

海藻油高效复合抗氧化剂的筛选及稳定性研究

张桂雨^{1,2}, 徐维盛², 刘静^{2,*}, 刘元法¹, 王兴国¹

(1.江南大学食品学院, 江苏无锡 214122; 2.北京市营养源研究所, 北京 100069)

摘要:为筛选适宜的海藻油高效复合抗氧化剂,以过氧化值(POV)和酸价(AV)为指标,通过 $L_9(3^4)$ 正交实验,从鼠尾草酸、天然维生素E、L-抗坏血酸棕榈酸酯中优选海藻油复合抗氧化剂;采用加速氧化实验比较优化组和对照组海藻油的氧化稳定性。结果表明,抗氧化剂鼠尾草酸、天然维生素E、L-抗坏血酸棕榈酸酯能明显增强海藻油的氧化稳定性,影响顺序为:L-抗坏血酸棕榈酸酯>鼠尾草酸>天然维生素E,最佳抗氧化剂组合为0.7‰鼠尾草酸+0.3‰天然维生素E+0.2‰L-抗坏血酸棕榈酸酯;稳定性实验结果显示,优化抗氧化剂组合处理的海藻油样品的稳定度明显比对照组高,达到21~22d,相当于常温下21~22个月的保质期,而对照组在常温下的保质期仅为10~11个月;利用外推法计算常温(20℃)下海藻油的氧化诱导时间,优化组样品为49980h,而对照组样品仅为9850h。

关键词:海藻油, 抗氧化剂, 氧化稳定性, 氧化酸败仪法

Study on screening of efficient multiple antioxidants and stability of algal oil

ZHANG Gui-yu^{1,2}, XU Wei-sheng², LIU Jing^{2,*}, LIU Yuan-fa¹, WANG Xing-guo¹

(1.School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214122, China;

2.Beijing Research Institute for Nutrition Resources, Beijing 100069, China)

Abstract: With the POV and AV as measure indicators, three parameters including Carnosic acid, nature Vitamin E, L-ascorbyl palmitate were optimized using $L_9(3^4)$ orthogonal test for achieving maximum antioxidative effect for algal oil. And then the oxidative stability of algal oil with or without antioxidants were compared by accelerated oxidation test. A combination of 0.7‰ Carnosic acid, 0.3‰ nature Vitamin E, 0.2‰ L-ascorbyl palmitate showed most effective for antioxidation in $L_9(3^4)$ orthogonal test, the effective order of antioxidants was L-ascorbyl palmitate>Carnosic acid>nature Vitamin E. Rancimat test could determine the oxidative stability and then forecast shelf life of algal oil effectively. Stability test established that the self-life of algal oil treated with multiple antioxidants could reach 21~22 mos while the contrasted one only 10~11 mos. The oxidative induction time of algal oils with or without multiple antioxidants were 49980 and 9850h respectively which calculated through extrapolated method.

Key words: algal oil; antioxidant; oxidative stability; rancimat method

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)18-0318-04

海藻油富含多不饱和脂肪酸,尤其是二十二碳六烯酸(DHA)使其对光、热、氧等因素不稳定,极易发生氧化^[1]。油脂的自动氧化首先要经过一个诱导期,从不饱和脂肪酸的自由基反应开始,生成油脂氧化的第一级产物:过氧化物。随后是氧化期,生成第二级氧化产物:醇类和羧基化合物,在这一过程中过氧化值、氧吸收量和挥发性反应物生成量显著增加。油脂自动氧化由诱导期到氧化期之间的长短,表明

油脂抵抗自动氧化的能力,即油脂的氧化稳定性。在正常状态下,油脂自动氧化由诱导期到氧化期的时间较长,测定诱导时间费时费力。实际测定时,是在人工加速氧化的条件下测定油脂的诱导时间来表示其氧化稳定性^[2-3]。目前用于海藻油的抗氧化剂主要有:合成抗氧化剂和天然抗氧化剂。合成抗氧化剂应用广泛但其具有潜在的毒性与致癌作用,因此寻找安全、高效抗氧化剂成为人们的共识^[4-5]。迷迭香提取物鼠尾草酸是天然植物抗氧化剂,其抗氧化效果、稳定性和安全性都获得确认^[6-7];天然维生素E同时具有抗氧化和营养强化作用;L-抗坏血酸棕榈酸酯是最强脂溶性抗氧化剂之一,具有安全、高效、耐热等特点^[8]。单一抗氧化活性成分的抗氧化效果往往弱于混合物,因此应重视对抗氧化活性成分之间抗氧化协

收稿日期:2012-03-06 * 通讯联系人

作者简介:张桂雨(1986-),女,在读硕士,研究方向:功能性油脂及相关产品研发。

基金项目:科技部十二五(2012BAD33B05)。

同增效作用的研究^[9]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

海藻油 广东润科生物工程有限公司；鼠尾草酸(5%) 法国neturx公司；天然维生素E(95%)、L-抗坏血酸棕榈酸酯 荷兰DSM集团，均为食用级；脂肪酸GLC-463标样 NUCHEK-PREP公司；所用试剂除正己烷、无水甲醇、乙酸甲酯为色谱纯外，其余为分析纯。

CP324S电子分析天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司；SP-2000UV紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司；LHS-80HC恒温恒湿箱 上海一恒科学仪器有限公司；6890气相色谱仪 美国Agilent；Metrohm743脂肪氧化稳定性测试仪 瑞士万通。

1.2 实验方法

1.2.1 过氧化值(POV)测定 按GB/T 5009.37-2003规定比色法进行。

1.2.2 酸值(AV)测定 按GB/T 5538-2005规定的方法进行。

1.2.3 原料海藻油的脂肪酸组成分析 采用气相色谱法，色谱柱为CP-Sil88石英毛细管柱(0.25mm×100m)。

1.2.3.1 海藻油的甲酯化 在约2mg海藻油样品中加入1.5mL正己烷和40μL乙酸甲酯振荡。再加入100μL NaOCH₃/CH₃OH，在室温下甲酯化20min，冷冻10min后加入60μL草酸，离心弃去沉淀，溶液通过无水硫酸钠吸附其中的水分，滤液备用。

1.2.3.2 气相色谱分析 选择氢火焰离子化检测器温度为250℃，进样口温度250℃；程序升温过程为：在45℃下保持3min，然后以12℃/min的升温速率将温度升至175℃，在此温度下保持27min后再以4℃/min的升温速率将温度升至215℃，保持35min，载气N₂。

1.2.4 优选海藻油抗氧化剂方案 根据正交实验设计原理，选取迷迭香提取物鼠尾草酸、天然维生素E、L-抗坏血酸棕榈酸酯含量三个因素为影响因素，以过氧化值、酸价为实验指标，采用三因素三水平设计正交实验方案(表1)。每个因素水平值的设计参考文献资料和国家食品添加剂卫生标准GB 2760-2011中对各因素在油脂中使用限量的规定。

表1 L₉(3⁴)正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of L₉(3⁴) orthogonal test

水平	因素		
	A 鼠尾草酸(%)	B 天然维生素E(%)	C L-抗坏血酸棕榈酸酯(%)
1	0.1	0.1	0.05
2	0.3	0.2	0.125
3	0.7	0.3	0.2

1.2.5 稳定性实验

1.2.5.1 稳定度的测定 GB/T 2716-2005规定食用植物油POV=0.25g/kg(相当于19.7meq/kg)，AV=3mg KOH/g(植物原油=4mg KOH/g)，采用加速氧化实验以POV和AV都符合GB 2716-2005规定的时间来确定藻油的稳定度。根据经验，加速氧化实验法的1d

相当于常温下1个月的货架寿命，由(63±1)℃加速氧化的稳定度可以确定常温下海藻油的货架期。添加优化的抗氧化剂组合(0.3‰鼠尾草酸、0.3‰天然维生素E、0.2‰L-抗坏血酸棕榈酸酯)于海藻油中，置于(63±1)℃的数显恒温恒湿箱中加速氧化，定期取样测定POV、AV直至超过GB/T 2716-2005中指标的含量为止，同时作空白对照，即将原料油置于相同条件下，并定期取样检测。

1.2.5.2 氧化诱导时间的测定 油脂的氧化诱导时间由脂肪氧化稳定性测试仪测定，在本实验中将约3g样品置于样品管中，选择气体流速为20L/h，在60、70、80、90℃下分别测定添加优化的抗氧化剂组合(0.3‰鼠尾草酸、0.3‰天然维生素E、0.2‰L-抗坏血酸棕榈酸酯)的海藻油的氧化诱导时间，同时做空白对照，最后利用外推法对t(氧化诱导时间)和T(目标温度)进行曲线回归拟合，推算出目标温度20℃下优化组和对照组海藻油的氧化诱导时间，从而可以预测海藻油的货架期。

2 结果与分析

2.1 海藻油的脂肪酸组成分析

按照1.2.3方法进行原料海藻油的脂肪酸组成分析，结果见表2。由实验结果可知，藻油中的脂肪酸由饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸组成，不饱和脂肪酸含量高达53.9%，其中二十二碳六烯酸(DHA)含量达到42.7%，所以海藻油极易发生氧化使其生理功能丧失。

表2 海藻油的脂肪酸组成成分

Table 2 Fatty acid composition of algal oil

脂肪酸	含量(%)
月桂酸(C12:0)	0.2
肉豆蔻酸(C14:0)	4.2
棕榈酸(C16:0)	30.9
硬脂酸(C18:0)	1.2
亚麻油酸*	1.0
二高γ-亚麻酸*	0.2
花生四烯酸*	0.1
二十碳五烯酸*	0.6
二十二碳五烯酸*	9.1
二十二碳六烯酸*	42.7
亚麻酸*	0.2

注：*为不饱和脂肪酸。

2.2 优选海藻油抗氧化剂正交实验结果与分析

2.2.1 极差分析 按1.2.4海藻油抗氧化剂优选方案进行正交实验，结果见表3和表4。由极差大小可知：

表3 正交实验结果

Table 3 Results of L₉(3⁴) orthogonal test

实验号	A	B	C	空列	POV(meq/kg)	AV(mg KOH/g)
1	1	1	1	1	13.52	3.35
2	1	2	2	2	12.35	2.46
3	1	3	3	3	9.78	1.73
4	2	1	2	3	11.24	2.18
5	2	2	3	1	7.25	1.33
6	2	3	1	2	9.15	1.98
7	3	1	3	2	7.75	1.69
8	3	2	1	3	11.12	2.03
9	3	3	2	1	9.52	1.67

表4 正交实验极差分析

Table 4 Range analysis of orthogonal test

源	POV				AV			
	A	B	C	空列	A	B	C	空列
K ₁	35.65	32.51	33.79	30.29	7.54	7.22	7.36	6.35
K ₂	27.64	30.72	33.11	29.25	5.49	5.82	6.31	6.13
K ₃	28.39	28.45	24.78	32.14	5.39	5.38	4.75	5.94
k ₁	11.88	10.84	11.26	10.10	2.51	2.41	2.45	2.12
k ₂	9.21	10.24	11.04	9.75	1.83	1.94	2.10	2.04
k ₃	9.46	9.48	8.26	10.71	1.80	1.79	1.70	1.98
R	2.67	1.36	3.00	0.96	0.71	0.62	0.75	0.14

对POV和AV指标,各因素影响顺序为:C(L-抗坏血酸棕榈酸酯)>A(鼠尾草酸)>B(天然维生素E)。最佳组合为:A₂B₃C₃, A₃B₃C₃。

2.2.2 方差分析 运用软件SPSS 17.0对正交实验结果进行方差分析,结果见表5。方差分析结果表明:三种抗氧化剂的添加量对海藻油AV值的影响显著,对POV值的影响不显著。各因素的影响程度分析,F值可以反映各因素对实验指标的重要性,F值越大,表明对实验指标的影响越大。从方差分析表可知, $F_C > F_A > F_B$,即各因素对海藻油POV值和AV值的影响程度大小顺序为:C(L-抗坏血酸棕榈酸酯)>A(鼠尾草酸)>B(天然维生素E),这与极差分析结果相一致。

表5 正交实验方差分析

Table 5 Analysis of variance of orthogonal test

项目	指标	平方和	自由度	均方	F值	p值	显著性
校正模型	POV	32.589	6	5.432	7.605	0.121	
	AV	2.747	6	0.458	32.624	0.030	*
截距	POV	933.914	1	933.914	1307.575	0.001	**
	AV	37.700	1	37.700	2686.432	0.000	**
A	POV	13.048	2	6.524	9.134	0.099	
	AV	0.982	2	0.491	34.976	0.028	*
B	POV	2.760	2	1.380	1.932	0.341	
	AV	0.615	2	0.308	21.929	0.044	*
C	POV	16.781	2	8.391	11.748	0.078	
	AV	1.150	2	0.575	40.967	0.025	*
误差	POV	1.428	2	0.714			
	AV	0.028	2	0.014			
总计	POV	967.931	9				
	AV	40.475	9				
校正的总计	POV	34.018	8				
	AV	2.775	8				

注:**表示极显著($p < 0.01$);*表示显著($0.01 < p < 0.05$)。

2.2.3 验证实验 由于正交实验中未包含组合A₂B₃C₃和A₃B₃C₃,用该组合与对照、正交实验抗氧化效果最差的第一组(A₁B₁C₁组合)及效果较好的第9组(A₃B₃C₂)、第5组(A₂B₂C₃)、第7组(A₃B₁C₃)进行验证实验,添加A₂B₃C₃以及A₃B₃C₃抗氧化剂组合的海藻油在(63±1)℃加速氧化实验中POV和AV值的变化较为缓慢,加速氧化24d后,两组海藻油的POV值分别为6.02、5.98meq/kg;AV值分别为2.01、1.65mg KOH/g,明显低于添加其他组合抗氧化剂海藻油的POV值和AV值。验证实验结果与极差分析相吻合,表明鼠尾草酸、天然维生素E、V_C棕榈酸酯对海藻油的氧化稳定性具有显著影响,三者复合使用能明显提高海藻油的氧化

稳定性,故A₃B₃C₃组合为最优组合。

2.3 稳定性实验结果与分析

2.3.1 稳定性实验结果与分析 按1.2.5.1检测优化组及对照组海藻油样品的稳定度,结果如图1所示,随着时间的延长海藻油样品的POV值、AV值呈现增大的趋势。同一时间下,优化组海藻油样品的POV值和AV值比对照组都要低。优化组海藻油样品的POV值达到19.7meq/kg的时间在21~22d,AV值达到3mg KOH/g的时间在23~24d;而对照组POV值达到19.7meq/kg的时间在10~11d,而AV值在12~13d就达到规定值。优化抗氧化剂组合处理的海藻油样品的稳定度明显比对照组高,达到21~22d,相当于常温下21~22个月的保质期,而对照组在常温下的保质期仅为10~11个月。表明添加0.7‰鼠尾草酸、0.3‰天然维生素E、0.2‰L-抗坏血酸棕榈酸酯抗氧化剂组合显著改善了藻油的贮藏稳定性,延长了其货架期。

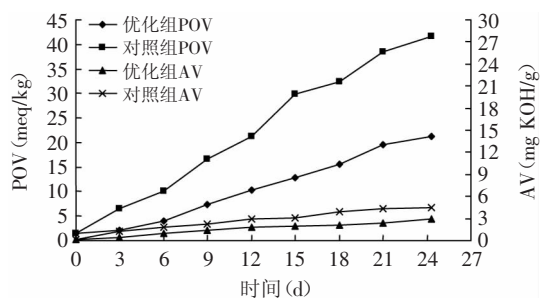


图1 (63±1)℃加速氧化实验中海藻油POV、AV值的变化

Fig.1 Changes of POV, AV on algal oil under (63±1)℃ accelerated oxidation test

2.3.2 氧化诱导时间测定结果与分析 按照1.2.5.2设计方案测定优化组及对照组海藻油样品氧化诱导时间,结果如图2所示,随着温度的升高,海藻油的氧化诱导时间减少;相同温度下,优化组海藻油样品的氧化诱导时间比对照组均要长。利用外推法计算常温(20℃)下海藻油的氧化诱导时间,优化组样品为49980h,而对照组样品仅为9850h,可以预测添加优化的抗氧化剂组合(0.7‰鼠尾草酸、0.7‰天然维生素E、0.2‰L-抗坏血酸棕榈酸酯)可以显著延缓海藻油的氧化,从而延长其货架期。

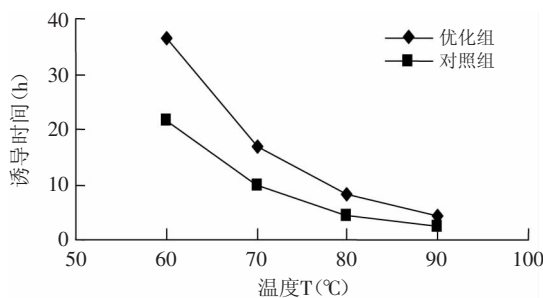


图2 不同温度下海藻油的氧化诱导时间变化

Fig.2 Changes of induction time on algal oil under different temperatures

3 结论

海藻油富含多不饱和脂肪酸,其特征脂肪酸组分是具有特定生理和保健功能的二十二碳六烯酸

(DHA),但是高度不饱和的DHA极易受到光、热、氧及加工因素的影响而发生氧化酸败使其生理活性丧失,氧化产物还会对人体健康造成危害。在油脂中使用抗氧化剂可以在一定程度上延缓油脂的氧化酸败,目前抗氧化剂的安全性评价体系还不完善,某些抗氧化剂还没有进行相关的毒理学研究。安全、高效、稳定的抗氧化剂将成为油脂研究开发中的重点。

由于各种抗氧化剂的作用机理不同,在实际应用中,往往选择几种抗氧化剂进行复配^[7]采用正交实验考察抗氧化剂组合对海藻油过氧化值、酸价的影响,确定最佳组合。油脂氧化产生一级氧化产物的多少可用过氧化值POV来评价,AV值则可反映油脂中游离脂肪酸的含量,同时测定两个指标能更好的反映油脂的氧化酸败程度。正交实验结果表明,抗氧化剂鼠尾草酸、天然维生素E、L-抗坏血酸棕榈酸酯能显著提高海藻油的氧化稳定性,影响力大小顺序为L-抗坏血酸棕榈酸酯>鼠尾草酸>V_E;最佳抗氧化剂组合为0.7‰鼠尾草酸、0.3‰天然维生素E、0.2‰L-抗坏血酸棕榈酸酯。三种抗氧化剂的添加量对海藻油POV值和AV值的影响效果并不一致,其对海藻油AV值的影响显著,对POV值的影响不显著。

稳定性实验结果显示,优化抗氧化剂组合处理的海藻油样品的稳定度明显比对照组高,达到21~22d,相当于常温下21~22个月的保质期,而对照组在常温下的保质期仅为10~11个月;脂肪氧化稳定性测试仪能快速有效的测定海藻油的氧化稳定性,预测油脂的货架期,利用外推法计算常温(20℃)下海藻油的

氧化诱导时间,优化组样品为49980h,而对照组样品仅为9850h。

参考文献

- [1] 陈振林,熊华,齐金峰,等.不同贮存条件对海藻油氧化稳定性影响[J].粮食与油脂,2010(9):13-16.
- [2] 李彦萍,高荫榆,熊春红,等.乌柏类可可脂氧化诱导期研究[J].食品工业科技,2003,24(5):37-39.
- [3] Diana Martin, Alberto Terron, Tiziana Fornari, et al. Oxidative stabilization of ultra-high omega-3 concentrates as ethyl esters or triacylglycerols[J]. Food Research International, 2012, 45(1): 336-344.
- [4] Ying Zhang, Lei Yang, Yuangang Zu, et al. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage[J]. Food Chemistry, 2010, 118(3): 656-662.
- [5] 李书国,赵文华,陈辉.食用油脂抗氧化剂及其安全性研究进展[J].粮食与油脂,2006(5):34-37.
- [6] 杨磊,刘芳,王化,等.鼠尾草酸的抗氧化活性及对鱼油的氧化稳定性[J].中国食品学报,2010,10(3):33-39.
- [7] Naciye Erkan, Guler Ayranci, Erol Ayranci. Antioxidant activities of rosemary(*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed(*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol[J]. Food Chemistry, 2008, 110(1): 76-82.
- [8] 高荫榆,雷占兰,谢何融,等.L-抗坏血酸棕榈酸酯的抗氧化效果研究[J].食品科学,2007,28(11):60-62.
- [9] 盛雪飞,彭燕,陈健初.天然抗氧化剂之间的协同作用研究进展[J].食品工业科技,2010(7):414-418.

(上接第317页)

基本一致,一方面说明评定人员对蛋糕感官品质的评定具有一定的准确性和可靠性;另一方面说明蔗糖聚酯替代黄油是可行的、可被接受的,这主要是因为蔗糖聚酯与油脂(包括黄油)在化学结构上的相似性,其都是脂肪酸与含羟基物质经过酯化反应生成的酯类物质。结构的相似性决定了蔗糖聚酯能在很大程度上模拟油脂在蛋糕等焙烤食品中的作用。

蔗糖聚酯作为一种新型脂肪替代品,不仅具有优良的油脂替代性,而且其性质与组成的脂肪酸的种类有关,可通过改变脂肪酸种类使其适用于不同的领域。P & G公司已率先将其应用于巧克力、糖果、甚至于烹饪油中,并取得了满意的效果。由此可以看出,蔗糖聚酯是一种具有市场开发价值和推广前景的脂肪替代品。

参考文献

- [1] George A Bray, Sahaspor Paeratakul, Barry M Popkin. Dietary fat and obesity: A review of animal, clinical and epidemiological studies[J]. Physiology & Behavior, 2004, 83: 549-553.
- [2] D K Houston, J Ding, J S lee, et al. Dietary fat and cholesterol and risk of cardiovascular disease in older adults: The Health ABC Study[J]. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases,

2011, 21: 430-435.

- [3] R Takechi, S Galloway, M M S Pallegage-Gamarallage, et al. Dietary fats, cerebrovasculature integrity and Alzheimer's disease risk[J]. Progress in Lipid Research, 2010, 49: 159-161.
- [4] 杨芳芳. 油脂在焙烤食品中的作用[J]. 农产品加工, 2008(8): 12.
- [5] Anal Carrapiso. Effect of fat content on flavour release from sausages[J]. Food Chemistry, 2007(2): 396-402.
- [6] 谢德明, 郑建仙, 高大维. 新型脂肪替代品—蔗糖聚酯研究[J]. 食品工业科技, 1995, 37(5): 76-77.
- [7] 谢德明, 郑建仙, 高大维. 新型油脂蔗糖聚酯的合成与分析[J]. 中国油脂, 1997, 22(4): 32-33.
- [8] 朱丹实, 刘贺, 徐学明. 以桔皮果胶为基质的脂肪替代品在重油蛋糕中的应用[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(5): 73.
- [9] 蔡健. 苦瓜蛋糕生产工艺条件的研究[J]. 食品科技, 2005(10): 30-31.
- [10] 宫艳艳, 徐学明. 酵母β-葡聚糖脂肪替代品在重油蛋糕中的应用[J]. 食发酵工业, 2007, 33(12): 40-41.
- [11] L Misenti, T Tappero, V Ganji, et al. Lecithin, An Emulsifier, Replaces The Fat and Reduces Energy Content In Devil's Food Cake[J]. Journal of the American Dietetic Association, 1998, 98(9, Supplement 1): A102.