

烘焙对红松种籽衣活性成分含量及抗氧化活性的影响

郭奇泳, 张艳, 石茂军, 张琪瑶, 吴聪, 赵玉红

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 红松种籽衣中含有多酚、黄酮等活性成分, 松籽加工中烘焙工艺会影响籽衣中活性成分含量及抗氧化活性。本研究分别对带壳松籽和不带壳松籽进行烘焙, 在 130 °C 条件下烘焙 10、20、30、40 min, 分析其种籽衣中总多酚、黄酮含量和颜色变化, 并对其抗氧化能力进行评价。结果表明: 烘焙后总多酚、总黄酮含量均低于未烘焙组。不带壳烘焙种籽衣的抗氧化能力强于带壳样品。种籽衣的 DPPH·清除能力在不带壳烘焙 20 min 时最强, IC_{50} 为 0.16 mg/mL, 低于未烘焙组 0.17 mg/mL; 种籽衣的羟基自由基清除能力在不带壳烘焙 20 min 时最强, IC_{50} 为 0.10 mg/mL, 低于未烘焙组 0.14 mg/mL。L* 值、a 值、b 值随着烘焙时间均呈降低趋势。总多酚和总黄酮含量与 DPPH·清除能力和羟基自由基清除能力正相关, 相关系数分别为 0.799 和 0.648。种籽衣提取物最大吸收波长在 274~279 nm 之间。烘焙加工影响红松松籽衣中活性成分含量、抗氧化活性和颜色。

关键词: 红松; 种籽衣; 烘焙; 活性成分; 抗氧化性

文章编号: 1673-9078(2018)12-159-166

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.12.024

Effects of Roasting on the Bioactive Contents and Antioxidant Activity of Korean Pine (*Pinus koraiensis*) Seed Coat

GUO Qi-yong, ZHANG Yan, SHI Mao-jun, ZHANG Qi-yao, WU Cong, ZHAO Yu-hong

(College of Forestry Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: The red pine seed coat contains bioactive components such as polyphenols and flavonoids, and the roasting procedure for processing the pine seed will affect the bioactive contents and antioxidant activity in pine nut seed coat. In this study, both shelled and in-shell pine seed were roasted at 130 °C for 10, 20, 30, and 40 min, before the total phenolic content, total flavonoid content, colour change, and antioxidant activity of the seed coat were determined. The results showed that the contents of total polyphenols and total flavonoids after roasting were both lowered. The antioxidant ability of the coat of the shelled seeds was higher than that for the in-shell ones. The DPPH scavenging capacity of the shelled seed coat reached the highest after 20-min roasting, with an IC_{50} of 0.16 mg/mL (which was lower than that for the unroasted ones, 0.17 mg/mL). The hydroxyl free radical scavenging capacity of the shelled roasted seed coat reached the highest after 20 min, with an IC_{50} of 0.10 mg/mL (which was lower than that for the non-roasted ones, 0.14 mg/mL). The L* value, a value and b value all decreased with the roasting time. The total polyphenol content and total flavonoid content were positively correlated with the DPPH scavenging capacity and hydroxyl radical scavenging capacity, with the correlation coefficients as 0.799 and 0.648, respectively. The peak absorption for the seed coat extract occurred between 274 and 279 nm. Thus, roasting influences the bioactive contents, antioxidant activity and color of the pine seed coat.

Key words: Korean pine (*Pinus koraiensis*); seed coat; baking; bioactive components; antioxidant activity

红松 (*Pinus koraiensis*) 属裸子植物, 又名海松, 主要分布于小兴安岭地区, 是我国重要的林业资源, 红松中含有丰富的多酚类物质^[1], 这些物质已被证明

收稿日期: 2018-07-31

基金项目: 教育部东北林业大学大学生创新训练计划项目 (201710225283);

哈尔滨市应用技术与开发项目科技创新人才专项 (2017RALXJ001)

作者简介: 郭奇泳 (1998-), 男, 本科, 研究方向: 林下资源利用

通讯作者: 赵玉红 (1968-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物化学

具有抗氧化、抗癌、抗炎、防辐射和对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶具有抑制作用等功效^[2-6]。有关红松中活性成分的研究主要集中在对种壳、种鳞和种籽衣中多酚、黄酮、多糖等活性成分的提取及功能活性方面的研究^[7-9]。

松仁外层包裹的膜衣称为种籽衣。赵起越等^[10]对红松种籽衣的各种营养成分进行了测定, 证明种籽衣中含有丰富的多酚和黄酮类化合物。张根生等^[11]优化

红松种籽衣中多酚的提取工艺。苏晓雨等^[12]对红松种籽衣提取物的抗氧化作用进行了评价,证明红松种籽衣提取物具有明显的抗氧化活性并认为其优良的抗氧化性与多酚及黄酮等活性成分相关。

种籽衣作为松仁加工产品副产物因含有活性成分和具有生物活性而被加入到食品中,赵梦雅等^[13]将松仁种籽衣应用于酸奶中并研究其对酸奶理化性质的影响,Н.Н.Типсина 等^[14]将松籽衣添加到面包制品中。松籽常被用来烘焙后食用, Schlörmann 等^[15]研究证明将榛子、杏仁和夏威夷果在低中温(120~160 °C)条件下烘焙具有更好的风味和营养价值。而烘焙处理对红松种籽衣中活性成分含量和抗氧化活性产生的影响尚未见报道。

本研究对带壳和不带壳红松松籽进行烘焙处理,取种籽衣,选择烘焙温度为130 °C,研究烘焙时间对其种籽衣中总多酚、总黄酮活性成分含量、抗氧化能力(DPPH·清除能力、羟基自由基清除能力和总还原力)及颜色变化的影响,为更好地利用红松种籽衣提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 原料

红松松籽,黑龙江省林业科学院提供。

1.1.2 试剂

无水乙醇、没食子酸标准品、福林酚试剂、芦丁标准品、DPPH、脱氧核糖、三氯乙酸、PBS、抗坏血酸、TPTZ 均为分析纯。

1.1.3 仪器与设备

756 型紫外分光光度计,上海分析仪器厂; YP410047 电子天平,上海佑科仪器仪表有限公司; DHG-9240 电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司; DK-SD 电热恒温水槽,上海一恒科技有限公司; KQ-300DE 数控超声波清洗器,昆明市超声仪器有限公司; 722 型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司; SW-CJ-IFD 型超净工作台; TDL-40B-W 台式低速大容量离心机,上海习仁科技仪器有限公司; 远红外线食品烧烤炉。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备

1.2.1.1 种籽衣的制备

带壳烘焙种籽衣的制备:将完整松籽在130 °C条件下烘焙,取出冷却至室温。将松籽剥壳,手工去皮

得到种籽衣,密封,避光保存备用。

不带壳烘焙种籽衣的制备:将松籽去壳,在130 °C条件下烘焙,取出冷却至室温。手工从松仁表面剥离种籽衣,密封,避光保存备用。

1.2.1.2 提取液的制备

种籽衣经粉碎机粉碎,过40目筛^[11],精确称取种籽衣粉末。按料液比1:20(W/V)加入60%(V/V)乙醇溶剂,进行超声波辅助提取,提取温度60 °C,功率300 W,时间90 min^[11]。离心(4000 r/min, 20 min),分离提取液,残渣复提一次,合并两次提取液。

1.2.2 总多酚含量测定

采用Folin-Phenol法测定提取物总多酚含量。

1.2.2.1 标准曲线的绘制

参照张根生等^[11]的方法,以没食子酸为对照品。没食子酸标准储备溶液(1000 μg/mL):称取(0.11±0.01)g没食子酸(GA,相对分子质量188.14)于100 mL容量瓶中溶解并定容至刻度,摇匀(现配)。没食子酸工作液:用移液管分别移取1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL的没食子酸标准储备溶液于100 mL容量瓶中,分别用水定容至刻度,摇匀,浓度分别为10、20、30、40、50 μg/mL。用移液管分别移取没食子酸工作液、水(做空白对照)各1.0 mL于10 mL棕色容量瓶中,分别加入5.0 mL福林酚试剂(10%, V/V),摇匀。反应3~8 min内,加入4.0 mL Na₂CO₃溶液(7.5%, m/V),充分混匀后定容。置于25 °C恒温水浴中反应1 h后,用比色皿于765 nm波长下测定吸光值。以没食子酸的质量浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制没食子酸标准曲线。没食子酸在0~50 μg/mL浓度范围内线性回归方程为 $y=0.0161x+0.029$, $R^2=0.9993$ 。

1.2.2.2 样品的测定

取1 mL稀释提取液,按上述方法测定总多酚的含量,公式如下:

$$\text{总多酚含量}/(\text{mg/g}) = \frac{C \times N \times V}{m}$$

式中:V为稀释提取液的体积(mL);N为稀释倍数;C为按标准曲线计算的溶液的总多酚浓度(mg/mL);m为样品的质量(g)。

1.2.3 总黄酮含量测定

采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法测定提取物总黄酮含量。

1.2.3.1 标准曲线的绘制

参照张晓茹等^[16]的方法,以芦丁为对照品。精密称取芦丁对照品20 mg用少量60%乙醇溶解后,转移至100 mL容量瓶,定容至刻度线。分别精密量取0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL芦丁溶液置于试管中,

加入 0.5 mL 亚硝酸钠溶液 (5%, W/V), 摇匀, 静置 6 min, 加入 0.5 mL 硝酸铝溶液 (10%, W/V), 摇匀, 静置 6 min, 加入 5 mL 氢氧化钠溶液 (4%, W/V), 摇匀, 加入 60%乙醇定容至 10 mL, 静置 25 min, 在 509 nm 波长处测定吸光值, 以芦丁浓度为横坐标, 以吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。芦丁在 0~70 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性回归方程为 $y=0.0118x-0.0014$, $R^2=0.9991$ 。

1.2.3.2 样品的测定

取 1 mL 稀释提取液, 按上述方法测定总黄酮的含量, 计算公式如下:

$$\text{总黄酮含量}/(\text{mg/g})=\frac{C \times N \times V}{m}$$

式中: V 为稀释提取液的体积 (mL); N 为稀释倍数; C 为按标准曲线计算的溶液的总黄酮浓度 (mg/mL); m 为样品的质量 (mg)。

1.2.4 抗氧化能力测定

1.2.4.1 DPPH·清除能力测定

参照张晓茹等^[16]的方法, 用无水乙醇将 DPPH 样品配置为 0.1 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液, 并保存于棕色瓶中 (临用前配)。取测定液 2 mL 及 2 mL DPPH 溶液到同一试管中, 摇匀, 室温下暗处静置 30 min 后测定其在波长 517 nm 下吸光度 A_1 , 同时测定 2 mL DPPH 溶液与 2 mL 无水乙醇混合液吸光度 A_0 , 以及 2 mL 测定液与 2 mL 无水乙醇混合液吸光度 A_2 。自由基清除能力的计算公式:

$$\text{清除率}/\%=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

1.2.4.2 羟基自由基清除能力测定

参照 Siddhuraju^[17]的方法并做修改。取 0.25 mL 提取液, 0.25 mL 蒸馏水做空白对照。样品中加入 0.5 mL 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4, 100 mmol/L)、0.2 mL 2-脱氧-D-核糖 (28 mmol/L)、0.4 mL Fe^{3+} -EDTA (100 $\mu\text{mol/L}$ FeCl_3 , 104 $\mu\text{mol/L}$ Na_2 -EDTA 1:1)、0.2 mL H_2O_2 (1 mmol/L) 和 0.2 mL 抗坏血酸溶液 (1 mmol/L)。在 37 $^\circ\text{C}$ 水浴下反应 1 h, 立即加入, 加冰的三氯乙酸 (2.8%, W/V) 和 2 mL 2-硫代巴比妥酸 (1%, W/V), 沸水浴 20 min, 待样品冷却 (10 min), 于 532 nm 波长下测定个样品吸光值, 平行测定三次, 计算清除率。

$$\text{清除率}/\%=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_3}\right) \times 100\%$$

式中: A_1 : 加测定溶液后的吸光度; A_2 : 加测定溶液, 不加脱氧核糖溶液反应后的吸光值; A_3 : 未加测定溶液时的吸光度。

1.2.4.3 总还原力测定

采用 FRAP 法, 参照 Bouayed 等^[18]的方法并做修改, 向试管中加入 5 mL TPTZ (用 40 mmol/L HCl 配制成浓度为 10 mmol/L 的溶液) 和 0.5 mL 20 mmol/L FeCl_3 溶液混合均匀, 于 37 $^\circ\text{C}$ 水浴中水浴加热 5 min 后, 加入 0.5 mL 待测液摇匀, 继续 37 $^\circ\text{C}$ 水浴 10 min, 取出静置至室温后于 593 nm 波长下测定吸光值。

标准曲线绘制: 配制 FeSO_4 浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mmol/L 作为待测液, 按上述方法测定吸光值。 FeSO_4 在 0~1.0 mmol/L 浓度范围内线性回归方程为 $y=0.6776x+0.0437$, $R^2=0.9991$ 。

1.2.5 种籽衣色差值的测定

亮度值 L^* 、红绿值 a 、黄蓝值 b 的测定参照静玮等^[19]的方法。

1.2.6 种籽衣提取液全波长扫描

以 60%乙醇溶液作基线, 提取液稀释 10 倍后在紫外分光光度计进行全波长扫描。

1.3 数据处理

采用 origin8.0 绘图, 采用 SPSS20.0 对数据进行相关性分析、显著性检验, 所得结果用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm\text{sd}$) 表示, 以 $p<0.05$ 作为差异显著性检验标准。

2 结果与分析

Schlörmann 等^[15]研究证明低温 (120~140 $^\circ\text{C}$) 烘焙条件下坚果具有最高的感官评价分数。因此本实验选择在 130 $^\circ\text{C}$ 进行烘焙处理。

2.1 总多酚含量测定结果

在 130 $^\circ\text{C}$ 条件下分别对带壳、不带壳松籽烘焙 10、20、30、40 min, 种籽衣多酚含量测定结果如图 1 所示。与未烘焙种籽衣相比, 种籽衣经过不同条件烘焙后总多酚含量呈现不同程度的损失。其中, 带壳烘焙种籽衣在 10 min 总多酚含量降到最低, 继续烘焙总多酚含量又会上升随后再继续下降; 不带壳烘焙的种籽衣总多酚含量在 30 min 时下降到最低, 继续烘焙总多酚含量上升。

未处理种籽衣提取液总多酚含量为 11.31 mg/g, 较赵梦雅等^[13]16.20 mg/g 有所降低, 可能与松子成熟度、季节、储存和处理条件以及干燥方法等因素相关; Bradleyw 等^[20]将加利福尼亚杏仁种籽衣在 295 $^\circ\text{F}$ 条件下烘焙 14 min, 总多酚含量由 25.10 mg/g 下降至 18.50 mg/g, 本研究种籽衣在烘焙过程中总多酚含量也呈现不同程度的降低 ($p<0.05$)。Locatelli 等^[21]等研究了 180 $^\circ\text{C}$ 烘焙 10 min 和 20 min 对榛子种籽衣总酚含量的

影响,结果显示种籽衣在烘焙 20 min 时总酚含量显著高于 10 min, 与本研究带壳烘焙情况类似。Pelvan 等^[22]的研究表明, 没食子酸和香草酸是天然榛子皮中的主要酚酸, 而在烘焙后的榛子皮中, 香草酸和丁香酸占主导地位, 以此推断, 烘焙红松种籽衣中酚酸种类发生变化, 即烘焙过程中伴随着原有酚酸丧失和新酚酸生成反应的进行, 可能是烘焙过程中总多酚含量在 20 min (带壳) 和 40 min (不带壳) 时升高的原因。

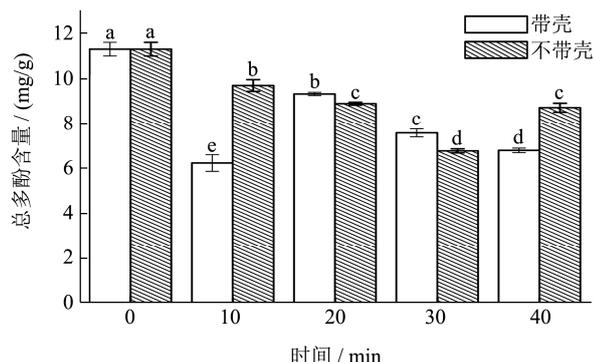


图 1 烘焙种籽衣总多酚含量与时间关系

Fig.1 Relationship between total polyphenol content and time of baked seed coat

注: 不同字母表示数据在 0.05 水平上具有显著性差异, 下同。

2.2 总黄酮含量测定结果

在 130 °C 条件下分别进行带壳、不带壳烘焙 10、20、30、40 min, 种籽衣总黄酮含量测定结果如图 2 所示。与未烘焙种籽衣相比, 种籽衣经过不同条件烘焙后总黄酮含量呈现不同程度的损失, 其中, 带壳烘焙种籽衣在 20 min 总黄酮含量较 10 min 略微上升后, 继续烘焙总黄酮含量又会下降; 不带壳烘焙的种籽衣总黄酮含量在 10~30 min 时间段呈现上升趋势, 随后在 40 min 时降到最低。

未处理种籽衣总黄酮含量为 3.05 mg/g, 比较吴琼等^[23]研究结果有所降低。本研究按提取多酚的最佳工

艺测定总黄酮含量, 与吴琼等^[23]最佳工艺不同, 应是黄酮提取含量低的主要原因。带壳烘焙总黄酮含量普遍低于不带壳烘焙, 应是松子壳阻碍了种籽衣直接暴露在空气中, 从而阻碍了分解反应的进行。

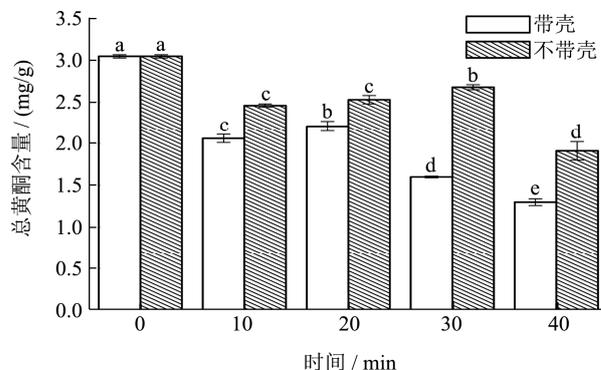


图 2 烘焙种籽衣总黄酮含量与时间关系

Fig.2 Relationship between the content of total flavonoids and the time of baking seed coat

注: 不同字母表示数据在 0.05 水平上具有显著性差异。

2.3 红松种籽衣抗氧化性测定结果

2.3.1 DPPH·清除能力研究

不同浓度带壳、不带壳烘焙种籽衣提取液对 DPPH·清除能力影响结果分别见表 1 和表 2。由 DPPH·清除能力的半抑制浓度 (IC₅₀) 可知, 带壳烘焙过程中, DPPH·清除能力在 20 min 时上升随后继续下降, 在 20 min 时达到最高; 不带壳烘焙过程中, DPPH·清除能力在 20 min 和 40 min 上升, 在 20 min 时最高。其中不带壳烘焙 20 min 的 DPPH·清除能力最高, IC₅₀ 值为 0.16 mg/mL, 低于未烘焙样品 IC₅₀ 值 0.17 mg/mL, 说明其 DPPH·清除能力高于未烘焙样品。

DPPH·清除率在提取液浓度为 0.05~0.80 mg/mL 范围内随浓度增大而升高, 且同一浓度不同烘焙时间的提取液清除率差异明显 (p<0.05)。当提取液浓度达到 0.80 mg/mL 时, DPPH·清除率可高达 89.39% (不带壳烘焙 20 min) 和 90.71% (不带壳烘焙 40 min)。

表 1 带壳烘焙种籽衣不同浓度提取液的 DPPH 自由基清除率

Table 1 DPPH radical scavenging rates of different concentration extracts of shell-baked seed coats

焙烤时间 /min	提取液浓度/(mg/mL)						IC ₅₀ /(mg/mL)
	0.05	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	
0	12.46±2.41 ^b	35.05±1.21 ^a	55.43±0.63 ^a	82.47±1.92 ^a	85.21±0.62 ^a	87.25±0.63 ^a	0.17
10	13.00±0.73 ^b	30.16±1.00 ^b	48.65±1.61 ^c	72.57±0.42 ^c	75.42±1.22 ^c	78.01±0.81 ^c	0.22
20	17.39±1.20 ^a	26.68±0.41 ^c	50.20±0.60 ^b	78.41±0.84 ^b	84.05±0.91 ^b	86.89±1.81 ^b	0.18
30	13.02±1.02 ^b	27.43±0.44 ^c	47.65±0.61 ^d	70.22±2.83 ^d	72.01±1.51 ^d	74.94±1.91 ^d	0.24
40	10.35±1.10 ^c	27.03±1.67 ^c	46.42±0.6 ^c	68.31±1.0 ^c	72.06±0.10 ^d	74.77±1.11 ^d	0.25

注: 同一列不同字母表示数据在 0.05 水平上具有显著性差异。

表 2 不带壳烘焙种籽衣不同浓度提取液的 DPPH 自由基清除率

Table 2 DPPH radical scavenging rates of different concentration extracts of seed coats without shell baking

焙烤时间 /min	提取液浓度/(mg/mL)						IC ₅₀ /(mg/mL)
	0.05	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	
0	12.46±2.41 ^b	35.05±1.21 ^a	55.43±0.63 ^a	82.47±1.92 ^b	85.21±0.62 ^b	87.25±0.63 ^c	0.17
10	12.33±0.16 ^b	31.45±0.22 ^b	53.47±2.52 ^b	78.83±0.61 ^c	84.29±0.51 ^c	86.03±1.61 ^d	0.18
20	20.46±2.61 ^a	30.43±0.81 ^c	53.47±2.18 ^b	85.72±1.51 ^a	87.57±1.11 ^a	89.39±0.84 ^b	0.16
30	9.63±0.30 ^c	20.25±2.81 ^c	55.87±1.10 ^a	75.81±0.22 ^d	76.44±0.40 ^d	78.47±0.80 ^e	0.22
40	12.84±2.1 ^b	24.00±1.91 ^b	45.75±1.82 ^c	72.85±2.81 ^e	84.26±1.61 ^c	90.71±3.06 ^a	0.20

2.3.2 羟基自由基清除能力研究

不同浓度带壳、不带壳烘焙种籽衣提取液对羟基自由基清除能力影响结果分别见表 3 和表 4。由羟基自由基的半抑制浓度 (IC₅₀) 可知, 烘焙后的种籽衣的提取液对羟基自由基的清除能力在 20 min 时呈现大幅度的上升, 带壳烘焙 IC₅₀ 值从 0.19 mg/mL 降低至 0.11 mg/mL, 不带壳烘焙 IC₅₀ 值从 0.14 mg/mL 降低至 0.10 mg/mL, 都比未处理种籽衣 IC₅₀ 值 (0.14 mg/mL) 低。同样情况出现在 40 min 时也出现, 但清

除能力不如未处理种籽衣。且不带壳烘焙的种籽衣对羟基自由基的清除能力较带壳烘焙的种籽衣强。其中不带壳烘焙 20 min 清除能力最强。

羟基自由基清除率在提取液浓度为 0.10~2.00 mg/mL 范围内随浓度增大而升高, 即两者呈现明显的量效关系, 且同一浓度不同烘焙时间的提取液清除率差异明显 ($p < 0.05$)。当提取液浓度达到 2.00 mg/mL 时, 羟基自由基清除率可高达 91.03% (不带壳烘焙 20 min)。

表 3 带壳烘焙种籽衣不同浓度提取液的羟基自由基清除率

Table 3 Hydroxyl radical scavenging rates of different concentration extracts of shell-baked seed coats

焙烤时间/min	提取液浓度/(mg/mL)						IC ₅₀ /(mg/mL)
	0.10	0.20	0.40	1.00	1.50	2.00	
0	40.31±2.31 ^b	60.88±0.49 ^a	70.86±0.20 ^a	83.02±1.10 ^a	86.51±0.32 ^a	88.00±0.90 ^a	0.14
10	39.09±0.61 ^b	54.55±0.07 ^b	59.16±0.93 ^{bc}	74.82±0.47 ^b	82.43±1.37 ^b	87.41±0.45 ^a	0.19
20	48.25±0.66 ^a	59.22±1.16 ^a	70.82±3.01 ^a	82.73±1.05 ^a	85.27±0.21 ^a	87.87±0.44 ^a	0.11
30	29.93±3.03 ^d	51.27±3.54 ^c	56.54±1.24 ^c	68.28±0.20 ^c	74.10±0.64 ^d	77.94±0.65 ^c	0.28
40	35.25±2.50 ^c	52.17±3.02 ^{bc}	61.42±1.09 ^b	74.68±1.20 ^b	80.01±1.91 ^c	85.15±0.63 ^b	0.21

注: 同一列不同字母表示数据在 0.05 水平上具有显著性差异。

表 4 不带壳烘焙种籽衣不同浓度提取液羟基自由基清除率

Table 4 Hydroxyl radical scavenging rates of different concentration extracts of seed coats without shell baking

焙烤时间/min	提取液浓度/(mg/mL)						IC ₅₀ /(mg/mL)
	0.10	0.20	0.40	1.00	1.50	2.00	
0	40.31±2.31 ^{bc}	60.88±0.49 ^a	70.86±0.20 ^a	83.02±1.10 ^b	86.51±0.32 ^b	88.00±0.90 ^b	0.14
10	39.56±1.71 ^c	61.14±2.93 ^a	71.28±3.37 ^a	82.80±0.38 ^b	87.03±0.15 ^b	89.20±2.28 ^b	0.14
20	49.55±1.21 ^a	61.82±2.41 ^a	73.11±2.43 ^a	84.66±0.82 ^a	89.57±0.01 ^a	91.03±0.31 ^a	0.10
30	35.65±0.31 ^d	55.61±0.61 ^b	60.56±0.42 ^b	75.83±0.64 ^c	81.03±1.81 ^c	83.61±0.49 ^c	0.20
40	41.94±0.11 ^b	57.35±0.75 ^b	70.88±1.28 ^a	83.21±1.17 ^b	85.54±0.34 ^b	87.78±0.91 ^b	0.14

注: 同一列不同字母表示数据在 0.05 水平上具有显著性差异。

2.3.3 总还原力研究

烘焙种籽衣提取液总还原力测定结果如图 3 所示。烘焙后种籽衣总还原能力不如未烘焙种籽衣, 不同烘焙时间条件呈现不同程度的降低。带壳烘焙过程

中还原力逐渐减弱, 未烘焙种籽衣提取液为 4.51 mmol/L (以 FeSO₄ 为当量, 下同), 带壳烘焙 40 min 时为 2.32 mmol/L; 不带壳烘焙过程中总还原力在 20 min 和 40 min 时有较大幅度的上升, 其中 20 min 时为

3.74 mmol/L, 40 min 时为 3.69 mmol/L。

从图中可以看出, 烘焙后种籽衣总还原能力不如未烘焙种籽衣, 这与 Bradleyw 等^[20]的研究结果相同, 因此是否带壳进行烘焙会影响种籽衣的总还原能力。在烘焙时间 20 min 以后 (包括 20 min), 不带壳总还原力明显高于带壳。活性成分含量变化说明烘焙过程中存在着新物质的生成^[22], 而颜色变化说明烘焙过程中存在着美拉德反应, 这与 Davis 等^[24]推测相同。在低中温 130 °C 烘焙条件下, 壳的存在阻碍种籽衣直接接触热空气, 从而阻碍两种反应的进行, 应是带壳烘焙种籽衣抗氧化性 (DPPH·清除能力、羟基自由基清除能力、总还原力) 不如不带壳烘焙种籽衣的原因。

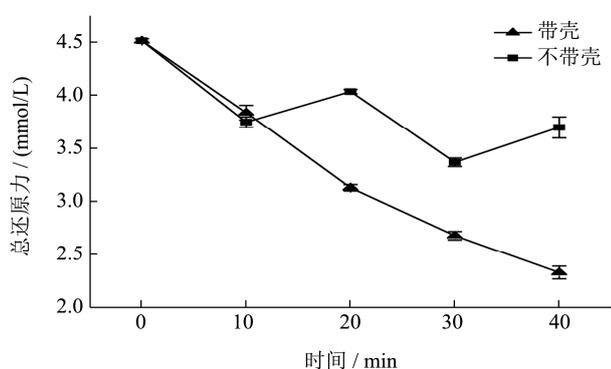


图3 烘焙种籽衣总还原力与烘焙时间关系图

Fig.3 Relationship between total reducing power and baking time of baked seed coat

2.4 烘焙种籽衣颜色变化研究

L*、a、b 值测定结果如图 4。烘焙 0~40 min 过程中, a 值呈现先升高再降低而后继续升高的趋势, 且 a_{不带壳}>a_{带壳}; b 值持续降低, 30 min 后降低速度趋于平缓; L* 值持续降低, 30 min 后降低速度趋于平缓, 且 L*_{带壳}>L*_{不带壳}。说明烘焙过程中伴随着呈色物质的分解和生成, 且对不带壳种籽衣影响更为剧烈。Davis 等^[24]研究了烘焙 (166 °C, 0~77 min) 对花生种籽衣颜色的影响, 表明在烘焙过程种籽衣颜色明显变暗, 并推测是由烘焙过程中美拉德反应引起的。

红松种籽衣中含有较为丰富的蛋白质和糖类^[10], 在烘焙过程中伴随着美拉德反应 (非酶褐变) 和焦糖化反应的进行, 结果生成黑色素, 是烘焙过程中种籽衣颜色逐渐加深的原因, 即 L* 值、a 值、b 值大幅度降低, 烘焙 30 min 后, 由于蛋白质和糖类逐渐被消耗, 非酶褐变反应速度减慢, 因而颜色变化程度降低。项惠丹等^[25]研究表明美拉德反应生成的黑色素具有抗氧化活性, 且与反应物浓度和反应时间有一定的量效关系, 这也是烘焙过程中各指标变化不规律的原因。

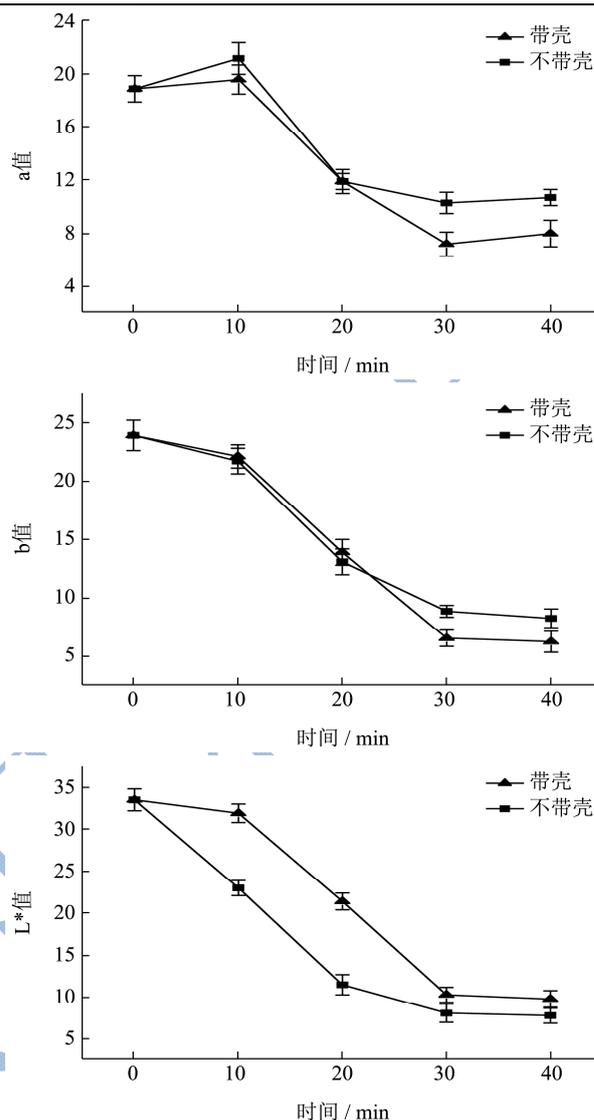


图4 a、b、L*值与烘焙时间变化关系

Fig.4 Relationship between a, b, L* values and baking time

2.5 种籽衣提取液全波长扫描结果

带壳、不带壳烘焙种籽衣提取液全波长扫描结果如图 5-a 和图 5-b。所有样品吸收峰波长都位于 274~279 nm 之间。其中, 未处理种籽衣提取液吸收峰波长为 275.5 nm, 吸光值为 1.00; 带壳烘焙 40 min 种籽衣提取液吸收峰波长为 275.0 nm, 吸光值最高 1.13; 不带壳烘焙 20 min 种籽衣提取液吸收峰波长为 278.5 nm, 吸光值为 1.12。说明烘焙过程中活性成分种类以及含量是发生变化的。Alasalvar 等^[26]研究的榛子种籽衣提取物吸收峰波长为 282 nm, 说明两者活性成分较为接近。

烘焙过程中特征吸收峰波长和吸光值都在变化, 即烘焙过程中活性成分种类和含量都会发生变化。Alasalvar 等^[26]将榛子皮提取物在层析柱中用乙醇进

行洗脱得到低分子量的酚酸, 并做扫波长扫描分析, 得到最大吸收峰波长为 278 nm, 与不带壳 20 min 吸收峰波长接近, 结合两者分析, 不带壳烘焙 20 min 的红松种籽衣提取物中应含有大量的低分子量酚酸, 通过总多酚和总黄酮在 10~20 min 时变化情况, 20 min 较 10 min 活性成分含量高或两者差异不明显 ($p < 0.05$), 由此可以推断这个时间段是新的酚酸生成的主要阶段, 从而烘焙 20 min 时新的酚酸含量达到最高, 随后继续烘焙新的酚酸也会丧失使总多酚含量减少, 这可以为烘焙 20 min 时的高抗氧化性提供依据。类似的情况也可以在 30~40 min 时间段看到。

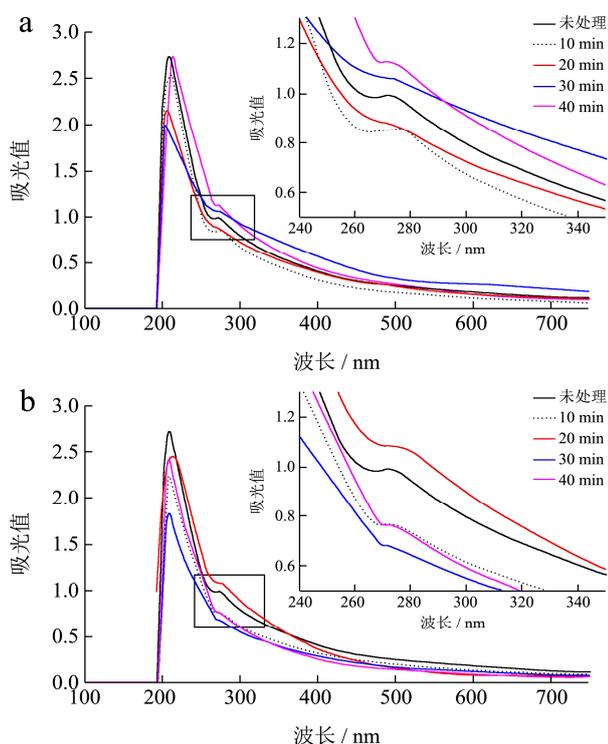


图5 带壳和不带壳烘焙种籽衣全波长扫描图

Fig. 5 Full-wavelength scan of seed coats with and without shells

注: a 带壳, b 不带壳。

2.6 抗氧化活性与总多酚、总黄酮含量间的相关性

表5 活性成分与抗氧化指标间相关系数表

Table 5 Correlation coefficient between active ingredients and antioxidant properties

项目	DPPH·清除能力	羟基自由基清除能力	总还原力
总多酚	0.799	0.635	0.585
总黄酮	0.754	0.648	0.406

为了研究活性成分含量与抗氧化活性之间是否存在量效关系, 根据含量及 IC50 值计算了各指标间相关

系数, 总多酚、总黄酮含量分别对 DPPH·和羟基自由基的相关系数分别为 0.799 和 0.648, 证明总多酚、总黄酮含量分别对 DPPH·清除能力和羟基自由基清除能力有正相关性。

3 结论

130 °C 烘焙不同时间对带壳和不带壳红松种籽衣中活性成分和抗氧化性产生不同影响, 适度烘焙的不带壳红松种籽衣的抗氧化能力显著提升。烘焙后的红松种籽衣中成分和性质的改变使其具有更高的利用价值, 是酚类和天然抗氧化剂的很好来源, 相比于未烘焙种籽衣更适合作为具有抗氧化功能的食品配料。

参考文献

- [1] 祖元刚, 胡艳, 姜守刚. 红松多酚物质的提取工艺及其抗炎活性初步研究[J]. 植物研究, 2016, 36(4): 634-64
ZU Yuan-Gang, HU Yan, JIANG Shou-Gang. Extraction and anti-inflammatory of Korean pine polyphenol [J]. Bulletin of Botanical Research, 2016, 36(4): 634-64
- [2] Zhang H, Zhao H, Yao L, et al. Isolation, physicochemical properties, and in vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from different parts of *Pinus koraiensis* [J]. Journal of Wood Chemistry & Technology, 2017, 37(3): 225-240
- [3] 黄雨洋. 红松多酚分离鉴定及抗氧化抗癌功能研究[D]. 东北林业大学, 2014
HUANG Yu-yang. The separation, isolation and identification of polyphenol structures in Korean pine (*Pinus koraiensis*) back and evaluation of its antioxidant and anticancer activity [D]. Northeast Forestry University, 2014
- [4] 王吉昌. 红松多酚分离鉴定及对辐射诱导氧化伤害的防护作用[D]. 哈尔滨工业大学, 2011
WANG Ji-chang. Study on separation, Identification and protective effect of oxidative damage induced by radiation of polyphenols in *Pinus Koraiensis* [D]. Harbin Institute of Technology, 2011
- [5] 李波, 包怡红, 高锋, 等. 红松松球鳞片多酚对 α 淀粉酶和 α 葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(1): 63-65, 69
LI Bo, BAO Yi-hong, GAO Feng, et al. Inhibitory effect of polyphenols from Korean pine cone lamella on α - amylase and α -glucosidase [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(1): 63-65, 69
- [6] Yi J, Qu H, Wu Y, et al. Study on antitumor, antioxidant and immunoregulatory activities of the purified polyphenols from pinecone of *Pinus koraiensis* on tumor-bearing S180 mice in

- vivo* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94(Pt A): 735-744
- [7] 黄雨洋,王振宇.酶法辅助提取红松种壳多酚的工艺优化研究[J].食品工业科技,2013,34(4):184-188,192
HUANG Yu-yang, WANG Zhen-yu. Enzymatic assisted extraction of polyphenolics from red pine hull [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(4): 184-188, 192
- [8] 符群,徐明慧,王振宇.红松种鳞多酚超声波辅助提取优化工艺及其抗氧化性研究[J].北京林业大学学报,2015,37(11): 128-135
FU Qun, XU Ming-hui, WANG Zhen-yu. Optimization of ultrasonic assisted process of extracting polyphenols from seed scales of Korean pine and their antioxidation [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2015, 37(11): 128-135
- [9] 李波,包怡红,高峰,等.大孔树脂纯化红松球鳞片多酚及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012,33(22):251-255
LI Bo, BAO Yi-hong, GAO Feng, et al. Purification technology of polyphenol from Korean pine cone lamella with macroporous resins and research of their antioxidant ability [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(22): 251-255
- [10] 赵起越,程晓强,徐红艳.红松松仁膜衣营养成分的测定[J].吉林农业,2016,16:65
ZHAO Qi-yue, CHENG Xiao-qiang, XU Hong-yan. Determination of nutritional composition of *Pinus koraiensis* [J]. Agriculture of Jilin, 2016, 16: 65
- [11] 张根生,侯静,张铭东,等.松仁红衣多酚的提取及体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2014,35(23):252-256
ZHANG Gen-sheng, HOU Jing, ZHANG Ming-dong, et al. Research of extraction and antioxidant activity *in vitro* of polyphenols from pine nut coat [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(23): 252-256
- [12] 苏晓雨,王振宇.红松子种皮提取物活性成分及抗氧化作用研究[J].林产化学与工业,2010,30(4):99-102
SU Xiao-yu, WANG Zhen-yu. Study on the active component and antioxidant activities of extract from *Pinus koraiensis* sieb et zucc seed shell [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2010, 30(4): 99-102
- [13] 赵梦雅,鞠婷,凌秀昕,等.松仁种皮成分分析及在酸奶中的应用[J].现代食品科技,2017,33(7):133-140
ZHAO Meng-ya, JU Ting, LING Xiu-xin, et al. Component analysis of Pine nut skin and its application in yogurt [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(7): 133-140
- [14] Н.Н.Типсина,刘艳霞.俄罗斯松子的研究和利用现状[J].吉林农业科技职业学院学报,2014,23(3):47-49
Н Н Типсина, LIU Yan-xia. The research and utilization status quo of Pine nuts in Russia [J]. Journal of Jilin Agricultural Science and Technology University, 2014, 23(3): 47-49
- [15] Schlörmann W, Birringer M, Böhm V, et al. Influence of roasting conditions on health-related compounds in different nuts [J]. Food Chemistry, 2015, 180: 77
- [16] 张晓茹,李星,王彬,等.红松松仁膜衣提取物体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2016,37(6):142-146,150
ZHANG Xiao-ru, LI Xing, WANG Bin, et al. Antioxidant activities *in vitro* of pine nut coated-film extracts from *Pinus koraiensis* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(6): 142-146, 150
- [17] Siddhuraju P. Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat [J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(6): 982-990
- [18] Bouayed J, Hoffmann L, Bohn T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake [J]. Food Chemistry, 2011, 128(1): 14-21
- [19] 静玮,苏子鹏,林丽静.不同焙烤温度和时间对澳洲坚果果仁颜色的影响[J].热带农业科学,2016,36(8):56-61,75
JING Wei, SU Zi-peng, LIN Li-jing. Effects of different roasting temperatures and times on the color of Macadamia nut kernels [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2016, 36(8): 56-61, 75
- [20] Bradleyw B, Jeffreyb B, Oliver Chen C Y. The influence of roasting, pasteurisation, and storage on the polyphenol content and antioxidant capacity of California almond skins [J]. Food Chemistry, 2010, 123(4): 1040-1047
- [21] Locatelli M, Travaglia F, Coisson J D, et al. Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions [J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1647-1655
- [22] Pelvan E, Olgun E Ö, Karadağ A, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut samples (natural, roasted, and roasted hazelnut skin) [J]. Food Chemistry, 2018, 244: 102
- [23] 吴琼,陈丽娜,代永刚,等.松仁红衣中黄酮类化合物的提取工艺[J].食品研究与开发,2011,32(5):45-47
WU Qiong, CHEN Li-na, DAI Yong-gang, et al. Extraction of total flavonoids from pine nut coat [J]. Food Research and Development, 2011, 32(5): 45-47

- [24] Davis J P, Dean L L, Price K M, et al. Roast effects on the hydrophilic and lipophilic antioxidant capacities of peanut flours, blanched peanut seed and peanut skins [J]. Food Chemistry, 2010, 119(2): 539-547
- [25] 项惠丹,许时婴,王璋.蛋白质与还原糖美拉德反应产物的抗氧化活性[J].食品科学,2008,7:52-57
- XIANG Hui-dan, XU Shi-ying, WANG Zhang. Antioxidant activities of maillard reaction products of protein and reducing sugar [J]. Food Science, 2008, 7: 52-57
- [26] Alasalvar C, Karamac' M, Kosin'Ska A, et al. Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(11): 4645-50

现代食品科技