

反复冻融法在葛仙米破壁技术上的应用

汪兴平^{1,2}, 谢笔钧^{1,*}, 程超², 莫开菊², 陈德文^{1,2}

(1.华中农业大学食品科技学院, 湖北 武汉 430070;

2.湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000)

摘 要: 葛仙米营养价值较高, 但传统的加工方法使人体不易吸收其营养成分, 为了能使人体更有效的利用其营养成分, 本文以葛仙米为原料, 采用反复冻融法进行破壁处理, 并以葛仙米中蛋白质的溶出率作为破壁指标。实验结果表明, 反复冻融法可以一定程度的破坏细胞壁, 其最佳破壁条件为: 将葛仙米粉在 0℃ 保持 30min, 取出研磨, 如此反复 3 次, 并且于 30℃, pH7 时进行提取, 破壁效果最好, 蛋白质的溶出率最高。

关键词: 反复冻融; 葛仙米; 破壁

Study on *Nostoc sphaeroids kutz* Cell-breakage by Freezing and Melting

WANG Xing-ping^{1,2}, XIE Bi-jun^{1,*}, CHEN Chao², MO Kai-ju², CHEN De-wen^{1,2}

(1.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2.School of Biological Science and Technology, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, CHina)

Abstract: The nutrition value of *Nostoc sphaeroids kutz* was high, but the traditional processing technology could not break the cell sphere of *Nostoc sphaeroids kutz*, hence it was very difficult to metabolize. In order to use its nutrients effectively, the cell-breaking technology by repeat freezing and melting was studied in this paper. The results were as the follows. The optimal cell-grinding conditions with freezing and melting were 30min at 0℃, repeated grinding 3 times, and extracted at 30℃, pH7.

Key words: freezing and melting repeatedly; *Nostoc sphaeroida kutz*; cell-breakage

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2005)03-0162-04

葛仙米(*Nostoc sphaeroids kutz*)是一种多细胞的丝状微藻, 是蓝藻门念珠藻科属植物, 个体由许多圆球形细胞组成不分枝的单列丝状体, 一般其丝状体呈念珠状, 丝状体的外面有一共同的胶质鞘, 易形成层理, 比较坚固^[1,2]。研究表明, 野生葛仙米蛋白质含量高达 48.61%, 含 17 种氨基酸, 其中人体必需氨基酸的含量为 44.619%, 脂肪酸含量为 8.11%, 以中碳链为主; 富含维生素, VB₁ 1.2mg/100g, VB₂ 11.8mg/100g, VC550mg/100g, VE7.0mg/100g, β -胡萝卜素 114mg/100g^[3], 是一种珍

稀的食用资源和可开发的蛋白源。

葛仙米的细胞壁有两层, 内层主要有果胶和纤维素组成, 外面的胶质鞘的化学成分主要是果胶质和戊聚糖, 钙化, 是指在胶质鞘的层理中, 有石灰质的沉淀, 这可能是由于胶质鞘的主要成分是多糖, 具有大量羟基, 较易形成氢键, 并且多糖在一定条件下容易氧化成糖酸, 从而容易与金属离子结合而富集金属, 此即为葛仙米富钙的原因^[1]。葛仙米的这一细胞结构限制了人们对其营养物质的吸收利用, 只有将孢子进行破壁才

收稿日期: 2004-05-08

* 通讯作者

基金项目: 湖北省自然科学基金(2003ABA068); 湖北省科技攻关项目(2002A201C15); 湖北省教育厅重大项目(2001A08008)

作者简介: 汪兴平(1963-), 男, 教授, 在读博士, 主要从事生物资源开发利用。

谢笔钧, 女, 教授, 博导, 主要从事食品化学研究。

J Agric Food Chem, 1992, 40: 1331.

[8] Zhang K Q, Bao Y D, P Wu, et al. Antioxidative components of Tanshen (*Salvia miltiorhiza* Bunge)[J]. J Agric Food Chem,

1990, 38: 1194.

[9] 《全国中草药汇编》编写组. 中国中草药汇编(上册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990. 216-218.

能充分的利用其营养成分。目前关于破壁技术主要有机械法、物理法和化学法^[4]，这些方法在花粉、小球藻和螺旋藻等方面已经成功的运用，细胞的破壁率达到100%^[6~8]，而葛仙米方面却未见报道。

1 材料与方法

1.1 实验材料

葛仙米粉：粉碎分别过40、60、80、100、120目筛，分装备用。

1.2 实验仪器

BCD-285WZ电冰箱 上海夏普电器有限公司；7500紫外可见分光光度计 上海天美科学仪器有限公司；FA2104电子天平 上海天平仪器厂；日立S450扫描电子显微镜。

1.3 实验方法

1.3.1 蛋白质的测定 考马斯亮蓝G-250法^[5]。

蛋白质溶出率(%)=(可溶性蛋白质含量/总蛋白质)×100%

1.3.2 细胞反复冻融法破碎方式

称取0.1g一定粒度的葛仙米粉，加入5ml蒸馏水，置于冰箱中0℃保持30min，取出研磨，重复三次，处理后采用5000r/min离心分离15min，收集上清液，定容，测蛋白质溶出率。

2 结果与分析

2.1 反复冻融法的破壁效果

根据测定，葛仙米的营养成分含量较高，其中主要营养成分含量具体见表1。

表1 葛仙米细胞内的营养成分

Table 1 The nutritional composition in the cell of *Nostoc sphaeroids kutz*

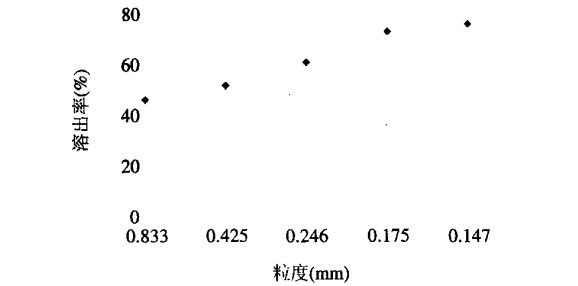
成分	蛋白质	果胶	脂肪	VC(mg/g)
含量(%)	48.61	12.21	8.11	5.500

由表1可以看出葛仙米细胞中蛋白质的含量很高，为了给以后葛仙米的深加工技术提供技术储备，本文以蛋白质的溶出率来判断葛仙米的破壁效果，蛋白质的溶出率越高，说明破壁效果越好。

2.1.1 不同平均粒度对蛋白质溶出率的影响

取不同粒度的葛仙米粉各0.1g，按料液比1:100反复冻融3次，实验结果见图1。

由图1可以看出，随着葛仙米粉碎粒度的减小，蛋白质的溶出率逐渐增加，但是过度粉碎，蛋白质的溶出率增加的并不多，并且会导致浸提液浑浊不清，所以选择过100目筛。



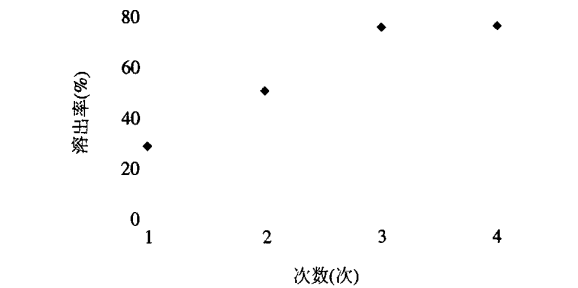
注：藻粉 0.1g；溶剂 水；料液比 1:100(W/V)；温度 20℃。

图1 不同平均粒度蛋白质溶出率的变化

Fig.1 The influence of different average size on protein leaching rate

2.1.2 冻融次数对蛋白质溶出率的影响

取100目的葛仙米粉0.1g，按料液比1:100分别进行1~4次冻融处理，实验结果见图2。



注：藻粉 0.1g；溶剂 水；料液比 1:100(W/V)；温度 20℃。

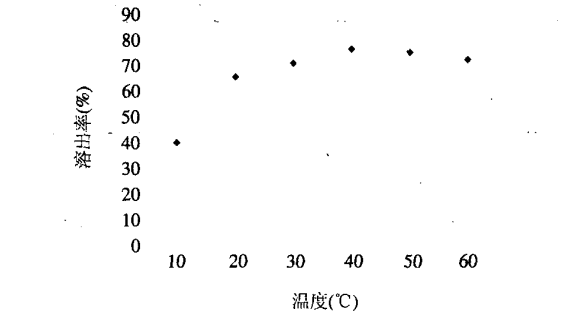
图2 冻融次数对蛋白质溶出率的影响

Fig.2 The influence of freezing and melting times on protein leaching rate

由图2可以看出，随着冻融次数的增加，蛋白质的溶出率呈现增加的趋势，但连续冻融4次的蛋白质的溶出率只是稍微高于连续冻融3次，所以从经济方面考虑，选用连续冻融3次。

2.1.3 提取温度对蛋白质溶出率的影响

取0.1g过100目的葛仙米粉，按料液比1:100连续



注：藻粉 0.1g；溶剂 水；料液比 1:100(W/V)；冻融次数 3次。

图3 提取温度对蛋白质的溶出率的影响

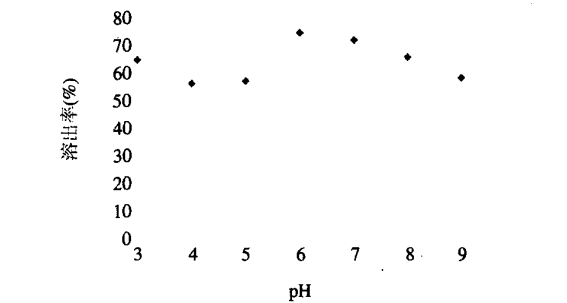
Fig.3 The influence of temperature on protein leaching rate

冻融 3 次，随后采用 10~60℃ 的温度分别提取葛仙米粉中的蛋白质，比较其溶出率，实验结果见图 3。

由图 3 可以看出，在 10~50℃ 范围内，随着温度的提高，提取效果越好，这是因为溶剂的渗透性随着温度的升高而增强，有利于蛋白质的溶出，溶出率在 40℃ 达到最高，若提取温度继续提高到 50℃，溶出率反而下降，可能是因为加热导致蛋白质变性沉淀，从而使溶出率下降，由此可见最佳提取温度为 40℃。

2.1.4 pH 对蛋白质溶出率的影响

取 0.1g 过 100 目的葛仙米粉，按料液比 1:100 连续冻融 3 次，在 40℃ 采用 pH3~9 分别提取葛仙米粉中的蛋白质，比较其溶出率，结果见图 4。



注：藻粉 0.1g；溶剂 水；料液比 1:100(W/V)；温度 20℃；冻融次数 3 次。

图 4 pH 对蛋白质的溶出率的影响
Fig.4 The influence of pH on protein leaching rate

由图 4 可以看出，在 pH6 时蛋白质的溶出率最高，pH3 时的溶出率高于 pH4、pH5 的，这可能是因为 pH4 和 pH5 接近蛋白质的等电点。

2.2 正交实验

在以上单因素实验的基础上，对破壁条件的三个参数即冻融次数、提取温度、pH 设计了 L₉(3⁴) 正交实验，以蛋白质的溶出率作为指标，实验结果见表 2 和表 3。

表 2 反复冻融法破壁的正交实验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal experiment			
水平	A(提取温度)	B(冻融次数)	C(pH)
1	20℃	1	5
2	30℃	2	6
3	40℃	3	7

通过以上极差分析可以看出，在反复冻融法破壁中，冻融次数对破壁效果影响最显著，其次为 pH，最佳破壁条件为 A₁B₃C₃，即反复冻融 3 次，冻融后提取温度 30℃，pH7。

反复冻融法的扫描电镜图见图 6，由图可以发现，采用反复冻融法可以有效对葛仙米进行破壁，其中可见大量的葛仙米细胞壁的碎片，破壁后可以使葛仙米的原生质部

表 3 正交实验结果分析表

Table 3 Results of orthogonal experiment					
实验号	A	B	C	D	溶出率(%)
1	1	1	1	1	27.968
2	1	2	2	2	47.012
3	1	3	3	3	70.024
4	2	1	2	3	28.576
5	2	2	3	1	75.956
6	2	3	1	2	49.800
7	3	1	3	2	29.141
8	3	2	1	3	47.314
9	3	3	2	1	74.076
K ₁	48.335	28.562	41.694		
K ₂	51.444	56.761	49.888		
K ₃	50.179	64.633	58.374		
R	3.109	36.071	16.680		

注：供试葛仙米(过 100 目)质量为 50mg，料液比 1:100

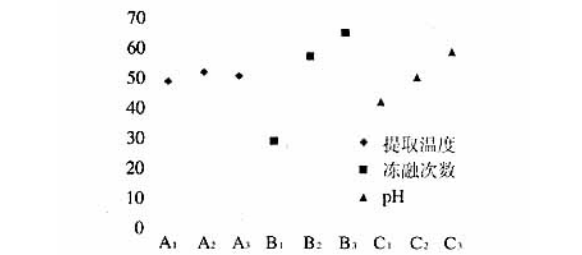


图 5 各因素水平对蛋白质溶出率的影响
Fig.5 The influence of all factors and levels on protein leaching rate

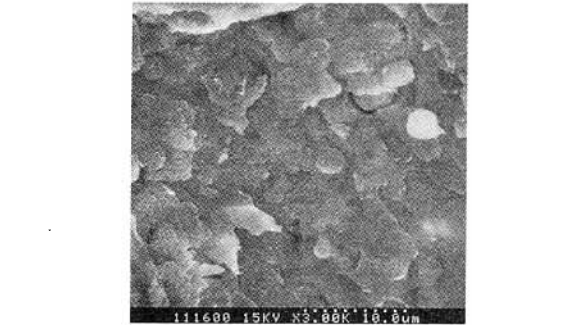


图 6 反复冻融法破壁的葛仙米扫描电镜图(× 3000)
Fig.6 The SEM of cell-breaking through freezing and melting repeatedly

分裸露出来，从而提高其内部营养物质的溶出率。

3 结论与讨论

通过以上实验发现，反复冻融法可以有效的进行葛仙米破壁，其最佳破壁条件为：将葛仙米粉在 0℃ 保持 30min，取出研磨，如此反复 3 次，并且于 30℃，pH7 时进行提取，破壁效果最好，蛋白质的溶出率最高。其中冰冻温度必须控制在 0℃，以防止蛋白质变性，此外

沙棘籽中原花色素的提取工艺研究

徐晓云, 潘思轶*, 胡建中

(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 本文以脱脂沙棘籽为原料, 乙醇为提取液, 通过提取温度、提取时间、脱脂时间、料液比、酒精浓度、pH 值 6 个单因素实验, 在中心组合实验基础上, 采用响应面分析法, 确定沙棘籽中原花色素的最优提取条件。研究表明, 在提取温度 21℃、pH5.1、酒精浓度 65% 时, 沙棘籽中原花色素的提取率达 5.84%(以脱脂沙棘干重计), 粗品纯度达 39.18%。

关键词: 沙棘; 原花色素; 提取; 响应面分析

Technology Study on Extracting Proanthocyanidins from Sea Buckthorn Seed

XU Xiao-yun, PAN Si-yi*, HU Jian-zhong

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Technology of extracting proanthocyanidins from sea buckthorn seed were studied. The dried defatted sea buckthorn seed was used as raw material. After investigating the single effect factor on proanthocyanidins extraction, the optimum factors were obtained. The central composite design and corresponding response surface analysis were used to obtain the optimal parameters of processing. The optimum conditions of extraction were as follows: the rate of solution phase to solid phase 10:1, the temperature 21℃, extraction time 90min, pH value 5.1, and the concentration of ethanol 65%. The extraction yield was 5.84% on the dry weight basis of defatted sea buckthorn seed powder with the product purity as 39.18%.

Key words: proanthocyanidins; sea buckthorn seed; extraction; response surface analysis

中图分类号: TS255.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)03-0165-05

原花色素(proanthocyanidins, 简称 PAC)是自然界中广泛存在的聚多酚类化合物, 是由不同数量的儿茶素或表儿茶素结合而成。低聚的原花色素(oligomeric procyanidins, 简称 OPC's)以其高效、低毒、高生物

利用率引起人们的极大兴趣^[1]。原花色素具有很多生理功能, 如清除人体自由基^[2], 抗氧化性、保护心血管和预防高血压、抗肿瘤作用等等^[2,3]。除此之外, 原花色素还具有抗过敏及抗炎作用, 皮肤保健及美容, 改

收稿日期: 2003-11-03

* 通讯作者

基金项目: 加拿大 MRAC(Medical Research Advisory Committee)项目(2002MRAC109)

作者简介: 徐晓云(1970-), 女, 在读硕士, 研究方向为天然产物化学与应用。

每次冻融后必须要进行研磨, 否则会使葛仙米破壁率下降, 原因可能为葛仙米对环境胁迫具有抗性, 可以忍受低温, 而辅助的机械处理如研磨可以打破其对低温抗性。

参考文献:

- [1] 朱浩然. 中国淡水藻志(第二卷)[M]. 科学出版社.
- [2] 谭学儒. 葛仙米简介[J]. 中国食物与营养, 1998, (5): 45.
- [3] 汪兴平, 张家年, 等. 野生葛仙米营养成分分析与评价[J].

食品科学, 2002, 23(8): 288-290.

- [4] 严希康. 生化分离技术[J]. 华东理工大学出版社, 1998.
- [5] 韩雅珊. 食品化学实验指导[J]. 北京农业出版社, 1992.
- [6] 桂林. 蛋白核小球藻培养方式的比较及其叶黄素的提取检测[D]. 华中农业大学研究生论文, 2001.
- [7] 王立志, 彭光跃, 等. 海水小球藻脂脂肪酸组成研究[J]. 海洋科学, 1999, (4): 68-70.
- [8] 胡朝辉, 刘志礼. 极大螺旋藻中 β -胡萝卜素的分离纯化及定量测定[J]. 色谱, 2001, (11): 85-87.