

文章编号:1673-1689(2006)04-0016-04

苜蓿浓缩叶蛋白脱色、脱腥工艺研究

张泽生¹, 赵希艳²

(1. 天津科技大学 食品工程与生物技术学院,天津 300222;2. 河北科技师范学院 食品工程系,河北 昌黎 066600)

摘要:通过试剂筛选,以无水乙醇为浸提剂,研究了不同条件对苜蓿浓缩叶蛋白脱色、脱腥的影响,通过正交试验得出了脱色的最佳工艺条件:液固体积质量比 6 mL : 1 g,浸提温度 85 ℃;浸提时间 4 h;浸提级数 3 级。此工艺参数的确定为苜蓿叶蛋白的脱色、脱腥提供了新方法,提高了苜蓿浓缩叶蛋白在食品中应用的可行性。

关键词:苜蓿;叶蛋白浓缩物;脱色;脱腥;工艺参数

中图分类号:S 551.7

文献标识码:A

Determination of Optimal Operating Condition for LPC Decolouration and Odor Elimination

ZHANG Ze-sheng¹, ZHAO Xi-yan²

(1. College of Food Engineer and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China; 2. Department of Food Engineering, Hebei Normal University of Science & Technology, Cangli 066600, China)

Abstract: This paper showed that operating conditions influenced the decolourization and fishy odor elimination of the leaf protein concentrates of alfalfa. Under the condition of using anhydrous ethanol as soaking extractant, the optimal operating conditions were determined by orthogonal design. The optimal conditions were: liquid/solid ratio(wt) of 6 : 1, and soaking at 85 ℃ for 3 h with 3 stages. The study offered a method for decolourization and fishy odor elimination of the leaf protein, and supplied the alfalfa's leaf protein concentrates with potential application feasibility in food industry.

Key words: alfalfa; Leaf protein concentrates; decolourization; taking off fishy smell; craft parameter

浓缩叶蛋白(LPC)是绿色植物嫩茎叶经粉碎压榨后提取的蛋白质浓缩物,它是一种营养价值较好的食用蛋白新资源^[1-2]。苜蓿叶蛋白中含有高质量蛋白质,其主要氨基酸含量高于 FAD 推荐值,营养价值高于大豆饼、花生饼^[3]。国外实验表明,苜蓿

叶蛋白的生物价高达 80%,可与牛乳和肉类相媲美^[4]。将叶蛋白添加到婴儿食品中,实验结果证实含叶蛋白的食物与全牛乳的营养品质相当^[5]。叶蛋白作为一类低纤维、低脂肪的蛋白原,富含胡萝卜素和叶黄素,无动物蛋白所含的胆固醇,更适合

作为儿童、孕妇、贫血病人、高血脂病人及老年人的保健品^[6-7]。苜蓿叶蛋白中还含有 VA, VE, VK 等维生素和铁、镁、钙、锌、铜等矿物质元素,具有多种生理功能^[8]。若将 LPC 作为食品的营养强化成分,可以提高食品中蛋白质含量,提高其营养价值。目前国内对苜蓿浓缩叶蛋白的研究大多局限于提取方法的研究^[8-13],有关脱色、脱腥及苜蓿浓缩叶蛋白应用的研究还较少^[14-16]。由于苜蓿浓缩叶蛋白带有很深的绿色和青草味,从视觉和味觉上使人难于接受,如果脱去叶蛋白的色素及草腥味可以开发苜蓿叶蛋白食品,同时还可以得到天然色素,对苜蓿的综合利用有较大价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

1.1.1 试验材料 紫花苜蓿,处于营养生长阶段,取距顶部约 10 cm 长的新鲜的嫩茎叶,采集地为河北科技师范学院动物科技系牧场。

1.1.2 试剂 盐酸,无水乙醇,浓硫酸,硼酸,磷苯二甲酸氢钾,硫酸铜,硫酸钾,甲基红-溴甲酚氯指示剂,丙酮,过氧化氢,均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

打浆机,恒温水浴锅,PHS-3E 型 pH 计,电子天平,LXJ-64-01 型离心机,721 型分光光度计,自动凯氏定氮仪,粉碎机,蒸汽回流装置。

1.3 方法

1.3.1 苜蓿叶蛋白的制备 紫花苜蓿→打浆→榨汁→絮凝→离心→沉淀物→干燥→粉碎→取样→浸提→离心→叶蛋白

↓

浸提液→叶绿素

1.3.2 操作要点 采摘紫花苜蓿嫩茎叶,用打浆机打浆,打浆原料与水比为 2 g : 1 mL,时间 9 min,浆液用 4 层纱布过滤。调浆液 pH 值为 4,在 80℃ 条件下加热 5 min 进行絮凝。在絮凝的基础上,进一步将其离心 10 min,3 000 r/min,去除上清液,将沉淀物在常温条件下自然干燥即得浓缩叶蛋白(LPC)。将浓缩叶蛋白以 120 目筛粉碎,按照实验所需取样,装与烧瓶中,采用回流装置分别在不同条件下浸提。

1.4 试验方法

先通过初步试验确定浸提试剂,再通过单因素试验,分析影响浓缩叶蛋白脱色、脱腥的各因素:液固体积质量比、加热温度、加热时间,单因素试验各重复 3 次,取平均值,分别根据色素吸光度、蛋白质

的含量分析结果,再在单因素的基础上设计正交试验,得到最佳工艺参数。

1.4.1 浸提试剂的确定 分别用体积分数 80% 丙酮、无水乙醇、体积分数 10% 过氧化氢溶液将 LPC 粉按照液固质量比为 3 mL : 1 g 在温度为 30~35℃ 条件下浸提 3 h,离心,弃去浸提液,对沉淀物进行感官鉴评。

1.4.2 液固质量比的确定 将无水乙醇与 LPC 粉按照液固体积质量比(mL : g)为 2 : 1、4 : 1、6 : 1、8 : 1、10 : 1 在常温下浸提 1 h,离心,测浸提液的叶绿素得率、沉淀物的蛋白质质量分数,再根据叶绿素得率、蛋白质质量分数确定较好的液固体积质量比。

1.4.3 浸提温度的确定 在确定的液固比条件下,将 LPC 在温度分别为 50、60、70、80、90℃ 的条件下,浸提 1 h,离心,测浸提液的叶绿素得率、沉淀物的蛋白质质量分数,根据叶绿素得率、蛋白质质量分数确定较好的浸提温度。

1.4.4 浸提时间的确定 按照确定的较好的液固比和浸提温度,将 LPC 分别浸提 1、3、5、7、9 h,离心,测浸提液的叶绿素得率、沉淀物的蛋白质质量分数,根据叶绿素得率、蛋白质含量确定较好的浸提时间。

1.4.5 正交试验的设计 在单因素的基础上,为了得到 LPC 粉脱色的最佳工艺参数,设计正交试验。试验因素为:液固体积质量比、加热温度、加热时间和浸提级数,选用 $L_9(3^4)$ 正交表,正交试验设计见表 1。

表 1 影响 LPC 粉脱色效果的因素水平

Tab. 1 The level of experimental factors on LPC decoloration

水平	因素			
	液固体积质量比/(mL : g)	浸提温度/℃	浸提时间/h	浸提级数
1	5 : 1	75	2	1
2	6 : 1	80	3	3
3	7 : 1	85	4	5

1.4.6 吸光度测定 浸提液用 721 型分光光度计在 652 nm 波长条件下测其吸光度。

1.4.7 蛋白质质量分数测定 凯氏定氮法^[5]。

1.4.8 颜色、气味评定 感官评定法。

2 结果与分析

2.1 不同试剂对脱色、脱腥效果的影响

不同试剂对浓缩苜蓿叶蛋白脱色、脱腥效果的影响,结果见表 2。

表 2 不同浸提剂对脱色、脱腥效果的感官评定

Tab. 2 The sensory evaluation of decoloration and odor elimination on LPC

试 剂	颜 色	气 味
丙酮(体积分数 80%)	绿色	草腥味浓
乙醇	浅黄绿色	草腥味较浓
过氧化氢(体积分数 10%)	黄绿色	草腥味较淡

由表 2 可知,试剂无水乙醇的脱色、脱腥效果较好。

2.2 液固体积质量比对脱色、脱腥效果的影响

测定浸提液的吸光度并计算叶绿素得率结果见图 1,蛋白质质量分数结果见图 2,沉淀物感官评定结果见表 3。

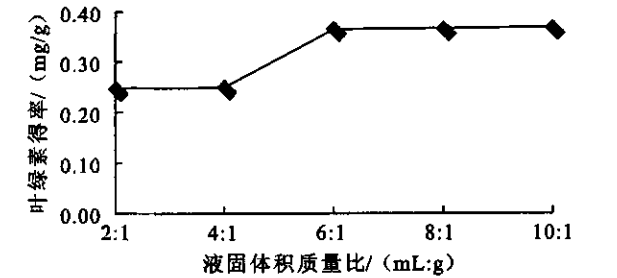


图 1 液固体积质量比对脱色效果的影响

Fig. 1 Effect of liquid/solid ratio on decoloration

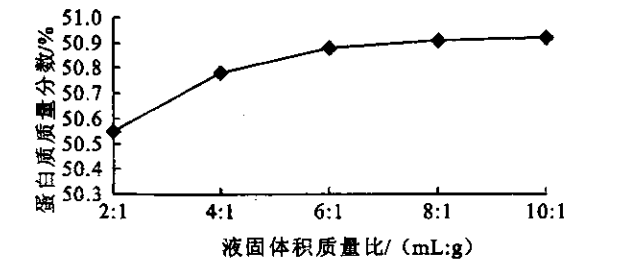


图 2 液固体积质量比对蛋白质质量分数的影响

Fig. 2 Effect of liquid/solid ratio on protein contents

表 3 液固质量比对脱色、脱腥效果的感官评定

Tab. 3 The sensory evaluation of different liquid-solid ratio on LPC

液固体积质量比/ (mL : g)	颜 色	气 味
2 : 1	墨绿色	草腥味浓
4 : 1	草绿色	草腥味较浓
6 : 1	浅黄绿色	草腥味较淡
8 : 1	浅黄绿色	草腥味较淡
10 : 1	浅灰色	草腥味淡

由图 1、图 2 可知,叶绿素得率和蛋白质质量分数均随液固比的升高而升高,呈上升趋势,但当液

固体积质量比为 6 mL : 1 g 趋势趋于平缓。由表 2 可知,浓缩苜蓿叶蛋白随液固体积质量比升高颜色气味变淡,脱色、脱味效果明显,叶蛋白有明显的白色颗粒。综合考虑,选用液固体积质量比为 6 mL : 1 g 为较好的浸提液固体积质量比。

2.3 浸提温度对脱色、脱腥效果的影响

不同温度条件下浸提后,测定浸提液的吸光度并计算叶绿素得率,蛋白质质量分数结果见图 3 与图 4,沉淀物感官评定结果见表 4。

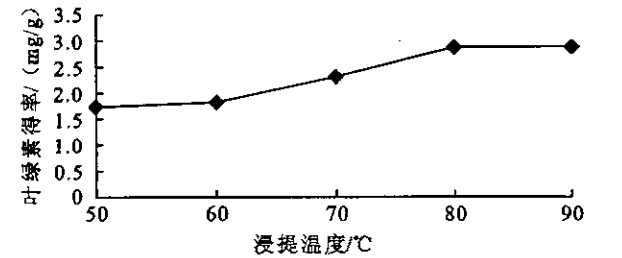


图 3 浸提温度对脱色效果的影响

Fig. 3 Effect of soaking temperature on decoloration

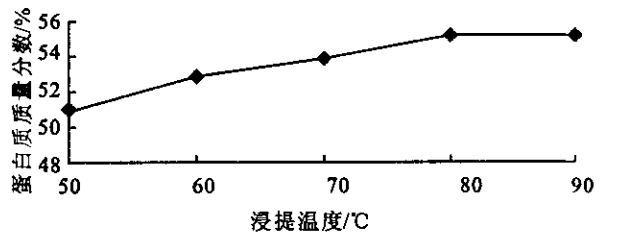


图 4 浸提温度对蛋白质质量分数的影响

Fig. 4 Effect of soaking temperature on protein contents

图 3 及图 4 表明,叶绿素得率和蛋白质质量分数均随温度的升高呈上升趋势,但当温度升高到 80 ℃以后趋势不明显。

表 4 浸提温度对叶蛋白脱色、脱腥效果的感官评定

Tab. 4 The effect of different extracting temperature on LPC

浸提温度/℃	颜 色	气 味
50	墨绿色	草腥味浓
60	草绿色	草腥味较浓
70	黄绿色	草腥味淡
80	浅黄绿色	草腥味较淡
90	浅黄绿色	草腥味较淡

由表 4 可知,随温度的升高浸提液颜色变深,浓缩苜蓿叶蛋白色泽变浅,气味残留变低。综合考虑,选用温度 80 ℃为较好的浸提温度。

2.4 浸提时间对脱色、脱腥效果的影响

测定浸提液的吸光度并计算叶绿素得率结果见图 5,蛋白质质量分数结果见图 6,沉淀物感官评定结果见表 5。

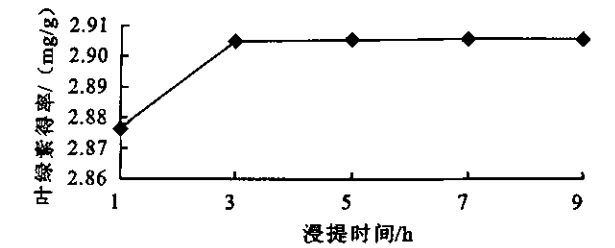


图 5 浸提时间对脱色效果的影响

Fig. 5 Effect of soaking time on decoloration

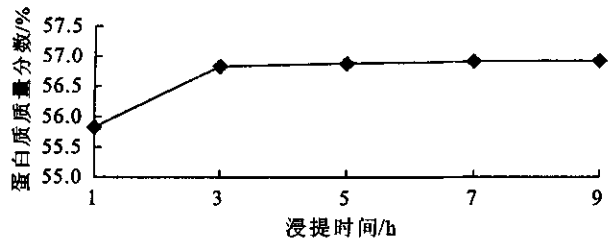


图 6 浸提时间对蛋白质质量分数的影响

Fig. 6 Effect of soaking time on protein contents

表 5 浸提时间对脱色、脱腥效果的感官评定

Tab. 5 The effect of different extracting time on LPC

浸提时间/h	颜色	气 味
1	墨绿色	草腥味浓
3	浅灰色	草腥味淡
5	浅灰色	草腥味淡
7	浅灰色	草腥味较淡
9	浅灰色	草腥味较淡

图 5、图 6 表明,随浸提时间延长,叶绿素得率和蛋白质含量均呈上升趋势,但 浸提 3 h 以后,趋势平缓。由表 5 可以看出,随浸提时间延长,脱色、脱腥浸提效果也呈上升趋势,但 浸提 3 h 以后,颜色、气味变化不大。考虑到浸提 3 h 后其脱色、脱腥效果不太显著,且延长时间会增大成本,所以浸提时间选用 3 h。

2.5 最佳工艺参数的确定

在单因素基础上选用液固质量体积比、浸提温度、浸提时间、浸提级数作为正交试验因素,试验结果见表 6。

由表 6 可见,浓缩苜蓿叶蛋白用无水乙醇浸提脱色的最佳的因素水平是 $A_2B_3C_3D_2$,即液固体积质量比 6 : 1,浸提温度 85 ℃,浸提时间 4 h,浸提级数 3 级。依据 R 值大小得出影响浓缩苜蓿叶蛋白用无水乙醇浸提脱色的各因素的主次顺序为: $D>B>A>C$,即浸提级数>浸提温度>液固体积质量比>浸提时间。

表 6 $L_9(3^4)$ 正交试验结果和分析

Tab. 6 The results and analysis of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	因 素				
	液固体积 质量比 $A(\text{mL}:\text{g})$	浸提 温度 $B/^{\circ}\text{C}$	浸提 时间 C/h	浸提 级数 D	叶绿素 得率/ (mg/g)
1	1	1	1	1	1.28
2	1	2	2	2	2.92
3	1	3	3	3	3.55
4	2	1	2	3	2.93
5	2	2	3	1	2.35
6	2	3	1	2	3.96
7	3	1	3	2	3.31
8	3	2	1	3	3.20
9	3	3	2	1	2.54
K_1	7.75	7.52	8.46	6.18	$T=26.05$
K_2	9.24	8.49	8.38	10.18	$X=2.89$
K_3	9.07	10.05	9.21	9.69	
k_1	2.58	2.51	2.82	2.06	
k_2	3.08	2.83	2.79	3.39	
k_3	3.028	3.35	3.07	3.23	
R_i	0.50	0.84	0.28	1.33	

3 讨 论

用体积分数 80% 的丙酮、无水乙醇、10% 过氧化氢溶液对浓缩苜蓿叶蛋白脱色、脱腥,试验表明,以无水乙醇浸提的效果为好。浓缩苜蓿叶蛋白用无水乙醇浸提脱色、脱腥的最佳工艺条件为:液固体积质量比 6 : 1;浸提温度 85 ℃;浸提时间 4 h;浸提级数 3 级。影响脱色效果的各因素主次顺序为:浸提级数>浸提温度>液固比>浸提时间。利用上述最佳工艺参数得到脱色、脱腥叶蛋白的颜色为浅灰白色,草腥味非常淡,蛋白质量分数为 57.01%。

经无水乙醇脱色后的叶蛋白可作为食用蛋白质或食品营养强化剂,其在食品、医药等方面的应用将作为今后的研究重点。

(下转第 42 页)

[6] 杨春,卢健鸣. 低糖果脯水分活性对保质期影响的研究[J]. 食品工业科技,2002(12):23—24.

[7] Gabriella G, Angela Paradiso. Stability of dried and intermediate moisture tomato pulp during storage [J]. **Agricultural and Food Chemistry**,2002(50):7277—7281.

[8] Zanoni B,Pagliarini B, Foschino R. Study of the stability of dried tomato halves during shelf-life to minimize oxidative damage [J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,2000(80):2203—2208.

[9] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:轻工业出版社,1989.

[10] 张春华. 不同预处理的脱水甘蓝品质[D]. 无锡:江南大学,2005.

[11] 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州:苏州大学出版社,2002.

[12] Moreno J, Chiralt A. Dehydration combined methods on quality and stability of minimally processed strawberries[J]. **Food Research International**, 2002,(33):151—168.

(责任编辑:杨 萌)

(上接第 19 页)

参考文献:

[1] 强莉. 苜蓿叶蛋白的加工及开发利用[J]. 饲料博览,2002,(4):43—45.

[2] 宋成. 开发叶蛋白生产[J]. 饲料与畜牧,1990,(3):8—11.

[3] Fasakin FA. Nutrient quality of leaf protein concentrates ptoduce from water fern(Azolla Africaana Desv)and duckweed (Spirodela polyrrhiza L. Schleiden) [J]. **Bioresource Technology**,1999,69(2):185—187.

[4] Aletor O, Oshodi K. Chemical common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates[J]. **Food Chemistry**,2002,78:63—68.

[5] F H Shah. Feeding trials of village children in Pakistan[J]. **Protein research**,1984,50:317—322.

[6] Dev D V,Usha R B,Joshi R N. The yields of extracted leaf protein from lucerne[J]. **Journal Science Food Agriculture**, 1974,25:725—733.

[7] Eldean D Gerloff,Iracema H Lima,Mark A Stahman. Amino acid composition of leaf protein[J]. **Agriculture and Food Chemistry**,1965,13(2):139—142.

[8] 邓勇. 叶蛋白的提取工艺[J]. 中国农业大学学报,1997,2960:88—91.

[9] 陆恒. 苜蓿叶蛋白生产工艺及其利用[J]. 农产品加工,2003,(5):14—15.

[10] 张秀平. 苜蓿叶蛋白最佳提取方法筛选[J]. 草业科学,1992,9(1)68—70.

[11]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,1997,(3):231—234.

[12] 张秀分. 利用苜蓿、沙打旺提取叶蛋白饲料的研究[J]. 中国草地,1990,(5):39—41.

[13] 许曼驯. 叶蛋白浓缩物的提取及饲鱼效果[J]. 饲料研究,1991,(3):10—12.

[14] 成明华,关东胜,吴卫华. 苜蓿叶蛋白粉叶绿素的提取工艺[J]. 中国农业大学学报,19983,(4):93—97.

[15] 郑建仙. 植物蛋白应用与研究[J]. 中国粮油学报,1992(1):2.

[16] 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.

(责任编辑:朱 明)