

苜蓿叶蛋白提取工艺条件对蛋白质含量的影响^①

阎巧娟^② 李道娥 刘向阳 郭佩玉 韩鲁佳

(中国农业大学非常规饲料研究所)

摘 要 研究了加热法提取工艺条件对苜蓿叶蛋白蛋白质含量的影响。通过不同 pH 值和苜蓿的不同生长期的单因素,以及不同加水比例、加盐比例、提取液 pH 值和絮凝温度对蛋白质含量影响的多因素试验,得出了制取高蛋白质含量叶蛋白的提取工艺条件。

关键词 苜蓿; 叶蛋白; 加热法; 蛋白质含量

中图分类号 TS219; S551.7

Effects of Extracting Technical Conditions on Alfalfa Leaf Protein Content

Yan Qiaojuan Li Dao'e Liu Xiangyang Guo Peiyu Han Lujia

(Non-Conventional Feed Institute, CAU)

Abstract The effect of heating extracting technical conditions on alfalfa leaf protein(ALP) content is studied systematically. The effect of the single factor, pH and different growth period of alfalfa; the multiple factors, water added, salt added ratio, pH of extracted solution and flocculating temperature on ALP protein content are examined. The optimized extracting technical conditions for ALP is given.

Key words alfalfa; leaf protein; heating extraction; protein content

叶蛋白的生产通常包括汁液提取、蛋白絮凝与分离和干燥这 3 个主要步骤,每个步骤对叶蛋白的提取率和产品质量影响都很大,其中叶蛋白的絮凝最为关键。叶蛋白的絮凝方法有加热法、酸碱度法、发酵法、溶剂浸提法等。本研究采用比较常用的加热法,其优点是:能形成紧密而稳定的凝结核,便于过滤处理,能迅速钝化酶,中止蛋白质水解作用而提高蛋白质的提取率并且中止脱镁叶绿素的形成而避免饲喂动物后产生光敏反应^[1]。国外许多科研人员对叶蛋白提取工艺进行了多年的研究。国内虽然在蛋白质提取率方面已有大量报道,但涉及提高蛋白质含量方面的研究较少。鉴于此,笔者主要研究不同工艺条件对叶蛋白蛋白质含量的影响。

1 试验材料及仪器

试验材料如下。

收稿日期:1997-07-29

①国家“九五”科技攻关项目

②阎巧娟,北京清华东路 17 号 中国农业大学(东校区)191 信箱,100083

紫花苜蓿。分别于 1997 年 5 月 6 日(蕾花期)、6 月 2 日(苗期)、7 月 2 日(苗期)采自中国农业科学院畜牧研究所饲料作物试验地的第 1, 2, 3 茬苜蓿。1 茬株高 80 cm, 2, 3 茬株高 55 cm, 均取其顶部 30 cm, 并切碎成长约 1 cm 的小段。

盐酸, 分析纯, 北京化工厂; 氢氧化钠, 分析纯, 北京化工厂; 复合盐(含 NaCl 等), 自制。分析原材料, 按 GB 6432—86 准备^[2]。

试验及仪器设备包括: 101A-2 型干燥箱, 上海市实验仪器厂; 白菊牌 SHJJ-2 型多用食品加工机, 北京威克特电器集团; 手执式 pH 计, 精度 0.1, 新加坡制造; JPT-5 型架盘天平, 感量 0.5 g, 江苏常熟衡器厂; TN-100B 型托盘式扭力天平, 感量 10 mg, 上海第二天平仪器厂; TG328A 型分析天平, 感量 0.1 mg, 上海天平仪器厂。分析仪器, 按 GB6432—86 准备。

2 试验设计及方法

提取叶蛋白的工艺流程^[2]见图 1。取样品 100 g 剪至长度约 1 cm 左右, 按比例加水, 用食品加工机打浆 1 min, 以 120 目滤布过滤, 手工挤压得草渣和浆汁。用水浴锅将浆汁加热至所需温度, 恒温保持 5 min 后冷却 30 min, 过滤或离心分离得叶蛋白膏, 在 65 °C 条件下烘干, 即得到成品叶蛋白。

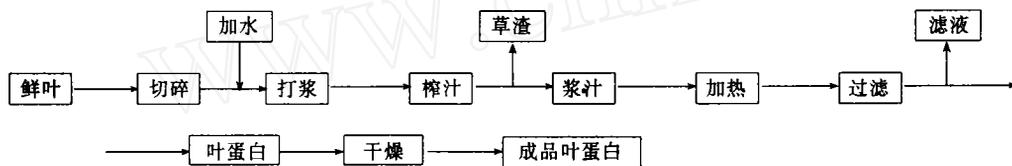


图1 叶蛋白制备工艺流程

采用盐酸和氢氧化钠溶液来调节提取液的 pH 值, 调节范围 pH=1, 2, 3, …, 10。叶蛋白的制备方法同上。

将在同一地点采集到的 1, 2, 3 茬新鲜苜蓿按 GB 6435—86 作含水率测定, 按 GB 6432—86 测定绝干苜蓿的蛋白质含量, 即为苜蓿的干基蛋白质含量。同时比较各茬苜蓿在加水比例 1:3, 加盐 0.1%, pH 值 10.0 和絮凝温度 90 °C 条件下所提取的叶蛋白的蛋白质含量。叶蛋白的提取方法同上。

由于加水量和蛋白质的絮凝温度都可能影响蛋白质含量, 并且蛋白质具有盐溶特性和在不同 pH 值条件下具有不同的溶解性的特点, 所以取加水比例、加盐比例、提取液 pH 值和絮凝温度作为影响蛋白质含量的 4 个因素进行 4 因素 3 水平正交试验。试验按标准正交表 $L_9(3^4)$ 安排。叶蛋白的提取方法同上。

蛋白质含量的测定方法按 GB 6432—86^[4], 含水率测定方法按 GB 6435—86^[5]。

3 结果与分析

3.1 pH 值对叶蛋白蛋白质含量的影响

蛋白质是由一系列氨基酸通过肽键组成的, 尽管在蛋白质内部氨基酸残基的 α -羧基与 α -氨基的电离性在形成肽键时已消除, 但天门冬氨酸与谷氨酸残基的支链羧基、赖氨酸与精氨酸残基的氨基仍可电离, 使得蛋白质分子所带净电荷可随环境的 pH 值而变化: pH 值较低时, 碱

性氨基酸的支链功能基及酸性氨基酸的羧基质子化,蛋白质带正电荷;pH值较高时,质子从碱性与酸性功能基被移除,蛋白质带负电荷;在某一特定pH值时,蛋白质为电中性,此时它具有相等数目的正负电荷。蛋白质所带电荷的多少及性质不同,它在溶液中的3维结构也不同,蛋白质的溶解程度也就不同,所以提取液的pH值对叶蛋白的提取率和叶蛋白蛋白质含量都会产生一定的影响。试验结果如图2所示。

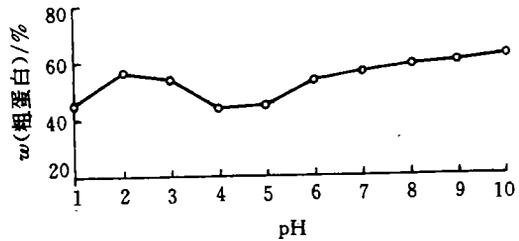


图2 pH值对叶蛋白蛋白质含量(以质量分数 w 表示)的影响

可以看出当pH值=10.0时,叶蛋白蛋白质含量达到最高,为62.1%;当pH=2.0时,叶蛋白蛋白质含量达到另一峰值56%;pH=4.0时叶蛋白蛋白质含量最低,为42%。这一结果与理论分析结果相吻合,表明pH值对叶蛋白的蛋白质含量有直接影响。

3.2 生长期不同的苜蓿对叶蛋白蛋白质含量的影响

表1列出了分析结果。可以看出:苜蓿的含水率、干基蛋白质含量和叶蛋白蛋白质含量均随采集茬数的递增而降低,且叶蛋白蛋白质含量与原料的蛋白质含量呈正相关,即随苜蓿原样干基蛋白质含量的降低,同样条件下所提取的叶蛋白的蛋白质含量也随之降低。

表1 生长期不同的苜蓿对叶蛋白蛋白质含量的影响

苜蓿	含水率	干基蛋白质含量	叶蛋白蛋白质含量
1 茬	81.1	29.48	66.32
2 茬	78.9	27.52	64.14
3 茬	77.9	24.64	57.63

3.3 不同的加水加盐比例及pH值和絮凝温度对叶蛋白蛋白质含量的影响

正交试验结果见表2。可以看出:影响叶蛋白蛋白质含量的因素依次为C>A>B>D,即pH值>加盐比例>加水比例>絮凝温度。因素的最佳组合为A₂B₂C₃D₁,即加盐比例0.2%,加水

表2 正交试验组合及结果

序号	A 加盐比例/%	B 加水比例	C pH	D 絮凝温度/℃	粗蛋白含量/%
1	0.1	1:1	8.0	70	59.88
2	0.1	1:2	9.0	80	62.82
3	0.1	1:3	10.0	90	64.14
4	0.2	1:1	9.0	90	63.33
5	0.2	1:2	10.0	70	64.34
6	0.2	1:3	8.0	80	61.42
7	0.3	1:1	10.0	80	61.36
8	0.3	1:2	8.0	90	61.83
9	0.3	1:3	9.0	70	61.35
m_1	62.28	61.52	61.04	61.85	
m_2	63.03	62.99	62.50	61.87	
m_3	61.51	62.37	63.28	63.10	
R	1.52	1.47	2.24	1.25	

水比例 1:2, pH 值 10.0, 絮凝温度 70℃, 此时蛋白质含量为 64.34%。正交分析得出的最佳组合为 $A_2B_2C_3D_3$, 即加盐比例 0.2%, 加水比例 1:2, pH 值 10.0, 絮凝温度 90℃。由于絮凝温度是次要因素, 考虑到降低能耗, 在生产中可以取 $A_2B_2C_3D_1$ 或 $A_2B_2C_3D_2$, 即温度可以取 70 或 80℃。加盐比例为 0.2% 时蛋白质含量较高是由于蛋白质在体积分数较小的盐溶液中具有较高的溶解度, 而当盐的体积分数达到一定数值时, 溶解度又会降低; 加水比例为 1:2 较好, 则与加水少时浸提不充分, 加水多时絮凝后仍有较多蛋白溶解在弃去的滤液中有关; 絮凝温度 90℃ 时提取效果较好的原因在于随温度的升高蛋白变性絮凝会更完全。

4 结 论

1) 苜蓿叶蛋白提取工艺条件中, 汁液的 pH 值对叶蛋白蛋白质含量有直接影响。

2) 正交试验结果表明, 影响叶蛋白蛋白质含量的因素依次为 pH 值 > 加盐比例 > 加水比例 > 絮凝温度。

3) 正交试验中的较优组合为加盐比例 0.2%, 加水比例 1:2, pH 值 10.0, 絮凝温度 70℃; 正交分析得出的最优组合为加盐比例 0.2%, 加水比例 1:2, pH 值 10.0, 絮凝温度 90℃。在生产中温度可以取 70 或 80℃。

4) 苜蓿的含水率、干基蛋白质含量和叶蛋白蛋白质含量均随采集茬数的递增而降低, 且叶蛋白蛋白质含量与原料的蛋白质含量呈正相关。

参 考 文 献

- 1 Sciancalepore V. Solubility of a protein fraction from olive leaves. Proceedings of The Third International Conference on Leaf Protein Research, Italy-Pisa, 1989. 322~324
- 2 许曼驯, 胡晓林, 蒋晓峰. 叶蛋白浓缩物的提取及饲鱼效果. 饲料研究, 1991(3): 10~13
- 3 施正香, 孙建华, 李道娥, 等. 紫穗槐叶蛋白的热提取. 中国农业大学学报, 1996(4): 60~63
- 4 GB 6435—86 饲料水分的测定方法
- 5 GB 6432—86 饲料粗蛋白的测定方法