

天然抗氧化剂对黄油氧化稳定性的影响

周何梅, 郭怡雯, 张雪怡, 黎硕硕, 倪思祺, 王晶晶, 刘淦琪, 常明, 刘睿杰

(江南大学食品学院, 江苏无锡214122)

摘要:为给黄油中复配天然抗氧化剂的开发提供思路,通过DPPH法测定DPPH自由基清除率和Rancimat法测定氧化诱导时间,研究单一和复配添加 α -生育酚、 γ -谷维素和植物甾醇3种天然抗氧化剂对黄油氧化稳定性的影响。结果表明:3种天然抗氧化剂均能提高黄油的氧化稳定性;不同复配组合对黄油氧化稳定性的影响有差异,其中 α -生育酚和 γ -谷维素(125 mg/kg和1 250 mg/kg)、 α -生育酚和植物甾醇(125 mg/kg和1 250 mg/kg)、 γ -谷维素和植物甾醇(均为800 mg/kg)3种复配组合对黄油氧化稳定性的提升较大,特别是 α -生育酚和 γ -谷维素(125 mg/kg和1 250 mg/kg)组合的氧化诱导时间可提升3.70 h,DPPH自由基清除率达80.4%,氧化稳定性能优于其他复配组合。综上,将复配天然抗氧化剂添加到黄油中可提高其氧化稳定性。

关键词:天然抗氧化剂;黄油;氧化稳定性;氧化诱导时间;DPPH自由基清除率

中图分类号:TS201.6;TS225 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2023)05-0091-05

Effects of natural antioxidants on oxidative stability of butter

ZHOU Hemei, GUO Yiwen, ZHANG Xueyi, LI Shuoshuo, NI Siqi,
WANG Jingjing, LIU Ganqi, CHANG Ming, LIU Ruijie

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: To provide ideas for the development of compounded natural antioxidants in butter, DPPH radical scavenging rate was evaluated by DPPH method and oxidation induction time was analyzed by Rancimat method. The effects of single or compound addition of three natural antioxidants, α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol on oxidative stability of butter were investigated. The results showed that all three natural antioxidants could enhance oxidative stability of butter, and different combinations had different effects on oxidative stability of butter. With the three combinations of α -tocopherol and γ -oryzanol (125 mg/kg and 1 250 mg/kg), α -tocopherol and phytosterol (125 mg/kg and 1 250 mg/kg), and γ -oryzanol and phytosterol (both 800 mg/kg) showed greater improvement in the oxidative stability of butter. In particular, the oxidation induction time of group α -tocopherol and γ -oryzanol (125 mg/kg and 1 250 mg/kg) could be increased by 3.70 h, and the DPPH radical scavenging rate reached 80.4%, and the oxidative stability was better than other combinations. In conclusion, the addition of the compounded natural antioxidants to butter can improve its oxidative stability.

Key words: natural antioxidant; butter; oxidative stability; oxidation induction time; DPPH radical scavenging rate

收稿日期:2022-02-04;修回日期:2023-01-14

基金项目:江南大学大学生创新训练计划项目(2021203Y)

作者简介:周何梅(2001),女,在读本科,食品科学与工程专业(E-mail)3084886482@qq.com。

通信作者:刘睿杰,教授,博士(E-mail)liuruijie163@163.com。

为了提高食品的氧化稳定性,延缓油脂或含油食品氧化变质,通常采用添加抗氧化剂的方法来实现。黄油作为专用油脂的一种,在其生产加工中,常用的安全、高效的化学合成抗氧化剂包括叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、特丁基对苯二酚(TBHQ)等,但随着人们对食品安全的关注,化学

合成抗氧化剂的安全性受到质疑,所以开发和利用安全性更高的天然抗氧化剂成为提高黄油抗氧化性的关键。

食用植物油中除了甘油三酯,还有少量脂质伴随物,这些脂质伴随物具有一定生物活性,对人体健康有益^[1]。脂质伴随物如 V_E 、谷维素、植物甾醇可捕获过量自由基,是良好的内源性天然抗氧化剂,在食品领域中应用广泛。 V_E 羟基上被释放的活泼氢通过与自由基结合,阻碍自由基对脂质的攻击,从而达到抑制氧化的目的,其中 α -生育酚在生物体内的生理活性最强^[2]。 γ -谷维素一方面是通过分子中阿魏酸的酚羟基基团抑制自由基的链式传递,从而表现出抗氧化性^[3];另一方面, γ -谷维素对 Fe^{2+} 有螯合作用,通过清除 DPPH 自由基来还原和抑制油脂的过氧化^[4]。植物甾醇是植物体内的一种活性成分,主要是通过清除 DPPH 自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基以及提高铁离子还原能力来实现其抗氧化作用^[5]。在油脂这个复杂体系中,这些脂质伴随物之间也存在抗氧化相互作用,共同维持油脂的稳定与健康。

目前,已有对油脂体系中天然抗氧化剂之间相互作用的相关研究,如:沙枣多酚与 V_C 、TBHQ 之间均存在协同作用^[6]; V_E 与 V_C 存在抗氧化协同作用^[7];金露梅叶与银杏叶提取物存在抗氧化协同作用^[8];茶多酚与多种抗氧化剂存在抗氧化协同作用^[9-10]。这些天然抗氧化剂的抗氧化相互作用的研究,为抗氧化剂复配打下坚实基础。但有关复配天然抗氧化剂对黄油氧化稳定性的研究较少。

本文选择 α -生育酚、 γ -谷维素和植物甾醇 3 种天然抗氧化剂添加到黄油中,通过 DPPH 法评价 DPPH 自由基清除能力和 Rancimat 法分析氧化诱导时间,研究 3 种天然抗氧化剂复配对黄油氧化稳定性的影响,以期为黄油中复配天然抗氧化剂的开发提供思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

工业化无抗人造黄油。乙酸乙酯、无水乙醇,均为分析纯,国药集团化学试剂上海有限公司;正己烷、异丙醇、甲醇,均为色谱纯,北京百灵威科技有限公司; α -生育酚标准品($\geq 95.5\%$)、植物甾醇(5% 豆甾醇、75% β -谷甾醇、15% 菜油甾醇)、DPPH、Trolox,美国 Sigma 公司; γ -谷维素(6% 菜油甾醇阿魏酸酯、50% 24-亚甲基环木菠萝醇阿魏酸酯、39% 环木菠萝烯醇阿魏酸酯),加拿大多伦多化学

研究所;37 种脂肪酸甲酯混合标准品。

电子分析天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司;旋涡混合器,江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司;电热恒温鼓风干燥箱,上海跃进医疗器械厂;数显恒温水浴锅,江苏金坛精达仪器制造厂;数显控制多管旋涡振荡器,美国奥豪斯公司;743 型油脂氧化稳定性测定仪,瑞士万通公司;UV-2100 分光光度计,Unico 公司;7280A 气相色谱仪,美国 Agilent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 添加天然抗氧化剂油样的配制

用乙酸乙酯分别配制一定质量浓度的 α -生育酚、 γ -谷维素和植物甾醇标准储备液,并保存于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 备用。将无抗人造黄油于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴熔化,分别准确称取 $(10.000 \pm 0.001)\text{ g}$ 于 20 mL 离心管中。按表 1 和表 2 用移液枪分别移取适量 α -生育酚、 γ -谷维素和植物甾醇标准储备液于离心管中,用旋涡振荡器充分混匀后用氮气将溶剂吹干,即得添加天然抗氧化剂油样。以 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 熔化的无抗人造黄油为空白样。

表 1 单一天然抗氧化剂添加量 mg/kg

α -生育酚	γ -谷维素	植物甾醇
25	250	250
50	500	500
75	750	750
100	1 000	1 000
125	1 250	1 250

表 2 复配天然抗氧化剂添加量 mg/kg

复配组合	α -生育酚	γ -谷维素	植物甾醇
1	25	250	
2	50	400	
3	75	600	
4	100	800	
5	125	1 250	
6	25		250
7	40		400
8	60		600
9	80		800
10	125		1 250
11		250	250
12		400	400
13		600	600
14		800	800
15		1 250	1 250

1.2.2 基本理化指标测定

根据 GB 5009.229—2016《食品安全国家标准

食品中酸价的测定》测定黄油的酸值;根据 GB 5009.227—2016《食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定》测定黄油的过氧化值。

1.2.3 脂肪酸组成测定

1.2.3.1 甲酯化

滴加2滴熔化的黄油到磨口烧瓶中,用2 mL 正己烷溶解,加入2 mL 0.5 mmol/L 氢氧化钾甲醇溶液甲酯化,旋涡30 s 分层,取上清液,加入无水硫酸钠干燥,过滤膜,进行气相色谱分析。

1.2.3.2 GC 分析条件

TRACE TR - FAME 毛细管柱(60 m × 0.25 mm, 0.25 μm);氢火焰离子化检测器(FID);载气(N₂)流速1 mL/min;检测器和进样口温度均为250 °C;分流比1:100;升温程序为60 °C 保持3 min,以5 °C/min 升温至170 °C,保持15 min,以2 °C/min 升温至220 °C,保持10 min;进样量1 μL。

采用37种脂肪酸甲酯混合标准品定性,采用峰面积归一法定量。

1.2.4 氧化诱导时间的测定

利用 Rancimat 法测定黄油的氧化诱导时间。称取3.000 g 样品置于反应池试管中,在加热温度140 °C、进气流量20 L/h 条件下加速氧化。空白对照组黄油的氧化诱导时间记为 I_{p0} ,实验组黄油的氧化诱导时间记为 I_p ,天然抗氧化剂作用的氧化诱导时间记为 a_{IP} , a_{IP} 计算公式如下。

$$a_{IP} = I_p - I_{p0} \quad (1)$$

采用 Bliss 相互作用评价模型,按照式(2)~式(3)计算协同度(S)^[11]。当 $S = 1$ 时为相加作用, $S > 1$ 时为协同作用, $S < 1$ 时为拮抗作用。

$$a_{IP}(d_1, d_2) = a_{IP}(d_1) + a_{IP}(d_2) - a_{IP}(d_1) \times a_{IP}(d_2)/100 \quad (2)$$

$$S = a_{IP}/a_{IP}(d_1, d_2) \quad (3)$$

式中: $a_{IP}(d_1)$ 、 $a_{IP}(d_2)$ 为单一体系中氧化诱导时间的实验值; $a_{IP}(d_1, d_2)$ 为复配体系中氧化诱导时间的理论值; a_{IP} 为复配体系中氧化诱导时间的实验值; S 为协同度。

1.2.5 DPPH 自由基清除率测定

准确称取(0.125 ± 0.001)g 油样于离心管中,加入10 mL 乙酸乙酯充分溶解制备样液,备用。分别移取2 mL 样液和2 mL DPPH 溶液,于棕色样品瓶中充分混合,室温下避光反应30 min。反应结束后,于517 nm 下测定吸光值。DPPH 自由基清除率(R)的计算公式如下。

$$R = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\% \quad (4)$$

式中: A_0 为2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 乙酸乙酯; A_1 为2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 油样乙酸乙酯溶液; A_2 为2 mL 乙酸乙酯 + 2 mL 油样乙酸乙酯溶液。

DPPH 自由基清除率协同度计算方法同1.2.4 中氧化诱导时间的协同度计算方法。

1.2.6 数据处理

每组做3次平行实验,数据以“平均值 ± 标准差”表示。采用 SPSS 25.0 和 Origin 8.0 软件处理数据和绘图。

2 结果与讨论

2.1 黄油的基本理化性质及脂肪酸组成

经测定,黄油的酸值为(0.08 ± 0.04) mg/g, 过氧化值为(0.65 ± 0.05) mmol/kg, 均符合 LS/T 3217—1987《人造奶油(人造黄油)》要求,说明黄油品质良好。

表3为黄油的脂肪酸组成及相对含量。由表3可知,黄油中饱和脂肪酸(相对含量为51.50%)和不饱和脂肪酸(相对含量为47.27%)含量相近,各约占总脂肪酸含量的一半。饱和脂肪酸以棕榈酸为主,不饱和脂肪酸以油酸为主。

表3 黄油的脂肪酸组成及相对含量

脂肪酸	相对含量/%
豆蔻酸(C14:0)	0.05 ± 0.03
棕榈酸(C16:0)	45.83 ± 0.21
十六碳一烯酸(C16:1)	0.54 ± 0.14
十七碳烷酸(C17:0)	0.09 ± 0.09
硬脂酸(C18:0)	5.13 ± 0.03
油酸(C18:1)	38.64 ± 0.24
亚油酸(C18:2)	7.96 ± 0.13
亚麻酸(C18:3)	0.13 ± 0.11
花生酸(C20:0)	0.40 ± 0.02
饱和脂肪酸(SFA)	51.50 ± 0.19
单不饱和脂肪酸(MUFA)	39.18 ± 0.17
多不饱和脂肪酸(PUFA)	8.09 ± 0.06

2.2 单一天然抗氧化剂对黄油氧化稳定性的影响(见图1)

由图1可知,3种天然抗氧化剂中,α-生育酚对黄油的抗氧化效果最好。当α-生育酚添加量为125 mg/kg 时,氧化诱导时间延长了2.15 h,相比空白组的黄油氧化诱导时间(3.24 h)增加了66.4%,能有效延缓黄油氧化。γ-谷维素对黄油的氧化稳定性有积极作用,其氧化诱导时间随γ-谷维素的含量增大而增大,但效果不如α-生育酚。此外,γ-谷维素添加量在250~500 mg/kg 范围内,黄油氧化诱导时间增长幅度较大,添加量为500~1250

mg/kg 时,氧化诱导时间增长幅度较小,这表明在较低剂量区间内 γ -谷维素抗氧化效果随其添加量增加而明显增强,较高剂量区间内效果减弱。随着植物甾醇添加量的增大,氧化诱导时间的曲线平缓,几乎无变化,说明相比空白组的氧化诱导时间未增加,可见植物甾醇对黄油氧化稳定性基本无影响。

由图 1 还可知,在 25 ~ 125 mg/kg 范围内, α -生育酚的 DPPH 自由基清除率曲线上升较快,当添加量为 125 mg/kg 时, DPPH 自由基清除率达 61.6%。 γ -谷维素的 DPPH 自由基清除率曲线的上升趋势较缓慢,在 250 ~ 1 250 mg/kg 范围内,其 DPPH 自由基清除率从 37.5% 增加到 49.6%。植物甾醇的 DPPH 自由基清除率随添加量的增加无显著变化,这可能是由于植物甾醇上的羟基为醇羟基,活泼性较差,氢键不易断裂,因此其 DPPH 自由基清除能力较差。研究表明,植物甾醇的 DPPH 自由基清除率几乎为 0^[12]。本实验测定的植物甾醇 DPPH 自由基清除率为 31% 左右,原因有待进一步考察。

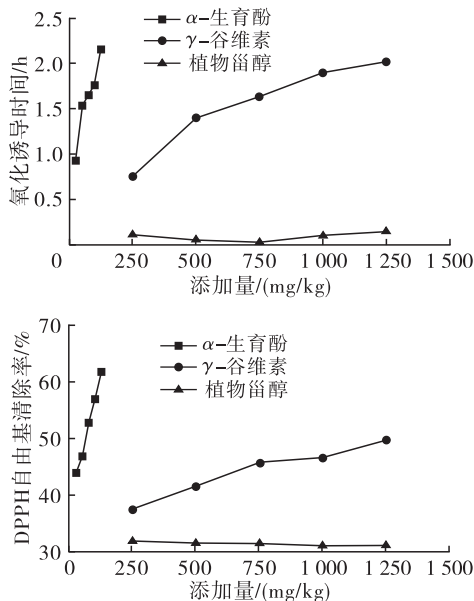


图 1 单一天然抗氧化剂对黄油氧化诱导时间和 DPPH 自由基清除能力的影响

2.3 复配天然抗氧化剂对黄油氧化稳定性的影响 (见图 2、图 3)

由图 2 可看出,随着天然抗氧化剂添加量的增加,黄油的氧化诱导时间也随之增加,且均高于单一抗氧化剂的,说明复配天然抗氧化剂均能提高黄油的氧化稳定性。由图 2a 可知,组合 1 的协同度值大于 1,氧化诱导时间实验值为 1.71 h,比理论值 (1.56 h) 高 9.6%,呈协同作用,而组合 2 ~ 5 均表现出拮抗作用,可能是由于 α -生育酚含量过高,使黄油发生了促氧化作用^[13]。由图 2b 可知,在 α -

生育酚 + 植物甾醇的复配组合下,协同度值均大于或等于 1,呈协同或相加作用。由图 2c 可知, γ -谷维素 + 植物甾醇复配后,组合 15 的协同度值小于 1,氧化诱导时间实验值为 1.82 h,比理论值 (2.09 h) 低 12.9%,其他 4 种组合下均呈协同或相加作用。由此可见,天然抗氧化剂的添加量变化对复配后二者的相互作用类型产生重要影响,与朱志友等^[14]的研究结论类似。此外, α -生育酚和 γ -谷维素复配 (组合 5) 后,黄油氧化诱导时间实验值为 3.70 h,比理论值 (4.06 h) 低 8.9%,而该添加量 α -生育酚和植物甾醇复配 (组合 10) 后,黄油氧化诱导时间为 2.40 h,比理论值 (2.20 h) 高 9.1%,造成这种差异可能是由于 γ -谷维素和植物甾醇氧化稳定性存在差异,导致与 α -生育酚复配后的相互作用效果不同。

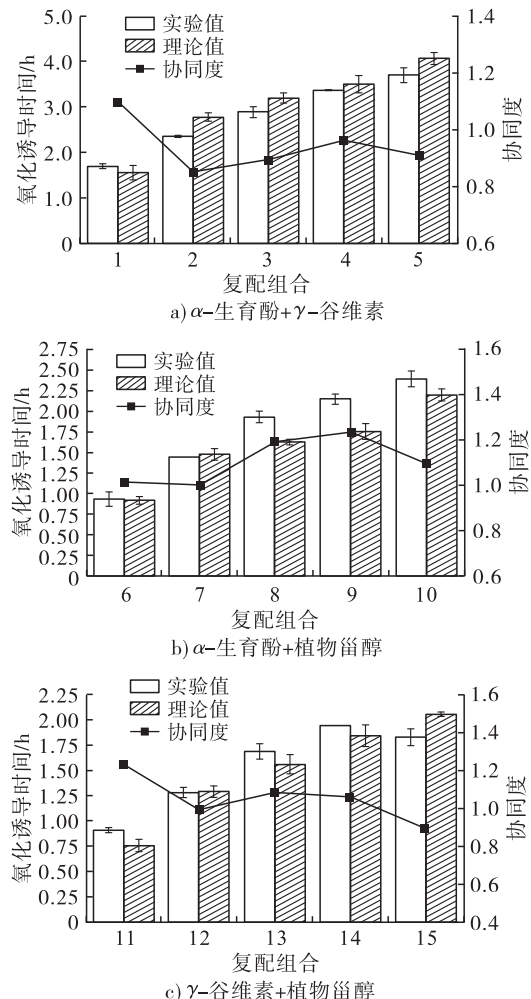


图 2 氧化诱导时间的理论值、实验值及协同度

由图 3 可看出,除组合 5 外,3 种天然抗氧化剂在所有复配组合中协同度都小于 1,表现为拮抗作用,可能是由于在非极性介质中,天然抗氧化剂之间形成了氢键,使得复配后 DPPH 自由基清除能力降低^[12],整体呈现拮抗作用。组合 1 的 DPPH 自由基

清除率为52.0%,比理论值(64.9%)低19.9%,在该添加量下 α -生育酚单独作用时DPPH自由基清除率为43.7%,与植物甾醇复配(组合6)后,DPPH自由基清除率为43.8%,比理论值(61.7%)低29.0%,可见同一添加量下, α -生育酚和植物甾醇复配后的拮抗作用更强。此外,随着复配添加量的升高,天然抗氧化剂之间的拮抗作用逐渐减弱,这与沈维治等^[15]的研究结果一致。低添加量时协同度较低,可能是因为 γ -谷维素和植物甾醇对 α -生育酚影响较大,而在高添加量时, γ -谷维素和植物甾醇与 α -生育酚之间的DPPH自由基清除能力差距越来越大,因此对 α -生育酚影响变小,从而使理论值和实验值之间差值减小,协同度逐渐接近1。

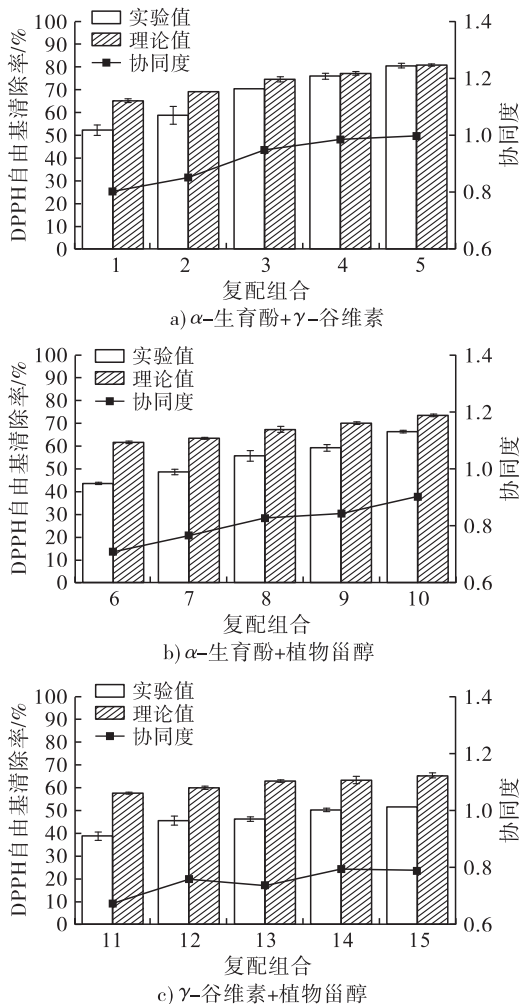


图3 DPPH自由基清除能力的理论值、实验值及协同度

3 结论

3种天然抗氧化剂均能提高黄油的氧化稳定性,不同复配组合对黄油氧化稳定性的影响有差异,其中 α -生育酚和 γ -谷维素(125 mg/kg和1250 mg/kg)、 α -生育酚和植物甾醇(125 mg/kg和1250 mg/kg)、 γ -谷维素和植物甾醇(均为800 mg/kg)这3种抗氧化剂的复配组合对黄油氧化稳定性的提

升较大,且对DPPH自由基清除能力较强,特别是 α -生育酚和 γ -谷维素(125 mg/kg和1250 mg/kg)组合氧化诱导时间可提升3.70 h,DPPH自由基清除率达到80.4%,氧化稳定性优于其他复配组合。

参考文献:

- [1] 金青哲,王兴国,刘国艳.食用油中脂肪伴随物的营养与功能[J].中国粮油学报,2012,27(9):124-128.
- [2] 阚建全,谢笔钧.食品化学[M].北京:中国农业大学出版社,2008:205.
- [3] 龚院生,姚惠源.米糠中 γ -谷维醇抗氧化功能与分子结构的关系[J].无锡轻工大学学报,2002(5):439-442,451.
- [4] LAI P, LI K Y, LU S, et al. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from *Japonica* rice bran[J]. Food Chem, 2009, 117(3): 538-544.
- [5] 刘晓飞,宋洁,王薇,等.发芽糙米植物甾醇的提取优化及抗氧化性研究[J].哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2019,35(1):44-48,70.
- [6] 刘丹丹,刘红,马彦梅,等.沙枣多酚与常用抗氧化剂抗氧化能力的比较及其协同作用研究[J].时珍国医国药,2011,22(2):377-378.
- [7] 刘国安,李杰林,李双越,等.维生素C和维生素E的联合抗氧化活性研究[J].西北师范大学学报(自然科学版),2015,51(2):66-72,84.
- [8] 王珊珊.金露梅与EGb761的抗氧化协同效应及其机制初探[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [9] CELIK E E, GOKMEN V. Investigation of the interaction between soluble antioxidants in green tea and insoluble dietary fiber bound antioxidants[J]. Food Res Int, 2014, 63: 266-270.
- [10] 孙世利,刘淑媚,赵超艺,等.茶多酚与维生素C/E的协同抗氧化作用研究[J].广东农业科学,2013,40(1):96-98.
- [11] ESPIN J C, SOLER RIVAS C, WICHERS H J. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(3): 648-656.
- [12] 黄滢璋,赵雁武,周振中.植物甾醇清除自由基活性研究[J].粮食科技与经济,2012,37(4):40-41,45.
- [13] 朱雪梅,吴俊锋,胡蒋宁,等. α -生育酚在花生油、芝麻油和菜籽油中的抗氧化效能[J].食品与发酵工业,2013,39(10):85-90.
- [14] 朱志友,陈晓蕾,毛宁宏,等.园林废弃物黄酮协同抗氧化作用研究[J].浙江树人大学学报(自然科学版),2016,16(3):17-21.
- [15] 沈维治,廖森泰,林光月,等.桑叶多酚单体化合物的抗氧化活性及其协同作用[J].蚕业科学,2015,41(2):342-348.