

响应面优化盐析法提取构树叶蛋白提取工艺

陈皓钢¹ 王泽¹ 杨章旗² 秦理哲^{1*}

(1. 广西民族大学化学化工学院, 林产化学与工程国家民委重点实验室, 广西林产化学与工程重点实验室/协同创新中心, 广西南宁 530006; 2. 广西壮族自治区林业科学研究院, 广西南宁 530009)

摘要:【目的】为提高构树叶蛋白的提取率与蛋白含量, 采用盐析法探索构树叶蛋白的提取工艺条件, 为后续制备构树叶蛋白胶黏剂提供数据支撑。【方法】以野生构树叶为原料, 采用盐析法提取叶蛋白, 首先设计单因素实验研究料液比、pH 值、反应时间及氯化钠浓度对蛋白提取率以及蛋白含量的影响, 根据其结果采用 Box-Behnken 试验设计进行三因素三水平响应面分析实验, 优化并得到盐析法提取构树叶蛋白的最佳提取工艺。【结果】在单因素实验中, 随着料液比由 1: 2 降低至 1: 4, 叶蛋白提取率呈下降趋势, 由于叶片含水率较低 (31%~35%), 当液料比高于 1: 2 时无法完成打浆, 因此选择 1: 2 为后续优化反应料液比。随着 pH 值由 3 升高至 11, 反应时间由 14 升高至 34, 氯化钠浓度由 0% 升高至 1%, 叶蛋白提取率均呈现先升高后下降的趋势, 三个因子对应的峰值分别为 pH 值 7, 反应时间 24min, 氯化钠浓度 0.2%。这是因为 pH 值会改变溶液的离子强度和电荷状态, 从而影响蛋白质的结构和溶解性,; 反应时间过短无法使得叶蛋白析出, 反应时间过长则絮状蛋白质会再次分解; 氯化钠的加入使得蛋白质表面电荷增加, 从而使得蛋白质溶解度上升, 随着电荷数量达到饱和状态, 更高浓度的氯化钠则会打破蛋白分子和水分子之间的作用, 使得蛋白溶解性下降。以 pH 值 (A)、反应时间 (B) 及氯化钠浓度 (C) 为自变量, 叶蛋白提取率 (Y_1) 和蛋白含量 (Y_2) 为响应值进行响应面分析实验, 对响应面模型进行多元回归拟合分析。以叶蛋白提取率为响应值的回归方程 $Y_1=14.627-0.932A+0.049B+0.078C-0.557AB+0.341AC-0.803BC-1.090A^2-1.391B^2-0.501C^2$, 影响极显著性的因素有 A、 A^2 、 B^2 , 其中 B 与 C 的交互作用显著; 以蛋白含量为响应值的回归方程 $Y_2=43.421-2.503A+0.758B-0.271C-0.909AB+0.276AC+1.248BC-1.352A^2-1.119B^2-1.887C^2$, 影响极显著性的因素有 A、 A^2 、 C^2 , 影响显著的因素为 B, 其中 B 与 C 的交互作用极显著, A 与 B 的交互作用显著。两组模型的决定系数 R^2 分别为 0.9197 与 0.9683, 调整系数 R^2 (adj) 为 0.8166 与 0.9274, 拟合度和可信度较好。变量因子对实验结果的影响顺序依次为 pH 值>反应时间>氯化钠浓度。综合考虑叶蛋白提取率和蛋白含量, 响应面优化的最佳提取工艺为 pH 值 6.2, 提取时间 25min, 氯化钠浓度 0.168%。经验证, 在该条件下, 使用叶蛋白含量为 20.9% 的构树叶进行实验, 构树叶蛋白提取率和蛋白含量分别为 14.092% 和 41.78%, 略低于模拟的理论值 14.787% 和 44.83%。【结论】构树叶片中富含蛋白质, 是一种具有开发潜力的原料。本实验使用盐析法在适当条件下可以使其蛋白质变为絮状物沉淀, 经过离心烘干后检测其粗蛋白含量为 44.83%, 可满足作为蛋白胶黏剂原料的使用条件, 未来可用于开发绿色环保胶黏剂。

关键词: 构树叶蛋白; 提取工艺; 盐析法; 响应面法