

# 发酵酸肉肽的抗氧化稳定性分析

郭世良<sup>1</sup>, 吴慧琳<sup>2</sup>, 朱瑶迪<sup>2</sup>, 赵莉君<sup>2</sup>, 冯青俊<sup>3</sup>, 李苗云<sup>2</sup>, 郝云鹏<sup>2</sup>, 赵改名<sup>2</sup>

(1. 漯河双汇肉业有限公司, 河南漯河 462000) (2. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州 450000)

(3. 河南泌阳县畜牧技术服务中心, 河南驻马店 463000)

**摘要:** 利用碱性蛋白酶酶解提取发酵酸肉肽, 分析不同 pH、温度、金属离子、食品原料、光照及模拟胃肠环境对酸肉肽 OH 自由基清除率、DPPH 清除率、金属离子螯合能力及还原力的影响。在 pH 3~11 范围, 酸肉肽抗氧化活性随 pH 升高, 先增加后降低, 当 pH=7 时, DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力最高, 分别为 85.56%、93.21%、85.61%; 在温度 20~100 °C 范围, 随温度升高, 酸肉肽抗氧化活性先增加后降低, 40 °C 时, OH 自由基及 DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合力、还原力最高, 分别为 90.88%、91.64%、74.54%、72.58%; 酸肉肽抗氧化活性在 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>离子环境中生物活性低, 在 K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>离子环境生物活性保持率较高; 葡萄糖及 NaCl 环境对酸肉肽存在一定抑制或破坏作用; 酸肉肽抗氧化活性随放置时间的延长降低, 且黑暗环境更益于酸肉肽抗氧化稳定性; 模拟胃肠条件下, 酸肉肽抗氧化稳定性表现为胃液消化>胃肠消化。综合分析, 为保持发酵酸肉肽较好的抗氧化活性, 酸肉肽在加工储存过程中应避免强酸强碱, 避免高温及铜、锌离子接触, 同时避免高糖、高 NaCl, 尽量避光储存。

**关键词:** 发酵酸肉; 肽; 环境因素; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2021)08-226-233

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.8.1124

## Antioxidant Stability of Fermented Sour Meat Peptides

GUO Shi-liang<sup>1</sup>, WU Hui-lin<sup>2</sup>, ZHU Yao-di<sup>2</sup>, ZHAO Li-jun<sup>2</sup>, FENG Qing-jun<sup>3</sup>, LI Miao-yun<sup>2</sup>, HAO Yun-peng<sup>2</sup>,  
ZHAO Gai-ming<sup>2</sup>

(1. Luohe Shuanghui Meat Industry Limited Company, Luohe 462000, China)

(2. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China)

(3. Henan Biyang County Livestock Technology Service Center, Zhumadian 463000, china)

**Abstract:** Extraction of fermented sour meat peptides was performed *via* alkaline protease hydrolysis, and the effects of different pHs, temperatures, metal ions, food raw materials, lighting and simulated gastrointestinal environment on the OH radical scavenging rate, DPPH clearance rate, metal ion chelating ability and reducing power of sour meat peptide were examined. In the pH range of 3~11, the antioxidant activity of the sour meat peptide increased first and then decreased with an increase of pH. When pH=7, DPPH radical scavenging rate, Fe<sup>2+</sup> chelating ability and reducing power of Fe<sup>2+</sup> were the highest (85.56%, 93.21% and 85.61% respectively). In the temperature range of 20~100 °C, the antioxidant activity of the sour meat peptide first increased and then decreased with an increase of temperature. When temperature was 40 °C, the scavenging rates of OH radical and DPPH radical, and the chelating ability and reducing power of Fe<sup>2+</sup> were the highest (90.88%, 91.64%, 74.54% and 72.58% respectively). The antioxidant activity of sour meat peptide was lower in the environment with Cu<sup>2+</sup> or Zn<sup>2+</sup> ion, but the rate of bioactivity retention was higher in the environment with K<sup>+</sup> or Ca<sup>2+</sup> ion. The presence of environmental glucose or NaCl exhibited a certain inhibitory or destructive effect on the sour meat peptide. The antioxidant activity of the sour meat peptide decreased with an extension of storage time, and a dark environment was more beneficial to the antioxidant stability for sour meat peptide. Under

引文格式:

郭世良, 吴慧琳, 朱瑶迪, 等. 发酵酸肉肽的抗氧化稳定性分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(8): 226-233, +83

GUO Shi-liang, WU Hui-lin, ZHU Yao-di, et al. Antioxidant stability of fermented sour meat peptides [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 226-233, +83

收稿日期: 2020-12-03

基金项目: 河南省重点研发与推广专项 (212102110081; 202102110141); 中国博士后面上基金项目 (2020M672219); 河南省杰出青年科学基金项目 (212300410008); 国家现代农业 (肉牛牦牛) 产业技术体系建设专项 (CARS-37)

作者简介: 郭世良(1983-), 男, 工程师, 研究方向: 肉品加工技术

通讯作者: 李苗云(1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 肉品加工与安全检测

simulated gastrointestinal conditions, the order of the antioxidant stability of the sour meat peptide was gastric juice digestion > gastrointestinal digestion. In summary, in order to maintain a higher antioxidant activity of the fermented sour meat peptide, it is necessary to avoid strong acid, strong alkali, high temperature, contacts with  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  ions, high sugar, high NaCl, and light during storage.

**Key words:** fermented sour meat; peptide; environmental factors; stability

发酵酸肉是我国西南少数民族地区传统特色发酵肉制品,以猪肉为原料,添加米粉、食盐及香辛料等在自然条件下经厌氧发酵而成的特色肉制品。发酵过程中在微生物及酶的作用下蛋白质、脂肪、碳水化合物及胆固醇等发生一系列生物降解反应,产生大量多肽、氨基酸及脂肪酸等小分子化合物<sup>[1,2]</sup>,同时形成酸肉特有风味,因此经发酵后的酸肉较新鲜肉更易于人体消化<sup>[3,4]</sup>。

酸肉肽是发酵酸肉在适宜的蛋白酶条件下经酶解、提取、浓缩、干燥等工艺制得。生物活性肽不仅具有较好的消化吸收及营养价值,同时还具有调节人体生理功能的作用<sup>[5]</sup>。生物活性肽是由氨基酸分子以不同组成、不同排列方式构成的线性或环形结构的肽类,具有多种人体代谢和生理调节功能,易消化吸收,抗菌、抗病毒、抗氧化等作用,生物活性肽还具有蛋白质及其组成氨基酸所不具备的生理活性<sup>[6]</sup>。由于其众多的生理功能,是当前国际食品界最热门的研究课题和极具发展前景的功能因子,生物活性肽在功能性食品的研究中具有重要的地位,是食品学界研究的热点之一。

生物活性肽在生产加工过程中会发生氧化、水解及肽链结构的改变,导致其生物活性降低甚至丧失<sup>[7]</sup>,食物中蛋白质等大分子物质在经动物胃肠消化后被降解为氨基酸、小肽,在维持动物肠道健康、机体免疫功能方面具有重要意义<sup>[8]</sup>,因此,为使活性肽有效发挥最大生物活性,需要其在加工及储藏过程中保持良好的稳定性,同时在人体胃肠消化过程中保持良好生物活性。现如今,对酸肉活性肽的研究越来越多,关于酸肉肽的研究主要集中在降血脂、ACE抑制作用及胆酸盐结合能力等方面<sup>[9-11]</sup>,酸肉生物活性肽在环境中功能稳定性的研究较少。活性肽在加工及应用过程中受外界环境因素影响,发生水解、氧化、脱氨基或环化作用,使肽链结构发生改变,生物活性随之改变,进而导致生物活性降低甚至丧失<sup>[12]</sup>。因此,生物活性的更好的发挥需要具有较好的环境,使活性成分稳定性能较好的保持,如加工过程中酸碱环境、辅料及温度等对酸肉肽活性的协同拮抗作用。对酸肉肽氧化稳定性的研究尤为重要,本实验以OH自由基清除率、DPPH自由基清除率、 $\text{Fe}^{2+}$ 螯合能力、还原力为评价指标对酸肉肽在不同pH条件、食品原料、金属离子、光照及体外模拟胃肠环境对酸肉肽抗氧化稳定性的影

响,为酸肉肽在应用过程中避免氧化活性损失、更好维持氧化活性提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

碱性蛋白酶(200 U/mg),Solarbio; 甲醛,天津市富宇精细化工有限公司; 硫酸,洛阳昊华化学试剂有限公司; 溴麝香草酚蓝、酚酞,天津市致远化学试剂有限公司; 菲洛嗪(分析纯),生工生物工程(上海)股份有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、乙二胺四乙酸、硫酸亚铁、酒石酸钾钠、1,10-菲罗啉、无水乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、N-(1-萘基)乙二胺盐酸盐、亚硝酸钠、4-氨基苯磺酸、三氯乙酸、硼酸(分析纯)均为国药集体化学试剂有限公司。

N-1100 旋转蒸发器,上海爱郎仪器有限公司; SHB-III 循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司; AE224 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司; Neofuge1600 离心机力新仪器上海有限公司; CU-240 电热恒温水槽,上海一恒科学仪器有限公司; UV-2600 紫外可见分光光度计,岛津分析仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品前处理

发酵酸肉加工工艺基本流程:

原料肉(五花肉)→清洗沥水→预煮→冷却→切块(3×2×1 cm)→加米粉,食盐混匀→装坛→密封发酵90 d→真空包装→灭菌→成品

酸肉经去除表面辅料,剔除瘦肉中脂肪及肌筋、肌膜等,切碎均匀置于-20℃冰箱中保存备用。

参考 WenSiyang 等<sup>[13]</sup>的方法,稍作修改。粗蛋白的提取:称取 10 g 酸肉加 60 mL 水进行拍打均质,以 1 mol/L NaOH 调节 pH=11.0,静置 1 h,6000 r/min 离心 10 min,上清液以 0.1 mol/L HCl 回调至 pH=7.0,加 90%的乙醇 4℃沉淀 12 h,6000 r/min 离心取上清液,50℃旋转蒸发将上清液乙醇蒸出,获得蛋白质粗提液<sup>[14]</sup>。配置一定浓度蛋白液,以 pH=8,温度 50℃条件下,碱性蛋白酶加热水解 1.5 h,沸水浴 10 min

灭酶活, 6000 r/min 离心 10 min 取上清液, 上清液进行真空冷冻干燥, 制得酸肉肽。

### 1.3 抗氧化活性的测定

#### 1.3.1 OH 自由基清除率

参考 YanHongLi 等<sup>[15]</sup>方法, 样品管: 0.6 mL 邻二氮菲溶液 (5 mmol/L) 加 0.4 mL 磷酸钠缓冲液 (0.2 mol/L, pH=7.4) 混匀, 加 0.6 mL 粗肽液及 0.6 mL EDTA (15 mmol/L), 混匀, 加 0.6 mL FeSO<sub>4</sub> 溶液 (5 mmol/L) 及 0.8 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.1%), 摇匀 37 °C 反应 1 h, 536 nm 测定样品吸光度 A<sub>样品</sub>; 损伤管: 去离子水代替样品, 吸光度为 A<sub>损伤</sub>; 未损伤管: 去离子水代替样品及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 吸光度为 A<sub>未损伤</sub>。

$$\text{OH}\cdot\text{清除率}/\% = \frac{(A_{\text{样品}} - A_{\text{损伤}})}{(A_{\text{未损伤}} - A_{\text{损伤}})} \times 100\%$$

#### 1.3.2 DPPH 自由基清除率的测定

参考 SheihChuan 等<sup>[16]</sup>的方法。取 2 mL 0.2 mM DPPH (95%乙醇溶解), 加入 2.0 mL 粗肽液及对照溶液, 混匀, 避光反应 30 min, 于 517 nm 处测定样品吸光度, 同时以 2.0 mL 95%乙醇加 2.0 mL 样品作空白对照 A<sub>空白</sub>, 2.0 mL DPPH 自由基溶液加上 2.0 mL 95%乙醇为对照 A<sub>对照</sub>。

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \left[ 1 - \frac{(A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})} \right] \times 100\%$$

式中: A<sub>样品</sub>、A<sub>对照</sub>和 A<sub>空白</sub>分别为样品组、对照组和空白对照组溶液的吸光度。

#### 1.3.3 Fe<sup>2+</sup>螯合能力的测定

参考 Lee<sup>[17]</sup>等方法, 稍作修改。取 1 mL 样品加 0.05 mL FeCl<sub>2</sub> (2 mmol/L), 混匀后加入 0.2 mL 菲洛嗪 (5 mmol/L), 摇匀静置 10 min, 562 nm 处测定吸光度值, 去离子水代替样品测得吸光度为 A<sub>对照组</sub>。

$$\text{Fe}^{2+}\text{螯合率}/\% = \frac{A_{\text{对照组}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100\%$$

#### 1.3.4 还原力的测定

参考袁娅<sup>[18]</sup>等方法并稍做修改, 取 0.5 mL 肽液、0.5 mL 0.2 M 磷酸盐缓冲液 (pH=6) 和 0.5 mL 1% (W/V) 铁氰化钾混合, 于 50 °C 恒温水浴锅保温 20 min 后快速冷却。加 0.5 mL 10% (W/V) 三氯乙酸溶液, 混匀, 静置 10 min, 加 0.5 mL 蒸馏水和 0.1 mL 0.1% (W/V) 氯化铁, 摇匀静置 10 min, 700 nm 处测定吸光度值 A<sub>i</sub>。A<sub>0</sub> 为蒸馏水代替样品, A<sub>j</sub> 为样品与缓冲液。

$$\text{还原力}/\% = 1 - \frac{A_i - A_0}{A_0} \times 100\%$$

### 1.4 外界环境对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

#### 1.4.1 不同 pH 对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

酸肉粗肽粉配置成 5 mg/mL 粗肽溶液, 分别将发酵酸肉粗肽液调至 pH 为 3、5、7、9、11 条件, 室温静置 1 h, 测定 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力。

#### 1.4.2 不同温度对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

酸肉粗肽粉配置成 5 mg/mL 粗肽溶液, 分别将发酵酸肉粗肽液置于 20、40、60、80、100 °C 水浴锅保温 2 h, 冷却后分别测定 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力。

#### 1.4.3 不同金属离子对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

酸肉粗肽粉配置成 5 mg/mL 粗肽溶液, 分别 5 mL 5 mg/mL 粗肽溶液中加入 500 μg/mL 的 K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup> 等金属离子溶液, 室温静置 1 h, 测定 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力。

#### 1.4.4 不同食品原料对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

酸肉粗肽粉配置成 5 mg/mL 粗肽溶液, 分别向 5 mL 5 mg/mL 粗肽溶液中加入质量分数为 5% 的 NaCl、葡萄糖、淀粉、蔗糖、乳糖等不同食品原料, 室温静置 1 h, 测定 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力。

#### 1.4.5 不同光照对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

酸肉粗肽粉配置成 5 mg/mL 粗肽溶液, 分别将发酵酸肉粗肽液放置在暗处、室内自然光 (日光灯明暗间隔 12 h), 日光 (光强 1000~10000 lx, 日光 200 lx) 条件下, 分别放置 0、1、2、3、4 周时, 测定 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力。

#### 1.4.6 体外模拟胃肠对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

人工胃液配制: 取浓度为 1 mol/L 稀盐酸 16.4 mL, 加水约 800 mL 与胃蛋白酶 10 g, 摇匀后, 加水稀释至 1000 mL。

人工肠液配制: 500 mL 蒸馏水溶解 6.8 g 磷酸二氢钾, 以 0.1 mol/L NaOH 调节 pH 值至 6.8; 称取 10 g 胰蛋白酶加水溶解, 两溶液混合, 定容至 1000 mL。

体外模拟胃肠消化参照江慎华等<sup>[19]</sup>以及 YOU 等<sup>[20]</sup>的方法: 以人工胃液配制质量浓度 5 mg/mL 酸肉粗肽液, 37 °C、130 r/min 水浴振荡 2 h 调节 pH 值为 6.8, 反应结束, 添加同体积人工肠液, 37 °C, 45 r/min 水浴振荡 2 h 后沸水浴灭酶 10 min, 冷却后 3000 r/min 离心 20 min, 取上清液分别测定 OH 自由基清除率、

DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力。

### 1.5 数据统计与分析

数据分析采用 SPSS 19.0 进行处理分析, 数据进行 ANOVA 方差分析, 用 Duncan's 法进行多重显著性分析, 结果以平均值±标准偏差 (Mean±SD) 表示,  $p < 0.05$  表明结果存在显著性差异, 利用 Origin 8.0 进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 pH 对酸肉多肽稳定性的影响

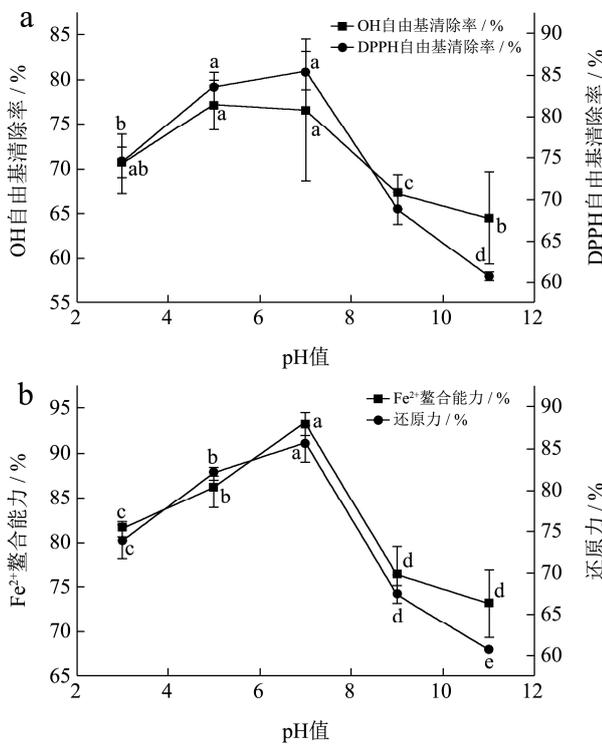


图1 不同 pH 条件对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

Fig.1 Effect of different pH on antioxidant stability of carnitine

5 mg/mL 酸肉肽在 pH 值为 3~11 范围内, 其抗氧化稳定性结果如图 1 所示: 酸肉肽抗氧化稳定性在 pH=5 时, 其 OH 自由基清除率最高为 77.22%, 与 pH=3 或 pH=7 时无显著差异, 而溶液 pH=7 时, 其 DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力最高, 分别为 85.56%、93.21%、85.61%。酸肉肽抗氧化活性在 pH=3~11 范围, 随 pH 增高, 抗氧化活性先增加后降低, 且在 pH=7 的中性条件下, 抗氧化活性越高, 由此可见, 过酸或过碱条件对酸肉肽抗氧化活性会有显著影响, 研究表明碱性条件下, 肽分子结构发生消旋作用使肽链结构改变, 影响生物活性的表达<sup>[21]</sup>, 这与郑志强<sup>[22]</sup>等研究对小麦肽抗氧化稳定性结果一致, 因此酸肉肽储存加工过程应尽量避免强酸强碱环境。

### 2.2 不同温度对酸肉多肽稳定性的影响

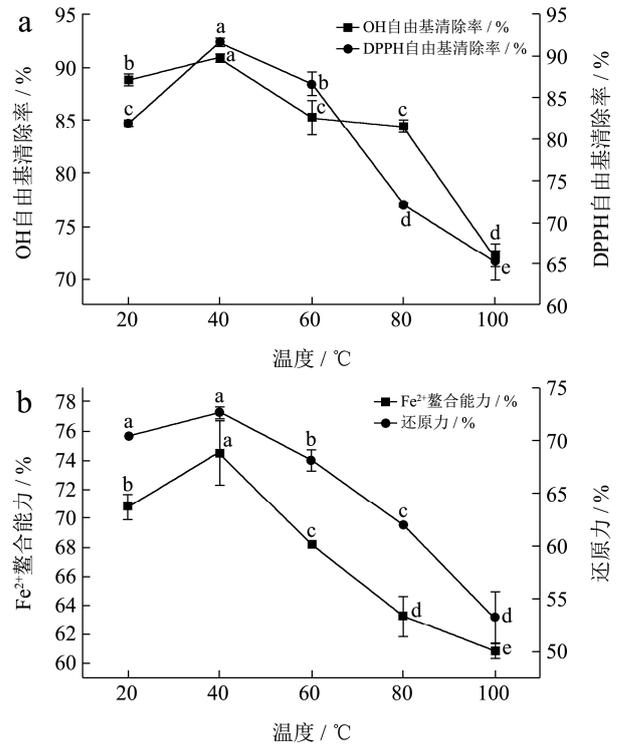


图2 不同温度对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

Fig.2 Effect of different temperature on antioxidant stability of carnitine

5 mg/mL 的酸肉肽溶液在温度 20~100 °C 范围内, 抗氧化稳定性结果如图 2 所示: 酸肉肽抗氧化稳定性在温度为 40 °C 时, 其 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力最高, 分别为 90.88%、91.64%、74.54%、72.58%。酸肉肽抗氧化活性随温度的升高, 抗氧化活性先增加后降低, 且在温度为 40 °C 左右时, 其抗氧化活性高, 由此可见, 温度过低或过高条件下, 不利于酸肉肽抗氧化活性的表达, 可能是因为温度过低, 酸肉肽功能活性未被激发, 其活性未能很好的表达, 随温度升高至 100 °C 时, 抗氧化活性损失, 这说明高温处理可能会导致多肽分子发生降解作用, 小分子肽结构由一级肽链和二级结构中化学键及作用力连接, 导致其对热敏感性不如蛋白质等大分子高级结构, 因此, 在受热过程中, 肽生物活性受热影响降低<sup>[23]</sup>, 因此酸肉肽储存加工过程应避免受高温条件影响。

### 2.3 不同金属离子对酸肉多肽稳定性的影响

由于含蛋白水解物的营养食品在加工中经常要与金属接触, 故金属离子对多肽稳定性的影响非常重要。一些蛋白酶在金属离子的作用下可以发生构象的转变, 因此多肽分子对不同的金属离子刺激响应程度不同<sup>[24]</sup>。5 mg/mL 的酸肉肽在不同离子环境下抗氧化稳

定性不同,相同浓度离子条件下  $K^+$  还原力最高,  $Ca^{2+}$  条件下 OH 自由基清除率最高,  $K^+$ 、 $Mg^{2+}$  离子下 DPPH 清除率最高,且无显著性差异 ( $p>0.05$ ),在  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  离子下  $Fe^{2+}$  螯合能力最高,且无显著性差异 ( $p>0.05$ ),总体来说,酸肉多肽对  $Cu^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  敏感,而对  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  活性保持率较好,这与赵谋明<sup>[25]</sup>等研究蓝园鲈抗氧化肽结果一致,与郑志强<sup>[22]</sup>等研究结果相反,导致不同原料生物肽抗氧化稳定性不一致的原因可能是蛋白结构不同,导致降解产物肽组成及结构不同,对金属离子结合能力存在差异。因此在酸肉肽的提取加工及贮藏中应避免与含铜、锌类材料器皿接触。

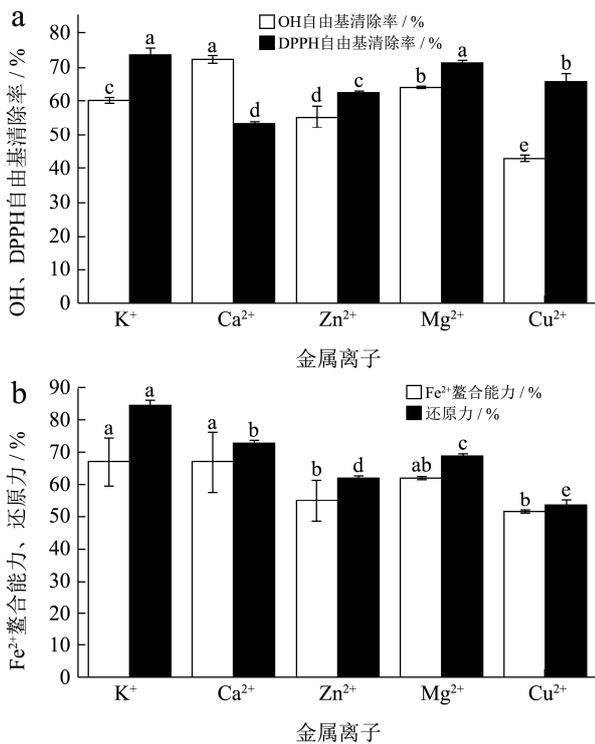


图3 不同离子环境对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

Fig.3 Effects of different ionic environments on antioxidant stability of carnitine

### 2.4 不同食品原料对酸肉多肽稳定性的影响

5 mg/mL 的酸肉肽在添加量 5% 的不同食品原料中抗氧化稳定性结果如图 4, 抗氧化稳定性综合表现为乳糖>蔗糖>淀粉>葡萄糖>NaCl, 糖类物质与多肽糖基化反应产物的溶解性更好, 促进了氢原子或自由基中间体的形成, 进而形成稳定分子结构, 使氧化活性较好, 但高浓度的糖环境对酸肉肽氧化稳定性的影响较大, 对活性肽存在抑制或破坏作用。胡晓<sup>[26]</sup>、游丽君等<sup>[27]</sup>研究发现蔗糖对鸢乌贼抗氧化肽、泥鳅多肽抗氧化活性的影响均不显著, 与本文结果相似, 可能是一定条件下葡萄糖较乳糖、蔗糖更易与多肽发生美拉德等反应, 使多肽结构改变, 导致生物活性发现

改变。郑志强<sup>[22]</sup>、林松毅<sup>[28]</sup>等认为 NaCl 是抗氧化肽的良好增效剂, Pereira 等<sup>[29]</sup>认为肽与含有 NaCl 的食品基质之间相互作用有利于肽生物活性的维持。NaCl 溶液电离产生的  $Na^+$  和  $Cl^-$  可中和活性分子表面电荷, 破坏水化膜, 导致供氢体或供质子体暴露, 结合大量自由基, 使抗氧化活性增强。环境因素对不同活性分子影响结果不同主要因为不同分子活性因子结构及表达形式不同, 导致相同环境对不同原料中活性成分功能活性表达呈相反的现象, 相反地, 实验结果表明, NaCl 的添加, 使粗肽液抗氧化活性受抑制, 这可能是因为 NaCl 对肽分子结构造成一定程度破坏, 加速氨基酸侧链的裂解, 导致抗氧化降低<sup>[30]</sup>。综合酸肉活性肽在不同食品原料中抗氧化活性表达情况, 结果表明, 为保持酸肉肽抗氧化活性, 应尽量避免高 NaCl、高葡萄糖环境。

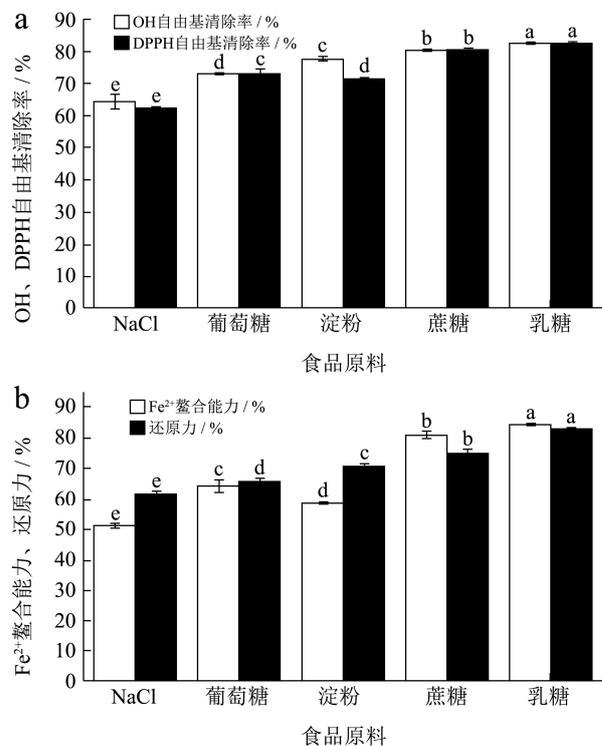
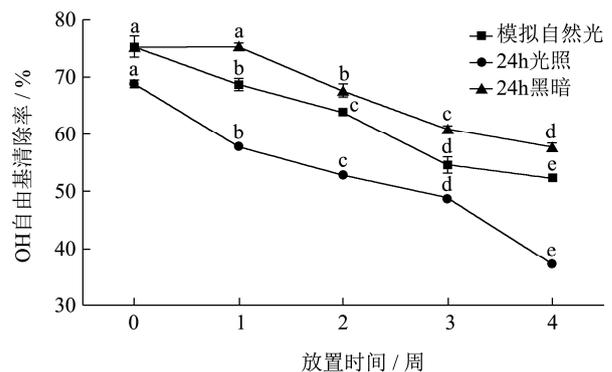


图4 不同食品原料对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

Fig.4 Effects of different food materials on antioxidant stability of carnitine



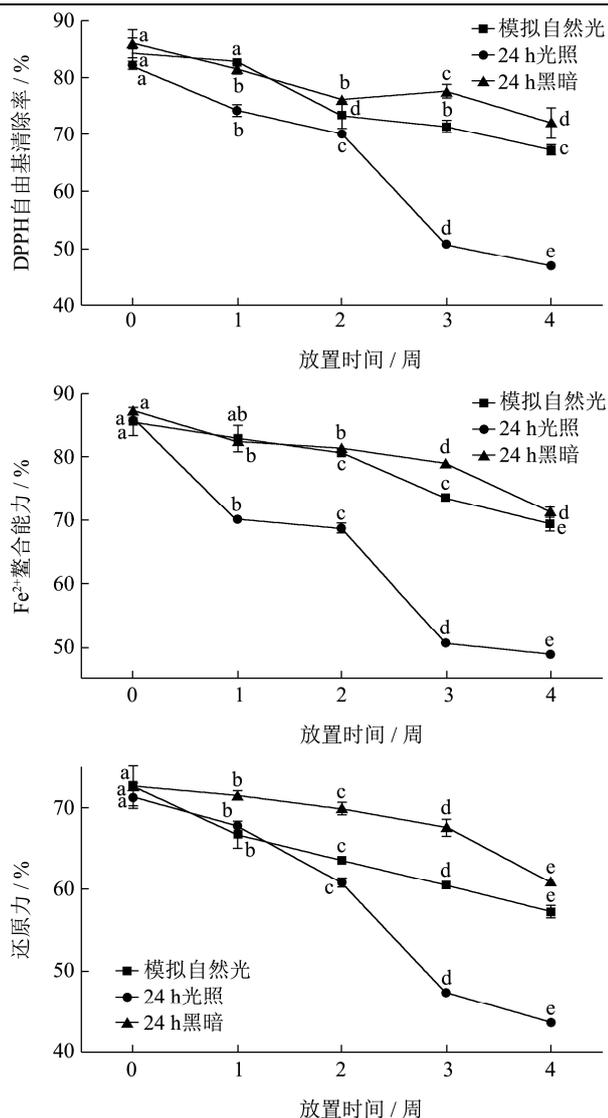


图5 不同放置时间及不同放置环境对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

Fig.5 Effects of different storage time and environment on antioxidant stability of carnitine

### 2.5 不同光照环境对酸肉多肽稳定性的影响

不同光照环境条件下酸肉肽抗氧化稳定性结果如图5所示。以质量浓度 5 mg/mL 的酸肉肽在模拟自然光（12 h 光照与 12 h 黑暗交替）、24 h 光照及 24 h 黑暗条件下分别储存 0、1、2、3、4 周后抗氧化稳定性结果可看出，放置相同时间内，三种不同环境下抗氧化活性表现为 24 h 光照 < 模拟自然光 < 24 h 黑暗；0~4 周内，随放置时间的延长酸肉肽抗氧化稳定性越低。结果表明，光照会降低酸肉肽抗氧化活性，因此为保持酸肉肽抗氧化活性，应尽量保持避光环境。

### 2.6 体外模拟胃肠消化对酸肉肽抗氧化稳定

性的影响

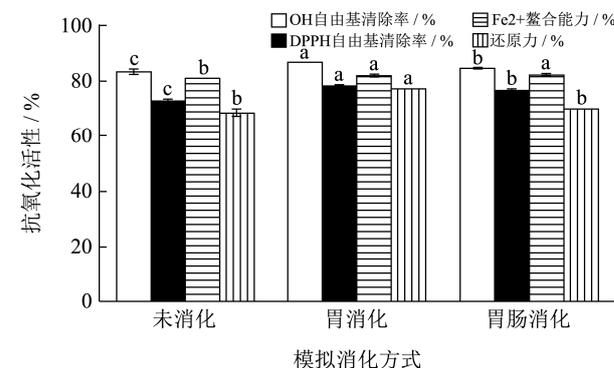


图6 胃肠消化环境对酸肉肽抗氧化稳定性的影响

Fig.6 Effect of gastrointestinal digestive environment on antioxidant stability of carnitine

酸肉肽在模拟人体胃消化及模拟人体胃肠消化，对不同处理后酸肉肽进行 OH 自由基、DPPH 自由基及 Fe<sup>2+</sup> 螯合能力、还原力进行测定，结果如图 6。经模拟胃液消化处理后酸肉肽抗氧化活性最高，其 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup> 螯合能力及还原力分别为 86.60%、78.27%、82.07%、77.21%，经胃肠分步消化处理后酸肉肽抗氧化活性较单独模拟胃液消化时抗氧化活性减小，其 OH 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup> 螯合能力及还原力分别为 84.44%、76.75%、82.22%、70.07%。未经任何消化处理时，酸肉中提取的多肽发挥主要的抗氧化作用，而经模拟人体胃液消化后大分子蛋白质降解成小分子多肽，疏水性基团暴露，使其清除自由基能力增加，抗氧化活性增加<sup>[31]</sup>，经肠液中胰蛋白酶酶解后，胃液中蛋白质或多肽进一步水解成易于人体消化吸收的短肽及氨基酸，部分活性多肽裂解，从而导致抗氧化活性降低<sup>[22]</sup>，此结论与胡晓<sup>[26]</sup>、李致瑜<sup>[32]</sup>、ZHU 等<sup>[33]</sup>人对鸢乌贼抗氧化肽、大黄鱼内脏抗氧化肽及金华火腿抗氧化肽的稳定性研究结果一致。生物活性强度的高低主要依靠肽链中各氨基酸分子之间协同作用产生影响，因此，单独的氨基酸分子相比小肽其抗氧化能力小。胃蛋白酶、胰蛋白酶作用点位及作用机理的不同，对大分子蛋白质或多肽水解程度不同，形成不同的肽段，从而导致不同消化阶段消化产物抗氧化活性差异显著<sup>[34]</sup>。肽分子的抗氧化活性依靠肽链中氨基酸的协同作用，单独的氨基酸活性不如小分子肽，因此在胃消化阶段由于小分子肽及部分氨基酸的作用抗氧化活性较胃肠消化产物抗氧化活性高，酸肉肽在经胃肠消化后抗氧化活性均高达 70% 以上，酸肉肽的高抗氧化稳定性有利于其作为功能基料在未来功能性食品中的应用。

### 3 结论

通过对酸肉肽在不同加工条件及模拟胃肠消化环境中抗氧化稳定性进行分析,研究环境条件下酸肉肽抗氧化稳定性的影响。酸肉肽在不同 pH、温度、金属离子、光照、食品原料及模拟胃肠环境下抗氧化稳定性的结果表明, pH 在 3~11 时,随 pH 值升高,酸肉肽的抗氧化稳定性先增加后降低, pH=7 时,其 DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合能力及还原力达到最大值;温度 20~100 °C 时,随温度的升高,酸肉肽抗氧化活性先增加后降低,温度在 40 °C 左右时,OH 自由基及 DPPH 自由基清除率、Fe<sup>2+</sup>螯合力、还原力最高;在 K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>金属离子环境下,酸肉肽抗氧化稳定性保持较好;酸肉肽在添加 5%乳糖、蔗糖及淀粉中其抗氧化活性有较好的提高作用;为保存酸肉肽抗氧化活性酸肉肽的储藏应避光储藏,为酸肉肽在加工过程中环境的选择提供一定依据。综合分析,酸肉肽在加工提取及贮藏过程中应避免过酸过碱、避免高温、应避免与含 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>类材料接触、避免高 NaCl 及葡萄糖环境,同时保持避光环境,本试验结果为酸肉肽在后期的生产应用提供一定的理论基础。

### 参考文献

- [1] Ikonic' P, Tasic' T, Petrovic' L, et al. Proteolysis and biogenic amines formation during the ripening of *Petrovska klobasa*, traditional dry-fermented sausage from northern Serbia [J]. Food Control, 2013, 30(1): 69-75
- [2] 耿翠竹,王海滨,崔莹莹,等.蛋白质降解对猪肉制品品质影响的研究进展[J].肉类研究,2016,30(2):35-39  
GENG Cui-zhu, WANG Hai-bin, CUI Ying-ying, et al. Research progress on the effect of protein degradation on the quality of pork products [J]. Meat Research, 2016, 30(2): 35-39
- [3] 周才琼,陈东华,李艳芳,等.酸肉发酵过程中脂肪降解及影响因素研究[J].食品工业科技,2009,30(4):171-173,177  
ZHOU Cai-qiong, CHEN Dong-hua, LI Yan-fang, et al. Study on fat degradation and its influencing factors in sour meat fermentation [J]. Food Industry Science and Technology, 2009, 30(4): 171-173, 177
- [4] 周才琼,陈东华,杜木英.酸肉发酵中蛋白质降解及影响因素的研究[J].食品科学,2009,30(7):127-130  
ZHOU Cai-qiong, CHEN Dong-hua, DU Mu-ying. Study on protein degradation and influencing factors in sour meat fermentation [J]. Food Science, 2009, 30(7): 127-130
- [5] 巢警爻,张岚,杜娟,等.生物活性肽的研究进展[J].吉林医药学院学报,2010,31(6):359-362  
CHAO Jing-shu, ZHANG Lan, DU Juan, et al. Research progress of bioactive peptides [J]. Journal of Jilin Medical College, 2010, 31(6): 359-362
- [6] 郑惠娜,章超桦,曹红.海洋蛋白酶解制备生物活性肽的研究进展[J].水产科学,2008,27(7):370  
ZHENG Hui-na, ZHANG Chao-hua, CAO Hong. Research progress on preparation of bioactive peptides by marine protease hydrolysis [J]. Fisheries Science, 2008, 27(7): 370
- [7] Zhu C Z, Zhang W G, Kang Z L, et al. Stability of an antioxidant peptide extracted from Jinhua ham [J]. Meat Science, 2014, 96(2): 783-789
- [8] Gilbert E R, Wong E A, Webb K E. Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health [J]. Journal of Animal Science, 2008, 86(9): 2135-2155
- [9] 李成龙.发酵酸肉降血脂肽的分离纯化、特性研究及其对血管内皮细胞的影响[D].重庆:西南大学,2016  
LI Cheng-long. Purification, characterization and effect on vascular endothelial cells of the peptide from fermented sour meat [D]. Chongqing: Southwest University, 2016
- [10] 丁苗.发酵酸肉中 ACE 抑制肽的分离纯化、特性及其对血管内皮细胞功能因子的影响研究[D].重庆:西南大学,2015  
DING Miao. Purification, characterization of ACE inhibitory peptide from fermented sour meat and its effect on vascular endothelial cell function factors [D]. Chongqing: Southwest University, 2015
- [11] 韦诚,李成龙,朱丽娟,等.发酵酸肉胆酸盐结合肽的化学抗氧化作用及对大鼠胸主动脉血管内皮细胞的影响[J].食品科学,2017,38(11):225-230  
WEI Cheng, LI Cheng-long, ZHU Li-juan, et al. Chemical antioxidant effect of fermented sarcocholate binding peptide and its effect on vascular endothelial cells of rat thoracic aorta [J]. Food Science, 2017, 38(11): 225-230
- [12] Zhu C Z, Zhang W G, Kang Z L, et al. Stability of an antioxidant peptide extracted from Jinhua ham [J]. Meat Science, 2014, 96(2): 783-789
- [13] WEN Si-ying, ZHOU Guang-hong, LI Li, et al. Effect of cooking on in vitro digestion of pork proteins: a peptidomic perspective [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 63(1): 250-261
- [14] Kaneko T, Chihara T, Shimpo K, et al. Inhibition of azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci in mice fed a high-fat diet by *Pleurotus eryngii* (Eringi) and *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji) [J]. Asian Pacific

- Journal of Cancer Prevention, 2015, 16(9): 3881-3885
- [15] Yan Hong Li, Jiang Bo, Tao Zhang, et al. Antioxidant and free radical scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH) [J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 444-450
- [16] Sheih I C, Wu T K, Fang T J. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(13): 3419-3425
- [17] Lee S J, Kim E K, Hwang J W, et al. Purification and characterisation of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysates of duck processing by-products [J]. Food Chemistry, 2010, 123(2): 216-220
- [18] 袁娅,许佳妮,张剑飞,等.不同培养基对平菇营养成分、多酚含量及其抗氧化活性的影响[J].食品科学,2014,35(13):137-142  
YUAN Ya, XU Jia-ni, ZHANG Jian-fei, et al. Effects of different media on nutritional components, polyphenol content and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* [J]. Food Science, 2014, 35(13): 137-142
- [19] 江慎华,蔡志鹏,廖亮,等.丁香抗氧化活性物质提取及人工胃肠液对其活性的影响[J].农业机械学报,2012,43(7):149-155  
JIANG Shen-hua, CAI Zhi-peng, LIAO Liang, et al. Extraction of antioxidant substances from clove and effect of artificial gastrointestinal fluid on its activity [J]. Journal of Agricultural Machinery, 2012, 43(7): 149-155
- [20] You L, Zhao M, Regenstein J M, et al. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2010, 120(3): 810-816
- [21] Liu, Peng, Zhao, et al. Purification and identification of anti-oxidant soybean peptides by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry [J]. Rejuvenation Research, 2014
- [22] 郑志强,刘晋,魏晓娟,等.加工条件及模拟胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响[J].农业机械学报,2017,48(9):330-336  
ZHENG Zhi-qiang, LIU Jin, WEI Xiao-juan, et al. Effects of processing conditions and simulated gastrointestinal digestion on antioxidant stability of wheat peptides [J]. Journal of Agricultural Machinery, 2017, 48(9): 330-336
- [23] 裴云成,朱丹,崔采莲,等.杏鲍菇柄抗氧化肽的制备及其稳定性初步分析[J].食品工业科技,2020,41(4):146-152,160  
PEI Yun-cheng, ZHU Dan, CUI Cai-lian, et al. Preparation and stability of antioxidant peptides from *Pleurotus eryngii* stalk [J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(4): 146-152, 160
- [24] Armstrong F, Que L. Current opinion in chemical biology [J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2012, 16(1-2): 1-2
- [25] 赵谋明,何婷,赵强忠,等.蓝园鲮抗氧化肽抗氧化稳定性研究[J].食品科学,2009,30(1):128-130  
ZHAO Mou-ming, HE Ting, ZHAO Qiang-zhong, et al. Study on antioxidant stability of antioxidant peptides from SCAD [J]. Food Science, 2009, 30(1): 128-130
- [26] 胡晓,吴静,杨贤庆,等.添加物和体外模拟胃肠道消化对鳗乌贼抗氧化肽稳定性的影响[J].食品与发酵工业,2016,42(11):91-96  
HU Xiao, WU Jing, YANG Xian-qing, et al. Effects of additives and simulated gastrointestinal digestion *in vitro* on the stability of antioxidant peptides from squid [J]. Food and Fermentation Industry, 2016, 42(11): 91-96
- [27] 尤丽君,赵谋明,任娇艳,等.加工和贮藏条件对泥鳅多肽抗氧化活性的影响[J].江苏大学学报:自然科学版,2009,30(6):550-553  
YU Li-jun, ZHAO Mou-ming, REN Jiao-yan, et al. Effects of processing and storage conditions on antioxidant activity of polypeptides from *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. Journal of Jiangsu University: Natural Science Edition, 2009, 30(6): 550-553
- [28] 林松毅,郭洋,王莹,等.蛋清抗氧化肽增效剂的优化[J].华南理工大学学报:自然科学版,2010,38(8):100-104  
LIN Song-yi, GUO Yang, WANG Ying, et al. Optimization of egg white antioxidant peptide synergist [J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2010, 38(8): 100-104
- [29] Pereira A M, Lisboa C R, Santos T D, et al. Bioactive stability of microalgal protein hydrolysates under food processing and storage conditions [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(10): 4543-4551

(下转第 83 页)