

# 栀子渣中植物蛋白提取工艺的研究

伍小华, 刘 丹, 陈玉霞, 黄 宇, 苏 伟\*

(江西科技师范学院生命科学学院, 江西 南昌 330013)

**摘 要:** 本实验以栀子渣为原料, 采用“碱溶酸沉”原理, 通过对料液比、浸提温度、浸提时间及浸提液 pH 值进行单因素试验, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验对栀子渣中植物蛋白提取工艺条件进行优选。结果表明: 浸提液的 pH 值对植物蛋白提取率的影响程度达到极显著水平, 料液比、浸提温度及浸提时间对植物蛋白提取率没有显著影响。栀子渣中植物蛋白提取的最佳工艺条件为: 浸提液 pH 值为 9.0、料液比 1:20、浸提时间 1.5h、浸提温度 40℃。

**关键词:** 栀子渣; 植物蛋白; 提取; 正交试验

## Study on Extraction Technology of Plant Protein from Fruit Pomace of *Gardenia jasminoides* Ellis

WU Xiao-hua, LIU Dan, CHEN Yu-xia, HUANG Yu, SU Wei\*

(College of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

**Abstract:** An extraction method of natural plant protein from gardenia fruit pomace was studied by means of the theory of alkali extraction and acid precipitation. The optimum extraction process was established through  $L_9(3^4)$  orthogonal test plan. Ratio of solid to liquid, pH value, temperature and time were selected to investigate their effects on the extraction rate of plant protein from gardenia fruit pomace. The orthogonal test results showed that the optimum conditions are as follows: ratio of solid to liquid 1:20, solution pH 9.0, extraction time 1.5 h and temperature 40℃. The major factor affecting the extraction of plant protein is solution pH value.

**Key words:** gardenia fruit pomace; plant protein; extraction; orthogonal test

中图分类号: TS201.21

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)12-0336-03

栀子为茜草科植物山栀的果实, 始载于《神农本草经》, 记载其具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒的功效<sup>[1]</sup>。近年来, 国内外对栀子的研究发展较快, 现代医学研究表明: 栀子对消化系统、心脑血管系统、中枢神经系统以及肿瘤方面的疾病具有广泛的药理作用<sup>[2]</sup>。自 1877 年 Stenhouse 等开始对栀子树胶进行研究以来, 至今中外科研工作者已从该属植物分离鉴定的化合物有 40 多种, 包括黄酮类、环烯醚萜类、三萜类、有机酸酯类等<sup>[3]</sup>。

栀子渣是栀子加工过程中的副产品, 含有大量的蛋白质。其中必需氨基酸组成与人体每日摄取量的标准基本相同, 可有效的促进人体生长发育与降低心脑血管疾病的发生率<sup>[4]</sup>。因此, 从栀子渣中提取植物蛋白不仅可以提高栀子的综合利用价值, 也对人体的功能保健作用具有重要的意义<sup>[5]</sup>。

本研究采用传统的“碱溶酸沉”工艺, 先用稀碱溶液使蛋白质溶解, 分离出去不溶性高分子成分。再

用酸调到等电点使蛋白质沉淀下来, 除去非酸沉性可溶成分, 进行洗涤, 调 pH 值至中性, 经均质, 冷冻干燥等工艺制备成纯度较高的栀子蛋白质<sup>[6-7]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

栀子渣 药厂提取后废渣。

盐酸、氢氧化钠、硼酸、硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸、过氧化氢均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

TDL-5A 台式离心机、DUCHI 凯氏定氮仪、HHSY21 电热恒温水浴锅、3540-1 震荡恒温水浴锅、722 型可见光分光光度计、TU-1901 紫外/可见光分光光度计。

### 1.3 方法

在料液比为 1:20 时, 即称取 40 目过筛的栀子渣粉 5g, 量取 100ml 蒸馏水, 按溶液中碱含量为 0.001mol/L 加入 0.004g NaOH 固体, 用玻璃棒充分搅拌后, 再在

收稿日期: 2008-10-29

作者简介: 伍小华(1989-), 男, 本科生, 主要从事食品生物技术研究。E-mail: wxhljq1989@yahoo.cn

\* 通讯作者: 苏伟(1971-), 女, 讲师, 主要从事食品生物技术研究。E-mail: suwei74@hotmail.com

40℃水浴下继续提取1h,待提取结束后,在10000r/min条件下离心20min,收集上清液即为栀子渣蛋白提取液。然后在栀子渣蛋白提取液中加入1mol/ml的HCl溶液至栀子蛋白液的pH值达到4.2时静置30min,在10000r/min条件下离心20min,收集沉淀物即为栀子渣蛋白。

### 1.3.1 测定方法

溶液中蛋白质含量测定采用Folin-酚法。

### 1.3.2 单因素试验

#### 1.3.2.1 料液比对栀子渣蛋白质提取率的影响

分别选取料液比1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,振荡提取1h,温度和pH值分别控制在40℃和9.0,离心后测稀释10倍的上清液的吸光度,并计算蛋白质含量。

#### 1.3.2.2 pH值对栀子渣蛋白质提取率的影响

选取浸提温度40℃,料液比为1:20,pH值分别设定为6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5,振荡提取1h,离心后测稀释10倍的上清液的吸光度,并计算蛋白质含量。

#### 1.3.2.3 浸提时间对栀子渣蛋白质提取率的影响

选取浸提温度40℃,料液比为1:20,pH值为8.5条件下分别振荡提取0.5、1、1.5、2、2.5h,离心后测稀释10倍的上清液的吸光度,并计算蛋白质含量。

#### 1.3.2.4 浸提温度对栀子渣蛋白质提取率的影响

选取料液比为1:20,pH值为8.5,分别在20、30、40、50、60℃下振荡提取1h,离心后测稀释10倍的上清液的吸光度,并计算蛋白质含量。

### 1.3.3 正交试验

根据单因素试验的结果,做 $L_9(3^4)$ 正交试验。

## 2 结果与分析

### 2.1 栀子渣植物蛋白浸提单因素试验

#### 2.1.1 料液比对栀子渣植物蛋白浸提率的影响

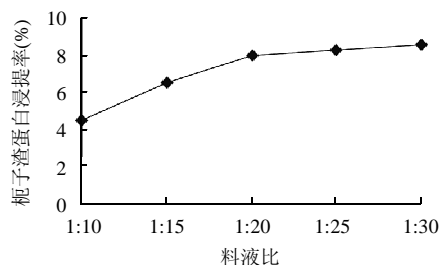


图1 料液比对栀子渣蛋白浸提率的影响

Fig.1 Effects of solid to liquid ratio on extraction rate of plant protein

由图1可知,随着料液比升高,栀子渣中蛋白的

提取量不断增大,当料液比升至1:20时,提取量达到最高,料液比继续升高,提取量趋于稳定,没有出现大幅度增大的现象,故选择1:20的比例较为合适。因此,选取1:15、1:20、1:25做正交试验。

#### 2.1.2 pH值对栀子渣植物蛋白浸提率的影响

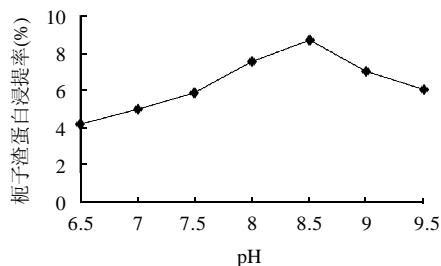


图2 pH值对栀子渣蛋白浸提率的影响

Fig.2 Effects of pH value on extraction rate of plant protein

由图2可知,在pH值较低时栀子渣中蛋白的浸提率较低,随着pH值升高浸提率也随之增大,当pH高于8.5时,蛋白的浸提率呈现下降的趋势,可能是随着pH的继续升高蛋白质类物质会发生降解反应,降低了浸提效果。因此,选取8.0、8.5、9.0做正交试验。

#### 2.1.3 浸提时间对栀子渣植物蛋白浸提率的影响

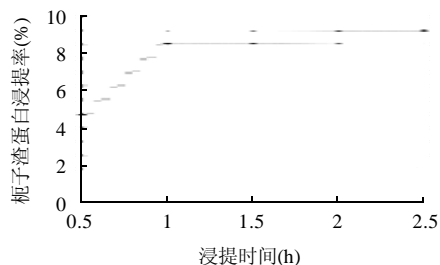


图3 浸提时间对栀子渣蛋白浸提率的影响

Fig.3 Effects of extraction time on extraction rate of plant protein

由图3可知,栀子渣蛋白的提取率随着浸提时间的延长逐渐增加,当时间达到1h时,提取效果最高,随后浸提率虽然呈现上升,没有明显的提高趋势,综合考虑,选取1.5、2、2.5h进行正交试验。

#### 2.1.4 浸提温度对栀子渣植物蛋白浸提率的影响

由图4可知,在温度较低时栀子渣中蛋白的浸提率较低,随着温度升高提取量也随之增大,当温度高于40℃时,蛋白的浸提率呈现下降的趋势,可能是随着温度的继续升高蛋白质类物质会发生变性、降解反应,降低了浸提效果。因此,选取30、40、50℃做正交试验。

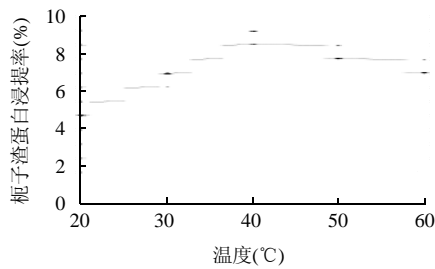


图4 浸提温度对栀子渣蛋白浸提率的影响

Fig.4 Effects of extraction temperature on extraction rate of plant protein

2.2 栀子渣植物蛋白提取率的正交试验

在上述单因素试验的基础上，选定四因素三水平作正交试验，因素水平见表1，试验结果见表2，方差分析见表3。

表1 正交试验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test on extraction of plant protein from gardenia fruit pomace

水平	因素			
	A 浸提时间(h)	B 浸提液 pH	C 料液比(g/ml)	D 浸提温度(°C)
1	0.5	8.0	1:15	30
2	1.0	8.5	1:20	40
3	1.5	9.0	1:25	50

表2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)试验方案及试验结果

Table 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test design and results

试验号	因素				蛋白得率(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	4.62
2	1	2	2	2	5.34
3	1	3	3	3	5.61
4	2	1	2	3	6.79
5	2	2	3	1	5.86
6	2	3	1	2	8.31
7	3	1	3	2	8.62
8	3	2	1	3	7.12
9	3	3	2	1	8.54
K <sub>1</sub>	6.620	7.360	7.593	7.007	
K <sub>2</sub>	6.253	8.047	8.360	8.507	
K <sub>3</sub>	6.730	8.197	7.647	7.090	
R	0.477	1.837	1.763	1.500	

表3 方差分析表

Table 3 Variance analysis of orthogonal test

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	F <sub>0.05</sub>	F <sub>0.01</sub>
A	2	0.374	0.432	0.096	4.460	8.650
B	2	6.241	1.767	1.600	4.460	8.650
C	2	4.721	1.536	1.211	4.460	8.650
D	2	4.264	1.460	1.093	4.460	8.650
误差	8	15.60	1.400			

通过正交试验和数据处理(表2、3)可以看出，影响栀子渣中蛋白浸提率的因素主次顺序为 B > C > D > A，即 B 因素(浸提液的 pH 值)影响最大，其次为 C 因素(料液比)、D 因素(浸提温度)，A 因素(浸提时间)影响最小。从表2可以直观地辨别影响栀子渣中蛋白浸提率各因素的最佳组合为 B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>A<sub>3</sub>，即浸提液的 pH 值为 9.0，料液比 1:20，浸提时间 1.5h，浸提温度 40℃。

采用最佳提取工艺 B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>A<sub>3</sub> 进行重复实验，获得栀子渣蛋白的浸提率为 9.03%，较正交试验中最高浸提得率 8.62% 有所提高，即达到较好的优化效果。

3 结 论

本研究以栀子渣为原料，通过“碱溶酸沉”法制各栀子渣植物蛋白，并确定其最佳浸提条件为：提取液 pH 值为 9.0，温度 40℃，料液比 1:20，时间 1.5h。栀子渣中植物蛋白的浸提得率为 9.03%。为提高栀子渣中植物蛋白的提取率提供了一种新方法。

参考文献：

[1] 那莎, 郭国田, 王宗殿, 等. 栀子及其有效成分药理研究进展 [J], 中国中医药信息杂志, 2005, 12(1): 90-92.

[2] ZHANG L Y, JI H F, CAO Y P, et al. Effect of crocins extracted from *Gardenia jasminoides* Ellis on nervous, cardiovascular and respiratory systems[J]. J China Pharm Univ, 2000, 31: 455-457.

[3] 李炜. 栀子果化学成分的综合应用研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2006: 1.

[4] 郝博, 杜守颖, 洪燕龙, 等. 中药栀子提取工艺的实验研究[J]. 中国新药杂志, 2004(8): 715-717.

[5] 刘菊芳, 吴庆芳, 赵燕芬. 栀子苷乙醇提取的方法优化[J]. 山东中药杂志, 2004(11): 687-688.

[6] 韩扬, 王昌涛, 董银卯, 等. 碱提法提取燕麦麸皮蛋白工艺条件的优化[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2008(7): 9-12.

[7] 王利军, 吕杰. 南瓜中糖蛋白提取工艺的研究[J]. 2006(1): 46-47.