天然抗氧化剂肌肽的研究进展

杜 庆
（西南大学食品科学学院 重庆 400716）

摘 要：本文综述了肌肽的理化性质、抗氧化机理、提取和测定方法、肌肽的吸收和安全性，展望了肌肽的发展前景。

关键词：肌肽；抗氧化；安全性；应用

Research Progress of the Natural Antioxidants of Carnosine

Du qing
(Food Science College, Southwest University, Chongqing 4000716, China)

Abstract: Physical and chemical property,anti-oxidizing mechanism,extract and determination metheds, absorption and safety were summarized and it's potential application was also described.

Key words: Carnosine; Antioxidant; Safety; Application
中图分类号：TS201.2 文献标识码：A 文章编号：1001-8123(2008)08-0007-05

脂肪氧化是引起食品变质的主要原因之一，它可以引起食品颜色、风味、质地的变化和营养价值降低。脂肪氧化产生的有毒物质可导致动脉粥样硬化并引发其他疾病，添加抗氧化物质BHA、TBHQ可抑制食品中脂肪氧化，但由于化学添加剂的安全性受到质疑，出于对食品安全性的考虑其应用受到限制，因此天然抗氧化剂备受青睐。

肌肽是一种以毫摩尔浓度（1-20mmol/L）天然存在于多种陆生脊椎动物骨骼肌中的水溶性二肽，由β-丙氨酸和L-组氨酸通过肌肽合成酶合成。国外研究认为肌肽可在多种模型体系中抑制脂类过氧化作用，而且能协同天然的抗氧化剂a-生育酚，起抗氧化增效作用，肌肽能够抑制由金属离子、血红蛋白、脂酶和活性氧催化的脂质氧化，不影响食品的质地，可以作为天然抗氧化剂应用于食品中。因此，肌肽是一种很有潜力的天然抗氧化剂。

1 肌肽的结构、理化性质

1.1 肌肽的结构

肌肽（丙氨酰组氨酸，Carnoline）是一种天然的二肽，分子式为$C_9H_{14}N_4O_3$，相对分子量为226.24D，1900年在俄国首次发现，它是一种水溶性天然二肽，在生物体内由肌肽合成酶(EC6.3.2.1)利用β-丙氨酸和L-组氨酸结合成β-Ala-His（见图1）[1,2]。肌肽广泛存在于机体的各器官组织，在体内还存在肌肽的天然衍生物，如甲基肌肽、乙酰肌肽和同型肌肽等，它们可相互转变以适应生理需要[3]。

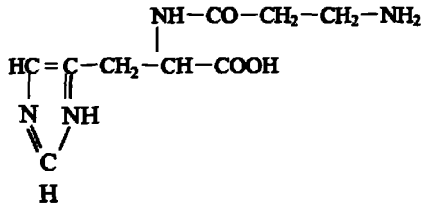

图1 肌肽分子结构

收稿日期：2008-04-15

万方数据

1.2 肌肽的理化性质

纯肌肽一般为白色结晶性粉末；无臭；熔点：259℃；闪点：无；比旋光度：+21.0；溶解性：可溶于水(无色)；显碱性，不溶于醇；具有极高的热稳定性，在120℃的高温下能耐受20分钟，且加热处理过的肌肽抑制氧化的抑制率高于未加热处理的肌肽，同等浓度(25mM)肌肽，100℃加热后牛肉肌肽提取物的活力是未加热的牛肉肌肽提取物活力的8.6倍；肉制品中的pH范围超出了5.1～7.1的范围，并未使肌肽的抗氧化活性受到影响；肌肽结构中含有咪唑环，因此具有螯合金属离子的能力，特别是对铁及铜离子[4]。

2 肌肽的抗氧化作用

2.1 抗脂质氧化作用

Decker Crum等[5,6]发现，天然肌肽抑制血红蛋白转运金属、脂氧合酶和单线态氧催化的脂质过氧化作用，抑制率为35%～96%。含脂碎牛肉在Hepes缓冲液中（pH7.4）均质，肌肽（20mmol/L）抑制牛肉均质液的氧化作用，抑制率为76.2%，加入$FeCl_3$后提高了牛肉均质液中脂类过氧化作用，当添加低浓度（0.2mmol/L）肌肽可抑制该氧化[7]。另有报道[8]，肌肽也能显著降低 Fe^{2+} 引发的亚油酸氧化率，抑制率40%～55%。

2.2 抗非脂质氧化作用

Stadtman[9]指出，一些氨基酸残基能被自由基氧化成羰基衍生物，因此蛋白质羰基被作为检测蛋白质损伤的一种指标。Armida[10] 研究指出，在$FeCl_3$、H_2O_2、Vc的反应体系中，肌肽对清蛋白的羰基化有抑制作用，肌肽能够稳定蛋白质。Takashi、Nagasawa等[11]在肌肉均浆加入肌肽，显著降低由 $Fe-H_2O_2$ 引发的蛋白质羰基化作用，且呈浓度依赖性，所需肌肽的最小浓度为2.5mmol/L。肌肽降低由醛类引起的蛋白质损伤的有效浓度为10mmol/L[12]。Erica Decker等[13]的研究表明，肌肽显著抑制Cu^{2+}催化的低密度脂蛋白（LDL）氧化反应。T. Nevidimova等[14]在100mmol/L抗坏血酸协同下，用肌肽显著抑制了金属离子催化的脱氧核糖的降解，且作用与浓度呈正相关；以铜作催化剂时，低浓度肌肽效果较好；铁存在时，高浓度肌肽效果较好。

2.3 抗氧化机理

缓冲效应 缓冲生理pH的能力，减少因体系的pH变化而产生的脂质过氧化。加入肌肽可以中和大量产生的糖酵解产物乳酸，引起介质pH上升，有助于保持pH在生理pH附近，使铁强化产生自山基的有效性减弱，因而减弱脂类的过氧化作用。但在细胞溶质整体的巨大的缓冲效应中，肌肽所发挥的可能仅为一附属作用。

螯合转运金属的作用 一般认为肌肽分子中含有咪挫环，具有螯合金属离子的能力，尤其是铁和铜离子。防止它们与过氧化物反应，参与破坏性的Fenton反应。Eric A.Decker等1992年研究发现肌肽能有效抑制铁离子和铜离子催化的卵磷脂脂质体，其中低浓度的肌肽(≤10mmol/L)能更有效的抑制铜离子催化的卵磷脂脂质体。很多学者认为，肌肽对金属离子催化脂质氧化的抑制是因为它能与金属离子结合，形成一种非活性复合物而降低了金属离子的催化活力。Decker等认为肌肽与金属的复合物不会影响金属离子的催化活力，但是由于复合，使肌肽与自山基产生点接近，自山基一旦产生，便马上被肌肽清除，减缓了氧化反应。

肌肽侧链上组氨酸残基可作为氢的受体，具有捕捉羟自由基、单线态的氧，和过氧自由基的作用以及具有SOD的特性。研究表明，肌肽能与大多数自由基相互作用，从而调节活性氧的含量[15]。肌肽能与脂类的过氧化产物、超氧化阴离子自由基直接作用，能降低膜脂氧化率，具有膜保护特性[16]。据报道，肌肽能够贡献一个氢原子给过氧化自由基，从而阻止氢过氧化物介导的Cu，Zn超氧化物岐化酶的作用[17]。有学者在(ESR)上的研究指出，肌肽可以提供氢离子或接受自由基以打断由铁离子、过氧化氢，UV照射产生的氢氧基所产生的氧化自由基链状反应，而使其本身形成稳定的自由基，不会有开始期、连锁反应期，从而清除自由基以减少脂肪氧化反应。

通过封闭蛋白质分子游离的侧链而防止糖基化终产物(AGE)的形成。肌肽作为一种抗氧化剂一方面能够防止．糖类的氧化，即清除糖基自由基，也可以中和攻击细胞膜蛋白的羰基，防止损伤性交联的形成。Hipkiss等的研究证实，采用不同的醛类对血清白蛋白进行修饰，加入肌肽后，均可降低蛋白质的羰基含量，另一方面在生物体内，肌肽可以与醛类自接结合而降低醛类对蛋白质的攻击作用。肌肽还能与低分子量的醛酮化合物或醛酯氧化产物发生反应，降低组织中醛化合物的浓度，提高肌肉组织的氧化稳定性[18]。肌肽对脂类氧化的抑制作用具有浓度依赖性，在10mM浓度时对脂类氧化作用的抑制达60%。

万方数据

在体内通过协同和/或再生维生素E，C而发挥抗氧化功效。与其他抗氧化剂不同的是肌肽不仅与生物体内的主要抗氧化维生素如维生素E，C等具有协同作用，而且具有维生素E，C再生的功能，这一点可能是肌肽区别与其他抗氧化剂的又一特征。

2.4 影响肌肽抗氧化性质的因素

2.4.1 pH

pH值对肌肽抑制铁与血红蛋白催化的类脂物氧化是有影响的。在pH5.1～7.0范围内，铁和抗坏血酸盐产生的TBARS（thiobarbituric acid-reactive substance硫代巴比妥酸试剂反应底物）被抑制了70%～90%。过氧化氢活化的血红蛋白用做氧化催化剂时，pH5.78观测到几乎无TBARS生成。25mM肌肽在pH6.1左右时抑制由过氧化氢活化血红蛋白催化的类脂物氧化能力较高，pH值再降低或升高，其抗氧化能力均有所降低。在高pH时20mM肌肽可强烈抑制TBRAS形成，抑制率达70%～80%。在pH6.0时作用较弱，pH高于7.0～8.0，肌肽抑制TBARS形成的效果好。在由肌红蛋白催化氧化体系中pH5.8～7.1范围内，TBARS被抑30%～100%（肌肽浓度为25Mm）。肉制品中的pH范围超出了5.1～7.1的范围，并未使肌肽的抗氧化活性受到影响[19]。

2.4.2 热处理

加热和未加热的肌肽对于由铁、血红蛋白和脂肪氧化酶催化类脂物氧化抑制率是不同的。加热处理过的肌肽抑制氧化的抑制率高于未加热处理的肌肽。同等浓度（25mM）肌肽，100℃加热后牛肉肌肽提取物的活力是未加热的牛肉肌肽提取物活力的8.6倍。肌肽浓度同为0.13mM的猪肉肌肽提取物，抑制脂质氧化顺序为80℃＞70℃＞60℃，加热处理＞未加热处理[19]。

2.4.3 生育酚

把生育酚掺入磷脂酰胆碱脂质中测定在有生育酚情况下肌肽协同抑制脂质氧化的效率。发现有生育酚存在，肌肽对铁催化脂质氧化的抑制率增高。生育酚通过清除游离基来抑制类脂物氧化，由此产生的生育酚基不能进一步抑制类脂物氧化，除非有生育酚再生。Boldyrev及其合作人员曾报道肌肽能使生育酚再生，但其机制仍不清楚[19]。

3 肌肽的制备和测定方法

3.1 肌肽的制备方法

肽的合成有三条主要途径：即化学合成、酶法合成和重组DNA技术。三种方法各有优缺点，方法的选择主要取决于所欲得的肽的长短和数量。化学合成法广泛应用于生产高价值的短的到中长的药理级肽，缺点是成本高，而且在反应过程中对健康和环境可能有害。重组DNA法也被广泛应用，但现在的趋向是这种方法仅限用于大肽和蛋白的生产。许多生物活性肽，特别是那些有感官效应和营养特性的肽都是短肽，所以在这方面用重组DNA法是很有限的；另一个明显的缺点是世界某些部分的消费者反对使用由遗传改性生物所生产的食物产品。酶法合成肽则有若干优点，该法可生产大量短肽而成本比化学法低；另外，所用的基质、反应剂及反应条件亦多无害。

肌肽分离提取的方法主要有酶法合成和从天然物中直接提取法两种。从天然组织中分离提取肌肽很困难，而且组织来源有限、收集和储存器官时程序复杂、分离后组织容易受到病毒感染、得到的不是纯的物质等缺点限制提取方法的应用。虽然能够通过有机方法合成肌肽，但产率很低，且产物非光学纯，纯化、拆分程序复杂，成本很高。因此开发合成、分离及分析肌肽的新方法是十分必要的。

3.1.1 肌肉提取法

Decker在牛肉提取液中发现肌肽，且证实提取液有抗氧化性。但是肌肉的提取液中还含有可以产生超氧化物阴离子、氢化氧化物和羟基自由基的铁及铁血红素等混合物，会影响抗氧化效果[20]。赖颖珍等进行了禽肉肌肽的萃取，发现鸡肉、鸭肉和火鸡肉（包括胸肉和腿肉）中都含有肌肽，其中鸡肉萃取液的肌肽含量最高，鸭肉萃取液次之，火鸡肉萃取液最低，而且同一种禽类不同部位中肌肽的含量也不相同[21]。

3.1.2 化学合成

1935年Robert H.Sifferd等首次用化学方法合成了肌肽。

3.1.3 酶法合成

叶蕴华等以含结晶水无机盐水合物($Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$和$Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$)代替自由水在有机溶剂环己烷和甲苯中分别应用α－凝乳蛋白酶和嗜热杆菌蛋白酶粗品催化合成了寡肽Z-Tyr-Gly-Gly-Oet和Z-Tyr-Gly-NHNHPh；此外，他们还在混合反相胶束体系(AOT-Brij30/n-庚烷)中应用α－胰凝乳蛋白酶催化成功地合成了寡肽（二肽和三肽），反应产率达56%～88%[22]。

万方数据

陆瑶首次以L－组氨酸或4，5－二羧酸咪唑及L－丙氨酸为底物，以α－胰凝乳蛋白酶催化微水相合成肌肽及其类似物，并建立了分析检测肌肽及其类似物的方法。

微水相酶催化合成肽反应的主要原理是蛋白酶在正丁醇和蒸馏水组成的微水相体系中具有催化水解逆反应－－即合成酰胺键的能力。4，5－二羧酸咪唑或L－组氨酸作为羧基供体，L－丙氨酸为氨基供体，以蛋白酶在微水相中合成二肽是可行的。在正丁醇形成的微水相体系中，能够合成肌肽；而在四氢呋喃形成的微水相中则能够合成肌肽类似物[23]。

3.2 肌肽的测定方法

肌肽的测定方法在国内研究较少，国外通常采用柱前衍生，HPLC阳离子交换柱分离、紫外或荧光检测的方法[24,25]，其样品制备过程复杂，色谱柱价格较贵。

田颖刚等建立了一种高效液相法测定生物组织中肌肽的方法，该法具有操作简单，样品无需衍生的优点，而且分析用的NH_2柱价格低廉。通过该法和HPLC－MS联用技术鉴定了乌骨鸡肌肉中存在肌肽，并测定和比较了乌骨鸡肌肉和普通白洛克鸡肌肉中肌肽量，为阐明乌骨鸡独特的滋补作用提供依据[26]。

4 肌肽的吸收、代谢和安全性

肌肽可以通过采食摄取，肌肽通过胃肠道可完全被吸收，可原样转运进入细胞。肌肽的吸收比游离的L－组氨酸和β－丙氨酰氨混合物的吸收更快、更多。腹泻时小肠粘膜受损害，而对肌肽的吸收基本不受影响，在某些情况下完整的肽能通过肠粘膜的肽载体进入循环[27]。Gnmbk和Silk研究表明，肾似乎是消化循环肽的主要场所。Lachs等研究指出，肝脏、肌肉都可以代谢肌肽。另外，动物体内也能由β－丙氨酸和L－组氨酸合成这种二肽。

肌肽是一种内源的水溶性二肽。自然存在于生物体内，它是活性生物体内重要的代谢中间产物，是生物体β－丙氨酸(beta Ala)和L－组氨酸(L-his)的来源[21]。经多次动物试验及临床验证来看，肌肽不具有任何的毒副作用。另外，肌肽作为一种口服物品进入生物体后，可在各个不同的器官中经由肌肽酶降解，而不必如其它药物一样，只能在肝中降解，从这方面来看，肌肽还可以减轻肝的负荷。肌肽具有强的抗氧化活性，毒性和副作用少，相对于其它抗氧化物质更具安全性[28]。

5 展望

肌肽作为一种主要存在于动物肌肉中的内源活性肽，其具有的抗氧化性已被广泛认同。它能有效地抑制脂质氧化，并且是一种无毒、安全的抗氧化剂，已经引起人们极大的兴趣。在加工食品方面，具有广阔的应用价值。但人工合成的肌肽价格昂贵，在生产上难以推广，限制了它的发展。虽然肌肽的价格较高，但如果利用肌肽的水溶性以弥补其它抗氧化剂的脂溶性而进行复配使用，无疑可以扩大肌肽在食品中的应用范围，并降低成本。

肌肽现在的研究多集中于体外以及食品方面，在体内的研究还不够充分，在其机制方面还有待进一步研究。因此，丰富肌肽的来源并使其得到合理广泛的应用是当务之急。

参考文献

[1] 曹平．天然抗氧化肽研究进展[J]．粮食和油脂，2004，(4)：8～11．

[2] 韩建娜，裘娟萍．肌肽的抗氧化性及其在医药上的应用[J]．科技通报，2005，21(1)：99～105．

[3] Boldyrev AA．Biochemistry (Mosc)，2000，65(7)：751～756．

[4] 慧善珍等．食品科学(台湾)[M]，1999，26(1)：16～27．

[5] Lee S K，Decker E A．Influence of Sodium Chloride on Antioxidant Enzyme Activity and Lipid Oxidation in Frozen Ground Pork[J]．Meat Science，46(4)：349－355．

[6] Li Mei，Cromwell G L，Crum A D，et al．Influence of Dietary β－Alanine and Histidine on the Oxidative Stability of Pork[J]．Meat Science，49(1)：55－64．

[7] Germain Kansci，Claude Genot，Anne Meynier，et al．The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profiles of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipid oxidation[J]．Food Chemistry，1997，60(2)：165－175．

[8] 韩建娜，裘娟萍．肌肽的抗氧化性及其在医药上的应用[J]．科学通报，2005，21(1)：99－105．

[9] Stadtmana Earl R，Holly Van Remmen，Arlan Richardson，et al．Methionine oxidation and aging[J]．Biochimica et Biophysica Acta，2005，1703(2)：135－140．

[10] Armida S ánchez－Escalante，Djamel Djenane，Gast ón Torrescano，et al．The effects of ascorbic acid，taurine，carnosine and rosemary powder on colour and

万方数据

lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere[J]. Meat Science, 2001,58,(4),:421-429.

[11] Takashi, Nagasawa. In vitro and In vivo Inbibition of Muscle Lipid and Protein Oxidation by Carnosine[J]. Mol cell Biochem, 2001,(225):29-34.

[12] 郭爽,杨国宇,韩立强.肌肽的抗氧化特性及作用机理[J].动物科学与动物医学,2004,21(4):21-23.

[13] Decker E A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability[J].Trends in Food Science & Technology,1998,9(6):241-248.

[14] Nevidimova T, Prokopyeva V, Najdenova N, et al. Effects of antioxidant carnosine on immunity in addiction [J]. European Neuropsychopharmacology, 2003,13 (Supplement 1):S25.

[15] Pavlov AA,Revina AA,Dupin AM.The mechanism of interaction of carnosine with superoxide radicals in water solutions.Biochim Biophys Acta,1993,1157(3):304~312.

[16] Soo YC,Hyeok YK.Hydrogen peroxide-mediated Cu,Zn-superoxide dismutase fragmentation:protection by carnosine, homecarnosine and anserine.Biochem.Physiol,1999,1472:651~657.

[17] Kohen R,Misgav R,Ginsburg I.The SOD like activity of copper:carnosine,copper:anserine and copper:homocarnosine, complexes. Free Radic Res Commun,1991,12~13ptl:179~185.

[18] Swearengin T A,Fitzgerald C,Seidler N W. Carnosine prevents glyceraldhyde-3-phosphate-mediated inhibition of aspartate aminotransferase. Arch Toxical,1999, 73 (6):307-309.

[19] 韩建娜,裘娟萍.肌肽的抗氧化性及其在医药上的应用[J].科技通报,2005,21(1):100.

[20] Gopalakrishnan J,Decker EA,Means W J.Antioxidant activity of mechanically separated porkextracts.Meat Science,1999 52:101~110.

[21] 赖颖珍.禽肉肌肽之萃取及其抗氧化性[J].食品科学(台湾),1999,(26).

[22] 叶蕴华,在有机溶剂中进行的酶催化反应,1992,7,(4):17~21.

[23] 陆瑶.微水相酶促肌肽类似物的合成与分析:重庆大学学位论文.重庆:重庆大学,2006.6.

[24] M Concepcion A, Cristina S, Fidel T. Food Chemistry, 2004 (84):485.

[25] Sachi S K, Masao T et al. AP, 2000, (33):60.

[26] 田颖刚,谢明勇,王维亚等.乌骨鸡肌肉中肌肽的鉴定与测定[J].分析试室.2007,26(1):5~8.

[27] 周理红,许梓荣.肌肽的营养研究进展[J].中国饲料,2004,(11):27~30.

[28] 魏秋霞,杨勇.天然抗氧化剂肌肽及其在肉制品中的应用[J].肉类研究,2006,(12):14~17.

万方数据