

芡实谷蛋白提取工艺优化及其亚基组成分析

Optimization of extraction process and analysis of subunit component of glutelin from *Euryale Ferox* seed

黎 卫¹ 毛 健¹ 陈 婷² 齐 斌²

LI Wei¹ MAO Jian¹ CHEN Ting² QI Bin²

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500)

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;

2. College of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500, China)

摘要:为了优化芡实谷蛋白提取工艺以及分析其亚基组成。采用碱溶酸沉法提取芡实谷蛋白,运用响应面法优化其工艺条件。通过单因素试验考察液料比、温度、时间以及碱浓度对芡实谷蛋白提取率的影响,采用 Box-Behnken 设计方法建立谷蛋白提取的数学模型,并通过 SDS—PAGE 凝胶电泳对芡实谷蛋白亚基组成进行分析。结果表明,芡实谷蛋白的最佳提取工艺条件为:液料比 10.3 (V/m),温度 51 °C,时间 2.2 h,碱浓度 4.5 g/L。该条件下,芡实谷蛋白提取率可达 32.45%,与理论值 32.55% 无显著差异($P>0.05$),说明该回归模型具有良好的预测性,可通过该法指导提取芡实谷蛋白。同时通过对芡实谷蛋白 SDS—PAGE 凝胶电泳分析,发现芡实谷蛋白中 15 kD 亚基含量最高,占 52.4%。这为构建芡实谷蛋白指纹图谱提供理论依据。

关键词:芡实;谷蛋白;提取;亚基

Abstract:In order to optimize the extraction process and analysis of subunit component of glutelin from *Euryale ferox* seed, the effect of four variables including liquid/material ratio, temperature, time and sodium hydroxide concentration on the extraction yield of glutelin was investigated by alkali solution and acid isolation. The glutelin extraction model was fitted by means of Box-Behnken design. Moreover, the subunit component of glutelin from *Euryale ferox* seed was analyzed. The results indicated that the optimum conditions for glutelin in *Euryale ferox* were determined as 10.3 (V/m), 51 °C, 2.2 h, 4.5 g/L for liquid/material ratio, temperature, time and sodium hydroxide concentration, respectively. Under these conditions, the extraction yield of glutelin was 32.45%, which was no significant difference with the theoretical value of 32.55% ($P>0.05$). Thus, the regression model has good predictive performance, and can be

used to guide extraction of glutelin in *Euryale ferox* seed. And the molecular mass of about 15 kD is the major subunit component of glutelin from *Euryale ferox* seed, which accounts for 52.4%. It can be used to construct the *Euryale ferox* glutelin fingerprint and provide a theoretical basis.

Keywords:*Euryale ferox*; glutelin; extraction; subunit

芡实(*Euryale ferox*),又名鸡头米、鸡头莲,属于睡莲科芡属,是传统的中药材和珍贵的天然补品,具有药食同源性。素有“水中人参”和“水中桂圆”美誉的芡实主要分布在东亚、南亚及东南亚等温带及亚热带区^[1]。

芡实中含有丰富的蛋白质、碳水化合物、维生素等营养成分,其中蛋白质的含量与金针菜、银耳、木耳等相当^[2]。芡实不仅营养丰富,而且还有养血安神、止泻止带、益肾固精等食疗功效^[3],在食品保健与医药领域具有广阔的应用前景。

到目前为止,国内外关于芡实蛋白的研究主要集中在芡实蛋白的超声提取^[4]、营养价值^[5-7]、凝胶性及流变特性^[8]等方面,而对于芡实蛋白组分提取分离的研究报道较少。根据蛋白质的溶解性不同,按照 Osborne 分级法^[9]植物蛋白可分为:溶于水的清蛋白(albumin);不溶于水,但溶于盐的球蛋白(globulin);不溶于水,但溶于 70%~80% 乙醇的醇溶蛋白(prolamine);不溶于水、醇,但溶于稀酸或稀碱的谷蛋白(glutelin)。本实验室通过前期研究发现芡实蛋白的这 4 种组分中谷蛋白含量最高。国内外关于谷蛋白的研究主要集中在大米^[10-13]、小麦^[14,15]、玉米^[16,17]等农作物蛋白源,对其进行了大量的基础研究及应用,市场前景十分可观,而关于芡实谷蛋白的提取工艺研究鲜有报道。因此利用响应面法对芡实蛋白中主要组分谷蛋白的提取工艺进行优化,并通过 SDS—PAGE 凝胶电泳对芡实谷蛋白亚基组成进行分析,为进一步开发利用芡实谷蛋白提供科学依据。

基金项目:国家“863”计划项目(编号:2013AA102203-03)

作者简介:黎卫(1990—),女,江南大学在读硕士研究生。

E-mail:liwei_199010@163.com

通讯作者:齐斌

收稿日期:2014-12-05

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

芡实:苏州创德兴芡实有限公司;
考马斯亮蓝 G-250:国药集团化学试剂有限公司;
牛血清白蛋白:生物试剂,上海信然实业有限公司;
SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒:碧云天生物技术研究
所;
其他试剂,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;
试验用水为蒸馏水。

1.1.2 主要仪器设备

水浴恒温振荡器:SHZ-28A 型,太仓市华美生化仪器
厂;
高速冷冻离心机:CR22G II 型,日本 Hitachi 公司;
紫外可见分光光度计:UVmini-1240 型,日本 Shimadzu
公司;
冷冻干燥机:Alpha 1-2 LD plus 型,德国 Christ 公司;
pH 计:Seven Easy S20K 型,瑞士 Mettler Toledo 公司;
分析天平:XSI05 DualRange 型,瑞士 Mettler Toledo
公司;
电泳仪:Mini-PROTEAN Tetra 型,美国 Bio-Rad 伯乐
公司。

1.2 方 法

1.2.1 原料基本成分测定 将芡实粉碎后过 100 目筛,对
其基本成分进行测定。测定方法:

(1) 水分的测定:按 GB 5009.3—2010《食品中水分的测
定》中的直接干燥法执行;

(2) 蛋白的测定:按 GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的
测定》中的凯氏定氮法执行,N 取 6.25;

(3) 脂肪的测定:按 GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的
测定》中的索式抽提法执行;

(4) 灰分的测定:按 GB 5009.4—2010《食品中灰分的测
定》中的质量法执行;

(5) 总糖的测定:采用苯酚—硫酸法^[18]。

1.2.2 芡实谷蛋白的提取 根据文献^[10],修改如下:称取
10.0 g 芡实粉,依次用 10 倍体积的水、0.1 mol/L NaCl 溶液
和 70%乙醇溶液提取芡实清蛋白、球蛋白和醇溶蛋白组分,
重复提取两次,12 000 r/min,4 ℃离心 20 min 去除上清液
后,收集沉淀,洗涤 2 次,加入 NaOH 溶液搅拌,提取谷蛋白。

单因素试验:设定液料比 10 (V/m)、温度 45 ℃、搅拌时
间 2 h、碱浓度(NaOH)4.0 g/L,固定其他条件,分别考察不
同液料比、温度、时间、碱浓度对芡实谷蛋白提取率的影
响。提取后溶液离心(12 000 r/min、20 min、4 ℃)得上清液,重复
提取两次,将上清液混合,用 1 mol/L 的 HCl 调至其等电点,
离心(12 000 r/min、20 min、4 ℃),沉淀用 1 : 2(m : V)水

洗涤两次。沉淀加水溶解,用 1 mol/L NaOH 调 pH 至 7.0,
4 ℃透析 48 h 脱盐。脱盐后的蛋白溶液冷冻干燥。冷冻干
燥后的样品即为芡实谷蛋白。每组试验重复 3 次,取平均
值。采用凯氏定氮法测定芡实谷蛋白的蛋白含量。

芡实谷蛋白提取率的计算:

$$R_1 = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R_1 ——芡实谷蛋白的提取率,%;

m_1 ——芡实谷蛋白的蛋白总质量,g;

m_2 ——原料中蛋白的总质量,g。

1.2.3 响应面法优化试验 根据 Box-Behnken 设计原理,
在单因素试验的基础上,以芡实谷蛋白的提取率作为响应
值,通过四因素三水平进行响应面优化试验,试验重复 3 次,
取平均值,建立回归方程模型。

1.2.4 芡实谷蛋白等电点的测定 将提取的芡实谷蛋白溶
液,分装到 21 支离心管中,每管 100 mL,用 1 mol/L HCl 调
至不同的 pH(3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,5.5,6.0),每组 3 个平
行,静置 2 h 后在 4 ℃、12 000 r/min 离心 20 min,测定上清
液中蛋白质的含量,计算蛋白质的沉淀率。

$$R_2 = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

R_2 ——芡实谷蛋白沉淀率,%;

m_1 ——酸沉前上清液中蛋白质的质量,g;

m_2 ——酸沉后上清液中蛋白质的质量,g。

液体样品蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法^[19]。以
牛血清白蛋白(1 mg/mL)作标准曲线,595 nm 吸光度为横
坐标,牛血清蛋白浓度为纵坐标,绘制标准曲线,得线性回归
方程为: $Y = 1.157 1X + 0.002 7$ (其中,X 为吸光值;Y 为蛋
白浓度,单位为 mg/mL), $R^2 = 0.993$ 。

绘制沉淀率与 pH 值的曲线图,沉淀率最大时的 pH 值
即为芡实谷蛋白的等电点。

1.2.5 芡实谷蛋白的 SDS-PAGE 电泳 取最佳条件下提
取的芡实谷蛋白粉,加入上样 Buffer,100 ℃煮沸 5 min 后,
取 15 μ L 上样,采用 5%浓缩胶及 12%分离胶进行不连续垂
直电泳,浓缩胶和分离胶电压分别为 70 V 和 100 V。待溴酚
蓝条带移动到距离分离胶下边缘 1 cm 左右时关闭电源,结
束电泳。采用考马斯亮蓝 G-250 染液对凝胶进行染色,用脱
色液脱色后拍照保存。

2 结果与分析

2.1 芡实的基本成分分析

将芡实粉碎后,过 100 目筛,采用 1.2.1 的方法测定芡
实的基本成分,结果见表 1。由表 1 可知,芡实中糖含量最高
(83.23 \pm 0.83)%,其次是蛋白质(9.52 \pm 0.13)%,印度学
者^[7]发现,芡实蛋白含量虽不高,但其必需氨基酸指数

(EAAI)较高,优于大部分的动植物蛋白。在本实验室的前期研究中,谷蛋白为芡实蛋白中的主要组分,因此以碱溶酸沉法制备芡实谷蛋白,优化其提取工艺,对提高其应用范围和经济价值具有重要意义。

表 1 芡实的基本成分(干基)

Table 1 The composition of *Euryale ferox* seed
($10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

成分	脂肪	蛋白质	水分	灰分	总糖
含量	0.32 ± 0.03	9.52 ± 0.13	3.03 ± 0.09	1.1 ± 0.04	83.23 ± 0.83

2.2 芡实谷蛋白的等电点

不同 pH 条件下,芡实谷蛋白的沉淀效果见图 1。由图 1 可知,当 pH 为 4.5~5.5 时,芡实谷蛋白的沉淀效果较好,沉淀率在 80% 以上;当 pH 为 5.0 时,沉淀率达到最大值,为 88.2%。因此芡实谷蛋白的等电点为 5.0 左右,确定此 pH 为芡实谷蛋白的最佳沉淀条件。

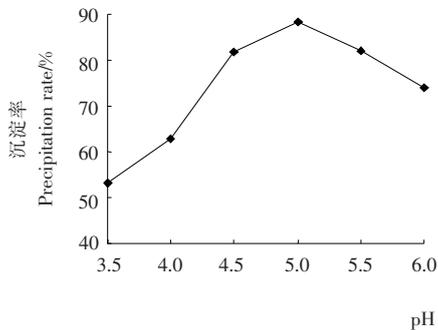


图 1 pH 对芡实谷蛋白沉淀效果的影响

Figure 1 Effect of different pH on the precipitation of *Euryale ferox* glutelin

2.3 单因素试验结果

2.3.1 液料比对芡实谷蛋白提取率的影响 由图 2 可知,随着液料比的增加,芡实谷蛋白的提取率不断增加,当液料比为 10.0(V/m) 时,芡实谷蛋白提取率达 31.17%,此后,随

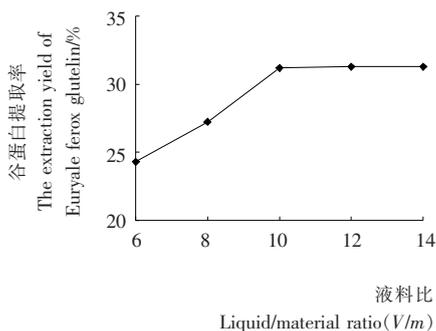


图 2 液料比对芡实谷蛋白提取率的影响

Figure 2 Effect of liquid/material ratio on extraction yield of *Euryale ferox* glutelin

着液料比的增大,蛋白质的提取率几乎不变。当液料比较小时,溶液的黏度过大,不利于蛋白溶出;当液料比过大时,不利于蛋白质提取后的浓缩沉淀。综合考虑,单因素试验确定的最佳液料比为 10.0(V/m)。

2.3.2 温度对芡实谷蛋白提取率的影响 由图 3 可知,随着提取温度的升高,芡实谷蛋白的提取率呈现先增后减的趋势,在 50 °C 达到最大值。较高的温度有利于蛋白质的溶出,但是温度过高时,易导致蛋白变性,因此,单因素试验确定的最佳提取温度为 50 °C。

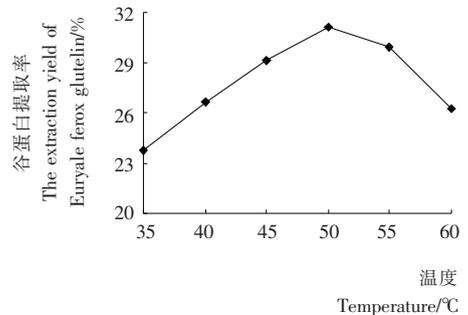


图 3 温度对芡实谷蛋白提取率的影响

Figure 3 Effect of temperature on extraction yield of *Euryale ferox* glutelin

2.3.3 时间对芡实谷蛋白提取率的影响 由图 4 可知,提取时间在 0.5~2.0 h 时,芡实谷蛋白的提取率随着时间的延长而显著增加,超过 2.0 h 后芡实谷蛋白的提取率增加缓慢,并且有降低的趋势。原因可能是随着时间的延长,蛋白充分的溶解,在其达到饱和后,蛋白浓度就不再升高。在较高温度下,提取时间过长也可能导致蛋白质变性,从而提取率降低。考虑到在高温下蛋白质的品质以及能源耗用问题,确定最佳提取时间为 2.0 h。

2.3.4 碱浓度对芡实谷蛋白提取率的影响 由图 5 可知,当 NaOH 浓度在 1.0~4.0 g/L 时,随着碱浓度的升高,芡实谷蛋白的提取率显著增加。此后随着 NaOH 浓度的升高,芡实谷蛋白的提取率反而降低。原因可能是,稀碱有利于蛋

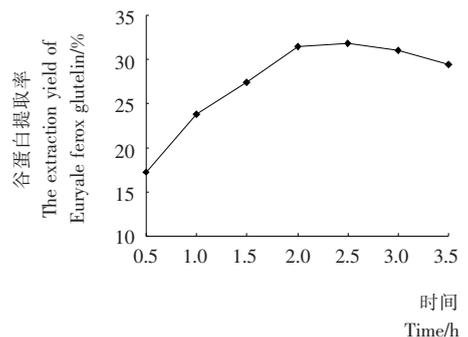


图 4 时间对芡实谷蛋白提取率的影响

Figure 4 Effect of time on extraction yield of *Euryale ferox* glutelin

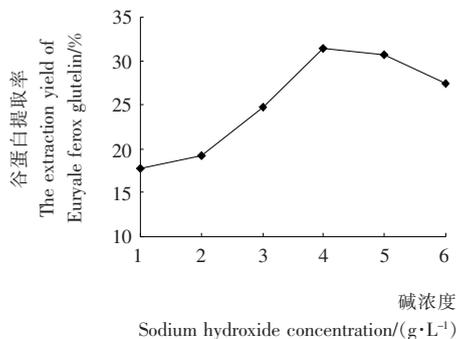


图5 碱浓度对谷蛋白提取率的影响

Figure 5 Effect of sodium hydroxide concentration on extraction yield of *Euryale ferox* glutelin

白质的提取,当碱浓度达到 4.0 g/L 时,溶液蛋白质浓度达到最大,当超过这一浓度,蛋白质的提取率降低,过高的碱浓度会使蛋白变性,使得溶解度下降,改变其营养学特性,生成有毒物质^[20]。综合考虑,确定最佳提取碱浓度为 4.0 g/L。

2.4 响应面试验设计及结果

2.4.1 响应面法因素与水平的选择 根据单因素试验结果,采用四因素三水平的响应面法,因素编码及水平见表 2。

表 2 Box-Behnken 试验因素水平表

Table 2 Coded values and corresponding actual values of the variables used in Box-Behnken design

水平	A 液料比(V/m)	B 温度/°C	C 时间/h	D 碱浓度/(g·L ⁻¹)
-1	8.0	45	1.5	3.0
0	10.0	50	2.0	4.0
1	12.0	55	2.5	5.0

2.4.2 回归模型的建立与检验 响应面试验设计及结果见表 3。按照 Design Expert 8.05b 软件中的 Box-Behnken Design 方法,4 个因素经过拟合得到的芡实谷蛋白提取率(Y)的回归方程为:

$$Y = 31.22 + 1.38A + 1.79B + 1.29C + 2.62D - 0.027AB - 0.45AC - 0.51AD - 0.63BC + 0.99BD - 0.39CD - 2.86A^2 - 3.78B^2 - 0.98C^2 - 2.47D^2 \quad (3)$$

对该回归方程进行方差分析,结果见表 4。由表 4 可知,该模型达到极显著水平(P<0.01),失拟项不显著(P>0.05),该模型的 R² 值为 0.964 3,说明该模型与试验拟合良好,故可用于设计范围内的预测。

由表 4 回归模拟系数显著性检验结果可知,一次项中,B、D 极显著,A、C 显著;平方项中,除 C² 显著外,其余平方项均为极显著,二次项中,BD 的回归系数达到显著水平,其他交互项均不显著。影响芡实谷蛋白提取率因素的主次顺序依次为 D>B>A>C,即碱浓度>温度>液料比>时间。

2.4.3 两因素间交互效应分析 根据芡实谷蛋白模型的回归方程,固定两个因素在编码值 0 的水平,分析另外两个因

表 3 试验设计及结果

Table 3 Box-Behnken design and results

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	-1	-1	0	0	21.79
2	1	-1	0	0	23.43
3	-1	1	0	0	25.15
4	1	1	0	0	26.90
5	0	0	-1	-1	23.83
6	0	0	1	-1	27.02
7	0	0	-1	1	28.78
8	0	0	1	1	30.43
9	-1	0	0	-1	20.57
10	1	0	0	-1	25.66
11	-1	0	0	1	26.79
12	1	0	0	1	29.83
13	0	-1	-1	0	21.84
14	0	1	-1	0	27.12
15	0	-1	1	0	26.71
16	0	1	1	0	29.47
17	-1	0	-1	0	25.26
18	1	0	-1	0	28.68
19	-1	0	1	0	27.87
20	1	0	1	0	29.50
21	0	-1	0	-1	21.59
22	0	1	0	-1	22.93
23	0	-1	0	1	25.93
24	0	1	0	1	31.22
25	0	0	0	0	31.21
26	0	0	0	0	32.05
27	0	0	0	0	31.41
28	0	0	0	0	31.20
29	0	0	0	0	31.24

素对芡实谷蛋白的影响,软件生成的三维响应面图,可直观地反映各因素的交互作用对响应值的影响,从而确定最佳工艺参数。

由表 4 可知,温度和碱浓度的交互作用对芡实谷蛋白的提取率有显著影响,而其他因素间的交互作用对芡实谷蛋白的提取率影响不大。固定液料比和提取时间在 0 水平,作出温度和碱浓度的交互效应的响应面,见图 6。根据响应面的陡峭程度可知,温度对芡实谷蛋白提取率的影响较碱浓度小,这与方差分析的结果相一致。该结果与赵洁昌^[21]在优

表 4 回归模拟方差分析

Table 4 Analysis of variance for the fitted regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	309.34	14	22.10	27.01	<0.000 1
A	22.88	1	22.88	27.97	0.000 1
B	38.52	1	38.52	47.10	<0.000 1
C	20.00	1	20.00	24.45	0.000 2
D	82.06	1	82.06	100.33	<0.000 1
AB	0.00	1	0.00	0.00	0.952 4
AC	0.80	1	0.80	0.98	0.339 2
AD	1.05	1	1.05	1.28	0.276 1
BC	1.59	1	1.59	1.94	0.185 3
BD	3.90	1	3.90	4.77	0.046 5
CD	0.59	1	0.59	0.72	0.408 9
A ²	53.11	1	53.11	64.93	<0.000 1
B ²	92.69	1	92.69	113.32	<0.000 1
C ²	6.18	1	6.18	7.56	0.015 7
D ²	39.50	1	39.50	48.29	<0.000 1
残差	11.45	14	0.82		
失拟项	9.68	10	0.97	2.19	0.233 5
纯误差	1.77	4	0.44		
总和	320.79	28			

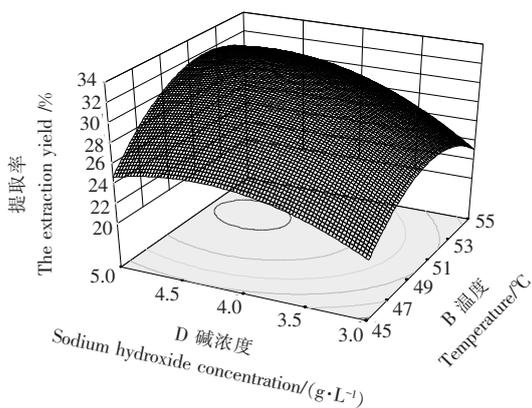


图 6 温度和碱浓度的交互作用对芡实谷蛋白提取率的影响

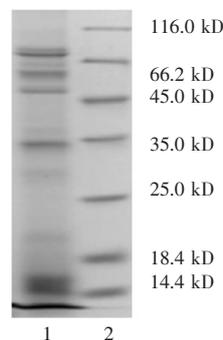
Figure 6 Response surface plot showing the effect of sodium hydroxide concentration and temperature on extraction yield of *Euryale ferox* glutelin

化酸枣仁蛋白的提取工艺中的研究结果一致。随着温度和碱浓度的升高,蛋白提取率表现出显著的先增后减的趋势。若想获得较高的提取率,温度应在 50 °C 左右、碱浓度在 4.5 g/L 左右。

2.4.4 最佳条件优化及验证结果 通过响应面回归方程,经 Design Expert 8.05b 软件对芡实谷蛋白提取进行优化,确定最佳的提取工艺条件为:液料比 10.3(V/m),温度 51 °C,时间 2.2 h,碱浓度 4.5 g/L,理论预测值为 32.55%。根据最佳工艺条件,做 3 组验证性实验,得到芡实谷蛋白提取率分别为 32.43%,32.52%,32.39%,平均值为 32.45%,与该模型理论预测值 32.55%无显著差异($P>0.05$),表明该响应面模型是可行的。

2.5 芡实谷蛋白的亚基组成

通过前期提取工作,在最佳条件下提取的芡实谷蛋白通过 SDS—PAGE 凝胶电泳分析,取得了较好的分离效果,结果见图 7。由图 7 可知,芡实谷蛋白主要有 5 个亚基,相对分子量分别为 74,58,49,33,15 kD。其中 15 kD 亚基含量最高,为 52.4%;其次为 74 kD(占 15.5%)和 33 kD(占 15.4%);最后为 58 kD(占 9.6%)和 49 kD(占 7.1%)。经多次重复试验,芡实谷蛋白电泳谱带重现性、稳定性良好,这为构建芡实谷蛋白指纹图谱提供一定的依据。



1. 芡实谷蛋白 2. 蛋白质 marker

图 7 芡实谷蛋白的 SDS—PAGE 分析

Figure 7 SDS—PAGE profile of *Euryale ferox* glutelin

3 结论

本试验通过碱提酸沉法提取制备芡实谷蛋白,采用响应面法建立了芡实谷蛋白提取工艺参数的二次多项式数学模型,经检验该模型是合理可靠的,能较好地预测芡实谷蛋白的提取率。由该模型分析可知,影响芡实谷蛋白提取率因素的主次顺序为:碱浓度>温度>液料比>时间;最佳提取工艺条件为:液料比 10.3 (V/m),温度 51 °C,时间 2.2 h,碱浓度 4.5 g/L。在此条件下,芡实谷蛋白提取率可达 32.45%。通过对芡实谷蛋白 SDS—PAGE 凝胶电泳分析,发现芡实谷蛋白中主要由 5 种亚基组成,其中 15 kD 亚基含量最高,占 52.4%,经多次重复试验,芡实谷蛋白电泳谱带重现性、稳定性良好,这为构建芡实谷蛋白指纹图谱提供一定的依据。

通过本次试验可以为碱溶酸沉法提取芡实谷蛋白及芡实谷蛋白在食品行业中的应用提供指导性参考,今后可进一步研究芡实谷蛋白的结构特征及其功能特性,为其更好的应用于食品行业提供理论基础。

参考文献

- Jha V, Barat G K, Jha U N. Nutritional evaluation of Euryale ferox salisb. (Makhana)[J]. Journal of Food Science and Technology, 1991, 28(5): 326~328.
- 夏红, 曹卫华. 芡实的营养价值及保鲜加工[J]. 中国食物与营养, 2004(10): 28~29.
- 谭胜兵, 金婷. 芡实的营养保健功能及其开发利用[J]. 食品工程, 2008(3): 8~10.
- 张晓云, 谢玲燕, 季明敏, 等. 超声波辅助碱法提取芡实蛋白工艺[J]. 食品研究与开发, 2013, 33(11): 96~99.
- 张余, 张国权, 郑建梅, 等. 安徽芡实营养特性分析[J]. 中国食品添加剂, 2010(2): 206~209.
- Alfasane M A, Khondker M, Begum Z T, et al. Fruit production and biochemical aspects of seeds of Euryale ferox Salisb. under ex-situ conditions[J]. Bangladesh Journal of Botany, 2008, 37(2): 179~181.
- Jha V, Kargupta A N, Dutta R N, et al. Utilization and conservation of Euryale ferox Salisb. in Mathila (North Bihar), India[J]. Aquatic Botany, 1991, 39(3): 295~314.
- 周香云, 程琦, 李春云, 等. 芡实分离蛋白的凝胶特性及流变特性[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 144~147.
- 吕飞, 许宙, 程云辉. 米糠蛋白提取及其应用研究进展[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 234~238.
- 王长远, 许凤. 米糠蛋白提取工艺的优化及其亚基组成分析[J]. 中国生物制品学杂志, 2014, 27(7): 940~944.
- Adebisi A P, Adebisi A O, Hasegawa Y, et al. Isolation and characterization of protein fractions from deoiled rice bran[J]. European Food Research and Technology. A, 2009, 228(3): 391~401.
- Fabian C, Ju Yi-hsu. A review on rice bran protein; its properties and extraction methods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011, 51(9): 816~827.
- 史苏华, 邓波, 熊华, 等. 米渣谷蛋白的纯化及功能性质研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(9): 90~93.
- 赵源, 刘爱国, 吴子健, 等. 谷朊粉中麦谷蛋白的碱法提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 220~223.
- 赵清宇, 李利民, 张杰, 等. 小麦谷蛋白溶胀指数与面团特性及面条品质相关性分析[J]. 食品与机械, 2011, 27(6): 43~46.
- Zheng Xi-qun, Wang Jun-tong, Liu Xiao-lan, et al. Effect of hydrolysis time on the physicochemical and functional properties of corn glutelin by Protamex hydrolysis[J]. Food Chemistry, 2015, 172(1): 407~415.
- 徐素玲, 卢帮贵, 李镁娟. 木瓜蛋白酶改性玉米谷蛋白水溶性的工艺优化[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 190~193.
- 张维杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999: 11~12.
- (美)威利. 精编蛋白质科学实验指南[M]. 李慎涛, 译. 北京: 科学出版社, 2007: 60~61.
- Hourigan J A, Chesterman C F. Application of carbohydrases in extracting protein from rice bran[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1997, 74(2): 141~146.
- 赵节昌. 响应面法优化酸枣仁蛋白提取工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(16): 134~138.

(上接第 204 页)

表 3 磷脂对小鼠血清 HDL-C、LDL-C 及 AI 值的影响[†]

Table 3 The effect of phospholipids on HDL-C、LDL-C and AI of mice ($n=6$) (mmol · L⁻¹)

组别	HDL-C	LDL-C	AI
			LDL-C/HDL-C
正常对照组	1.40±0.34	1.04±0.14	0.85±0.49
高脂模型组	1.66±0.32	1.91±0.37 ^a	1.51±0.19
阳性对照组	1.22±0.39	1.30±0.10 ^b	1.13±0.26
低剂量组	1.32±0.28	1.20±0.41	0.94±0.31
高剂量组	1.67±0.36	0.61±0.01 ^{bc}	0.39±0.08 ^{bc}

[†] a. 与正常组比 $P<0.05$; b. 与高脂组比 $P<0.05$; c. 与阳性对照组比 $P<0.05$.

具有一定的效果。本试验是针对鱼脑磷脂活性进行的初步研究, 下一步希望深入研究鱼脑磷脂中各组分的生理活性功能, 并对其作用机制进行探索。

参考文献

- 吴世芳. 何首乌中磷脂类化合物的提取、分离及分析方法研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- 付茂辉, 赵青山. 大豆卵磷脂的研究概况[J]. 山西食品工业, 2005(4): 24~28.
- 王芳, 余恩欣, 吴东方. 银杏叶提取物磷脂酰胆碱复合物对缺血大鼠记忆障碍的影响[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(2): 114~116.
- 李春艳, 成小松, 崔美芝, 等. 蛋黄卵磷脂对高血脂大鼠血脂水平的影响[J]. 中国实验动物杂志, 2002(5): 269~271.
- Devos M, Poisson L, Ergon F, et al. Enzymatic hydrolysis of phospholipids from Isochrysis galbana for docosahexaenoic acid enrichment[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006(39): 548~554.
- Yohanes Buang, Yu-Ming Wang, Jae-Young Cha, et al. Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid[J]. Nutrition, 2005, 21: 867~873.
- Abdelkader Ali-Nehari, Byung-Soo Chun. Characterization of purified phospholipids from krill (Euphausia superba) residues deoiled by supercritical carbon dioxide[J]. Korean J. Chem. Eng., 2012, 29(7): 918~924.
- Morizawa K, Tomobe Y I, Tsuchida M, et al. Dietary oils and phospholipids containing n-3 highly unsaturated fatty acids suppress 2,4-dinitro-1-fluorobenzene induced contact in mice[J]. Journal of Japan Oil Chemistry Society, 2000(49): 59~65.
- Araseki M, Yamamoto K, Miyashita K. Oxidative stability of polyunsaturated fatty acid in phosphatidylcholine liposomes[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 2002, 66(12): 2573~2577.
- 刘忆梅, 陈朝晖. 大豆蛋白肽降血脂功能型的研究[J]. 大豆通报, 2004(3): 22.