

## 米糠蛋白提取中褐变抑制剂的筛选

李坤,刘颖,窦博鑫\*

(哈尔滨商业大学食品工程学院,黑龙江哈尔滨 150076)

**摘要:**米糠蛋白是一种低过敏性的优质植物性蛋白,但制备过程中常伴随褐变反应的发生,导致制备出的米糠蛋白成品颜色深,限制了米糠蛋白在食品及相关领域的广泛应用。本文以米糠为原料,分别采用碱法和复合法提取米糠蛋白,在提取米糠蛋白的过程中分别加入各种不同的抑制剂,以抑制褐变反应。碱法提取米糠蛋白过程中,最佳抑制剂为1.5%的次氯酸钠,色素抑制率为64.2%,蛋白提取率为53.7%;复合法中,以3.0%的抗坏血酸、1.0%的次氯酸钠和0.15%的L-半胱氨酸为最佳复配抑制剂的情况下,提取出的米糠蛋白颜色浅,此时色素抑制率为69.87%,蛋白提取率为80.06%,褐变抑制效果显著,蛋白提取率高。

**关键词:**米糠蛋白,蛋白提取,褐变抑制

## Screening of browning inhibitor in the extraction of rice bran protein

LI Kun, LIU Ying, DOU Bo-xin\*

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

**Abstract:** Rice bran protein is hypoallergenic and high-quality plant protein. Browning reactions often occur with extraction process of rice bran protein, and the color of protein production is dark that limits the applications of rice bran protein. Rice bran was used as the raw material and many kinds of inhibitors were added in the extraction process of rice bran protein to prevent the browning of rice bran. In the alkali extraction process, the best inhibitor was sodium hypochlorite, the protein extraction rate was 53.7% and inhibitory rate of pigment was 64.2%. In the compounding extraction process, the best inhibitor was the mixture of 3.0% ascorbic acid, 1.0% Sodium hypochlorite and 0.15% L-Cysteine. Under this condition, inhibition rate of pigment was 69.87% and protein extraction rate was 80.06%.

**Key words:** rice bran protein; protein extraction; browning inhibition

中图分类号: TS210.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2012)02-0218-06

米糠蛋白是世界公认的优质植物性蛋白,必需氨基酸齐全,与大米蛋白质相比,氨基酸组成更接近FAO/WHO推荐模式,生物效价为2.0~2.5,与牛奶中酪蛋白相近。米糠蛋白具有低过敏性,目前未见儿童对稻米有过敏反应的报道<sup>[1-2]</sup>,也是区别于其它植物蛋白的另一个特点。米糠蛋白有着极好的经济性和实用性,提取米糠蛋白的主要方法有:碱法、酶法和物理方法<sup>[3]</sup>。物理法提取率较低;碱法工艺成本低,但制备的米糠蛋白易变性且提取率低;酶法反应条件较温和,所得蛋白营养价值高,但相对碱法来说,其工艺成本较高<sup>[4-6]</sup>。目前国内外都在致力于复合酶法提取米糠蛋白的研究,期望在工艺成本略有增加的同时,得到最高的蛋白提取率。米糠蛋白一

直没有在食品及相关领域得到更广泛的应用,除了提取成本、提取条件等制约因素外,蛋白成品因褐变严重、颜色深而不适合在食品中添加应用,也是米糠蛋白没有实现大规模的工业化生产的主要因素<sup>[7-11]</sup>。本实验采用碱法和复合法两种方法提取米糠蛋白,并在提取米糠蛋白过程中添加各种类型的抑制剂,以抑制褐变的发生,为生产高品质的米糠蛋白提供理论依据。通过实验寻找有效的褐变抑制方法和途径,抑制碱法和复合法提取米糠蛋白过程中色素物质的生成,提高米糠蛋白的利用价值,以期增加其在食品中的应用范围和工业化生产的可行性。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料与仪器

米糠 北大荒米业有限公司; 淀粉酶(4000U/g)、纤维素酶(4000U/g) 天津利华酶制剂有限公司; 植酸酶(5000U/g) 宁夏夏盛实业有限公司; 磷酸氢二钠 哈尔滨市新春化工厂,分析纯; 氢氧化钠 天津市大陆化学试剂厂,分析纯; 正己烷、

收稿日期:2011-08-31 \*通讯联系人

作者简介:李坤(1986-),女,在读硕士,研究方向:农产品加工。

基金项目:黑龙江省高校科技创新团队建设计划项目(2010td04);哈尔滨市科技攻关重大项目(2009AA6BN074)。

三氯乙酸 天津市永大化学试剂有限公司,分析纯;  
浓硫酸、硫酸钾、硫酸铜、硼酸、次氯酸钠、抗坏血酸、  
氯化钙、柠檬酸、过氧化氢、L-半胱氨酸 天津市万  
船化学试剂科技有限公司,分析纯。

Spectrum721E 可见分光光度计, Spectrum721E  
紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;  
80-2高速离心机 上海浦东物理光学仪器厂;  
SY-2-4恒温水浴锅 天津市欧诺仪器仪表有限公  
司;BS224S 电子分析天平 赛多利斯科学仪器有限  
公司;HVP- II 消化炉 上海纤检仪器有限公司;  
pHS-3C精密 pH 计 上海雷磁仪器厂;凯氏定氮器  
上海安亭科学仪器厂;中草药粉碎机 天津市泰  
斯特仪器有限公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 褐变抑制剂筛选的考察指标

1.2.1.1 色素抑制率的计算 将提取出来的米糠蛋  
白在 350~450nm 下测吸光值,得出色素物质在波长  
420nm 处有最大吸收峰。取离心后的脱脂米糠水解  
上清液,在波长为 420nm 处,用分光光度计测其吸光  
度值。(当吸光值大于 0.8 时,用蒸馏水进行 1:9 稀  
释后再进行吸光度值的测量)。色素抑制效果以色  
素抑制率表示,由测得的吸光度计算而得:

$$\text{色素抑制率}(\%) = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\% \quad \text{式(1)}$$

式中:  $A_0$ —未经抑制色变的水解液吸光度;  $A$ —经  
抑制色变的水解液吸光度。

### 1.2.1.2 蛋白提取率的计算

米糠蛋白提取率(%) = 提取物中蛋白质的量/  
(米糠的蛋白含量 × 米糠的取样量) × 100% 式(2)

1.2.2 脱脂米糠的制备 粗米糠经 100 目筛子过筛,  
除杂质,得过筛米糠。向过筛米糠中以 1:10 的比例  
加入正己烷,室温下搅拌 30min, 3000r/min 离心  
10min,上清液用蒸馏法回收正己烷,沉淀在室温下  
晾干,即得脱脂米糠,再次粉碎后备用。

1.2.3 碱法制备米糠蛋白的褐变抑制剂筛选 脱脂  
米糠→加水混合(固液比为 1:10)→调节 pH(9.45)→水浴加  
热(50℃, 3h)→离心(3500r/min, 15min)→上清液→调等电  
酸沉→水洗沉淀

1.2.3.1 次氯酸钠对褐变的抑制效果 按碱法制备  
米糠蛋白的工艺条件,将水换成次氯酸钠,即脱脂米  
糠与次氯酸钠的比例为 1:10,次氯酸钠浓度分别为  
0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%,提出的蛋白在波长  
为 420nm 下测吸光值,计算色素抑制率,考察次氯酸  
钠对碱法制备米糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.3.2 氯化钙对褐变的抑制效果 按碱法制备米  
糠蛋白的工艺条件,将水换成氯化钙,即脱脂米糠与  
氯化钙的比例为 1:10,氯化钙浓度分别为 1%、2%、  
3%、4%、5%,提出的蛋白在波长为 420nm 下测吸  
光值,计算色素抑制率,考察氯化钙对碱法制备米糠  
蛋白的褐变抑制效果。

1.2.3.3 L-半胱氨酸对褐变的抑制效果 按碱法制  
备米糠蛋白的工艺条件,将水换成 L-半胱氨酸,即脱  
脂米糠与 L-半胱氨酸的比例为 1:10, L-半胱氨酸浓

度分别为 0.1%、0.15%、0.2%,提出的蛋白在波长为  
420nm 下测吸光值,考察 L-半胱氨酸对碱法制备米  
糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.3.4 过氧化氢对褐变的抑制效果 按碱法制备  
米糠蛋白的工艺条件,将水换成过氧化氢,即脱脂米  
糠与  $H_2O_2$  的比例为 1:10,过氧化氢浓度分别为  
1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%,提出的蛋白在波长  
为 420nm 下测吸光值,考察过氧化氢对碱法制备米  
糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.3.5 柠檬酸对褐变抑制效果 按碱法制备米糠  
蛋白的工艺条件,将水换成柠檬酸,即脱脂米糠与柠  
檬酸的比例为 1:10,柠檬酸的浓度分别为 1%、2%、  
3%、4%、5%,提出的蛋白在波长为 420nm 下测吸  
光值,考察柠檬酸对碱法制备米糠蛋白的褐变抑制  
效果。

1.2.4 复合法制备米糠蛋白的褐变抑制剂筛选 工  
艺流程:

脱脂米糠→与缓冲溶液混合(固液比为 1:8)→加  $\alpha$ -  
淀粉酶酶解(调整加酶量、时间、温度)→加植酸酶  
和纤维素酶酶解(调整加酶量、时间、温度)→灭酶  
(80℃, 15min)→离心(3500r/min, 15min)→上清液a

离心沉淀→碱液浸提→离心(3500r/min, 15min)→上清液b  
将上清液a和b混合并调等电点酸沉→水洗沉淀三次→  
调pH至中性→米糠蛋白

复合法制备米糠蛋白过程中,淀粉酶添加量为  
20U/g,纤维素酶和植酸酶添加量分别为 300U/g 和  
50U/g<sup>[7]</sup>。

1.2.4.1 次氯酸钠对褐变的抑制效果 按复合法制  
备米糠蛋白的工艺条件,将添加适当的缓冲液换成  
添加 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5% 不同浓度的次氯酸  
钠溶液,提出的蛋白在波长为 420nm 下测吸光值,考  
察次氯酸钠对制备米糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.4.2 抗坏血酸对褐变的抑制效果 按复合法制  
备米糠蛋白的工艺条件,将添加适当的缓冲液换成  
添加 1%、2%、3%、4%、5% 不同浓度的抗坏血酸溶  
液,提出的蛋白在波长为 420nm 下测吸光值,考察抗  
坏血酸对制备米糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.4.3 L-半胱氨酸对褐变的抑制效果 按复合法  
制备米糠蛋白的工艺条件,将添加适当的缓冲液换  
成添加 0.1%、0.15%、0.2% 不同浓度的 L-半胱氨酸  
溶液,提出的蛋白在波长为 420nm 下测吸光值,考察  
L-半胱氨酸对制备米糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.4.4 氯化钙对褐变的抑制效果 按复合法制备  
米糠蛋白的工艺条件,将添加适当的缓冲液换成添  
加 1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0% 不同浓度的氯化钙  
溶液,提出的蛋白在波长为 420nm 下测吸光值,考察  
氯化钙对制备米糠蛋白的褐变抑制效果。

1.2.4.5 正交实验 正交实验为了确定各因素对色  
素抑制率和蛋白提取率的影响顺序。根据单因素实  
验结果,对抑制剂次氯酸钠、抗坏血酸和 L-半胱氨酸  
三个因素进行正交实验,每一因素都有三个水平,选  
用  $L_9(3^4)$  进行实验。正交实验因素水平见表 1。

表1 正交实验设计因素水平表  
Table 1 Factors and Levels Table of  
Orthogonal Test Design

水平	因素		
	A 次氯酸钠 (%)	B 抗坏血酸 (%)	C L-半胱氨酸 (%)
1	0.5	2	0.1
2	1.0	3	0.15
3	1.5	4	0.2

## 2 结果与讨论

### 2.1 碱法提取米糠蛋白加各褐变抑制剂的效果

2.1.1 次氯酸钠对褐变的抑制效果 次氯酸钠为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图1所示。美拉德反应中产生含有共轭双键的有色物质,添加次氯酸钠等强氧化剂可以有效破坏羰基化合物及中间产物中的双键结构,使共轭双键发生断裂,将含有共轭双键结构的有色物分子破坏成为分子量低、双键含量少的物质。由图1可以看出,随着次氯酸钠浓度的增加,色素抑制率逐渐增高,在添加浓度为1.5%时达到最大,随后逐渐降低;确定次氯酸钠的最佳添加量为1.5%,色素抑制率为64.2%,此时蛋白提取率为53.7%。

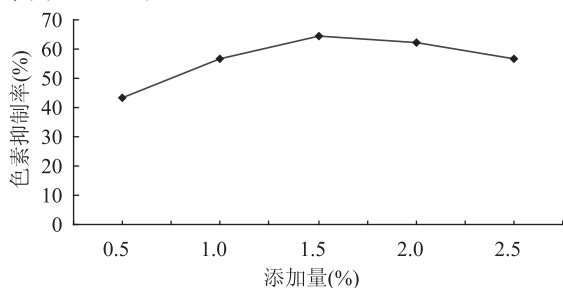


图1 次氯酸钠抑制褐变的效果

Fig.1 Browning inhibition of adding sodium hypochlorite

2.1.2 氯化钙对褐变的抑制效果 氯化钙为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图2所示。氯化钙溶液中的钙离子一方面能够竞争性地与多酚氧化酶结合,降低了酶的催化活性,起到了抑制多酚氧化酶活性的作用;另一方面,钙离子与溶液组分中的某些酸结合生成钙盐,某种程度上也降低了褐变反应的发生程度。确定氯化钙的最佳添加浓度为3.0%,色素抑制率为63.21%,此时蛋白提取率为49.2%。

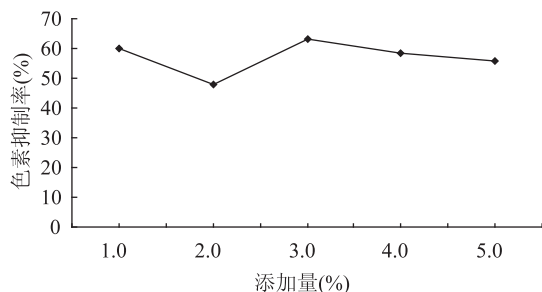


图2 氯化钙抑制褐变的效果

Fig.2 Browning inhibition of adding calcium chloride

2.1.3 L-半胱氨酸对褐变的抑制效果 L-半胱氨酸

为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图3所示。首先,L-半胱氨酸等含硫氨基酸使醌类物质能够与半胱氨酸形成无色的复合物,中断了醌类物质集合形成色素物质;其次,L-半胱氨酸可通过与PPO活性位点的铜离子不可逆结合而抑制酶活性,或者代替PPO活性位点的组氨酸残基;最后,L-半胱氨酸阻止酚类的聚合,抑制效果因抑制剂的种类及其浓度不同而有所差异。由图3可见,以L-半胱氨酸为抑制剂的整体抑制效果不是很显著,随着添加浓度的增加色素抑制率逐渐升高,到0.15%时达到最大。确定L-半胱氨酸的最佳添加浓度为0.15%,色素抑制率为19.51%,此时蛋白提取率为58.7%。

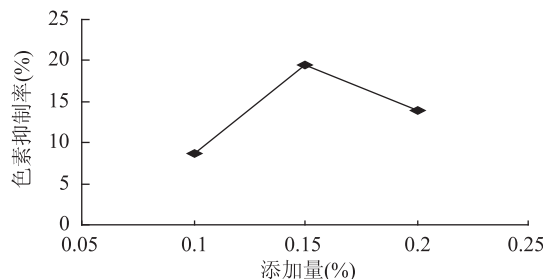


图3 L-半胱氨酸抑制褐变效果

Fig.3 Browning inhibition of adding L-cysteine

2.1.4 过氧化氢对褐变的抑制效果 过氧化氢为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图4。根据有机化学和近代波谱理论,有机物的颜色是由含共轭双键系统的生色团、发色团引起的,使用强氧化剂过氧化氢可以有效破坏共轭双键体系,使共轭双键发生断裂,将含有共轭双键结构的有色物分子破坏。由图4可见,以过氧化氢为抑制剂所得色素抑制率的曲线相对比较平稳,随着过氧化氢浓度的增加色素抑制率逐渐增加,4.0%时色素抑制率最大,随后缓慢下降。确定过氧化氢的最佳添加浓度为4.0%,色素抑制率为33.19%,此时蛋白提取率为54.6%。以色素抑制率和蛋白提取率为考察指标,与强氧化剂次氯酸钠相比,过氧化氢的褐变抑制效果没有次氯酸钠明显。

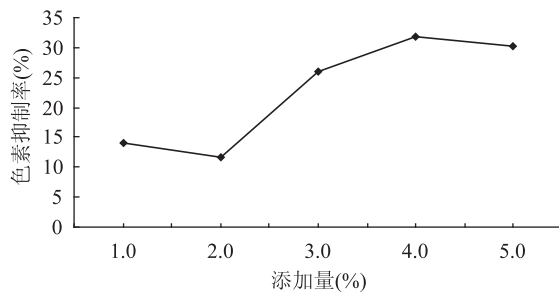


图4 过氧化氢抑制褐变效果

Fig.4 Browning inhibition of adding catalase

2.1.5 柠檬酸对褐变的抑制效果 柠檬酸为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图5。多酚氧化酶活性在pH4.5以上条件下开始增强,pH5~7时逐渐达到最高,低于2.5时几乎完全失活。通过使用酸化剂降低pH抑制酶促褐变已得到广泛的应用。柠檬酸是最常用的酸化剂,它能降低产品的pH,同时与



从 PPO 上解离下来的铜离子发生络合作用,形成配合化合物可抑制 PPO 的活性。由图 5 可见,随着柠檬酸浓度的增加,色素抑制率呈逐步上升的趋势,添加浓度到 2.0% 时达到最大,确定为柠檬酸的最佳添加量,色素抑制率为 31.09%,此时蛋白提取率为 59.1%。

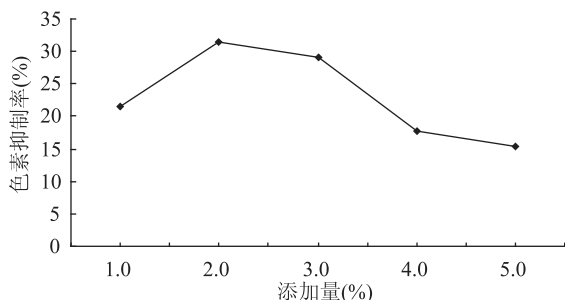


图 5 柠檬酸抑制褐变效果

Fig.5 Browning inhibition of adding citric acid

综上褐变抑制剂的单因素实验可知:在碱法提取米糠蛋白的过程中,综合色素抑制率和蛋白提取率,最佳抑制剂为 1.5% 的次氯酸钠。

## 2.2 复合法提取米糠蛋白加各抑制剂效果

2.2.1 次氯酸钠对褐变的抑制效果 次氯酸钠为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图 6。随着次氯酸钠这种强氧化剂浓度的增加,色素抑制率逐渐降低,故确定在复合法提取米糠蛋白中次氯酸钠的最佳添加浓度为 0.5%,色素抑制率为 30.58%,此时蛋白提取率为 68.2%。

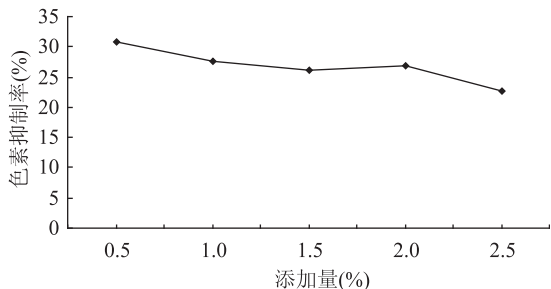


图 6 次氯酸钠抑制褐变效果

Fig.6 Browning inhibition of adding sodium hypochlorite

2.2.2 抗坏血酸对褐变的抑制效果 抗坏血酸为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图 7。抗坏血酸具有还原性,作为还原剂它将氧化的醌类物质及其衍生物还原成酚类物质,阻止醌类物质进一步自发聚合形成色素物质;同时,抗坏血酸还可降低体系 pH,并通过自身氧化来减少体系的含氧量,抗坏血酸也是使用最多的褐变抑制剂。确定抗坏血酸的最佳添加浓度为 3.0%,色素抑制率为 32.78%,此时蛋白提取率为 82.1%。

2.2.3 L-半胱氨酸对褐变的抑制效果 L-半胱氨酸为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图 8。以 L-半胱氨酸为抑制剂时,色素抑制率随着添加浓度的增加而增加,当 L-半胱氨酸的浓度为 0.2% 时,色素抑制率最大,但是此时溶液中残存 L-半胱氨酸异味较浓,加上其成本偏高,不适宜用高浓度的 L-半胱氨酸作抑制剂。所以确定复合法提取米糠蛋白

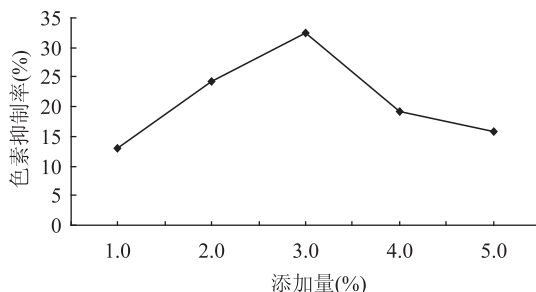


图 7 抗坏血酸抑制褐变效果

Fig.7 Browning inhibition of adding ascorbic acid

时,L-半胱氨酸的适宜添加浓度为 0.15%,色素抑制率为 27.95%,此时蛋白提取率为 74.7%。

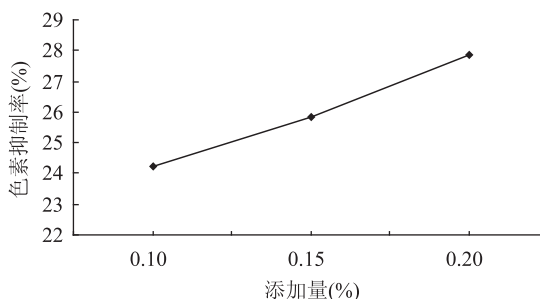


图 8 L-半胱氨酸抑制褐变效果

Fig.8 Browning inhibition of adding L-Cysteine

2.2.4 氯化钙对褐变的抑制效果 氯化钙为褐变抑制剂时,计算其色素抑制率,结果如图 9。确定氯化钙的最佳添加浓度为 3.0%,色素抑制率为 26.87%,此时蛋白提取率 65.3%。

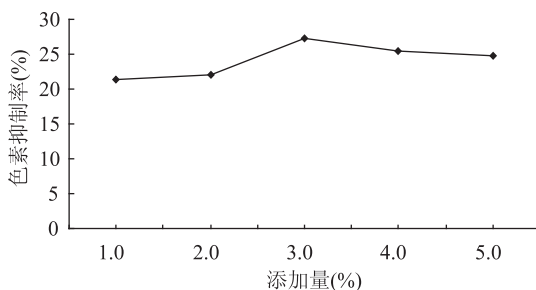


图 9 氯化钙抑制褐变效果

Fig.9 Browning inhibition of adding calcium chloride

2.2.5 正交实验优化复配抑制剂配比 通过单因素结果可以看出,分别以次氯酸钠、抗坏血酸和 L-半胱氨酸为褐变抑制剂时,色素抑制率较高,抑制效果显著,故选择次氯酸钠、抗坏血酸和 L-半胱氨酸三种抑制剂复配进行实验。对三个因素进行正交实验,每个因素选择 3 个水平,选用  $L_9(3^4)$  进行实验,以色素抑制率和蛋白提取率为考查指标,结果见表 2,结果分析见表 3~表 5。

从极差分析结果中可以看出,三种因素对抑制米糠蛋白褐变的影响大小顺序是:L-半胱氨酸 > 次氯酸钠 > 抗坏血酸,由表 3 得出,三种抑制剂最佳复配组合为:  $A_2B_2C_2$ ,即次氯酸钠浓度为 1.0%、抗坏血酸浓度为 3%、L-半胱氨酸浓度为 0.15%。

从极差分析结果中可以看出,三种因素对米糠蛋白提取率的影响大小顺序是:L-半胱氨酸 > 次氯

表2 正交实验结果

Table 2 Orthogonal experiment results

实验号	A	B	C	色素抑制率(%)	蛋白提取率(%)
1	1	1	1	54.98	71.33
2	1	2	2	65.93	85.76
3	1	3	3	53.47	75.09
4	2	1	2	68.52	80.19
5	2	2	3	64.51	83.69
6	2	3	1	60.29	79.25
7	3	1	3	57.21	72.15
8	3	2	1	60.24	77.96
9	3	3	2	66.77	80.25

表3 以色素抑制率为指标进行极差分析

Table 3 Analysis of range taking pigment inhibition ratio as the index

	A	B	C
$k_1$	58.13	60.24	58.50
$k_2$	64.44	63.56	67.07
$k_3$	61.41	60.18	58.40
r	6.31	3.38	8.67

表4 以蛋白提取率为指标进行极差分析

Table 4 Analysis of range taking protein extraction ratio as the index

	A	B	C
$k_1$	80.77	80.55	79.52
$k_2$	78.32	79.23	78.58
$k_3$	79.90	79.21	80.89
r	2.45	1.34	2.31

表5 以色素抑制率为指标的显著性分析表

Table 5 Significance analysis of pigment inhibition ratio as the index

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	59.82	2	20.96	19.00	*
B	22.50	2	7.88	19.00	
C	148.74	2	52.12	19.00	*
误差	2.85	2			

酸钠 > 抗坏血酸,由表4得出,三种抑制剂最佳复配组合为:A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即次氯酸钠浓度为0.5%、抗坏血酸浓度为2%、L-半胱氨酸浓度为0.2%。

对于色素抑制率和蛋白提取率这两项指标来说,二者都是值越大效果越好。分析可得,对于次氯酸钠的两项指标,色素抑制率在添加量为1.0%时有最大值,但此时的蛋白提取率最低,为了确保达到好的色素抑制率和一定的蛋白提取率,最后确定次氯酸钠的添加量为1.0%;对于抗坏血酸的两项指标,从图表中可知,在浓度为3%时,色素抑制率效果最好,此时的蛋白提取率也客观较理想。故确定抗坏血酸的添加量为3%;对于L-半胱氨酸的两项指标分析,其效果和次氯酸钠有些相似,采用综合的角度考虑,最终确定L-半胱氨酸的添加量为0.15%。通过正交实验的图表分析,以色素抑制率为主要指标,得出可能好的因素水平为A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>。即次氯酸钠的添加量为1.0%,抗坏血酸的添加量为3.0%,L-半胱氨酸的添加量为0.15%。

根据显著性方差分析表中,可以看出三个因素中有两个因素的F比大于F临界值,是有显著性的。因素A次氯酸钠的F比20.96大于F临界值19,因此次氯酸钠对色素抑制率的影响有显著差异;对于

因素B抗坏血酸,其F比小于F临界值,因此其对色素抑制率的影响无显著差异;因素C L-半胱氨酸的F比52.12大于F临界值19,其对色素抑制率的影响有显著差异。与表3的分析结果是一致的。

综上所述,次氯酸钠、抗坏血酸和L-半胱氨酸添加量对色素抑制率影响比较显著,三种褐变抑制剂的添加量确定为:次氯酸钠最佳用量为1.0%、抗坏血酸为3.0%及L-半胱氨酸为0.15%。色素抑制率为69.87%,蛋白提取率为80.06%。

### 3 结论

本研究以低温米糠为原料,分别用碱法和复合法提取米糠蛋白,在最佳提取条件下分别添加各种抑制剂,抑制米糠蛋白的褐变,并综合蛋白提取率和色素抑制率为考察指标,实验结果如下:

a.碱法提取米糠蛋白过程中,在固液比为1:10,温度50℃,pH 9.45,提取时间3h为最佳提取条件下,最佳抑制剂为1.5%的次氯酸钠,色素抑制率为64.2%,蛋白提取率为53.7%。

b.复合酶法提取米糠蛋白的过程中,固液比1:8,温度62℃,pH 6.2,总提取时间5h为最佳提取条件下,用正交实验优化次氯酸钠、抗坏血酸和L-半胱氨

酸配比,得最佳抑制剂为 1.0% 次氯酸钠、3.0% 抗坏血酸和 0.15% L-半胱氨酸配比,色素抑制率为 69.87%,蛋白提取率为 80.06%。

通过本实验得出结论,使用复合酶法提取米糠蛋白的效果较好,提取出的蛋白颜色较浅,提取率高,且在以 1.0% 次氯酸钠、3.0% 抗坏血酸和 0.15% L-半胱氨酸为复配抑制剂的情况下,色素抑制率为 69.87%,米糠蛋白提取率为 80.06%。

参考文献

[1] 陈义勇,王伟,沈宗根,等.米糠与米糠蛋白深度开发现状[J].粮食加工,2006,31(5):24-28.  
 [2] 陈正行,姚惠源,周素梅.米蛋白和米糠蛋白开发利用[J].粮食与油脂,2002(4):6-9.  
 [3] Roberts P J, Simmond D H. Extraction of protein and solid from wheat bran[J]. Journal of Science Food Agriculture, 1985, 36(1):5-10.  
 [4] 冯磊.酶法水解米糠纤维以制备保健食品的研究[J].粮食

与饲料工业,1997(11):37-39.  
 [5] 葛娜.酶法提取大米蛋白及其应用的研究[D].无锡:江南大学,2006.  
 [6] 何斌,陈功,徐弛.酶法提取米糠蛋白的研究[J].四川食品与发酵,2006,42:16-8.  
 [7] 刘颖,田文娟,马永强.非蛋白酶提取米糠蛋白的研究[J].农产品加工·学刊,2010(10):20-23.  
 [8] 蔡东联.对米糠营养价值的再认识[J].中国食物与营养,2000(2):31.  
 [9] Ravin Gnanasambandam. Protein concentrate from unstabilized and stabilized rice bran: Reparation and properties[J]. Journal of Food Science, 1995, 60(5):1066-1069.  
 [10] 韩秀丽,张如意,马晓建,等.米糠的综合利用及其前景[J].农产品加工学刊,2007,106(7):62-64.  
 [11] R Sengupta. Enzymatic of mustard seed and rice bran [J]. Journal of American Oil Chemistry Society, 1996, 73(6):687-692.

(上接第 181 页)

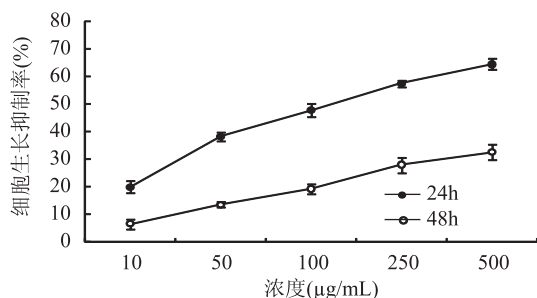


图3 PSCE 对 A375SM 细胞增殖作用

Fig.3 The cell proliferation inhibition activity of PSCE on A375SM

表1 PSCE 对 A375SM 人黑色素瘤细胞克隆形成的影响  
 Table 1 Effect of PSCE on the colon formation of A375SM

组别	剂量 (μg/mL)	克隆形成数	克隆形成抑制率 (%)
对照组		147.67 ± 2.08	0
PSCE	50	133.00 ± 5.13	10
	100	116.33 ± 5.51	21
	250	74.33 ± 3.06	50
	500	60.67 ± 8.08	59

3 结论

PSCE 具有较好的体外自由基清除能力,其对 DPPH 自由基的 IC<sub>50</sub> 为 105.53 μg/mL,对羟基自由基的 IC<sub>50</sub> 为 269.65 μg/mL。上述结果提示 PSCE 是一种较好的外源性天然抗氧化剂。此外,急性细胞毒及慢性细胞毒实验结果都提示,PSCE 在体外对 A375SM 人黑色素瘤细胞都具有明显的细胞毒杀伤作用,且杀伤效果呈时间剂量效应关系。今后应进一步分离纯化 PSCE 中的具有抗氧化活性的有效成分,并对其可能存在的抑制黑色素瘤细胞增殖能力

展开分子机制层面的研究。

参考文献

[1] 张卫明,石雪萍.紫苏全草营养成分测定[J].食品研究与开发,2009,30(2):132-134,165.  
 [2] 韩丽,李福臣,刘洪富,等.紫苏的综合开发利用[J].食品研究与开发,2004,25(6):24-26.  
 [3] Fritsche K, Johnston P. Effect of Dietary {alpha}-Linolenic Acid on Growth, Metastasis, Fatty Acid Profile and Prostaglandin Production of Two Murine Mammary Adenocarcinomas[J]. J Nutr, 1990, 120(12):1601.  
 [4] Kakisawa H. Effect of the dietary alphalinoleata/linoleata balance on leukotricne production and histanmine relese in rats [J]. Phytochem, 1988, 27:731.  
 [5] Horii T, Satouchi K, Kobayashi Y, et al. Effect of dietary alpha-linolenate on platelet-activating factor production in rat peritoneal polymorphonuclear leukocytes [J]. J Immunol, 1991, 147(5):1607.  
 [6] 王天元.紫苏子种皮抗氧化能力研究[J].食品科学,2002,23(1):131-133.  
 [7] 王天元.紫苏籽皮提取物中抗氧化性成分及作用研究[J].林产化学与工业,2002,22(1):63-67.  
 [8] 胡晓丹,张德权,杜为民,等.紫苏提取物对紫苏油抗氧化作用的研究[J].食品工业科技,2007,28(8):118-120.  
 [9] Spencer J, Jenner A, Aruoma O, et al. Intense oxidative DNA damage promoted by L-DOPA and its metabolites implications for neurodegenerative disease [J]. FEBS Letters, 1994, 353(3):246-250.  
 [10] 韩为东,赵亚力,马学斌.分子生物学基本实验技术[M]北京:清华大学出版社,2006.