

朱淑云, 南 阳, 王 冲, 等. 酶预处理对水飞蓟蛋白质提取效果的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 273–274.

# 酶预处理对水飞蓟蛋白质提取效果的影响

朱淑云, 南 阳, 王 冲, 覃思云, 董 英

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:**为提高水飞蓟蛋白提取效果, 利用纤维素酶和淀粉酶预处理后, 再碱溶酸沉法提取水飞蓟蛋白, 在酶预处理单因素试验的基础上, 采用正交试验设计, 研究 pH 值、温度、加酶量和酶解时间对水飞蓟蛋白提取率的影响。结果表明, 提取水飞蓟蛋白最佳的酶预处理条件为: 加酶量(纤维素酶 + 淀粉酶)为 3.0% + 6.0%, 反应温度 50 ℃, pH 值 6.0, 酶解时间 150 min。水飞蓟脱脂粉经过酶预处理后, 水飞蓟蛋白提取率达到 66.75%, 而未用酶处理的蛋白提取率为 53.62%, 表明酶预处理水飞蓟粉可以显著提高水飞蓟蛋白的提取效果。

**关键词:**水飞蓟; 蛋白质; 提取工艺; 酶法

**中图分类号:** TS202.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)07–0273–02

水飞蓟为菊科水飞蓟属草本植物。作为一种传统药用植物, 水飞蓟籽由壳和仁两部分组成, 其药用成分水飞蓟素主要存在于壳中, 籽仁中主要含蛋白质、油脂和淀粉等<sup>[1–2]</sup>。目前国内外对水飞蓟的研究主要集中在对水飞蓟素的开发利用上<sup>[3–4]</sup>, 而占果实质量绝大部分的水飞蓟籽仁未能得到综合利用。研究发现, 水飞蓟籽仁中蛋白含量高, 氨基酸种类齐全, 是一种优良的植物蛋白资源<sup>[5]</sup>, 而且水飞蓟蛋白经酶解可制备具有较强抗氧化活性的多肽<sup>[6]</sup>。因此, 以水飞蓟脱脂粉为原料提取蛋白, 将对提高水飞蓟籽仁综合利用率和减少资源浪费起到积极推动作用。目前蛋白质的提取方法主要是碱溶酸沉法, 但因植物细胞壁的影响, 蛋白的提取尚不充分。近年来, 纤维素酶、淀粉酶和 Viscozyme 酶等在植物蛋白的提取中也有应用, 它们主要是通过解除纤维素等多糖类成分对蛋白质的束缚从而提高蛋白的提取率, 且一般不影响蛋白质的结构, 保持了蛋白质的加工性能, 在植物蛋白的提取中具有独特的作用<sup>[7]</sup>。本研究在碱溶酸沉法提取水飞蓟蛋白的工艺基础上<sup>[8]</sup>, 以水飞蓟脱脂粉为原料, 用纤维素酶和淀粉酶预处理后再碱溶酸沉法提取水飞蓟蛋白。主要研究纤维素酶和淀粉酶预处理条件对水飞蓟蛋白提取效果的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

水飞蓟籽仁由江苏中兴药业有限公司提供, 经低温加压溶剂萃取技术脱脂。将脱脂水飞蓟粉进行粉碎过 60 目筛。

### 1.2 仪器与设备

FC–160 型锤式粉碎机: 上海中药机械厂生产; UNICO WJ7200 可见光分光光度计: 尤尼柯(上海)仪器有限公司生

产; ALPHAI–4/2–4 型冷冻干燥机: 德国 CHRIST 公司生产; LD5–2A 型离心机: 北京医用离心机厂生产。

### 1.3 方法

**1.3.1 水飞蓟蛋白提取工艺** 将水飞蓟脱脂粉用酶预处理后, 再用碱溶酸沉法提取蛋白, 具体工艺路线为: 水飞蓟脱脂粉按料液比 1:16 加入蒸馏水混匀, 然后加入纤维素酶和淀粉酶, 酶解一定时间后, 加热灭酶, 调节 pH 值至 10, 水浴温度为 50 ℃, 浸提 60 min, 离心(3 800 r/min, 20 min), 取上清液测定蛋白质含量, 用盐酸调节 pH 值至 5.5, 再离心并收集沉淀物, 真空冷冻干燥即为水飞蓟蛋白粉。

**1.3.2 酶反应条件的选择和优化** 考虑到酶解时间、温度、加酶量和 pH 值对酶处理效果影响较大, 对它们分别进行单因素试验, 在此基础上, 再进行  $L_9(3^4)$  正交试验设计, 因素水平如表 1 所示。

表 1 水飞蓟蛋白提取工艺正交试验设计

水平	A: 加酶量 (纤维素酶 + 淀粉酶)	B: pH 值	C: 温度 (℃)	D: 时间 (min)
1	2.0% + 4.0%	5.0	40	90
2	2.5% + 5.0%	5.5	50	120
3	3.0% + 6.0%	6.0	60	150

**1.3.3 蛋白质提取率的计算** 提取率 = 提取液中蛋白质的含量/原料中蛋白质的含量 × 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶预处理单因素试验结果

**2.1.1 加酶量对水飞蓟蛋白提取率的影响** 在溶液 pH 值 5.5、反应温度 50 ℃、反应时间 60 min 时, 研究不同加酶量预处理对蛋白提取率的影响。结果(图 1)表明, 随着加酶量的增加, 蛋白质提取率增大, 当加酶量达到 3.0% + 6.0% 以后, 蛋白质提取率增加的幅度变小。

**2.1.2 预处理 pH 值对水飞蓟蛋白提取率的影响** 在反应温度 50 ℃、加酶量 3.0% + 6.0%、反应时间 60 min 时, 研究不同 pH 值对蛋白质提取率的影响, 图 2 显示, 在 pH 值为 6 时, 酶处理效果最好, 降低或增加 pH 值蛋白质提取率均降低。这可能是酶的活性受 pH 值影响的结果。

收稿日期: 2012–12–28

基金项目: 江苏省镇江市农业科技支撑项目(编号: NY2012031); 江苏大学大学生科研立项资助项目(编号: 11A352); 江苏大学本科生创新计划项目(编号: 2012109)。

作者简介: 朱淑云(1975—), 女, 山东青岛人, 博士, 讲师, 主要从事食品生物技术方面的研究。Tel: (0511) 88780201; E-mail: shyzhu001@yahoo.com.cn。

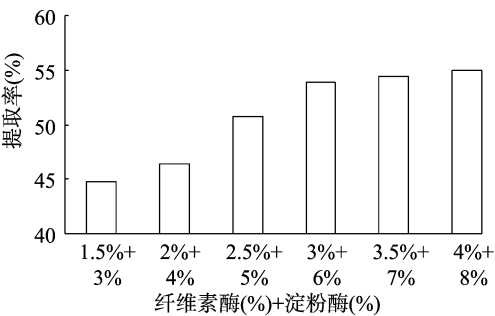


图1 加酶量对水飞蓟蛋白提取率的影响

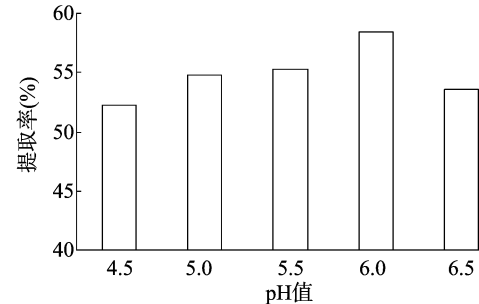


图2 pH值对水飞蓟蛋白提取率的影响

2.1.3 预处理温度对水飞蓟蛋白提取率的影响 在 pH 值 6.0、加酶量 3.0% + 6.0%、反应时间 60 min 的条件下,当温度达到 50 ℃时蛋白质提取率最大,若再升高温度,提取率明显下降(图 3),可能是高温使酶蛋白变性所致,故选取 50 ℃作为酶处理温度。

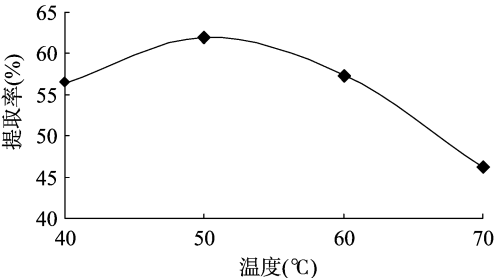


图3 温度对水飞蓟蛋白提取率的影响

2.1.4 预处理时间对水飞蓟蛋白提取率的影响 在溶液 pH 值 6.0、反应温度 50 ℃、加酶量 3.0% + 6.0% 时,研究预处理时间对蛋白质提取率的影响,结果(图 4)表明,随着酶处理时间延长,蛋白质提取率不断提高,在酶处理 120 min 时已达到较高水平,继续延长酶处理时间,蛋白质的提取率增加变缓。

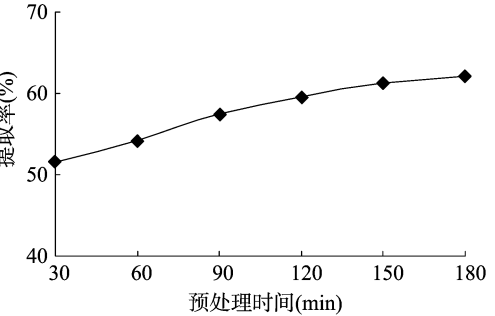


图4 酶预处理时间对水飞蓟蛋白提取率的影响

2.2 酶预处理正交试验结果

从表 2 中的极差分析可知,影响水飞蓟蛋白提取率大小

的因素依次为 B > C > D > A,最优组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,即加酶量 3.0% + 6.0%,反应温度 50 ℃,pH 值 6.0,处理时间 150 min。在此条件下进行 3 次验证试验,水飞蓟蛋白提取率的平均值为 66.75%,而不加酶处理的传统碱溶酸沉法水飞蓟蛋白提取率为 53.62%,表明酶法预处理可以显著提高水飞蓟蛋白的提取效果。

表 2 水飞蓟蛋白提取工艺正交试验设计及结果

试验号	A:加酶量(纤维素酶+淀粉酶)	B:pH 值	C:温度	D:时间	提取率(%)
1	1	1	1	1	42.15
2	1	2	2	2	59.24
3	1	3	3	3	61.23
4	2	1	2	3	57.61
5	2	2	3	1	49.51
6	2	3	1	2	51.26
7	3	1	3	2	47.74
8	3	2	1	3	60.12
9	3	3	2	1	62.17
k <sub>1</sub>	54.21	49.17	51.18	51.28	
k <sub>2</sub>	52.79	56.29	59.67	52.75	
k <sub>3</sub>	56.68	58.22	52.83	59.65	
R	3.88	9.05	8.50	8.38	

3 结论

试验结果表明,纤维素酶和淀粉酶预处理水飞蓟脱脂粉有利于碱溶酸沉工艺中水飞蓟蛋白的提取,其原因可能与纤维素酶和淀粉酶可以水解纤维素和淀粉等多糖成分,解除了其对蛋白质的束缚有关。通过正交试验所优化的酶预处理条件为:纤维素酶+淀粉酶的加酶量为 3.0% + 6.0%,反应温度 50 ℃,pH 值 6.0,处理时间 150 min。与不加酶预处理的传统碱溶酸沉法相比,水飞蓟脱脂粉经过酶预处理后,蛋白质提取率提高 13.13 百分点。该研究为有效提取水飞蓟蛋白提供了重要的技术基础。

参考文献:

[1]袁 丹,张国峰,王瑞杰. 水飞蓟果实、果皮及其提取物质量评价法的研究[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(2):120-123.

[2]徐德峰,张卫明,史劲松,等. 国内水飞蓟资源利用现状与展望[J]. 食品研究与开发,2007,28(2):157-160.

[3]Carmela L, Davide F. Silybin and the liver: From basic research to clinical practice[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(18): 2288-2301.

[4]Sanib B. Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview[J]. Journal of Advanced Pharmacy Education & Research, 2011, 1: 69-79.

[5]朱淑云,董 英,陈晓东,等. 水飞蓟粕蛋白氨基酸组成及加工功能特性研究[J]. 中国粮油学报,2011,26(8):71-74.

[6]朱淑云,董 英,张海晖,等. 水飞蓟粕蛋白的酶解及其酶解物抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报,2011,26(2):68-72.

[7]王章存,王 雷,董吉林,等. 酶法预处理对花生蛋白提取效果的影响[J]. 农业工程学报,2009,25(3):287-290.

[8]朱淑云,董 英. 响应面法优化水飞蓟粕蛋白的提取工艺[J]. 食品工业科技,2011,32(2):256-258.