

沸水浴时间对大鲵肽抗氧化活性影响的研究

杨晴晴, 佟长青, *李伟

(大连海洋大学 食品科学与工程学院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 对大鲵肽溶液分别进行时长 0, 3, 5, 10 min 的沸水浴, 测定其抗氧化活性的变化情况。结果表明, 不同时间沸水浴处理的大鲵肽水溶液对 DPPH·, ABTS·, ·OH 3 种自由基的清除能力无显著性差异。因此, 沸水浴时间对大鲵肽的抗氧化活性并没有显著影响。

关键词: 大鲵; 肽; 抗氧化; 沸水浴

中图分类号: Q331 文献标志码: A doi: 10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2017.10.034

Effect of Time of Boiling Water Bath on Antioxidant Activity of Giant Salamander Peptides

YANG Qingqing, TONG Changqing, *LI Wei

(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023, China)

Abstract: The giant salamander peptides were boiled for 0, 3, 5, 10 min, their anti-oxidant effect was determined. The results showed that the free radical scavenging ability of giant salamander peptides was no significantly different for DPPH·, ABTS·, ·OH. Therefore, there was no significant effect of boiling water bath time of giant salamander peptides on antioxidant activity.

Key words: giant salamander; peptide; antioxidant; boiling water bath

大鲵是国家二类保护动物。由于大鲵具有较高的营养价值和药用价值, 造成人们对于大鲵的消费需求。为了保护 and 开发利用大鲵这一珍稀野生动物, 人们从 20 世纪 70 年代就开始了野生大鲵的驯养。随着大鲵人工养殖与繁殖技术的突破, 在我国湖南、浙江、广州、江西、陕西、河南等地都形成了具有相当规模的大鲵全人工养殖基地^[1-3]。如今, 大鲵已经成为农民的重要养殖品种, 大鲵养殖量已达 1 000 万余尾。为了进一步提高大鲵养殖效益, 大鲵的精深加工成为比较紧迫的问题。

大鲵肉是一种优质的动物蛋白质, 重要的加工方式首先是作为烹饪原料。王建文^[4]申请了以大鲵蛋白粉和面粉为主料生产的大鲵面条的发明专利, 大鲵面条具有提高免疫力、降血糖、提高记忆力、改善睡眠等功效。大鲵面条加入蛋白粉, 烹煮过程中使其蛋白质变性, 其生物活性下降或丧失。研究表明, 寡肽具有更好的溶解性和生物活性。因此, 在大鲵面条中加入肽粉可以获得更好的溶解性及生物活性, 前提是大鲵肽在高温时其生物活性不会丧失或者减少很少。为了探索大鲵肽粉加入到面条中,

制备大鲵肽面条的合理性, 试验以大鲵肽为研究对象, 以抗氧化活性为指标, 研究其经过沸水浴加热后的抗氧化活性的变化, 为制备大鲵肽面条中提供数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大鲵肽, 按照王文莉等人^[5]的方法由大连海洋大学实验室制备; DPPH (二苯基苦味酰基苯肼, 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (AR)、ABTS[2, 2-azino-(3-ethylbenzothiazol-6-sulfonic acid)] (AR) 美国 Sigma 公司提供; 水杨酸 (AR), 天津科密欧化学试剂有限公司提供; 30%过氧化氢 (AR), 天津市天力化学试剂有限公司提供; 过硫酸钾 (K₂S₂O₈) (AR), 天津博迪化工股份有限公司提供。

BS-224S 型精密电子分析天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司产品; HH-4 型数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司产品; UV-754 型紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司产品。

1.2 试验方法

收稿日期: 2017-08-18

基金项目: 大连海洋大学研究生教育教学改革与创新工程项目 (DHDY20150105)。

作者简介: 杨晴晴 (1993—), 女, 硕士, 研究方向为食品科学。

*通讯作者: 李伟 (1964—), 男, 博士, 教授, 研究方向为海洋生物活性物质。

1.2.1 大鲵肽水溶液的配制

准确称取 1.000 g 大鲵肽粉, 溶于 500 mL 蒸馏水中, 配置成 2 mg/mL 的大鲵肽水溶液。将其平均分为 4 份, 第 1 份不作处理, 标记为沸水浴 0 min 组, 备用; 第 2 份沸水浴 3 min, 并在其冷却后补足失去水分, 标记为沸水浴 3 min 组, 备用; 第 3 份沸水浴 5 min, 待其冷却后补足失去水分, 标记为沸水浴 5 min 组, 备用; 第 4 份沸水浴 10 min, 待其冷却后补足失去水分, 标记为沸水浴 10 min 组, 备用。

1.2.2 DPPH·清除率测定

取 DPPH·固体药品 25.0 mg 溶于约 500 mL 95% 乙醇中, 使其充分溶解, 于波长 519 nm 处测吸光度 A , 使其吸光度为 1.1~1.3, 避光保存, 3.5 h 内使用完毕^[6]。

将 4 组大鲵肽处理液分别稀释为 0.267, 0.533, 0.800, 1.067, 1.333, 1.600, 2.000 mg/mL 不同质量浓度梯度的测试液, 取 1.5 mL 的测试液于 15×100 规格的小试管中, 再加入 1.5 mL 的 DPPH·工作液, 以 95% 乙醇代替 DPPH·工作液作对照, 以去离子水代替测试液作空白, 充分、快速混匀, 置于室温阴暗处反应 30 min。以 95% 乙醇调零, 于波长 519 nm 处测各管的吸光度 A 。清除率按以下公式进行计算:

$$\text{清除率} = 1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

式中: A_0 ——空白管吸光度;

A_1 ——样液吸光度;

A_2 ——对照吸光度。

1.2.3 ABTS⁺清除率的测定方法

将 5 mL 7.4 mmol/L 的 ABTS⁺水溶液与 5 mL 2.6 mmol/L 的 $K_2S_2O_8$ 水溶液充分混合, 室温、避光静置 12~16 h, 形成 ABTS⁺储备液, 临用前用 95% 乙醇稀释 40~50 倍作为工作液, 使其于波长 734 nm 处的吸光度达到 0.70 ± 0.02 , 避光保存, 备用^[6]。

将 4 组大鲵肽处理液分别稀释为 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mg/mL 不同质量浓度梯度的测试液, 取 1.0 mL 的测试液于 15×180 规格的试管中, 再加入 4.0 mL 的 ABTS⁺工作液, 以 95% 乙醇代替 DPPH·工作液作对照, 以去离子水代替测试液作空白, 充分、快速混匀, 置于室温阴暗处反应 6 min。以 95% 乙醇调零, 于波 734 nm 处测各管的吸光度 A ^[7]。清除率按 1.2.2 中的公式计算。

1.2.4 ·OH 清除率的测定方法

9 mmol/L 乙醇-水杨酸: 0.3107 5 g 水杨酸, 95% 乙醇定容至 250 mL, 备用; 9 mmol/L $FeSO_4$: 0.625 5 g $FeSO_4$ 蒸馏水定容至 250 mL, 备用; 8.8 mmol/L H_2O_2 : 0.248 2 g 质量分数为 30% 的 H_2O_2 水溶液, 蒸馏水定容至 250 mL, 备用。

将 4 组大鲵肽处理液分别稀释为 0.133, 0.267,

0.400, 0.500, 0.667 mg/mL 不同质量浓度梯度的测试液, 依次在每支 15×180 规格试管中加入 0.5 mL 9 mmol/L $FeSO_4$ 溶液、0.5 mL 9 mmol/L 乙醇-水杨酸溶液、6 mL 测试液、0.5 mL 8.8 mmol/L H_2O_2 溶液, 以蒸馏水代替 8.8 mmol/L H_2O_2 溶液作对照, 以蒸馏水代替测试液作空白, 充分、快速混匀, 于 37 °C 下水浴反应 15 min。以蒸馏水调零, 于波长 510 nm 处测各个管的吸光度 A ^[7]。清除率按 1.2.2 中的公式计算。

1.2.5 数据统计分析

采用 IBM SPSS Statistics 20.0 统计软件对各项数据作方差分析。

2 结果与讨论

2.1 DPPH·清除活性

煮沸不同时间处理的大鲵肽水溶液对 DPPH·的清除率见图 1。

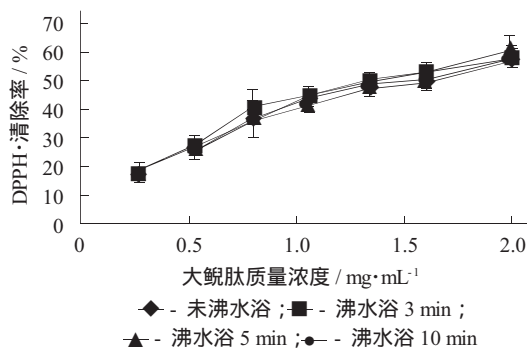


图 1 煮沸不同时间处理的大鲵肽水溶液对 DPPH·的清除率

由图 1 可知, 未沸水浴的大鲵肽清除 DPPH·的能力随着大鲵肽质量浓度的上升而增加, 呈质量浓度依赖性关系, 在 2 mg/mL 质量浓度时 DPPH·清除率达 60.70%。大鲵肽经过沸水浴 3, 5, 10 min 的清除 DPPH·的能力虽然有变化, 但是变化都不显著 ($p > 0.05$)。2 mg/mL 质量浓度的大鲵肽经过沸水浴 3, 5, 10 min 后, 其 DPPH·清除率分别为 58.38%, 57.01%, 57.79%。

2.2 ABTS⁺清除率

煮沸不同时间处理的大鲵肽水溶液对 ABTS⁺的清除率见图 2。

由图 2 可知, 未沸水浴的大鲵肽清除 ABTS⁺的能力随着大鲵肽质量浓度的上升而增加, 呈质量浓度依赖性关系, 在 2 mg/mL 质量浓度时 ABTS⁺清除率达 78.22%。大鲵肽经过沸水浴 3, 5, 10 min 的清除 ABTS⁺的能力虽然有变化, 但是变化都不显著 ($p > 0.05$)。2 mg/mL 质量浓度的大鲵肽经过沸水浴 3, 5, 10 min 后, 其清除率分别为 76.77%, 78.30%, 75.06%。

2.3 ·OH 清除率

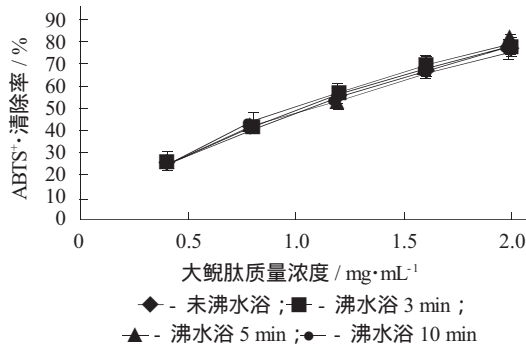


图2 煮沸不同时间处理的大鲵肽水溶液对 ABTS⁺·的清除率

煮沸不同时间处理的大鲵肽水溶液对·OH的清除率见图3。

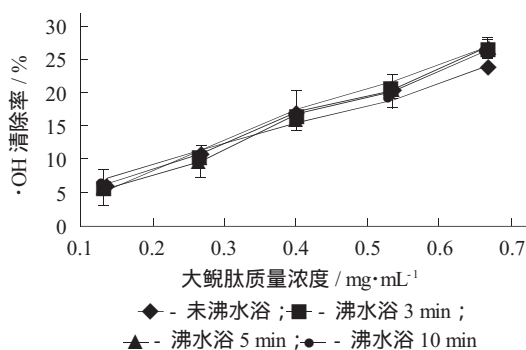


图3 煮沸不同时间处理的大鲵肽水溶液对·OH的清除率

由图3可知,未沸水浴的大鲵肽清除·OH的能力随着大鲵肽质量浓度的上升而增加,呈质量浓度依赖性关系,在2 mg/mL质量浓度时·OH清除率达23.42%。大鲵肽经过沸水浴3,5,10 min的清除·OH

的能力虽然有变化,但是变化都不显著 ($p>0.05$)。2 mg/mL质量浓度的大鲵肽经过沸水浴3,5,10 min后,其清除率分别为25.75%,26.36%,26.78%。

3 结论

不同时间沸水浴处理的大鲵肽,其清除 DPPH·, ABTS⁺·, ·OH 3种自由基的能力与空白对照相比较无显著性差异。因此,沸水浴时间对大鲵肽的抗氧化活性并没有显著影响。这也表明,将大鲵肽加入到面粉中制作成大鲵肽面条,其煮熟制后,其所含有的大鲵肽会较好地保留抗氧化活性。

参考文献:

- [1] 罗庆华,刘英,张庆云.张家界市大鲵资源保护·增殖现状与对策[J].安徽农业科学,2009,37(19):9 023-9 025.
- [2] 罗庆华,谢文海,王朝群,等.张家界市大鲵产业发展战略分析[J].中国农学通报,2013,29(23):39-43.
- [3] 唐秀锋,邬永忠,刘本祥,等.大鲵人工繁殖技术初探[J].重庆水产,2008(4):19-20.
- [4] 王建文.一种大鲵面条及其生产方法:中国,200910043477.7[P].2009-09-01.
- [5] 王文莉,张伟,于新莹,等.大鲵肉酶解产物的制备及其抗氧化性的研究[J].河北渔业,2012(9):1-4.
- [6] Li X, Lin J, Gao Y, et al. Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma Cimicifugae* [J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6(1): 140-147.
- [7] 黄万成,杨晴晴,申永奇,等.烹煮时间对青虾质构的影响[J].河北渔业,2015(11):1-3,10.◇

(上接第14页)
的含量)。

(2) 试验结果表明,在该保湿乳液中驼乳乳清的添加量为10 mL时,乳液的保湿效果优于其他添加量及空白。虽然在温度30℃,湿度20%时,在10 h以后,10#的失水率有上升趋势,且高于20#和30#,但在温度25℃,湿度80%时,10#的失水率明显低于其他添加量的乳液。因此,可以确定10 mL为最佳添加量。

(3) 相同乳清添加量驼乳乳清保湿乳液保湿效果优于牛乳乳清乳液。

(4) 从驼乳乳清保湿乳液与市售其他产品的对比结果中可以看出,驼乳保湿乳液的保湿效果较好。

(5) 稳定性试验结果表明,该保湿乳液稳定性较好,可达到3年保质期。

参考文献:

- [1] 彭平,许奕华,陈卫东.从牛奶中提取乳清蛋白及分离乳清蛋白中不同活性成分的方法:中国,CN1606917[P].2005-04-20.
- [2] 刘玮,张怀亮.皮肤科学与化妆品功效评价[M].北京:化学工业出版社,2005:255-276.◇

欢迎订阅 《农产品加工》 欢迎投稿

邮发代号:22-121 22-19

电 话:0351-4606085

在线投稿:www.ncpjpg.com

投稿信箱:ncpjpgxk@163.com