

生姜蛋白酶提取、性质及应用研究进展

唐泽群^{1,2}, 余德顺^{1,2*}, 朱艺佳^{1,2}, 田弋夫¹

- (1. 贵州大学化学与化工学院, 贵阳 550025;
2. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室超临界流体技术研究中心, 贵阳 550081)

摘要: 生姜蛋白酶是从生姜中发现的一种植物蛋白酶, 属于木瓜蛋白酶类, 与木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶及猕猴桃蛋白酶共同组成4种重要植物蛋白酶。生姜蛋白酶的提取方法主要有沉淀法中的有机溶剂法、结合有机溶剂的盐法、单宁法, 以及超滤法。生姜蛋白酶的嫩肉、澄清和凝乳等作用在食品领域已被广泛研究及应用, 其酶学性质、相对分子量分布及结构也进行了检测分析和研究。近期的部分研究还表明生姜蛋白酶的一些生物活性有潜在医药价值、具有广阔的应用前景。本文对生姜蛋白酶的提取分离与纯化、酶活性及分析检测、生物活性及应用等研究现状进行了概述, 并对今后应重点加强的研究方向进行展望。

关键词: 生姜蛋白酶; 提取; 酶学性质; 生物活性

DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2021.01.044

Research progress on extraction, properties and application of ginger protease

TANG Ze-Qun^{1,2}, YU De-Shun^{1,2*}, ZHU Yi-Jia^{1,2}, TIAN Yi-Fu¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Research Center of Supercritical Fluid Technology, State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China)

ABSTRACT: Ginger protease is a kind of plant protease found in ginger, belonging to papain, and it is one of the 4 important plant proteases together with papain, bromelain and actinidin. The main extraction and separation methods of ginger protease are precipitation method, including organic solvent method, salt method, tannin method and ultrafiltration method. The functions of ginger protease such as tender meat, clarification and milk clotting have been widely researched and applied in the food field. Some detection analysis and research have also been carried out on its enzyme property, relative molecular mass distribution and structure. Recent studies also show that some biological activities of ginger protease have potential medical value and broad application prospects. This article summarized the research status of the extraction, separation and purification of ginger protease, enzyme activity and analysis, biological activity and application, and put forward some directions that should be strengthened in the future.

KEY WORDS: ginger protease; extraction; enzymatic property; biological activity

基金项目: 中国科学院科技促进发展局农业科技项目(KFJ-FP-201703)

Fund: Supported by the Bureau of Science & Technology for Development Chinese Academy of Sciences (KFJ-FP-201703)

*通信作者: 余德顺, 研究员, 主要研究方向为超临界流体技术及生物资源综合利用。E-mail: yudeshun@vip.skleg.cn

*Corresponding author: YU De-Shun, Professor, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, No. 99 West Lincheng Road, Guiyang 550081, China. E-mail: yudeshun@vip.skleg.cn

0 引言

生姜蛋白酶(ginger protease, 或 *Zingibain*)是姜科姜属植物生姜(*Zingiber Officinale* Roscoe)根茎中发现的一种植物蛋白酶, 1973 年被 THOMPSON 等^[1]研究并命名为 *Zingibain*。相关研究表明: 生姜蛋白酶作为一种新的植物蛋白酶, 因其在结构与性质上和木瓜蛋白酶相似, 与菠萝蛋白酶、猕猴桃蛋白酶一起被归类到木瓜蛋白酶家族中的 4 个具商业价值的植物蛋白酶中^[2], 属于巯基蛋白酶^[3]。植物来源的生姜蛋白酶被认为是一种绿色安全的食品添加剂, 拥有广阔应用前景^[4], 如在食品工业中的嫩肉^[5]、凝乳^[6]以及对酒的澄清作用^[7]等。本文对生姜蛋白酶近年来的提取分离工艺技术、基本酶学性质以及生物活性及其主要应用领域进行了概述, 并对今后应重点加强的研究方向进行展望, 在这些方向进行的研究将对生姜蛋白酶的基础及应用产生积极促进作用, 推动生姜蛋白酶应用产业化及生姜资源的综合高附加值利用。

1 生姜蛋白酶的分离提取

从生姜中分离提取生姜蛋白酶的方法主要分为 2 大类: 一类是沉淀法, 另一类是超滤法。沉淀法是传统提取方法, 使用设备简单、手段成熟, 是目前实验室及规模化生产中常用的提取分离方法^[8]。

1.1 沉淀法

沉淀法中使用的沉淀剂主要有 3 类, 即: 有机溶剂类、盐类和有机酸类。沉淀法基本原理是溶质分子之间及溶质与溶剂分子之间亲和力不同, 宏观上表现为溶解度不同, 从而达到分离目的。影响溶解度大小的因素有溶质和溶剂的化学性质及结构、是否有沉淀剂的加入, 溶液 pH 值、离子强度的改变等。

1.1.1 有机溶剂类

原理: 一些与脂质结合比较牢固或分子中非极性侧链较多的蛋白质不溶于水、稀盐溶液、稀酸或稀碱中, 可用乙醇、丙酮和丁醇等有机溶剂提取。常用的有机溶剂为丙酮或乙醇, 其技术关键是有机溶剂比例及低温冷冻操作时温度的选择。

沉淀法大都是用丙酮沉淀生姜蛋白酶制备成丙酮粉, 并以此作为酶源进行进一步的分离纯化, 典型的丙酮粉制备工艺流程是: 将洗净、切碎的姜冷冻至 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 后, 与 4 倍(V/W)在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下的冷丙酮混合并均质、抽滤, 再以 5 倍(V/W)的冷丙酮连续洗涤抽滤, 将得到的丙酮粉放入通风橱干燥挥发至没有丙酮味、粉碎、筛分并除去粗颗粒, 用密封袋封好, 放入 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中储存备用^[9]。唐晓珍^[10]采用乙醇法, 是直接以 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冷乙醇和姜汁混合制成含 60%冷乙醇的姜汁溶液, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下冷藏 30 min, 离心取沉淀, 真空除乙醇

后冷冻干燥, 所得酶粉置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

1.1.2 盐类

用盐类作为沉淀剂, 也称盐析, 其原理是利用无机盐溶液来降低蛋白质的溶解度, 以使其凝聚析出, 具有低成本、高效的优点。其技术关键是无机盐类及其浓度的选择。硫酸铵作为无机盐类沉淀剂能够保护蛋白质活性, 沉淀时所用硫酸铵的浓度也要比氯化钠或氯化钾低, 在蛋白酶的纯化分离过程中多采用硫酸铵作为沉淀剂。

代景全^[11]以丙酮粉制得的生姜蛋白酶为原料, 采用 pH 8.0 的磷酸缓冲溶液提取丙酮粉中的生姜蛋白酶, 添加硫酸铵至 40%饱和度沉淀除去淀粉和杂蛋白, 上清液加硫酸铵至 80%饱和度进行再沉淀的方法对生姜蛋白酶进行进一步提纯。

1.1.3 有机酸类

原理: 主要利用有机酸与蛋白质发生酸碱中和反应进一步增大其疏水性, 形成蛋白质有机酸盐络合物沉淀来进行提取。其技术关键是有有机酸种类的选择、浓度及溶液的 pH 值, 蛋白质提取分离中常用的一些有机酸有单宁酸、柠檬酸等。

唐晓珍等^[12]用已制备得到的丙酮粉为酶料, 以 pH 6.0 的磷酸缓冲溶液浸提 35 min, 过滤, 添加 0.12%的单宁浓度沉淀, 沉淀冷冻干燥, 得率为 1.1%; 陈文平等^[13]用 20 mmol/L 的柠檬酸在 pH 5.0、温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时沉淀压榨的姜汁, 所得酶活力最高。

1.2 超滤法

原理: 超滤是以压力或离心力为驱动力, 利用机械筛分的原理选择性地使溶液中不同分子质量的溶质进行分离的过程。在压力作用下, 溶剂与部分低相对分子质量溶质穿过超滤膜的孔道到达膜的另一侧, 而高相对分子质量的溶质被截留或返回至料液而得到浓缩分离。其技术关键是根据所需分离的蛋白质相对分子质量大小选择合适的超滤膜以及分离压力。

范金波等^[14]在切块的鲜姜中加入 pH 6.5 的磷酸盐缓冲溶液, 均质匀浆, 缓冲液稀释, 加氯化钠搅拌过滤, 用缓冲液提取残渣后过滤, 收集滤液微孔滤膜过滤后再超滤。唐晓珍等^[15]将洗净的姜切碎榨汁, 离心后抽滤, 在 0.05 MPa 下超滤, 超滤过后的清汁中几乎不存在生姜蛋白酶, 制得含生姜蛋白酶的浓汁冷冻干燥保存, 同时与单宁法和乙醇法进行了比较, 认为超滤法下得到的生姜蛋白酶最好, 更具工业化生产价值。

1.3 其他提取分离方法

双水相萃取(aqueous two-phase extraction, ATPE)是一种新型分离技术, 其原理是在特定前提下亲水性聚合物水溶液形成双水相, 根据分离物在两相中分配比不同, 实现分离。特点有含水量高, 适于提取水溶性蛋白质、不存在

有机溶剂残留、易于放大等。双水相萃取技术已用于木瓜蛋白酶等蛋白质大分子的提取分离研究^[16-18]。

谢芳等^[19]以无水乙醇沉淀得到的生姜蛋白酶粗酶为原料,在pH 8.0的硫酸铵和相对分子质量为4000聚乙二醇的双水相体系中进行萃取分离,酶活力回收和纯化倍数都最高,分别可达393.77%和1.85。

1.4 生姜中多成分联合提取

生姜中除含蛋白酶外,还含有其他重要成分如姜油和姜油树脂,以及姜淀粉、纤维素等可以综合利用的成分。上述生姜蛋白酶的提取分离方法是单一提取,没有考虑生姜资源的综合利用。朱照武^[20]在分别研究了柠檬酸沉淀法和超滤法后提出:在超滤后得到的浓汁中添加柠檬酸来沉淀生姜蛋白酶活力更好,且该方法可实现姜汁饮品的制备和生姜蛋白酶提取同时进行。在联合提取姜中不同有效成分方面,高晓东等^[21]采用乙醇溶剂法结合旋蒸对生姜中的姜辣素、姜黄素和蛋白酶进行了分离提取的实验研究,探讨了最佳工艺条件,并用超滤膜和柱层析对生姜蛋白酶进行了进一步的纯化。

2 生姜蛋白酶酶活的检测

生姜蛋白酶的检测目前常用的还是蛋白质检测的考马斯亮蓝法,其原理是:考马斯亮蓝 G-250 与蛋白质中的 NH_3^+ 在静电作用下结合可使其由棕红色转换为蓝色,其吸光值与蛋白质含量是正比关系,因此可以通过建立相关标准曲线来计算蛋白质浓度,再转换成蛋白含量;酶活力是以在50℃,pH 6.0条件下每分钟水解酪蛋白产生1 μg 酪氨酸定义为1个蛋白酶活力单位,通过测定酪氨酸的紫外吸收来确定其含量。

周慧等^[22]以酪蛋白为底物,测试其为生姜蛋白酶水解后剩余的蛋白质含量来表达酶活。蔡海燕等^[23]采用以牛血清蛋白为底物检测其酶活。于洁等^[24]以加热失活的酶为参照,采用以牛血清蛋白为底物,考马斯亮蓝法测定酶活,该法具有简单、消除腐蚀危害的优点。侯婴惠等^[25]用响应面法优化了生姜蛋白酶活性测定的考马斯亮蓝法,建立了数学模型,通过方差分析探讨了各种实验条件及因素对酶活测定的影响,得出生姜蛋白酶活性测定最佳条件为:反应时间3.6 min、反应温度46.44℃、底物浓度0.95%、缓冲液pH 6.78。

3 生姜蛋白酶相关性质

3.1 蛋白质性质

因为采用的研究方法不同,目前关于等电点和相对分子质量有不同的实验研究结果。ICHIKAWA 等^[26]采用sephadex G-100N得出其为2个组分的碱性蛋白,蛋白质等电点(isoelectric point, PI)值为6.5和7.0,其相对分子质量

均为22500;赵帜平等^[27]用DEAE-纤维素DE-52和sephadex G-75纯化后所得生姜蛋白酶2个组分的PI值也为7.0和8.0;而OHTSUKI等^[28]采用CM-纤维素层析和G-100生物凝胶色谱法,并在稳定剂存在的情况下对生姜蛋白酶进行纯化后,测得相对分子质量为29000;之后OHTSUKI等^[29]又采用DEAE-sepharose和sephadex G-75进行纯化,等电聚焦电泳后得出生姜蛋白酶是3个组分的酸性蛋白,PI值分别为4.5、4.6和4.8;代景全^[11]在采用DEAE-纤维素DE-52分离以及SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳进一步纯化后也认为是酸性蛋白,同时得出两组分的相对分子质量分别为47000和14000。RAHEED等^[30]最近应用离子交换、亲和以及尺寸排阻色谱相结合,分离到1个新的相对分子质量为27000的生姜蛋白酶,用小角散射(small angle x-ray scattering, SAXS)以及基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)和液相色谱-质谱/质谱(liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, LC-MS/MS)技术进行了分析检测,并进行了计算验证。

CHOI等^[31]最后经高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)纯化并冻干,得到生姜蛋白酶-I和生姜蛋白酶-II,在对其氨基酸序列及结构进行研究后得出:(1)生姜蛋白酶-I和生姜蛋白酶-II相似度为82%;(2)生姜蛋白酶与该家族的其他成员如木瓜蛋白酶等序列同源性约为50%;(3)生姜蛋白酶-II是一个含有221个氨基酸残基的糖蛋白,在Asn99和Asn156上有2个糖化点,并阐明了寡糖残基的组成及连接方式。

3.2 基本酶学性质

由于提取分离及纯化方法不同,关于生姜蛋白酶基本酶学性质没有形成较为一致的研究结论。郝桂霞等^[32]研究了pH、温度、激活剂乙二胺四乙酸二钠(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、金属离子 K^+ 和 Mg^{2+} 、以及贮存时间和贮存温度对酶活性的影响,结果表明生姜蛋白酶能耐受一定温度和pH变化的影响,影响因素中温度最大, K^+ 离子影响最小;孙国梁等^[4]在相关综述文献对生姜蛋白酶的酶学性质给出了一个描述,即:姜蛋白酶的最适温度为60℃,最适pH值分别为以酪蛋白为底物的6.0和以牛血清蛋白为底物的5.0,汞、铜、铬和锌等二价重金属离子,对氯汞苯甲酸[4-(Chloromercuric) benzoic acid, PCMB],亚硫酸氢钠对其有抑制作用,EDTA、二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)对其有激活作用。

4 生姜蛋白酶的应用

4.1 澄清作用

作为木瓜蛋白酶家族的一员,生姜蛋白酶也具有对

酒类澄清的作用, 相关研究表明其澄清的作用机理在于生姜蛋白酶可以将酒类中的大分子蛋白质分解为可溶于酒的小分子多肽以及氨基酸, 以此来显著提升酒类澄清度, 同时提高酒的品质。唐晓珍等^[33-34]研究了生姜蛋白酶对啤酒和红葡萄酒的作用, 添加量在 0.05 mg/L, 预处理温度在 60 °C 时对啤酒的澄清效果最好, 添加量在 0.05 mg/L, 远小于木瓜蛋白酶的添加量(0.0001%~0.0004%, 约 5 mg/L); 预处理温度在 20~30 °C 时对葡萄酒澄清效果较好。乔园园^[35]认为在对于红葡萄酒在添加量为 0.25 μg/mL, 作用时间在 12~30 d 时可以得到较好的感官评价。

4.2 嫩化作用

生姜蛋白酶对于肉类嫩化的作用在于: 生姜蛋白酶作为一种巯基蛋白酶, 具有可分解肌动球蛋白和胶原蛋白的能力。从分解能力上讲, 对胶原蛋白的分解强于对肌动球蛋白的分解, 从而使肉嫩化, 且其能降解肌原纤维使其断裂以此来提高肉类的嫩度。俞沛初等^[36]采用生姜蛋白酶和牛肉、猪肉等作用得出其具有对肉的嫩化作用。孙国梁等^[37]相关研究得出添加量在 0.06%、pH 7.0、50 °C 下处理 2 h 可使牛肉嫩度达到一个较好的程度, 同时得到一个较好感官评价。唐晓珍等^[38]通过测定猪肉的最大剪切力来研究生姜蛋白酶的嫩化效果, 指出添加量在 0.01%、pH 7.0、预处理温度 30 °C 的条件下效果较好。

4.3 凝乳作用

关于生姜凝乳的作用机理目前说法不一, 如: 张和平等^[39]认为是生姜蛋白酶和 Ca^{2+} 参与下将酪蛋白胶粒外围的 κ -酪蛋白(κ -casein)及 β -酪蛋白(β -casein)形成网状凝胶体。纪丽莲等^[40]则认为是生姜中的挥发油将酪蛋白胶束外壳的 κ -酪蛋白分解使其能容纳更多的钙离子而使乳液凝固。张平平等^[41]的研究得出是生姜蛋白酶对 κ -酪蛋白的部分分解, 让对 Ca^{2+} 敏感的 α_5 -酪蛋白和 β -酪蛋白与 Ca^{2+} 形成网状的凝胶体; 唐琳等^[42]在 pH 5.0、30~35 °C 的凝乳温度下添加 10% 的姜汁, 0.05% 的 CaCl_2 得到的姜汁凝乳具有较好的感官评价, 同时还具有相应的保健功能。MALIK^[43]和 HUANG 等^[44]的研究则表明生姜蛋白酶在对奶酪的生产方面也具有潜在价值, 可以用来代替日益紧张的小牛皱胃酶。李田叶等^[45-46]分别以正交法和响应面法优化的超声提取生姜蛋白酶, 在最佳提取条件下所得到蛋白酶提取液, 以 0.03% 的添加量混入酸奶中, 开发出一种功能性酸奶。

4.4 其他生物活性作用

生姜蛋白酶除了上述 3 种生物活性作用外, 还是一种蛋白水解酶的来源。YUKI 等^[47]用生姜蛋白酶制备新型小麦面筋水解物。有研究表明, 口服面筋酶解物对身体有益, 如抑制肌肉损伤和改善肝炎, 用生姜蛋白酶制备的新型面筋水解物可作为 2 型糖尿病患者功能性食品。ZHENG

等^[48]认为过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)会引起氧化应激, 这与氧化损伤和人类的一些慢性疾病有关, 因此他们采用生姜蛋白酶水解鱼皮明胶来制备抗氧化肽, 结果表明, 用生姜蛋白酶制备的鱼皮明胶水解液可以作为具有高抗氧化活性的多肽来源。

WANG 等^[49]报道了从生姜中分离纯化得到的一个相对分子质量为 32000 蛋白具有抗真菌活性; GILL 等^[50]从生姜中分离纯化得到的一个相对分子质量为 24000 蛋白具有抗真菌、抗炎和抑制增殖多种作用。JAMIR 等^[51]通过对姜蛋白酶粗提物用 DEAE-纤维素离子交换色谱和葡聚糖凝胶 G50 色谱进行进一步的分离纯化后得到生姜糖蛋白酶, 其酶活性为 39.4 U/mg, 实验研究结果有明显的抗氧化活性, 显示其在医药及食品工业中具潜在应用前景。

5 结束语

作为植物源木瓜蛋白酶家族的重要成员之一, 生姜蛋白酶在提取分离、纯化、蛋白酶的基本性质、生物活性及其应用方面的研究已经取得了一些进展, 但相对于本家族中的木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶, 目前对生姜蛋白酶的基础研究及应用还较少也不够深入, 如提取分离方面大多数处于实验室阶段, 酶活及纯度不够高; 用现代仪器方法和技术手段对其蛋白质结构及酶学性质进行分析表征的基础性研究不多且结论不一, 如蛋白的数量及其相对分子质量等; 在除食品领域外的相关生物活性的应用基础研究也较少, 因此生姜蛋白酶的研究和应用发展空间潜力很大, 需进一步加强, 其基础及应用研究的主要方向有:

(1)应用现代生物蛋白质分析研究的方法和技术手段对生姜蛋白酶蛋白质分子结构及基本酶学性质进行更多更深入的研究, 如生姜蛋白酶的相对分子质量、四级蛋白质构型以及氨基酸序列的测定, 为其进一步的生物活性及应用研究奠定基础。

(2)与上述(1)相关的生姜蛋白酶的提取分离及纯化新技术新方法的研究, 如超滤、柱层析及各种蛋白质的色谱纯化分离方法, 以及有利于生姜资源综合利用的多成分联合提取分离新技术新工艺的研究, 如超滤结合超临界流体萃取等。

(3)生姜蛋白酶新生物活性基础及应用基础研究, 特别是在健康医药领域, 如生姜蛋白酶与已知生物活性的蛋白质靶点间的相互作用等。

参考文献

- [1] THOMPSON EH, WOLF ID, ALLEN CE. Ginger rhizome: A new source of proteolytic enzyme [J]. J Food Sci, 1973, 38: 652-655.
- [2] MINH H, BEKHIT AEDA, ALAN C, et al. Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and Zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins [J]. Food Chem,

- 2012, 134, 95–105.
- [3] RAWLINGS ND, BARRETT AJ. Families of cysteine peptidases [J]. *Method Enzymol*, 1994, 244: 461–486.
- [4] 孙国梁, 刘涛, 王玉林, 等. 生姜蛋白酶的研究进展[J]. *中国食物与营养*, 2007, (5): 21–23.
SUN GL, LIU T, WANG YL, *et al.* Research progress of ginger protease [J]. *Food Nutr China*, 2007, (5): 21–23.
- [5] 黄彩燕, 张松山, 韩玲, 等. 植物蛋白酶在肉类嫩化中的应用研究进展[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(4): 88–91.
HUANG CY, ZHANG SS, HAN L, *et al.* Research progress on application of plant proteinase in meat tenderization [J]. *Food Ferment Sci Technol*, 2017, 53(4): 88–91.
- [6] SU HP, HUANG MJ, WANG HT. Characterization of ginger proteases and their potential as a rennin replacement [J]. *J Sci Food Agric*, 2009, 89: 1178–1185.
- [7] 柴丽娟, 陈述云, 袁继鑫, 等. 生姜蛋白酶对红葡萄酒澄清效果的研究[J]. *酿酒*, 2009, 36(6): 59–62.
CHAI LJ, CHEN SY, YUAN JX, *et al.* Investigation on the effect of *Zingibain* on red wine clarification [J]. *Liquor Making*, 2009, 36(6): 59–62
- [8] 宋琦. 生姜蛋白酶的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
SONG Q. Study on ginger protease [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.
- [9] PITAYA A, RICHARD OA. Stabilization and partial purification of a protease from ginger rhizome (*Zingiber Offinale Roscoe*) [J]. *J Food Sci*, 2005, 70(3): 231–234.
- [10] 唐晓珍. 生姜蛋白酶的提取与应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2001.
TANG XZ. Extraction and application of *Zingibain* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2001.
- [11] 代景泉. 生姜蛋白酶的分离纯化及其部分特性的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002.
DAI JQ. Purification and partial characterization of ginger protease [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2002.
- [12] 唐晓珍, 黄雪松, 李坤, 等. 单宁法提取生姜蛋白酶[J]. *食品工业科技*, 2002, 23(6): 13–15.
TANG XZ, HUANG XS, LI K, *et al.* Preparation of ginger protease by tannin method [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2002, 23(6): 13–15.
- [13] 陈文平, 朱照武, 樊世杰. 柠檬酸沉淀法提取生姜蛋白酶的工艺优化[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(10): 4216–4220.
CHEN WP, ZHU ZW, FAN SJ. Process optimization of ginger protease extraction by citric acid precipitation [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(10): 4216–4220.
- [14] 范金波, 侯宇, 黄训文, 等. 生姜蛋白酶的分离、纯化及酶学性质研究[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(5): 65–69.
FAN JB, HOU Y, HUANG XW, *et al.* Purification of ginger protease and study on its enzymatic properties [J]. *Food Ferment Ind*, 2014, 40(5): 65–69.
- [15] 唐晓珍, 黄雪松, 乔旭光, 等. 生姜蛋白酶超滤法提取工艺及其在食品工业中的应用[J]. *食品与发酵工业*, 2002, 28(12): 27–31.
TANG XZ, HUANG XS, QIAO XG, *et al.* Ultra filtration extraction technology of *Zingibain* and its application in food industry [J]. *Food Ferment Ind*, 2002, 28(12): 27–31.
- [16] 吴丁丁, 穆小静, 易小琦, 等. 双水相萃取技术的新发展[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(8): 395–400.
WU DD, MU XJ, YI XQ, *et al.* Progress of aqueous two-phase extraction technique [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, 38(8): 395–400.
- [17] 王伟涛. 木瓜蛋白酶的双水相萃取研究[D]. 海口: 海南大学, 2014.
WANG WT. Study on the extraction of papain with aqueous two-phase system [D]. Haikou: Hainan University, 2014.
- [18] 田明玉. 双水相萃取白蛋白和酶的初步研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2009.
TIAN MY. Aqueous two-phase extraction of serum albumin and enzymes [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2009.
- [19] 谢芳, 唐晓珍, 马明, 等. 双水相法萃取生姜蛋白酶的体系的建立[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(1): 184–188.
XIE F, TANG XZ, MA M, *et al.* Establishment of aqueous two-phase extraction system for ginger protease [J]. *Food Ferment Ind*, 2011, 37(1): 184–188.
- [20] 朱照武. 生姜活性成分提取与特性研究[D]. 恩施: 湖北民族学院, 2016.
ZHU ZW. Study on the extraction of active components from ginger and its characteristic [D]. Enshi: Hubei Minzu University, 2016.
- [21] 高晓东, 王秋英, 乔旭光, 等. 多种生姜有效成分联合提取工艺[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(1): 203–207.
GAO XD, WANG QY, QIAO XG, *et al.* The optimum extraction process of ginger various effective components [J]. *Food Ferment Ind*, 2013, 39(1): 203–207.
- [22] 周慧, 鲁治斌, 齐杰, 等. 蛋白水解酶活力测定新方法[J]. *生物化学杂志*, 1994, 10(5): 630–632.
ZHOU H, LU ZB, QI J, *et al.* A novel assay for protease [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 1994, 10(5): 630–632.
- [23] 蔡海燕, 周小华. 生姜蛋白酶提取及反胶束纯化工艺初步研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2004, 16(6): 543–547, 551.
CAI HY, ZHOU XH. Primary research of preparation and anti-micelle extraction about ginger protease (GP-II) [J]. *Nat Pro Res Dev*, 2004, 16(6): 543–547, 551.
- [24] 于洁, 肖超妮, 王世祥, 等. 测定生姜蛋白酶活性的新方法[J]. *热带作*

- 物学报, 2011, 32(8): 1475–1478.
- YU J, XIAO CN, WANG SX, *et al.* A new method for detecting ginger protease activity [J]. *Chin J Trop Crop*, 2011, 32(8): 1475–1478.
- [25] 侯惠惠, 张秀娟, 王帅, 等. 响应面法优化生姜蛋白酶活性测定方法[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(3): 139–145.
- HOU YH, ZHANG XJ, WANG S, *et al.* Determination optimization of ginger protease activity by response surface method [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(3): 139–145.
- [26] ICHIKAWA Y, SASA H, MICHI K. Purification of ginger protease [J]. *Nutr Food*, 1973, 26(6): 377–383.
- [27] 赵帆平, 周恩志, 张部昌. 生姜蛋白酶的分离纯化及其糖肽键型的初步研究[J]. *安徽大学学报(自然科学版)*, 1995, (2): 93–97.
- ZHAO ZP, ZHOU EZ, ZHANG BC. Studies on purification and glycosidic linkage of *Zingibain* [J]. *J Anhui Univ (Nat Sci Ed)*, 1995, (2): 93–97.
- [28] OHTSUKI K, KAWABATA M, TAGUCHI K. *et al.* Purification and stabilization of ginger protease [J]. *Sci Rep Kyoto Pref Univ (Nat Sci Liv Sci)*, 1978, (29): B19–B26.
- [29] OHTSUKI K, TAGUCHI K, SATO K, *et al.* Purification of ginger proteases by DEAE-sepharose and isoelectric focusing [J]. *BBA-Gen Sub*, 1995, 1243(2): 181–184.
- [30] RSHEED S, MALIK SA, FALKE S, *et al.* Isolation and initial structural characterization of a 27 kDa protein from *Zingiber Officinale* [J]. *J Mol Struct*, 2018, 1156: 330–335.
- [31] CHOI KH, LAURSEN RA. Amino-acid sequence and glycan structures of cysteine proteases with proline specificity from ginger rhizome *Zingiber Officinale* [J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267(5): 1516–1526.
- [32] 郝桂霞, 杨秋菊. 多因素对生姜蛋白酶的影响[J]. *韩山师范学院学报*, 2005, 26(3): 71–75.
- HAO GX, YANG QJ. The influence of factors on the activity of ginger rhizome protease [J]. *J Hanshan Norm Univ*, 2005, 26(3): 71–75.
- [33] 唐晓珍, 黄雪松, 乔聚林, 等. 生姜蛋白酶对啤酒的澄清效果[J]. *食品工业科技*, 2002, 23(8): 12–14.
- TANG XZ, HUANG XS, QIAO JL, *et al.* The clarification effect of ginger protease on beer [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2002, 23(8): 12–14.
- [34] 唐晓珍, 黄雪松, 刘传富, 等. 生姜蛋白酶对红葡萄酒的澄清效果[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2002, (4): 10–13.
- TANG XZ, HUANG XS, LIU CF, *et al.* Effect of *Zingibain* on red wine clarification [J]. *Sino-Overseas Grapev Wine*, 2002, (4): 10–13.
- [35] 乔园园. 生姜蛋白酶的纯化及其在红葡萄酒澄清中的应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
- QIAO YY. Purification and application in red wine clarification of ginger protease [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2009.
- [36] 俞沛初, 胡一匡, 顾金龙, 等. 生姜汁对肉类致嫩效应初探[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 1994, 12(2): 96–99.
- YU PC, HU YK, GU JL, *et al.* Study of ginger juice's effect on the tendering meat [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ (Agric Sci Ed)*, 1994, 12(2): 96–99.
- [37] 孙国梁, 孔凡敏, 刘涛, 等. 生姜蛋白酶嫩化牛肉效果的研究[J]. *食品工业科技*, 2008, (3): 244–245, 248.
- SUN GL, KONG FM, LIU T, *et al.* Study on tenderization of beef by ginger protease [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2008, (3): 244–245, 248.
- [38] 唐晓珍, 黄雪松, 王明林, 等. 生姜蛋白酶和生姜汁对猪肉嫩化效果的比较[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 34(1): 15–18, 23.
- TANG XZ, HUANG XS, WANG ML, *et al.* Comparison of effects of *Zingibain* and ginger juice on tenderization of pork [J]. *J Shandong Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2003, 34(1): 15–18, 23.
- [39] 张和平, 梁钧, 吴太平. 姜汁奶初步研究[J]. *食品工业*, 1996, (1): 22–23.
- ZHANG HP, LIANG J, WU TP. Preliminary study on ginger milk [J]. *J Food Ind*, 1996, (1): 22–23.
- [40] 纪丽莲, 丁红军. 姜汁凝乳的研制[J]. *中国乳品工业*, 1997, 25(2): 9–11.
- JI LL, DING HJ. The development of coagulant milk with *Zingiber Officinace* Rose juice [J]. *China Dairy Ind*, 1997, 25(2): 9–11.
- [41] 张平平, 黄雪松, 刘宪华. 姜汁凝乳的研究[J]. *中国乳品工业*, 1999, 27(5): 17–19.
- ZHANG PP, HUANG XS, LIU XH. Study on the milk clotting of ginger juice [J]. *China Dairy Ind*, 1999, 27(5): 17–19.
- [42] 唐琳, 樊庆义. 姜汁凝乳的研究[J]. *山东师范大学学报(自然科学版)*, 1999, 14(3): 311–314.
- TANG L, FAN QY. Studies on the coagulant milk with *Zingiber Officinace* Rose juice [J]. *J Shandong Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 1999, 14(3): 311–314.
- [43] MALIK MH. 姜根茎中植源性凝乳酶的分离纯化、特性研究及其在奶酪生产中的应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- MALIK MH. Purification and characterization of vegetal rennet from ginger rhizomes with technological manipulation to cheese development [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [44] HUANG XW, CHEN LJ, LUO YB, *et al.* Purification, characterization, and milk coagulating properties of ginger proteases [J]. *J Dairy Sci*, 2011, 94(5): 2259–2269.
- [45] 李田叶, 李旻, 安建乐, 等. 响应面法优化生姜蛋白酶提取及酸奶中的应用[J]. *食品工业*, 2015, 36(7): 91–95.
- LI TY, LI M, AN JL, *et al.* Optimization of extraction of ginger protease by response surface methodology and its application in the yogurt [J]. *J*

- Food Ind, 2015, 36(7): 91–95.
- [46] 李田叶, 武耀康, 赵晓宇, 等. 正交超声法优化生姜蛋白酶提取工艺及在功能酸奶中的应用[J]. 食品科技, 2015, 40(6): 258–261.
- LI TY, WU YK, ZHAO XY, *et al.* Optimization of extraction technique of ginger protease by orthogonal ultrasonic method and its application in the functional yogurt [J]. Food Sci Technol, 2015, 40(6): 258–261.
- [47] YUKI, TAGA, OSAMU, *et al.* Production of a novel wheat gluten hydrolysate containing dipeptidyl peptidase-IV inhibitory tripeptides using ginger protease [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2017, 81(9): 1823–1828.
- [48] ZHENG L, YU H, WEI H, *et al.* Antioxidative peptides of hydrolysate prepared from fish skin gelatin using ginger protease activate antioxidant response element-mediated gene transcription in IPEC-J2 cells [J]. J Funct Foods, 2018, 51: 104–112.
- [49] WANG HX, NG TB. An antifungal protein from ginger rhizomes [J]. Biochem Bioph Res Co, 2005, 336: 100–104.
- [50] GILL K, SINGH AK, KUMAR S, *et al.* Isolation and characterization of a potent protein from ginger rhizomes having multiple medicinal properties [J]. J Med Plants Res, 2012, 6(2): 160–170.
- [51] JAMIR K, SESHAGIRIRAO K. Purification, biochemical characterization and antioxidant property of ZCPG, a cysteine protease from *Zingiber montanum* rhizome [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 106: 719–729.

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



唐泽群, 硕士, 主要研究方向为精细化工与绿色制造。

E-mail: 1164759126@qq.com



余德顺, 研究员, 主要研究方向为超临界流体技术及生物资源综合利用。

E-mail: yudeshun@vip.skleg.cn



食品安全风险评估与风险监测

食品安全问题是“食物中有毒、有害物质对人体健康影响的公共卫生问题”。食品安全要求食品对人体健康造成急性或慢性损害的所有危险都不存在, 是一个绝对的概念, 降低疾病隐患, 防范食物中毒的一个跨学科领域。食品安全中的风险评估是根据各个国家的具体条件来进行判定的, 其中, 人与动物的健康安全情况均在考量范围内。食品安全不仅关系人类与动物的生命健康, 也会关系整个社会经济的可持续发展, 与国家的国际形象和政府形象也有所关联, 更是衡量一个政府执政能力的重要判断指标。

鉴于此, 本刊特别策划了“**食品安全风险评估与风险监测**”专题, 专题将围绕**(1)危害识别、(2)危害特征描述、(3)暴露评估、(4)风险特征描述、(5)区域性风险监测、(6)风险管理**等方面。或您认为本领域有意义的问题综述及研究论文均可, 专题计划在 2021 年 4,5 月出版。

本刊主编国家食品安全风险评估中心**吴永宁技术总师**邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件, 综述、研究论文和研究简报均可。请在 2021 年 2 月 9 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

投稿方式(注明专题):

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部