

脱苦过程中苦杏仁苷含量的变化及其与苦味的关系

Changes of amygdalin content and its correlation with the bitterness in apricot kernels during the bitterizing processing

史芳芳

王娜娜

范学辉

张清安

SHI Fang-fang WANG Na-na FAN Xue-hui ZHANG Qing-an

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

(School of Food Engineering and Nutrition Sciences, Xi'an, Shaanxi 710119, China)

摘要:借助奎宁标准品进行苦味鉴评,探究苦杏仁中苦杏仁苷含量与苦味的关系。以脱皮苦杏仁为研究对象,进行水浴脱苦[脱苦温度70℃、料液比1:12(g/mL)、脱苦时间6h],每30min取样一次,对各样品进行感官评定,并采用高效液相色谱法(HPLC)测定样品中的苦杏仁苷含量。结果表明:苦杏仁中苦杏仁苷含量与苦味呈正相关关系,70℃水浴脱苦5h后,苦杏仁中苦杏仁苷含量低至0.91mg/g·干基,苦杏仁苦味等级降为I级,品尝时已不苦。苦杏仁中苦杏仁苷含量与苦味密切相关,运用HPLC测定苦杏仁中苦杏仁苷的残留量即可准确判断其脱苦程度。

关键词:苦杏仁;脱苦;苦杏仁苷;高效液相色谱法;苦味鉴评

Abstract: The aim of this study was to investigate the relationship between bitterness and amygdalin content. Sensory evaluation was conducted with quinine as the standard to evaluate the debitterized apricot kernels (debitterizing temperature 70℃, solid-to-liquid ratio 1:12, debittering time 6h), and a certain samples were taken every 30 minutes. Then the sensory evaluation was performed on each sample and the content of amygdalins in samples was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the content of amygdalin in bitter apricot kernels was positively correlated with the bitterness by sensory evaluation. After debitterizing of 5 hours in hot water, the content of amygdalin in the apricot kernels was as low as 0.91 mg/g, and the bitterness level of sample was reduced to the grade I, with no bitterness. Based on these results, we can conclude that the content of the amygdalin in apricot

kernels is closely related to the bitterness of sensory taste. The degree of the bitterness can be evaluated by the residue content of amygdalin determined by HPLC in the apricot kernels during the debitterizing, which can provide a theoretical base for rapid monitoring the debitterizing in the apricot kernels processing.

Keywords: apricot kernel; debitterizing; amygdalin; HPLC; bitterness evaluation

苦杏仁是一种药食两用植物果实,具有很高的营养价值^[1-3]。苦杏仁苷作为一种二糖苷是苦杏仁中重要的功能性成分之一,含量可达0.15%~5.50%^{[4][5]}。研究^[6]表明,苦杏仁苷具有镇咳、平喘、抗肿瘤等保健功效。中国苦杏仁年产量约 2.0×10^4 t,居世界首位,国际市场对苦杏仁的需求量大且稳定^{[4]2-6}。苦杏仁苷本无毒,但在酸、酶及加热等条件下极易发生水解产生苯甲醛和氢氰酸,氢氰酸是一种可以对人体健康产生极大危害的剧毒物质^[7]。因此,苦杏仁苷的存在在一定程度上限制了苦杏仁资源的开发及利用^[8]。

对于苦杏仁无论是初级加工品或深加工品,都必须要经过脱苦处理^[9]。常用的脱苦方法主要有清水浸泡处理法(如冷水拔苦法^[10]、去皮冷水脱苦法^[11]、酸处理脱苦法^[12-13]、温水热烫处理脱苦法^[14])和快速脱苦技术(如真空脱苦法^[15-16]、超声脱苦法^[17]和微波脱苦法^[18])。对于以上方法,评判苦杏仁是否脱苦完全的方法是感官品尝,但这种评判方法会因人的感官阈值差异而得出不同的脱苦终点,即经过感官评判方法得到的脱苦杏仁中仍残留有不同含量的苦杏仁苷,导致脱苦过程中过度浪费掉宝贵的苦杏仁苷资源(适当含量的苦杏仁苷残留是有益的)或因脱苦不彻底而引起食用安全问题。因此,急需建立一种能科学量化评判苦杏仁脱苦程度的方法,从而实现在保证良好口感的同时,还可最大程度保留安全剂量以内的苦杏仁苷含量,进而达到科学评判脱苦并最大可能保留其营养价值。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(编号:31101324);中央高校基本科研业务费专项(编号:GK201602005);陕西省重点研发计划项目(编号:2017NY-167);西安市科技局高校院所人才服务企业工程项目(编号:SXSFO03)

作者简介:史芳芳,女,陕西师范大学在读硕士研究生。

通信作者:张清安(1976—),男,陕西师范大学副教授,博士后。

E-mail: qinganzhang@snnu.edu.cn

收稿日期:2018-03-01

苦味程度的评价目前主要是基于药物苦味程度进行相对度量,即经典人群口感评价法,其结果具有最直接和相对客观的优势^[19-21]。本试验拟采用感官鉴评的方法并结合 HPLC 测定苦杏仁苷残留量,探讨两者的相关关系,建立脱苦阈值评价模型,以为科学量化评判苦杏仁的脱苦程度提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

苦杏仁:陕西省西安市西北药材市场,均为 2016 年 7~9 月采收;

苦杏仁苷标准品(98.42%):色谱纯,成都曼思特生物科技有限公司;

甲醇(99.9%):色谱纯,赛默飞世尔(中国)有限公司;

奎宁:分析纯,西安晶博试剂有限公司;

试验用水:纯净水,陕西娃哈哈乳品有限公司。

1.1.2 试验设备

紫外可见检测器:UV230 II 型,大连伊力特分析仪器有限公司;

色谱柱温箱:ZW230 II 型,大连伊力特分析仪器有限公司;

高压恒流泵:P230 II 型,大连伊力特分析仪器有限公司;

色谱柱:TC-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)型,安捷伦科技有限公司;

鼓风干燥箱:101 型,北京科伟永兴仪器有限公司;

超声波多频清洗机:SB-500DTY 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

电热恒温水浴锅:HH-S4 型,北京科伟永兴仪器有限公司;

电子天平:HANGPING JA 2003 型,上海仪器仪表厂;

高速多功能粉碎机:TQ-200 型,上海市天祺盛世科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理 称量大小均匀、颗粒饱满、无病虫害的苦杏仁适量,按料液比 1:10 (g/mL)加入 100 ℃的水,浸泡 5 min 后捞出,迅速手工去皮得脱皮苦杏仁。

1.2.2 样品制备及试验设计 称取 360.0 g 去皮苦杏仁于烧杯中,按料液比 1:12 (g/mL)加入 70 ℃的水 4 320 mL,置于 70 ℃恒温水浴锅中,分别在 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 h 时取 30 g 苦杏仁、360 mL 水,共 12 组样品,并将初样品按以下方式处理,得供试样品。

(1) 脱苦水中苦杏仁苷含量测定:将每组样品中脱苦水摇匀,吸取 5 mL 过 0.45 μm 滤膜,供 HPLC 检测;

(2) 脱苦后湿苦杏仁中残留苦杏仁苷含量测定:从每组样品中称取 10.0 g 苦杏仁,粉碎,精密称取 1.000 0 g 于 250 mL 玻璃瓶中,加入 100 mL 甲醇,进行超声提取(超声条件:25 ℃、300 W、59 kHz、1.0 h),吸取提取液 5 mL 过 0.45 μm 滤膜,供 HPLC 检测。

(3) 脱苦后经干燥的苦杏仁中苦杏仁苷含量:从每组样品中称取 10.0 g 苦杏仁,于 100 ℃的烘箱中放置 1.0 h,取出后将其粉碎,其他步骤同 1.2.2(2)操作。

(4) 苦杏仁的感官评定:从每组样品中称取 10.0 g 苦杏仁,经 10 名具有一定感官评价经验的人员对苦杏仁的苦味进行感官评定。

1.2.3 苦杏仁苷的 HPLC 测定 流动相为水:甲醇=72:28(体积比),柱温 35 ℃,流速 1 mL/min,检测波长 214 nm,进样量 20 μL,所有样品均需经 0.45 μm 滤膜过滤方可进行测定,等度运行 15 min。

1.2.4 苦杏仁苷标准曲线的绘制 精密称取苦杏仁苷标准品 1.667 0、1.000 0、0.667 0、0.400 0、0.200 0、0.100 0 g,将其分别加入 1 000 mL 容量瓶中,定容至刻度即为 1.667、1.000、0.667、0.400、0.200、0.100 mg/mL 的标准溶液,用 HPLC 测定,每个浓度进样 3 次,每次为 20 μL,测定其出峰面积。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,制作苦杏仁苷标准曲线(图 1)。

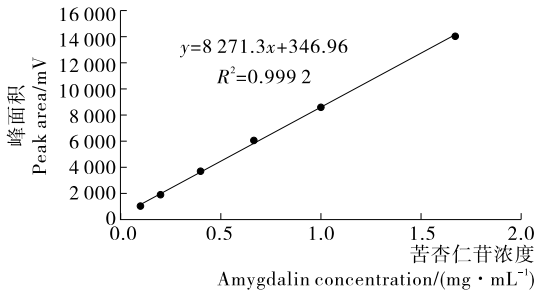


图 1 苦杏仁苷的标准曲线

Figure 1 Standard curve of amygdalin

1.2.5 样品感官评定 采用品尝法^[20]。以奎宁为标准品,配制不同浓度,并确定每个浓度下的苦味等级,每个级别下又赋予具体的分值 I,并规定 I 值的取值范围。

(1) 为提高鉴评的科学性、准确性,所选感官鉴评人员须经过培训,并且拥有良好的食品专业素养。鉴评前 3 d 不可食用辛辣食物,鉴评过程中每位鉴评人员单独评定,并做到每个样品评定结束后漱口,休息 2 min 后继续下一样品。

(2) 精密称取 16.000 0 mg 奎宁标准品于 10 mL 容量瓶中,加蒸馏水定容至刻度,即可配制浓度为 1.6 mg/mL 的对照品,将该浓度对照品进行稀释,得到浓度分别为 0.80、0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL 的奎宁对照品。感官鉴评中奎宁的定性定量描述见表 1。

1.2.6 验证实验 称取一定量的苦杏仁,脱皮处理后,按照料液比 1:12 (g/mL)进行脱苦,选取不同脱苦时间取样测定其苦杏仁苷含量并进行感官鉴评,验证所得结果是否正确。

1.2.7 数据处理 以上所有测定均重复进行 3 次,使用 Microsoft Office 2010 和 SPSS 17.0 进行相关图表的绘制和数据处理。

2 结果与分析

2.1 脱苦过程中脱苦水中苦杏仁苷含量的变化

由图 2 可知,脱苦水中苦杏仁苷的含量随着脱苦时间的

表 1 奎宁标准品定性及定量描述

Table 1 Qualitative and quantitative description of Quinine standard solution				
奎宁浓度/ (mg · mL ⁻¹)	定性描述	等级	定量描述 I	I 的取值 范围
0.05	不苦	I	0.5	[0,1)
0.10	略苦	II	1.5	[1,2)
0.20	中度苦	III	2.5	[2,3)
0.40	苦	IV	3.5	[3,4)
0.80	较苦,勉强可以接受	V	4.5	[4,5)
1.60	很苦	VI	5.5	[5,6)

延长先增加后降低,脱苦 3 h 时,脱苦水中苦杏仁苷含量最多,随后开始下降。与李强等^[22]关于提取时间对苦杏仁甙提取得率的影响一致。导致这种现象的主要原因是苦杏仁中苦杏仁甙酶和樱桃酶等物质,会随着苦杏仁苷同时溶于脱苦水中,并作用于苦杏仁苷使其降解,最终生成葡萄糖、苯甲醛和氢氰酸等产物^[23]。脱苦初期,苦杏仁中存在大量的苦杏仁苷,此时苦杏仁苷迁移到水中的速率远大于苦杏仁苷在脱苦水中的分解速率,使脱苦水中苦杏仁苷含量出现增加的趋势。随着时间的延长,脱苦水中苦杏仁苷含量逐渐增加,而苦杏仁中残留苦杏仁苷含量越来越少溶出速率也会降低,而水中苦杏仁甙酶类物质也越来越多,最终使苦杏仁苷的降解速率大于其溶出速率,造成脱苦水中苦杏仁苷含量降低。

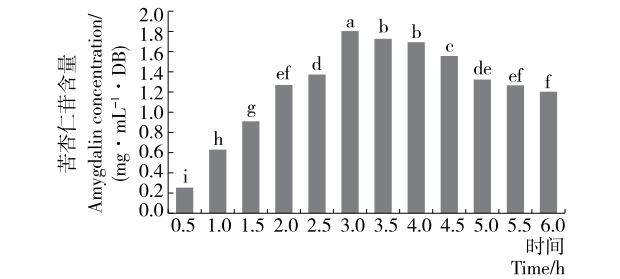


图 2 脱苦水中苦杏仁苷含量变化

Figure 2 Changes of the Amygdalin content in the bitterizing water

2.2 脱苦过程中苦杏仁苷残留量的变化

如图 3 所示,无论是将脱苦样品干燥处理还是不经干燥处理,脱苦过程中其苦杏仁苷含量均呈现下降趋势,其中前 3 h 内急剧降低随后呈平缓下降。可能是最初时间内苦杏仁中苦杏仁苷含量太高,大浓度梯度使苦杏仁苷溶出较快;随着苦杏仁苷在苦杏仁中含量的减少以及脱苦水中含量的增加,浓度梯度减小从而降低了苦杏仁苷的溶出速率,因此后期含量下降平缓。脱苦 5 h 后,样品中苦杏仁苷含量均接近 0 mg/g · 干基,6 h 时完全品尝不出苦味。由图 3 还可看出,脱苦后苦杏仁苷在未经干燥处理样品中的含量要高于干燥处理样品,说明干燥处理也可以降解部分苦杏仁苷。因此,苦杏仁脱苦时为了减少苦杏仁长时间接触热水造成蛋白质

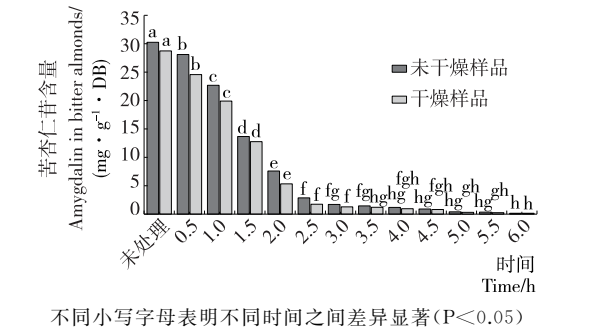


图 3 苦杏仁中苦杏仁苷含量变化
Figure 3 Changes of the Amygdalin content in bitterized apricot kernels

等其他营养成分的损失,可以在仍含有一定量的苦杏仁苷时终止脱苦,而这些残留的苦杏仁苷在后期干制加工时可以进一步降解从而达到脱除苦味的目的。

2.3 苦杏仁脱苦过程中的感官鉴评结果

表 2 结果表明,苦杏仁的苦味随着脱苦时间的延长而降低,与 2.2 中苦杏仁苷含量与时间的变化关系相一致,说明苦杏仁的苦味与苦杏仁苷含量呈明显相关性。图 4 为 I 值与时间变化的拟合关系图。由图 4 可以看出,二者的相关系数均在 0.99 以上,表明苦杏仁的苦味主要是由苦杏仁苷所引起,可以用苦杏仁苷的残留量来评定其脱苦程度。

由表 2 可知,未经处理的脱皮苦杏仁的苦度达到 VI 级,完全不能接受。随着热水脱苦时间的延长,苦味逐渐降低,并且干燥后的苦杏仁口感比未干燥的更好,I 值也相对较低。当苦杏仁的苦度降到 V 级及以下时,苦杏仁苷含量低于 24.90 mg/g · 干基;当苦杏仁苷含量低于 0.91 mg/g · 干基时,苦杏仁的苦度为 I 级,此时已完全尝不出苦味。

2.4 验证实验

为进一步验证量化苦杏仁苷残留量从而评定其脱苦程

表 2 苦杏仁脱苦过程中感官鉴评结果[†]

Table 2 Sensory evaluation result of apricot kernels during the debitterizing process		
脱苦时间/h	苦味等级	
	未干燥样品	干燥样品
0.0	VI	VI
0.5	VI	VI
1.0	V	V
1.5	V	IV
2.0	IV	IV
2.5	IV	IV
3.0	III	III
3.5	III	III
4.0	II	II
4.5	II	II
5.0	I	I
5.5	I	I
6.0	I	I

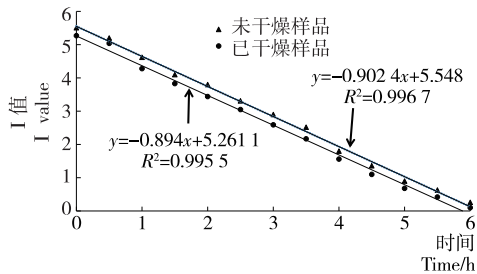


图 4 苦杏仁脱苦过程中感官评定 I 值与脱苦时间的关系

Figure 4 Correlation between the values of I and the debitterizing time

度的可行性,开展了验证实验。由表 3 可知,热水脱苦 4 h 后苦杏仁的苦度已降为Ⅱ级;脱苦时间为 5 h 时苦度降为Ⅰ级,此时苦杏仁苷含量为 0.72 mg/g·干基远低于苦杏仁的苦味阈值 0.91 mg/g·干基,与感官鉴评结果一致,说明脱苦在 5 h 以内可以完成,比工厂常用的 7 h 脱苦时间(品尝法)缩短 1~2 h。以上结果表明,苦杏仁的苦味与苦杏仁苷残留量呈正相关,可以用色谱测定脱苦过程中苦杏仁苷的残留量,进而科学评判苦杏仁脱苦程度和终点,同时减少资源及能源浪费。

表 3 验证实验结果 [†]		
Table 3 Results of verification experiments		
脱苦时间/h	苦杏仁苷含量/(mg·g ⁻¹ ·DB)	苦度级别
4.00	1.52±0.044 ^a	Ⅱ
5.00	0.72±0.044 ^b	Ⅰ
5.25	0.51±0.046 ^c	Ⅰ

[†] 同列不同小写字母表明不同时间之间差异显著(P<0.05)。

3 结论

上述研究表明,苦杏仁中苦杏仁苷含量与苦味呈显著正相关。依据借助奎宁标准品感官评价的结果可初步判定苦杏仁中苦杏仁苷的苦味阈值为 0.91 mg/g·干基,当苦杏仁苷含量低于 0.91 mg/g·干基时,苦杏仁的苦度级别降为Ⅰ级,品尝时已完全不苦。因此,在苦杏仁脱苦加工时,可以考虑使用高效液相色谱测定苦杏仁苷的残留量,从而科学评判苦杏仁脱苦程度和终点,这样一方面可以确保每批产品中苦杏仁苷残留量的一致性,同时还可以缩短脱苦时间,减少因盲目长时间脱苦造成的杏仁蛋白等资源浪费及能源消耗和环境污染等问题。

参考文献

[1] 王福花, 张占军. 杏仁研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38 (29): 16 239-16 240.

[2] MANDALARI G, TOMAINO A, ARCORACI T, et al. Characterization of polyphenols, lipids and dietary fibre from almond skins (*Amygdalus communis* L.)[J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2010, 23(2): 166-174.

[3] 张馨允, 宋云, 范学辉, 等. 干制温度对脱苦杏仁品质的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(4): 180-183.

[4] 张贞亮. 杏仁粕蛋白的提取工艺及品质控制的研究[D]. 保定:

河北农业大学, 2011.

[5] FEMENIA A, ROSSELLO C, MULET A, et al. Chemical composition of bitter and sweet apricot kernels[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1995, 43(2): 356-361.

[6] 汤庆发, 谢颖, 陈飞龙, 等. 苦杏仁中苦杏仁苷的存在形式及其影响因素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 107-109.

[7] 张红城, 尹策, 董捷, 等. 杏花花粉中苦杏仁苷的提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 236-241.

[8] ZHANG Qing-an, SONG Yun, WANG Xi, et al. Mathematical modeling of debittered apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernels during thin-layer drying[J]. CyTA-Journal of Food, 2016, 14: 509-517.

[9] 宋云, 张清安, 范学辉, 等. 脱苦杏仁在干制过程中的主要成分和色泽变化关系[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(2): 132-136.

[10] 减瑾康, 吴纯红, 沈中, 等. 苦杏仁脱苦去毒的最佳工艺条件探究[J]. 成都大学学报, 1998, 17(1): 39-43.

[11] 史清华. 苦杏仁的快速脱苦方法[J]. 陕西农业科学, 1997(2): 46-46.

[12] 朱海兰, 史清华, 唐德瑞. 苦杏仁脱苦去毒方法的研究[J]. 陕西农业科技, 2002(4): 4-6.

[13] 于森, 张华, 鲁明. 杏仁脱皮去苦及杏仁油脱色研究[J]. 食品科技, 2007(2): 90-92.

[14] 赵振甲, 马文锦, 彭涛, 等. 提高杏仁露产品蛋白含量及改善产品风味工艺的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(7): 66-70.

[15] 李军. 苦杏仁脱苦工艺的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2012: 13-25.

[16] 张乔会, 李军, 逢锦慧, 等. 响应面法优化山杏仁脱苦工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 248-253.

[17] 张清安, 范学辉, 张扬俊娜, 等. 一种超声诱导苦杏仁快速脱苦的方法: 中国, 201310376132.X[P]. 2013-12-04.

[18] 张兵, 田兴旺, 王永平. 苦杏仁的微波脱苦法[J]. 陇东学院学报, 2003, 13(2): 39-40.

[19] 李学林, 桂新景, 刘瑞新, 等. 基于电子舌对中药苦味化合物苦度的检测[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(11): 1 307-1 314.

[20] LI Lian-li, NAINI V, AHMED S U. Utilization of a modified special-cubic design and an electronic tongue for bitterness masking formulation optimization[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 96(10): 2 723-2 734.

[21] KAWANO Y, ITO A, SASATSU M, et al. Preparation of orally disintegrating tablets with masking of unpleasant taste: comparison with corrective-adding methods [J]. Yakugaku Zasshi Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 2010, 130(1): 75-80.

[22] 李强, 陈锦屏. 杏仁中苦杏仁甙的水提取工艺及其含量的测定[J]. 食品科学, 2006, 27(9): 140-143.

[23] BOLARINWA I F, ORFILA C, MORGAN M R. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially-available in the UK[J]. Food Chemistry, 2014, 152(2): 133-139.