

桑叶蛋白的功能和提取研究进展

刘一静, 刘继, 张驰松, 涂彩虹, 郑旗, 樊雪飞, 冯骏, 张正周 (成都市农林科学院, 四川成都 611100)

摘要 桑叶中蛋白质的含量可以占到干基重量的 15%~30%, 是蛋白含量较高的植物。对桑叶蛋白的功能特性及制备工艺等进行了系统性的论述。通过分析蛋白质的功能特性、提取方法及发展现状, 为深入研究桑叶蛋白以及开发桑叶蛋白新产品提供借鉴。

关键词 桑叶蛋白; 提取; 功能性

中图分类号 S789.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)04-0089-03

Research Progress on the Function and Extraction of Mulberry Leaf Protein

LIU Yi-jing, LIU Ji, ZHANG Chi-song et al (Chengdu Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Chengdu, Sichuan 611100)

Abstract The protein concentration of mulberry leaves ranges from 15% to 30%, which is quite high in plants. This paper described the functional characteristics and the extracting process of the mulberry protein. Through analyzing the functional characteristics, the extracting process and research status of mulberry protein, the study will provide reference for further research and development of mulberry protein products.

Key words Mulberry leaf protein; Extraction; Functionality

桑主要生长于热带和亚热带, 在我国分布均匀, 且种植面积广。桑树在生态治理方面, 具有防风固土^[1]、治理石漠化^[2]、复垦矿区^[3]、修复重金属污染耕地^[4]、修复盐碱地^[5]的作用。桑叶作为桑树的主要产物, 约占桑树地上部分产量的 64%^[6]。除去每年向国外出口的桑叶, 我国仍有大量的桑叶剩余, 造成一定的浪费。根据《本草纲目》《本草经解》和《本草再新》的记载, 桑叶不仅可作为家蚕饲料, 也具备润肺热、镇静神经、止咳的功效, 已于 1992 年被卫生部列为药食两用的品种^[7]。

作为最早开发和研究桑叶保健食品的国家之一, 目前日本保健品市场年需桑叶 5 万 t 左右, 其中大部分原料进口自我国及东南亚国家。在欧美市场桑叶加工品的销售额逐年增长, 相关保健品逐渐畅销的同时, 国内对桑叶的研究以及应用还处于萌芽状态。因此, 深入研究桑叶功能成分及提取方法, 对我国桑叶及相关产业发展具有重要意义^[8]。

目前我国桑叶的原料十分充足, 成本低廉, 应用潜力巨大。若能在利用桑树进行环境治理的同时, 充分开发桑叶的药用、食用价值, 将对桑资源废物再利用和我国蛋白质资源结构的改善起到促进作用。笔者就目前桑叶蛋白的研究开发现状进行综述, 希望能够为桑叶蛋白的深度研究和高附加值产品的开发提供参考。

1 桑叶蛋白的营养价值及药效特性

1.1 营养价值 桑叶中粗蛋白的含量为干基重量的 25% 左右^[9], 比日常饮食中的奶粉、燕麦等的蛋白质含量要高。通过酸沉法提取浓缩后所得桑叶粉的蛋白质含量可达 42% 左右, 与大豆中蛋白质含量相当^[10]。桑叶蛋白中总氨基酸含量为 361.1 mg/g, 其中人体所必需的氨基酸较为齐全, 占总氨基酸含量的 34.7%, 必需氨基酸/非必需氨基酸(E/N)值为 0.531, 接近联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)标准规定的必需氨基酸含量(40%)和 E/N 值(0.6)。桑叶蛋白的氨基酸比值系数分(SRCAA)为 69.71, 高于黑麦

草叶蛋白, 与绿豆蛋白、紫花苜蓿叶蛋白相当, 与猪肉(74)营养价值接近, 是营养价值较高的叶蛋白^[7]。

1.2 药效特性 乔璐^[11]的研究发现, 通过碱性蛋白酶水解得到的桑叶蛋白水解肽, 在体外具有很好的还原性, 100 μg/mL 的桑叶水解肽同 40 μg/mL 的维生素 C 的还原力相当, 具有抗衰老的功效。桑叶中还含有丰富的 γ-氨基丁酸(GABA), 在干桑叶中的平均含量达到 2.26 mg/g, 高于大豆和茶叶中 GABA 的含量, 占到氨基酸总量的 1.12%^[12], 而 γ-氨基丁酸的前体物质谷氨酸则占到氨基酸含量的 13.70%。γ-氨基丁酸具有极强的生理活性, 是中枢神经系统的主要抑制性递质, 具有延长记忆、改善视觉功能、镇定神经、抗焦虑、降血压、改善肝功能的作用^[13]。

2 桑叶蛋白的功能特性

桑叶蛋白的功能特性主要包括溶解性、持水性、乳化性及乳化稳定性和起泡性^[9]。

2.1 pH 对桑叶蛋白功能特性的影响 pH 对桑叶蛋白的功能特性有明显的影响。王芳等^[14]的研究表明, 桑叶蛋白在 pH 5 左右溶解度最小。这是由于此时的桑叶蛋白处于兼性离子状态, 净电荷为零, 蛋白质与水之间的作用力最弱, 而蛋白质之间的作用力最强, 最终导致桑叶蛋白的聚集和沉淀。同时桑叶蛋白的持水性^[15]、乳化性及乳化稳定性^[10]、起泡性^[14]也最小。而远离等电点时, 蛋白溶解度升高, 持水性、乳化性及稳定性、起泡性均增大。

2.2 温度对桑叶蛋白功能特性的影响 温度对桑叶蛋白的影响更为复杂一些, 当温度低于 60 ℃ 时, 桑叶蛋白的溶解度、持水性、乳化性及乳化稳定性随温度的升高而上升, 这是因为一定范围内的升温可以促使蛋白质分子立体结构的伸展, 从而增加蛋白质分子与水分子之间的相互作用力, 达到增加溶解度的效果。但高于 60 ℃ 以后, 高温会使桑叶蛋白变性, 发生聚集与沉淀, 因此溶解度、持水性、乳化性及乳化稳定性反而随温度的升高而降低^[14]。4~80 ℃ 的温度范围内, 桑叶蛋白的起泡性随着温度的升高而增大, 这是因为适当的热处理增加了蛋白质的膨胀度。

2.3 离子强度对桑叶蛋白功能特性的影响 当 NaCl 的浓

作者简介 刘一静(1990—), 女, 四川成都人, 助理工程师, 硕士, 从事农产品加工研究。

收稿日期 2016-12-14

度在 0~1.0 mol/L 的范围内时,桑叶蛋白的溶解度、持水性、起泡性均与 NaCl 的浓度成正比。这是由于当盐浓度升高时,蛋白质分子所带净电荷随之增加,蛋白质溶解度增加。当 NaCl 的浓度在 0.6~0.8 mol/L 时,其乳化性和乳化稳定性最好。

2.4 蔗糖质量浓度对桑叶蛋白功能特性的影响 在 50 g/L 的范围内,由于蔗糖的溶解降低了水分的活度,桑叶蛋白的溶解度和起泡性也随之降低。但蔗糖能够增加桑叶蛋白的乳化性和乳化稳定性。

3 桑叶蛋白提取方式的研究

目前国内外叶蛋白研究的重点是提取,以及如何使用最合适的方法和溶剂将蛋白质从其他杂质中分离出来。目前桑叶蛋白的提取方式主要有直接加热法、酸碱沉淀法、有机溶剂法、盐析法、乳酸发酵法、结晶和重结晶法以及泡沫分离技术,其中最常用的就是酸碱沉淀法。

在桑叶蛋白的实际应用中,不仅要考虑到桑叶蛋白的质量和提取效率,还要考虑成本和损耗等多方面因素。在具体生产过程中,应根据生产目的的不同选择不同的提取方法。若作为饲料,需大量生产,对产品纯度要求不高,考虑成本,可采用加热法、酸碱沉淀法。考虑到节约能源、减少环境污染,则可使用乳酸发酵法。若是做生化用品,对蛋白质质量和纯度要求较高,则可采用结晶和重结晶或泡沫分离技术。

3.1 直接加热法 直接加热法的优点是操作简单、廉价,但蛋白质的产率和质量不高。加热可使溶液中的叶蛋白迅速絮凝,同时也可钝化溶液中的酶,从而使得蛋白质的酶解作用停止,减少蛋白质的损失。影响叶蛋白提取加热温度和时间因素有叶蛋白中必需氨基酸及非必需氨基酸含量、含氮物质含量以及叶蛋白的消化速率。在一定条件下,温度越高,叶蛋白得率越高,但当温度过高时,也会使得蛋白质变性,从而导致叶蛋白的吸水性、乳化性和溶解性的降低。桑叶通过加热沉淀法提取蛋白质的最适温度为 75℃^[16-17]。

3.2 酸碱沉淀法 酸碱沉淀法具有操作方便、价格低廉的优势,通常与加热法结合成酸碱热提法来提取蛋白质。通常在对材料进行浸提之后,用 HCl 来调整浸提液 pH 到 4.0~4.5 或者用 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 或 NaOH 将浸提液的 pH 调整到 8.0~8.5,使蛋白质絮凝^[11,17]。孙崇臻等^[10]的研究表明,桑叶蛋白酸法沉淀的最优 pH 为 3.5,而酸热沉淀法的最优组合为 pH 3.0,加热温度 75℃,提取时间 15 min;同时柳斌等^[18]的研究也得出相似的结论。

与此同时,通过辅助方法来提高蛋白得率和质量也是酸碱沉淀法提取蛋白质的一个研究热点。相较于新鲜桑叶,从干桑叶中提取蛋白质更为困难,这是因为当细胞失水后,细胞壁缩小的同时,纤维化增强。屈红森等^[19]在采用酸沉淀法从干桑叶提取蛋白质的同时,利用枯草芽孢杆菌促进桑叶中蛋白质的释放和提高桑叶蛋白的品质。朱天明等^[20]的研究则通过纤维素酶来辅助桑叶蛋白的提取。

3.3 盐析法 盐析法简单安全、价格低廉,但是通常制得的叶蛋白品综合利用率和得率都不高^[17]。盐析法主要是利用

浸提液中不同物质在盐溶液中的沉淀浓度的不同来进行操作的。盐析法需要在浸提液中加入大量的无机盐,桑叶蛋白的溶液饱和浓度为 65%^[10]。王芳等^[21]研究发现,以 NaCl 溶液为提取溶剂,再加上超声波的辅助处理,大大提高了桑叶蛋白的得率。这是因为超声波能够在不破坏物质结构的条件下,有效地促进细胞壁的破损。

3.4 乳酸发酵法 发酵方法不需要加入强酸强碱,也不用加热,可节约能源,但是发酵时间较长,并且容易造成营养物质的流失,如要进行规模化的生产则需要配置发酵设备,生产成本过大^[22]。乳酸发酵法是指利用乳酸菌发酵产生的乳酸使得叶蛋白絮凝沉淀的方法^[23]。乳酸发酵的酸效应使得叶蛋白在 pH 3~4 出现等电点凝聚。在瑞典、前苏联、西班牙等国家,通过这种方法来进行叶蛋白的工业化生产^[24]。

3.5 结晶和重结晶法 结晶法是某种物质通过降温或蒸发的方法在浸提液中以晶体状析出的过程。初次结晶所获得的晶体多含杂质,通过再次结晶这可以获得较纯的晶体,这一过程也被称为重结晶。变性蛋白不能结晶,通过结晶或重结晶提取出的蛋白能保持天然的状态。

3.6 泡沫分离技术 泡沫分离技术可用于分离低浓度的产品,且分辨率高,可获得较高纯度的富集液,具有运行成本低、操作方便的特质。泡沫分离技术是利用气泡作为分离介质来浓集表面活性物质的分离技术,又被称为泡沫吸附分离技术^[25],是根据被分离物质的表面活性的不同,采用无机盐和有机溶剂等分离介质来进行分离^[26]。由于蛋白质具有一定的表面活性,因此也可以利用泡沫分离技术来进行蛋白的分离^[27]。在刘海彬等^[28]的研究中,先用氢氧化钠溶液作为提取剂,制得桑叶蛋白提取液,在分离温度 25℃、稀释 40 倍、pH 5.0、离子强度 0.18 mol/kg 的条件下,桑叶蛋白液中的蛋白回收率为 92.50%;冷冻干燥后,蛋白质的纯度从蛋白提取液固形物中的 34.38% 提高到泡沫层固形物中的 65.51%。

4 桑叶蛋白食品研究现状及发展前景

绿叶是人类获取蛋白质最有效、最廉价的途径之一。绿叶中的蛋白质比植物茎秆部分要高 50%~500%。我国植物绿叶资源丰富,目前全年的绿叶产量为 20 亿~25 亿 t,而利用率只有 10%~30%。绿叶资源分布既遍布全国,又相对集中^[29]。我国绿叶蛋白的研究工作起步比较晚,而国外已有 80 余年的将叶蛋白作为蛋白饲料的研究历史。早在 1972 年法国就建立了叶蛋白的工业化生产厂^[24],而后,英国、丹麦、新西兰等国也成立了规模较大的叶蛋白生产工厂。

目前我国关于桑叶蛋白的提取研究已经比较成熟,其中多为利用酸碱沉淀法提取桑叶蛋白,桑叶蛋白的得率在 9%~17%^[11,19],而其中蛋白质含量在 50% 左右。虽然已有大量的关于桑叶蛋白提取的研究,但是这些研究还局限于实验室阶段,并没有一套适合工厂扩大生产的提取工艺。

国外有研究表明,将桑叶蛋白和其他叶蛋白混合,代替传统的饲料喂养怀孕的母羊,对孕期的母羊有积极良好的作用。在高蛋白饲料方面,预计到 2020 年我国每年蛋白质饲

料的需求量为 7 200 万 t,届时将有 3 600 万 t 需要从国外进口^[30]。开发高桑蛋白的饲料可以在有效利用桑叶资源的同时,缓解我国高蛋白饲料的短缺状况^[31-32]。

有研究表明,将苜蓿叶蛋白添加到面条或面包中,可以改善面条和面包的口感^[33]。国内外也有大量的试验证明,在日常饮食中添加叶蛋白能提高人的身体素质^[34-35]。而目前很少有桑叶蛋白在食品方面的研究及应用。在未来的研究中,可以将桑叶蛋白在食品中的研究和应用作为发展方向,在增加食品蛋白质的同时,改善食品的加工特性。

除此之外,桑叶蛋白还可以应用到化妆品、洗涤等日用品中。水解后得到的桑叶蛋白水解肽具有较强还原能力,是天然的抗氧化剂^[11]。在桑叶蛋白提取过程中还可进一步分离制得一系列的副产物,例如维生素 E、叶绿素等。这些产物也可在食品及医药应用等方面得到更多的应用。由此可见,我国桑叶蛋白的开发前景非常广阔。

参考文献

- [1] 陈敬刚,金佩华,鲁兴萌,等.蚕桑生态系统服务功能价值的初步评估[J]. 蚕业科学, 2005,31(3):316-320.
- [2] 贾洪亮,邱长玉.桑树在生态治理方面的应用前景展望[J]. 广西蚕业, 2015,52(3):57-60.
- [3] 周连碧.我国矿区土地复垦与生态重建的研究与实践[J]. 有色金属工程, 2007,59(2):90-94.
- [4] 田智得,黄红燕,韦伟,等.广西桑树开发利用的三大途径[J]. 广西蚕业,2014(2):45-47.
- [5] 柯裕州.桑树抗盐性研究及其在盐碱地中的应用[D]. 北京:中国林业科学研究院,2008.
- [6] 成根杰.山西桑树资源利用现状及发展模式探讨[J]. 山西农业科学, 2010,38(10):70-73.
- [7] 王芳,乔璐,张庆庆,等.桑叶蛋白氨基酸组成分析及营养价值评价[J]. 食品科学, 2015,36(1):225-228.
- [8] 我国桑叶资源丰富和开发前景分析[R/OL]. (2010-06-08)[2016-10-25]. <http://cen.mofcom.gov.cn/spbg/show.php?id=10632>.
- [9] GÜVEN I. Effect of species on nutritive value of mulberry leaves[J]. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2012,18(5):865-869.
- [10] 孙崇臻,武文佳,閔甜,等.不同制备方法桑叶蛋白功能性质的比较[J]. 现代食品科技, 2015(12):242-249.
- [11] 乔璐.桑叶蛋白的提取与应用研究[D]. 杭州:浙江师范大学,2014:77.
- [12] 边伟.高含量 GABA 桑茶的制备及其品质研究[D]. 重庆:西南大学,2014:70.
- [13] 杨昌军,宛晓春,黄继珍.γ-氨基丁酸茶(Gabaron Tea)的研究现状[J]. 茶业通报,2004,26(1):13-15.

- [14] 王芳,刘华,董梅红.桑叶蛋白的功能特性研究[J]. 食品科学,2010,31(11):81-86.
- [15] 徐志宏,魏振承,张雁,等.几种蛋白质功能性质的比较研究[J]. 食品科学,2006,27(12):249-252.
- [16] 李道娥.加热法提取叶蛋白的工艺研究[J]. 农业工程学报,1998,14(1):238-242.
- [17] 田丽萍,刘青广,刘刚.苜蓿叶蛋白提取方法及开法前景[J]. 草业科学,2004,21(10):37-40.
- [18] 柳斌,席亚丽,穆峰海,等.不同处理条件对苜蓿叶蛋白凝聚效果的研究[J]. 草业科学,2010,27(1):114-118.
- [19] 屈红森,游朵,吴琼英,等.用发酵法制备桑叶蛋白的工艺优化和产品的体外消化率测定[J]. 蚕业科学,2012(5):885-892.
- [20] 朱天明,陈玲玲,杨潇,等.纤维素酶辅助提取桑叶中叶蛋白的工艺[J]. 西华大学学报(自然科学版),2016,35(2):77-81,109.
- [21] 王芳,乔璐,张庆庆,等.超声波辅助提取桑叶蛋白加工工艺[J]. 山西农业科学,2014,42(2):174-177.
- [22] D'ALVISE N, LESUEUR-LAMBERT C, FERTIN B, et al. Hydrolysis and large scale ultrafiltration study of alfalfa protein concentrate enzymatic hydrolysate[J]. Enzyme Microb Technol, 2000,27(3/4/5):286-294.
- [23] 葛旦之,罗翠兰.发酵酸法提取水生叶蛋白的工艺技术研究[J]. 中国饲料, 1995(15):12-14.
- [24] 郭佩玉,葛旦之,赵之阳,等.饲用叶蛋白工业生产技术考察团赴意大利、俄罗斯考察报告[J]. 中国饲料, 1995(21):38-41.
- [25] CHARM S E. Chapter 9: Foam separation of enzymes and other proteins [M]// Adsorptive Bubble Separation Techniques. [s. l.]: Elsevier Inc., 1972:157-174.
- [26] 谭相伟,吴兆亮,贾永生,等.泡沫分离技术在蛋白质多元体系分离中的应用[J]. 化工进展,2005,24(5):510-513.
- [27] 董红星,裴健,刘剑.泡沫分离法的现状与研究进展[J]. 化工时刊, 2004,18(5):20-22.
- [28] 刘海彬,张炜,陈元涛,等.响应面法优化泡沫分离桑叶蛋白工艺[J]. 食品科学, 2015,36(8):97-102.
- [29] 刘晓庚.叶蛋白的资源、特性、加工和综合利用(一)[J]. 林产化工通讯, 1998(4):39-43.
- [30] 杨春波.苜蓿叶蛋白的提取与应用研究[D]. 无锡:江南大学,2007:48.
- [31] PATRA A K, SHARMA K, DUTTA N, et al. Effects of partial replacement of dietary protein by a leaf meal mixture on nutrient utilization by goats in pre-and late gestation [J]. Small ruminant research, 2006, 63(1/2):66-74.
- [32] LIU J X, YAO J, YAN B, et al. Effects of mulberry leaves to replace rapeseed meal on performance of sheep feeding on ammoniated rice straw diet [J]. Small ruminant research, 2001,39(2):131-136.
- [33] 谢正军.苜蓿叶蛋白和酶法制备抗氧化肽的研究[D]. 无锡:江南大学,2009:120.
- [34] 邱业先,罗泽民.植物叶蛋白的研究及其工业化生产[J]. 世界农业, 1998(12):20-22.
- [35] FERNANDEZ S S, PADILLA A P, MUCCIARELLI S. Protein extraction from *Atriplex lampa* leaves: Potential use as forage for animals used for human diets[J]. Plant foods human nutrition, 1999,54(3):251-259.

(上接第 50 页)

- [10] JOBBAGY E G, JACKSON R B. The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation[J]. Ecological applications, 2002,10(2):423-436.
- [11] 刘景双,杨继松,于君宝,等.三江平原沼泽湿地土壤有机碳的垂直分布特征研究[J]. 水土保持学报,2003,17(3):5-8.
- [12] 辛琨,颜葵,李真,等.海南岛红树林湿地土壤有机碳分布规律及影响因素研究[J]. 土壤学报,2014(5):1078-1086.
- [13] 张于光,张小全,肖焯.米亚罗林区土地利用变化对土壤有机碳和微生物量碳的影响[J]. 应用生态学报,2006,17(11):2029-2033.
- [14] 官超,宋长春,谭稳稳,等.三江平原沼泽湿地垦殖对土壤微生物学性质影响研究[J]. 生态环境学报,2015(6):972-977.
- [15] 江长胜,王跃思,郝庆菊,等.土地利用对沼泽湿地土壤碳影响的研究[J]. 水土保持学报,2009,23(5):248-252.
- [16] 廖小娟,何东进,王韧,等.闽东滨海湿地土壤有机碳含量分布格局[J]. 湿地科学,2013,11(2):192-197.
- [17] 张文菊,吴金水,童成立,等.三江平原湿地沉积有机碳密度和碳储量变异分析[J]. 自然资源学报,2005,20(4):537-544.
- [18] 赵锐锋,张丽华,赵海莉,等.黑河中游湿地土壤有机碳分布特征及其影响因素[J]. 地理科学,2013,33(3):363-370.

- [19] 刘斌,满秀玲,王妍,等.大兴安岭主要沼泽湿地土壤碳氮垂直分布特征[J]. 东北林业大学学报,2011,39(3):89-91,95.
- [20] 王玲玲,孙志高,牟晓杰,等.黄河口滨岸潮滩不同类型湿地土壤氮素分布特征[J]. 土壤通报, 2011,42(6):1439-1445.
- [21] 白军红,丁秋伟,高海峰,等.向海湿地不同植被群落下土壤氮素的分布特征[J]. 地理科学,2009,29(3):381-384.
- [22] 董凯凯,王惠,杨丽原,等.人工恢复黄河三角洲湿地土壤碳氮含量变化特征[J]. 生态学报,2011,31(16):4778-4782.
- [23] 谢长永,徐同凯,陈始霞,等.杭州西溪湿地植物群落对土壤碳氮磷分布的影响[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版),2011,10(6):501-505.
- [24] 肖焯,黄志刚,武海涛,等.三江平原不同湿地类型土壤活性有机碳组分及含量差异[J]. 生态学报,2015(23):7625-7633.
- [25] 肖焯,黄志刚,武海涛,等.三江平原 4 种典型湿地土壤碳氮分布差异和微生物特征[J]. 应用生态学报, 2014,25(10):2847-2854.
- [26] 彭佩钦,张文菊,童成立,等.洞庭湖湿地土壤碳、氮、磷及其与土壤物理性状的关系[J]. 应用生态学报,2005,16(10):1872-1878.
- [27] 肖复明,范少辉,汪思龙,等.毛竹林土壤有机碳及微生物量碳特征研究[J]. 水土保持学报,2008(6):128-131.