

## 用发酵酸法提取营养酸模叶蛋白的工艺<sup>①</sup>

沈 群<sup>②</sup> 邓 勇 唐建涛

(中国农业大学食品学院)

**摘 要** 分别用德氏乳杆菌发酵淀粉糖化液和泡菜水作为母酸,对营养酸模榨汁液进行发酵制备发酵酸,用来沉淀叶蛋白。用由德氏乳杆菌制成的发酵酸沉淀叶蛋白,其粗蛋白的质量分数为 59.22%~61.25%,提取率为 35.3%~43.5%;用由泡菜水制成的发酵酸沉淀叶蛋白,其粗蛋白的质量分数为 56.32%~59.48%,提取率为 40.00%~44.97%。

**关键词** 营养酸模;叶蛋白;发酵酸;提取率

**分类号** TS 255.36

## Extraction Techniques of Rumex Acetosa Leaf Protein by Fermentation Acid Method

Shen Qun Deng Yong Tang Jiantao

(College of Food Science and Engineering, CAU)

**Abstract** The juice prepared with *Lactobacillus delbriekii* fermentation and pickled vegetable fermentation separately was used to precipitate the Rumex leaf protein. The result showed that 59.22%~61.25% of raw protein and 35.3%~43.5% of extraction rate were obtained with the former juice while 56.32%~59.48% of raw protein, 40.00%~44.97% of extraction rate the latter.

**Key words** Rumex; leaf protein; fermentation acid; extraction rate

营养酸模,俗称高秆菠菜,系用边缘杂交法培育出来的饲用新品种。它具有高产、优质,耐旱、耐碱和耐寒的特性,是适于在我国干旱、盐碱、风沙地区栽培的多年生作物。营养酸模富含蛋白质,叶片蛋白质(干基)的质量分数在 29.81%~35.80%之间,特别是含有人体必需的氨基酸。此外,它还含有粗纤维( $w=13.88\%~17.52\%$ )、脂肪( $w=3.11\%~5.04\%$ ),以及多种维生素。鲜叶每  $\text{hm}^2$  产量为 2 250~3 000 t。有关用营养酸模提取叶蛋白的研究在我国尚属空白,因此对营养酸模叶蛋白提取工艺的研究具有重要意义。

### 1 材料与方 法

试验用营养酸模由现代农牧机构-沃地来集团提供。采摘日期分别是 4 月 24 日(株高约 1.0 m),5 月 11 日(株高约 1.5 m),5 月 22 日(株高约 2.0 m)。

叶蛋白的提取。将新鲜营养酸模切成约 1.0 cm 长的碎片,按 1:0.9 的质量比加入自来

收稿日期:1998-10-13

①国家“九五”科技攻关项目

②沈 群,北京清华东路 17 号 中国农业大学(东校区)111 信箱,100083

水。用食品加工机打浆 1.5 min 后过滤,挤压出汁。采用德氏乳杆菌或泡菜水制成的发酵酸沉淀剂将汁液中的蛋白质沉淀出来,用离心机以  $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  的转速离心 5 min,将蛋白质沉淀物烘干,测其蛋白质含量。

泡菜水的制备。将大白菜洗净,放入已清洗消毒的泡菜坛内,添加凉开水浸没,自然发酵 5 d(室温  $27\ ^\circ\text{C}$  左右),得到  $\text{pH}=4.0\sim 3.6$  的泡菜酸,备用。

德氏乳杆菌发酵淀粉糖化液的制备。称取可溶性淀粉 150 g,加蒸馏水 600 g,将其加热至  $50\sim 75\ ^\circ\text{C}$ ;加入淀粉酶 2 g, $\text{CaCl}_2$  2.5 g,在此温度范围内保温 3.5 h,然后加水稀释至 18~20 倍;加入适量德氏乳杆菌(1.2027)菌液,在  $30\ ^\circ\text{C}$  条件下保温 26~40 h,得到  $\text{pH}=4.0\sim 3.6$  的发酵酸,备用。

测定方法如下:粗蛋白,凯氏定氮法,参照 GB/T 14770-93;水分,常压干燥法,参照 GB/T 14769-93。

## 2 结果与分析

### 2.1 采摘日期对营养酸模含水率和蛋白质含量的影响

不同生长期营养酸模的含水率及蛋白质含量的测定结果见表 1。可以看出,随着营养酸模的生长,其叶片的含水率及蛋白质含量不断降低。这可能与纤维素、木质素等物质在体内逐渐形成和积累有关。建议采摘原料的时期最好选在植物发育期结束前或花期开始时。

表 1 营养酸模含水率  $\eta_w$  和  $w$ (蛋白质)与采摘日期的关系

采摘日期	采前天气	$\eta_w/\%$	$w$ (蛋白质)/%
04-24	晴	91.13	36.33
05-11	晴	88.75	33.23
05-12	雨	89.56	28.95

### 2.2 不同母酸对发酵速度的影响

为了提高原料的利用率,将泡菜水或德氏乳杆菌发酵淀粉糖化液作为母发酵酸(发<sub>1</sub>),将发<sub>1</sub>与营养酸模榨汁液按 1:9 的体积比混合,在  $30\ ^\circ\text{C}$  条件下发酵 48 h,作为第 2 批发酵酸(发<sub>2</sub>)。将发酵液在  $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  条件下离心 10 min,取上清液再次与榨汁液按 1:9 的体积比混合,在  $30\ ^\circ\text{C}$  条件下培养 48 h,作为第 3 批发酵酸(发<sub>3</sub>)。表 2 分别列出了以泡菜水为发<sub>1</sub>或以德氏乳杆菌发酵淀粉糖化液为发<sub>1</sub>扩大制备<sup>[1]</sup>发酵酸的结果。可以看出,发酵榨汁液 pH 变化稳定,而且发<sub>2</sub>和发<sub>3</sub>的发酵速度比发<sub>1</sub>快,这可能与菌种大量繁殖从而发酵能力提高有关。经

表 2 连续发酵榨汁液 pH 值的变化

母酸种类及 pH 值			发酵时间/h				
			0	24	48	72	96
泡菜水	发 <sub>1</sub>	3.13	4.02	3.88	3.59	3.41	3.37
	发 <sub>2</sub>	3.59	3.70	3.65	3.63	3.50	
	发 <sub>3</sub>	3.63	3.70	3.64	3.57		
德氏乳杆菌发酵 淀粉糖化液	发 <sub>1</sub>	3.34	4.05	3.95	3.88	3.80	3.77
	发 <sub>2</sub>	3.88	4.00	3.98	3.89	3.77	
	发 <sub>3</sub>	3.89	4.01	3.97	3.89	3.77	

48 h 发酵,以泡菜水为发<sub>1</sub>的发<sub>2</sub>及发<sub>3</sub>的 pH 值达到 3.60 左右,而以德氏乳杆菌发酵淀粉糖化液为发<sub>1</sub>的发<sub>2</sub>及发<sub>3</sub>的 pH 值则达到 3.89;因此,以发酵榨汁液作为沉淀剂循环使用是可行的,同时,发酵后会有一部分叶蛋白沉淀出来,此部分蛋白质可以回收<sup>①</sup>。

### 2.3 发酵酸用量对叶蛋白沉淀效果的影响

试验中采用不同用量的发酵酸沉淀叶蛋白,以期得到最好的沉淀效果。表 3 列出了不同的发酵酸用量不同时对营养酸模榨汁液叶蛋白的沉淀结果。可以看出,加入发酵酸后,当混合液的 pH=3.7~3.9 时沉淀效果较好,尤以 pH=3.8 左右为佳。混合液的 pH<3.6 或 pH>3.9 时,虽然沉淀物中有较多的叶蛋白,但絮凝速度太慢,絮凝物松散,不适于工业化生产。从发酵酸种类来看,发<sub>1</sub>的沉淀效果不如发<sub>2</sub>或发<sub>3</sub>好。建议以经发酵的榨汁液发酵酸作为沉淀剂使用。从表 3 还可以看出,发酵酸与榨汁液的体积比在 1:(1/3~2/3)之间沉淀效果较好。

表 3 发酵酸用量对叶蛋白沉淀效果的影响

母酸 种类	V(榨汁液)/ V(发酵酸)	发 <sub>1</sub>					发 <sub>2</sub> 或发 <sub>3</sub>				
		混合液 pH 值	絮凝 时间	w(粗蛋 白)/%	提取 率/%	得率/ %	混合液 pH 值	絮凝 时间	w(粗蛋 白)/%	提取 率/%	得率/ %
泡菜水	1/3	3.58	24 h	50.75	28.6	1.70	3.56	24 h	59.32	29.1	1.48
	1/2.5	3.62	24 h	51.32	24.2	1.40	3.62	24 h	56.25	30.6	1.64
	1/2	3.65	10 min	59.20	28.0	1.42	3.64	10 min	57.84	30.6	1.60
	1/1.5	3.75	10 min	57.32	28.6	1.50	3.66	10 min	54.54	30.7	1.70
	1/1	3.78	10 min	54.03	29.6	1.66	3.68	10 min	59.35	36.0	1.82
	1/0.5	3.82	10 min	57.47	35.0	1.84	3.70	10 min	55.45	32.7	1.78
德氏乳杆 菌发酵淀 粉糖化液	1/3	3.58	10 min	62.34	37.2	1.80	3.75	10 min	59.23	48.2	2.26
	1/2.5	3.69	10 min	58.74	29.2	1.50	3.82	10 min	57.15	44.2	2.34
	1/2	3.78	10 min	57.58	40.8	2.14	3.85	10 min	62.30	38.4	1.86
	1/1.5	3.82	10 min	59.23	39.6	2.02	3.91	10 min	54.55	30.8	1.70
	1/1	3.97	5 h	54.00	40.2	2.23	3.97	8 h	57.28	31.4	1.66
	1/0.5	4.12	30 h	49.28	29.0	1.98	4.06	30 h	54.39	27.0	1.50

说明:试验材料采摘日期为 05-22。

### 2.4 提高母液与上清液的体积比对发酵速度的影响

改变母酸与上清液之间的体积比,可以从 2 个方面影响上清液的发酵:一是降低上清液发酵的起始 pH 值,母酸用量越大,上清液发酵的起始 pH 值越低;二是母酸用量越大,上清液中起始乳酸菌数量越多,发酵速度越快。为了得到高质量的发酵酸沉淀剂,笔者以用量不同的母酸发酵而生成的发酵酸,按 3:1 的体积比与榨汁液混合,得到表 4 结果。可以看出,增加母酸与上清液用量的体积比,可明显加快上清液的发酵速度。当母酸与上清液的体积比为 1:(1/3~2)时,上清液发酵 24 h 左右其 pH 值即可达到营养酸模等电点附近。此外,用德氏乳杆菌制成的发酵酸,其沉淀效果比用泡菜水制成的发酵酸好。

①葛旦之,罗翠兰.发酵酸法提取水花生叶蛋白的工艺技术研究.见:全国首届叶蛋白学术讨论会(长沙)论文集.1994.45~48

表4 不同配比组合处理的发酵酸与叶蛋白沉淀效果的关系

发酵酸 种类	V(母酸)/ V(上清液)	发酵 24 h pH 值	混合液 pH 值	絮凝 时间	w(粗蛋白)/ %	提取率/ %	得率/ %
泡菜水 发酵酸	1/10	4.10	4.27	48 h	49.07	28.97	1.78
	1/5	3.92	4.16	12 h	50.72	30.76	1.83
	1/2	3.85	4.03	30 min	57.09	38.88	2.06
	1/1	3.78	3.94	10 min	56.32	40.00	2.15
	2/1	3.76	3.90	10 min	59.48	44.97	2.28
	3/1	3.62	3.85	1 h	56.41	40.70	2.18
德氏乳杆 菌发酵酸	1/10	3.92	4.06	30 h	53.25	30.20	1.71
	1/5	3.90	3.93	5 h	51.27	31.40	1.85
	1/2	3.84	3.83	30 min	58.39	41.60	2.16
	1/1	3.82	3.79	10 min	59.22	43.50	2.22
	2/1	3.75	3.77	10 min	57.63	41.00	2.15
	3/1	3.72	3.75	10 min	61.25	35.30	1.74

说明:1)V(发酵酸):V(榨汁液)=3:1; 2)试验材料采摘日期为05-22。

## 2.5 鲜叶中蛋白质的流程追踪

加工各流程中蛋白质含量的测定结果如下:1 200 g 鲜叶,其中  $w(\text{粗蛋白})=3.02\%$ ,将鲜叶粉碎榨汁,得榨汁液 900 g,其中  $w(\text{粗蛋白})=1.63\%$ ,得草渣 300 g,其中  $w(\text{粗蛋白})=5.48\%$ ,其余蛋白质则可能留在打浆机或滤布中。榨汁液加入发酵酸后,离心分离得到湿蛋白膏 45 g,其中  $w(\text{粗蛋白})=22\%$ ,得上清液 955 g,其中  $w(\text{粗蛋白})=0.25\%$ ,其余的蛋白质可能损失在离心管及容器中。湿蛋白膏烘干后质量为 18 g,其中  $w(\text{粗蛋白质})=55.0\%$ 。

## 3 结 论

1)用德氏杆菌发酵淀粉糖化液制成的发酵酸对营养酸模叶蛋白的沉淀效果优于用泡菜水制成的发酵酸。

2)沉淀营养酸模叶蛋白的最佳工艺参数为:母酸与上清液的体积比为 1:(1/3~2),发酵酸与榨汁液的体积比为 1:(1/3~2/3)。用此方法获得的叶蛋白粗蛋白的质量分数为 58%~61%,提取率为 35%~43%。此方法简便易行。

3)用德氏乳杆菌制备发酵酸在国内未见报道。