

电子束辐照对松花粉脂质氧化及其品质的影响

赵巧丽¹, 刘其耸², 石丽花², 闪月¹, 李进伟¹, 刘元法¹

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122) (2. 烟台新时代健康产业有限公司, 山东烟台 264006)

摘要: 以原松花粉为试材, 研究电子束辐照对其杀菌效果、脂肪酶活力、脂质氧化性能和营养品质的影响, 并分析了破壁松花粉在加速氧化过程中色泽、过氧化值和挥发性成分的变化。结果表明, 电子束辐照可显著降低松花粉中微生物含量, 且辐照剂量越大, 杀菌效果越显著; 菌落总数、霉菌酵母数和大肠菌群的 D_{10} 值分别为 2.20、1.95 和 1.84 kGy; 随着辐照剂量的增加, 松花粉中脂肪酶活力、类胡萝卜素含量和游离脂肪酸含量显著降低, 过氧化值略有升高但总体仍处于较低水平, 当辐照剂量为 8 kGy 时, 脂肪酶灭活率为 53.52%, 类胡萝卜素保留率为 60.81%, 游离脂肪酸含量为 1.38 mg/kg, 过氧化值为 0.46 meq/kg; 此外, 8 kGy 剂量辐照对松花粉的基本营养成分及氨基酸含量无明显影响, 在加速氧化过程中, 破壁松花粉的色泽无明显变化, 过氧化值、己醛和己酸含量增幅不大。表明 8 kGy 电子束辐照对松花粉营养品质影响不大, 并能有效杀灭微生物, 抑制脂质氧化, 提高产品储藏稳定性。

关键词: 电子束辐照; 松花粉; 脂质氧化; 品质; 挥发性成分

文章编号: 1673-9078(2019)12-77-86

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.011

Effects of Electronic Beam Irradiation on the Lipid Oxidation and Quality of Pine Pollen

ZHAO Qiao-li¹, LIU Qi-song², SHI Li-hua², SHAN Yue¹, LI Jin-wei¹, LIU Yuan-fa¹

(1. Food College, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(2. Yantai New Era Health Industry Co. Ltd., Yantai 264006, China)

Abstract: The effects of electron beam irradiation on the bactericidal effect, lipase activity, lipid oxidation performance and nutritional quality of pine pollen were studied. The changes of color, peroxide value and volatile constituents of wall-breaking pine pollen during accelerated oxidation were also analyzed. The results showed that electron beam irradiation could significantly reduce the microbial content of pine pollen, and the sterilization effect with a dose-dependent manner, the D_{10} values of total bacterial count, mold-yeast and coliform were 2.20, 1.95 and 1.84 kGy, respectively. The lipase activity, carotenoid and free fatty acid contents of pine pollen were decreased significantly with the increase of irradiation dose, while the peroxide value was still at a low level. At the irradiation dose of 8.0 kGy, the inactivation rate of lipase was 53.52%, the retention rate of carotenoid was 60.81%, the content of free fatty acid was 1.38 mg/kg, and the peroxide value was 0.46 meq/kg, respectively. In addition, the irradiation of 8.0 kGy dose had no significant effect on the basic nutritional components, amino acid content, and color of pine pollen and effectively prevent the increase of peroxide value, hexanal and caproic acid contents in the process of accelerated oxidation. These results indicated that electron beam irradiation of 8 kGy dose could effectively kill the microbes, inhibit lipid oxidation, keep the original nutritional quality and improve the storage stability of pine pollen.

Key words: electronic beam irradiation; pine pollen; lipid oxidation; quality; volatile constituent

松花粉 (Pine pollen), 又名松黄, 是松属植物的单性花粉, 泛指马尾松、油松、赤松和云南松等同属数种植物的精细胞, 是我国传统食药兼用的花粉品种。在《神农本草经》及《本草纲目》等多部医籍中均记载其具有益气除风、收敛止血、养颜益寿等功效^[1-3]。

收稿日期: 2019-07-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31571878)

作者简介: 赵巧丽 (1990-), 女, 博士研究生, 研究方向: 油脂与植物蛋白工程

通讯作者: 李进伟 (1972-), 男, 教授, 研究方向: 油脂与植物蛋白工程

研究表明, 松花粉富含蛋白质、脂质、多糖、植物甾醇、类胡萝卜素和多酚等生物活性物质, 素有“超级微型浓缩营养库”, “绿色宝库中的黄金粉”等美誉, 是人类 21 世纪最理想的营养源^[3-5], 目前已被广泛应用于保健品、药品、化妆品和饲料添加剂等领域。松花粉具有坚韧的细胞壁, 其结构中的孢粉素具有耐酸碱、耐温、耐压以及对胃酸和其他消化系统酶非常稳定的理化特性, 这既影响了松花粉中营养成分的吸收利用率, 也阻止了提取时营养成分的释放, 极大地限制了松花粉的开发和利用, 因此对松花粉进行破壁处理就

尤为重要^[6]。目前国内外已对松花粉的破壁研究取得了一定进展,但破壁后的松花粉极易受霉菌和大肠杆菌等微生物污染,严重时还会产生毒素等有害物质;此外,松花粉中的脂质也极易与脂肪酶、空气等接触而发生水解甚至氧化反应,导致脂质酸败并形成不良气味,从而降低了松花粉的感官品质和营养价值^[7,8]。因此,目前急需寻求一些合适的灭菌技术或方法,以达到高效灭菌的同时维持松花粉原有的理化特性,这对保证松花粉的储藏品质,延长市场供应期意义重大。

食品辐照技术是近年来发展很快的一种非热力加工新技术,它是利用电离辐射(主要包括⁶⁰Co、¹³⁷Cs放射性元素产生的 γ 射线、电子加速器产生的电子束或X射线)与物质的相互作用所产生的物理、化学和生物效应,对食品进行加工处理,以实现射线对食品分子的修饰以及降解食品中有害物质,达到延长食品货架期的目的^[9]。电子束辐照是20世纪90年代起被广泛使用的一种辐照技术,不同于传统的 γ 射线辐照原理,电子束辐照通过应用电子直线加速器发射的高能电子束流,来达到有效杀菌及钝化食品内源性酶的作用,其具有不受能源限制,操作方便,能源利用充分、安全、环保、易于质量控制、成本低、无核废料等优点,随着全球辐射加工业的日新月异,电子束辐照技术会有更大的发展空间^[10]。研究发现只要选择合适的辐照剂量,电子束辐照处理便可保证在提高产品卫生品质的同时,又能够较好地保持产品原有的营养成分及感官品质^[11]。然而,目前有关电子束辐照对松花粉的杀菌效果及营养品质影响的研究尚未见报道。

本实验室前期研究发现,松花粉经超高温瞬时灭菌处理后破壁,常温储藏一周便会产生大量异味,而⁶⁰Co- γ 射线辐照处理的破壁松花粉在相同储藏条件下异味产生明显较少,但其生产成本较高。基于此,本文以松花粉为试材,研究不同辐照剂量电子束对松花粉中微生物的灭菌效果及其脂质氧化性能和营养品质的影响,确定了电子束辐照的最适作用剂量,并跟踪检测了辐照破壁松花粉在加速氧化过程中色泽、过氧化值和挥发性成分的变化,旨在为电子束辐照在松花粉杀菌中的应用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原松花粉(水分含量<6%),由烟台新时代健康产业有限公司提供; β -胡萝卜素,购自百灵威试剂有限公司;C13 脂肪酸甲酯、己醛、己酸、氨基酸标准品,购自上海斯信生物科技有限公司;正己烷、异辛烷等,

均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

ESS-010-03 高能直线电子加速器,上海束能辐照技术有限公司;YQ100-1 气流粉碎机,上海赛山机械公司;WH-610D 磁力搅拌器,德国维根斯公司;5810 R 离心机,德国艾本德公司;UVmini-1240 紫外分光光度计,日本岛津公司;TSQ 三重四级杆气质联用仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;Heratherm IGS 180 恒温培养箱,赛默飞公司;FE 28 酸度计、HG63 卤素水分快速测定仪,梅特勒-托利多公司;SQP 分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司;LS-POP 激光粒度分析仪,珠海欧美克粒度仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 电子束辐照处理

电子加速器每次输出功率为10 kW,电子束流扫描速率为200 次/s,试验用松花粉采用双层聚乙烯袋密封包装,每个包装的产品质量控制在(100.0 $\pm$ 5.0) g,厚度为2~4 cm,放置在电子束辐照专用金属托盘上,不同电子束辐照剂量(0、1、2、3、4、6、8、10、12 kGy)通过控制托盘在电子束下的传送速度进行调整。辐照处理后的松花粉采用双层PE袋密封包装,室温储存待测。

1.3.2 松花粉加速氧化实验

将电子束辐照松花粉采用气流粉碎机破壁,装入150 mL 自封袋中,置于40℃恒温烘箱内加速氧化,并在第0、1、3、5、8、12、16、20、25、30 d 取样,进行各项指标测定。

1.3.3 微生物检验

细菌总数、霉菌酵母数及大肠杆菌的测定分别依据GB 4789.2-2016、GB 4789.15-2016 和 GB 4789.3-2016 的方法,于辐照后第2 d 进行。

1.3.4 辐照杀菌剂量D₁₀值的确定

D₁₀值是辐照加工中使用的一个重要技术参数,它是指被辐照物细菌总数降低到原始值1/10 时所需要的辐照剂量,反映了被辐照物中细菌对电子束的耐受能力。根据公式 $\lg(N_0/N) = D/D_0$ 线性回归,求出D₁₀值。其中N₀为样品未辐照之前的初始含菌量,N为样品辐照后的含菌量^[12]。

1.3.5 粒径及营养成分分析

松花粉粒径大小通过激光粒度分析仪测定;水分、蛋白质、脂肪、灰分和氨基酸含量的测定分别按照GB 5009.3-2016、GB 5009.5-2016、GB 5009.6-2016、GB

5009.4-2016、GB/T 5009.124-2016 中的方法进行；总糖含量采用蒽酮-比色法测定。

1.3.6 松花粉品质指标分析

类胡萝卜素含量参照文献^[13]的方法测定；游离脂肪酸含量参照文献^[14]的方法测定；脂肪酶活力参照文献^[15]的方法测定；过氧化值参照 GB 5009.227-2016 中的硫代硫酸钠滴定法测定；色泽参照 GB/T 5525-2008 中的方法测定。

1.3.7 显微结构观察

取松花粉制片，放在载物台上，采用光学显微镜进行显微结构观察，放大倍数为 200 倍。

1.3.8 挥发性成分分析

采用顶空固相微萃取技术对各样品风味物质进行提取：将萃取头在气相色谱的进样口老化，老化温度为 250 ℃，载气流量为 0.8 mL/min，老化时间 2 h。取 0.8 g 样品在 50 ℃吸附 30 min，250 ℃解吸 5 min，采用 GC-MS 测定挥发性氧化产物。

气相色谱条件：DB-wax 色谱柱，N₂ 为高纯载气，流量 1.0 mL/min；进样口温度 250 ℃；程序升温为 45 ℃保持 2 min，以 3 ℃/min 升至 180 ℃，维持 5 min，再以 10 ℃/min 升至 240 ℃，保留 7 min。质谱条件：EI 离子源，离子源温度 240 ℃，四极杆温度 150 ℃，扫描质量范围 33~400 u。

样品中挥发性化合物的鉴定基于外标法及与 WILEY 8.0 和 NIST 14 谱库进行比对，仅对正反相似度均大于 800（最大值 1000）的鉴定结果予以分析，相对百分含量采用面积归一化法计算。

1.4 数据处理

实验数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计及分析，显著性检验取 95%置信区间。实验结果采用 Origin 8.0 软件进行图像绘制与曲线拟合。

2 结果与分析

2.1 电子束辐照对松花粉的灭菌效果

以松花粉为研究对象，测定其携带的微生物数量及不同剂量辐照处理后的带菌数量，结果如表 1 所示。由表 1 可知，松花粉的带菌状况超标（细菌总数 $<10^4$ cfu/g，大肠菌群 ≤ 30 MPN/100g，GB/T 15691-2007），电子束辐照处理对松花粉的灭菌效果极为显著，3 kGy 的辐照处理可使松花粉的菌落总数达标，6 kGy 的辐照处理可使松花粉的大肠菌群数量达标，8 kGy 的辐照处理可使松花粉中菌落总数、霉菌酵母数和大肠菌群的灭活率分别达到 99.90%、99.80%和 99.89%，符

合 GBT18526.2-2001《花粉辐照杀菌工艺》的卫生要求。此外，松花粉中菌落总数、霉菌酵母数和大肠菌群的 D₁₀ 值分别为 2.20、1.95 和 1.84 kGy，表明大肠杆菌对辐照较为敏感。黄小波等^[16]研究发现辐照剂量为 0.4~0.6 kGy 时能够将全蛋液中沙门氏菌数量降低 100 倍；颜伟强等^[11]发现采用 3~4 kGy 的辐照剂量处理蛋黄粉，可有效发挥灭菌作用；陈志军等^[17]发现低于 8 kGy 的辐照剂量为破壁灵芝孢子粉的安全电子束辐照剂量。与上述研究结果相比，本试验所得最适辐照剂量稍高，这可能是与原松花粉携菌量较多或所携带微生物对辐照耐受力较强有关。

表 1 不同剂量辐照对松花粉的杀菌效果

Table 1 Effects of different doses of irradiation on the bactericidal effect of pine pollen

辐照剂量/kGy	微生物指标		
	菌落总数 /(cfu/g)	霉菌酵母数 /(cfu/g)	大肠菌群 /(MPN/100 g)
0	1×10^5	3×10^4	2700
1	52700	8727	870
2	14640	2936	220
3	5615	1268	74
4	1072	424	38
6	250	183	14
8	93	58	3
10	50	32	nd
12	12	14	nd

注：“nd”表示未检出。

2.2 电子束辐照对松花粉脂肪酶活性的影响

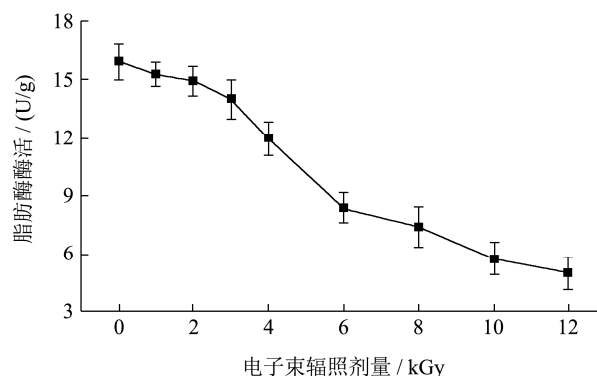


图 1 电子束辐照对松花粉脂肪酶活性影响

Fig.1 Effects of electron beam irradiation on lipase activity of pine pollen

松花粉在储藏过程中脂肪酶活力的高低会直接影响其储藏稳定性。图 1 为经不同剂量电子束辐照处理的松花粉中脂肪酶活力的变化。由图 1 可知，经电子束辐照处理后，松花粉中脂肪酶活力显著降低

($p < 0.05$), 且降低幅度与辐照剂量总体呈正相关, 当辐照剂量低于 3 kGy 时, 脂肪酶活力由 15.88 U/g 降至 13.97 U/g, 降低 12.02%, 当辐照剂量高于 4 kGy 时, 脂肪酶活力由 11.94 U/g 降至 4.98 U/g, 降低 58.29%。电子束辐照作为一种冷杀菌方式, 并不能使物料温度达到脂肪酶的失活温度, 而是通过射线的高能量直接破坏脂肪酶的空间结构致使其失活。上述结果表明, 电子束辐照处理有助于降低水解脂肪酸败程度, 提高松花粉的储藏稳定性。

2.3 电子束辐照对松花粉类胡萝卜素含量的影响

影响

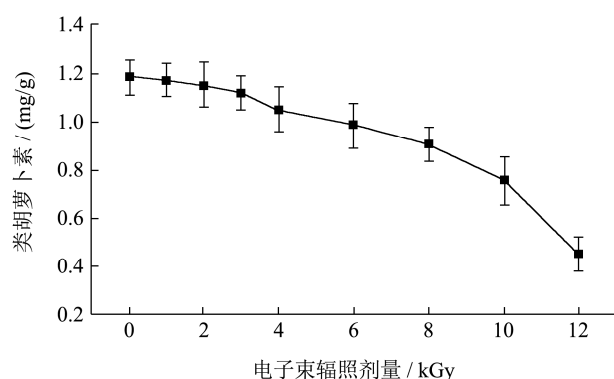


图2 电子束辐照对松花粉类胡萝卜素含量的影响

Fig.2 Effects of electron beam irradiation on the carotenoid content of pine pollen

类胡萝卜素作为维生素A的前体和能强力清除单态氧的抗氧化剂, 对人体健康大有裨益。由图2可知, 电子束辐照处理对松花粉中类胡萝卜素含量存在显著影响, 且随着辐照剂量的增加, 影响趋势逐渐增大。与原松花粉相比, 当辐照剂量小于 4 kGy 时, 类胡萝卜素含量从 1.18 mg/g 降至 1.12 mg/g, 与对照组相比差异不显著 ($p > 0.05$); 当辐照剂量从 4 kGy 增至 12 kGy 时, 类胡萝卜素含量从 1.05 mg/g 降至 0.45 mg/g, 降低 57.14%。Eun-Jin Lee 等^[18]在研究电子束辐照对紫菜中类胡萝卜素含量的影响时也得到类似结果。由此可知, 采用电子束辐照处理松花粉时, 为避免类胡萝卜素的过度损失, 需通过研究找到最低有效剂量和最高耐受剂量, 以保证在杀灭微生物的同时最大限度的保持产品原有的营养品质。

2.4 电子束辐照对松花粉氧化性能的影响

除微生物腐败外, 脂质水解酸败也是影响松花粉产品货架期的一个重要因素。油脂氧化酸败首先会产生游离脂肪酸和氢过氧化物等中间产物, 游离脂肪酸易分解为低级脂肪酸、醛和酮类等物质^[19]。因此, 游

离脂肪酸和过氧化值是衡量油脂前期氧化程度的重要指标。

2.4.1 游离脂肪酸

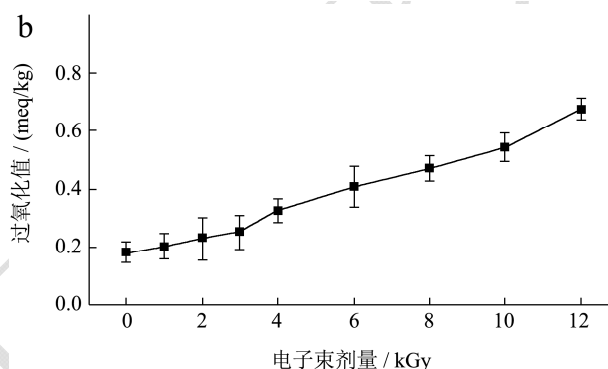
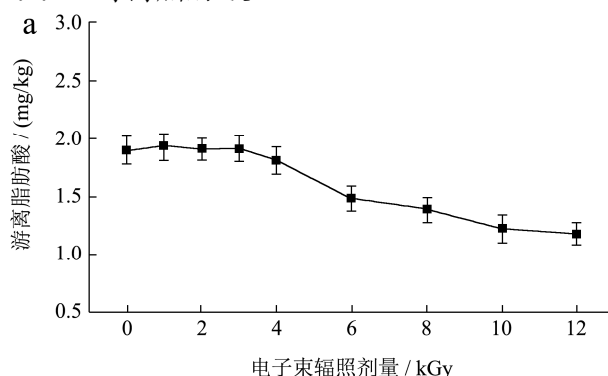


图3 电子束辐照对松花粉中游离脂肪酸和过氧化值的影响

Fig.3 Effects of electron beam irradiation on free fatty acids and peroxide value of pine pollen

松花粉中含有一定量的以不饱和脂肪酸为主的脂肪, 在外界因素(光、热等)作用下, 不饱和脂肪酸发生氧化、分解反应, 致使产生的游离脂肪酸增加, 引起松花粉酸败。本研究通过测定不同剂量辐照处理的松花粉中游离脂肪酸含量的变化来评判电子束辐照对松花粉品质劣变的影响。由图3a可知, 松花粉中游离脂肪酸含量随着辐照剂量的增加呈缓慢降低趋势, 当辐照剂量低于 4 kGy 时, 松花粉中游离脂肪酸含量由初始的 1.89 mg/kg 降至 1.81 mg/kg, 变化差异不显著 ($p > 0.05$), 当辐照剂量高于 4 kGy 后, 游离脂肪酸含量从 1.81 mg/kg 降至 1.17 mg/kg, 降低 35.36%。杨丹等^[20]在研究电子束辐照对稻米中游离脂肪酸含量的影响时发现, 辐照剂量从 0 kGy 增至 4 kGy 时, 由于电子束对大米的电离作用增强, 导致脂类物质降解产生游离脂肪酸含量增加。该结论与本研究结果相悖论, 可能是由于实验原料及测试方法不同所致。

2.4.2 过氧化值

过氧化值是衡量辐照产品中脂肪氧化的一个重要指标, 物料经辐照处理会产生一定的自由基, 这些自由基会诱导脂肪发生过氧化反应或其他化学变化。电子束辐照对松花粉过氧化值的影响如图3b所示。由

图 3B 可知, 松花粉的过氧化值随着辐照剂量的增加逐渐增大。当辐照剂量小于 4 kGy 时, 松花粉的过氧化值为 0.18~0.32 meq/kg, 且过氧化值随着辐照剂量的增加而增大, 但各组间差异不显著 ($p>0.05$), 这可能是由于电子束处理时间短, 辐照时自由基的产生及自由基与脂肪氧化反应等需要一定的时间积累, 因此其过氧化值变化不明显; 当辐照剂量高于 4 kGy 时, 松花粉的过氧化值迅速从 0.32 meq/kg 增至 0.67 meq/kg, 且各组间差异显著 ($p<0.05$), 但总体上过氧化值仍处于较低水平。颜伟强等^[11]在用电子束辐照蛋黄粉中也发现了类似的结果。研究表明, 电子束辐照可能促进了油脂氧化的链引发阶段, 电子束激发出的羟基自由基、过氧化物裂解物和亲核物质间会发生反应促进油脂氧化^[21]。有报道称辐照过的肉类和肉类产品中脂质的氧化程度增加, 可能是由于电离辐射促进了水系统中羟自由基的形成, 而形成的自由基在辐射过程中与氧结合并产生了氢过氧化物。

2.5 电子束辐照破壁松花粉的外观和显微结构

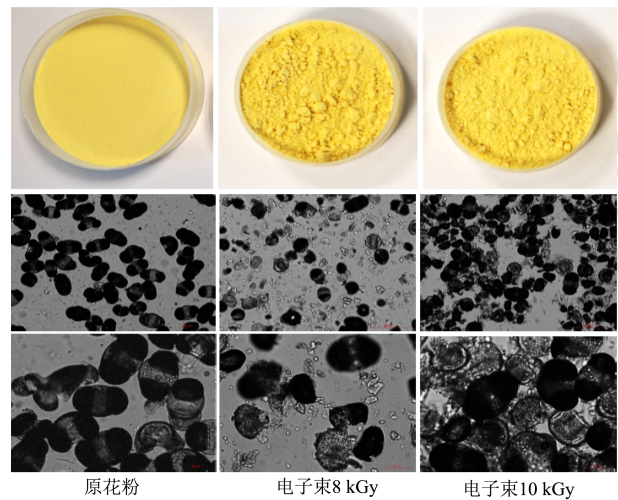


图 4 电子束辐照破壁松花粉的外观与显微结构 (200×)
Fig.4 The appearance and microstructure of wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation

FAO/IAEA/WHO 联合专家委员会指出不超过 10 kGy 的辐照不会对食品造成营养损失, 且无需进行额外食品毒理学实验^[22]。基于此, 后续实验仅选择达到杀菌要求的 8 kGy 和 10 kGy 剂量辐照的松花粉进行气流破壁处理, 并对得到的破壁松花粉进行外观和微观结构观察, 结果见图 4 所示。由图 4 可知, 与原松花粉相比, 电子束辐照破壁松花粉的色泽未发生明显变化, 但物理性状发生改变, 流体性质全部丧失, 粘附性增强。通过光学显微镜观察其外观形态, 可见原松

花粉由一个椭圆或近圆的主体和两个气囊组成, 经破壁处理后, 松花粉的结构完整性被破坏, 气囊及主体部分均已破碎脱落。

2.6 电子束辐照破壁松花粉的基本成分和氨基酸含量

表 2 电子束辐照破壁松花粉的基本组成成分

Table 2 The main components of wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation

指标项目	原松花粉	破壁松花粉辐照剂量/kGy	
		8	10
粒径/ μm	46.73 $\pm$ 1.14 ^a	40.67 $\pm$ 1.13 ^b	39.75 $\pm$ 1.13 ^b
水分/%	7.17 $\pm$ 0.25 ^a	4.82 $\pm$ 0.13 ^b	4.65 $\pm$ 0.20 ^c
灰分/%	3.26 $\pm$ 0.07 ^b	3.40 $\pm$ 0.05 ^a	3.43 $\pm$ 0.05 ^a
粗蛋白质/%	10.84 $\pm$ 0.13 ^a	10.79 $\pm$ 0.22 ^a	10.43 $\pm$ 0.22 ^b
粗脂肪/%	1.89 $\pm$ 0.03 ^b	8.03 $\pm$ 0.14 ^a	8.15 $\pm$ 0.14 ^a
总糖含量/%	15.85 $\pm$ 0.23 ^b	17.84 $\pm$ 0.13 ^a	17.95 $\pm$ 0.13 ^a

注: 同一行中标有不同字母表示组间显著性差异 ($p<0.05$), 标有相同字母表示组间差异不显著 ($p>0.05$)。表 3 同。

表 3 电子束辐照破壁松花粉的氨基酸组成和含量 (mg/g)

Table 3 The composition and content of amino acids of wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation

氨基酸	原花粉	辐照剂量/kGy	
		8	10
天冬氨酸 Asp	9.20 $\pm$ 0.40	8.35 $\pm$ 0.52	8.07 $\pm$ 0.42
谷氨酸 Glu	13.27 $\pm$ 0.82	12.14 $\pm$ 1.32	11.75 $\pm$ 1.31
丝氨酸 Ser	3.77 $\pm$ 0.09	3.47 $\pm$ 0.10	3.22 $\pm$ 0.10
组氨酸 His	2.45 $\pm$ 0.38	2.73 $\pm$ 0.58	2.68 $\pm$ 0.51
甘氨酸 Gly	4.93 $\pm$ 0.13	4.88 $\pm$ 0.13	4.81 $\pm$ 0.13
苏氨酸 Thr	3.11 $\pm$ 0.24 ^c	3.84 $\pm$ 0.23 ^a	3.65 $\pm$ 0.33 ^b
精氨酸 Arg	7.21 $\pm$ 1.50	7.04 $\pm$ 1.49	7.17 $\pm$ 1.59
丙氨酸 Ala	5.29 $\pm$ 0.70	6.51 $\pm$ 0.65	7.02 $\pm$ 0.61
酪氨酸 Tyr	2.90 $\pm$ 0.47	4.26 $\pm$ 0.49	4.64 $\pm$ 0.42
半胱氨酸 Cys	0.30 $\pm$ 0.02 ^b	0.72 $\pm$ 0.01 ^a	0.73 $\pm$ 0.03 ^a
缬氨酸 Val	5.62 $\pm$ 0.18 ^a	5.38 $\pm$ 0.20 ^b	5.29 $\pm$ 0.20 ^b
蛋氨酸 Met	2.17 $\pm$ 0.19 ^a	1.25 $\pm$ 0.14 ^b	0.97 $\pm$ 0.24 ^c
苯丙氨酸 Phe	3.84 $\pm$ 0.12 ^a	2.89 $\pm$ 0.14 ^b	2.26 $\pm$ 0.14 ^c
异亮氨酸 Ile	4.68 $\pm$ 0.33 ^b	4.73 $\pm$ 0.35 ^a	4.71 $\pm$ 0.25 ^a
亮氨酸 Leu	6.23 $\pm$ 0.11 ^c	7.02 $\pm$ 0.12 ^a	6.84 $\pm$ 0.10 ^b
赖氨酸 Lys	6.20 $\pm$ 0.49 ^c	6.47 $\pm$ 0.51 ^a	6.37 $\pm$ 0.51 ^b
脯氨酸 Pro	9.14 $\pm$ 1.07 ^a	6.12 $\pm$ 1.52 ^c	6.66 $\pm$ 1.52 ^b
必需氨基酸总量	31.85 ^a	31.58 ^a	30.09 ^b
总量	90.52 ^a	89.11 ^a	86.83 ^b

电子束辐照对破壁松花粉中基本成分和氨基酸组成的影响分别见表 2 和表 3 所示。由表 2 可知,不同剂量辐照破壁松花粉的粒径和水分含量均低于原松花粉,总糖含量均高于原松花粉;此外,原松花粉中粗脂肪含量为 1.89%,辐照破壁处理后,8 kGy 和 10 kGy 剂量组粗脂肪含量均显著升高 ($p<0.05$),赵霖等^[23]在分析破壁松花粉中粗脂肪含量时也发现了类似结果。这可能是由于原松花粉具有坚韧的细胞壁,其结构中的孢粉素理化特性非常稳定,极大地限制了松花粉中粗脂肪的浸提释放率,而辐照破壁处理松花粉由于其细胞壁受到破坏,更有利于浸提时粗脂肪的溶出。辐照前,原松花粉中粗蛋白含量为 10.84%,辐照处理后,8 kGy 剂量组粗蛋白含量无显著降低 ($p>0.05$),而 10 kGy 剂量组与对照组相比显著降低 ($p<0.05$),表明低剂量辐照不会影响破壁松花粉中粗蛋白含量,而高剂量辐照可能导致蛋白质末端氨基酸脱羧基或脱

氨基,并使肽键发生断裂从而影响代谢机能。

由表 3 可知,原松花粉经辐照破壁处理后,其所含蛋氨酸、脯氨酸、缬氨酸和苯丙氨酸含量有所降低,而亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸和赖氨酸含量有所提高;此外,与原松花粉相比,8 kGy 剂量组破壁松花粉中氨基酸总量和必需氨基酸含量无显著变化 ($p>0.05$),而 10 kGy 剂量组破壁松花粉的氨基酸总量和必需氨基酸含量显著降低 ($p<0.05$)。李湘等^[10]在研究电子束辐照对大米营养品质的影响时也有类似发现。说明采用 8 kGy 的辐照剂量处理松花粉,对其营养品质无不良影响。

2.7 电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程

中色泽的变化

表 4 电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程中色泽的变化

Table 4 Changes of color in the process of accelerated oxidation of wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation

辐照剂量/kGy	储藏天数/d	Hunter 颜色值			ΔE
		L*	a*	b*	
8	原松花粉	84.73±0.10	-0.47±0.05	34.35±0.03	
	0	84.82±0.01	0.13±0.02	35.42±0.03	1.23±0.03
	1	84.78±0.02	0.08±0.01	35.46±0.01	1.24±0.02
	3	87.49±0.03	-1.44±0.01	34.20±0.02	3.63±0.01
	5	87.86±0.02	-1.54±0.01	35.87±0.02	3.64±0.02
	8	85.81±0.07	-0.73±0.02	35.83±0.07	1.85±0.03
	12	84.78±0.01	-0.19±0.01	35.30±0.08	0.99±0.04
	16	84.27±0.04	-0.26±0.03	36.00±0.02	1.72±0.05
	20	87.28±0.07	-1.43±0.02	36.61±0.04	3.54±0.03
	25	87.45±0.04	-1.48±0.01	36.35±0.01	3.52±0.06
10	30	85.42±0.01	-0.58±0.01	36.24±0.02	3.29±0.04
	0	84.78±0.03	0.08±0.01	35.46±0.01	1.24±0.05
	1	85.33±0.03	-0.42±0.02	35.44±0.03	1.24±0.07
	3	88.30±0.07	-1.88±0.01	31.32±0.05	4.89±0.05
	5	87.98±0.01	-1.66±0.07	32.97±0.04	3.72±0.02
	8	86.01±0.03	-0.95±0.03	36.03±0.03	2.16±0.03
	12	85.17±0.05	-0.10±0.09	35.40±0.03	1.19±0.04
	16	85.28±0.03	-0.06±0.03	35.15±0.08	1.05±0.06
	20	88.22±0.02	-1.79±0.05	32.18±0.04	4.31±0.03
	25	88.08±0.01	-1.57±0.03	32.77±0.03	3.86±0.04
	30	86.10±0.03	-0.91±0.06	36.06±0.04	2.23±0.05

注: ΔE 值越大说明其色泽变化越大,当 $\Delta E<1.5$ 时,说明样品与对照组无差异; $1.5<\Delta E<3.0$ 时稍有差异; $3.0<\Delta E<6.0$ 时有差异; $\Delta E>6.0$ 时有显著差异。

颜色是松花粉品质的外观体现,也是影响消费者接受性的主要指标之一,采用色差仪在可见光波长范

围内测定辐照破壁松花粉在加速氧化过程中的颜色变化有助于评估松花粉的质量。由表 4 可知,与原松花

粉相比,不同剂量辐照破壁松花粉的总色差 ΔE 在 0.99~4.89 范围内变化,说明储藏期间辐照破壁松花粉与原松花粉存在一定色差,但差异不显著,且色差变化与储藏时间无明显相关性;此外,随着储藏时间的延长,不同剂量辐照破壁松花粉的红度变量(a)略有降低,明度变量(L)和黄度变量(b)均略有升高,但变化不明显,说明辐照破壁松花粉中的呈红、呈黄色素均相对稳定,在 8 kGy 和 10 kGy 的辐照剂量处理下,均未发生显著变化。杨丹等^[20]在电子束辐照对稻米储藏特性及品质影响的研究中也得到了类似的结果。

2.8 电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程中过氧化值的变化

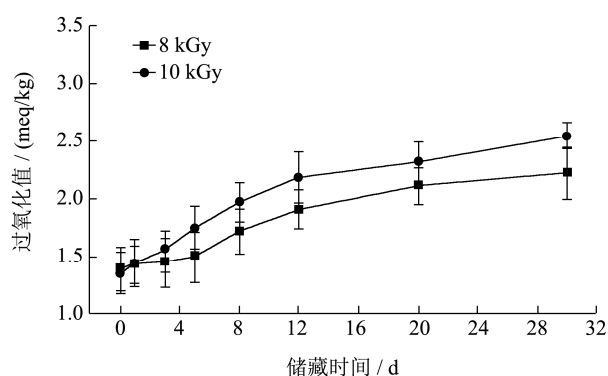


图5 加速氧化对电子束辐照破壁松花粉过氧化值的影响

Fig.5 Effects of accelerated oxidation on peroxide value of wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation

过氧化值是判断油脂新鲜程度和质量等级的重要指标,可以反映油脂的自动氧化程度。电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程中过氧化值的变化如图5所示。由图5可知,随着储藏时间的延长,辐照破壁松花粉的过氧化值不断升高,表明破壁使松花粉中脂质等内容物与空气接触发生了氧化反应和其他化学变化,且辐照剂量越高作用效果越显著。储藏前期(5 d内),破壁松花粉的过氧化值增幅较小($p>0.05$),说明其在短期储藏过程中较稳定;5 d后,破壁松花粉的过氧化值从 1.5 meq/kg 迅速增至 2.6 meq/kg($p<0.05$),且在之后 10 d 的储藏过程中,各剂量组破壁松花粉的过氧化值均处在较高水平。此外,8 kGy 和 10 kGy 剂量组破壁松花粉的过氧化值在储藏前 8 d 就产生显著差异,并在之后的储藏中保持这种差距,说明辐照剂量与破壁松花粉中油脂过氧化值之间存在明显的效应关系。Mexis 等^[24]对核桃和杏仁的辐照研究中发现,辐照剂量从 1 kGy 增至 7 kGy,过氧化值会显著提升。

这与我们对辐照破壁松花粉的研究结果相似。

2.9 电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程中挥发性成分的变化

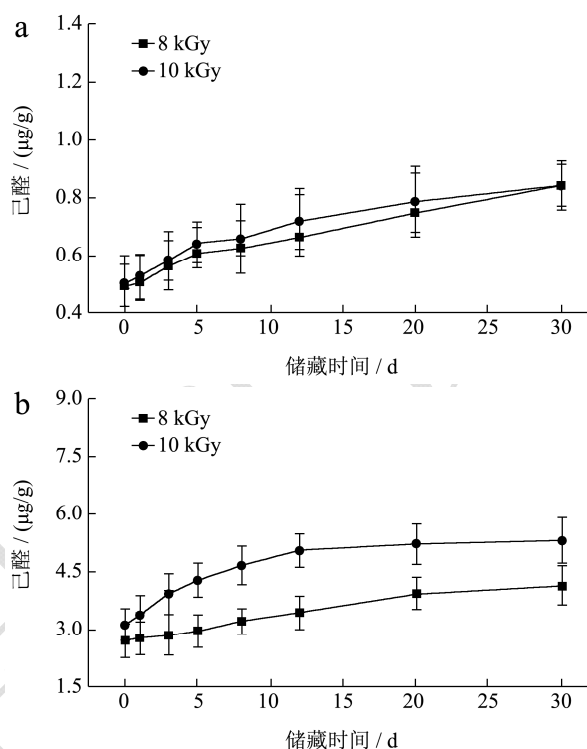


图6 电子束辐照破壁花粉储藏过程己醛和己酸含量变化

Fig.6 The changes of hexanal and caproic acids in the wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation during storage

异味的主要成分为小分子酮醛酸等挥发性成分,是脂质氧化的二级氧化产物,检测其含量变化不仅能反应松花粉的质量变化,也可为异味设定阈值提供数据支持。采用 SPEM-GC-MS 分析电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程中储藏 30 d 后挥发性成分的变化,结果见表5。由表5可知,从 8 kGy 和 10 kGy 剂量组破壁松花粉对照组和 30 d 储藏组中共分别鉴定出 19、19、18 和 21 种挥发性化合物,各组样品挥发性成分的种类和相对含量均以醛类、酸类和醇类物质为主。在加速氧化过程中,8 kGy 和 10 kGy 剂量组破壁松花粉中醛类、酸类和醇类物质的含量均有所增加,且以 10 kGy 剂量组增加最为显著($p<0.05$)。此外,与 8 kGy 剂量组破壁松花粉相比,10 kGy 剂量组产生了 2-壬酮和 γ -丁内酯两种新的挥发性成分。由此可见,加速氧化过程能促进破壁松花粉中挥发性物质的形成,且电子束辐照剂量越高越有利于挥发性物质的产生。

表 5 电子束辐照破壁松花粉在加速氧化过程中挥发性成分的变化 (μg/g)

Table 5 Changes of volatile components in the wall-breaking pine pollen by electron beam irradiation during accelerated oxidation

挥发物名称		辐照剂量/kGy			
		8		10	
		0 d	30 d	0 d	30 d
醛类	己醛	0.50±0.01 ^b	0.84±0.02 ^a	0.49±0.01 ^b	0.83±0.02 ^a
	戊醛	0.17±0.05	0.52±0.04	0.24±0.03	0.44±0.05
	壬醛	0.47±0.03 ^d	0.94±0.02 ^c	1.24±0.11 ^b	1.63±0.13 ^a
	庚醛	0.12±0.01	0.17±0.03	0.23±0.05	0.39±0.03
	辛醛	0.75±0.03	1.16±0.12	0.96±0.06	1.28±0.17
	癸醛	0.07±0.04	0.08±0.01	0.13±0.02	0.22±0.06
	苯甲醛	0.61±0.04 ^d	1.73±0.01 ^b	1.30±0.02 ^c	2.23±0.06 ^a
酸类	乙酸	1.68±0.09 ^d	4.08±0.31 ^b	2.10±0.23 ^c	4.50±0.40 ^a
	己酸	2.68±0.09 ^d	4.15±0.31 ^b	3.10±0.23 ^c	5.26±0.40 ^a
	戊酸	0.85±0.07	1.38±0.03	0.94±0.02	3.16±0.18
	辛酸	0.81±0.01	1.27±0.05	1.30±0.01	2.79±0.05
	庚酸	0.84±0.02	1.61±0.11	1.31±0.02	4.27±0.26
	壬酸	0.14±0.02 ^c	2.46±0.11 ^b	0.31±0.02 ^c	3.27±0.36 ^a
酮类	2-壬酮	nd	nd	nd	0.05±0.02
醇类	正己醇	1.00±0.08	1.32±0.03	0.67±0.02	1.55±0.14
	正壬醇	0.50±0.01	0.84±0.02	0.49±0.01	0.83±0.02
	正戊醇	0.60±0.12	1.18±0.01	0.97±0.12	2.68±0.17
	正辛醇	0.61±0.04	1.79±0.14	1.21±0.08	2.68±0.11
	1-辛烯-3-醇	0.89±0.04	1.40±0.01	1.18±0.10	1.98±0.26
2-正戊基呋喃		0.73±0.05	1.16±0.08	nd	1.43±0.05
γ-丁内酯		nd	nd	nd	0.14±0.02
总挥发性物质		14.02±0.82 ^d	28.08±1.25 ^b	18.17±1.35 ^c	41.56±1.18 ^a

注：“nd”表示未检出。同一行中标有不同字母表示组间显著性差异 ($p<0.05$)，标有相同字母表示组间差异不显著 ($p>0.05$)。

己醛和己酸已被证实是松花粉脂质氧化过程中的代表性挥发性产物，可在一定程度上表征异味的强弱^[25]。因此，后续试验选取了己醛和己酸为挥发性物质代表，对其在加速氧化过程中的含量变化进行检测，以进一步表征异味产生情况。由图 6 可知，电子束辐照破壁松花粉在储藏期间，己醛含量在 0.49~0.84 μg/g 之间变化，己酸含量在 2.68~5.26 μg/g 范围内变化，且随着储藏时间的延长，己醛和己酸含量不断增加；此外，8 kGy 剂量组破壁松花粉在储藏期间产生的己醛和己酸含量均低于 10 kGy 剂量组破壁松花粉，说明高剂量的电子束会促进脂质氧化，这与张鸿飞等^[26]得出研究结果一致。本研究团队在前期的研究中发现 UHT 灭菌破壁松花粉在储藏期间己醛和己酸含量分别为 3~12 μg/g 和 6.25~14.26 μg/g，相比之下，电子束辐照破壁松花粉的己醛和己酸含量明显降低，说明电子束辐照对破壁松花粉储藏过程的异味产生有一定抑制作用，可有效抑制脂质的氧化，提高其储藏稳定性。

3 结论

电子束辐照能有效控制松花粉中的微生物含量，且辐照剂量越大，杀菌效果越显著。菌落总数、霉菌酵母数和大肠菌群的 D₁₀ 值分别为 2.20、1.95 和 1.84 kGy；辐照剂量大于 4 kGy 时，松花粉中脂肪酶活力、类胡萝卜素含量和游离脂肪酸含量显著降低，过氧化值略有升高但总体仍处于较低水平，当辐照剂量为 8 kGy 时，脂肪酶灭活率为 53.52%，类胡萝卜素保留率为 60.81%，游离脂肪酸含量为 1.38 mg/kg，过氧化值为 0.46 meq/kg；低于 8 kGy 剂量辐照对松花粉的基本营养成分及氨基酸含量影响不大，但辐照剂量高于 8 kGy 后，对松花粉中氨基酸有一定的降解作用；此外，在加速氧化过程中，8 kGy 辐照破壁松花粉色泽无明显变化，过氧化值、己醛和己酸含量略有增加，但增幅较小，具有良好的储藏稳定性。表明 8 kGy 电子束辐照是一种有效的松花粉灭菌方式。

参考文献

- [1] 沈德强,陈立勇.松花粉的保健功效及其临床应用研究进展[J].中国民族民间医药, 2017, 6: 55-60
SHEN De-qiang, CHEN Li-yong. Advances in study on healthy benefits of pine pollen and their clinical application [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2017, 6: 55-60
- [2] 罗砚曦,蔡华芳,钟宇森.松花粉的药用功效研究进展[J].中国药房, 2009, 12: 957-958
LUO Yan-xi, CAI Hua-fang, ZHONG Ning-seng. Research progress on medicinal effect of pine pollen [J]. China Dispensary, 2009, 12: 957-958
- [3] 王晖,耿越,徐宏楠,等.松花粉中非营养生物活性物质研究[J].食品研究与开发, 2016, 21: 208-211
WANG Hui, GENG Yue, XU Hong-nan, et al. The non-nutritional bioactive substances in pine pollen [J]. Food Research and Development, 2016, 21: 208-211
- [4] 侯晨晨,沈蓉,刘迪,等.松花粉药理作用及临床应用研究进展[J].中国中医药信息杂志, 2017, 9: 124-127
HOU Chen-chen, SHEN Rong, LIU Di, et al. Research progress in pharmacological effects and clinical application of pine pollen [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2017, 9: 124-127
- [5] 赖桂萍,杨继红,詹小涛.松花粉药理作用及临床应用研究概况[J].中国实用医药, 2011, 28: 248-251
LAI Gui-ping, YANG Ji-hong, ZHAN Xiao-tao. Pharmacological effect and clinical application of pine pollen [J]. Chinese Practical Medicine, 2011, 28: 248-251
- [6] 李燕梅.松花粉破壁方法的研究进展[J].农业工程技术综合版, 2016, 10: 65-66
LI Yan-mei. Research progress on wall-breaking methods of pine pollen [J]. Agricultural Engineering Technology, 2016, 10: 65-66
- [7] 雷启义,邹凯,周江菊,等.脂肪酶活力测定方法及其比较[J].凯里学院学报, 2011, 6: 43-45
LEI Qi-yi, ZOU Kai, ZHOU Jiang-ju, et al. The determination method of activity of lipase and its comparison [J]. Journal of Kaili University, 2011, 6: 43-45
- [8] Kwon D Y, Rhee J S. A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1986, 63(1): 89-92
- [9] 李燕杰,黄佳佳,东方,等.电子束辐照对三种香辛料的杀菌效果及香气成分的影响[J].食品工业科技, 2017, 38(16): 25-29
LI Yan-jie, HUANG Jia-jia, DONG Fang, et al. Effects of electron beam irradiation on sterilization and aroma components of three spices [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(16): 25-29
- [10] 李湘,郭东权,陈云堂,等.电子束辐照对大米营养和蒸煮品质的影响[J].农业工程学报, 2012, 28(15): 251-257
LI Xiang, GUO Dong-quan, CHEN Yun-tang, et al. Effect of electron beam irradiation on nutritive and cooking qualities of rice [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(15): 251-257
- [11] 颜伟强,岳玲,孔秋莲,等.电子束辐照对蛋黄粉品质及微生物的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(1): 211-217
YAN Wei-qiang, YUE Ling, KONG Qiu-lian, et al. Effect of electron beam on quality and microorganism of egg yolk [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2016, 44(1): 211-217
- [12] 李姣,赵谋明,吴军. ^{60}Co - γ 射线对孜然粉和麻花椒粉辐照杀菌效果的研究[J].食品工业科技, 2009, 30(7): 136-139
LI Jiao, ZHAO Mou-ming, WU Jun. Study on sterilization effects of gamma irradiation on cumin powder and chinese prickly ash powder [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(7): 136-139
- [13] Lin W C, Chien J T, Chen B H. Determination of carotenoids in spear shrimp shells (*Parapenaeopsis hardwickii*) by liquid chromatography [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(13): 5144-5149
- [14] Kwon D Y, Rhee J S. A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1986, 63(1): 89-92
- [15] Rose D J, Pike O A. A simple method to measure lipase activity in wheat and wheat bran as an estimation of storage quality [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2006, 83(5): 415-419
- [16] 黄小波,马美湖,傅鹏,等.液态蛋全蛋液辐照冷杀菌技术的研究[J].食品科学, 2008, 29(3): 216-219
HUANG Xiao-bo, MA Mei-hu, FU Peng, et al. Study on irradiation sterilization technology for liquid whole egg [J]. Food Science, 2008, 29(3): 216-219
- [17] 陈志军,岳玲,孔秋莲,等.两种辐照方式对灵芝孢子粉灭菌效果及品质影响的比较[J].食品与生物技术学报, 2015, 34(11): 1212-1218
CHEN Zhi-jun, YUE Ling, KONG Qiu-lian, et al.

- Comparative study on sterilization effects and quality of *ganoderma lucidum* spore powder by two irradiated modes [J]. *Journal of Food and Biotechnology*, 2015, 34(11): 1212-1218
- [18] Lee E J, Ramakrishnan S R, Kim G R, Kwon J H. Storage stability of soluble pigments, chlorophylls, and carotenoids in electron-beam-irradiated edible lavers (*Porphyra umbilicalis*) with impact on microbial safety and sensory characteristics [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 99: 3860-3870
- [19] Kwon C W, Park K M, Choi S J, et al. A reliable and reproducible method for the lipase assay in an AOT/isooctane reversed micellar system: modification of the copper-soap colorimetric method [J]. *Food Chemistry*, 2015, 182: 236-241
- [20] 杨丹, 罗小虎, 齐丽君, 等. 电子束辐照对稻米储藏特性及品质的影响[J]. *食品与机械*, 2017, 33(2): 106-110
- YANG Dan, LUO Xiao-hu, QI Li-jun, et al. Effect of electron beam irradiation on storage quality and physicochemical properties of rice [J]. *Food and Machinery*, 2017, 33(2): 106-110
- [21] Dominguez R, Gomez M, Fonseca S, et al. Influence of thermal treatment on formation of volatile compounds, cooking loss and lipid oxidation in foal meat [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 58(2): 439-445
- [22] Jung K, Song B S, Kim M J, et al. Effect of X-ray, gamma ray, and electron beam irradiation on the hygienic and physicochemical qualities of red pepper powder [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 63(2): 846-851
- [23] 赵霖, 鲍善芬. 松花粉破壁前后显微形态和营养成分的研究 [J]. *营养学报*, 2001, 23(2): 153-156
- ZHAO Lin, BAO Shan-fen. Study on micromorphology and nutritional composition of pine pollen before and after wall-breaking [J]. *Journal of Nutrition*, 2001, 23 (2): 153-156
- [24] Mexis S F, Badeka A V, Chouliara E, et al. Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of raw unpeeled almond kernels (*Prunus dulcis*) [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2009, 10(1): 87-92
- [25] Shan Y, Li J W, Liu Y F, et al. Lipid oxidation stability of ultra-high-temperature short-time sterilization sporoderm-broken pine pollen (UHT-PP) and ^{60}Co -irradiation sterilization sporoderm-broken pine pollen (^{60}Co -PP) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(2): 675-684
- [26] 张鸿飞. 电子束辐照结合微波加热对鱼糜保鲜及品质的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2016
- ZHANG Hong-fei. Effect of electron beam irradiation combined with microwave heating on preservation and quality of surimi [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016

(上接第 19 页)

- [12] 马文俊, 梁英. A 型肉毒毒素对膝骨性关节炎大鼠模型镇痛效果及机制的实验研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(6): 649-653
- MA Wen-jun, LIANG Ying. An experimental research on the analgesic effect and underlying mechanism of BTX-A for rat knee osteoarthritis [J]. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2017, 32(6): 649-653
- [13] 周志军. 血管性血友病因子抗原含量 ELISA 检测方法的建立验证及应用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2017, 30(10): 77-82
- ZHOU Zhi-jun. Establishment, verification and application of ELISA method for detection of von Willebrand factor antigen content [J]. *Chinese Journal of Biological products*, 2017, 30(10): 77-82
- [14] 储磊, 朱奋勇, 周文俊, 等. 黄芩素通过抑制核转录因子- κB 活性减轻小鼠肠缺血/再灌注致急性肺损伤[J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29(3): 228-232
- CHU Lei, ZHU Fen-yong, ZHOU Wen-jun, et al. Effect of baicalin on acute lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in mice by inhibiting nuclear factor- κB activity [J]. *Chinese Critically Ill First Aid Medicine*, 2017, 29(3): 228-232
- [15] 叶大林, 谢平金, 魏合伟, 等. 补肾活血方调控膝骨性关节炎大鼠软骨下骨的作用机制研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(12): 1606-1611
- YE Da-lin, XIE Ping-jin, WEI He-wei, et al. Study on the mechanism of nourishing kidney and promoting blood flow decoction on the subchondral bone of rats with knee osteoarthritis [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2018, 24(12): 1606-1611