

文章编号:1674-2869(2009)09-0020-03

酶法水解香菇工艺的研究

龚世伟,游慧珍,胡国元*,王远,胡婧

(武汉工程大学化工与制药学院,绿色化工过程省部共建教育部重点实验室,湖北 武汉 430074)

摘要:以 α -氨基氮和多糖含量为指标,通过单因素试验和正交试验探讨了纤维素酶、木瓜蛋白酶水解香菇菌柄、菌盖的工艺条件。结果表明,菌柄的最适水解条件为:纤维素酶0.15%,木瓜蛋白酶0.45%或0.3%,初始pH 4.5,时间4 h,温度45℃;菌盖的最适水解条件为:纤维素酶0.15%,木瓜蛋白酶0.45%,初始pH 4.5,时间2 h或3 h,温度55℃。 α -氨基氮含量可达4.219 mg·g⁻¹,多糖含量可达224.86 mg·g⁻¹。

关键词: α -氨基氮;酶水解;香菇多糖;香菇;正交试验

中图分类号:TS201.1 **文献标识码:**A

0 引言

香菇(*Lentinula edodes*)属担子菌纲,伞菌目,香菇属。香菇不仅是味美的食用菌,而且具有一定的药用价值。现代医学研究发现,香菇有降低胆固醇,防止血管硬化,有助于儿童生长发育,能增强人体免疫功能和防治癌症的作用。香菇多糖能显著增强癌症患者抵抗力^[1]。本实验采用纤维素酶和木瓜蛋白酶水解香菇菌柄或菌盖获得营养丰富的抽提液,从而为香菇的深加工奠定基础。

1 实验部分

1.1 材料

干香菇,福建古田产,市场购买。分别将香菇菌柄、菌盖置60℃烘烤2~3 h,粉碎过0.15 mm筛备用。

纤维素酶,上海伯奥生物科技有限公司生产,酶活大于15 U·mg⁻¹;木瓜蛋白酶,Sigma公司生产,6 000 U·mg⁻¹;茚三酮,苯酚,浓硫酸,葡萄糖等均为国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 提取工艺 称取1 g香菇菌柄或菌盖粉,按料水比1:20(g/mL)加水浸泡2 h后,加热煮沸20 min,冷却至室温,加酶水解一定时间,灭酶活,抽滤,收集香菇水解滤液。

1.2.2 单酶水解试验 采用单因素试验确定酶浓度,水解时间,初始pH及水解温度对香菇菌柄或菌盖浸提率的影响^[2-9]。纤维素酶各因素设如下

水平:酶浓度(0.10%,0.15%,0.20%);初始pH(4.0,4.4,4.8);水解时间(2 h,4 h,6 h);水解温度(40℃,45℃,50℃)。木瓜蛋白酶各因素设如下水平:酶浓度(0.15%,0.20%,0.25%);pH(5.6,6.0,6.4);水解时间(2 h,3 h,4 h);水解温度(50℃,55℃,60℃)。

1.2.3 复合酶水解正交试验 根据单酶水解试验结果及相关文献的报道^[2,5,9],对影响复合酶水解香菇菌柄或菌盖 α -氨基氮与多糖得率较大的酶浓度,初始pH,水解时间及水解温度等4个因素进行L₉(3⁴)正交试验,确定香菇菌柄或菌盖 α -氨基氮与多糖的最适提取条件。

1.2.4 测定方法 将1.2.1获得的香菇水解滤液定容至100 mL,取1 mL,加9 mL蒸馏水摇匀后取1 mL进行 α -氨基氮与多糖含量的测定。

α -氨基氮的测定:采用茚三酮比色法^[2]。

多糖的测定:采用苯酚—硫酸法^[10]。

2 结果与分析

2.1 单酶水解香菇菌柄或菌盖条件的确定

以酶浓度,初始pH,水解时间,水解温度为4个因素条件,分别确定出纤维素酶、木瓜蛋白酶水解香菇菌柄或菌盖的最适水平条件,然后在各自的最适水平条件下进行试验,比较水解液中 α -氨基氮含量和多糖含量。结果如表1和表2所示,香菇菌柄的纤维素酶水解液中 α -氨基氮含量最高,而香菇菌盖的的纤维素酶水解液中多糖含量最高。

收稿日期:2009-09-10

作者简介:龚世伟(1984-),男,湖北兴山人,硕士研究生,研究方向:化学工艺。

指导老师:胡国元,教授,博士,研究方向:食、药用真菌代谢产物的研究。*通讯联系人

表 1 不同酶水解香菇菌柄的最适条件
Table 1 The optimal hydrolysis conditions of different enzyme for stipe of *L. edodes*

酶的质量 分数/%	初始 pH	水解温 度/℃	水解时 间/h	α -氨基氮/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	多糖/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	
纤维素酶	0.15	4.5	45	4	3.215	168.19
木瓜蛋白酶	0.20	6.0	55	3	0.240	133.02

表 2 不同酶水解香菇菌盖的最适条件
Table 2 The optimal hydrolysis conditions of different enzyme for cap of *L. edodes*

酶的质量 分数/%	初始 pH	水解温 度/℃	水解时 间/h	α -氨基氮/ (mg·g ⁻¹)	多糖/ (mg·g ⁻¹)	
纤维素酶	0.15	4.5	45	4	0.293	194.73
木瓜蛋白酶	0.20	6.0	55	3	0.289	172.91

2.2 复合酶水解香菇菌柄或菌盖的正交试验

由于香菇的细胞壁由蛋白质、几丁质、纤维素组成,较坚固,为了更好地使蛋白质和多糖等溶出,又不使成本过高,采用纤维素酶和木瓜蛋白酶共同作用,以提高香菇细胞壁的破碎率^[2,5,9]。

在使用纤维素酶和木瓜蛋白酶共同作用时,以前者用量为 0.15% 作为基准,后者分别以 0.15%、0.3%、0.45% 与之合用,在单酶试验的基础上,同时又考虑了复合酶的水解初始 pH,水解时间和水解温度的影响,选用 L₉ (3⁴) 进行正交试验,正交试验因素水平如表 3。以水解液中 α 氨基氮、多糖含量为考察指标,分析试验结果,确定复合酶法水解香菇菌柄、菌盖的最适条件。

表 3 正交试验 L₉ (3⁴) 因素与水平
Table 3 Factors and levels of orthogonal test L₉ (3⁴)

水平	因素			
	A(纤维素酶+木瓜蛋白酶)	B(初始 pH)	C(水解时间)/h	D(水解温度)/℃
1	1:1	4.5	2	45
2	1:2	5.0	3	50
3	1:3	6.0	4	55

2.2.1 香菇菌柄的正交试验 分别以 α 氨基氮和多糖含量为指标,香菇菌柄的正交试验结果及分析如表 4 所示。

表 4 香菇菌柄的正交试验结果与分析
Table 4 Results and analysis of orthogonal design tests for stipe of *L. edodes*

试验号	A	B	C	D	α -氨基氮/ (mg·g ⁻¹)	多糖/ (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	3.198	171.37
2	1	2	2	2	3.304	168.43
3	1	3	3	3	3.145	135.19
4	2	1	2	3	3.211	191.20
5	2	2	3	1	3.066	225.28
6	2	3	1	2	2.575	167.32
7	3	1	3	2	4.245	209.22
8	3	2	1	3	3.688	175.42
9	3	3	2	1	3.887	165.36

试验号	A	B	C	D	α -氨基氮/ (mg·g ⁻¹)	多糖/ (mg·g ⁻¹)
α -氨基氮	K ₁	3.216	3.551	3.154	3.383	
	K ₂	2.951	3.353	3.467	3.375	
	K ₃	3.937	3.202	3.485	3.348	
	R	0.986	0.349	0.331	0.036	
多糖	K ₁	158.33	190.60	171.37	187.34	
	K ₂	194.60	189.71	174.50	181.66	
	K ₃	183.33	155.96	189.90	167.26	
	R	36.27	40.64	18.53	20.07	

由表 4 可知,按级差 (R) 大小,香菇菌柄各指标下各因素的主次顺序分别为: α -氨基氮 A>B>C>D;多糖 B>A>D>C。根据各水平下 K₁、K₂、K₃ 确定各因素的最优水平组合为: α -氨基氮 A₃B₁C₃D₁;多糖 B₁A₂D₁C₃。由此可知,复合酶量对 α 氨基氮含量影响最大,其次为初始 pH 和水解时间,而水解温度影响最小;初始 pH 对多糖含量影响最大,其次为复合酶量和水解温度,而水解时间影响最小。通过复合酶法水解菌柄验证试验表明,以 α -氨基氮含量为指标,复合酶法水解香菇菌柄的最适条件是:纤维素酶 0.15%,木瓜蛋白酶 0.45%,初始 pH 4.5,水解时间 4 h,温度 45℃,在此条件下香菇菌柄水解液中 α -氨基氮含量可达 4.219 mg·g⁻¹;以多糖含量为指标,复合酶法水解香菇菌柄的最适条件是:纤维素酶 0.15%,木瓜蛋白酶 0.3%,初始 pH 4.5,水解时间 4 h,水解温度 45℃,在此条件下香菇菌柄水解液中多糖含量可达 224.86 mg·g⁻¹。

2.2.2 香菇菌盖的正交试验 分别以 α -氨基氮和多糖含量为指标,香菇菌盖的正交试验结果及分析如表 5 所示。

表 5 香菇菌盖的正交试验结果与分析
Table 5 Results and analysis of orthogonal design tests for cap of *L. edodes*

试验号	A	B	C	D	α -氨基氮/ (mg·g ⁻¹)	多糖/ (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	0.450	187.85
2	1	2	2	2	0.446	195.25
3	1	3	3	3	0.467	158.93
4	2	1	2	3	0.495	211.04
5	2	2	3	1	0.276	207.68
6	2	3	1	2	0.491	181.42
7	3	1	3	2	0.488	218.41
8	3	2	1	3	0.533	198.05
9	3	3	2	1	0.419	185.47
α -氨基氮	K ₁	0.454	0.478	0.498	0.382	
	K ₂	0.421	0.418	0.453	0.475	
	K ₃	0.480	0.459	0.397	0.498	
	R	0.059	0.060	0.101	0.116	
多糖	K ₁	180.68	205.78	189.11	193.67	
	K ₂	200.05	200.33	197.25	198.37	
	K ₃	200.65	175.27	195.02	189.34	
	R	19.97	30.51	8.14	9.03	

由表 5 可知,按级差(R)大小,香菇菌盖各指标下各因素的主次顺序分别为: α -氨基氮, $D>C>B>A$;多糖, $B>A>D>C$ 。根据各水平下 K_1 、 K_2 、 K_3 确定各因素的最优水平组合为: α -氨基氮, $D_3C_1B_1A_3$;多糖, $B_1A_3D_2C_2$ 。由此可知,水解温度对 α -氨基氮含量影响最大,其次为初始 pH 和水解时间,而复合酶量影响最小;初始 pH 对多糖含量影响最大,其次为复合酶量和水解温度,而水解时间影响最小。复合酶法水解菌盖验证试验表明,以 α -氨基氮含量为指标,复合酶法水解香菇菌盖的最适条件是:纤维素酶 0.15%,木瓜蛋白酶 0.45%,初始 pH 4.5,水解时间 2 h,水解温度 55 $^{\circ}\text{C}$,在此条件下香菇菌盖水解液中 α -氨基氮含量可达 $0.528 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;以多糖含量为指标,复合酶法水解香菇菌盖的最适条件是:纤维素酶 0.15%,木瓜蛋白酶 0.45%,初始 pH 4.5,水解时间 3 h,水解温度 55 $^{\circ}\text{C}$,在此条件下香菇菌盖水解液中多糖含量可达 $223.61 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨 论

通过纤维素酶和木瓜蛋白酶复合法水解香菇菌柄或菌盖的工艺研究,发现菌柄的 α -氨基氮含量比菌盖高,菌柄的多糖含量与菌盖相当,复合酶法水解比单酶水解效果好,与微波法、热水浸提法等方法相比,复合酶法操作简单,条件温和, α -氨基氮和多糖的提取率高。复合酶法不仅降低了能耗,而且减少了香菇营养物质、生物活性物质和风味

物质的损耗。该方法可用于香菇 α -氨基氮及多糖的大规模提取,便于产业化。该方法用于多糖制备,饮料生产,食品添加剂或药品生产,具有潜在的开发利用价值。对香菇氨基酸及多糖的提取具有参考价值,但应用于中试阶段及大规模生产还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 尤新. 功能性发酵制品[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000:128-129.
- [2] 高珊,余晓斌. 双酶法水解茶树菇工艺的研究[J]. 食品工业科技,2008,29(1):181-183.
- [3] 李波,宋江良,赵森,等. 酶法提取香菇多糖工艺研究[J]. 食品科学,2007,28(9):274-277.
- [4] 董彩霞,黄建华,祝勇,等. 酶解法提取香菇多糖的探讨[J]. 光谱实验室,2005,22(5):947-950.
- [5] 余冬生,纪卫章. 酶法提取香菇多糖[J]. 江苏食品与发酵,2001,(4):10-11.
- [6] 张欣,韩增华,孔祥辉,等. 酶法提取香菇多糖[J]. 生物技术,1999,9(1):21-24.
- [7] 王志明,陈祥贵,黄元松. 香菇营养成分的酶法提取及利用[J]. 四川工业学院学报,1998,1(17):46-49.
- [8] 封毅. 酶法提取香菇营养成分[J]. 广西轻工业,1994,3:17-18.
- [9] 王士刚,封毅. 香菇营养成分的提取及香菇饮料的研制[J]. 食品科学,1994,(8):19-23.
- [10] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:6-7.

Study on enzymatic hydrolysis technology of *lentinula edodes*

GONG Shi-wei, YOU Hui-zhen, HU Guo-yuan, WANG Yuan, HU Jing

(School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Wuhan 430074, China)

Abstract: The enzymatic hydrolysis process of cellulose and papain for cap and stipe of *Lentinula edodes* was studied with the contents of α -amino nitrogen and polysaccharide as marker by means of single factor experiment and orthogonal tests. The results showed that the optimal hydrolysis conditions for cap of *L. edodes* were that cellulose, papain, initial pH, time and temperature are 0.15%, 0.45% or 0.3%, 4.5, 4 h and 45 $^{\circ}\text{C}$, respectively. And the optimal hydrolysis conditions for stipe of *L. edodes* were that cellulose, papain, initial pH, time and temperature are 0.15%, 0.45%, 4.5, 2 h or 3 h and 55 $^{\circ}\text{C}$, respectively. The content of α -amino nitrogen and poly saccharide can reach $4.219 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $224.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Key words: α amino nitrogen; enzymatic hydrolysis; lentinan; *Lentinula edodes*; orthogonal test

本文编辑:张 瑞