青芥辣中辣根水解度的优化

阎 娣[1]， 张 慜[*1]， 刘亚萍[2]
（1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2. 广东嘉豪食品股份有限公司，广东 中山 528447）

摘要：为了提高青芥辣中辣根的水解度，改善青芥辣产品品质，特在以辣根粉为原料加工青芥辣的过程中对辣根水解度进行了研究。作者研究了温度、时间、pH 值以及抗坏血酸（VC）添加量四因素对青芥辣中辣根水解度的影响。单因素试验及正交试验的结果显示：最佳水解条件为温度 60 ℃、时间 1 h、pH 值 5.0、抗坏血酸（VC）添加量 0.2 mg/g。以上结果为进一步提高青芥辣中辣根水解度提供参考。

关键词：青芥辣；辣根；水解度；异硫氰酸烯丙酯
中图分类号：TS 255.36　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2012)12—1295—05

Optimization of Hydrolyzaing with Horseradish in Japanese Horseradish

YAN Di[1]， *ZHANG Min*[*1]， *LIU Ya-ping*[2]
（1. School of Food Science Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China；2. Guangdong Jiahao Food Ltd. Co，Zhongshan 528447，China）

Abstract：In order to improve the degree of hydrolysis of horseradish in Japanese horseradish，to improve the product quality of Japanese horseradish，we use the horseradish powder as the raw materials to process Japanese horseradish，in that process to study the degeree of hydrolysis.We studied the temperature，time，pH and the amount of ascorbic acid（VC） as the four factors to impact the degree of hydrolysis，the results show：optimal conditions were temperature 60 ℃，time 1 hour，the pH value of 4.0，addition of ascorbic acid （VC） 0.2 mg/g.Provide a reference to further enhance the degree of hydrolysis of horseradish.

Keywords：Japanese horseradish，horseradish，degree of hydrolysis，allyl isothiocyanate

辣根是一种具有特殊的药用价值和食用价值的植物[1]，辣根中的硫代葡萄糖苷在不同水解条件下可水解出不同的水解产物[2]，在黑芥子酶的催化，并且在有水存在的情况下，硫代葡萄糖苷可分解成异硫氰酸酯类物质，青芥辣中类似于芥末的辛辣刺激性气味就是这一类产物的特有味道。

根据相关研究表明，异硫氰酸酯类物质具有杀菌、抗癌、抗氧化、消灭消化道中的寄生虫等保健作用[3]，M J Piercey[4]等研究指出，异硫氰酸烯丙酯能够有效的降低鲜切洋葱中李斯特菌（*L.monocytogenes*）

收稿日期：2012-02-21
基金项目：国家自然科学基金项目（20776062）。
*通信作者：张　慜（1962—），男，浙江平湖人，工学博士，教授，博士研究生导师，主要从事农产品贮藏与加工方面的研究。
E-mail：min@jiangnan.edu.cn

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

的数量，这说明异硫氰酸烯丙酯的强杀菌作用；Shiow Y Wang[5]等的研究表明，异硫氰酸烯丙酯能够明显地延迟保存在 10 ℃下的蓝莓鲜果的腐烂，这证明了异硫氰酸烯丙酯的抗氧化性作用；Hisashi Matsuda[6]等研究发现，异硫氰酸烯丙酯能够显著地抑制由乙醇、盐酸、氨以及阿司匹林引起的胃部损伤的形成，并且一些人工合成的异硫氰酸酯类化合物能够很明显的抑制由乙醇和消炎类药物引起的胃部损伤的形成。目前以辣根为原料加工的食物主要是青芥辣产品，是食用生鱼片、生食马肉的很好的保健调味料[7]。因此提高青芥辣中辣根水解度是至关重要的。

目前有关辣根水解度的研究都是以单纯的提高为目的[8]，陈虹霞等[1]采用超声波单因素试验得出了辣根中硫代葡萄苷水解的最佳条件为功率 20 W，时间 35 min，pH 值为 7，VC 添加量为 2 mg/g，料液比(g/mL)为 1:10；Pan Siyi[9]等的研究得出，水解条件在温度 30 ℃，pH 6，时间 30 min，液料比 5 mL/10g 条件下可水解出高含量的异硫氰酸烯丙酯，并且外源黑芥子酶的加入并不能有效地提高异硫氰酸烯丙酯的含量；另外研究还得出 β-环糊精和大豆蛋白能够有效地提高异硫氰酸烯丙酯的稳定性。以上的诸多研究并没有将其置于青芥辣的环境下，以研究产品为目的，因此作者研究了在辣根加工成青芥辣的过程中各因素对其水解度的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 材料 辣根粉：由广东嘉豪食品股份有限公司提供。

1.1.2 试剂 无水乙醇，柠檬酸，抗坏血酸，异硫氰酸烯丙酯：分析纯；黄原胶，山梨醇：食品级；调味剂(食用盐、食用油、白胡椒粉、味精)：均为无锡欧尚超市购买。

1.1.3 仪器 HH-S 型水浴锅：郑州长城科工贸有限公司生产；HHS 型电热恒温水浴锅：上海博讯实业有限公司生产；调温电热器：上海讯进仪器设备厂生产；电子调温电热套：金坛市荣华仪器制造有限公司生产；PL203 电子天平：梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产；UV2600 紫外分光光度计。

1.2 实验方法

1.2.1 青芥辣的制备 经过对配方的多次试验，得出较好的青芥辣加工配方如下：辣根粉质量分数约 19%、山梨醇质量分数约 0.4%、黄原胶质量分数约 0.9%、味精质量分数约 0.4%、食用盐质量分数约 0.2%、白胡椒质量分数约 0.08%、食用油质量分数约 7.5%、水质量分数约 50%、柠檬酸质量分数约 0.1%~0.2%、VC 质量分数约 0.08%；在以下的单因素实验中，除变量以外的各原料添加量均以上述配方为准。

1.2.2 单因素试验 分别选取温度(35、40、45、50、55、60、65、70 ℃)；时间(1、2、3、4、5、6、7 h)；pH 值(3.0、4.0、5.0、6.0、7.0)；VC 添加量(0、0.2、2、20、200 mg/g)为四因素进行单因素试验。

1.2.3 辣根水解正交试验 根据单因素试验结果，选取温度(55、60、65 ℃)，时间(1、2、3 h)，pH 值(3.0、4.0、5.0)，VC 添加量(0、0.2、2 mg/g)四个因素，采取 $L_9(3^4)$正交试验，得出辣根水解最佳条件。

1.2.4 青芥辣中异硫氰酸烯丙酯的提取 应用水蒸气蒸馏法[10]对青芥辣中的异硫氰酸烯丙酯进行提取，具体方法如下：准确称取制备好的青芥辣酱 10 g，放入三口圆底烧瓶中，置于圆底的电热套中，加入 200 mL 水，搅拌均匀，微微加热，使青芥辣完全溶解在水中，接通水蒸气蒸馏装置，用装有 50 mL 无水乙醇的 100 mL 容量瓶接受冷凝液，接近刻度线时停止蒸馏，用蒸馏水定容至刻度，摇匀，以备下一步实验使用。

1.2.5 异硫氰酸烯丙酯的测定方法

1)标准曲线的制作：异硫氰酸烯丙酯与醇类化合物可作用生成相应的烯丙基硫代氨基甲酸脂，它在紫外光 243 nm 处的吸光值与异硫氰酸烯丙酯的体积分数成正比，可根据此原理制作标准曲线[11]。具体为：准确移取 0.1 mL 异硫氰酸烯丙酯，使其溶解在体积分数 50%乙醇溶液中，再移到 100 mL 容量瓶中，用 50%乙醇溶液定容至刻度，得到体积分数为 1 μL/mL 的标准液。分别移取上述标准液 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 mL 到 100 mL 容量瓶中，再用 50%乙醇溶液定容至刻度，摇匀，得到 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10 μL/mL 的标准溶液。用 50%乙醇标准溶液做空白对照，在 243 nm 处测吸光值，绘制出标准曲线。得出的标准曲线为 y=8.565 4x+0.017 8，R^2=0.999 1。

2)样品中异硫氰酸烯丙酯的测定方法：将待测样品用 50%乙醇溶液适当稀释，使其测出的吸光值

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

在 0.1~0.9 的范围内，用 50%乙醇溶液做空白对照，按照文献[12]的紫外分光光度法对异硫氰酸烯丙酯的体积分数进行测定，在 243 nm 处测得样品的吸光值，根据标准曲线测出体积分数。

2 结果与分析

影响辣根水解的一个必要条件就是黑芥子酶的活性大小，而影响黑芥子酶活性的因素主要是温度、时间、pH 值等。因此，作者以温度、时间、pH 值和 VC 添加量为因素研究了它们对辣根水解度的影响。

2.1 单因素试验

图 1 为本次试验中温度、时间、pH 值三因素对青芥辣加工时辣根水解度的影响曲线。由图 1 可以得出，随着温度的提高，辣根的水解度有一定的起伏，35~50 ℃对辣根的水解度影响不大，温度继续升高，辣根水解度有了明显提高，到 60 ℃时水解度最高。当温度再升高时，辣根的水解度明显下降。由此得出，辣根中的黑芥子酶在 60 ℃时的活性最高，如果温度继续升高，黑芥子酶将失活。因此，在以辣根粉为原料加工青芥辣的过程中，最适温度为 60 ℃。

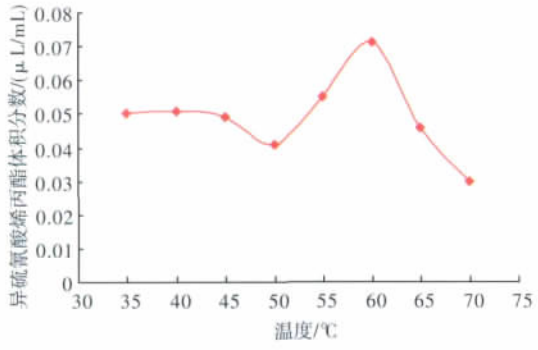

图 1 温度对辣根水解度的影响曲线

Fig.1 Curve of the affection of temperature on the degree of hydrolysis of horseradish

图 2 为单因素试验中时间对青芥辣加工时辣根水解度的影响，由图 2 可以得出，随着水解时间的延长，辣根水解度呈下降的趋势，在最初的水解 1~3 h 为辣根水解度的最高阶段，由于水解出的异硫氰酸烯丙酯易挥发，如果水解的时间过长，异硫氰酸烯丙酯会大量挥发，影响产品的品质，因此，辣根水解的最适时间为 1~3 h。

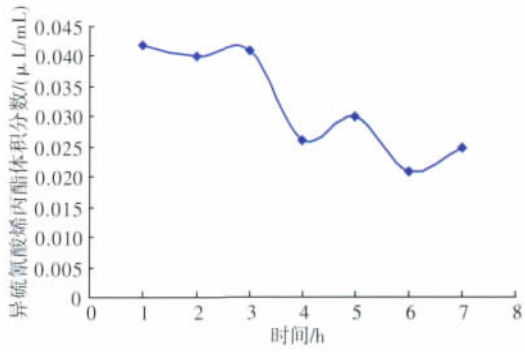

图 2 时间对辣根水解度的影响曲线

Fig.2 Curve of the affection of time on the degree of hydrolysis of horseradish

图 3 为单因素试验中 pH 值对青芥辣加工时辣根水解度的影响。由图 3 可以得出，在酸性条件下辣根水解度较高，越接近中性水解度逐渐下降，这说明在酸性条件下黑芥子酶的活性较高，越接近中性酶活越低。辣根水解度在 pH 值为 4 时最高，说明黑芥子酶在此时的活性最高，因此在青芥辣加工时最适 pH 值为 4。

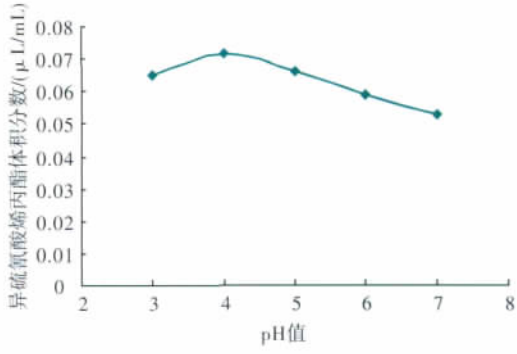

图 3 pH 值对辣根水解度的影响曲线

Fig.3 Curve of the affection of pH on the degree of hydrolysis of horseradish

图 4 为单因素试验中 VC 添加量对青芥辣加工时辣根水解度的影响。在没有添加 VC 时，异硫氰酸烯丙酯的体积分数是最高的。但是有研究表明，加入 VC 可以提高辣根的水解度，究其原因可能是在加工青芥辣的过程中加入的其它添加剂抑制了辣根中黑芥子酶的活性，从而影响了 VC 对辣根的水解度，这一问题有待以后更加深入的研究。

2.2 辣根水解正交试验结果分析

以上为单因素试验的结果，是对四因素各自独立的影响分析，但是在实际加工过程中，这四个因素之间肯定是相互影响的，因此为了全面考察四因

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

素之间的交互作用,分别选取四因素中的三个水平$L_9(3^4)$进行了正交试验,以吸光值为参考指标考察辣根的水解工艺,实验结果见表1,方差分析见表2。通过表1、表2中对4个因素的综合考虑,得出各因素对青芥辣中辣根水解度的影响程度依次为时间>温度>VC添加量>pH值。由表1可看出,提高青芥辣中辣根水解度的最佳工艺为$A_2B_1C_3D_2$,即温度60 ℃,时间1 h,pH 5.0,VC添加量为0.2 mg/g。

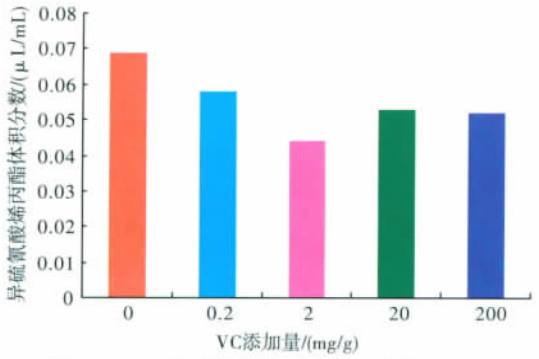

图4 VC添加量对辣根水解度的影响曲线

Fig.4 Curve of the affection of VC addition on the degree of hydrolysis of horseradish

表1 辣根水解正交试验结果分析

Tab.1 Results and analysis of orthogonal test for the hydrolysis of horseradish

试验号	因素				吸光值
	温度/℃	时间/h	pH值	VC添加量/(mg/g)	
1	1	1	1	1	0.632 8
2	1	2	2	2	0.477 5
3	1	3	3	3	0.369 9
4	2	1	2	3	0.712 3
5	2	2	3	1	0.492 0
6	2	3	1	2	0.425 7
7	3	1	3	2	0.703 5
8	3	2	1	3	0.418 7
9	3	3	2	1	0.368 3
K_1	0.493	0.683	0.492	0.498	
K_2	0.543	0.463	0.519	0.536	
K_3	0.497	0.388	0.522	0.500	
R	0.05	0.295	0.03	0.038	

表2 辣根水解度的方差分析

Tab.2 Variance analysis of horseradish hydrolysis degree

因素	偏差平方和	自由度	F比	显著性
温度/℃	0.005	2	0.132	
时间/h	0.141	2	3.735	有影响
pH值	0.002	2	0.053	
VC添加量/(mg/g)	0.003	2	0.079	
误差	0.15	8		

3 结 语

由于辣根具有很高的药用价值和保健功能,因此芥辣酱已经越来越受人们的青睐,经常食用有利于人的身体健康,因此提高辣根中异硫氰酸烯丙酯的含量进而应用到食品中是具有重要的研究意义的。作者针对青芥辣加工过程中辣根水解度的提高进行了一个初步的研究,通过单因素试验以及正交优化后所得的研究结果如下:

1)在以辣根粉为原料加工青芥辣过程中最佳的水解温度应控制在60 ℃,辣根中的黑芥子酶在该温度时的活性最高,温度过高和过低都会降低黑芥子酶的活性,进而降低水解度。最佳水解时间为1 h,时间过长水解度降低,最佳水解的pH值为5.0,这是综合四因素交互作用得出的结果。最佳的VC添加量为0.2 mg/g,与单因素试验中的结果不同,因此说明了以上四个因素之间是有交互作用的,影响了辣根水解度的提高。因此,综合四因素的相互作用得出在以上条件下可加工出异硫氰酸烯丙酯体积分数相对较高的青芥辣产品。

2)通过正交结果方差分析,得出影响青芥辣中辣根水解度的因素按影响程度依次为时间>温度>VC添加量>pH值,水解时间是影响辣根水解度提高最主要因素,pH值的变化对提高辣根的水解度基本没有影响,只要是在弱酸性环境下即可。

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

参考文献：

[1] 陈虹霞，王成章. 辣根的化学成分及其生物活性研究进展[J]. 生物质化学工程，2008，42(1)：53-57.
CHEN Hong-xia，WANG Cheng-zhang. Progress in chemical components and biological effects of horseradish[J]. **Biomass Chemical Engineering**，2008，42(1)：53-57.(in Chinese)

[2] 陈虹霞，王成章，叶建中，等. 辣根硫代葡萄糖苷水解工艺比较及其水解产物的结构鉴定[J]. 林产化学与工业，2009，29(2)：100-104.
CHEN Hong-xia，WANG Cheng-zhang，YE Jian-zhong，et al. Study on the technique of hydrolysis of glucosinolate from horseradish and chemical structure of the hydrolysate[J]. **Chemistry and Industry of Forest Products**，2009，29(2)：100-104.(in Chinese)

[3] 肖华志. 食用辛辣风味物质异硫氰酸烯丙酯(AITC)的研究[D]. 北京：中国农业大学，2004.

[4] M J Piercey，G Mazzanti，S M Budge，et al. Antimicrobial activity of cyclodextrin entrapped allyl isothiocyanate in a model system and packaged fresh-cut onions[J]. **Food Microbiology**，2011，30(2012)：213-218.

[5] Shiow Y Wang，Chi-Tsun Chen，Jun-Jie Yin. Effect of allyl isothcyanate on antioxidants and fruit decay of blueberries[J]. **Food Chemistry**，2010，120(2010)：199-204.

[6] Hisashi Matsuda，Momotaro Ochi，Akifumi Nagatomo，et al. Effects of allyl isothiocyanate from horseradish on several experimental gastric lesions in rats[J]. **European Journal of Pharmacology**，2007，561(2007)：172-181.

[7] 张清峰，姜子涛，张久春，等. 紫外分光光度法测定辣根及芥末制品中异硫氰酸酯含量的研究[J]. 中国调味品，2005，6：15-20.
ZHANG Qing-feng，JIANG Zi-tao，ZHANG Jiu-chun，et al. Ultraviolet spectrophotometric determination of isothiocyanates in horseradish，mustard and the related products[J]. **China Condiment**，2005，6：15-20.(in Chinese)

[8] 张清峰，姜子涛，张云华，等. 辣根油中异硫氰酸酯的水解稳定性研究[J]. 食品科学，2005，26(11)：125-128.
ZHANG Qing-feng，JIANG Zi-tao，ZHANG Yun-hua，et al. Hydrolyzation stability isothiocyanates existed in Chinese horseradish volatile oil[J]. **Food Science**，2005，26(11)：125-128.(in Chinese)

[9] Pan siyi，Arnie Hydamaka，Alice Kuo. Horseradish flavour formation optimization[J]. **Transactions of the CSAE**，2003，19(5)：141-146.

[10] 陈虹霞，王成章. 辣根水解条件及水解产物静态吸附研究[J]. 西北植物学报，2009，29(1)：0187-0192.
CHEN Hong-xia，WANG Cheng-zhang. Study on the hydrolysis conditions of horseradish and static absorption of the hydrolysate[J]. **Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica**，2009，29(1)：0187-0192.(in Chinese)

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