

水葫芦叶蛋白提取工艺初步研究

吕富,茅玲燕,季涛,狄学良,吴海俊,殷爱阳,冒磊磊

(盐城工学院 化学与生物工程学院,江苏省沿海池塘养殖生态重点实验室,江苏 盐城 224051)

摘要:为高效利用水葫芦和缓解我国蛋白资源的紧缺,初步研究了加热法、氯化钙和葡萄糖酸内酯絮凝及直接发酵法提取水葫芦叶蛋白。研究结果表明加热法的最适温度范围70~80℃、氯化钙和葡萄糖酸内酯絮凝最适添加量分别为0.2%和0.1%、直接发酵法最适发酵时间为24~48 h,提取效果优劣先后排序依次为加热法、氯化钙絮凝、葡萄糖酸内酯絮凝和直接发酵法。

关键词:水葫芦;叶蛋白;提取工艺

中图分类号:S451.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-5322(2013)01-0010-04

水葫芦(*water hyacinth*)学名凤眼莲(*Eichhornia crassipes*),系雨久花科,凤眼莲属,为多年生宿根浮水草本植物,兼有无性和有性生殖功能,尤以无性繁殖为主,是世界上生长繁殖最快的水生植物之一。在适宜条件下,种群生长和恢复能力极强,每天可增加20%~30%的生物量,一般每公顷水面年产鲜草1 000 t左右,折合干物质50 t左右,高者每公顷甚至可年产鲜草达到3 000 t^[1-2]。由于其生长繁殖快,在快速生长过程中大量消耗水中营养物质,因而具有快速净化水质的功能,但若不及时收获,则其衰老死亡的个体又会加剧水体富营养化^[3]。另外,繁殖盛期的水葫芦常大面积覆盖水面,造成河道湖面堵塞,不仅影响航运、排灌和泄洪,而且会导致被覆盖水域无光照和缺氧,危害其他水生生物的安全,破坏渔业生产和生态平衡^[4]。鉴于此,水葫芦被列为世界公认的十大害草之冠,并被“世界自然保护联盟”列为世界百名“生物杀手榜”的亚军^[5]。近年来,我国每年由于水葫芦造成的直接经济损失达80亿~100亿元,其中仅治理费用一项就高达(5~10)亿元人民币^[6]。实现水葫芦高效资源化利用,变害为宝是解决其危害的最根本途径。水葫芦干叶中粗蛋白含量为20.8%左右^[7],且氨基酸组成比例适当,优于大米蛋白和大豆蛋白^[8],非常适合用做

饲料蛋白源,但其含水量高达95%左右,不适宜直接饲喂动物,也难以高效经济地大量制成干粉。本试验对利用水葫芦提取叶蛋白进行了初步研究,旨在为高效资源化利用水葫芦和缓解我国蛋白资源的紧缺提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用水葫芦采自盐城工学院东校区临近的河道中,均处于生长旺期,株高30 cm左右。

1.2 试验方法

1.2.1 水葫芦处理

将水葫芦整株打浆榨汁,用200目筛绢滤除汁液中的残渣,10 kg新鲜水葫芦共获得汁液5 650 mL(5 730.7 g),用考马斯亮蓝法测定其可溶性蛋白含量为7.56 mg/mL。

1.2.2 叶蛋白提取

将水葫芦汁液充分摇匀后,分装在透明塑料离心管中,每管50 mL,分别采用加热法、絮凝法、直接发酵法提取叶蛋白。加热法为将装有汁液的离心管分别浸放在50、60、70、80、90℃的恒温水浴中加热15 min,常温下垂直静置12 h;絮凝法为

收稿日期:2013-01-20

基金项目:江苏省大学生实践创新训练项目

作者简介:吕富(1971-),男,江苏东台人,副教授,博士生,主要研究方向为水产养殖、苗种繁育和生物资源开发利用。

每 100 mL 汁液中分别添加 0.05、0.1、0.2、0.4、0.6 g 氯化钙或葡萄糖酸内酯絮凝,常温下垂直静置 12 h;直接发酵法为将装有汁液的离心管密封,分别在常温下垂直放置发酵 24、48、72、96 h。以上每个处理均设置 4 个重复,处理结束后用注射器小心吸出上清液,并测量其体积同时用考马斯亮蓝法测定其中可溶性蛋白含量,余下沉积物用离心机 3 000/min 离心 10 min,所得沉淀在 60 °C 下真空干燥即为叶蛋白,用分析天平称重并记录。

1.2.3 叶蛋白提取评价指标建立与计算

本试验分别用汁液浓缩率、可溶性蛋白沉降率和叶蛋白得率作为不同方法提取叶蛋白效果的评价指标。其中汁液浓缩率 = 上清液体积/汁液总体积 × 100,该指标反映初次浓缩效果,浓缩率越大后续离心能耗就越少;蛋白沉降率 = (汁液可溶性蛋白含量 - 上清液可溶性蛋白含量)/汁液可溶性蛋白含量 × 100,该指标一般可间接反映

叶蛋白的质量,数值高往往意味着叶蛋白产品中的蛋白含量也高;叶蛋白得率 = 叶蛋白干重/汁液体积 × 100,该指标可直接反映单位体积汁液的叶蛋白产量。

2 结果与分析

2.1 加热法对水葫芦叶蛋白提取的影响

加热法提取植物叶蛋白是利用高温破坏蛋白质的空间结构,使其失去稳定性而变性凝固。加热法对水葫芦叶蛋白提取的影响如表 1 所示,汁液浓缩率、蛋白沉降率和叶蛋白得率均随温度升高而升高,且温度从 50 °C 升高至 70 °C 时三者升高幅度较大,而当温度达到 70 °C 时继续升温只有汁液浓缩率和蛋白沉降率略微有所升高,而叶蛋白得率不再升高。因此综合考虑加热的能量消耗和叶蛋白的产量与质量,提取水葫芦叶蛋白的温度以 70 ~ 80 °C 最为适宜。

表 1 温度对水葫芦叶蛋白提取的影响

Table 1 Effect of Temperature on the Leaf Protein Concentrate of *Eichhornia Crassipes*

评价指标	加热温度/°C				
	50	60	70	80	90
汁液浓缩率/%	24.45 ± 0.75	42.60 ± 0.67	54.85 ± 0.82	58.65 ± 0.62	58.70 ± 0.62
蛋白沉降率/%	30.26 ± 1.75	41.90 ± 1.65	64.12 ± 1.95	65.24 ± 1.14	65.34 ± 0.88
叶蛋白得率/%	1.39 ± 0.03	1.46 ± 0.02	1.52 ± 0.01	1.52 ± 0.01	1.52 ± 0.01

2.2 絮凝法对水葫芦叶蛋白提取的影响

由于水化层和双电层的存在,蛋白质分子在水中形成稳定的胶体溶液。如果向蛋白质溶液中加入适量的某种电解质,以破坏其颗粒表面的双电层或调节溶液的 pH 使其达到等电点,蛋白质颗粒因失去电荷变得不稳定而将沉淀析出。因此常用的絮凝剂都是一些盐类或酸碱等物质。本试验所用氯化钙是一种水产饲料常用钙盐,其添加量对水葫芦叶蛋白的提取效果如表 2 所示,汁液中添加 0.2% 的氯化钙时汁液浓缩率、蛋白沉降率和叶蛋白得率均最高,而低于和高于 0.2% 时三者均会不同程度下降。本试验所用葡萄糖酸内酯是目前最为常见的豆腐凝固剂,在水中可分解为葡萄糖酸,释放出质子(H⁺)使蛋白质表面带负电荷的基团减少,蛋白质分子之间的静电斥力减弱,有利于蛋白质分子的凝结,其添加量对水葫

芦叶蛋白的提取效果如表 3 所示,当汁液中添加 0.1% 的葡萄糖酸内酯时汁液浓缩率、蛋白沉降率和叶蛋白得率均最高,提高添加量反而会使汁液浓缩率、蛋白沉降率和叶蛋白得率下降,这主要是由于过量添加会使溶液中产生多余质子(H⁺)使蛋白质偏离等电点,一些已经沉淀的蛋白质会重新溶解。

2.3 直接发酵法对水葫芦叶蛋白提取的影响

直接发酵法提取水葫芦叶蛋白是利用自然菌种发酵时产生的 CO₂ 和乳酸等有机酸使汁液中的部分蛋白质达到等电点而沉淀的一种提取方法。本研究结果如表 4 所示,发酵 48 h 时汁液浓缩率和叶蛋白得率均最高,但蛋白沉降率的变化趋势与汁液浓缩率和叶蛋白得率并不一致,其值随发酵时间延长而增大,推测这可能是由于发酵过程中微生物大量繁殖时消耗利用了汁液中部分

表 2 氯化钙添加量对水葫芦叶蛋白提取的影响

Table 2 Effect of Calcium Chloride on the Leaf Protein Concentrate of *Eichhornia Crassipes*

评价指标	氯化钙添加量/%				
	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6
汁液浓缩率/%	44.85 ± 0.72	50.55 ± 0.60	52.05 ± 0.72	48.55 ± 0.77	48.50 ± 0.35
蛋白沉降率/%	53.57 ± 1.43	64.86 ± 1.37	65.30 ± 0.78	63.05 ± 0.76	61.21 ± 1.06
叶蛋白得率/%	1.43 ± 0.01	1.51 ± 0.01	1.52 ± 0.01	1.51 ± 0.01	1.50 ± 0.01

表 3 葡萄糖酸内酯添加量对水葫芦叶蛋白提取的影响

Table 3 Effect of Gluconolactone on the Leaf Protein Concentrate of *Eichhornia Crassipes*

评价指标	葡萄糖酸内酯添加量/%				
	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6
汁液浓缩率/%	46.25 ± 0.44	48.90 ± 0.58	46.35 ± 0.70	45.20 ± 0.78	43.05 ± 0.62
蛋白沉降率/%	58.17 ± 1.15	63.23 ± 0.90	60.36 ± 0.84	59.37 ± 0.70	57.83 ± 0.91
叶蛋白得率/%	1.41 ± 0.01	1.48 ± 0.01	1.44 ± 0.01	1.43 ± 0.01	1.39 ± 0.01

表 4 直接发酵时间对水葫芦叶蛋白提取的影响

Table 4 Effect of Direct Fermentation Time on the Leaf Protein Concentrate of *Eichhornia Crassipes*

评价指标	直接发酵时间/h			
	24	48	72	96
汁液浓缩率/%	42.05 ± 0.66	46.50 ± 0.77	46.35 ± 0.75	45.41 ± 1.09
蛋白沉降率/%	56.12 ± 1.03	60.15 ± 0.96	64.32 ± 1.04	67.29 ± 0.61
叶蛋白得率/%	1.09 ± 0.01	1.12 ± 0.01	1.07 ± 0.01	1.00 ± 0.01

可溶性蛋白质所致。另外,通过鼻嗅感知经 72 h 和 96 h 发酵的产品有酸臭味。因此,直接发酵时间控制在 24 ~ 48 h 内较为适宜。

3 讨论

叶蛋白又称绿色蛋白浓缩物(Leaf protein concentrate,简称 LPC),是以新鲜牧草或其它青绿植物为原料,经打浆压榨后从其汁液中提取的高蛋白浓缩物^[9]。一些研究结果^[10-13]表明叶蛋白氨基酸组成齐全,比例平衡,与联合国粮农组织推荐的成人氨基酸模式相符,并且 Ca、P、Mg、Fe、Zn、胡萝卜素及叶黄素含量高,无动物蛋白所含的胆固醇,具有防病治病、防衰抗老、强身健体等多种生理功能,是一种具有高开发价值的新型蛋白质资源。长期以来蛋白质资源紧缺是一个世界性的问题,为解决这一问题国内外许多学者将目光瞄准丰富的植物资源,通过各种手段从植物中提取叶蛋白。综合国内外的研究和生产实践,目前叶蛋白的提取方法有如下步骤:(1)碎草;(2)打浆榨汁;(3)沉淀浓缩叶蛋白;(4)制备蛋白膏;

(5)干燥获得成品。其中最关键的是叶蛋白的浓缩阶段,这一步骤也是目前国内外学者研究的重点。

本试验初步研究了加热法、氯化钙或葡萄糖酸内酯絮凝和直接发酵法提取水葫芦叶蛋白,研究表明加热法的最适温度范围 70 ~ 80 ℃、氯化钙和葡萄糖酸内酯絮凝最适添加量分别为 0.2% 和 0.1%、直接发酵法最适发酵时间为 24 ~ 48 h,以提取效果优劣先后排序依次为加热法、氯化钙絮凝、葡萄糖酸内酯絮凝和直接发酵法。考虑到汁液中蛋白种类多、性质差异大,如果采用多种方法复合提取如先加热后发酵或加入某种絮凝剂再加热等措施,可能使蛋白质浓缩沉淀效果更好,因此为了提高产品的质量和产量,今后应开展复合提取方法研究。从现有结果看加热法是提取水葫芦叶蛋白的一种可行方法,但加热能耗成本高,如果生产中避免使用电煤等而是选择我国非常富余的农作物秸秆作为燃料,那么这种生产方法将会极大地降低成本,便于我国广大农村推广产业化。

参考文献:

- [1] Gutiérrez E L, Ruiz E F, Uribe E G, et al. Biomass and productivity of water - hyacinth and their application in control programs[J]. Aquatic Plant Management, 2001,31:255 - 257.
- [2] 常志州,郑建初. 水葫芦放养的生态风险及控制对策[J]. 江苏农业科学,2008(3):251 - 253.
- [3] 王云,龙凤玲,丁艳梅,等. 水葫芦生长对水质的影响规律研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(34):21228 - 21230.
- [4] 王一专,吴竞仑. 中国水葫芦危害、防治及开发利用[J]. 杂草科学,2004,3:6 - 9.
- [5] Mooney H A. Species without frontiers[J]. Nature, 1999,397:665 - 666.
- [6] 杨凤辉,马涛,陈家宽,等. 上海黄浦江凤眼莲灾害的发生机理及控制对策初探[J]. 复旦大学学报:自然科学版,2002,41(6):599 - 603.
- [7] Hira A K, Mahesh W, Jagath C. Use of water hyacinth - leaves (*Eichhornia crassipes*) replacing dhal grass (*hymenachne pseudointerrupta*) in the diet of goat[J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2002,5(2):218 - 220.
- [8] 崔立,肖怀平,陈鲁勇,等. 淀山水葫芦用于饲喂生长育肥猪的效果研究[J]. 饲料工业,2004,25(3):39 - 40.
- [9] Pirie N W. Leaf protein in human and animal nutrition[M]. Cambridge:Cambridge University Press,1987.
- [10] Carlson R. The nutritive value of mixtures of white leaf protein and food proteins[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1985,30:120 - 123.
- [11] Fasakin E A. Nutrient quality of leaf protein concentrates produced from water fern (*Azolla Africana* Desv) and duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L. Schleiden)[J]. Bioresource Technology, 1999,69(2):185 - 187.
- [12] Aletor O, Oshodi A A, Ipinmoroti K. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates[J]. Food Chemistry, 2002,78(1):63 - 68.
- [13] Pandey U N, Srivastava A K. A simple, low energy requiring method of coagulating leaf proteins for food use[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2005(43):241 - 245.

A Preliminary Study on the Extraction Process of Leaf Protein from Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*)

LV Fu, MAO Ling-yan, JI Tao, DI Xue-liang, WU Hai-jun, YIN Ai-yang, MAO Lei-lei
(Yancheng Institute of Technology, Key Laboratory of Aquaculture and Ecology of Coastal Pool in Jiangsu Province,
Yancheng Jiangsu 224051, China)

Abstract: In order to utilize water hyacinth efficiently and relieve the shortage of protein resources, a preliminary study on the extraction process of leaf protein from water hyacinth by heating, flocculation of calcium chloride and gluconolactone and direct fermentation respectively. The study results showed that the optimum temperature range of the heating method was 70 ~ 80 °C, the optimal added amount of calcium chloride and gluconolactone were 0.2% and 0.1% respectively, the optimum fermentation time was 24 ~ 48 h. The sequence in accordance with the merits of the extraction effect was heating method, calcium chloride flocculation, gluconolactone flocculation and the direct fermentation method.

Keywords: water hyacinth; leaf protein; extraction process

(责任编辑:沈建新)