

籽粒苋叶蛋白提取工艺^①

邓 勇^② 涂海根 沈 群

(中国农业大学食品学院)

摘 要 采用加热法、酸碱法、酸化加热法和发酵酸法对籽粒苋叶蛋白的提取工艺进行了研究和比较,得出了籽粒苋叶蛋白提取方法的适应性优劣顺序:酸化加热法—发酵酸法—加热法—酸碱法。对籽粒苋的叶绿体蛋白与白蛋白进行分离的结果为:白蛋白和叶绿体蛋白分别占总蛋白质的 30.11%和 69.89%。

关键词 籽粒苋; 叶蛋白; 得率; 提取率

中图分类号 TS 219; S 548.099

Study on Amaranth Leaf Protein Extraction Technology

Deng Yong Tu Haigen Shen Qun

(College of Food Science and Engineering, CAU)

Abstract The thermal method, the acidic alkalization method, the acidic thermal method and the fermentation acid method on the amaranth leaf protein extraction technology have been studied. The different methods efficiency decreases in the following order: the acidic thermal method, the fermentation acid method, the thermal method, the acidic alkalization method. The 69.89% of chloroplastic protein and the 30.11% of white protein are fractionated in the experiment.

Key words amaranth; leaf protein; ratio of obtaining; ratio of extraction

目前,我国饲料蛋白每年短缺约 1 000 万 t。随着人民生活水平的不断提高和膳食结构的改善,以及养殖业的发展,饲料蛋白的需要量将进一步增大;我国人均粮食占有量不高,不可能以更多的粮食供作饲料,也不可能用减少粮食作物种植面积的办法来增加饲料蛋白的生产;因此,开发新的蛋白资源,是一项紧迫而重要的任务。

籽粒苋是颇具开发潜力的叶蛋白资源,其叶蛋白含量很高,经测定红苋 K₁₁₂ 叶片蛋白含量高达 28.41% (干基),略高于紫花苜蓿。它还含有丰富的脂肪酸,其中 70% 是不饱和脂肪酸,此外,钙、钾、铁、硫、维生素及胡萝卜素等含量也较高。籽粒苋具有抗逆性强、适应性广、产量高等特点,适于在我国边疆和荒山荒地种植。自 1982 年从美国引进 40 多个优良品种以来,种植面积已扩大到 5.33 万 hm²^[1]。目前,我国对籽粒苋的研究仅限于栽培、营养成分,以及淀粉的研究开发,用籽粒苋提取叶蛋白的研究在我国尚属空白;因此对籽粒苋叶蛋白提取工艺的研究具有重要的意义。

收稿日期:1997-08-11

①国家“九五”科技攻关项目

②邓 勇,北京清华东路 17 号 中国农业大学(东校区)113 信箱,100083

1 材料与方法

1.1 材料

试验用红苋 K_{112} 和 K_{112-1} , 由中国农业科学院作物所提供, 红苋 K_{112} 采摘期分别是: 6月10日幼苗期; 7月15日成长期(株高约 1.5 m); 8月4日开花前期(株高约 2.0 m)。红苋 K_{112-1} 采摘期为 8月22日(幼苗期)。

1.2 试验方法

叶蛋白的提取。将新鲜籽粒苋茎叶切成约 1 cm 长的碎片, 加入一定比例的水和消泡剂, 用食品加工机打浆后过滤, 挤压出汁, 采用不同方法将汁液中的蛋白质沉淀出来, 用离心机以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速, 离心 5 min, 将蛋白质沉淀物烘干, 待测。

发酵酸的制备。将甘蓝洗净, 放入已清洗消毒的泡菜坛内, 添加凉开水浸没, 自然发酵 3~4 d(7, 8 月份), 得到 $\text{pH}=3.76$ 的泡菜酸, 备用。

1.3 测定方法

1) 水分: 常压干燥法。参照 GB/T 14769—93。

2) 粗蛋白: 凯氏定氮法。参照 GB/T 14770—93。

2 结果与分析

2.1 不同生长期籽粒苋含水率及蛋白质含量的测定

测定结果列于表 1。可以看出, 随着籽粒苋生长发育过程的推进, 其含水率及蛋白质含量不断降低。这可能是由于纤维素、木质素等物质逐渐在体内积累所致, 因此, 用于提取叶蛋白的籽粒苋必须适时采摘, 过老的原料将增加提取难度并降低成品纯度。

2.2 提取工艺与提取效果的关系

以 pH 值、加水比及打浆时间作为试验因素, 分别选取 3 个水平, 选用 $L_9(3^4)$ 表进行正交试验。具体因素及水平设置如表 2 所示。试验结果见表 3。从叶蛋白纯度考虑, 各试验因素影响大小的顺序为 $B > A > C$, 最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2$; 从叶蛋白提取率来看, 其影响大小的顺序为 $A > B > C$, 最佳提取工艺为 $A_3B_2C_1$ 。综合以上 2 种指标, 从经济角度考虑, 以提取率为考核指标, 则最佳的提取工艺参数为 $A_2B_2C_1$ 。

表 1 籽粒苋含水率 η_w 和 w (蛋白质) 与采摘日期的关系 %

采摘日期	η_w	w (蛋白质)
06-10	87.18	28.25
07-15	85.26	25.54
08-04	83.48	24.26

表 2 试验因素水平表

水平	因素		
	打浆时间/min	$\text{pH}^{\text{①}}$	加水比 ^②
1	2.5	7.8	1:0.9
2	4.0	7.3	1:1.0
3	5.5	6.8	1:1.1

①为自来水的; ②为材料与自来水的质量比。

表 3 正交试验及结果

试验号	A 打浆时间/min	B pH	空列	C 加水比	w (蛋白质)/ %	提取率/ %
1	1(2.5)	1(7.8)	1	1(1:0.9)	51.09	40.60
2	1	2(7.3)	2	2(1:1.0)	52.81	39.87
3	1	3(6.8)	3	3(1:1.1)	46.33	39.15
4	2(4.0)	1	2	3	51.57	45.71

续表 3

试验号	A 打浆时间/min	B pH	空列	C 加水比	$w(\text{蛋白质})/\%$	提取率/ %
5	2	2	3	1	54.15	49.92
6	2	3	1	2	50.95	40.85
7	3(5.5)	1	3	2	51.35	43.58
8	3	2	1	3	56.71	46.37
9	3	3	2	1	48.72	41.33
$w(\text{蛋白质})/\%$	50.04	51.40	52.92	51.32		
	52.32	54.56	51.03	51.70		
	52.32	48.56	50.67	51.54		
R_{ij}	2.28	5.89	2.25	0.38	$i, j=1, 2, 3$	
提取率/%	39.87	43.30	42.61	43.95		
	45.49	44.56	44.30	42.36		
	43.76	40.44	44.31	43.74		
R_{ij}	5.62	4.12	1.70	1.59	$i, j=1, 2, 3$	

说明:试验材料采摘日期为06-10。

2.3 不同提取方法的比较

2.3.1 加热法

将籽粒苋汁液水浴加热至试验温度,恒温5 min,以不同温度沉淀蛋白质,测定结果如表4。试验中发现加热温度低于45℃时几乎无沉淀产生,随着温度不断升高,沉淀速度加快,蛋白质含量、得率及提取率3项指标都不断增高,至75℃时达到峰值;但随着温度继续升高,3项指标反而下降。因此,采用加热法沉淀籽粒苋叶蛋白的最佳温度为75℃。

2.3.2 酸碱法

在籽粒苋汁液中加入浓度为 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的HCl溶液,调整溶液pH值至一定数值,测定不同pH值对叶蛋白沉淀效果的影响,结果见表5。可知只当 $\text{pH} < 5.0$ 或 $\text{pH} > 10.0$ 时,才有较多的蛋白质沉淀分离出来。当pH值在3.0~4.0之间时,3项指标都能达到较大值,而当 $\text{pH} = 10.0$ 时,3项指标明显低于酸法沉淀,而且沉淀物不稳定;因此采用酸碱法来沉淀籽粒苋叶蛋白的最佳pH值为3.5~4.0。

2.3.3 酸化加热法

为进一步提高叶蛋白提取工艺的3项指标,现采用酸化加热法,即将酸法及加热法的最佳条件加以组合,温度采用55,65,75℃,pH值

表4 加热温度对蛋白质沉淀效果的影响

$\theta/^\circ\text{C}$	$w(\text{蛋白质})/\%$	得率/%	提取率/%
40	0	0	0
45	23.56	0.501	3.26
50	33.49	0.623	5.76
55	30.10	0.618	5.65
60	42.83	1.082	12.80
65	56.26	2.573	39.77
70	54.98	2.875	43.65
75	56.67	3.041	47.58
90	53.57	2.986	44.12

说明:1)试验材料采摘日期为06-10;

2)得率为100g鲜叶提取的叶蛋白干质量与100g鲜叶质量之比。

表5 pH值对蛋白质沉淀效果的影响

pH	$w(\text{蛋白质})/\%$	得率/%	提取率/%
5.0	50.35	2.677	35.80
4.5	48.48	2.626	35.20
4.0	52.02	2.649	37.23
3.5	52.15	3.150	43.67
3.0	51.85	2.781	38.29
2.5	47.28	2.887	36.26
2.0	46.54	2.677	33.18
1.0	39.15	2.217	23.06

说明:试验材料采摘日期为07-15。

选取 3.0, 4.0, 5.0, 进行 2 因素 3 水平全处理组合试验, 结果如表 6 所示。可以看出, 当 $\theta=75$ °C, pH=4.0 时, 蛋白质含量最高, 而从叶蛋白得率及提取率来看, 最佳条件均为 $\theta=65$ °C, pH=3.0; 但考虑到 pH 值从 4.0 降至 3.0 用酸量要加大 1 倍, 从生产成本上看是不经济的, 因此, 可把 $\theta=75$ °C, pH=4.0 作为实际生产的较优工艺参数。

表 6 酸化加热法对蛋白质沉淀效果的影响

pH	$\theta/^\circ\text{C}$	$w(\text{蛋白质})/\%$	得率/%	提取率/%
3.0	55	56.27	3.030	42.54
	65	56.94	3.369	47.86
	75	56.96	3.223	45.81
4.0	55	57.61	3.126	44.94
	65	58.39	3.173	46.23
	75	59.10	3.060	45.23
5.0	55	55.45	3.041	42.07
	65	56.85	3.212	45.35
	75	54.70	3.180	43.40

说明: 试验材料采摘日期为 08-04。

2.3.4 发酵酸法

将发酵酸按一定体积比例加入籽粒苋汁液中, 测定蛋白质的沉淀效果, 见表 7。可以看出, 汁液与发酵酸的体积比为 1:2.5 时, 蛋白质含量最高, 提取率最大, 而叶蛋白得率以汁液与发酵酸之比为 1:2.0 时最优; 沉淀时间对 3 项指标的影响不大, 故选择加酸比 1:2.5, 沉淀时间 10 min 作为沉淀籽粒苋叶蛋白的较优参数。

表 7 发酵酸法对蛋白质沉淀效果的影响

发酵酸量/mL	加酸比	沉淀时间/min	$w(\text{蛋白质})/\%$	得率/%	提取率/%
200	1:2.0	10	47.88	3.426	40.93
		15	47.95	3.483	41.13
		20	52.24	3.446	44.92
250	1:2.5	10	55.50	3.343	46.29
		15	53.49	3.132	41.57
		20	57.48	3.148	45.55
300	1:3.0	10	50.97	3.018	38.38
		15	49.25	2.947	36.21
		20	51.68	2.865	36.94

说明: 试验材料采摘日期为 08-04。

2.4 籽粒苋叶蛋白成分的分离

将籽粒苋汁液分成 A, B 2 份, 分别把它们置于 65 和 70 °C 的恒温水浴中待 5 min, 然后迅速放入冷水中冷却, 经 $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心分离, 倒出上清液, 得到叶绿体蛋白(绿色), 再将上清液滴加 $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HCl, 至 pH=4.0, 即得到白蛋白(浅黄白色)。测定结果见表 8。经计算, 籽粒苋叶蛋白中叶绿体蛋白和白蛋白分别占叶蛋白总量的 69.89% 和 30.11%。

表8 叶蛋白成分分析

样品	$\theta/^\circ\text{C}$	叶绿体蛋白		白蛋白	
		纯度/%	得率/%	纯度/%	得率/%
A	65	42.29	2.683	73.66	0.676
B	70	46.65	1.614	70.32	0.449

说明:试验材料采摘日期为08-22。

3 结 论

1) 籽粒苋叶蛋白沉淀方法适应性的顺序为:酸化加热法—发酵酸法—加热法—酸碱法。

2) 酸化加热法的最佳工艺参数为 $\theta=75^\circ\text{C}$, $\text{pH}=4.0$; 发酵酸法最佳加酸比为 1:2.5, 时间 10 min; 加热法最优温度为 75°C ; 酸碱法最佳 pH 值为 3.5~4.0。

3) 籽粒苋叶蛋白中叶绿体蛋白占 69.89%, 白蛋白占 30.11%。

本试验得到中国农业大学非常规饲料研究所以及中国农业科学院作物所孙鸿良教授的支持与帮助, 谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 岳绍先, 孙鸿良. 籽粒苋在中国的研究与开发. 北京: 农业出版社, 1993. 11~26