

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2019.01.038

pH值和EGCG对 β -胡萝卜素乳液化学稳定性的影响

刘蕾¹ 陈历水^{1,2} 马莺³ 高彦祥⁴ 李慧^{1,5} 杨海莺^{1,2}

(1. 中粮营养健康研究院有限公司品牌食品研发中心, 北京 102209; 2. 老年营养食品研究北京市工程实验室, 北京 102209; 3. 哈尔滨工业大学化工与化学学院, 哈尔滨 150090; 4. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 5. 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209)

摘要: 以 β -胡萝卜素为芯材, 利用 α -乳白蛋白(α -LA)为乳化剂制备了不同pH值的乳液, 并利用表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)作为抗氧化剂添加到乳液中, 考察了不同pH值条件下, EGCG对 β -胡萝卜素乳液化学稳定性的影响, 探索了EGCG抗氧化机理。结果表明: 在pH值2.0和pH值7.0的 β -胡萝卜素乳液中, EGCG可以作为抗氧化剂抑制 β -胡萝卜素降解。在pH值2.0的乳液中, 未添加EGCG和添加了0.500 0% EGCG的乳液在贮藏7 d后, β -胡萝卜素的保留率分别为50.45%和89.37%; 在pH值7.0的乳液中, 未添加EGCG与添加了0.100 0% EGCG的乳液中, β -胡萝卜素的保留率分别为83.97%和93.48%, 贮藏前后 β -胡萝卜素乳液的色差发生显著变化($P < 0.05$)。

关键词: β -胡萝卜素; 乳状液; pH值; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 化学稳定性

中图分类号: TS201.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2019)01-0339-07

Influence of pH and (-)-Epigallocatechin-3-gallate on Chemical Stability of β -Carotene Emulsions

LIU Lei¹ CHEN Lishui^{1,2} MA Ying³ GAO Yanxiang⁴ LI Hui^{1,5} YANG Haiying^{1,2}

(1. Brand Food R&D Center, COFCO Nutrition and Health Research Institution, Beijing 102209, China

2. Beijing Engineering Laboratory for Geriatric Nutrition Food Research, Beijing 102209, China

3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China

4. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

5. Beijing Key Laboratory of Nutrition and Health and Food Safety, Beijing 102209, China)

Abstract: β -Carotene is used as a precursor of vitamin A with potent antioxidant activity through singlet oxygen quenching and deactivation of free radicals. Nevertheless, the chemical instability of β -carotene limits its utilization as a nutraceutical ingredients in food industry. Tea polyphenols are often regarded as a highly effective antioxidant for some food applications. Antioxidants such as (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) can play dual role in lipid oxidation in oil-in-water emulsions in that it can scavenge free radicals but can also reduce transition metals to make them more prooxidative. Therefore, it is important to test the effect of EGCG on β -carotene degradation before it was used in foods. The chemical properties of β -carotene emulsions were characterized, which were stabilized by α -lactalbumin (α -LA) at different pH values with EGCG as antioxidant. β -Carotene concentration and color during storage as well as interfacial EGCG concentration of the emulsions were measured. EGCG can inhibit β -carotene degradation in emulsions at both pH values. After 7 d storage, the percentage of β -carotene remained in the emulsions at pH value of 2.0 without EGCG and with 0.500 0% EGCG was 50.45% and 89.37%, respectively. When the maximum concentration of EGCG (0.100 0%) was added to the emulsion at pH value of 7.0, 93.48% of the total β -carotene remained after 7 d storage. The color was changed by EGCG addition in emulsions at pH value of 7.0, however, EGCG had no effect on the color of emulsions at pH value of 2.0. The concentration of interfacial EGCG was higher in the emulsions at pH value of 7.0 than that in the emulsions at pH value of 2.0 which can result in higher β -carotene remaining rate in the emulsions at pH value of 7.0.

Key words: β -carotene; emulsion; pH value; (-)-epigallocatechin-3-gallate; chemical stability

收稿日期: 2018-11-09 修回日期: 2018-11-30

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31371835)

作者简介: 刘蕾(1987—), 女, 博士后, 主要从事功能食品研究, E-mail: liulei5@cofco.com

通信作者: 高彦祥(1961—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事功能食品研究, E-mail: drgyx@sina.com

0 引言

β -胡萝卜素是一种脂溶性类胡萝卜素,是合成维生素 A 的前体物质,具有猝灭单线态氧和使自由基失活等多种生物学功能。在食品工业中,由于 β -胡萝卜素在水中的溶解度低、熔点高、在光和热的环境中容易发生化学降解等性质,限制了其广泛应用。近年来,有学者利用水包油的乳液进行了 β -胡萝卜素传递系统的制备,此体系成本较低,可有效提高 β -胡萝卜素的水溶性、稳定性及生物利用率^[1-2]。

茶叶富含多酚类物质,其富含的茶多酚因对人体无害并具有较高的抗氧化活性越来越受到关注,其中表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是茶多酚中含量最高同时抗氧化活性最强的物质。EGCG 在乳液中有双重作用,既可以发挥抗氧化作用也可以发挥促氧化作用。ZHOU 等^[3]研究了在水包亚麻籽油的乳液中,EGCG 添加量和乳液 pH 值对 EGCG 抗氧化和促氧化活性的影响。结果表明,在 pH 值为 2~4,EGCG 添加量为 5~100 $\mu\text{mol/L}$ 时,EGCG 对亚麻籽油在乳液中的氧化起促进作用;但在较高的 pH 值条件下(5~7),EGCG 添加量在 25~500 $\mu\text{mol/L}$ 时,EGCG 可以抑制亚麻籽油的氧化。因此,乳液 pH 值和 EGCG 添加量同时影响 EGCG 的抗氧化作用。

目前,利用抗氧化剂抑制 β -胡萝卜素在乳液中降解的报道较少。QIAN 等^[4]报道了将油溶性抗氧化剂(辅酶 Q_{10})和水溶性抗氧化剂(EDTA(乙二胺四乙酸)和维生素 C)加入以吐温 20 和 β -乳球蛋白为乳化剂的 β -胡萝卜素乳液中,结果表明 EDTA 和辅酶 Q_{10} 比维生素 C 对 β -胡萝卜素的保护效果好。

本文在不同 pH 值的 β -胡萝卜素乳液中,添加不同含量的 EGCG,测定贮藏期间 EGCG 对乳液中 β -胡萝卜素含量和贮藏前后色差的影响。研究 EGCG 影响乳液化学稳定性的机理,测定界面 EGCG 含量,以期将 EGCG 作为抗氧化剂添加到 β -胡萝卜素乳液中提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

α -LA 购于美国 DAVISCO 公司,纯度为 95% 以上;EGCG 购于北京北实纵横科技发展有限公司,纯度为 99.5% 以上;中链三酸甘油酯(Medium chain triacylglycerol, MCT)购于奎斯特国际有限公司;30% β -胡萝卜素-MCT 悬浮液购于浙江医药有限

公司新昌制药厂;柠檬酸、磷酸氢二钠、正己烷、碳酸钠、磷酸、无水乙醇均购自北京化工厂,纯度为 99.5% 以上;福林-酚试剂、叠氮化钠购于美国 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

M-110 型高压微射流均质机,美国 Microfluidizer 公司;HD-1 型高速乳化均质机,北京华远航实验设备厂;UV-1800 型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;RC2-S 型超高速离心机,美国 Sorvall 仪器公司;HSP-150 型恒温恒湿培养箱,江苏友联仪器研究所;S22-2 型恒温磁力搅拌器,上海司乐仪器有限公司;WSC-S 型色差计。

1.3 方法

1.3.1 β -胡萝卜素乳液制备

将质量分数 1.5% α -LA 溶解于 0.1 mol/L pH 值 2.0 或 pH 值 7.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液中,在室温(20 $^{\circ}\text{C}$)下搅拌 4 h 至 α -LA 全部溶解,待用。将 30% β -胡萝卜素-MCT 悬浮液加热溶解于 MCT 中至其完全溶解待用,溶解方法参照 XU 等^[5]的方法,并做一定调整。

在高速剪切仪的搅拌下将溶解有 β -胡萝卜素的 MCT 缓慢加入 α -LA 溶液中,12 000 r/min 剪切 10 min,形成粗乳液。将制备的粗乳液进一步通过微射流(82.7 MPa)均质,循环 3 次^[6]。由此制备的 β -胡萝卜素乳液(10% 油相(含有 0.5% β -胡萝卜素),1.5% α -LA)用于后续实验。取制备好的 β -胡萝卜素乳液与不同浓度的 EGCG 缓冲溶液等质量混合。乳液中各组分的最终质量分数为:MCT 5% (其中含有 0.5% β -胡萝卜素), α -LA 0.75%。pH 值 2.0 乳液中 EGCG 添加量:0.002 5%、0.005 0%、0.010 0%、0.020 0%、0.050 0%、0.100 0%、0.200 0%、0.400 0%、0.500 0%;pH 值 7.0 乳液中 EGCG 添加量:0.002 5%、0.005 0%、0.010 0%、0.020 0%、0.050 0%、0.100 0%。

1.3.2 β -胡萝卜素含量测定

为加快 β -胡萝卜素乳液的氧化,将 β -胡萝卜素乳液置于棕色实验瓶中于 55 $^{\circ}\text{C}$ 下在恒温恒湿培养箱中贮藏 7 d。取稀释一定倍数的 β -胡萝卜素乳液 1.0 mL,加入乙醇和正己烷(体积比为 1:2)的混合液,振荡,取上层萃取液。对样品重复萃取 3 次,合并上层萃取液,并于 10 mL 容量瓶中定容,测其在 450 nm 处的吸光度。根据 β -胡萝卜素标准曲线计算出 β -胡萝卜素的保留率。结果以 $\frac{C}{C_0} \times 100\%$ 表示,其中 C 为贮藏一定时间后乳液中 β -胡萝卜素的

浓度, C_0 为乳液中 β -胡萝卜素的初始浓度^[7]。

1.3.3 β -胡萝卜素乳液色差测定

利用 WSC-S 型色差计测定 β -胡萝卜素乳液贮藏前后色差。仪器采用标准白板进行校正, 每个乳液样品重复测定 3 次, 取平均值。色差参数包括 L 值, a 值, b 值。其中 L 值表示黑白或亮暗, 正值表示偏白, 负值表示偏暗; a 值表示红绿, 正值表示偏红, 负值表示偏绿; b 值表示黄蓝, 正值表示偏黄, 负值表示偏蓝^[8]。

颜色由亮度和色度共同表示, 其中色度是不包括亮度在内的颜色性质。色调是由物体反射的光线中以哪种波长占优势来决定的, 不同波长产生不同颜色感觉, 色调是颜色的重要特征。色度 C_{ab} 和色调 H_{ab} 计算公式为

$$C_{ab} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (1)$$

$$H_{ab} = \arctan \frac{a}{b} \quad (2)$$

1.3.4 乳液界面 EGCG 含量测定

为测定界面 EGCG 含量, 通过超高速离心法将乳液中游离相 EGCG 与界面上 EGCG 分离。参照 FARAJI 等^[9]的方法, 将乳液置于 10 mL 的超高速离心管中, 在超高速离心机中离心 50 min, 离心力为 36 000 g 。为避免 β -胡萝卜素在离心过程中发生氧化, 将离心机温度设定在 10℃。离心结束后, 利用带有长针头的注射器小心分离下层清液和上层乳析层。

取一定体积的下清液通过孔径 0.1 μm 的聚偏二氟乙烯 (Polyvinylidene Fluoride, PVDF) 膜进行过滤, 去掉较大液滴乳析层颗粒^[10]。取 0.5 mL 过滤后的下清液, 加入 2.5 mL 0.2 mol/L 福林-酚试剂, 振荡 20 s 后反应 5 min, 再加入 2.0 mL 0.075 g/mL 碳酸钠溶液, 振荡 20 s 后避光反应 2 h。反应后溶液在 760 nm 处测定吸光度。空白对照以去离子水代替样品进行反应^[11]。

1.4 数据分析

在所有实验中, 每个样品设置 3 个平行样品, 并根据实验结果计算平均值和标准差。实验中使用 GraphPad prism 5 (美国 GraphPad Software 公司) 软件, 利用 ANOVA 方差分析和 Turkey 检验进行结果的显著性分析。

2 结果与分析

2.1 β -胡萝卜素降解

茶多酚在水包油的乳液体系中可以起到双重作用, 因其本身较强的提供氢原子和接受自由基的作用使其具有较强的抗氧化作用^[12-13], 但在一定条件

下, 由于茶多酚可以提高金属离子的促氧化作用, 使得由金属离子催化的氧化反应高于由自由基反应引起的氧化反应, 因此在乳液中表现出促氧化作用^[2, 14-15]。影响茶多酚发挥抗氧化作用和促氧化作用的因素有乳液的 pH 值和乳液中茶多酚的添加量^[16]。为了确定茶多酚在水包油的乳液中对 β -胡萝卜素的降解作用, 研究了不同 pH 值 (2.0 和 7.0) 和 EGCG 添加量 (0.002 5% ~ 0.500 0%) 对乳液中 β -胡萝卜素降解的影响, 结果如图 1 和图 2 所示。

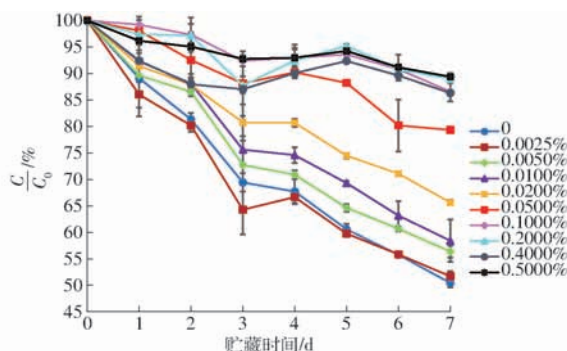


图 1 EGCG 添加量对 pH 值 2.0 乳液中 β -胡萝卜素降解的影响

Fig. 1 Influence of EGCG on degradation of β -carotene in emulsions at pH value of 2.0

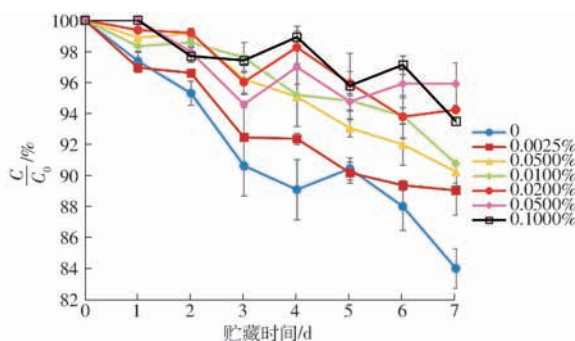


图 2 EGCG 添加量对 pH 值 7.0 乳液中 β -胡萝卜素降解的影响

Fig. 2 Influence of EGCG on degradation of β -carotene in emulsions at pH value of 7.0

由图 1 可以得出, pH 值 2.0 的 β -胡萝卜素乳液随着贮藏时间的延长, β -胡萝卜素含量呈下降趋势。其中未添加 EGCG 的乳液中 β -胡萝卜素的保留率在贮藏过程中低于添加了 EGCG 的乳液。贮藏 7 d 后, 未添加 EGCG 的乳液中, β -胡萝卜素的保留率是 50.45%, 而添加了 EGCG 的乳液中 β -胡萝卜素的保留率不低于 51.69%。由此, 在 pH 值 2.0 的 β -胡萝卜素乳液中, 添加 0.002 5% ~ 0.500 0% 的 EGCG 可以作为抗氧化剂对 β -胡萝卜素起保护作用。EGCG 添加量为 0.002 5% ~ 0.100 0% 时, 随着 EGCG 添加量的增多, 贮藏期间保留在乳液中的 β -胡萝卜素含量呈增高趋势 ($P < 0.05$)。当 EGCG 添加量为

0.002 5%时,乳液贮藏7 d后, β -胡萝卜素的保留率为51.69%;当EGCG添加量为0.100 0%时,贮藏7 d后, β -胡萝卜素的保留率为86.57%。当EGCG添加量大于0.100 0%时,继续加大EGCG添加量对 β -胡萝卜素的保留率没有显著影响($P > 0.05$),当EGCG添加量为0.500 0%时, β -胡萝卜素的保留率为89.37%。由以上实验结果可以得出,在pH值2.0的 β -胡萝卜素乳液中,EGCG添加量在一定范围时(0.002 5%~0.100 0%),可以对 β -胡萝卜素的降解起显著的抑制作用;当EGCG添加量大于0.100 0%时,过量的EGCG不能对 β -胡萝卜素起到更好的保护作用。结合当EGCG添加量大于0.200 0%时,EGCG的添加会显著降低乳液的物理稳定性,在pH值2.0的乳液中,添加0.200 0%的EGCG作为抗氧化剂可以既不破坏乳液物理稳定性,同时最大程度地提高 β -胡萝卜素的保留率。

EGCG对pH值7.0的乳液中 β -胡萝卜素降解的影响如图2所示。在pH值7.0的 β -胡萝卜素乳液中,添加了EGCG的乳液中 β -胡萝卜素的保留率显著大于未添加EGCG乳液中 β -胡萝卜素的保留率,因此EGCG在pH值7.0的乳液中也可以作为抗氧化剂抑制 β -胡萝卜素的降解。随着EGCG添加量的增加,保留在乳液中 β -胡萝卜素的含量逐渐增大($P < 0.05$)。当EGCG添加量为0.002 5%和0.100 0%时,乳液贮藏7 d后, β -胡萝卜素的保留率分别为89.00%和93.48%。

比较不同pH值乳液中 β -胡萝卜素的降解速率可以得出,在相同贮藏时间内,EGCG添加量相同的乳液中,pH值2.0的乳液中 β -胡萝卜素的保留率低于pH值7.0的乳液中的保留率。其中比较未添加EGCG的乳液时,pH值7.0的乳液在贮藏7 d后, β -胡萝卜素的保留率为83.97%,而pH值2.0的乳液中, β -胡萝卜素的保留率为50.45%。此结果与QIAN等^[17]的报道相同。这是由于 β -胡萝卜素在酸性环境中时,与酸形成的离子对会解离形成类胡萝卜素阳离子,类胡萝卜素阳离子比类胡萝卜素分子更容易发生降解反应^[18-19]。另外,pH值2.0和pH值7.0的 β -胡萝卜素乳液在55℃下避光贮藏7 d。由于 β -胡萝卜素乳液避光保存, β -胡萝卜素的光降解途径在本研究中不存在。因此,在pH值7.0的乳液中, β -胡萝卜素的主要降解途径是由自由基和金属离子催化的降解;但 β -胡萝卜素在pH值2.0的乳液中除了由自由基和金属离子催化的降解反应之外,还存在酸降解途径。

由以上实验结果可以得出,在pH值2.0和7.0的 β -胡萝卜素乳液中,EGCG均可抑制 β -胡萝卜素

降解,其中由于 β -胡萝卜素在酸性环境中容易发生酸降解,因此与pH值7.0的 β -胡萝卜素乳液相比,在pH值2.0的乳液中 β -胡萝卜素的降解速率较快。

2.2 β -胡萝卜素乳液色差

β -胡萝卜素是在食品行业中应用最广泛的色素,作为着色剂其可以应用于很多食品中,我国食品添加剂使用标准(GB 2760—2014)中规定了其可以应用的食物类别以及添加量。色差参数是评价着色剂颜色的重要指标。在食品加工及流通过程中,贮藏是一个必不可少的环节。其中贮藏环境的温度、光照以及贮藏时间会显著影响食品中 β -胡萝卜素的感官性质,即色差。为了研究在55℃避光贮藏7 d后 β -胡萝卜素乳液的色差改变,在贮藏前后对乳液的色差进行了测量。pH值2.0的 β -胡萝卜素乳液在贮藏前后的色差参数如表1、2所示。

表1 pH值2.0 β -胡萝卜素乳液贮藏前色差参数

Tab.1 Color parameters of β -carotene emulsions at pH value of 2.0 before storage

EGCG添加量/%	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C_{ab}</i>	<i>H_{ab}</i>
0	50.52 ^a	34.19 ^a	68.49 ^a	76.55 ^a	63.47 ^a
0.002 5	50.70 ^a	34.46 ^a	68.97 ^a	77.10 ^a	63.45 ^a
0.005 0	50.70 ^a	34.43 ^a	68.84 ^a	76.97 ^a	63.43 ^a
0.010 0	50.84 ^a	34.54 ^a	68.54 ^a	76.75 ^a	63.25 ^a
0.020 0	50.84 ^a	34.46 ^a	69.20 ^a	77.31 ^a	63.53 ^a
0.050 0	50.93 ^a	34.53 ^a	69.19 ^a	77.33 ^a	63.48 ^a
0.100 0	50.96 ^a	34.58 ^a	69.50 ^a	77.63 ^a	63.54 ^a
0.200 0	51.00 ^a	34.44 ^a	69.40 ^a	77.47 ^a	63.60 ^a
0.400 0	51.17 ^a	34.38 ^a	69.86 ^a	77.86 ^a	63.80 ^a
0.500 0	51.36 ^a	34.20 ^a	69.85 ^a	77.77 ^a	63.91 ^a

注:同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

表2 pH值2.0 β -胡萝卜素乳液贮藏后色差参数

Tab.2 Color parameters of β -carotene emulsions at pH value of 2.0 after storage

EGCG添加量/%	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C_{ab}</i>	<i>H_{ab}</i>
0	44.65 ^a	29.53 ^a	56.69 ^a	63.78 ^a	62.48 ^a
0.002 5	43.10 ^a	29.77 ^a	53.77 ^b	61.46 ^b	61.03 ^b
0.005 0	42.92 ^a	29.81 ^a	54.20 ^b	61.86 ^b	61.19 ^b
0.010 0	42.43 ^a	29.86 ^a	54.04 ^b	61.75 ^b	61.08 ^b
0.020 0	41.47 ^a	29.82 ^a	52.88 ^b	60.71 ^b	60.58 ^b
0.050 0	43.48 ^a	30.04 ^a	56.47 ^a	63.96 ^a	61.99 ^a
0.100 0	45.18 ^b	30.66 ^{ab}	59.33 ^c	66.79 ^c	62.67 ^c
0.200 0	45.94 ^b	30.67 ^{ab}	60.63 ^d	67.95 ^d	63.16 ^d
0.400 0	47.40 ^c	31.08 ^b	63.62 ^c	70.81 ^c	63.96 ^c
0.500 0	48.06 ^c	31.28 ^b	64.42 ^c	71.62 ^c	64.10 ^c

由表1可以得出,pH值2.0的 β -胡萝卜素乳液在贮藏前,表征乳液亮度的*L*值、红色的*a*值、黄色的*b*值均为正值。这表明 β -胡萝卜素乳液在色差测量上是亮的、具有红色和黄色的混合样品,这与图3中 β -胡萝卜素乳液的感官性质相符。在pH值

2.0的乳液中,EGCG添加量对贮藏前 β -胡萝卜素的色参数 L 值、 a 值和 b 值没有显著影响($P>0.05$)。 C_{ab} 和 H_{ab} 在不同EGCG添加量的乳液中也没有显著差异($P>0.05$)。在图3中,贮藏前未添加EGCG的 β -胡萝卜素乳液与EGCG添加量为0.5%的 β -胡萝卜素乳液相比,两者之间没有肉眼可见的颜色差异,与色差参数相符。

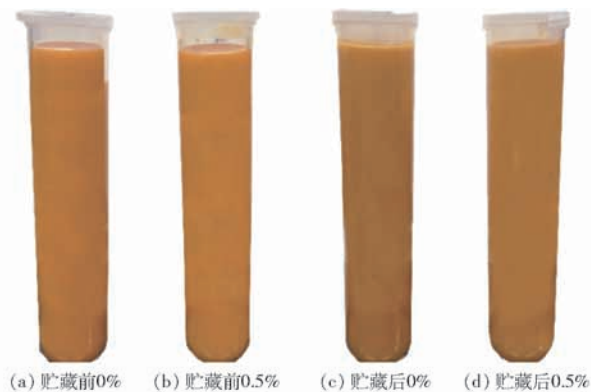


图3 在55°C贮藏前后pH值2.0的 β -胡萝卜素乳液

Fig.3 Photos of β -carotene emulsions at pH value of 2.0 before and after storage at 55°C

pH值2.0的 β -胡萝卜素乳液贮藏7d后的色差参数如表2所示。比较表1、2中乳液的色差参数可以得出,与贮藏前的色差参数相比,贮藏后乳液的 L 值、 a 值和 b 值均降低。这说明贮藏后乳液的亮度下降、红色值和黄色值都降低。同时贮藏前后色度 C_{ab} 值也有明显差异。从图3可以看出,对比贮藏前后 β -胡萝卜素乳液的颜色,在视觉上存在显著性差异,贮藏后乳液的亮度降低,颜色的饱和度降低。这与贮藏前后色差参数值的变化相符。由在贮藏期间测定 β -胡萝卜素的含量可知,随着贮藏时间的延长, β -胡萝卜素的含量逐渐降低。因此,在pH值2.0的乳液中,色差的变化可能是由 β -胡萝卜素含量的变化所致。

为了研究色差变化与 β -胡萝卜素含量之间的关系,比较了不同EGCG添加量的 β -胡萝卜素乳液的色差参数的差异。由表2可得,随着EGCG添加量的增加,乳液的 L 值、 a 值、 b 值呈增高的趋势。由贮藏期间测定的 β -胡萝卜素含量可知,随着EGCG添加量的增加, β -胡萝卜素的保留率逐渐增大。由图3中贮藏后乳液的颜色可以看出,添加0.5%EGCG的乳液与不添加EGCG的乳液贮藏后相比,添加了0.5%EGCG的乳液亮度较大,颜色饱和度较大,与测定的色差参数相一致。综上所述,pH值2.0的乳液在贮藏期间的色差变化是由乳液中 β -胡萝卜素含量不同引起的。

从表3可以得出,pH值7.0的 β -胡萝卜素乳液

在55°C贮藏之前,表征乳液亮度的 L 值、红色的 a 值、黄色的 b 值、色度的 C_{ab} 值和色调的 H_{ab} 值随着EGCG添加量的不同,没有显著性差异($P>0.05$)。pH值7.0的 β -胡萝卜素乳液贮藏7d后的色差参数如表4所示。比较表3、4中乳液的色差参数可以得出,未添加EGCG的乳液在贮藏前后色差参数没有显著差异。但在贮藏期间,未添加EGCG乳液中 β -胡萝卜素含量下降了16%,这可能是因为在pH值7.0的乳液中, β -胡萝卜素含量的减少不是引起色差改变的主要原因。

表3 pH值7.0 β -胡萝卜素乳液贮藏前色差参数

Tab.3 Color parameters of β -carotene emulsions at pH value of 7.0 before storage

EGCG添加量/%	L	a	b	C_{ab}	H_{ab}
0	53.96 ^a	34.38 ^a	74.69 ^a	82.22 ^a	65.28 ^a
0.0025	53.73 ^a	34.18 ^a	74.04 ^a	81.55 ^a	65.22 ^a
0.0050	53.66 ^a	34.19 ^a	73.93 ^a	81.45 ^a	65.18 ^a
0.0100	53.70 ^a	34.19 ^a	74.24 ^a	81.73 ^a	65.27 ^a
0.0200	53.48 ^a	34.17 ^a	73.41 ^a	80.97 ^a	65.04 ^a
0.0500	53.19 ^a	34.05 ^a	73.11 ^a	80.65 ^a	65.02 ^a
0.1000	53.19 ^a	34.14 ^a	73.52 ^a	81.06 ^a	65.09 ^a

表4 pH值7.0 β -胡萝卜素乳液贮藏后色差参数

Tab.4 Color parameters of β -carotene emulsions at pH value of 7.0 after storage

EGCG添加量/%	L	a	b	C_{ab}	H_{ab}
0	53.56 ^a	33.81 ^a	73.67 ^a	81.06 ^a	65.34 ^a
0.0025	53.06 ^a	33.70 ^a	72.81 ^a	80.24 ^b	65.16 ^a
0.0050	52.69 ^a	33.44 ^a	72.33 ^a	79.68 ^c	65.19 ^a
0.0100	51.92 ^{ab}	32.93 ^{ab}	71.51 ^{ab}	78.73 ^d	65.27 ^a
0.0200	50.61 ^b	32.18 ^b	68.92 ^c	76.06 ^e	64.97 ^a
0.0500	47.81 ^c	30.71 ^c	64.17 ^d	71.14 ^f	64.43 ^{ab}
0.1000	44.86 ^d	29.72 ^d	60.37 ^e	67.29 ^g	63.79 ^b

在添加了EGCG的 β -胡萝卜素乳液中,随着EGCG添加量的增多,贮藏前后的色差参数差异逐渐增大。其中添加了0.1000%EGCG的乳液中,贮藏7d后, L 值由53.19下降到44.86, a 值由34.14下降到29.72, b 值由73.52下降到60.37。由于贮藏后乳液 a 值和 b 值的下降,使得表征色度的 C_{ab} 值差异达13.77,在色度表上有明显的改变。在此乳液中,贮藏7d后只有7%的 β -胡萝卜素发生了氧化。结合未添加EGCG的乳液结果,其中14%的 β -胡萝卜素降解后,乳液色差未发生显著变化。因此,在pH值7.0的乳液中, β -胡萝卜素含量的改变不是引起色差参数变化的主要原因。随着EGCG添加量的增加,贮藏前后色差参数的差异逐渐增大,EGCG添加量可能是引起色差参数变化的原因。

从表4可以得出,随着EGCG添加量的增加,表

征乳液亮度的 L 值、红色的 a 值、黄色的 b 值均呈减小趋势,说明 β -胡萝卜素乳液的亮度降低,红色值减小同时黄色值减小。由于 a 值和 b 值的减小,色度发生了显著改变。图 4 中显示了贮藏 7 d 后,不同 EGCG 添加量的 β -胡萝卜素乳液的感官差异(左边第 1 个是未贮藏的乳液,从左边第 2 个乳液开始 EGCG 添加量依次为 0、0.002 5%、0.005 0%、0.010 0%、0.020 0%、0.050 0%、0.100 0%)与表 4 中色差参数的变化相符。



图 4 55℃贮藏后不同 EGCG 添加量的 pH 值 7.0 β -胡萝卜素乳液

Fig. 4 Photos of β -carotene emulsions with different concentrations of EGCG at pH value of 7.0 after storage at 55℃

由以上结果可以得出,在 pH 值 2.0 的乳液中,贮藏前后色差参数的变化主要是由 β -胡萝卜素含量的变化引起;在 pH 值 7.0 的 β -胡萝卜素乳液中,贮藏前后色差的变化与 β -胡萝卜素含量的变化没有相关性,与 EGCG 的添加量有关,这可能是因为 EGCG 在 pH 值 7.0 条件下,容易发生氧化反应,生成颜色较深的聚合物。因此,在 pH 值 7.0 条件下,将 EGCG 添加到 β -胡萝卜素乳液中会影响乳液的色差。

2.3 界面 EGCG 含量

抗氧化剂的抗氧化效率一部分来源于其化学结构,另外其在体系中的作用位置也是影响其发挥作用的重要因素^[13]。在油相体系中水溶性抗氧化剂的效果比油溶性抗氧化剂的效果好,这是因为水溶性抗氧化剂可以吸附在空气和水相的界面上,由于界面是发生氧化反应的主要位置,因此在界面上的抗氧化剂可以发挥更大的抗氧化作用;同理在水包油的乳液中,油溶性抗氧化剂的抗氧化效果比水溶性抗氧化剂的效果好^[20-21]。因此,测定 EGCG 在界面上的含量对理解其抗氧化效率非常重要。

利用超高速离心法将水相中 EGCG 和油滴上 EGCG 进行分离,测定了吸附在油滴上的 EGCG 含量,结果如图 5 所示。从图中可以得出,pH 值 7.0 β -胡萝卜素乳液中界面 EGCG 含量高于 pH 值 2.0 乳液中的界面 EGCG 含量。图中不同小写字母表示 pH 值 7.0 的乳液中界面 EGCG 含量差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示 pH 值 2.0 的乳液中界面 EGCG 含量差异显著($P < 0.05$)。EGCG 在 pH 值 7.0 的溶液中与蛋白的结合效率高于在酸性环境的

溶液^[22]。因此,在 pH 值 2.0 的 β -胡萝卜素乳液中,结合到乳液界面上的 EGCG 较少。

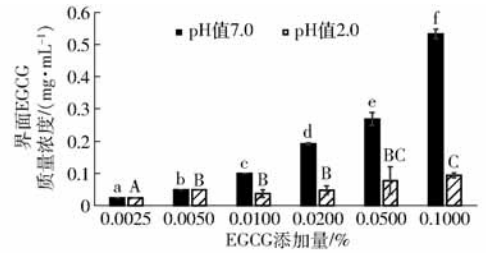


图 5 胡萝卜素乳液中 EGCG 添加量对界面 EGCG 含量的影响

Fig. 5 Influence of EGCG on interfacial EGCG concentration of β -carotene emulsions

在 pH 值 7.0 的 β -胡萝卜素乳液中,随着 EGCG 添加量的增加,界面 EGCG 含量逐渐增加。当 EGCG 添加量为 0.002 5% ~ 0.010 0% 时,添加到乳液中的 EGCG 全部结合到界面上;当 EGCG 添加量为 0.020 0% ~ 0.100 0% 时,结合到界面上的 EGCG 占总的 EGCG 添加量的百分比从 96.8% 降到 53.3%。由此可得,当 EGCG 添加量为 0.010 0% 时,EGCG 完全吸附到界面蛋白上,但随着 EGCG 添加量的继续增加,并不是所有的 EGCG 都吸附到界面上,还有游离在水相中的 EGCG。

将界面 EGCG 的含量与乳液在贮藏过程中 β -胡萝卜素的含量相结合可以得出,在 pH 值 7.0 的乳液中,界面 EGCG 含量高,在贮藏过程中 β -胡萝卜素的保留率较高。而 pH 值 2.0 的 β -胡萝卜素乳液中,结合在界面上的 EGCG 含量较少, β -胡萝卜素在贮藏过程中的保留率较低。这可能是因为结合在界面上的 EGCG 可以在 β -胡萝卜素与水相之间形成一层屏障,因此,可以保护 β -胡萝卜素不受来自水相中自由基及金属离子的催化,从而抑制 β -胡萝卜素的降解。另外,在乳液中水油界面是发生氧化反应的主要位置,EGCG 结合在界面上,使得其抗氧化效率提高,从而可以更加有效地保护 β -胡萝卜素^[13]。

将界面 EGCG 含量与色差变化联系可以得出,EGCG 添加量对 pH 值 7.0 的乳液色差影响较大,这可能是因为 pH 值 7.0 的乳液中,界面 EGCG 的含量较多,在贮藏过程中,界面 EGCG 发生氧化反应,使其颜色加深,进而影响作为芯材的 β -胡萝卜素的显色,使其在贮藏前后的色差变化较大。而 pH 值 2.0 的 β -胡萝卜素乳液中,界面 EGCG 含量较少,对 β -胡萝卜素的显色影响不显著。

3 结论

(1) 在 pH 值 2.0 和 pH 值 7.0 的 β -胡萝卜素乳液中,EGCG 均可作为抗氧化剂抑制 β -胡萝卜素的

降解。在贮藏过程中,随着EGCG添加量的增加, β -胡萝卜素保留率逐渐增大。在pH值2.0的乳液中 β -胡萝卜素的降解速率比在pH值7.0的乳液中的降解速率快,这主要是因为pH值2.0的乳液中,除了由自由基和金属离子催化的 β -胡萝卜素降解反应以外,还有由酸引起的酸降解反应。同时pH值7.0的乳液中,界面EGCG含量高于pH值2.0的乳液,其发挥抗氧化的效率较高。

(2)在pH值2.0和pH值7.0的 β -胡萝卜素乳

液中,EGCG的添加对贮藏前 β -胡萝卜素乳液的色差没有显著影响。贮藏7d后,在pH值2.0的乳液中由于 β -胡萝卜素含量在乳液中的保留率不同,使不同EGCG添加量的乳液色差产生较大差异;pH值7.0的乳液在贮藏7d后,色差参数的差异不随 β -胡萝卜素的保留率变化而变化,而与EGCG的添加量有关。

(3)界面EGCG含量直接影响 β -胡萝卜素在乳液中的降解,并可能对乳液的色差产生影响。

参 考 文 献

- [1] RAO J, DECKER E A, XIAO H, et al. Nutraceutical nanoemulsions: influence of carrier oil composition (digestible versus indigestible oil) on β -carotene bioavailability[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(13): 3175–3183.
- [2] 刘夫国,王迪,杨伟,等. 乳铁蛋白-多酚对 β -胡萝卜素乳液稳定性的影响[J/OL]. *农业机械学报*, 2015, 46(6): 212–217. http://www.j-csam.org/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20150630&flag=1&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.10001298.2015.06.030.
- [3] LIU Fuguo, WANG Di, YANG Wei, et al. Effect of lactoferrin-polyphenol conjugates on stability of β -carotene emulsions[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(6): 212–217. (in Chinese)
- [3] ZHOU L, ELIAS R J. Factors influencing the antioxidant and pro-oxidant activity of polyphenols in oil-in-water emulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(11): 2906–2915.
- [4] QIAN C, DECKER E A, XIAO H, et al. Inhibition of beta-carotene degradation in oil-in-water nanoemulsions: influence of oil-soluble and water-soluble antioxidants[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1036–1043.
- [5] XU D, WANG X, JIANG J, et al. Influence of pH, EDTA, α -tocopherol, and WPI oxidation on the degradation of β -carotene in WPI-stabilized oil-in-water emulsions[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2013, 54(1): 236–241.
- [6] QIAN C, DECKER E A, XIAO H, et al. Impact of lipid nanoparticle physical state on particle aggregation and β -carotene degradation: potential limitations of solid lipid nanoparticles[J]. *Food Research International*, 2013, 52(1): 342–349.
- [7] 毛立科. β -胡萝卜素乳液的制备及其理化性质研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2008.
- [7] MAO Like. Study on the preparation and physicochemical properties evaluation of β -carotene nanoemulsion[D]. Beijing: China Agricultural University, 2008. (in Chinese)
- [8] 傅虹飞. 柑橘类胡萝卜素的结构分析及构效关系研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [8] FU Hongfei. Studies on the structure analysis, and the relationship between structure and antioxidant activities in vitro of carotenoids in citrus fruits[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010. (in Chinese)
- [9] FARAJI H, MCCLEMENT D J, DECKER E A. Role of continuous phase protein on the oxidative stability of fish oil-in-water emulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(14): 4558–4564.
- [10] KELLERBY S S, GU Y S, MCCLEMENT D J, et al. Lipid oxidation in a menhaden oil-in-water emulsion stabilized by sodium caseinate cross-linked with transglutaminase[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(26): 10222–10227.
- [11] 王小亚. α -乳白蛋白与EGCG复合物对 β -胡萝卜素乳状液理化性质及体外消化特性的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2013.
- [11] WANG Xiaoya. Study of the mechanisms of the physicochemical properties and in vitro release properties of β -carotene emulsion stabilized by α -La-EGCG complex [D]. Beijing: China Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [12] SENANAYAKE S P J N. Green tea extract: chemistry, antioxidant properties and food applications—a review[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(4): 1529–1541.
- [13] MCCLEMENT D J, DECKER E A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(8): 1270–1282.
- [14] ZHOU L, ELIAS R J. Investigating the hydrogen peroxide quenching capacity of proteins in polyphenol-rich foods[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(16): 8915–8922.
- [15] DECKER E A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? [J]. *Nutrition Reviews*, 1997, 55(11): 396–398.
- [16] ZHOU L, ELIAS R J. Antioxidant and pro-oxidant activity of (-)-epigallocatechin-3-gallate in food emulsions: influence of pH and phenolic concentration[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(23): 1503–1509.
- [17] QIAN C, DECKER E A, XIAO H, et al. Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1221–1229.
- [18] KONOVALOV V V, KISPERS L D. AM1, INDO/S and optical studies of carbocations of carotenoid molecules. Acid induced isomerization[J]. *Journal of the Chemistry Society Perkin Transactions*, 1999, 4(4): 901–910.
- [19] AND Z H, KISPERS L D. Carotenoids in sol-gels: incorporation, stability, and sensitivity to oxidant and acid[J]. *Chemistry of Materials*, 2000, 13(1): 227–231.
- [20] PEKKARINEN S S, CKMANN H S, SCHWARZ K, et al. Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1999, 47(8): 3036–3043.
- [21] HOPIA A I, HUANG S W, SCHWARZ K, et al. Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without α -tocopherol[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1996, 44(8): 2030–2036.
- [22] 杨伟. 乳铁蛋白、EGCG和果胶三元复合物的形成机制及结构表征[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [22] YANG Wei. Fabrication mechanism and structural characteristics of the ternary aggregates by lactoferrin, EGCG and pectin [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015. (in Chinese)