

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241204004

引用格式: 刘小芳, 李向阳, 付晓艳, 等. 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的抗氧化活性及稳定性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(10): 302-308.

LIU XF, LI XY, FU XY, *et al.* Study on the antioxidant activity and stability of peptides from the visceral of *Todarodes pacificus* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(10): 302-308. (in Chinese with English abstract).

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的抗氧化活性及稳定性研究

刘小芳¹, 李向阳^{1,2}, 付晓艳^{1,2}, 李福后², 王伟霞², 冷凯良^{1,3*}

- 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业农村部极地渔业可持续利用重点实验室, 青岛 266071;
- 江苏海洋大学海洋食品与生物工程学院, 江苏省海洋生物资源与环境重点实验室, 连云港 222005;
- 青岛海洋科技中心, 海洋药物与生物制品功能实验室, 青岛 266237)

摘要: **目的** 分析探究太平洋褶柔鱼(*Todarodes pacificus*)内脏蛋白肽的抗氧化活性及稳定性。**方法** 测定太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的自由基清除能力, 评价其抗氧化活性, 并考察温度、酸碱、胃肠道消化等因素对其稳定性的影响。**结果** 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具有良好的自由基清除能力, 其清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH)自由基、2,2-联氮-2(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS]阳离子自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基的半数抑制浓度(half maximal inhibition concentration, IC₅₀)分别为 1.38、15.26、0.90、2.21 mg/mL。该蛋白肽的抗氧化活性在 25~100 °C温度范围内较为稳定; 在 pH 7.0~8.0 条件下其抗氧化活性变化不显著 ($P>0.05$), 但在强酸或强碱条件下其抗氧化活性显著下降 ($P<0.05$); 经体外模拟胃肠道消化后, 该蛋白肽依然能够维持良好的抗氧化活性。**结论** 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具备良好的抗氧化活性与稳定性, 但在其加工与贮藏过程中还应注意避免高温与极端酸碱条件的影响。研究成果可为太平洋褶柔鱼内脏资源的高值化利用开辟新途径, 也可为天然抗氧化肽的开发提供科学指导。

关键词: 太平洋褶柔鱼内脏; 蛋白肽; 抗氧化活性; 稳定性

Study on the antioxidant activity and stability of peptides from the visceral of *Todarodes pacificus*

LIU Xiao-Fang¹, LI Xiang-Yang^{1,2}, FU Xiao-Yan^{1,2}, LI Fu-Hou²,
WANG Wei-Xia², LENG Kai-Liang^{1,3*}

- Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Sustainable Development of Polar Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao 266071, China;
- School of Ocean Food and Biological Engineering, Jiangsu Ocean University, Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Lianyungang 222005, China;
- Laboratory for Marine Drugs and Bioproducts, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266237, China)

收稿日期: 2024-12-04

基金项目: 青岛市关键技术攻关及产业化示范类项目(23-1-3-hysf-1-hy)

第一作者: 刘小芳(1987—), 女, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品加工与利用。E-mail: liuxiaofang@ysfri.ac.cn

*通信作者: 冷凯良(1966—), 男, 研究员, 主要研究方向为水产品加工与利用。E-mail: lengkl@ysfri.ac.cn

ABSTRACT: Objective To explore the antioxidant activity and stability of peptides from the visceral of *Todarodes pacificus*. **Methods** Free radical scavenging capacities of peptides from the visceral of *Todarodes pacificus* were determined, while the effects of temperature, pH and gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of peptides from the visceral of *Todarodes pacificus* were also evaluated. **Results** The peptides from the visceral of *Todarodes pacificus* exhibited excellent free radical scavenging abilities, with half maximal inhibition concentration (IC₅₀) values of 1.38, 15.26, 0.90 and 2.21 mg/mL for scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) cationic radicals, hydroxyl radicals, and superoxide anion radicals, respectively. The antioxidant activity of the peptides remained relatively stable within a temperature range of 25–100 °C. Under pH conditions of 7.0–8.0, their antioxidant activity showed no significant change ($P>0.05$), but it significantly decreased under strongly acidic or alkaline conditions ($P<0.05$). After *in vitro* simulated gastrointestinal digestion, the peptides still maintained strong antioxidant activity. **Conclusion** The peptides from the visceral of *Todarodes pacificus* has good antioxidant activity and stability, but it shall be noted that the processing and storage of its related products avoid the influence of high temperature and extreme acid-base conditions. The present research will open up new ways for the high-value utilization of the visceral of *Todarodes pacificus* resources and provide scientific guidance for the innovative development of natural antioxidant peptides.

KEY WORDS: visceral of *Todarodes pacificus*; peptides; antioxidant activity; stability

0 引言

我国是全球最重要的鱿鱼生产、加工和消费国家之一^[1], 据《2023 年全国渔业经济统计公报》数据显示, 2023 年我国头足类捕捞产量 59.36 万 t, 在远洋渔业捕捞总产量中占比达到 25.56%^[2]。近年来, 我国鱿鱼年加工量保持在 40~50 万 t, 行业产值超百亿元。鱿鱼产业的发展质量影响着我国远洋捕捞业和水产品加工业的提质升级, 然而目前捕获的鱿鱼主要用来加工生产鱿鱼丝、鱿鱼干、鱿鱼脆片等初级加工产品, 精深加工利用程度较低^[1,3]。此外, 在鱿鱼初级加工产品生产过程中所产生的大量副产物, 包括内脏团、皮、眼等, 约达到鱿鱼总重量的 25%左右, 而该部分资源通常只被简单加工为鱿鱼膏、鱿鱼油等产品或直接应用于饲料行业^[1,3-6], 尚未被最有效加工利用, 造成资源浪费和环境污染等问题, 一定程度上影响着产业高质量发展。太平洋褶柔鱼(*Todarodes pacificus*, *T. pacificus*), 又称太平洋斯氏柔鱼、日本飞鱿鱼, 主要分布于西北太平洋海域, 资源量丰富, 是我国主要的鱿鱼捕捞品种^[7], 在其加工过程中所产生的内脏团等副产物亦尚未被合理利用。本团队前期研究发现^[1], 该内脏团富含蛋白质且氨基酸组成符合联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)/世界卫生组织(World Health Organization, WHO)规定的优质蛋白标准, 具有良好的开发价值。深入探究太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的功能活性, 挖掘其在健康食品、医药制品等领域的应用价值, 是实现太平洋褶柔鱼资源高值全利用的有效切入点, 并将有助于推动鱿鱼产业实现绿色低碳高质量发展。

近年来, 以水产品及其加工副产物为原料提取制备功

能活性肽已成为产业关注的焦点, 其中抗氧化肽是被研究探讨最多的一种活性肽^[8]。与合成类抗氧化剂相比, 天然抗氧化肽的功能活性更强、吸收效果更好、安全性更高, 并且加工过程更具环境友好性, 已被广泛应用于健康食品、医药制品等多个领域^[9]。目前, 以鱿鱼及其加工副产物为原料制备蛋白肽的工艺研究已初见报道^[10-11], 但鲜少有研究对此类蛋白肽的抗氧化活性及稳定性进行较为系统地分析评价。

鉴于此, 本研究以采用太平洋褶柔鱼内脏团为原料酶解制备的蛋白肽为研究对象, 通过测定 4 种自由基清除能力系统评价其抗氧化活性, 并考察温度、酸碱、胃肠道消化等因素对其稳定性的影响, 以期对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的精准利用提供理论支持, 为推进实现鱿鱼资源综合高值全利用提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

太平洋褶柔鱼内脏团(包含肝脏、胃、生殖腺、消化腺、墨囊等内脏器官): 威海博宇食品有限公司。

碱性蛋白酶 Alcalase 2.4 L [2×10^5 U/mL, 丹麦诺维信(中国)生物技术有限公司]; 胃蛋白酶(250 U/mg)、胰蛋白酶(250 U/mg)、Lowry 法蛋白浓度测定试剂盒(PC0030)(北京索莱宝科技有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH, 纯度 $\geq 97\%$, 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司]; 2,2'-联氮-2(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS, 纯度 $\geq 98\%$, 上海麦克林生化科技有限公司]; 过氧化氢、盐酸(分析纯, 西陇

科学股份有限公司); 过硫酸钾、硫酸亚铁、水杨酸、三羟甲基氨基甲烷[Tris (hydroxymethyl) aminomethane, Tris]、邻苯三酚、乙醇、氢氧化钠、粉末活性炭(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

BSA224S-CW 型电子分析天平(精度 0.0001 g, 赛多利斯科学仪器有限公司); ST3100 型 pH 计(常州奥豪斯仪器有限公司); Neofuge 15R 型离心机(上海力申科学仪器有限公司); AFA-18-200 型膜元件(山东博纳生物科技集团有限公司); XS-Y-MINI-2 型有机膜设备(南京诺润机械科技有限公司); CTFD-10P 型真空冷冻干燥机(青岛永合创信电子科技有限公司); SHA-B 型恒温水浴摇床、HH-4 型恒温水浴锅(常州智博瑞仪器制造有限公司); UV1-102II 型紫外/可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽制备

参照文献[10]的方法略作修改, 制备太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽: 太平洋褶柔鱼内脏团经真空冷冻干燥(冷阱温度 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 真空度 0.098 Mpa)后, 磨碎, 混合均匀, 按照料液比 1:6 (g:mL)加入 50 mmol/L pH 7.5 磷酸盐缓冲液, 按照质量分数 0.35%加入碱性蛋白酶 Alcalase 2.4 L, 充分混匀, 于 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应 4 h 后, 煮沸灭酶 10 min, 静置冷却至 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加入 10 g/L 粉末活性炭, 充分混匀, 吸附脱色 1 h 后, 于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 采用 200 Da 截留分子量的滤膜进行脱盐处理, 收集截留液, 经真空冷冻干燥(冷阱温度 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 真空度 0.098 Mpa)得到太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽。按照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》规定的凯氏定氮法测得其总蛋白质含量 90.45%; 按照 GB 31645—2018《食品安全国家标准 胶原蛋白肽》中附录 A 规定的方法测得其相对分子质量集中分布于 189~6512 Da, 其中 3000 Da 以下的蛋白肽占比为 98.65%。

1.3.2 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的抗氧化活性测定

1) DPPH 自由基清除能力测定

取质量浓度为 0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/mL 的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 按照文献[9,12]的方法测定: 将 1.5 mL 不同质量浓度的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液与 1.5 mL 0.2 mmol/L DPPH 乙醇溶液混合, 室温避光放置, 反应 30 min 后于 517 nm 处测定吸光值($A_{\text{样品}}$)。采用乙醇溶液代替 DPPH 乙醇溶液测定空白吸光值($A_{\text{空白}}$), 采用蒸馏水代替太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液测定对照吸光值($A_{\text{对照}}$)。DPPH 自由基清除率计算如公式(1):

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}}}\right) \times 100\% \quad (1)$$

2) ABTS 阳离子自由基清除能力测定

取质量浓度为 1.6、3.2、6.4、12.8、25.6 mg/mL 的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 按照文献[9,12]的方法测定: 将 25 mL 7 mmol/L ABTS 乙醇溶液与 0.44 mL 2.4 mmol/L 过硫酸钾溶液混合, 室温避光贮存 12~16 h, 采用乙醇稀释至 734 nm 处吸光度值为 0.70 ± 0.02 , 配制成 ABTS 试剂。将 0.15 mL 不同质量浓度的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液与 3 mL ABTS 试剂混合, 室温避光放置, 反应 20 min 后于 734 nm 处测定吸光值($B_{\text{样品}}$)。采用 ABTS 乙醇溶液代替 ABTS 试剂测定空白吸光值($B_{\text{空白}}$), 采用蒸馏水代替太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液测定对照吸光值($B_{\text{对照}}$)。ABTS 阳离子自由基清除率计算如公式(2):

$$\text{ABTS 阳离子自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{B_{\text{样品}} - B_{\text{空白}}}{B_{\text{对照}}}\right) \times 100\% \quad (2)$$

3) 羟自由基清除能力测定

取质量浓度为 0.125、0.250、0.500、1.000、2.000 mg/mL 的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 按照文献[9,12]的方法测定: 将 1 mL 不同质量浓度的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液与 0.5 mL 9 mmol/L 硫酸亚铁溶液、1 mL 9 mmol/L 水杨酸乙醇溶液、1 mL 4.4 mmol/L 过氧化氢溶液和 2 mL 蒸馏水混合, 置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴, 反应 30 min 后于 510 nm 下测定吸光值($C_{\text{样品}}$)。采用乙醇代替水杨酸乙醇溶液测定空白吸光值($C_{\text{空白}}$), 采用蒸馏水代替太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液测定对照吸光值($C_{\text{对照}}$)。羟自由基清除率计算如公式(3):

$$\text{羟自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{C_{\text{样品}} - C_{\text{空白}}}{C_{\text{对照}}}\right) \times 100\% \quad (3)$$

4) 超氧阴离子自由基清除能力测定

取质量浓度为 0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 mg/mL 的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 按照文献[9,12]的方法测定: 将 0.1 mL 不同质量浓度的太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液与 4.5 mL 50 mmol/L Tris-盐酸缓冲液(pH 8.2)充分混合, 在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴保温 25 min, 然后立刻加入 0.1 mL 3 mmol/L 邻苯三酚溶液(使用 10 mmol/L 盐酸溶液配制), 迅速混匀后于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 5 min, 结束后立即在 325 nm 下测定吸光值($D_{\text{样品}}$)。采用蒸馏水代替邻苯三酚溶液测定空白吸光值($D_{\text{空白}}$), 采用蒸馏水代替太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液测定对照吸光值($D_{\text{对照}}$)。超氧阴离子自由基清除率计算如公式(4):

$$\text{超氧阴离子自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{D_{\text{样品}} - D_{\text{空白}}}{D_{\text{对照}}}\right) \times 100\% \quad (4)$$

1.3.3 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽稳定性测定

1) 温度对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响

按照文献[9,12-14]的方法, 取质量浓度为 0.9 mg/mL 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 测定其于 25、37、60、80、 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴保温 1 h 后的羟自由基清除率。

2) pH 对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响

按照文献[9,14-15]的方法, 取质量浓度为 0.9 mg/mL

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 测定其处于 pH 2.0、4.0、6.0、7.0、8.0、10.0、12.0 条件下 1 h 后的羟自由基清除率。

3) 体外模拟胃肠道消化对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响

按照文献[9,12]方法, 取质量浓度为 0.9 mg/mL 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽溶液, 调节 pH 至 2.0, 加入底物质量分数 4.0%的胃蛋白酶, 混合均匀, 于 37 °C 反应 1.5 h, 而后再将消化液分为两等份, 一份煮沸 10 min 终止反应, 即得胃消化样品; 另一份继续反应, 调节 pH 至 7.5, 加入底物质量分数 4.0%的胰蛋白酶, 混合均匀, 于 37 °C 反应 2 h, 而后煮沸 10 min 终止反应, 即得胃肠消化样品; 分别测定消化前、胃消化、胃肠消化样品的羟自由基清除率。

1.4 数据处理

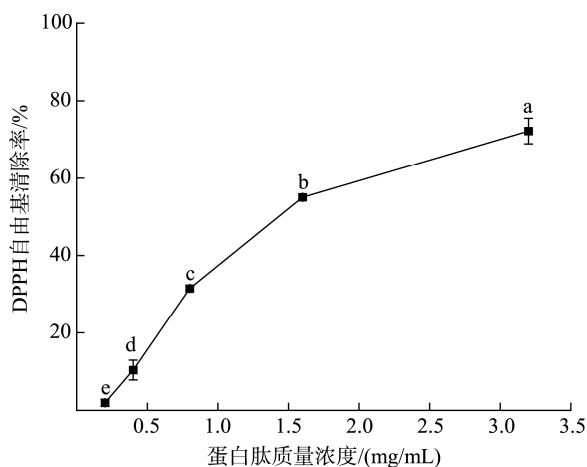
实验平行测定 3 次, 实验数据采用“平均值±标准偏差”的形式表示, 采用 IBM SPSS 13.0、Excel 2019、Origin 2022 等软件进行数据处理和图形绘制。采用单因素方差分析进行组间多重比较, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的抗氧化活性

2.1.1 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 DPPH 自由基清除能力

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 DPPH 自由基清除能力测定结果见图 1。由图 1 可知, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽质量浓度在 0.2~3.2 mg/mL 范围时, DPPH 自由基清除率为 (1.96±0.89)%~(72.21±3.32)%; 随着蛋白肽质量浓度的升高, 其 DPPH 自由基清除率显著增加 ($P < 0.05$)。经计算, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽清除 DPPH 自由基的半数抑制浓度 (half maximal inhibition concentration, IC_{50}) 为 1.38 mg/mL。与已



注: 不同字母标识表示不同实验组间具有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 DPPH 自由基清除能力 ($n=3$)
Fig.1 DPPH free radical scavenging ability of peptides from the visceral of *T. pacificus* ($n=3$)

有报道的鲍鱼内脏蛋白肽^[16](IC_{50} 值 1.51 mg/mL)、鳕鱼加工副产物蛋白肽^[17](IC_{50} 值 10.02 mg/mL)、马面鱼皮胶原蛋白肽^[18](IC_{50} 值 1.80 mg/mL)等水产品加工副产物来源蛋白肽相比, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具有更强的 DPPH 自由基清除能力。

2.1.2 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 ABTS 阳离子自由基清除能力

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 ABTS 阳离子自由基清除能力测定结果见图 2。由图 2 可知, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽质量浓度在 1.6~25.6 mg/mL 范围时, ABTS 阳离子自由基清除率为 (4.17±1.31)%~(76.52±0.01)%; 随着蛋白肽质量浓度的升高, 其 ABTS 阳离子自由基清除率整体上显著增加 ($P < 0.05$)。经计算, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽清除 ABTS 阳离子自由基的 IC_{50} 值为 15.26 mg/mL。太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 ABTS 阳离子自由基清除能力优于鲍鱼内脏蛋白肽^[19](IC_{50} 值 17.41 mg/mL), 弱于西班牙鲭鱼皮胶原蛋白肽^[20](IC_{50} 值 1.07 mg/mL)。

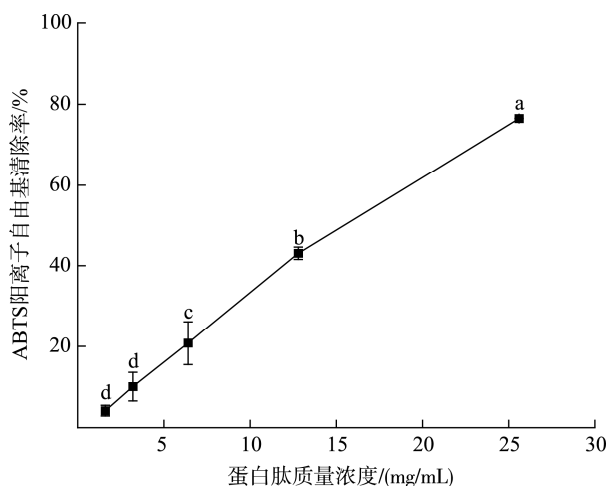


图 2 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的 ABTS 阳离子自由基清除能力 ($n=3$)

Fig.2 ABTS cation free radical scavenging ability of peptides from the visceral of *T. pacificus* ($n=3$)

2.1.3 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的羟自由基清除能力

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的羟自由基清除能力测定结果见图 3。由图 3 可知, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽质量浓度在 0.125~2.000 mg/mL 范围时, 羟自由基清除率为 (7.53±2.59)%~(91.16±0.99)%; 随着蛋白肽质量浓度的升高, 其羟自由基清除率整体上显著增加 ($P < 0.05$)。经计算, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽清除羟自由基的 IC_{50} 值为 0.90 mg/mL。与已有报道的北太平洋鲑鱼内脏蛋白肽^[21](IC_{50} 值 1.85 mg/mL)、鳕鱼加工副产物蛋白肽^[17](IC_{50} 值 2.94 mg/mL)、鳕鱼软骨蛋白肽^[22](IC_{50} 值 5.03 mg/mL)等水产品加工副产物来源蛋白肽相比, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具有更强的羟自由基清除能力。与其清除 DPPH 自由基 (IC_{50} 值 1.38 mg/mL)、

ABTS 阳离子自由基(IC₅₀ 值 15.26 mg/mL)和超氧阴离子自由基(IC₅₀ 值 2.21 mg/mL)的能力相比,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽清除羟自由基(IC₅₀ 值 0.90 mg/mL)的能力更强,反应更为灵敏。因此后续采用羟自由基清除率作为评价指标考察太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽在不同温度、酸碱及模拟胃肠道消化条件下的稳定性。

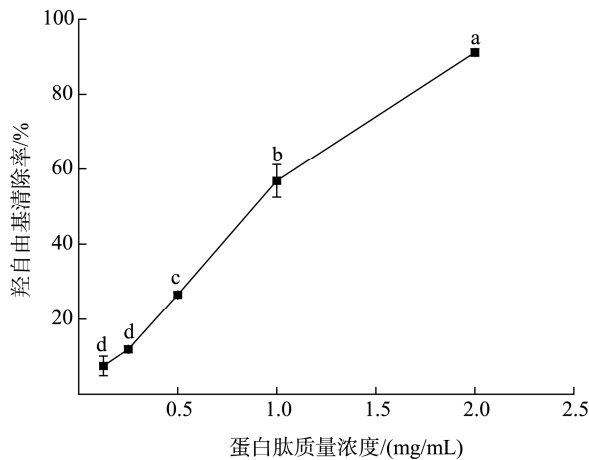


图 3 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的羟自由基清除能力(n=3)
Fig.3 Hydroxyl radical scavenging ability of peptides from the visceral of *T. pacificus* (n=3)

2.1.4 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的超氧阴离子自由基清除能力

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的超氧阴离子自由基清除能力测定结果见图 4。由图 4 可知,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽质量浓度在 0.4~6.4 mg/mL 时,羟自由基清除率为(33.63±2.92)%~(57.46±3.08)%;随着蛋白肽质量浓度的升高,其超氧阴离子自由基清除率整体上显著增加(P<0.05)。经计算,

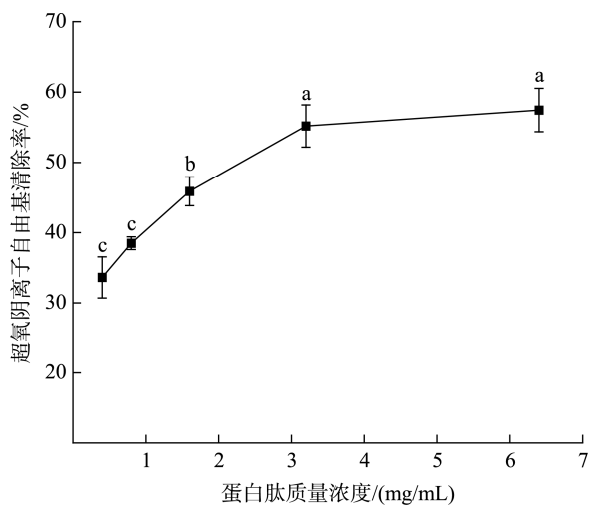


图 4 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的超氧阴离子自由基清除能力(n=3)
Fig.4 Superoxide anion radical scavenging ability of peptides from the visceral of *T. pacificus* (n=3)

太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽清除超氧阴离子自由基的 IC₅₀ 值为 2.21 mg/mL。与已有报道的皱纹盘鲍内脏蛋白肽^[23](IC₅₀ 值 4.92 mg/mL)、大青鲨鱼皮胶原蛋白肽^[24](IC₅₀ 值 7.32 mg/mL)、鳕鱼鱼皮胶原蛋白肽^[25](IC₅₀ 值 7.98 mg/mL)等水产品加工副产物来源蛋白肽相比,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具有更强的超氧阴离子自由基清除能力。

2.2 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的稳定性研究

2.2.1 温度对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响

由图 5 可知,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽在 25~100 °C 范围内,其羟自由基清除率呈现先升高后下降的变化趋势;在 25~60 °C 范围内,其羟自由基清除率随着温度升高而略有提高,但变化不显著(P>0.05);在温度超过 60 °C 后,随着温度的继续升高,其羟自由基清除率出现下降(P<0.05);在温度到达 100 °C 时,其羟自由基清除率仍能保持原有的 86.87%;这与 ZHU 等^[26]的研究结果较为一致。适当升温能使多肽的一级结构发生改变,生成更多的短链多肽,暴露出更多的活性基团,从而提高其抗氧化活性;但随着温度继续升高,多肽结构中的化学键遭到破坏,其抗氧化活性出现下降^[27]。综上,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽拥有良好的热稳定性,但在其相关产品的加工过程中仍需要注意避免高温的影响。

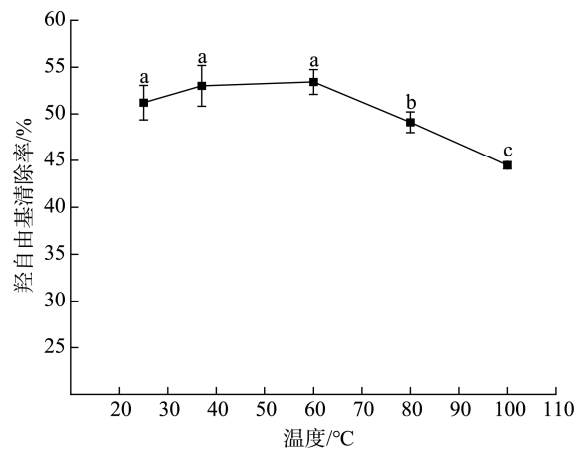


图 5 温度对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响(n=3)
Fig.5 Effects of temperature on the antioxidant activity of peptides from the visceral of *T. pacificus* (n=3)

2.2.2 pH 对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响

由图 6 可知,在 pH 为 2.0~12.0 范围内,随着 pH 的增加,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的羟自由基清除率呈现先升高后降低的变化趋势,且整体变化显著(P<0.05);pH 为 7.0 时,太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的羟自由基清除率最高;酸性条件对其抗氧化活性的影响大于碱性条件(P<0.05),在 pH 为 2.0 和 12.0 时,其羟自由基清除率分别降至原有的 79.19%和 86.41%。在酸性条件下,多肽中的酰胺键易被催化水解断裂,而在碱性条件下,多肽易发生外消旋反应,

部分 L-型氨基酸转变成 D-型氨基酸, 肽链构象的改变抑制了其与自由基结合的能力, 最终造成多肽的抗氧化活性降低^[28-29]。综上, 在太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽相关产品的加工过程中要注意避免强酸强碱的影响。

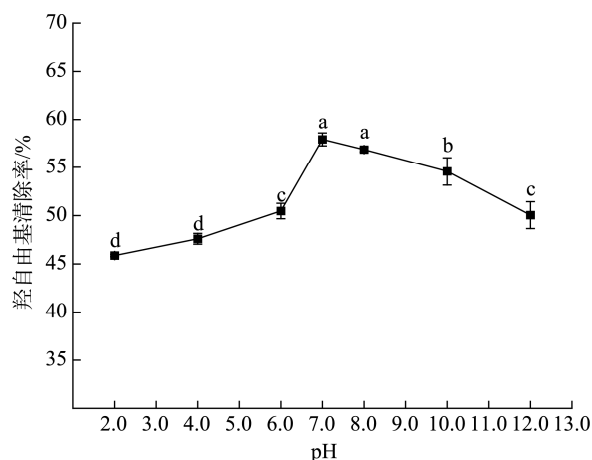


图 6 pH 对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响($n=3$)
Fig.6 Effects of pH on the antioxidant activity of peptides from the visceral of *T. pacificus* ($n=3$)

2.2.3 模拟胃肠道消化对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响

由图 7 可知, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽在模拟胃肠消化过程中, 其羟自由基清除率呈现先降低后升高的变化趋势; 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽经模拟胃消化处理后, 其羟自由基清除率由 $(52.54 \pm 1.24)\%$ 下降至 $(51.37 \pm 1.74)\%$, 变化不显著($P>0.05$); 再经模拟肠消化处理后, 其羟自由基清除率有所提高, 升高至 $(59.64 \pm 1.51)\%$, 变化显著($P<0.05$); 这与 KETNAWA 等^[30]的研究结果较为一致。多肽的功能活

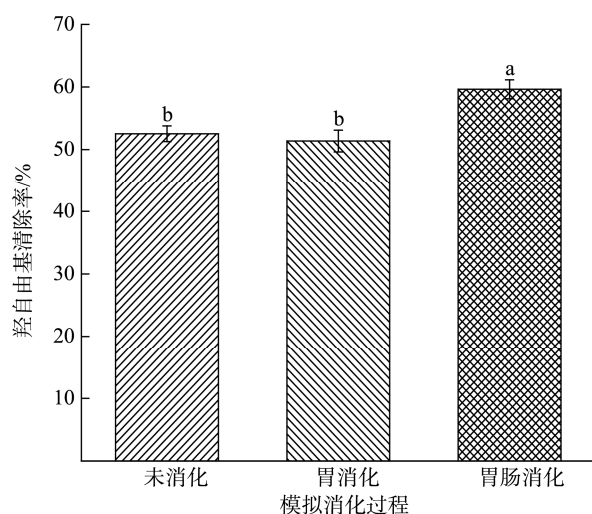


图 7 模拟胃肠道消化对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性的影响($n=3$)

Fig.7 Effects of simulated gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of peptides from the visceral of *T. pacificus* ($n=3$)

性依赖于其独特结构, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽在模拟胃消化过程中, 部分活性多肽受到破坏, 导致其与羟自由基发生反应的能力减弱; 而在模拟肠消化过程中, 长链多肽被进一步降解为短链多肽, 暴露出更多的活性基团, 使其与羟自由基发生反应的能力有所增强。综上, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽经模拟胃肠道消化后仍能保持良好的抗氧化活性, 较好的消化稳定性有助于其在生物体内发挥有效的抗氧化作用。

3 结论

本研究对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽抗氧化活性及稳定性进行了分析与评价。抗氧化活性研究结果表明, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具有良好的自由基清除能力, 其清除 DPPH 自由基、ABTS 阳离子自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基的 IC_{50} 值分别为 1.38、15.26、0.90、2.21 mg/mL。稳定性研究结果表明, 太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽具有良好的热稳定性和消化稳定性; pH 对其稳定性具有一定影响, 在强酸、强碱条件下抗氧化活性明显降低。未来研究可对太平洋褶柔鱼内脏蛋白肽的制备工艺进行优化, 对抗氧化活性最优组分进行分离纯化和筛选鉴定, 并深入解析其作用机制, 定向开发健康食品、化妆品、医药制品等领域的功能产品。本研究对于推进鱿鱼加工副产物资源合理利用和新型抗氧化肽高值产品开发具有积极意义。

参考文献

- [1] 辛云, 刘小芳, 王西西, 等. 太平洋褶柔鱼内脏团营养成分分析与评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(11): 294-300.
XIN Y, LIU XF, WANG XX, et al. Analysis and evaluation of nutritional components of visceral mass from *Todarodes pacificus* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(11): 294-300.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局. 2023 年全国渔业经济统计公报发布[J]. 水产科技情报, 2024, 51(4): 269.
Fisheries and Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs. The 2023 national fisheries economic statistics bulletin is released [J]. Fisheries Science and Technology Information, 2024, 51(4): 269.
- [3] CUI Z, MANOLI T, NIKITCHINA T, et al. Trends in the manufacture of processed squid products [J]. Food Science and Technology, 2020, 14(1): 89-97.
- [4] LIAN PZ, LEE CM, PARK E. Characterization of squid-processing byproduct hydrolysate and its potential as aquaculture feed ingredient [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(14): 5587-5592.
- [5] SINGH A, MITTAL A, BENJAKUL S. Full utilization of squid meat and its processing by-products: Revisit [J]. Food Reviews International, 2022, 38(4): 455-479.
- [6] CHEN F, LIU H, YAN J, et al. Identification and molecular mechanism of novel antioxidant peptides from squid skin protein hydrolysates: In silico and in vitro analysis [J]. Food Science and Technology, 2024, 214: 117081.
- [7] 杨林林, 姜亚洲, 张辉, 等. 黄海南部和东海太平洋褶柔鱼适宜栖息地

- 的季节变化及环境驱动因素[J]. 生态学杂志, 2023, 42(3): 685–693.
- YANG LL, JIANG YZ, ZHANG H, *et al.* Seasonal variations and environmental drivers of suitable habitats of *Todarodes pacificus* in southern Yellow Sea and East China Sea [J]. Chinese Journal of Ecology, 2023, 42(3): 685–693.
- [8] XING L, WANG Z, HAO Y, *et al.* Marine products as a promising resource of bioactive peptides: Update of extraction strategies and their physiological regulatory effects [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2022, 70(10): 3081–3095.
- [9] 李爽, 刘小芳, 冷凯良, 等. 大西洋鳕鱼骨胶原蛋白肽的抗氧化活性及稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(16): 50–56.
- LI S, LIU XF, LENG KL, *et al.* Antioxidant activity and stability of collagen peptides from atlantic cod (*Gadus morhua*) bone [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(16): 50–56.
- [10] BOUGATEF H, SILA A, BOUGATEF A, *et al.* Protein hydrolysis as a way to valorise squid-processing byproducts: Obtaining and identification of ACE, DPP-IV and PEP inhibitory peptides [J]. Marine Drugs, 2024, 22(4): 156.
- [11] 李圣艳, 李学英, 杨宪时, 等. 鱿鱼内脏制备功能性短肽的初步研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(20): 39–43.
- LI SY, LI XY, YANG XS, *et al.* Preparation of functional oligopeptides from squid viscera [J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2015, 31(20): 39–43.
- [12] 刘小芳, 黄岳磊, 李雅婷, 等. 南极磷虾蛋白肽的抗氧化活性及稳定性研究[J]. 食品科技, 2022, 47(11): 114–120.
- LIU XF, HUANG YL, LI YT, *et al.* Antioxidant activity and stability of peptides from antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Food Science and Technology, 2022, 47(11): 114–120.
- [13] WANG B, LI L, CHI CF, *et al.* Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein hydrolysate [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2-3): 1713–1719.
- [14] 蔡金秀, 夏姗姗, 马佳雯, 等. 马面鱼皮 ACE 抑制肽的制备、分离纯化及稳定性[J]. 中国食品学报, 2022, 22(3): 225–234.
- CAI JX, XIA SS, MA JW, *et al.* Preparation, isolation and stability of collagen ACE inhibitory peptides from the skin of *Navodon septentrionalis* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science Technology, 2022, 22(3): 225–234.
- [15] 栾晓旭, 冯美琴, 孙健. 发酵香肠源抗氧化肽的稳定性[J]. 食品科学, 2020, 41(16): 1–7.
- LUAN XX, FENG MQ, SUN J. Stability of antioxidant peptides extracted from fermented sausages [J]. Food Science, 2020, 41(16): 1–7.
- [16] 杨芝芝, 赵晓丹, 叶佳, 等. 鲍鱼内脏磷脂提取纯化工艺及抗氧化特性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2023, 44(3): 11–17, 41.
- YANG ZZ, ZHAO XD, YE J, *et al.* Study on extraction and purification process and antioxidant characteristics of abalone visceral phospholipids [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2023, 44(3): 11–17, 41.
- [17] 章翼锋, 王家星, 孙继鹏, 等. 糖基化改性对鳕鱼加工副产物活性肽抗氧化能力的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(10): 99–110.
- ZHANG YF, WANG JX, SUN JP, *et al.* Effects of glycosylation modification on antioxidant capacity of active peptides from processing by-products of *Katsuwonus pelamis* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(10): 99–110.
- [18] 蔡金秀, 夏姗姗, 马佳雯, 等. 马面鱼皮胶原抗氧化肽的分离制备及稳定性研究[J]. 核农学报, 2021, 35(11): 2569–2577.
- CAI JX, XIA SS, MA JW, *et al.* Isolation, preparation and stability of collagen antioxidant peptides from the skin of *Navodon septentrionalis* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(11): 2569–2577.
- [19] 田裕心, 彭亚博, 姚昱锐, 等. 响应面优化鲍鱼内脏抗氧化肽制备工艺及其活性[J]. 食品工业, 2019, 40(4): 110–115.
- TIAN YX, PENG YB, YAO YK, *et al.* Optimization of preparation technology of antioxidant peptides from abalone viscera by response surface methodology and its antioxidant activity research [J]. The Food Industry, 2019, 40(4): 110–115.
- [20] ZHANG J, ZHAO Y, WANG Y, *et al.* Eight collagen peptides from hydrolysate fraction of spanish mackerel skins: Isolation, identification, and in vitro antioxidant activity evaluation [J]. Marine Drugs, 2019, 17(4): 224–224.
- [21] SONG R, ZHANG K, WEI R. *In vitro* antioxidative activities of squid (*Ommastrephes bartrami*) viscera autolysates and identification of active peptides [J]. Process Biochemistry, 2016, 51(10): 1674–1682.
- [22] PAN X, ZHAO YQ, HU FY, *et al.* Anticancer activity of a hexapeptide from skate (*Raja porosa*) cartilage protein hydrolysate in hela cells [J]. Marine Drugs, 2016, 14(8): 153.
- [23] 颜琳, 常忠岳, 姚艳艳, 等. 皱纹盘鲍腹足及内脏抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 280–285.
- YAN L, CHANG ZY, YAO YY, *et al.* Study on antioxidant activity of gastropod and viscera of *Haliotis discus hanai* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(19): 280–285.
- [24] 王童欣. 大青鲨鱼皮多肽的性质分析与功效研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2021.
- WANG TX. Study on the properties and effects of hybrid peptides from the skin of *Prionace glauca* [D]. Xiamen: Xiamen University, 2021.
- [25] 王群, 郑海涛, 葛尧, 等. 酶法制备鳕鱼皮胶原蛋白肽及其清除超氧阴离子自由基的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(14): 87–93.
- WANG Q, ZHENG HT, GE Y, *et al.* Study on the enzymatic preparation and superoxide anion radical scavenging activity of collagen peptide from plaice skin [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(14): 87–93.
- [26] ZHU CZ, ZHANG WG, KANG ZL, *et al.* Stability of an antioxidant peptide extracted from Jinhua ham [J]. Meat Science, 2014, 96(2): 783–789.
- [27] ZHANG X, DAI Z, ZHANG Y, *et al.* Structural characteristics and stability of salmon skin protein hydrolysates obtained with different proteases [J]. Food Science and Technology, 2022, 153: 112460.
- [28] WANG XQ, YU HH, XING RG, *et al.* Optimization of the ex-traction and stability of antioxidative collagen peptides from mack-erel (*Pneumatophorus japonicus*) protein [J]. BioMed Research International, 2017, 2017: 6837285.
- [29] ZHANG SY, ZHAO GX, SUO SK, *et al.* Purification, identification, activity evaluation, and stability of antioxidant peptides from alcalase hydrolysate of antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins [J]. Marine Drugs, 2021, 19(6): 347.
- [30] KETNAWA S, MARTÍNEZ-ALVAREZ O, BENJAKUL S, *et al.* Gelatin hydrolysates from farmed giant catfish skin using alkaline proteases and its antioxidative function of simulated gastro-intestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2016, 192: 34–42.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)