



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110627898 A

(43)申请公布日 2019.12.31

(21)申请号 201911087856.6

(22)申请日 2019.11.08

(71)申请人 安徽天凯生物科技有限公司  
地址 239500 安徽省滁州市全椒县政务中心8号楼

(72)发明人 吴常忠

(74)专利代理机构 北京盛凡智荣知识产权代理有限公司 11616

代理人 李娜

(51) Int. Cl.

C07K 14/81(2006.01)

C07K 14/415(2006.01)

C07K 1/36(2006.01)

C07K 1/34(2006.01)

C07K 1/30(2006.01)

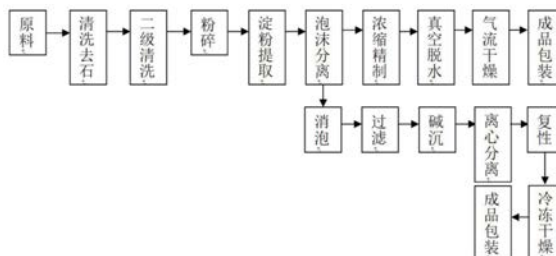
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

## (54)发明名称

一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺

## (57)摘要

本发明公开了一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,包括如下步骤:第一步,淀粉提取;第二步,泡沫分离工艺;第三步,消泡工艺;第四步,分离过滤工艺;第五步,胰蛋白酶抑制剂活性测定;第六步,马铃薯淀粉制备。本发明属于蛋白酶抑制剂提取技术领域,具体是提供了一种实用性高、将泡沫分离工艺与传统马铃薯淀粉生产工艺相结合,高效简单的提取马铃薯中的胰蛋白酶抑制剂,大大改进了马铃薯蛋白的生产工艺,有效保留了马铃薯蛋白的生物活性,提高马铃薯蛋白的产品价值进而提高马铃薯加工产品的总价值,降低马铃薯加工废液中的化学需氧量COD,减少对环境的污染,促进马铃薯产业的发展的马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺。



1. 一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,其特征在於,包括如下步骤:

第一步,淀粉提取

将马铃薯原料清洗去石后进行二级清洗,并将清洗完毕后的马铃薯粉碎并加水搅拌得到淀粉提取液;

第二步,泡沫分离工艺

将第一步得到的淀粉提取液作为泡沫分离的进料提取其中的马铃薯蛋白,淀粉泡沫分离的参数为:温度为 $20^{\circ}\text{C}$ - $50^{\circ}\text{C}$ ,pH为6.0-8.0,空气流量为 $9\text{m}^3/\text{h}$ - $20\text{m}^3/\text{h}$ ;

第三步,消泡工艺

收集泡沫,以聚醚类消泡剂为消泡剂进行消泡处理,消泡剂温度为 $20^{\circ}\text{C}$ - $40^{\circ}\text{C}$ ,得到马铃薯蛋白提取物分离液;

第四步,分离过滤工艺

将马铃薯蛋白提取物分离液通过过滤介质过滤取上清液,向上清液内加入pH为8以上的碱性溶液进行碱沉后弃沉淀,取上清液,以转速为 $5000\text{rpm}$ - $9000\text{rpm}$ 对上清液进行离心分离,取沉淀,弃上清液,得到变性马铃薯蛋白提取物,将变性马铃薯蛋白提取物放入到酸性复性缓冲溶液内复性,在温度为 $-10^{\circ}\text{C}$ ~ $-50^{\circ}\text{C}$ 且压力为 $1.3\text{Pa}$ ~ $13\text{Pa}$ 的条件下真空冻干得冻干马铃薯蛋白;

第五步、胰蛋白酶抑制剂活性测定

取两个石英比色皿,分别加入底物溶液,向一个比色皿内加入 $0.1-0.5\text{mL}$   $1-5\times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液作为空白,在 $200-300\text{nm}$ 波长下调零;向另一个比色皿中加入 $0.1-0.5\text{mL}$ 胰蛋白酶液和 $0.1-0.5\text{mL}$   $1-5\times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液,混匀计时,每 $10-20\text{s}$ 读数一次,直至吸光度数值基本不再变化,将第四步所述的冻干马铃薯蛋白与 $0.1-0.5\text{mL}$   $1-5\times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液配制成 $5-20\text{g/L}$ 抑制剂溶液,抑制剂溶液替代胰蛋白酶活力测定步骤中的HCl溶液,用胰蛋白酶活力的变化来表征抑制剂性;

第六步,马铃薯淀粉制备

将第一步中泡沫分离后的淀粉提取液按照正常的淀粉提取工艺,制备马铃薯淀粉。

2. 根据权利要求1所述的一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,其特征在於,所述第二步中泡沫分离的pH为6.5-7.5。

3. 根据权利要求1所述的一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,其特征在於,所述第四步中过滤介质为丙纶板框过滤布。

4. 根据权利要求1所述的一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,其特征在於,所述第四步中碱性溶液为NaOH溶液。

5. 根据权利要求1所述的一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,其特征在於,所述第四步中酸性复性缓冲溶液为盐酸。

## 一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺

### 技术领域

[0001] 本发明属于蛋白酶抑制剂提取技术领域,具体是指一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺。

### 背景技术

[0002] 马铃薯是重要的农作物之一,目前主要用于淀粉的生产,在由马铃薯生产淀粉的过程中,会产生大量的废水。由于淀粉废水中含有蛋白质和可溶性淀粉等有机物,导致淀粉废水中化学需氧量COD高达20000mg/L。如果将大量的淀粉废水直接排放,会给环境带来极大危害,此外,马铃薯蛋白中含有人体所必需的各种氨基酸,它的营养价值优于动物蛋白,并且可溶性淀粉在食品和化学等领域有广泛的应用,将淀粉废水直接排放会造成有价值有机物的大量浪费。

[0003] 胰蛋白酶抑制剂一类可以抑制胰蛋白酶水解活性的小分子多肽,具有抗病毒、抗肿瘤、抗真菌等活性,广泛存在于植物、动物和微生物中。马铃薯蛋白中的马铃薯蛋白酶抑制剂有很多潜在的应用价值,可提高血浆中胆囊收缩素的含量,胆囊收缩素能延缓胃的排空,控制人体血糖浓度,通过饱腹感来减少食物的摄入以达到减肥效果。马铃薯块茎汁液中含有多种蛋白类蛋白酶抑制剂含量占所含可溶蛋白的50%以上。而马铃薯蛋白的生产工艺通常都需经过高温处理,导致蛋白变性失活,使马铃薯蛋白的产品价值大大降低。

### 发明内容

[0004] 为解决上述现有难题,本发明提供了一种实用性高、操作简单、将泡沫分离工艺与传统马铃薯淀粉生产工艺相结合,高效简单的提取马铃薯中的胰蛋白酶抑制剂,大大改进了马铃薯蛋白的生产工艺,有效保留了马铃薯蛋白的生物活性,提高马铃薯蛋白的产品价值进而提高马铃薯加工产品的总价值,与此同时,降低马铃薯加工废液中的化学需氧量COD,减少对环境的污染,促进马铃薯产业的发展的适用于马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺。

[0005] 本发明采取的技术方案如下:本发明一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,包括如下步骤:

[0006] 第一步,淀粉提取

[0007] 将马铃薯原料清洗去石后进行二级清洗,并将清洗完毕后的马铃薯粉碎并加水搅拌得到淀粉提取液;

[0008] 第二步,泡沫分离工艺

[0009] 将第一步得到的淀粉提取液作为泡沫分离的进料提取其中的马铃薯蛋白,淀泡沫分离的参数为:温度为20℃-50℃,pH为6.0-8.0,空气流量为9m<sup>3</sup>/h-20m<sup>3</sup>/h;

[0010] 第三步,消泡工艺

[0011] 收集泡沫,以聚醚类消泡剂为消泡剂进行消泡处理,消泡剂温度为20℃-40℃,得到马铃薯蛋白提取物分离液;

[0012] 第四步,分离过滤工艺

[0013] 将马铃薯蛋白提取物分离液通过过滤介质过滤取上清液,向上清液内加入pH为8以上的碱性溶液进行碱沉后弃沉淀,取上清液,以转速为5000rpm-9000rpm对上清液进行离心分离,取沉淀,弃上清液,得到变性马铃薯蛋白提取物,将变性马铃薯蛋白提取物放入到酸性复性缓冲溶液内复性,在温度为 $-10^{\circ}\text{C}$ ~ $-50^{\circ}\text{C}$ 且压力为1.3Pa~13Pa的条件下真空冻干得冻干马铃薯蛋白;

[0014] 第五步,胰蛋白酶抑制剂活性测定

[0015] 取两个石英比色皿,分别加入底物溶液,向一个比色皿内加入0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液作为空白,在200-300nm波长下调零;向另一个比色皿中加入0.1-0.5mL 胰蛋白酶液和0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液,混匀计时,每10-20s读数一次,直至吸光度数值基本不再变化,将第四步所述的冻干马铃薯蛋白与0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液配制成5-20g/L抑制剂溶液,抑制剂溶液替代胰蛋白酶活力测定步骤中的HCl溶液,用胰蛋白酶活力的变化来表征抑制剂性;

[0016] 第六步,马铃薯淀粉制备

[0017] 将第一步中泡沫分离后的淀粉提取液按照正常的淀粉提取工艺,制备马铃薯淀粉。

[0018] 优选地,所述第二步中泡沫分离的pH为6.5-7.5。

[0019] 进一步地,所述第四步中过滤介质可为过滤布、陶瓷膜,优选地,所述过滤介质为丙纶板框过滤布。

[0020] 进一步地,所述第四步中碱性溶液可为NaOH溶液、 $\text{NaCO}_3$ 溶液,优选地,所述碱性溶液为NaOH溶液。

[0021] 进一步地,所述第四步中酸性复性缓冲溶液可为硫酸、盐酸,优选地,所述酸性复性缓冲溶液为盐酸。

[0022] 采用上述结构本发明取得的有益效果如下:本方案一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺结构简单,设计合理,成本低廉,操作简便,马铃薯蛋白具有良好的溶解性、起泡性、乳化性、持水性和粘弹性多种特性,而泡沫分离法可以从极稀溶液中分离或浓缩表面活性物质,具有投资少、能耗低、操作简单的优点,将泡沫分离工艺结合传统马铃薯淀粉生产工艺相,大大改进马铃薯蛋白的生产工艺,用胰蛋白酶活力的变化进行胰蛋白酶抑制剂的效果评价,确认所提取的蛋白对胰蛋白酶具有抑制效果,保留马铃薯蛋白的生物活性,提高马铃薯蛋白的产品价值进而提高马铃薯加工产品的总价值,大大降低马铃薯加工废液的COD,减少对环境的污染,促进马铃薯产业的发展。

## 附图说明

[0023] 图1为本发明工艺流程示意图。

## 具体实施方式

[0024] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其它实施例,都属于本发明保护的范

围。

[0025] 实施例1,一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,包括如下步骤:

[0026] 第一步,淀粉提取

[0027] 取5kg马铃薯原料清洗去石后进行二级清洗,并将清洗完毕后的马铃薯粉碎并加水搅拌得到淀粉提取液;

[0028] 第二步,泡沫分离工艺

[0029] 将第一步得到的淀粉提取液作为泡沫分离的进料提取其中的马铃薯蛋白,泡沫分离的参数为:温度20℃,pH为6.0,空气流量为15m<sup>3</sup>/h;

[0030] 第三步,消泡工艺

[0031] 收集泡沫,以聚醚类消泡剂为消泡剂进行消泡处理,消泡剂温度为25℃,得到蛋白含量为2.02%的马铃薯蛋白提取物分离液;

[0032] 第四步,分离过滤工艺

[0033] 将马铃薯蛋白提取物分离液通过以丙纶滤布为过滤介质的板框过滤机过滤取上清液,向上清液内加入pH为11的NaOH碱性溶液进行碱沉后弃沉淀,取上清液,以转速为6000rpm对上清液进行离心分离,取沉淀,弃上清液,得到变性马铃薯蛋白提取物,将变性马铃薯蛋白提取物放入到盐酸溶液内复性,在温度为-40℃且压力为13Pa的条件下真空冻干得冻干马铃薯蛋白,提取得蛋白质干重50.98g,即蛋白酶抑制剂粗品得率为1.02%,收率为50.48%;

[0034] 第五步,胰蛋白酶抑制剂活性测定

[0035] 取两个石英比色皿,分别加入底物溶液,向一个比色皿内加入0.1-0.5mL 1-5×10<sup>-3</sup>mol/L的HCl溶液作为空白,在200-300nm波长下调零;向另一个比色皿中加入0.1-0.5mL胰蛋白酶液和0.1-0.5mL 1-5×10<sup>-3</sup>mol/L的HCl溶液,混匀计时,每10-20s读数一次,直至吸光度数值基本不再变化,将第四步所述的冻干马铃薯蛋白与0.1-0.5mL 1-5×10<sup>-3</sup>mol/L的HCl溶液配制成5-20g/L抑制剂溶液,抑制剂溶液替代胰蛋白酶活力测定步骤中的HCl溶液,用胰蛋白酶活力的变化来表征抑制剂的性,测定胰蛋白酶抑制率为15.3%;

[0036] 第六步,马铃薯淀粉制备

[0037] 将第一步中泡沫分离后的淀粉提取液按照正常的淀粉提取工艺,制备马铃薯淀粉。

[0038] 实施例2,一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,包括如下步骤:

[0039] 第一步,淀粉提取

[0040] 取5kg马铃薯原料清洗去石后进行二级清洗,并将清洗完毕后的马铃薯粉碎并加水搅拌得到淀粉提取液;

[0041] 第二步,泡沫分离工艺

[0042] 将第一步得到的淀粉提取液作为泡沫分离的进料提取其中的马铃薯蛋白,泡沫分离的参数为:温度为35℃,pH为8.0,空气流量为15m<sup>3</sup>/h;

[0043] 第三步,消泡工艺

[0044] 收集泡沫,以聚醚类消泡剂为消泡剂进行消泡处理,消泡剂温度为30℃,得到蛋白含量为1.95%的马铃薯蛋白提取物分离液;

[0045] 第四步,分离过滤工艺

[0046] 将马铃薯蛋白提取物分离液通过以丙纶滤布为过滤介质的板框过滤机过滤取上清液,向上清液内加入pH为11.5的NaOH碱性溶液进行碱沉后弃沉淀,取上清液,以转速为7000rpm对上清液进行离心分离,取沉淀,弃上清液,得到变性马铃薯蛋白提取物,将变性马铃薯蛋白提取物放入到盐酸溶液内复性,载温度为 $-40^{\circ}\text{C}$ 且压力为13Pa的条件下真空冻干得冻干马铃薯蛋白,提取得蛋白质干重70.58g,即蛋白酶抑制剂粗品得率为1.41%,收率为72.4%;

[0047] 第五步,胰蛋白酶抑制剂活性测定

[0048] 取两个石英比色皿,分别加入底物溶液,向一个比色皿内加入0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液作为空白,在200-300nm波长下调零;向另一个比色皿中加入0.1-0.5mL胰蛋白酶液和0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液,混匀计时,每10-20s读数一次,直至吸光度数值基本不再变化,将第四步所述的冻干马铃薯蛋白与0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液配制成5-20g/L抑制剂溶液,抑制剂溶液替代胰蛋白酶活力测定步骤中的HCl溶液,用胰蛋白酶活力的变化来表征抑制剂性,测定胰蛋白酶抑制率为17.86%;

[0049] 第六步,马铃薯淀粉制备

[0050] 将第一步中泡沫分离后的淀粉提取液按照正常的淀粉提取工艺,制备马铃薯淀粉。

[0051] 实施例3,一种马铃薯胰蛋白酶抑制剂的提取工艺,包括如下步骤:

[0052] 第一步,淀粉提取

[0053] 取5kg马铃薯原料清洗去石后进行二级清洗,并将清洗完毕后的马铃薯粉碎并加水搅拌得到淀粉提取液;

[0054] 第二步,泡沫分离工艺

[0055] 将第一步得到的淀粉提取液作为泡沫分离的进料提取其中的马铃薯蛋白,泡沫分离的参数为:温度为 $50^{\circ}\text{C}$ ,pH为7.0,空气流量为 $4\text{m}^3/\text{h}$ ;

[0056] 第三步,消泡工艺

[0057] 收集泡沫,以聚醚类消泡剂为消泡剂进行消泡处理,消泡剂温度为 $35^{\circ}\text{C}$ ,得到蛋白含量为2.13%的马铃薯蛋白提取物分离液;

[0058] 第四步,分离过滤工艺

[0059] 将马铃薯蛋白提取物分离液通过以丙纶滤布为过滤介质的板框过滤机过滤取上清液,向上清液内加入pH为12的NaOH碱性溶液进行碱沉后弃沉淀,取上清液,以转速为8000rpm对上清液进行离心分离,取沉淀,弃上清液,得到变性马铃薯蛋白提取物,将变性马铃薯蛋白提取物放入到盐酸溶液内复性,在温度为 $-40^{\circ}\text{C}$ 且压力为13Pa的条件下真空冻干得冻干马铃薯蛋白,提取得蛋白质干重100.37g即蛋白酶抑制剂粗品得率为2.00%,收率为94.2%;

[0060] 第五步,胰蛋白酶抑制剂活性测定

[0061] 取两个石英比色皿,分别加入底物溶液,向一个比色皿内加入0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液作为空白,在200-300nm波长下调零;向另一个比色皿中加入0.1-0.5mL胰蛋白酶液和0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液,混匀计时,每10-20s读数一次,直至吸光度数值基本不再变化,将第四步所述的冻干马铃薯蛋白与0.1-0.5mL  $1-5 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的HCl溶液配制成5-20g/L抑制剂溶液,抑制剂溶液替代胰蛋白酶活力测定步骤中的HCl溶液,

用胰蛋白酶活力的变化来表征抑制剂性,测定胰蛋白酶抑制率为22.67%;

[0062] 第六步,马铃薯淀粉制备

[0063] 将第一步中泡沫分离后的淀粉提取液按照正常的淀粉提取工艺,制备马铃薯淀粉。

[0064] 以上所述仅为本发明的实施例,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书内容所作的等效结构或等效流程变换,或直接或间接运用在其它相关的技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

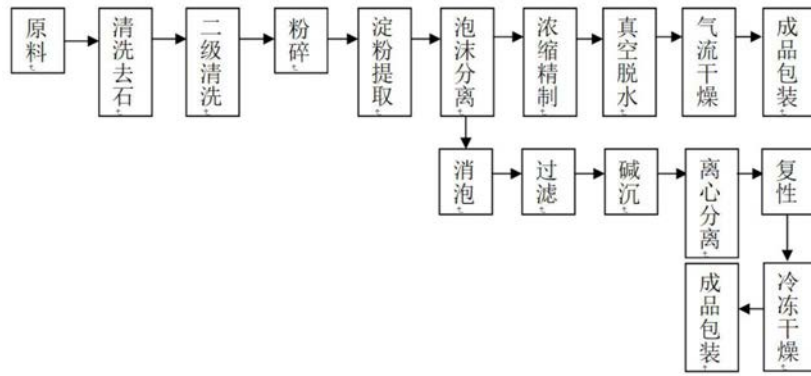


图1