

微波辅助提取红橘种子蛋白质的研究

李远虎^{1,2}, 王 华^{2*}, 任廷远^{1,2}, 谢 姣^{1,2}

(1.西南大学食品学院,重庆 400715;2.中国农业科学院柑橘研究所,重庆 400712)

摘 要: 微波辅助萃取是近年来发展起来的一种新型提取技术,具有选择性高、萃取效率高、节约能源等优点。本实验的目的是确定微波辅助萃取法提取红橘种子蛋白质的工艺条件,通过考察单因素(提取时间、微波功率、提取溶剂 pH 值、液料比)对提取率的影响,从而设计 $L_9(3^4)$ 正交实验,优化了微波提取工艺的实验方案。结果表明,较优的提取条件为: 提取时间 50s、微波功率 500W、提取溶剂 pH 值为 12、液料比 1:20。以最佳条件提取,提取量为 85.72%。

关键词: 微波萃取;红橘种子;蛋白质

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-506X(2010)01-0082-0003

Study of Microwave-assisted Protein Extraction from Tangerine Seed

LI Yuan-hu^{1,2}, WANG Hua^{2*}, REN Ting-yuan^{1,2}, XIE Jiao^{1,2}

(1.Food College, Southwest University, Chongqing 400716;2. Citrus Research Institute, CAAS, Chongqing 400712)

Abstract: Microwave-assisted extraction was a new technology of extraction, which had high selectivity, high extraction efficiency, saving resources and easy manipulation advantages. The purpose of this experiment is to determine the microwave-assisted extraction Tangerine seed protein of process conditions, single-factor by investigation (extracting time, microwave power, extraction solvent pH value, liquid material than) on extracting, to design $L_9(3^4)$ orthogonal, optimized for extraction of the microwave experimental scheme. As it turns out, stronger conditions as: extracting time 50s, microwave power 500W, extraction solvent pH value is 12, liquid material than 1: 20. In this condition the extraction of seed Tangerine protein was 85.72%.

Keywords: microwave - assisted extraction; tangerine seed; protein

doi: 10.3969/j.issn.1674-506X.2010.01-021

柑橘为芸香科柑橘属植物,是世界第一大水果,在世界 140 多个国家和地区都有栽培,但主要集中在巴西、中国、美国以及地中海沿岸的国家^[1]。柑橘种子表面淡黄白色或淡灰白色,不同柑橘种的种子形状、大小和多少不尽相同,一般而言,柑橘种子的质量为单果的 0.1%~4.0%。2006 年中国柑橘产量已接近 1.8×10^{13} kg,居世界第二位,种植面积已达到 181 万 km^2 ,居世界第 1 位。中国已成为世界上最大的橘瓣罐头加工基地和出口大国,年出口量已达 3.0×10^8 kg 左右,同时橘汁的产量也达到 1.0×10^8 kg 左右,每年加工柑橘都会排出大约 3.0×10^7 kg 的柑橘种

子,据报道,年加工 1.0×10^9 kg 的加工厂,副产品的收入可达 2500 万美元。又有研究表明,柑橘种子的粗脂肪含量为 37.53%~44.94%,蛋白质的含量 23.40%~32.89%,总糖含量为 11.22%~12.86%,Ca、Zn、Cu、Fe 的含量都比较高,符合人类的膳食需要^[2]。柑橘种子中富含多种功能成分,吸引了不少国内外研究者的关注。微波辅助萃取(microwave-assisted extraction, MAE)是近年来发展起来的一种新型提取技术,与传统提取方法相比具有选择性高、萃取效率高、节约能源等优点^[3]。本实验采用微波萃取法,通过研究微波时间、微波功率、萃取液 pH 值、液料比等对红橘种

收稿日期: 2010-01-10

作者简介: 李远虎(1983-),男,硕士研究生,主要从事农产品加工与贮藏工程研究。

*通讯作者: 王华(1963-),男,中国农科院柑桔研究所副研究员,从事柑橘深加工及贮藏研究工作, wanghua40@126.com。

子蛋白质提取率的影响,优化了红橘种子蛋白质微波提取法的提取工艺。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 试验材料

红橘种子:重庆山峡果业有限公司;NaOH,重庆川东化工有限公司提供;硼酸,重庆川东化工有限公司提供;盐酸,广东汕头西陇化工厂提供;硫酸钾,重庆川东化工有限公司提供;硫酸铜,广东汕头西陇化工厂提供,试验所用试剂均为分析纯。

1.1.2 试验设备

电热恒温鼓风干燥箱(CS1012),重庆市实验设备厂;电子天平(FA2004B),海奥豪公司;UDK-132 型自动定氮仪,意大利 VELP 公司;多功能粉碎机(6202),欣镇企业有限公司;WD900 型微波炉,顺德市格兰仕电器实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程

加浸提溶剂



红橘种子→除杂→干燥→磨粉→微波萃取→真空抽滤→提取液→浓缩→含量测定

1.2.2 检测方法

用微量凯式定氮法 GB5511-85 测定其蛋白质的含量。

$$\text{蛋白质}(\%) = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times MN \times F \times 100\%}{m \times p \times 1000}$$

式中:

V_1 ——样品中消化盐酸标准液的体积, mL;

V_2 ——试剂空白消化盐酸标准液的体积, mL;

C ——盐酸标准溶液浓度, mol/L;

MN ——为氮的摩尔质量, 14.01 g/mol;

m ——样品的质量或体积, g 或 mL;

F ——蛋白质换算系数;

P ——样品总氮率。

1.2.3 单因素试验

微波辅助萃取法中影响红橘种子蛋白质提取效果的主要因素有:微波处理时间、微波功率、溶剂 pH 值、料液比等因素对浸提效果的影响,确定各因素的适宜范围。分别考察了选择微波功率 500w、浸提溶剂的 pH 值为 10、料液比为 1:20、不同微波时间(10s、30s、50s、70s、90s),微波时间 50s、浸提溶剂的 pH 值为 10、料液比为 1:20、微波功率(200w、300w、400w、

500w、600w),微波时间 50s、微波功率 500w、料液比为 1:20、不同溶剂 pH (6、8、10、12、14) 及微波时间 50s、微波功率 500w、浸提溶剂的 pH 值为 10、不同料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)对红橘种子蛋白质提取率的影响,从而确定各因素的较优水平。

1.2.4 正交试验

在上述单因素实验结果的基础上,选取以上 4 个因素及其对应的 3 个较优水平进行了 $L_9(3^4)$ 正交实验,因素水平见表 1。精密称量约 0.5g 红橘种子粉,按 1.2.1 工艺流程提取。用微量凯式定氮法测定其蛋白质含量,并计算提取量^[4]。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 微波处理时间对红橘种子蛋白质提取率的影响

实验结果如图 1 所示:红橘种子提取率随时间的增长而增大,50s 达最大,50s 后有所下降,85s 基本不再变化。随着微波时间的延长,蛋白质提取率显著增大,这是由于微波辐射可能使其变性,蛋白质在变性之前,埋藏在蛋白质分子内部的某些基团,不能与酶活性部位接触,难以反应。但变性之后,由于其暴露到蛋白质分子的表面上,从而变得可以反应了。因此,微波处理之后蛋白质的水解率可以得到提高。但当微波处理时间过长或功率过大时,蛋白质中与酶作用的活性团也被破坏了,因而使水解率下降。可能由于焦化使蛋白变性严重,从而蛋白质变化显著,故较优水平选 30s、50s、70s。

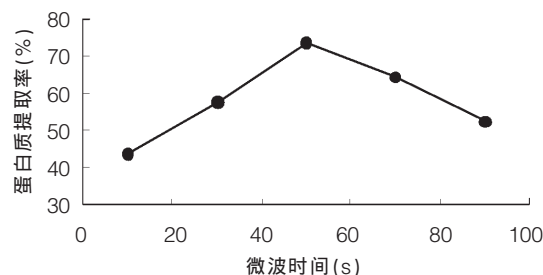


图 1 微波处理时间对提取率的影响

Fig.1 The influence of microwave treating time on extraction rate

2.1.2 微波功率对红橘种子蛋白质提取率的影响

试验结果如图 2 所示:蛋白质的提取量随微波功率的增强而增大,500W 时达最大,之后开始下降。可能是由于微波功率的增大,导致分子运动加剧,加速了有效成分的溶解和释放,故提取量增大;但是当微波的功率达到一定程度时,溶解的杂质含量也相应增加,从而使有效成分的溶解量减少,且蛋白质中

与酶作用的活性基团也被破坏,提取量下降。故采用300、400、500,这3个水平进行正交实验。

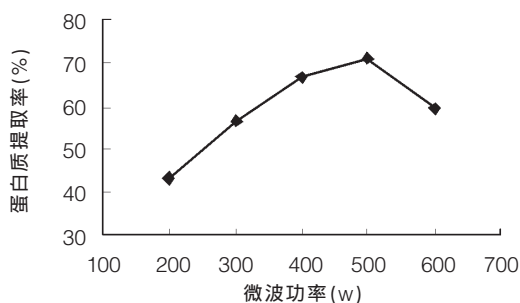


图2 微波功率对提取率的影响

Fig.2 The influence of microwave power on extraction rate

2.1.3 溶剂 pH 值对红橘种子蛋白质提取率的影响

由图3可以看出,浸提溶剂的pH值对蛋白质的提取影响较大,随着pH值升高,蛋白质提取率提高,当pH值增至10后再继续增加提取率则下降。所以采用浸提溶剂的pH值8、10、12进行正交试验。

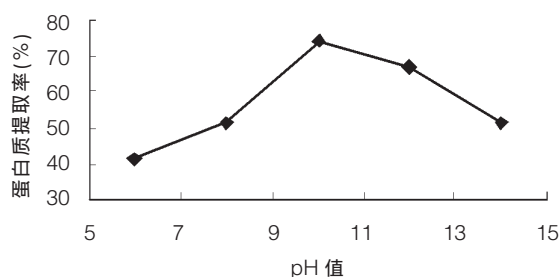


图3 溶剂 pH 值对提取率的影响

Fig.3 The influence of solvent pH on extraction rate

2.1.4 料液比对红橘种子蛋白质提取率的影响

由图4可知,随着料液比的增加,蛋白质的提取率增加,当料液比大于1:20后蛋白质的提取率开始下降。蛋白质的提取率增加可能是由于溶剂用量过少时溶解率低,随着溶剂的增加溶解量增加,但溶剂过多会影响蛋白质分子表面的基团与酶作用几率,从而影响提取率。

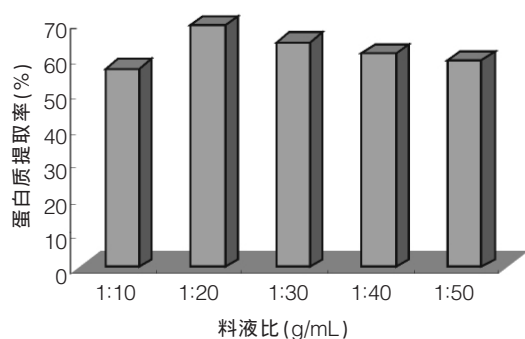


图4 料液比对提取率的影响

Fig.4 The influence of solid-liquid ratio on extraction rate

2.2 最佳工艺参数的确定

在以上单因素实验基础上,采用正交试验设计优化提取工艺,提取时间30s、50s、70s,微波功率300w、400w、500w,浸提溶剂的pH值8、10、12,料液比1:20、1:30、1:40,结果见表1。

表1 正交试验因素水平表

Tab.1 Factors and levels table of orthogonal test

水平	因素			
	提取时间 A/s	微波功率 B/W	料液 pH 值 C	料液比 D/g/mL
1	30	300	8	1:20
2	50	400	10	1:30
3	70	500	12	1:40

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果

Tab.2 The design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	提取时间 A(s)	微波功率 B(W)	料液 pH 值 C	料液比 D(g/mL)	提取率 /%
1	1	1	1	1	50.44
2	1	2	2	2	56.60
3	1	3	3	3	57.16
4	2	1	2	3	59.44
5	2	2	3	1	79.04
6	2	3	1	2	47.76
7	3	1	3	1	64.65
8	3	2	1	2	51.95
9	3	3	2	3	61.37
K_1	164.20	174.53	150.15	194.13	
K_2	186.24	187.95	177.41	156.31	
K_3	177.88	166.29	200.85	177.97	
k_1	54.73	58.18	50.05	64.71	
k_2	62.08	62.65	59.14	52.10	
k_3	59.29	55.43	66.95	59.32	
R	7.35	7.13	16.9	12.61	

由表2中的试验结果和极差分析,可得出影响微波辅助提取红橘种子效果的主要因素的主次顺序是pH值>料液比>提取时间>微波功率,最佳组合为 $A_2B_2C_3D_1$,即提取时间为50s、微波功率为400w、pH值为12、料液比为1:20。以该最优组合为工艺参数进行验证试验,得到蛋白质的水解率为79.04%。以该最优组合为工艺参数进行验证试验。取样品10.00g在提取时间为50s,微波功率为400w,pH值为12,料液比为1:20的条件下进行提取,得到蛋白质的提取率为85.72%,与朱峰^[5]等人未经微波处理的红橘种子蛋白质提取相比,蛋白质提取率提高了7.37%。

3 结论

(下转第99页)

饮业主和从业人员《食品卫生法》、《餐饮业和集体用餐配送单位卫生规范》等卫生法律法规培训,树立依法从业的观念,增强卫生安全意识;深化食品卫生量化分级管理制度,改善经营环境,重点改造好食品加工场所的面积、布局、消毒保洁设施等;设置规模与接待能力应相匹配,禁止超负荷接待,以确保就餐群众的饮食卫生。

参考文献:

- [1] GB14938. 食物中毒诊断标准及技术处理总则:2-3
- [2] 王理兴等. 连云港市场预测 28 起食物中毒的病因分析. 中国食品卫生杂志,2005 13(6):40-43
- [3] 谷政,巴川江,主编.食物中毒预防诊断及处置.四川科学技术出版社,2002,358.
- [4] 吴俊,等.重庆市 1998-2002 年食物中毒情况分析.现代预防医学,2004,31(1),114.
- [5] 吴俊,等.2000 年重庆市食品污染状况调查.现代预防医学,2003,30(6),854.

(上接第 81 页)值时,总黄酮得率随着乙醇浓度的增加先增加后减小。随着微波功率的增加先增加减小。由图 6 可确定最佳的乙醇浓度 67.5%~72.5%,微波功率 450w~550w。

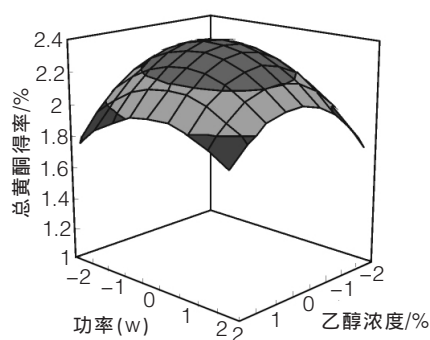


图 6 乙醇浓度和微波功率对总黄酮得率的响应面图
Fig.6 Response surface of alcohol density,microwave power on the yield of total flavone

3 结论

本试验利用试验设计软件 DPS (Digital Signal Processing),通过通用旋转试验建立了微波提取柑橘皮渣发酵液总黄酮的二次多项式数学模型,通过对该模型的方差分析,得到本试验所选用的二次多项式模型极显著性,通过对该方程中回归系数显著性

检验表明:一次项中乙醇浓度极显著,提取时间、微波功率显著,料液比不显著;料液比、提取时间、乙醇浓度、微波功率的二次项对总黄酮相对提取率影响线性效应极显著;交互项中,料液比和提取时间、提取时间和微波功率对总黄酮得率影响极显著,提取时间和微波功率、微波功率和乙醇浓度对总黄酮得率影响显著,其它不显著。通过响应面分析,得到了各因素的最佳范围。由方程求解可得最佳的提取工艺参数为:提取时间 50s,料液比 1:40,乙醇浓度 70%,微波功率 500w,可获得最大的总黄酮得率2.3700%。

参考文献:

- [1] 叶兴乾.柑橘加工与综合利用[M].北京:中国轻工业出版社.2005,1-50.
- [2] 王健、黄国林,柑橘皮中果胶的萃取方法研究进展[J].四川食品与发酵. 2007(4):12-15
- [3] 张代佳,刘传斌,修志龙,等.微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[J].中草药,2000,31(9):86-87.
- [4] 段胜林.微波辐射技术在食品萃取工业和化学工业上的应用[J].食品工业科技,1999,20(2):70-71
- [5] 王钦德,杨坚主编,食品试验设计与统计分析[M].中国农业大学出版社 2007.1.北京.330~416.

(上接第 84 页)

通过本试验利用微波辅助提取红橘种子中蛋白质,可得出微波处理能提高红橘种子蛋白质提取率,并通过正交试验得出影响红橘种子提取率的顺序为:pH 值>料液比>提取时间>微波功率,由单因素及正交试验,确定了微波辅助提取红橘种子最佳提取工艺条件:即提取时间为 50s、微波功率为 400w、pH 值为 12、料液比为 1:20。

参考文献:

- [1] 单杨主编.柑橘加工概论 [M]. 北京:中国农业出版社,

2004.

- [2] T.A.El-Adawy,A.A.El-BI-Bedawy,E.H.Raham,etc.Properties of Some Citrus Seed. Part 3.Evaluation as a New Source of Protein and Oil[J].Nahrung.1999,43(6): 385-391.
- [3] 王志祥,李红娟,万水昌,等.微波萃取技术及其在中药有效成分提取中的应用[J].时珍国医国药,2007,18(5):1245-1247.
- [4] 无锡轻工业学院,天津轻工业学院.食品分析.北京:中国轻工业出版社,1998:216-219.
- [5] 朱峰.红橘种子资源化利用的研究 [J]. 西南大学硕士论文,2009:37-40.