



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102334586 B

(45) 授权公告日 2013.08.21

(21) 申请号 201010236137.9

(22) 申请日 2010.07.20

(73) 专利权人 遵义陆圣康源科技开发有限责任  
公司

地址 564100 贵州省湄潭县湄江镇协育绿色  
食品工业园区 2 号

(72) 发明人 王洪新 唐弟康

(74) 专利代理机构 遵义市遵科专利事务所  
52102

代理人 刘学诗

(51) Int. Cl.

A23J 1/00(2006.01)

A23J 3/14(2006.01)

A23J 3/34(2006.01)

审查员 陈斌

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法

(57) 摘要

一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法,从茶叶或者生产茶多酚之后的茶渣,经过果胶酶+纤维素酶复合酶法辅助热水提取出茶叶蛋白质,经超滤除杂、浓缩后用蛋白酶控制酶解进行蛋白质改性,将此酶解液调节 pH 至 4.0 等电点,再用丙酮沉淀、脱色纯化,分离沉淀和溶剂后,将沉淀干燥、粉碎,得白或淡黄色粉末状茶蛋白质乳化剂。本方法提高蛋白提取率;用膜技术过滤除杂、浓缩,提高了纯度,比传统的节能 60% 以上;具有较好的脱色作用,简化了制备工艺,降低了生产成本。有望成为节能、绿色、高效的工业化生产茶蛋白添加剂的方法,对茶蛋白的利用提供一种新渠道。

1. 一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法,其特征是方法步骤为:

第 1 步茶蛋白的初步提取:

原料包括茶鲜叶、干叶或者热水浸提茶叶生产茶多酚之后的湿或干茶渣,上述茶叶原料先粉碎成 30-100 目,提取溶媒为水,按质量比,其水的用量为茶叶干重的 5-20 倍,在提取溶媒中采用添加果胶酶、纤维素酶或果胶酶 + 纤维素酶复合酶法辅助提取,酶的用量为体系总重量的 0.1-2.0%;

提取次数为 1-3 次,提取溶媒 pH 为 2-10,选择所用酶制剂的适合 pH,同时要偏离茶蛋白的等电点 pI4.0;

第 2 步膜超滤除杂:

对第 1 步得到的提取液先用离心机、振动筛过滤机等过滤除去茶渣、泥沙等,采用超滤膜技术及设备进行过滤除杂、初步分离及浓缩;膜的截留分子量为 5-20kD,即 5-20 千道尔顿,超滤压力 0.2-0.5Mpa,浓缩倍数 10-20 倍;

第 3 步控制酶解进行蛋白质改性:

将第 2 步浓缩液中加入商品蛋白酶,酶的种类是食品级商品碱性蛋白酶、中性蛋白酶或者复合蛋白酶,酶的用量为体系总质量的 0.5-4.0%,pH 值选择所用酶制剂的适合 pH,搅拌速率 30-100rpm,时间 1-4h,采用 pH-stat 法控制水解度,水解度控制在 2-6,酶解结束后,马上加热至 90°C 以上灭酶,灭酶后迅速冷却至室温;

第 4 步丙酮低温沉淀、纯化:

将第 3 步得到的酶解液,调节 pH 至 4-5,接近蛋白体系的等电点,再在 2-10°C 低温下加入丙酮,至上清液不再产生沉淀,离心分离上清液及沉淀,得到的沉淀物为颜色很淡的改性茶蛋白胶状物,上清液为含水的丙酮溶液,经蒸馏回收后循环使用;

第 5 步干燥、粉碎:

将第 4 步得到的改性茶蛋白胶状物经高速离心喷雾干燥或者真空流化床干燥后得到茶叶蛋白乳化剂,采用真空流化床干燥,由于产品结块,需要粉碎后计量、检验、包装、贮存。

## 一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于茶叶深加工技术领域,尤其属于一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法。

### 背景技术

[0002] 我国是茶叶生产大国,茶叶(干品)年产量已达到140万吨,其中低档茶、碎茶占到20%以上。每年尚有更大量的夏秋茶叶没有采收利用。目前,从低档茶、碎茶、夏秋茶中提取制备速溶茶粉、茶多酚、儿茶素、茶氨酸、茶多糖等茶叶深度加工已经形成较具规模的工业门类,但是,提取上述活性成份后产生的大量茶渣基本没有得到应用,大都作为肥料处理。

[0003] 经测定,茶叶中蛋白质含量约15%~30%(以干重计算),高于小麦、大米、玉米等主要粮食作物的蛋白质含量。其中约80%为谷蛋白,14%为醇溶蛋白,3.5%为白蛋白和约1%为球蛋白。蛋白质根据其溶解性不同可分为溶于水的清蛋白、溶于盐类的球蛋白、溶于醇类的醇溶蛋白以及溶于稀酸或稀碱的谷蛋白四种。因此,约95%的茶叶蛋白质在热水浸提及日常泡茶过程中不能被提取出来,而是留在茶渣中。另外,茶叶蛋白质由于主要为谷蛋白等难以直接被人体消化吸收的蛋白质,因此如果不加以改性而直接食用,基本不被人体消化吸收利用。

[0004] 茶蛋白中氨基酸组成是丰富合理的,含有16-18种氨基酸,且必需氨基酸是齐全的。因此,将茶蛋白提取纯化后适当改性,可以变为消化吸收性较好的食用、饲用蛋白资源。本发明将茶蛋白进行控制酶法水解,加工成食品乳化剂,同时具有良好的水溶性、起泡性和胶凝性。

[0005] 从全球范围内来看,食物尤其是蛋白质缺乏仍然是人类生存面临的突出问题之一。因此本发明将对人类健康及茶叶的深度加工及增产增收具有重要意义。

[0006] 对于茶叶蛋白质的研究开发相对于茶叶其它功能性成分的研究开发较少。近年来相关研究逐渐增多,但总起来研究深度不够,蛋白质的提取率较低,缺乏较好的工业化技术,造成工业化的生产应用还是空白。申请号为200810164171.2的“茶叶蛋白的双酶提取法”,着眼于茶蛋白的提取,提取过程没有采用能破坏茶叶细胞壁的果胶酶、纤维素酶等,因此得率最高只能达到52%,另外是在茶叶原料和水的整个体系中用蛋白酶法直接提取,造成用酶量很大,成本较高。

[0007] 目前还没有采用能破坏茶叶细胞壁的果胶酶、纤维素酶等辅助提取,同时采用控制性酶解技术来制备茶叶蛋白乳化剂的文献报道。

### 发明内容

[0008] 本发明的目的是提供一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法,从茶鲜叶、干叶或者热水浸提茶叶生产茶多酚之后的湿或干茶渣出发,经过果胶酶+纤维素酶复合酶法辅助提取出茶叶蛋白质,再经过超滤除杂、浓缩后直接在适宜条件下用蛋白酶控制酶解进行蛋

白质改性,然后将此酶解液调节 pH 至 4.0(等电点)附近,再用丙酮沉淀、脱色纯化,分离沉淀和溶剂后,将溶剂回收循环使用,将沉淀真空干燥、粉碎,得到白色粉末状茶蛋白质乳化剂。

[0009] 本发明的技术方案:一种从茶叶制备茶叶蛋白乳化剂的方法,包括如下步骤:

[0010] (1) 茶蛋白的初步提取

[0011] 原料包括茶鲜叶、干叶或者热水浸提茶叶生产茶多酚之后的湿或干茶渣。上述茶叶原料先粉碎成 30-100 目,提取溶媒为水,其用量为茶叶干重的 5-20 倍即按质量比, g/g,在提取溶媒中采用添加果胶酶、纤维素酶或果胶酶 + 纤维素酶复合酶法辅助提取,酶的用量为体系总重量的 0.1-2.0%。

[0012] 提取次数为 1-3 次,提取溶媒 pH 为 2-10,但应选择靠近所用酶制剂的最佳 pH,同时要偏离茶蛋白的等电点 pI4.0。

[0013] (2) 膜超滤除杂

[0014] 对第(1)步得到的提取液先用离心机、振动筛过滤机等过滤除去茶渣、泥沙等,采用超滤膜技术及设备进行过滤除杂、初步分离及浓缩。膜的截留分子量为 5-20KD(千道尔顿),超滤压力 0.2-0.5MPa。浓缩倍数 10-20 倍。

[0015] (3) 控制酶解进行蛋白质改性

[0016] 将第(2)步浓缩液中加入商品蛋白酶。酶的种类是食品级碱性或者中性蛋白酶或者复合蛋白酶。酶的用量为体系总质量的 0.5-4.0%,pH 值选择所用酶制剂的最佳 pH 附近,搅拌速率 30-100rpm,时间 1-4h。采用 pH-stat 法控制水解度,水解度控制在 2-6。酶解结束后,马上加热至 90°C 以上灭酶。灭酶后迅速冷却至室温。

[0017] (4) 丙酮低温沉淀、纯化

[0018] 将第(3)步得到的酶解液,调节 pH 至 4-5,尽量接近蛋白体系的等电点,再在低温下(2-10°C)加入丙酮,至上清液不再产生沉淀。离心分离上清液及沉淀。得到的沉淀物为颜色很淡的改性茶蛋白胶状物。上清液为含水的丙酮溶液,经蒸馏回收后循环使用。

[0019] (5) 干燥、粉碎

[0020] 将第(4)步得到的改性茶蛋白胶状物经高速离心喷雾干燥或者真空流化床干燥后得到茶叶蛋白乳化剂。如果采用真空流化床干燥,由于产品结块,需要粉碎后计量、检验、包装、贮存。

[0021] 步骤(1)提取的最大特点是在提取溶媒中采用添加商品果胶酶、纤维素酶或果胶酶 + 纤维素酶复合酶法辅助提取,酶的用量为体系总重量的 0.1-2.0%。

[0022] 其次的特点是原料包括茶鲜叶、干叶或者热水浸提茶叶生产茶多酚之后的湿或干茶渣。上述茶叶原料先粉碎成 30-100 目,提取溶媒为水,其用量为茶叶干重的 5-20,倍即重量比,茶叶 1 比水 5-20 倍。提取次数为 1-3 次,提取溶媒 pH 为 2-10,选择靠近所用酶制剂的 pH,同时要偏离茶蛋白的等电点 pI。

[0023] 步骤(2)的特点是对步骤(1)得到的提取液采用膜超滤除杂。先用离心机、振动筛过滤机等过滤除去茶渣、泥沙等,再采用超滤膜技术及设备进行过滤除杂、初步分离及浓缩。膜的截留分子量为 5-20KD,即千道尔顿,超滤压力 0.2-0.5MPa。浓缩倍数 10-20 倍。

[0024] 步骤(3)的特点是控制性酶解进行蛋白质改性。采用 pH-stat 法控制水解度,水解度控制在 2-6。将步骤(2)浓缩液中加入商品蛋白酶。酶的种类是碱性或者中性食品级

蛋白酶或其复合酶。酶的用量为体系总质量的 0.5-4.0%，pH 值选择所用酶制剂的最佳 pH 附近，搅拌速率 30-100rpm，时间 1-4h。

[0025] 步骤 (4) 的特点是用丙酮低温沉淀、纯化。将步骤 (3) 得到的酶解液，调节 pH 至 4-5，尽量接近蛋白体系的等电点，再在 2-10℃ 低温下加入丙酮，至上清液不再产生沉淀。离心分离上清液及沉淀。得到的沉淀物为颜色很淡的改性茶蛋白乳化剂胶状物。

[0026] 采用上述技术方案的有益效果是：

[0027] 本发明采用复合酶法破坏茶叶纤维细胞组织，使茶蛋白容易释放，从而大大提高蛋白提取率；采用膜技术过滤除杂、浓缩，不仅提高了产品纯度，而且比传统的加热蒸发浓缩节能 60% 以上；不需要将茶蛋白提取物先干燥成蛋白粉再改性，而是用茶蛋白提取物浓缩液直接控制性酶解改性；用丙酮在较低温度下沉淀蛋白，同时具有较好的脱色作用，不会产生硫酸铵沉淀法引入高浓度盐离子及重金属，后续需要透析除盐、脱色等繁琐步骤，大大简化了制备工艺，降低了生产成本。

[0028] 该发明技术有望成为节能、低成本、绿色、高效的工业化生产茶蛋白添加剂的方法，对于我国大量的茶蛋白的高效利用提供了一种良好的新途径。

### 具体实施方式

[0029] 以下给出实施例，对本发明作进一步说明。

[0030] 实施例 1

[0031] 第 1 步茶蛋白的初步提取

[0032] 称取十月份茶鲜叶 1000g (干重约 250g)，测得含蛋白质约 5%。用斩拌机先粉碎成 60 目，加水 2500g。用稀盐酸调节 pH3.5，加入商品果胶酶 35g (总重量的 1.0%)，在 55℃ 温度下，搅拌提取 3h，搅拌速率为 60rpm，过滤分离出清液；茶渣再加水 2500g，用稀盐酸调节 pH3.5，在 55℃ 温度下，搅拌提取 3h，搅拌速率为 60rpm，过滤分离出清液；合并 2 次清液，总体积 5200mL。经测定计算，蛋白提取率为 88%。

[0033] 第 2 步膜超滤除杂

[0034] 对第 1 步得到的提取液先用离心机过滤除去茶渣、泥沙等，再用超滤膜设备进行过滤除杂、初步分离及浓缩。陶瓷膜的截留分子量为 10KD，即千道尔顿，超滤压力 0.4MPa。截留液的浓缩倍数 15 倍，得到 350mL 浓缩液。

[0035] 第 3 步控制酶解进行蛋白质改性

[0036] 将第 2 步浓缩液中加入 7.0g 食品级商品碱性蛋白酶，酶的用量为体系总质量的 2.0%。pH 值调节到 8.5 附近，温度 50℃，搅拌速率 30rpm，时间 3h。采用 pH-stat 法控制水解度，水解度控制在 3。酶解结束后，马上加热至 95℃，保持 15min。然后迅速冷却至 25℃。

[0037] 第 4 步丙酮低温沉淀、纯化

[0038] 将第 3 步得到的酶解液，调节 pH 至 4.5，接近蛋白体系的等电点，再在 2-10℃ 低温下加入丙酮，至上清液不再产生沉淀。离心分离上清液及沉淀。得到的沉淀物为颜色很淡的改性茶蛋白胶状物。上清液为含水的丙酮溶液，经蒸馏回收后循环使用。

[0039] 第 5 步干燥

[0040] 将第 4 步得到的改性茶蛋白胶状物用纯水配制成固形物浓度 20%，经高速离心喷雾干燥后得到 40g 乳白色茶叶蛋白乳化剂，总得率为 80%。

[0041] 经凯氏定氮法检验,总蛋白质含量为 92%。游离氨基酸含量大大提高。采用相应的方法测定得到:经酶法水解改性后,水溶解性大大提高,氮溶解指数(NSI)达到了 72% (未改性时为 16%),吸水性为 2.71ml/g;起泡性有较大提高,分别达到 180%;乳化性达到 73.5%左右;胶凝性较好,能形成良好的凝胶物。

[0042] 实施例 2

[0043] (1) 茶蛋白的初步提取

[0044] 称取茶多酚厂用热水提取茶多酚之后的干茶渣 500g,测得含蛋白质约 25%。先粉碎成 40 目,加水 7500g。用稀盐酸调节 pH5.5,加入商品果胶酶 50g+ 纤维素酶 50g(总重量的 1.25%),在温度 50℃下,搅拌提取 4h,搅拌速率为 30rpm,过滤分离出清液;茶渣再加水 5000g,用稀盐酸调节 pH5.5,在温度 50℃下,搅拌提取 3h,搅拌速率为 30rpm,过滤分离出清液;合并 2 次清液,总体积 12L。经测定计算,蛋白提取率为 93%。

[0045] (2) 膜超滤除杂

[0046] 对(1)得到的提取液先用离心机过滤除去茶渣、泥沙等,再用超滤膜设备进行过滤除杂、初步分离及浓缩。陶瓷膜的截留分子量为 5KD,即千道尔顿,超滤压力 0.35MPa。截留液的浓缩倍数 10 倍,得到 1200mL 浓缩液。

[0047] (3) 控制酶解进行蛋白质改性

[0048] 将(2)浓缩液中加入 30g 食品级商品中性蛋白酶,酶的用量为体系总质量的 2.5%。pH 值调节到 6.5 附近,温度 50℃,搅拌速率 30rpm,时间 3h。采用 pH-stat 法控制水解度,水解度控制在 2.5。酶解结束后,马上加热至 95℃,保持 15min。然后迅速冷却至 25℃。

[0049] (4) 丙酮低温沉淀、纯化

[0050] 将(3)得到的酶解液,调节 pH 至 4.0,接近蛋白体系的等电点,再在低温 2-10℃下加入丙酮,至上清液不再产生沉淀。离心分离上清液及沉淀。得到的沉淀物为颜色很淡的改性茶蛋白胶状物。上清液为含水的丙酮溶液,经蒸馏回收后循环使用。

[0051] (5) 干燥

[0052] 将(4)得到的改性茶蛋白胶状物用纯水配制成固形物浓度 20%,经高速离心喷雾干燥后得到 106g 乳白色茶叶蛋白乳化剂,总得率为 85%。

[0053] 经凯氏定氮法检验,总蛋白质含量为 91%。游离氨基酸含量大大提高。采用相应的方法测定得到:经酶法水解改性后,水溶解性大大提高,氮溶解指数(NSI)达到了 75%,未改性时为 16%,吸水性为 2.85ml/g;起泡性有较大提高,为 185%;乳化性达到 75%左右;胶凝性较好,能形成良好的凝胶物。

[0054] 实施例 3

[0055] (1) 茶蛋白的初步提取

[0056] 称取茶厂六月份的干碎茶 500g,测得含蛋白质约 22%。先粉碎成 60 目,加水 10Kg。用稀盐酸调节 pH5.5,加入商品果胶酶 75g+ 纤维素酶 75g 为总重量的 1.44%,在温度 50℃下,搅拌提取 5h,搅拌速率为 30rpm,过滤分离出清液;茶渣再加水 5000g,用稀盐酸调节 pH5.5,在温度 50℃下,搅拌提取 3h,搅拌速率为 30rpm,过滤分离出清液;合并 2 次清液,总体积 15L。经测定计算,蛋白提取率为 95%。

[0057] (2) 膜超滤除杂

[0058] 对(1)得到的提取液先用离心机过滤除去茶渣、泥沙等,再用超滤膜设备进行过滤除杂、初步分离及浓缩。陶瓷膜的截留分子量为15KD即千道尔顿,超滤压力0.5MPa。截留液的浓缩倍数10倍,得到1500mL浓缩液。

[0059] (3) 控制酶解进行蛋白质改性

[0060] 将(2)浓缩液中加入50g食品级商品复合蛋白酶,酶的用量为体系总质量的3.3%。pH值调节到5.5附近,温度55℃,搅拌速率30rpm,时间3h。采用pH-stat法控制水解度,水解度控制在4。酶解结束后,马上加热至95℃,保持15min。然后迅速冷却至25℃。

[0061] (4) 丙酮低温沉淀、纯化

[0062] 将(3)得到的酶解液,调节pH至4.0,接近蛋白体系的等电点,再在2-10℃低温下加入丙酮,至上清液不再产生沉淀。离心分离上清液及沉淀。得到的沉淀物为颜色很淡的改性茶蛋白胶状物。上清液为含水的丙酮溶液,经蒸馏回收后循环使用。

[0063] (5) 干燥

[0064] 将(4)得到的改性茶蛋白胶状物经真空烘箱55℃干燥后得到96.8g干物质,粉碎后得到淡黄色茶叶蛋白乳化剂,总得率为88%。

[0065] 经凯氏定氮法检验,总蛋白质含量为93%。游离氨基酸含量大大提高。采用相应的方法测定得到;经酶法水解改性后,水溶性大大提高,氮溶解指数(NSI)达到了80%,未改性时为16%,吸水性为2.90ml/g;起泡性有较大提高,为190%;乳化性达到78%左右;胶凝性较好,能形成良好的凝胶物。可以与大豆分离蛋白媲美。