

多指标评价果胶酶对油菜蜂花粉的破壁作用

Effects of breaking cell wall on rape bee pollen treated with pectinase using multi-index evaluation

王 凯^{1,2,3}

任向楠^{2,3}

董 捷^{2,3}

张根生¹

WANG Kai^{1,2,3} REN Xiang-nan^{2,3} DONG Jie^{2,3} ZHANG Gen-sheng¹

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093;

3. 农业部国家蜂产品加工专业分中心, 北京 100093)

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150076, China;

2. Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China;

3. National Research Centre for Bee Product Processing, Beijing 100093, China)

摘要:为改善蜂花粉的破壁效果,采用果胶酶对油菜蜂花粉进行破壁处理。以 pH 值和温度为考察因素,蛋白分散指数、可溶性糖含量、显微镜分析、粒度分析等为评价指标,对破壁工艺进行优化。结果表明:果胶酶对油菜蜂花粉有一定的破壁作用,最佳破壁条件是 pH 值 3.5,温度 50 ℃。该条件下,蛋白分散指数为 0.684 6;可溶性糖含量为 24.86%;部分花粉粒萌发孔打开,花粉粒周围有小颗粒性物质出现;花粉孔洞面积增加,增加率为 39.20%;花粉颗粒由孔洞率小的范围趋向孔洞率大的范围分布;花粉颗粒的粒径和花粉碎片的粒径都有减小的趋势,其中 1 μm 以下粒径范围内的花粉碎片变化最为明显,增加了 339.92%。

关键词:果胶酶;油菜蜂花粉;破壁

Abstract: To improve wall-broken effects of bee pollen, rape bee pollen was selected as material and treated with pectinase in different pH and temperature. The effects of pectinase on rape bee pollen were evaluated by protein dispersion index, soluble sugar content, microscopic analysis and particle size distribution. The results demonstrated that pectinase hydrolysis could disintegrate the intine at the germinal apertures, the optimal conditions were pH 3.5 and temperature 50 ℃. Under optimal conditions, protein dispersion index was 0.684 6, and soluble sugar content was 24.86%. By microscopic analysis, some germinal apertures seemed apart and some little particles emerged. According to particle size distribution, the holes area of pollen increased 39.20%, and distribution of pollen grains shifted towards higher holes ratio. At the same time, the particle size distribution shifted towards smaller size of particles and the number of particles in small sizes was increasing, in particular, fragments below 1 μm increased by 339.92%.

Keywords: pectinase; rape bee pollen; breaking cell wall

蜂花粉是指经蜜蜂采集加工后的花粉团状物,其中包含植物的雄性配子体(花粉)、花蜜和蜜蜂的分泌物^[1-2]。蜂花粉中含有多酚、黄酮、花青素、磷脂和蛋白质等多种营养成分^[3-6],同时有着重要的生物活性和潜在的治疗功效,如自由基清除能力^[7-10]、抑制脂质过氧化性质^[11]和治疗前列腺疾病等^[12]。但是蜂花粉有坚韧的细胞壁,使其在人体中的消化利用率不高,进一步开发时营养物质的提取受到影响,因此对蜂花粉破壁方面的研究尤为重要。

成熟花粉的细胞壁可分为外壁和内壁两层,外壁由孢粉素构成,有许多与木质和角质共同的特性,有很好的稳定性,内壁由果胶、纤维素、蛋白质构成,与体细胞的初生壁相似^[13]。成熟花粉的细胞壁上有萌发孔,这是在外壁形成时形成的开口,是花粉中的水分进出的主要位置,萌发孔处没有外壁,只有内壁,是花粉易受环境影响的部位^[14]。因此,利用酶对花粉内壁物质的降解作用,可以使只有内壁而没有外壁的萌发孔打开,内部营养物质流出,从而达到破壁的效果。目前,朱文学等^[15]研究发现果胶酶对杜仲雄花粉有很好的破壁作用。张红城等^[16-17]研究发现纤维素酶可以改善油菜花粉细胞壁的通透性,达到一定的破壁效果。另外,中国油菜花粉产量大,果胶和纤维素在油菜花粉内壁中的占比尚不清楚,因此,果胶酶对油菜蜂花粉的作用效果值得期待。

果胶酶是一种组分较复杂的复合酶,能够降解果胶物质,广泛应用于食品工业等领域^[18]。果胶是花粉内壁的主要成分之一,本试验拟利用果胶酶对果胶的降解作用,研究果胶酶对油菜蜂花粉的破壁作用,并以蛋白分散指数(pro-

基金项目:哈尔滨商业大学研究生创新项目(编号:YJSCX2014-329HSD)

作者简介:王凯(1989—),女,哈尔滨商业大学在读硕士研究生。

E-mail:1029020173@qq.com

通讯作者:张根生,董捷

收稿日期:2015-05-26

tein dispersion index, PDI)、可溶性糖含量(soluble sugar content, SSC)、显微镜分析和粒度分析等衡量破壁效果,从而为破壁蜂花粉的生产提供一条新思路,为今后蜂花粉中有效成分的提取奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

- 果胶酶:酶活 1 500 U/mL,日本阿玛诺公司;
- 油菜蜂花粉:中国农业科学院蜜蜂研究所;
- 蒽酮:国药集团化学试剂有限公司;
- 其他试剂:均为分析纯,天津市福晨化学试剂厂。

1.1.2 主要仪器设备

- 紫外可见分光光度计:UV-2100 型,UNICO 上海仪器有限公司;
- pH 计:Seven Easy 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;
- 凯氏定氮仪:Kjeltec 2200 型,丹麦 FOSS 公司;
- 离心机:TDL-5-A 型,上海安亭科学仪器厂;
- 显微镜:CX31 型,奥林巴斯(中国)有限公司。

1.2 方法

- 1.2.1 酶解破壁 将蜂花粉研磨均匀,并称取 1.0 g 于 20 mL 蒸馏水。用玻璃棒充分搅拌,并调节 pH 值至 3.0,3.5,4.0,4.5,5.0 和 5.5。空白样品不加酶,向加酶样品中加入 0.2 mL 果胶酶,设置温度为 45,50,55 ℃,处理 24 h。每个样品做 3 组平行。
- 1.2.2 蛋白分散指数的测定 根据文献[19],修改如下:将花粉液以 2 500 r/min 离心 20 min,然后准确吸取 5 mL 的上清液进行凯氏定氮分析,得到分散在上清液中的蛋白含量;准确称取 0.1 g 蜂花粉,通过凯氏定氮法分析花粉中粗蛋白含量。蛋白分散指数按式(1)计算:

$$P = \frac{Z_1}{Z_2}$$
 (1)

- 式中:
- P——蛋白分散指数(PDI);
- Z₁——花粉上清液中蛋白含量,%;
- Z₂——花粉中粗蛋白含量,%。

- 1.2.3 可溶性糖含量的测定 采用蒽酮比色法[20]。试验测定的标准曲线为 y=0.007x+0.03,相关系数 R²=0.996 9。可溶性糖含量按式(2)计算:

$$C = \frac{m \times V \times D}{V_1 \times M \times 10^3} \times 100\%$$
 (2)

- 式中:
- C——可溶性糖的含量,%;
- m——标准曲线查得的糖含量,μg;
- V——样品总体积,mL;
- D——稀释倍数;
- V₁——测定时取用的体积,mL;
- M——样品质量,mg。

- 1.2.4 显微镜分析 制作花粉液玻片,用显微镜 OLYM-PUS CX31 进行观察,尼康 D80 进行摄影,结合使用 UV-C

软件对同一视野的照片共聚焦合成。

1.2.5 粒度分析 使用 UV-G 粒度分析软件对部分样品进行分析,并按式(3)、(4)分别计算花粉粒的孔洞面积增加率和花粉碎片的粒径变化率。

$$W_1 = \frac{S_1 - S_0}{S_0} \times 100\%$$
 (3)

$$W_2 = \frac{N_1 - N_0}{N_0} \times 100\%$$
 (4)

- 式中:
- W₁——样品孔洞面积的增加率,%;
- S₁——加酶样品的孔洞面积,μm²;
- S₀——空白样品的孔洞面积,μm²。
- W₂——样品碎片的变化率,%;
- N₀——加酶样品的碎片数量;
- N₁——空白样品的碎片数量。

- 1.2.6 数据分析 采用软件 Excel 和 SPSS 13.0 对试验数据进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 蛋白分散指数(PDI)及可溶性糖含量(SSC)分析

- 2.1.1 蛋白分散指数(PDI)分析 不同温度条件下,与空白样品相比,加酶样品的 PDI 都明显增加,见图 1。温度为 45 ℃

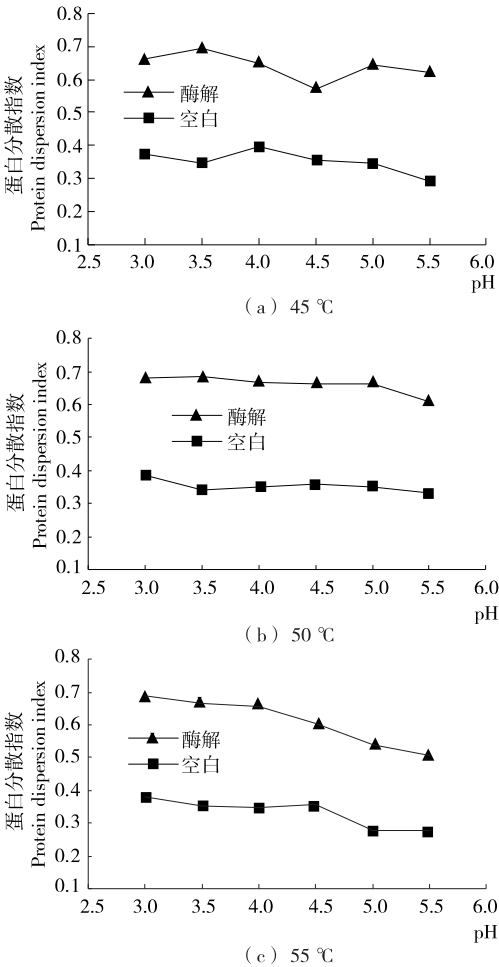


图 1 pH 值对 PDI 的影响
Figure 1 Influence of pH value on PDI

时,随着 pH 值的变化,加酶样品 PDI 波动较大,波动幅度为 0.126 4,pH 值 3.5 处 PDI 出现最大值 0.695 2;50 ℃ 时,加酶样品的 PDI 随 pH 值的变化波动幅度比较小,pH 值 3.5 处 PDI 出现最大值 0.684 6;55 ℃ 时,加酶样品的 PDI 随 pH 值的增大而减小,pH 值 3.0 处 PDI 出现最大值 0.687 8。每个温度条件下,pH 值 3.0 和 pH 值 3.5 处的 PDI 之间的显著性差异都不明显($P>0.05$),而且 PDI 都较大,说明果胶酶破壁油菜花粉的最适 pH 值在 3.0~3.5。因此,选择 pH 值 3.0 和 3.5,讨论破壁温度对 PDI 的影响。

固定 pH 值在 3.0 或 3.5 处,3 种温度条件下,加酶样品的 PDI 之间的显著性差异都不明显($P>0.05$),说明在此 pH 值下,温度对 PDI 的影响不大。

2.1.2 可溶性糖含量(SSC)分析 由图 2 可知,与空白样品相比,大多数条件下加酶样品的 SSC 增加。温度为 45 ℃ 时,pH 值对加酶样品的 SSC 影响较明显。加酶样品的 SSC 随着 pH 值的增加先增大后减小,而且变化幅度比较大,在 pH 值 4.0 处 SSC 出现最大值 27.74%。pH 值 4.5,5.0,5.5 处加酶样品的 SSC 没有明显的变化。温度为 50 ℃ 时,加酶样品的 SSC 随着 pH 值的增加先增大后减小,在 pH 值 4.0 处 SSC 出现最高值,最高含量为 25.53%。pH 值 3.0,3.5,4.0,4.5 处加酶样品的 SSC 之间没有明显变化,但与 pH 值

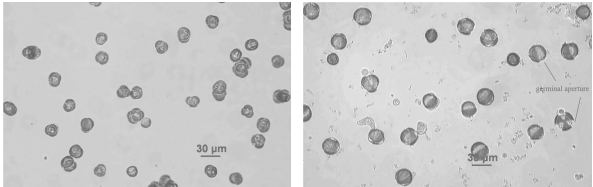
5.0 和 pH 值 5.5 处加酶样品的 SSC 之间存在显著的差异性($P<0.05$)。温度为 55 ℃ 时,加酶样品的 SSC 随着 pH 值的增加先增大后逐渐减小,在 pH 值 3.5 处 SSC 出现最大值 24.86%。pH 值 3.0 和 4.5,pH 值 3.0 和 5.0,pH 值 3.5 和 4.0,pH 值 5.0 和 5.5 处 SSC 之间差异性不明显($P>0.05$),其它不同处理条件下样品的 SSC 之间差异性显著($P<0.05$)。因此,将 pH 值固定为 3.5 和 4.0,并在此条件下讨论破壁温度对 SSC 的影响。

在 pH 值 3.5 和 4.0 处,加酶样品的 SSC 随着温度的增加逐渐减少,温度 45 ℃ 条件下 SSC 均表现出最高值。通过显著性分析可知,pH 值 3.5 时,不同温度条件下,加酶样品的 SSC 之间显著性差异不明显($P>0.05$);pH 值 4.0 时,不同温度条件下,加酶样品的 SSC 差异性显著($P<0.05$)。

综上所述,3 种温度条件下,pH 值在 3.0 和 3.5 处的 PDI 都比较大,且显著性差异不明显($P>0.05$);SSC 比较高的酶解破壁条件有温度 45,50,55 ℃ 条件下 pH 值 3.5 处和温度 45,50 ℃ 条件下 pH 值 4.0 处。各温度条件下,通过比较不同 pH 值处 PDI 和 SSC 的变化幅度,最终选择 3.5 为最适 pH 值,且此 pH 值条件下,PDI、SSC 之间显著性差异不明显($P>0.05$)。

2.2 显微镜分析

空白样品中的花粉粒近似圆形,萌发孔不能被清楚地观察或者处于闭合状态;加酶样品中的部分花粉粒萌发孔打开,而且花粉粒周围出现小颗粒性物质。这可能是因为花粉萌发孔处没有外壁保护,而内壁又是由比较简单的成分(主要是蛋白质、纤维素和果胶)构成^[13],因此花粉样品在经果胶酶酶解处理后,萌发孔处的内壁便会被部分降解,使得被降解的细胞壁碎片可以脱离花粉或花粉中的内容物而溶出,见图 3。



(a) 空白样品 (b) 加酶样品
图 3 pH 3.5, 50 ℃ 花粉的镜检图
Figure 3 Microscopic imaging of pollen samples at pH 3.5, 50 ℃ (× 400)

2.3 粒度分析

通过花粉粒的孔洞面积增加率、花粉粒孔洞率分布以及花粉颗粒粒径分布,分析花粉颗粒的粒度变化;通过花粉碎片的粒径变化率分析花粉碎片的粒度变化。综合考虑以上四点,从而全面评估花粉粒酶解破壁前后的变化情况。

2.3.1 样品颗粒粒度分析 在 pH 值 3.5 处,45,50,55 ℃ 3 种温度梯度下,加酶样品与空白样品比较,其孔洞面积都明显增加,见表 1。孔洞面积的增加说明花粉细胞壁表面发生了变化,有新的孔洞出现或者已有的孔洞发生扩张。这可能是由于果胶酶降解了细胞壁中的果胶物质,导致细胞壁不再完整并出现孔洞,只有内壁的萌发孔打开或进一步扩张。

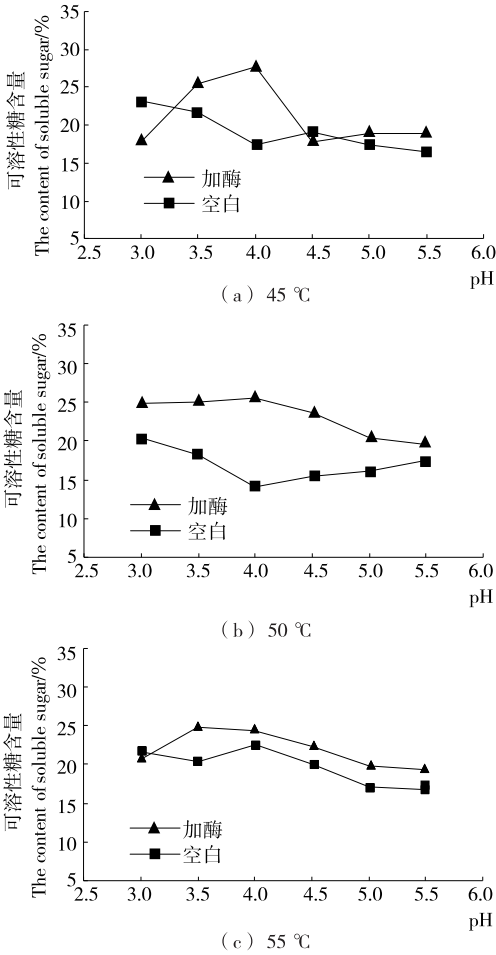


图 2 pH 值对 SSC 的影响

Figure 2 Influence of pH value on SSC

表 1 pH 值 3.5 处样品颗粒孔洞面积增加率

Table 1 Growth rate of pollen sample holes area at pH 3.5

温度/℃	45	50	55
增加率/%	95.83	39.20	64.92

pH 值为 3.5 时,45℃ 的空白样品孔洞率主要在 20%~50%,而加酶样品孔洞率主要在 50%以上;50℃ 和 55℃ 的空白样品孔洞率主要在 40%以下,而加酶样品孔洞率主要在 40%以上。整体而言,空白样品的花粉粒集中分布在孔洞率小的范围内,加酶样品的花粉粒集中分布在孔洞率大的范围内,见表 2。孔洞率变大说明花粉粒上的孔洞个数增加,推测增加的孔洞是果胶酶作用果胶物质的结果。

表 2 pH 值 3.5 处不同孔洞率的花粉个数分布表

Table 2 Distribution of pollen grain with different holes ratio at pH 3.5

花粉孔洞率/%	45℃		50℃		55℃	
	空白	加酶	空白	加酶	空白	加酶
	样品	样品	样品	样品	样品	样品
<20	1	0	3	1	3	0
20~30	3	0	11	1	8	1
30~40	12	0	6	2	5	1
40~50	4	0	4	4	3	2
50~60	0	10	1	2	0	6
>60	0	9	1	2	0	1

pH 值 3.5 时,空白样品与加酶样品中不同粒径范围内的花粉颗粒分布情况存在明显的差异。整体而言,pH 值3.5 时,3 个温度条件下,空白样品中 22 μm 以上粒径范围内的花粉颗粒占整体花粉颗粒的 80%以上,而就 22 μm 以下粒径范围内的花粉颗粒比例而言,加酶样品明显高于空白样品,特别是 50℃ 时,样品中 22 μm 以下粒径范围内的花粉颗粒比例增加了 44.61%。这说明果胶酶酶解破壁油菜蜂花粉有一定的效果,可使花粉颗粒粒径减小,从变化幅度来看,50℃ 的酶解破壁条件使花粉颗粒粒径变化较大,见表 3。花粉颗粒的粒径减小,可以推测花粉的细胞壁遭到破坏,内壁的果胶物质受果胶酶作用的位置可能不只是萌发孔,更大范围的内壁可能会沿着萌发孔被降解,导致外壁或内壁的某些物质从花粉中脱离。

表 3 pH 值 3.5 处不同花粉颗粒粒径分布表

Table 3 Particle size distrbution for pollen grain at pH 3.5

花粉颗粒粒径/μm	45℃		50℃		55℃	
	空白样	加酶样	空白样	加酶样	空白样	加酶样
	品/%	品/%	品/%	品/%	品/%	品/%
15~18	9.10	10.53	0.00	25.00	0.00	0.00
18~22	4.55	31.57	17.39	37.00	0.00	9.09
22~26	9.08	42.11	13.05	0.00	36.85	63.64
26~30	63.63	15.79	56.52	29.67	57.89	27.27
30~35	13.64	0.00	13.04	8.33	5.26	0.00

2.3.2 样品碎片粒度分析 经 3 个条件的酶解破壁后,大多数情况下,样品中小粒径范围内的花粉碎片增多,大粒径范围内的花粉碎片减少。最佳的酶解破壁温度为 50℃,此时的花粉碎片粒径变化幅度较大,特别是 2 μm 以下粒径范围内的花粉碎片变化最为明显,增加率高达 319.29%,见表 4。由此可知,果胶酶不仅可以降解花粉内壁,使部分花粉细胞壁呈碎片状脱落,而且还可以继续降解一部分已经脱落的细胞壁碎片。

表 4 pH 值 3.5 处花粉碎片的粒径变化率[†]

Table 4 Change rate of particle size in different pollen fragment at pH 3.5

花粉碎片粒径/μm	粒径变化率/%		
	45℃	50℃	55℃
0~2	-1.49	319.29	51.35
2~4	-3.64	-46.57	-11.51
4~6	53.34	-54.71	-58.45
6~8	160.68	-71.53	-79.86
8~10	245.02	127.74	20.87
10~12	ND	-100.00	ND
12~15	ND	-100.00	ND

[†] 正值代表增多,负值代表减少;ND 代表未检出。

综上分析,经果胶酶酶解破壁后,花粉颗粒的孔洞面积增加,花粉颗粒由孔洞率小的范围趋向孔洞率大的范围分布,花粉颗粒的粒径和花粉碎片的粒径都有减小的趋势。综合考虑,变化幅度最大的酶解破壁条件是 pH 值 3.5、温度 50℃。此条件下,经果胶酶酶解破壁,样品中 1 μm 以下的碎片由 8.29%增加到 36.47%,增加率为 339.92%,样品中 1~2,2~4 μm 粒径范围内花粉碎片数量减少明显,分别由 58.55%减少到 46.47%、由 26.42%减少到 14.12%。见图 4。其中 1 μm 以下粒径范围内的花粉碎片变化最为明显,可能是由于已经脱落的细胞壁碎片更容易被果胶酶降解,或者部分花粉内容物已经溶出。

3 结论

选用果胶酶处理油菜蜂花粉后,蜂花粉的蛋白分散指数(PDI)明显增加(P<0.05),大多数条件下,可溶性糖含量(SSC)

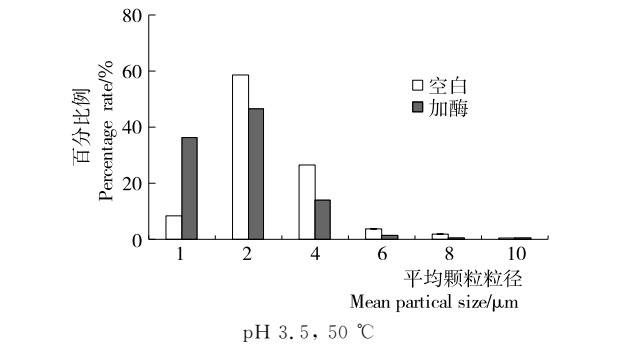


图 4 最佳条件下花粉碎片的粒径分布图
Figure 4 Particle size distributions for pollen fragment under optimal conditions

明显增加($P<0.05$),综合分析确定果胶酶酶解破壁最佳条件是 pH 值 3.5、温度 50℃。最佳条件下,PDI 为 0.684 6,SSC 为 25.06%。经粒度软件分析,最佳条件酶解破壁后,花粉颗粒的孔洞面积增加,增加率为 39.20%;花粉颗粒由孔洞率小的范围趋向孔洞率大的范围分布;花粉颗粒的粒径有减小的趋势;花粉碎片的粒径分布发生变化,其中 1 μm 以下粒径范围内的花粉碎片变化最为明显,增加率高达 339.92%。这些变化可以说明经果胶酶处理后,油菜蜂花粉细胞壁遭到破坏,萌发孔处的内壁被部分降解,而且很有可能更大范围的内壁会沿着萌发孔一起被降解,导致外壁或内壁的物质呈碎片状脱落,脱落的碎片继续被果胶酶降解,此时花粉内容物中的营养物质,如蛋白质、可溶性糖等部分溶出,实现果胶酶对油菜蜂花粉的破壁作用。但由于果胶酶是专一性降解内壁中的果胶物质,还不能将花粉细胞完全破成碎片,仍有部分营养物质在花粉细胞内,因此花粉破壁的研究需结合考虑多种酶复合处理,或其他物理手段辅助处理,这还有待进一步研究。

参考文献

1 Liu Xiao-dong, Zhang Fu-bo, Zhou Bin, et al. Effect of sonication on different quality parameters of *Pinus massoniana* pollen[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015, 22: 174~181.

2 Pérez-Pérez E M, Vit P, Rivas E, et al. Antioxidant activity of four color fractions of bee pollen from Mérida, Venezuela[J]. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2012, 62 (4): 375~380.

3 Nagata H, Takei T, Kojima R, et al. Characteristics of an aminopeptidase from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(13): 5 445~5 448.

4 Napoli A, Aiello D, Di Donna L, et al. Profiling of hydrophilic proteins from *Olea europaea* olive pollen by MALDI TOF mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(10): 3 434~3 443.

5 Di Paola-Naranjo R D, Sánchez-Sánchez J, González-Paramás A M, et al. Liquid chromatographic - mass spectrometric analysis of anthocyanin composition of dark blue bee pollen from *Echium plantagineum*[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1 054 (1): 205~210.

6 Ukiya M, Akihisa T, Tokuda H, et al. Isolation, structural elucidation, and inhibitory effects of terpenoid and lipid constituents from sunflower pollen on Epstein-Barr virus early antigen induced by tumor promoter, TPA[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(10): 2 949~2 957.

7 Campos M G, Webby R F, Markham K R, et al. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(3): 742~745.

8 Leja M, Mareczek A, Wyżgolik G, et al. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species[J]. *Food Chemistry*, 2007, 100(1): 237~240.

9 Nagai T, Inoue R, Inoue H, et al. Scavenging capacities of pol-

168

len extracts from *cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals[J]. *Nutrition Research*, 2002, 22(4): 519~526.

10 Silva T M S, Camara C A, da Silva Lins A C, et al. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19(6): 507~511.

11 Almaraz-Abarca N, da Graca Campos M, Ávila-Reyes J A, et al. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae)[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2007, 20(2): 119~124.

12 Yang Kai, Wu Dan, Ye Xing-qian, et al. Characterization of chemical composition of bee pollen in China[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(3): 708~718.

13 Vizcay-Barrena G, Wilson Z A. Altered tapetal PCD and pollen wall development in the *Arabidopsis* *msl* mutant[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(11): 2 709~2 717.

14 胡适宜. 被子植物生殖生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 2005.

15 朱文学, 龚明贵. 杜仲雄花粉酶法破壁的研究[C]//2007 年学术年会论文集.[出版地不详]:[出版者不详], 2007.

16 张红城, 董捷, 任向楠, 等. 纤维素酶对油菜蜂花粉细胞壁通透性改善的研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(19): 70~73.

17 孟良玉, 蔡文倩, 兰桃芳, 等. 纤维素酶对油菜蜂花粉的破壁作用[J]. *食品科学*, 2012, 33(22): 72~75.

18 武莹莹, 叶汉英. 果胶酶微生物筛选和酶活测定方法研究[J]. *食品与机械*, 2010, 26(2): 57~60.

19 张根生, 赵全, 李继光, 等. 影响大豆分离蛋白分散性因素的研究[J]. *食品工业科技*, 2006, 27(3): 83~85.

20 黎源倩. 食品理化检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006.

(上接第 119 页)

构虽然延长了寿命,但与国外密封结构相比过于复杂且寿命差距较大,例如日本密封材料经过实际试验,1 000 万次只有轻微磨损,且不影响使用效果。因此密封工艺和材料将是今后改进的方向。

参考文献

1 付又香.我国食品包装机械的现状与发展趋势分析[J]. *湖南人文科技学院学报*,2009,4(2): 72~73,91.

2 付又香.我国食品和包装机械的技术创新[J]. *食品与机械*,2009, 25(3): 150~153.

3 龚晔,余蓓.食品包装机械行业的“绿化”[J]. *中国包装工业*,2007 (1):12.

4 王海兵,叶鹏,苗加乐,等.重力灌装阀的改进[J]. *轻工机械*, 2012,30(2):90~93.

5 张有良,徐强,常晓煜,等.冲瓶称重灌装旋盖一体机的设计[J]. *包装与食品机械*,2011,29(2):22~25.

6 夏春艳,刘秀娟,程焰.液体灌装机结构综述[J]. *佳木斯大学学报*,2000,18(2):176~179.

7 于启东.全自动液体灌装机[J]. *液压与气动*,1997(6):24~25.