

响应面法优化脉冲强光 对巴氏奶霉菌的灭菌工艺

王 勃,朱力杰,惠丽娟,刘 贺,马 涛*

(渤海大学化学化工与食品安全学院,渤海大学粮油科学与技术研究所,辽宁锦州 121013)

摘要:为研究脉冲强光杀菌技术对巴氏奶杀菌的效果,以巴氏奶为研究对象,用霉菌灭菌率作为衡量脉冲强光灭菌技术的指标。在单因素实验基础上,选取闪照次数、闪照距离、闪照能量和样液厚度为自变量,霉菌灭菌率为响应值,利用 Box-Behnken 中心组合设计原理和响应面分析法,确定最佳条件为闪照次数 35 次、闪照距离 12.8cm、闪照能量 300J、样液厚度 2mm。在此条件下,霉菌灭菌率达到 99.97%。借助电子鼻测定分析,通过线性判别分析法(LDA)进行气味信息的分析和判断,利用 Alphasoft 分析软件对奶样进行货架期预测,得到空白样和对照样的预测货架期天数分别是 5d 和 7d,说明脉冲强光灭菌技术可以有效延长巴氏奶的货架期。

关键词:巴氏奶,灭菌,货架期,电子鼻,脉冲强光

Optimization of extraction conditions of pulsed light parameters for enhanced sterilization of mould on pasteurized milk by response surface methodology

WANG Bo, ZHU Li-jie, HUI Li-juan, LIU He, MA Tao*

(College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University, Grain and Oil Science and Technology Institute of Bohai University, Jinzhou 121013, China)

Abstract: To study the sterilization effect of the pulsed light sterilization technology to the pasteurized milk, pasteurized milk as the research object, with the sterilization rate of mould as a measure indicator. Four extraction parameters including flash times, flash distance, flash energy and samples liquid thickness were optimized using central composite design and response surface methodology based on single factor investigation for achieving maximum the sterilization rate of mould. Using Box-behnken central composite design and response surface analysis theory, the optimum extraction condition for flash times of 20, flash distance of 12.8cm, flash energy of 300J and samples liquid thickness of 2mm. Under these conditions, the sterilization rate of mould was 99.97%. By means of electronic nose analysis and determination. Odor information of two milk sample were analyzed and judged by linear discriminant analysis (LDA). Using the Alphasoft software, it was found that the shelf life of milk sample were 5d and 7d before and after pulsed light treatment. Plused light sterilization technology can extend the shelf life of pasteurized milk effectively.

Key words: pasteurized milk; sterilization; shelf life; electronic nose; pulsed light

中图分类号:TS252.2

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2015)13-0252-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.13.045

牛奶在生产加工及贮藏过程中存在很多安全隐患,由于微生物的污染导致牛奶快速腐败变质、货架期缩短、乳及乳制品品质下降等诸多问题一直困扰着人们。基于目前牛奶保鲜技术存在种种不足,诸如超高压杀菌技术、臭氧灭菌技术、紫外线消毒技术等冷灭菌技术倍受关注,其灭菌温度低,既利于保持食品中功能成分的生理活性,又有利于保持其色、香、味及营养成分。

脉冲强光技术是近年来逐步发展起来的一种新型非热灭菌技术^[1],该技术作为表面灭菌具有强度高、耗能低、瞬时性等特点能够破坏多种微生物,广泛应用于水处理、空气灭菌、食品加工、制药、乳制品等众多领域,避免了传统热灭菌对热敏性活性物质的破坏和化学灭菌带来的食品安全隐患^[2-3]。目前还没有相关文献关于脉冲强光对巴氏奶霉菌灭菌效果的研究,本实验研究脉冲强光对巴氏奶霉菌的灭

收稿日期:2014-11-24

作者简介:王勃(1986-),男,硕士,实验员,研究方向:粮油工程。

* 通讯作者:马涛(1962-),男,博士,教授,研究方向:粮油工程。

菌效果,为有效控制鲜牛奶加工及产品储藏过程中霉菌污染,提高产品品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

巴氏奶 沈阳辉山乳业有限公司;孟加拉红培养基 北京奥博星生物有限公司。

AR224CN 电子天平 奥豪斯仪器(上海)有限公司;BPS-100CA 恒温生化培养箱 上海一恒科学仪器有限公司;EC2 菌落计数分析仪 法国生物梅里埃集团;HH-6 数显恒温水浴锅 金坛市鑫鑫实验仪器厂;MiniMix400W 拍打均质器 法国 Interscience 公司;Pen3 电子鼻 德国 Airsense 公司;SW-CJ-2FD 超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司;YXQ-LS-75S11 立式全自动压力灭菌锅 北京科创百万科技发展有限公司;ZWB-I-01(LA50-800A) 脉冲强光灭菌实验柜 宁波中物光电灭菌技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 巴氏奶处理方法 分别吸取 5、10、15、20、25mL 的巴氏奶待测液于五个无菌培养皿中,用倾倒法对巴氏奶样品进行处理。

1.2.2 脉冲强光闪照处理 实验参数设定为:(1) 闪照距离 13cm、闪照能量 300J、样液厚度 2mm 的相同条件下,闪照次数为:10、20、30、40、50 次;(2) 在闪照次数 30 次、闪照能量 300J、样液厚度 2mm 的相同条件下,闪照距离为:12、13、14、15、16cm;(3) 在闪照次数 30 次、闪照距离 13cm、样液厚度 2mm 的相同条件下,闪照能量为:100、200、300、400、500J;(4) 在闪照次数 30 次、闪照距离 13cm、闪照能量 300J 的相同条件下,样液厚度为:1、2、3、4、5mm。设计以闪照能量、闪照距离、闪照次数、样液厚度为四个单因素的实验,研究脉冲强光对处理的巴氏奶的霉菌灭菌效果的影响。

1.2.3 微生物检验 将脉冲强光处理前和处理后的两种不同样品,参照 GB 4789.15-2010《食品微生物检验 霉菌和酵母计数》^[4],用菌落计数仪计算霉菌菌落数,做两次重复取平均值。霉菌灭菌率的计算公式:

$$\text{灭菌率}(\%) = \frac{[(\text{初始菌落数} - \text{处理菌落数}) / \text{初始菌落数}]}{\times 100}$$

1.2.4 优化实验条件和验证 选择闪照能量(J)、闪照距离(cm)、闪照次数(次)和样液厚度(mm)四个单因素的实验结果,分别用 A、B、C、D 表示,以巴氏奶霉菌的灭菌率(%)为响应值(Y)^[5-7],以上述四个单因素为自变量设计响应面实验设计。根据 Box-Behnken 中心组合设计原理,利用 Design Expert 8.0.6 软件分析数据,筛选脉冲强光对巴氏奶霉菌灭菌效果的最佳实验条件,设计响应面实验三水平四因素表如表 1 所示。

1.2.5 电子鼻测定方法 分别将经过脉冲强光处理对照样和未经脉冲强光处理空白样各 20mL 奶样置于 50mL 烧杯中用保鲜膜封口,在常温下放置 20min。待样品挥发性物质挥发达到平衡后,采用顶空抽样的方法对其进行测量,每个样品平行测定 3 次。

表 1 响应面实验因素水平编码表

Table 1 Factors and levels of response surface experiments

因素	水平		
	-1	0	1
A 闪照次数(次)	20	30	40
B 闪照距离(cm)	12	13	14
C 闪照能量(J)	200	300	400
D 样液厚度(mm)	1	2	3

电子鼻测定参数:进气量 360mL/min, 检测时间为 40s, 清洗时间为 90s^[8]。电子鼻系统自动记录样品的处理数据,保存后重新换上保鲜膜于冰箱内保存,每隔 24h 检测一次,持续 8d。

1.2.6 数据处理 采用 SAS8.0 对实验数据进行线性判别式分析法(Linear Discriminant Analysis, LDA)。LDA 是一种常用的模式分类方法,根据统计学原理,假定判别函数 Y 是样品 X 的线性函数,每一类样品形成一个判别函数,寻找未知样品在最大判别函数值的类别中的位置^[9]。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果与分析

2.1.1 闪照次数对霉菌灭菌率的影响 五种层次照射次数对巴氏奶霉菌的灭菌效果如图 1 所示。以相同的闪照能量、闪照距离和样液厚度为前提,探究不同闪照次数与霉菌灭菌程度的差异。图 1 中,霉菌的灭菌率随着闪照次数的增加而逐渐走高,两者正相关。闪照次数在 10~20 次层次之间,霉菌的灭菌率的增幅坡度较陡。达到 30 次时,曲线出现了第一个峰值,成为霉菌灭菌率的首个最高值。闪照次数在 30 次以后霉菌的灭菌率变化不明显,上升幅度缓慢。说明 30 次的闪照次数能达到明显的灭菌效果,随着相应的闪照次数的增加,脉冲强光设备的损坏程度和能量的损耗也有所增大,最终选择 30 次为巴氏奶最佳的霉菌灭菌次数。

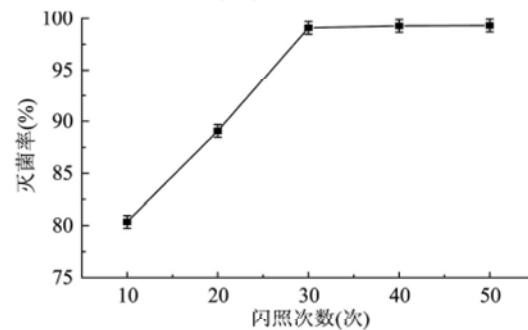


图 1 闪照次数对霉菌灭菌率的影响

Fig.1 Influence of flash times on disinfection rate of mould

2.1.2 闪照距离对灭菌率的影响 如图 2 所示,脉冲强光的闪照距离与霉菌的灭菌率呈负相关,灭菌率随着闪照距离的增加而逐渐减少,江天宝等人^[10-11]的研究表明残存的活菌数会随着闪照距离的增大而增加,与本实验研究的结果相同。闪照距离在 12cm 时灭菌效果最好,而在 16cm 时灭菌效果最差,最终选择 12cm 作为最佳。

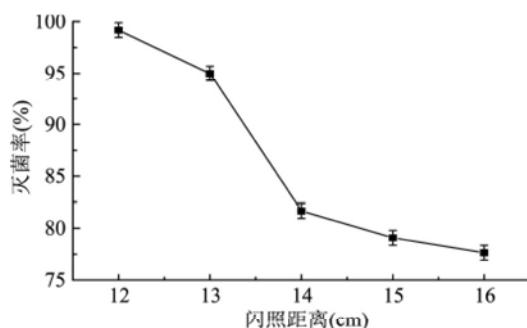


图2 闪照距离对霉菌灭菌率的影响

Fig.2 Influence of flash distance
on disinfection rate of mould

2.1.3 闪照能量对灭菌率的影响 图3中,从100J到300J闪照能量范围内,霉菌的灭菌率逐渐增大,由70.98%递增到98.77%,此区间内的灭菌效果持续保持明显状态。闪照能量增长到300J以上时,灭菌效果较为稳定,上升幅度缓慢,说明在300J的能量强度照射下,霉菌细胞受到了很大的破坏。

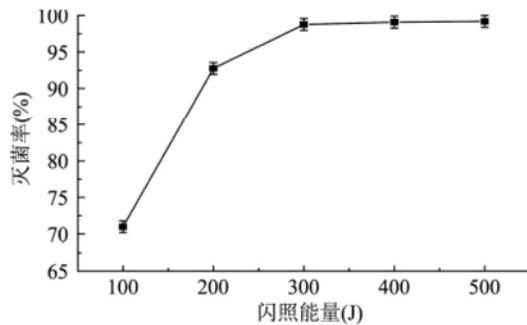


图3 闪照能量对霉菌灭菌率的影响

Fig.3 Influence of flash energy
on disinfection rate of mould

2.1.4 样液厚度对灭菌率的影响 图4中,样液厚度与霉菌灭菌率呈负相关,样液厚度增加,灭菌率效果随之降低,1mm处的样液厚度存在最大灭菌率为97.78%。之所以单因素选择样液厚度为2mm而不是1mm为最佳条件是因为两者杀菌效果相差甚微,且样液厚度越大,处理量越大,提高了处理效率。

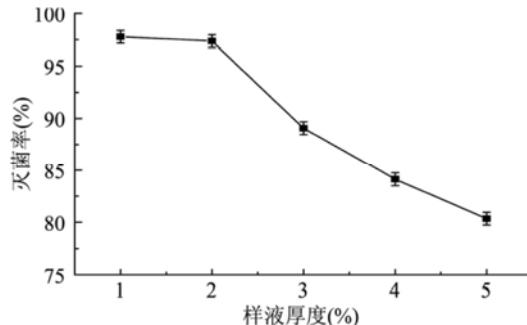


图4 样液厚度对霉菌灭菌率的影响

Fig.4 Influence of liquid sample thickness
on disinfection rate of mould

2.2 响应面法灭菌条件的优化

2.2.1 响应面实验设计及结果 采用 Design-Expert

8.0.6 软件回归分析实验数据,获得回归方程,寻找获得最大灭菌率的二次多项回归方程^[12-13]。有关闪照次数(A)、闪照距离(B)、闪照能量(C)及样液厚度(D)四个水平的二次多项回归方程如下: $Y = 99.80 - 0.094A + 0.086B + 0.13C + 0.41D + 6.13AB + 3.82AC - 3.73AD + 4.06BC - 3.11BD + 5.81CD - 7.85A^2 - 2.72B^2 - 6.24C^2 - 5.99D^2$ 。

表2 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 2 Results of response surface experiments

实验号	A	B	C	D	Y 灭菌率(%)
1	-1	-1	0	0	95.78
2	1	-1	0	0	84.13
3	-1	1	0	0	82.77
4	1	1	0	0	95.66
5	0	0	-1	-1	91.21
6	0	0	1	-1	81.67
7	0	0	-1	1	82.55
8	0	0	1	1	96.27
9	-1	0	0	-1	82.54
10	1	0	0	-1	84.85
11	-1	0	0	1	92.99
12	1	0	0	1	80.36
13	0	-1	-1	0	93.28
14	0	1	-1	0	84.37
15	0	-1	1	0	87.64
16	0	1	1	0	94.98
17	-1	0	-1	0	89.08
18	1	0	-1	0	81.53
19	-1	0	1	0	83.06
20	1	0	1	0	90.79
21	0	-1	0	-1	83.11
22	0	1	0	-1	91.37
23	0	-1	0	1	97.83
24	0	1	0	1	93.65
25	0	0	0	0	99.28
26	0	0	0	0	99.89
27	0	0	0	0	99.99
28	0	0	0	0	99.89
29	0	0	0	0	99.95

表3 中回归模型极显著($p < 0.0001$),失拟项不显著($p = 0.1372 > 0.05$),模型的失拟项表现为不显著,说明该模型建立的有意义且拟合关系良好。模型相关系数 $R^2 = 0.9585$,表明此回归模型三水平四因素的回归分析合理,四因素与Y之间有良好的线性关系,可替代性好,可用于实验结果的分析,对选取最佳工艺条件的优化预测有很高的可信度^[14-16]。在此回归模型中,一次项C和D均达到了极显著水平($p < 0.0001$),闪照次数A的影响显著($0.01 < p = 0.0112 < 0.05$),一次项B的影响不显著($p = 0.0667 > 0.05$)。由表中p值项可知,闪照次数(A)、闪照距离(B)、闪照能量(C)和样液厚度(D)对霉菌灭菌率影响大小依次排序为 D > C > A > B。二次项

表3 回归方程方差分析表
Table 3 Analysis results of regression and variance

项目	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
A	6.60	1	6.60	1.72	0.0112	*
B	0.088	1	0.088	0.023	0.0667	
C	12.79	1	12.79	3.33	0.0011	**
D	69.6	1	69.6	18.11	<0.0001	**
A^2	399.93	1	399.93	104.03	0.0003	**
AB	150.55	1	150.55	39.16	<0.0001	**
AC	58.37	1	58.37	15.18	0.2216	
AD	55.80	1	55.08	14.52	0.0019	**
B^2	48.11	1	48.00	12.51	0.0033	**
BC	66.02	1	66.02	17.17	0.0810	
BD	38.69	1	38.69	10.06	0.0168	*
C^2	252.64	1	252.64	65.72	<0.0001	**
CD	135.26	1	135.26	35.19	<0.0001	**
D^2	233.09	1	233.09	60.64	<0.0001	**
模型	1243.01	14	88.79	23.10	<0.0001	**
残差	5.76	14	0.41			
失拟项	5.12	10	0.51	4.77	0.1372	
净误差	0.64	4	0.16			
总离差	1141.21	28				

注: ** 表示差异极显著 ($p < 0.01$) , * 表示显著 ($0.01 < p < 0.05$) 。

A^2 、 B^2 、 C^2 和 D^2 以及交互项 AB、AD、CD 显示极显著影响, 交互项 BD 影响显著, 而交互项闪照次数 A、闪照能量 C 和闪照距离 B、闪照能量 D 影响不显著, 此现象表明实验选定的四种单因素影响因子对霉菌的影响不是单一的线性关系^[1]。

2.2.2 各因素之间的交互作用 见图 5~图 7。

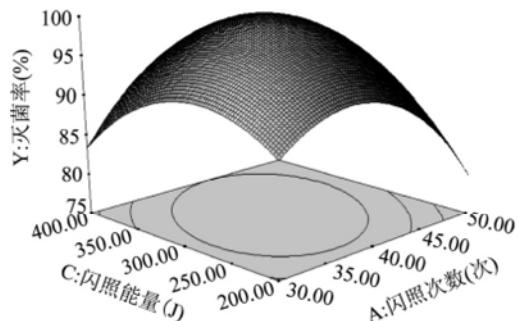


图 5 闪照次数和闪照能量对霉菌灭菌率的响应面图

Fig.5 Response surface of flash times and flash energy on the disinfection rate of mould

利用二次多项式回归方程一阶偏导, 通过 Design -Expert 8.0.6 软件对回归模型分析, 筛选出最佳实验参数: $A = 35.3$, $B = 12.13$, $C = 280.1$, $D = 2.11$ 。即闪照次数 35.3 次、闪照距离 12.13cm、闪照能量 280J、样液厚度 2.11mm, 但考虑到实际生产条件, 乳及乳制品微生物安全标准以及脉冲强光灭菌安全柜装置的设置情况, 将此最佳工艺条件修正为: 闪照次数 35 次、闪照距离 12.8cm、闪照能量 300J、样液厚度 2mm。此参数条件下重复 3 次实验验证, 巴氏奶霉菌的灭菌率平均值达到了 99.97%, 实验值与预测值接近, 符合对实验参数的预测, 该响应面分析模型可用作

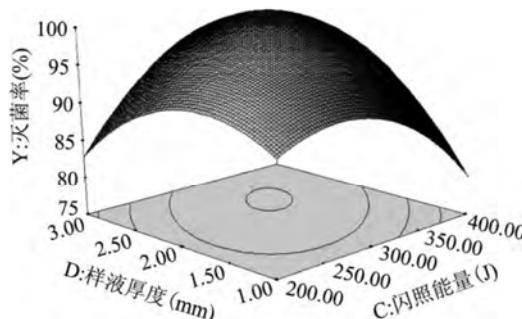


图 6 样液厚度和闪照能量对霉菌灭菌率的响应面图

Fig.6 Response surface of liquid sample thickness and flash energy on the disinfection rate of mould

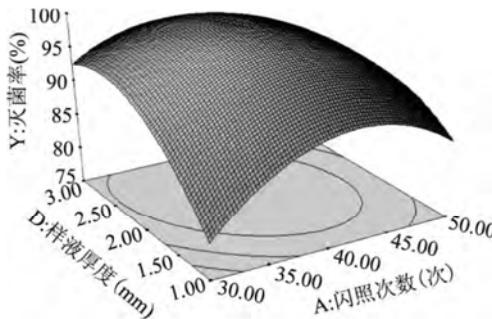


图 7 样液厚度和闪照次数对霉菌灭菌率的响应面图

Fig.7 Response surface of liquid sample thickness and flash times on the disinfection rate of mould

脉冲强光对巴氏奶霉菌灭菌条件的优化。

2.3 应用电子鼻对脉冲强光处理前后牛奶货架期的预测

2.3.1 线性判别分析法 (LDA) 从图 8 中可以看

出,LDA 判别的两个主成分的总贡献率为 94.839%, 组内信息点非常集中, 各个气味特征区分效果好, 是因为 LDA 判别了各类间的差异并将其最大化, 更加准确的判断出气味间的差别^[17-18]。图 8 是空白样品第一天货架期的主成分分析图谱, 前 5d 的牛奶气味范围区分明显, 说明未经处理的牛奶 1~5d 的气味特征范围较大。但第 6~8d 气味图谱有重叠, 此空白样的 LDA 判别结果为第 6d 开始, 空白样的气味特征范围开始模糊, 奶样的状态也变得粘稠, 颜色略微变黄, 说明其气味相似且变化小。在图 9 中, 各个气味特征判别较为明显, 两个个判别主成分贡献率分别是 91.02% 和 6.4108%, 总和超过了 85%, 区分效果非常明显。说明 6d 以后的奶样气味特征范围较为接近, 特征值相似, 电子鼻不能有效地区分各种气味成分。

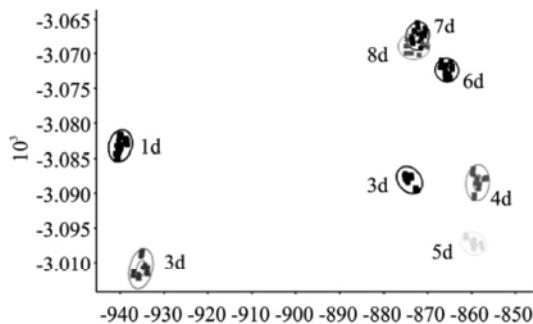


图 8 空白样的 LDA 分析图

Fig.8 LDA analysis of Blank samples

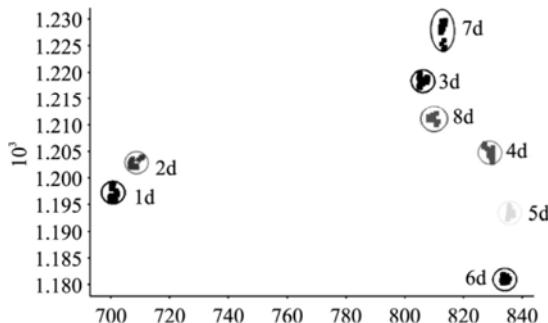


图 9 对照样的 LDA 分析图

Fig.9 LDA analysis of control sample

2.3.2 货架期分析 利用 Alphasoft 分析软件对经过不同灭菌处理的巴氏奶的气味信息进行货架期分析。相同条件下, 以存放时间为横坐标, 以不同保存时间的空白样和对照样牛奶检测的传感器响应值相对差值作为纵坐标, 绘制气味变化分析曲线。将第一次气味信息作为基准值, 若随着保存时间的延长气味强度减弱, 则曲线呈下降趋势, 分析值为负数, 反之则曲线上升, 分析值为正数。

从图 10 可知, 随着保存时间的延长, 牛奶的气味变化基本呈下降趋势, 说明随着牛奶保存天数的延长, 传感器对牛奶的气味的捕捉能力逐渐减弱, 牛奶的气味强度逐渐降低。在第 6d 和第 8d 两者分别达到了气味的突变点, 与 LDA 的分析结果基本一致。因此, 脉冲强光对巴氏奶处理前后的货架期分别是 5d 和 7d。

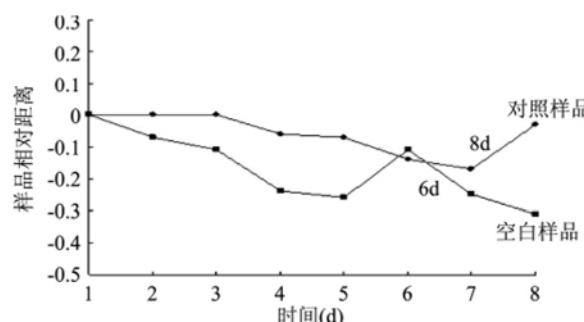


图 10 空白样和对照样的分析图

Fig.10 Alphasoft analysis chart of blank samples and control samples

3 结论

本研究通过单因素实验和 Box-Behnken 中心组合设计原理和响应面分析法对灭菌工艺进行优化, 拟合了闪照次数、闪照能量、闪照距离和样液厚度这四个因素对灭菌率的回归模型, 经检验证明该模型合理可靠。由该模型确定的最优工艺条件为闪照次数 35 次, 闪照距离 12.8cm, 闪照能量 300J 和样液厚度 2mm, 霉菌的灭菌率达到 99.97%。通过模型系数显著性检验, 得到因素的主效应关系为: 样液厚度 > 闪照能量 > 闪照次数 > 闪照距离。

利用电子鼻对脉冲强光闪照前后的巴氏奶进行货架期的分析和预测, 主要通过线性判别分析法 (LDA) 对两组奶样进行气味信息的分析和判断, LDA 的累积总贡献率为 94.839%, 说明此方法适用于巴氏奶气味特征的检测分析。利用 Alphasoft 分析软件对两组奶样进行货架期预测, 得到脉冲强光处理前后巴氏奶样品的货架期分别是 5d 和 7d, 由此证明脉冲强光灭菌技术可以有效地延长巴氏奶的货架期。

参考文献

- [1] 王纯冰, 孔庆财, 徐伟, 等. 脉冲强光对流动水中大肠杆菌的杀灭效果研究 [J]. 食品科技, 2011, 36(4): 36-40.
- [2] 张佰清, 陈丹. 脉冲强光对青霉菌的灭菌实验研究 [J]. 食品科技, 2007, 3(10): 43-45.
- [3] 张佰清, 姜树才, 刘佳. 脉冲强光处理对金黄色葡萄球菌灭菌效果的研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(1): 91-93.
- [4] 中华人民共和国卫生部. GB 4789.15-2010 食品微生物学检验 霉菌和计数 [S]. 北京: 中华人民共和国国家标准. 2010
- [5] 刘昕, 马涛, 王勃, 等. 脉冲强光对面包表面霉菌杀菌效果的研究 [J]. 食品科技, 2014, 39(3): 116-120.
- [6] 谈慧芷, 马涛, 王勃, 等. 脉冲强光对鲜牛奶细菌杀菌效果的研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(3): 241-244.
- [7] 唐明礼, 王勃, 刘贺, 等. 脉冲强光对煎饼中细菌的杀菌效果的研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(8): 272-275.
- [8] 郭奇慧, 白雪, 康小红. 电子鼻测定牛奶气味过程中测定参数的研究 [J]. 食品工业科技, 2007, 28(11): 226-228.
- [9] Hemar Y, Tamehana M, Munro P A, et al. Influence of xanthan gum on the formation and stability of sodium cassenate oil-in-water emulsions [J]. Food hydrocolloids, 2001, 15(15): 565-574.

(下转第 261 页)

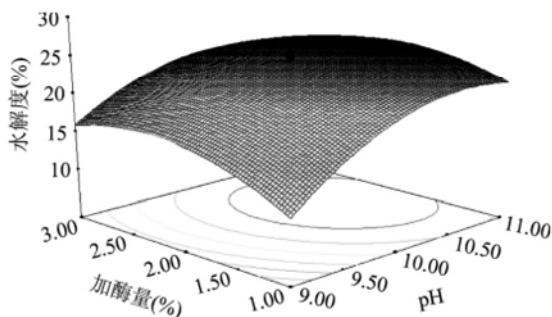


图9 加酶量和pH对水解度影响的响应面图

Fig.9 Response surface of enzyme dosage and pH on degree of hydrolysis

结合实际的可操作性，在60℃、pH10.5、加酶量2%下水解度为26.01%，与预测值的误差为1.88%。说明采用响应面优化得到的酶解条件可靠具有实用价值。

2.3 酶解液理化指标的测定结果

由表5可知，较酶解前子实体粉相比，酶解后其蛋白质含量减少了5.02g/100g，分析原因，可能是由于在酶解结束后离心弃沉淀造成氮元素的损失，因而使酶解液中蛋白质含量减少。双孢蘑菇酶解后可溶性多糖含量达到4.42g/100g，高出酶解前3.30g/100g。同时，双孢蘑菇酶解液中还原糖的含量由酶解前的2.36g/100g升高到酶解后的4.51g/100g，这可能是因为蛋白酶将双孢蘑菇细胞组织中的大分子蛋白降解，破坏了细胞壁和细胞膜的结构，使胞内多糖和小分子还原糖充分暴露出来，溶解、混悬于溶液中。

表5 双孢蘑菇子实体酶解前后理化指标的变化

Table 5 Changes of *Agaricus bisporus* fruit body after enzymatic hydrolysis of physicochemical index

指标	蛋白质含量 (g/100g)	可溶性多糖含量 (g/100g)	还原糖含量 (g/100g)
酶解前	17.78	1.12	2.36
酶解后	12.76	4.42	4.51
变化值	-5.02	3.30	2.15

3 结论

以双孢蘑菇子实体蛋白为原料，分别采用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、复合蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋

(上接第256页)

[10] 江天宝, 陆蒸, 陆则坚, 等. 脉冲强光对竹笋制品(玉兰片)灭菌效果及品质的影响[J]. 中国食品学报, 2007, 7(3): 102-106.

[11] Mun-Sil Choi, Chan-Ick Cheigh, Eun-Ae Jeong, et al. Nonthermal sterilization of *Listeria monocytogenes* in infant foods by intense pulsed-light treatment [J]. Journal of Food Engineering, 2010(97): 504-509.

[12] Hu J Y, Chu X N, Quek P H, et al. Repair and regrowth of *Escherichia coli* after low- and medium-pressure ultraviolet disinfection [J]. Water Science & Technology: Water Supply, 2005, 5(5): 101-108.

[13] M O Buffle, J Schumacher E Salhi. Ozonation and Advanced Oxidation of Waste water: Effect of O₃ Dose, PH, DOM and

白酶5种酶在各自适宜条件下酶解，以水解度为指标筛选得到最适酶为碱性蛋白酶。采用响应面设计优化碱性蛋白酶酶解双孢蘑菇子实体蛋白的条件为：温度60℃，酶解时间4h，pH10.5，加酶量2%，料水比1:12，在此条件下水解度达到26.01%。

通过对双孢蘑菇子实体酶解前后理化性质的测定结果表明，虽然酶解后蛋白质含量有一定的损失，但其转化成了更易被人体吸收的小分子肽和氨基酸；同时经水解后可溶性多糖和还原糖含量都有了较大幅度的提高，分别增加了3.95倍和1.91倍。双孢蘑菇子实体蛋白是优质的蛋白质营养源，采用酶解技术得到具有丰富营养价值的调味基料，为双孢蘑菇制备功能性饮料和生物活性肽等提供理论依据。

参考文献

- [1] 沈若蒙.速冻双孢蘑菇[J].冷饮与速冻食品工业, 2002, 8(3): 30-32.
- [2] 吴锦文.国外食用菌生产、进出口贸易、市场行情及发展动态[J].食品与发酵工业, 2000, 26(4): 54-58.
- [3] 吴素玲, 孙晓明, 王波, 等.双孢蘑菇子实体营养成分分析[J].中国野生植物资源, 2006, 25(2): 47-52.
- [4] 李桂峰, 王向东, 赵国建, 等.酶解双孢蘑菇蛋白制备抗氧化肽的研究[J].中国食品学报, 2011, 11(15): 37-43.
- [5] Wergedahl H, Liaset B, Gudbrandsen O A. Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL-cholesterol and lowers Acyl-CoA-Cholesterol Acyltransferase activity in liver of zucker rats [J]. Journal of Technology, 2004, 134(6): 1320-1327.
- [6] 赵春江, 孙进, 彭莉娟, 等.响应面法优化鸡腿蘑菇子实体蛋白酶解工艺条件[J].中国食品学报, 2013, 13(6): 88-95.
- [7] Box G P, Behnken D W. Some new three level design for the study of quantitative variables [J]. Technometrics, 1960, (2): 456-475.
- [8] Adler-Nisse J. Enzymatic hydrolysis of food protein [M]. London: Elsevier Applied Science publishers, 1986.
- [9] GB 5009.5-2010. 食品中蛋白质的测定[S].
- [10] 吴涛, 庞坤宇, 侯杰, 等.枸杞多糖含量种间差异比较[J]. 北华大学学报, 2013, 26(5): 594-596.
- [11] GB/T 5009.7-2008. 食品中还原糖的测定[S].
- [12] 窦银花, 田怀香. 响应面分析法优化南美白对虾的酶解工艺研究[J]. 中国调味品, 2013, 38(2): 34-39.
- [13] HO-Scavengers on Ozone Decomposition and HO - Generation [J]. Ozone: Science and Engineering, 2006, 28(4): 247-259.
- [14] 唐明礼, 王勃, 刘贺, 等. 响应面优化脉冲强光对煎饼表面大肠杆菌的杀菌效果[J]. 食品科学, 2014, 35(16): 91-95.
- [15] 王勃, 刘昕, 马涛, 等. 响应面法优化脉冲强光对面包表面细菌的杀菌工艺[J]. 食品科学, 2014, 35(18): 74-77.
- [16] 王鑫垚, 马涛, 王勃, 等. 响应面法优化脉冲强光杀灭干豆腐大肠杆菌条件的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 306-309.
- [17] 萝莉, 王金水, 渠琛玲, 等. 电子鼻在乳制品中的应用[J]. 农产品加工学刊, 2007(9): 9-11.
- [18] 徐亚丹, 王俊, 赵国军. 基于电子鼻的对掺假的“伊利”牛奶的检测[J]. 中国食品学报, 2007, 6(5): 111-118.