

采用冷冻破壁法提取荞麦绿素的工艺研究

王维坚¹, 郭立泉², 冷进松¹

(1. 吉林工商学院食品工程系, 吉林 长春 130062; 2. 吉林工商学院生物工程系, 吉林 长春 130062)

摘 要: 以荞麦幼苗为原料, 采用冷冻破壁、真空浓缩、超高温瞬时灭菌等技术制取液态荞麦绿素产品。对冷冻破壁提取工艺的关键参数进行正交试验, 得到最佳工艺组合, 采用最佳工艺组合制得的荞麦绿素提取液中蛋白质、SOD、叶绿素、芦丁等有效成分含量分别为: 蛋白质 0.26%, 叶绿素 9.37mg/100ml, SOD 活性 242U/100ml, 芦丁 1.03mg/100ml。产品其他指标符合国家标准。

关键词: 荞麦; 麦绿素; 冷冻破壁; 芦丁

Use of Freezing Wall-breaking Method for the Extraction of Barley Green from Buckwheat Seedlings

WANG Wei-jian¹, GUO Li-quan², LENG Jin-song¹

(1. Department of Food Engineering, Jilin Business and Technology College, Changchun 130062, China;

2. Department of Biology Engineering, Jilin Business and Technology College, Changchun 130062, China)

Abstract : A liquid product of barley green was prepared from buckwheat seedlings by the steps of freezing wall breaking, extraction with 1/150 mmol/L phosphate buffer containing 0.01% sodium erythorbate by grinding, vacuum concentration and instantaneous ultra-high temperature sterilization. The freezing wall breaking extraction of buckwheat seedlings was optimized by orthogonal array design. Under optimized conditions, the contents of protein, chlorophyll and rutin and the SOD activity of barley green extract were 0.26%, 9.37 mg/100 ml, 1.03 mg/100 ml, and 242 U/100 ml, respectively. Other indexes of the product obtained were in accordance with the national standards for plant health products.

Key words: buckwheat; barley green; freeze wall breaking; rutin

中图分类号: TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)16-0119-04

荞麦 (*Fagopyrum*) 为蓼科(Polygonaceae)荞麦属的双子叶植物, 在我国有广泛种植。荞麦幼苗除含有丰富的蛋白质和氨基酸、多种矿物质元素、维生素外, 还含有较多的特殊化学成分——芦丁(rutin)。芦丁又称芸香苷(runnoside), 是 VP 的主要成分之一, 属于黄酮类衍生物。医学研究表明: 芦丁具有降低毛细血管通透性、维持血管正常的渗透压, 保持、恢复毛细血管正常弹性的功能; 对多种炎症也具有良好的疗效^[1]。芦丁作为治疗闭塞性脑血管病的药物, 临床用于脑血栓所致的偏瘫、失语以及动脉硬化等症^[2]。

麦绿素是以新鲜麦类幼苗为原料加工的天然植物保健品。中外研究表明^[3]: 麦类嫩叶中含有丰富的叶绿素、蛋白质、维生素、纤维素、矿物质及以 SOD 为代表的生物活性酶类, 同时还含有一些镇痛物质及促进催乳素和生长激素分泌的促进剂等, 对人体具有消除疲劳、延缓衰老等多项保健功能。我国麦绿素的研制和开发刚刚起步^[4-6], 从生产原料而言, 主要以大麦幼苗

为主, 产品形式较单一; 从生产工艺而言, 目前多采用常温磨碎→压滤→喷雾干燥/烘干工艺, 这种工艺对产品中的活性营养成分造成较大程度破坏。

本实验拟研究以荞麦幼苗为原料采用冷冻破壁提取技术生产荞麦绿素的工艺路线, 并对冷冻提取的最佳工艺条件进行研究, 以期利用超高温瞬时灭菌以及添加保护剂等措施减少荞麦绿素中活性营养物质的破坏, 最大限度保留荞麦苗中的 SOD、叶绿素、芦丁等营养成分。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大粒荞麦产于内蒙古赤峰地区。

异 VC 钠 上海顺强生物科技有限公司; 芦丁标样(纯度 98%) 上海试剂二厂; 磷酸、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、氢氧化钠、硼酸、盐酸、碘化钾、碘化汞、丙酮、乙醇、NBT、甲醇均为分析纯; 灭菌蒸馏水等。

收稿日期: 2009-06-02

基金项目: 吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科合字[2007]第 53 号)

作者简介: 王维坚(1967—), 女, 副教授, 硕士, 主要从事农产品贮藏及食品加工研究。E-mail: wwjflora@yahoo.com.cn

甲基红-溴甲酚绿混合指示剂:浓度为2g/L的溴甲酚绿-95%乙醇溶液与浓度为2g/L的甲基红-乙醇溶液按5:1(V/V)混匀,备用。

1.2 仪器与设备

CFQ-2组织捣碎机 湖北金城科学仪器厂; RSCG01-1型超高温瞬时灭菌机 郑州玉祥机械设备有限公司; 754型分光光度计 天津拓普仪器有限公司; 高效液相色谱仪 日本岛津仪器有限公司; 其他实验室常用仪器设备。

1.3 方法

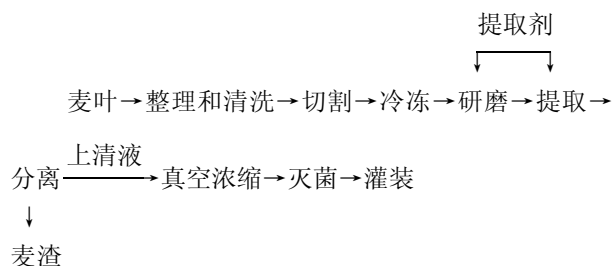
1.3.1 荞麦苗种植采收方法

荞麦苗种植:荞麦种籽先经浸种,破口后播种,播种面积5m²(2.7m×1.85m),10行区,每行播种120粒。播前施复合肥540kg/hm²,二叶期追施尿素56kg/hm²。

荞麦苗采收:待苗长至20~25cm时,选择生长良好的荞麦苗,于距地面3cm处收割荞麦叶,采收时间宜为上午10点以前。此时荞麦苗体的叶绿素、β-胡萝卜素、黄酮类、粗蛋白等含量以及SOD淀粉酶等酶活性处于峰值;而总糖和粗纤维含量则相对较低。每次刈青后当天施尿素272.6kg/hm²,共计划割三次。

1.3.2 荞麦绿素浓缩液制取的工艺实验

1.3.2.1 工艺流程



1.3.2.2 工艺要点

整理和清洗:去除麦苗的根、叶尖,并去除腐烂、变黄等部分,用清水冲洗、去泥、灰尘等污物。

荞麦叶切割:将麦叶切割成长2cm的小段。

冷冻破壁:将荞麦叶均匀铺在460mm×330mm的料盘上,床层厚度60mm,放置在一定温度的冷冻室内冷冻处理一段时间,经冷冻处理后荞麦叶细胞破壁,使内容物的提取率增高。

提取剂制备:在1/150mmol磷酸缓冲溶液(pH7.5)中加入0.01%异VC钠作为提取剂,于-2~0℃冷藏备用。

研磨:每1kg麦苗加入0.5L于-2~0℃条件下冷藏的上述提取剂,利用胶体磨进行研磨,边研磨边用冷却水对磨套进行冷却,防止物料温度过高。

提取、分离:将上阶段研磨出的含有麦渣的混合物置于常温提取罐中,按提取剂总量为研磨液体量的5.5倍加入剩余提取剂提取一段时间后分离麦渣,取上

清液。

灭菌:为了最大限度地保持产品的色泽、口味以及营养成分,采用超高温瞬时灭菌,杀菌条件控制为135~150℃、2~5s。

灌装:将荞麦绿素液灌装于棕色玻璃瓶中。

1.3.3 冷冻破壁提取工艺的优化试验

按照1.3.2节工艺路线及方法,对冷冻破壁法提取荞麦绿素进行工艺优化试验,选取冷冻速度、冷冻时间和提取时间三个关键工艺参数进行正交试验,以提取液中SOD、叶绿素、芦丁等功能因子含量为指标,确定最佳提取工艺条件,试验设计如表1所示。

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels in the four-factor/three-level orthogonal array design

水平	因素			
	A/冷冻速度(冷空气流速)	B/冷冻时间(min)	C/提取时间(min)	D/空白
1	-20℃, 静止空气	20	20	
2	-20℃, 0.5m/s	40	40	
3	-20℃, 2~3m/s	60	60	

1.3.4 荞麦绿素成分的分析与测定

1.3.4.1 总蛋白质的测定

采用凯氏定氮法^[7]。

1.3.4.2 叶绿素的测定

采用分光光度计法测定^[8]。

1.3.4.3 SOD活性

采用Gianno-plitis方法^[9],利用SOD抑制氮兰四唑(NBT)在荧光下的还原作用。以抑制光还原50%为一个酶活性单位,计算酶活性。

$$\text{SOD活性(U/g FW)} = \frac{\text{OD}_{\text{对照}} - \text{OD}_{\text{样品}}}{\text{OD}_{\text{对照}}} \times 100\% \times \text{酶液总体积(ml)} \\ 50\% \times 0.1(\text{ml}) \times \text{样品质量(g)}$$

1.3.4.4 芦丁的测定

采用高效液相色谱法^[10]。色谱条件:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以甲醇-0.4%磷酸溶液(38:62,V/V)为流动相;检测波长为340nm,柱温40℃。

2 结果与分析

2.1 冷冻破壁提取工艺优化试验结果

由表2及图2~4可知,冷冻条件对提取液中叶绿素含量、SOD活性和芦丁含量的影响趋同,即随着冷冻速度的下降,这些指标均呈下降趋势;试验条件中,冷冻速度对提取的影响最为显著,较低的冷冻速度使荞麦幼苗细胞受到较大破坏,故细胞内容物易于溶出;而随着冷冻时间的延长提取液中功能因子含量有所提高,冷冻时间对含量的影响在40min之内较为明显,40min以

上影响较小；冷冻时间与冻结时料层厚度等因素有关，在 -20°C 时，麦苗的冻结率经计算可达到93%，在此之后冷冻时间的延长对提取效果的影响不大；提取时间的延长亦有利于功能因子的溶出，但其对叶绿素和SOD的影响在40~60min时已明显低于20~40min，芦丁的提取过程中提取时间的延长则更为有利。

表2 工艺正交试验结果

Table 2 Arrangement and results of the four-factor/three-level orthogonal array design

试验号	A 冷冻速度	B 冷冻时间(min)	C 提取时间(min)	D 空白	叶绿素含量(mg/100ml)	SOD活性(U/100ml)	芦丁含量(mg/100ml)
1	1	1	1	1	9.07	230	0.94
2	1	2	2	2	9.29	241	1.01
3	1	3	3	3	9.33	237	1.03
4	2	1	2	3	8.96	209	0.96
5	2	2	3	1	9.08	228	1.00
6	2	3	1	2	9.08	216	0.91
7	3	1	3	2	8.62	204	0.90
8	3	2	1	3	8.82	196	0.84
9	3	3	2	1	8.80	211	0.90
叶绿素含量	y_{j1}	26.34	26.86	26.91	27.09	$S = \sum_{i=1}^a (y_i - \bar{y})^2$ $= \sum_{i=1}^a y_i^2 - \frac{1}{a} (\sum_{i=1}^a y_i)^2$	
	y_{j2}	27.25	27.19	27.20	27.07		
	y_{j3}	27.75	27.29	27.23	27.18		
	R_j	0.47	0.14	0.11	0.04		
	S_j	0.34	0.03	0.02	0.00		
	f_j	2	2	2	2		
	F_j	148.84	14.75	9.10	-		
SOD活性	α	0.01	0.10	0.10	-	$S_i = \sum_{k=1}^b (\bar{y}_{ik} - \bar{y})^2$ $= \sum_{k=1}^b \sum_{i=1}^a y_{ik}^2 - \frac{1}{a} (\sum_{i=1}^a y_i)^2$ $f_i = b - 1 = 2$ $F_i = \frac{S_i/f_i}{S/f}$	
	y_{j1}	612	644	637	664		
	y_{j2}	664	660	658	654		
	y_{j3}	693	665	674	651		
	R_j	27.00	7.00	12.33	4.33		
	S_j	1122.89	80.22	229.56	30.89		
	f_j	2	2	2	2		
芦丁含量	F_j	36.35	2.60	7.43	-		
	α	0.05	0.25	0.25	-		
	y_{j1}	2.40	2.82	2.78	3.01		
	y_{j2}	2.96	2.92	2.84	2.88		
	y_{j3}	3.43	3.05	3.17	2.90		
	R_j	0.34	0.08	0.13	0.04		
	S_j	0.18	0.01	0.03	0.00		
含量	f_j	2	2	2	2		
	F_j	54.27	2.71	9.00	-		
	α	0.05	0.25	0.10	-		

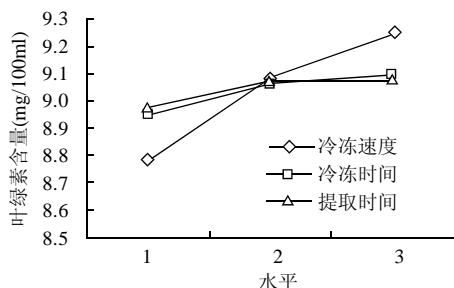


图1 工艺条件对提取液中叶绿素含量的影响

Fig.1 Effects of various levels of each factor on chlorophyll content

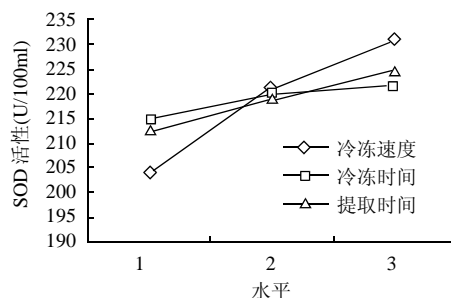


图2 工艺条件对提取液中SOD活性的影响

Fig.2 Effects of various levels of each factor on SOD activity

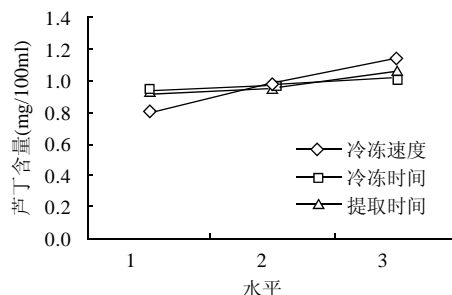


图3 工艺条件对提取液中芦丁含量的影响

Fig.3 Effects of various levels of each variable on rutin content

根据分析结果，工艺条件对提取液中叶绿素含量影响的显著性为冷冻速度>冷冻时间>提取时间；工艺条件对提取液中SOD活性和芦丁含量影响的显著性为冷冻速度>提取时间>冷冻时间。提取叶绿素的最佳工艺条件组合为 $A_3B_3C_3$ 。

综合图2~4和表2的方差分析结果，各试验因素对提取液中叶绿素含量影响的相助力排序为 $A > B > C$ ，对提取液中SOD活性和芦丁含量影响的显著性排序为 $A > C > B$ 。以各项功能因子含量高为优选原则，试验中各因素的优水平为 $A_3B_3C_3$ 。按最佳工艺条件组合制取的荞麦绿素提取液中蛋白质、芦丁和叶绿素含量分别为0.26%、1.03mg/100ml和9.37mg/100ml，SOD活性可达242U/100ml。

2.2 按最优组合制得荞麦绿素提取液的质量指标

2.2.1 感官指标

暗绿色液体，含有少量悬浮物，具有荞麦苗特有的风味及青草味，无异味及杂质。

2.2.2 理化指标

经检测，荞麦绿素提取液的理化指标如下：原汁浓度24.6%，蛋白质0.26%，SOD 242U/100ml，叶绿素9.37mg/100ml，芦丁1.03mg/ml，铅(以Pb计)0.02mg/L，砷(以As计)0.01mg/L，汞(以Hg计)未检出。

2.2.3 微生物指标

经检测，荞麦绿素提取液的微生物指标如下：细菌总数10CFU/ml，大肠菌群小于3MPN/100ml，致病菌

(沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌)未检出。

3 结论与讨论

结果表明,以荞麦为原料生产麦绿素的方法是可行的,荞麦绿素产品的蛋白质、叶绿素含量虽然低于进行对比试验用的大麦绿素提取液,但是其含有 1.03mg/100ml 的芦丁,这拓宽了麦绿素的生理学功效,使其保健意义大大提高。

本研究采用了冷冻破壁技术生产麦绿素提取液,该方法简单易行,冷冻工艺要求较低,工艺控制方便,所得产品各项指标符合国家标准要求,且对麦绿素功效成分的保留优于普通方法,产品为液体形式,适于人体吸收,为麦绿素类植物提取物的生产提供了一条新的生产工艺路线和新的产品形式。

在试验过程中荞麦提取物沉淀现象在各种麦类绿素提取试验中最为严重,这对功效成分的提取率产生不利

影响,此现象产生的原因及解决方法值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 南京药学院. 中草药学[M]. 南京: 江苏人民出版社, 1983: 67-69.
- [2] 何凤梅. 普通药与新药600种[M]. 北京: 化学工业出版社, 1993: 222-224.
- [3] 王仁怀, 夏建峰, 沈光钊, 等. 不同大麦品种的麦绿素专用价值初步研究[J]. 浙江农业科学, 2003(5): 255-258.
- [4] 杨素珍, 王伟, 李磊, 等. 麦绿素保健食品的研制[J]. 食品加工, 2002(2): 94-96.
- [5] 邵承斌, 李仁炳, 梅永强. 麦草膳食纤维的制备与性质[J]. 重庆工商大学学报, 2005, 22(3): 226-228.
- [6] 金增辉. 生物技术加工混配型“麦绿素”饮料[J]. 粮食与油脂, 2003(4): 32-35.
- [7] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [8] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [9] GIANNOPLOU C N, RIES S K. Superoxide dismutase Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 1977(5): 399-414.
- [10] 卫生部药典委员会编. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 189-192.