李兴艳, 王炎, 张瑞霞, 等. 基于统计学和营养学的三种藻粉蛋白质营养价值评价与方法分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 322-329. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110369

LI Xingyan, WANG Yan, ZHANG Ruixia, et al. Nutritional Value Evaluation and Method Analysis of Three Algae Powder Proteins Based on Statistics and Nutrition[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(17): 322–329. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110369

・分析检测・

基于统计学和营养学的三种藻粉蛋白质营养 价值评价与方法分析

李兴艳¹,王 炎¹,张瑞霞¹,曹晓琴²,马 娟²,罗光宏^{3,4},焦 扬^{1,3,*} (1.河西学院生命科学与工程学院,甘肃张掖 734000; 2.张掖美洁环境保护技术有限责任公司,甘肃张掖 734000; 3.甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室,甘肃张掖 734000; 4.甘肃省微藻工程技术研究中心,甘肃张掖 734000)

摘 要:采用主成分分析法、模糊识别法、氨基酸含量比值法和氨基酸比值系数法,分析了丝路寒旱区的小球藻、螺旋藻和杜氏盐藻藻粉蛋白质的营养价值,并对4种分析方法进行了比较。结果表明:丝路寒旱区的小球藻、螺旋藻和杜氏盐藻藻粉蛋白含量差异显著(P<0.05),以小球藻藻粉蛋白含量最高为70.77g/100g·DW,且均含有17种氨基酸,包括除色氨酸外的7种人体必需氨基酸,必需氨基酸占总氨基酸的质量分数均接近FAO/WHO 氨基酸模式谱。三种藻粉蛋白质的贴近度分别为0.879、0.982和0.906;第一限制氨基酸均为甲硫氨酸;氨基酸比值系数分由高到低为小球藻(82.89)>螺旋藻(81.78)>杜氏盐藻(74.46)。主成分分析提取出4个主成分,累计方差贡献率为98.305%,可较好反映藻粉蛋白质氨基酸综合品质。综合四种评价方法的特点,氨基酸比值系数法和模糊识别法均对蛋白质中必需氨基酸从生物吸收的角度开展分析,但就计算方法而言,氨基酸比值系数法更严谨。本研究中模糊识别法与主成分分析法的结果虽然是一致的,但采用主成分分析法分析蛋白质中代表性氨基酸种类可能更好些。FAO/WHO推荐的蛋白质 E/N和E/T值分析法,仅关注的是必需氨基酸的量,没考虑生物吸收必需氨基酸的特点。综上,丝路寒旱区三种藻粉蛋白质的营养价值依次为小球藻>螺旋藻>杜氏盐藻。

关键词:藻粉蛋白质,氨基酸比值系数法,模糊识别法,主成分分析法

中图分类号:TS201.4 文献标识码:A 文章编号:1002-0306(2022)17-0322-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110369



002-0300.2021110309

Nutritional Value Evaluation and Method Analysis of Three Algae Powder Proteins Based on Statistics and Nutrition

LI Xingyan¹, WANG Yan¹, ZHANG Ruixia¹, CAO Xiaoqin², MA Juan², LUO Guanghong^{3,4}, JIAO Yang^{1,3,*}

- (1. College of Life Sciences and Engineering, Hexi University, Zhangye 734000, China;
- 2. Zhangye Meijie Environmental Protection Technology Co., Ltd., Zhangye 734000, China;
- 3. Key Laboratory of Hexi Corridor Resources Utilization of Gansu, Zhangye 734000, China;
- 4. Engineering Technology Research Center for Microalgae of Gansu, Zhangye 734000, China)

Abstract: The nutritional value of *Chlorella*, *Spirulina platensis* and *Dunaliella salina* powder proteins in the cold and arid regions of the silk road was analyzed by principal component analysis, fuzzy recognition method, amino acid content ratio method and amino acid ratio coefficient method, and four analysis methods were compared. The results showed that the protein content of *Chlorella*, *Spirulina platensis* and *Dunaliella salina* in the cold and arid regions of the silk road was

收稿日期: 2021-12-01

基金项目: 甘肃省科技计划资助(18JR2JG001);甘肃省高等学校产业支撑计划项目(2020C-25);甘肃省科技厅民生科技专项(20CX9NG118);河西学院青年基金项目(QN2016008)。

作者简介: 李兴艳(1989-),女,硕士,讲师,研究方向:食品化学与营养学,E-mail:lixingyanxndx@163.com。

^{*} **通信作者:**焦扬(1973–), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 天然产物与食品生物技术, E-mail: yangjiao2808@163.com。

significantly different (*P*<0.05). The highest protein content of *Chlorella* powder was 70.77 g/100 g·DW, and all contained 17 amino acids, including 7 essential amino acids except tryptophan. The mass fraction of essential amino acids in total amino acids was close to FAO/WHO amino acid pattern spectrum. The closeness degree of three algae powder proteins were 0.879, 0.982 and 0.906, respectively. The first limiting amino acid was methionine; the amino acid ratio coefficients from high to low were *Chlorella* (82.89)>*Spirulina platensis* (81.78)>*Dunaliella salina* (74.46). Four principal components were extracted by principal component analysis, and the cumulative variance contribution rate was 98.305%, which could better reflect the comprehensive quality of amino acids in algal protein. Based on the characteristics of the four evaluation methods, the amino acid ratio coefficient method and the fuzzy recognition method were used to analyze the essential amino acids in proteins from the perspective of biological absorption. However, in terms of calculation methods, the amino acid ratio coefficient method was more rigorous. Although the results of the fuzzy recognition method and the principal component analysis method in this study were consistent, it may be better to use the principal component analysis method to analyze the representative amino acids in proteins. The protein E/N and E/T value analysis recommended by FAO/WHO only focused on the amount of essential amino acids, without considering the characteristics of biological absorption of essential amino acids. In conclusion, the nutritional value of three algae powder proteins in the cold and arid regions of silk road is *Chlorella>Spirulina platensis>Dunaliella salina*.

Key words: algae powder protein; amino acid ratio coefficient method; fuzzy recognition method; principal component analysis method

螺旋藻(Spirulina),属蓝藻门,蓝藻纲,颤藻科,螺旋藻属或节旋藻属,其蛋白质含量可达 60%,且氨基酸组成平衡,消化率高^[1-2]。小球藻(Chlorella),属绿藻纲,绿球藻目,卵囊藻科,小球藻属,是普生性单细胞绿藻^[3],在自然界中分布广泛,能利用光能自养,也能在异养条件下利用有机碳源进行生长、繁殖,其富含蛋白质,营养价值较高^[4]。杜氏盐藻(Dunaliella),属绿藻门、真绿藻纲、团藻目、盐藻科,为绿色单细胞藻,是绿藻门中唯一缺乏细胞壁的藻类^[5],具有糖蛋白形成的包被,含有丰富的β-胡萝卜素、蛋白质、多糖等^[6]。螺旋藻、小球藻和杜氏盐藻分别在2004年、2012年和 2009年被卫生部确定为新资源食品。

目前,采用统计学或营养学的方法对蛋白质营养评价的研究较多,如:魏文志等^[7] 采用必需氨基酸指数法评价了7种小球藻营养价值,并利用主成分和聚类分析法比较分析了7种小球藻蛋白质氨基酸的差异性。董黎明等^[8] 利用氨基酸分和必需氨基酸指数对来自不同产地的4株蛋白核小球藻和2株椭圆小球藻进行了营养价值评价,并运用统计学方法探讨了异养小球藻在营养成分和氨基酸含量上的差异等。但对统计学和营养学评价蛋白质方法的差异研究报道较少。

本工作拟以丝路寒旱区产螺旋藻、小球藻和杜氏盐藻三种微藻的冻干粉为研究对象,以相关文献报道的蛋白质营养价值较高的小球藻、螺旋藻、杜氏盐藻为对照,采用统计学和营养学的分析方法,对三种藻粉蛋白质的营养价值进行综合比较,并分析各种方法的特点,以期对藻粉质量的监管和藻类产品的营养评价提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

氨基酸混合标准品(0.1 μmol/mL) 美国 Sigma

公司;硫酸 成都市科隆化学品有限公司;硫酸铜、硫酸钾、甲基红指示剂 天津市致远化学试剂有限公司;氢氧化钠 天津市北联精细化学品开发有限公司;盐酸 白银良友化学试剂有限公司;硼酸 天津市福晨化学试剂厂;溴甲酚绿指示剂 天津市天新精细化工开发中心;95% 乙醇 天津市百世化工有限公司,以上试剂均为分析纯;藻类名称和来源如表1所示。

表 1 藻种名称与来源 Table 1 Algae name and source

名称	藻种	藻粉来源	分类
1#小球藻	蛋白核小球藻		
1#螺旋藻	螺旋藻	甘肃凯源微藻工程技术中心	实验组
1#杜氏盐藻	杜氏盐藻		
2#小球藻[9]	蛋白核小球藻	神州生物工程有限公司	
2#螺旋藻[10]	螺旋藻	中国科学院水生生物所藻种库	对照组
2#杜氏盐藻[11]	杜氏盐藻	内蒙古兰太生物工程公司	

L-8900 型全自动氨基酸自动分析仪 株式会社 日立制作所; RE-52AA 型旋转蒸发仪 上海亚荣生 化仪器厂; DHG-9246A 型电热恒温鼓风干燥箱 上 海玺袁科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

- 1.2.1 粗蛋白含量测定 参照 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》中凯氏定氮法测定。
- 1.2.2 氨基酸含量测定 参照 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准食品中氨基酸的测定》的酸水解法,利用氨基酸自动分析仪测定。

1.3 蛋白质营养评价方法

1.3.1 模糊识别法 设 U 为待评价的各种藻粉蛋白,即U={u₁,u₂,u₃,u₄,u₅,u₆},其中,u₁为 1#小球藻蛋白,u₂为 1#螺旋藻蛋白,u₄为 1#杜氏盐藻蛋白,u₄为 2#小

球藻蛋白, u_s 为 2#螺旋藻蛋白, u_6 为 2#杜氏盐藻蛋白。对于每一个对象 u_i 对应一个模式 $P(u_i) = (u_{i_1}, u_{i_2}, u_{i_3}, \cdots, u_{i_7})$, $(i=1,2,\cdots,6)$, 模式中 7 分量分别代表对象 u的 7 种必需氨基酸含量。以鸡蛋蛋白为标准蛋白质, 其中必需氨基酸含量 $(mg/g\cdot Pro)$ 为: $P(a) = (a_1,a_2,a_3,\cdots,a_7) = (50.3,92.5,56.3,34.1,56.3,52.3,68.3)$, a_1,a_2,\cdots,a_7 分别是异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸及缬氨酸的含量[12-13]。

根据兰式距离法定义对象u和标准蛋白a的贴近度 $U(a,u)^{[14-15]}$,即

$$U(a, u_i) = 1 - C \sum_{k=1}^{7} \frac{|a_k - u_{ik}|}{a_k + u_{ik}}$$

式中: a_k 表示标准蛋白模式的第 k 种必需氨基酸含量, $mg/g \cdot pro; u_k$ 表示第i个待评价对象的第 k 种必需氨基酸含量, $mg/g \cdot pro; 1 \le k \le 7$ 。

1.3.2 氨基酸比值系数法 根据氨基酸平衡理论,以鸡蛋蛋白中必需氨基酸模式谱计算必需氨基酸比值 (EAA)、氨基酸比值系数(RC)和氨基酸比值系数分(SRC)^[16-17]。

式(2)

$$RC = \frac{EAA}{EAA}$$

式中: EAA为 EAA 的平均值; CV 为 RC 的变异系数。

1.4 数据处理

采用 EXCEL2016 对实验数据计算, 结果以平均值±标准差表示。采用 SPSS26.0 软件进行显著性、相关性、主成分和聚类分析。显著性分析采用单因素方差分析, 差异显著性水平为 P<0.05; 相关性分析为 pearson 相关; 聚类分析采用系统聚类法计算组间平方欧式距离。

2 结果与分析

2.1 三种藻粉的蛋白质及氨基酸含量比较

由表 2 可见,实验组三种藻粉的蛋白质含量差异显著(P<0.05),其中小球藻的蛋白质含量最高,为70.77 g/100 g·DW,杜氏盐藻的蛋白质含量最低,为42.29 g/100 g·DW。就实验组三种藻粉而言,小球藻的蛋白含量虽与螺旋藻差异不大,但较杜氏盐藻高,

表 2 藻粉中蛋白质含量(g/100 g·DW)

Table 2 Protein content of algae powder (g/100 g·DW)

		实验组		对照组	<u> </u>		
	1#小	1#螺	1#杜氏	2#小	2#螺	2#杜氏	
	球藻	旋藻	盐藻	球藻[9]	旋藻 ^[10]	盐藻[11]	
蛋白质	70 77 1 073	65 56 10 07h	42.20 : 1.026				

蛋白质 含量 70.77±1.97° 65.56±2.27° 42.29±1.82° 63.98 68.13 29.40 这种趋势与文献报道的三种藻粉的蛋白含量趋势一致,由此,可以用三种藻粉进行蛋白质营养评价和方法研究。

为对三种藻粉的蛋白质进行营养评价,本研究 分析了实验组三种藻粉蛋白质的氨基酸组成与含量, 以文献报道的相应藻粉为对照,进行蛋白质中氨基酸 的比较,结果如表 3 所示。

表 3 藻粉蛋白质的氨基酸组成及含量(mg/g·pro)

Table 3 Amino acid composition and content of algae powder protein (mg/g·pro)

		实验组			对照组				
氨基酸	1#螺 旋藻	1#小 球藻	1#杜氏 盐藻	2#螺旋 藻 ^[10]	2#小球 藻 ^[9]	2#杜氏 盐藻 ^[11]			
Asp	105.56a	71.37 ^b	88.69 ^{ab}	64.70	85.96	104.76			
Thr*	51.05 ^a	32.73^{b}	41.85^{ab}	38.98	37.51	30.27			
Ser	43.77a	26.66^{b}	34.55ab	37.99	28.45	52.72			
Glu	125.80^{a}	86.65 ^b	96.43ab	104.36	107.06	126.19			
Gly	50.06 ^a	41.50^{a}	43.32a	32.83	58.14	53.40			
Ala	75.19 ^a	66.46 ^a	57.36a	58.55	75.18	70.07			
Cys	5.12a	5.71ª	4.85^{a}	4.30	6.25	20.07			
Val*	59.60 ^a	43.64^{a}	50.07^{a}	33.35	56.42	62.59			
Met*	21.91ª	15.95 ^b	10.85°	26.90	15.79	17.01			
Ile*	62.87 ^a	34.27^{b}	41.17^{b}	36.37	40.33	39.80			
Leu*	102.10^{a}	77.95ª	87.76 ^a	63.94	84.25	84.35			
Tyr	49.66ª	28.27^{b}	28.53 ^b	33.36	27.82	31.29			
Phe*	52.68ª	41.83ª	52.29a	37.56	50.33	49.66			
Lys*	53.03ª	45.62a	46.48 ^a	34.32	56.74	47.28			
His	19.11 ^a	17.84^{a}	18.71 ^a	14.80	20.63	13.61			
Arg	84.39a	48.72^{b}	50.79^{b}	46.92	51.58	53.06			
Pro	63.28 ^a	45.52 ^b	53.15 ^{ab}	33.77	49.39	49.66			
E	403.26^{a}	291.98 ^b	330.47^{ab}	271.42	341.36	330.96			
N	621.92 ^a	438.70^{b}	476.36^{b}	431.59	510.47	574.83			
T	1025.18a	730.68 ^b	806.84^{ab}	703.01	851.83	905.79			
E/N(%)	64.84 ^b	66.56 ^{ab}	69.37 ^a	62.89	66.87	57.58			
E/T(%)	39.34 ^b	39.96 ^{ab}	40.96 ^a	38.61	40.07	36.54			

注:1.采用国标方法酸水解法处理样品,可使色氨酸破坏而没有检测到色氨酸;2.*为必需氨基酸,表4、表6同;E为必需氨基酸总量;N为非必需氨基酸总量;T为氨基酸总量;3.同行不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

由表 3 可见, 实验组杜氏盐藻的总氨基酸和必 需氨基酸含量与小球藻和螺旋藻的相比无显著差异 (P>0.05),但小球藻和螺旋藻的总氨基酸和必需氨基 酸含量差异显著(P<0.05), 三者的氨基酸总量在 730.68~1025.18 mg/g·pro 之间, 必需氨基酸总量在 291.98~403.26 mg/g·pro 之间。另外, 实验组小球藻 的 E/N 和 E/T 与杜氏盐藻和螺旋藻的无显著差异 (P>0.05), 但杜氏盐藻与螺旋藻的 E/N 和 E/T 差异 显著(P<0.05)。就实验组三种微藻而言, 杜氏盐藻 的 E/N 与 E/T 是最高的, 分别为 69.37% 和 40.96%, 而螺旋藻的 E/N 与 E/T 是最低的, 分别为 64.84% 和 39.34%。进一步可以看出,实验组三种藻粉的 Met 组间差异显著(P<0.05), 而大多数氨基酸的组间 差异不显著(P>0.05)。由此,以 E/N 和 E/T 比较而 言,实验组三种微藻的蛋白质营养评价依次为杜氏盐 藻>/小球藻>螺旋藻。

注: 不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

2.2 三种微藻蛋白质中氨基酸的统计学分析

采用统计学分析,可将大量的数据借助不同的分析手段,通过数据降维以排除众多信息共存中相互重叠的信息,同时,这些变量要尽可能多地表征原变量的数据结构特征而不丢失信息[18],由此以主成分分析法和模糊数学法进行三种微藻的蛋白质营养分析。

2.2.1 主成分分析 以实验组三种藻粉的 17 种氨基酸为分析对象,引入文献报道的相对应的三种微藻的 17 种氨基酸,先对 6 种藻粉蛋白质的氨基酸组分进行相关性分析,结果如表 4 所示。

由表 4 可见, 各种氨基酸组分间相关性有差异, 有的氨基酸含量间呈负相关如, Met 与 Asp、Leu、Phe、Lys、His、Pro、Gly、Cys、Val; 有的氨基酸含量间呈极显著正相关(P<0.01)如, Asp 与 Val, Ile 与 Tyr、Arg, Tyr与 Arg, Leu 与 Pro; 有的氨基酸含量间 呈显著正相关(P<0.05)如, Asp 与 Leu、Phe 和 Pro, Gly 与 Ala、Val 与 Phe和 Lys, Ile 与 Leu 和 Pro 等, 且大部分氨基酸组分间相关系数绝对值在 0.5~0.8 之间, 属中等程度的相关, 说明各氨基酸间相关性较 强[19]。

由相关性关系表明,各氨基酸之间既有差异又具有一定的相关性,可用主成分分析对不同藻粉蛋白质的氨基酸数据进行降维和综合评价^[20]。以6种藻粉蛋白质的17种氨基酸的量构成17×6矩阵进行PCA,得出主成分的特征值和方差贡献率,按照特征值大于1的原则提取主成分,结果如表5所示。

由表 5 可见,前 4 个主成分的特征值均大于 1,累计贡献率为 98.305%,表明前 4 个主成分基本可反映 6 种藻粉蛋白质氨基酸的绝大部分信息。因此,可选前四个主成分作为相互独立的综合性变量来代替 17 种氨基酸对藻粉蛋白质进行全面分析^[18]。

载荷值主要反映了各氨基酸与主成分间的相关系数,其绝对值大小能够反映各氨基酸对主成分的影响程度,载荷值绝对值越大说明该氨基酸对主成分的影响越大^[21]。4个主成分的因子载荷矩阵,如表6所示。

由表 5、表 6 可见,第 1 主成分的特征值 8.924,在 PC1 方向 Asp、Leu、Pro 的载荷值较高,且与PC1 呈高度正相关。第二主成分的特征值 3.348,在PC2 方向 Met 与 Tyr 的载荷值较高,且与 PC2 呈正相关。第三主成分的特征值 3.318,在 PC3 方向 Ser、Cys 和 His 的载荷绝对值较高,其中 Ser 和 Cys 与PC3 呈正相关,His 与 PC3 呈负相关。在 PC4 方向Ala 的载荷值较高,且与 PC4 呈正相关。由此可知,影响主成分的主要氨基酸中包括 Leu 和 Met 2 种必需氨基酸和 Asp、Pro、Tyr、Ser、Cys、His 和 Ala 7 种非必需氨基酸。

利用 PCA 中前 4 个成分对 6 种藻粉蛋白质氨基酸进行了综合评价, 得藻粉蛋白质氨基酸 4 个主成分因子的线性关系分别为^[23]:

 F_1 =0.308 X_1 +0.172 X_2 +0.141 X_3 +0.237 X_4 +···+
0.129 X_{15} +0.279 X_{16} +0.313 X_{17}

 $\begin{aligned} &F_2 = -0.066X_1 + 0.366X_2 + 0.135X_3 + 0.136X_4 + \cdots - \\ &0.087X_{15} + 0.284X_{16} - 0.020X_{17} \end{aligned}$

 $F_3=0.175X_1-0.255X_2+0.462X_3+0.333X_4+\cdots-0.490X_{15}-0.052X_{16}-0.119X_{17}$

 $\begin{aligned} &F_4 = -0.182X_1 - 0.162X_2 - 0.211X_3 + 0.130X_4 + \cdots + \\ &0.129X_{15} + 0.036X_{16} - 0.211X_{17} \end{aligned}$

因 4 个主成分可从不同方面反映藻粉蛋白质氨基酸的总体水平,单独使用某一种主成分并不能对其质量做出综合性评价,因此以每个主成分对应的方差贡献率作为权重,对 4 个主成分进行权重加和,建立

表 4 六种藻粉蛋白质氨基酸的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of amino acids of six algae powder proteins

氨基酸	Asp	Thr*	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys	Val*	Met*	Ile*	Leu*	Tyr	Phe*	Lys*	His	Arg	Pro
Asp	1																
Thr*	0.281	1															
Ser	0.670	0.043	1														
Glu	0.791	0.271	0.853^{*}	1													
Gly	0.723	-0.036	0.176	0.514	1												
Ala	0.576	0.125	0.141	0.561	0.821^{*}	1											
Cys	0.540	-0.591	0.716	0.557	0.448	0.261	1										
Val*	0.941**	0.094	0.474	0.680	0.905^{*}	0.724	0.570	1									
Met*	-0.259	0.251	0.283	0.335	-0.421	0.026	-0.147	-0.408	1								
Ile*	0.687	0.842^{*}	0.388	0.647	0.334	0.518	-0.133	0.532	0.204	1							
Leu*	0.850^{*}	0.572	0.263	0.492	0.635	0.589	0.071	0.811	-0.353	0.829^{*}	1						
Tyr	0.489	0.782	0.464	0.638	0.053	0.400	-0.140	0.279	0.528	0.921**	0.584	1					
Phe*	0.863^{*}	0.387	0.270	0.469	0.758	0.464	0.215	0.871^{*}	-0.572	0.606	0.893^{*}	0.269	1				
Lys*	0.639	0.225	-0.095	0.306	0.909^{*}	0.807	0.090	0.813^{*}	-0.489	0.482	0.780	0.167	0.801	1			
His	0.064	0.504	-0.652	-0.265	0.379	0.358	-0.630	0.201	-0.400	0.349	0.505	0.083	0.471	0.699	1		
Arg	0.665	0.780	0.381	0.631	0.320	0.575	-0.100	0.522	0.241	0.985^{**}	0.815^{*}	0.941^{**}	0.535	0.472	0.310	1	
Pro	0.838^{*}	0.563	0.242	0.456	0.617	0.562	0.060	0.798	-0.386	0.812*	0.999**	0.563	0.892^{*}	0.772	0.512	0.798	1

表 5 主成分的特征值和贡献率

Table 5 Eigenvalues and contribution rates of principal components

主成分	特征值	方差贡献率(%)	累积贡献率(%)
1	8.924	52.496	52.496
2	3.348	19.692	72.188
3	3.318	19.515	91.703
4	1.122	6.601	98.305
5	0.288	1.695	100.000

表 6 主成分的因子载荷矩阵

Table 6 Factor loading matrix of the principal components

复甘酚	载荷							
氨基酸	PC1	PC2	PC3	PC4				
Asp	0.920	-0.120	0.318	-0.193				
Thr*	0.514	0.669	-0.465	-0.172				
Ser	0.421	0.247	0.841	-0.223				
Glu	0.709	0.248	0.606	0.138				
Gly	0.754	-0.555	0.065	0.309				
Ala	0.734	-0.152	0.028	0.649				
Cys	0.229	-0.430	0.868	-0.014				
Val*	0.894	-0.385	0.231	0.007				
Met*	-0.187	0.815	0.302	0.448				
Ile*	0.848	0.513	-0.124	-0.038				
Leu*	0.951	-0.020	-0.198	-0.192				
Tyr	0.631	0.763	0.037	0.055				
Phe*	0.873	-0.311	-0.120	-0.303				
Lys*	0.800	-0.441	-0.318	0.254				
His	0.385	-0.160	-0.893	0.137				
Arg	0.832	0.520	-0.095	0.038				
Pro	0.935	-0.036	-0.217	-0.224				

注:-表示该氨基酸对主成分有负向影响[22]。

综合评价模型 $F=0.525F_1+0.197F_2+0.195F_3+0.066F_4$, 计算各藻粉蛋白质氨基酸的综合得分, 结果如表 7 所示。进一步对藻粉种类进行了 Q 型聚类, 结果如图 1 所示。

表 7 藥粉蛋白氨基酸的主成分得分、综合得分及综合排名 Table 7 Principal component score, comprehensive score and comprehensive ranking of algae powder protein amino acids

种类	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F	综合排名
1#小球藻	-2.30	-0.75	-1.04	0.34	-1.54	6
2#小球藻	0.92	-1.78	-1.28	1.31	-0.03	3
1#螺旋藻	4.51	2.35	-0.54	0.12	2.73	1
2#螺旋藻	-4.09	2.27	0.75	0.29	-1.53	5
1#杜氏盐藻	-0.23	-0.76	-1.28	-1.91	-0.64	4
2#杜氏盐藻	1.18	-1.33	3.38	-0.16	1.01	2

F 值越大, 表明该种藻粉蛋白质氨基酸的综合评价越好^[24]。由表 7 可见, 实验组三种微藻蛋白质的主成分分析的评价排序为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻。

由图 1 可见,在欧几里得距离小于 5 时,实验组小球藻和杜氏盐藻聚为一类,而在欧几里得距离为 15 时,6 种藻粉可被聚为 3 类,其中,实验组和对照组的螺旋藻各聚为一类,实验组和对照组的小球藻与杜氏盐藻聚为一类。由此表明,从主成分分析来看,实验组小球藻和杜氏盐藻两者蛋白质的氨基酸更接

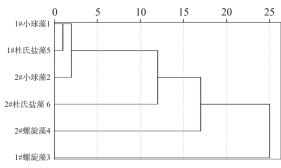


图 1 藻粉系统聚类分析图

Fig.1 System cluster analysis of algae powder

近,而实验组的螺旋藻与对照组的螺旋藻蛋白质的氨基酸差异较大。

综上所述,以主成分分析法对三种藻粉蛋白质 营养评价排序为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻。

因主成分分析法考虑了 17 种氨基酸对藻粉蛋白质的评价贡献情况,没有区分必需氨基酸和非必需氨基酸对蛋白质营养的贡献差异,由此,采用模糊识别法以待分析蛋白质中必需氨基酸与标准蛋白中必需氨基酸的贴近度 U,进一步对实验组藻粉的蛋白进行营养评价。

2.2.2 模糊识别法分析 根据公式(1)计算待评藻粉蛋白相当于标准蛋白(鸡蛋蛋白)的贴近度,常数C取 0.09以使计算结果处于区间 [0,1],能增加分辨度,利于结果比较。以 U=1 作为标准,其结果越大,表明此藻粉蛋白质越接近模式蛋白,营养价值较高^[25],结果如表 8 所示。

表 8 不同藥粉蛋白相对于标准蛋白的贴近度
Table 8 Closeness degree between different algae powder protein and the model protein

实验组	代码	贴近度	对照组	代码	贴近度
1#小球藻	U ₁	0.879	2#小球藻	U_4	0.925
1#螺旋藻	U_2	0.982	2#螺旋藻	U_5	0.875
1#杜氏盐藻	U_3	0.906	2#杜氏盐藻	U_6	0.914

由表 8 可见,以鸡蛋蛋白作为标准蛋白,实验组三种藻粉蛋白的贴近度由高到低依次为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻,而对照组三种藻粉蛋白质的贴近度依次为小球藻>杜氏盐藻>螺旋藻。

综上所述,基于统计学的主成分分析法和模糊识别法,实验组三种藻粉蛋白质的评价顺序均为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻。

实验组三种藻粉蛋白质以必需氨基酸和总氨基酸量的比较,结果为杜氏盐藻>小球藻>螺旋藻,而以主成分分析和模糊识别法两种统计学分析法,结果为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻,基于两种结果的差异,由此,进一步采用食品营养学中较常用的氨基酸比值系数法再次进行分析。

2.3 三种藻粉蛋白质的氨基酸比值系数法分析

氨基酸比值系数法中,主要由 RC、SRC 两组指

与甘酚	1#螺	1#螺旋藻		1#螺旋藻 1#小球藻		1#杜氏	1#杜氏盐藻		2#螺旋藻		球藻	2#杜氏盐藻	
氨基酸	EAA	RC	EAA	RC	EAA	RC	EAA	RC	EAA	RC	EAA	RC	
Thr	0.98	1.02	0.63	0.91	0.80	1.04	0.75	1.11	0.72	0.89	0.58	0.75	
Val	0.87	0.91	0.64	0.93	0.73	0.96	0.49	0.73	0.83	1.03	0.92	1.18	
Met	0.64	0.67	0.47	0.68	0.32	0.41	0.79	1.17	0.46	0.58	0.50	0.64	
Ile	1.25	1.30	0.68	0.99	0.82	1.07	0.72	1.07	0.80	1.00	0.79	1.02	
Leu	1.10	1.15	0.84	1.23	0.95	1.24	0.69	1.03	0.91	1.13	0.91	1.18	
Phe	0.94	0.97	0.74	1.08	0.93	1.21	0.67	0.99	0.89	1.11	0.88	1.14	
Lys	0.94	0.98	0.81	1.18	0.83	1.08	0.61	0.91	1.01	1.26	0.84	1.08	
SRC 81.78		82.	.89	74	.46	86	.29	79.	.74	79	.90		

表 9 藻粉蛋白质中必需氨基酸的 EAA、RC 和 SRC 值 Table 9 EAA, RC and SRC values of essential amino acids in algae powder protein

标进行分析。RC 最小值对应的氨基酸是第一限制氨基酸,RC>1 或 RC<1,说明这种必需氨基酸相对过剩或相对不足,RC=1 说明其组成比例与模式谱一致,营养价值较高[16]。SRC 越小,说明待评价对象蛋白质的营养价值越低;SRC 接近 100,则营养价值越高;SRC=100 时,说明该样品中必需氨基酸组成比例与模式谱一致[17]。由此,以鸡蛋蛋白中必需氨基酸为模式谱,对实验组三种藻粉蛋白必需氨基酸的 RC和 SRC 进行分析,结果如表 9 所示。

由表 9 可见,除色氨酸由于处理方法的原因没有检测到外,以 7 种必需氨基酸对藻粉蛋白质进行营养价值评价。实验组三种藻粉及对照组小球藻与杜氏盐藻的第一限制氨基酸均为 Met,而对照组螺旋藻的第一限制氨基酸为 Val。实验组三种藻粉以 SRC评价的排序为小球藻>螺旋藻>杜氏盐藻,而对照组的 SRC评价的排序为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻。

3 讨论

通过蛋白质含量的比较可以看出,实验组小球藻、螺旋藻和杜氏盐藻的蛋白质含量差异显著 (P<0.05),其中小球藻和螺旋藻蛋白质含量在 65.56~70.77 g/100 g·DW 之间。实验组杜氏盐藻的蛋白质含量为 42.29 g/100 g·DW,是文献报道的 1.4 倍左右,可能的原因是微藻的营养组分会受生长环境条件的影响,这与闫春宇等[10] 的报道结果一致。就蛋白质含量而言,实验组三种藻粉蛋白质的排序为小球藻>螺旋藻>杜氏盐藻。

根据 FAO/WHO 推荐模式,蛋白质 E/N 在 60% 以上、E/T 在 40% 左右是营养理想的蛋白质^[26]。就必需氨基酸、非必需氨基酸和总氨基酸量的比较而言,实验组三种藻粉蛋白质的评价依次为杜氏盐藻>小球藻>螺旋藻,实验组杜氏盐藻藻粉的蛋白质含量虽最低,但其 E/N 与 E/T 的值均最高,可能是因其必需氨基酸的总量占比较高,而螺旋藻的必需氨基酸、非必需氨基酸和总氨基酸量含量虽均高于杜氏盐藻,但因其非必需氨基酸含量较高,使得 E/N 与 E/T 的值均较低。在对照组中,杜氏盐藻的 E/N 与 E/T 是最低的,与实验组得出的结果不一致,这也表明,仅从数值的大小比较,不能全面比较蛋白质的质量。

对藻粉中的 17 种氨基酸含量进行 PCA 统计学

分析,从中提取了 4 个主成分因子,累积方差贡献率达 98.305%,根据各主成分的方差贡献率构建综合评价模型,得分越高说明对应藻粉蛋白质氨基酸综合评价越好。进一步对主成分结果进行了聚类分析,发现实验组杜氏盐藻和小球藻在欧氏距离不到 5 时,最先聚为了一类,而实验组螺旋藻单独聚为一类。由此表明,杜氏盐藻和小球藻的蛋白质评价结果更接近,二者与螺旋藻的蛋白质评价结差异较大。实验组三种藻粉的综合得分为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻。

进一步以模糊识别法,将蛋白质中必需氨基酸进行统计学分析,得出实验组三种藻粉的蛋白质评价依次为螺旋藻>杜氏盐藻>小球藻,这一结果与 PCA 分析结果相一致,但对照组三种藻粉蛋白质的贴近度依次为小球藻>杜氏盐藻>螺旋藻,与 PCA 分析不一致。可能的原因是 PCA 关注的是所有氨基酸的量对蛋白质的整体贡献,在 4个主成分中,提取出Leu 和 Met 2种必需氨基酸,以及 Asp、Pro、Tyr、Ser、Cys、His 和 Ala 7种非必需氨基酸,这 9种氨基酸代表了 17种氨基酸的大多数信息,而模糊分析法仅分析的是必需氨基酸与蛋白质模式谱的贴近度,所选取的氨基酸类型有较大差异。另外,对照组三种藻粉的氨基酸含量来源于不同文献,测定差异也是可能的原因之一。

为更全面比较蛋白质评价方法的特点,采用食品营养学上较常用的氨基酸比值系数法对实验组三种藻粉中必需氨基酸进行了 RC 和 SRC 值分析,结果表明,实验组三种藻粉的第一限制氨基酸均为 Met,但对照组三种藻粉的第一限制氨基酸有 Met 和 Val。闫春宇等[10] 研究了 22 株螺旋藻的氨基酸,结果表明只有藻株 F-810 的第一限制氨基酸为 Val, F-351 的第一限制氨基酸为 Ile等,可能是因为虽同为螺旋藻,但受营养、生长周期、采收时间和环境等的影响,第一限制氨基酸的种类也会出现差异。这与本研究结果一致。由 SRC 值比较可得,实验组三种藻粉蛋白质的营养价值排序为小球藻>螺旋藻>杜氏盐藻,与蛋白质含量分析的结果一致。

综合以上分析,模糊识别法和氨基酸比值系数 法的原理是一致的,均以模式蛋白质中必需氨基酸含 量为目标,比较其与目标值的接近程度,若某一种必 需氨基酸含量太高,为过剩,但并不表明其营养价值高。而两种方法分析的结果有差异,究其原因可能是 SRC 法中考虑了某一种必需氨基酸与平均必需氨基酸的标准差,而模糊识别法仅以兰氏距离法定义了贴近度,相对而言严谨性略低。主成分分析法从统计学角度对所有氨基酸的量标准化后,去掉了量纲差异进行了分析,没有区分蛋白质生物学角度的营养,但可以分析出蛋白质中有代表性的氨基酸种类。FAO/WHO 推荐的蛋白质的 E/N 和 E/T 更注重必需氨基酸的量,而没有考虑蛋白质在生物体内的吸收特点。

4 结论

本研究采用 2 种统计学方法和 2 种食品营养学 上的常用方法,对丝路寒旱区的三种藻粉中蛋白质的 营养价值进行了评价,实验组三种藻粉蛋白质的营养 价值为小球藻>螺旋藻>杜氏盐藻。综合四种方法的 特点,氨基酸比值系数法和模糊识别法对蛋白质中必 需氨基酸从生物吸收的角度开展分析,但就计算方法 而言, 氨基酸比值系数法更严谨, 虽在本研究中模糊 识别法与主成分分析法的结果一致,但采用主成分分 析法分析蛋白质中代表性氨基酸种类可能更好些。 而 FAO/WHO 推荐的蛋白质 E/N 和 E/T 值分析法, 仅关注的是必需氨基酸的量,而未考虑生物吸收必需 氨基酸的特点。由于色氨酸在酸水解过程中被破坏, 试验结果缺少对色氨酸的分析,在后续研究中可用碱 水解法测定色氨酸含量,进一步完善分析结果。本实 验所选的三种藻粉产地仅限于丝路寒旱区,来源单 一,因此,在今后还应扩大采样范围,比较我国不同产 地藻种的养殖、采收、干燥等因素对藻粉蛋白质营养 价值的影响,为今后藻粉的质量监管和藻类产品的营 养评价提供理论支撑。

参考文献

- [1] 刘云鹏. 螺旋藻乳酸菌发酵工艺优化及发酵产物抗衰老作用的研究 [D]. 济南: 山东师范大学, 2021. [LIU Y P. Optimization of the fermentation process of *Spirulina platensis* by lactic acid bacteria and determination of the anti-aging effect of the fermentation products[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2021.]
- [2] 于金慧, 马德源, 刘云鹏, 等. 乳酸菌发酵对螺旋藻主要功效成分影响的初步研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(18): 85-90. [YU J H, MA D Y, LIU Y P, et al. Preliminary study on effect of *Lactobacillus* fermentation the main functional components of *Spirulina platensis*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(18): 85-90.]
- [3] 朱子昊. 小球藻抗氧化肽的制备及其在苹果汁中的应用 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2021. [ZHU Z H. Preparation of *Chlorella* antioxidant peptide and its application in apple juice[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021.]
- [4] 孔维宝, 李龙囡, 张继, 等. 小球藻的营养保健功能及其在食品工业中的应用[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 323-328. [KONG WB, LILN, ZHANG J, et al. Healthcare functions and applications in food industry of *Chlorella*[J]. Food Science, 2010, 31(9): 323-328.]

- [5] 伍先绍, 贺稚非, 龚霄. 杜氏盐藻及其在功能食品中的应用 [J]. 中国食品添加剂, 2008(2): 127-130. [WU X S, HE Z F, GONG X. *Dunaliella salina* and its application in foods[J]. China Food Additives, 2008(2): 127-130.]
- [6] 闰爽. 杜氏盐藻挥发性腥味的脱除技术研究 [D]. 天津: 天津 科技大学, 2017. [YAN S. Study on the technology of removing volatile odor in *Dunaliella salina*[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2017.]
- [7] 魏文志, 付立霞, 陈国宏. 7 种小球藻氨基酸组成及多元性分析 [J]. 食品科学, 2011, 32(5): 254-257. [WEI W Z, FU L X, CHEN G H. Multivariate analysis of amino acid composition of 7 types of *Chlorella*[J]. Food Science, 2011, 32(5): 254-257.]
- [8] 董黎明, 汪苹, 李金穂, 等. 异养小球藻主要营养成分及氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2012, 33(3): 232-237. [DONG L M, WANG P, LI J S, et al. Analysis of nutritional components and amino acid composition of heterotrophic *Chlorella* sp. [J]. Food Science, 2012, 33(3): 232-237.]
- [9] 杨鹭生, 李国平, 陈林水. 蛋白核小球藻的蛋白质、氨基酸含量及营养价值评价[J]. 亚热带植物科学, 2003, 31(1): 36-38. [YANG L S, LI G P, CHEN L S. Analysis of the contents of protein and amino acid in the powder of *Chlorella pyrenoidosa* and its nutritive value[J]. Subtropical Plant Science, 2003, 31(1): 36-38.] [10] 闫春宇, 王素英, 董世瑞. 22 株螺旋藻 (节旋藻) 氨基酸成分分析及营养评价[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 21-27. [YAN C Y, WANG S Y, DONG S R. Analysis of amino acid composition and nutritional evaluation of 22 *Spirulina* (*Athrospira*) strains[J]. Food & Machinery, 2015, 31(6): 21-27.]
- [11] 索全伶, 李淑清, 杨伟, 等. 内蒙古吉兰泰杜氏盐藻营养成分的 研究 [J]. 营养 学报, 2000(4): 345-346. [SUO Q L, LI S Q, YANG W, et al. Study on the main nutrient composition of *Dunaliella salina* in Jilantal Inner Mongoliaal Inner Mongolia [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2000(4): 345-346.]
- [12] 罗光宏, 杨生辉, 祖廷勋, 等. 锁阳螺旋藻营养片生产工艺及其蛋白质营养价值的评价[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 149—152. [LUO G H, YANG S H, ZU T X, et al. The production method and protein nutrition assessment of cynomorium *Spirulina* tablets [J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(4): 149—152.]
- [13] 郑少杰, 任旺, 张小利, 等. 绿豆芽萌发过程中氨基酸动态变化及营养评价[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(10): 81-86. [ZHEN G S J, REN W, ZHANG X L, et al. Amino acid dynamic change of mung bean and its nutritional evaluation in germinating process[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(10): 81-86.]
- [14] 许馨予, 杨鹄隽, 贾斌, 等. 黑龙江省主栽红小豆蛋白质营养价值评价[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(5): 29-34. [XU X Y, YANG H J, JIA B, et al. Evaluation of protein nutritional value of main cultivated adzuki bean in Heilongjiang Province[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2021, 36(5): 29-34.]
- [15] 杨永涛, 潘思源, 靳欣欣, 等. 不同品种核桃的氨基酸营养价值评价[J]. 食品科学, 2017, 38(13): 207-212. [YANGYT, PANSY, JINXX, et al. Amino acid composition and nutritional evaluation of different varieties of walnut[J]. Food Science, 2017, 38(13): 207-212.]
- [16] 罗晓莉, 张沙沙, 严明, 等. 云南 8 种栽培食用菌蛋白质和氨

基酸分析及营养价值评价[J]. 食品工业, 2021, 42(8): 328-332. [LUO X L, ZHANG S S, YAN M, et al. Protein and amino acid analysis and nutritional value evaluation of eight cultivation edible fungi in Yunnan Province[J]. The Food Industry, 2021, 42(8): 328-332.]

[17] 王允茹, 蔡秋杏, 张晨晓, 等. 北部湾海区三种常见牡蛎的蛋白质及氨基酸营养分析与评价[J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 310–316. [WANG Y R, CAI Q X, ZHANG C X, et al. Analysis and evaluation of protein and amino acid nutrition of three common oysters in Beibu Gulf[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 310–316.]

[18] 焦扬, 折发文, 张娟娟, 等. 基于主成分与聚类分析的甘肃地区产地木耳品质综合评价[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 130-135. [JIAO Y, SHE F W, ZHANG J J, et al. Comprehensive quality evaluation of *Nostoc commune* Vauch. from Gansu Province by principal component analysis and cluster analysis[J]. Food Science, 2019, 40(8): 130-135.]

[19] 莫柳珍, 宁晓盼, 黄向阳, 等. SPSS 对制糖工艺指标进行主成分分析的应用[J]. 甘蔗糖业, 2020, 49(4): 68-74. [MO L Z, NING X P, HUANG X Y, et al. The application of SPSS in principal component analysis of sugar processing indexes[J]. Sugarcane and Canesugar, 2020, 49(4): 68-74.]

[20] 李俊芳, 马永昆, 张荣, 等. 不同果桑品种成熟桑椹的游离氨基酸主成分分析和综合评价 [J]. 食品科学, 2016, 37(14): 132-137. [LIJF, MAYK, ZHANGR, et al. Principal components analysis and comprehensive evaluation of free amino acids in ripe fruits of different mulberry varieties [J]. Food Science, 2016, 37 (14): 132-137.]

[21] 葛帅,王蓉蓉,王颖瑞,等.湖南常见辣椒品种游离氨基酸主成分分析及综合评价[J].食品科学技术学报,2021,39(2):

91–102. [GE S, WANG R R, WANG Y R, et al. Principal component analysis and comprehensive evaluation of free amino acids of different peppers in hunan[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(2): 91–102.]

[22] 颜孙安, 史梦竹, 林香信, 等. 基于主成分与聚类分析不同品种鲜食葡萄的氨基酸品质评价[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 372-379. [YAN S A, SHI M Z, LIN X X, et al. Principal aomponent analysis and cluster analysis for evaluating amino acid of different table grapes (*Vitis vinifera* L.) varieties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 372-379.]

[23] 顾晓敏, 童川, 韩延超, 等. 不同品种莲藕游离氨基酸多样性分析[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 183-189. [GU X M, TONG C, HAN Y C, et al. Diversity of free amino acids among different lotus varieties [J]. Food Science, 2022, 43(4): 183-189.]

[24] 范婷婷, 赵晓燕, 李晓贝, 等. 人工栽培和野生羊肚菌游离氨基酸主成分分析及综合评价[J]. 食品科学, 2022, 43(6): 295-302. [FAN T T, ZHAO X Y, LI X B, et al. Principal component analysis and comprehensive evaluation of free amino acids between cultivated and wild *Morchella*[J]. Food Science, 2022, 43(6): 295-302.]

[25] 郑秀艳, 孟繁博, 邬彩灵, 等. 黔产白鬼笔不同部位品质分析与评价[J]. 现代食品科技, 2021, 37(12): 23-32. [ZHENG X Y, MENG F B, WU C L, et al. Quality analysis and evaluation of different parts of *Phallus impudicus* L. of Guizhou[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(12): 23-32.]

[26] 林玉锋, 黄后培, 刘嘉怡, 等. 不同烹饪方式对牡蛎蛋白质营养品质的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 143-151. [LIN Y F, HUANG H P, LIU J Y, et al. Effect of different cooking methods on the nutritional quality of oyster protein[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(7): 143-151.]