

EGCG 磷脂复合物抗氧化活性的研究

陈金玉, 张鑫, 吴祖芳, 翁佩芳

(宁波大学海洋学院, 浙江宁波 315211)

摘要: 本文研究了表没食子儿茶素没食子酸酯磷脂复合物的体外抗氧化活性。将 EGCG 和大豆卵磷脂溶于无水乙醇, 制备得到 EGCG 磷脂复合物。通过高效液相色谱(HPLC)测定, 发现制备得到的 EGCG 磷脂复合物中 EGCG 的复合率大于 99%, 并利用紫外扫描、红外光谱、X 射线衍射等方法对其结构进行表征, 说明通过本实验方法制备得到了目标复合物。通过 DPPH、FRAP、TEAC 等方法测定 EGCG 磷脂复合物的体外抗氧化活性, 结果表明 EGCG 磷脂复合物的体外抗氧化能力显著高于 VE ($P < 0.05$)。同时测定添加 EGCG 磷脂复合物后, 不同贮藏时间 (3、6、9、12 和 15 d) 反映大豆油氧化的指标。结果表明 EGCG 磷脂复合物对于大豆油的氧化具有抑制作用且呈现剂量依赖关系, 并且在贮藏 15 d 时, 抗氧化效果显著好于 BHT ($P < 0.05$)。研究表明, 制备得到的 EGCG 磷脂复合物具有显著的抗氧化活性, 并且可以有效抑制大豆油的氧化。

关键词: EGCG; EGCG 磷脂复合物; 抗氧化; 大豆油

文章编号: 1673-9078(2015)5-137-143

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.5.022

Antioxidant Activity of (-)-Epigallocatechin Gallate-phospholipid Complex

CHEN Jin-yu, ZHANG Xin, WU Zu-fang, WENG Pei-fang

(Department of Food Science, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The *in vitro* antioxidant activity of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG)-phospholipid complex (EPC) was studied. First, EPC was prepared by dissolving EGCG and soybean lecithin in ethanol. High-performance liquid chromatography showed that the complexation rate of EGCG in EPC was more than 99%, and the structure of EPC was characterized by ultraviolet spectroscopy, infrared spectroscopy, and X-ray powder diffractometry. The *in vitro* antioxidant activity of EPC, as evaluated by diphenylpicrylhydrazyl and ferric reducing ability of plasma and Trolox equivalent antioxidant capacity methods, was found to be significantly higher ($p < 0.05$) than that of VE. Indicators reflecting the oxidation of soybean oil at different storage times (3, 6, 9, 12, and 15 days) were also evaluated after the addition of EPC. The results showed that the inhibitory effect of EPC on the oxidation of soybean oil was dose-dependent as well as significantly higher ($p < 0.05$) than that of butylated hydroxytoluene after a 15-day storage. These results suggest that the prepared EPC has strong antioxidant activity and can effectively inhibit the oxidation of soybean oil.

Key words: epigallocatechin gallate; epigallocatechin gallate-phospholipid complex; antioxidant activities; soybean oil

茶是全世界最受欢迎的饮料之一, 除了脍炙人口的色、香、味之外, 茶还具有抗氧化、抗炎症、抗过敏和抗肥胖等生理功效, 研究发现茶的风味与保健功能正是茶叶所特有的茶多酚等具有生物活性的成分所赋予的^[1-2]。

茶多酚是茶叶中多酚类物质及其衍生物的总称, 其中茶叶儿茶素是茶多酚中主要的多酚类化合物, 而表没食子儿茶素没食子酸酯 ((-)-epigallocatechin gallate, EGCG) 是茶叶中含量最高、生物活性最强的

收稿日期: 2014-08-26

基金项目: 宁波市自然科学基金项目 (2014A610189); 宁波大学人才工程项目 (zx2013000782); 宁波大学校学科项目 (xk1141055); 宁波大学校级科研项目 (XYL14026)

作者简介: 陈金玉 (1991-), 女, 本科生, 研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 张鑫 1986-, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品生物技术

一种儿茶素, 约占儿茶素总量的 50~60%, 具有抗氧化、保护神经系统、抗肿瘤、保护心脑血管等多种活性^[3]。由于 EGCG 结构的特异性 (图 1), 在吸收到人体之后易发生氧化、异构化和降解等化学变化, 导致在体内的生物利用度降低; 同时 EGCG 具有多个酚羟基, 导致其极性大、易溶于水, 从而限制了其在脂溶性产品中的应用。

磷脂是一种含磷的类脂物质, 分为甘油磷脂和非甘油磷脂两大类。卵磷脂属于甘油磷脂, 是生物界中分布最广泛的一种磷脂, 其结构式见图 2。卵磷脂具有两亲性的特征, 不仅是有效的乳化剂, 也是细胞膜的重要组成部分, 承担了生命现象中的多种功能, 参与体内脂肪代谢, 降低血液中胆固醇, 具有预防动脉粥样硬化、脂肪肝等作用^[4]。磷脂复合物系指在非质子传递溶剂中, 天然活性成分与磷脂以一定配比,

通过电荷迁移或极性相互作用而形成的较为稳定的化合物或络合物^[5]。生物活性成分与磷脂在一定条件下形成磷脂复合物后,可改善母体物质的脂溶性,提高机体对于生物活性物质的生物利用度,提高其生物利用度。因此,磷脂复合物的开发需要进行深入的研究,但是目前关于磷脂复合物生物活性的报道较少。本研究拟在实验室之前的工作基础上,利用大豆卵磷脂为原料,采用物理方法制备 EGCG 磷脂复合物,并通过研究 EGCG 磷脂复合物的体外抗氧化活性以及抑制大豆油氧化的活性等,为 EGCG 磷脂复合物的开发提供理论基础。

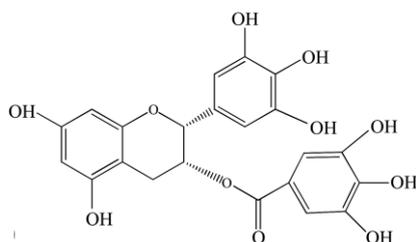


图1 EGCG 的化学结构式

Fig.1 Chemical structure of EGCG

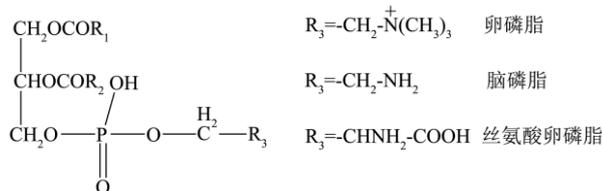


图2 磷脂的化学结构式

Fig.2 Chemical structure of phospholipid.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

EGCG 日本 Funakoshi 公司;大豆卵磷脂 郑州四维磷脂技术有限公司;甲醇,色谱纯,上海化学试剂有限公司;V_E, Vitamin E, 上海阿拉丁试剂有限公司; DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 和 ABTS (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenothiazolin-6-sulfonate) diammonium salt), Sigma 公司; TPTZ (2, 4, 6-tris (2-pyridyl) -s-triazine), Fluka 公司; BHT (butylated hydroxytoluene) 和 TBHQ (tertiary butylhydroquinone), 上海晶纯试剂有限公司;其他化学试剂均为分析纯。

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; Laborota 4000 真空旋转蒸发仪, 德国 Heidolph 公司; AY-120 电子精密天平, 日本 Shimadzu 公司; 电热恒温干燥箱, 上海跃进医疗器械厂。

1.2 实验方法

1.2.1 EGCG 磷脂复合物的制备

EGCG 磷脂复合物 (EGCG-phospholipid Complex, EPC) 的制备参照雷时成等^[6]的方法, 并稍做修改。准确称取 267.3 mg 大豆卵磷脂和 100 mg EGCG (大豆卵磷脂和 EGCG 物质的量比为 1:1), 将大豆卵磷脂置于圆底烧瓶中, 加入 10 mL 无水乙醇后在室温下充分搅拌溶解后, 边搅拌边逐渐加入 EGCG, 缓慢升温至 40 °C, 持续搅拌, 冷凝回流 (20 °C) 反应 2 h 后真空干燥。根据复合物易溶于氯仿而 EGCG 不溶于氯仿的特征, 将产物加入适量的氯仿充分溶解, 0.45 μm 的非水滤膜过滤, 水洗滤膜, 高效液相色谱法检测滤膜中 EGCG 含量, 制备得到 EGCG 磷脂复合物, 并计算 EGCG 磷脂复合物的复合率。

1.2.2 EGCG 含量的测定

采用高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 外标法测定 EGCG 的含量^[7]。色谱条件: TSKgel ODS-100Z 色谱柱 (4.6×150 mm, 5 μm), 柱温 40 °C, 检测波长 280 nm; 梯度洗脱 (流动相 A 为 pH 2.5 的甲酸溶液, 流动相 B 为甲醇), 洗脱时间 15 min, 流速 1.0 mL/min; 进样量 20 μL。洗脱梯度见表 1。

表 1 HPLC 分析流动相洗脱梯度

Table 1 Conditions for gradient elution in HPLC

| 时间/min | 流动相 A/% | 流动相 B/% |
|--------|---------|---------|
| 0 | 20 | 80 |
| 15 | 60 | 40 |

EGCG 标准曲线的制备: 精确称取 EGCG 的标准品, 溶解于水中, 配制一系列不同浓度梯度的标准溶液, 经 0.45 μm 针头式滤膜过滤后, 按浓度从低到高的顺序进行 HPLC 检测, 记录各个浓度对应的峰面积并以峰面积对浓度作图, 得到 EGCG 的标准曲线。

1.2.3 EGCG 磷脂复合物的结构表征

1.2.3.1 紫外光谱分析

将 EGCG 以及 EGCG 磷脂复合物分别溶于无水乙醇溶液中, 制成等 EGCG 浓度的乙醇溶液; 同时按 EGCG 磷脂复合物溶液中卵磷脂的浓度, 制备等浓度的磷脂乙醇溶液, 将 3 种溶液进行紫外全波长扫描。

1.2.3.2 红外光谱分析

分别取适量的 EGCG、磷脂和 EGCG 磷脂复合物, 采用 KBr 压片法, 利用红外光谱仪在 400~4000 cm⁻¹ 范围内进行红外光谱扫描。

1.2.3.3 X 射线衍射分析

分别取适量的 EGCG、磷脂和 EGCG 磷脂复合物, 进行 X 射线衍射分析, 条件如下: 石墨单色器单色化 Cu-Kα, 管压 40 kV, 管流 40 mA, 衍射范围 5°<2θ<60°, 扫描速度 2θ/2min。

步长 0.05%，每步计时 0.1 s。

1.2.4 EGCG 磷脂复合物体外抗氧化活性测定

1.2.4.1 DPPH 法抗氧化活性的测定

抗氧化能力的测定参照刘丽香等^[8]的方法。称取适量 DPPH，以无水乙醇定容得 0.1 mmol/L 的溶液。取此溶液 3 mL，加入不同质量浓度样品液 1 mL，室温反应 30 min，于 517 nm 波长处测定吸光度，空白组以 1 mL 无水乙醇代替样品液，并按下式计算清除率：

$$DPPH\text{自由基清除率}/\% = (1 - A_{\text{试样}}/A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

注：A 试样为样品的吸光度，A 空白为空白组的吸光度。

1.2.4.2 TEAC 法抗氧化活性的测定

TEAC 法抗氧化活性的测定参照 Stratil 等^[9]的方法。将 7.0 mM ABTS 与 4.95 mM 过硫酸钾溶液等体积混合，于室温、暗处反应 12 h，形成蓝绿色的 ABTS⁺ 溶液，并将其 734 nm 处的光吸收值稀释调整为 1.3。以 2.0 mM Trolox 的磷酸盐溶液作为标准贮液，冷藏待用，每日用时稀释，并做出反应标准曲线。

取 3.9 mL ABTS⁺ 溶液与 0.1 mL 样品液混合、摇匀，37 °C 水浴反应并计时，以磷酸盐缓冲液调零，测定反应液在第 10 min 时 734 nm 处的吸光值 A_i ，同时测定 3.9 mL ABTS⁺ 溶液与 0.1 mL 的磷酸盐缓冲液的吸光光度值 A_c ，3.9 mL 的磷酸盐缓冲液与 0.1 mL 的样品液吸光光度值 A_j ，计算吸光光度值的减少度 ΔA ($\Delta A_{\text{Trolox}} = (A_c - A_i) - A_j$)，根据 Trolox 反应标准曲线计算 TEAC 值。

1.2.4.3 FRAP 法抗氧化活性的测定

参照 Benzie 等^[10]的方法。取 0.2 mL 样品溶液加入 3.0 mL FRAP 试剂（由 300 mM 醋酸盐缓冲液 300 mL、10 mM TPTZ 溶液 30 mL，20 mM FeCl₃·6H₂O 溶液 30 mL 组成），混匀后 37 °C 反应 10 min，测定 593 nm 处吸光值的增加，以 1.0 mM FeSO₄ 为对照，样品抗氧化活性（FRAP 值）以达到同样吸光度所需的 FeSO₄ 的毫摩尔数表示。

1.2.5 EGCG 磷脂复合物对于大豆油的抗氧化活性测定

1.2.5.1 实验样品的处理

将不同质量的 EGCG 磷脂复合物添加到大豆油中，EGCG 的终浓度分别为 10⁻³ mg/mL (EPC-low)，5×10⁻³ mg/mL (EPC-middle) 和 10⁻² mg/mL (EPC-high)，同时将合成抗氧化剂 TBHQ 和 BHT 分别添加到大豆油中，终浓度均为 10⁻³ mg/mL。将样品及空白置磁力搅拌器上 25 °C 搅拌 30 min，使抗氧化剂充分溶解在大豆油中。然后将所有的样品置于 60 °C 烘箱中。第 3、6、9、12 和 15 d 时测定过氧化值、共

轭双烯值和茴香胺值，以不加抗氧化剂的油样作为空白。

1.2.5.2 过氧化值的测定

参照李丹丹的方法^[11]。准确称取 20 mg 样品油，加 0.5 mL 氯仿-冰醋酸 (V:V=2:3) 溶解，加入 0.05 mL 碘化钾饱和溶液，紧塞并轻轻振荡 30 s，然后在暗处放置 3 min，取出加入显色剂至 10 mL，紧塞混匀后静置 5 min，于 580 nm 处测定其吸光度。

$$\text{过氧化值} = 6A/1000m \times 100 \times 78.8$$

注：A：从标准曲线求得的样品测定液的含碘量 (μg)；m：样品的质量 (g)。

1.2.5.3 共轭双烯值的测定

参照 Wettasinghe 和 Shahidi 的方法^[12]，准确称取 0.02 g 样品溶解于 25 mL 异辛烷中，混合均匀，测定其在 234 nm 处的吸光值。用异辛烷做空白。共轭双烯值的计算采用下面的公式：

$$\text{共轭双烯值} = 234\text{nm 处的吸光值}/(\text{油的浓度}/100\text{mL} \times \text{比色杯的厚度})$$

1.2.5.4 茴香胺值的测定

油脂的氧化产物主要是氢过氧化物，氢过氧化物十分不稳定，可以进一步分解形成醛类和酮类羰基化合物。油脂氧化后的二次生成物醛类（主要是 2-直链烯醛）与 p-茴香胺试剂发生缩合反应，在 350 nm 的波长下测定此缩合生成物的吸光度即可计算醛值。因此，p-茴香胺值的大小直接反映出醛类化合物生成量的高低。本文参照李丹丹^[11]的方法，具体实验方法如下：

准确称取 2.0 g 油样，用异辛烷溶解并稀释定容至 25 mL 成为未反应溶液，用异辛烷溶剂作参比，在 350 nm 处测定其吸光度 A_0 。用移液管吸取未反应溶液 5 mL 置于 10 mL 试管中，加入 1 mL p-茴香胺冰醋酸溶液，10 min 后在 350 nm 处测定其吸光度 A_1 。按下式计算：

$$\text{茴香胺值} = V/m \times (1.2A_1 - A_0)$$

注：V-溶解试样的体积，mL；m-试样的质量，g。

1.3 数据分析

实验数据采用 SPSS 软件 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 EGCG 的制备

本研究根据 EGCG 磷脂复合物易溶于氯仿而 EGCG 不溶于氯仿的特性，将反应产物加入适量的氯仿充分溶解，经 0.45 μm 的非水滤膜过滤后水洗滤膜，

通过高效液相色谱法,计算检测滤膜中 EGCG 含量,发现制备得到的 EGCG 磷脂复合物复合率>99%,说明通过本实验方法,制备得到了目标复合物。

2.2 EGCG 磷脂复合物的结构表征

2.2.1 紫外光谱分析

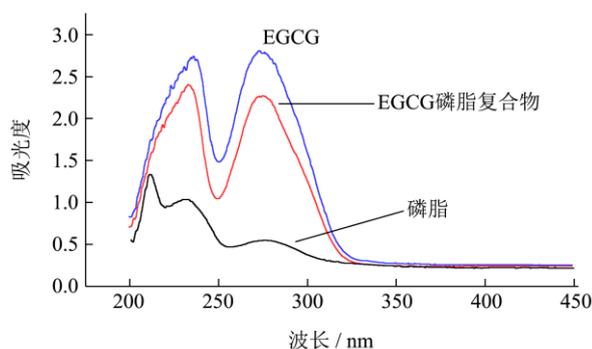


图3 EGCG、磷脂和 EGCG 磷脂复合物的紫外扫描图谱

Fig.3 UV spectra of EGCG, phospholipid, and EGCG-phospholipid complex (EPC)

紫外吸收光谱可以反映化合物中不饱和键的变化情况,EGCG、磷脂以及 EGCG 磷脂复合物的紫外全波长扫描图谱如图 3 所示。EGCG 中含有不饱和结构,EGCG 和 EGCG 磷脂复合物在 278 nm 波长均有最强吸收峰,而磷脂溶液在 278 nm 的吸收峰较低。EGCG 磷脂复合物可能是磷脂的极性基团与 EGCG 发生了较强的相互作用而形成的,因此紫外吸收光谱特征有所改变,表现为 EGCG 磷脂复合物的吸光值会有一定程度降低^[13]。

2.2.2 红外光谱分析

EGCG、磷脂和 EGCG 磷脂复合物的红外光谱图如图 4 所示。EGCG 在 3359 cm^{-1} 和 3480 cm^{-1} 具有特征吸收峰 O-H,而磷脂的特征吸收峰为 N-H (3408 cm^{-1})、P=O (1234 cm^{-1})。磷脂复合物的图谱虽保留了磷脂的大部分吸收峰,但特征吸收峰 N-H 和 O-H 移向低波数,并且峰形宽而钝,可能是由于 EGCG 分子中的酚羟基与磷脂胆碱中的季铵氮产生强的分子间作用力^[6]。

2.2.3 X-射线衍射分析

EGCG、磷脂和 EGCG 磷脂复合物的 X-射线衍射图谱见图 5。可以看出,EGCG 主要以晶体形式存在,晶体衍射峰强烈;磷脂在 10° 以后主要以无定型特征存在,衍射图上仅为一宽带。EGCG 磷脂复合物在 10° 以后 EGCG 的晶体衍射峰消失,表现为无定型特征,表明复合物中 EGCG 的物相发生了重大改变,已经完全分散于磷脂中。复合物中 EGCG 物相的改变,可能是因为 EGCG 与磷脂的极性端定向结合使复合物处于

高度分散状态,导致其自身的晶体特征被抑制^[6]。

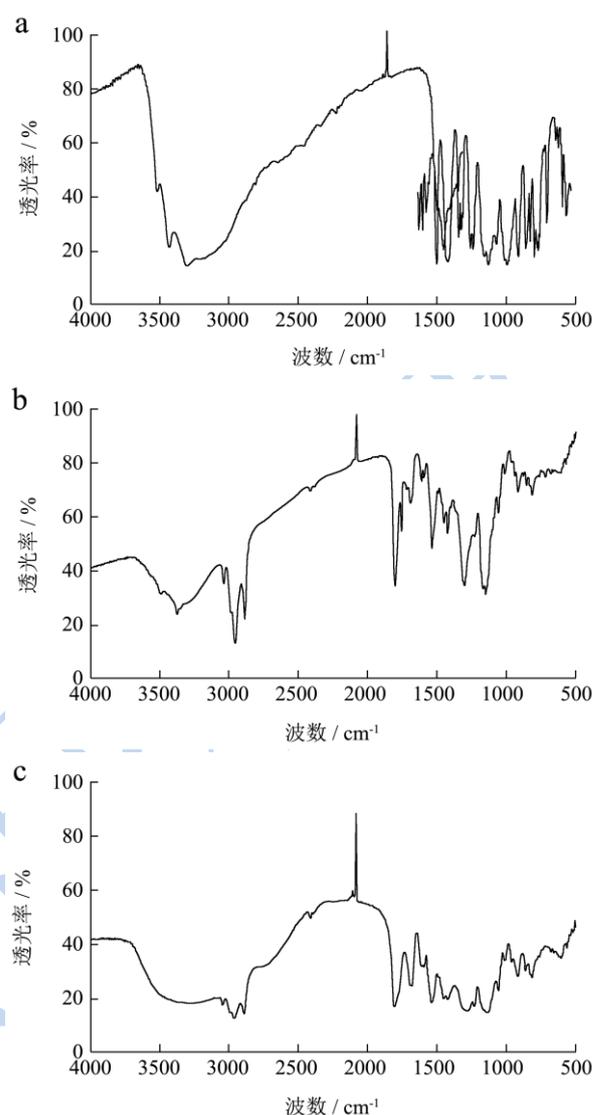


图4 EGCG (a)、磷脂 (b) 和 EGCG 磷脂复合物 (c) 的红外光谱图
Fig.4 Infrared spectra of EGCG (a), phospholipid (b) and EPC (c)

2.3 EGCG 磷脂复合物体外抗氧化活性研究

2.3.1 EGCG 磷脂复合物 DPPH 法抗氧化活性

自由基被认为是人体衰老和慢性疾病产生的主要原因之一。体外检测抗氧化剂抗氧化活性评价的方法以 DPPH 自由基 (DPPH·) 的清除最为常见。DPPH 的甲醇溶液呈深紫色,在 517 nm 处有强吸收。当加入抗氧化剂后,应用分光光度计测定溶液颜色的变化即可计算出抗氧化剂的抗氧化活性。

样品的 DPPH 自由基清除活性的结果如图 6 所示。由图 6 可知,样品的 DPPH 自由基清除活性呈浓度依赖性变化。在样品浓度为 0.1 mg/mL 时,VE、EGCG 和 EGCG 磷脂复合物的 DPPH 自由基清除活性分别为 47.87%、68.52% 和 60.98%。EGCG 和 EGCG 磷脂复合

物的抗氧化活性均明显高于 VE ($P < 0.05$), 而 EGCG 的抗氧化活性高于 EGCG 磷脂复合物。

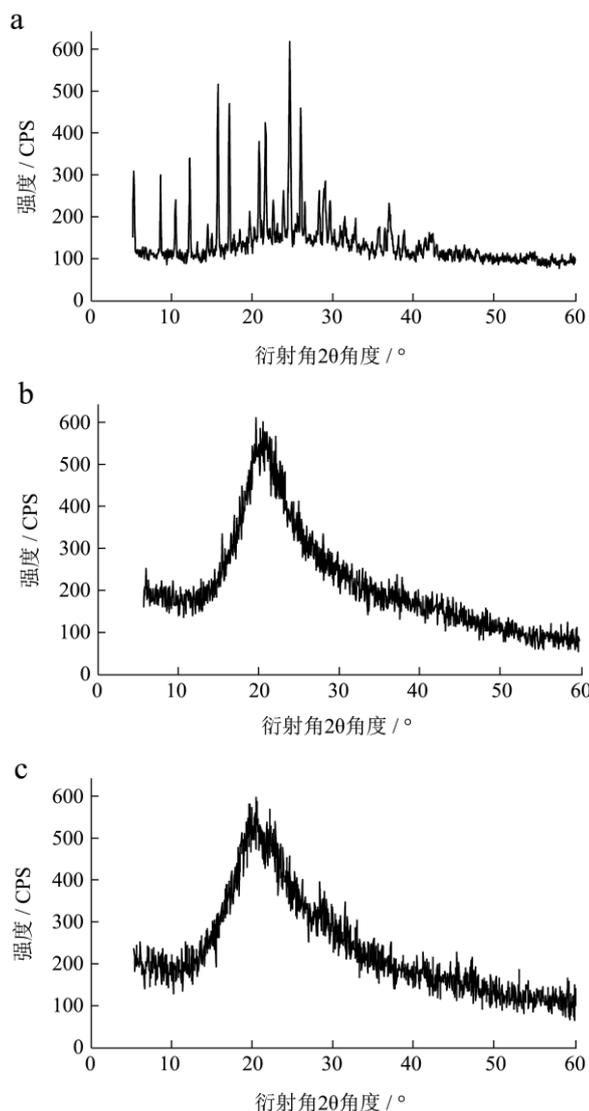


图 5 EGCG (a)、磷脂 (b) 和 EGCG 磷脂复合物 (c) 的 X 射线衍射图谱

Fig.5 X-ray diffraction patterns of EGCG (a), phospholipid (b) and EPC (c)

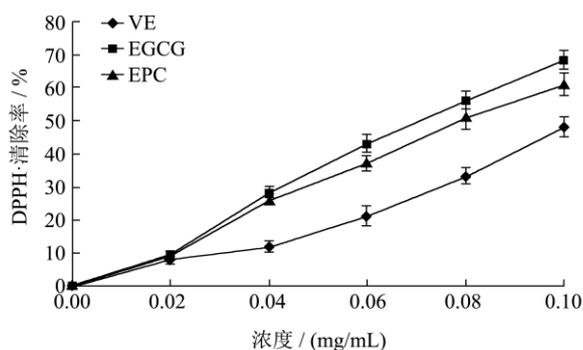


图 6 EGCG 磷脂复合物的 DPPH 自由基清除活性

Fig.6 DPPH radical scavenging activity of EPC

2.3.2 EGCG 磷脂复合物 ABTS⁺·自由基清除

活性

ABTS 经氧化后生成相对稳定的蓝绿色的 ABTS⁺·水溶性自由基, 在 734 nm 处有最大的吸收峰。在抗氧化物质作用下, 反应体系褪色, 特征吸光值降低。溶液褪色越明显表明所检测样品的抗氧化能力越强。

样品的 ABTS⁺·自由基清除活性的结果如图 7 所示, 样品对 ABTS⁺·的清除活性呈浓度依赖性变化。在样品浓度为 0.1 mg/mL 时, VE、EGCG 和 EGCG 磷脂复合物的 ABTS⁺·自由基清除率分别为 77.62%、97.88% 和 93.46%。EGCG 磷脂复合物的 ABTS⁺·自由基清除能力小于 EGCG ($P < 0.05$), 但 EGCG 和 EGCG 磷脂复合物明显高于 VE 的 ABTS⁺·自由基清除能力 ($P < 0.05$), 结果显示 EGCG 磷脂复合物具有较强的 ABTS⁺·自由基清除能力。

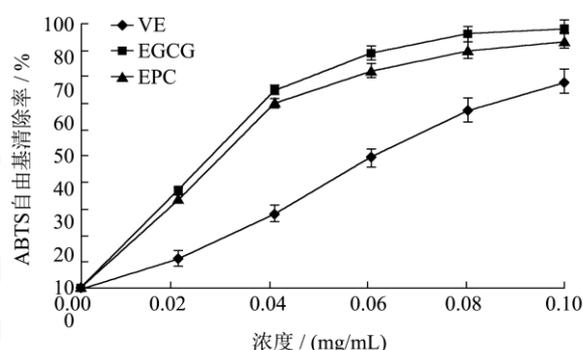


图 7 EGCG 磷脂复合物的 ABTS⁺·自由基清除活性

Fig.7 ABTS⁺ radical scavenging activity of EPC

2.3.3 EGCG 磷脂复合物铁离子还原力

FRAP 法是一种测定化合物抗氧化活性的简单、直接、灵敏度高、重现性好。即利用抗氧化剂将三吡啶三嗪三价铁[TPTZ-Fe³⁺]还原为蓝色的三吡啶三嗪二价铁[TPTZ-Fe²⁺]并于 593 nm 处具有最大吸收值。在本实验中, 采用 FRAP 值来评价 EGCG 磷脂复合物的抗氧化活性。

在还原体系中, 各样品对于 Fe³⁺均有一定的还原能力, 且还原能力随浓度的增高而增强 (图 8)。在相同浓度下, EGCG 的 Fe³⁺还原能力最强。EGCG 磷脂复合物的 Fe³⁺还原能力小于 EGCG ($P < 0.05$), 但 EGCG 和 EGCG 磷脂复合物明显高于 VE 的 Fe³⁺还原能力 ($P < 0.05$), 结果显示 EGCG 磷脂复合物具有较强的 Fe³⁺还原能力。

据报道, 植物活性成分和磷脂在一定条件下通过电荷迁移作用结合生成的磷脂复合物, 表现出与原植物活性成分显著不同的理化性质和生物特性, 可使药物亲脂性或亲水性都明显增强, 减慢其在体内的消除速度, 延长其在体内的作用时间, 减轻毒副作用, 提高其在机体内的作用靶点, 同时可增强在胃肠道中的吸收, 达到提

高生物利用度、增强药理作用等功效^[14]。虽然 EGCG 在体外实验中生物活性较强,可是由于含有多酚羟基,导致其具有难溶于油和稳定性差等特点,造成在食品中的应用受到限制和生物利用度较低。而实验制备的 EGCG 磷脂复合物具有较强的抗氧化活性,在生物体内可能发挥比 EGCG 更好的作用。

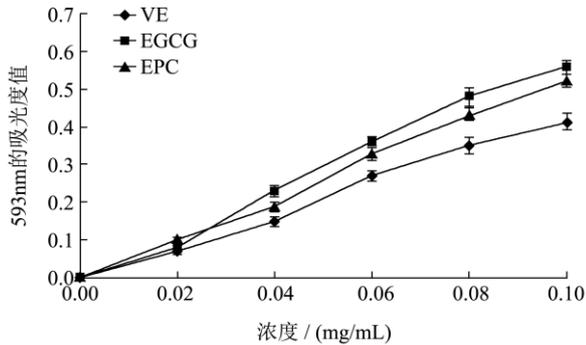


图 8 FRAP 法测定 EGCG 磷脂复合物的抗氧化活性

Fig.8 Antioxidant activity of EPC as determined by ferric reducing ability of plasma assay

2.4 EGCG 磷脂复合物对大豆油抗氧化活性

研究

油脂氧化是食物变质的主要原因之一,由于它导致高脂肪食物产生各种不良的风味而影响了食物的贮存期,降低了食物的营养价值,有些氧化产物还具有毒副作用,给人类健康带来了极大的威胁。而防止油脂氧化酸败最有效的手段是添加抗氧化剂。食品工业上一直采用添加 BHT、TBHQ 等人工合成抗氧化剂抑制油脂在加工与储存期间发生的氧化反应。近年来人们对合成食品添加剂产生了怀疑和排斥心理,而天然抗氧化剂由于安全、无毒等优点受到欢迎,天然抗氧化剂应用在油脂保护中的研究也成为油脂化学的一个热点。已有报道表明,植物多酚提取物具有显著的保护植物油过氧化的作用^[15]。

2.4.1 添加不同抗氧化剂对大豆油过氧化值的影响

油脂氧化是引起油脂酸败、品质降低的主要原因,油脂不饱和脂肪酸在氧化时易形成过氧化物而使过氧化值升高。从图 9a 中可以看出,不同抗氧化剂对大豆油均具有较强的抗氧化作用。几种抗氧化剂对比可以发现, TBHQ 抑制大豆油生成过氧化物的作用最强;而相对于不同浓度的 EGCG 磷脂复合物, BHT 对大豆油的抗氧化作用最弱。EGCG 磷脂复合物对于抑制大豆油生成过氧化物的作用具有剂量效应关系,随着剂量的增大,大豆油的过氧化值下降,随着 EGCG

磷脂复合物加入量的增大,其抑制大豆油生成过氧化物的能力也加强。

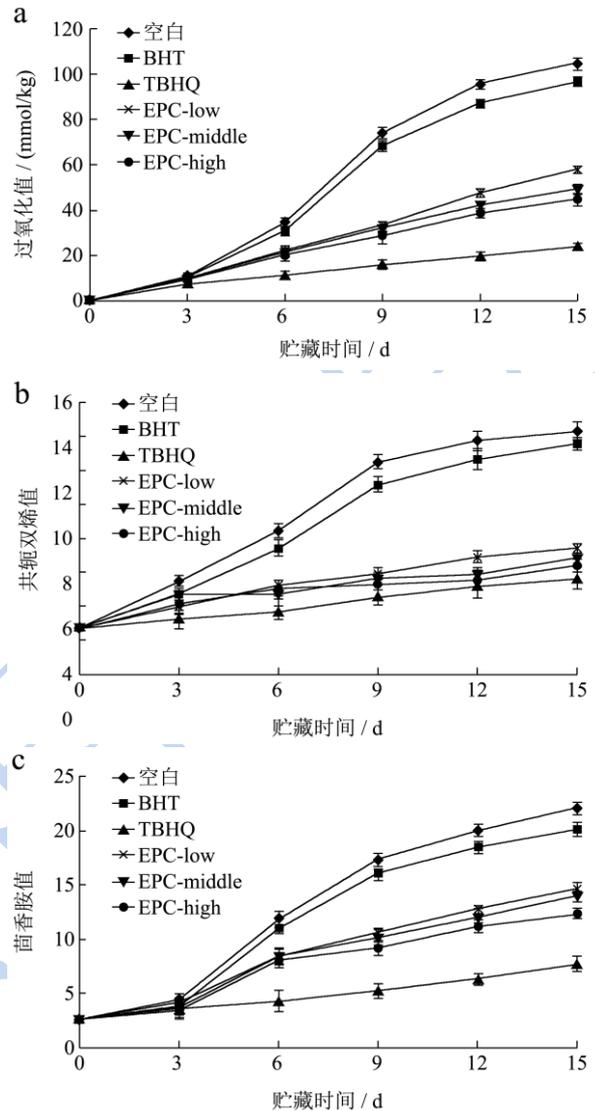


图 9 EGCG 磷脂复合物与 BHT、TBHQ 的过氧化值 (a)、共轭双烯值 (b) 和茴香胺值 (c) 比较

Fig.9 Comparison of EPC, butylated hydroxytoluene, and tertiary butylhydroquinone with respect to peroxide value (a), diene value (b), and anisidine value (c)

2.4.2 添加不同抗氧化剂对大豆油双烯值的影响

双烯值反映不饱和脂肪酸氧化初始形成的共轭双键的多少。由图 9b 可以看出,用 EGCG 磷脂复合物和人工合成的抗氧化剂处理过的大豆油中,双烯值的形成速率明显降低。随着 EGCG 磷脂复合物加入量的增大,其抑制大豆油生成共轭双键的能力越来越强,其抗氧化能力也增强。不同浓度的 EGCG 磷脂复合物抑制大豆油生成共轭双键的能力均小于 TBHQ ($P < 0.05$),但在各个时间点都明显高于 BHT ($P < 0.05$),结果显示 EGCG 磷脂复合物具有较强的抑制大豆油生

成过共轭双键的能力

2.4.3 添加不同抗氧化剂对大豆油茴香胺值的影响

食用油脂中醛类化合物的含量,一般用茴香胺值来表示,其数值越大,油脂的劣变程度越严重。新鲜的精炼油茴香胺值很低,当食用油脂储藏或使用不当时(如经反复煎炸的油、包装打开后放置时间过长的油等),茴香胺值则显著上升。经过浅盘和深度煎炸的卡诺拉油在茴香胺值和感官得分之间有良好的相关性,而储存后的玉米煎饼片的茴香胺值与感官得分之间同样具有良好的相关性。

由图 9c 可以看出,在大豆油储存过程中,茴香胺值随着储存时间的延长而增大。每一种抗氧化剂都能抑制大豆油茴香胺值的升高。合成抗氧化剂 TBHQ 的抗氧化效果最好,然后是 EGCG 磷脂复合物和 BHT。EGCG 磷脂复合物对于抑制大豆油茴香胺值升高的作用具有剂量效应关系,随着剂量的增大,大豆油茴香胺值相对下降,说明 EGCG 磷脂复合物有效抑制了大豆油的劣变。

油脂的氧化所引起的健康问题一直受到医药健康领域的关注。随着现代食品加工方法的不断发展,抗氧化剂的使用愈加重要。作为茶叶中含量最高、生物活性最强的儿茶素,EGCG 在体内、体外实验中,均表现出良好的抗氧化活性。而通过本实验制备得到的 EGCG 磷脂复合物,具有脂溶性好,而且抗氧化活性较高的特点,是一种高效、安全的天然抗氧化剂,它能有效地抑制大豆油的氧化,而且效果好于人工合成油脂抗氧化剂 BHT,在使用浓度范围内,EGCG 磷脂复合物的氧化产物不影响植物油的色泽和清亮度。所以将 EGCG 磷脂复合物广泛应用于食用油脂及油基食品中,既可起到抗氧化作用,又可保证食品安全。

3 结论

3.1 本研究利用大豆卵磷脂为原料,采用物理方法制备得到 EGCG 磷脂复合物,通过对 EGCG 磷脂复合物的体外抗氧化活性,以及对于大豆油的抗氧化活性等研究,证实了反应制备的 EGCG 磷脂复合物具有较强的体外抗氧化活性以及对于大豆油的抗氧化活性。

3.2 茶叶在我国资源丰富,而 EGCG 是茶叶中儿茶素的重要活性成分。在本研究中 EGCG 磷脂复合物显示了良好的抗氧化活性。在高度重视发展天然抗氧化剂的当今,加强这种具有保健功能的天然抗氧化剂的研究开发具有重要意义。

参考文献

- [1] 王丽,许奇,徐顺,等.茶多酚对微生物生长影响的研究进展[J].现代食品科技,2013,29(7):1737-1741
WANG Li, XU Qi, XU Shun, et al. Research progress of tea polyphenols on growth of microorganisms [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(7): 1737-1741
- [2] Yuan JM, Sun C, Butler LM. Tea and cancer prevention: epidemiological studies [J]. Pharmacological Research, 2011, 64(2): 123-135
- [3] Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms, perspectives and clinical applications [J]. Biochemical Pharmacology, 2011, 82(12): 1807-1821.
- [4] Semalty A, Semalty M, Rawat MSM, et al. Supramolecular phospholipids-polyphenolics interactions: The PHYTOSOME® strategy to improve the bioavailability of phytochemicals [J]. Fitoterapia, 2010, 81(5): 306-314.
- [5] Devendra S, Mohan SMR, Ajay S, et al. Gallic acid-phospholipid complex: drug incorporation and physicochemical characterization [J]. Letters in Drug Design & Discovery, 2011, 8(3): 284-291.
- [6] 雷时成,胡冰,孙怡,等.表没食子儿茶素没食子酸酯磷脂复合物的制备及其理化性质[J].食品科学,2013,34(13): 91-94
LEI Shi-cheng, HU Bing, Sun Yi, et al. Preparation and physico-chemical characterization of EGCG-phospholipid complex [J]. Food Science, 2013, 34(13): 91-94
- [7] Hu B, Wang L, Zhou B, et al. Efficient procedure for isolating methylated catechins from green tea and effective simultaneous analysis of ten catechins, three purine alkaloids, and gallic acid in tea by high-performance liquid chromatography with diode array detection [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(15): 3223-3231
- [8] Liu LX, Sun Y, Laura T, et al. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng [J]. Food Chemistry, 2009, 112(1): 35-41
- [9] Stratil P, Klejdus B, Kubán V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(3): 607-616
- [10] Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP

- assay. *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1): 70-76
- [11] 李丹丹. 芝麻饼粕中木酚素的提取及抗氧化活性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2010
- LI Dan-dan. Study on extraction, isolation and antioxidant activity of ligans of sesame cake [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2010
- [12] Wettasinghe M, Shahidi F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(5): 1801-1812
- [13] 戴彦韵, 邵卫樑, 杭晓敏, 等. 茶多酚磷脂复合物的制备及其抗氧化性能的研究 [J]. *安徽医药*, 2009, 13(7): 735-737
- DAI Yan-jun, SHAO Wei-liang, HANG Xiao-min, et al. Preparation and antioxidant properties of tea polyphenols phytosomes [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2009, 13(7): 735-737
- [14] 戴彦韵. 茶多酚磷脂复合物的制备和抗氧化性能检测方法的探究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2009
- DAI Yan-jun. Tea polyphenols embedded phospholipid and detection of anti-oxidation method [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2009
- [15] Gramza A, Korczak J. Tea constituents (*Camellia sinensis*) as antioxidants in lipid systems [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2005, 16(8): 351-358