

加压条件下油菜籽中硫苷 非酶降解性质的研究

钱 和 雕鸿荪 沈培英

(食品学院)

摘要 研究总结了加压条件下油菜籽中硫苷非酶降解性质, 筛选出促进硫苷非酶降解反应的化学试剂, 采用响应曲面法分析, 优化硫苷降解条件, 成功地使硫苷非酶降解率在 15~25min 内达到 90% 以上, 且避免了大量腈类化合物的生成。

主题词 油菜籽; 硫苷; 非酶降解

中图分类号 S565.4

0 引 言

长期以来, 油菜籽及其饼粕的化学脱毒法存在两大问题一直未能解决: 1) 加热时间过长, 致使蛋白质品质下降; 2) 硫苷降解成大量腈类化合物, 致使脱毒效果不佳, 严重时菜籽粕的毒性甚至有所增加。要解决这两大问题必须从根本上着手, 即从硫苷非酶降解性质的研究开始。但目前对硫苷非酶降解性质方面的研究所存在的主要问题, 就是缺乏有关硫苷非酶降解性质的系统的实验数据以及避免硫苷降解成腈的方法, 使油菜籽及其饼粕化学脱毒法得以发展与完善。因此, 本文主要研究内容为: 1) 加压条件下硫苷热降解规律; 2) 促进硫苷降解化学试剂选择; 3) 响应曲面法分析优化硫苷降解条件。

1 材料和方法

1.1 材料

样品来自常州、绍兴等地, 均属甘蓝型双高油菜籽。

1.2 样品含水量的调节

将经钝化处理过的油菜籽轧胚, 用喷雾器均匀喷洒适量的水, 室温下放置 2~4h 使之均匀, 测定含水量。

1.3 硫苷酶的钝化

将含水量 8%~10% 的油菜籽于 100~110 °C 烘箱中加热 30~60min 钝化硫苷酶。

1.4 残苷的测定

采用硫脲紫外分光光度法测定^[1]。

收稿日期: 1995-07-11

1.5 色质联用测定硫苷降解产物的种类与含量^[2]

1.5.1 样品处理 磨碎样品,测定其水分和含油率,准确称取 5.00g 样品于索氏抽提器中用氯仿回流 8h,抽提液定容至 1.0 ml.

1.5.2 色谱分析

仪器 HP5880A

色谱柱 SCOT OV-101 石英毛细管柱, L=25m, ID=0.24mm

SCOT OV-17 石英毛细管柱, L=30m, ID=0.32mm

分流比 1:20

柱温 OV-101 起始 110℃, 恒定 3min, 以 7℃/min 升至 250℃, 恒定 30min

OV-17 起始 110℃, 恒定 3min, 以 7℃/min 升至 230℃, 恒定 30min

汽化室温度 280℃

检验器温度 260℃

氮气流速 35ml/min

氢气流速 50ml/min

空气流速 500ml/min

记录纸速度 1cm/min

进样量 OV-101 0.4 μ l; OV-17 0.7 μ l

1.5.3 质谱分析

仪器 Finnigan4515 型四极质谱仪

色谱柱 SCOT OV-101 石英毛细管柱, L=25m, ID=0.24mm

分流比 1:10

载气 He

柱温 起始 80℃, 恒定 2min, 以 7℃/min 升至 230℃, 恒定 30min

离子源 EI

离子化电压 70eV

质量范围 40~500

进样量 1 μ l

2 结果与讨论

2.1 加压条件下硫苷的热降解规律

物质之所以能发生化学反应主要决定于参加反应分子的化学结构,但也决定于反应介质和反应条件。压力是反应条件之一,自然可以期待压力下分子反应能力的改变。将经钝化处理过的油菜籽压胚,调至一定含水量,置于铝盒中,在不同的压力与时间下进行热处理,然后室温脱脂,真空低温脱溶,测定样品中残苷及硫苷降解率。三次实验结果的平均值见表 1。

从表 1 可知,压力增加,样品中残苷减少,硫苷降解率增加。样品中含水量明显影响硫苷加压热降解反应:含水量越高,热处理后样品中残苷越少,硫苷热降解率越高。热处理时间增加,样品中残苷减少,硫苷降解率提高,但加压热处理 40min 后,含水量对硫苷热降解反应的影响逐渐减小,加压热处理 60min,同一压力下不同含水量样品中硫苷降解率相

近. 在 0.10MPa 或 0.12MPa 压力下, 热处理 40~60min 可使样品中硫苷降解率达到 80%~90%.

表 1 不同压力下热处理后样品中残苷及其降解率

含水量(%)		9.83		16.30		22.14	
压力(MPa)	时间(min)	A	B	A	B	A	B
	0	16.16	0				
0.05 (113℃)	20	11.56	28.5	9.74	39.7	7.11	56.0
	30	9.62	40.5	6.97	56.9	4.60	71.5
	40	7.94	50.9	4.77	70.5	3.80	76.5
	60	3.11	80.8	2.43	85.0	2.43	85.0
0.10 (121℃)	10	10.39	35.7	6.94	57.1	5.56	65.4
	20	9.19	43.1	5.20	67.8	4.11	74.6
	30	7.74	52.1	3.65	77.4	2.80	82.7
	40	2.97	81.6	2.43	85.0	1.99	87.7
0.12 (124℃)	60	1.84	88.6	1.68	89.6	1.46	91.0
	10	8.08	50.0	5.08	68.6	3.85	76.2
	20	6.05	62.6	3.93	75.7	2.46	84.8
	30	4.23	73.8	2.89	82.1	1.81	88.8
	40	2.65	83.6	2.23	86.2	1.63	89.9
	60	1.23	92.4	1.13	93.0	1.07	93.4

A 残苷(mg/g) B 降解率(%)

虽然加压热处理可使硫苷降解率达到令人满意的程度, 但热处理的时间过长, 菜籽粕呈深褐色, 菜籽蛋白品质下降, 故单纯加压热处理仍不能解决化学脱毒法菜籽粕品质差的缺点, 有必要寻求合适的促进硫苷降解催化剂以缩短热处理时间。

2.2 促进硫苷降解化学试剂的选择

根据硫苷非酶降解反应机理, 能提高硫苷降解反应速度的试剂一种是强烈的亲核试剂, 另一种是能与非糖配基中间体配合, 提高其稳定性的化学试剂, 如过渡金属盐类。表 2 研究总结了 16 种化学试剂在常压热处理与加压热处理过程中对生胚中硫苷热降解反应及样品色泽的影响。

表 2 各种化学试剂对硫苷热降解反应的影响

编号	浓度(%)	100℃加热 30min*			0.12MPa 处理 20min*		
		A	B	色泽	A	B	色泽
	0	11.80	27.0	褐色	4.18	74.1	褐色
1	2	11.45	29.1	褐色	3.91	75.8	褐色
2	2	11.00	31.9	褐色	3.85	76.2	褐色
3	2	10.91	32.5	褐色	2.93	81.9	褐色
4	2	11.14	31.1	浅褐色	3.55	78.0	浅褐色
5	2	7.54	53.3	黑色	0.98	93.9	黑色
6	2	8.96	50.1	褐色	1.43	91.2	褐色
7	2	8.66	46.4	褐色	2.21	86.3	褐色
8	1	7.84	51.5	褐色	1.34	91.7	褐色
9	1	7.69	52.4	褐色	1.18	92.7	褐色
10	2	8.17	49.4	褐色	2.55	84.2	褐色
11	2	10.91	32.5	褐色	3.72	77.0	褐色
12	2	10.41	35.6	褐色	3.50	78.3	褐色
13	2	7.16	55.7	黑色	1.03	93.6	黑色
14	1	9.45	41.5	褐色	2.22	86.3	褐色
15	2	11.07	31.5	浅褐色	4.00	75.2	浅褐色
16	2	10.44	35.4	浅褐色	2.85	82.4	浅褐色

样品含水量为 13%~16%, 硫苷含量为 16.16mg/g A: 残苷(mg/g) B: 降解率(%)

由表 2 可知, 有 5 种催化剂(编号为 5, 6, 8, 9, 13)可使含水量 13%~16% 的样品经 100℃ 加热 30min, 硫苷降解率从 27% 提高到 50% 左右; 经 0.12MPa 加压热处理 20min, 硫苷降解率从 74.1% 提高到 90% 以上, 但其中有 2 种催化剂(5 号和 13 号)使热处理后的粕呈黑色, 因此无实用价值。菜籽粕中硫苷分别在 6, 8, 9 号 3 种化学试剂存在下的降解情况总结于表 3。

由表 3 可知, 在 8 号试剂存在下硫苷降解生成腈的比例较低, 因此, 决定在其后的脱毒工艺中选用第 8 号试剂, 进一步实验表明, 将其浓度降至 0.2% 仍有较好效果。

2.3 响应曲面法分析优化硫苷非酶降解条件

以压力(x)、热处理时间(y)、含水量(z)三因素为自变量, 硫苷催化剂浓度固定为 0.2%, 以残苷为响应函数, 采用中心旋转设计(Central Composite Rotate Design, CCRD)^[3], 通过计算机回归出自变量与响应函数之间的统计模型, 分析、优化硫苷降解条件。

在下述 15 个试验点中可分为两类: 一为析因点, 自变量取值在 x, y, z 构成的三维体之顶点, 共有 12 个析因点; 二是零点, 为区域的中心点, 零点试验重复三次。根据试验结果, 将中心点的实验条件定为: 压力 x 为 0.10MPa, 时间为 20min, 样品含水量 12.44%。具体实验方案和结果列于表 4。

以样品中残苷为指标, 寻求适宜的压力、时间、含水量组合使残苷响应值达到最低为目标。结果可用下列函数来表示:

$$GS(x, y, z) = B_0 + B_{1x} + B_{2y} + B_{3z} + B_4x^2 + B_{5y}^2 + B_{6z}^2 + B_{7xy} + B_{8xz} + B_{9yz}$$

系数(B)以及方差分析见表 5。

经方差分析, 回归方程显著存在($F = 35.972, P < 0.01$), 且拟合良好, 可用于预测各项工艺条件对硫苷降解反应的影响。

方差分析结果说明, 时间的平方项及压力、含水量和压力与含水量的交互项对硫苷降解反应的影响非常显著, 时间及时间与含水量的交互项对硫苷降解反应的影响显著。响应函数预示, 当压力为 0.1218MPa, 含水量为 13.51%, 时间为 33.01min 时, 样品中

表 3 化学试剂对硫苷降解反应的影响

化学试剂	硫苷总降解率(%)	1-羟基-2-丁烯基腈(ppm)	吡啶腈(mm ²)	苯乙腈(mm ²)
6	91.2	4002.5	tr	476.0
8	91.7	931.8	tr	tr
9	92.7	3896.1	tr	287.5

tr 微量

表 4 优化脱毒工艺实验方案及实验结果

实验编号	压力 x	时间 y	含水量 z	硫苷(mg/g)
1	-1	-1	0	7.31
2	-1	0	-1	10.79
3	-1	0	1	1
4	-1	1	0	4.48
5	0	-1	-1	9.36
6	0	-1	1	2.46
7	0	1	-1	3.80
8	0	1	1	0.89
9	1	-1	0	6.35
10	1	0	-1	4.03
11	1	0	1	1.46
12	1	1	0	1.57
13	0	0	0	3.05
14	0	0	0	3.08
15	0	0	0	3.10

压力 x (MPa) -1 : 0.05 0 : 0.10 1 : 0.12

时间 y (min) -1 : 10 0 : 20 1 : 30

含水量 z (%) -1 : 8.44 0 : 12.44 1 : 15.87

硫苷催化剂浓度 0.2%。起始样品中硫苷 16.16mg/g。

表 5 回归方程系数及方差分析

系数值	标准差	F	t	显著性
B_0	44.251	5.494	0.00	8.054
B_1	-25.046	6.287	0.010	-3.984 **
B_2	-0.673	0.180	0.013	-3.751 *
B_3	-2.439	0.608	0.010	-4.011 **
B_4	5.753	3.276	0.139	1.765
B_5	0.007	0.003	0.008	2.192 **
B_6	0.009	0.023	0.725	0.372
B_7	-0.115	0.083	0.222	-1.393
B_8	0.026	0.008	0.023	3.236 *
	平方和	自由度	均方差	F 值
B_9	1.098	0.221	0.004	4.977 **

残苷降至最低。

表4的实验结果说明,样品中加入0.2%催化剂,压力为0.10MPa,含水量为15.78%,热处理30min,残苷下降至0.89mg/g;压力为0.12MPa时,含水量12.44%,热处理30min;或含水量15.78%,热处理20min,残苷可降至1.5mg/g左右。

续表5

系数值	标准差	<i>P</i>	<i>t</i>	显著性
回归	118.286	9	13.143	35.972
剩余	1.827	5	0.365	

** 非常显著 * 显著

3 结 论

通过对硫苷非酶降解规律逐步深入的研究,积累了大量实验数据;并根据对硫苷非酶降解机理的认识,得到促进硫苷非酶降解反应的化学试剂;采用响应曲面法分析、优化硫苷降解条件;最终在大量实验的基础上,成功地使硫苷非酶降解率在15~25min内达到90%以上,且避免了大量腈类化合物的产生,摆脱了长期以来化学脱毒法必需经长时间高温热处理及腈的大量生成致使脱毒效果不佳的困境。

参 考 文 献

- 1 Wetter L R et al. JAOCS, 1976, 53: 162
- 2 华欲飞等. 无锡轻工业学院学报, 1986, 5(2): 12~20
- 3 Rox G E. Appl Statist, 1957, 6: 81

Study on the Non-enzymatic Degradation Properties of Glucosinolate in Rapeseed in Pressure Thermal Treatment

Qian He Diao Hongshen Shen Peiying
(School of Food Science & Technology)

Abstract The non-enzymatic degradation properties of glucosinolate in rapeseed in pressure thermal treatment were studied. The chemical which can catalyze reaction of degradation of glucosinolates and the optical condition of the degradation of glucosinolate were gotten. The ratio of glucosinolates degradation in 15~25min is more than 90%, and avoiding much nitriles was produced.

Subject-words Bird rape; Glucosinolate; Non-enzymatic degradation