

苦味肽抗氧化活性延长食品保鲜

邓尚贵^{1*}, 余妙灵^{2,3}, 甄兴华⁴, 黄友坤⁵, 朱科桦⁵, 霍建聪¹, 袁鹏翔¹,
高元沛¹, 党亚丽⁶, 关丽萍¹, 罗成^{1*}

(1. 浙江海洋大学食药学院, 舟山 316022; 2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306;
3. 陕西欢恩宝乳业股份有限公司, 咸阳 712000; 4. 浙江大学医学院神经科学研究所, 杭州 310058;
5. 浙江海洋大学海科学院, 舟山 316022; 6. 宁波大学食药学院, 宁波 315211)

摘要: 目的 探究苦味肽延长食品保鲜的抗氧化活性。**方法** 研究乳胶珠吞噬细胞的吞噬能力的变化, 以此来分析苦味肽的免疫功能。通过 2, 2, 1-二苯基-1-吡啶酰肼(DPPH)自由基清除、还原力以及金属螯合活性测定来评定苦味肽的抗氧化能力。在保鲜测试中、分析苦味肽对总巯基和疏基的影响来探究苦味肽对冷藏期间的样品组织是否具有抗氧化作用。最后再通过对样品使用扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM)来进一步分析苦味肽对肌肉蛋白质在整个氧化过程中结构稳定性的影响。**结果** 苦味肽会增加吞噬细胞吞噬乳胶珠, 表明苦味肽增加非特异性免疫功能; 苦味肽具有显著的 DPPH 自由基清除活性, 降低了铁离子的氧化能力和金属螯合能力; 扫描电镜结果显示, 在苦味肽处理的样品上组织结构的变形较小并且蛋白质的降解较少, 而对照组(仅水处理)的样品明显可以观察到其肌肉蛋白失去了原有的有序结构。**结论** 冷藏前用苦味肽处理去皮虾样品能有效减少巯基衍生物和自由巯基的形成, 冷藏期间有助于样品的肌原纤维蛋白结构的稳定, 表明苦味肽也有益于海洋食物的保鲜。

关键词: 苦味肽; 肌原纤维蛋白; 抗氧化; 保鲜

Antioxidative activity of bitter peptide prolonging food preservation

DENG Shang-Gui^{1*}, YU Miao-Ling^{2,3}, ZHEN Xing-Hua⁴, HUANG You-Kun⁵, ZHU Ke-Hua⁵, HUO Jian-Cong¹, YUAN Peng-Xiang¹, GAO Yuan-Pei¹, DANG Ya-Li⁶, GUAN Li-Ping¹, LUO Cheng^{1*}

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 2. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shaanxi Fineboon Dairy Co., Ltd., Xianyang 712000, China; 4. Institute of Neuroscience, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China; 5. College of Marine Science, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 6. College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

ABSTRACT: Objective To explore the antioxidative activity of bitter peptide in prolonging food preservation.

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(31471609)、中国国际科学技术合作计划项目(2012DFA30600)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31471609), and Chinese International Cooperation of Science and Technology (2012DFA30600)

***通讯作者:** 邓尚贵, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋生物资源的加工与综合利用、海洋天然产物和水产品质量与安全。E-mail: dengshanggui@163.com

罗成, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋生物资源, 海洋养殖病疫控制, 食品深加工, 水产品安全控制。E-mail: Luo58@yahoo.com

***Corresponding author:** DENG Shang-Gui, Ph.D, Professor, College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, No.1 Haida South Road, Changzhi Island, Lingcheng New District, Zhoushan 316022, China. E-mail: dengshanggui@163.com

LUO Cheng, Ph.D, Professor, College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, No.1 Haida South Road, Changzhi Island, Lingcheng New District, Zhoushan 316022, China. E-mail: Luo58@yahoo.com

Methods The changes of phagocytic ability of phagocytic cells of latex beads were studied to analyze the immune function of bitter peptides. The antioxidative capacity of bitter peptides was evaluated by measuring 2, 2, 1-diphenyl-1-pyridylhydrazine (DPPH) radical scavenging, reducing power, and metal chelation activity. In the freshness test, the effects of bitter peptides on the total carbonyl and thiol groups were analyzed to investigate whether bitter peptides have an antioxidant effect on the sample tissue during cold storage. Finally, the effect of bitter peptides on the structural stability of muscle proteins during the entire oxidation process was further analyzed by using scanning electron microscopy (SEM) on the samples. **Results** The bitter peptide increased the phagocytic cells phagocytosis of latex beads, indicating that the bitter peptide increased non-specific immune function; the bitter peptide had significant DPPH free radical scavenging activity, which reduced the ability of iron ion oxidation and metal chelation; scanning electron microscope results showed that the bitter peptide-treated samples, the tissue structure was less deformed and the protein was less degraded, while in the control group (water-only) samples, it was obvious that the muscle protein lost its original ordered structure. **Conclusion** Treating peeled shrimp samples with bitter peptides before refrigeration can effectively reduce the formation of carbonyl derivatives and free sulfhydryl groups, and help stabilize the myofibrillar protein structure of the samples during refrigeration, indicating that bitter peptides are also beneficial for the preservation of marine foods.

KEY WORDS: bitter peptide; myofibrillar protein; antioxidant; preservation

1 引言

由于广泛用于控制水生病原体或疾病的抗生素很容易进入食物链,化学防腐剂也引起消费者越来越多的关注,寻找绿色安全的抗病、保鲜方法刻不容缓。由于可能伴随的免疫和抗氧化功能,寻找一些可食用的具有这种双重功能的天然物质是很重要的,特别是蛋白多肽、寡肽。食品中的蛋白质氧化是直接影响食品质量的因素之一,它主要与风味和质地的变化有关,有时还会产生致癌化合物^[1]。由于富含蛋白质,虾是受蛋白质氧化影响最大的食物之一,限制了其储存时间从而影响了其营销和分销^[2]。虾中的蛋白质氧化导致蛋白质的物理化学变化,包括蛋白质溶解度和功能性的变化、酶活性的丧失、氨基酸结构的变化和蛋白质消化率的降低,这些变化导致虾质量的大量损失^[3]。鲜虾肌肉蛋白的肌原纤维蛋白更容易受到蛋白质氧化的影响^[4]。有更多的活性物质,包括超氧化物(O₂·)、氢过氧化物(HO₂·)、羟基(OH·)自由基和非自由基物种(过氧化氢、单线态氧、过氧亚硝酸盐、次氯酸、臭氧、高价肌红蛋白物种和减少的物质)过渡金属促进食物中的氧化修饰^[5]。虽然合成抗氧化剂如丁基化加氢苯甲醚(butylated hydroxy anisole, BHA)和丁基化加氢甲苯(butylated hydroxy toluene, BHT)具有保护食品系统免受自由基侵害的高能力。然而长期使用这些合成抗氧化剂被证明是对人类有毒的^[6,7]。如今许多研究人员正试图从食物和香料等自然资源中寻找天然抗氧化剂^[8]。来源于食品的蛋白质水解产物和肽已经显示出有潜在的抗氧化活性,并且他们可以被认为是合成抗氧化剂的理想替代物^[9-11]。由于氨基酸组成、序列和分子量

的原因,苦味肽可以发挥多种生理作用,如抗高血压、抗菌、抗血栓、降胆固醇和抗氧化作用,这就是他们被称为生物活性肽的原因^[12-14]。苦味肽也被证明具有有效提高鱼类免疫力的特殊潜力^[15],理论上是因为鱼皮、肠和其他器官中广泛存在的苦味受体,可刺激 Ca²⁺流动并杀死病原体^[16-18]。非哺乳动物的适应性免疫系统尚未完全开发,因此先天免疫为当今水产养殖中的密集鱼类养殖提供了一种有吸引力的防范病疫的方法。进化而训练有素的先天免疫力对所有病毒和细菌疾病有抵抗力并且大多数由多糖组成的先天免疫增强剂都有利于养殖鱼类^[19]。

苦味肽具有提高免疫,特别是先天性免疫,可以部分替代抗生素,还可以用于食品保鲜。蛋白在水解过程中会产生苦味物质,产生水解产物苦味的肽称为苦味肽。穆雷和贝克是最早解决加工食品苦味的人,他们观察到乳清蛋白和酪蛋白的水解产物会产生苦味,这种苦味可以通过活性炭处理来减少^[20]。这些苦味肽通常每分子含有 2~20 个氨基酸残基,在食品加工过程中或在胃肠道消化过程中酶解后释放。本研究描述了苦味肽的制备方法及其感官评定,并进一步探索苦味肽抑制蛋白质氧化、保持冷藏的虾仁保鲜效果以及在用苦味肽处理时,在电镜下观察鲜虾肌原纤维蛋白受蛋白质氧化的影响,以期苦味肽在食品保鲜中的运用提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

自然捕捞的鳊鱼: 购买于舟山东河菜场,用于酶解产生苦味肽; 哈氏仿对虾: 购买于舟山超市,由浙江海洋大

学专业老师对哈氏仿对虾进行鉴定;牡蛎蛋白肽:用作水解蛋白对照,青岛东易科技发展有限公司;中性蛋白酶(50 U/mg,酶活 \geq 活 U/mg,上海瑞永生物科技有限公司);木瓜蛋白酶(级别为 BR,酶活力为 800000 U/g,上海研域生物工程有限公司);小牛血清白蛋白(级别为 BR,美国 Sigma 公司);摩尔咖啡(源于巴西,产于芬兰);2,2-二苯基-1-三硝基苯肼(纯度 \geq 97.0%,上海吉至生化科技有限公司);盐酸、氢氧化钠、含氯化钾顺丁烯二酸酯、磷酸缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)、乙醇(分析纯,国药集团)、戊二醛、抗坏血酸、没食子酸、乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)(分析纯,淮南市科迪化工科技有限公司)。

2.2 仪器设备

Helios DualBeam 扫描电镜(美国赛默飞世尔科技公司);DGJ-10E 冷冻干燥机(上海博登生物科技有限公司);Sigma 3-16L 高速离心机(美国 Sigma 公司);BSA124S-CW 电子天平(德国赛多利斯集团);HH-S4 恒温水浴箱(郑州紫拓仪器设备有限公司);MIK-pH 8.0 pH 值测定器(杭州美控自动化技术有限公司);DHG-9030A 烘箱(郑州科达机械仪器设备有限公司)。

2.3 苦味肽制备与感官评定

本地鳊鱼(*Michthys miu*)购于舟山东河菜场,用于酶解产生所需苦味肽。称取 100 g 鱼肉切成小块放入 900 mL 去离子水中,混匀。在 95 °C 水浴中保温 5 min,灭活鱼样品中的内源性酶。参与筛选的蛋白酶按 10000 个酶单位的比例分别添加到各自的底物溶液,用 2 mol/L 盐酸或 2 mol/L NaOH 标准溶液按调整样品的 pH 值至最佳酶解 pH。在 50 °C 下酶解 2 h,于 95 °C 灭活 15 min。酶解液灭活后 10000 r/min 下离心 10 min,收集上清液进行感官评定。采用摩卡商品咖啡(咖啡因)作为苦味溶液的参考标准,配制溶液浓度范围 4~32 mg/mL,浓度梯度为 4 mg/mL。设定浓度最高的咖啡溶液(32 mg/mL)感官评分值为满分 10 分,随咖啡溶液浓度的降低,评分值逐一递减。即浓度为 4 mg/mL 时,分值为 3 分,以饮用水作为零参比,分值为 0 分。不同酶解溶液产生苦味肽的苦味度按照咖啡因苦味的标准曲线而确定。挑选 10 名具有感官评定经验的食物科学专业学生作为本实验的感官评定^[21],感官分析是以摩卡咖啡制备标准苦味液。将适量的摩卡咖啡溶于蒸馏水中,制成 4、8、12、16、20、24 mg/mL 标准溶液。训练有素的小组成员对标准溶液进行了鱼肉水解液的测试,并对鱼肉水解液的苦味进行了评分。

2.4 苦味肽抗氧化性研究方法

2.4.1 通过自由基清除、还原力和金属螯合活性对照试验
通过 2,2-二苯基-1-三硝基苯肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)自由基 DPPH 自由基清除能力按照

Naitani 等^[22]所述方法进行,并进行了一些修改:将 3.9 mL DPPH(0.075 mm)与 100 μ L 不同浓度(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 和 0.6 mg/mL)苦味肽溶液混合。然后将混合物在室温下孵育 30 min。之后,在 515 nm 处记录反应混合物对空白溶液的吸光度。DPPH 自由基清除活性的抑制百分比($i\%$)根据以下方程式计算:

$$i\% = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}] \times 100$$

其中 A_{sample} 是样品溶液的吸光度,而 A_{blank} 是空白溶液的吸光度(包含除测试样品之外的所有试剂)。

2.4.2 电镜下观察鲜虾肌原蛋白结构对照试验

按照 Shi 等^[3]所述方法制备肌原纤维蛋白(myofibrillar protein, MFP),并做了一些改动:将每份 5.0 g 的样品切碎,并在 10 倍体积的冰冷却缓冲液(pH 7.0,含有 0.05 mol/L 氯化钾的 20 mmol/L Tris-顺丁烯二酸酯)中,于 0~4 °C 下均化 60 s。将得到的匀浆在 4 °C 下以 10000 r/min 离心 10 min,并弃去上清液。后收集沉淀,重悬于相同的缓冲液中,然后再次提取。经过 2 次匀浆与离心循环后,将得到的沉淀物加入 10 体积的相同冰冷却缓冲液中。然后将混合物匀浆,并在 4 °C 以 6000 r/min 离心 10 min。上清液为肌原纤维蛋白溶液,并置于 0~4 °C 下,于 1 h 内使用,用于后续分析。

将用于扫描电子显微镜(scanning electronic microscopy, SEM)的 MFP 样品置于到铜栅上,置于 4 °C,在 0.1 mol/L 浓度 pH 7.2 的磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)中,使用 2.5% (V:V)戊二醛进行化学固定。然后在室温下,将样品用 1.0% (W:V)的四氧化后固定 1 h。在 50 mmol/L 浓度 pH 7.2 的 PBS 中洗涤 3 次后,将固定的 MFP 在不同浓度梯度的乙醇(30%、50%、60%、70%、80%、90%、95%和 100%)中脱水 15 min。之后,将脱水的肌肉组织在 50 °C 的烤箱中,干燥 1 h,以去除乙醇残留,然后使用冷冻干燥机进行冷冻干燥,之后使用电子显微镜在 20 kV(1000 X)的电压下观察。

3 结果与分析

3.1 感官评定

人体皮肤和大多数内脏器官的上皮以及大多数白细胞,如中性粒细胞,表达苦味受体,如 T2R38,通过具有苦味的分子对苦味受体的激活,从而增加细胞内钙浓度 [Ca^{2+}],随后典型的 T2R 信号级联放大,然后这种白细胞的增殖,导致其中一个结果是杀死大量的细菌病原体^[23]。然而,苦味肽在自然界不是大量存在,但可能以许多不同形式存在,或者在我们的饮食中的不同阶段通过不同结构表现出来。氨基酸长度也可能影响苦味的强度,但胃蛋白酶已被视为消化鱼类蛋白质到约 50 个氨基酸的决定性酶,已被证明是最苦的^[15],这可能是数学上的最佳数量,并对免疫刺激和抗氧化都有作用。

不同酶解溶液产生苦味肽的苦味度按照摩卡咖啡标

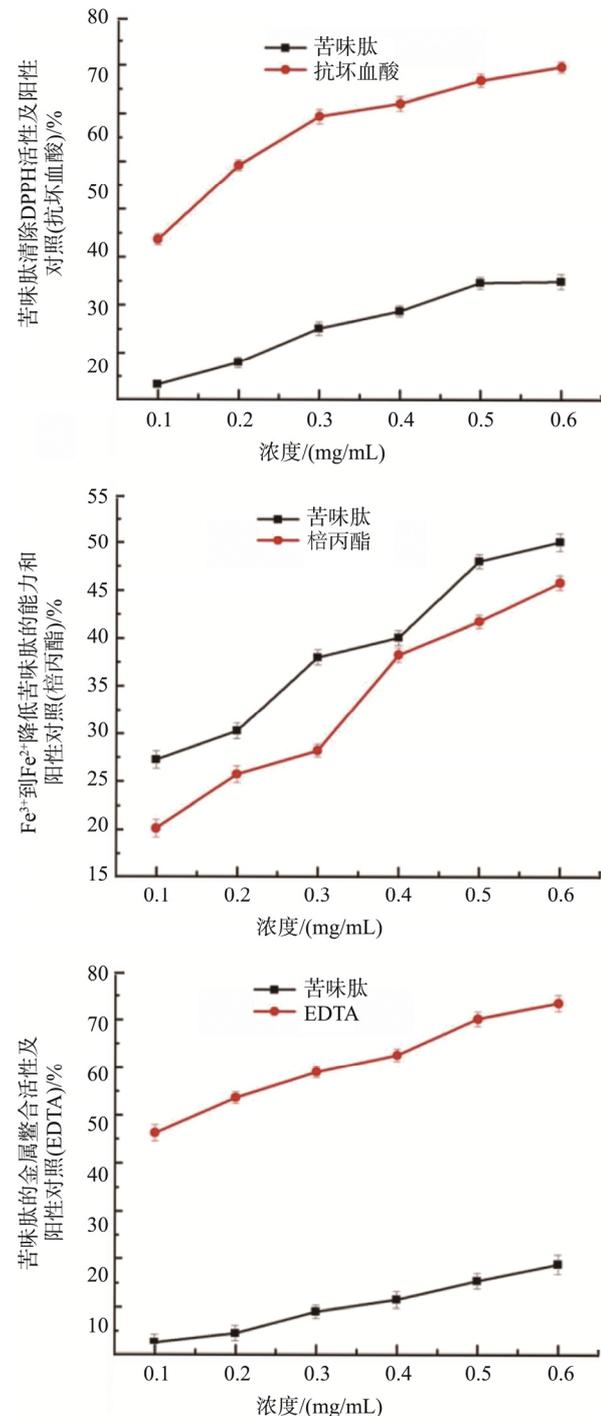
准液的感官标准曲线而确定,其中酶解溶液 1%的苦味肽得分为 10 分,酶解溶液 3%的苦味肽得分为 30,感官值基本上呈线性,即浓度越高,苦味越重,其抗氧化性越强。

3.2 苦味肽抗氧化功能

3.2.1 通过自由基清除、还原力和金属螯合活性对照试验对于抗氧化剂测定,使用 2, 2, 1-二苯基-1-吡啶酰肼(DPPH)自由基清除、还原力和金属螯合活性测定来评价苦味肽的抗氧化潜力。抗坏血酸、没食子酸丙酯和乙二胺四乙酸(EDTA)分别作为阳性对照。结果表明(见图 1),苦味肽的清除自由基能力与浓度呈显著正相关($P < 0.05$),苦味肽的抗氧化活性与其浓度成正比。苦味肽与阳性对照(抗坏血酸)对 DPPH 自由基清除的抑制作用也有显著性差异($P < 0.05$)。苦味肽具有清除自由基的能力,即使其清除自由基的能力不如抗坏血酸。苦味肽将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的能力如图 1 所示,结果表明苦味肽的还原能力与其浓度显著相关($P < 0.05$),即苦味肽的还原能力与其浓度成正比。苦味肽与阳性对照(没食子酸丙酯)的还原力有显著性差异($P < 0.05$)。

通常血红素蛋白(血红蛋白和肌红蛋白),脂肪和过渡金属(铁和铜)的存在可以促进食物肌肉中的蛋白质氧化,并且由于腺苷降解而在死后形成过氧化氢(H_2O_2)。还有三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP),因为肌球蛋白在运动和 ATP 水解中起重要作用。 H_2O_2 可以改变(芬顿反应)成为羟基自由基,它更具反应性,可以攻击任何生物分子。此外, H_2O_2 可以与肌红蛋白反应形成高价肌红蛋白,他们都具有铁活性更强的三价铁状态,可以促进蛋白质的氧化^[24,25]。在食品系统中存在苦味肽可以通过阻止芬顿反应发生来防止这些羟基自由基的形成。当氧化作用于肌原纤维蛋白时,他会破坏纤维和肌肉的结缔组织^[22]。抗氧化剂不仅保持电子状态不变,还减少微生物群,这些都减少了物理结构的变化。在冷藏期间,对照和苦味处理的样品之间的巯基含量的显著差异可能是由经过处理的虾的食物系统中存在苦味肽引起的,这些苦味肽充当氢原子的来源^[9]。此外,肽可以作为金属螯合剂(铁和铜),以防止金属催化氧化中半胱氨酸残基的快速氧化^[26]。冷藏过程中巯基含量的降低可归因于肌原纤维蛋白对死后氧化的敏感性,这是由于内源性抗氧化剂的消耗和活性物质如非氧自由基和非自由基(如氢的快速积累过氧化物和烷氧基过氧化物)^[27]。虾在死亡后,食物系统中的 H_2O_2 由于 ATP 的降解而增加, H_2O_2 可以氧化半胱氨酸残基,其对氧化非常敏感并导致巯基的损失。此外,在此后积累的高铁肌红蛋白导致肌球蛋白的巯基的氧化。巯基的氧化导致二硫化物交联的形成,随后按照能量原理形成聚合蛋白质。这个过程导致肌肉的持水能力丧失,肌肉聚集,从而损失了虾肉的质量。此外,巯基的氧化导致 m-钙蛋白

酶的变性,酶含有半胱氨酸残基并且它处理肉的嫩化,因此这种酶的变性导致虾肉的嫩度丧失^[28]。



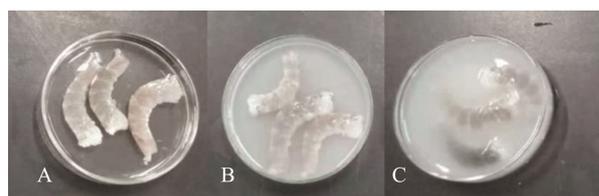
注: A: 苦味肽清除 DPPH 活性及抗坏血酸阳性对照; B: e^{3+} 到 Fe^{2+} 降低苦味肽的能力和阳性对照(没食子酸丙酯); C: 苦味肽的金属螯合活性及阳性对照(EDTA)。数值是 3 次试验的平均值,表示为平均值 \pm 标准偏差。

图 1 苦味肽体外抗氧化能力的测定($n=3$)

Fig.1 Determination of antioxidant capacity of bitter peptides in vitro ($n=3$)

对于比较苦味肽和阳性对照之间的金属螯合活性的情况, EDTA 具有比苦味肽高得多的金属螯合活性。清除自由基是生物系统中抗氧化剂用于抑制促氧化剂的基本机制。抗氧化剂使用的另一种机制是将一些活性离子(铁离子和铜离子)分别还原为反应性较低的形式(亚铁和亚铜)^[6]。另一种机制是通过螯合金属使他们不暴露于重要化合物并引起氧化^[29]。因此, 这项体外研究表明, 苦味肽具有抗氧化活性, 主要是通过将活性金属还原为反应性较低的一种, 并清除自由基。这种能力是由于他们具有更多氨基酸残基和芳香族 R 基团的性质, 它能够同时提供电子和氢原子并使其自身稳定^[30]。如结果所示, 苦味肽螯合金属的能力较弱可能是由于苦味肽的平均氨基酸组成, 其中他们由更疏水的氨基酸组成, 不能螯合金属和酸性较弱的氨基酸如天冬氨酸和谷氨酸^[31]。

如图 2 对肌肉结构进行观察(A、B、C 都放置 4 °C 冰箱 12 d), 发现其中新鲜和 3%苦味肽处理的样品的 2 条带都显得清晰和厚, 而对照和 1%苦味肽处理的样品的条带都发生降解。与抗氧化剂和巯基和疏基测定的含量一致, SEM 显示在水处理的虾中 SDS-PAGE 凝胶中完全无序和降解。上述分析结果发现水组中改变了结构, 但苦味肽阻止了结构改变和保持了新鲜度及部分的完整结构。



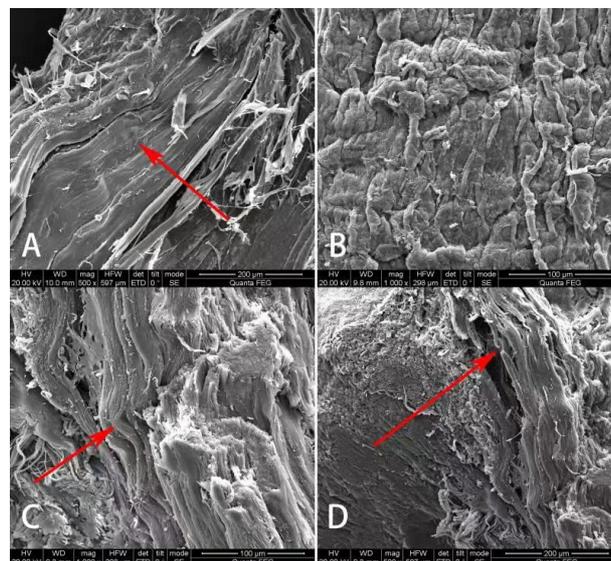
注: A. 自来水; B. 1%苦味肽; C. 3%苦味肽。

图 2 分别用自来水和不同浓度苦味肽处理去皮虾

Fig.2 Peeled shrimp were processed with tap water and different concentrations of bitter peptides

3.2.2 电镜下观察鲜虾肌原蛋白结构对照试验

我们通过扫描电镜分别对新鲜虾及苦味肽处理的虾和对照样品(仅水处理)虾的肌肉结构进行了观察(图 3), 并对他们进行了比较。新鲜虾的肌肉束紧密相连, 呈现出良好的组织结构; 经水处理(对照)的样品, 其组织失鲜程度较严重, 肌纤维的显微结构与新鲜虾相比有显著差异, 纤维收缩, 并有大量液体渗出, 呈晶体状, 这表明肌肉丧失了保持水的能力, 因此在低温贮藏 12 d 时, 该结构完全被氧化破坏; 经 1%苦味肽处理的样品, 其纤维和结缔组织与对照组相比变化较小, 但其组织结构不如新鲜样品; 在用 3%苦味肽处理的样品中, 肌纤维、束和肌内结缔组织整体呈现良好状态, 并且扭曲程度最小, 说明肌肉条得到了很大程度的保存。这表明肌肉结构并没有受到氧化的影响, 这可能是由于苦味肽对冷藏 12 d 所提供的保护作用。



注: A. 鲜虾(0 d); B. 对照组(4 °C 储存 12 d)水处理的虾肌肉; C. 用 1%(w:V)苦味肽处理 30 min 的虾肌肉, 4 °C 贮存 12 d; D. 用 3%(w:V)苦味肽处理 30 min 的虾肌肉, 4 °C 储存 12 d, 放大 1000 倍。红色箭头表示保持形状的肌肉条纹。

图 3 苦味肽处理的虾和对照组的虾肌肉在贮藏 12 d 后所得的扫描电镜图像

Fig.3 SEM images of shrimp muscle of control and bitter peptides treated after 12 days of chilled storage (1000 X)

4 结论与讨论

苦味肽刺激白细胞以剂量依赖性方式吞噬乳胶珠, 并且在冷藏时显示出防止虾肌肉蛋白质氧化的高能力^[32,33]。不同酶解程度的苦味肽所含的氨基酸残基有所区别, 其呈现苦味程度与抗氧化能力有一定关系; 在蛋白水解过程中释放苦味, 解决苦味的问题在国内外已经有相应的研究, 但仍然缺少工业应用性的处理方法; 开发苦味肽的价值对食品工业至关重要, 因为苦味肽的商业化将导致鲜虾的储存时间延长并提高其市场价值^[34-36]。然而在商业化之前, 仍然需要解决苦味肽的苦味问题, 这样即使苦味肽对人类健康有益, 也会影响产品的口感并导致食品品质下降。

参考文献

- [1] Lund, MN, Heinonen, M, Baron, CP, *et al.* Protein oxidation in muscle foods: A review [J]. Food Res, 2011, 55(1): 83-95.
- [2] Heu MS, Kim, JS, Shahidi F. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products [J]. Food Chem, 2003, 82(2): 235-242.
- [3] Shi J, Zhang L, Lu H, *et al.* Protein and lipid changes of mud shrimp (*Solenocera melanthero*) during frozen storage: chemical properties and their prediction [J]. Int J Food Prop, 2017, 20: 2043-2056.
- [4] Zhang B, Fang CD, Hao GJ. Effect of kappa-carrageenan oligosaccharides on myofibrillar protein oxidation in peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during long-term frozen storage [J]. Food Chem, 2018, 245: 254-261.
- [5] Nyaisaba BM, Liu X, Zhu S, *et al.* Effect of hydroxyl-radical on the

- biochemical properties and structure of myofibrillar protein from alaska pollock [J]. Food Chem, 2019, 106: 15–21.
- [6] Elias RJ, Kellerby SS, Decker EA. Antioxidant activity of proteins and peptides [J]. Food Sci, 2008, 48(5): 430–441.
- [7] Ngo DH, Wijesekera I, Vo TS, *et al.* Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: An overview [J]. Food Res Int, 2011, 44(2): 523–529.
- [8] Chalamaiiah M, Hemalatha R, Jyothirmayi T. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review [J]. Food Chem, 2012, 135: 3020–3038.
- [9] Shanker N, Debnath S. Impact of purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves extract to enhance the anti-oxidant potential of edible oils during heating [J]. J Oleo Sci, 2019, 68: 321–328.
- [10] Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme [J]. J Food Biochem, 2007, 31(2): 266–287.
- [11] Jae YJ, Pyo JP, Se KK. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate [J]. Food Res Int, 2005, 38(1): 45–50.
- [12] Murray TK, Baker BE. Studies on protein hydrolysis. I.-preliminary observations on the taste of enzymic protein-hydrolysates [J]. J Sci Food Agric, 1952, 3(10): 470–475.
- [13] Vermeirssen V, Van CJ, Verstraete W. Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides [J]. Brit J Nutr, 2004, 92: 357–366.
- [14] Tai Z, Cai L, Dai L, *et al.* Antioxidant activity and chemical constituents of edible flower of *Sophora viciifolia* [J]. Food Chem, 2011, 126(4): 1648–1654.
- [15] Luo C, Gwekwe B, Choto P, *et al.* Bitter peptides from enzymatically hydrolyzed protein increase the number of leucocytes and lysozyme activity of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Fish Shellfish Immunol. 2018, 81: 130–134.
- [16] Adler NJ. Control of the proteolytic reaction and of the level of bitterness in protein hydrolysis processes [J]. J Chem Technol Biotechnol, 1984, 34: 215–222.
- [17] Meyerhof W, Batram C, Kuhn C, *et al.* The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors [J]. Chem Senses, 2010, 35(2): 157–170.
- [18] Giovannucci DR, Groblewski GE, Sneyd J, *et al.* Targeted phosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors selectively inhibits localized Ca^{2+} release and shapes oscillatory Ca^{2+} signals [J]. J Biol Chem, 2000, 275(43): 33704–33711.
- [19] Petit J, Wiegertjes GF. Long-lived effects of administering beta-glucans: indications for trained immunity in fish [J]. Dev Comp Immunol, 2016, 64: 93–102.
- [20] Maehashi K, Huang L. Bitter peptides and bitter taste receptors cell [J]. Mol Life Sci. 2009, 66: 1661–1671.
- [21] Gwekwe B, 李颖杰, Phares C, 等. 酶水解苦味肽对大黄鱼白细胞与溶菌酶活性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 892–898.
- Gwekwe B, Li YJ, Phares C, *et al.* Effect of enzymatic hydrolysis of bitter peptide on white blood cell and lysozyme activity of *Larimichthys crocea* [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(4): 892–898.
- [22] Naithani V, Singhal AK, Chaudhary M. Comparative evaluation of metal chelating, antioxidant and free radical scavenging activity of TROIS and six products commonly used to control pain and inflammation associated with arthritis [J]. Int Drug Dev Res, 2011, 3: 208–216.
- [23] Kristinsson HG, Rasco BA. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties [J]. Crit Rev Food Sci, 2000, 40: 43–81.
- [24] Aspino SI, Horn SJ, Eijssink VGH. Enzymatic hydrolysis of atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera [J]. Process Biochem, 2005, 40: 1957–1966.
- [25] Wang W, Mejia EGD. A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases [J]. Com Rev Food Sci Food Saf, 2005, 4(4): 63–78.
- [26] Iwaniak A, Minkiewicz P, Darewicz M, *et al.* Food protein-originating peptides as tastants-physiological, technological, sensory, and bioinformatic approaches [J]. Food Res Int, 2016, 89: 27–38.
- [27] Morse SJ, Luty SB, Lai HY, *et al.* The cell mediated suppression of hematopoiesis in myeloproliferative neoplasm [J]. Hematol Am Soc Hemat, 2014, 124: 1886–1886.
- [28] Olugbami JO, Gbadegehin MA, Odunola OA. *In vitro* free radical scavenging and antioxidant properties of ethanol extract of *Terminalia glaucescens* [J]. Pharmacogn Res, 2015, 7(1): 49.
- [29] Emmanuel J, Gilles H, Benoit JB. Comparison of amino acids physico-chemical properties and usage of late embryogenesis abundant proteins, hydrophilins and why domain [J]. PLoS ONE, 2014, 9(10): 1–3.
- [30] Gallegos TS, Torres FC, Solorza FJ, *et al.* Antioxidant and chelating activity of nontoxic *Jatropha curcas* L. protein hydrolysates produced by *in vitro* digestion using pepsin and pancreatin [J]. J Chem, 2015, 91(9): 1618–1624.
- [31] Acworth IN, Oxon P, Phil D. The handbook of redox biochemistry CD-ROM. ESA [J]. Bioscience Part, 2003, 70: 69–70.
- [32] Sarmadi BH, Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review [J]. Peptides, 2010, 31: 1949–1956.
- [33] Abdelhedi O, Jridi M, Jemil I, *et al.* Combined biocatalytic conversion of smooth hound viscera: protein hydrolysates elaboration and assessment of their antioxidant, anti-ACE and antibacterial activities [J]. Food Res Int, 2016, 86: 9–23.
- [34] Marri V, Riehner H. Immune response, oxidative stress and dietary antioxidants in great tit nestlings [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2015, 179: 192–196.
- [35] Zou TB, He TP, Li HB, *et al.* The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins [J]. Molecules, 2016, 21(1): 72.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



邓尚贵, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为海洋生物资源的加工与综合利用, 海洋天然产物和水产品质量与安全。
E-mail: dengshanggui@163.com



罗成, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为海洋生物资源, 海洋养殖病害控制, 食品深加工, 水产品安全控制。
E-mail: Luo58@yahoo.com