

超高压钝化蒜氨酸酶对洋葱降辣的工艺研究

田倩, 潘见, 张鑫, 张文成 (合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽合肥 230009)

摘要 [目的]建立超高压钝化洋葱中蒜氨酸酶以降低洋葱辣味的新工艺。[方法]以洋葱为原料,采用丙酮酸法考察了超高压处理(压力、保压时间、温度)钝化洋葱蒜氨酸酶的效果。[结果]试验得出,在压力 300 MPa,保压时间 30 min,温度 60 °C 的条件下,洋葱的蒜氨酸酶残留酶活可以降到 41.54%,明显降低了洋葱的辣度和刺激性气味。[结论]此加工方法提高了洋葱的食疗价值,并可为开发洋葱新产品提供理论依据。

关键词 超高压;蒜氨酸酶;钝化;降辣

中图分类号 S633.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)30-12157-03

Study of Ultrahigh Pressure Treatment on Alliinase Passivation for Onion Spicy Reduction

TIAN Qian et al (Engineering Research Center of Bio-Process of Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009)

Abstract [Objective] To reduce the onion spicy by using ultrahigh pressure treatment to alliinase passivation. [Method] With onion as raw material, pyruvic acid method was used to investigate the effect of ultrahigh pressure treatment (pressure, dwell time and temperature) on alliinase passivation. [Result] Under the conditions of pressure 300 MPa, dwell time 30 min, temperature 60 °C, onion residual enzyme activity can be reduced to 41.54%. [Conclusion] This processing method can improve the onion therapeutic value, and provide the foundation for new product development of onion.

Key words Ultrahigh pressure; Alliinase; Passivation; Spicy reduction

洋葱(*Allium cepa* L.),百合科(Liliaceae)葱属(*Allium*)植物^[1],它是传统的药食两用植物,在降血糖、降血脂、抑菌等方面具有多种功效,具有“蔬菜皇后”的美称^[2]。洋葱的功效成分是洋葱细胞破裂后由液泡中的蒜氨酸酶催化裂解细胞质中的蒜氨酸生成含硫化合物——蒜素^[3]。但是蒜素有辣味及刺激性气味,所以生食洋葱腥辣味重,口中强烈的异味难以消除,对胃还有刺激性,因此多数人很少生食洋葱,但传统热处理工艺又几乎完全钝化了洋葱蒜氨酸酶,降低了洋葱的食疗效果。目前国内外进行的研究是从洋葱中提取化学性质相对稳定的蒜氨酸及蒜氨酸酶科学组合,制成蒜氨酸-蒜酶复合制剂,让其在体内释放蒜素等有效成分,充分发挥疗效^[4-5],此方法复杂且成本高。

食品超高压技术是指将密封于柔性容器内的食品置于以水或其他液体作为传压介质的压力系统中,采用 100 MPa 以上的压力处理食品以达到冷杀菌、灭酶和改善食品功能特性等作用^[6-7]。笔者通过中温协同超高压部分钝化洋葱中蒜氨酸酶建立一种既可有效降低洋葱辣度又可使其有效发挥功效的新型洋葱加工工艺。

1 材料与与方法

1.1 材料 供试原料:市售紫皮洋葱,购自合肥市周谷堆农产品批发市场。主要试剂:氢氧化钠、三氯乙酸、2,4-二硝基苯肼、丙酮酸钠等试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。主要设备与仪器:1 L YCB630/2.5 食品超高压设备(工作压力 0~600 MPa,工作温度 0~80 °C),兵器工业第五二研究所国营七厂;MZ-588A1 榨汁机(Malata),郑州长城科工贸有限公司;DZQ-400 多功能真空包装机,上海嘉歆包装机械有限公司;分析天平,美国西特公司;高速离心机,美

国 Sigma 公司;UV-1600 紫外分光光度计,北京奥生源科技有限责任公司。

1.2 方法

1.2.1 洋葱的处理。选取新鲜、无病虫、无机械损伤、充分成熟、大小均一的紫皮洋葱按照如下步骤处理:清洗→去死皮、切端→清洗、切块→装袋→封口→超高压处理→检测前处理→检测。

全部样品均一次制作完成,袋中样品放置于 4 °C 冰箱中,并在 4 h 内完成超高压处理。处理后试样保存在 4 °C 冰箱里,在 48 h 内完成后续处理及检测蒜氨酸酶活。所有数据均为 3 个试样测试后的平均值。

1.2.2 超高压处理方法。待处理样品采用 2 层聚乙烯塑料袋密封,按照试验设计,设定压力、保压时间和温度等参数,进行超高压处理。进行温度因素考察时,需提前通过调节高压容器外夹套中介质温度以使容器中介质达到要求温度,试样浸没于此传压介质中 1 min 后再进行升压。

1.2.3 正交试验与数据处理,在单因素试验基础上,采用 SPSS19.0 进行正交试验设计,使用 Excel 软件进行数据处理以及绘图。

1.2.4 蒜氨酸酶活性的检测^[8]。取底物 500 μl 加入 500 μl 酶液,反应 2 min 之后立即加入 1 ml 10% 三氯乙酸终止反应,再加入 0.5 ml,2,4-二硝基苯肼反应 5 min,之后加入 2.5 ml 2.5 mol/L 氢氧化钠反应 10 min,于 420 nm 波长处进行比色测定 OD 值^[9],以 2,4-二硝基苯肼、NaOH 反应体系为空白。每组试样测定 3 个平行。酶活定义:25 °C 条件下,1 min 产生 1 μg 丙酮酸定义为 1 个酶活单位(U)。

相对残留酶活 = 处理样品中的蒜氨酸酶活 ÷ 未处理样品中的蒜氨酸酶活 × 100%

2 结果与分析

2.1 丙酮酸钠标准曲线 试验作出丙酮酸钠标准曲线见

图1。

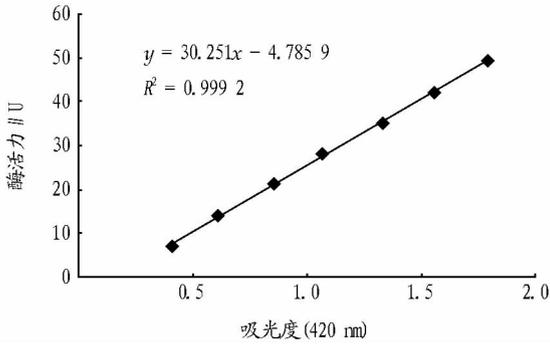


图1 丙酮酸钠标准曲线

2.2 单因素试验结果分析

2.2.1 压力对洋葱蒜氨酸酶活性的影响。Morild总结了超高压作用对酶催化活性的作用机理,表明超高压处理是通过影响酶蛋白的三级结构来影响其催化活性^[10]。高压作用导致酶蛋白的三级结构重构或崩溃,酶活性中心发生改变,从而改变其催化活性。一般来说,较低压力下,酶会部分失活,此时酶的失活是可逆的,较高压力下,酶活显著下降,且为不可逆失活^[11]。过高压力会导致蒜氨酸酶的不可逆失活降低其食用价值,因此该试验采取的最大压力仅为400 MPa。

从图2可以看出,在保压时间为20 min,温度20℃的条件下,随着压力的升高,在压力达到200 MPa时,洋葱的蒜氨酸酶相对残留活力达到89.47%;随着压力的逐渐增加,超过200 MPa时蒜氨酸酶的活力开始迅速下降,300 MPa时酶活降到68.09%;压力达到400 MPa时,蒜氨酸酶的相对残留活力降为56.32%。

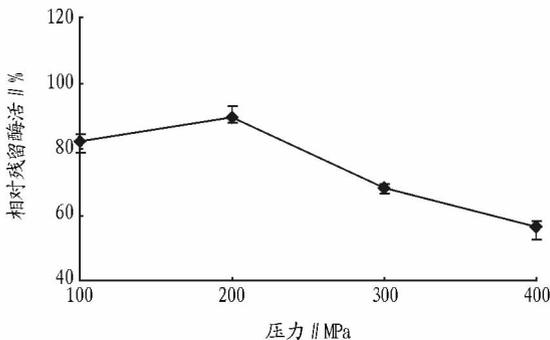


图2 压力对洋葱蒜氨酸酶活性的影响

2.2.2 保压时间对洋葱蒜氨酸酶活性的影响。在高压处理条件下,酶的活性随时间延长而下降,因为在短时间内压力就使小部分游离的蒜氨酸酶暴露的活性中心失活,随着时间的延长,该压力促使更多的酶活性中心暴露,同时氢键、疏水键和离子键等也对该压力敏感,所以酶活性的变化随着保压时间的延长而减小^[12]。

如图3所示,在处理压力300 MPa,温度20℃的条件下,随着保压时间的延长,洋葱蒜氨酸酶始终处于被抑制状态,在加压时间为10 min时蒜氨酸残留酶活为75.87%;达到40 min时,蒜氨酸的残留酶活降为53.86%;随着保压时间的继续延长,蒜氨酸酶活几乎不再变化,原因可能是该压力无法

促使更多的酶活性中心暴露,所以酶的活性的变化很小。

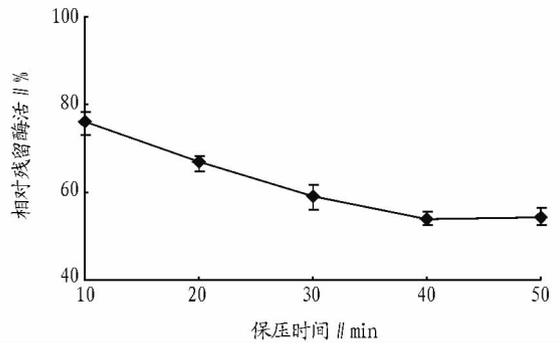


图3 保压时间对洋葱蒜氨酸酶活性的影响

2.2.3 温度对洋葱蒜氨酸酶活性的影响。在超高压处理过程中,介质温度的变化对酶活性的影响往往非常显著,一般在中温条件下与高压有明显的协同作用^[13]。Ledward等曾报道,采用中温和压力协同处理食品中多酚氧化酶,与单独加压方法相比,具有增效作用^[14]。

如图4所示,在处理压力300 MPa,处理时间20 min的条件下,温度在20~60℃条件下均处于被抑制的状态,其中20℃时相对残留酶活为66.38%,然后酶活随着温度的增加而升高,在30℃时达到最高值78.73%,高压处理过程中,介质油会由于高压导致8℃左右的升温现象,因此在设定温度为30℃时,蒜氨酸酶液处理的实际环境温度为38℃左右,而37℃是蒜氨酸酶蛋白构象最稳定、耐压能力最强的温度点^[15],因此在协同温度为30℃时,酶的活性处于最高。其后相对活性迅速下降,且随着温度的升高,下降的速率也变大,到50℃时,蒜氨酸酶的相对活性降为49.77%,接着蒜氨酸酶活下降速率减小,在60℃时相对残留酶活降为44.02%。

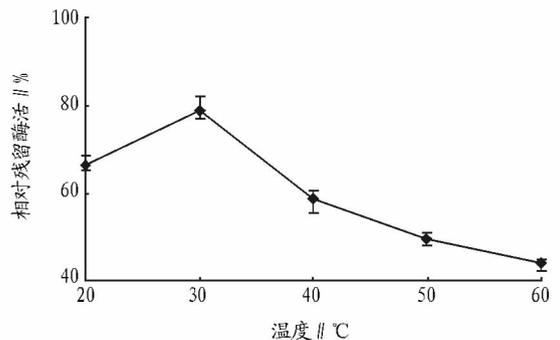


图4 温度对洋葱蒜氨酸酶活性的影响

2.3 超高压正交试验及分析在单因素试验基础上,选取压力、保压时间和温度3个因素,每个因素设计3个水平,选择 $L_9(3^3)$ 正交表安排试验,并进行方差分析,优化超高压处理工艺。正交试验因素与水平设计见表1。

对试验数据进行方差分析显示 $F_A = 99.89, F_B = 0.51, F_C = 26.43 (F_{0.01} = 99.00, F_{0.05} = 19.00)$,由此可知,因素A对结果影响高度显著,因素C对结果的影响显著,因素B对结果有一定的影响,且因素的影响次序为A(压力) > C(温度) > B(保压时间)。从表2得出,钝化蒜氨酸酶的最佳条件为 $A_2B_2C_3$,而直观分析最佳条件也为 $A_2B_2C_3$,二者一致,即压

力 300 MPa, 保压时间 30 min, 温度 60 ℃。此加工条件下的洋葱与未处理的新鲜洋葱相比较, 辣味及刺激性气味明显降低且带有甜味, 色泽鲜亮。

表 1 正交优化试验因素水平设计

水平	因素		
	压力(A)	保压时间(B)	温度(C)
	MPa	min	℃
1	200	20	40
2	300	30	50
3	400	40	60

表 2 正交试验结果

试验号	因素				相对残留酶活//%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	66.25
2	1	2	2	2	62.98
3	1	3	3	3	59.22
4	2	1	2	3	50.19
5	2	2	3	1	41.54
6	2	3	1	2	51.59
7	3	1	3	2	43.13
8	3	2	1	3	52.72
9	3	3	2	1	49.98
K_1	62.817	53.190	56.853	52.590	
K_2	47.773	52.413	54.383	52.567	
K_3	48.610	53.597	47.963	54.043	
R	15.044	1.184	8.890	1.476	

3 结论

该试验研究了通过中温协同超高压钝化洋葱中蒜氨酸酶以降低洋葱辣味工艺条件, 钝化洋葱中的一部分蒜氨酸酶不仅可使洋葱辣度及刺激性气味明显降低, 还可适当地保留

其功效成分。结果表明, 在 300 MPa, 保压时间 30 min, 温度 60 ℃的工艺条件下, 洋葱的蒜氨酸酶残留酶活可降到 41.54%。此加工方法有效提高了洋葱的食疗价值, 并且可为洋葱新产品的开发提供技术和理论支撑。

参考文献

- [1] 冯长根, 吴悟贤, 刘霞, 等. 洋葱的化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2003, 37(7): 63-65.
- [2] 王辉, 李景明, 马钊, 等. 洋葱中含硫化化合物的生理功效[J]. 食品工业科技, 2005, 26(5): 187.
- [3] 荀萍. 蒜氨酸酶的研究[J]. 生物学通报, 2004, 39(8): 9.
- [4] CORZO-MARTINEZ M, CORZO N, VILLAMIEL M. Biological properties of onions and garlic[J]. Trends in Food Science & Technology, 2007, 18: 609.
- [5] JONES M G, HUGHES JILL, ANGELA TREGOVA. Biosynthesis of the avour precursors of onions and garlic[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(404): 1903.
- [6] 吴怀祥. 高压食品加工[J]. 食品科学, 1996, 17(1): 3-9.
- [7] 陈祥奎. 超高压杀菌新技术[J]. 食品与发酵工业, 1995(4): 67-79.
- [8] 冯高迁, 曹阳, 李阳, 等. 金属离子对洋葱中风味前体物质定向生成甲基丙基二硫化物的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29(10): 4.
- [9] SCHWIMMER S, KJATER A. Purification and specificity of the C-S lyase of *Albizia lophanta*[J]. Biochem Biophys Acta, 1968, 42: 316-324.
- [10] MORILD E. The theory of pressure effects on enzymes[J]. Advances in Protein Chem, 1981, 34: 93-166.
- [11] 马永昆. 热力、非热力处理对哈密瓜汁香气、酶和微生物的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2004: 13-15.
- [12] WEEMAES C, RUBENS P, CORDT S, et al. Temperature sensitivity and pressure Resistance of mushroom polyphenoloxidase[J]. J Food Sci, 1997, 62(2): 261-266.
- [13] BROECK I V, LUDI KHUYZE L R, LOEY A M V, et al. Inactivation of orange pectinesterase by combined high-pressure and temperature treatments: a kinetic study[J]. Agric Food Chem, 2000, 48(5): 1960-1970.
- [14] GOMES M R A, LEDWARD D A. Effect of high-pressure treatment on the activity of some Polyphenoloxidases[J]. Food Chemistry, 1996, 56(1): 1-5.
- [15] THOMAS D J, PARKIN K L. Immobilization and characterization of C-S lyase from onion (*Allium cepa*) bulbs[J]. Food Biotechnology, 1991, 5(2): 139-159.

(上接第 12156 页)

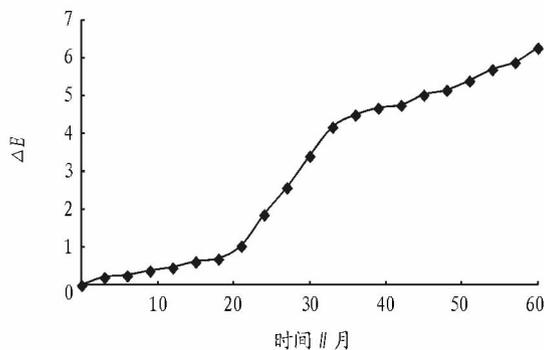


图 4 婴儿奶粉 ΔE 值与时间的关系

视比色法不能很好地表达婴儿奶粉细微的色泽变化, 采用目视法评价色泽变化是不准确的。

试验表明, 对婴儿奶粉进行色度学测定, 可作为婴儿奶

粉色泽评价的依据。CIE $L^* a^* b^*$ 色空间法的 L^* 、 a^* 、 b^* 值及总体色差 ΔE 可以准确反映婴儿奶粉在贮存期间的色泽变化, 避免了目视法评价婴儿奶粉色泽的模糊性和主观性。

参考文献

- [1] 刘伟奇, 冯睿, 周丰昆. 孟塞尔颜色系统与人眼主观亮度的关系[J]. 光学精密工程, 1998(3): 31-35.
- [2] 陈金梅, 李友友, 谭坤. 基于 NCS 色彩系统的传统主题网站色彩分析[J]. 包装工程, 2012(22): 76-79.
- [3] 周磊, 徐海松. 色差公式在物体色测量与评价中的应用研究[C]// 大衍先生九十华诞文集暨中国光学学会 2004 年学术大会论文集. 杭州: 浙江大学出版社, 2004: 95-99.
- [4] 秦霆镐, 陈丽娜, 赵丽丽, 等. 烟叶颜色在 1931 CIE-XYZ 色度系统中的变化[J]. 湖北农业科学, 2010(4): 964-967.
- [5] 金杨, 刘真, 王鹏飞. CIE $L^* a^* b^*$ 色空间色调角对比敏感度函数研究[J]. 北京理工大学学报, 2013(8): 824-828.
- [6] 汤顺青. 色度学[M]. 北京: 北京理工大学出版社, 1990.
- [7] ZHOU S Q, ZHAO D Z. Study on tri-stimulus transformation[J]. Journal of Beijing Institute of Technology, 2000, 9(1): 37-44.