

小球藻食品工艺中的关键技术^①

梁英妹 陈妙莹 陈清梅 黄梓筠 李嘉琳 桂林*

(广州大学生命科学学院 广东广州 510006)

摘 要: 小球藻是一种高蛋白、高多糖、低脂肪、富含多种维生素及矿物质的单细胞藻类,具有全面而均衡的营养价值和保健功能,可作为功能食品和营养强化剂应用于食品工业。本文综述了小球藻在食品领域开发利用的关键工艺技术,其中,提升小球藻生物营养利用度的破壁技术包括了研磨法、机械匀浆法、交替冻融法、超声波破碎法、高压均质法等物理破壁技术以及酶解法、微生物发酵法、病毒溶壁法等生化破壁技术;而改善小球藻食品风味的去腥技术主要有 β -环糊精包埋、活性炭吸附和酵母发酵吸附3种。

关键词: 小球藻食品 物理破壁技术 生化破壁技术 去腥工艺

中图分类号: TS21

文献标识码: A

文章编号: 1674-098X(2018)04(a)-0247-04

Abstract: Chlorella is a kind of single celled algae with comprehensive and balanced nutrition and health care function,for it riches in protein,carbohydrate,vitamins and minerals,but low fat, which can be used as functional food and nutritional supplements in food industry.This paper summarizes the key technical skills of the Chlorella's development and utilization in the food field,among them,the cell wall crushing technology helps enhance the biological nutrient utilization of Chlorella,including physical and biochemical cell walls breaking technology, such as grinding method, mechanical homogenate method, alternate freezing and thawing method, ultrasonic breaking method, high pressure homogenization method,enzyme hydrolysis method,microbial fermentation and virus dissolving method.Improving the flavour of Chlorella food, we can summarize that there are three major deodorization technologies:beta-cyclodextrin embedding, activated carbon adsorption, and yeast fermentation adsorption.

Key Words: Chlorella food; Physical wall Breaking technology; Biochemical wall breaking technology; Deodorization technology

小球藻(Chlorella)是一类普生性单细胞绿藻,目前地球上已知的小球藻种类以及其变种可达数百种之多,以淡水水域种类最常见,在良好环境下生长的小球藻具有很高的营养应用价值,蛋白质含量可达63.60%^[1]。小球藻具有抗感染、抗癌、抗辐射、抗氧化等生理活性,可以活化人体淋巴细胞,从而增强人类机体免疫能力,还可以防治胃溃疡、高血压和高血脂等疾病,保健功能齐全,营养丰富,被FAO列为21世纪人类的健康营养源绿色食品^[2]。

小球藻的细胞壁较厚,且十分坚硬,成分较复杂,甚至连反刍动物都很难消化,人体直接食用会影响对其的消化吸收,所以对其破壁加工是必须的^[3]。又由于小球藻富含绿藻多肽,使其本身存在着较重的藻腥味,因此制成食品时,虽然营养丰富,往往由于品相和浓郁的腥味而不为消费群众所接受,所以还需要进一步加工以去除或遮盖腥味,才能更好地应用于食品开发。由此看来,破壁与去腥

是小球藻食品工艺中的两大关键技术。多年来人们一直不断研究可行的、效率高、效果好的破壁方法与去腥技术来提高对小球藻的利用价值。本文概述各种破壁与去腥的技术,供人们借鉴以优化小球藻食品的工艺技术,进一步开拓小球藻的食品应用市场。

1 小球藻食品工艺中的破壁技术

小球藻有坚硬的纤维素胞壁,其纤维素甚至不能被反刍动物有效地消化,营养物质大多存在于藻体细胞内,不易为机体吸收。人体食用太阳晒干或气流干燥的未破壁的小球藻粉,其消化率及蛋白效率较低。所以,小球藻食品的加工过程中一般都会将其进行预处理——破壁,将藻细胞内的营养成分提取出来再添加到食品中,从而增大人体对小球藻的营养吸收利用率。现今许多学者已经研究了多种小球藻破壁技术,可分为物理破壁技术和生化破壁技术两大类。

①基金项目:广东省2016年度大学生创新训练项目(项目编号:201611078065)。

作者简介:梁英妹(1995—),女,汉族,广东茂名,本科,研究方向:微生物高价值产物的储备。

通讯作者:桂林(1975—),男,汉族,湖北武汉人,博士,讲师,研究方向:生物高价值产物应用,E-mail: biogui@163.com。

1.1 小球藻物理破壁技术

物理破壁法是以机械能、热能、高压和声波等方法将细胞破碎, 目前为止, 小球藻破壁主要有以下五种物理破壁方法: 研磨法、高压均质法、反复冻融法、超声波破碎法、机械匀浆法。

1.1.1 研磨法

研磨法是在钵钵中加入小球藻和石英砂或其他缓冲物液, 再用钵杵进行研磨, 在钵杵的外力作用下使得小球藻的细胞壁破碎。研磨法操作比较简单, Hongli Zheng等^[4]在液氮中研磨小球藻时测定其细胞的破碎率, 发现小球藻细胞在液氮研磨中全部破碎; 另外, 液氮研磨虽然能够达到理想的破壁效果, 但是成本要求高, 而且小球藻混合液在研磨时容易溅出, 因此不适用于食品工业中的大规模生产。

1.1.2 机械匀浆法

机械匀浆法其原理是利用高速组织捣碎机产生的剪切力, 将其细胞壁破裂, 从而使细胞破碎。Doucha等^[5]用不同的高速组织捣碎机, 对同一种小球藻细胞进行了多组30min以上的机械匀浆破壁实验, 发现其破壁率均超过60%, 增加破壁时间时, 部分仪器甚至能达到90%的破壁率。小球藻的破壁率与破壁时间、匀浆速度以及念珠数量等有关。高强度、长时间的机械匀浆虽然能达到理想的破壁效果, 但是耗能很大; 另外, 匀浆时温度上升且产生的强大剪切力都会导致小球藻的部分成分变性。所以, 机械匀浆破壁法尽管能够达到一定的破壁效果, 却由于能耗大和易破坏胞内活性物等原因, 使其在食品工业化生产中应用时不理想。

1.1.3 交替冻融法

交替冻融法是指反复冷冻与融化时, 细胞中形成了冰晶、增高了剩余液体中盐浓度及发生溶胀而使藻细胞破壁。将藻液置于低温环境中进行冷冻, 细胞内及其周围的绝大多数水形成冰晶, 这个过程产生了膨胀压, 使得细胞产生机械损伤, 同时未冻结的胞内残存液, 在冻结过程中冰晶的析出致使溶质浓缩, 渗透压改变、pH改变、电解质升高、蛋白变性等, 而升温融解又会导致细胞溶胀, 最终使细胞破碎。刘圣臣等^[6]将3种不同密度的藻液分别在-20℃进行冷冻, 室温或25℃融解, 每次冰冻12h, 经交替冻融4次后, 发现破壁率均超过55%, 且密度对细胞破碎率的影响不大。交替冻融操作简便, 不受外源性杂质污染, 适用于高密度藻体破壁, 并且设备简单, 能源消耗低, 适合较大规模生产。但每次冻融需要消耗大量时间, 破壁速度较慢, 而且要注意那些对温度变化敏感的蛋白质不

宜采用此法。

1.1.4 超声波破碎法

超声波破碎法的原理是利用超声波产热使胞内的极性物质吸热, 温度迅速上升, 胞内物质就会膨胀, 细胞膜和细胞壁冲破, 形成了许多微小的裂纹和小孔, 裂纹或小孔的存在使胞外溶剂极容易进入细胞内, 溶解并释放胞内物质。刘圣臣等^[6]用功率400W的超声波每间歇3s破碎3s的方法, 对不同密度的小球藻细胞进行不同时间的破壁实验。最终发现, 随着小球藻的浓度增加, 其破壁率有所下降; 而超声波作用时间越久, 细胞的破壁效果越好。

此法的细胞破壁率可以达到90%以上, 同时破壁所需的时间短。但在处理过程中会出现局部高温现象, 容易造成细胞内蛋白质变性、不饱和脂肪酸氧化等有效营养成分被破坏的问题, 必须严格在冰浴的条件下进行超声波破碎。另外, 由于其本身结构的独特性, 不同微藻对超声波的敏感度不同。通常, 超声波破碎法与酶解法联合应用, 即适当减小超声波功率或者时间后加入适量纤维素酶, 其处理效果较好, 既能有效破壁, 又减少营养成分的损失。

1.1.5 高压均质法

高压均质法较多用于小球藻破壁提取藻蛋白。其原理是使用高压迫使悬浮液穿过针形阀, 突然的减压和高速冲击撞击导致细胞破裂, 在高压均质器中, 细胞经历了高速造成的剪切、碰撞和由高压到常压的突变, 从而造成细胞壁的破坏, 细胞膜也破裂, 释放出胞内产物。钟瑞敏等^[7]用30MPa压力将60℃复水的小球藻均质2次, 观察发现小球藻的破壁率达到99%。高压均质法对小球藻破壁的效果非常好, 但在操作中会产生大量的热量, 其机械能和热能会对部分生物活性营养物质造成破坏损失。

1.2 小球藻生化破壁技术

小球藻生化破壁法是通过生物过程或者化学过程来分解小球藻细胞壁的方法。目前主要有酶解法、发酵法和病毒法。

1.2.1 酶解法

小球藻的细胞壁主要成分是纤维素, 纤维素酶能够有效的分解小球藻的细胞壁, 达到良好的破壁效果。酶解法的破壁率较高, 基本能够满足工业化需求。酶解法对小球藻的破壁处理较温和, 不会像物理破壁法那样产生很大的热量, 因此不容易导致胞内成分变性, 十分有利于胞内物质的提取。但是, 酶解法利用纤维素酶水解细胞壁, 其速率取决于酶活, 通常情况下酶解法要消耗不少时间。同时, 酶解法温和的处理条件容易加大染菌的风险。

小球藻的细胞壁含有不少蛋白质或其他成分,所以在酶解破壁过程中,可以尝试加入一些蛋白酶等其他酶,效果会更好。然而,何扩等^[8]在研制藻片时采用酶解法对小球藻进行破壁处理,发现在纤维素酶中加入复合酶或糖化酶都降低了小球藻破壁率,效果并不理想。因此,复合酶解法破壁并不是简单地将几种酶组合在一起就可以了,人们很有必要进一步探讨小球藻细胞壁的各种成分,明确酶解法降解小球藻细胞壁的机理,才能更好地提高小球藻在食品工艺中的生物利用度。

1.2.2 微生物发酵分解法

发酵法是将微生物接种到小球藻发酵培养基中,利用微生物在发酵过程中产生的纤维素酶来分解小球藻细胞壁。其中能够产生纤维素酶的微生物主要有木霉、青霉、镰刀菌、纤维素诺卡氏菌、链霉菌属、纤维单胞菌属以及芽孢杆菌属等^[9]。与酶解法不同的是,发酵法不用直接加入纤维素酶,而是利用发酵反应产生的纤维素酶来分解细胞壁。发酵法破壁时,小球藻细胞壁能作为微生物生长的部分碳源,成本比酶解法低,同时还能产生其他代谢产物作用于细胞壁,提高破壁率,起到了一举两得的作用。发酵法还可以与微生物固定化技术、发酵培养基分批补料技术以及连续培养技术一起应用。不足的是,发酵法伴随着微生物发酵反应整个过程,所以破壁要消耗不少时间。

1.2.3 病毒溶壁法

PBCV-1是一种小球藻病毒,通过与特异性的受体不可逆地识别,吸附到小球藻细胞壁上,并在吸附位点将细胞壁消解。张维娟等^[10]在检测PBCV-1病毒降解小球藻细胞壁的活力时,发现PBCV-1与小球藻于22℃保温一定时间(小于1h),加入破坏细胞膜的离子去垢剂,即可使小球藻破壁裂解。同时,经过反复冻融处理过的病毒颗粒虽然丧失了感染细胞的能力,但仍具有溶壁能力,而且与未冻融的完整病毒相比,并无明显区别。因此,食品工业生产中,可用经过冻融灭活处理的PBCV-1病毒对小球藻进行快速有效的破壁处理。

物理破壁法虽然破壁效率高但存在能耗高的问题;而生化破壁法则属于非机械法,这些方法的使用则容易影响产品的纯度和质量,而且废水排放存在着明显的环保压力。因此,现阶段在进行较大规模的细胞破壁时,依旧是物理破壁方法应用比较广泛。小球藻破壁的方法五花八门,大部分方法可达到一定的破壁率,但也都存在不可忽视的弊端。食品生产的时候,应该根据所需要研制的产品的特征来选择合适的破壁方法,比如,机械匀浆法和高压

均质法普遍适合小球藻面包面条等固体食品的生产,而生化破壁技术一般适用于生产小球藻保健饮品。

2 小球藻食品工艺中的去腥技术

当前市场上小球藻食品品种不多,这是由于其存在较重的藻腥味口感较差,令人难以接受。而且事实上这些产品中的小球藻有效成分含量不多,也是由于其藻腥味限制了食品中小球藻的添加量,从而导致小球藻产品难以得到大范围推广。因此,人们开展了小球藻去腥工艺的研究。目前为止,人们已经开发的小球藻去腥技术主要有 β -环糊精包埋、活性炭吸附、酵母发酵吸附等3种。

2.1 β -环糊精包埋法

β -环糊精是环状的低聚糖同系物,其分子间存在0.7~0.8nm的含有CH和糖苷结合的含有-O-原子的环状空穴,可以将绿藻多肽等腥味物质包埋起来,起到脱腥的作用。 β -环糊精包埋法除腥的基本工艺流程^[11]如下:用适量蒸馏水将一定量的 β -环糊精调制成合适浓度,边加热边搅拌研磨,到一定温度(40℃)之后,加入适量小球藻,继续在此温度下匀速搅拌研磨,达到所需时间后,停止搅拌研磨,将所得湿浆放在4℃冰箱中静置过夜后抽滤,得到的滤渣置于50℃左右烘箱中干燥,即得最终的去腥小球藻。付桂明等^[12]研究发现, β -环糊精对蓝绿藻口服液藻腥味的掩盖效果较好,对产品本身的色泽感官性状影响小。

2.2 活性炭吸附法

活性炭是一种多孔性物质,其孔隙结构高度发达,且有巨大的比表面积,因此具有很强的吸附性。付桂明等^[12]研究发现,当活性炭配比达2g/100mL藻液时,绿藻口服液的藻腥味基本消失,基本呈透明状,说明活性炭的除藻腥味效果过强,脱色也较明显。缺点是活性炭对蛋白有一定的吸附作用,在藻腥味除尽的同时,蓝绿藻口服液中绿藻多肽、藻蓝蛋白等有效物质也大部分被除去,反而有可能减小小球藻的营养利用率。

2.3 酵母发酵吸附法

酵母粉脱腥的机理是:结构疏松的酵母对腥臭物质有吸附作用,并且酵母粉及其含有的多种酶能将腥臭物质如醛、酮等大分子物质作为底物转化为无腥臭物质,从而达到脱腥除臭的目的。庞庭才等^[13]采用发酵脱腥法,以破壁小球藻为原料,取80mL小球藻液,接入甜酒酵母,通过发酵制成的一种小球藻保健饮料。此法制出了澄清黄绿色的饮料,无藻腥味,具有优良的口味口感,重要的是营养丰富齐全。通过酵母的发酵作用可消除腥味,同时发酵过程中产生的一些中间代谢产物,对腥味有一定的掩盖作用。

但是,付桂明等^[11]研究发现,在蓝绿藻口服液中添加6‰的酵母,32℃发酵1h,可以达到较好的脱腥效果,却会带来令人不快的发酵味,如果发酵过度,不仅会分解小球藻的部分有效成分,而且中间代谢产物增多,会使饮料产生明显的发酵味。另外,由于设备投资大,发酵条件难于控制,在藻类脱腥生产中较少使用。

综上所述,3种脱腥方法中,活性炭在脱除腥味的同时,会吸附减少营养物质、减淡色泽;而酵母发酵虽然能有效脱除腥味,却可能给产品带来了不期望的发酵味; β -环糊精除腥效果很好,有效成分没有损失,对产品本身的色泽感官性状影响也较小,适合应用于食品工业中的大规模生产。近年来,也有较多的研究是通过复合配方掩蔽调和法去除小球藻腥味,如在小球藻提取液或者小球藻食品半成品中,添加适量独具清香气味的中药材提取液,用以调和掩蔽藻腥味,使消费者更容易接受甚至喜爱此类产品的风味口感。复合配方掩蔽藻腥味的同时,工艺简单,最大程度保持了小球藻的营养成分,甚至实现了食品营养的互补与强化。

3 存在的问题与发展方向

虽然小球藻作为食品原料及绿色天然的营养强化剂应用于食品中越来越成为一种新兴的食品时尚与潮流,但部分小球藻食品加工技术存在很多不足,未能有效克服小球藻本身所具有的特殊藻腥味,未能将其可利用的营养价值最大化地应用于食品,从而未得到消费群众的广泛认可,使得小球藻在食品中的应用推广受限。同时,小球藻本身的蓝绿色较浓,其绿色提取液容易氧化为褐黄色,而藻粉在溶液中易沉淀而影响饮料的外观品相。由此,笔者认为,人们现阶段应深入探究更加温和节能的破壁技术和更有效的小球藻除腥工艺,提高小球藻食品的功能性、安全性和稳定性。其中,小球藻破壁技术在不断开发新的物理、生化破壁方法以弥补原有方法的不足的同时;应结合多种传统的物理或生化破壁方法,每种方法有自己的长处与不足,相互配合使用,能够起到取长补短的效果。而小球藻除腥工艺应在现有的吸附、包埋、掩蔽调和等基础方法上进一步进行探索与创新,在尽量不损失破坏小球藻营养物质的前提下研发最有效的除腥方法。提高小球藻食品的营养、品相以及安全性是开发和推广小球藻食品亟待解决的一大问题。随着现代科技研究技术的不断完善,将会有越来越多的高品质小球藻食品为人们所青睐。

参考文献

[1] 陈晓清,苏育才.小球藻的应用研究进展[J].生物学教

学,2012,37(1):8-9.

[2] 张强.小球藻活性成分的研究及食品方面的开发进展[J].山东青年,2010(8):163-164.

[3] 钟韵山,徐仰仓,荆柏林,等.小球藻破壁技术研究进展[J].食品研究与开发,2014(14):120-124.

[4] Hongli Zheng, Jilong Yin, Zhen Gao, et al. Disruption of *Chlorella vulgaris* cells for the release of biodiesel-producing lipids: a comparison of grinding, ultrasonication, bead milling, enzymatic lysis, and microwaves[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2011,164:1215-1224.

[5] Doucha, K. Lívansk. Influence of processing parameters on disintegration of *Chlorella* cells in various types of homogenizers[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2008,81:431-440.

[6] 刘圣臣,邹宁,吴电云,等.小球藻海藻油提取中不同破壁方法的研究[J].中国食品添加剂,2009(5):100-102.

[7] 钟瑞敏.酶解小球藻保健饮品工艺研究[J].食品科学,2002,23(9):68-71.

[8] 何扩,张秀媛,李玉峰.小球藻破壁技术及其藻片研制[J].食品工业科技,2006,27(2):147-151.

[9] 靳振江.纤维素酶降解纤维素的研究进展[J].广西农业科学,2007,38(2):127-130.

[10] 张维娟,刘彬,刘平芳.小球藻病毒 PBCV-1 溶壁活性研究[J].河南大学学报:医学科学版,2003,22(4):16-25.

[11] 陈雪峰,刘楠楠. β -环糊精制备葱油香精微胶囊的工艺研究[J].中国调味品,2011,36(3):61-63.

[12] 付桂明,万茵,吕颖峰,等.蓝绿藻营养口服液的研制[J].食品工业科技,2008(4):165-168.

[13] 庞庭才,胡上英,林美芳,等.小球藻发酵饮料加工工艺[J].食品与发酵工业,2014,40(11):260-264.