

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.15.002

模拟破坏苦杏仁和桃仁品质及酶活性变化研究

林史珍¹, 杜方敏², 林良静², 高向阳^{2,3△}

(1. 华南农业大学医院药剂科, 广东 广州 510642; 2. 华南农业大学食品学院·广东省功能食品活性物重点实验室, 广东 广州 510642; 3. 华农<潮州>食品研究院有限公司, 广东 潮州 521000)

摘要:目的 探讨贮存过程中苦杏仁和桃仁品质的变化规律。方法 在温度为35℃、相对湿度为80%的环境中放置1,3,4 d,测定油脂含量、酸价、过氧化值、 β -葡萄糖苷酶和多酚氧化酶活性。结果 放置4 d后,苦杏仁、桃仁油脂含量分别从原来的59%降至47%和37%;油脂氧化程度不断升高;苦杏仁和桃仁的苦杏仁苷含量分别从67,58 mg/g降至55,55 mg/g; β -葡萄糖苷酶和多酚氧化酶活力均呈上升趋势。结论 模拟苦杏仁和桃仁实际贮存条件的加速破坏试验,可为探讨其品质的变化规律和变质预测提供参考,从控制酶的活性来保障苦杏仁、桃仁和其他富油果仁贮存品质值得进一步研究。

关键词:苦杏仁;桃仁;品质;高温高湿加速破坏;酶活性

中图分类号:R932;R284

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)15-0005-04

Changes of Quality and Enzyme Activity in *Armeniacae Semen Amarum* and *Persicae Semen* Under Simulated Damage Conditions

LIN Shizhen¹, DU Fangmin², LIN Liangjing², GAO Xiangyang^{2,3}

(1. Department of Pharmacy, South China Agricultural University Community Hospital, Guangzhou, Guangdong, China 510642; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong, China 510642; 3. Hua Nong <Chaozhou> Food Research Institute Co., Ltd., Chaozhou, Guangdong, China 521000)

Abstract: Objective To investigate the quality changes law of *Armeniacae Semen Amarum* and *Persicae Semen* during the process of storage. **Methods** The lipid content, acid value, peroxide value, β -glucosidase and polyphenol oxidase activity were determined after 1, 3 and 4 d of storage at 35 °C and 80% relative humidity. **Results** After 4 d of storage, the oil content of *Armeniacae Semen Amarum* and *Persicae Semen* decreased from 59% to 47% and 37% respectively, the degree of oil oxidation increased continuously. The content of amygdalin decreased from 67 mg/g to 55 mg/g in *Armeniacae Semen Amarum*, and from 58 mg/g to 55 mg/g in *Persicae Semen*. The activity of β -glucosidase and polyphenol oxidase both showed an upward trend. **Conclusion** The accelerated damage test simulated

第一作者:林史珍,女,大学本科,主管药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)linsz@scau.edu.cn。

△通信作者:高向阳,女,苗族,博士研究生,教授,研究方向为功能食品天然活性物,(电子信箱)gaoxiangyang@scau.edu.cn。

- Journal of Cancer Prevention, 2014, 19(3): 170-178.
- [40] IBANEZ C, VALDES A, GARCIA-CANAS V, et al. Global Foodomics strategy to investigate the health benefits of dietary constituents[J]. Journal of chromatography A, 2012, 1248: 139-153.
- [41] BARON JA, COLE BF, MOTT L, et al. Neoplastic and antineoplastic effects of beta-carotene on colorectal adenoma recurrence: results of a randomized trial[J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(10): 717-722.
- [42] GREENBERG ER, BARON JA, TOSTESON TD, et al. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma[J]. N Engl J Med, 1994, 331(3): 141-147.
- [43] MOONEY LA, MADSEN AM, TANG D, et al. Antioxidant vitamin supplementation reduces benzo(a)pyrene-DNA adducts and potential cancer risk in female smokers[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2005, 14(1): 237-242.
- [44] YI W, WETZSTEIN HY. Anti-tumorigenic activity of five culinary and medicinal herbs grown under greenhouse conditions and their combination effects[J]. J Sci Food Agric, 2011, 91(10): 1849-1854.
- [45] DILAS S, KNEZ Z, CETOJEVI-SIMIN D, et al. In vitro antioxidant and antiproliferative activity of three rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract formulations[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47: 2052-2062.
- [46] VICENTE G, MOLINA S, GONZALEZ-VALLINAS M, et al. Supercritical rosemary extracts, their antioxidant activity and effect on hepatic tumor progression[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2013, 79: 101-108.
- [47] HUANG MT, HO CT, WANG ZY, et al. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid[J]. Cancer Res, 1994, 54(3): 701-708.
- [48] HUANG MC, CHEN HY, HUANG HC, et al. C2GnT-M is downregulated in colorectal cancer and its re-expression causes growth inhibition of colon cancer cells[J]. Oncogene, 2006, 25(23): 3267-3276.
- [49] PLOUZEC CA, CIOLINO HP, CLARKE R, et al. Inhibition of P-glycoprotein activity and reversal of multidrug resistance in vitro by rosemary extract[J]. Eur J Cancer, 1999, 35(10): 1541-1545.

(收稿日期:2019-01-08)

the actual storage conditions of *Armeniaca Semen Amarum* and *Persicae Semen* can provide reference for investigating the quality change law and the deterioration prediction of *Armeniaca Semen Amarum* and *Persicae Semen*. It is worthwhile to further study how to control the activity of enzymes to ensure the storage quality of *Armeniaca Semen Amarum* and *Persicae Semen* and other oil-rich kernels.

Key words: *Armeniaca Semen Amarum*; *Persicae Semen*; quality; high temperature and high humidity accelerated damage; activity of enzyme

苦杏仁和桃仁皆是常用中药,始载于《神农本草经》,为蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim 和植物山桃 *Prunus davidiana* Carr. Franch 的干燥成熟种子^[1-2],具有镇咳平喘、润肠通便、抗肿瘤和抗凝血等功效^[3-6]。但因苦杏仁和桃仁是富油果仁,贮存过程中易走油,致使不饱和脂肪酸和苦杏仁苷含量减少,严重影响苦杏仁和桃仁的品质。早期采用经典恒温法、初匀速法等加速试验模拟中药变质规律^[7-10],但效果不理想。拱健婷^[11]基于留样和加速试验结合感官、气味建立了相对有效的加速模型。阎敏等^[3]利用正交设计法考察了贮存条件对苦杏仁质量的影响,并得出苦杏仁最佳贮存条件。颜永刚^[12]对桃仁的品种、品质和药效之间进行了相关性分析,初步建立了评价桃仁质量的数学模型。张清安等^[13]考察苦杏仁多酚氧化酶(PPO)粗提物的理化特性得出了苦杏仁中 PPO 最适温度为 40℃。赵丽莹等^[14]建立了苦杏仁中 β -葡萄糖苷酶活性测定最优条件。杏仁中含有酚酸类物质和多酚氧化酶,在一定条件下会发生氧化褐变,从而影响杏仁的营养和经济价值^[13]。本研究中探讨了苦杏仁和桃仁贮存过程中品质与酶活性变化的相互关系,现报道如下。

1. 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:FUSE 15A 型种子老化箱(浙江托普仪器公司);LC-15C 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);UV5100B 型紫外分光光度计(上海元析仪器公司);FA20048 型电子天平(上海佑科仪器公司);114 摇摆式高速中药粉碎机(浙江瑞安永历制药公司)。

试剂:苦杏仁苷对照品(大连美伦生物技术有限公司,纯度大于 98%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯;苦杏仁、桃仁(康美药业股份有限公司,批号分别为 180601391,180402021),经广东药科大学中药标本馆主任刘基柱鉴定为正品。

1.2 方法

1.2.1 苦杏仁苷含量测定方法

溶液制备:取苦杏仁、桃仁样品适量,粉碎,过 2 号筛,分别称取苦杏仁粉末化各 0.25 g 置锥形瓶中,加入甲醇 25 mL,称定质量,超声 30 min,甲醇补足减失的质量,取滤液 5 mL,加 50% 甲醇定容至 25 mL,取滤液,0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。取适量苦杏仁苷对照品,精密称定,加甲醇配制成质量浓度为 300 mg/L 的母液,即得对照品溶液。

色谱条件:色谱柱为 Phenomenex - C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);A 泵-水、B 泵-乙腈,梯度洗脱(洗脱程序为 0~8 min 时 10%~26% B 泵,8~15 min 时 26%~28%,15~18 min 时 28%);检测波长 207 nm;柱温 30℃;进样量 20 μL 。

1.2.2 指标测定

油脂含量测定:参照 2015 年版《中国药典(一部)》(通则 0713)方法。

酸价测定:参照 2015 年版《中国药典(一部)》(通则 2303)方法。

过氧化值测定:参照 2015 年版《中国药典(一部)》(通则 2303)方法。

多酚氧化酶活性测定:参考 LS/T6124-2017。

β -葡萄糖苷酶活性测定^[14]:称取苦杏仁和桃仁各 0.5 g, PVP 0.5 g, 精密称定,加入适量 pH 5.0 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液,冷冻离心,取上清液,得粗酶液。在柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液中,加入粗酶液、50 mmol/L 硝基苯- β -D-葡萄糖苷,于 pH 5.0、50℃ 反应 30 min。加入 1 mol/L 碳酸钠溶液终止反应,在 400 nm 波长下测定吸光度值。酶活单位定义为该反应条件下,每 g 样品每分钟吸光度值变化 0.001 为 1 个 β -葡萄糖苷酶活力单位,以 U 表示。

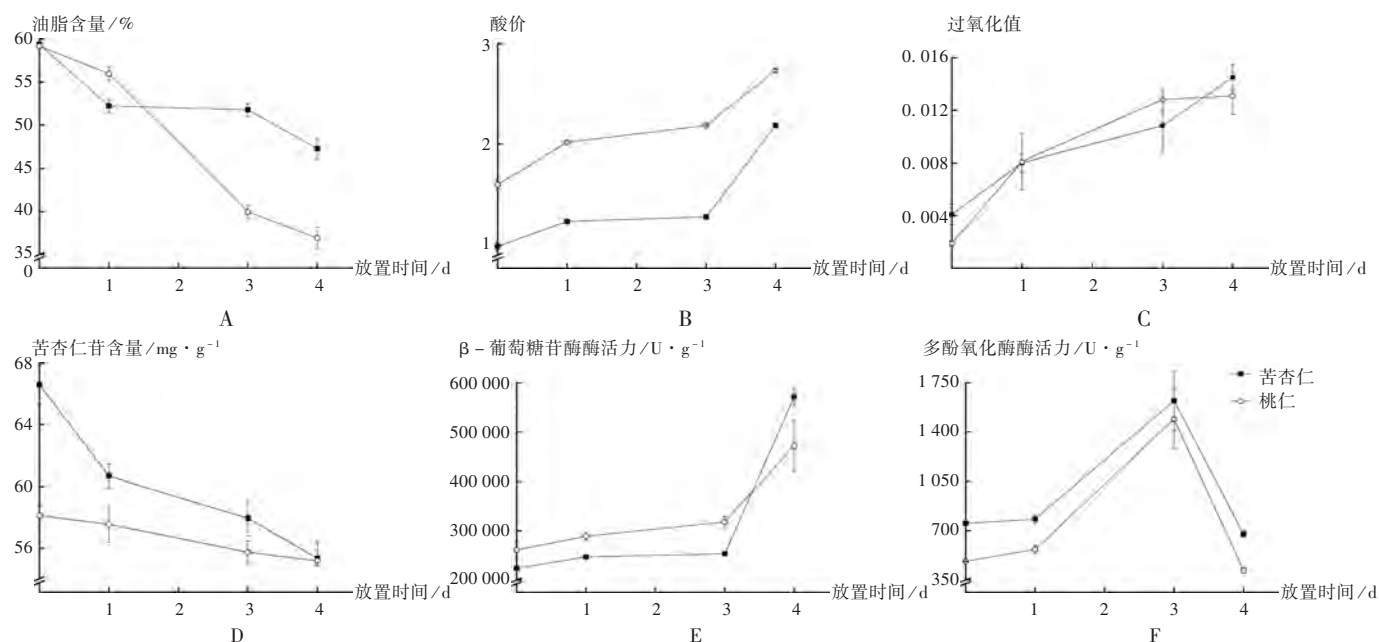
1.2.3 统计学处理

试验数据均取 3 次测定结果的平均值,并采用 SPSS 22.0 统计学软件处理。

2 结果

2.1 高温高湿加速破坏

苦杏仁、桃仁的油脂含量和氧化酸败程度:将苦杏仁、桃仁样品放置在 35℃、相对湿度 80% 的高温高湿条件下,以样品出现微生物菌丝、呈现长菌状态停止取样,监测其油脂含量、酸价、过氧化值变化,详见图 1 A 至图 1 C。样品在温度 35℃、相对湿度 80% 条件下放置 5 d 时开始长菌,分别取放置 1, 3, 4 d 的苦杏仁和桃仁样品,以未处理样品为对照。在此高温高湿条件下,随着放置时间的延长,苦杏仁和桃仁中油脂含量不断降低,苦杏仁样品从 59% 降至 47%,桃仁样品从 59% 降至 37%;酸价和过氧化值则不断升高。这是因为温度越高,湿度越大,溶解在水中的氧气增多,油脂发生酸败的情况增大,导致油脂过氧化值上升,且湿度大,脂肪发生水解,脂肪酸含量上升,导致酸价上升。其中桃仁的油脂含量比苦杏仁下降得多,酸价整体也比苦杏仁高。说明桃



A. 油脂含量 B. 酸价 C. 过氧化值 D. 苦杏仁苷含量 E. β -葡萄糖苷酶活性 F. 多酚氧化酶活性

图1 苦杏仁和桃仁指标测定结果

仁较于苦杏仁“走油”现象和油脂氧化程度要明显。

苦杏仁苷含量变化:苦杏仁苷含量是苦杏仁、桃仁品质的重要指标,故监测苦杏仁、桃仁在高温高湿条件下苦杏仁苷含量的变化,详见图1D。可见,随着处理时间的延长,苦杏仁、桃仁的苦杏仁苷含量不断下降,前者苦杏仁苷从67 mg/g降至55 mg/g,后者苦杏仁苷含量从58 mg/g降至55 mg/g。

2.2 β -葡萄糖苷酶和多酚氧化酶的酶活力变化

由图1E和图1F可知,随着贮存时间的延长,苦杏仁、桃仁主要活性物质苦杏仁苷含量呈现下降趋势,随之而来的是发生霉变和褐变。因 β -葡萄糖苷酶可以将苦杏仁苷分解成苯甲醛和氢氰酸等物质^[15],使其含量下降;多酚氧化酶为酶促褐变的主要酶源^[16]。故监测与之相关的2种酶活性变化,可发现苦杏仁、桃仁品质变化与酶活性之间的联系。

在高温高湿条件下,随着放置时间的延长,苦杏仁、桃仁 β -葡萄糖苷酶活性呈现上升趋势,前3d缓慢上升,4d急剧上升,分别达571 400 U/g和472 131 U/g,与图1D结果相符;多酚氧化酶活性也是先升高后下降,放置3d达到最高值,分别为1 623 U/g和1 491 U/g,随后有下降趋势。第4天,苦杏仁和桃仁样品开始出现白色菌丝,且2种酶的酶活性在第4天均出现了明显变化,可能与样品内部微生物活动有关。说明在高温高湿环境下 β -葡萄糖苷酶和多酚氧化酶的活力均上升明显。苦杏仁、桃仁2个样品之间的2种酶变化趋势一致,无明显差异。

3 讨论

在高温高湿加速破坏条件下,随时间的延长,苦杏

仁、桃仁所含油脂含量呈下降趋势,其酸价和过氧化值呈上升趋势,其功能活性物质苦杏仁苷含量分别下降了17.9%和5.2%;苦杏仁和桃仁中 β -葡萄糖苷酶和多酚氧化酶活力均有明显上升趋势,其中 β -葡萄糖苷酶在第4天酶活力分别达571 400 U/g和472 131 U/g;多酚氧化酶活性放置第3天分别达1 623 U/g和1 491 U/g。表明 β -葡萄糖苷酶活性升高是使苦杏仁苷含量下降,以致其药效下降甚至丧失的主要原因;多酚氧化酶是导致苦杏仁和桃仁褐变的主要原因。2种酶活性的变化与在高温高湿条件下中药内部微生物活动有关。研究结果表明,在高温高湿条件下,苦杏仁和桃仁品质指标下降,与之相关的2种酶的活性明显上升,反映苦杏仁、桃仁在贮存过程中品质变化和酶活性的变化规律,根据测定酶活性判断苦杏仁、桃仁品质变化情况,为苦杏仁和桃仁在实际贮存过程中通过酶活性预测品质变化提供了参考依据。从控制酶的活性来保障苦杏仁、桃仁和其他富油果仁贮存品质,值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 颜永刚,裴瑾,杨新杰,等. 中药桃仁的品种、品质与药效相关性分析研究[J]. 成都医学院学报,2011,6(4):296-298.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:201.
- [3] 阎敏,廖建萍. 贮存条件对苦杏仁质量的影响[J]. 临床药理学,2009,20(1):72-74.
- [4] 赵素莲,刘桂芬,戴兆雄,等. 苦杏仁甙对小鼠免疫功能的影响[J]. 山西医药杂志,1993,22(3):166.
- [5] 赵素莲,戴兆雄,李春华. 苦杏仁甙对小鼠脾脏NK细胞活性的影响[J]. 山西医科大学学报,1993,24(1):14-16.