

用高电压脉冲电场促进牛骨可溶性钙快速溶出

殷涌光,赫桂丹

(吉林大学 生物与农业工程学院,长春 130022)

摘要:以柠檬酸和苹果酸的复合物作为混合酸,采用高电压脉冲电场(PEF)技术对牛骨中钙盐的溶出进行了研究。结果表明:该技术与传统方法相比,具有溶钙量高,速度快的特点。建立了场强、脉冲数、加酸量对溶出可溶性钙影响的数学模型,确定了最佳工艺参数:电场强度 23 kV/cm,脉冲数 12,混合酸量 3.881 g,该条件下溶出的钙离子含量高达 12.90 mg/mL。

关键词:食品加工技术;高电压脉冲电场(PEF);牛骨;溶出;可溶性钙

中图分类号:TS251 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-5497(2009)01-0249-05

Fast dissolution of dissoluble calcium from bovine bone treated by high intensity pulsed electric fields

YIN Yong-guang, HE Gui-dan

(College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130022, China)

Abstract: Fast dissolution of dissoluble calcium from bovine bone treated by high intensity pulsed electric fields (PEF) was investigated, in which the admixture of citric acid and malic acid was used as the mixed acid. Results show that the PEF dissolution speed is much faster and the obtained content of dissoluble calcium is much more than that of the traditional methods. The mathematical model of the effects of field strength, pulse number and mixed acid on the dissolution content of calcium was established. The optimum condition was determined as: field strength of 23 kV/cm, pulse number of 12 and mixed acid of 3.881 g. Under such condition the maximal obtained content of dissoluble calcium is 12.90 mg/mL.

Key words: food processing technology; high intensity pulsed electric fields (PEF); bovine bone; dissolution; dissoluble calcium

牛的胴体中,牛骨占 10%~15%,且体内 99%的钙存在于骨骼和牙齿中^[1]。过去,由于技术水平的限制,我国对牛骨的加工主要集中在生产骨胶、明胶、骨脂、饲料、肥料等方面,很少用于生产骨质食品,忽视了牛骨中钙的有效利用^[2]。

采用简单的物理方法处理牛骨,钙的溶出率低,不能有效地促进钙的吸收利用^[3]。高电压脉冲电场(PEF)技术是近年来研究最多的食品非热加工技术之一^[4],广泛地应用于食品的杀菌和钝酶^[5],最大限度地维持食品的保鲜度,是近十几年来最有

收稿日期:2007-09-13.

基金项目:国家科技支撑计划项目(2007BAD55B06);长春市科技攻关计划项目(06GG139);长春市科技成果转化百亿增值工程项目(2007CZ14);吉林省科技发展计划项目(20060216).

作者简介:殷涌光(1949-),男,教授,博士生导师.研究方向:农产品加工及设备. E-mail:biofood@jlu.edu.cn

通信作者:赫桂丹(1980-),女,博士研究生.研究方向:农产品加工及设备. E-mail:heguidan@tom.com

前途的实现工业化应用的加工技术之一^[6]。而高压脉冲电场应用于钙溶出的研究目前在国内外未见报道。因此,作者将 PEF 技术应用于牛骨中的钙溶出研究,确定出最优参数,为工业化生产高钙饮料、口服液产品等提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

牛骨:由长春市皓月清真肉业股份有限公司提供。

1.2 试剂和仪器

试剂:柠檬酸,苹果酸,CMC,EDTA,CaCO₃,NaOH,三乙醇胺,钙红指示剂。以上试剂均为分析纯。

仪器:自行设计的高电压脉冲电场装置;高速离心机(4000~40000 r/min);YXQ-280 MD 型煤电两用不锈钢手提式压力蒸汽消毒器;DCW-2008 低温恒温槽;电子天平;VIP207S 微波炉。

1.3 PEF 装置的设计

高压脉冲电场的设置^[7](见图 1)采用的是流动式装置。脉冲电源的波形为三角波(见图 2),其输出电压的实际数值可由示波器直接读出,频率 1000~3000 Hz,整个管道处理室的容量为 120 mL。用泵来抽取骨粉溶液,使其流经处理装置,接受电场的处理。

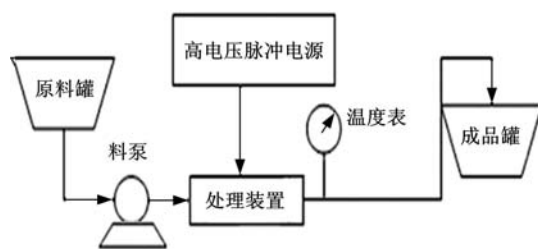


图 1 高压脉冲电场处理设备装置原理图

Fig. 1 Schematic diagram of high intensity pulsed electric field processing apparatus

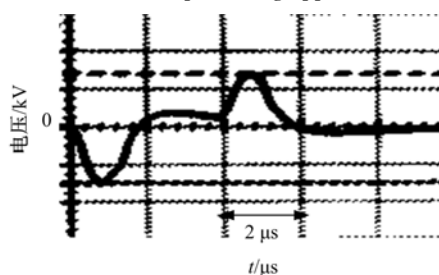


图 2 脉冲的波形

Fig. 2 Form of pulsed wave

1.4 试验方法

1.4.1 样品预处理

首先将牛脊骨粗碎成 10~20 cm 大小的骨块,然后把骨块进行高压蒸煮 1 h(121 °C,0.1 MPa),以去除脂肪、软骨和部分蛋白质,使骨软化便于后面的粉碎,取出蒸煮后的骨块,用中药粉碎机粗磨 30 min(粉碎时加入碎冰,以防止粉碎过程中温度过高),得到的骨渣再用胶体磨细磨 40 min 以上得到骨泥。(60±5) °C 干燥到恒重,粉碎至 100 目作为处理样品备用。

1.4.2 对比试验

为了验证高电压脉冲电场促进牛骨可溶性钙快速溶出的强化作用,采用对比试验并测定样品溶液中可溶性钙的含量,钙含量的检测按照 GB12398 90 进行。

试验 1(空白):准确称取样品 5 g,加水定容至 200 mL,静置 24 h 后离心取上清液测定钙离子含量。

试验 2(静止法):准确称取样品 5 g,加入柠檬酸 3 g,少量水溶解后定容至 200 mL,静置 24 h 后离心,取上清液测定钙离子含量。

试验 3(热煮法):准确称取样品 5 g,加入柠檬酸 3 g,少量水溶解后定容至 200 mL,煮沸 40 min 后冷却至室温,离心取上清液测定钙离子含量。

试验 4(微波法):准确称取样品 5 g,加入柠檬酸 3 g,少量溶解后定容至 200 mL,放入微波炉内在 500 W 条件下间歇反应 15 min 后,离心取上清液测定钙离子含量。

试验 5(PEF 法):准确称取样品 5 g,加入 3 g 柠檬酸及 3 g CMC,少量溶解后定容至 200 mL,置于高电压脉冲电场中处理(常温,场强 $E=70$ kV/cm,脉冲数 $C=5$),然后离心取上清液测定钙离子含量。

1.4.3 单因素试验

柠檬酸+苹果酸复合钙(果酸钙,CCM)是一种新型的高吸收性钙材料,具有溶解性好,钙的生物利用率高,减少铁吸收阻碍、风味良好、无任何毒副作用的特点^[8-9],在美、日、西欧等发达国家的应用已趋实用化,但在我国尚未得到充分开发和利用^[10],本文即采用柠檬酸和苹果酸的复合物作为混合酸,从牛骨中促进可溶性钙的溶出以制备果酸钙,混合酸的比例为 1:0.5、1:0.6、1:1、1:1.5、1:1.6、1:2、1:3 七个水平;混合酸添

加量为 2、4、6、8、10、12、14、16 g 八个水平;料水比为 1:5、1:10、1:15、1:20 四个水平;脉冲数为 2、4、6、8、10、12 六个水平;场强为 5、10、15、20、25 五个水平。

所有试验均进行三次,取其平均值。

1.4.4 优化试验

在单因素的试验基础上,采用三元二次回归旋转组合进行参数的优化,以确定可溶性钙溶出的最佳工艺。

2 结果与讨论

2.1 对比试验结果

图 3 为牛骨样品经过不同方法处理后,测得的溶液中钙离子含量。

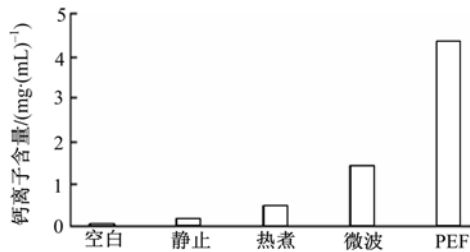


图 3 不同处理方法中钙离子含量的比较
Fig.3 Comparison of content of calcium ion among different methods

从图 3 中可以看出,经高电压脉冲电场处理后的牛骨样品溶液中的钙离子含量远远大于其他方法,较未处理时提高了 196.30 倍,较静止法提高 20.54 倍,较热煮法提高 8.53 倍,较微波法提高 3.06 倍,而且处理时间最短,因此高电压脉冲电场是从骨的钙盐中快速溶出可溶性钙的有效方法。

2.2 单因素试验

2.2.1 混合酸比例的确定

柠檬酸和苹果酸之间的配比不同,所得到的可溶性钙离子浓度也会不同,为了确定两者之间的最佳配比,对二者的比例进行试验研究。试验在场强 20 kV/cm,脉冲数为 10,骨:酸:水=1:1:10(质量比)的参数条件下进行,分别做柠檬酸与苹果酸不同摩尔比的条件试验,试验结果如图 4 所示。

从图 4 中可以看出,当柠檬酸与苹果酸的比值为 1:1.5 时,钙离子的含量最大,达到 10.80 mg/mL,因此选择柠檬酸:苹果酸=1:1.5 为最佳的混合配比。

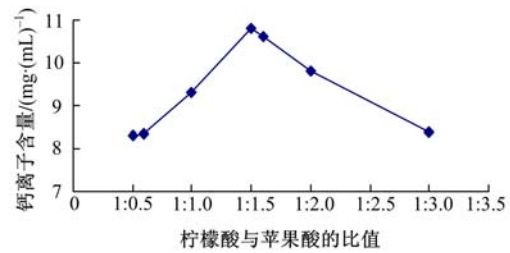


图 4 酸的比例对牛骨中溶出可溶性钙含量的影响
Fig.4 Effect of extracted acid ratio on content of dissoluble calcium of bovine bone

2.2.2 混合酸用量的确定

混合酸的用量也是影响提取离子钙的一个重要因素,因此取骨样 10 g,加水稀释至 100 mL,在场强 20 kV/cm,脉冲数为 10 的条件下,进行混合酸用量的试验分析,所得试验结果如图 5 所示。

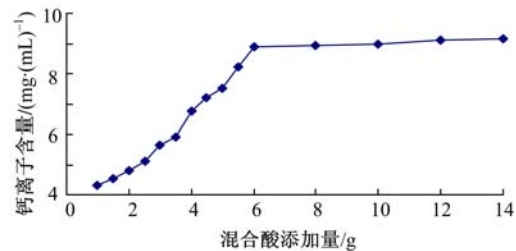


图 5 混合酸添加量对牛骨中溶出可溶性钙含量的影响
Fig.5 Effect of mixed acid addition value on content of dissoluble calcium of bovine bone

由图 5 中可以看出,提钙量随着酸量的增加而增加,当混合酸的添加量从 2 g 增加到 6 g 时,钙离子含量增加速度很快;超过这个区间以后,增加混合酸的用量,钙离子含量仍是逐渐增长的,可是增长速度趋于平缓,近于水平。当混合酸用量多于 14 g 时,体系的氢离子增多,pH 值变低,导致场强不能达到 20 kV/cm,钙离子含量下降。因此,本文选择混合酸的用量 6 g,即骨:酸=5:3(质量比)为合适的混合酸用量。

2.2.3 水料比确定

取骨酸比 5:3(质量比),柠檬酸与苹果酸摩尔比 1:1.5,在场强 20 kV/cm,脉冲数为 10 的条件下,进行水料比的试验,结果如图 6 所示。从图 6 中可以看出,当水料比为 10:1 时,钙离子的溶出量最大,所以最佳的水料比为 10:1。

2.2.4 钙离子溶出量与脉冲数的关系

取柠檬酸 3.07 g,苹果酸 2.93 g(二者摩尔比 1:1.5),骨样 10 g(骨酸比 5:3),加水稀释至 100 mL(水料比 10:1),在场强 20 kV/cm 的条

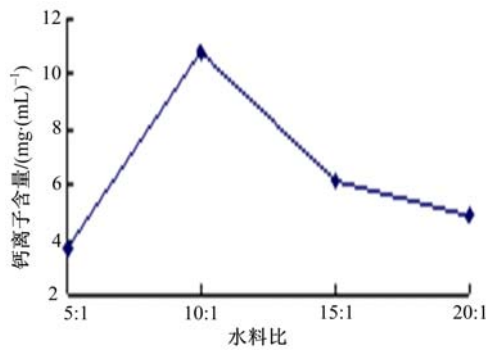


图 6 水料比对可溶性钙含量的影响

Fig. 6 Effect of ratio of water to bone on content of dissoluble calcium

件下进行处理,通过调整脉冲频率的方式调整不同的脉冲数,然后检测不同脉冲数对溶液中钙离子含量的影响。其处理结果如图 7 所示。

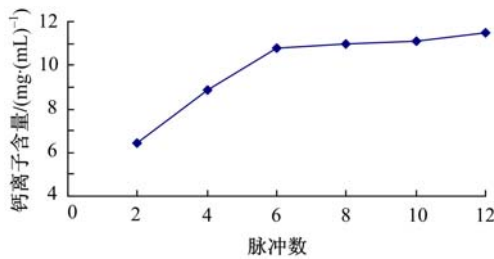


图 7 不同脉冲数对钙离子提取量的影响

Fig. 7 Effect of pulse number on content of dissoluble calcium

从图 7 中可以明显看出,随着脉冲数的增加,钙离子提取量也呈增加趋势,当脉冲数增加到 6 时,钙离子提取量从 6.43 mg/mL 增加到 10.80 mg/mL,当脉冲数大于 6 时,钙溶出量的增加趋于平缓。

2.2.5 钙离子溶出量与场强的关系

取柠檬酸 3.07 g、苹果酸 2.93 g(二者摩尔比为 1:1.5),骨样 10 g(骨酸比 5:3),加水稀释至 100 mL(水料比 10:1),在脉冲数为 6 的条件下进行处理,通过不同的电场强度测定其中钙离子的溶出量。其处理结果如图 8 所示。

从图 8 中可以看出,钙离子的溶出量随着电场强度的增大而明显增加,当电场强度达到 25 kV/cm 时,钙离子溶出量达到最大(11.01 mg/mL)。

2.3 优化数学模型的建立

由于混合酸的用量与场强和脉冲数之间存在交互作用,所以根据单因素试验结果,取场强、脉冲数、混合酸的用量 3 个因素为三元二次回归旋

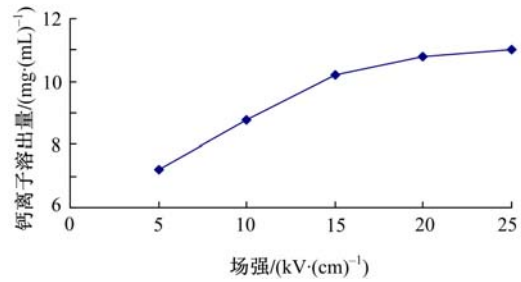


图 8 不同场强对钙离子溶出量的影响

Fig. 8 Effect of field strength on content of dissoluble calcium

转组合设计的影响因子,并确定出各因子的适当水平^[11],如表 1 所示。试验方案及试验结果如表 2 所示。

表 1 试验因素水平及其编码表

Table 1 Experimental factors and levels

$X_j(Z_j)$	$Z_1/(kV \cdot (cm)^{-1})$ 场强	Z_2 脉冲数	Z_3/g 混合酸量
$r(Z_{2j})$	25	12	10
$1(Z_0 + \Delta_j)$	20.95	9.97	8.38
$0(Z_0)$	15	7	6
$-1(Z_0 - \Delta_j)$	9.05	4.03	3.62
$-r(Z_{1j})$	5	2	2
$\Delta_j = (Z_{2j} - Z_{1j}) / 2r$	$\Delta_1 = 5.95$	$\Delta_2 = 2.97$	$\Delta_3 = 2.38$
$X_j = (Z_j - Z_{0j}) / \Delta_j$	$X_1 =$	$X_2 =$	$X_3 =$
	$0.168(Z_1 - 15)$	$0.336(Z_2 - 7)$	$0.420(Z_3 - 6)$

表 2 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

组次	x_1	x_2	x_3	$Y/(mg \cdot (mL)^{-1})$
1	1	1	1	0.45
2	1	1	-1	10.92
3	1	-1	1	0.45
4	1	-1	-1	6.27
5	-1	1	1	0.45
6	-1	1	-1	7.71
7	-1	-1	1	0.45
8	-1	-1	-1	4.59
9	-1.68179	0	0	5.31
10	1.68179	0	0	11.31
11	0	-1.68179	0	6.09
12	0	1.68179	0	11.25
13	0	0	-1.68179	4.32
14	0	0	1.68179	0.45
15	0	0	0	9.06
16	0	0	0	9.09
17	0	0	0	8.97
18	0	0	0	8.73
19	0	0	0	8.82
20	0	0	0	8.91
21	0	0	0	9.00
22	0	0	0	8.85
23	0	0	0	9.12

根据表 2 中的数据,可以得到回归方程

$$Y=9.002+1.097x_1+1.204x_2-2.504x_3-0.722x_1^2-0.595x_2^2-2.812x_3^2+0.191x_1x_2-0.611x_1x_3-0.971x_2x_3$$

以下是在 $\alpha=0.05$ 显著水平下剔除不显著项后,简化后的回归方程:

$$Y=9.002+1.097x_1+1.204x_2-2.504x_3-2.812x_3^2$$

在 DPS 数据处理平台上,建立非线性规划模型的要点,输入非线性回归方程及约束条件,计算出 Y 的最大值为 12.13 mg/mL,此时 x_1 、 x_2 、 x_3 分别为 1.36、1.68、-0.89,通过因子编码表进行计算得出最佳参数组合为:场强 23 kV/cm,脉冲数 12,加酸量 3.881 g。在最佳参数条件下进行验证性试验,测得钙溶出量为 12.90 mg/mL,与理论值接近。进一步验证了数学回归模型的适用性。

同时,通过对 Y 的回归系数检验可知,本旋回归试验范围内各因素对可溶性钙溶出的影响大小顺序是:脉冲数、场强、加酸量。

3 结 论

(1)通过试验研究发现,利用高电压脉冲电场可以将钙快速从牛骨中溶出,与热煮法和微波法相比,溶钙量高,速度快。

(2)利用高电压脉冲电场处理牛骨,确定了电场参数与牛骨中钙离子溶出的变化规律,发现钙离子的溶出量随着脉冲数和电场强度的提高而增加。

(3)建立了试验条件(场强、脉冲数、加酸量)对可溶性钙溶出影响的优化数学回归模型,确定了 PEF 方法促进牛骨中钙溶出的最佳参数,当电场强度为 23 kV/cm,脉冲数为 12,加酸量为 3.881 g 时,钙的溶出量可以达到最大(12.90 mg/L)。

参考文献:

- [1] 彭辉. 全骨粉食品的研究[J]. 食品工业科技, 1996(4):14-16.
Peng Hui. A study on the bone meal food[J]. Science and Technology of Food Industry, 1996(4):14-16.
- [2] 兰社益. 利用牛骨加工骨质食品的制作技术[J]. 企业技术开发, 1999(9):19.
Lan She-yi. The processing technique of bone food from beef bone[J]. Enterprise Technique Development, 1999(9):19.
- [3] 赵瑞香,连喜军,王欣,等. 利用酶法促使骨粉中钙转化的研究[J]. 食品科学, 2000, 21(3):34-36.
Zhao Rui-xiang, Lian Xi-jun, Wang Xin, et al. Calcium transformation of bone meal by enzyme[J]. Food Science, 2000, 21(3):34-36.
- [4] Angersbach Alexander, Heinz Volker, Knorr Dietrich. Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2000, 1(2):135-149.
- [5] Vega-Mercado Humberto, Martin-Belloso Olga, Qin Bai-lin, et al. Non-thermal food preservation: pulsed electric fields [J]. Food Science and Technology, 1997, 5(8):151-157.
- [6] 张鹰,曾新安,扶雄,等. 高场强脉冲电场液体非热灭菌效果研究[J]. 食品工业, 2004(1):42-44.
Zhang Ying, Zeng Xin-an, Fu Xiong, et al. Effect of liquid non-thermal sterilization by high intensity pulsed electric field [J]. The Food Industry, 2004(1):42-44.
- [7] 赵武奇,殷涌光,关伟,等. 高压脉冲电场杀菌系统设计与试验[J]. 农业机械学报, 2002, 33(3):67-69.
Zhao Wu-qi, Yin Yong-guang, Guan Wei, et al. Experimental study on a food pasteurization system by using a high voltage pulse field [J]. Transaction of the Chinese Society of Agriculture Machinery, 2002, 33(3):67-69.
- [8] Dawson-Hughes B, Dallal G E, Krall E A, et al. A controlled trial for the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women [J]. N Engl J Med, 1990, 323(13):878-883.
- [9] 陈一心,韩祖斌,林华. 钙补充剂与原发性骨质疏松症[J]. 中国骨质疏松杂志, 1996, 2(1):67-69.
Chen Yi-xin, Han Zu-bin, Lin Hua. Calcium supplement and original osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 1996, 2(1):67-69.
- [10] 刘魁,戎欣玉,李景印,等. 柠檬酸-苹果酸钙(CCM)咀嚼片的研制[J]. 食品工业科技, 2005(6):138-140.
Liu Kui, Rong Xin-yu, Li Jing-yin, et al. Study of CCM chew tablets preparation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2005(6):138-140.
- [11] 任露泉. 试验优化设计与分析[M]. 北京:高等教育出版社, 2001.