

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.12.006

阿魏酸及其烷基酯在水包油乳液中抗氧化效率的假相模型解释

The pseudophase model interpretation for the antioxidant efficiency of ferulic acid and its alkyl esters in oil-in-water emulsion

黄师荣 万 慧 颜思念 陈东方

HUANG Shi-rong WAN Hui YAN Si-nian CHEN Dong-fang

(湘潭大学生物与食品工程系, 湖南 湘潭 411105)

(Department of Biological and Food Engineering, Xiangtan University, Xiangtan, Hunan 411105, China)

摘要:阿魏酸(FA)分别与乙醇、正丁醇、正辛醇和正十二醇进行直接酯化得到了 4 种 FA 烷基酯。用 DPPH(1,1-二苯基-2-苦肼基自由基)法和史卡尔(Schaal)烘箱试验法分别测定了 FA 及其烷基酯在均相甲醇溶液和油水体积比为 2:8 的水包菜籽油乳液中的抗氧化效率。结果表明:FA 在甲醇溶液中的抗氧化效率最高,其 DPPH 自由基清除能力为 0.967 mmol Trolox/mol。FA 辛酯在乳液中的抗氧化效率最高,在乳化剂体积分数为 1.0% 下,添加了 FA 辛酯的乳液的共轭二烯值达到 1 所用的时间和 *p*-茴香胺值达到 6 所用的时间分别为 51, 40 d。用假相动力学模型测定了 FA 及其烷基酯在乳液界面的质量分数,结果表明,FA 辛酯在乳液中的抗氧化效率最高是由于其在乳液界面的质量分数最高的缘故。

关键词:阿魏酸;酯化;乳液;抗氧化效率;假相动力学模型

Abstract: Four ferulic acid alkyl esters were obtained by the direct esterification reaction of ferulic acid with the respective alcohols (ethanol, butanol, octanol and dodecanol). The antioxidant efficiencies of ferulic acid and its alkyl esters in bulk methanol solution and in 2:8 rapeseed oil-in-water emulsions were determined by the DPPH assay and the Schaal oven test, respectively. Results showed that ferulic acid had the highest antioxidant efficiency in methanol solution, with its DPPH scavenging abilities 0.967 mmol Trolox/mol. Ferulic octyl ester has a maximum of antioxidant efficiency in rapeseed oil emulsions. For the emulsions with the addition of ferulic octyl ester at the volume fraction of emulsifier 1.0% and the oil to water ratio 2:

8, the time to reach a conjugated diene value of 1 and the *p*-anisidine value of 6 was 51 and 40 d, respectively. The pseudophase kinetic model was used to determine the percentages of ferulic acid and its alkyl esters in the interfacial region of the emulsions. The results showed that ferulic octyl ester was the most efficient antioxidants in the emulsions because its percentage in the interfacial region was highest.

Keywords: ferulic acid; esterification; emulsion; antioxidant efficiency; pseudophase kinetic model

食品中的脂类氧化会产生腐臭味和异味,降低保质期,改变食品质地和外观,降低食品的营养价值和安全性,是食品腐败变质的原因之一^[1]。食品乳液(如牛奶、蛋黄酱、调味品、酱汁、饮料、冰淇淋等)由于表面积更高,比油脂更容易被氧化^[2-3]。目前,降低脂类氧化的最有效、最方便和最经济的方法是添加天然或合成抗氧化剂^[1]。

酚酸在自然界广泛存在,由于能阻止或延缓体外或体内氧化过程,被广泛用作新型的天然抗氧化剂^[4]。但是酚酸极性较高,易于在水相优先聚集,远离脂肪氧化发生的油/水界面,限制了其在乳化体系中的应用^[5]。为此,近年来有人^[6]对其进行了酯化修饰,以增强其疏水性,使其能更好地定位于氧化反应发生的油水界面,从而改善其在乳化体系中的抗氧化性能和效率。然而,许多研究^[1,7-10]表明用不同链长的正烷基醇酯化的酚酸在乳液中的抗氧化效率会随着其疏水性增加而达到最大,进一步增加其疏水性则其抗氧化效率显著降低,表现出所谓的“截止效应”。对于其背后的原因依旧不太清楚。Costa 等^[10]用假相动力学模型解释了咖啡酸及其烷基酯(C₁~C₁₆)随着疏水性增加抗氧化效率达最大值的原因,还发现咖啡酸及其烷基酯的抗氧化效率与其在乳液界面

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(编号:2016JJ2120)

作者简介:黄师荣(1974—),男,湘潭大学副教授,博士。

E-mail: hwangee@163.com

收稿日期:2019-09-15

区域的百分数相对应。在其他条件都相同的情况下,乳液界面区域中百分数最大的抗氧化剂其效率最高。

为验证这一模型的适用性,试验拟研究与咖啡酸结构比较类似的阿魏酸(FA)及其烷基酯在均相甲醇溶液中和菜籽油乳液中的抗氧化效率。用假相动力学模型测定和计算 FA 及其烷基酯在乳液界面中的分布,旨在为特定乳液体系确定最有效的抗氧化剂提供理论依据。

1 材料与实验方法

1.1 材料与试剂

阿魏酸(纯度 97%)、对甲基苯磺酸(质量分数 $\geq 99.0\%$)、对十六烷基苯胺(纯度 97%)、亚硝酸叔丁酯(纯度 90%)、三氟化硼乙醚(纯度 98%)、盐酸萘乙二胺(分析纯)、正十二醇(质量分数 $> 98.0\%$):上海麦克林生化科技有限公司;

Trolox: 纯度 97%, 美国 Sigma 公司;

DPPH: 纯度 96%, 日本和光纯药工业株式会社;

分子筛、硅胶(200~300 目)、活性炭(200 目): 国药集团化学试剂有限公司;

其他试剂均为市售分析纯;

菜籽油: 湘潭大学工会购物中心。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计: Agilent Cary60 型, 安捷伦科技(中国)有限公司;

pH 计: PHS-3BW 型, 上海般特仪器有限公司;

三用紫外分析仪: ZF-7 型, 上海杰涵实验设备有限公司;

高速分散均质机: FJ-2000 型, 上海标本仪器厂;

核磁共振波谱仪: AVANCE III HD 400MHZ 型, 瑞士布鲁克公司;

傅里叶红外光谱仪: NICOLET 380 型, 美国尼高力公司。

1.3 试验方法

1.3.1 阿魏酸烷基酯的合成及表征 参考 Sorensen 等^[11]的方法, 稍作修改, 其合成路线如图 1 所示。将 15.4 mmol 阿魏酸溶解于 150 mL 四氢呋喃(THF)中。将醇以 1 mol 阿魏酸与 3 mol 醇的摩尔比添加到阿魏酸的 THF 溶液中, 再加入浓硫酸(最终体积分数为 5%)做催化剂, 最后加入 40 mg/mL 的分子筛以除去反应中产生的水分。将反应物置于震荡器中, 在 250 r/min, 55 °C 的条件下避光反应 5~7 d。反应结束后, 除去分子筛, 蒸发 THF, 并将反应混合物在乙酸乙酯中稀释。将所得溶液用质量分数为 5% 的 NaHCO₃ 溶液和水洗涤数次并用硫酸钠干燥以除去痕量的水。然后, 通过快速色谱法(以二氯甲烷和乙酸乙酯做洗脱剂进行梯度洗脱)去除剩余的醇和阿魏酸。

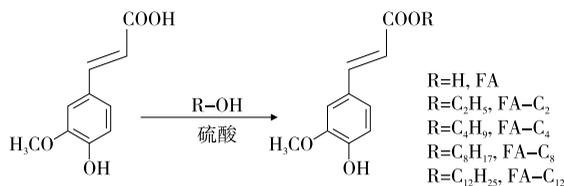


图 1 几种阿魏酸烷基酯的合成路线

Figure 1 Synthesis route of several alkyl ferulates

所得产物分别用 TLC、¹HNMR、FTIR 进行表征。

1.3.2 DPPH 自由基清除能力测定 参考 Claudia 等^[12]的方法进行, 稍作修改。用甲醇做溶剂分别配制浓度为 150 μmol/L 的 DPPH 溶液和浓度为 600 μmol/L 的 6-羟基-2, 5, 7, 8-四甲基色烷-2-羧酸(Trolox)溶液, 然后将 Trolox 溶液再稀释成浓度分别为 250, 200, 150, 100, 50 μmol/L 的溶液。分别取 0.5 mL Trolox 稀释液和 4.5 mL DPPH 甲醇溶液混合, 振摇, 置于暗处 120 min 后, 用甲醇做空白, 在 515 nm 处测吸光度。以 Trolox 浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标建立标准曲线, 曲线斜率记为 k_1 。取 FA 及其烷基酯样品代替 Trolox 试剂, 同上步骤, 建立以样品浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标的标准曲线, 曲线斜率记为 k_2 。样品的 DPPH 自由基清除能力(ARA)以 Trolox 当量(mol Trolox/mol)表示, 按式(1)计算。重复测定 3 次, 结果取平均值。

$$ARA = k_2 / k_1 \quad (1)$$

1.3.3 阿魏酸及其烷基酯对水包油乳液抗氧化效率的测定 参考李进等^[13]的方法。

1.3.4 无乳化剂下阿魏酸及其烷基酯在油相和水相之间分配常数的测定 参照文献[14]的方法。按式(2)计算抗氧化剂在油相和水相之间的分配常数。

$$P_w^O = \frac{(AO_o)}{(AO_w)} = \frac{\%AO_o V_w}{\%AO_w V_o} = \frac{P_w^I}{P_o^I} \quad (2)$$

$$P_w^I = \frac{(AO_I)}{(AO_w)} \quad (3)$$

$$P_o^I = \frac{(AO_I)}{(AO_o)} \quad (4)$$

式中:

P_w^O ——抗氧化剂(AO)在油相和水相之间的分配常数;

P_w^I, P_o^I ——分别为抗氧化剂在水相和界面以及油相和界面之间的分配常数;

$\%AO_o, \%AO_w$ ——分别为抗氧化剂在油相和水相的摩尔分数;

V_w, V_o ——分别为水相和油相的体积, L;

$(AO_o), (AO_I), (AO_w)$ ——分别为油相区、界面区和水相区中 AO 的摩尔浓度, mol/L。

1.3.5 乳液中 4-十六烷基重氮苯和阿魏酸及其烷基酯反应表观速率常数 k_{obs} 的测定 参考 Doyle 等^[15]的方法, 取

20 μL 0.17 mol/L 16-ArN₂⁺ 的乙腈溶液加入到乳液中使其和抗氧化剂(AO)进行反应。以一定时间间隔(由16-ArN₂⁺与抗氧化剂之间的反应的半衰期而定)取出200 μL 反应物,并立即加入预先装有2.5 mL的0.02 mol/L的N-(1-萘基)乙二胺(NED)乙醇-丁醇溶液(体积比1:1)的试管中以使NED和未反应完全的16-ArN₂⁺反应生成偶氮染料。测定偶氮染料在 $\lambda=572$ nm处的吸光度。该吸光度与未反应的16-ArN₂⁺的浓度成正比。由于 $[\text{AO}] \gg [16\text{-ArN}_2^+]$,所以NED和16-ArN₂⁺的反应属于假一级反应。通过将吸光度对时间的数据与一级速率方程的积分式进行拟合得到 k_{obs} 值。因而,样品吸光度的对数与时间的关系如式(5)所示。

$$\ln(A_t - A_{\text{inf}}) = -k_{\text{obs}}t + \ln(A_0 - A_{\text{inf}}), \quad (5)$$

式中:

k_{obs} ——表观速率常数, s^{-1} ;

A_0, A_t ——分别为样品在0和 t 时刻的吸光度;

A_{inf} ——样品反应完全时的吸光度。

1.3.6 乳液中分配常数和表观速率常数间的关系 用假相动力学模型^[1,10]得出。乳液每个区域中16-ArN₂⁺和抗氧化剂AO之间的反应速率是二级速率常数和该区域中每种反应物的浓度的乘积^[16]。由于16-ArN₂⁺既不溶于油中又不溶于水中,意味着其只位于乳液的界面区域,其与AO的反应也只发生在界面区域内^[1,10]。在假一级条件下($[\text{AO}] \gg [16\text{-ArN}_2^+]$),表观一级速率常数 k_{obs} 可由式(6)^[16]给出。

$$k_{\text{obs}} = \frac{[\text{AO}]_T k_I P_W^l P_O^l}{\Phi_O P_W^l + \Phi_I P_W^l P_O^l + \Phi_W P_O^l}, \quad (6)$$

式中:

k_I ——界面区域中二级速率常数, $\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$;

$[\]$ ——乳液中各物质的浓度, mol/L ;

下标 T ——总量;

下标 O, I 和 W ——分别为油相区、界面区和水相区;

Φ ——某个区域的体积分数。

对于亲水性中等的FA-C₂、FA-C₄和FA-C₈(其 P_O^l 分别为7.8, 45.2和69.0),由于其在油相区、水相区和界面区的量都比较大,用 P_W^l 和 P_O^l 两个分配常数来描述其分布。对亲水性很强的抗氧化剂FA主要分布在水相区和界面区,其在油相区内的浓度基本为0。因而,只需要 P_W^l 来描述其分布, k_{obs} 和 Φ_I 间的关系由式(7)给出。对于疏水性很强的抗氧化剂FA-C₁₂,主要分布在油相区和界面区,其在水相区中的浓度基本为零,只需要 P_O^l 来描述其分布, k_{obs} 和 Φ_I 间的关系由式(8)给出。

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_I [\text{AO}]_T P_W^l}{\Phi_I P_W^l + \Phi_W}, \quad (7)$$

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_I [\text{AO}]_T P_O^l}{\Phi_I P_O^l + \Phi_O}. \quad (8)$$

将式(6)~(8)两边取倒数,从 $1/k_{\text{obs}}$ 对 Φ_I 作图并进行拟合得到直线,通过直线的斜率和截距计算出FA及其烷基酯的 P_W^l, P_O^l 和 k_I 的值。

得到分配常数(P_W^l, P_O^l)的值后,根据式(9)~(11)分别计算亲水性强、疏水性强和亲水性中等的抗氧化剂在乳液界面区域的质量分数($\%AO_I$)^[1,10]。

$$\%AO_I = \frac{100\Phi_I P_W^l}{\Phi_I P_W^l + \Phi_W}, \quad (9)$$

$$\%AO_I = \frac{100\Phi_I P_O^l}{\Phi_I P_O^l + \Phi_O}, \quad (10)$$

$$\%AO_I = \frac{100\Phi_I P_W^l P_O^l}{\Phi_O P_W^l + \Phi_I P_W^l P_O^l + \Phi_W P_O^l}. \quad (11)$$

1.3.7 数据分析 采用SPSS 19.0统计软件包、OriginPro 8和Excel 2007进行数据分析和处理,所有试验均重复3次,结果表示为:平均值±标准差。显著性检验($P < 0.05$)以Duncans检验方法进行。

2 结果与分析

2.1 阿魏酸烷基酯的合成及结构表征

阿魏酸乙酯(FA-C₂) ¹H NMR(400 MHz, Acetone-d₆), δ : 7.59 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 4.19 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。FTIR ν : 3 405, 2 980, 2 842, 1 703, 1 632, 1 603, 1 514, 1 429, 1 270, 1 178, 1 034, 847, 818 cm^{-1} 。

阿魏酸丁酯(FA-C₄) ¹H NMR(400 MHz, Acetone-d₆), δ : 7.60 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 4.15 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.66 (ddt, $J = 8.9, 7.8, 6.4$ Hz, 2H), 1.51~1.29 (m, 2H), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H)。FTIR ν : 3 405, 2 955, 2 875, 1 700, 1 630, 1 599, 1 516, 1 455, 1 269, 1 170, 1 032, 848, 817 cm^{-1} 。

阿魏酸辛酯(FA-C₈) ¹H NMR(400 MHz, Acetone-d₆), δ : 7.60 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 4.15 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 1.79~1.62 (m, 2H), 1.51~1.17 (m, 10H), 0.88 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H)。FTIR ν : 3 417, 2 930, 2 857, 1 704, 1 629, 1 598, 1 513, 1 458, 1 269, 1 168, 1 031, 848, 817 cm^{-1} 。

阿魏酸十二酯(FA-C₁₂) ¹H NMR(400 MHz, Acetone-d₆), δ : 8.11 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 4.05 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 1.59 (p, $J = 6.7$ Hz, 2H),

1.44~1.00 (m, 18H), 0.78 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H)。FTIR ν : 3 402, 2 928, 2 856, 1 703, 1 630, 1 594, 1 514, 1 460, 1 265, 1 163, 1 031, 847, 818 cm^{-1} 。

将上述数据与文献^[17-18]数据进行对比, 确认所得产物分别为阿魏酸乙酯、丁酯、辛酯和十二酯。

2.2 DPPH 自由基清除能力

表 1 给出了 FA 及其烷基酯在均相甲醇溶液中的抗氧化效率。由表 1 可以看出, FA 及其烷基酯的 DPPH 自由基清除能力大小顺序为 $\text{FA} > \text{FA-C}_{12} > \text{FA-C}_8 > \text{FA-C}_4 \approx \text{FA-C}_2$ 。FA 表现出比其烷基酯更强的 DPPH 自由基清除能力, 表明 FA 的酯化降低了其清除自由基的能力。Sørensen 等^[11]在用 DPPH 自由基清除法研究阿魏酸酯的抗氧化性能时也得到相似的结果。据报道^[19], 在能够

与酚类分子形成强氢键的极性溶剂例如甲醇或乙醇中, 抗氧化剂主要通过提供电子来清除自由基。烷基属于弱供电基团, 并且烷基链长越长, 其供电性越强。因此酚酸及其烷基酯的自由基清除活性一般随烷基链长的增加而增强; 但 FA 烷基酯的自由基清除能力却下降了, 其原因有待进一步研究。

2.3 阿魏酸及其烷基酯在水包油乳液中的抗氧化效率

20 世纪 80 年代, Porter 提出了极性悖论假说, 试图根据抗氧化剂在不同脂类介质中的极性预测抗氧化剂的效率。该假说认为, 抗氧化剂在不同脂类介质中的抗氧化效力不同, 极性抗氧化剂在极性更低的介质如油脂中更有效, 而非极性抗氧化剂在极性更高的介质如水包油乳液或脂质体中更有效^[20]。为验证这一假说, 研究了 FA 及其烷基酯(添加浓度为 0.004 mol/L)对油与水体积比为 2:8 的水包菜籽油乳液中脂质的抗氧化效率, 通过 CD 值达到 1 所用的时间和 AV 值的变化趋势来评价 FA 及其烷基酯对水包油乳液的抗氧化效率, 结果分别如图 2、3 所示。由图 2、3 可知, FA 烷基酯对乳液的抗氧化作用显著大于 FA 的, 并且随着 FA 烷基酯链的增长, 其抗氧化作用逐渐增大, 在 FA-C₈ 达到最大之后, 随着 FA 烷基酯链的进一步增长, 其抗氧化作用减小。这一结果与上述假说并不相符, Costa 等^[10]在研究咖啡酸及其酯对水包橄榄油乳液的抗氧化效率时也得到类似的结果。

表 1 阿魏酸及其烷基酯的 DPPH 自由基清除能力[†]

Table 1 DPPH radical scavenging ability of ferulic acid and its alkyl esters (mmol Trolox · mol⁻¹)

样品	DPPH 清除能力	样品	DPPH 清除能力
FA	0.967 ± 0.003 ^a	FA-C ₈	0.672 ± 0.002 ^c
FA-C ₂	0.617 ± 0.002 ^d	FA-C ₁₂	0.706 ± 0.004 ^b
FA-C ₄	0.618 ± 0.005 ^d		

[†] 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

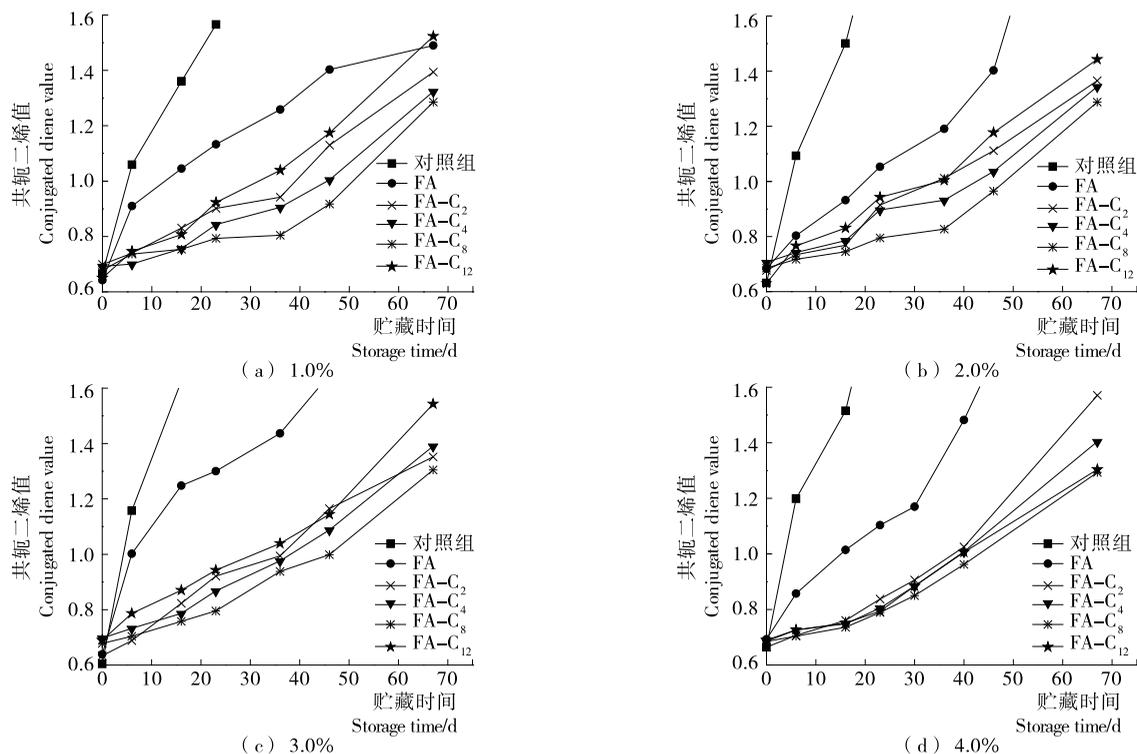


图 2 不同体积分数吐温 20 制备的菜籽油乳液中共轭二烯值随时间的变化

Figure 2 Changes in conjugated diene (CD) value with time in rapeseed oil/water emulsion with different volume fractions of Tween 20

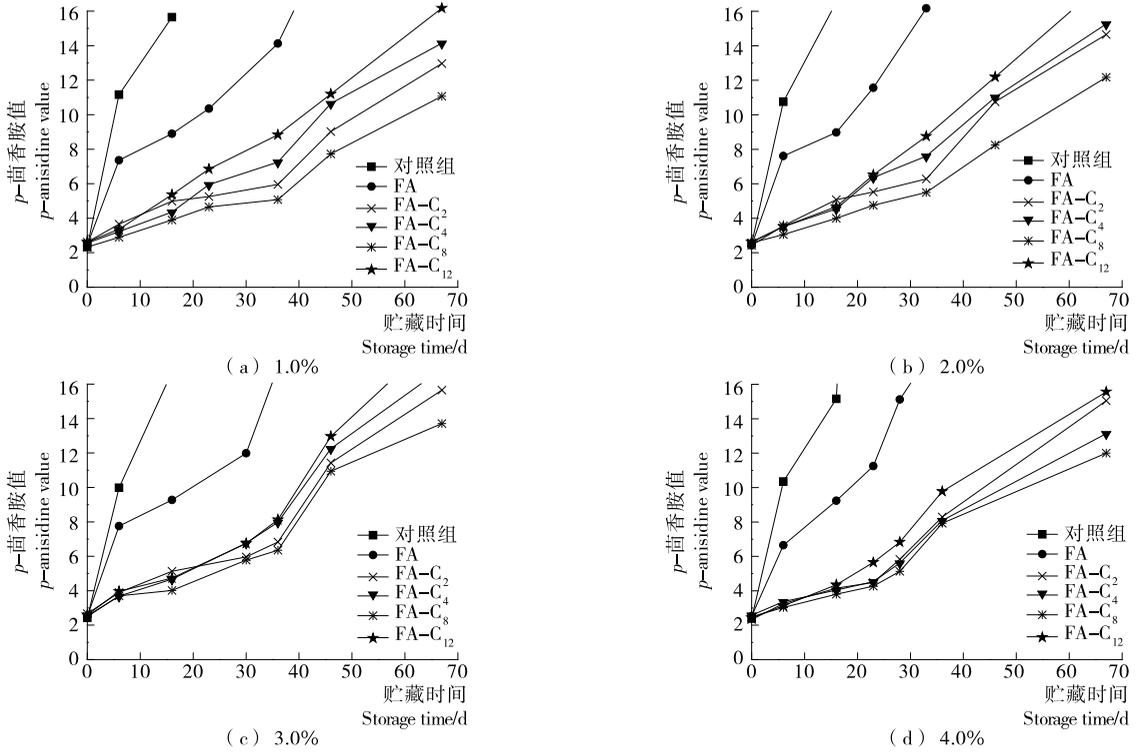


图3 不同体积分数吐温 20 制备的菜籽油乳液中 *p*-茴香胺值(AV)随时间的变化

Figure 3 Variation of *p*-anisidine value (AV) with time in rapeseed oil/water emulsion with different volume fractions of Tween 20

Barreiro 等^[1]认为,酚酸烷基酯的抗氧化活性随着链长增加观察到最大值的根本原因是抗氧化剂在界面区的浓度不同。

从图 2、3 还可以看出,随着吐温 20 的体积分数从 1.0% 增加到 4.0%,添加阿魏酸辛酯的乳液的 CD 值达到 1 所用的时间分别为 51,48,46,43 d;AV 值达到 6 所用的时间分别为 40,38,35,31 d,表明随着乳化剂体积分数的增加其抗氧化性能下降了。当吐温 20 体积分数从 1.0% 增加到 4.0%时,其体积增加了 3 倍,即界面区域增加了 3 倍,但 FA-C₈ 在界面区域的质量分数仅由 95% 增加到 99%(见图 5),几乎没有变化。因而,FA-C₈ 在乳液界面区域的平均摩尔浓度下降了。这可能是 FA-C₈ 的抗氧化效率随吐温 20 体积分数增加而下降的原因。Costa 等^[10]在研究咖啡酸及其烷基酯对橄榄油乳液的抗氧化效率与其在乳液界面区域浓度的关系时也得到类似的结果。此外,随着乳化剂体积分数的增加,4 种阿魏酸烷基酯的抗氧化能力相差越来越小。这与图 5 中 4 种抗氧化剂在乳液界面区域的浓度差距越来越小相一致。这些结果说明,阿魏酸及其烷基酯在乳液中抗氧化能力的大小主要由其在乳液界面区域的分布决定。

2.4 阿魏酸及其烷基酯在乳液油相、水相和界面之间的分配常数

FA 在均相溶液(甲醇)中的抗氧化效率最强,但是在

乳液中 FA-C₈ 更有效。由于水包油乳液中脂类氧化通常发生在乳液液滴界面附近,因而 FA 及其烷基酯在乳液中的抗氧化效率不同的可能是由于乳液界面区内的抗氧化剂质量分数不同引起的^[1,10]。为找出 FA-C₈ 在乳液中最有效的原因,用假相动力学模型法测定了 FA 及其烷基酯在乳液界面的分布。为此,首先测定了 FA 及其烷基酯在乳液油相、水相和界面之间的分配常数。

在无乳化剂下 FA 及其烷基酯在水相和油相中的质量分数以及分配常数 P_W^O 值如表 2 所示。由表 2 可知,FA 及其烷基酯的 P_W^O 值随着烷基链长的增加而增加,说明位于油相区域的抗氧化剂随着其烷基链长的增加而增多。

表 2 FA 及其烷基酯的分配常数 P_W^O 值

Table 2 Values of partition constant P_W^O for FA and its alkyl esters

样品	水相中的质量分数/%	油相中的质量分数/%	P_W^O
FA	96.40±0.62	—	—
FA-C ₂	33.40±0.20	65.11±0.31	7.80±0.26
FA-C ₄	8.00±0.15	90.50±0.85	45.20±1.65
FA-C ₈	5.40±0.04	93.10±1.05	69.00±3.85
FA-C ₁₂	3.70±0.02	94.80±1.54	98.70±5.61

通过测定添加 FA 或其烷基酯的乳液中未反应完全的 16-ArN₂⁺ 和 NED 生成的偶氮染料的吸光度和 ln(A_t-A_{inf}) 随着时间的变化情况,由方程(5)进行线性拟合后得到菜籽油乳液中 16-ArN₂⁺ 和 FA 及其烷基酯之间的表观速率常数 k_{obs}。图 4 给出了添加 FA 的乳液中未反应完全的 16-ArN₂⁺ 和 NED 生成的偶氮染料的吸光度和 ln(A_t-A_{inf}) 随着时间的变化情况。由方程(5)进行线性拟合得到其表观速率常数 k_{obs} 为 6.4×10⁻³ s⁻¹。FA 烷基酯的表观速率常数由同样的方法得到,结果如表 3 所示。由表 3 可知,随着乳化剂体积分数的增加,k_{obs} 值减小,与方程(6)的预测相一致。

图 5 代表性地给出了添加了 FA 的菜籽油(油水体积比 2:8)乳液中 k_{obs} (K) 与 1/k_{obs} (R_K) 随 Φ_I 的变化。通过 1/k_{obs} 对 Φ_I 的拟合直线(拟合方程为 y=16 277x+78.1,R²=0.997 8)的截距和斜率,结合方程(7)求出 FA 的 P_W^I、P_O^I 和 k_I 的值。FA 烷基酯的 P_W^I、P_O^I 和 k_I 值由

表 3 FA 及其烷基酯的表观速率常数 k_{obs} 随乳化剂体积分数 Φ_I 的变化

Table 3 Change in the observed rate constant k_{obs} for FA and its alkyl esters with volume fractions of emulsifier Φ_I s⁻¹

样品	0.5%	1.0%	2.0%	3.0%	4.0%	5.0%
FA	6.4×10 ⁻³	3.9×10 ⁻³	2.5×10 ⁻³	1.8×10 ⁻³	1.4×10 ⁻³	1.1×10 ⁻³
FA-C ₂	9.0×10 ⁻³	5.0×10 ⁻³	2.8×10 ⁻³	1.6×10 ⁻³	1.1×10 ⁻³	0.9×10 ⁻³
FA-C ₄	8.0×10 ⁻³	5.5×10 ⁻³	2.8×10 ⁻³	1.8×10 ⁻³	1.3×10 ⁻³	1.1×10 ⁻³
FA-C ₈	8.0×10 ⁻³	4.0×10 ⁻³	2.9×10 ⁻³	1.7×10 ⁻³	1.2×10 ⁻³	0.9×10 ⁻³
FA-C ₁₂	7.9×10 ⁻³	4.9×10 ⁻³	2.5×10 ⁻³	1.7×10 ⁻³	1.1×10 ⁻³	0.9×10 ⁻³

同样的方法得到,结果如表 4 所示。由表 4 可知,P_W^I 随着烷基链长的增加而增大,表明 FA 烷基酯疏水性的增加降低了它们在水中的溶解度,使其更多的溶于界面区域。抗氧化剂的 P_O^I 变化比较复杂,Almeida 等^[14] 在研究羟基酯醇及其酯在水包橄榄油乳液界面的分布时也得到类似结果,其原因有待进一步研究。从表 4 还可以看出,FA 及其烷基酯的 k_I 在数值上比较接近,表明介质并不是抗氧化剂在乳液界面区域抗氧化效率的决定性因素。

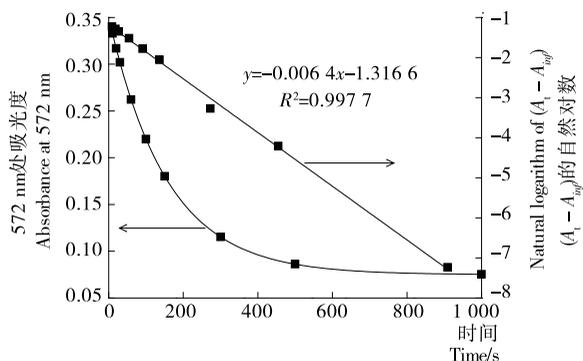
2.5 阿魏酸及其烷基酯在乳液界面的分布

由图 6 可知,FA 及其烷基酯在界面区域的百分比随

表 4 FA 及其烷基酯的 P_W^I、P_O^I 和 k_I 值

Table 4 Values of P_W^I, P_O^I and k_I for FA and its alkyl esters

样品	P _O ^I	P _W ^I	k _I /(L·mol ⁻¹ ·s ⁻¹)
FA	—	145.89	0.015
FA-C ₂	392.22	3 059.31	0.011
FA-C ₄	188.29	8 510.51	0.012
FA-C ₈	629.18	43 413.69	0.010
FA-C ₁₂	332.17	—	0.013

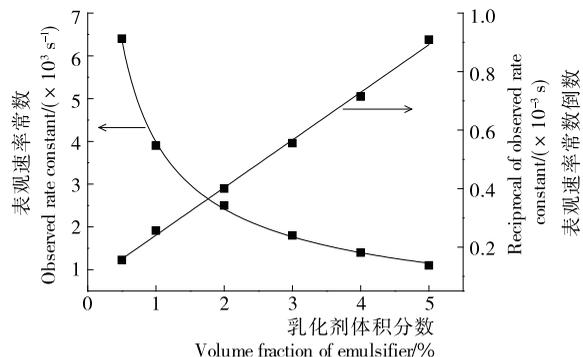


吐温 20 体积分数为 0.5%,16-ArN₂⁺ 浓度为 1.7×10⁻⁴ mol/L, FA 浓度为 4×10⁻³ mol/L,pH 3.0 (0.04 mol/L 柠檬酸-柠檬酸盐缓冲液)

图 4 偶氮染料(λ=572 nm)的吸光度和 ln(A_t-A_{inf}) 随着时间的变化

Figure 4 Changes in absorbance and ln(A_t-A_{inf}) of the azo dye with time

乳化剂体积分数 Φ_I 的增加而增加,在 Φ_I 为 5.0% 时超过 90% 的抗氧化剂位于界面区;在任何 Φ_I 下,抗氧化剂在乳液界面区域的百分比大小顺序为:FA-C₈>FA-C₄>FA-C₂>FA-C₁₂>FA。显然,界面区抗氧化剂的百分比



16-ArN₂⁺ 浓度为 1.7×10⁻⁴ mol/L,FA 浓度为 4×10⁻³ mol/L, pH 3.0 (0.04 mol/L 柠檬酸-柠檬酸盐缓冲液)

图 5 FA 在油水比为 2:8 的菜籽油乳液中的 k_{obs} (K) 和 1/k_{obs} (R_K) 随 Φ_I 的变化

Figure 5 Changes in k_{obs} (K) and 1/k_{obs} (R_K) with Φ_I for FA in 2:8 rapeseed oil/water emulsions

并不与抗氧化剂的疏水性直接相关。分析相同 Φ_I 下界面区抗氧化剂百分数随烷基链长度的变化情况,可以看出随着烷基链长度的增加,FA 及其烷基酯的 %AO_I 显示出类似抛物线形状,在 C₈ 达到最大值。这意味着,在相同乳化剂体积分数下抗氧化剂在界面区的质量分数随着 FA 烷基酯链长的增加先增加后下降。这些结果表明,乳液界面区中抗氧化剂的质量分数并不与抗氧化剂的疏水性直接相关;中等极性或中等链长的抗氧化剂在界面区的分数达到最大。

从图 6 中还可以看出,当 Φ_I 从 0.5% 增加到 5.0% 时,FA 及其烷基酯在界面区域的体积增加了 10 倍,但 %AO_I 最多只增加了约 45%,这意味着 FA 及其烷基酯在界面的摩尔浓度约降至原来的 1/7。AO 反应性和效率均取决于其界面摩尔浓度,浓度降低会导致 AO 效率降低。这是 FA 及其烷基酯的抗氧化效率随吐温 20 体积分数增加而下降的原因。这一结果表明,对 FA 及其烷基酯抗氧化效率起决定性的因素是其在乳液界面区域的质量分数,与其他研究人员研究没食子酸^[1]、绿原酸、迷迭香酸^[8] 和咖啡酸^[10] 及其烷基酯所得的结果相似,烷基链在中等链长(C₄~C₁₂)的抗氧化活性最高,随后 AO 活性下降,体现出“截止效应”。

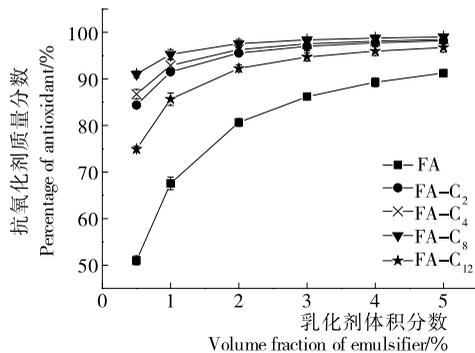


图 6 FA 及其烷基酯在乳液界面区域的质量分数随乳化剂体积分数 Φ_I 的变化

Figure 6 Changes in the percentages of FA and its alkyl esters in the emulsion interfacial region with different volume fractions of emulsifier

3 结论

试验研究了 FA 及其烷基酯在均相甲醇溶液和在水包菜籽油乳液中的抗氧化效率。结果表明,FA 在均相甲醇溶液中的抗氧化效率最强,而在菜籽油乳液中 FA-C₈ 的抗氧化效率最强。假相动力学模型结果表明,FA 及其烷基酯的抗氧化效率与其在乳液界面区域的质量分数相对应。在其他条件都相同的情况下,FA-C₈ 在乳液界面区中质量分数最大。试验结果说明,抗氧化剂在乳液中的抗氧化效率主要与其在乳液界面的质量分数有关;在其他条件都相同的情况下,阿魏酸及其烷基酯在乳液中最有效的是在界面区中百分比最大的。

参考文献

- [1] BARREIRO S L, BRAVO-DÍAZ C, PAIVA-MARTINS F, et al. Maxima in antioxidant distributions and efficiencies with increasing hydrophobicity of gallic acid and its alkyl esters: The pseudophase model interpretation of the “cutoff effect”[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(26): 6 533-6 543.
- [2] LIU Shuang, LIU Fu-guo, XUE Yan-hui, et al. Evaluation on oxidative stability of walnut beverage emulsions[J]. Food Chemistry, 2016, 203: 409-416.
- [3] 袁婷兰, 朱雯婷, 陈先鑫, 等. 木犀草素-乳清蛋白复合物对乳液物理稳定性和化学稳定性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 1-6.
- [4] REIS B, MARTINS M, BARRETO B, et al. Structure-property-activity relationship of phenolic acids and derivatives: Protocatechuic acid alkyl esters[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(11): 6 986-6 993.
- [5] MARIA Cruz Figueroa-Espinoza, MICKAËL Laguerre, PIERRE Villeneuve, et al. From phenolics to phenolipids: Optimizing antioxidants in lipid dispersions[J]. Lipid Technology, 2013, 25(6): 131-134.
- [6] FIGUEROA-ESPINOZA M C, VILLENEUVE P. Phenolic acids enzymatic lipophilization[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(8): 2 779-2 787.
- [7] LUCAS R, COMELLES F, ALCÁNTARA D, et al. Surface-active properties of lipophilic antioxidants tyrosol and hydroxytyrosol fatty acid esters: A potential explanation for the nonlinear hypothesis of the antioxidant activity in oil-in-water emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 8 021-8 026.
- [8] LAGUERRE M, LÓPEZ-GIRALDO L J, LECOMTE J, et al. Chain length affects antioxidant properties of chlorogenate esters in emulsion: The cutoff theory behind the polar paradox[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(23): 11 335-11 342.
- [9] MITRUS O, ZURAW M, LOSADA-BARREIRO S, et al. Targeting antioxidants to interfaces: Control of the oxidative stability of lipid-based emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67: 3 266-3 274.
- [10] COSTA M, LOSADA-BARREIRO S, PAIVA-MARTINS F, et al. A direct correlation between the antioxidant efficiencies of caffeic acid and its alkyl esters and their concentrations in the interfacial region of olive oil emulsions: The pseudophase model interpretation of the “cut-off” effect[J]. Food Chemistry, 2015, 175: 233-242.
- [11] SØRENSEN A D M, DURAND E, LAGUERRE M, et al. Antioxidant properties and efficacies of synthesized alkyl caffeates, ferulates, and coumarates[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(52): 12 553-12 562.
- [12] CLAUDIA G I, ERIKA S, NATHALIE B, et al. Antioxidant activity of protocatechuates evaluated by DPPH, ORAC, and CAT methods[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 749-757.

(下转第 69 页)