

虾青素油对核桃油抗氧化性及货架期的影响

邢海亮¹,余旭亚¹,耿树香²,宁德鲁²,马婷²,韩本勇¹

(1.昆明理工大学生命科学与技术学院,昆明 650500; 2.云南省林业和草原科学院,昆明 650204)

摘要:向核桃油中添加虾青素油,采用 Schaal 烘箱法,以过氧化值和酸价为指标,优化了虾青素油添加量,同时考察了适量虾青素油对核桃油皂化值、碘值等理化指标和维生素 E、多酚含量以及脂肪酸组成的影响,并根据 Arrhenius 经验公式对核桃油的货架期进行预测。结果表明:虾青素油添加量为 2% 时,核桃油多酚、维生素 E 含量分别为未添加的 1.5、3.17 倍,能显著增强核桃油的抗氧化能力,对抑制酸败也有一定效果。在虾青素油添加量为 2% 时,核桃油在 20℃ 的货架期与对照相比延长了 16 d 以上;当核桃油中添加 0.02% TBHQ 和 2% 虾青素油时,其 20℃ 的货架期为 480 d,与单独添加 0.02% TBHQ 的核桃油相比延长了 48 d。因此,通过添加适量的虾青素油,可有效增强核桃油的抗氧化性,延长核桃油的货架期。

关键词:核桃油;虾青素油;抗氧化;过氧化值;货架期

中图分类号:TS221;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)05-0105-05

Effect of astaxanthin oil on oxidative stability and shelf life of walnut oil

XING Hailiang¹, YU Xuya¹, GENG Shuxiang², NING Delu²,
MA Ting², HAN Benyong¹

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming 650204, China)

Abstract: With the peroxide value and acid value as indexes, the dosage of astaxanthin oil added to walnut oil was optimized by the method of Schaal oven experiment. Meanwhile, the effect of astaxanthin oil on saponification value, iodine value, contents of vitamin E and polyphenols, and fatty acid composition of walnut oil were investigated, and the shelf life of walnut oil was predicted according to Arrhenius empirical formula. The results showed that when 2% astaxanthin oil was added to walnut oil, the contents of polyphenols and vitamin E was 1.5 and 3.17 times as high as the control, respectively, which could significantly enhance the antioxidant effect of walnut oil and inhibit rancidity. When 2% astaxanthin oil was added to walnut oil, the shelf life of walnut oil at 20℃ increased by more than 16 d compared with the control. When 0.02% TBHQ and 2% astaxanthin oil were added to walnut oil, the shelf life at 20℃ was 480 d, which was 48 d longer than that of the walnut oil added with 0.02% TBHQ alone. The antioxidant activity of walnut oil was effectively increased and the shelf life of walnut oil was prolonged by adding appropriate proportion of astaxanthin oil.

Key words: walnut oil; astaxanthin oil; antioxidation; peroxide value; shelf life

收稿日期:2019-08-28;修回日期:2019-12-24

基金项目:云南省重大科技专项计划(2018ZG003-2)

作者简介:邢海亮(1995),男,硕士研究生,研究方向为海藻资源开发(E-mail)450442132@qq.com。

通信作者:韩本勇,副教授,博士(E-mail)xmcx668@126.com。

核桃(*Juglans regia* L.)又名胡桃、羌桃,在我国品种繁多,种植面积及产量居于世界第一^[1]。核桃油饱和脂肪酸含量达 90% 以上,必需脂肪酸含量达 75.8%^[2],具有预防心脑血管疾病、改善记忆力等多种保健功效^[3]。由于核桃油饱和脂肪酸含量较高,在加工、储藏过程极易发生氧化酸败,产生异味,影响核桃油的品质。因此,核桃油抗氧化是核

桃油生产的一个核心问题。

添加二丁基羟基甲苯(BHT)、特丁基对苯二酚(TBHQ)等化学合成抗氧化剂是延长食用油货架期的常用手段。但是因化学合成抗氧化剂具有一定的危害性,许多国家对其添加量都有所限制^[4]。所以寻找天然抗氧化剂来取代或减少化学合成抗氧化剂的使用量是食品抗氧化剂工业发展的趋势。对各种抗氧化剂的抗氧化活性研究及各抗氧化剂之间的协同作用是未来研究的一个重点^[5]。

天然的虾青素油可以雨生红球藻为原料提取精制所得^[6]。虾青素具有极强的抗氧化活性,其抗氧化能力为维生素E的500倍以上、辅酶Q10的800倍,具有清除自由基、中和活性氧等特性^[7-9]。2010年雨生红球藻被我国卫生部门批准为新资源食品。虾青素的众多优势为利用虾青素油提高核桃油的抗氧化性及延长货架期提供了理论支持。

本文以添加了虾青素油的核桃油为研究对象,以过氧化值、酸价指标,优化了虾青素油添加量,分析了虾青素油对核桃油理化指标、微量成分含量及脂肪酸组成的影响,对其氧化稳定性进行了初步探索,以为核桃油天然抗氧化剂的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

核桃油,由云南省林业和草原科学院提供;虾青素油(虾青素含量10.2%),购自AstaMAZ NZ有限公司。

硫代硫酸钠、三氯甲烷、冰醋酸、碘化钾、淀粉、无水乙醚、无水乙醇、氢氧化钾、重铬酸钾、硫酸等,分析纯;TBHQ,食品添加剂级;福林酚,生物试剂。

1.1.2 仪器与设备

FA2004N分析天平,上海菁海仪器有限公司;DS.85 10DTH超声波微波组合体系,上海生析超声仪器有限公司;HHw-D6水浴锅,金坛双捷实验仪器厂;Ultrospec 2100 pro紫外可见分光光度计,安玛西亚有限公司;5804R高速低温离心机,德国Eppendorf公司;Agilent 7890A系列气相色谱仪;Agilent 5975C系列质谱仪(MSD检测器);岛津Ic-20at液相色谱仪,岛津实验器材有限公司;Agilent液相色谱柱(TC-C₁₈,4.6 mm×250 mm),安捷伦科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 虾青素油添加量的优化

向核桃油中分别添加1.5%、2%、2.5%(以核桃油质量计)的虾青素油,采用超声方式进行混匀,

超声频率为(40±1)kHz、功率为800W、温度为(22±3)℃,保证混合均匀。将混匀的复合油分装至干净的玻璃瓶中,密封、避光存放于55℃烘箱中。定期测定油脂的过氧化值和酸价。

1.2.2 核桃油理化指标测定

过氧化值根据GB 5009.227—2016《食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定》测定;酸价根据GB 5009.229—2016《食品安全国家标准 食品中酸价的测定》测定;碘值根据GB/T 5532—2008《动植物油脂 碘值的测定》测定;水分含量根据GB 5009.236—2016《食品安全国家标准 动植物油脂水分及挥发物的测定》中第二法电热干燥箱法测定;皂化值根据GB/T 5534—2008《动植物油脂 皂化值的测定》测定。

1.2.3 核桃油微量成分含量测定

维生素E含量根据GB 5009.82—2016《食品安全国家标准 食品中维生素A、D、E的测定》第一法反向高效液相色谱法测定。

多酚含量采用福林酚试剂,分光光度法测定^[10]。

多酚标准曲线绘制:采用没食子酸溶液作为标准工作液,设置质量浓度梯度为10、20、30、40、50、60、70 μg/mL,用移液管分别移取没食子酸标准工作液1 mL于刻度试管中,加入0.5 mL福林酚试剂、2 mL 7.5%碳酸钠溶液和6.5 mL水,涡旋振荡1 min,70℃水浴反应30 min,冷却至室温后用10 mm比色皿在750 nm波长条件下测定吸光度,根据没食子酸标准工作液的吸光度(Y)和质量浓度(X)绘制标准曲线,得到标准曲线方程为 $Y = 0.0111X + 0.036$ ($R^2 = 0.9991$)。

多酚含量测定:称取10 g油脂样品溶于50 mL正己烷中,用20 mL 60%的甲醇水溶液提取3次。合并提取液并真空干燥,残余物用微量甲醇溶解,用水定容至2 mL。用移液管分别移取水(空白)及样品待测液各1 mL于刻度试管中,加入0.5 mL福林酚试剂、2 mL 7.5%碳酸钠溶液和6.5 mL水,涡旋振荡1 min,70℃水浴反应30 min,冷却至室温后用10 mm比色皿在750 nm波长条件下测定吸光度。

1.2.4 核桃油脂脂肪酸组成分析

油脂脂肪酸组成采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法测定^[11]。取0.1 g油脂,加入2 mL 3%硫酸甲醇,70℃水浴甲酯化4 h,再加入2 mL正己烷,萃取4 h,取正己烷相进行GC-MS分析。

GC-MS条件:HP-5MS色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);载气为高纯氮气,流速1 mL/min;进

样口温度 250 ℃; 不分流进样; 柱温 50 ℃ 保持 5 min, 以 3 ℃/min 的速度升至 210 ℃ 保持 3 min。质谱条件: EI 离子源, 电离能 70 eV, 离子源温度 230 ℃。

1.2.5 核桃油货架期预测

采用 Schaal 烘箱法^[12], 选取 1.2.1 最优虾青素油添加量, 联合抗氧化剂 0.02% TBHQ 设立实验组与对照组。将样品于 60 ℃ 烘箱中密封储存^[13], 定期测定过氧化值和酸价。按照 GB 2716—2018《食品安全国家标准 植物油》规定, 油脂的过氧化值和酸价的最高限值, 以及 Arrhenius 经验公式对不同处理组的核桃油 20 ℃ 货架期进行预测。

1.2.6 数据分析

全部实验均设置 3 组平行, 利用 ANOVA (SPSS19.0) 一步法分析实验数据, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 虾青素油添加量对核桃油过氧化值、酸价的影响

虾青素油添加量对核桃油过氧化值的影响如图 1 所示。

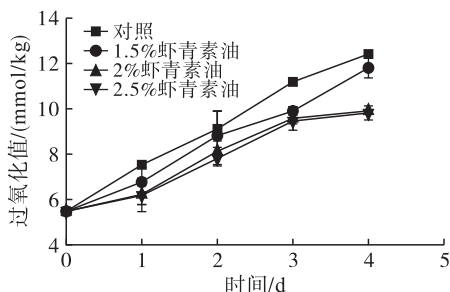


图 1 虾青素油添加量对核桃油过氧化值的影响

由图 1 可知, 随着储存时间的延长, 不同处理组核桃油过氧化值均逐渐升高, 不同添加量的虾青素油对核桃油的抗氧化效果不同。对照组(未添加虾青素油)的过氧化值变化最为明显, 在储存 2~3 d 即超过了 GB 2716—2018 限值 9.85 mmol/kg。添加虾青素油的核桃油过氧化值上升趋势有所减缓, 其中添加了 1.5% 虾青素油的核桃油过氧化值在储存 3~4 d 超过 9.85 mmol/kg; 添加 2% 和 2.5% 虾青素油的核桃油在储存 4 d 左右达到 9.85 mmol/kg。结果表明虾青素油对减缓核桃油过氧化值的生长有一定作用, 所有实验组的抗氧化效果都优于对照组, 其中添加 2% 和 2.5% 的虾青素油效果最为明显, 且两组核桃油过氧化值之间无明显差异。

虾青素油添加量对核桃油酸价的影响如图 2 所示。

由图 2 可知, 在核桃油过氧化值达到国标限值

9.85 mmol/kg 的过程中, 所有处理组核桃油的酸价均在一定范围内有所增加, 实验组核桃油的酸价增长速度略低于对照组, 整体酸价上升幅度不大。酸价的增长主要与时间、水分及储存条件相关, 时间越长, 水分含量越大, 储存温度越高, 酸价增长速度越快^[14]。本实验在过氧化值达到 9.85 mmol/kg 期间, 由于储存条件相同, 实验周期较短, 各组中酸价 (KOH) 都远低于 3 mg/g, 但实验组与对照组相比, 酸价增长趋势均有减缓。结果表明, 虾青素油能减缓核桃油酸价的生长。

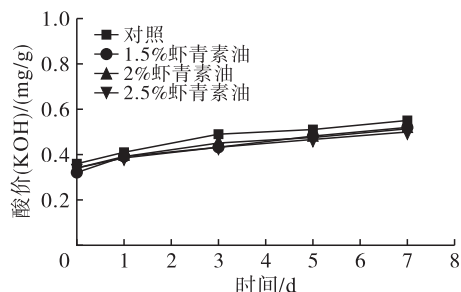


图 2 虾青素油添加量对核桃油酸价的影响

本研究发现添加 2% 的虾青素油能显著减缓核桃油过氧化值的生长, 且减少虾青素油添加量会削弱抗氧化效果, 增加虾青素油添加量对抗氧化效果无明显增强。综合酸价结果, 选择虾青素添加量 2% 进行后续研究。

2.2 虾青素油对核桃油理化指标、微量成分含量及脂肪酸组成的影响

虾青素油对核桃油理化指标及微量成分含量的影响见表 1。

表 1 虾青素油对核桃油理化指标及微量成分含量的影响

项目	未添加	添加 2% 虾青素油
水分/%	0.34 ± 0.01	0.19 ± 0.02
皂化值 (KOH)/(mg/g)	195.02 ± 4.32	189.92 ± 4.50
碘值 (I)/(g/100 g)	142 ± 4	150 ± 5
维生素 E 含量/(mg/100 g)	3.01 ± 0.05	9.57 ± 0.10
多酚含量/(mg/kg)	4.229 ± 0.540	6.359 ± 0.200

碘值、皂化值为食用油脂的两个重要参数, 碘值反映油脂的不饱和程度, 不饱和程度越小, 对应的碘值越低, 皂化值可反映油脂的平均相对分子质量。由表 1 可知, 添加 2% 的虾青素油核桃油的皂化值及碘值均无明显变化。

水分对油脂的品质有一定的影响, 水分是脂肪发生水解反应的媒介, 油脂的水分含量过高, 有利于微生物的滋生, 产生大量酶, 促进脂肪水解, 增加游离脂肪酸的含量, 从而导致酸败^[15]。由表 1 可知, 添加 2% 虾青素油与对照组相比, 水分含量由

0.34% 降至 0.19%。油脂中含有少量水分(0.2%)能减少亚油酸氢氧化物的分解,降低氧化活性,减缓氧化速率^[16-17],从而延长储存时间。

多酚和维生素 E 都具有良好的抗氧化活性。多酚是极好的电子供体,形成的酚类游离基稳定性强,不易氧化反应,是一种效果良好的抗氧化剂^[18];天然维生素 E 具有增强机体抗氧化能力和调节免疫系统等功能,是世界上使用最广泛的抗氧化剂之一^[19]。由表 1 可知,添加 2% 虾青素油的核桃油维生素 E 和多酚含量分别为未添加的 3.17、1.5 倍,虾青素油中含有较为丰富的维生素 E、多酚等天然抗氧化物质,这些天然抗氧化成分可直接增强油脂抗氧化能力,同时有利于虾青素的稳定^[20],从而进一步增强油脂的抗氧化能力。

虾青素油对核桃油脂肪酸组成的影响见表 2。

表 2 虾青素油对核桃油脂肪酸组成的影响 %

脂肪酸	未添加	添加 2% 虾青素油
肉豆蔻酸	-	0.08 ± 0.01
十五烷酸	-	0.03 ± 0.01
棕榈酸	6.56 ± 0.04	7.15 ± 0.15
棕榈油酸	0.08 ± 0.03	0.12 ± 0.02
硬脂酸	2.60 ± 0.17	2.61 ± 0.26
油酸	18.46 ± 0.55	17.97 ± 0.18
亚油酸	62.68 ± 0.90	61.87 ± 0.64
花生酸	0.16 ± 0.07	0.16 ± 0.01
反式亚麻酸	0.51 ± 0.21	0.23 ± 0.15
顺-11-二十碳烯酸	0.13 ± 0.13	0.16 ± 0.01
亚麻酸	8.09 ± 0.32	9.01 ± 0.06
二十一烷酸	0.20 ± 0.08	0.15 ± 0.01
二十二烷酸	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.01
顺-13,16-二十二碳二烯酸	0.13 ± 0.05	0.06 ± 0.01
二十四烷酸	0.11 ± 0.05	0.20 ± 0.03
顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01
神经酸	0.14 ± 0.03	0.06 ± 0.01

由表 2 可知,与添加前相比,整体上核桃油在添加 2% 虾青素油后脂肪酸组成及含量无明显变化。表明添加少量虾青素油对核桃油的脂肪酸组成无明显影响。

2.3 虾青素油对核桃油货架期的影响

按照 GB 2716—2018《食品安全国家标准 植物油》规定,食用植物油过氧化值和酸价(KOH)的最高限值分别为 9.85 mmol/kg 和 3 mg/g。油脂的货架期预测可根据高温加速氧化实验,采用外推法得到^[21]。根据 Arrhenius 经验公式得知样品温度每降

低 10℃,储存时间延长约 1 倍^[22]。添加不同抗氧化剂核桃油 60℃ 下过氧化值和酸价的变化见图 3。不同处理组核桃油货架期预测见表 3。

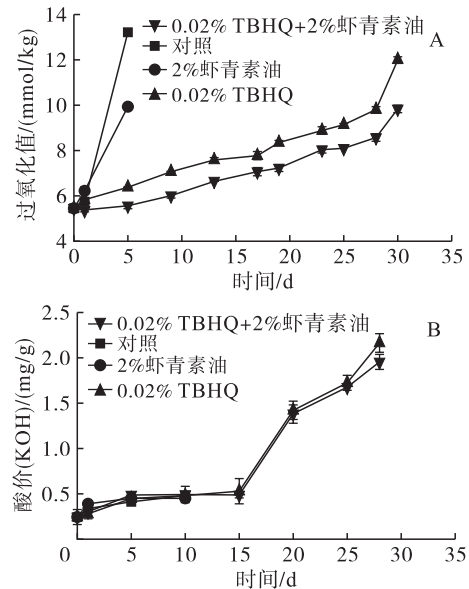


图 3 添加不同抗氧化剂核桃油 60℃ 下过氧化值(A)和酸价(B)变化

表 3 不同处理组核桃油货架期预测

处理组	货架期/d	
	60℃	20℃
对照	2~3	32~48
2% 虾青素油	4	64
0.02% TBHQ	27	432
2% 虾青素油 + 0.02% TBHQ	30	480

由图 3(A)和表 3 可知:60℃ 加速氧化条件下,未添加任何抗氧化剂的核桃油在 2~3 d 达到国标中过氧化值上限,相当于在 20℃ 储存 32~48 d;添加了 2% 虾青素油的核桃油在 4 d 左右达到上限,与未添加虾青素油相比,货架期在 20℃ 延长了 16 d 以上。虾青素具有极强的抗氧化性,添加虾青素油后核桃油中的维生素 E、多酚含量显著上升,这有效抑制了核桃油的氧化酸败,减缓了核桃油过氧化值的生长。效果最好的为添加 2% 虾青素油和 0.02% TBHQ 的实验组,过氧化值在 30 d 达到上限,相当于 20℃ 条件下储存 480 d,而单独添加 0.02% TBHQ 的核桃油过氧化值于 27 d 达到国标上限,两者相比较可知核桃油在 20℃ 的货架期延长了 48 d。以上结果表明,虾青素油复合 TBHQ 可能存在协同作用,从而进一步增强了核桃油的抗氧化性。贺娜等^[23]在研究 3 种抗氧化剂对核桃油稳定性的影响中发现,在云南核桃油中添加复合抗氧化剂时,其抗氧化效果远强于单独添加某单一抗氧化剂,其原因可能在于不同的抗氧化剂在发挥抗氧化效果时,二

者相互作用,产生了新的酚类化合物,从而增强了核桃油的抗氧化性^[24]。由图3(B)可知,在过氧化值达到9.85 mmol/kg的过程中,所有实验组酸价(KOH)均远小于3 mg/g,皆满足GB 2716—2018要求。结果显示,核桃油氧化速率要高于酸败速率。

3 结论

添加2%虾青素油后,核桃油的各项理化指标均在国标设定范围内,天然抗氧化成分多酚和维生素E含量分别为未添加的1.5、3.17倍,水分含量由0.34%降至0.19%,脂肪酸组成无显著性变化,虾青素油联合0.02%TBHQ能大幅度延长核桃油的货架期,该条件下核桃油在20℃的货架期为480 d。

本研究结果表明核桃油中添加2%虾青素油可显著增强其抗氧化性,延长储存时间,同时2%虾青素油联合0.02%抗氧化剂TBHQ可为延长核桃油的货架期提供一种有效策略。

参考文献:

[1] 王中奎,王超,关法春.不同产地核桃坚果的综合性状评价[J].食品科学,2013,34(15):100-103.

[2] 赵声兰,李涛,蔡绍芬,等.核桃油自氧化及其抗氧化的实验研究[J].食品工业科技,2001(2):27-29.

[3] 裴东,鲁新政.中国核桃种质资源[M].北京:中国林业出版社,2011.

[4] 夏邦旗.天然食品抗氧化剂茶多酚及其在食品工业中的应用[J].西部粮油科技,1995(1):34-37.

[5] 杨洋,韦小英,阮征.国内外天然食品抗氧化剂的研究进展[J].食品科学,2002,23(10):137-140.

[6] 吴娇,刁庆宇,白雪,等.雨生红球藻的培养及虾青素的提取与检测[J].大连民族大学学报,2019,21(5):406-411.

[7] LORENZ R T, CYSEWSKI G R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin [J]. Trends Biotechnol, 2000, 18(4): 160-167.

[8] FASSETT R G, COOMBES J S. Astaxanthin in cardiovascular health and disease [J]. Molecules, 2012, 17(2): 2030-2048.

[9] REYES F A, MENDIOLA J A, IBANEZ E, et al. Astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* using CO₂-expanded ethanol [J]. J Supercrit Fluid, 2014, 92(8): 75-83.

[10] PAZ-YÉPEZ C, PEINADO I, HEREDIA A, et al. Lipids digestibility and polyphenols release under in vitro di-

gestion of dark, milk and white chocolate [J]. J Funct Foods, 2019, 52: 196-203.

- [11] CHE R, DING K, HUANG L, et al. Enhancing biomass and oil accumulation of *Monoraphidium* sp. FXY-10 by combined fulvic acid and two-step cultivation [J]. J Taiwan Instit Chem E, 2016, 67: 161-165.
- [12] 廖惠珍,张镜源,朱萍萍.植物油恒温加速贮存实验的酸价变化及保质期预测[J].中国公共卫生,1995(12):554-556.
- [13] 张丽.核桃油脂提取及其稳定性的研究[D].新疆石河子:石河子大学,2010.
- [14] 季敏,刘忠义,张剑,等.食用油使用过程中存贮条件对其氧化稳定性的影响研究[J].中国油脂,2018,43(5):92-94.
- [15] 孙丽琴,孙立君,郑刚.不同的存放条件对油脂酸价和过氧化值的影响[J].粮油仓储科技通讯,2007(2):45-46.
- [16] 邱伟芬,王娟,徐文蕴.番茄红素在油脂氧化时的稳定性初探[J].食品科学,2003,24(1):39-42.
- [17] MIN D B, SMOUSE T H. Flavor chemistry of fats and oils [M]. Champaign, IL: AOCS Press, 1985: 39-60.
- [18] SUN B, BELCHIOR G P, RICARDO-DA-SILVA J M, et al. Isolation and purification of dimeric and trimeric procyanidins from grape seeds [J]. J Chromatogr A, 1999, 841(1):115-121.
- [19] MAKHLOUF F Z, SQVEO G, BARK T M, et al. Antioxidant activity, tocopherols and polyphenols of acorn oil obtained from *Quercus* species grown in Algeria [J]. Food Res Int, 2018, 114:208-213.
- [20] RAO A R, SARADA R, RAVISHANKAR G A. Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant [J]. J Sci Food Agric, 2007, 87(6): 957-965.
- [21] TINELLO F, LANTE A, BERNARDI M, et al. Comparison of OXITEST and RANCIMAT methods to evaluate the oxidative stability in frying oils [J]. Eur Food Res Technol, 2018, 244(4):747-755.
- [22] 王进英,钟海雁,梁永铭.油脂酸败仪操作参数对油茶籽油 OSI 测定及其货架期预测的影响 [J]. 中国粮油学报, 2016, 31(3): 124-128.
- [23] 贺娜,陈海云,宁德鲁,等.3种抗氧化剂对核桃油稳定性的影响[J].西部林业科学,2019,48(2):59-63.
- [24] BLOCK G, LANGSETH L. Antioxidant vitamins and disease prevention [J]. Food Technol, 1994, 48: 80-84.