

藻油 DHA 微乳在饮料中的应用研究

杜芳芳¹, 张月², 李月莲², 刘学波³, 陈殊贤¹, 姜悦^{1*}

(1. 润科生物工程(福建)有限公司, 漳州 363500; 2. 北京大学工学院, 北京 100871;
3. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 杨凌 712100)

摘要: **目的** 研究藻油 DHA 微乳在饮料中的应用稳定性。**方法** 将藻油 DHA 微乳无菌添加至饮料中, 分析饮料中添加不同量藻油 DHA 微乳后的感官品质及 DHA 保留率的变化情况, 并考察不同储存条件及储存时间对其感官品质和 DHA 保留率的影响。**结果** 在饮料中添加不同量的藻油 DHA 微乳(使其中 DHA 含量分别达到: 2 mg/100 g 和 5 mg/100 g), 初期对其感官品质的影响较小; 而在储存过程中受高温的影响较大, 在较低温度下储存时饮料的感官品质所受影响较小, 且经过 2 个月的储存后 DHA 保留率普遍仍可达到 70%以上; 其中 DHA 添加量为 2 mg/100 g 时饮料的感官品质略优于 5 mg/100 g, 但不同添加量对饮料中 DHA 保留率的差异较小。**结论** 藻油 DHA 微乳在饮料中的应用可行性较好, 本研究为藻油 DHA 微乳在饮料中的应用, 从而开发新型 DHA 功能性饮料提供了理论依据。

关键词: 藻油 DHA 微乳; 稳定性; 饮料; 感官品质

Application of DHA algal oil microemulsion in beverage

DU Fang-Fang¹, ZHANG Yue², LI Yue-Lian², LIU Xue-Bo³, CHEN Shu-Xian¹, JIANG Yue^{1*}

(1. Runke Bioengineering (Fujian) Co., Ltd., Zhangzhou 363500, China; 2. College of Engineering, Peking University, Beijing 100871, China; 3. College of Food Science and Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the stability of DHA algal oil microemulsion applied in beverage. **Methods** The DHA algae oil microemulsion was aseptically added to beverage. The sensory properties and DHA retention rate of adding different amounts of DHA algal oil microemulsion were mainly focused on and the influence on beverage after different storage conditions were investigated. **Results** It had less effect on the sensory quality of beverage in the beginning by adding DHA algal oil microemulsion with the DHA level of 2 mg/100 g and 5 mg/100 g, respectively. The sensory quality was greatly influenced by high storage temperature, while low temperature had slight influence on it. The DHA retention rate could reach more than 70% generally after long-time storage at low temperature. The sensory quality of beverage with 2 mg/100 g DHA was better than that of 5 mg/100 g, but there was small difference on the DHA retention rate. **Conclusion** The DHA algal oil microemulsion has great potential to be used in beverage. The research provides scientific basis for the application of DHA algal oil microemulsion in beverage and is useful for the development of DHA functional beverage.

KEY WORDS: DHA algal oil microemulsion; stability; beverage; sensory quality

基金项目: 福建特色海洋生物资源高值化利用研究和示范项目(201405016)

Fund: Supported by Research and Demonstration of High-value Utilization of Featured Marine Biological Resources in Fujian (201405016)

*通讯作者: 姜悦, 博士, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: rkbj@gdrunke.com

*Corresponding author: JIANG Yue, Ph.D, Runke Bioengineering (Fujian) Co., Ltd., A7 Tianzhu west Road, Tianzhu Airport Industrial Zone A, Shunyi District, Beijing 101300, China. E-mail: rkbj@gdrunke.com

1 引言

DHA 是二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid)的简称, 是大脑、神经、视觉细胞中重要的脂肪酸成分, 能促进婴幼儿脑部和视力的机能发育, 有利于智力、学习和记忆能力的提高, 还能够提高婴幼儿视觉的敏锐度、促进婴幼儿的生长发育、提高婴幼儿认知能力的发展^[1-5]。给孕妇补充一定量的 DHA, 能显著降低婴幼儿感冒的发生率及减少婴幼儿肥胖症的发生^[6,7]。同时, DHA 对成年人也具有重要的作用, 能够降血压、降血脂、降胆固醇, 因此, 食品中添加 DHA 越来越受到重视^[8]。来源于海洋微藻的 DHA 藻油自 2010 年 3 月被国家卫生部批准为新资源食品以来, 在调制乳、食用油、保健食品、蛋糕、饮料等食品领域逐渐开始广泛应用^[9-11]。

目前, DHA 藻油的存在形式主要为油剂和微胶囊粉剂。DHA 油剂应用到食品中不仅对添加产品特性及添加工艺要求比较严格, 还比较容易氧化, 微胶囊粉剂虽然在一定程度上避免了 DHA 油剂易氧化的缺陷, 但是由于是以固体形式存在, 且包埋不完全, 在高温环境下依然易氧化, 尤其是应用到酸性液体食品中, 容易出现沉底和氧化问题, 限制了在食品中的应用。采用纳米技术制备的微乳, 因具有分散程度大、均匀、流动性大、粘度小、外观透明或半透明、热力学稳定等特点, 采用该技术制备的藻油 DHA 微乳不仅具备微乳的特性, 而且提高了 DHA 藻油的稳定性, 同时扩大了其在食品领域的应用范围^[12]。

目前有报道微乳用于食品和饮料制品中^[13], 暂未发现有将藻油 DHA 微乳应用于饮料中的报道, 本研究对藻油 DHA 微乳应用于常见饮料中的感官品质和储藏稳定性进行研究, 旨在为开发新型 DHA 功能性饮料提供一定的理论参考。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

饮料包括发酵酸奶饮料、乳酸菌饮料、植物蛋白饮料、果汁及维生素饮料, 均选购自北京市大型商场超市。

藻油 DHA 微乳(润科生物工程(福建)有限公司); 乙醇、正己烷(分析级, 北京市通广精细化工厂); 石油醚(分析级, 天津市福晨化学试剂厂); 氨水、氢氧化

钾、甲醇(分析级, 北京化工厂); 二十二碳酸甲酯标准品(纯度 99%, 美国 Sigma 公司)。

2.2 仪器与设备

GC-2010 Plus AOC-20i 岛津气相色谱仪(日本岛津公司); PHS-3C pH 仪(上海雷磁仪器厂); EYEL4 旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司); ATAGO PAL 系列迷你数显折射计(日本 ATAGO(爱拓)); MGC-450 BP-2 恒温培养箱(25 °C、38 °C, 上海一恒科学仪器有限公司); MS-H-Pro 数显加热磁力搅拌器(大龙兴创实验仪器(北京)有限公司); YXQ-LS-75G 型高压灭菌锅(上海博迅实业有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 添加微乳饮料的稳定性研究

先将藻油 DHA 微乳及所有将接触饮料的实验物品均进行灭菌处理; 然后在无菌工作条件下将藻油 DHA 微乳分别加入各饮料中(通过添加藻油 DHA 微乳使饮料中 DHA 含量分别达到 2 mg/100 g 和 5 mg/100 g 及以上), 充分搅拌均匀, 再以无菌冷灌装方式将混匀的饮料分装至无菌处理的小瓶中铝箔密封保存; 最后, 每种饮料分别置于室温(15~25 °C)、25 °C、38 °C 恒温培养条件下储存。测定不同储存时间样品中的 DHA 含量, 分别与添加初期饮料中的 DHA 含量进行比较, 得出 DHA 的保留率, 对其稳定性进行综合评价。

DHA 保留率的计算公式:

$$\text{DHA 保留率} = \frac{\text{样品中 DHA 检测含量}}{\text{样品中 DHA 的添加量}} \times 100\%$$

2.3.2 DHA 含量测定

(1) 样品前处理

称取样品(W)约 5~10 g(准确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中, 加入 25%氨水 1 mL, 60 °C 水浴 5 min, 冷至室温; 加入无水乙醇和石油醚(1:1, V:V)混合剂 25 mL 充分振荡, 并于 3000 r/min 条件下离心 3 min 以上, 或静置分层, 上层有机相并入烧瓶中; 水相再用 10 mL 石油醚重复上述操作浸提、离心 2 次, 上层有机相合并于烧杯中, 40~60 °C 减压蒸干除去溶剂, 在 10 mL 容量瓶中用正己烷定容至 10 mL; 移取约 2 mL 样品溶液置于螺口试管中, 加入 4 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 0.5 mL, 旋紧盖子, 充分振荡 1 min, 静置 10 min 至反应液分层澄清(若有机层浑浊可 4000 r/min 离心 2 min); 用注射器吸取上层有机层液约 1

mL, 再用微孔滤膜过滤器过滤到进样瓶中, 气相色谱进样分析。

(2) 标准液的制备

称取二十二碳六烯酸甘油三酯标准品约 0.1 g (准确到 0.0001 g), 定容至 50 mL, 制成约 2 mg/mL 标准品储备液, 再取 5 mL 储备液定容至 50 mL, 制成约 0.2 mg/mL 使用液, 移取 2 mL 置于螺口试管中, 加入 4 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 0.5 mL, 旋紧盖子, 充分振荡 1 min 以上, 静止 10 min 至反应液分层澄清; 如果有有机层混浊, 可离心使之澄清; 吸取上层有机层液, 即为二十二碳六烯酸(DHA)标准液。

(3) 色谱条件

毛细管柱 DB-23 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 进样温度 250 °C, 检测温度 250 °C, 柱流速 2 mL/min, 初始温度为 150 °C, 以 10.0 °C/min 升温至 180 °C, 再以 6.0 °C/min 升温至终点温度 220 °C, 保持 6 min。

(4) 定量测定

外标定量法: 参考 GB 5413.27-2010 《食品安全

国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定》^[14]中的有关规定进行。

$$\text{DHA含量}(\text{mg/g}) = \frac{B_i c_{si} V}{A_i W}$$

式中: B_i ——组分 i(DHA)对应峰面积;

c_{si} ——标准液中组分 i 的质量浓度, mg/mL;

V ——待测样品稀释的总体积或总位数, mL;

A_i ——标准液中组分 i 的峰面积;

W ——样品的质量, g。

2.3.3 感官评价方法

经由 5 人组成的感官品评小组对不同储存条件的样品分别取样进行气味、滋味和外观描述及评分, 并与空白样品(未添加藻油 DHA 微乳)进行对照, 尤其注重比较感官特征差异, 结果采用剖面特征分析进行汇总, 评价这些特征的强度和整体的综合印象。评价标准见表 1。

2.4 主要符号表

主要符号见表 2。

表 1 感官评价参考标准

Table 1 Standards for sensory evaluation

项目	关注	评分等级
气味 (35分)	是否有藻味、腥味、油哈味及其他异味	A: 35-25 具有饮料原有的气味以及微弱的藻味, 不具有令人不愉快的异味 B: 25-15 具有可接受的淡淡的藻味或腥味, 饮料原有的气味较淡 C: 15-0 与饮料原有的气味差异较大, 具有不可接受的藻味、异味较重
滋味 (35分)	是否苦涩味、腥味、油哈味及其他不良味道	A: 35-25 具有与饮料相匹配的口感、无异味、无明显藻腥味 B: 25-15 口感寡淡、具有可接受范围的藻腥味 C: 15-0 原有口感消失、不愉快的藻味或其他异味
外观 (30分)	是否出现特殊的色泽, 是否粘稠、油腻	A: 30-20 具有与饮料本身相匹配的外观性能 B: 20-10 出现浑浊、颜色有轻微变化、有轻微沉淀但无分层现象 C: 10-0 浑浊较严重, 颜色有明显变化, 出现明显分层或较多沉淀物及其他异常现象

表 2 文章中主要符号表

Table 2 The main symbols in the article

符号	指代内容	符号	指代内容
H2	38 °C-2 mg/100 g	A	发酵酸奶饮料
H5	38 °C-5 mg/100 g	B	乳酸菌饮料(非活菌型)
M2	25 °C-2 mg/100 g	C	植物蛋白饮料
M5	25 °C-5 mg/100 g	D	果汁
L2	室温-2 mg/100 g	E	维生素功能饮料
L5	室温-5 mg/100 g		

3 结果与讨论

3.1 添加藻油 DHA 微乳对不同饮料感官品质的影响

由图 1~图 5 可知, 在各类饮料中添加藻油 DHA 微乳(使 DHA 含量分别达到 2 mg/100 g 和 5 mg/100 g) 对其原有感官品质的影响较小, 主要表现为未产生藻腥味和外观变化。藻油 DHA 微乳为澄清透明的水包油型乳液, 在水中溶解性、分散性和稀释性很好, 添加后对本实验中各饮料的外观品质无影响。在储存过程中, 不同 DHA 含量和温度条件下饮料的感官品质随时间的变化程度不同, 在较低温度下各种饮料均可经长时间储存而不发生明显地风味变化; 与较低温度储存相比, 经过高温长时间存放后, 较高 DHA 含量的饮料比低 DHA 含量饮料的风味更容易受温度的影响而产生藻味, 且随着储存时间延长至 60 d 时, 部分饮料(如发酵酸奶饮料和乳酸菌饮料)的品质会发生较大变化; 而含藻油 DHA 微乳的果汁及维生素功能饮料在储存过程中的感官品质比其他饮料更稳定。

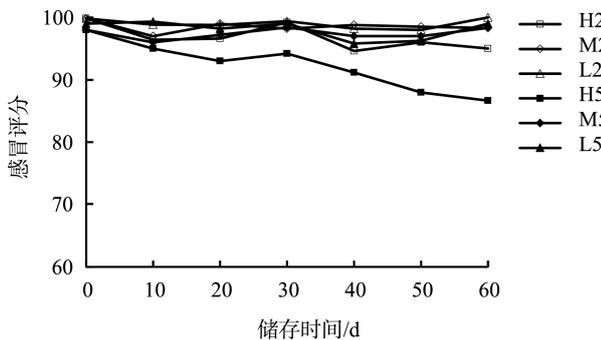


图 1 饮料 A 在不同储存时间的感官评价分数
Fig. 1 The sensory evaluation score of beverage A during the storage

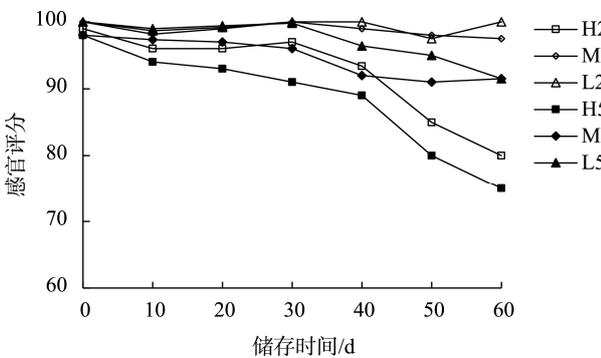


图 2 饮料 B 在不同储存时间的感官评价分数
Fig. 2 The sensory evaluation score of beverage B during the storage

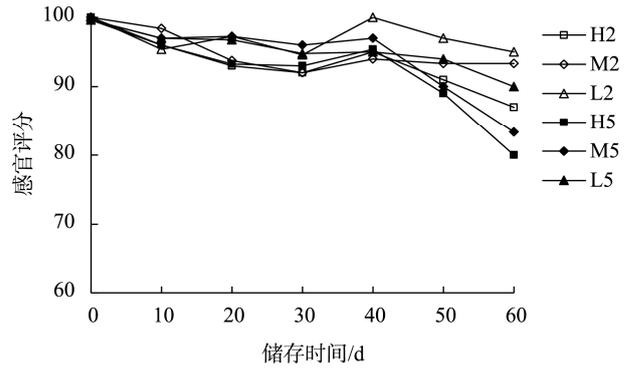


图 3 饮料 C 在不同储存时间的感官评价分数
Fig. 3 The sensory evaluation score of beverage C during the storage

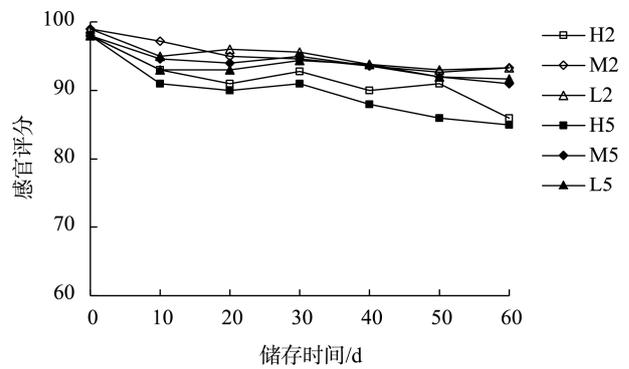


图 4 饮料 D 在不同储存时间的感官评价分数
Fig. 4 The sensory evaluation score of beverage D during the storage

高温储存不利于常规饮料及藻油 DHA 微乳较好维持其感官品质稳定性, 当饮料中 DHA 含量较高时, 高温储存及操作等过程也易导致饮料中 DHA 氧化损耗, 从而产生较大的藻腥味, 此外, 当接近实际储存中饮料的保质期时饮料品质的变化对 DHA 饮料也有较大影响。对于酸乳饮料、果汁及维生素功能饮料, 不仅本身含有的抗氧化类物质能很好地保护微乳中的 DHA 不易被氧化, 而且由于其本身的风味特征较强, 与实验微乳混合对其风味影响很小, 更适合藻油 DHA 微乳的应用。

藻油 DHA 饮料储存过程中, 影响感官品质的最主要因素是藻腥味的产生, 即储藏过程中藻油自身氧化产生油脂哈喇味的过程。此外, 无论是高温还是曝露在光照下, 都会使饮料的品质发生较快的变化, 一方面因为氧的存在导致油脂中氢过氧化物生成, 且经过一定量的积累会发生许多复杂的分裂和相互作用, 易分解成醛、酮、醇、呋喃等物质, 产生强烈

的刺激性气味,另一方面高温又进一步加剧油脂过氧化物的生成及降解。因此,在饮料的贮运销售过程中,还需要尽量避免高温、光照等对 DHA 饮料品质的影响。

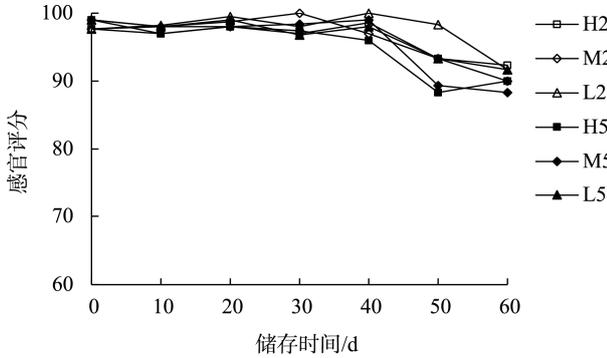


图 5 饮料 E 在不同储存时间的感官评价分数
Fig. 5 The sensory evaluation score of beverage E during the storage

3.2 添加藻油 DHA 微乳的饮料中 DHA 保留率的变化

由图 6~图 10 可知,不同条件下藻油 DHA 微乳应用于饮料中会有不同程度的损耗,在储存过程中,DHA 损耗受储存温度的影响最大,而 DHA 含量及饮料组成对 DHA 损耗也有不同程度的影响。在非高温条件下,藻油 DHA 微乳应用于饮料中的稳定性普遍较好(DHA 保留率为 70%以上),尤其在果汁及维生素功能饮料中,DHA 保留率显著优于其他饮料,部分饮料在储存 60 d 时的 DHA 保留率仍能维持 80%以上。

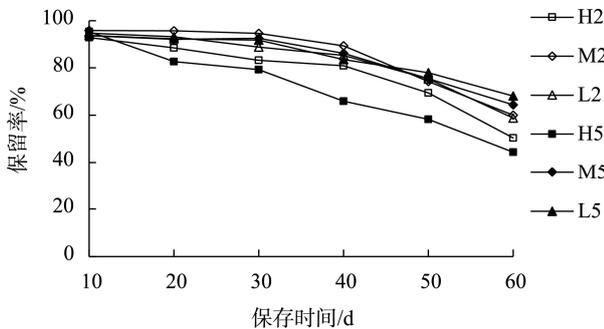


图 6 饮料 A 在不同储存时间的 DHA 保留率
Fig. 6 The retention rate of beverage A during the storage

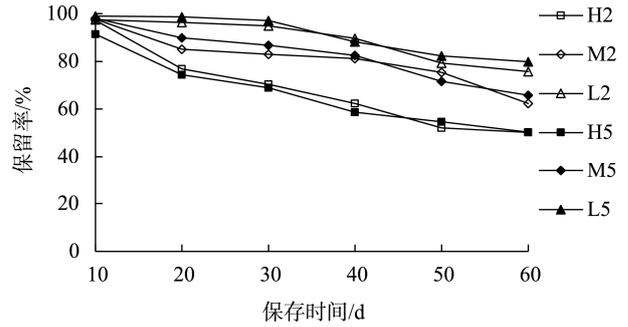


图 7 饮料 B 在不同储存时间的 DHA 保留率
Fig. 7 The retention rate of beverage B during the storage

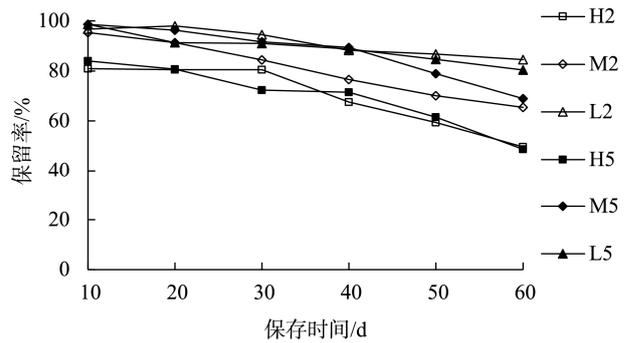


图 8 饮料 C 在不同储存时间的 DHA 保留率
Fig. 8 The retention rate of beverage C during the storage

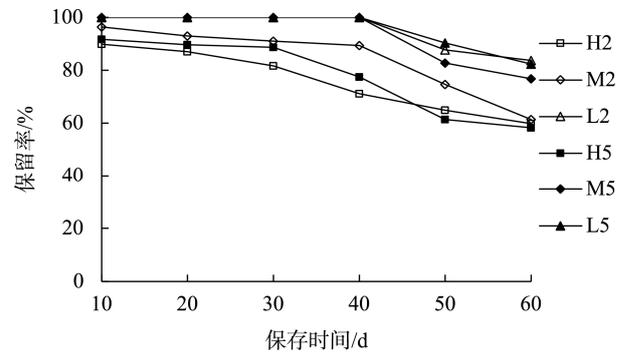


图 9 饮料 D 在不同储存时间的 DHA 保留率
Fig. 9 The retention rate of beverage D during the storage

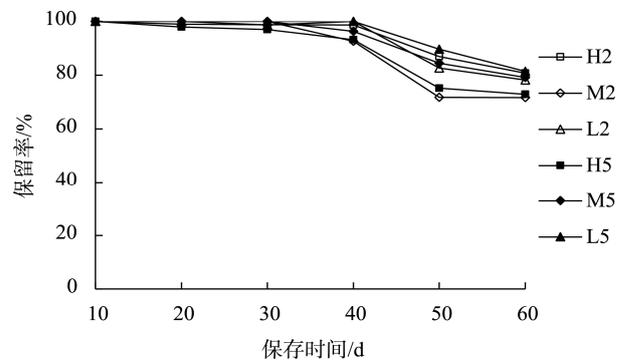


图 10 饮料 E 在不同储存时间的 DHA 保留率
Fig. 10 The retention rate of beverage E during the storage

在储存过程中, 藻油 DHA 饮料会发生自身氧化反应, 产生藻腥味同时伴随 DHA 保留率的降低, 这一变化首先是由于油脂的氧化速率随着温度的升高而加快, 高温能给参与反应的分子提供更高的能量, 使其更容易发生氧化裂解反应, 高温条件一方面促进了游离基的形成, 另一面也加快了氢过氧化物的分解^[15], 而 DHA 作为一种多不饱和脂肪酸在高温灭菌及长时间高温储存条件下极易发生自动氧化反应, 导致 DHA 损耗从而加剧油哈味的产生; 其次, 由于饮料含有大量的水分, 增加氧的溶解性, 且不同饮料所含的促氧剂和抗氧化成分差异较大, 导致高温条件下油脂易发生水解反应, 进一步促进 DHA 氧化, 且高温也不利于饮料自身长时间维持稳定的状态。因此, 建议实际生产中采取避免高温及除氧等措施, 使添加 DHA 饮料的稳定性效果更佳。

综上所述, 在饮料中添加藻油 DHA 微乳不仅有利于解决 DHA 藻油在饮料中的溶解性问题, 更重要的是微乳特有的胶束体系减少了 DHA 与外界氧及促氧剂等的接触机会, 降低了 DHA 发生氧化的几率, 同时微乳的包埋特性还可有效减少饮料在储存过程中由于 DHA 氧化损耗而产生不愉快的藻腥味。因此, 从感官品质和 DHA 稳定性的角度来讲, 藻油 DHA 微乳在本研究各种饮料中的应用稳定性整体较好。

4 结 论

通过将藻油 DHA 微乳添加至饮料中进行感官品质及理化分析可知, 在饮料中添加藻油 DHA 微乳对其感官品质的影响较小。在本研究的 DHA 浓度(分别为 2 mg/100g 和 5 mg/100 g)条件下, 各饮料在非高温储存时的品质稳定性均较好, 经过 2 个月储存后 DHA 的保留率普遍可达到 70%以上, 其中应用在果汁及功能性维生素饮料中的品质稳定性最佳, 受温度的影响较小, 长时间储存过程中, 不仅 DHA 保留率高, 而且感官品质也很好。因此, 藻油 DHA 微乳应用于饮料中具有较好的可行性, 实际生产中可针对饮料的自身特性选择性添加, 从而开发新型功能性饮料。

参考文献

- [1] Bradbury J. Docosahexaenoic acid (DHA): an ancient nutrient for the modern human brain [J]. *Nutrients*, 2011, 3: 529–554.
- [2] Guesnet P, Alessandri JM. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS)-Implications for dietary recommendations [J]. *Biochimie*, 2011, 93(1): 7–12.
- [3] Birch EE, Carlson SE, Hoffman DR, *et al.* The diamond (DHA intake and measurement of neural development) study: a double-masked, randomized controlled clinical trial of the maturation of infant visual acuity as a function of the dietary level of docosahexaenoic acid [J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91(4): 848–859.
- [4] Lagemaat M, Rotteveel J, Muskiet FAJ, *et al.* Post term dietary-induced changes in DHA and AA status relate to gains in weight, length, and head circumference in preterm infants [J]. *Prost, Leuk Essent Fatty Acids*, 2011, 85: 311–316.
- [5] Huffman SL, Harika RK, Eilander A, *et al.* Essential fats: how do they affect growth and development of infants and young children in developing countries? A literature review [J]. *Mater Child Nutr*, 2011, 7(3): 44–65.
- [6] Imhoff-kunsch B, Stein AD, Martorell R, *et al.* Prenatal docosahexaenoic acid supplementation and infant morbidity: randomized controlled trial [J]. *Pediatrics*, 2011, 128(3): e505–e512.
- [7] Donahue SM, Rifas-shiman SL, Gold DR, *et al.* Prenatal fatty acid status and child adiposity at age 3 y: results from a US pregnancy cohort [J]. *Am J Clin Nutr*, 2011, 93(4): 780–788.
- [8] Mori TA, Bao DQ, Burke V, *et al.* Docosahexaenoic acid but not eicosapentaenoic acid lowers ambulatory blood pressure and heart rate in humans [J]. *Hypertension*, 1999, 34: 253–260.
- [9] 朱丽娜, 张志国, 张敏, 等. DHA 的生理功能及其在食品中的稳定性[J]. *中国乳品工业*, 2009, 37(2): 45–48.
Zhu LN, Zhang ZG, Zhang M, *et al.* Physiological functions and stability of DHA in food [J]. *China Dairy*, 2009, 37(2): 45–48.
- [10] 彭云, 李汴生, 林应胜, 等. 微藻 DHA 在蛋糕中的应用[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(2): 200–203.
Peng Y, Li BS, Lin YS, *et al.* Application of microalgal DHA in cake [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2012, 28(2): 200–203.
- [11] 黄巍峰, 郑晓辉, 曾远平, 等. DHA 藻油对酸奶品质的影响[J]. *现代食品科技*, 2013, 7(7): 1615–1619.
Huang WF, Zheng XH, Zeng YP, *et al.* Effect of DHA algal oil on the quality of yoghurt [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2013, 7(7): 1615–1619.
- [12] 王军. 微乳液的制备及应用[M]. 北京: 中国纺织出版社, 2011.
Wang J. Preparation and application of microemulsion [M]. Beijing: China Textile & Apparel Press, 2011.
- [13] Chanamai R. Microemulsions for use in food and beverage

products: CN 101321472 B [P]. 2013.

- [14] GB 5413.27-2010 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定[S].

GB 5413.27-2010 National food safety standard-Determination of fatty acids in foods for infants and young children, milk and milk products[S].

- [15] 毕艳兰. 油脂化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

Bi YL. Oil chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.

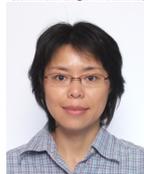
(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



杜芳芳, 硕士, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: gdff1988@126.com



姜悦, 博士, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: rkbi@gdrunke.com