

邹 焯, 蔡盼盼, 王 立, 等. 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物在猪肉糜中抗氧化效果[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(5): 1157-1163.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.05.030

中华鳖裙边胶原蛋白酶解物在猪肉糜中抗氧化效果

邹 焯¹, 蔡盼盼^{1,2}, 王 立^{1,3}, 王道营¹, 徐为民¹

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014; 2. 南京师范大学金陵女子学院, 江苏 南京 210014; 3. 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要: 以中华鳖裙边胶原蛋白为原料, 经中性蛋白酶水解获得中华鳖裙边胶原蛋白水解物, 研究其抗氧化性能和在猪肉糜中的抗氧化效果。首先分析中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物的氨基酸组成和对 ABTS 自由基清除率, 结果表明, 与非酶解中华鳖裙边胶原蛋白相比, 其酶解物含有较多具有一定抗氧化活性的氨基酸, 因此抗氧化活性较好。在肉糜试验中, 将猪肉糜分为 5 组, 包括空白对照组, 添加 0.25%、0.50%、1.00% (质量比) 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物的处理组, 在冷藏 7 d 过程中测定肉糜的 pH 值、TBARS 值、酸价、过氧化值、巯基和羰基含量的变化, 考察中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对猪肉糜的抗氧化效果。结果表明, 与空白对照组相比, 添加中华鳖裙边胶原蛋白酶解物的处理组能显著降低肉糜中 pH 值、TBARS 值、酸价、过氧化值和羰基含量增长的速度, 尤其是添加 1.00% (质量比) 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物的处理组能显著抑制肉糜中巯基的减少, 从而有效抑制肉糜氧化。本试验结果为进一步利用中华鳖裙边胶原蛋白开发抗氧化肽提供了理论基础。

关键词: 中华鳖裙边; 胶原蛋白; 酶解物; 猪肉糜; 抗氧化

中图分类号: TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)05-1157-07

Antioxidative effect of collagen hydrolysates from Chinese soft-shelled turtle calipash on grounded pork

ZOU Ye¹, CAI Pan-pan^{1,2}, WANG Li^{1,3}, WANG Dao-ying¹, XU Wei-min¹

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210024, China; 3. College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: The aim of the study was to investigate the antioxidant activity of collagen hydrolysate from Chinese soft-shelled turtle calipash and its Antioxidative effect on grounded pork. The amino acid composition and ABTS free radical scavenging rate of collagen hydrolysates were determined. Hydrolyzed collagen showed better antioxidative activity than unhydrolyzed one due to more amino acids in hydrolysates. The additions of collagen hydrolysates (0.25%, 0.50%, 1.00%, mass ratio) decreased the pH values, TBARS value, acid value, peroxide value and carbonyl content of the grounded pork, among which, the addition of 1.00% collagen hydrolysates presented the best effect by significantly inhibiting the drop of sulfhydryl. This study lays a theoretical basis for the development of antioxidative peptides by utilization of Chinese soft-shelled turtle calipash.

Key words: Chinese soft-shelled turtle calipash; collagen; hydrolysate; grounded pork; antioxidation

收稿日期: 2017-04-13

基金项目: 江苏省苏北科技专项(BN2015148)

作者简介: 邹 焯(1986-), 女, 江苏淮安人, 博士, 助理研究员, 研究方向: 肉品加工与质量控制。(Tel) 15052928161; (E-mail) zouye@jaas.ac.cn

通讯作者: 王道营, (Tel) 13182898925; (E-mail) wdy0373@aliyun.com

肉品在加工、贮藏和运输过程中, 会受到光照、氧气和催化剂等外界环境因子的影响, 使肉品发生

脂肪氧化。而脂肪氧化会进一步促进肉制品蛋白质氧化,进而影响肉制品的风味、颜色、口感等,还会大幅度降低肉品营养价值,引起食品安全等问题,特别是肉糜类制品与空气和光照接触面积更大,受外界环境影响更为明显^[1],因此,在现实生活中人们为了控制肉品氧化的速度,通常会添加人工合成的抗氧化剂。但是,过度使用合成抗氧化剂会对人体健康造成一定的危害,所以开发天然抗氧化剂在肉类加工等食品领域具有重要的意义^[2]。

胶原蛋白活性肽具有清除自由基的功能,目前,以水产类为原料制备胶原蛋白抗氧化肽成为当前研究的热点,国内外学者已从银鲤鱼^[3]、墨鱼皮^[4]、巨型乌贼^[5]、鲑鱼皮^[6]中得到了抗氧化性能良好的胶原蛋白多肽。这类抗氧化肽具有安全性高、抗氧化性能好的特点,非常适合用于食品的加工与贮藏。中华鳖裙边中含有丰富的胶原蛋白,且易于提取^[7],但目前尚未有关于其胶原蛋白抗氧化肽的研究报道。本试验拟从中华鳖裙边中采用超声辅助提取胶原蛋白,并将其酶解制备胶原蛋白多肽,研究胶原蛋白及其酶解物的抗氧化性能,然后进一步研究中华鳖裙边胶原蛋白酶解物在肉糜中的抗氧化效果,为中华鳖的精深加工和提高其附加值提供理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

中华鳖购于宿迁宴王水产食品有限公司,猪肉购于南京市六合养殖基地,中性蛋白酶、DTNB(2-硝基苯甲酸)、抗坏血酸(V_C)、2,2'-联氮-(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)购于上海源叶生物科技有限公司,2-巯代巴比妥酸、DNPH(2,4-二硝基苯肼)购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

T25DS25 高速粉碎机(德国卡尔仪器有限公司生产),78-1 磁力加热搅拌器(国华电器有限公司生产),M124A 电子天平(意大利贝尔电子仪器有限公司生产),HH-8 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司生产),UnCen MR 台式冷冻离心机(德国 Herolab 公司生产),超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司生产),真空冷冻干燥机(德国 CHRIST 公司生产),UV-6100 型分光光度计(上海美普达仪器有限公司生产)。

1.3 试验方法

1.3.1 中华鳖裙边胶原蛋白的制备 称取 40 g 粉碎后的中华鳖裙边,利用 2.0% NaCl 溶液、0.5 mol/L Na_2CO_3 水溶液、0.3 mol/L EDTA-2Na 水溶液和与 NaCl 溶液同量的 10% 异丙醇溶液进行非胶原蛋白成分的去除。在除杂后的中华鳖裙边中加入一定量的 0.5 mol/L 乙酸溶液,置于超声细胞粉碎机中进行提取,超声频率 20 kHz,超声功率 150 W,超声时间 40 min,温度 30 $^{\circ}C$ 。将提取液 5 000 g 离心 20 min 后收集上清液,在去离子水中透析 48 h 后,进行真空冷冻干燥,于 -20 $^{\circ}C$ 存放备用。

1.3.2 中华鳖裙边胶原蛋白酶解液的制备 将冷冻干燥后的胶原蛋白用 0.5 mol/L 的乙酸进行溶解,然后将溶液 pH 调至 6.5,加入中性蛋白酶进行酶解^[8],酶添加量为 2 000 U/g,在 37 $^{\circ}C$ 下水解 4 h。水解完后在沸水浴中加热 10 min 进行灭酶。待酶解液冷却至室温时,于 4 $^{\circ}C$ 、10 000 g 下离心 10 min,取上清液进行超滤处理,收集酶解物分子量 < 10 000 的溶液进行冷冻干燥,得到胶原蛋白酶解产物,同时配制 0.25%、0.50% 和 1.00% (质量比)的胶原蛋白酶解物备用。

1.3.3 胶原蛋白及其酶解物氨基酸组成分析 采用高效液相色谱进行胶原蛋白氨基酸组成测定,样品处理方法如下:称取一定量的胶原蛋白于水解管中,加入 6.0 mol/L HCl,密封水解管后,在 110 $^{\circ}C$ 中水解 24~36 h,在 338 nm 检测波长下测定胶原蛋白的氨基酸组成。

1.3.4 胶原蛋白及其酶解物 ABTS 自由基清除率 取 0.100 g ABTS 和 0.029 g 过硫酸钾溶于 100.0 ml 磷酸钠缓冲液,混合后于 25 $^{\circ}C$ 避光反应 16 h 备用,试验时取 2 ml 该反应液,加入 18.0 ml 磷酸钠缓冲液,配成 ABTS 储备液,避光保存当日使用。临用前将 ABTS 储备液稀释,使其在波长 734 nm 下测得吸光度为 0.80 ± 0.02 ,制成 ABTS 工作液。分别将冻干后的胶原蛋白、胶原蛋白酶解物配制成 1.0 mg/ml、2.0 mg/ml、3.0 mg/ml、4.0 mg/ml、5.0 mg/ml 和 6.0 mg/ml 的样品液。然后分别取 0.1 ml 样品液,加入 3.9 ml ABTS 工作液,混合均匀后于室温下静置反应 10 min,于波长 734 nm 处测得吸光度 A_1 ,以试样溶剂(去离子水)代替样品溶液测定空白吸光度 A_0 ,以磷酸钠缓冲液代替 ABTS 工作液测得吸光度 A_2 ,试验平行做 3 次, V_C 作阳性对照^[8]。

ABTS 自由基清除率计算如公式(1)所示:

$$\text{ABTS 自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_1 为试验组吸光度; A_2 为对照组吸光度; A_0 为空白组吸光度。

1.3.5 肉糜的制备 参考张立娟等^[9]的方法稍作修改。称取一定量的新鲜猪肉按照肥瘦比 1:3 剁成肉糜,搅拌均匀后随机分成 5 组:第 1 组为空白对照组,向第 2~4 组中分别加入 0.25%、0.50% 和 1.00% (质量比)的胶原蛋白酶解物,向第 5 组中加入 0.05% (质量比)的 V_c 溶液,充分混匀后于 4 °C 下进行保存。分别在 0 d、1 d、3 d、5 d、7 d 测定相关指标。

1.3.6 肉糜 pH 值的测定 参考 GB/T 9695.5-2008 《肉与肉制品 pH 测定方法》进行测定。取以上 5 组的肉糜各 5 g 放入搅拌机内,然后加入 45 ml 去离子水进行搅打,使得肉糜与水混合均匀,用滤纸过滤,滤液用 pH 计测定。

1.3.7 酸价的测定 参考王芳兵等^[10]的方法稍作修改。取以上 5 组的肉糜各 5 g 于 250 ml 的锥形瓶中,加入 30 ml 的乙醚-乙醇混合溶液(体积比为 1:2),室温下混合反应 30 min。然后加入 1~2 滴酚酞指示剂,用 0.05 mol/L 的氢氧化钾溶液进行滴定,直至出现微红色并且在 30 s 内不消失。记下此时消耗氢氧化钾溶液的体积,结果按公式(2)计算:

$$\text{酸价} = \frac{v \times c \times 56.1}{m} \quad (2)$$

式中: v 为消耗氢氧化钾的体积(ml); c 为氢氧化钾的浓度(mol/L); m 为肉糜质量(g)。

1.3.8 过氧化值的测定 参照罗燕等^[11]的方法并稍作修改。取以上 5 组的肉糜各 5 g 于 250 ml 的锥形瓶中,加入 30.0 ml 的三氯甲烷-醋酸混合液(体积比为 1:3),在室温下混匀使油脂溶解,然后再加入 1.0 ml 的饱和碘化钾溶液,混匀后放入暗处反应 3 min,再加入 100 ml 的去离子水立即用硫代硫酸钠标准溶液(0.002 0 mol/L)进行滴定,至溶液变为淡黄色时加入 1 ml 的淀粉指示剂,继续滴定至蓝色消失为止,用去离子水进行空白对照。过氧化值(POV)按照公式(3)进行计算:

$$\text{过氧化值}(\text{meq/kg}) = \frac{(v_1 - v_2) \times c \times 0.1269 \times 100}{m} \times 78.8 \quad (3)$$

式中: v_1 为试样消耗硫代硫酸钠标准溶液的体

积(ml); v_2 为空白消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(ml); c 为硫代硫酸钠标准溶液的实际浓度; m 为肉糜质量(g);0.126 9为 1.0 ml 硫代硫酸钠溶液(1 mol/L)相当的碘的质量;78.8 为换算因子。

1.3.9 硫代巴比妥酸值(TBARS)的测定 参考呼和本其尔等^[12]的方法并稍作修改。取以上 5 组的肉糜各 2 g 加入 10 ml 0.4% 2-硫代巴比妥酸溶液(用氢氧化钠溶解后再用 15% 三氯乙酸溶液定容),将肉糜混合物进行匀浆处理,并在沸水中加热 30 min,冷却至室温,在 4 °C、6 000 g 条件下离心 10 min,取上清液分别测定在 532 nm 和 600 nm 的吸光度。TBARS 值按照公式(4)进行计算:

$$\text{TBARS} = \frac{(A_{532} - A_{600}) \times 72.06}{155.00} \times m \times 100 \quad (4)$$

式中: A_{532} 为波长 532 nm 下测得的吸光值; A_{600} 为波长 600 nm 下测得的吸光值; m 为样品质量(g);72.06 为丙二醛的物质的量;155.00 为吸光系数。

1.3.10 总巯基含量的测定 参考 Ellman 等^[13]的方法稍作修改。分别准确称取以上 5 组的肉糜各 0.2 g,加入 1.00 ml Tris-Gly-10 mol/L Urea 溶液和 0.02 ml 的 β -巯基乙醇,混合均匀后 25 °C 下保温反应 1 h,再加入 10.00 ml 12% 的三氯乙酸溶液,继续保温反应 1 h,然后于 5 000 g 下离心 10 min,取沉淀物,用 12% 三氯乙酸溶液洗涤 2 次,然后将其溶于 3.00 ml 的 Tris-Gly-8 mol/L Urea 溶液中,再加入 0.03 ml DTNB 溶液,混合均匀后于 25 °C 下反应 25 min,在波长 412 nm 下测其吸光值(A_{412}),同时作空白试验(以去离子水代替样品测定)。并用双缩脲法测定样品上清液中蛋白质的浓度。每个样品做 3 次平行试验,最终结果取其平均值,并按公式(5)进行计算:

$$\text{总巯基}(\text{SH} + \text{还原的 S-S}) \text{含量} = \frac{73.53 \times A_{412} \times D}{c} \quad (5)$$

式中:SH 为巯基,S-S 为二硫键,分子中 73.53 = $1.00 \times 10^6 / (1.36 \times 10^4)$, 1.00×10^6 由 mol 转化为 $\mu\text{mol/ml}$ 和 mg 转化为 g 换算得来, 1.36×10^4 为 Ellman 的摩尔消光系数; A_{412} 为波长 412 nm 下的吸光值; c 为样品中蛋白质的浓度,(mg/ml); D 为稀释因子,此时 D 值取值为 15。

1.3.11 羰基含量的测定 参照 Mehdi 等^[14]的方法稍作修改。分别准确称取 1 g 处理后的肉糜,加入

10 ml Tris-HCl (0.05 mol/L Tris、1.00 mol/L EDTA、pH7.4)缓冲液后进行匀浆,取1 ml匀浆液加入1 ml 15%三氯乙酸溶液使其沉淀,混合液离心后取出沉淀用三氯乙酸溶液反复洗涤,接着加入1 ml 10 mmol/L的DNPH,室温反应45 min后,加入1 ml三氯乙酸溶液再次进行沉淀,用无水乙醇-乙酸乙酯混合液(体积比1:1)洗涤没反应完的DNPH,沉淀用6 mol/L盐酸胍溶解(溶剂浓度为20 mmol/L磷酸钾溶解,用三氯乙酸调pH值至2.3),放置12~24 h后,测定其在波长370 nm处的吸光值,并用双缩脲法测定样品上清液中蛋白质的浓度。采用公式(6)计算羰基含量:

$$\text{羰基含量} = \frac{A_{370}}{s \times c} \quad (6)$$

式中: A_{370} 为波长370 nm处的吸光值; s 为摩尔吸光系数22 000 L/(mol·cm); c 为上清液中蛋白质浓度(mg/L)。

1.4 数据分析

每个试验重复3次。采用SPSS 18.0进行显著性($P < 0.05$)分析,用Origin 9.0作图。

2 结果与分析

2.1 中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物氨基酸组成分析

氨基酸的种类和分子结构与蛋白水解物或抗氧化多肽的活性有一定的关系,研究表明,天冬氨酸、谷氨酸、组氨酸、精氨酸和赖氨酸具有螯合金属离子的能力,而疏水性氨基酸(酪氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸和亮氨酸)具有抑制脂肪氧化的能力,且蛋白水解物或多肽的疏水性越高,其总抗氧化能力就越强^[15-19]。从表1可知,中华鳖裙边胶原蛋白酶解物中天冬氨酸、谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸和亮氨酸的含量均显著高于中华鳖裙边胶原蛋白($P < 0.05$),精氨酸和异亮氨酸的含量基本一致,所以从具有一定抗氧化活性的氨基酸组成上来看,推测胶原蛋白酶解物的抗氧化性优于胶原蛋白。

2.2 中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物清除ABTS自由基的作用效果

ABTS自由基清除率是抗氧化试验中的一项重要指标。从图1可知,中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对ABTS自由基的清除能力显著强于中华鳖裙边胶

原蛋白,且1.0 mg/ml酶解物对ABTS自由基的清除率已达90%以上,在1.2 mg/ml时胶原蛋白酶解物清除ABTS自由基效果更佳,接近0.05% V_c 对ABTS自由基的清除率,之后随着酶解物浓度的增加对ABTS自由基清除率基本不变。而中华鳖裙边胶原蛋白对ABTS自由基清除能力随着浓度增加而增强,当浓度为6.0 mg/ml时其清除率达到最大。中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物和 V_c 对ABTS自由基的半抑制率(IC_{50})分别为2.71 mg/ml、0.25 mg/ml、0.01 mg/ml。以上结果表明,中华鳖裙边胶原蛋白酶解物具有较强的抗氧化能力。

表1 中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物氨基酸分析

Table 1 Amino acid compositions in collagen and its hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

氨基酸	中华鳖裙边胶原蛋白	中华鳖裙边胶原蛋白酶解物
天冬氨酸	48.7±1.1a	75.2±2.1b
谷氨酸	103.5±2.9a	126.8±2.6b
丝氨酸	37.4±1.2b	32.5±1.5a
组氨酸	8.6±0.3a	15.2±0.6b
甘氨酸	225.8±2.4a	230.2±3.2a
苏氨酸	30.7±1.2b	25.1±1.3a
精氨酸	64.7±2.3a	62.1±2.1a
丙氨酸	127.5±2.1a	140.1±1.9b
羧脯氨酸	94.5±1.3a	92.2±1.5a
酪氨酸	-	-
缬氨酸	29.6±1.0b	23.5±1.1a
甲硫氨酸	1.5±0.1a	1.2±0.1a
半胱氨酸	-	-
色氨酸	-	-
异亮氨酸	14.1±0.7a	12.4±0.6a
亮氨酸	25.1±0.9a	34.2±0.6b
苯丙氨酸	8.6±0.2a	12.1±0.4b
赖氨酸	42.2±0.5a	51.3±0.7b

同一行数据后不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.3 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜pH值的影响

在整个贮藏过程中,空白对照组和各处理组的pH值呈现递增状态(图2),可能是肉糜中内源蛋白酶和微生物分泌的蛋白分解酶降解肌肉蛋白质,生成多肽和氨基酸,并释放出碱性基团,从而使肉的pH值增大^[20]。在贮藏初始阶段,各处理组与空白

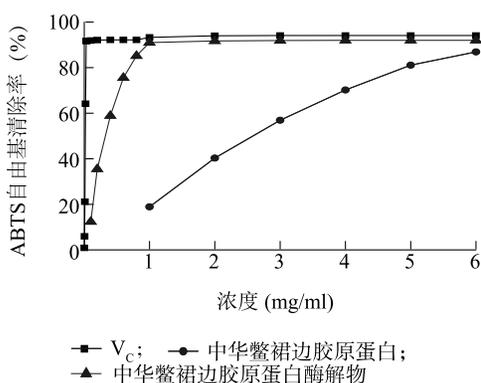


图1 中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物对 ABTS 自由基的清除作用

Fig.1 The ABTS free radical scavenging rate of collagen and its hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

对照组之间没有显著差异,但在贮藏后期,空白对照组的 pH 值较其他组(除 V_c处理组)显著提高($P < 0.05$)。从图 2 还可以看出,添加 V_c处理组的 pH 值在 1 d 后呈直线上升的趋势,可能是由于 V_c为水溶性的,而肉糜含有大量脂肪,因此 V_c不能有效抑制肉糜腐败。此外,随着中华鳖裙边胶原蛋白酶解物浓度的增加,处理组肉糜 pH 值增长速度降低,如添加 1.00% 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物处理组的 pH 值增长幅度最低,第 7 d 时其 pH 值上升了 0.5 左右,表明中华鳖裙边胶原蛋白酶解物可有效抑制肉糜腐败。

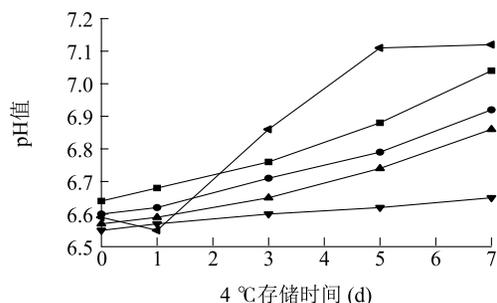


图2 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜 pH 值的影响

Fig.2 The pH value of ground pork changed by collagen hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

2.4 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜酸价的影响

酸价是脂肪中游离脂肪酸含量的标志,是油脂酸败的指标之一,在储藏期间肉糜中的油脂由于水分、温度、光照、脂肪酶等因素的作用,被分解为游离

脂肪酸。酸价越大,储藏稳定性越低^[21]。由图 3 可知,各组酸价在 1~5 d 内增长缓慢,随着中华鳖裙边胶原蛋白酶解物浓度的增加,酸价增长速度逐渐下降,然而各组酸价均在第 5 d 时大幅度增加,但添加 1.00% 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物处理组可显著抑制酸价升高,表明中华鳖裙边胶原蛋白酶解物可有效防止肉糜中脂肪的酸败。

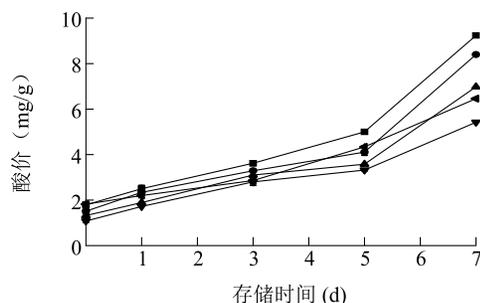


图3 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜酸价的影响

Fig.3 The acid value of ground pork changed by collagen hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

2.5 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜过氧化值的影响

过氧化值也是衡量油脂衰败的主要标志之一,过氧化值越高说明肉糜中油脂变质程度越大。各组的过氧化值都随储藏时间的延长而增大(图 4)。在储藏前期(1~3 d)各组的过氧化值增长缓慢,没有显著差异,储藏后期(5~7 d),空白对照组的过氧化值呈直线上升,而添加中华鳖裙边胶原蛋白酶解物(0.50%和 1.00%)处理组的过氧化值与空白组比较显著降低($P < 0.05$),这说明中华鳖裙边胶原蛋白酶解物可显著抑制油脂衰败,且添加酶解物浓度越大,其抑制肉糜油脂变质效果越好。

2.6 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜 TBARS 值的影响

TBARS 值是利用 TBARS(硫代巴比妥酸)溶液测定脂肪氧化程度(丙二醛含量)的方法。随着储藏时间的延长,各组肉糜的 TBARS 值呈明显上升趋势(图 5)。空白对照组 TBARS 值在第 7 d 时高达 1.41 mg/kg,与其他中华鳖裙边胶原蛋白酶解物处理组存在显著差异,且添加 1.00% 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物的处理组抑制肉糜脂肪氧化效果最好。

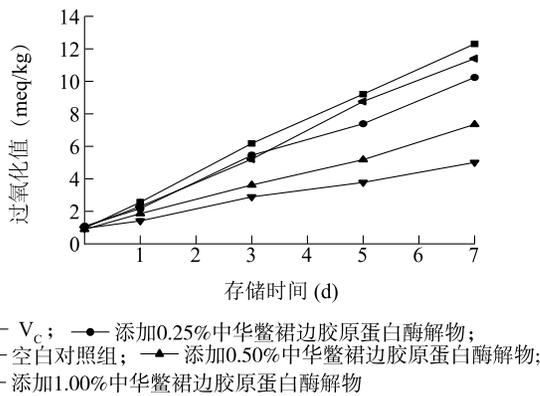


图4 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜过氧化值的影响

Fig.4 The peroxide value of ground pork changed by collagen hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

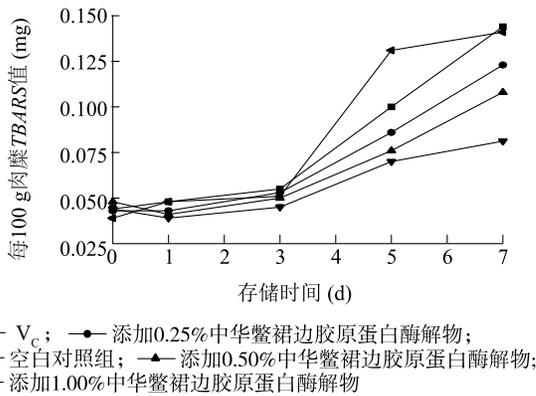


图5 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜TBARS值的影响

Fig.5 The TBARS value of ground pork changed by collagen hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

2.7 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜中总巯基含量的影响

从图6可知,各组肉糜中总巯基含量均呈下降趋势,这是由于肉糜中蛋白质巯基被氧化,形成二硫键或硫磺酸类物质,使得肉糜总巯基含量下降^[22-23]。存储第1d时,空白对照组与各处理组之间总巯基含量无显著差异,但随着时间的延长空白对照组的总巯基含量显著低于添加中华鳖裙边胶原蛋白酶解物各处理组,说明中华鳖裙边胶原蛋白酶解物可抑制蛋白质的氧化变性。

2.8 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜中羰基含量的影响

羰基类化合物的产生是蛋白质氧化的重要标志,其形成途径主要包括:(1)氨基酸侧链直接被氧化,例如赖氨酸、脯氨酸等;(2)还原糖及其氧化产

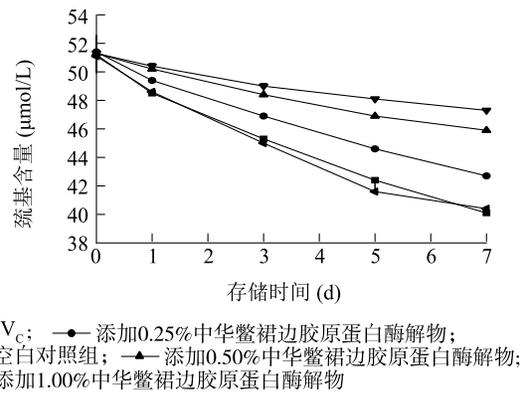


图6 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜中总巯基含量的影响

Fig.6 The total sulfhydryl content in ground pork changed by collagen hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

物与赖氨酸残基的 ϵ 氨基反应,通过重排形成羰基类衍生物;(3)不饱和脂肪酸发生过氧化反应产生了非蛋白羰基,通过Michael加成到蛋白质的氨基酸侧连上;(4)蛋白质骨架断裂^[24]。肉糜中羰基含量变化如图7所示。在储藏前期各组羰基含量均显著低于储藏后期,添加中华鳖裙边胶原蛋白酶解物的处理组羰基含量明显低于空白对照组和V_c处理组,且随着中华鳖裙边胶原蛋白酶解物浓度的增加,肉糜中羰基增加速度逐渐降低。这说明中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对蛋白质氧化(羰基类化合物的形成)有抑制作用。

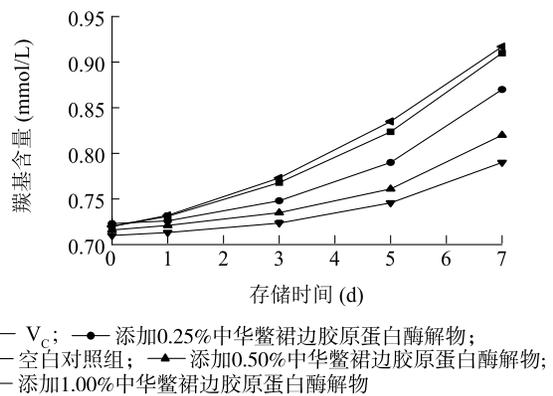


图7 中华鳖裙边胶原蛋白酶解物对肉糜中羰基含量的影响

Fig.7 The carbonyl content in ground pork changed by collagen hydrolysates of Chinese soft-shelled turtle calipash

3 结论

本试验研究了中华鳖裙边胶原蛋白及其酶解物

氨基酸组成和抗氧化活性,结果表明,与未处理的中华鳖裙边胶原蛋白相比,中华鳖裙边胶原蛋白酶解物中具有一定抗氧化活性的氨基酸比例显著增加,其抗氧化效果显著提高。进一步研究中华鳖裙边胶原蛋白酶解物在猪肉糜中的抗氧化效果,结果表明,一定浓度的中华鳖裙边胶原蛋白酶解物可有效抑制猪肉糜在储藏期间 pH 值、酸价、过氧化值和 TBARS 值的增加,显著减少肉糜总巯基含量和抑制羰基类化合物的生成,且这些作用效果随中华鳖裙边胶原蛋白酶解物浓度增加而增强,说明中华鳖裙边胶原蛋白酶解物能有效抑制肉糜中脂肪和蛋白质的氧化,从而抑制肉糜腐败。

参考文献:

- [1] ZUMALACÁRREGUI J M, DOMÍNGUEZ C, MATEO J. Oxidation of fat in meat and meat products [J]. *Alimentación Equipos Y Tecnología*, 2000, 19(3): 67-71.
- [2] LI Y, KONG B, XIA X, et al. Structural changes of the myofibrillar proteins in common carp (*Cyprinus carpio*) muscle exposed to a hydroxyl radical-generating system [J]. *Process Biochemistry*, 2013, 48(5/6): 863-870.
- [3] ZHANG L, ZHENG Y, CHENG X, et al. The anti-photoaging effect of antioxidant collagen peptides from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin is preferable to tea polyphenols and casein peptides [J]. *Food & Function*, 2017, 8: 1698-1707.
- [4] BOUSOPHA S, NALINANON S, SRIKET C. Production of collagen hydrolysate with antioxidant activity from pharaoh cuttlefish skin [J]. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 2016, 15(2): 151-162.
- [5] CUEVASACUÑA D A, ROBLESANCHEZ R M, TORRESARREOLA W, et al. Collagen from jumbo squid fin: extracting conditions and influence of the protease system on collagen hydrolysate antioxidant activity [J]. *CyTA-Journal of Food*, 2015, 14: 1-7.
- [6] 武翠玲,吴日帮,刘 丹,等. 鲑鱼皮胶原肽的制备及其抗氧化活性的检测 [J]. *生物工程学报*, 2016, 32(12): 1727-1734.
- [7] 陆剑锋,万 全,殷章敏,等. 中华鳖裙边胶原蛋白的提取及其特征 [J]. *水产学报*, 2010, 34(6): 981-988.
- [8] 王雨生,冷 云,陈海华,等. 黄鳍金枪鱼皮胶原肽酶解工艺及抗氧化活性研究 [J]. *中国食品学报*, 2015, 15(2): 72-78.
- [9] 张立娟,宋占全,吴明文,等. 猪血蛋白肽的制备及其对肉糜抗氧化作用研究 [J]. *肉类研究*, 2010, 10(140): 9-14.
- [10] 王芳兵,刘以娟,唐书泽. 一种新的肉及肉制品酸价测定方法 [J]. *广东农业科学*, 2012, 39(13): 119-121.
- [11] 罗 燕,张 超,黄 春. 影响肉制品中酸价和过氧化值测定的探讨 [J]. *计量与测试技术*, 2015(3): 18,21.
- [12] 呼和木其尔,杨志荣,阿茹汗,等. 羊软骨胶原蛋白水解物在羊肉糜中抗氧化效果研究 [J]. *食品科技*, 2016(7): 135-140.
- [13] ELLMAN G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 1959, 82(1): 70-77.
- [14] MEHDI N, SOOTTAWAT B, XU X M. Antioxidant and cryoprotective effects of Amur sturgeon skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince [J]. *Food Chemistry*, 2015, 181: 295-303.
- [15] TRIANTIS T M, YANRNAKOPOULOU E, NIKOK AVOURA A, et al. Chemluminescent studies on the antioxidant activity of amino acids [J]. *Analytic Chimica Acta*, 2007, 591(1): 106-111.
- [16] JE J Y, QIAN Z J, KIM S K. Antioxidant peptide isolated from muscle protein of bullfrog, *Rana catesbeiana* Shaw [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2007, 10(3): 401-407.
- [17] RIVAL S G, FORNAROLI S, BOERIU C G, et al. Caseins and casein hydrolysates. I. Lipoxygenase inhibitory properties [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2001, 49(1): 287-294.
- [18] YANG B, YANG H, LI J, et al. Amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant activity of protein hydrolysates of soy sauce lees [J]. *Food Chemistry*, 2011, 124(2): 551-555.
- [19] LI B, CHEN F, WANG X, et al. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(4): 1135-1143.
- [20] 曾志宏. 肉的品质与 pH 值的相关性 [J]. *肉类工业*, 2001, 1(1): 31-32.
- [21] TANG X, GONG L, ZHENG H, et al. Analysis on the quantitative change trend of acid value and peroxide value over time in curing meat products as well as its practicality in food safety enterprise standard [J]. *China Health Standard Management*, 2016, 3: 1-2.
- [22] 孔保华,孙 妍,熊幼翎. 抗氧化剂对羟自由基引起的乳清分离蛋白氧化抑制效果的研究 [J]. *食品科学*, 2010, 31(3): 5-10.
- [23] TURELL L, BOTTI H, CARBALLAL S, et al. Reactivity of sulfenic acid in human serum albumin [J]. *Biochemistry*, 2008, 47(1): 358-367.
- [24] 孟 彤,刘 源,仇春泱,等. 蛋白质氧化及对肉品品质影响 [J]. *中国食品学报*, 2015, 15(1): 173-181.

(责任编辑:陈海霞)