

多酚对类胡萝卜素抗氧化性和稳定性的影响

胡雨卿, 余元善, 宋贤良, 邹波, 吴继军, 徐玉娟, 肖更生, 胡腾根

Effect of Polyphenols on Antioxidant Properties and Stabilities of Carotenoids

HU Yuqing, YU Yuanshan, SONG Xianliang, ZOU Bo, WU Jijun, XU Yujuan, XIAO Gengsheng, and HU Tenggen

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022110297>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

单性木兰叶多酚的稳定性及抗氧化性研究

Stability and Antioxidant Activity of Polyphenols from *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot. Leaves

食品工业科技. 2020, 41(14): 41-45, 51 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.14.007>

柑橘类胡萝卜素累积机制、分析方法及其加工稳定性研究进展

Research Progress on Accumulation Mechanism, Analysis Method and Processing Stability of Carotenoids in Citrus

食品工业科技. 2020, 41(5): 319-327 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.05.052>

蓝靛果多酚冻干粉稳定性及其总抗氧化能力研究

Study on stability and total antioxidant capacity of polyphenols from *Lonicera Caerulea* L.

食品工业科技. 2017(13): 78-84 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.13.015>

响应面优化蒲公英多酚超声波辅助乙醇提取工艺及其抗氧化性

Optimization of ultrasonic-assisted alcohol extraction of polyphenols from dandelion and their antioxidant activity

食品工业科技. 2017(02): 287-292 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.047>

枸杞色素微乳液的理化稳定性

Physicochemical Stability of *Lycium barbarum* Pigment-riched Microemulsion

食品工业科技. 2019, 40(23): 72-76 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.012>

莲房原花青素低聚体微乳液的稳定性及抗氧化活性分析

Stability of micromulsion encapsulating oligomeric procyanidins from lotus seedpods and antioxidant activity of Isopc in micromulsion

食品工业科技. 2017(07): 70-75 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.07.005>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

胡雨卿, 余元善, 宋贤良, 等. 多酚对类胡萝卜素抗氧化性和稳定性的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(19): 57–67. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110297

HU Yuqing, YU Yuanshan, SONG Xianliang, et al. Effect of Polyphenols on Antioxidant Properties and Stabilities of Carotenoids[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(19): 57–67. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110297

· 研究与探讨 ·

多酚对类胡萝卜素抗氧化性和稳定性的影响

胡雨卿^{1,2}, 余元善^{1,3,*}, 宋贤良², 邹波^{1,3}, 吴继军¹, 徐玉娟¹, 肖更生¹, 胡腾根^{1,3,*}

(1.广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东广州 510507;

2.华南农业大学食品学院, 广东广州 510642;

3.华工利亚(佛山)有限责任公司, 广东佛山 528000)

摘要: 本实验旨在探究多酚对类胡萝卜素抗氧化性和稳定性的影响, 以常见的四种类胡萝卜素(叶黄素、玉米黄素、 β -胡萝卜素、番茄红素)和四种多酚(儿茶素、槲皮素、山奈酚、没食子酸酯)为原料, 测定了不同浓度下多酚对类胡萝卜素的 DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率的影响, 以及在不同光照、温度、pH、金属离子和抗氧化剂浓度条件下, 多酚对类胡萝卜素保留率的影响。结果表明各多酚单体对类胡萝卜素抗氧化性和稳定的强弱大小为: 山奈酚>儿茶素>槲皮素>没食子酸酯。其中, 山奈酚和玉米黄素在浓度为 0.1 mg/mL 具有最高的 DPPH 自由基清除率协同作用, 儿茶素和 β -胡萝卜素在浓度为 0.02 mg/mL 具有最高的 ABTS⁺自由基清除率协同作用。添加儿茶素和山奈酚可以使类胡萝卜素在自然光和紫外光下的保留率提高 10.32%~13.82%, 100 °C 以下高温的保留率提高 6.79%~13.72%, pH<5 条件下的保留率提高 1.02%~17.56% 及多种金属离子条件下的保留率提高 9.26%~25.3%。因此, 在使用类胡萝卜素作为抗氧化剂或增色剂应用于食品中时, 可以通过添加一种或多种多酚来提高其抗氧化性和稳定性。

关键词: 类胡萝卜素, 多酚, 抗氧化性, 稳定性, 相互作用

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)19-0057-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110297



本文网刊:

Effect of Polyphenols on Antioxidant Properties and Stabilities of Carotenoids

HU Yuqing^{1,2}, YU Yuanshan^{1,3,*}, SONG Xianliang², ZOU Bo^{1,3}, WU Jijun¹,
XU Yujuan¹, XIAO Gengsheng¹, HU Tenggen^{1,3,*}

(1.Sericulture and Agricultural Products Processing Institute, Guangdong Academy of
Agricultural Sciences, Guangzhou 510507, China;

2.College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3.Huagongliya (Foshan) Co., Ltd., Foshan 528000, China)

Abstract: The purpose of this experiment was to investigate the effect of polyphenols on the antioxidant properties and stability of carotenoids. Four common carotenoids (lutein, zeaxanthin, β -carotene, lycopene) and four polyphenols (catechin, quercetin, kaempferol, gallate) were used as raw materials to determine the effects of polyphenols on DPPH radical scavenging and ABTS⁺ radical scavenging of carotenoids at different concentrations, as well as the effects of polyphenols on carotenoid retention under different conditions of light, temperature, pH, metal ions and antioxidant concentrations. In particular, kaempferol and zeaxanthin had the highest DPPH radical scavenging synergy at a

收稿日期: 2022-11-28

基金项目: 广东省重点研发专项(2022B0202040002, 2022B0202050001); 十四五广东省农业科技创新十大主攻方向“揭榜挂帅”项目(2022SDZG04); 广东省现代农业产业技术体系柑橘芒果创新团队项目(2022KJ108); 灯塔实验室项目(DT20220026); 华南理工大学国家大学科技园顺德创新园区教师科技成果转化专项资金项目(KJYS2021KZ05); 农业农村部岭南特色食品绿色加工与智能制造重点实验室开放基金课题资助。

作者简介: 胡雨卿(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: huluhuel@163.com。

*** 通信作者:** 余元善(1983-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 果蔬精深加工, E-mail: yuyuanshan2016@qq.com。

胡腾根(1989-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: hu.tenggen@foxmail.com。

concentration of 0.1 mg/mL, and catechin and β -carotene had the highest ABTS⁺ radical scavenging synergy at a concentration of 0.02 mg/mL. The addition of catechin and kaempferol increased the retention of carotenoids by 10.32%~13.82% 10.32% under natural light and UV light, 6.79%~13.72% under high temperatures below 100 degrees, 1.02%~17.56% under pH<5, and 9.26%~25.3% under various metal ions. Therefore, it is possible to improve their antioxidant properties and stability by adding one or more polyphenols when using carotenoids as antioxidants or color enhancers in food applications.

Key words: carotenoid; polyphenols; antioxidant activity; stability; interaction

类胡萝卜素是一类具有多种生物活性的天然色素,主要存在于存在于动物、高等植物、真菌、藻类的黄色、橙红色或红色的色素之中^[1]。已有研究表明, α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素等类胡萝卜素在人体内可合成维生素A,从而促进视觉细胞中感光物质的合成,有助于预防夜盲症。类胡萝卜素还具有抗氧化^[2]、免疫调节^[3]、抗癌^[4]和抗衰老^[5]等作用。更重要的是,类胡萝卜素为减少与年龄有关的眼病^[6-7]和心血管疾病的发病率提供了膳食来源^[8-9]。大量研究证明摄入富含类胡萝卜素的蔬菜、水果等食物具有潜在的健康有益作用^[10],因此类胡萝卜素在人类健康和营养方面发挥着至关重要的作用。然而,构成类胡萝卜素化学结构的高度不饱和长链降低了它的水溶性和生物利用度^[11],还增加了它们对光、pH、氧和高温的敏感性,限制了它们的工业适用性^[12-13]。

先前的研究表明许多具有抗氧化性的活性物质之间存在相互作用(协同作用,加和作用,拮抗作用),这些物质包括纯化的化合物、粗提取物和合成的抗氧化剂。因此目前增加类胡萝卜素抗氧化性和稳定性的方法有添加多酚、黄酮等辅色素类活性物质,通过氢键、静电吸附、范德华力等相互作用增强类胡萝卜素的抗氧化性和稳定性^[14]。已有研究证明某些抗氧化剂可被其他抗氧化剂再生,例如,已使用 α -生育酚,维生素C和 β -胡萝卜素以及叶黄素的组合证明了抗氧化协同作用,其相互作用机制主要是通过在水相和脂质相的界面处的抗氧化剂之间转移电子或氢原子^[15]。例如,细胞膜中的番茄红素或 β -胡萝卜素通过减少其自由基来恢复和延长叶黄素和玉米黄素的抗氧化活性^[16]。Brito等^[17]的研究发现在溶液和有组织的脂质组件(例如胶束,脂质体,乳剂和脂蛋白)中,类胡萝卜素和其他饮食抗氧化剂可以相互作用。Ancos等^[18]的研究表明黄酮、单宁、没食子酸盐和类黄酮等化合物之间具有体外抗氧化和抗增殖的协同活性。但是,目前的研究中,多酚与类胡萝卜素之间是否存在相互作用,以及此类相互作用会对类胡萝卜素抗氧化性和稳定性产生何种影响还没有详细的研究。且复合抗氧化剂中抗氧化剂单体间的相互作用状态会随着浓度的变化而发生改变,因此,研究不同浓度下两种抗氧化剂的相互作用状态也是十分重要的。

本实验以黄色水果中含量较高的四种常见类胡萝卜素(叶黄素、玉米黄素、 β -胡萝卜素、番茄红素)和四种多酚(儿茶素、槲皮素、山奈酚、没食子酸儿

茶素没食子酸酯)为原料,研究了不同浓度下多酚与类胡萝卜素的DPPH、ABTS⁺自由基清除率的变化,并计算了多酚单体与类胡萝卜素单体的相互作用指数,分析了不同多酚单体和类胡萝卜素单体的相互作用强弱以及其相互作用与浓度之间的关系。进一步研究了多酚单体在不同条件下(光、温度、pH、金属离子、氧化剂)对类胡萝卜素稳定性的影响,为利用活性物质之间的相互作用提高类胡萝卜素的抗氧化性和稳定性以及类胡萝卜素在食品中的应用提供了一定的数据支撑和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

叶黄素、玉米黄素、 β -胡萝卜素、番茄红素、儿茶素、槲皮素、山奈酚、没食子酸酯标准品(纯度>99%)均来自上海源叶生物科技有限公司;2,2'-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、氯化钠(NaCl)、氯化钙(CaCl_2)、氯化镁(MgCl_2)、氯化铁(FeCl_3)、氯化钾(KCl)、氢氧化钠(NaOH)、过氧化氢(分析纯)均来自上海阿拉丁生化科技有限公司;盐酸(HCl,分析纯)广东广试试剂有限公司。

UV-1900i 紫外分可见光光度计 日本岛津公司;VU711-HCJ-4C 恒温数显磁力搅拌水浴锅 北京海富达科技有限公司;SW-CJ-1F 紫外超净工作台 成都苏净科技有限公司;Varioskan LUX 多功能酶标仪 美国赛默飞公司。

1.2 实验方法

1.2.1 类胡萝卜素抗氧化性的测定

1.2.1.1 DPPH 自由基清除率的测定 参考 Kaur 等^[19]的方法进行 DPPH 自由基清除率的测定,分别取不同浓度(0.02~0.10 mg/mL)的四种类胡萝卜素溶液、四种多酚溶液或类胡萝卜素-多酚混合溶液(1:1) 50 μL 与 150 μL 0.3 mmol/L 的 DPPH 甲醇溶液混合。2000 r/min 涡旋振荡 30 s 后于室温暗处反应 20 min。在反应期间,DPPH 试剂中的自由电子与抗氧化剂配对,降低了 DPPH 的蓝色,这导致含有抗氧化剂的样品的吸光度降低。反应完成后使用酶标仪在 517 nm 处测量样品的吸光度。样品的 DPPH 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_{\text{control}}^{517 \text{ nm}} - A_{\text{sample}}^{517 \text{ nm}}}{A_{\text{control}}^{517 \text{ nm}}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: $A_{\text{control}}^{517 \text{ nm}}$ 为未添加样品(以同体积乙醇溶液代替)的 DPPH 溶液在 517 nm 处的吸光度; $A_{\text{sample}}^{517 \text{ nm}}$ 为添加了样品的 DPPH 溶液在 517 nm 处的吸光度。

1.2.1.2 ABTS⁺自由基清除率的测定 ABTS⁺自由基清除率的测定参考 Kiselova-kaneva^[20] 的方法, 分别取不同浓度(0.01~0.05 mg/mL)的类胡萝卜素溶液、多酚溶液或类胡萝卜素-多酚混合溶液(1:1) 10 μL 与 200 μL 的 ABTS⁺自由基溶液(7 mmol/L)混合。涡旋振荡 30 s 后在室温下避光反应 6 min, 用酶标仪测定样品在 734 nm 处的吸光值。样品的 ABTS 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_{\text{control}}^{734 \text{ nm}} - A_{\text{sample}}^{734 \text{ nm}}}{A_{\text{control}}^{517 \text{ nm}}} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: $A_{\text{control}}^{734 \text{ nm}}$ 为未添加样品的 ABTS 溶液在 734 nm 处的吸光度; $A_{\text{sample}}^{734 \text{ nm}}$ 为添加了样品的 ABTS 溶液在 734 nm 处的吸光度。

1.2.1.3 相互作用指数计算 相互作用指数计算参考 Panya 等^[21] 的方法, 公式如下:

$$\text{相互作用指数} E = \frac{W_{(a+b)}}{W_a + W_b} \quad \text{式 (3)}$$

式中: $W_{(a+b)}$ 为多酚和类胡萝卜素混合溶液的自由基清除率, %; W_a 为类胡萝卜素溶液的自由基清除率, %; W_b 为多酚溶液的自由基清除率, %。

当相互作用指数 > 1 时, 表明两种物质存在协同作用; 当相互作用指数 = 1 时, 表明两种物质存在加和作用; 当相互作用指数 < 1 时, 表明两种物质存在拮抗作用。多酚单体与类胡萝卜素单体的协同指数以不同浓度下的协同指数平均值表示。

1.2.2 类胡萝卜素的稳定性测定 为了探究不同条件下多酚对类胡萝卜素稳定性的影响, 将 0.05 mg/mL 多酚溶液添加到 0.05 mg/mL 类胡萝卜素溶液(以 β -胡萝卜素代替)中, 分别置于并在不同条件下(光照、温度、pH、金属离子、氧化剂)反应一段时间。

后测定其在 450 nm 处的吸光度值, 通过公式(4)测定溶液中类胡萝卜素的保留率:

$$\text{保留率}(\%) = \frac{A_1^{450 \text{ nm}}}{A_2^{450 \text{ nm}}} \times 100 \quad \text{式 (4)}$$

式中: $A_1^{450 \text{ nm}}$ 是反应后类胡萝卜素溶液在 450 nm 处的吸光度值; $A_2^{450 \text{ nm}}$ 是反应前类胡萝卜素溶液在 450 nm 处的吸光度值。

1.2.2.1 多酚对类胡萝卜素光稳定性的影响 取 3 组 10 mL 多酚-类胡萝卜素复合溶液(1:1, v/v)置于透明玻璃样品瓶中, 并设置对照组(以等体积的乙醇溶液代替多酚溶液), 密封后分别置于避光、自然光、550 lx 紫外光条件下, 静置 24 h, 测定反应前后溶液吸光度值变化。

1.2.2.2 多酚对类胡萝卜素温度稳定性的影响 取 5 组 10 mL 多酚-类胡萝卜素复合溶液(1:1, v/v)置于透明 PA 瓶中, 并设置对照组(以等体积的乙醇溶

液代替多酚溶液), 密封后分别置于 60、70、80、90、100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下水浴 1 h, 测定反应前后溶液吸光度值变化。

1.2.2.3 多酚对类胡萝卜素 pH 稳定性的影响 取 7 组 10 mL 多酚-类胡萝卜素复合溶液(1:1, v/v)置于透明 PA 瓶中, 使用 1 mol/L HCl 溶液和 1 mol/L NaOH 溶液将各组溶液 pH 分别调至 1、3、5、7、9、11、13, 并设置对照组(以等体积的乙醇溶液代替多酚溶液), 涡旋振荡 30 s 后静置 1 h, 测定反应前后溶液吸光度值变化。

1.2.2.4 多酚对类胡萝卜素金属离子稳定性的影响 取 5 组 10 mL 多酚-类胡萝卜素复合溶液(1:1, v/v)置于透明 PA 瓶中, 分别加入 1 mL 0.05 mol·L⁻¹ 的 NaCl、CaCl₂、MgCl₂、FeCl₃、KCl, 并设置对照组(以等体积的乙醇溶液代替多酚溶液), 涡旋振荡 30 s 后静置 1 h, 测定反应前后溶液吸光度值变化。

1.2.2.5 多酚对类胡萝卜素氧化剂稳定性的影响 取 6 组 10 mL 多酚-类胡萝卜素复合溶液(1:1, v/v)置于透明 PA 瓶中, 分别加入不同体积分数(0、1%、2%、3%、4%、5%)的 H₂O₂ 溶液, 并设置对照组(以等体积的乙醇溶液代替多酚溶液), 涡旋振荡 30 s 后静置 1 h, 测定反应前后溶液吸光度值变化。

1.3 数据处理

所有实验均重复三次, 实验结果以平均值 \pm 标准差表示。使用 SPSS 20.0 软件的 Tukey 检验进行显著性分析, $P < 0.05$ 表明差异显著, 采用 Origin 2020 和 Graphpad Prism 9 软件进行数据图形化处理, 分子结构式采用 Chem Draw 16.0 绘制。

2 结果与分析

2.1 多酚对类胡萝卜素抗氧化性的影响

2.1.1 多酚对叶黄素抗氧化性的影响 由图 2、图 3 可知, 叶黄素具有较好的自由基清除能力, 山奈酚的 DPPH 自由基清除能力相对其他三种多酚单体较弱, 没食子酸酯的 ABTS⁺自由基清除能力相对其他三种多酚单体较强。在浓度低于 0.06 mg/mL 时, 儿茶素、槲皮素和没食子酸酯与叶黄素在 DPPH 清除率方面均表现出不同程度的协同作用, 当浓度为 0.06~0.1 mg/mL 时, 四种多酚单体与叶黄素存在拮抗作用, 这一现象也可能是由于当抗氧化剂浓度较高时, 单一抗氧化剂已经能够将自由基全部清除^[15]。在各溶液浓度低于 0.02 mg/mL 时, 四种多酚单体均与叶黄素表现出较强的 ABTS⁺自由基清除率协同作用, 随着浓度增大, ABTS⁺自由基被完全清除, 因此无法准确判断是否存在协同作用或拮抗作用。结合相互作用指数可知, 没食子酸酯与叶黄素对于 DPPH 自由基清除率的协同作用最强, 且协同作用在浓度为 0.04 mg/mL 时最强, 儿茶素、槲皮素、山奈酚与叶黄素在 ABTS⁺自由基清除率上均具有较强的协同作用。已有研究表明, 类胡萝卜素与其他抗氧化剂之间的相互作用可能是由于再生假说或复合作用^[15]。因

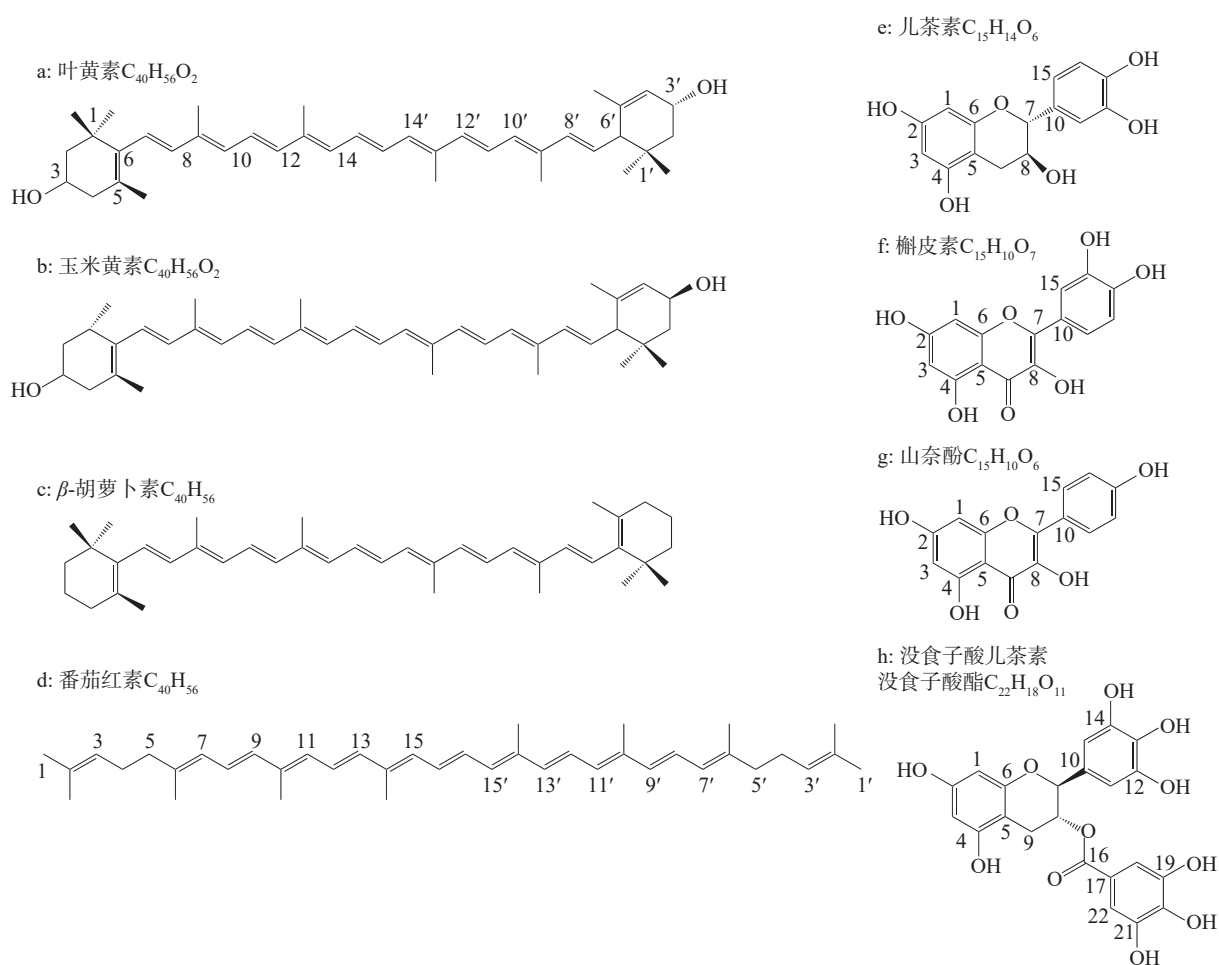


图 1 类胡萝卜素与多酚的化学式与分子结构图

Fig.1 Chemical formula and molecular structure diagram of carotenoids and polyphenols

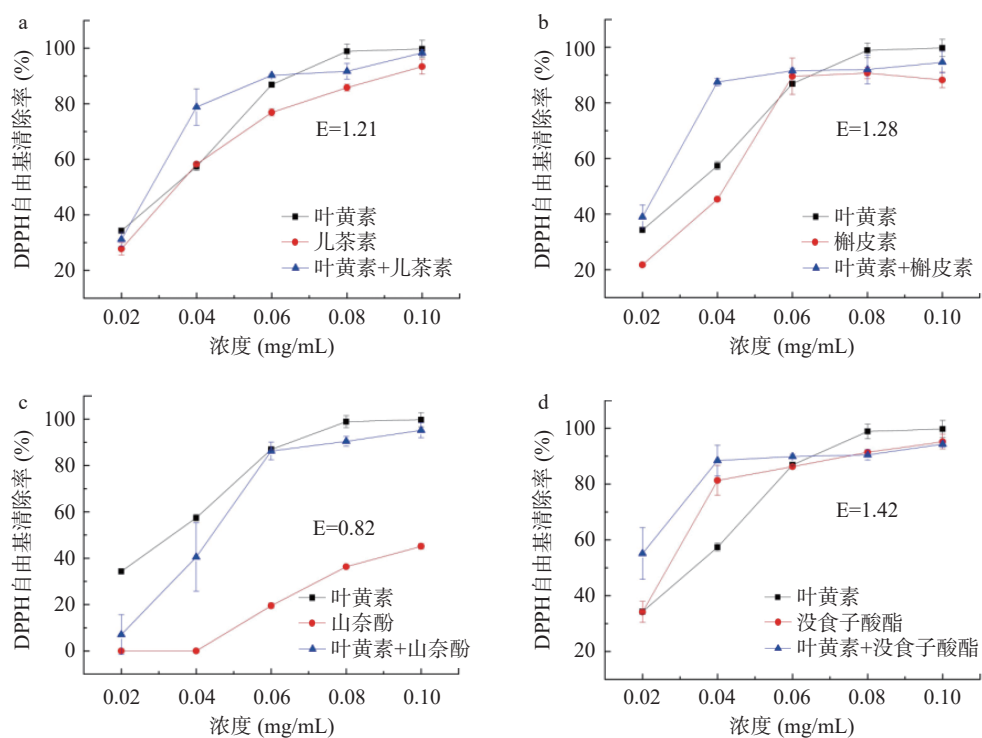
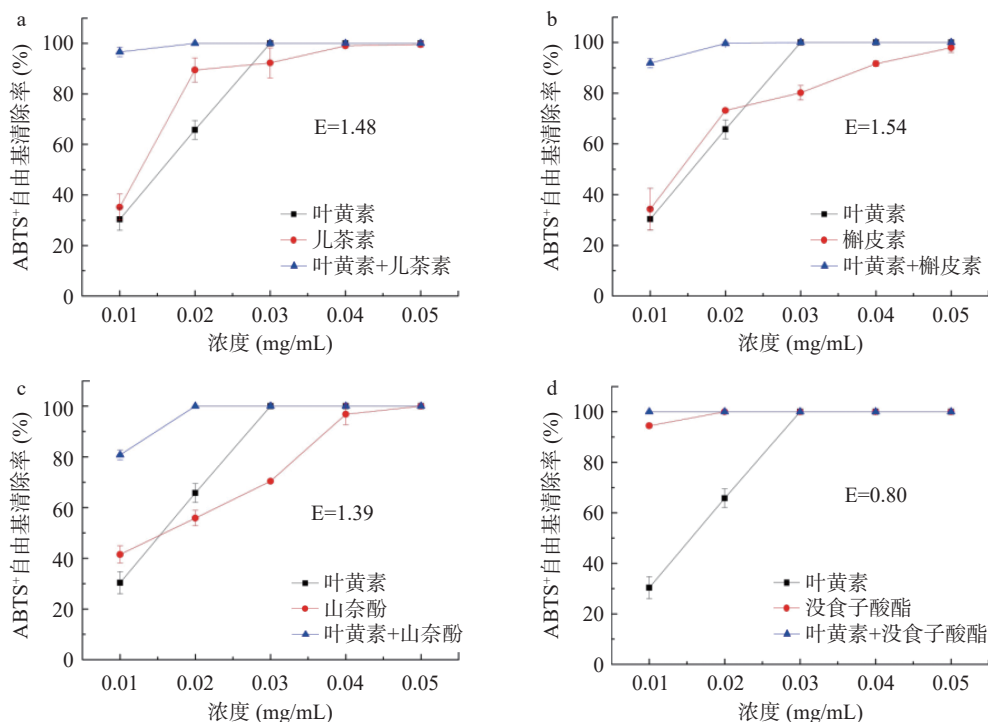


图 2 多酚对叶黄素 DPPH 自由基清除率的影响

Fig.2 Effect of polyphenols on the DPPH radical scavenging rate of lutein

图 3 多酚对叶黄素 ABTS⁺自由基清除率的影响Fig.3 Effect of polyphenols on the ABTS⁺ radical scavenging rate of lutein

此多酚与类胡萝卜素之间的协同作用可能是由于抗氧化性相对较弱的抗氧化剂再生了抗氧化性相对较强的抗氧化剂,或者多酚与类胡萝卜素之间通过离子交换或分子间作用力(氢键、范德华力、静电吸附)形成抗氧化性更强的复合物^[15]。图 1 显示了多酚和类胡萝卜素的分子结构式,多酚含有大量的酚羟基,而类胡萝卜素含有大量不饱和键,因此多酚的酚羟基能够与类胡萝卜素苯环上的氢原子或长碳链上的氢原

子反应形成酮键从而增强体系的抗氧化性和稳定性,而随着浓度的增加溶液体系中两种物质的分子数差距过大无法充分反应结合,或一个类胡萝卜素分子与多个多酚分子结合从而使抗氧化性降低^[22],与前人研究中,两种具有协同作用的抗氧化剂在浓度达到一定程度时,出现拮抗作用的现象相符合^[16, 23]。

2.1.2 多酚对玉米黄素抗氧化性的影响 由图 4 和图 5 可以看出,多酚、玉米黄素以及多酚-玉米黄素

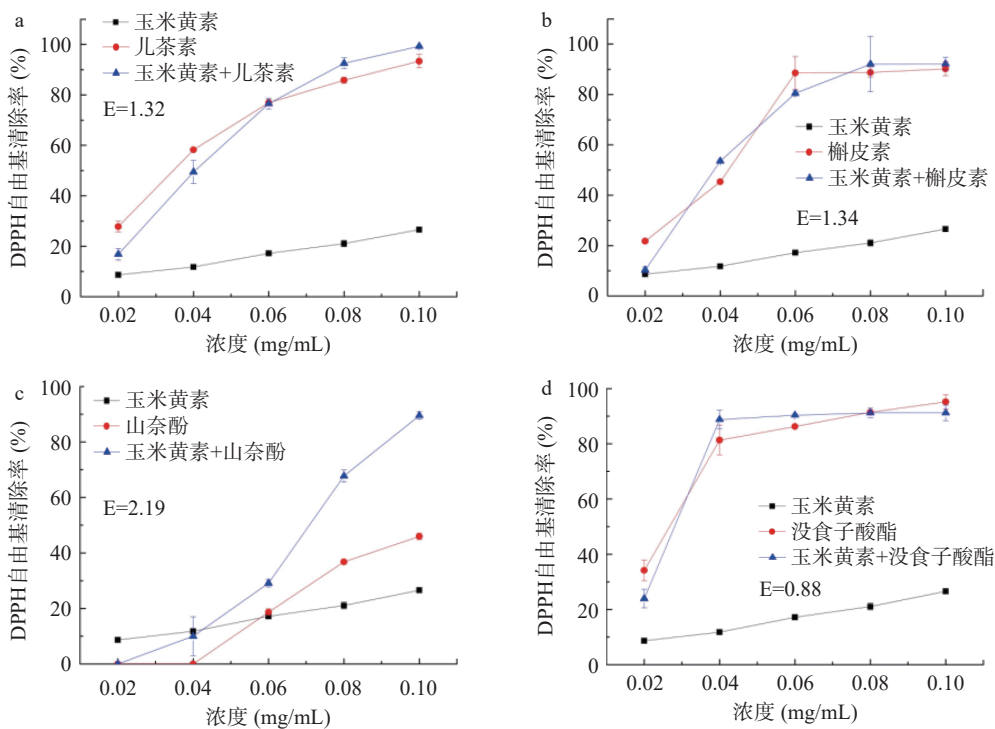
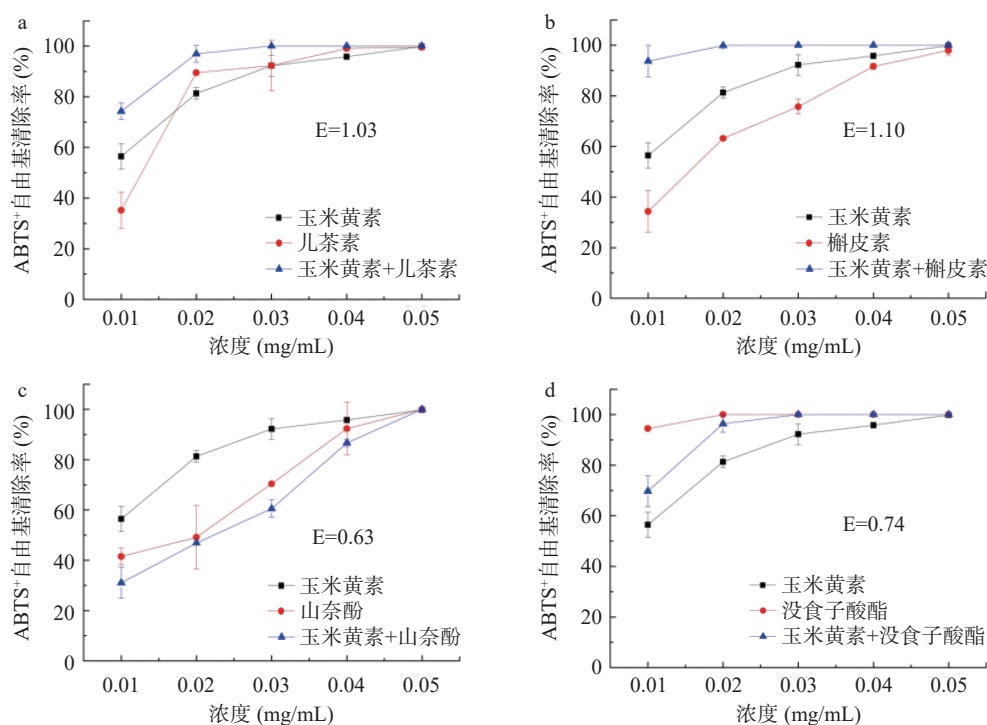


图 4 多酚对玉米黄素 DPPH 自由基清除率的影响

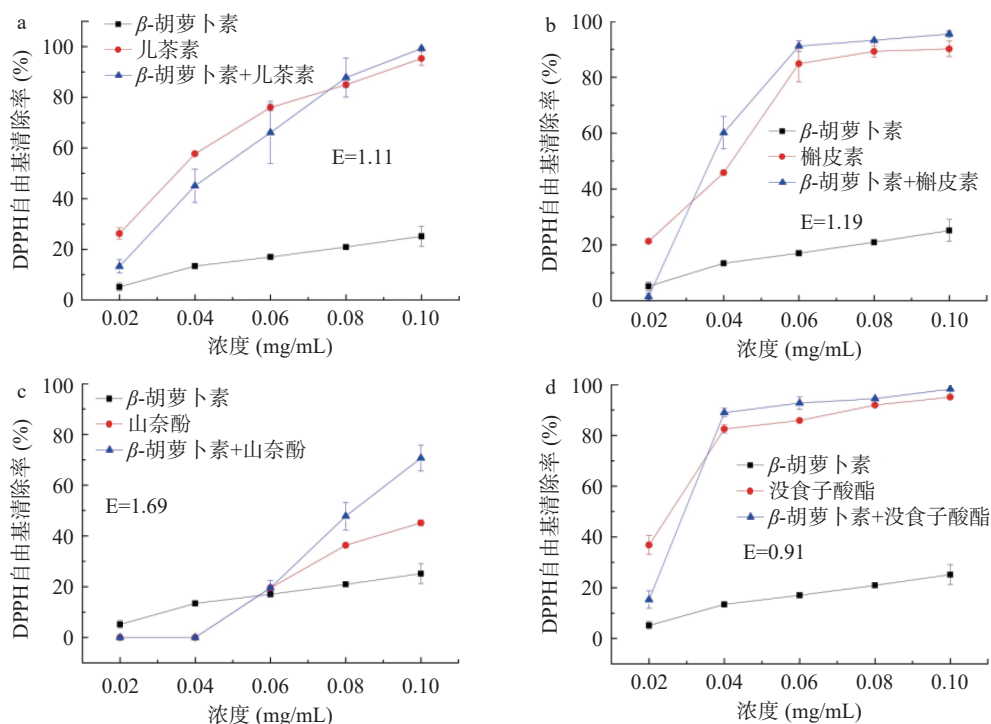
Fig.4 Effect of polyphenols on the DPPH radical scavenging rate of zeaxanthin

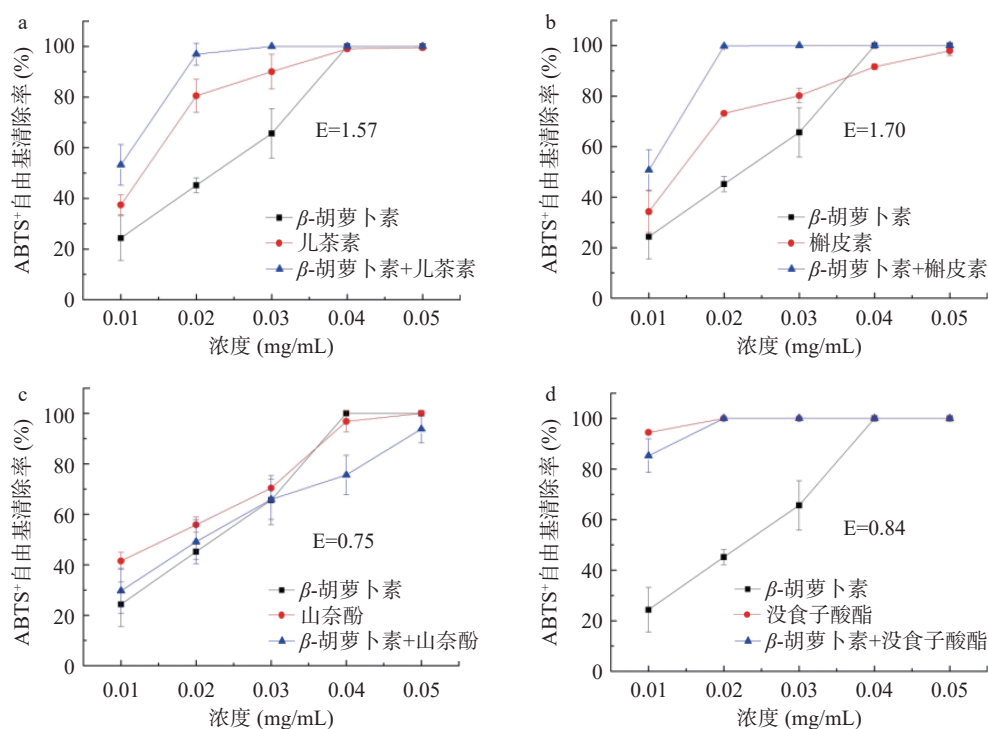
图 5 多酚对玉米黄素 ABTS⁺自由基清除率的影响Fig.5 Effect of polyphenols on the ABTS⁺ radical scavenging rate of zeaxanthin

混合溶液的抗氧化性都在一定范围内随着浓度的增加逐渐增强。通过各复合溶液的抗氧化性相互作用指数可知,儿茶素、槲皮素、山奈酚三种物质与玉米黄素在 DPPH 自由基清除率上表现出协同作用,当溶液浓度增加到 0.06 mg/mL 时,协同作用明显增强;儿茶素和槲皮素与玉米黄素在 ABTS⁺自由基清除率上表现出协同作用,且在浓度低于 0.04 mg/mL 时协同作用更强。在相同浓度下,协同指数越大,表

明两种物质的协同作用越强,因此,山奈酚和玉米黄素在 0.1 mg/mL 浓度下有最强的 DPPH 自由基清除率协同作用,槲皮素和玉米黄素在 0.01 mg/mL 浓度下对于 ABTS⁺自由基清除率的协同作用相对更强。

2.1.3 多酚对 β -胡萝卜素抗氧化性的影响 由图 6、图 7 可以看出,对于 DPPH 清除率,多酚与 β -胡萝卜素在浓度低于 0.04 mg/mL 时未表现出协同作用,当浓度继续增大,四种多酚单体均与 β -胡萝卜素表现

图 6 多酚对 β -胡萝卜素 DPPH 自由基清除率的影响Fig.6 Effect of polyphenols on the DPPH radical scavenging rate of β -carotene

图 7 多酚对 β -胡萝卜素 ABTS⁺ 自由基清除率的影响Fig.7 Effect of polyphenols on the ABTS⁺ radical scavenging rate of β -carotene

出不同程度的协同作用,其中山奈酚对其抗氧化性的积极作用最显著。对于 ABTS⁺ 自由基清除率,儿茶素和槲皮素与 β -胡萝卜素在溶液浓度低于 0.04 mg/mL 时,表现出明显的协同作用,没食子酸酯与 β -胡萝卜素在浓度处于 0.01~0.05 mg/mL 时可能产生拮抗作用,这可能是由于抗氧化活性较强的抗氧化剂解离出氢离子与自由基结合后,弱的抗氧化剂提供氢离子给强抗氧化剂再生类强的抗氧化剂,或形成抗氧化性更

弱的复合物,从而提高了整个体系的抗氧化活性。总的来说, β -胡萝卜素与山奈酚在浓度为 0.1 mg/mL 时具有最强的 DPPH 自由基清除协同作用,而 β -胡萝卜素和槲皮素在浓度为 0.02 mg/mL 时具有最强的 ABTS⁺ 自由基清除协同作用。

2.1.4 多酚对番茄红素抗氧化性的影响 由图 8、图 9 可以看出,对于 DPPH 自由基清除率,儿茶素、槲皮素和山奈酚与番茄红素在浓度处于 0.04~0.1 mg/mL

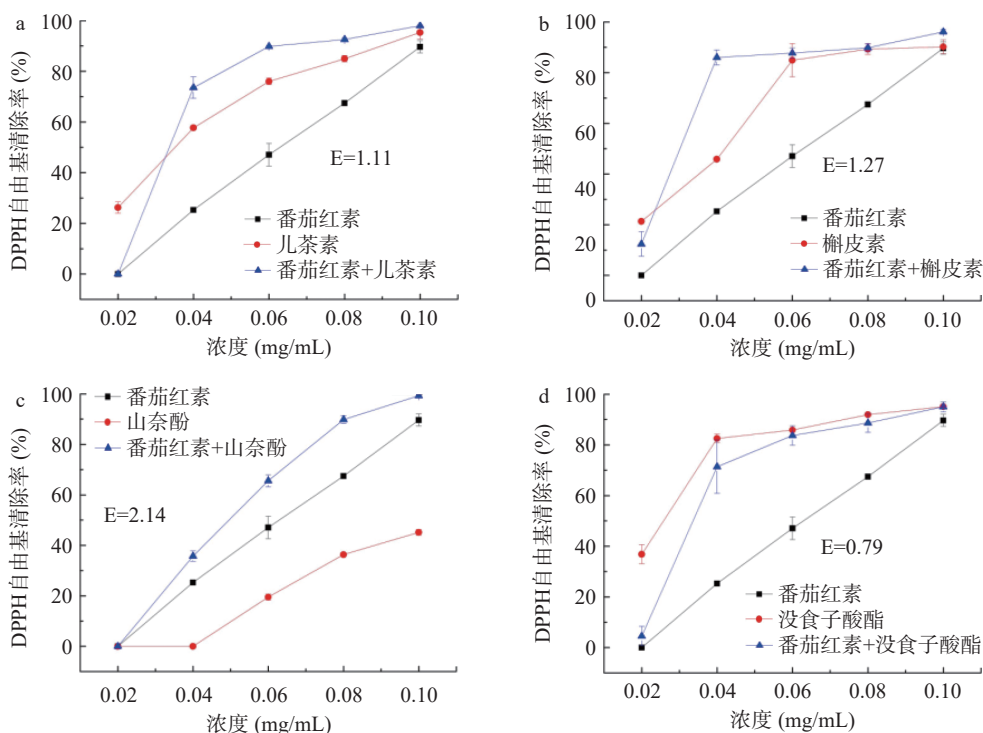
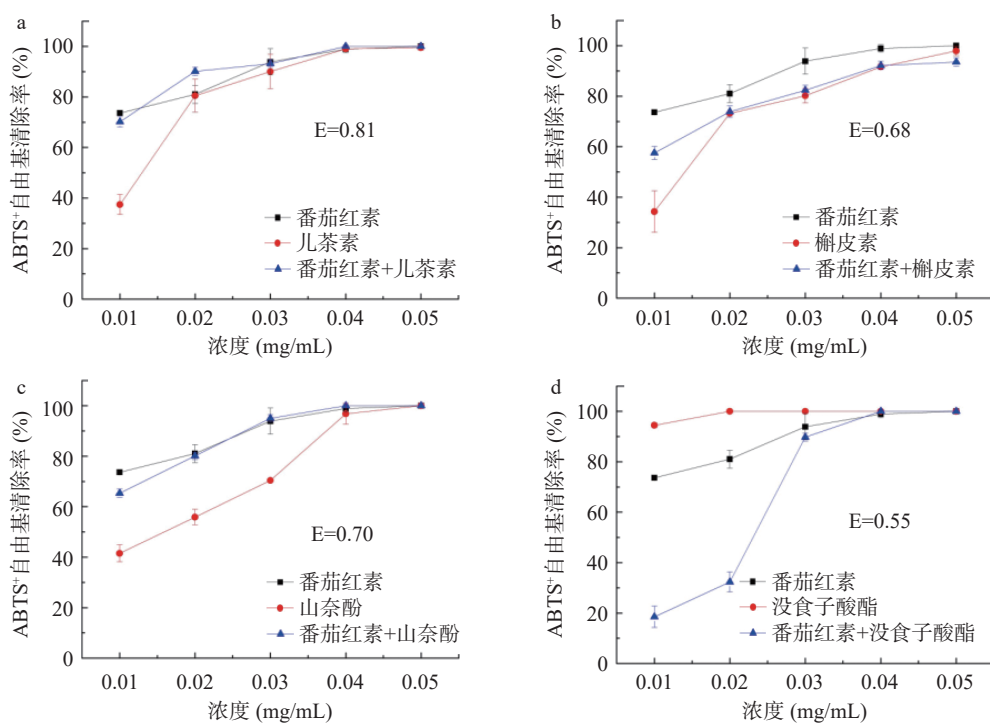


图 8 多酚对番茄红素 DPPH 自由基清除率的影响

Fig.8 Effect of polyphenols on the DPPH radical scavenging rate of lycopene

图9 多酚对番茄红素 ABTS⁺自由基清除率的影响Fig.9 Effect of polyphenols on the ABTS⁺ radical scavenging rate of lycopene

时具有协同作用,而相同浓度范围内的没食子酸酯与番茄红素未表现出协同作用。对于 ABTS⁺自由基清除率,四种多酚单体与番茄红素在浓度处于 0.01~0.05 mg/mL 时均无协同作用,且槲皮素、山奈酚和没食子酸酯与番茄红素表现出抗氧化性拮抗作用。结合相互作用指数可知,山奈酚与番茄红素在 DPPH 自由基清除率上具有最强强的协同作用,而没食子酸酯与番茄红素在 ABTS⁺自由基清除率上具有较强的拮抗作用。

因此,可以发现浓度对抗氧化物之间的相互作用具有较大的影响,且相同的两种抗氧化剂对于不同的体外抗氧化性评价方法可能表现出不同的相互作用,在使用多酚类物质与类胡萝卜素之间的协同作用来提高抗氧化性时,需要考虑到具体的适用范围^[24-25]。

2.2 多酚对类胡萝卜素稳定性的影响

2.2.1 多酚对类胡萝卜素光照稳定性的影响

类胡萝卜素的降解主要是因为被氧化,这可能是由于在加工、运输和储存过程中暴露于光造成的,类胡萝卜素对光的敏感会导致其暴露于光照条件下时发生降解从而丧失生物活性^[26],因此探究其光稳定性是十分重要的。通过图 10 可以看出,在自然光照射下类胡萝卜素的保留率下降了 7.55%~21.38%,其中儿茶素和山奈酚显著增加了类胡萝卜素的保留率($P<0.05$),且山奈酚的增强作用又显著优于儿茶素($P<0.05$),而槲皮素和没食子酸酯对增强类胡萝卜素的保留率无显著作用($P>0.05$)。在紫外光照射下,类胡萝卜素的保留率下降了 51.82%~62.14%,儿茶素和山奈酚同样显著增加了紫外光下类胡萝卜素的保留率($P<0.05$),二者的增强作用无显著差异($P>0.05$)。因此,添加儿

茶素和山奈酚能降低类胡萝卜素在自然光和紫外光条件下的降解率,增加类胡萝卜素的光稳定性,但增强效果有限,这可能是由于多酚的浓度受到限制以及多酚因为自身的多羟基结构也易氧化分解^[27-28]。

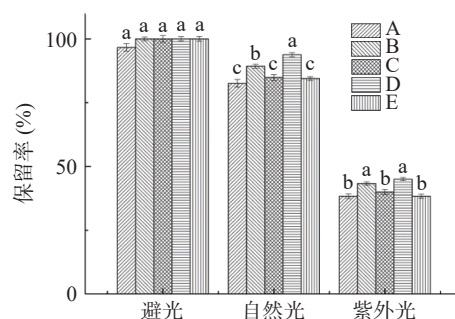


图10 不同光照下类胡萝卜素的保留率

Fig.10 Retention of carotenoids under different light

注: 各组中不同小写字母表示同一光照条件下差异显著 ($P<0.05$); A: 类胡萝卜素溶液; B: 类胡萝卜素-儿茶素复合溶液; C: 类胡萝卜素-槲皮素复合溶液; D: 类胡萝卜素-山奈酚复合溶液; E: 类胡萝卜素-没食子酸酯复合溶液, 图 11~图 14 同。

2.2.2 多酚对类胡萝卜素温度稳定性的影响

由图 11 可知,随着温度的升高,类胡萝卜素的保留率逐渐下降,当温度低于 90 ℃ 时,多酚能有效抑制类胡萝卜素的降解。温度为 60 ℃ 时,5 组类胡萝卜素溶液均只有少量降解,且无显著差异($P>0.05$)。当温度为 70 ℃ 时,未添加多酚的类胡萝卜素降解了 21.18%,而添加儿茶素的类胡萝卜素仅降解了 10.23%,添加山奈酚的类胡萝卜素仅降解 7.46%,添加儿茶素和山奈酚的类胡萝卜素保留率显著高于未添加多酚和添加槲皮素和没食子酸酯的类胡萝卜。温度为 80 ℃

时,未添加多酚的类胡萝卜素降解了 25.52%,与添加儿茶素、槲皮素和没食子酸酯的类胡萝卜素无显著差异($P>0.05$),添加儿茶素和山奈酚的类胡萝卜素分别降解了 18.45% 和 13.12%,均与其他三组之间存在显著差异($P<0.05$)。当温度为 90 ℃ 时,未添加多酚的类胡萝卜素降解了 38.46%,添加多酚的类胡萝卜素降解了 25.15%~22.73%,其中添加儿茶素和山奈酚的类胡萝卜素保留率显著高于添加槲皮素和没食子酸酯的类胡萝卜素,所有添加多酚的类胡萝卜素保留率均显著高于未添加多酚的类胡萝卜素($P<0.05$)。当温度达到 100 ℃ 时,5 组类胡萝卜素的保留率均大幅降低,未添加多酚的类胡萝卜素保留率下降至 48.96%,添加儿茶素和山奈酚的类胡萝卜素保留率虽然显著高于未添加多酚的类胡萝卜素($P<0.05$),但是也仅保留 55.75% 左右。因此,当温度过高时,多酚失去对类胡萝卜素的保护作用,这可能是由于高温下多酚极易分解从而无法起到对类胡萝卜素的护色作用^[29-30]。

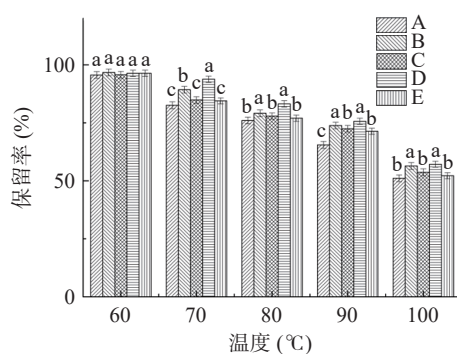


图 11 不同温度下类胡萝卜素的保留率

Fig.11 Retention of carotenoids at different temperature

注: 各组中不同小写字母表示同一温度条件下差异显著 ($P<0.05$);

2.2.3 多酚对类胡萝卜素 pH 稳定性的影响 由图 12 可知,类胡萝卜素在中性和碱性条件下具有较高的稳定性,而在强酸性条件下不稳定,pH1 和 pH3 条件下,类胡萝卜素的保留率显著低于 pH 大于 5 条件下的类胡萝卜素的保留率,这与 Song 等^[31]的研究结果一致。通过对比不同类胡萝卜素溶液中类胡萝卜素的保留率可以看出,添加多酚后类胡萝卜素在不同 pH 条件下的保留率有所增加,因此添加多酚可以增强类胡萝卜素的 pH 稳定性。在 pH1 时,添加多酚后类胡萝卜素的保留率增加了 3.97%~17.56%;在 pH3 时,添加多酚后类胡萝卜素的保留率增加了 1.85%~11.24%;在 pH5 时,添加多酚后类胡萝卜素的保留率增加了 1.02%~16.36%;在所有酸性条件下,山奈酚对类胡萝卜素保留率的增强作用最优,且均显著高于其他组($P<0.05$)。在中性和碱性条件下各组类胡萝卜素溶液中类胡萝卜素的保留率无显著差异($P>0.05$)。四种多酚对类胡萝卜素 pH 稳定性的增强作用从大到小依次为山奈酚、儿茶素、槲皮素、没食子酸酯。

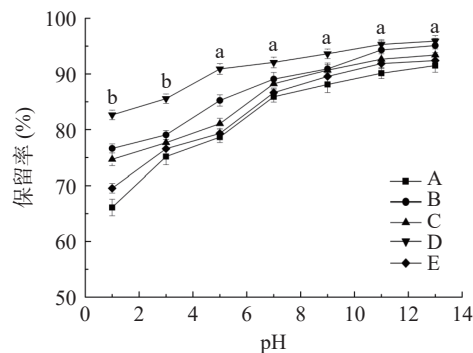


图 12 不同 pH 下类胡萝卜素的保留率

Fig.12 Retention of carotenoids at different pH

注: 各组中不同小写字母表示不同 pH 条件下保留率差异显著 ($P<0.05$)。

2.2.4 多酚对类胡萝卜素金属离子稳定性的影响

由图 13 可知,添加 K^+ 类胡萝卜素的保留率几乎无影响;添加 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ 对类胡萝卜素的保留率有较小的影响,在 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ 存在的条件下,未添加多酚的类胡萝卜素保留率下降了 5.12%~9.26%,添加多酚的类胡萝卜素保留率下降了 0~8.64%,其中添加儿茶素和山奈酚后类胡萝卜素的保留率几乎未下降,显著高于未添加多酚组,添加槲皮素也显著增强了类胡萝卜素在 Na^+ 条件下的稳定性;而添加 Fe^{3+} 后未添加多酚的类胡萝卜素保留率下降了 32.55%,添加山奈酚的类胡萝卜素保留率仅下降 7.25%,与其他组之间具有显著性差异,添加儿茶素和槲皮素的类胡萝卜素保留率分别下降 14.10% 和 17.88%,保留率显著高于添加没食子酸酯和未添加多酚的类胡萝卜素,添加没食子酸酯的类胡萝卜素保留率下降 28.78%,与未添加多酚组无显著差异($P>0.05$)。结果表明,保存类胡萝卜素的过程中应尽量避免与 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 接触。添加多酚能提高类胡萝卜素的金属离子稳定性,其中添加山奈酚对类胡萝卜素稳定性的增强作用最好。

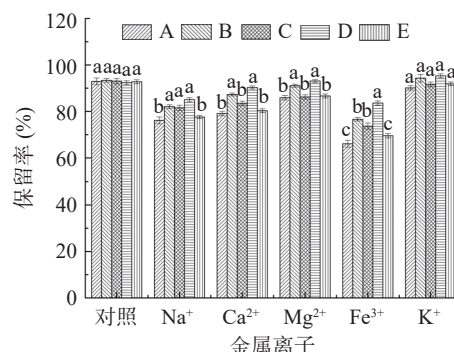


图 13 不同金属离子条件下类胡萝卜素的保留率

Fig.13 Retention of carotenoids at different metal ion

注: 各组中不同小写字母表示同一金属离子条件下保留率差异显著 ($P<0.05$)。

2.2.5 多酚对类胡萝卜素氧化剂稳定性的影响 由图 14 可知,不同浓度的氧化剂对类胡萝卜素的保留率影响较小,这一现象表明类胡萝卜素具有一定的抗

氧化能力。随着氧化剂浓度的增加,类胡萝卜素的保留率有少量下降,这是因为少部分类胡萝卜素被氧化分解。且添加多酚后类胡萝卜素保留率有少量上升,但与未添加多酚的类胡萝卜素无显著差异($P>0.05$),这是因为类胡萝卜素与多酚都具有较好的抗氧化性,即使未添加多酚,类胡萝卜素的保留率也始终保持90%以上,添加多酚后, H_2O_2 先氧化了部分多酚,使类胡萝卜保留率升高^[32]。

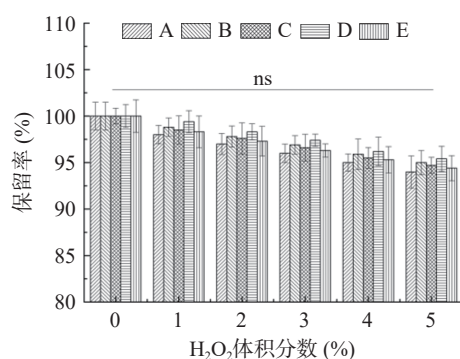


图 14 不同 H_2O_2 浓度下类胡萝卜素的保留率

Fig.14 Retention of carotenoids at different H_2O_2 concentrations

注: ns(not significant)表明无显著差异($P>0.05$)。

3 结论

本实验分析了不同浓度下多酚与类胡萝卜素的 DPPH、ABTS⁺自由基清除率的变化,结合多酚与类胡萝卜素的相互作用指数,发现浓度对抗氧化物之间的相互作用具有较大的影响,且相同的两种抗氧化剂对于不同的体外抗氧化性评价方法可能表现出不同的相互作用。总体而言,各多酚单体对类胡萝卜素抗氧化性和稳定的强弱大小为:山奈酚>儿茶素>槲皮素>没食子酸酯。其中,山奈酚和玉米黄素在浓度为 0.1 mg/mL 具有最高的 DPPH 自由基清除率协同作用,儿茶素和 β -胡萝卜素在浓度为 0.02 mg/mL 具有最高的 ABTS⁺自由基清除率协同作用。通过研究多酚对类胡萝卜素在不同条件下的保留率的影响发现,添加儿茶素和山奈酚可以使类胡萝卜素在自然光和紫外光下的保留率提高 10.32%~13.82%,100 °C 以下高温的保留率提高 6.79%~13.72%,pH<5 条件下的保留率提高 1.02%~17.56% 及多种金属离子(Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+})条件下的保留率提高 9.26%~25.3%,从而一定程度上提高类胡萝卜素的稳定性,而槲皮素和没食子酸酯对类胡萝卜素的稳定性基本无显著提升。本研究为利用活性物质之间的相互作用提高类胡萝卜素的抗氧化性和稳定性以及类胡萝卜素在食品中的应用提供了一定的数据支撑和理论依据,为进一步地研究类胡萝卜素与多酚在细胞水平的相互作用机制提供了一定的参考。

参考文献

[1] ALI S, AKBAR ANJUM M, SATTAR KHAN A, et al. Carboxymethyl cellulose coating delays ripening of harvested mango

fruits by regulating softening enzymes activities[J]. *Food Chemistry*, 2022, 380: 131804.

[2] ABDUL AZIZ N A, WONG L M, BHAT R, et al. Evaluation of processed green and ripe mango peel and pulp flours (*Mangifera indica* var. Chokanan) in terms of chemical composition, antioxidant compounds and functional properties[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012, 92(3): 557-563.

[3] AJILA C M, AALAMI M, LEELAVATHI K, et al. Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2010, 11(1): 219-224.

[4] ETZBACH L, PFEIFFER A, WEBER F, et al. Characterization of carotenoid profiles in goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruits at various ripening stages and in different plant tissues by HPLC-DAD-APCI-MS(n)[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 508-517.

[5] AJILA C M, PRASADA RAO U J S. Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(1): 444-450.

[6] CHEN Y, ZHAO L, HE T, et al. Effects of mango peel powder on starch digestion and quality characteristics of bread[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 140: 647-652.

[7] MARÇAL S, PINTADO M. Mango peels as food ingredient/additive: nutritional value, processing, safety and applications[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 114: 472-489.

[8] LIANG M, SU X, YANG Z, et al. Carotenoid composition and expression of carotenogenic genes in the peel and pulp of commercial mango fruit cultivars[J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 263: 109072.

[9] FRATIANNI A, ADILETTA G, DI MATTEO M, et al. Evolution of carotenoid content, antioxidant activity and volatiles compounds in dried mango fruits (*Mangifera indica* L.)[J]. *Foods*, 2020, 9(10): 1424.

[10] CHAIWARIT T, MASAVANG S, MAHE J, et al. Mango (cv. Nam Dokmai) peel as a source of pectin and its potential use as a film-forming polymer[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105611.

[11] SRIDHAR K, INBARAJ B S, CHEN B H. Recent advances on nanoparticle based strategies for improving carotenoid stability and biological activity[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(5): 713.

[12] SANTOS P D F, RUBIO F T V, DA SILVA M P, et al. Microencapsulation of carotenoid-rich materials: A review[J]. *Food Research International*, 2021, 147: 110571.

[13] BEZERRA P Q M, MATOS M F R, RAMOS I G, et al. Innovative functional nanodispersion: Combination of carotenoid from spirulina and yellow passion fruit albedo[J]. *Food Chemistry*, 2019, 285: 397-405.

[14] DAI L, ZHOU L, ZHOU H, et al. Comparison of lutein bioaccessibility from dietary supplement-excipient nanoemulsions and nanoemulsion-based delivery systems[J]. *J Agr Food Chem*, 2021, 69(46): 13925-13932.

[15] MIRZA B, CROLEY C R, AHMAD M, et al. Mango (*Mangifera indica* L.): A magnificent plant with cancer preventive and anticancer therapeutic potential[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(13): 2125-2151.

[16] CANO M P, GOMEZ-MAQUEO A, FERNANDEZ-LOPEZ R, et al. Impact of high hydrostatic pressure and thermal treatment on the stability and bioaccessibility of carotenoid and carotenoid esters in astringent persimmon (*Diospyros kaki* Thunb, var. *Rojo Brillante*)[J]. *Food Research International*, 2019, 123: 538-549.

[17] BRITO CANGUSSU L, D P L, OLIVEIRA L S, et al. Pro-

- file of bioactive compounds in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel flours[J]. *Food Chemistry*, 2021, 350: 129221.
- [18] DE ANCOS B, SÁNCHEZ-MORENO C, ZACARÍAS L, et al. Effects of two different drying methods (freeze-drying and hot air-drying) on the phenolic and carotenoid profile of ‘Ataulfo’ mango by-products[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, 12(3): 2145–2157.
- [19] KAUR P, ELSAYED A, SUBRAMANIAN J, et al. Encapsulation of carotenoids with sucrose by co-crystallization: Physico-chemical properties, characterization and thermal stability of pigments[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 140.
- [20] KISELOVA-KANEVA Y, GALUNSKA B, NIKOLOVA M, et al. High resolution LC-MS/MS characterization of polyphenolic composition and evaluation of antioxidant activity of *Sambucus ebulus* fruit tea traditionally used in Bulgaria as a functional food[J]. *Food Chemistry*, 2022, 367: 130759.
- [21] PANYA A, KITTIPONGPITTAYA K, LAGUERRE M, et al. Interactions between alpha-tocopherol and rosmarinic acid and its alkyl esters in emulsions: synergistic, additive, or antagonistic effect?[J]. *J Agr Food Chem*, 2012, 60(41): 10320–10330.
- [22] AZMAN E M, YUSOF N, CHATZIFRAGKOU A, et al. Stability enhancement of anthocyanins from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) pomace through intermolecular copigmentation[J]. *Molecules*, 2022, 27(17).
- [23] AJILA C, NAIDU K, BHAT S, et al. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract[J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(3): 982–988.
- [24] CHAIWARIT T, RACHTANAPUN P, KANTRONG N, et al. Preparation of clindamycin hydrochloride loaded de-esterified low-methoxyl mango peel pectin film used as a topical drug delivery system[J]. *Polymers (Basel)*, 2020, 12(5): 1006.
- [25] CHEN Y, BELWAL T, XU Y, et al. Updated insights into anthocyanin stability behavior from bases to cases: Why and why not anthocyanins lose during food processing[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022: 1–33.
- [26] BAEK E J, GARCIA C V, SHIN G H, et al. Improvement of thermal and UV-light stability of beta-carotene-loaded nanoemulsions by water-soluble chitosan coating[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 165(Pt A): 1156–1163.
- [27] CIANCIOSI D, FORBES-HERNANDEZ T Y, REGOLO L, et al. The reciprocal interaction between polyphenols and other dietary compounds: Impact on bioavailability, antioxidant capacity and other physico-chemical and nutritional parameters[J]. *Food Chemistry*, 2022, 375: 131904.
- [28] ZBYRADOWSKI M, DUDA M, WISNIEWSKA-BECKER A, et al. Triplet-driven chemical reactivity of beta-carotene and its biological implications[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 2474.
- [29] ZHAO J, BLAYNEY A, LIU X, et al. EGCG binds intrinsically disordered N-terminal domain of p53 and disrupts p53-MDM2 interaction[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 986.
- [30] OGAWA K, HIROSE S, NAGAOKA S, et al. Interaction between tea polyphenols and bile acid inhibits micellar cholesterol solubility[J]. *J Agr Food Chem*, 2016, 64(1): 204–209.
- [31] SONG H Y, MOON T W, CHOI S J. Impact of antioxidant on the stability of beta-carotene in model beverage emulsions: Role of emulsion interfacial membrane[J]. *Food Chemistry*, 2019, 279: 194–201.
- [32] CHUKHUTSINA V U, BAXTER J M, FADINI A, et al. Light activation of orange carotenoid protein reveals bicycle-pedal single-bond isomerization[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 6420.