

# 天然复合抗氧化剂对 DHA 抗氧化作用的研究

陈琳, 肖宗源\*

(厦门大学化学化工学院, 厦门市 361005)

**摘要:** 本实验采用 Schaal 烘箱加速实验法, 在 Design Expert 软件中的三因素三水平实验基础上, 以过氧化值 (POV 值) 作为油脂稳定性的评价指标, 研究茶多酚、番茄红素、柠檬酸三种天然复合抗氧化剂对藻油 DHA 抗氧化性能的影响。利用响应面分析法, 建立了影响过氧化值的主要因素二次多项数学模型, 其二次回归方程的决定系数达到 0.9728。结果表明, 茶多酚、番茄红素、柠檬酸三种天然抗氧化剂中, 番茄红素对过氧化值线性效应一般显著, 茶多酚和柠檬酸交互作用对过氧化值线性效应高度显著。由 Design Expert 软件优化得到 21 组抗氧化剂复配组合, 并最终确定最优配比为: 番茄红素 0.04%, 柠檬酸 0.30%, 茶多酚 0.12%, 理论过氧化值为 0.094。最后利用水平验证实验进行了验证, 其过氧化值为 0.092, 与理论值误差为 2.13%, 表明实验值与预测值之间拟合性好。

**关键词:** 天然抗氧化剂; DHA; 二次回归模型; Design Expert

**中图分类号:** TS202.3      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1006-2513(2012)03-0055-05

## A study of the antioxidative activity of natural composite antioxidants on docosahexenoic acid oil

CHEN Lin, XIAO Zong-yuan\*

(College of Chemistry & Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract:** The antioxidative activity of tea polyphenols, lycopene and citric acid on DHA oil was studied by the Schaal oven accelerated tests with three factors - levels experiments designed by the Design Expert software system, and the POV was used as oil stability evaluation index. The quadratic polynomial model of main factors influencing the peroxide value was established by Response Surface Analysis, and the R - squared in the model of regression equation was 0.9728. The results showed that lycopene had moderate linear effect on oxidative value, but the linear effect of interaction between tea polyphenols and citric acid was extremely remarkable. Ultimately, 21 kinds of composite antioxidants were obtained by Design Expert software optimizing, and the optimum proportion was: 0.04 citric acid, 0.30 lycopene and 0.12 tea polyphenols. The theory peroxide value was 0.094. the result was validated by parallel demonstrating test with peroxide value of 0.092. The error between the theoretical value and the experimental value was 2.13% which showed a good linear fit.

**Key words:** natural composite antioxidants; docosahexenoic acid; quadratic regression equation; Design Expert

DHA (二十二碳六烯酸) 俗称脑黄金, 属于  $\omega-3$  系多不饱和脂肪酸, 目前现实和潜在的来源

主要包括鱼油加工产品、海洋微藻类以及某些真菌类等<sup>[1]</sup>。DHA 作为一种必需的脂肪酸, 有增强

收稿日期: 2012-01-13

\* 通信作者

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2009J05036)。

作者简介: 陈琳 (1985 年), 男, 硕士研究生, 研究方向为 “DHA 微胶囊化”。

记忆与思维、提高智力等显著的作用<sup>[2]</sup>，对维持各种组织的功能也必不可少，还有预防近视和改善视力的作用，缺乏时可引发一系列症状<sup>[3]</sup>。由于 DHA 对大脑及视力有重要的保健价值，国外已把 DHA 作为营养保健食品添加剂，我国也开发了不少 DHA 保健食品。但由于 DHA 极易受光、氧、热、金属元素以及自由基的影响而发生氧化。被氧化的 DHA 不仅失去了原有的营养和医药价值，而且对人体有害。氧化产物丙二醛能使体蛋白交链而使肌肉失去弹性，黑色素增多，是人体老化的重要因素。脂类氧化物还能使血管粥样状化、损坏血管内壁使之变脆，导致高血压和脑溢血<sup>[4]</sup>。因此，添加抗氧化剂来防止 DHA 被氧化是简单、经济而又理想的方法。

常用的油脂人工合成抗氧化剂有叔丁基羟基茴香醚 (BHA)、二叔丁基羟基甲苯 (BHT)、没食子酸丙酯 (PG) 等<sup>[5]</sup>。由于我国食品添加剂管理条例日益完善和严格，这些常用人工合成抗氧化剂虽然价格低廉，但具有毒性，而且抗氧化性能较低，所以在食品方面，尤其是保健食品以及婴幼儿食品的应用上受到诸多限制。另一方面，目前诸多研究表明，不同抗氧化剂复合使用时，其抗氧化效果往往优于单一抗氧化剂的抗氧化效果。如李书国等人对核桃油的研究中发现，当 2 种或 2 种以上的抗氧化剂复合使用时，其效果比单一抗氧化剂效果好<sup>[6]</sup>。因此，本文在参考抗氧化剂国家标准限量使用范围的基础上，以过氧化值 (POV) 作为油脂稳定性的评价指标，采用 Design Expert 软件中水平设计和响应面分析法对三种天然抗氧化剂茶多酚、番茄红素和柠檬酸的复配进行优化，研究其对 DHA 抗氧化活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

藻油 DHA，浙江亿叠生物科技有限公司；茶多酚、番茄红素、柠檬酸均为食品级抗氧化剂，上海吉天食品有限公司；氯化铁、氯化亚铁、三氯甲烷、甲醇、硫氰酸钾、乙醚、乙醇、氢氧化钾等均为分析纯，国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器

DHG-9076A 型电热鼓风干燥箱 (上海精宏

实验设备有限公司)；PL203 型电子分析天平 (METTLER TOLEDO)；756 型紫外可见分光光度计 (上海光谱仪器有限公司) 以及测定油脂过氧化值 (POV) 所需的玻璃仪器等。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 Design Expert 水平设计

根据食品抗氧化剂添加标准和各种抗氧化性能强弱，利用 Design Expert 软件中 Box - Behnken 的中心组合实验设计原理，以茶多酚、番茄红素和柠檬酸添加量作为三因素进行水平设计，实验设计见表 1。

表 1 实验因素水平表

因素	水平		
	-1	0	1
A 番茄红素 (%)	0.04	0.12	0.2
B 柠檬酸 (%)	0.1	0.2	0.3
C 茶多酚 (%)	0.04	0.12	0.2

表 1 中三种抗氧化剂用量均为质量分数，以下未注明均为质量分数。

### 1.3.2 油脂加速氧化试验

采用 Schaal 烘箱法<sup>[7]</sup>，将藻油 DHA 试样各 100g 分别盛放于棕色广口瓶中，再按照 Design Expert 设计的三种天然抗氧化剂质量分数分别将其添加于棕色广口瓶中，同时置于 63 (±1) °C 的恒温烘箱中进行强制氧化，6 天后取样，进行 POV 测定。

### 1.3.3 POV 测定

参照 GB/T 5538 - 2005 《动植物油脂过氧化值测定》国家标准。

### 1.3.4 响应面分析

以茶多酚、番茄红素和柠檬酸作为三因素，POV 值作为响应指标，通过 Design Expert 软件对实验数据进行回归分析，预测天然抗氧化剂的复配最优组合。

## 2 结果与讨论

### 2.1 响应面设计结果及二次方模型建立

实验严格按照 Design Expert 水平设计，对茶多酚、番茄红素和柠檬酸进行三因素三水平的响

应面分析实验。实验因素水平设计和结果如表 2 所示。

表 2 响应面分析实验设计及结果

实验号	A	B	C	POV 值	
				预测值	实际值
1	-1	-1	0	0.15	0.15
2	1	-1	0	0.17	0.17
3	-1	1	0	0.15	0.15
4	1	1	0	0.16	0.16
5	-1	0	-1	0.15	0.15
6	1	0	-1	0.16	0.16
7	-1	0	1	0.15	0.14
8	1	0	1	0.16	0.16
9	0	-1	-1	0.16	0.15
10	0	1	-1	0.094	0.087
11	0	-1	1	0.10	0.11
12	0	1	1	0.15	0.15
13	0	0	0	0.12	0.12
14	0	0	0	0.12	0.13
15	0	0	0	0.12	0.13

以 POV 值为响应指标，利用 Design Expert 软件对表 2 进行二次多元回归拟合，得到 POV 值对编码自变量 A、B、C 的二次多项回归方程：

$$Y = 0.12 + 6.000 \times 10^{-3} \times A - 3.875 \times 10^{-3} \times B + 6.250 \times 10^{-4} \times C - 3.500 \times 10^{-3} \times A \times B + 2.500 \times 10^{-3} \times A \times C + 0.027 \times B \times C + 0.031 \times A^2 + 2.423 \times 10^{-3} \times B^2$$

响应面分析中对实验结果进行拟合的二次模型方差分析见表 3。F 值为 26.77，多元相关系数  $R^2$  为 0.9728，说明模型对实际情况拟合较好；P 值为 0.0004 表明该模型高度显著，可以用来进行响应值预测。二次模型中回归系数的显著性检验表明：因素  $A^2$  对 POV 值的线性效应高度显著（ $P < 0.001$  表示该因素对实验结果影响高度显著）；因素 A 对 POV 值的线性效应一般显著（ $P < 0.05$  表示该因素对实验结果影响一般显著）；BC 交互

作用对 POV 值线性效应影响高度显著；因素 B、C、 $B^2$  以及 AB、AC 交互影响不显著（ $P > 0.05$  表示该因素对实验结果影响不显著）。

表 3 二次方模型置信度分析

方差来源	偏差平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
模型	$6.950 \times 10^{-3}$	8	$8.688 \times 10^{-4}$	26.77	0.0004
A	$2.880 \times 10^{-4}$	1	$2.880 \times 10^{-4}$	8.88	0.0247
B	$1.201 \times 10^{-4}$	1	$1.201 \times 10^{-4}$	3.70	0.1027
C	$3.125 \times 10^{-6}$	1	$3.125 \times 10^{-6}$	0.096	0.7668
AB	$4.900 \times 10^{-5}$	1	$4.900 \times 10^{-5}$	1.51	0.2651
AC	$2.500 \times 10^{-5}$	1	$2.500 \times 10^{-5}$	0.77	0.4138
BC	$2.970 \times 10^{-3}$	1	$2.970 \times 10^{-3}$	91.54	<0.0001
$A^2$	$3.495 \times 10^{-3}$	1	$3.495 \times 10^{-3}$	107.69	<0.0001
$B^2$	$2.181 \times 10^{-5}$	1	$2.181 \times 10^{-5}$	0.67	0.4437
残差	$1.947 \times 10^{-4}$	6	$3.245 \times 10^{-5}$		
失拟	$1.940 \times 10^{-4}$	4	$4.851 \times 10^{-5}$	145.52	0.0068
纯误差	$6.667 \times 10^{-7}$	2	$3.333 \times 10^{-7}$		
总和	$7.145 \times 10^{-3}$	14			

## 2.2 响应面优化

由多元回归方程式做响应曲面图及其等高线图，可对任何两个因素交互影响下的过氧化值进行分析与评价，以确定最佳因素水平范围。

图 1 显示了当茶多酚质量分数在 0.12‰ 时，番茄红素和柠檬酸加入量对过氧化值的交互影响。柠檬酸质量分数一定时，随着番茄红素质量分数的增加，POV 值呈现下降趋势，但是当其质量分数超过约 0.12‰ 后，随着番茄红素质量分数的增加，POV 值反而出现上升。当番茄红素质量分数一定时，柠檬酸质量分数增加，POV 值没有明显变化，故番茄红素和柠檬酸质量分数之间对 POV 值的交互影响并不显著。

图 2 显示了当柠檬酸质量分数在 0.2‰ 时，茶多酚和番茄红素加入量对过氧化值的交互影响。茶多酚质量分数一定时，随着番茄红素质量分数的增加，POV 值呈现下降趋势，但是当其质量分数超过约 0.12‰ 后，随着番茄红素质量分数的增加，POV 值反而出现上升。当番茄红素含量

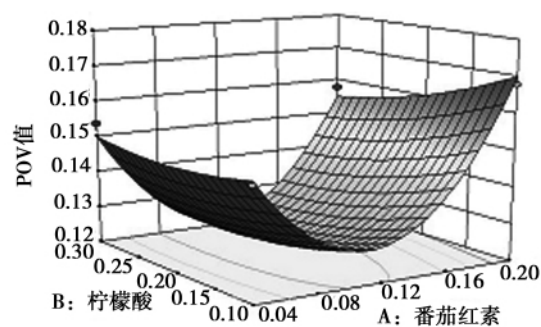
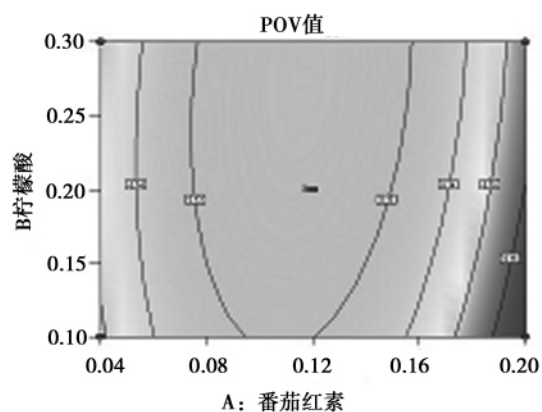


图1  $Y=f(A, B)$  响应面立体图

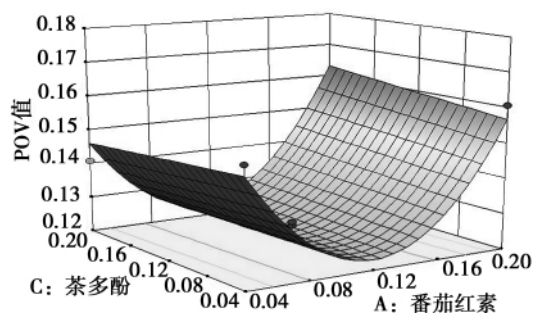
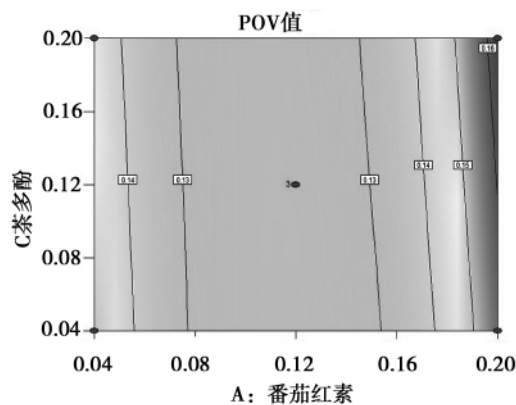


图2  $Y=f(A, C)$  响应面立体图

一定时, 茶多酚含量增加, POV 值没有明显变化, 故茶多酚和番茄红素含量之间对 POV 值的交互影响并不显著。

图3显示了当番茄红素含量在0.12‰时, 柠檬酸和茶多酚加入量对过氧化值的交互影响。茶多酚含量低时, 随着柠檬酸含量的增加, POV 值呈现下降趋势, 但当茶多酚含量高时, 随着柠檬酸含量的增加, POV 值反而出现上升。柠檬酸含量一定时, 茶多酚含量与 POV 值也呈现类似变化, 故茶多酚和柠檬酸含量对 POV 值的交互影响显著。

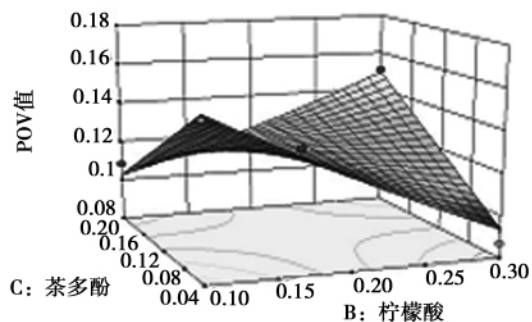
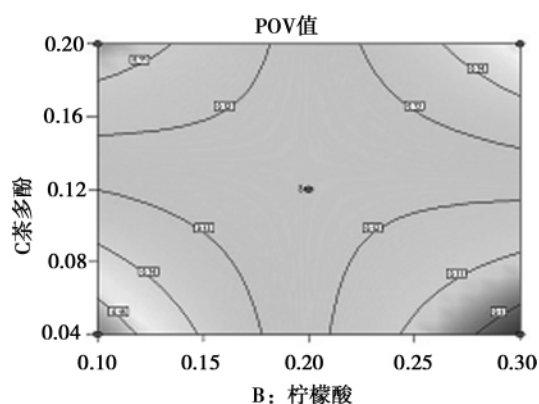


图3  $Y=f(B, C)$  响应面立体图

由 Design Expert 软件优化得到 21 组抗氧化剂复配组合, 最终确定最优配比为: 番茄红素 0.04‰, 柠檬酸 0.30‰, 茶多酚 0.12‰, 理论 POV 值为 0.094。

### 2.3 验证实验

按照优化后的天然抗氧化剂复配比例: 番茄红素 0.04‰, 柠檬酸 0.30‰, 茶多酚 0.12‰, 进行了抗氧化性研究验证实验, POV 值为 0.092。与理论值误差为 2.13%, 表明实验值与预测值之间拟合性好。

### 3 结论

目前,人工合成抗氧化剂的安全性受到质疑。以天然抗氧化剂取代合成抗氧化剂是今后食品工业的发展趋势,开发实用、高效的天然抗氧化剂仍是抗氧化剂研究的重点。本研究通过优化番茄红素、茶多酚和柠檬酸的复配工艺,以达到提高抗氧化性能的目的,在三因素三水平实验基础上,利用 Design Expert 软件进行响应面分析,建立了影响 POV 值的主要因素的二项多项数学模型,得到天然抗氧化剂最优组合,即番茄红素 0.04%,柠檬酸 0.30%,茶多酚 0.12%,并利用水平验证实验进行了验证,其 POV 值为  $0.092 \pm 0.005$ ,结果表明模型与实验拟合性好。

#### 参考文献:

- [1] 姜剑锋,赵丽芹,陈涛,等. DHA 的来源及寇氏隐甲藻生产 DHA 的研究 [J]. 内蒙古农业科技, 2011 (3): 109 - 112.
- [2] Byard R W. Sudden infant death syndrome: effect of breast and formula feeding on frontal cortex and brainstem lipid composition [J]. Paediatr Child Health, 1995, 31 (1): 14 - 16.
- [3] Agren J J. Fish diet, fish oil and docosahexaenoic acid rich oil lower fasting and postprandial plasma lipid levels [J]. Clinical Nutrition, 1996, 50 (2): 765 - 771.
- [4] 翁新楚,董新伟,任国谱. EPA 和 DHA 的生理功能及其氧化稳定性 [J]. 生物工程进展, 1994, 14 (5): 56 - 60.
- [5] 胡国华. 食品添加剂应用基础 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [6] 李书国,陈辉,李雪梅. 油脂抗氧化剂分析检测技术与方法研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2007 (10): 42 - 45.
- [7] 翁新楚,吴侯. 抗氧化剂的抗氧化活性的测定方法及其评价 [J]. 中国油脂, 2000, 25 (6): 119 - 122.



## 合肥世杰膜工程有限责任公司

——膜过滤、分离、纯化、脱盐、浓缩专家

世杰®是专业致力于膜分离技术研发和膜分离系统制作的高科技股份制企业,是中国膜工业协会理事单位。公司拥有先进的陶瓷微滤、陶瓷超滤、陶瓷复合(特种)、有机超滤、纳滤、反渗透以及工业化膜集成工艺技术,专业为客户提供全方位的膜技术咨询(膜技术服务与支持)、成套膜分离系统设计、制作、安装、调试、维护、操作培训以及膜分离单元的工艺设计、工艺创新、工艺整合等专业服务。

世杰®成套膜分离系统成功应用领域涉及食品工业、饮料工业、植物提取、色素、食品添加剂、生物发酵、生物医药、中药、医药化工、精细化工、环保、石油和资源回收等。世杰®膜分离系统可经济、高效地实现各类物料的澄清、除菌、除杂、过滤、分离、纯化、脱盐以及浓缩过程。

世杰®在国内率先成功开发出了首条应用在植物提取、生物发酵和精细化工领域的新型膜法集成工艺;并在大力推进膜技术产业化升级的同时有力地带动相关行业工艺、装备、技术的升级和产品的更新换代,提高相关行业产品在其同行中的市场占有率和竞争力。与此同时,世杰®还不断致力于行业间的技术交流与合作,加强与高校、院所和科研单位的横向联系,不断吸收先进经验,开拓创新膜工艺!

欢迎登陆 [Http: //www. sjm - filter. com. cn](http://www.sjm-filter.com.cn), 获取更多信息!