

## 苜蓿叶蛋白粉叶绿素的提取工艺

成明华<sup>①</sup> 关东胜 吴卫华

(中国农业大学食品学院)

**摘要** 用无水乙醇作为苜蓿叶蛋白粉中叶绿素的提取剂对各工艺参数进行了正交试验。结果表明:叶蛋白粒度、液固质量比和浸提级数等因素对提取效果有显著影响;草腥味残留率可降至10%以下。

**关键词** 苜蓿; 叶蛋白; 叶绿素; 提取

**中图分类号** TS 219;S 551.7

### Extracting Technology of Chlorophyll From Alfalfa Leaf Protein

Cheng Minghua Guan Dongsheng Wu Weihua

(College of Food Science and Engineering, CAU)

**Abstract** Studies on the technological parameters of extracting chlorophyll from alfalfa leaf protein by means of anhydrous alcohol indicated that the granule size of flour, ratio of liquid to solid and extracting stages had the remarkable effects on the extracting results, while remaining ratio of odour could be reduced to 10%.

**Key words** alfalfa; leaf protein; chlorophyll; extraction

叶蛋白是直接从植物的鲜茎叶中提取出来的蛋白制品,目前主要用于饲料行业。叶蛋白中含有丰富的高质量蛋白质,摄入后能有效地提高人体的血红蛋白,治疗贫血;但叶蛋白的绿色及草腥味使其未能进入食品领域<sup>[1]</sup>。国内外对叶蛋白的提取方法进行了大量研究,但尚未涉及叶蛋白的色素提取和腥味脱除。对叶蛋白粉进行脱色和去味处理,脱去叶蛋白的绿色及大部分草腥味,可以为开发叶蛋白食品创造条件,同时还可得到天然色素,从而提高叶蛋白的利用率和经济效益。

### 1 实验材料、仪器和测定方法

实验材料为浓缩苜蓿叶蛋白粉(法国产)和无水乙醇等。

仪器设备有:TC-PIG型全自动测色色差计、UV-120-02紫外可见分光光度计、800型离心沉淀器和78-1磁力加热搅拌器。

测定方法如下。

1)叶绿素质量浓度的测定<sup>[2]</sup>。将色素提取液准确稀释到一定体积分数,在652nm的波长下测定光密度。叶绿素的质量浓度

$$\rho(\text{叶绿素}) = \frac{D_{652}}{34.5m} \alpha \times 100$$

收稿日期:1997-10-21

<sup>①</sup>成明华,北京清华东路17号 中国农业大学(东校区)214信箱,100083

式中： $\rho$  为 100 g 原料或 100 mL 提取液中的叶绿素质量，mg； $D_{652}$  为  $\lambda=652$  nm 时的光密度； $m$  为原料质量，g(或提取液体积，mL)； $\alpha$  为稀释倍数。

2) 叶蛋白气味的感官评定。称量一定量的浓缩苜蓿叶蛋白粉，按不同比例与无气味的食用淀粉混合，分别得到质量分数为 0, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 的叶蛋白标准样品。对脱色后的叶蛋白残留草腥味进行感官评定，以气味最相近的标准样品中叶蛋白含量的 10 倍作为得分，求其平均值。

3) 叶绿素得率的计算。叶绿素的得率按下式计算：得率/% =  $(\rho V/m)\alpha \times 100$ 。式中  $V$  为色素液体积，mL。

4) 叶蛋白脱色度的测定。用色差计测定样品处理前后的色差，测 3 次，取平均值。

## 2 实验内容

1) 产品评价指标。测定所得色素提取液中的叶绿素质量浓度并计算叶绿素得率，测定脱色后的叶蛋白的脱色度，对草腥味残留率进行感官评定。

2) 单因素试验。分别对溶剂体积分数、叶蛋白是否软化和浸提时间、液固质量比和浸提温度进行试验。

3) 正交试验。选择粒度、液固质量比、浸提级数和搅拌速度作为试验因素，进行四因素三水平正交试验，重复 2 次。测定提取液的光密度和处理后叶蛋白的脱色度，计算叶绿素的得率和提取液的质量浓度，并对叶蛋白的草腥味残留率进行感官评定。试验方案如表 1。

表 1 正交表表头设计

水平	粒度/目	液固质量比	浸提级数	搅拌速度
1	80~110	2	3	高
2	110~140	10	5	中
3	<140	5	7	低

## 3 结果与讨论

### 3.1 溶剂体积分数的影响

乙醇体积分数与浸提液光密度的关系如图 1 所示。可以看出，色素提取液的质量浓度随着  $\varphi$ (乙醇) 的增大而明显增大。在以下浸提试验中均采用分析纯的乙醇作为溶剂。

### 3.2 软化和浸提时间的影响

由图 2 可知：不经软化的叶蛋白色素浸提的速率明显高于充分软化的对照组。不经软化的叶蛋白在浸提开始 30 min 后，色素提取液的质量浓度比对照组高出近 1 倍，并在前 120 min 提高了近 2 倍；对照组则无明显提高。提取液的质量浓度在 210 min 时达到最大。

本试验中确定了叶蛋白浸提前未经软化和在搅拌条件下色素浸出的时间。以下除特殊说明外，均采用多级浸提工艺，每级浸提时间为 3.5 h。

### 3.3 液固质量比的影响

测定提取液的光密度并计算叶绿素得率，得到图 3。可以看出：液固质量比为 2 时， $\rho$ (叶绿素) 值最高，而得率较低；液固质量比为 4 时， $\rho$ (叶绿素) 值较高且得率最高；液固质量比为 10 时， $\rho$ (叶绿素) 值较低但得率较高； $\rho$ (叶绿素) 值基本上随液固质量比上升而下降。一般来说，液固质量比越大，色素得率越高，但所得  $\rho$ (叶绿素) 值小，增加蒸发的负荷和蒸汽消耗量。液固质

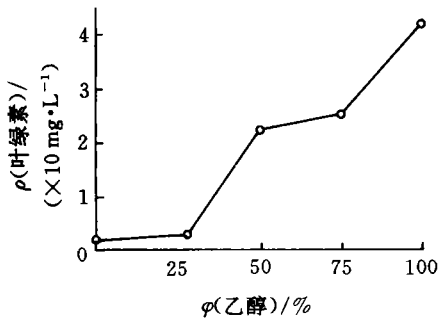


图 1 φ(乙醇)对叶绿素提取效果的影响

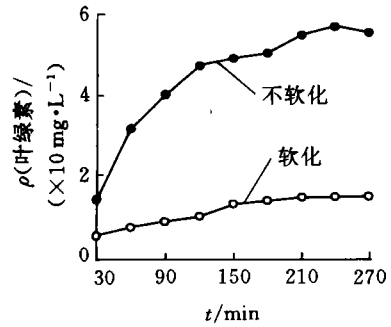


图 2 软化对提取速率的影响

量比的下限是由保证提取剂浸没原料所需的体积决定的。所以,选择液固质量比 2,5,10 作为进一步正交试验的水平。

### 3.4 浸提温度的影响

试验结果如图 4 所示。可以看出,25~65℃时,色素浸出速率缓慢上升,到 65℃后迅速上升,但 75℃时提取出的色素其性质明显劣变,φ(提取液)=1%的水溶液在室内漫射的情况下,经过 1 h 颜色由绿变黄,比 25℃时提取的色素更不稳定。所以提取试验都应避免加热与光照。以下的试验均在室温下进行。

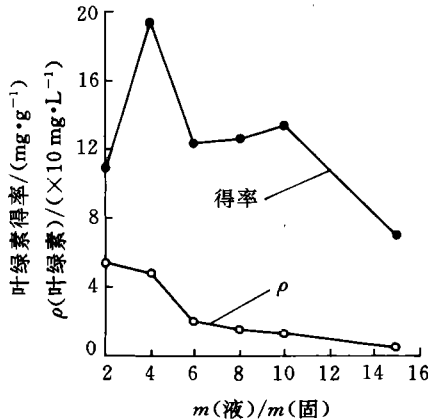


图 3 液固质量比对叶绿素提取效果的影响

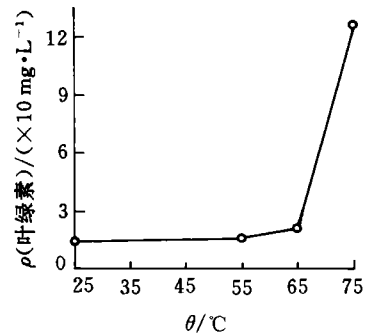


图 4 温度对叶绿素提取效果的影响

### 3.5 正交试验

测定浸提液的光密度和叶蛋白的总色差,计算提取液的质量浓度和叶绿素得率,结果见表 2 和表 3。可以看出:

1) 粒度对总色差影响极大,对提取液的质量浓度有显著影响,而对得率影响不大。物质的颜色与其存在的状态、粒子的聚集状态、表面性质和表面光洁度等诸多因素有关。颗粒越小,其反射面越大,吸收的光越少,颜色就越浅,这是粒度对叶蛋白总色差的影响明显高于其他因素的原因之一<sup>[3]</sup>。

2) 液固比对叶绿素的质量浓度有高度显著性影响,对总色差和叶绿素得率均有显著影响。显然,液固质量比越小,叶绿素的质量浓度越高,得率就越低。液固质量比为 5 和 10 的色差相

差不大,3组试验平均相差0.06,可以认为基本上是同一颜色。

3)浸提级数仅对叶绿素的质量浓度有显著影响,而对总色差和得率均无明显影响。

4)搅拌速度对3项指标均无显著影响。

表2 正交试验结果

实验号	叶蛋白脱色度		叶绿素得率/(mg·g <sup>-1</sup> )		ρ(叶绿素)/(×10 mg·L <sup>-1</sup> )	
	1	2	1	2	1	2
1	1.10	1.78	4.400	3.809	0.733	0.693
2	2.11	2.31	12.899	7.681	0.258	0.154
3	1.72	1.45	7.703	13.087	0.206	0.374
4	5.14	5.72	6.029	11.333	0.603	1.133
5	5.95	6.07	12.580	18.058	0.180	0.258
6	6.44	5.81	10.478	12.478	0.699	0.832
7	2.80	2.72	5.762	4.099	0.412	0.293
8	3.04	3.19	7.043	9.391	0.235	0.313
9	3.86	3.57	15.725	7.319	0.629	0.293

表3 因素的显著性和较优水平

因素	叶蛋白脱色度		叶绿素质量浓度		叶绿素得率	
	较优水平	显著性	较优水平	显著性	较优水平	显著性
粒度	140目	高度显著	140目	显著	140目	
液固质量比	5	显著	2	高度显著	10	显著
浸提级数	5		3	显著	5	
搅拌速度	高		低		高	

从以上分析可知,影响叶绿素浸提的因素的主次关系和较优水平随3项指标的不同而变化,在实践中应根据生产的重点指标选择较优参数。

从浓缩苜蓿叶蛋白中能提取出含量较高的叶绿素,且叶绿素得率也较高,这有一定的商业化生产的价值。经过脱色的叶蛋白为浅绿色,这样的叶蛋白在色泽、功能性质和营养价值上是否达到食品级叶蛋白的要求,仍需作进一步试验。

对脱色后的叶蛋白进行气味残留评分,结果见表4。根据评分结果,叶蛋白残留气味基本上在10%左右,最低为3%,最高为12%。可以认为经过乙醇脱色工艺,草腥味已基本除去。草腥味的成分一般是:饱和醛、不饱和醛、辛-3,5-二烯-乙酮、2-烷基-3-甲氧基吡嗪和己醇等<sup>[4]</sup>。

表4 叶蛋白气味残留评分结果

试验号	得分		试验号	得分		试验号	得分	
	范围	平均		范围	平均		范围	平均
1	0~20	8	4	0~40	12	7	0~20	6
2	0~20	6	5	0~10	4	8	0~20	10
3	0~10	3	6	0~40	12	9	0~20	7

由叶蛋白草腥味残留率趋势图(略)可知:

1)液固质量比越大,草腥味去除越完全。

2)粒度大的叶蛋白的草腥味反而残留得少。这可能是因为有部分风味物质被包埋在颗粒中,如果将颗粒粉碎,其气味残留率仍可能较高。

3)浸提级数越多,气味残留越少。

4)搅拌速度越高,气味残留越少。

由于处理前叶蛋白的草腥味十分强烈,刺鼻,经过脱色后,仍残留部分草腥味,应作进一步处理。

## 4 结 论

1)浓缩苜蓿叶蛋白在提取色素前不需要软化阶段,提取应在常温下进行,用分析纯乙醇时提取效果最好。

2)从苜蓿浓缩叶蛋白中提取叶绿素得率较高。显著影响提取叶绿素的因素有:叶蛋白粒度、液固质量比和浸提级数。

3)用乙醇处理浓缩苜蓿叶蛋白,既有脱色作用又有明显的脱除草腥味的效果,草腥味残留率可降至10%以下。

## 参 考 文 献

- 1 诺顿 G. 植物蛋白. 殷蔚蕙, 殷蔚蕙译. 植物蛋白. 北京: 科学出版社, 1983. 220~245
- 2 韩雅珊. 食品化学试验指导. 北京: 北京农业大学出版社, 1992. 165~166
- 3 拿骚 K. 颜色的物理与化学. 李士杰, 张志三译. 北京: 科学出版社, 1991. 39~40, 362~367
- 4 韩雅珊. 食品化学. 北京: 北京农业大学出版社, 1992. 278