

甘二酯对油脂中抗氧化剂活性的影响

薛元强¹, 刘思敏¹, 韩立娟^{1,2}, 齐玉堂^{1,2}, 贺军波^{1,2}, 张维农^{1,2}

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 湖北省油脂精细化工工程技术研究中心, 武汉 430023)

摘要: 研究 sn-1,3-棕榈酸甘二酯对纯净菜籽油氧化稳定性的影响, 以期探明其作用机理, 为油脂加工和储存提供科学的依据。通过柱层析的方法制备仅含甘三酯成分的纯净菜籽油, 测定 DAG 在菜籽油中形成反相胶束的临界浓度, 并在反相胶束体系中, 研究 DAG 及与天然抗氧化剂 γ -生育酚及合成抗氧化剂(TBHQ、BHA、BHT)联合作用对纯净菜籽油氧化稳定性的影响。结果表明: DAG 在菜籽油中的临界胶束浓度为 0.5%; 在反相胶束体系中, DAG 的添加促进了纯净菜籽油的氧化, DAG 对不同种类的抗氧化剂活性的影响存在差异, DAG 增强了弱极性抗氧化剂 γ -生育酚、BHT 的活性, 但是减弱了极性较强的抗氧化剂 TBHQ、BHA 的活性。

关键词: 甘二酯; 反相胶束; 抗氧化; 促氧化

中图分类号: TS225; TQ641

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2020)10-0057-05

Effects of DAG on activity of antioxidants in oils

XUE Yuanqiang¹, LIU Simin¹, HAN Lijuan^{1,2}, QI Yutang^{1,2},
HE Junbo^{1,2}, ZHANG Weinong^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Engineering Research Center of Lipid-based Fine Chemicals of Hubei Province, Wuhan 430023, China)

Abstract: The effect of sn-1,3-dipalmitate (DAG) on the oxidation stability of pure rapeseed oil was investigated to find out its mechanism in oil during storage and provide a scientific basis for oil processing and storage. Rapeseed oil only containing triglyceride components was prepared by column chromatography purification, the critical reverse micelle concentration of DAG in pure rapeseed oil was determined, and the effect of DAG and combined effects of DAG and antioxidant (γ -tocopherol, TBHQ, BHA and BHT) on the oxidation stability of pure rapeseed oil in reverse micelle system were studied. The results showed that the critical micelle concentration of DAG in pure rapeseed oil was 0.5%. DAG had a prooxidant effect on pure rapeseed oil in reverse micelle system. DAG had different effects on the activity of different types of antioxidants, and it enhanced the activities of the weak polar antioxidants γ -tocopherol and BHT, but weakened the activities of the strong polar antioxidants TBHQ and BHA.

Key words: DAG; reverse micelle; antioxidation; prooxidation

油脂中的不饱和脂肪酸在光、热、酶等条件下易与氧气发生自由基链式反应, 导致脂肪酸分解, 生成一级氧化产物氢过氧化物, 氢过氧化物极不稳

定, 很容易再次裂解产生二级氧化产物如醛、烃、酮和环氧化物^[1]。油脂氧化产物对于油脂或含油脂食品的气味及安全性具有不利影响^[2-3], 甚至还具有致癌作用^[4]。因此, 抑制油脂的氧化对于食用油或含油脂食品的安全性具有重要的意义。

研究表明, 温度、光照、酶、抗氧化剂和促氧化剂等因素能够影响油脂的氧化^[5]。然而最近的研究表明, 油脂中微量成分同样能够显著影响油脂的氧

收稿日期: 2020-01-16; 修回日期: 2020-05-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(C200201)

作者简介: 薛元强(1994), 男, 在读硕士, 研究方向为油脂氧化机理与抗氧化(E-mail) yuanqiangx@163.com。

通信作者: 张维农, 教授(E-mail) zhangweinong@163.com。

化^[6-9]。甘二酯(DAG)是油脂中主要的微量成分,主要来源于甘三酯或磷脂在植物体内的不完全合成以及油脂在加工、储藏、运输过程中发生的水解,含量通常在0.8%~5.8%^[6,10]。DAG对油脂的促氧化作用^[11]、抗氧化作用^[12]均有报道,亦有研究表明DAG对油脂氧化稳定性并无明显影响^[13]。造成DAG对油脂氧化稳定性影响的不确定性可能与以下几点因素有关:①在以往的研究中多以二油酸甘油酯为实验原料,但是不饱和DAG中同时具有羟基和不饱和键,由于两者的联合作用导致了结果的不确定性;②DAG可能与抗氧化剂存在着联合作用,由于不同油脂中的抗氧化剂种类和含量存在差异,导致结果不确定。

考虑到不饱和DAG可能带来的影响,以及DAG影响油脂氧化稳定性的原因是其在油脂中形成了反相胶束^[7],本文选择sn-1,3-棕榈酸甘二酯为原料,测定DAG在油脂体系中形成反相胶束的临界浓度,并在反相胶束体系中研究其对菜籽油氧化稳定性及对 γ -生育酚、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、丁基羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)4种抗氧化剂活性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

菜籽油,当地超市;sn-1,3-棕榈酸甘二酯(纯度99%),实验室自制;硅胶(300~400目)、活性炭(>200目)、7,7,8,8-四甲基-对苯醌二甲烷(TCNQ,纯度95%)、叔丁基对苯二酚(TBHQ,纯度98%)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT,纯度99%)、丁基羟基茴香醚(BHA,纯度98%),阿拉丁试剂有限公司;正己烷、氯仿、冰乙酸、碘化钾,均为分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司; γ -生育酚(纯度97%),百灵威试剂有限公司。

分析天平;旋转蒸发仪;循环水真空泵;DF-101S型集热式恒温磁力搅拌器;TGL-16G台式离心机;Lambda25型紫外/可见分光光度计,PerkinElmer有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菜籽油的纯化

根据Boon等^[14]的方法稍作改进。称取88g硅胶和12g活性炭,在110℃鼓风干燥箱中干燥20h。取尺寸为30cm×4cm的层析柱,通过干法装柱的方式依次填充44g硅胶、12g活性炭以及剩余的44g硅胶。取100g菜籽油溶解在100mL正己烷中,装入层析柱,然后用400mL正己烷洗脱,收集所有洗脱液,并通过旋蒸(38℃)去除洗脱液中的溶剂,

最后通过氮吹去除残留的痕量溶剂,即得纯净菜籽油,储存在-20℃的冰箱中,待测。

1.2.2 菜籽油理化指标及微量成分测定

酸价的测定参照GB 5009.229—2016,过氧化值的测定参照GB 5009.227—2016,生育酚及甾醇含量的测定参照文献[15]。

1.2.3 菜籽油脂肪酸组成的测定

取0.1g左右样品于甲酯化管,加入2mL 0.5mol/L氢氧化钠-甲醇溶液,涡旋混匀,在65℃水浴下反应30min后加入2mL三氟化硼-甲醇,65℃水浴3min,冷却后加入2mL正己烷,振荡,静置分层,取上层清液,供GC分析。

GC条件:Sopelco sp-2560石英毛细管色谱柱(100m×0.25mm×0.2 μ m);载气为高纯氮气,恒压模式,压力215.87kPa;分流比20:1,进样口温度250℃;检测器温度250℃;柱温100℃保持4min,以3℃/min升至230℃,保持20min(总分析时间67.33min)。

1.2.4 菜籽油单甘酯、DAG含量的测定

单甘酯及DAG含量参照AOCS Cd 11d-96方法进行测定。

1.2.5 DAG临界胶束浓度的测定

DAG临界胶束浓度根据Chen等^[7]的方法测定。将0.1%、0.2%、0.5%、1%的DAG溶解在纯净菜籽油中,并在40℃下搅拌12h。分别取上述样品5g于10mL样品瓶中,加入5mgTCNQ,混合搅拌5h,过量的TCNQ通过6500r/min离心20min除去。通过分光光度法测定所有样品在480nm的吸光度,绘制DAG含量对数与吸光度的曲线。DAG临界胶束浓度为低DAG含量的点组成的直线与高DAG含量的点组成的直线的交点。

1.2.6 加速氧化实验

取纯净菜籽油20g,分别加入1%DAG、1%DAG+0.02% γ -生育酚、0.02% γ -生育酚、1%DAG+0.02%TBHQ、0.02%TBHQ、1%DAG+0.02%BHT、0.02%BHT、1%DAG+0.02%BHA、0.02%BHA,并以无添加的纯净菜籽油作为对比样。所有样品在60℃鼓风干燥箱中加速氧化,并在1、2、3、4、5、6、7d取样测定过氧化值。所有样品重复3次。

2 结果与分析

2.1 纯化前后菜籽油的指标变化

菜籽油中除了甘油三酯成分,还含有少量的单甘酯、DAG、甾醇、生育酚、色素等物质,为了避免这些少量成分对实验的干扰,本文通过硅胶和活性炭

吸附去除油脂中的上述物质,得到纯净的菜籽油。对纯化前后菜籽油的相关指标进行测定,结果见表1。

表1 菜籽油纯化前后相关指标变化

相关指标	纯化前	纯化后
脂肪酸/%		
C16:0	4.44	4.55
C18:1	64.27	61.78
C18:2	19.69	21.38
C18:3	9.54	10.43
C22:1	2.06	1.85
色泽	深黄色	无色透明
生育酚/(mg/g)	0.83	未检出
甾醇/(mg/g)	6.36	未检出
酸价(KOH)/(mg/g)	1.11	未检出
过氧化值/(mmol/kg)	4.74	未检出
单甘酯/%	未检出	未检出
DAG/%	1.8	未检出

由表1可知,经过柱层析纯化后的菜籽油与未经纯化的菜籽油脂肪酸组成无明显变化,同时色素、生育酚、甾醇、单甘酯、DAG、游离脂肪酸及过氧化物除去得较为彻底,因此通过柱层析的方法得到的纯净菜籽油适合用于加速氧化研究。

2.2 DAG 临界胶束浓度

具有表面活性的物质溶解在弱极性的体系(如甘油三酯)中,随着表面活性剂浓度增大到一定的值时,体系的理化性质(如表面张力、溶解度、渗透压、导电度、可溶性、增容等)会发生跳跃性变化,此时的浓度称为临界胶束浓度,并且在等于或大于该浓度时,会形成反相胶束。TCNQ 脂溶性差,且分散在非极性溶剂时在 480 nm 处没有吸收。当表面活性剂浓度高于临界胶束浓度时,TCNQ 可与表面活性剂发生电荷转移相互作用,并可吸收 480 nm 波长的光,通过检测不同 DAG 浓度下菜籽油在 480 nm 处吸光度的变化,即可测定 DAG 临界胶束浓度。按照 1.2.5 方法测得 DAG 临界胶束浓度为 0.5%。

2.3 加速氧化实验结果

纯净菜籽油及添加 1% DAG 后过氧化值随储藏时间的变化如图 1 所示。由图 1 可看出,添加 1% DAG 的菜籽油在 6 d 前过氧化值均大于纯净菜籽油,且其在 2 d 时进入指数氧化阶段,纯净菜籽油在 3 d 时进入指数氧化阶段,因此添加 1% DAG 促进了纯净菜籽油的氧化。研究表明,反相胶束形成的微环境能够加快反应的速度^[16],本研究中 DAG 加快菜籽油氧化速率可能是因为反相胶束的存在为氧化反应提供了场所,同时加快了氧化反应。

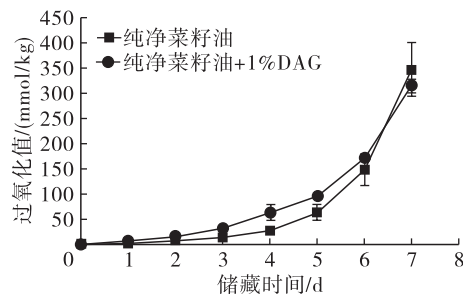


图1 纯净菜籽油及添加 1% DAG 后过氧化值随储藏时间的变化

图2为纯净菜籽油添加 γ -生育酚及1% DAG与 γ -生育酚后过氧化值随储藏时间的变化。由图2可看出:0~1 d时,同时添加1% DAG与 γ -生育酚比仅添加 γ -生育酚的菜籽油过氧化值上升速率快;1 d之后,仅添加 γ -生育酚的菜籽油过氧化值快速上升,而添加1% DAG与 γ -生育酚的菜籽油过氧化值上升速率缓慢;在3 d时,仅添加 γ -生育酚的菜籽油过氧化值为 14.53 mmol/kg,而同时添加 γ -生育酚和1% DAG的菜籽油过氧化值仅为 6.47 mmol/kg,原因可能是 DAG 的添加增加了 γ -生育酚的活性。Chen等^[13]研究二油酸 DAG 对生育酚的抗氧化活性影响,结果表明,添加 0.5%~2.5%的 DAG 并未影响大豆油中生育酚的活性,同时也未观测到反相胶束的形成。但以 DOPC 为原料制备出反相胶束后,大豆油中生育酚的活性得到了增强^[8],与本实验得到的结果一致。综上所述,反相胶束的存在对于抗氧化剂的活性有着重要的影响,许多观点认为,反相胶束能够增加抗氧化剂的溶解度,并使得抗氧化剂向反相胶束形成的部位聚集,最终因为浓度的增加而增大其清除自由基的能力。结合图1结果,推测在本实验中,DAG对 γ -生育酚的影响机理为:在0~1 d,生育酚还没有完全迁移到反相胶束部位,DAG仍然是主要作用因素,此时氧化速率更快;在1 d后, γ -生育酚已经充分迁移到反相胶束部位,能够与氢过氧化物充分接触,从而发挥其抗氧化作用。

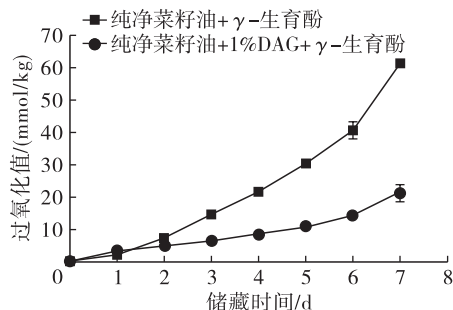


图2 纯净菜籽油添加 γ -生育酚及 1% DAG 与 γ -生育酚后过氧化值随储藏时间的变化

图3为纯净菜籽油添加TBHQ及1% DAG与TBHQ后过氧化值随储藏时间的变化。由图3可看出,在储藏过程中,添加1% DAG及TBHQ的菜籽油过氧化值始终大于仅添加TBHQ的菜籽油。在储藏过程中,仅添加TBHQ的菜籽油过氧化值无明显上升,但是添加1% DAG与TBHQ的菜籽油在6 d后就已超出GB 2716—2018规定的限量(9.85 mmol/kg),因此DAG的加入抑制了TBHQ的抗氧化活性。

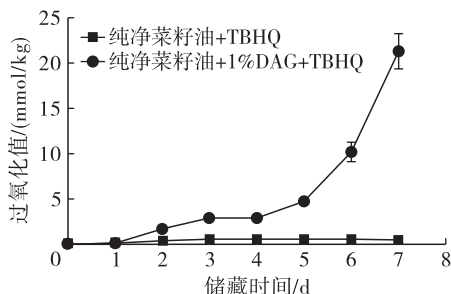


图3 纯净菜籽油添加TBHQ及1%DAG与TBHQ后过氧化值随储藏时间的变化

图4为纯净菜籽油添加BHA及1% DAG与BHA后过氧化值随储藏时间的变化。由图4可看出,与TBHQ的变化类似,添加1% DAG与BHA的菜籽油氧化稳定性明显弱于仅添加BHA的菜籽油,因此DAG抑制了BHA的抗氧化活性。通过比较DAG对TBHQ、BHA抗氧化活性的抑制率,发现1~7 d, DAG对TBHQ的平均抑制率(0.82)高于对BHA的平均抑制率(0.71),说明与TBHQ相比, DAG对BHA的抑制强度更弱。

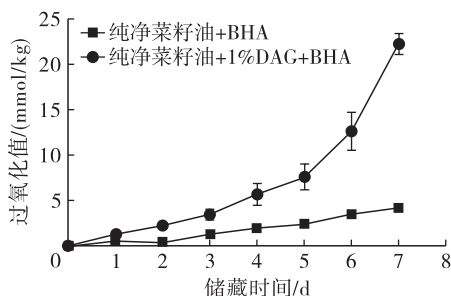


图4 纯净菜籽油添加BHA及1%DAG与BHA后过氧化值随储藏时间的变化

图5为纯净菜籽油添加BHT及1% DAG与BHT后过氧化值随储藏时间的变化。由图5可看出:2 d前,添加1% DAG与BHT的菜籽油过氧化值上升速率高于仅添加BHT的菜籽油,2 d后,添加1% DAG与BHT的菜籽油比仅添加BHT过氧化值上升速率慢;在4 d时,仅添加BHT的菜籽油过氧化值为10.91 mmol/kg,已经超过出GB 2716—2018规定的限量(9.85 mmol/kg),而此时添加1% DAG与BHT的菜籽油过氧化值为8.33 mmol/kg。因此,

DAG增强了BHT的抗氧化活性,这与DAG对 γ -生育酚的变化趋势类似。

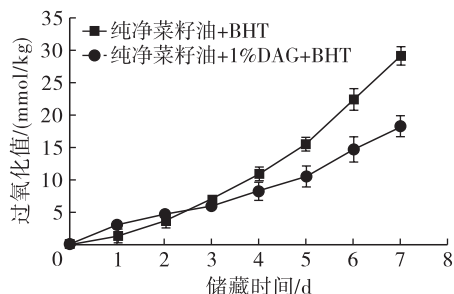


图5 纯净菜籽油添加BHT及1%DAG与BHT后过氧化值随储藏时间的变化

图1~图5结果表明,DAG对于不同抗氧化剂的影响趋势存在差异,在本研究中,DAG能够增加氧化速率,增强抗氧化剂 γ -生育酚和BHT的活性,而对TBHQ和BHA的活性有抑制作用。TBHQ的抗氧化效果优于BHT和BHA,但DAG对TBHQ的抑制作用更明显,这可能与抗氧化剂在临界胶束部位的分布有关。DAG达到临界胶束浓度后可能会形成以水核为中心,四周包裹DAG的球形反相胶束,许多观点认为,反相胶束可能是油脂氧化的场所,在该假设的基础上,油脂氧化产物形成后,极性较弱的氢过氧化物会向反相胶束的外表面迁移,同时抗氧化剂会朝着DAG形成的部位迁移并聚集,由于不同极性的抗氧化剂在反相胶束的分布可能不一样,极性较强的抗氧化剂更有可能进入水核而难以与氢过氧化物接触,而极性较弱的抗氧化剂可能更容易聚集在反相胶束的表面和氢过氧化物接触,从而充分发挥抗氧化活性。4种抗氧化剂的分子极性强弱关系为 γ -生育酚<BHT<BHA<TBHQ。因此,抗氧化剂的极性或许是引起DAG对抗氧化剂活性影响差异的主要原因。

3 结论

对sn-1,3-棕榈酸甘油二酯对纯净菜籽油氧化稳定性的影响进行研究,结果发现,菜籽油中的sn-1,3-棕榈酸甘油二酯临界胶束浓度为0.5%,在反相胶束体系中DAG具有促氧化作用,且在该体系中DAG与 γ -生育酚及其他抗氧化剂联合作用,表现出了不同的效果:DAG增强了 γ -生育酚及BHT的抗氧化活性,但是抑制了TBHQ和BHA的活性。本文初步阐明了DAG对油脂氧化稳定性的影响情况,并且对于DAG多种不同的影响趋势也有了一个合理的解释:①DAG对于油脂氧化稳定性的影响取决于其在油脂中的物理结构,反相胶束可能是影响油脂氧化稳定性的根本原因;②DAG形成反

相胶束后,油脂的氧化稳定性还取决于其加快氧化速率及增大抗氧化剂活性两种反应的平衡,同时也取决于抗氧化剂在反相胶束部位的分布。本研究对于油脂氧化研究以及寻找安全的抗氧化方法提供了新的思路。

参考文献:

- [1] FRANKEL E. Lipid oxidation [J]. Prog Lipid Res, 1980, 19(1/2): 1-22.
- [2] EBONG P, OWU D, ISONG E. Influence of palm oil (*Elaeis guineensis*) on health [J]. Plant Food Human Nutr, 1999, 53(3): 209-222.
- [3] ZIDKOVA J, SAJDOK J, KONTROVA K, et al. Effects of oxidised dietary cod liver oil on the reproductive functions of Wistar rat [J]. Czech J Food Sci, 2004, 22(3): 108-120.
- [4] 高伟, 丁阳平, 杨坚. 内源性痕量物质及其联合胶体对脂肪氧化的影响 [J]. 食品与机械, 2015(3): 242-245.
- [5] 穆同娜, 张惠, 景全荣. 油脂的氧化机理及天然抗氧化物的简介 [J]. 食品科学, 2004(21): 241-244.
- [6] CHAIYASIT W, ELIAS R J, MCCLEMENTS D J, et al. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2007, 47(3): 299-317.
- [7] CHEN B, HAN A, MCCLEMENTS D J, et al. Physical structures in soybean oil and their impact on lipid oxidation [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(22): 11993-11999.
- [8] CHEN B, HAN A, LAGUERRE M, et al. Role of reverse micelles on lipid oxidation in bulk oils: impact of phospholipids on antioxidant activity of α -tocopherol and Trolox [J]. Food Funct, 2011, 2(6): 302-309.
- [9] XU N, SHANBHAG A G, LI B, et al. Impact of phospholipid-tocopherol combinations and enzyme-modified lecithin on the oxidative stability of bulk oil [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(28): 7954-7960.
- [10] CHEN B, MCCLEMENTS D J, DECKER E A. Minor components in food oils: a critical review of their roles on lipid oxidation chemistry in bulk oils and emulsions [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011, 51(10): 901-916.
- [11] MISTRY B S, MIN D B. Prooxidant effects of monoglycerides and diglycerides in soybean oil [J]. J Food Sci, 2010, 53(6): 1896-1897.
- [12] NAKATSUGAWA K, OHASHI K, SHIMADA A. Comparison of oxidative stability of diacylglycerol and triacylglycerol [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2001, 48(6): 429-436.
- [13] CHEN B, MCCLEMENTS D J, DECKER E A. Impact of diacylglycerol and monoacylglycerol on the physical and chemical properties of stripped soybean oil [J]. Food Chem, 2014, 142(3): 365-372.
- [14] BOON C S, ZHIMIN X, XIAOHUA Y, et al. Factors affecting lycopene oxidation in oil-in-water emulsions [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(4): 1408-1414.
- [15] 李吉. 精炼工艺对米糠油中功能因子的影响 [D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2014.
- [16] GHOSH K K, TIWARY L K. Microemulsions as reaction media for a hydrolysis reaction [J]. J Disp Sci Technol, 2001, 22(4): 343-348.
- [12] ROBERTA R E, NICOLETTA P, ANNA P, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Rad Biol Med, 1999(9): 1231-1237.
- [13] KIM D O, LEE K W, LEE H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(13): 3713-3717.
- [14] 黄上峰, 陆飞燕, 黄元河, 等. 三七多糖抗氧化活性研究 [J]. 微量元素与健康研究, 2018, 35(1): 30-32.
- [15] OZGEN M, REESE R N, TULIO A Z, et al. Modified 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(4): 1151-1157.
- [16] ZHANG S T, CUI Y, LI L X, et al. Preparative HSCCC isolation of phloroglucinolysis products from grape seed polymeric proanthocyanidins as new powerful antioxidants [J]. Food Chem, 2015, 188: 422-429.
- [17] 黄健花, 宋志华, 刘慧敏, 等. 植物油甲醇萃取物的自由基清除能力及其与多酚、生育酚含量的相关性 [J]. 中国油脂, 2017, 42(4): 28-31.
- [18] 刘慧敏. 不同植物油微量成分与抗氧化能力的相关性研究 [D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2015.
- [19] PÉREZ-JIMÉNEZ J, ARRANZ S, TABERNERO M, et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results [J]. Food Res Int, 2008, 41(3): 274-285.

(上接第56页)