文章编号：1000-5773(2012)04-0409-06

高压二氧化碳对烯丙基异硫氰酸酯脱除影响的研究*

胡国伟，易俊杰，杨瑛洁，胡小松，廖小军，张　燕

（中国农业大学食品科学与营养工程学院，国家果蔬加工工程技术研究中心，
农业部果蔬加工重点开放实验室，北京　100083）

摘要：由于紫甘蓝色素提取物中存在硫苷的降解产物烯丙基异硫氰酸酯(Allyl Isothiocyanates，AITC)，因而限制了紫甘蓝色素提取物的工业应用。为了解决这一实际生产问题，以AITC溶液为实验材料，分析了不同压强和温度下高压二氧化碳(High Pressure Carbon Dioxide，HPCD)脱除AITC的过程。结果表明：HPCD脱除AITC的过程符合一级动力学模型；增大压强对脱除速率和半衰期影响不显著($P>0.05$)，表明压强不是影响HPCD脱除AITC的主要因素；温度的升高使脱除速率增大了约2倍，半衰期明显减小，表明温度可能是影响HPCD脱除AITC的主要因素。通过进一步模拟分析HPCD作用下AITC的降解，确认了HPCD脱除AITC过程中热降解发挥的重要作用。

关键词：高压二氧化碳；烯丙基异硫氰酸酯；脱除

中图分类号：O521.9　　**文献标识码**：A

1　引　言

烯丙基异硫氰酸酯(Allyl Isothiocyanates，AITC)广泛存在于十字花科植物中，如西兰花、紫甘蓝、卷心菜、花椰菜、芥菜等[1]。AITC具有较强的挥发性，赋予十字花科植物辛辣刺激的口感和特殊的风味。关于其产生机理，诸多研究认为AITC不直接存在于植物中，而是植物细胞遭破坏时在一定外界条件下硫代葡萄糖苷的酶解产物[2-4]。食品工业中提取紫甘蓝色素时，存在一个显著缺点，即色素提取物存在明显的异味，而异味的主要成分之一就是AITC。因此，如何既能保留紫甘蓝色素又能脱除异味成为紫甘蓝色素生产的一个关键技术问题。

高压二氧化碳(High Pressure Carbon Dioxide，HPCD)技术是一种新型的非热力加工技术。目前，有关HPCD技术的研究主要针对HPCD杀菌、钝酶效果等[5-7]。高压下，随着压强增大，CO_2的物化特性发生变化，对非极性物质的溶解性增强，非极性物质易随着CO_2逸散到外部环境中；同时，温度因素也影响着非极性物质的热降解。这些使HPCD技术具备了脱除紫甘蓝色素提取物异味的潜质。目前，在实验室研究和工业生产中普遍采用柱色谱吸附法脱除色素异味，部分研究者还探索了膜技术等食品加工技术，但至今未见有将HPCD应用于紫甘蓝色素脱臭的报道。本研究通过建立AITC模拟溶液体系，研究HPCD的压强和温度对AITC脱除的影响，分析HPCD脱除AITC的动力学过程，探讨HPCD脱除AITC的机制，旨在为应用HPCD脱除紫甘蓝色素异味、提高紫甘蓝色素品质提供数据基础和理

* **收稿日期**：2011-01-18；**修回日期**：2011-05-31

基金项目：国家自然科学基金青年科学基金项目(30800768)；教育部博士点新教师基金(200800191006)

作者简介：胡国伟(1986－)，男，硕士研究生，主要从事非热加工技术理论与应用研究. E-mail：huguowei927@163.com

通讯作者：张　燕(1977－)，女，副教授，主要从事非热加工技术理论与应用研究. E-mail：zhangyan-348@hotmail.com

论依据，进而推动十字花科植物色素提取物在食品工业中的应用。

2 材料与方法

2.1 实验材料

AITC 标品（质量分数大于或等于 95%），色谱纯，购于美国 Sigma 公司。乙腈，色谱纯，购于美国 Honeywell 公司。柠檬酸、磷酸氢二钠，分析纯，由北京化学试剂公司生产。

2.2 实验仪器

实验采用由中国农业大学自行设计的 CAU-HPCD-1 型 HPCD 处理装置[8]，该装置可以将产生的高压 CO_2 经预热器预热后输送到反应釜中。此外，实验中还应用了日本岛津公司的高效液相色谱仪（High-Performance Liquid Chromatography，HPLC）、EY-300A 分析天平（日本松下电器公司）、2000D 型超纯水器（北京长风仪器仪表公司）、868 型 pH 计（美国奥立龙公司）、S-HH-W21-Cr600 恒温水浴箱（北京长安科学仪器厂）。

2.3 实验方案设计

2.3.1 HPCD 处理

将 HPCD 设备的反应釜预热到预定温度，将装有 2 mL、质量分数为 1×10^{-3} 的 AITC 水溶液的离心管（50 mL）置于反应釜中。经过 1～5 min 的升压过程达到预定压强，在恒定的压强和温度下进行处理，达到处理时间后，迅速卸压（卸压时间 2～4 min），取出离心管。研究处理压强对 AITC 脱除的影响时，设定处理温度为 55 ℃，处理压强分别为 8、15 和 22 MPa，处理时间分别为 5、15、30、45 和 60 min；研究处理温度对 AITC 脱除的影响时，设定处理压强为 8 MPa，处理温度为 35、45 和 55 ℃，处理时间分别为 5、15、30、45 和 60 min。

2.3.2 常压热处理

利用柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液配制质量分数为 1×10^{-3}、pH 值分别为 3.2、4.2 和 5.2 的 AITC 水溶液 2 mL，分装于 50 mL 离心管中，密封后置于 HPCD 处理釜中，常压下处理，设定温度为 55 ℃，处理时间分别为 5、15、30、45 和 60 min。达到处理时间后取出，迅速冷却，在常温下采用日本岛津公司生产的 HPLC 系统测定 AITC 含量。

2.4 实验方法

2.4.1 AITC 含量测定

准确称取一定量的 AITC 标准样品，用超纯水充分溶解并配制成质量分数分别为 4×10^{-5}、4×10^{-4}、6×10^{-4}、8×10^{-4}、1.0×10^{-3}、1.2×10^{-3} 和 1.4×10^{-3} 的标准溶液系列，用孔径为 0.45 μm 的滤膜过滤后，由 HPLC 测定，并绘制标准曲线。当供试液的质量分数在 4×10^{-5}～1.4×10^{-3} 范围内时，AITC 的进样量与相应的色谱峰面积呈现良好的线性关系，线性方程为 $y=1\,410.4+2\,037.9x$，相关系数 R^2 为 0.995。

将经 HPCD 处理的样品进行 HPLC 测定[9]。岛津液相色谱系统的色谱条件为：LG-20AT 泵，SPD-20AV 紫外可见检测器；SIL-20A 自动进样器，进样量为 20 μL，CTO-20A 柱温箱，Agela 公司 ASB C18 柱（4.6 mm×250 mm）。柱温为 30 ℃，流动相 A 为乙腈，流动相 B 为超纯水，检测波长为 243 nm。流动相梯度变化及流速变化见表 1，其中：w_A、w_B 分别为 A、B 相的质量分数，v 为流速。

2.4.2 HPCD 处理

常温下采用 868 型 pH 计测量不同条件下经 HPCD 处理的样品 pH 值变化。

2.4.3 HPCD 脱除 AITC 动力学

以处理时间 t 为横坐标，AITC 残留量的质量分数 w 为纵坐标，利用一级动力学公式对 AITC 在不同 HPCD 处理条件下的含量变化进行拟合，拟合模型为

$$w = w_0 e^{-kt} \tag{1}$$

式中:w 为 HPCD 处理时间为 t 时 AITC 残留量的质量分数;w_0 为 AITC 的初始质量分数;k 为脱除速率常数;t 为 HPCD 处理时间。(1)式中,设 $w=w_0/2$ 对应的时间为半衰期 $T_{1/2}$,则 $T_{1/2}=\ln 2/k$。

2.4.4 数据统计分析

所有实验重复 3 次,每次做 2 个平行实验。所得数据用 OriginPro 7.5 进行方差分析(Analysis of Variance,ANOVA)和统计,显著性水平取 0.05。

表 1 AITC 含量测定时流动相组成和流速

Table 1 Flow rate and mobile phase constituent in AITC determination

Time/(min)	w_A/(%)	w_B/(%)	v/(mL/min)	Time/(min)	w_A/(%)	w_B/(%)	v/(mL/min)
0	0	100	1	20	65	35	1
2	0	100	1	30	0	100	1
3	65	35	1				

3 结果与讨论

3.1 HPCD 脱除 AITC 动力学过程分析

图 1 给出了 55 ℃、不同处理压强下 HPCD 脱除 AITC 的情况。由图 1 可知:随着处理时间延长,AITC 的质量分数 w 逐渐减少($P<0.05$);在不同压强下,AITC 质量分数 w 的变化趋势一致。对不同压强下 HPCD 脱除 AITC 的过程进行拟合,如表 2 所示,其中:p 为处理压强,T 为处理温度,t 为时间,k 为拟合方程系数,R^2 为拟合方程的相关系数。相关系数 R^2 均大于 0.95,表明用一级动力学方程能很好地模拟 HPCD 脱除 AITC 的过程,即该过程符合一级动力学模型。通过比较不同压强下 AITC 的脱除速率常数可知:8 MPa 时,HPCD 脱除 AITC 的速率最大;随着压强增大,脱除速率常数和半衰期的增大均不显著($P>0.05$),表明超过临界压强后,进一步增大压强并不能增强 HPCD 脱除 AITC 的效果。

温度对 HPCD 脱除 AITC 效果的影响如图 2 所示。可见:压强为 8 MPa 时,随着 HPCD 处理时间的增加,不同温度下 AITC 的质量分数逐渐减少;在相同处理时间下,随着温度增加,AITC 的质量分数逐渐减少;当处理时间为 60 min 时,35 ℃下 AITC 的质量分数为 3.318×10^{-5},而 55 ℃下 AITC 的质量分数仅为 3.68×10^{-6},说明温度对 HPCD 脱除 AITC 的效果影响很大。对不同温度下 HPCD 脱除 AITC 的过程进行拟合,结果如表 3 所示。由表 3 可知:模型的相关系数 R^2 均大于 0.85,表明采用一级动力学方程能较好地模拟温度对 HPCD 脱除 AITC 的影响;随着温度增加,脱除速率常数显著增大,从 0.021 min^{-1} 增大到 0.067 min^{-1},增强了约 2 倍,而半衰期 $T_{1/2}$ 逐渐减小,由 35 ℃时的 33.2 min 缩短到 55 ℃时的 10.3 min,表明温度是影响 HPCD 脱除 AITC 的重要因素。

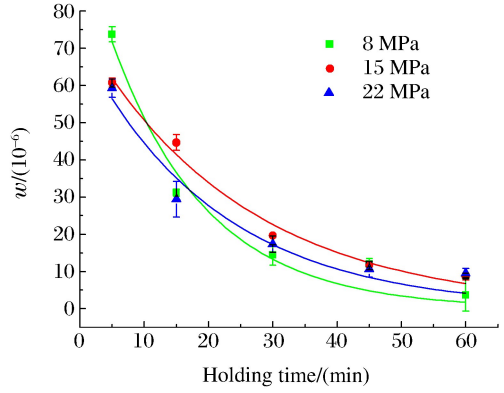


图 1 55 ℃、不同压强下 HPCD 脱除 AITC 的动力学过程

Fig. 1 Kinetics process of removing AITC by HPCD at 55 ℃ under different pressures

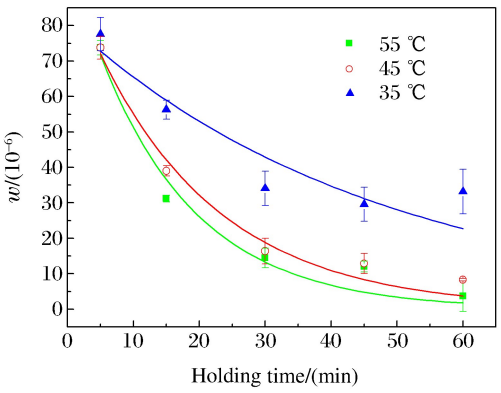


图 2 8 MPa、不同温度下 HPCD 脱除 AITC 的动力学过程

Fig. 2 Kinetics process of removing AITC by HPCD at 8 MPa and different temperatures

表 2 55 ℃、不同压强下 HPCD 脱除 AITC 的动力学方程及参数

Table 2 Fitting equation and parameters of removing AITC by HPCD at 55 ℃ under different pressures

p/(MPa)	T/(℃)	Fitting equation	R^2	k/(min^{-1})	$T_{1/2}$/(min)
8.0	55	$y=100.46\exp(-0.067x)$	0.972	0.067	10.3
15.0	55	$y=75.66\exp(-0.040x)$	0.968	0.040	17.3
22.0	55	$y=71.54\exp(-0.047x)$	0.956	0.047	14.7

表 3 8 MPa、不同温度下 HPCD 脱除 AITC 的动力学方程及参数

Table 3 Fitting equation and parameters of removing AITC by HPCD under 8 MPa and different temperatures

p/(MPa)	T/(℃)	Fitting equation	R^2	k/(min^{-1})	$T_{1/2}$/(min)
8.0	55	$y=100.46\exp(-0.067x)$	0.972	0.067	10.3
8.0	45	$y=94.30\exp(-0.054x)$	0.980	0.054	12.8
8.0	35	$y=80.92\exp(-0.021x)$	0.870	0.021	33.2

3.2 HPCD 脱除 AITC 的机制分析

由图 1、图 2 可知，HPCD 能有效脱除 AITC，这主要是因为：一方面，CO_2 使 AITC 水溶液碳酸化，造成溶液的 pH 值下降，结合温度因素的影响，促进了 AITC 的降解；另一方面，AITC 具有较强的挥发性，卸压过程中 AITC 会发生逸散。在 HPCD 脱除过程中 AITC 的逸散和降解哪一个贡献更大？为了解决这一问题，本研究模拟了 HPCD 处理过程中 pH 值的下降和温度的变化对 AITC 降解的影响。

HPCD 处理过程中 AITC 溶液 pH 值的变化如表 4 所示。由于卸压时 CO_2 发生逸散，所以表 4 中测量得到的 pH 值略高于 AITC 水溶液的实际 pH 值。从表 4 中可以看出：HPCD 处理有效降低了 AITC 水溶液的 pH 值，处理后溶液的 pH 值由 6.17 降低至 3.90～4.33，这要归因于 HPCD 处理过程中 CO_2 溶解于 AITC 水溶液中；改变处理压强或温度不能使 pH 值发生较大变化。

表 4 不同条件 HPCD 处理 AITC 溶液后 pH 值变化的模拟

Table 4 The simulation of change in pH value of AITC solution after treatment with HPCD under different conditions

p/(MPa)	T/(℃)	pH value					
		0 min	5 min	15 min	30 min	45 min	60 min
8.0	35	6.17±0.03	4.30±0.02	4.22±0.04	4.11±0.01	3.99±0.02	4.06±0.04
8.0	45	6.17±0.03	4.33±0.07	4.22±0.02	4.16±0.04	4.03±0.02	3.99±0.01
8.0	55	6.17±0.03	3.98±0.01	3.96±0.02	4.01±0.03	3.90±0.01	3.99±0.05
15.0	55	6.17±0.03	4.28±0.03	4.26±0.04	4.30±0.01	4.05±0.02	4.03±0.04
22.0	55	6.17±0.03	4.30±0.02	4.26±0.02	4.10±0.01	4.00±0.03	4.03±0.03

由图 1 可知，不同压强对 AITC 的降解影响不显著，为此，本研究还进行了常压、55 ℃下具有不同 pH 值的 AITC 水溶液降解实验，结果如图 3 所示。从图 3 中可以看出，在相同时间下，具有不同 pH 值的 AITC 水溶液中 AITC 的质量分数差别不大，说明在酸性范围内，pH 值的变化对 AITC 降解的影响无明显差异。

由于 HPCD 脱除过程中反应釜中 AITC 水溶液的 pH 值无法测得，因此用 pH 值 4.2 近似代替反应釜中 AITC 水溶

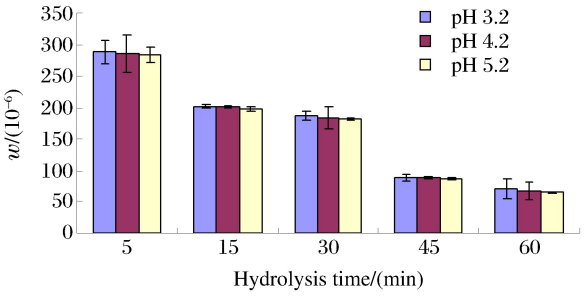


图 3 常压、55 ℃热处理下不同 pH 值 AITC 水溶液的降解情况

Fig. 3 Degradation of AITC solution with different pH value under the heat treatment of 55 ℃ in normal pressure

液的 pH 值。因为压强对 AITC 水溶液的热降解影响不显著,所以本研究用 pH 值为 4.2 的 AITC 水溶液在常压、55 ℃下的热降解情况模拟 HPCD 脱除 AITC 过程中的热降解情况,如图 4 所示。可见,随着处理时间延长,AITC 的质量分数逐渐降低。AITC 的初始质量分数为 1.0×10^{-3},当处理时间为 5 min 时,AITC 的质量分数为 2.85×10^{-4},而当处理时间延长至 60 min 时,AITC 的质量分数降低至 6.7×10^{-5},表明溶液中的 AITC 已基本完全降解。说明较高的处理温度有利于 HPCD 对 AITC 的脱除,这可能是由于 AITC 不稳定,易受温度影响发生降解,而其降解产物的挥发性强,使AITC 在HPCD 的作用下基本完全脱除。

卸压过程中,溶解于 CO_2 中的 AITC 随着 CO_2 逸散到外部环境中。由于卸压过程中压强迅速下降,CO_2 气体也迅速放热降温,容易形成干冰造成卸压阀堵塞,因此收集装置无法有效收集逸散的 CO_2 气体。本研究根据脱除的 AITC 总质量分数与发生热降解的 AITC 质量分数的差值计算发生逸散的 AITC 质量分数。图 5 给出了 8 MPa、55 ℃条件下 HPCD 处理过程中发生逸散的 AITC 质量分数 w_{loss}。从图 5 中可以看出:随着处理时间的增加,发生逸散的 AITC 质量分数 w_{loss} 逐渐减少,说明随着 HPCD 脱除时间的增加,逸散对脱除的贡献逐渐减少。当处理时间为 5 min 时,发生逸散的 AITC 质量分数 w_{loss} 为 2.12×10^{-4},与相同处理时间下发生热降解的 AITC 质量分数相比,仅为其 30%;当处理时间为 60 min 时,逸散的 AITC 质量分数 w_{loss} 为 6.3×10^{-5},与相同处理时间下发生热降解的 AITC 质量分数相比,仅为其 7%。由此可见,在 HPCD 脱除 AITC 的过程中,热降解的贡献大于逸散贡献,并且随着处理时间的增加,与逸散贡献相比,热降解的贡献更加显著。

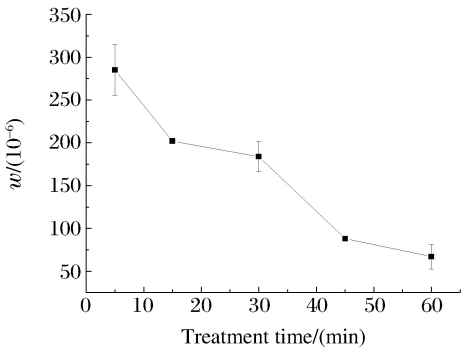


图 4　常压、55 ℃下 pH 值为 4.2 的 AITC 水溶液中 AITC 的质量分数

Fig. 4　Mass fraction of AITC in solution with pH value of 4.2 under the heat treatment of 55 ℃ in normal pressure

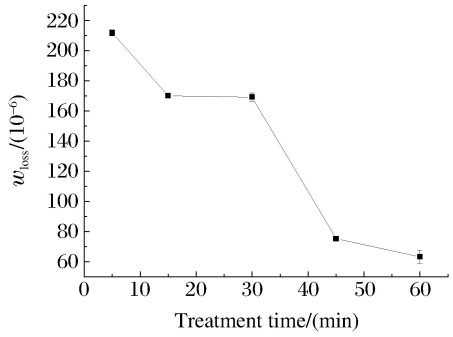


图 5　8 MPa、55 ℃下 HPCD 处理过程中 AITC 逸散量的质量分数

Fig. 5　Mass fraction of AITC removed by HPCD at 8 MPa and 55 ℃

4　结　论

HPCD 脱除 AITC 的过程符合一级动力学模型。HPCD 处理过程中不同的处理压强对脱除速率和半衰期的影响不显著,说明压强不是影响 HPCD 脱除 AITC 效果的主要因素。随着 HPCD 处理温度的升高,AITC 的脱除速率加快,半衰期逐渐减小,说明升高温度可以提升 HPCD 脱除 AITC 的效果。模拟体系下 AITC 的热降解测量结果表明,55 ℃下 AITC 不稳定,绝大部分的 AITC 被降解,从而实现了 HPCD 对 AITC 的脱除。在 HPCD 脱除 AITC 的过程中,热降解的贡献大于逸散降解贡献,并且随着时间的增加,与逸散贡献相比,热降解的贡献更加显著。

References:

[1]　Fahey J W, Zalcmann A T, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants [J]. Phytochemistry, 2001, 56(1): 5-51.

[2] Fenwick G R, Heaney R K, Mullin W J. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1983, 18(2): 123-201.

[3] Visentin M, Tava A, Iori R, et al. Isolation and identification of trans-4-(methylthio)-3-butenyl glucosinolate from radish roots (*Raphanus sativus L.*) [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40(9): 1687-1691.

[4] Depree J A, Howard T M, Savage G P. Flavour and pharmaceutical properties of the volatilesulphur compounds of Wasabi (*Wasabia japonica*) [J]. Food Res Int, 1998, 31(5): 329-337.

[5] Ballestra P, Silva A A D, Cuq J L. Inactivation of escherichia coli by carbon dioxide under pressure [J]. J Food Sci, 1996, 61(4): 829-831.

[6] Chen J S, Balaban M O, Wei C I, et al. Interaction of polyphenol oxidase by high pressure carbon dioxide [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 2345-2349.

[7] Chen J S, Balaban M O, Wei C I, et al. Effect of carbon dioxide on the inactivation of florida spiny lobster polyphenol oxidase [J]. J Sci Food Agr, 1993, 61(2): 253-259.

[8] Liao X J, Gui F Q, Hu X S, et al. High-density CO_2 sterilize: China, 200520132590. X [P]. 2006-12-06. (in Chinese)
廖小军, 桂芬琦, 胡小松, 等. 高密度 CO_2 杀菌装置: 中国, 200520132590. X [P]. 2006-12-06.

[9] Pechacek R, Velisek J, Hrabcova H. Decomposition products of allyl isothiocyanate in aqueous solutions [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(12): 4584-4588.

Research on Removing Allyl Isothiocyanates Using High Pressure Carbondioxide

HU Guo-Wei, YI Jun-Jie, YANG Ying-Jie,
HU Xiao-Song, LIAO Xiao-Jun, ZHANG Yan

(*College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, National Engineering Research Center of Fruit and Vegetable Processing, Key Laboratory of Fruits and Vegetables Processing, Ministry of Agriculture, Beijing* 100083, *China*)

Abstract: Allyl Isothiocyanates (AITC) is a degradation product of thioglycoside in the red cabbage pigment extract, which limits the industrial applications of red cabbage pigment extract. In order to solve this actual production problem, the process and possible mechanism of removing AITC using high pressure carbon dioxide (HPCD) under different pressures and temperatures are analyzed with the AITC solution as experimental material. The results show that the removing process of AITC using HPCD follows the first-order kinetics model. Pressure is a non-significant factor ($P>0.05$) for the removing rate and half-life period, which indicates that the treatment pressure has little influence on the removing of AITC. Elevating treatment temperature can improve the removing rate of AITC nearly twice, and also shorten the half-life period, which indicates that the treatment temperature has more influence on the removing of AITC. The significant effect of the thermal degradation during the removing process of AITC by HPCD is verified by the further analysis.

Key words: high pressure carbon dioxide; allyl isothiocyanates; removing