

鲜、干金针菇根可溶性蛋白质的提取与分离

魏书信¹, 刘丽娜¹, 朱广成¹, 刘妞妞²

(1. 河南省农业科学院 农副产品加工研究所, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学 食品科技学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 采用 45 °C 低温热风干燥工艺制备干金针菇根, 对鲜、干金针菇根可溶性蛋白质进行提取、盐析分离及回收率测定, 以期对金针菇根的蛋白质类产品研发提供理论支持。结果表明, 鲜金针菇根干制后, 总蛋白质含量稍微降低, 鲜、干金针菇根干基总蛋白质含量分别为 28.36%、26.23%; 干基可溶性蛋白质提取率及盐析回收率基本未发生变化, 鲜、干金针菇根干基可溶性蛋白质提取率分别为 5.07%、4.78%, 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质盐析分离最高回收率分别达 90.66%、89.78%。表明在进行蛋白质提取利用时, 可以将鲜金针菇根采取低温热风干燥工艺制备成干金针菇根保存备用。

关键词: 金针菇根; 蛋白质; 提取; 分离

中图分类号: TS219 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)06-0149-03

A Comparative Study on Protein Extraction and Separation of the Fresh and Dry *Flammulina velutipes* Root

WEI Shu-xin¹, LIU Li-na¹, ZHU Guang-cheng¹, LIU Niu-niu²

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;
2. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The dry *Flammulina velutipes* root was obtained by hot air drying at 45 °C, and the soluble protein in fresh and dry *Flammulina velutipes* root was studied on extraction, salting-out and recovery, so as to provide theoretical support for the protein products development of the *Flammulina velutipes* root. The results showed that the total protein content was slightly lower, but extraction yield in dry basis and recovery ratio of soluble protein were basically not affected after the fresh *Flammulina velutipes* root was dried. The soluble protein extraction yield in dry basis was 5.07% and 4.78% in fresh root and dry root, respectively. The highest recovery ratio of soluble protein after dialysis reached 90.66% and 89.78%, respectively. These data showed that the fresh *Flammulina velutipes* root could be prepared into dry root by low-temperature hot air drying for longer storage.

Key words: *Flammulina velutipes* root; protein; extraction; isolation

金针菇具有较高的营养价值和药用价值, 富含蛋白质、维生素、铁、钙、镁等, 具有提高免疫力、抗过敏、降血压等功效^[1-3], 深受消费者的喜爱。金针菇已成为当今少数几个实现大范围工业化栽培、能全年提供鲜菇供应的食用菌品种之一, 种植规模不断扩大。金针菇在采收后商品化出售之前, 大多做切根处理, 每年产生大量的金针菇根。金针菇根主要作为饲料或处理不当被丢弃, 造成资源严重浪费。

目前关于金针菇根的利用研究极少^[4], 鉴于此, 本研究对鲜、干金针菇根可溶性蛋白质进行提取、盐析分离及回收率测定, 以期对金针菇根的蛋白质类产品研发提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 金针菇根 取自郑州陈寨蔬菜批发市场, 新

收稿日期: 2012-11-20

基金项目: 河南省农业科学院 2012 年财政预算项目

作者简介: 魏书信(1972-), 男, 河南郑州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事农副产品加工技术研究。

E-mail: hnnkyjgs@163.com

鲜无腐烂。

1.1.2 试剂 硫酸、硼酸、氢氧化钠、盐酸、无水碳酸钠、硫酸铵、氯化钡、考马斯亮蓝 G-250 均为分析纯,牛血清白蛋白购自上海艾研生物科技有限公司。

1.1.3 仪器 UV-2802S 型紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司)、ZDDN-II 全自动凯氏定氮仪(杭州托普仪器有限公司)、TGL-16C Anke 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)、SG250HDT 超声仪(上海冠特超声仪器有限公司)、PHS-3C 型精密酸度计(上海理日申能环境工程有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 干金针菇根的制备 称量鲜菇根 200 g,置于干燥箱中 45℃ 热风干燥至质量基本恒定(3 h 后每隔 30 min 冷却称量 1 次,最后 2 次称量质量基本相等视为恒质量),得干金针菇根样品,其平均得率为 15.77%。

1.2.2 鲜、干金针菇根水分含量测定 按照 GB5009.3-2010 中的直接干燥法进行。

1.2.3 鲜、干金针菇根总蛋白质含量测定 按照 GB5009.5-2010 中的凯氏定氮法进行,并结合其水分含量进而计算其干基总蛋白质含量。

1.2.4 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取 采用 2 次冻融联合超声波处理的方法提取活性可溶性蛋白质。称取 100 g 鲜金针菇根加入 1 000 mL 蒸馏水,冰箱中-18℃ 冷冻,常温解冻,二次冻融后在组织捣碎机中打浆 1 min,超声振荡 10 min 后离心(5 000 r/min,20 min),沉淀中再加入 500 mL 蒸馏水二次超声振荡 10 min 后离心,合并 2 次上清液,即得鲜金针菇根可溶性蛋白质提取液。称取 100 g 干金针菇根置于 1 000 mL 蒸馏水中浸泡复原 1 h,然后采用上述 2 次冻融联合超声波处理的方法提取其活性可溶性蛋白质。

1.2.5 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质含量测定

1.2.5.1 标准曲线的制作 参照文献[5]中的方法,用蒸馏水配制质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的牛血清白蛋白标准溶液,用移液枪取标准溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置于带塞试管中,加蒸馏水至 1 mL,分别得到 20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。另取蒸馏水 1.0 mL 作为空白对照。各试管中加 5 mL 考马斯亮蓝 G-250,摇匀,放置 2 min 后于 595 nm 波长处测量吸光度。以蛋白质质量浓度(x)为横坐标,吸光度(y)为纵坐标,制作标准曲线

1.2.5.2 样品测定 将鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取液适度稀释(以吸光度在 0.2~0.8 为宜)后,吸取 1 mL 待测液,加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250,

摇匀,放置 2 min 后于 595 nm 波长处测量吸光度,通过 1.2.5.1 标准曲线方程可计算获得可溶性蛋白质质量浓度,从而获得其百分含量。

1.2.6 可溶性蛋白质的盐析分离 参照文献[6]中的方法,分别量取 100 mL 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取液置于烧杯中,放在磁力搅拌器上边搅拌边慢慢加入硫酸铵粉末至设定饱和度(30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%),继续搅拌 30 min,10 000 r/min 离心 15 min,得蛋白质沉淀。将每个平行样品的沉淀等分为二,一份直接测定水分含量,计算粗蛋白质盐析得率;一份直接加蒸馏水复溶后进行透析纯化,以计算提取液中的可溶性蛋白质经盐析、透析后的回收率。

1.2.7 可溶性蛋白质透析回收率的测定 分别将盐析得到的鲜、干金针菇根的一半粗蛋白质沉淀用适量蒸馏水复溶,复溶后用快速滤纸过滤,再转移于透析袋中透析除盐,中间每 1 h 更换 1 次蒸馏水,用 BaCl_2 溶液监测,直至检测不出 SO_4^{2-} 时即无白色沉淀生成时结束透析。经透析去盐后的可溶性蛋白质溶液,量取 1 mL 适度稀释后进行可溶性蛋白质含量测定,进而计算出可溶性蛋白质回收率。

2 结果与分析

2.1 可溶性蛋白质标准曲线

蛋白质质量浓度(x)与吸光度(y)之间的关系为 $y=0.0034x-0.0137$, $R^2=0.9918$,相关性良好。根据此方程,可通过测定鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取液的吸光度而获得其质量浓度。

2.2 鲜、干金针菇根总蛋白质含量

为对比鲜、干金针菇根总蛋白质含量,对其水分含量和干基总蛋白质含量进行了测定。鲜、干金针菇根水分含量分别为 85.65%、12.60%。由表 1 可以看出,鲜金针菇根中的干基总蛋白质含量稍高于干金针菇根,但两者差异不大,表明采用 45℃ 低温热风干燥工艺制取干金针菇根对金针菇根中的蛋白质含量影响不大。

表 1 鲜、干金针菇根总蛋白质含量 %

样品	总蛋白质含量	干基总蛋白质含量
鲜金针菇根	4.07	28.36
干金针菇根	22.14	26.23

2.3 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质的提取得率

由表 2 可以看出,就干基可溶性蛋白质提取得率而言,鲜金针菇根可溶性蛋白质提取得率略高于干金针菇根,但二者差别很小,就总蛋白质中可溶性蛋白质提取得率而言,鲜、干金针菇根可溶性蛋白质

提取得率均不高(均不足18%),这可能是因为金针菇根中的蛋白质多为非水溶性蛋白质或结合性不溶蛋白质;另一方面,本研究以活性蛋白质利用为目的,提取工艺是在保证蛋白质不变性的前提下设置的,未加酸碱,故可溶性蛋白质的提取得率都不高。

表2 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取得率

样品	稀释液可溶性蛋白质含量/(mg/L)	样品可溶性蛋白质提取得率/%	干基可溶性蛋白质提取得率/%	总蛋白质可溶性蛋白质提取得率/%
鲜金针菇根	121.31	0.73	5.07	17.89
干金针菇根	182.38	3.97	4.78	17.93

2.4 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质的盐析分离结果
中性盐盐析是蛋白质分离纯化最基本的方法之一,中性盐中以硫酸铵最为常用^[7]。由表3可见,除鲜金针菇根可溶性蛋白质提取液由于其浓度低于干金针菇根,故在30%饱和度硫酸铵盐析时没有收集到沉淀外,其他饱和度硫酸铵盐析时,随着硫酸铵饱和度的增加,盐析粗可溶性蛋白质得率逐渐增加,且鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取液盐析沉淀规律基本一致。其中,40%与50%饱和度硫酸铵盐析沉淀差异不显著,90%与100%饱和度硫酸铵盐析沉淀也无显著差异,而中间饱和度60%、70%、80%彼此之间及其与上下饱和度之间差异显著。

表3 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质盐析得率 %

硫酸铵饱和度	鲜金针菇根	干金针菇根
30	0	0.29±0.08f
40	0.15±0.03e	0.71±0.11e
50	0.18±0.03e	0.82±0.06e
60	0.30±0.02d	1.53±0.07d
70	0.38±0.04c	2.39±0.18c
80	0.47±0.05b	2.88±0.09b
90	0.75±0.05a	3.99±0.10a
100	0.81±0.04a	4.17±0.13a

注:数值以平均值±标准偏差表示;同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.5 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质的透析回收率

透析是利用蛋白质分子不能通过半透膜的性质,使蛋白质和其他小分子物质如无机盐、单糖等分开以实现蛋白质纯化^[7]。由图1可以看出,除了鲜金针菇根可溶性蛋白质提取液由于在30%饱和度硫酸铵盐析时无沉淀回收率为零外,鲜、干金针菇根可溶性蛋白质提取液经透析纯化后的蛋白质回收率趋势极其相似,大致可分为3个区,40%~50%为盐析平稳区,50%~90%为快速盐析沉淀区,90%至饱和又进入盐析平稳区。鲜、干金针菇根最高盐析回收率基本相同,分别为90.66%、89.78%。

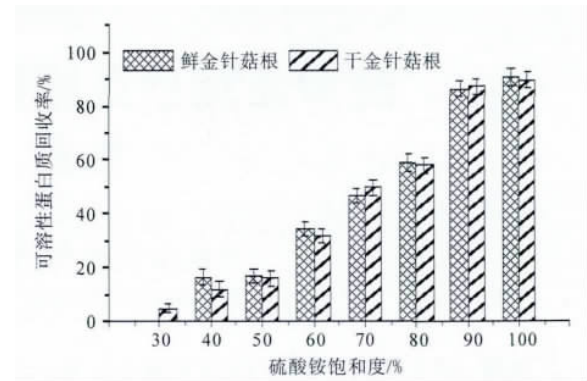


图1 鲜、干金针菇根可溶性蛋白质的透析回收率

3 讨论

蛋白质是金针菇中最主要的营养物质之一^[3],张莹等^[8]对金针菇非挥发性成分分析结果显示,干金针菇粗蛋白质含量为19.74%,而本研究测定的干金针菇根中总蛋白质含量为22.14%,略高于张莹等^[8]的报道值,这说明金针菇根和金针菇体一样富含蛋白质。

金针菇根是金针菇生产中最主要的副产物,其作为活体如处理不及时很易老化及腐败变质,而干制是其长期保质的有效途径。为了保证蛋白质不发生变性,本研究采用45℃低温热风干燥工艺干制金针菇根,并与鲜金针菇根做了全面的对比研究与分析。研究表明,干金针菇根比鲜金针菇根的干基总蛋白质含量稍低,而两者的可溶性蛋白质提取得率、盐析得率和回收率差别不大,这表明在进行蛋白质提取利用时,可以将鲜金针菇根采取低温热风干燥工艺制备成干金针菇根保存备用。

金针菇根中的可溶性蛋白质具有较好的盐析特性,盐析沉淀分段明显,鲜、干金针菇根最高盐析回收率分别达90.66%和89.78%,这在一定程度上说明硫酸铵盐析是一种有效的分离金针菇根可溶性蛋白质的手段。

参考文献:

- [1] 于荣利,秦旭升,宋凤菊. 金针菇研究概况[J]. 食用菌学报,2004,11(4):63-68.
- [2] 秦俊哲,吕嘉枋. 食用菌贮藏保鲜与加工新技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [3] 林萍. 金针菇的营养价值及食用方法[J]. 农业知识,2004,37(4):32-33.
- [4] 郑淑彦,侯波,桑兰,等. 金针菇菌脚蛋白质提取工艺研究[J]. 食品科技,2012,37(7):209-212.
- [5] 李志江. 考马斯亮蓝G-250染色法测定啤酒中蛋白质含量[J]. 酿酒,2008,35(1):70-71.
- [6] 李津,俞咏霆,董德祥. 生物制药设备和分离纯化技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [7] 王镜岩,朱圣庚,徐长发,等. 生物化学[M]. 北京:高等教育出版社,2007.
- [8] 张莹,于士军,蒋岚,等. 金针菇和茶树菇中非挥发性成分分析[J]. 食品与发酵工业,2011,37(12):155-158.