

天然抗氧化剂肌肽及其在肉制品中的应用

魏秋霞 杨勇 (四川农业大学信息与工程学院食品工程系 四川雅安 625014)

摘要: 本文对天然抗氧化剂肌肽的结构、性质、抗氧化机理及安全性作了介绍;综述了肌肽的抗氧化活性在肉制品中的应用,并展望了其发展前景。

关键词: 天然抗氧化剂;肌肽;应用;肉制品

Abstract: In this article, the constitution, property, anti-oxidizing mechanism and safety of Carnosine was introduced; the application of anti-oxidizing capability of carnosine in meat products was summarized and its potential application was also described.

Keywords: natural antioxidant carnosine application meat products

肉制品在储藏运输过程中除了由微生物作用发生腐败变质外,脂肪氧化是导致肉品质变劣的主要因素。脂肪氧化不仅会使油脂或含油脂食品氧化酸败生成醛,醇,酮等有机物,产生令人不愉快的气味,苦涩味;同时还会引起食品发生褪色、褐变、维生素破坏原因(GonzaLez.B2002;M.T.Aymerich,2000)。Ayla Soyer(2002)指出Aw和微生物的竞争对于有害微生物抑制也起了一定作用。

3 结论

3.1 在没有加入乳酸菌发酵剂的发酵香肠中乳酸菌也是优势菌,在成熟的第8天达到最大。

3.2 葡萄球菌和微球菌的生长也是一个先升后降的过程,但其增殖期较短,仅维持了一次检测的周期时间(4天),其数量也较之乳酸菌少。

3.3 乳酸菌能加速肠杆菌的死亡,提高发酵香肠的卫生质量。

参考文献:

[1] 周德庆 主编《微生物学实验手册》上海:上海科学技术出版社,1986:136~137.

坏,从而使食品腐败变质,降低食品的质量和营养价值,氧化酸败严重时甚至产生有毒物质,危及人体健康。因此,防止食品氧化就显得十分重要。采用的方法,除了在食品加工和储运环节中,采取低温、避光、隔绝氧气以及充氮密封包装等物理的方法外,还需要配合使用一些安全、高效的食品抗氧化剂。

食品抗氧化剂是防止或延缓食品氧化,提高食品稳定性和延长食品储藏期的食品添加剂。但摄取过多的人工合成抗氧化剂可能引发病变,因此天然抗氧化剂的开发显得尤为重要。肌肽为存在于脊椎动物骨骼肌内天然的抗氧化成分,具有清除自由基、螯合金属离子的作用,因此可广泛抑制由金属离子、酶、单线态氧所诱发的氧化反应^[1]。近几年来,国内外在肌肽抗氧化性方面的研究已经取得了不少成果,为肌肽成为一种天然的抗氧化剂取得了大量的科学依据。随着国际上对环境问题日益重视,回归自然和崇尚自然已成为一种潮流,肌肽的出现正好实现了人们期待以高效低毒的天然产品取代合成产品的

[2] 周德庆《微生物学实验教程》北京高等教育出版社 1993:61~72.

[3] 郝林 食品微生物学实验技术 中国农业出版社 2001.5:138~143.

[4] S.Coppola,G.Mauriello,Microbial succession during ripening of Naples-type salami, a southern Italian fermented sausage, Meat Science 2000,56:321~329.

[5] 沈清武,发酵干香肠成熟过程中的菌相变化及发酵剂对产品质量的影响,硕士学位论文,北京:中国农业大学,2004.

[6] Ayla Soyer Ahmet Hamdi Erta, ülkü üzümcüoğlu, Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks), meat science, January 2005:135~141.

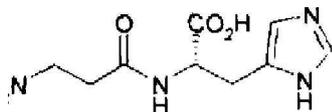
[7] Samelis J, Metaxopoulos, et al. Stability and safety of traditional Greek salami: a microbiological and ecological study. International Journal of Food Microbiology, 1998, 44:69~82.

愿望，并成为了一值得开发的天然抗氧化剂。

1 肌肽的结构、理化性质及抗氧化机理

1.1 肌肽的结构

图1 肌肽分子结构



肌肽 (carnosine) 发现于 1900 年, 以毫摩尔浓度存在于多数有脊椎动物种属, 主要存在于骨骼肌和大脑。在脊椎动物骨骼肌中, 肌肽的含量约为 $1.6 \sim 20.6 \mu\text{mol} / \text{g}$, 而且还有一系列与肌肽结构相似的化学物质, 如鹅肌肽 (anserine) 和高肌肽 (homocarnosine) 等。在白肌纤维中的肌肽含量比红肌纤维高。肌肽在猪肉、牛肉和鸡肉中的含量分别为 4.8 、 2.0 和 15.0mmol (Crush, 1970); 且同一种动物不同部位肌肽含量也不一样。其化学本质为一种二肽, 组成为 丙氨酰 L 组氨酸 (- ALA - HIS); - 丙氨酸虽然不构成结构氨基酸或蛋白质, 但却是辅酶 A 的组分。Kohen 等选用一系列与肌肽有关的化合物进行试验, 发现 L - 丙氨酰 - L 组氨酸比肌肽的抗氧化活性差, 且 L - 丙氨酸, - 丙氨酸, L - 丙氨酰 - L - 丙氨酸或 - 丙氨酰 - - 丙氨酸无任何抗氧化活性。表明肌肽的抗氧化性直接来自其中的咪唑环。Wendy 等人 1994 年通过试验证明了肌肽与 OH 形成的化合物与其中的组氨酸残基有关。但实验也表明, 游离的 L - 丙氨酸基本上无抗氧化作用, 而游离组氨酸的 OH 除能力不及肌肽, 这说明肌肽的抗氧化性还与其肽键有关。

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 $5.1 \sim 7.1$ 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^[2]。

1.3 肌肽的抗氧化机理

肉制品中脂肪的氧化是一个与自由基有关的链式反应。脂类自动氧化链式反应包括链起始, 延伸

和中止。产生的自由基进一步催化攻击易发生氧化的不饱和脂肪酸, 引起氧化损害失去应有的色泽和香气。脂肪氧化是由诸多因素催化的, 如氧气, 光, 热, 重金属是由自由基分子之间结合或与抗氧化剂结合而至。在 1997 年, Kancsi 等发现肌肽具有多功能的抗氧化活性。其抗氧化机理主要包括以下几点:

1.3.1 缓冲生理 pH 的能力

肌肽在生理 pH 值下具有很强的缓冲能力, 这种非特异性的缓冲功能对肌肉产生的大量乳酸具有一定的中和作用, 减少因体系 pH 变化而产生的脂质过氧化^[3]。

1.3.2 螯合金属离子的能力

肌肽分子结构中的组氨酸残基上含有咪唑基, 该基团具有螯合金属离子的能力, 特别是铜离子, 能抑制由铜离子引起的脂肪氧化作用。Decker 等 (1992) 研究铜离子存在的情况下肌肽的抗氧化机理, 发现肌肽可以通过与铜离子结合形成复合物而抑制其催化的脂质过氧化作用, 并且发现, 肌肽可以抑制铜催化的氧化反应。

1.3.3 捕捉自由基的能力

肌肽侧链上的组氨酸残基可以作为氢的受体, 具有捕捉羟基自由基、单质氧和过氧化自由基的作用, 可以抑制非金属离子引起的脂肪氧化作用。与没有抗氧化作用的游离 - 丙氨酸和 L - 组氨酸不同, 肌肽具有很强的抗氧化作用, 其抗氧化效果强于 BHA, BHT, TBHQ, PG 及 - 生育酚。可以抑制铁, 铜, 肌红蛋白和脂肪氧化酶及单质氧催化的氧化反应引起的脂质氧化反应。另外, 由于肌肽可以溶解于水, 与脂溶性的抗氧化剂如 BHT, BHA, PG 等相比, 可以清除肌肉水相中的游离氧自由基^[4]。

2 肌肽的提取

天然肌肽可以从牛肉、猪肉中提取。Decker 在牛肉提取液中发现肌肽, 但是提取液中还含有铁及铁血红素等混合物, 它们会产生超氧化物阳离子、羟基自由基等, 导致脂肪的氧化反应。Chan 将冷冻肉置于冷藏室 (5) 解冻, 去除肉上可见的脂肪, 用搅拌机将肉搅碎, 加入 2 倍体积蒸馏水, 在室温下匀浆 3min, 混合液在 4 下离心 30min, 用 Whatman N. 4 滤纸过滤, 然后对牛肉提取液进行了不同处理, 60 加热处理、 100 加热处理、 100 加热去离子处理、超滤处理, 牛肉提取液经加热处理后其中的

总铁含量和血铁红素等浓度显著降低,但是与肌肽纯品相比加热处理的提取液的抗氧化性较低,因为其中还存在过氧化物,如低分子量铁和血铁红素等^[5]。在100

加热10min,并经去离子处理,60 真空干燥48h,所得牛肉提取液的抗氧化性最强(赵赣等,2000)。但用牛肉提取的肌肽提取物成本较高,目前作为食品添加剂应用还不实际。

为了降低生产成本,有人利用未被利用的骨架上的肉。用机械方法将肉分离来制备肌肽提取物。宰后成熟7~10d的颈骨真空包装后在-29 冷藏13周取出。室温解冻2h。机械去骨采肉、均质、离心。将上清液过滤,滤液进行加热处理或超滤除去铁、蛋白等物质,得到肌肽提取物。猪肉肌肽提取物是与牛肉是不同的,猪肉肌肽提取物的肌肽与铁的比值高,但这并不表明其抗氧化活性也高。肌肽提取物的抗氧化活性实际上是它的抗氧化和促氧化活性共同作用的结果。这种方法成本较低,肌肽提取物的抗氧化效果好,有潜在应用价值。

3 肌肽在肉制品中的应用

3.1 肌肽在绞碎猪肉护色保存中的应用

肉色是一项重要的肉的食用指标,肉色稳定性与货架期直接相关。Decker和Crum等通过添加不同浓度(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%)的纯肌肽于绞碎的猪肉中,测定其TBA值,同时与三聚磷酸钠、 α -生育酚及BHT等抗氧化剂做比较,并测定其对储藏期间绞碎猪肉的保存效果。结果发现,添加0.5%肌肽即可有效抑制盐渍生碎肉和熟碎肉在冷藏期间的氧化、酸败及退色;添加1.5%肌肽具有比添加0.5%STP(三聚磷酸钠),0.02%生育酚,0.02%BHT更好抗氧化效果。且肌肽在颜色与风味上评分也较其它抗氧化剂高,具有稳定颜色效果。研究人员认为,肌肽作为供氢体使肌红蛋白上血红素铁保持二价,从而抑制高铁肌红蛋白形成;也可能是由于肌肽清除自由基,因自由基也会直接引起肌红蛋白氧化。尽管脂溶性自由基清除剂能抑制肌红蛋白氧化,但它钝化水溶性自由基能力低于肌肽,所以肌肽能更好稳定肉的颜色^[6]。

3.2 鸡肉萃取液抑制加盐碎猪肉氧化酸败的研究

肌肽在动物肌肉中含量最高,因此从肉类中提取成为得到肌肽的一个有效方法。DECKER在牛肉提取液中发现肌肽,且证实提取液有氧化性,并且研究发现不同动物肌肉提取物中的肌肽和铁

含量不同,其抗氧化性质也有不同。可以从牛肉,猪肉和禽肉中进行肌肽提取。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。

表1 鸡肉、鸭肉和火鸡肉萃取液中水分和肌肽含量

禽	肌肉	水分 (%)	肌肽 (mg/kg)
鸡	胸肉	96.3	1388
	腿肉	98.5	1001
鸭	胸肉	90.8	1121
	腿肉	95.9	704
火鸡	胸肉	96.6	1002
	腿肉	96.3	538

将鸡肉肌肽萃取液添加到含盐猪肉中,样品放置3d后,各组TBRAS值并没有显著差异,但是到6~9d对照组的TBARS值较其他组高,这是因为鸡肉萃取液中含有肌肽的缘故并且可抑制盐腌碎猪肉的氧化酸败^[9]。

表2 鸡肉萃取液对加盐碎猪肉氧化酸败的影响

浓度/%	TBRAS值			
	0d	3d	6d	9d
0	0.6436	1.9022	3.0515	3.5248
2	0.4602	1.8252	2.7261	3.3462
4	0.4005	1.8486	2.8041	3.1317
6	0.4017	1.6614	2.4882	2.8704
8	0.4215	1.5678	2.3322	2.5912

3.3 肌肽在抗肌肉脂类氧化中的应用

肌肽(25mM)抑制转运金属铁、血红蛋白、脂氧合酶和单线态氧催化的脂类过氧化作用,抑制率为35%~96%。此外Decker&Crum(1991)报道肌肽(0.5%~1.5%)有效抑制了冷冻碎猪肉在冻藏长达六个月期间的TBARS形成量,且比脂溶性抗氧化剂如BHT和 α -生育酚的作用强:肌肉脂类氧化包括膜多不饱和脂肪酸的过氧化作用^[9]。肌肉细胞膜磷脂易发生脂类过氧化作用,铁结合于带负电荷的磷脂上促进氧化,产生哈味;牛肉中无论血红素铁或非血红素铁都可催化脂类过氧化作用,加热破坏卟啉环,使铁由血红素化合物中释放,释放量取决于温度、时间、肌肉类型(快、慢肌)及加热方法(烤、煮、微波加热等)。煮过的肉中非血红素铁是主要的脂类氧化催化剂,产生哈味;肌肽处理降低了加热产生的非血红素铁的释放量(P<0.05)。含脂碎牛肉在Hepes缓冲液中(pH7.4)均质,肌肽(20mM)抑制牛肉均质液的氧化作用,抑制率为76.2%。将FeC13加入牛肉均质液中提高了脂类过氧化作用,然而同时添加低浓度(0.2mM)肌肽抑制了该氧化。游离金属离子显然是肌肉过氧化作用最重要的催化剂

之一。肉品加工过程如加热、冷冻、微波等提高了能催化脂质类过氧化的LMW铁的量^[8]。不同pH下氧化产生的TBARS不同,Kausei等(1995)发现肌肽(2mM)对Fe³⁺-抗坏血酸盐诱发的磷脂氧化中的TBARS生成量与pH6.5和pH7.0时的TBARS分别为10%~12%和30%~45%。

3.4 肌肽对亚油酸体系保护的研究

肌肽能降低过氧化自由基引发的亚油酸的氧化率,对Fe²⁺-抗坏血酸盐引发的脂类过氧化物的亚油酸氢过氧化作用表现了显著的抑制效果。TBARS最大形成量在反应开始后15min出现,随时间延长而下降。这一现象是由于TBARS的过氧化物前体或丙二醛类似物减少,而并非过氧化物生成量减少^[10],说明,肌肽不仅直接与自由基发生反应,而且与脂类过氧化作用的主要反应。肌肽使亚油酸的氧化率下降,对照组亚油酸氢过氧化物的形成率为15uM/min,而10mM肌肽以4uM/min的速度减少了亚油酸的氧化率。

4 肌肽的安全性及保健功能

长期服用一些化学合成的抗氧化剂如丁基羟基茴香醚(BHA),二丁基羟基甲苯(BHT),叔丁醌(TBHQ),没食子酸丙酯(PG)等,会引起身体的病变。而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,是生物体一丙氨酸(beta Ala)和L-组氨酸(L-his)的来源^[11]。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,因此,它在医药方面的应用(与自由基有关的疾病)很有市场。

肌肽不仅对人体无毒,而且还有很多保健功能。McFarland研究证实了肌肽能明显地修复衰老细胞,使其向年轻的细胞转化^[7]。刘长振等人在肌肽的药用研究中验证了肌肽对神经于免疫调节的生理活性物质。此外,肌肽还可显著提高绵羊精子活力,并延长其存活的时间。这对于生殖能力逐渐减弱的人类来讲,积极开发肌肽这方面的功能,对于促进人类的繁殖力和人类的优化都是很有前景的^[12]。

5 肌肽的应用前景

目前,畜禽肉制品在贮藏过程中发生的脂质氧化,造成肉品品质下降,肌肽是肌肉组织中的一

种天然成分,不仅可以有效抑制脂肪氧化,而且在肉制品贮藏时有护色作用。相对于BHA等合成抗氧化剂而言,肌肽是一种无毒、安全的抗氧化剂;相对于生育酚等天然抗氧化剂而言,肌肽的作用范围广,并且二者具有协同效应。有研究报道,肌肽清除游离基的能力不及VE(Decker等,2000),但其在机体的含量较高,因此肌肽的抗氧化作用是不可忽略的;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。因此,肌肽作为一种天然食品抗氧化剂具有广阔的前景,其在食品工业中的应用有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 高兴华,孔保华,赵玉红.肌肽是一种天然抗氧化剂[J].肉类工业,2000,(80):37~38.
- [2] 慧善珍等.食品科学(台湾),1999,26(1):16~27.
- [3] Decker,eta1.Joural of Food Solen,1995,60(6):1201~1204.
- [4] 赵国华.肌肽抗氧化性研究.粮食与食品工业,1997(1):10~11.
- [5] Chan K M,E.A.Decker Endogenous skeletal muscle antioxidants.Crit Rev Food Sci & Nutr.1994,34(42):403~426.
- [6] Decker EA.The role of phenolics, conjugated linoleic acid, cal-10-sine and pyrroloquinoline quinone as essential dietary antioxidants.Nutrition-Reviews,1995,53(3):49~58.
- [7] 刘长振,王爱民,谢振华,等.肌肽对PC12细胞氧化应激损伤的保护作用[J].基础医学与临床,2001,(21).
- [8] Zhayev M A, Seguin M C, Gueyne Jet Carnosine(-alanyl-l-histidine) and carcine(-alanyl-l-histamine) as natural antioxidant with hydroxyl-radical scavenging and lipid peroxidase activities[J].Biochem,1994,(304):509~516.
- [9] 赖颖珍,等.禽肉肌肽之萃取及其抗氧化性.食品科学(台湾),1999,(26).
- [10] Kansci.G.The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profile of liposomes during iron ascorbate induced phospholipid oxidation.Fa3dChin,1997,(60).
- [11] 李敏.简述抗氧化肽的作用[J].内蒙古农业科技,2002(增刊):146~168.
- [12] 谭竹钧,韩雅莉.肌肽对绵羊精子无氧酵解的影响[J].动物学研究1995,16(1):37~41.