 木瓜蛋白酶澄清工艺优化方案与结果

| 实验号 | X ₁ | X ₂ | X ₃ | Y ₁ |
|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | 60 | 0.05 | 2 | 80.7 |
| 2 | 60 | 0.15 | 2 | 80.6 |
| 3 | 70 | 0.05 | 2 | 82.3 |
| 4 | 70 | 0.15 | 2 | 81.1 |
| 5 | 65 | 0.05 | 1 | 80.2 |
| 6 | 65 | 0.05 | 1 | 80.6 |
| 7 | 65 | 0.15 | 1 | 79.3 |
| 8 | 65 | 0.15 | 3 | 79.6 |
| 9 | 60 | 0.10 | 1 | 82.6 |
| 10 | 70 | 0.10 | 1 | 80.8 |
| 11 | 60 | 0.10 | 3 | 81.5 |
| 12 | 70 | 0.10 | 3 | 82.6 |
| 13 | 65 | 0.10 | 2 | 96.5 |
| 14 | 65 | 0.10 | 2 | 95.2 |
| 15 | 65 | 0.10 | 2 | 96.2 |

表6 模型可信度分析

| | 主模式 |
|--------------------|----------|
| 均值 | 0.839867 |
| R ² | 99.65% |
| 调整后 R ² | 99.01% |

根据方差分析表5可知,三因素均能显著影响透光率,且三因素的二次项的影响极大,各因素的交互作用也很明显,因此各因素于指标之间的关系不是简单的线性关系,而是二次关系。

随着温度的升高,浸提液透光率不断提升,在65℃时出现峰值;随着添加量增加,浸提液透光率随之升高,在0.1%处出现峰值;随着酶解时间增加,透光率逐渐升高,2h时出现透光率的峰值。

由表6分析可知,复相关系数的平方 R² = 0.9965,说明由这3个因素及其二次项能解释 Y₁ 变化的99.65%,模型拟合程度很好。

(下转第170页)

表1 胚芽分离蛋白提取验证数据表

| 蛋白种类 | 浸提剂 | 浸提温度(℃) | 浸提剂用量(mL) | 浸提时间(min) | 蛋白提取率(%) |
|------|------------|---------|-----------|-----------|-------------|
| 清蛋白 | 水 | 40 | 35 | 40 | 39.35~41.17 |
| 球蛋白 | 亚硫酸钠(5%) | 40 | 30 | 30 | 30.78~32.67 |
| 醇蛋白 | 乙醇(70%) | 50 | 40 | 20 | 2.87~2.95 |
| 碱蛋白 | 氢氧化钠(0.4%) | 50 | 30 | 30 | 14.79~15.61 |
| 总蛋白 | | | | | 87.79~92.40 |

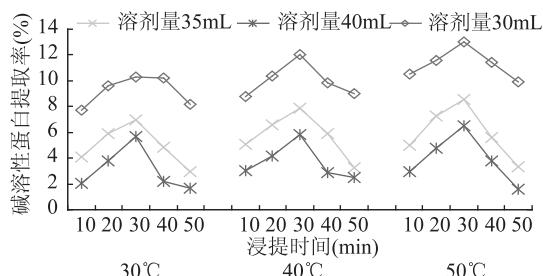


图5 胚芽碱溶蛋白实验数据直观分析图

图5表明,不同温度条件下,各曲线基本表现出一致的变化规律:碱溶性蛋白提取率均随着溶剂量的增加而降低;随浸提时间延长,蛋白提取率均是先升高后降低;温度为50℃时,不同条件下的提取率值均高于其他两种温度下的对应值,且溶剂量越低这种趋势越明显。由以上分析可知:在一定时间范围内,50℃碱溶性蛋白受热变性不明显,在此温度下,浸提剂用量30mL,浸提时间30min,碱溶性蛋白具有较高提取率。

2.6 验证性实验

按照实验确定的各分离蛋白较佳的提取工艺条件,分步提取各分离蛋白。经多次实验,测定各分离蛋白的提取率数据如表1所示。

验证性实验表明,各分离蛋白均有较高的提取率,总蛋白提取率达90%左右,说明所确定的提取工艺参数合理可靠。

3 结论

本研究确定了玉米胚芽各分离蛋白较佳的提取

(上接第167页)

得到回归方程为:

$$Y_1 = -10.4355 + 0.332433 * X_1 + 7.341667 * X_2 + 0.214833 * X_3 - 0.002568 * X_1 * X_1 - 0.011 * X_1 * X_2 + 0.00145 * X_1 * X_3 - 33.48333 * X_2 * X_2 - 0.005 * X_2 * X_3 - 0.076708 * X_3 * X_3$$

通过SAS软件优化,得出浸提液澄清工艺的最佳条件为:酶澄清温度65℃,添加量0.1%,酶澄清时间2h。经验证实验,实际浸提液的透光率为96.5。

3 结论

自然静置法澄清复合食用菌浸提液,静置时间为4h,透光率为89,酶法澄清其过滤时间可减少50%,透光率提高7,酶法优于静置澄清法。最适用的酶为木瓜蛋白酶,其澄清复合食用菌浸提液的工艺条件为:反应温度为65℃,添加量0.1%,时间2h,在此条件下,浸提液获得最大透光率96。

参考文献:

[1] 季慧,丁霄霖.“米邦塔”仙人掌汁的营养特性及酶法澄

工艺条件:清蛋白为浸提温度40℃,加水量35mL,浸提时间40min;球蛋白为浸提温度40℃,加5%Na₂SO₄,量30mL,浸提时间30min;醇溶蛋白为浸提温度50℃,加70%C₂H₅OH量40mL,浸提时间20min;碱溶蛋白浸提温度50℃,加0.4%NaOH量30mL,浸提时间30min。在以上条件下,经分步提取,胚芽清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白、碱溶蛋白的提取率均较高,本实验为玉米胚芽分离蛋白的进一步深入研究提供了数据积累。

参考文献:

- [1] Kulakova E V, Vainerman E S, Rogoshin S V. Contribution to the investigation of corn germ. I Corn germ is valuable source of protein[J]. Nahrung, 1982, 26: 45~457.
- [2] 卢敏,王成刚.玉米胚的开发与利用[J].吉林粮食高等专科学校学报,1998,13(3):1~3.
- [3] 李晶,昌有权.玉米胚蛋白的性能及其应用研究[J].食品科学,2003,24(9):48~51.
- [4] Brown L M, Zayas J F. Corn germ protein flour as an extender in broiled beef patties[J]. Food Sci, 1990, 55: 888~892.
- [5] Peri C, Barbier R, Casiraghi E M. Physical chemical and nutritional quality of extruded corn germ flour and milk protein blends[J]. Food Technol, 1983, 18: 43~46.
- [6] Guota H O. Effect of supplementation of processed maize germ cake on nutritional quality of maize[J]. Food Sci Technol, 2001, 38: 507~508.
- [7] 张鸣镝,管骁,姚惠源.玉米胚芽蛋白酶解物对小鼠免疫功能的影响[J].食品科学,2007,28(2):302~305.
- [8] 申哲民,张学洪.蛋白质的酶水解过程研究[J].氨基酸和生物资源,2002,24(2):17~18.
- [9] 王世东.食用菌[M].北京:中国农业大学出版社,2005.46~50.
- [10] 李文钊,刘嘉喜.应用SAS统计软件优化面包加工工艺[J].粮油食品科技,2003,11(4):8~12.
- [11] 王鸿飞,李和生.果胶酶对草莓汁澄清效果的研究[J].农业工程学报,2003,19(3):161~164.
- [12] Ugusto TG, Genaro GO. A purified extract from prickly pear cactus(Opuntia fuliginosa) controls experiment induced diabetes in rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1996, 55: 27~33.
- [13] Ole Helsa, Torben Larsen, Lars P, et al. Contents of iron, calcium, zinc and b-carotene in commonly consumed vegetables in Bangladesh [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2004, 17: 587~595.
- [14] McLellan M R, Kime R W, Lind L R. Apple juice clarification with the use of honey and pectinase[J]. J Food Sci, 1984, 50(1): 206~208.