

# 植物蛋白质提取方法的研究进展

王 敏, 徐丽萍\*

伊犁师范大学生物与地理科学学院, 新疆 伊宁  
Email: 295207547@qq.com, \*xuliping70@126.com

收稿日期: 2021年4月8日; 录用日期: 2021年5月12日; 发布日期: 2021年5月21日

## 摘 要

植物蛋白营养丰富, 易被人体消化吸收, 具有生理保健功能, 且应用广泛。本文主要从原理、特点、应用等方面, 详细介绍了碱提酸沉法、浸提法、酶法、盐法、反胶束法等植物蛋白的提取方法, 以及分析了在提取中影响蛋白提取率的因素, 优化提取条件, 提高蛋白提取率, 以期对植物蛋白提取提供参考。

## 关键词

植物蛋白, 提取方法, 展望

# Research Progress on Extraction Method of Plant Protein

Min Wang, Liping Xu\*

University of Biological and Geographical Sciences, Yili Normal University, Yining Xinjiang  
Email: 295207547@qq.com, \*xuliping70@126.com

Received: Apr. 8<sup>th</sup>, 2021; accepted: May 12<sup>th</sup>, 2021; published: May 21<sup>st</sup>, 2021

## Abstract

Plant protein is rich in nutrition, easy to be digested and absorbed by human body, which has physiological health function, and is widely used. In this paper, the extraction methods of plant protein, such as alkali extraction, acid precipitation, extraction, enzyme, salt and reverse micelle, were introduced in detail, mainly from the aspects of the principle, characteristics, applications and so on. Then, the factors affecting the protein extraction rate in the extraction process were analyzed, and the extraction conditions were optimized to improve the protein extraction rate, in order to provide reference for the extraction of plant protein.

\*通讯作者。

## Keywords

Plant Protein, Extraction Method, Expectation

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

蛋白质是生命活动的功能执行者,也是主要载体,其种类和功能繁多。蛋白质元素组成主要有碳、氮、氧、氢和硫。在生物体内,蛋白质是最重要的生物大分子之一[1]。蛋白质可分为动物性和植物性蛋白,动物性蛋白来源于蛋类、肉类及牛奶等,营养价值较高,但人体摄入过多会引起一系列健康问题,如肥胖、高血压等。植物性蛋白来源广泛,与动物蛋白相比,更易被人体消化吸收,且具有生理保健功能[2],例如降胆固醇、高血压、降低慢性疾病发病率的功效[3][4]。植物蛋白还可以用来制备可食用膜、生物活性肽,充当营养补充剂、食品添加剂等,应用广泛[5][6]。这也促使人们对植物蛋白的需求增加,对植物蛋白提取方法的研究也就尤为重要。本文拟对植物蛋白提取方法进行归纳总结,希望可以为植物蛋白的提取提供一定的技术参考。

## 2. 植物蛋白质的提取方法

### 2.1. 碱提酸沉法

碱提酸沉法简称为碱法,是蛋白质提取常用、较为传统的方法。它的原理是,在碱性条件下,蛋白质结构发生变化,蛋白质分子次级键(氢键)发生破坏,某些极性基团发生解离,促进结合物与蛋白质分离,调整离心后的上清液的pH值,使pH达到蛋白质的等电点,增加了蛋白质的溶解性,从而让蛋白质析出[7]。该方法提取蛋白操作简单,不会产生有害物质,对环境的污染较小、成本低,适合工业化生产[8]。但高浓度碱会让蛋白质营养学特性发生变化,高浓度碱还会促进糖类和蛋白质发生美拉德反应[9]。李加兴等[10]以黄秋葵籽为实验材料,用碱提酸沉法提取黄秋葵籽的蛋白质,通过单因素实验和正交实验优化提取条件,得出黄秋葵籽蛋白质的最佳提取条件是提取时间60 min、料液比1:30(g/mL)、pH值9.0、提取温度50℃,最佳提取率为72.3%。陈雪洋等[11]以杏鲍菇副产物为实验材料,运用碱提酸沉法提取其中的蛋白质,通过单因素实验和正交实验优化杏鲍菇蛋白质提取工艺条件,得出最佳提取条件为提取时间40 min、料液比1:40(g/mL)、pH值11.0,温度对蛋白质提取影响不显著,该条件下蛋白质提取率为(42.37±1.63)%。

### 2.2. 浸提法

浸提法也称液固萃取法,用挥发性有机溶剂将原料中的某些成分转移到溶剂中,然后通过蒸发、蒸馏等方式回收有机溶剂,而得到所需的较为纯净的萃取组分。根据所提取的组分的不同,可分为固-液萃取法和液-液萃取法。金周雨等[12]以海鲜菇为实验材料,用热水浸提法提取其蛋白质,在单因素实验的基础上,设计正交实验进一步优化海鲜菇蛋白质提取的条件,得出最佳提取条件为加热时间为1 h、料液比为1:60、提取温度为80℃,在此条件下海鲜菇蛋白质的提取率为4.670%。姜绍通等[13]采用乙醇浸提法制备菜籽浓缩蛋白,在单因素实验基础上,进行正交优化实验,得出浸提最佳条件为乙醇浓度70%、

料液比 1:6、浸提温度 55℃、浸提次数 5 次, 在该条件下制备的浓缩蛋白产品蛋白含量为 60.5%, 浓缩蛋白得率为 75.7%。

### 2.3. 酶法

酶法提取是在较温和的条件下, 利用酶的专一性, 对底物进行水解。根据作用的对象, 可分为蛋白酶水解和非蛋白酶水解[14]。酶法应用在食品加工中, 不会产生有害物质, 提取时间短, 效率高[15]。

#### 2.3.1. 蛋白酶提取

谭萍等[15]以苦荞麦种子为实验材料, 采用酶法提取其蛋白质。该实验用酸性、中性、碱性蛋白酶分别进行蛋白质提取, 根据蛋白质提取率作出筛选。在这三种酶最适反应条件下, 碱性蛋白酶的提取效果最好, 提取率为 74.40%。在单因素实验的基础上, 采用正交实验对提取条件进行优化, 确定了用碱性蛋白酶提取苦荞麦蛋白质的最优条件是酶量 0.3%、料液比 1:11 (g/mL)、温度 55℃、pH 值 10、提取时间 4 h, 在此条件下提取率为 82.57%。陈丽安[16]以玉米胚芽为实验材料, 采用碱性蛋白酶对其进行蛋白质提取, 根据单因素实验结果设计正交实验, 由结果得出碱性蛋白酶最佳提取蛋白的条件是酶量 4%、pH 值 9.0、提取时间 3 h, 在该条件下玉米胚芽蛋白的提取率可以达到(83.7 ± 1.2)%。

#### 2.3.2. 非蛋白酶提取

非蛋白酶包括纤维素酶、果胶酶、淀粉酶等。李涛[17]以青稞米为实验材料, 采用纤维素酶对青稞蛋白质进行提取, 在单因素试验基础上运用正交分析优化提取条件, 得出蛋白质最佳提取条件是纤维素酶添加 15 EGU/g、料液比为 1:5、温度 45℃、pH 值 6.5、提取时间 4 h, 在该条件下蛋白质提取率可达 69.4%。顾镍[7]以小米糠为实验原料, 采用果胶酶来进行蛋白提取, 在单因素实验的基础上, 采用部分析因实验和响应面法对蛋白质提取率进行优化, 由部分析因实验结果得出料液比和酶解时间具有显著影响效应。再利用最陡爬坡实验逼近最大响应区域, 通过中心组合实验对影响提取率的主要因素进行研究, 建立回归方程, 得到最佳提取条件是酶添加量 1000 U/g、料液比 1:77、温度 20℃、pH 值 4.7、提取时间 3.93 h, 在最适条件下理论蛋白提取率为 32.83%, 实际测定蛋白提取率为 32.14%。

### 2.4. 盐提取法

盐提取蛋白质有两种方法, 分别是盐溶和盐析。蛋白质在低浓度盐溶液中, 其分子表面电荷增加, 促进蛋白质分子与水分子的相互作用, 增加了蛋白质在盐溶液中的溶解度, 称为盐溶。蛋白质在高浓度盐溶液中, 其外周水化膜被破坏, 盐类的离子中和了蛋白质分子的电荷, 结果蛋白质的胶体稳定性遭到破坏而沉淀, 称为盐析。用盐提法提取蛋白, 蛋白质的内部结构没有变, 仍保持其天然蛋白质的特性, 但提取率较低。李超等[18]以花椒籽为原料, 使用 NaCl 溶液盐溶, 在单因素实验基础上, 进行四因素五水平响应面分析得出盐提法最佳工艺条件为 pH 值 11、提取时间 35 min、提取温度 50℃、料液比 1:21、NaCl 浓度 1.2 mol/L, 在该条件下花椒籽蛋白最佳提取率为 88.77%。刘雨薇等[19]利用碱溶酸沉法和盐析法提取蕨麻蛋白, 经实验结果分析可知, 在 pH 8.0 环境中采用盐析提取法得到的蛋白含量比碱溶酸沉法高。

### 2.5. 反胶束法

反胶束法是一种新型生物分子分离技术, 反胶束实质是具有热力学稳定性和光学透明性的纳米尺度的聚集体[2]。在反胶束中, 表面活性剂的非极性基团在外与非极性的有机溶剂接触, 而极性基团则排列在内形成一个极性核。反胶束法可同时从植物组织中提取蛋白质与油脂。利用反胶束法提取蛋白, 可以对所提取蛋白的变性进行有效控制, 也可改进制油得粕再脱溶的复杂过程。当实验材料溶于这样环境时, 蛋白质很容易溶解在反胶束极性水池中, 而油脂则溶解在有机溶剂中[20]。沈扬扬[21]根据油茶籽粕蛋白

的性质选定阳离子型表面活性剂十二烷基三甲基氯化铵(DTAC)构建反胶束萃取体系, 该体系配制迅速、蛋白萃取率高。在此基础上设计正交实验得出 DTAC 体系前萃油茶籽粕蛋白的最佳工艺为样品量为 0.010 g/mL、DTAC 浓度 0.06 g/mL、含水量(W)值 35、萃取时间 30 min、KCl 浓度 0.20 mol/L、增溶水 pH 7.0、温度 35℃, 在该条件下油茶籽粕蛋白的前萃率达 88.28%。在影响后萃单因素实验的基础上, 通过响应面实验设计得到后萃油茶籽粕蛋白的最佳工艺为 KCl 浓度 1.70 mol/L、pH 值 6.62、振荡时间为 98.50 min, 此时油茶籽粕理论蛋白后萃率为 87.64%, 实际提取率为 86.23%。杨颖莹[22]利用超声波辅助丁二酸二异辛酯磺酸钠(AOT)、丁二酸二异辛酯磺酸钠(AOT)-吐温 85 (Tween85)、十二烷基二甲基苄基氯化铵(DMBAC)三种反胶束体系萃取大豆蛋白质, 分别进行了三种体系的前萃和后萃的单因素实验和正交实验研究, 并对萃取的影响因素分析, 实验结果说明, AOT-Tween85 体系萃取率最高。同时对反胶束法萃取的大豆蛋白和碱溶酸沉法制取的大豆蛋白进行了结构和功能特性方面的对比研究发现, 反胶束萃取方法对蛋白质的结构保护作用要优于碱溶酸沉法。

## 2.6. 其他提取方法

以上介绍的是蛋白质提取的基本方法, 除了以上方法, 还有三氯乙酸(TCA)/丙酮沉淀法、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)法、复合提取法、辅助提取法等。

### 2.6.1. TCA/丙酮沉淀法

TCA/丙酮沉淀法也是常用的蛋白提取方法, 操作简单, 还可以很好地去除酚类、色素和脂类, 但无法去除蛋白提取物中的多糖和醌类[23]。杨柳等[24]采用了 4 种不同的蛋白质提取方法提取油菜种子蛋白, 即 TCA/丙酮沉淀法、改良的 Tris-HCl 法、二硫苏糖醇(DTT)丙酮法和酚-甲醇/醋酸铵沉淀法。实验结果表明, TCA/丙酮沉淀法和 DTT/丙酮法提取蛋白效果较好。进一步通过定量分析以及双向电泳图谱的比较分析可以得出, TCA/丙酮沉淀法在双向凝胶电泳(2-DE)图谱上蛋白质点较多, 图像清晰, 分布均匀, 因此确定 TCA/丙酮沉淀法为提取油菜种子蛋白的最佳方法。

### 2.6.2. Tris-HCl 法

Tris 是植物蛋白质提取中常用的试剂。Tris-HCl 法易操作, 步骤简单, 成本适中, 时间较短, 蛋白质损失少, 实验结果重复性好。李莹莹等[25]以白果为实验材料, 采用 Tris-HCl 法、磷酸缓冲液提取法、盐溶法和 TCA/丙酮提取法分别提取经过不同处理的白果蛋白。由结果分析可知, 对于冻干处理的白果, 4 种提取方法得到的白果蛋白质的含量相差较大, 以 Tris-HCl 法得到的蛋白质的含量最高; 对于新鲜白果及烘干处理的白果, Tris-HCl 法得到的蛋白质的含量也略高于其他 3 种提取液, 且差异显著( $P < 0.05$ ), 因此确定采用 Tris-HCl 法提取白果蛋白。通过单因素实验以及正交实验优化提取工艺条件, 得出经过冷冻干燥处理的白果采用 Tris-HCl 提取法获得的白果蛋白含量较高, 最佳提取工艺为 0.15 mol/L Tris-HCl 溶液、料液比 1:20 (g/mL)、提取时间 4 h、pH 值 8.5, 此条件下白果蛋白质的最佳提取率为 75.01%。

### 2.6.3. 复合提取法

单一碱法提取、酶法提取蛋白质具有一定的局限性。为了获得较高的蛋白提取率, 袁建等[26]以高温菜籽为原料, 采用碱法和淀粉酶法结合提取菜籽蛋白, 通过正交试验进一步优化, 确定最佳提取条件为酶解料液比 1:20、加酶量 2.5%、pH 值 7.0、温度 50℃、时间 3 h; 碱提最佳条件: 料液比 1:12、pH 值 10.0、温度 55℃、时间 2 h, 在此条件下菜籽蛋白质提取率为 71.63%, 显著提高了蛋白质的提取率。该方法蛋白提取率比单一碱提法高了 25%, 且降低了碱液的使用量, 避免了浸提时溶液 pH 过高等问题。张爱琴等[27]用复合酶法(木瓜蛋白酶和纤维素酶)对葡萄籽粕中的蛋白质进行提取, 通过单因素实验对葡萄籽粕蛋白质提取条件进行分析, 经响应面实验优化得到的最佳提取条件为料液比 1:20 g/mL、提取温度

50℃、提取时间 50 min、pH 值 7.0, 此时蛋白质最佳提取率为(83.07 ± 1.43)%。

#### 2.6.4. 辅助提取法

辅助法提取蛋白质, 提取效率高, 可以缩短提取时间。唐鑫媛等[28]以辣椒渣为原料, 对单一碱法和超声辅助碱法提取蛋白质进行研究。通过单因素实验表明, 超声辅助碱法的提取效果优于单一碱法, 大幅度提高了提取率。经正交试验得到最佳提取条件是料液比 1:25 (m:V)、碱液浓度 0.3 mol/L、超声温度 60℃, 超声时间 120 min, 并测得辣椒蛋白质的最佳等电点为 pH 3.6, 超声波功率为 250 W, 在该条件下蛋白质的最佳提取率为 86.41%。扶庆权等[29]以红豆为实验材料, 采用微波辅助提取其中的蛋白质。在单因素试验的基础上, 采用正交试验设计得出, 微波辅助提取红豆蛋白的最佳提取条件为固液比为 1:25、pH 值 10.0、微波时间 3 min、微波功率 100 W, 在此条件下红豆蛋白提取率为 93.56%。

综上所述, 不同的提取方法各有优缺点, 像碱提酸沉法、浸提法、酶法、盐提取法、反胶束法等是提取蛋白比较基础、常规的方法; TCA/丙酮沉淀法、Tris-HCl 法也较常用; 复合提取法、辅助提取法是在基于常规的蛋白提取方法的基础上, 为了使提取效果、提取条件更理想等, 将不同的方法进行结合。各个方法对比总结如表 1 所示。

**Table 1.** Summary and comparison of extraction methods

**表 1.** 提取方法对比总结

方法	特点
碱提酸沉法	操作简单、污染小、成本低; 高浓度碱会使蛋白质产生美拉反应
浸提法	所得成分较为纯净
酶法	时间短、效率高、不会产生有害成分
盐提取法	不会改变蛋白质内部结构; 提取效率低
反胶束法	可对蛋白的变性进行有效控制, 可以有效分离蛋白质和油脂
TCA/丙酮沉淀法	操作简单, 有效去除酚类、色素和脂类; 无法去除蛋白提取物中的多糖和醌类
Tris-HCl 法	操作简单, 时间较短, 蛋白质损失少, 实验结果重复性好
复合提取法	可以突破常规蛋白质提取方法的局限性
辅助提取法	提取效率高, 可以缩短提取时间

### 3. 结语

在植物蛋白提取中, 要根据植物材料 and 其所含蛋白类型等的不同, 以及要考虑温度、pH、时间、溶剂等因素的影响, 来选择不同的提取方法。在提取蛋白过程中, 干扰因素也多, 因此并没有提取蛋白的通用方法。植物蛋白提取方法各有其特点, 单一方法提取往往会有一些限制, 选择合理的方法, 结合不同方法的优点, 优化提取条件, 使蛋白提取的效率和纯度更高, 这也是研究探索的热点之一。

如今人们对植物蛋白需求不断增加, 这就促使人们开发更多的蛋白资源。像农作物在生产加工过程中, 会产生一些副产品, 比如油菜籽加工产生的菜籽粕, 红辣椒在提取辣椒红素后产生大量的辣椒渣等, 这些副产品并没有得到很好的利用, 若对这些产品深度开发, 结合成熟的蛋白提取技术, 让这些蛋白质资源得到更高效的利用, 避免资源浪费, 对实现经济可循环发展也具有深远意义。

## 基金项目

伊犁师范大学植物生态学重点学科开放课题: 刺山柑种质资源调查、搜集及良种选育 YLUPE202006。

## 参考文献

- [1] 查锡良, 药立波. 生物化学与分子生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013
- [2] 高蕾蕾, 李迎秋. 植物蛋白的研究进展[J]. 江苏调味副食品, 2018(4): 6-10, 16.
- [3] Young, V.R. and Pellett, P.L. (1994) Plant Proteins in Relation to Human Protein and Amino Acid Nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, **59**, 1203S-1212S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/59.5.1203S>
- [4] Ahnen Rylee, T., Jonnalagadda Satya, S. and Slavin Joanne, L. (2019) Role of Plant Protein in Nutrition, Wellness, and Health. *Nutrition Reviews*, **77**, 735-747. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz028>
- [5] 胡苗苗, 杨海霞, 曹炜, 徐抗震, 邓建军. 植物蛋白质资源的开发利用[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(8): 137-140.
- [6] Swanson, B.G. (1990) Pea and Lentil Protein Extraction and Functionality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **67**, 276-280. <https://doi.org/10.1007/BF02539676>
- [7] 顾镍. 小米糠蛋白的酶法提取及性质研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [8] 李加兴, 房惠芳, 陈选, 吴越, 涂媛, 周炎辉. 牡丹籽粕蛋白提取工艺优化及其等电点分析[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 147-150.
- [9] 罗发美, 谭文翰, 刀仕强, 李绍仙, 张俊雄, 李艳, 等. 茶渣中蛋白质提取方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(13): 4291-4297.
- [10] 李加兴, 向东, 周炎辉, 黄诚. 碱提酸沉法提取黄秋葵籽蛋白的工艺条件优化[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 23-26.
- [11] 陈雪洋, 刘亚琼, 于振林, 刘珊珊. 杏鲍菇蛋白质提取及功能性质测定[J]. 食品科技, 2017, 42(5): 235-240.
- [12] 金周雨, 丁淼, 康骁, 荆波, 高玉涵, 国微, 等. 海鲜菇蛋白质提取条件的优化[J]. 现代食品, 2018(22): 124-128.
- [13] 姜绍通, 潘牧, 潘丽军, 郑志, 罗水忠, 孙汉巨. 乙醇浸提法制备菜籽浓缩蛋白的工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(4): 123-126.
- [14] 熊瑶. 辣木叶蛋白质提取及其饮品研制[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [15] 谭萍, 方玉梅, 王盼, 万俊熙. 苦荞麦蛋白质的酶提工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(21): 79-83, 207.
- [16] 陈丽安. 玉米胚芽蛋白的酶法提取及改性研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [17] 李涛. 青稞蛋白质的提取及其特性研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南工业大学, 2010.
- [18] 李超, 蒲彪, 刘兴艳, 徐丹萍, 罗松明, 王春霞, 等. 响应面法优化花椒籽仁蛋白质盐提工艺条件[J]. 中国油脂, 2017, 42(6): 97-101, 120.
- [19] 刘雨薇, 夏琳婧, 胡锦蓉, 沈群. 蕨麻蛋白的提取与功能特性的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 131-133, 138.
- [20] 马秀婷. 豆渣蛋白提取、结构及性质研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- [21] 沈杨扬. 反胶束萃取法从油茶籽粕提取蛋白与茶油研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 江西农业大学, 2014.
- [22] 杨颖莹. 不同反胶束体系萃取大豆蛋白和油脂的研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南工业大学, 2013.
- [23] 丁金鹏, 张娜, 李群. 独行菜属植物种子总蛋白 4 种提取方法的比较[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(7): 1305-1312.
- [24] 杨柳, 李海林, 张振乾. 油菜种子蛋白质提取方法研究[J]. 作物研究, 2015, 29(1): 11-15.
- [25] 李莹莹, 吴彩娥, 杨剑婷, 贾韶千, 徐文斌, 彭方仁. 白果蛋白质提取及 SDS-PAGE 分析[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 36-40.
- [26] 袁建, 刘胜, 鞠兴荣, 王素雅. 复合法提取高温菜籽粕中蛋白质的研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(1): 19-23.
- [27] 张爱琴, 孙乾, 李芳, 孔令明, 邹积赞. 复合酶法同步提取葡萄籽粕蛋白质和可溶性膳食纤维的响应面优化[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 134-140.
- [28] 唐鑫媛, 夏延斌, 文新昱, 王亮亮. 超声波辅助碱法提取辣椒渣中蛋白质的工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 222-226.
- [29] 扶庆权, 张李阳, 徐鉴. 微波辅助提取红豆蛋白的工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(2): 71-73.