

加工条件及模拟胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响

郑志强^{1,2} 刘晋² 魏晓娟³ 郝利民² 郭顺堂¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中央军委后勤保障部军需装备研究所, 北京 100010;
3. 首都机场出入境检验检疫局, 北京 101300)

摘要: 为研究小麦肽在生产加工及胃肠消化过程中抗氧化性能的稳定性, 以小麦肽为对象, 研究温度、pH 值、食品原辅料、金属离子和模拟胃肠消化对小麦肽清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基、超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)能力的影响。结果表明, 小麦肽的抗氧化活性具有良好的热稳定性, 但在碱性条件下抗氧化活性下降明显; NaCl、葡萄糖、柠檬酸有利于提高小麦肽的抗氧化活性, 且其浓度越高增效越明显, 而蔗糖、山梨酸钾、苯甲酸钠则影响不大; K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对小麦肽的抗氧化活性没有明显影响, 而 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 则对其抗氧化活性有一定提高作用; 人工胃液单独消化有助于提高小麦肽的抗氧化活性, 而人工肠液单独消化则导致其抗氧化活性明显下降, 人工胃液、人工肠液分步消化同样致使小麦肽抗氧化活性有所下降, 但仍能保持较高的抗氧化活性。小麦肽的抗氧化性能受到生产加工及胃肠消化的影响, 因此, 合理优化的加工条件有利于维持小麦肽抗氧化性能的稳定性。

关键词: 小麦肽; 加工条件; 胃肠消化; 抗氧化稳定性

中图分类号: TS210.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2017)09-0330-07

Effects of Processing Conditions and Simulated Gastrointestinal Digestion on Antioxidative Stability of Wheat Peptide

ZHENG Zhiqiang^{1,2} LIU Jin² WEI Xiaojuan³ HAO Limin² GUO Shuntang¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China
2. The Quartermaster Equipment Institute of Logistic Support Department, CMC, Beijing 100010, China
3. Capital Airport Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 101300, China)

Abstract: In order to study the antioxidative stability of wheat peptide in the processing of manufacturing and gastrointestinal digestion, effects of temperature, pH value, food raw materials and adjuncts, metal ions and simulated gastrointestinal digestion on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, superoxide radical anion ($O_2^{\cdot-}$) scavenging activity and hydroxyl radical ($\cdot OH$) scavenging activity of wheat peptide were determined. The results showed that antioxidant activity of wheat peptide exhibited better thermal stability, while its antioxidant activity was significantly declined under the alkaline condition; NaCl, glucose and citric acid were beneficial to improve the antioxidant activity of wheat peptide and the synergistic effects were increased obviously with higher concentrations, while sucrose, potassium sorbate and sodium benzoate had little effect on antioxidant activity of wheat peptide; K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} had no obvious effect on antioxidant activity of wheat peptide, while Zn^{2+} and Cu^{2+} could play certain enhancement role in the antioxidant activity of wheat peptide; artificial gastric juice digesting solely was helpful to improve antioxidant activity of wheat peptide, while artificial intestinal juice digesting solely resulted in the obvious decline of antioxidant activity of wheat peptide, moreover, artificial gastric juice and artificial intestinal juice digesting step by step caused certain decline of antioxidant activity of wheat peptide. However, wheat peptide could still maintain high antioxidant activity. It indicated that antioxidant activity of wheat peptide was affected by the manufacturing and gastrointestinal digestion of wheat peptide. Therefore, reasonable optimized processing conditions were critical for maintenance of the antioxidative stability of wheat peptide.

Key words: wheat peptide; processing conditions; gastrointestinal digestion; antioxidative stability

收稿日期: 2017-05-16 修回日期: 2017-07-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471582)和全军后勤科研重点项目(BX116C007)

作者简介: 郑志强(1984—),男,博士生,中央军委后勤保障部军需装备研究所工程师,主要从事蛋白质加工与利用研究, E-mail: zzq198408@126.com

通信作者: 郭顺堂(1962—),男,教授,博士生导师,主要从事蛋白质加工与利用研究, E-mail: shuntang@cau.edu.cn

引言

小麦肽是以小麦蛋白为原料,经蛋白酶酶解、离心、过滤、喷雾干燥等工艺制成,主要由不同分子质量的多肽组成,是一种多肽混合物。小麦肽可作为一种安全可靠的新型食品原料添加应用于食品加工中。近年来,大豆肽、玉米肽等食品原料已被广泛应用于食品工业中,而小麦肽作为一种新资源食品原料应用较少。小麦肽与大豆肽、玉米肽类似,同属于植源性肽,可能也是一种良好的食品原料。因此,随着小麦蛋白深加工利用的不断深入,小麦肽具有非常广阔的开发应用前景。

关于小麦肽的研究,国内外众多学者主要聚焦在其结构、酶解改性以及功能特性等方面^[1-12],而对加工条件及机体胃肠消化对小麦肽功能的影响研究较少。小麦肽主要是小分子质量的多肽,在生产加工或胃肠消化过程中可能会发生水解、氧化、脱氨基或环化等,从而造成肽链的降解,进一步降解可生成大量的游离氨基酸,这使得多肽的结构发生变化,进而导致其生物活性降低甚至完全丧失^[13]。因此,小麦肽具有的多样化生物活性功能有效发挥作用的前提是小麦肽需具有良好的稳定性,主要包括加工过程以及胃肠消化的稳定,例如食品加工过程中食品配料可能与小麦肽相互作用而影响小麦肽的功能稳定性。此外,小麦肽经胃肠消化可能降解为更小的多肽及大量氨基酸,同样影响小麦肽的功能稳定性。因此,对小麦肽开展稳定性研究尤为重要。抗氧化性是小麦肽的主要功能特性,有效清除自由基能力是小麦肽在体内或体外体现抗氧化功能的直接指标。本文以小麦肽对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基、超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)、羟自由基($\cdot OH$)的清除率作为反映其抗氧化能力的主要指标,研究温度、pH值、食品原辅料、金属离子和体外模拟胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响,为小麦肽作为新型的食品原料在食品工业中的应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

小麦蛋白(蛋白质质量分数82%),商丘华阳生态农业发展有限公司。

碱性蛋白酶(2.17×10^5 U/mL)、风味蛋白酶(3.09×10^4 U/mL)、胃蛋白酶(6.78×10^4 U/g)、胰蛋白酶(3.61×10^5 U/g),诺维信(中国)生物技术有限公司。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),Sigma公

司;葡萄糖、蔗糖、柠檬酸、山梨酸钾、苯甲酸钠、NaCl、KCl、CaCl₂、MgSO₄、ZnSO₄、CuSO₄,国药集团化学试剂有限公司;其他所用试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

LGJ-10型真空冷冻干燥机,北京松源华兴科技发展有限公司;P-2102UV型紫外分光光度计,上海新嘉电子有限公司;CR22G型高速冷冻离心机,日本日立公司;SHZ-B型水浴恒温振荡器,上海五相仪器仪表有限公司;PHS-3C型pH计,上海理达仪器厂;BW3200S型电子天平,上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 小麦肽制备

将小麦蛋白以0.112 g/mL的质量浓度分散在去离子水中,在55℃的水浴锅中保温,调节溶液的pH值至8.5,加入2200 U/g的碱性蛋白酶开始酶解,搅拌酶解4.3 h,酶解结束后迅速沸水灭酶10 min;后调节温度至50℃、pH值至6.5,加入1070 U/g的风味蛋白酶进行第2步酶解,搅拌酶解2.2 h;酶解过程中每20 min用1.0 mol/L NaOH或HCl调节溶液pH值使预设pH值保持不变,酶解结束后迅速沸水灭酶10 min,冷却后3000 r/min离心20 min,取上清液冷冻干燥,-20℃保存待用。

1.3.2 自由基清除率测定

对不同处理条件下小麦肽的DPPH自由基清除率、 $O_2^- \cdot$ 清除率、 $\cdot OH$ 清除率等分别进行测定,DPPH自由基清除率测定参照LI等^[14]的试验方法进行, $O_2^- \cdot$ 清除率测定参照LI^[15]试验方法进行, $\cdot OH$ 清除率测定参照HALLIWELL等^[16]的试验方法进行。小麦肽质量浓度为3 mg/mL时测定自由基清除率。

1.3.3 温度对小麦肽抗氧化稳定性的影响

配制质量浓度为3 mg/mL的小麦肽水溶液,分别放置于室温(20℃)以及40、60、80、100℃的水浴锅中保温2 h,取出后冷却至室温,测定DPPH自由基清除率、 $O_2^- \cdot$ 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

1.3.4 pH值对小麦肽抗氧化稳定性的影响

配制质量浓度为3 mg/mL的小麦肽水溶液,分别调节pH值为2、4、6、8、10、12后静置2 h,测定DPPH自由基清除率、 $O_2^- \cdot$ 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

1.3.5 食品原辅料对小麦肽抗氧化稳定性的影响

配制质量浓度为3 mg/mL的小麦肽水溶液,分别添加等体积的NaCl、葡萄糖、蔗糖、柠檬酸、山梨酸钾、苯甲酸钠溶液;NaCl、葡萄糖、蔗糖的质量分数均为0.2%、4%、6%、8%、10%;柠檬酸、山梨酸钾、苯甲酸钠的质量分数均为0、0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.25%;室温静置2 h,测定DPPH自

由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

1.3.6 金属离子对小麦肽抗氧化稳定性的影响

配制质量浓度为 3 mg/mL 的小麦肽水溶液,分别添加等体积的 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 溶液,离子质量浓度均为 0、50、100、150、200、250 $\mu g/mL$,室温静置 2 h,测定 DPPH 自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

1.3.7 体外模拟胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响

人工胃液和人工肠液按照文献[17]的方法进行配制。

人工胃液配制:取浓度为 1 mol/L 稀盐酸 16.4 mL,加水约 800 mL 与胃蛋白酶 10 g,摇匀后,加水稀释至 1 000 mL。

人工肠液配制:取磷酸二氢钾 6.8 g,加水 500 mL 使溶解,用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8;另取胰蛋白酶 10 g,加水适量使其溶解,将两液混合后,加水稀释至 1 000 mL。

体外模拟胃肠消化参照江慎华等^[18]以及 YOU 等^[19]的方法。

1.3.7.1 人工胃液单独作用对小麦肽抗氧化稳定性的影响

用人工胃液配制质量浓度为 3 mg/mL 的小麦肽溶液,置 37 $^{\circ}C$ 、130 r/min 水浴振荡 2 h 后沸水灭酶 10 min,冷却后 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液测定 DPPH 自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

1.3.7.2 人工肠液单独作用对小麦肽抗氧化稳定性的影响

用人工肠液配制质量浓度为 3 mg/mL 的小麦肽溶液,置 37 $^{\circ}C$ 、45 r/min 水浴振荡 2 h 后沸水灭酶 10 min,冷却后 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液测定 DPPH 自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

1.3.7.3 模拟人体胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响

用人工胃液配制质量浓度为 3 mg/mL 的小麦肽溶液,置 37 $^{\circ}C$ 、130 r/min 水浴振荡 2 h 后调节 pH 值至 6.8,添加同体积的人工肠液,保持 37 $^{\circ}C$ 条件下,45 r/min 水浴振荡 2 h 后沸水灭酶 10 min,冷却后 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液测定 DPPH 自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率。

2 结果与分析

2.1 温度对小麦肽抗氧化稳定性的影响

小麦肽样品分别在室温以及 40、60、80、100 $^{\circ}C$ 下水浴 2 h,不同温度条件下其 DPPH 自由基清除

率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图1所示。

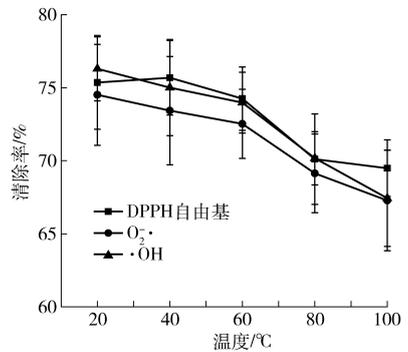


图1 不同温度处理对小麦肽 DPPH 自由基、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig.1 Effect of different temperature treatments on DPPH radical, O_2^- and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

由图1可知,小麦肽样品经不同温度处理后,3种自由基清除率随着处理温度的增加均有一定的下降趋势。温度小于 60 $^{\circ}C$ 时自由基清除率下降较缓慢;温度大于 60 $^{\circ}C$ 时,自由基清除率下降较快,但下降幅度不大;100 $^{\circ}C$ 时自由基清除率与 20 $^{\circ}C$ 相比较,DPPH 自由基清除率、 O_2^- 清除率、 $\cdot OH$ 清除率分别下降了 7.8%、9.7%、11.6%。小麦肽样品主要是由分子质量小于 1 000 Da 的小分子量肽组成,小分子量的肽主要具有肽链一级结构及少量的二级结构,不具有对热敏感的更高级结构^[20]。因此,小麦肽的结构决定了其对热处理敏感性低,温度较高时可能会有少量的热变性,但对抗氧化活性影响较小。热处理是食品加工过程中常用的技术手段,小麦肽的低热敏感性有利于其作为原料在食品加工过程中的添加应用。

2.2 pH 值对小麦肽抗氧化稳定性的影响

分别调节小麦肽样品溶液的 pH 值为 2、4、6、8、10、12,不同 pH 值条件下其 DPPH 自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图 2 所示。

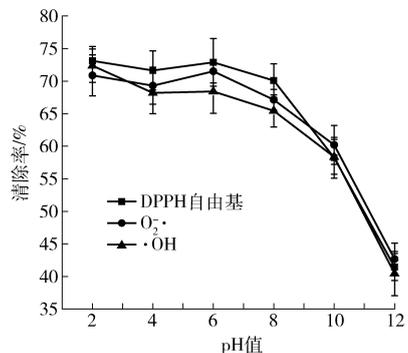


图2 不同 pH 处理对小麦肽 DPPH 自由基、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig.2 Effect of different pH values treatments on DPPH radical, O_2^- and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

由图 2 可知,小麦肽样品经不同 pH 值处理后,

3种自由基清除率在pH值小于8时变化均不明显;pH值大于8时,3种自由基清除率均有显著下降趋势;pH值12与pH值8时的自由基清除率相比较,DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率、 $\cdot OH$ 清除率分别下降了40.9%、36.5%、38.2%。这说明小麦肽的抗氧化活性在碱性条件下很不稳定。原因可能是在碱性条件下,小麦肽发生外消旋反应,使肽链的构象发生了改变,从而导致其抗氧化活性下降^[21]。因此,小麦肽尽量避免在碱性很强的环境下加工使用。

2.3 食品原辅料对小麦肽抗氧化稳定性的影响

2.3.1 NaCl

小麦肽样品中分别添加等体积质量分数为0、2%、4%、6%、8%、10%的NaCl溶液,其DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图3所示。

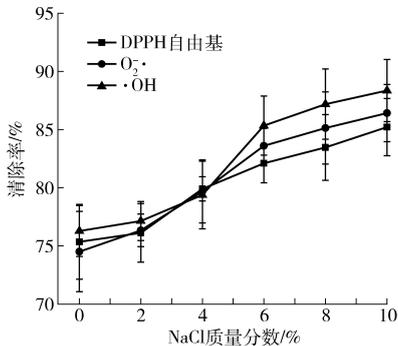


图3 NaCl对小麦肽DPPH自由基、 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig. 3 Effect of NaCl on DPPH radical, $O_2^{\cdot-}$ and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

由图3可知,NaCl对小麦肽的抗氧化活性有一定影响,3种自由基清除率随着NaCl浓度的提高均呈明显上升趋势。NaCl质量分数为10%时,3种自由基清除率均达到最大,此时DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率、 $\cdot OH$ 清除率较未添加NaCl样品分别提高了13.1%、16.0%、15.8%。NaCl导致抗氧化活性增强的原因可能是中性盐NaCl在水溶液中电离的 Na^+ 和 Cl^- 能中和小麦肽表面的大量电荷,破坏水化膜,使供氢体或供质子体暴露出来,从而使其抗氧化活性增强。林松毅等^[22]研究同样表明NaCl是抗氧化肽的良好增效剂。

2.3.2 糖类

小麦肽样品中分别添加等体积的质量分数均为0、2%、4%、6%、8%、10%的葡萄糖和蔗糖,其DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图4所示。

由图4可知,3种自由基清除率随着葡萄糖质量分数的提高均有一定的上升趋势。葡萄糖质量分数为10%时,3种自由基清除率均达到最大,此时

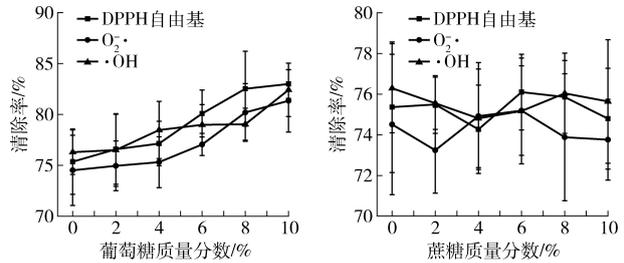


图4 不同糖类质量分数对小麦肽DPPH自由基、 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig. 4 Effects of different sugars on DPPH radical, $O_2^{\cdot-}$ and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率、 $\cdot OH$ 清除率较未添加葡萄糖样品分别提高了10.1%、9.2%、8.0%。这与大量研究结果^[23-26]相一致。还原糖类与蛋白水解产物多肽发生美拉德反应时,生成的还原性物质具有更强的提供质子能力,这可能对增加多肽的抗氧化活性有利。但小麦肽溶液中添加蔗糖后,3种自由基清除率随蔗糖质量分数的提高没有明显变化,原因可能是蔗糖不属于还原性糖,而且常温条件下蔗糖也无法水解。因此,蔗糖与小麦肽无法发生美拉德反应而使小麦肽的结构发生改变,因而对抗氧化活性没有明显影响。

2.3.3 柠檬酸

小麦肽样品中分别添加等体积的质量分数为0、0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%的柠檬酸,其DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图5所示。

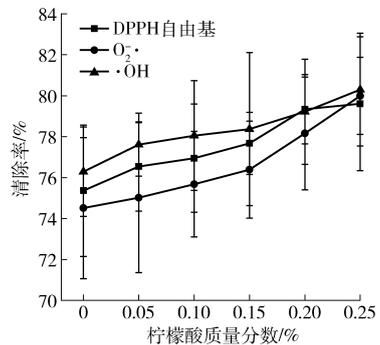


图5 柠檬酸质量分数对小麦肽DPPH自由基、 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig. 5 Effect of citric acid on DPPH radical, $O_2^{\cdot-}$ and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

由图5可知,3种自由基清除率随着柠檬酸质量分数的提高均有一定的上升趋势。柠檬酸质量分数为0.25%时,3种自由基清除率均达到最大,此时DPPH自由基清除率、 $O_2^{\cdot-}$ 清除率、 $\cdot OH$ 清除率较未添加柠檬酸样品分别提高了5.6%、7.4%、5.3%。柠檬酸对小麦肽抗氧化活性起着增效作用,原因可能是柠檬酸具有很多羟基结构,显酸性,其质子可释

放用于还原小麦肽,从而提高抗氧化能力,此外,柠檬酸的多羟基结构有助于螯合能够促进氧化作用的金属离子^[27]。因此,柠檬酸对小麦肽的抗氧化性能提高有帮助。

2.3.4 防腐剂

小麦肽样品中分别添加等体积的质量分数均为0、0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%的山梨酸钾和苯甲酸钠,其DPPH自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图6所示。

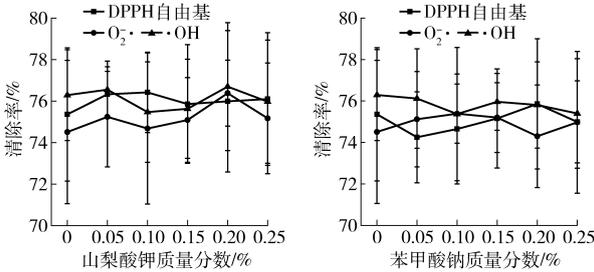


图6 不同防腐剂对小麦肽DPPH自由基、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig. 6 Effect of different preservatives on DPPH radical, O_2^- and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

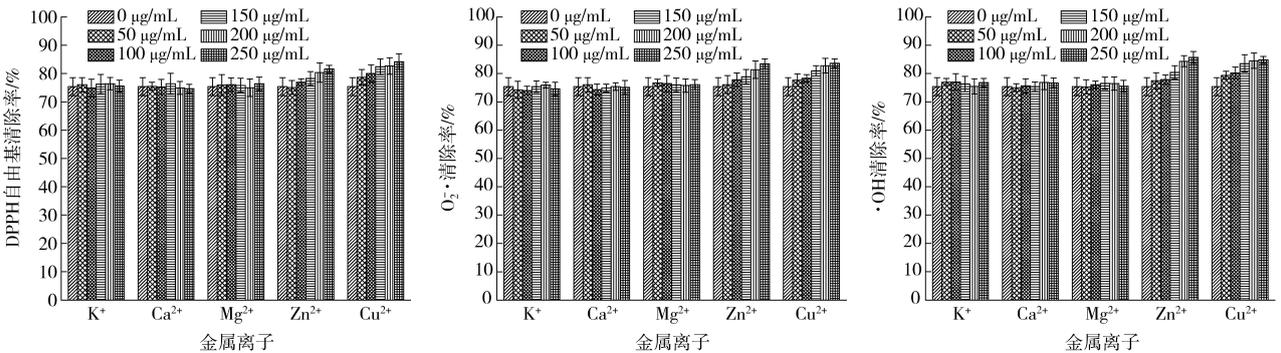


图7 不同金属离子对小麦肽DPPH自由基、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig. 7 Effects of different metal ions on DPPH radical, O_2^- and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

13.7%、12.5%。据文献[28]报道,金属离子对抗氧化剂的抗氧化能力有一定影响。过渡金属离子 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 具有未充满的价层d轨道,更容易形成配合物,且能够引发自由基和非自由基活性氧的产生。因此,小麦肽更容易与 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} 螯合以阻止这些自由基或活性氧的产生,从而实现抗氧化活性。小麦肽具有与金属螯合的能力,且螯合能力越强代表其抗氧化活性越高,金属螯合能力与抗氧化能力之间呈显著的正相关性。

2.5 体外模拟胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响

对小麦肽样品分别进行人工胃液单独消化、人工肠液单独消化以及先人工胃液后人工肠液消化,不同消化方式下其DPPH自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图8所示。

由图6可知,3种自由基清除率随着防腐剂山梨酸钾、苯甲酸钠质量分数的提高均没有发生显著变化,3种自由基清除率均保持在70%以上。这说明食品加工中常用的防腐剂对小麦肽的抗氧化活性没有影响,在国家标准规定的添加范围内添加山梨酸钾和苯甲酸钠不会改变小麦肽的抗氧化活性。

2.4 金属离子对小麦肽抗氧化稳定性的影响

小麦肽样品中分别添加等体积的离子质量浓度均为0、50、100、150、200、250 $\mu g/mL$ 的 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 溶液,其DPPH自由基清除率、 O_2^- 清除率和 $\cdot OH$ 清除率如图7所示。

由图7可知,不同金属离子对3种自由基清除率的影响均不同,其中不同质量浓度的 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 对自由基清除率没有明显影响,而随着 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} 质量浓度的增加对自由基清除率均有一定的提高作用。当 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} 的质量浓度均为250 $\mu g/mL$ 时,小麦肽的DPPH自由基清除率较未添加金属离子样品分别提高了8.3%、11.7%; O_2^- 清除率较未添加金属离子样品分别提高了10.7%、11%; $\cdot OH$ 清除率较未添加金属离子样品分别提高了

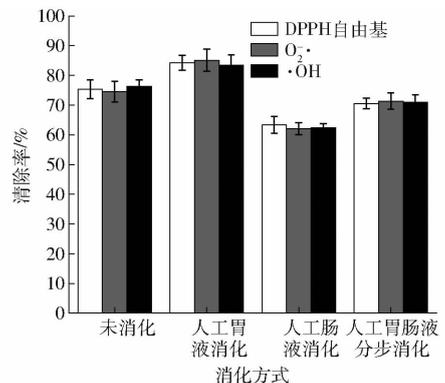


图8 体外模拟胃肠消化对小麦肽DPPH自由基、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 清除率的影响

Fig. 8 Effect of simulated gastrointestinal digestion on DPPH radical, O_2^- and $\cdot OH$ scavenging activities of wheat peptide

由图8可知,经人工胃液单独消化的小麦肽样品3种自由基清除率均有一定的提高,消化2 h后

DPPH 自由基清除率、 O_2^- ·清除率、·OH 清除率较未消化样品分别提高了11.8%、14.2%、9.4%。原因可能是小麦肽经人工胃液中的胃蛋白酶消化酶解后生成更小分子质量的多肽,使得一些疏水性基团进一步暴露出来,导致表面疏水性提高,而高含量的疏水性氨基酸或肽通常与较高自由基清除活性有关^[29]。因此,人工胃液的消化有利于进一步提高小麦肽的抗氧化活性。

人工肠液单独消化结果显示,人工肠液消化2 h后3种自由基清除率均有一定程度的下降,DPPH 自由基清除率、 O_2^- ·清除率、·OH 清除率较未消化样品分别下降了16.0%、16.6%、18.3%。肠液在蛋白质消化过程中的主要作用是将蛋白质或多肽进一步水解为可被人体吸收的小肽(主要为二肽、三肽等)和氨基酸,这使得多肽中主要产生抗氧化活性的大量肽段被进一步裂解,从而导致抗氧化活性降低。本研究表明人工肠液中的胰蛋白酶对小麦肽的消化酶解能力比胃蛋白酶更强,这对小麦肽经人工肠液消化后抗氧化活性的保持有不利影响。杜柄宣^[30]对酪蛋白的体外模拟胃肠消化研究同样表明酪蛋白在模拟肠消化中的水解度显著高于胃消化。陈亮等^[31]研究也表明在玉米低聚肽体外模拟胃肠消化过程中,胰蛋白酶的消化能力要稍强于胃蛋白酶。经人工胃液和人工肠液消化后产物抗氧化活性的显著差异可能归因于胃蛋白酶和胰蛋白酶的作用点位和作用机理不同,2种酶的不同特性使肽水解成不同的肽片段,从而造成抗氧化活性的不同^[32]。

模拟人体胃肠消化模式,先经人工胃液消化2 h

后再经人工肠液消化2 h,胃肠分步消化后的小麦肽样品 DPPH 自由基清除率、 O_2^- ·清除率、·OH 清除率较未消化样品分别下降了6.4%、4.2%、7.1%。这主要原因是小麦肽样品经胃蛋白酶、胰蛋白酶双酶分步消化酶解后,小麦肽酶解更彻底,生成了更多的氨基酸。小肽的高抗氧化活性主要依靠肽链中氨基酸的协同作用产生的,所以氨基酸相比小肽而言其抗氧化能力小很多。这导致了小麦肽经胃肠分步消化后其抗氧化活性有一定下降,但下降幅度不大,仍能保持较高的抗氧化活性,3种自由基清除率均能保持在70%以上,这有利于小麦肽作为功能基料在功能食品中的添加应用。

3 结束语

研究了不同加工条件及体外模拟胃肠消化对小麦肽抗氧化稳定性的影响。研究结果显示,对小麦肽分别进行热处理以及添加蔗糖、山梨酸钾、苯甲酸钠、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对其抗氧化活性均没有明显影响;添加 NaCl、葡萄糖、柠檬酸、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 对其抗氧化活性均有一定提高作用;碱性条件下小麦肽抗氧化活性下降明显;人工胃液单独消化有助于提高小麦肽的抗氧化活性,而人工肠液单独消化则导致其抗氧化活性明显下降,人工胃液、人工肠液分步消化同样致使小麦肽抗氧化活性有所下降,但仍能保持较高的抗氧化活性。不同加工条件及胃肠消化方式对小麦肽的抗氧化活性影响各异,因此,采取合理优化的加工条件有利于避免小麦肽抗氧化活性的下降,本试验结果可为小麦肽在食品工业中的应用提供理论参考。

参 考 文 献

- 1 WIESER H. Chemistry of gluten proteins[J]. Food Microbiology, 2007, 24(2): 115 - 119.
- 2 GIANIBELLI M C, LARROQUE O R, MACRITCHIE F, et al. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits[J]. Cereal Chemistry, 2001, 78(6): 635 - 646.
- 3 DRAGO S R, GONZÁLEZ R J. Foaming properties of enzymatically hydrolysed wheat gluten[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2000, 1(4): 269 - 273.
- 4 BOLLECKER S, VIROBEN G, POPINEAU Y, et al. Acid deamidation and enzymatic modification at pH10 of wheat gliadins: influence on their functional properties[J]. Sciences Des Aliments, 1990, 10(2): 343 - 356.
- 5 ŽILIC S, AKILLIOĞLU G, SERPEN A, et al. Effects of isolation, enzymatic hydrolysis, heating, hydration and Maillard reaction on the antioxidant capacity of cereal and legume proteins[J]. Food Research International, 2012, 49(1): 1 - 6.
- 6 ZHU K X, ZHOU H M, QIAN H F. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(6): 1296 - 1302.
- 7 WANG J S, ZHAO M M, ZHAO Q Z, et al. Antioxidant properties of papain hydrolysates of wheat gluten in different oxidation systems[J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1658 - 1663.
- 8 MOTOI H, KODAMA T. Isolation and characterization of angiotensin I—converting enzyme inhibitory peptides from wheat gliadin hydrolysate[J]. Food Nahrung, 2003, 47(5): 354 - 358.
- 9 JIA J Q, MA H, ZHAO W R, et al. The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE-inhibitory peptides from wheat germ protein[J]. Food Chemistry, 2010, 119(1): 336 - 342.
- 10 THEWISSEN B G, PAULY A, CELUS I, et al. Inhibition of angiotensin I converting enzyme by wheat gliadin hydrolysates[J]. Food

- Chemistry, 2011, 127(4): 1653 – 1658.
- 11 FUKUDOME S I, JINSMAA Y, MATSUKAWA T, et al. Release of opioid peptides, gluten exorphins by the action of pancreatic elastase[J]. FEBS Letters, 1997, 412(3): 475 – 479.
- 12 CALZUOLA I, GIAVARINI F, SASSI P, et al. Short acidic peptides isolated from wheat sprout chromatin and involved in the control of cell proliferation. Characterization by infrared spectroscopy and mass spectrometry[J]. Peptides, 2005, 26(11): 2074 – 2085.
- 13 ZHU C Z, ZHANG W G, KANG Z L, et al. Stability of an antioxidant peptide extracted from Jinhua ham[J]. Meat Science, 2014, 96(2): 783 – 789.
- 14 LI X C, LIN J, GAO Y X, et al. Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma Cimicifugae*[J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6: Article140.
- 15 LI X C. Improved pyrogallol autoxidation method: a reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(25): 6418 – 6424.
- 16 HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M C, ARUOMA O I. The deoxyribose method: a simple “test tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals[J]. Analytical Biochemistry, 1987, 165(1): 215 – 219.
- 17 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2010年版二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- 18 江慎华, 蔡志鹏, 廖亮, 等. 丁香抗氧化活性物质提取及人工胃肠液对其活性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2012, 43(7): 149 – 155. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20120728&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.07.028.
- JIANG Shenhua, CAI Zhipeng, LIAO Liang, et al. Extraction of antioxidants from clove and effect of artificial gastrointestinal juice immersion on its antioxidant properties[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(7): 149 – 155. (in Chinese)
- 19 YOU L, ZHAO M, REGENSTEIN J M, et al. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Chemistry, 2010, 120(3): 810 – 816.
- 20 ARCAN I, YEMENICIOĞLU A. Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans[J]. Food Chemistry, 2007, 103(2): 301 – 312.
- 21 LIARDONY R, JOST R. Racemization of free and protein-bound amino acids in strong mineral acid[J]. International Journal of Peptide and Protein Research, 1981, 18(5): 500 – 505.
- 22 林松毅, 郭洋, 王莹, 等. 蛋清抗氧化肽增效剂的优化[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2010, 38(8): 100 – 104.
- LIN Songyi, GUO Yang, WANG Ying, et al. Optimization of synergist of antioxidant peptide derived from egg white protein[J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2010, 38(8): 100 – 104. (in Chinese)
- 23 GUÉRARD F, SUMAYA-MARTINEZ M T. Antioxidant effects of protein hydrolysates in the reaction with glucose[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2003, 80(5): 467 – 470.
- 24 DELGADO-ANDRADE C, MORALES F J, SEIQUER I, et al. Maillard reaction products profile and intake from Spanish typical dishes[J]. Food Research International, 2010, 43(5): 1304 – 1311.
- 25 BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, PHONGKANPAI V, et al. Antioxidative activity of caramelisation products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince[J]. Food Chemistry, 2005, 90(1–2): 231 – 239.
- 26 SU G, ZHENG L, CUI C, et al. Characterization of antioxidant activity and volatile compounds of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of peanut hydrolysate[J]. Food Research International, 2011, 44(10): 3250 – 3258.
- 27 王莹. 茶多酚的抗氧化和抑菌活性及其增效剂[J]. 生物学杂志, 2007, 24(5): 54 – 56.
- WANG Ying. The antioxidation and antimicrobial activities of tea polyphenols and its increased reagents[J]. Journal of Biology, 2007, 24(5): 54 – 56. (in Chinese)
- 28 NKHILI E, BRAT P. Reexamination of the ORAC assay: effect of metal ions[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 400(5): 1451 – 1458.
- 29 RAJAPAKSE N, MENDIS E, JUNG W K, et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties[J]. Food Research International, 2005, 38(2): 175 – 182.
- 30 杜纳宣. 牛乳酪蛋白胃肠水解多肽检测及其 Caco-2 细胞吸收模型建立[D]. 西安: 陕西科技大学, 2016.
- DU Ruixuan. Detection of gastrointestinal hydrolysis from milk casein and its absorption through Caco-2 monolayer cell model[D]. Xi'an: Shanxi University of Science and Technology, 2016. (in Chinese)
- 31 陈亮, 林峰, 金镇涛, 等. 玉米低聚肽稳定性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 61 – 65.
- CHEN Liang, LIN Feng, JIN Zhentao, et al. Study on stability of corn oligopeptide[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(12): 61 – 65. (in Chinese)
- 32 周存山, 秦晓帆, 余筱洁, 等. 绿鳍马面鲀鱼皮蛋白抗氧化肽模拟胃肠消化制备[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(8): 211 – 216. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20150829&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.08.029.
- ZHOU Cunshan, QIN Xiaopei, YU Xiaojie, et al. Antioxidant activity and characteristics of simulated gastrointestinal digestion hydrolysate from filefish *Navodon septentrionalis* skin protein[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(8): 211 – 216. (in Chinese)