

油菜籽中硫苷酶及其酶解性质的研究

钱 和 雕鸿荪 沈蓓英

(无锡轻工大学食品学院,无锡,214036)

摘要 研究了油菜籽中硫苷酶及其酶解性质。完整油菜籽中内源硫苷酶有较好的贮存稳定性,其最适酶解条件为50~70℃,pH6~8。只有有效地打破油菜籽中硫苷酶与硫苷的区域化分布,才能得到令人满意的酶解率。油菜籽粒度过小,给油脂浸出过程带来较大的困难。因此,在现行油菜籽加工工艺中的蒸炒阶段引入自动酶解脱毒法是不行的。

关键词 油菜籽;硫苷;硫苷酶;酶解

中图分类号 S565.4

0 前 言

前文报道^[1],在油菜籽加工过程中的蒸炒阶段,可使硫苷发生酶解与非酶解反应,总降解率为15%~48%。若能使油菜籽中硫苷在蒸炒阶段降解率提高到80%~90%,就能使脱溶菜籽粕达到饲用级要求。酶解反应条件比非酶解反应条件温和,引起的有效赖氨酸损失较小,因此利用硫苷酶分解硫苷更有利于提高菜籽粕品质。如果成功地将自动酶解脱毒法^[2]引入蒸炒阶段,便可得到一个能与现行油菜籽加工工艺配套、比较简单易行的油菜籽脱毒法。但未见关于自动酶解脱毒法的中试报道。根据已发表的资料,存在以下问题尚未研究:是否有稳定可靠的酶源;能否与现行加工工艺配套,即生胚状态下能否得到令人满意的酶解率。因此,本文中主要研究了以下内容:油菜籽品种、贮存时间与硫苷酶酶活的关系;温度对硫苷酶酶活的影响;pH对硫苷酶酶活的影响;含水量与硫苷酶解率的关系;油菜籽粒度对硫苷酶解率的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

原料(油菜籽)来自安徽、内蒙、青海、新疆、绍兴、南京、南通、常州等地。

1.2 脱脂油菜籽粉样品的制备

将油菜籽轧胚,室温脱脂,低温真空脱溶,干燥,研钵中磨碎,过100目筛。

1.3 硫苷总量的测定

收稿日期:1995-12-11

第一作者:钱和,女,1962年4月出生,工学博士,讲师

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

采用硫脲紫外分光光度法测定^[3]。

1.4 硫苷酶酶活的测定

待测样品室温脱脂, 35℃真空脱溶, 测定水分和残油。准确称取 100mg 样品, 加入 1ml pH7 Na₂HPO₄ 柠檬酸缓冲液和 2.5ml C₂H₅Cl, 30℃振荡酶解 1h, 离心分离。用硫脲紫外分光光度法, 测定 C₂H₅Cl 中由酶解生成的异硫氰酸酯的毫摩尔数^[4-6]。

规定在 30℃时 pH 的缓冲体系中反应 1h, 1g 样品所释放的 μmol 硫苷分解产物为 1 个硫苷酶酶活单位 (u)。

2 结果与讨论

2.1 油菜籽品种、贮存时间与硫苷酶酶活的关系

不同品种油菜籽的硫苷酶酶活及其贮存期间稳定性的问题, 关系到利用内源硫苷酶分解硫苷这一脱毒方法的稳定性与可靠性。因此, 测定了作者所在教研室收集、贮存的几种油菜籽中硫苷酶酶活以及硫苷的含量, 结果见表 1。

表 1 表明, 在油菜籽贮存期间, 其内源硫苷酶酶活没有明显降低, 有较好的贮存稳定性; 硫苷酶酶活与油菜籽的种属无关, 意外地发现它与硫苷的含量有关, 内源硫苷酶酶活与油菜籽内

表 1 油菜籽品种、贮存时间与内源硫苷酶酶活的关系

样品来源	种属	抽样时间 (年)	酶活 (u)	硫苷 (mg/g 粕)
安徽	甘蓝型	1991	101.48	12.47
绍兴	甘蓝型	1991	110.76	13.52
绍兴	甘蓝型	1992	120.94	14.67
南京	甘蓝型 (宁油 7号)	1992	104.84	12.85
南京	甘蓝型 (宁油 7号)	1993	100.72	12.39
南京	甘蓝型 (双低 2051)	1993	15.66	3.97
内蒙	白菜型	1993	11.88	3.11
青海	白菜型	1993	11.12	2.80
内蒙	白菜型	1993	125.88	16.36
新疆	白菜型	1993	120.12	15.19
西宁	白菜型	1993	25.08	5.60
南通	甘蓝型	1993	104.14	13.08
常州	甘蓝型	1993	113.56	16.16

硫苷含量之间存在近似线性关系 (图 1)。不过硫苷低含量油菜籽与硫苷高含量油菜籽的情况有所不同, 前者的斜率大于后者。

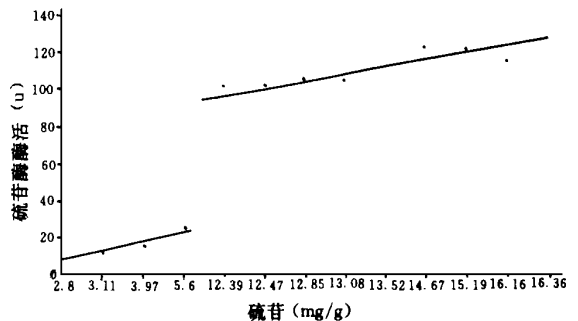


图 1 油菜籽内源硫苷酶酶活与硫苷含量的关系

2.2 温度对硫苷酶酶活的影响

选择 4 种具有代表性的油菜籽 (低硫苷与高硫苷品种) 作为研究对象。准确称取 100mg 室温脱脂粕 (10目) 数份于具塞试管中, 加入 1ml pH7 Na₂HPO₄ 柠檬酸缓冲液, 分别于不同温度水浴中反应 20min, 再于 100℃水浴中钝化硫苷酶, 用 C₂H₅Cl 提取酶解产物, 硫脲紫外分光光度法测其含量, 绘制图 2。图 2 表明: 温度对酶活起着决定性作用, 不同品种油菜籽内源硫苷酶的最适温度略有不同, 宁油 7 号甘蓝型油菜籽为 60~70℃, 常州产甘蓝型油菜籽为 50~65℃, 甘蓝型双低油菜籽为 50~70℃, 内蒙产白菜型油菜籽 (低硫苷品种) 为 60~70℃。因此, 硫苷酶的最适温度在 50~70℃ 之间; 在 20℃ 时, 硫苷酶酶活很低, 硫苷酶解率均不到 20%; 当温度超过最适温度, 硫苷酶酶活迅速下降, 这是因为酶变性失活造成的。因此, 若利

用硫苷酶来分解硫苷,其酶解温度应在 50~70℃之间,这样可提高硫苷酶解率,缩短酶解时间;如果希望钝化硫苷酶,则应将油菜籽迅速升温到 80℃以上,缩短在 50~70℃间的加热时间,防止部分已破碎菜籽中的硫苷被酶解;菜籽贮存期间,环境的温度宜选择低于 20℃.

2.3 pH对硫苷酶酶活的影响

测定室温脱脂粕(100目)在不同 pH缓冲溶液中的酶活,绘制酶活-pH曲线(图3),可知硫苷酶的最适 pH为 6~8.

2.4 样品含水量与硫苷酶解率的关系

将室温脱脂粕(宁油 7号,100目)调至一定含水量,于 65℃水浴中自动酶解,定时取样,取出后立即灭酶处理,低温真空干燥,硫脲紫外分光光度法测定样品中分解产物含量,求得酶解率.硫苷自动酶解率与酶解时间的关系曲线见图4.

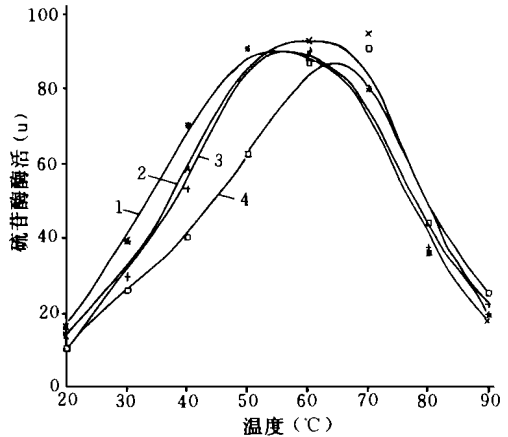


图2 温度对硫苷酶酶活的影响

1-南京(双低、甘蓝型) 2-常州(甘蓝型)
3-内蒙(白菜型) 4-宁油 7号(甘蓝型)

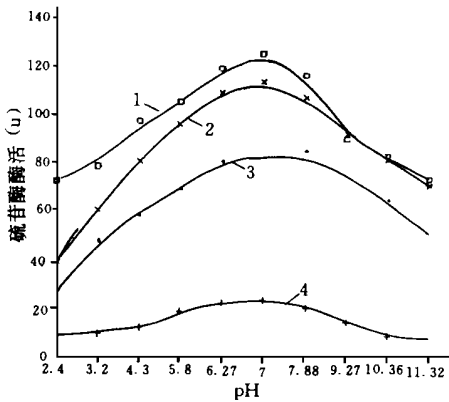


图3 pH对硫苷酶酶活的影响

1-内蒙(白菜型) 2-常州(甘蓝型)
3-宁油 7号(甘蓝型) 4-南京(双低、甘蓝型)

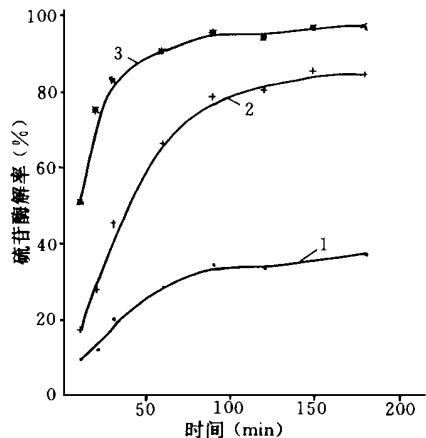


图4 样品含水量与硫苷酶解率的关系

1- 8.44% 2- 18.8% 3- 86.2%

由图4可知,含水量对酶解反应达到平衡的时间和酶解率的高低有很大影响.当含水量为 6.44%时,酶解速度较慢,酶解 1.5h,硫苷酶解率只有 34.5%,此时酶解反应接近平衡;当含水量为 18.8%时,酶解反应 1.5h 酶解率为 78.9%,酶解反应 3h 酶解率达 87.8%;而当含水量为 65.2%时,酶解反应速度很快,20min 酶解率便达到 75.4%,60min 便达到 95.5%.上述实验结果可用水分活度和底物有效性来解释,在一定的水分活度下,一旦溶解的底物被酶解,反应即停止.提高水分活度会增加游离水的数量,它又能溶解额外的底物,从而使反应重新开始,直至底物再次被酶解.因此在不同的水分活度下酶解反应趋于产生不同的最终产物积累量,水分活度越大,最终产物积累越高^[7].酶解反应的速度通常被底物扩散到酶的速度所限制,水分活度越高,底物的扩散速度越快,因此酶反应的速度亦快.

2.5 粒度对硫苷酶解率的影响

据报道,当水分为 15.5%,温度为 55°C 时,硫苷的酶解率在 1min 内就能完成 90%,但在对菜籽生胚进行自动酶解脱毒的探索性研究中,数十次实验均得不到理想的效果。因此,进行了硫苷酶最适酶解条件及一些化学试剂对硫苷酶的激活与抑制作用的研究,但即使在最佳酶解条件下,利用自动酶解脱毒仍得不到较好的酶解效果。探索性实验与资料报道的实验过程唯一的差别,前者以菜籽生胚为实验对象,后者将菜籽在咖啡磨中充分研磨后再酶解。因此,启发作者进一步探讨油菜籽粒度对硫苷酶解率的影响。

将油菜籽(宁油 7号)于低温下 ($t < 50^{\circ}\text{C}$) 真空干燥至含水 2% ~ 3%,然后破碎、过筛,使油菜籽分别达到一定的粒度。在硫苷酶最适温度下,测定不同粒度样品的自动酶解速度。具体方法是用 Na_2HPO_4 柠檬酸缓冲液调水分及 pH,使之含水约 25%,体系 pH=7,在 65°C 水浴中进行酶解反应,定时取样,取出后于 100°C 加热 25min 以钝化硫苷酶,室温脱脂,低温真空脱溶后测定残留硫苷的含量。绘制硫苷酶解率与时间的关系曲线(图 5)。由图 5 可知,粒度对油菜籽中硫苷酶解率的影响非常大,当油菜籽成片状或 3 目、60 目颗粒时,硫苷酶解率相当低,即使在最适温度下也不能充分酶解,样品粒度需在 100 目以上时硫苷酶才能使硫苷充分酶解。进一步分析认为,这种现象与硫苷酶和硫苷在油菜籽中的区域化分布有关。在未破坏的组织中,硫苷酶与硫苷处在彼此有效分离状态,必须使细胞组织破裂,造成硫苷酶与硫苷的接触,方能发生酶解反应,而粒度在某种程度上反映了组织被破坏的程度。

长期以来,一直误认为在蒸炒阶段硫苷的降解形式主要是酶解,但根据温度对硫苷酶的影响以及油菜籽粒度对硫苷酶解率影响的研究结果,对照蒸炒过程中温度、水分与时间的关系曲线(图 6)可知^[8],硫苷酶的失活通常发生在蒸炒开始后 20~50min 内。由于油菜籽粒度与含水量的影响,蒸炒阶段硫苷的酶解率最多在 10% 左右。

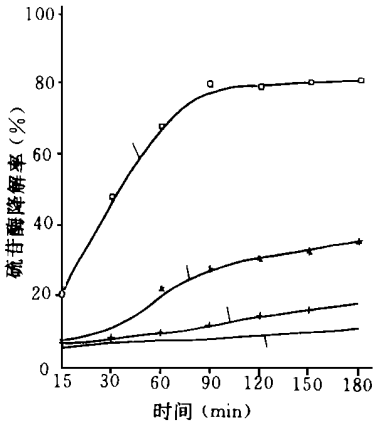


图 5 样品粒度对硫苷酶降解率的影响
1- 100 2- 60 3- 30 4- 生胚

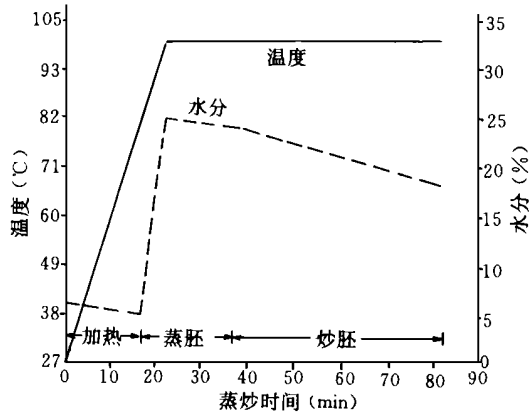


图 6 蒸炒过程中温度、水分与时间关系曲线

3 结 论

1) 完整油菜籽在贮存期间其内源硫苷酶酶活没有显著降低,有较好的贮存稳定性,而且内源硫苷酶酶活与硫苷含量成正比,硫苷含量高的油菜籽,其内源硫苷酶酶活也高。因此,

自动酶解脱毒法有稳定可靠的硫苷酶来源,因而具有现实的可能性。

2) 油菜籽中内源硫苷酶最适条件是: $50\sim 70^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}6\sim 8$ 。当含水量为 20% 左右,自动酶解 2~ 3h 可使硫苷酶解率达到 80% 以上。但达到此结果的必须条件是要将油菜籽尽可能地磨碎。油菜籽的粒度对硫苷酶解率的影响的实验结果表明,即使在最佳酶解条件下,生胚、30目、60目样品中硫苷的酶解率都很低,只有将油菜籽充分磨碎(至少通过 100目筛),有效地打破油菜籽中硫苷酶和硫苷的区域化分布,才能得到令人满意的酶解率。油菜籽粒度过小,给油脂浸出过程带来较大的困难,因此,在现行油菜籽加工工艺中蒸炒阶段引入自动酶解脱毒法是不可行的。

参 考 文 献

- 1 钱 和等. 无锡轻工大学学报, 1995, 14(2): 129~ 135
- 2 Mukherjee et al. Fette Seifen Antrichsmittel, 1976, 78 312~ 319
- 3 Wetter L R et al. JAOCS, 1976, 53 162
- 4 Maheshwari P N et al. JAOCS, 1980, 57 194~ 199
- 5 Habil J K et al. J Sci Fd Agric, 1983, 34 1171~ 1178
- 6 Eapen K E et al. JAOCS, 1968, 45 194~ 196
- 7 Berg C V et al. Water Activity: Influences on Food Quality, New York, 1981
- 8 Kirk L D et al. JAOCS, 1971, 48 982~ 988

Study on Myrosinase of Rapeseed and the Properties of its Enzymatic Degradation

Qian He Diao Hongshen Shen Peiyong

(School of Food Science & Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Abstract Myrosinase of rapeseed and the properties of its enzymatic degradation were studied. The activity of endogenous myrosinase in rapeseed did not reduce obviously during the storage. The optimal conditions for enzymatic degradation were of $\text{pH}6\sim 8$ and temperature $50\sim 70^{\circ}\text{C}$. Should the rapeseed be grinded completely (at least through 100 mesh), the regional distribution of myrosinase and glucosinolates would be destroyed, and thus could we get a satisfactory enzymatic degradation ratio. Because the powder size of rapeseed is too small, there is much difficulty in solvent extraction. So, it is not feasible to carry out endogenous myrosinase degradation of glucosinolates during the cook processing.

Key-words birdrape; glucosinolate; myrosinase; enzymatic degradation

(责任编辑: 秦和平)