

文章编号: 1000-5471(2008)03-0069-04

可食苜蓿叶蛋白提取工艺研究^①

李明元¹, 文李铃¹, 杜小琴²

1. 西华大学 生物工程学院, 成都 610039; 2. 成都福马食品有限公司, 四川 金堂 610401

摘要: 为了开发新的食品用蛋白资源, 以苜蓿为原料, 采用盐析和热絮凝相结合的方法提取苜蓿叶蛋白. 以单因素试验设计分别考察料液比、加盐量、提取液 pH 值和絮凝温度对可溶性蛋白提取率的影响. 以单因素试验结果为依据, 采用三因素三水平正交试验设计对料液比、加盐量、pH 值进行工艺优化. 试验结果表明: 影响可溶性蛋白提取率的因素从大到小依次为料液比、加盐量、pH. 絮凝温度 70 ℃、时间 10 min 时最佳工艺条件组合为料液比 1:20、加盐量 4%、pH5, 在此条件下可溶性蛋白的提取率达 29.58%, 叶蛋白中可溶性蛋白含量可达 52.71%.

关键词: 苜蓿; 可食叶蛋白; 提取工艺

中图分类号: S551⁺.7

文献标识码: A

随着生活水平的提高和膳食结构的改善, 人们对绿色、有机功能性食品原料的要求日益增高^[1-3]. 苜蓿乃“牧草之王”, 产量大, 价格低廉, 其粗提物——叶蛋白不仅蛋白质含量高, 包含人和动物全部必需氨基酸和一些稀有氨基酸, 而且富含胡萝卜素、多种维生素和微量元素^[3], 营养丰富且有降血压、血脂及胆固醇等多种生理功能, 将其开发为保健品原料前景诱人, 具有潜在的经济效益和社会效益^[4-6]. 但我国对苜蓿叶蛋白的研究起步较晚, 几乎没有对其提取物开发利用. 本试验以苜蓿为原料, 采用盐析和热絮凝相结合的方法对叶蛋白的提取工艺进行研究^[7,8], 以期获得苜蓿叶蛋白提取的工艺参数, 推动其产业化发展^[9,10].

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

1.1.1 实验材料与试剂

苜蓿干草: 市购, 浓硫酸、NaOH、硼酸、盐酸、硫酸铜(CuSO₄·5H₂O)、NaCl 分析纯.

1.1.2 实验仪器

5810R 型低速大容量多管离心机: 上海安亭科学仪器厂, 恒温干燥箱 KXH101-2A: 上海科析试验仪器厂, HH-S 数显恒温水浴锅: 江苏省金坛市医疗仪器厂, SHB-3 循环水多用真空泵: 郑州杜甫仪器厂, FW-80 型微型高速万能试样粉碎机: 天津市泰斯特仪器有限公司.

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计

(1) 单因素实验设计

料液比设计 1:10, 1:20, 1:30, 1:40 分别考察可溶性蛋白提取率.

加盐量设计 1%, 2%, 4%, 6% (占试样重) 分别考察可溶性蛋白提取率.

pH 值设计 3, 4, 5, 6 分别考察可溶性蛋白提取率.

絮凝温度设计 50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃ 分别考察可溶性蛋白提取率.

(2) 正交试验设计

采用三因素三水平正交试验设计对料液比、加盐量、pH 值进行工艺优化.

① 收稿日期: 2007-12-20

作者简介: 李明元(1965-), 男, 四川泸州人, 副教授, 主要从事天然活性物质提取及开发利用研究.

表 1 因素及水平

水 平	因 素		
	A 料液比	B 加盐量/%	C pH 值
1	1 : 10	2	3
2	1 : 20	4	4
3	1 : 30	6	5

1.2.2 叶蛋白的提取方法

工艺流程:



苜蓿干草 → 粉碎 → 浸泡 → 抽滤 → 汁液 → 加热 → 离心过滤 → 烘干 → 叶蛋白成品

操作要点: 称取粒度为 40 目的苜蓿草粉 5.00 g 于锥形瓶中, 加入适量 NaCl, 按设定料液比预浸过夜, 抽滤, 得到绿色汁液, 调节到设定 pH 值, 迅速放入设定温度的恒温水浴中絮凝到设定时间. 冷水快速冷却至室温(23 ℃~25 ℃), 静置 1 h, 抽滤得叶蛋白膏, 60 ℃烘箱中烘干, 得叶蛋白成品. 称质量, 并测定叶蛋白中粗蛋白的含量.

1.2.3 测定方法

蛋白质含量测定采用微量凯氏定氮法^[5].

预备试验测定苜蓿原料中粗蛋白含量为 23.06%.

1.2.4 计算公式

$$\text{可溶性蛋白提取率}(\%) = \frac{\text{叶蛋白中粗蛋白的量}}{\text{试样中粗蛋白的量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对可溶性蛋白提取率的影响

在预浸时间 24 h、加盐量 4%、pH4、65 ℃恒温水浴中絮凝 10 min 的条件下, 不同料液比对可溶性蛋白提取率及其粗品中可溶性蛋白含量的影响, 见图 1.

由图 1 可知, 当料液比为 1 : 20 时, 可溶性蛋白提取率最高, 达 28.75%, 粗品中可溶性蛋白含量也达到最高, 为 55.26%; 料液比为 1 : 10 时, 可溶性蛋白提取率最小且粗品纯度低, 这是因为加水量太小, 蛋白质不能充分溶解, 其它易溶成分溶解量减小不大; 料液比为 1 : 30 时, 可溶性蛋白的提取率开始减小, 这是因为加水量过大, 沉淀效果差, 损失大, 同时, 料液比过大, 体积增大, 使设备容积增大, 能耗加大, 成本增加, 降低生产效率.

2.1.2 加盐量对可溶性蛋白提取率的影响

在预浸时间 24 h、料液比 1 : 20、pH4、65 ℃恒温水浴中絮凝 10 min 的条件下, 不同加盐量对可溶性蛋白提取率及其粗品中可溶性蛋白含量的影响, 见图 2.

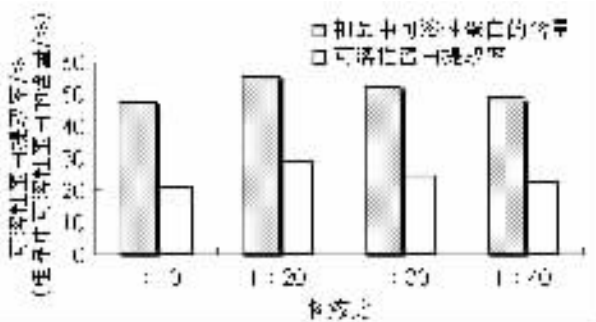


图 1 不同料液比对可溶性蛋白提取率及粗品中可溶性蛋白含量的影响

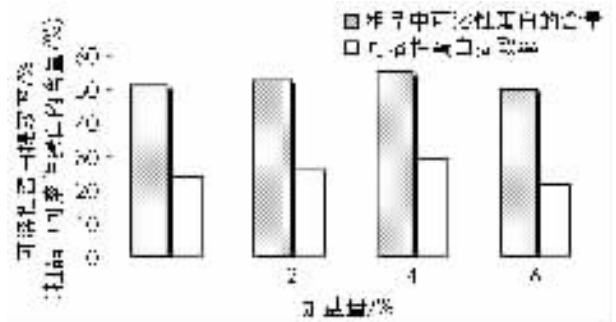


图 2 不同加盐量对可溶性蛋白提取率及粗品中可溶性蛋白含量的影响

由图 2 可知, 加盐量对可溶性蛋白提取率的影响较大. 加盐量为 4% 时, 可溶性蛋白提取率最高, 叶蛋白纯度也最高; 而加盐量小于或大于 4% 时, 可溶性蛋白提取率都呈下降趋势, 但叶蛋白纯度变化不明显. 由于盐溶和盐析的关系, 溶液中的 Cl⁻ 与带电荷的蛋白质基团结合, 增加了蛋白质分子之间的静电排斥力,

从而提高了蛋白质的溶解性. 这种溶解性在低浓度盐中, 随盐浓度的增加而升高, 细胞内蛋白质进入溶液中, 当盐浓度达到一定程度后, 蛋白质的溶解度开始下降, 溶出细胞壁的蛋白质含量减少.

2.1.3 pH 值对可溶性蛋白提取率的影响

在预浸时间 24 h、料液比 1:20、加盐量 4%、65 °C 恒温水浴中絮凝 10 min 的条件下, 不同 pH 值对可溶性蛋白提取率及其粗品中可溶性蛋白含量的影响, 见图 3.

由图 3 可知, 当 pH 值为 4 时, 可溶性蛋白提取率最高, 为 28.75%, 但纯度较低; 当 pH 值为 3 时, 提取率为 25.32%; 当 pH 值分别等于 5, 6 时, 提取率很接近, 粗品中叶蛋白的纯度最高. 溶液酸碱环境对可溶性蛋白提取率及粗品纯度都有影响, 且有相反的影响, 在 pH 值为 4 时, 可溶性蛋白的溶解度最大, 但其它大分子杂质溶解度可能更大, 引起粗品纯度较低.

2.1.4 絮凝温度对可溶性蛋白提取率的影响

在预浸时间 24 h、料液比为 1:20、加盐量 4%、pH4、恒温水浴中絮凝 10 min 的条件下, 不同絮凝温度对可溶性蛋白提取率及其粗品中可溶性蛋白含量的影响, 见图 4.

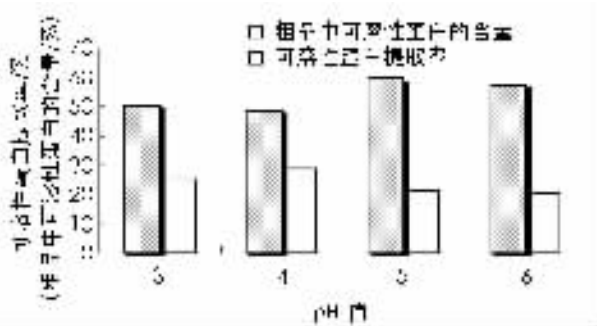


图 3 不同 pH 值对可溶性蛋白提取率及粗品中可溶性蛋白含量的影响

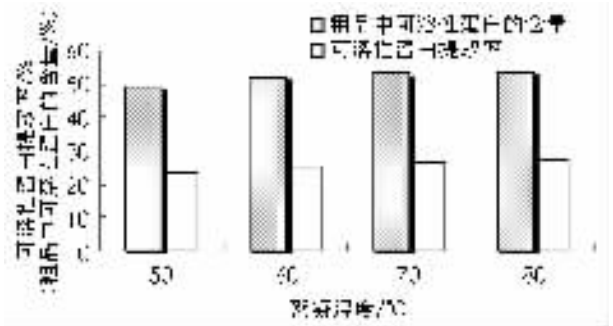


图 4 不同絮凝温度对可溶性蛋白提取率及粗品中可溶性蛋白含量的影响

由图 4 可知, 将汁液加热到 50 °C 时, 蛋白质开始絮凝沉淀, 且在一定的温度范围内(50 °C~70 °C)随着温度的升高, 沉淀加快, 沉淀量增多, 粗品中可溶性蛋白含量也增加. 这是因为大多数蛋白质加热到 50 °C 以上即形成不溶解的凝聚体. 随着温度的升高, 蛋白质变性程度加大, 蛋白质絮凝增多. 粗品的可溶性蛋白提取率在 70 °C 时较高, 达 26.63%, 在 80 °C 时提取率与 70 °C 时升高不大, 且粗品纯度也较高, 初步判断 70 °C、10 min 时絮凝基本完成. 为了节约能源, 降低能耗, 且考虑到高温对其它物质(如维生素)的破坏, 选择絮凝温度为 70 °C 较好.

2.2 正交试验

为了研究各因素对苜蓿干草中可溶性蛋白提取率的相互影响, 本试验在预浸 24 h、絮凝温度 70 °C、絮凝时间为 10 min 的条件下对料液比、加盐量和 pH 值进行了三因素三水平的正交试验, 结果见表 2.

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D(空列)	粗品中粗蛋白的含量/%	提取率/%
1	1	1	1	1	51.96	19.58
2	1	2	2	2	50.09	23.30
3	1	3	3	3	49.70	21.39
4	2	1	2	3	51.17	26.73
5	2	2	3	1	52.71	29.58
6	2	3	1	2	50.77	25.76
7	3	1	3	2	51.52	23.57
8	3	2	1	3	50.63	24.35
9	3	3	2	1	51.14	23.44
K ₁	64.27	69.88	69.69	72.60		
K ₂	82.07	77.23	73.47	72.63		
K ₃	71.36	70.59	74.54	72.47		
k ₁	21.42	23.29	23.23	24.20		
k ₂	27.36	25.74	24.49	24.21		
k ₃	23.79	23.53	24.85	24.17		
R	5.94	2.45	1.62	0.04		
S	53.54	10.96	4.33	0.01		

由表 2 可知,按照极差 R 的大小,影响可溶性蛋白提取率的因素主次从大到小顺序为 A、B、C、D,即料液比、加盐量、pH、空列误差.可溶性蛋白提取率最佳组合条件为 $A_2B_2C_3$,在此条件下可溶性蛋白提取率达到 29.58%,且粗品中可溶性蛋白含量达到 52.71%.从各因素对提取率指标的影响主次顺序来看为 A 因素即料液比影响最大,C 因素即 pH 影响最小.

本试验的目的是开发苜蓿可溶性蛋白作为保健食品原料^[9,10],在提取工艺过程中注意了尽量不用有毒、有害有机溶剂及其它化学试剂.考虑到避免目标成分蛋白质和其它有用成分如维生素的损失与破坏,保证产品质量符合绿色食品标准与生产过程的环保化^[6],其副产物还可以作为优质的饲料原料,在优化的工艺条件下,可溶性蛋白的提取率为 29.58%,叶蛋白中可溶性蛋白含量为 52.71%,与报道的其它用途苜蓿蛋白提取率比较略低,但腥味明显降低^[1,4].

3 结 论

1) 以水为提取溶剂,盐析和热絮凝相结合提取苜蓿叶蛋白是一种绿色、环保可行的提取方法.

2) 影响可溶性蛋白提取率的因素从大到小依次为料液比、加盐量、pH.絮凝温度 70 °C、时间 10 min 时最佳工艺条件组合为料液比 1 : 20、加盐量 4%、pH5,在此条件下可溶性蛋白的提取率达 29.58%,纯度可达 52.71%.

3) 粗品如何脱色、脱味,进一步纯化提高产品的品质以及产品如何保存有待于进一步的深入研究^[9].

参考文献:

- [1] 杨春波,谢正军,金征宇.苜蓿食用叶蛋白的提取及其在曲奇中的应用研究[J].安徽农业科学,2007,35(26): 231-234.
- [2] 郑建仙.苜蓿叶蛋白在食品中的应用[J].食品与发酵工业,1996,5: 26-30.
- [3] 蔡素雯,杨军,张力伟,等.食用叶蛋白的制备及其有效成分分析[J].西北大学学报(自然科学版),1997,3: 231-234.
- [4] Fasakin E A. Nutrient Quality of Leaf Protein Concentrates Produced from Water Fern(*Azolla African Desv*) and Duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L. Schleiden) [J]. Bioresource Technology, 1999, 69(2): 185-187.
- [5] 张荣生,陈学智.甘薯浓缩叶蛋白对肉鸭生长和胴体品质的影响[J].浙江农业学报,1994,3: 206-208.
- [6] 韩亚军,吴炳春.紫花苜蓿浓缩叶蛋白对鸡的饲养效果观察[J].畜禽业,1994,8: 17-18.
- [7] 杨春波,谢正军,金征宇.从压块苜蓿草中提取蛋白质的工艺研究[J].食品与机械,2006,6: 23-26.
- [8] 郭勇.现代生化技术[M].广州:华南理工大学出版社,1996: 168-169.
- [9] 孙洪新,甄二英.叶蛋白资源的开发利用[J].饲料博览,2002,9: 45.
- [10] 张泽生,赵希艳.苜蓿浓缩叶蛋白脱色、脱腥工艺研究[J].食品与生物技术学报,2006,4: 16-19.

Study on Extraction Processes of Edible Alfalfa Leaf Protein

LI Ming-yuan¹, WEN Li-ling¹, DU Xiao-qin²

1. Bioengineering College of Xihua University, Chengdu 610039, China;

2. Chengdu Fuma Food Company, Jintang Sichuan 610401, China

Abstract: The edible alfalfa leaf protein was extracted from alfalfa by salt precipitate and thermal-flocculate method in this paper. The effects of material-solution ratio, salt concentration, pH, flocculating temperature on the extracting rate of alfalfa leaf protein were investigated by single factor experiment. Base on the results, the orthogonal test of three factors and three levels were used to investigate the effects of material-solution ratio, salt concentration, pH on the extracting rate of the alfalfa leaf protein. The results indicated that the optimal conditions of extracting the soluble protein in the circumstance of 70 °C and 10 min were material-solution ratio 1 : 20, salt concentration 4%, pH 5, their effect on the extracting rate followed the order of material-solution ratio > salt concentration > pH. The extracting rate of soluble protein was up to 29.58% and the purity reached 52.71% under these optimal conditions.

Key words: alfalfa; edible leaf protein; extraction processes