

无花果蛋白酶的研究进展

郭冬青¹, 纪付江¹, 程绍杰¹, 宋淑亮²

(1. 山东大学 威海分校海洋学院, 山东 威海 264209; 2. 山东大学 国际生物研发中心, 山东 威海 264209)

摘要:综述了近年来国内对无花果蛋白酶的制备、固定化、理化性质、酶活稳定性及应用的概况。

关键词:无花果蛋白酶; 研究概况

中图分类号:S 663.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)07-0210-02

无花果蛋白酶是一类巯基蛋白酶,主要存在于无花果的乳胶及花托蛋白质中,是一种用途广泛的植物蛋白酶,除参与蛋白质的分解与迁移外,还与细胞信号的传导有关。从无花果中提取纯化的蛋白酶,因其稳定性好、蛋白水解能力强,对多种蛋白质均具有很好的降解作用,因而被广泛应用于食品加工、工业生产和医疗卫生等领域^[1]。近年来国内对无花果蛋白酶的研究取得了可喜的进展,但未见有综述报道,现将其研究进展概述如下。

1 无花果蛋白酶的制备

无花果蛋白酶是榕属(*Ficus*)植物树的树胶中有蛋白水解酶活性的组分。分子量约为 24 000,等电点约为 9.0,最适水解温度约为 60℃。其活性中心附近的氨基酸序列为:Pro-Val-Lys-Asn-Gln-Gly-Ser-Cys-Tyr 和 Thr-Gly-Pro-Cys-Gly-Thr-Ser-Leu-Asp-His-Ala-Val-Ala-Leu^[2]。国内对于菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶的研究较为丰富,可以借鉴这 2 种蛋白酶的制备方法制备无花果蛋白酶,因此可以利用硫酸铵、丙酮、聚丙烯酰胺凝胶、葡聚糖凝胶、DEAE-琼脂糖、DETA-纤维素、电泳等实施层析分离技术、碱溶酸沉法等制备无花果蛋白酶。另外水提法、单宁法、乙醇法、盐析法、超声法、三氯乙酸法等方法的应用也较为广泛。其中,杨萌等人的试验证明水抽提-鞣酸沉淀法优于有机溶剂法,前者得率为 1%,酶活为 57 U/g(均以鲜果汁)^[3]。邱业先等人采用有机溶剂沉淀和超滤结合的方法对无花果蛋白酶进行了分离纯化,得到的酶比活为 15.34 U/mg·protein,纯化倍数为 11.68%,酶产率为 1.5%,酶活力回收率为 27.4%^[4]。李雨林分别采用乙醇法和硫酸铵分级沉淀的方法提取无花果蛋

白酶,对比结果证明,硫酸铵盐析法更适合无花果蛋白酶的提取,提取工艺参数:pH 8.6,收集 20%~60%饱和度的硫酸铵沉淀时,粗纯化倍数为 1.62,回收率为 85.7%,得率为 1.4%^[5]。而王晓平提供了一种无花果蛋白酶的新型制备方法^[6],可以用来解决现有生产方法中存在的产率低、成本高、需回收乙醇、丙酮等有机溶剂,浪费人力物力,且有机溶剂易燃易爆,用于工业生产将有重大的安全隐患问题。

2 无花果蛋白酶的固定化

对无花果蛋白酶进行固定化可以避免其在酸碱和有机溶剂中失活,实现酶的反复利用,在医药上用固定化的无花果蛋白酶可以减小其副作用。常用的固定化方法有吸附、载体交联和包埋法等。刘德富等人采用几丁质作为载体,通过甲酸和戊二醛共价偶联无花果蛋白酶,重复水解酪蛋白 7 次后,固定化酶保持原酶活性的 59.1%^[7]。又以戊二醛活化载体,将无花果蛋白酶共价结合到聚苯乙烯阴离子交换树脂 GM201 上固定化,得到的固定化酶重复水解酪蛋白 7 次后,保持原活性的 83.3%^[8]。现在人们也不断的开发新型的固定化载体和新方法,并取得了较好的效果。任维栋等人将 Sephadex G-200 与对β-硫酸酯乙碱基苯胺(SESAs)首先酰化制备对氨基苯矾乙基麦联葡萄糖(ABSE-Sephadex G-200),然后经重氮化固定无花果蛋白酶,酶活力回收达 69%^[9]。

3 无花果蛋白酶的理化性质和酶学活性

3.1 无花果蛋白酶具有巯基蛋白酶的特性

邱业先等人的研究表明,无花果蛋白酶反应的最适 pH 8.0,在 pH 5.0~10.0 的范围内处理 0.5 h 酶活最稳定,酶最适温度为 40℃,能被半胱氨酸和 EDTA 激活,而被 HgCl₂ 抑制^[4]。李雨林等人的研究表明苯甲酸钠、NaCl 和 EDTA·2Na 激活酶活,蔗糖抑制酶活,β-环糊精先抑制后激活酶活^[3]。

3.2 变性剂作用对无花果蛋白酶的影响

第一作者简介:郭冬青(1987-),女,山东威海人,在读本科,研究方向为生物科学。E-mail: dongqingguo@126.com。

基金项目:山东大学威海分校科研资助项目(A09014)。

收稿日期:2009-12-14

颜青等人发现用不同浓度的变性剂盐酸胍、脲、十二烷基硫酸锂(LDS)等对无花果蛋白酶变性,用荧光光谱及圆二色谱(CD谱)监测无花果蛋白酶去折叠过程中的构象变化并与活力变化比较,发现在1~2 mol/L的胍浓度及 9.2×10^{-4} mol/L LDS 浓度下,CD谱显示的二级结构含量较高,荧光谱的发射峰位刚开始红移,活力变化则较为显著,表现为胍溶液中激活,LDS溶液中失活,揭示酶的这2种变性剂在这2个浓度范围内,可能存在变性中间态^[10]。

3.3 无花果蛋白酶对不同蛋白质的水解能力

无花果蛋白酶对牛血清蛋白、核糖核酸酶、干酪素、蛋白胍、胎盘白蛋白、叶蛋白均具水解能力。与胰蛋白酶和木瓜蛋白酶比较,对6种纯蛋白水解能力的顺序基本一致。无花果蛋白酶对猪肉、鸡肉、鲫鱼肉、鸡蛋白、黄豆粉等食用蛋白也具有水解能力^[11]。

4 无花果蛋白酶的应用

《Food Processing》报道,无花果蛋白酶可抑制水果发生褐变,所以可以用作蔬菜、水果、虾等天然食品的保鲜剂。另外,无花果蛋白酶具有较强的蛋白水解能力、凝乳、解脂和溶菌活力,是能作用于各种蛋白质的纯天然物质。具有耐高温、活性强、稳定性高等特征,对pH的变化和金属离子及去垢剂不敏感,在医药、食品、轻工、化妆品、饲料和生命科学研究方面有广泛的应用。主要用于肉类的嫩化、乳液的凝固剂、焙烤食品添加剂、啤酒抗旱等,也可作为杀虫剂和化妆品的添加剂等^[12-13]。

无花果蛋白酶广泛存在于无花果的乳胶和花托蛋白中,根据生吉萍等人的研究可知,不同成熟度的果实中无花果蛋白酶的活性不同^[14]。如表1。

表1 不同成熟度果实中无花果蛋白酶的活力

果实	酶活力 U · g ⁻¹ FW
青果 质地硬	20.1
青果,质地稍硬 内有红色果肉	24.7
青果,质地稍软,5成熟	57.7
果实红色 质地软,7成熟	50.3

综上所述,立足于对无花果青果资源的开发,可以变废为宝,促进无花果经济的增长,促进产学研结合的发展。无花果蛋白酶的作用优于木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶,因此开展对无花果蛋白酶的研究,对于稳定无花果的种植面积,保证无花果产业的持续高速发展,扩大无花果资源的利用途径,调节农业产业结构均具有重要的意义。可以改变我国植物蛋白酶资源长期以来主要依赖于木瓜、菠萝等少数热带水果资源的现状等。

参考文献

[1] Morcelle S R, Trejo S A, Canals F, et al. Funastrain c II: a Cysteine Endopeptidase Purified from the Latex of Funastrum Clausum [J]. The Protein Journal, 2004, 23(3): 205-215.

[2] 曲和之, 黄露, 张国华, 等. 无花果蛋白酶与木瓜蛋白酶酶学性质的比较[J]. 吉林大学学报, 2008, 46(16): 1217-1220.

[3] 杨萌, 吕源玲, 王洪新. 无花果蛋白酶和果胶的综合提取[J]. 食品科技, 1988, 19(7): 23-26.

[4] 邱业先, 刘勇, 周群, 等. 无花果蛋白酶的分离纯化及其理化性质研究[J]. 江西农业大学学报, 1996, 18(1): 46-50.

[5] 李雨林. 无花果蛋白酶的提取分离与嫩化牛肉的效果研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006.

[6] 王晓平. 无花果蛋白酶的制备[J]. 技术与市场, 2008(11): 36.

[7] 刘德富, 董文彦, 白虹, 等. 几丁质固定无花果蛋白酶的研究[J]. 食品科学, 1994(11): 3-6.

[8] 刘德富, 董文彦, 白虹, 等. 无花果蛋白酶在阴离子交换树脂上的固定化[J]. 生物化学杂志, 1999, 11(5): 600-603.

[9] 任维栋, 耿秀芳, 孙凤祥. 交联葡聚糖结合无花果蛋白酶的制备与性质[J]. 生物化学杂志, 1992, 8(6): 661-665.

[10] 颜青. 几种变性剂对无花果蛋白酶分子去折叠与活力的影响[J]. 生物物理学报, 1996, 12(3): 404-408.

[11] 邱业先, 刘勇, 周群, 等. 无花果蛋白酶对不同蛋白质的水解能力研究[J]. 江西农业大学学报, 1996, 18(1): 51-53.

[12] 熊华. 木瓜蛋白酶的应用研究进展[J]. 四川食品与发酵, 2005(4): 9-11.

[13] A. H. 恩斯明格, M. E. 恩斯明格, J. E. 康兰德. 食物与营养百科全书(1)[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 296.

[14] 生吉萍, 孙态健, 中琳, 等. 无花果的营养和应用价值及其加工利用[J]. 农牧产品开发, 1999(3): 10-11.

The Research Development of Ficin

GUO Dong-qing¹, JI Fu-jiang¹, CHEN Shao-jie¹, SONG Shu-ling²

(1. Marine College Shandong University at Weihai, Weihai Shandong 264209; 2. Shandong University, International Biological Research and Develop Center, Weihai, Shandong 264209)

Abstract: This text summarized the preparation, immobilization, chemicophysical properties, the stability of enzyme activity and the application of Ficin.

Key words: Ficin; research development