

# 蓖麻限制性酶解蛋白功能特性和抗氧化活性研究

于丽娜\*, 许婷婷, 张玉凤, 孙杰, 毕洁, 张初署

(山东省花生研究所, 山东青岛 266100)

**摘要:** **目的** 研究蓖麻限制性酶解蛋白的功能特性和抗氧化活性, 为进一步开发利用蓖麻蛋白提供一条新途径。**方法** 以蓖麻子为原料, 通过粉碎、脱脂、乙醇洗涤、沸水脱毒、冷冻干燥等操作步骤制备蓖麻浓缩蛋白, 再分别用碱性蛋白酶(alcalase)、风味蛋白酶(flavourzyme)、复合蛋白酶(protamex)、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶水解得到5种蓖麻限制性酶解蛋白, 并进行功能性质和抗氧化活性研究。**结果** 蓖麻浓缩蛋白色泽洁白、无异味, 其蛋白含量为73.08%, 脂肪含量为1.13%, 是一种优质的植物蛋白; 蓖麻浓缩蛋白经蛋白酶限制性酶解后功能性质和抗氧化活性增加, 功能性质大小顺序为: 复合蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶和风味蛋白酶, 抗氧化活性大小顺序为: 复合蛋白酶、风味蛋白酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶。**结论** 采用复合蛋白酶限制性酶解蓖麻蛋白, 可得到功能特性和抗氧化活性都较好的限制性酶解蓖麻蛋白。

**关键词:** 蓖麻; 蛋白酶; 限制性酶解; 功能性质; 抗氧化活性

## Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of limited hydrolysis castor bean (*Ricinus communis* L.) protein

YU Li-Na\*, XU Ting-Ting, ZHANG Yu-Feng, SUN Jie, BI Jie, ZHANG Chu-Shu

(Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100, China)

**ABSTRACT: Objective** To study on the physicochemical properties and antioxidant activities of limited hydrolysis castor bean proteins and provide a new way for the further development and utilization of castor bean protein. **Methods** Using castor seeds as the raw material, castor bean concentrated protein was obtained through steps of grinding, degreasing, ethanol extraction, boiling water detoxication and freeze-drying consistently. Five kinds of limited hydrolysis castor bean proteins were achieved by alcalase, flavourzyme, protamex, neutral protease and papain hydrolysis. And physicochemical properties and antioxidant activities were investigated. **Result** The results showed that castor bean protein was white and non-smell with its protein and fat content 73.08% and 1.13%, respectively. The physicochemical properties and antioxidant activities of castor bean protein were increased after limited hydrolysis. The order of physicochemical properties of 5 kinds of limited hydrolysis castor bean protein was protamex, neutral protease, papain, alcalase and flavourzyme; the order of antioxidant activities was protamex, flavourzyme, neutral protease, alcalase and papain. **Conclusion** Therefore, the limited hydrolysis castor bean proteins with best physicochemical properties and antioxidant activities can be obtained from protamex limited hydrolysis process.

**KEY WORDS:** castor bean; protease; limited hydrolysis; physicochemical properties; antioxidant activity

基金项目: 青岛市民生科技计划项目(13-1-3-71-nsh, 14-2-3-65-nsh)

**Fund:** Supported by the Qingdao People's Livelihood Science and Technology Project (13-1-3-71-nsh, 14-2-3-65-nsh)

\*通讯作者: 于丽娜, 博士, 副研究员, 主要研究方向为植物蛋白和功能食品的开发研究与利用。E-mail: lhlyln0626@163.com

\*Corresponding author: YU Li-Na, Ph.D, Associate Researcher, Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100, China. E-mail: lhlyln0626@163.com

## 1 引言

我国年产约 30 万吨蓖麻子<sup>[1]</sup>,蓖麻榨油后的饼粕含有 33%~35%的蛋白质,其中 60%为球蛋白,20%为谷蛋白,16%为清蛋白,不含或含少量动物难以吸收的醇溶蛋白,所以蓖麻蛋白是一种优质的植物蛋白<sup>[2]</sup>。但是,蓖麻含有 4 种毒素:蓖麻毒蛋白、蓖麻碱、血球凝集素和变应原,限制了蓖麻以及蓖麻饼粕的应用,蓖麻饼粕只能当作肥料,浪费了蓖麻蛋白这一优质蛋白质资源<sup>[3]</sup>。蓖麻毒蛋白和血球凝集素都是高分子蛋白质,在水中煮沸或加压蒸汽处理即凝固变性,失去毒性<sup>[4]</sup>。蓖麻碱是一种类似吡啶酮的生物碱,易溶于热水中,变应原是由少量多糖与蛋白质聚合而成的糖蛋白,这 2 种毒素在沸水中洗涤能够除去<sup>[5]</sup>。去除毒素的蓖麻蛋白是一种优质植物蛋白,具有很高的营养价值,可添加于普通饲料或代替部分豆粕来增加饲料中蛋白质含量,不仅促进畜禽生长,还能提高畜禽日增重量和蛋白质转化率<sup>[6]</sup>。除此之外,对脱毒的蓖麻浓缩蛋白进行酶法修饰,不同的蛋白酶酶解后将得到不同功能特性的限制性酶解蓖麻浓缩蛋白。根据各限制性酶解蓖麻浓缩蛋白不同的功能特性,可以分别将这些蛋白作为调味品、发酵制品、烘焙制品、组织蛋白、肉制品等食品专用蛋白基料,替代大豆蛋白基料,生产出蛋白质含量、溶解性、稳定性、生物效价等均得到大大提升的食品专用蛋白基料新产品,不但可以拓宽专用植物蛋白基料的蛋白来源,还可以缓解世界性蛋白质短缺问题。

蛋白质经限制性蛋白酶水解后部分肽键断裂,外切酶水解后疏水基团降解成短链、小分子蛋白肽,蛋白质分子构型改变;内切酶水解后亲水基团暴露出来,蛋白质分子上的极性基团增加,亲水性增强,氮溶指数和溶解性增大,蛋白质功能性质改变并且生理活性提高<sup>[7]</sup>。目前,国内外对花生蛋白等限制性酶解物的功能性质研究较多<sup>[8]</sup>,而蓖麻浓缩蛋白的限制性酶解却没有报道。本文采用乙醇洗涤法去除蓖麻子中的醇溶蛋白、植酸、呈色、呈味物质等得到蓖麻浓缩蛋白,再通过蛋白酶限制性酶解得到 5 种蓖麻限制性酶解蛋白,并研究了它们的功能特性和抗氧化活性,旨在为蓖麻蛋白高值化利用提供一条新途径。

## 2 材料与方法

### 2.1 原料

蓖麻子购于安徽亳州浙皖中药饮片有限公司。

### 2.2 试剂

碱性蛋白酶(alcalase 2.4 L FG)(2.4 AU/g, AU 为 Novozymes 公司自定义酶活单位)、风味蛋白酶(flavourzyme)(500 LAPU/g, LAPU 为 Novozymes 公司自定义酶活单位)、复合蛋白酶(protamex)(15 AU/g)均购于丹麦 Novozymes 公司;中性蛋白酶(10 万 U/g)和木瓜蛋白酶(10 万 U/g)购于南宁庞博生物工程公司;1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)、5,6-联苯基-3-(2-吡啶基)-1,2,4-三吡嗪-4,4-二硫酸单钠盐(Ferrozine): Sigma 公司;FeCl<sub>3</sub>、K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、三氯乙酸(TCA)、FeCl<sub>2</sub>、硫代巴比妥酸(TBA)、HCl(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

### 2.3 仪器

万能高速粉碎机(DE-500g,衢州普润日用品有限公司);双功能水浴恒温振荡器(SHA-B,金坛市杰瑞尔电器有限公司);台式低速离心机(L-550,长沙湘仪离心机有限公司);冷冻干燥机(FD5-2.5, Gold SIM International Group CO., LTD.)。

### 2.4 试验方法

#### 2.4.1 蓖麻浓缩蛋白的提取工艺流程

蓖麻子→脱壳→粉碎→脱脂→低温脱溶→乙醇振荡洗涤→低温离心分离→沉淀冷冻干燥→粉碎→蓖麻浓缩蛋白→沸水浴→离心分离→沉淀再次沸水浴→离心分离→沉淀冷冻干燥→粉碎→去除毒素的蓖麻浓缩蛋白。

#### 2.4.2 蛋白酶限制性酶解蓖麻浓缩蛋白工艺

取去除毒素的蓖麻浓缩蛋白,加入蒸馏水,按照表 1 所列酶解条件,调节 pH 值,分别加入 alcalase、flavourzyme、protamex、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶,在一定温度的恒温水浴中,酶解 90 min。反应结束后,100 °C 灭酶 5 min,快速冷却到室温,将酶解物冷冻干燥得到限制性酶解蓖麻蛋白。5 种限制性酶解蛋白分别简称为: AP(alcalase 限制性酶解蛋白)、FP(flavourzyme 限制性酶解蛋白)、PP1(protamex 限制性酶解蛋白)、NP(中性蛋白酶限制性酶解蛋白)、PP2(木瓜蛋白酶限制性酶解蛋白);脱毒蓖麻浓缩蛋白简称为: RP。

表1 5种蛋白酶酶解条件  
Table 1 Catalysis conditions of 5 kinds of proteases

	Alcalase	Flavourzyme	Protamex	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶
温度/°C	62	50	50	40	50
pH	8.5	7.0	7.0	7.0	7.1
加酶量	0.072 AU/g 蛋白	15 LAPU/g 蛋白	1.5 AU/g 蛋白	6000 U/g 蛋白	5250 U/g 蛋白

#### 2.4.3 蓖麻蛋白组分含量的测定

蛋白含量的测定,按 GB 5009.5-2010 进行;灰分含量的测定,按 GB/T 5009.4-2010 进行;脂肪含量的测定,按 GB/T 5009.6-2003 进行;水分含量的测定,按 GB/T 5009.3-2010 进行,氨基酸含量的测定,按 GB/T 5009.124-2003 进行。

#### 2.4.4 蓖麻蛋白功能性质的测定

蓖麻蛋白功能性质:溶解度、乳化活性指数、乳化稳定性指数、起泡性、泡沫稳定性、持水能力、吸油性都按照 Yu 等<sup>[9]</sup>方法测定。

#### 2.4.5 蓖麻蛋白抗氧化活性的测定

DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率、超氧阴离子自由基清除率、铁还原力、钼还原力、铁离子螯合力、铜离子螯合力、抑制脂质体过氧化力都按照 Yu 等<sup>[10]</sup>方法测定。

#### 2.4.6 统计分析

用 SPSS Statistics 17.0 以最小显著性差异法(least significant difference, LSD),对 5 种蛋白酶酶解得到的蓖麻浓缩蛋白的功能特性和抗氧化活性值进行方差分析。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 蓖麻浓缩蛋白的主要成分含量分析结果

蓖麻子经脱脂、乙醇洗涤、脱毒(蓖麻毒蛋白和血球凝集素在沸水浴中凝固变性,失去毒性;蓖麻碱和变应原在沸水中洗涤除去)、冷冻干燥后得到色泽洁白、无异味的粉末状蓖麻浓缩蛋白。它的主要成分含量见表 2 所示,其中,蛋白含量纯度较高为 73.08%,高于普通植物浓缩蛋白含量 70% 的标准,而脂肪含量 1% 左右,是一种优质的植物蛋白。

表 2 蓖麻浓缩蛋白的主要成分含量分析( $n=3$ )

Table 2 The results of main components in castor bean protein concentrate ( $n=3$ )

成分	蛋白	脂肪	水分	灰分
含量/%	73.08±0.86	1.13±0.13	7.43±0.55	2.59±0.23

#### 3.2 蓖麻限制性酶解蛋白的功能特性

本文采用 alcalase、flavourzyme、protamex、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶等各种酶适合的 pH 值、酶解温度和酶添加量,在相同时间内酶解脱毒蓖麻浓缩蛋白,旨在比较各种蛋白酶对脱毒蓖麻浓缩蛋白适度水解后其功能性质的变化,为限制性酶解蓖麻浓缩蛋白在食品专用蛋白基料的应用中,对于蛋白酶的选择和蓖麻浓缩蛋白酶解程度控制提供理论指导。表 3 为蓖麻蛋白和 5 种蓖麻限制性酶解蛋白的功能特性结果。由表 3 可知,功能特性的各数据间存在高度显著性差异( $P<0.01$ )。经蛋白酶限制性酶解后,5 种蓖麻限制性酶解蛋白的溶解性均大于蓖麻蛋白,差异显著( $P<0.01$ )。在 5 种限制性酶解蛋白中,AP 和 PP1 的溶解性最大,二者之间没有显著性差异( $P>0.05$ ),它们的溶解性比 RP 提高了 12.78 倍。RP 和 PP2 的乳化活性指数(EAI)最大,它们的 EAI 值显著大于 AP( $P<0.01$ )。FP 的乳化稳定性指数(ESI)最大,它的 ESI 值显著的大于 PP1 和 NP( $P<0.01$ )。RP 的起泡性最大,FP 的起泡性最小,RP 的起泡性显著的大于 FP、PP1 和 NP 的起泡性( $P<0.01$ )。PP1 和 NP 的泡沫稳定性显著的大于 AP 和 FP( $P<0.01$ )。RP 和 PP2 的持水性显著的大于 AP、FP、PP1 和 NP 的持水性( $P<0.01$ )。RP 的吸油性最大,FP、PP1、NP 的吸油性之间没有显著性差异( $P>0.05$ ),它们都小于 RP、AP、PP2。综合评价各功能性质的大小,5 种蓖麻限制性酶解蛋白和蓖麻蛋白的功能性质大小排列顺序为 PP1>NP>PP2>RP>AP>FP。

蓖麻浓缩蛋白经蛋白酶酶解后,溶解性得到很大的改善。蛋白酶尤其是内切蛋白酶水解蓖麻蛋白,可使致密的蛋白质大分子结构发生变化,多肽链断裂从而使离子化的氨基和羧基以及亲水基团暴露出来,分子极性增强,亲水性增加。alcalase、protamex 和中性蛋白酶都是内切酶,表 3 结果验证了它们的酶解产物的溶解性要显著大于其他 3 种蛋白。此外,蛋

表 3 蓖麻限制性酶解蛋白的功能性质( $n=3$ )  
Table 3 Physicochemical properties of limited hydrolysis castor bean protein ( $n=3$ )

	RP	AP	FP	PP1	NP	PP2
溶解性/%	4.34±0.06 <sup>c</sup>	59.87±0.36 <sup>a</sup>	26.58±0.62 <sup>c</sup>	59.76±0.86 <sup>a</sup>	57.50±0.12 <sup>b</sup>	7.86±0.45 <sup>d</sup>
乳化活性指数/ $m^2/g$	37.09±0.06 <sup>a</sup>	21.35±0.08 <sup>b</sup>	27.44±0.02 <sup>ab</sup>	30.64±0.03 <sup>ab</sup>	22.86±0.05 <sup>ab</sup>	37.03±0.03 <sup>a</sup>
乳化稳定性指数/%	43.00±0.04 <sup>ab</sup>	26.65±0.08 <sup>abc</sup>	46.02±0.02 <sup>a</sup>	19.92±0.03 <sup>c</sup>	23.39±0.05 <sup>bc</sup>	42.67±0.03 <sup>ab</sup>
起泡性/%	37.78±0.58 <sup>a</sup>	33.33±0.25 <sup>ab</sup>	13.33±0.13 <sup>d</sup>	21.11±0.28 <sup>c</sup>	30.00±0.22 <sup>b</sup>	33.33±0.19 <sup>ab</sup>
泡沫稳定性/%	52.94±0.3 <sup>b</sup>	30.00±0.38 <sup>c</sup>	25.00±0.51 <sup>c</sup>	78.95±0.42 <sup>a</sup>	72.22±0.76 <sup>a</sup>	60.00±0.5 <sup>b</sup>
持水性/mL/g	5.79±0.13 <sup>a</sup>	2.83±0.03 <sup>c</sup>	3.89±0.04 <sup>b</sup>	2.43±0.08 <sup>d</sup>	1.50±0.05 <sup>c</sup>	5.59±0.02 <sup>a</sup>
吸油性/g/g	3.47±0.05 <sup>a</sup>	2.05±0.05 <sup>c</sup>	1.80±0.01 <sup>d</sup>	1.75±0.01 <sup>d</sup>	1.83±0.01 <sup>d</sup>	2.19±0.08 <sup>b</sup>

注: 同一行不同字母表示显著性差异( $P<0.01$ )

白酶的水解破坏分子中疏水区域的结构, 分子间相互排斥作用增加, 则限制性酶解产物在溶液中的分散稳定性提高, 进而提高蛋白质的溶解性。与蓖麻浓缩蛋白相比, FP、PP1 和 NP 的起泡性明显减小, 主要是因为蛋白酶解后, 大分子蛋白质的肽链水解为小分子的蛋白肽, 而低分子质量蛋白肽不能在界面形成具有黏附性质的膜, 此外, 小分子蛋白肽会进一步聚合形成可溶性的聚合多肽, 使得界面张力增加, 导致起泡性下降<sup>[11]</sup>。蓖麻浓缩蛋白经蛋白酶解后 AP 乳化性降低, 这可能是由于酶解产物中小分子蛋白肽含量增加, 而蛋白质形成稳定乳化液的前提条件是要有水化层, 蛋白酶解后, 水化层中的水化水被破坏。另外, 在蛋白酶作用下, 蛋白质分子中的疏水氨基酸及维持蛋白质稳定结构的氢键、范德华力、离子键等也受到不同程度的破坏, 所以乳化能力下降。还有可能是由于小分子蛋白肽虽然在相界面上能自由移动和吸附, 但却不能像大分子蛋白质一样在界面上可以展开并适应界面张力, 所以乳化性下降。蓖麻蛋白经酶解后, 大分子蛋白构象被破坏, 吸水溶胀能力下降, AP、FP、PP1 和 NP 持水性减小; 另外, 多肽链极性增强, 蛋白质吸附油滴的能力降低, 5 种限制性酶解蛋白的吸油性下降。

### 3.3 蓖麻限制性酶解蛋白的抗氧化活性

由表 4 蓖麻限制性酶解蛋白的抗氧化活性可知, 每一种抗氧化活性的各数据间存在高度显著性差异( $P<0.01$ )。NP 的 DPPH 自由基清除率显著的大于其他 5 种蛋白的清除率( $P<0.01$ )。对于羟自由基清除活性, NP 的清除率要显著的大于 AP、FP、PP1、PP2( $P<0.01$ ), 它与 RP 的羟自由基清除率没有显著性

差异( $P>0.05$ )。PP1 和 NP 的超氧阴离子自由基清除率都较大, 它们之间没有显著性差异( $P>0.05$ ), 它们显著的大于 RP、AP、PP2 的超氧阴离子自由基清除率( $P<0.01$ )。NP 的铁还原力和钼还原力都是最大, 与其他 5 种蛋白的还原力相比具有显著差异性( $P<0.01$ )。AP 的铁离子螯合率最大, 显著的大于 FP、PP1、NP 和 PP2( $P<0.01$ )。AP、FP、PP1、NP 的铜离子螯合率都较大, 它们之间没有显著性差异( $P>0.05$ ), 这 4 种蛋白的铜离子螯合率要显著的大于 RP 和 PP2。FP 的脂质体过氧化抑制率要显著的大于其他蛋白( $P<0.01$ )。综合评价各抗氧化活性的大小, 5 种蓖麻限制性酶解蛋白和蓖麻蛋白的抗氧化活性大小排列顺序为 PP1>FP>NP>AP>PP2>RP。

### 3.4 蓖麻限制性酶解蛋白的氨基酸含量

文中选用 5 种蛋白酶对蓖麻蛋白进行限制性酶解, 酶解产物中含有小分子蛋白肽, 各种蓖麻蛋白的氨基酸含量分析见表 5。已有研究表明小分子蛋白肽有清除自由基、还原能力、金属离子螯合能力和抑制脂质过氧化能力等 4 大类抗氧化活性<sup>[12]</sup>。酶的种类及酶对底物蛋白水解能力的不同会影响酶解产物的抗氧化能力。此外, 酶解产物的相对分子质量大小、空间构象、所得肽段的氨基酸序列、氨基酸侧链基团(疏水性氨基酸、抗氧化性氨基酸和酸性氨基酸)都会影响其抗氧化能力<sup>[13]</sup>。alcalase 是一种深度内切水解蛋白酶, 其酶解产物的肽段末端是疏水性氨基酸, 而疏水性氨基酸能加强蛋白肽与脂肪酸相互作用, 带动亲水抗氧化氨基酸残基向脂质靠近, 从而提高对脂质过氧化的抑制作用<sup>[14]</sup>。flavourzyme 是一种内切酶与外切酶的混合酶, 内切酶作用于芳香族氨基酸如

表4 蓖麻限制性酶解蛋白的抗氧化活性 ( $n=3$ )  
Table 4 Antioxidant activities of limited hydrolysis castor bean protein ( $n=3$ )

	RP	AP	FP	PP1	NP	PP2
DPPH 自由基清除率/%	17.69±0.6 <sup>c</sup>	30.07±0.32 <sup>cd</sup>	33.82±0.17 <sup>bc</sup>	37.49±0.35 <sup>b</sup>	48.78±0.97 <sup>a</sup>	26.37±0.82 <sup>d</sup>
羟自由基清除率/%	98.20±0.22 <sup>ab</sup>	92.85±0.64 <sup>c</sup>	97.57±0.13 <sup>b</sup>	97.61±0.13 <sup>b</sup>	98.77±0.11 <sup>a</sup>	97.42±0.19 <sup>b</sup>
超氧阴离子自由基清除率/%	39.13±0.18 <sup>c</sup>	55.07±0.51 <sup>b</sup>	60.87±0.35 <sup>ab</sup>	69.57±0.53 <sup>a</sup>	69.57±0.53 <sup>a</sup>	47.83±0.34 <sup>bc</sup>
铁还原力/A	0.027±0.004 <sup>d</sup>	0.042±0.001 <sup>b</sup>	0.040±0.002 <sup>bc</sup>	0.044±0.001 <sup>b</sup>	0.071±0.002 <sup>a</sup>	0.037±0.001 <sup>c</sup>
钼还原力/A	0.052±0.001 <sup>d</sup>	0.163±0.007 <sup>c</sup>	0.176±0.008 <sup>c</sup>	0.243±0.001 <sup>b</sup>	0.450±0.008 <sup>a</sup>	0.064±0.001 <sup>d</sup>
铁离子螯合率/%	81.25±0.67 <sup>ab</sup>	83.74±0.71 <sup>a</sup>	74.21±1.46 <sup>c</sup>	68.22±1.41 <sup>d</sup>	43.02±1.77 <sup>e</sup>	78.98±0.41 <sup>b</sup>
铜离子螯合率/%	34.11±0.84 <sup>b</sup>	59.16±0.78 <sup>a</sup>	52.02±1.25 <sup>a</sup>	50.29±0.85 <sup>a</sup>	52.86±1.37 <sup>a</sup>	35.30±1.01 <sup>b</sup>
脂质体过氧化抑制率/%	13.99±0.72 <sup>c</sup>	26.79±0.36 <sup>d</sup>	30.22±0.51 <sup>a</sup>	25.56±0.40 <sup>d</sup>	35.28±0.89 <sup>b</sup>	27.35±0.90 <sup>c</sup>

注: 同一列不同字母表示显著性差异( $P<0.01$ )

表5 蓖麻限制性酶解蛋白的氨基酸含量  
Table 5 Amino acid content of limited hydrolysis castor bean protein

	RP	AP	FP	PP1	NP	PP2
门冬氨酸 Asp/%	6.47	7.20	6.15	6.29	6.14	7.61
谷氨酸 Glu/%	13.7	11.9	11.4	10.7	9.99	12.6
丝氨酸 Ser/%	3.88	3.89	3.69	3.46	3.21	4.03
甘氨酸 Gly/%	3.18	3.14	3.01	2.83	2.57	3.10
组氨酸 His/%	0.96	1.18	1.12	1.08	1.00	1.60
精氨酸 Arg/%	8.39	8.14	7.95	7.22	6.48	8.53
苏氨酸 Thr/%	2.04	2.39	2.27	2.12	1.83	2.40
丙氨酸 Ala/%	2.94	3.16	2.98	2.82	2.72	3.31
脯氨酸 Pro/%	2.53	2.84	2.69	2.54	2.40	2.97
酪氨酸 Tyr/%	1.88	1.98	1.85	1.74	1.57	2.04
缬氨酸 Val/%	3.49	3.69	3.50	3.25	3.15	3.95
蛋氨酸 Met/%	1.00	1.11	0.92	0.89	0.75	1.07
胱氨酸 Cys/%	1.68	1.19	1.25	1.06	0.88	0.03
异亮氨酸 Ile/%	2.78	2.90	2.70	2.55	2.42	3.09
亮氨酸 Leu/%	4.23	4.54	4.16	4.03	3.76	4.79
苯丙氨酸 Phe/%	2.68	3.02	2.78	2.70	2.50	3.18
赖氨酸 Lys/%	2.37	2.30	2.30	2.12	1.79	2.46
色氨酸 Trp/%	0.36	0.45	0.45	0.41	0.37	0.46

色氨酸和酪氨酸, 它们的抗氧化活性机制是氨基酸残基的氢原子给予自由基后形成的自由基中间体如苯氧自由基和吡啉自由基借助共振求得稳定, 从而自由基链反应减慢或终止<sup>[13]</sup>。protamex 是一种杆菌蛋白酶复合体, 属于内切酶, 其酶解产物可作为电子

受体抑制自由基链式反应引起的不饱和脂肪酸氧化<sup>[13]</sup>。中性蛋白酶是一种内切酶, 主要水解羧基端含有 Tyr、Phe、Trp 等芳香族疏水性氨基酸<sup>[14]</sup>。木瓜蛋白酶是一种混和蛋白酶, 它既可以酶解疏水性氨基酸 (Gly、Gla、Val、Leu、Ile、Pro), 也可以酶解芳香族

氨基酸(Tyr、Phe、Trp)<sup>[15]</sup>。因此, 蓖麻限制性酶解蛋白的抗氧化活性要好于蓖麻浓缩蛋白。

对于 5 种限制性酶解蓖麻蛋白, PP1 的分子量大小和所含有的蛋白肽有利于其功能性质和抗氧化活性, 所以, PP1 的功能性质和抗氧化活性最好。flavourzyme 在限制性酶解蓖麻蛋白过程中既有内切作用也有外切作用, 得到的蛋白肽分子小, 则 FP 的功能性质较其他蛋白小; 但 FP 含有的活性肽较多, 其抗氧化活性位于第二位。alcalase 对蓖麻蛋白有深度水解作用, 其产物 AP 分子较小, 则功能性质略高于 FP; 但 AP 在金属离子螯合作用方面有优势, 因此, 其抗氧化活性位于第四位。中性蛋白酶主要水解蓖麻蛋白的芳香族疏水性氨基酸, 则 NP 的功能性质较好, 位于第二位; 这些富含芳香族氨基酸残基的蛋白肽赋予 NP 较好的清除自由基和还原力活性, 其抗氧化活性位于第三位。木瓜蛋白酶主要水解蓖麻蛋白的疏水性氨基酸, PP2 的功能性质略好于 AP; 但这些含有疏水性氨基酸残基的蛋白肽在 8 种抗氧化活性中都没有优势, 因此, 它的抗氧化活性在 5 种限制性酶解蓖麻蛋白中最小。

#### 4 结 论

将蓖麻子脱脂、乙醇洗涤、沸水脱毒后得到色泽洁白、无异味的蓖麻浓缩蛋白粉, 它是一种优质的植物蛋白。采用 alcalase、flavourzyme、protamex、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶水解制备出 5 种蓖麻限制性酶解蛋白。蓖麻浓缩蛋白经蛋白酶水解后的功能性质发生了改变, 其中, 溶解性得到很大的改善, 提示其具有良好的加工特性。抗氧化活性研究结果表明, 5 种蓖麻限制性酶解蛋白的抗氧化活性较蓖麻蛋白都有提高。在 5 种蓖麻限制性酶解蛋白中, protamex 水解得到的限制性酶解蛋白的功能性质和抗氧化活性最好。蓖麻限制性酶解蛋白营养价值高, 加工特性和生理活性好, 可以作为一种高营养饲料蛋白补充剂, 也可以替代部分大豆蛋白作为调味品、发酵制品、烘焙制品、组织蛋白、肉制品等食品专用蛋白基料产品。蓖麻限制性酶解蛋白的研究和开发为进一步开发利用蓖麻蛋白这一优质植物蛋白资源提供了一条新途径。

#### 参考文献

[1] Singh PP, Ambika SMS. Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L. [J]. Food Chem, 2009,

114(3): 1069–1072.

- [2] 赵青余. 微生物脱毒蓖麻饼及对绵羊机体影响的研究[D]. 呼和浩特: 中国农业科学院草原研究所, 2003.  
Zhao QY. Studies on microorganism detoxifying castor bean meal and effect of feeding detoxified castor bean meal on sheep [D]. Hohhot: Institute of Grassland Research of CAAS, 2003.
- [3] Cazal CDM, Batalhão JR, Domingues VDC, *et al.* High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis* [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(19): 4290–4294.
- [4] Anandan S, Anil Kumar GK, Ghosh J, *et al.* Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake [J]. Anim Feed Sci Technol, 2005, 120(1–2): 159–168.
- [5] 于丽娜, 冯建雄, 孙杰, 等. 蓖麻碱的研究与应用[J]. 现代农业科技, 2012, 23: 218–220.  
Yu LN, Feng JX, Sun J, *et al.* Investigation and application of ricinine [J]. Mod Agric Sci Technol, 2012, 23: 218–220.
- [6] Cai X, Luo L, Xue M, *et al.* Growth performance, body composition and phosphorus availability of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) as affected by diet processing and replacement of fishmeal by detoxified castor bean meal [J]. Aquacult Nutr, 2005, 11(4): 293–299.
- [7] Paraman I, Hettiarachchy NS, Schaefer C, *et al.* Hydrophobicity, solubility, and emulsifying properties of enzyme-modified rice endosperm protein [J]. Cereal Chem, 2007, 84(4): 343–349.
- [8] Jamdar SN, Rajalakshmi V, Pednekar MD, *et al.* Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate [J]. Food Chem, 2010, 121(1): 178–184.
- [9] Yu LN, Yang WQ, Sun J, *et al.* Preparation, characterisation and physicochemical properties of the phosphate modified peanut protein obtained from *Arachin Conarachin* L. [J]. Food Chem, 2015, 170: 169–179.
- [10] Yu LN, Sun J, Liu SF, *et al.* Ultrasonic-assisted enzymolysis to improve the antioxidant activities of peanut (*Arachin conarachin* L.) antioxidant hydrolysate [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13: 9051–9068.
- [11] Surówka K, Żmudziński D, Surówka J. Enzymic modification of extruded soy protein concentrates as a method of obtaining new functional food components [J]. Trend Food Sci Technol, 2004, 15(3–4): 153–160.
- [12] Yu LN, Yang QL, Feng JX, *et al.* Preparation and antioxidant activities of peanut (*Arachin conarachin* L.) protein peptides by lactobacillus solid state fermentation method [J]. Appl Mech

- Mater, 2014, 668–669.
- [13] Yu LN, Yang QL, Sun J, *et al.* Study on the antioxidation activity of peanut antioxidant peptide [J]. Appl Mech Mater, 2012, 140: 446–450.
- [14] 于丽娜, 孙杰, 刘少芳, 等. 花生抗氧化水解产物制备及其抗氧化活性研究[J]. 核农学报, 2013, 27(2): 188–196.
- Yu LN, Sun J, Liu SF, *et al.* Preparation and antioxidant activities of peanut antioxidant hydrolysate [J]. J Nucl Agric Sci, 2013, 27(2): 188–196.
- [15] Zhang HC, Yu LN, Yang QL, *et al.* Optimization of a

microwave-coupled enzymatic digestion process to prepare peanut peptides [J]. Mol, 2012, 17(5): 5661–5674.

(责任编辑: 李振飞)

### 作者简介



于丽娜, 博士, 副研究员, 主要研究方向为植物蛋白和功能食品的开发研究与利用。

E-mail: lhtyln0626@163.com

## “鲜切果蔬”专题征稿

鲜切果蔬又称最少加工果蔬、半加工果蔬、轻度加工果蔬等。鲜切果蔬因其具有清洁卫生、新鲜、食用方便等特点, 可满足人们追求天然、营养、快节奏的生活方式, 从而越来越受到消费者的喜爱。

鉴于此, 本刊特别策划了“鲜切果蔬”专题, 由大连民族大学的胡文忠教授担任专题主编。胡教授现任大连民族大学生命科学学院院长、生物技术与资源利用国家民委—教育部重点实验室副主任、辽宁省省级高校生物工程下游技术重点实验室副主任、大连民族学院生物工程研究中心副主任。中国食品科学技术学会理事、高级会员, 辽宁省食品科学技术学会副理事长、中国农学会农产品贮藏加工分会常务理事。本专题主要围绕鲜切果蔬的研究进展、营养与功能、加工工艺、包装与贮藏、保鲜技术、有害物质检测和控制、发展方向等方面或者您认为在鲜切果蔬方面有意义的内容进行论述, 计划在 2015 年 7 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及胡文忠教授特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)

E-mail: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)

《食品安全质量检测学报》编辑部