

# 迷迭香提取物在体外和萨拉米中的抗氧化活性

姜 蕾, 康大成, 张万刚, 周光宏\*

(南京农业大学 肉品加工与质量控制教育部重点实验室,

江苏省肉类生产与加工质量安全控制协同创新中心, 江苏 南京 210095)

**摘 要:** 研究迷迭香提取物的体外抗氧化活性及其对萨拉米脂肪和蛋白质氧化的影响。对迷迭香进行提取, 并测定提取物的总酚含量、1,1-二苯基-2-三硝基苯腙 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基清除率、氧化自由基吸收能力 (oxygen radical absorbance capacity, ORAC) 和还原力。将不同质量分数的迷迭香提取物加入萨拉米中, 测定其对萨拉米加工过程中硫代巴比妥酸反应产物和总巯基含量的影响。结果表明: 迷迭香提取物的总酚含量为197.6 mg/g。当质量浓度大于80  $\mu\text{g/mL}$ 时, 迷迭香提取物的DPPH自由基清除能力要优于异抗坏血酸钠 ( $P < 0.05$ ); 迷迭香提取物的ORAC为2 920.3  $\mu\text{mol Trolox/g}$ , 显著高于异抗坏血酸钠 (1 746.9  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) ( $P < 0.05$ ); 迷迭香提取物在达到一定质量浓度时的还原力与异抗坏血酸钠无显著差异 ( $P > 0.05$ )。添加质量分数为0.02%和0.03%的迷迭香提取物可以有效抑制萨拉米的脂肪氧化, 效果优于0.02%的异抗坏血酸钠 ( $P < 0.05$ ); 添加质量分数为0.03%的迷迭香提取物能显著抑制蛋白质氧化 ( $P < 0.05$ ), 效果与0.02%的异抗坏血酸钠相当。本研究证明迷迭香提取物具有较好的体外抗氧化活性, 并可以有效抑制萨拉米加工过程中的脂肪和蛋白质氧化, 是一种高效的自由基清除剂和天然抗氧化剂。

**关键词:** 迷迭香提取物; 抗氧化活性; 萨拉米; 脂肪氧化; 蛋白质氧化

## Antioxidant Activity *in Vitro* of Rosemary Extract and Its Inhibitory Effect against Lipid and Protein Oxidation in Salami

JIANG Lei, KANG Dacheng, ZHANG Wangang, ZHOU Guanghong\*

(Key Laboratory of Meat Products Processing and Quality Control, Ministry of Education, Jiangsu Collaborative Innovation Center of Meat Production and Processing Quality and Safety Control, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The antioxidant activity *in vitro* and inhibitory effect of rosemary extract on lipid and protein oxidation in salami were assessed. The total phenol content of rosemary extract was measured, and its 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging effect, the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and reducing power were investigated. The effect of adding different amounts of rosemary extract to salami on the content of thiobarbituric acid reactive substances and total protein thiol content was addressed during salami processing. The results showed that the total polyphenol content of rosemary extract was 197.6 mg/g. Rosemary extract at concentrations greater than 80  $\mu\text{g/mL}$  possessed higher DPPH radical scavenging activity than sodium *D*-isoascorbate ( $P < 0.05$ ). Its ORAC was 2 920.3  $\mu\text{mol Trolox/g}$ , which was significantly higher than that (1 746.9  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) of sodium *D*-isoascorbate ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in reducing power between rosemary extract at a certain concentration and sodium *D*-isoascorbate ( $P > 0.05$ ). The addition of rosemary extract at 0.02% or 0.03% could more effectively inhibit lipid oxidation in salami than sodium *D*-isoascorbate at 0.02% ( $P < 0.05$ ). The addition of rosemary extract at 0.03% showed significant inhibitory effect on protein oxidation and the effect was comparable to that at 0.02% ( $P < 0.05$ ). This experiment confirmed that rosemary extract has good antioxidant activity *in vitro* and as an efficient free radical scavenger and natural antioxidant, it can significantly inhibit lipid and protein oxidation during the processing of salami.

**Keywords:** rosemary extract; antioxidant activity; salami; lipid oxidation; protein oxidation

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201813011

中图分类号: TS251.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 13-0068-06

引文格式:

姜蕾, 康大成, 张万刚, 等. 迷迭香提取物在体外和萨拉米中的抗氧化活性[J]. 食品科学, 2018, 39(13): 68-73.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201813011. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-03-21

第一作者简介: 姜蕾 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为畜产品加工与质量控制。E-mail: 18533691327@163.com

\*通信作者简介: 周光宏 (1960—), 男, 教授, 博士, 研究方向为畜产品加工与质量控制。E-mail: ghzhou@njau.edu.cn

JIANG Lei, KANG Dacheng, ZHANG Wangang, et al. Antioxidant activity *in vitro* of rosemary extract and its inhibitory effect against lipid and protein oxidation in salami[J]. Food Science, 2018, 39(13): 68-73. (in Chinese with English abstract)  
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201813011. <http://www.spkx.net.cn>

萨拉米是一种典型的西式发酵香肠,其以猪肉、牛肉为原料,利用微生物或组织内源酶发酵作用生产,经发酵干燥而成。因其具有特殊的风味、色泽和质地而深受世界各地消费者的喜爱,然而在长期高温高湿的加工条件下,萨拉米易发生过度氧化。在加工过程中,适度的脂肪氧化、蛋白质氧化、水解等反应可产生醛类、醇类等风味物质,有利于萨拉米的品质形成。此外,脂质氧化产生的一级产物还可与氨基酸、肽等发生美拉德反应,进一步形成大量的风味成分<sup>[1-2]</sup>。但过度氧化会对其风味、质地和色泽等品质产生不良影响。萨拉米的脂肪含量相对较高,脂肪过度氧化会产生哈喇味,从而严重影响产品的感官品质和食用品质<sup>[3]</sup>。同时,现代医学研究表明,脂肪氧化产物可诱发多种慢性疾病,是人体衰老和心血管疾病的主要诱因<sup>[4]</sup>。因此,在生产过程中控制好脂肪和蛋白质的氧化程度对萨拉米风味的形成和品质控制至关重要<sup>[5]</sup>,有助于提高产品的品质和安全性,延长产品的货架期。

控制发酵香肠氧化酸败的常用方法是添加抗氧化剂。目前工业上使用的大多数是合成抗氧化剂,虽然抗氧化效果好,但其安全性一直备受质疑,因此在很多国家,化学合成的抗氧化剂已经被禁止使用在肉制品中。现在人们逐渐将目光转向天然抗氧化剂。研究证明,许多药草以及植物香辛料提取物都具有很好的抗氧化和抑菌作用<sup>[6]</sup>,迷迭香便是其中比较常见的一种。Jongberg等<sup>[7]</sup>发现迷迭香提取物可以有效抑制脂肪氧化导致的硫代巴比妥酸反应产物(thiobarbituric acid reactive substance, TBARS)和蛋白质氧化形成的羰基含量上升。孙卫青<sup>[8]</sup>研究发现迷迭香提取物可以有效抑制猪肉和牛肉切片火腿的脂肪氧化,还能减缓色素亚硝酰血色的降解,提高切片火腿的红色。殷燕等<sup>[9]</sup>研究发现迷迭香提取物能显著抑制熟猪肉饼贮藏过程中的脂肪氧化和微生物生长,并能一定程度上改善熟猪肉饼的颜色和质构。Doolaege等<sup>[10]</sup>发现迷迭香提取物抑制猪肝肉酱的脂质氧化效果显著。刘骞等<sup>[11]</sup>研究发现,在冷藏牛肉丸中迷迭香提取物的抗氧化性能优于丁香和肉桂提取物,略差于丁基羟基茴香醚。Nissen等<sup>[12]</sup>的实验也表明熟肉饼中添加迷迭香提取物的抗氧化效果显著优于添加茶、葡萄皮和咖啡提取物。以上研究表明迷迭香提取物在肉制品中的抗氧化效果较为显著,并且有利于维持肉制品色泽的稳定、抑制微生物的生长,还能赋予肉制品一定的风味。色泽和风味对于萨拉米的品质来说尤为重要,因此本实验将迷迭香提取物添加到萨拉米中,研究

其对萨拉米抗氧化和食用品质的影响,并与人工合成的抗氧化剂进行对比,探讨迷迭香提取物在萨拉米中的商业化应用,及其替代合成抗氧化剂的可能性,提高肉制品的品质稳定性及安全性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

迷迭香粉 河南森源本草天然产物股份有限公司; 原料肉(猪瘦肉、猪背膘、牛肉) 江苏食品集团; 发酵剂F1 科汉森食品添加剂有限公司; 胶原蛋白肠衣( $\Phi=23\text{ mm}$ ) 广西神冠蛋白肠衣有限责任公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 美国Sigma公司; 氧化自由基吸收能力(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)试剂盒 美国Cell Biolabs公司; L-半胱氨酸 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司; 盐酸胍、Tris-Base 合肥新恩源生物技术有限公司; 牛血清白蛋白 北京索莱宝科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

ZKSY-600恒温水浴锅 南京科尔仪器设备有限公司; RE-52AA旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; 冷冻干燥机 德国Christ公司; AvantiJ-E离心机 美国Beckman Coulter公司; Spectral Max<sup>®</sup> M2e多功能酶标仪 美国MD公司; 8010ES高速匀浆机 美国Warring公司; TC 12E绞肉机 意大利Sirman公司; BZBI-15斩拌机 嘉兴艾博不锈钢机械工程有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 迷迭香提取物的制备

参考谢冬惠<sup>[13]</sup>的方法并稍作改动。称取迷迭香粉末100 g,加入500 mL体积分数70%乙醇溶液,70℃水浴加热回流提取2次,每次2 h,过滤后获得迷迭香样品液,将样品液旋转蒸发回收溶剂得到浓缩液,将浓缩液真空冷冻干燥48 h得到迷迭香乙醇提取物。将提取物包装后于4℃冷库保存待用。

#### 1.3.2 萨拉米的制作

萨拉米配方:65%猪瘦肉(质量分数,下同)、30%猪背膘、5%牛肉。0.01%亚硝酸钠、0.01%硝酸钾、3.7%香辛料(食用盐、葡萄糖、黑胡椒粉、小茴香粉、大蒜粉等)、0.025%发酵菌种F1。本实验设定5个实验组:空白对照组(CK组,不添加抗氧化剂)、阳性对照组

(SE组, 添加0.02%异抗坏血酸钠), 分别添加0.01%、0.02%、0.03%迷迭香提取物的3个处理组(R<sub>0.01</sub>组、R<sub>0.02</sub>组、R<sub>0.03</sub>组)。

工艺流程: 原料肉预处理→绞碎→腌制(将迷迭香提取物粉末与其他香辛料一起混匀, 直接加入绞碎的肉中)→接种→斩拌→灌装→发酵→成熟→真空包装→成品。

本实验选取5个取样时间点: 分别是第0天(所有成分混合均匀后和灌肠前)、第2天(发酵结束)、第7天(干燥过程)、第10天(干燥过程)、第14天(干燥结束后的成品)。对5个实验组分别取样测试, 每个实验组3个重复。

### 1.3.3 迷迭香提取物总酚含量的测定

参照Hinneburg等<sup>[14]</sup>的方法并适当修改。准确称取0.2 g迷迭香提取物粉末, 用体积分数70%乙醇溶液溶解后定容于100 mL容量瓶中, 配制成2 mg/mL的母液。吸取0.1 mL母液于10 mL容量瓶中, 依次加入1.0 mL福林-酚试剂和3.0 mL 100 g/L的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液, 蒸馏水定容、混匀。室温下避光反应2 h, 于765 nm波长处测吸光度。用没食子酸作标准液绘制标准曲线, 将吸光度代入回归方程, 计算多酚质量浓度/(μg/mL)。迷迭香提取物中的多酚含量以没食子酸标准品计, 结果以每克提取物中没食子酸的质量表示。用提取溶剂作空白对照。

### 1.3.4 迷迭香提取物体外抗氧化活性的测定

#### 1.3.4.1 DPPH自由基清除能力的测定

参考Mielnik等<sup>[15]</sup>的方法并稍作改进。用体积分数70%乙醇溶液将迷迭香提取物粉末溶解并稀释至不同质量浓度, 取1 mL样品溶液与1 mL DPPH自由基溶液(0.2 mmol/L, 体积分数70%乙醇溶液溶解)混合, 充分混匀后于室温避光放置30 min。在517 nm波长处测定混合液的吸光度, 记为A<sub>1</sub>, 1 mL体积分数70%乙醇溶液与1 mL DPPH自由基溶液混合作为空白组, 吸光度记为A<sub>0</sub>。用1 mL样品溶液与1 mL体积分数70%乙醇溶液混合作为对照, 吸光度记为A<sub>2</sub>。迷迭香提取物对DPPH自由基的清除率按下式计算。

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

同时, 配制与上述样品溶液相同质量浓度梯度的异抗坏血酸钠作为对照, 按照上述测定方法检测其DPPH自由基清除率。

#### 1.3.4.2 ORAC的测定

参考Huang Dejian等<sup>[16]</sup>的方法并作适当修改。迷迭香提取物和抗氧化标准物质水溶性VE (Trolox) 用体积分数70%乙醇溶液溶解并稀释至不同质量浓度。荧光物质、自由基产生剂2,2'-偶氮二(2-甲基丙基咪)二盐酸盐(2,2'-azobis(2-methylpropionamidine)dihydrochloride,

AAPH) 均用磷酸盐缓冲液(75 mmol/L、pH 7.2)溶解并稀释至适当浓度, ORAC反应在磷酸盐缓冲液体系中进行。吸取25 μL不同质量浓度的待测样品溶液于96孔的黑色荧光酶标板各微孔中, 加入150 μL荧光物质溶液(8.61×10<sup>-5</sup> mmol/L), 混匀, 在37℃下孵育30 min, 再加入25 μL AAPH溶液(153 mmol/L), 混匀后立即在37℃条件下, 以激发波长480 nm、发射波长520 nm连续测定荧光强度, 每2 min测定一次荧光强度, 直至荧光衰减呈基线后测定结束, 共测定60次。本实验需要设定两种对照, 即没有添加荧光物质的荧光自然衰减对照(记为-AAPH)和没有样品溶液存在时的自由基对照(记为+AAPH)。

抗氧化剂的ORAC是通过抗氧化剂的保护面积与标准抗氧化物质的保护面积相比得出。待测样品的ORAC以μmol Trolox/g表示。

同时, 配制与上述样品溶液相同质量浓度梯度的异抗坏血酸钠作为对照, 按照上述方法测定其ORAC。

### 1.3.4.3 还原力测定

参考郑锦晓等<sup>[17]</sup>的方法并稍作改进。配制不同质量浓度的样品溶液, 取2 mL样品溶液与2 mL磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L、pH 6.6)和2 mL铁氰化钾溶液(10 mg/mL)混匀, 50℃水浴20 min。再加入2 mL三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)(100 mg/mL)溶液, 将混合液在3 000 r/min离心10 min。吸取2 mL上清液, 加入2 mL蒸馏水和0.4 mL三氯化铁(质量分数0.1%), 充分混匀, 室温避光放置10 min后于700 nm波长处测其OD值。反应体系的OD值越高表明还原力越强。

同时, 配制与上述样品溶液相同质量浓度梯度的异抗坏血酸钠作为对照, 按照上述测定方法检测其还原力。

### 1.3.5 萨拉米氧化指标的测定

#### 1.3.5.1 TBARS含量的测定

参考Raharjo<sup>[18]</sup>和Wang<sup>[19]</sup>的方法并稍作改进, 取5 g肉样, 加入20 mL蒸馏水和25 mL质量分数20% TCA溶液, 在冰水浴中10 000 r/min匀浆两次, 每次30 s。然后以4℃、4 000 r/min离心10 min, 过滤, 滤液用蒸馏水定容至50 mL, 取2 mL滤液加入2 mL 0.02 mol/L硫代巴比妥酸, 在95℃水浴80 min, 取出用流水冷却10 min, 再以4 000 r/min离心, 取上清液在523 nm波长处测吸光度。空白样为25 mL 20%质量分数TCA溶液加蒸馏水定容至50 mL, 其他步骤如上所述。用四乙氧基丙烷作标准曲线, TBARS含量通过标准曲线计算, 结果以每千克样品中丙二醛(malondialdehyde, MDA)的质量表示。

#### 1.3.5.2 总巯基含量的测定

参考Fu Qingquan等<sup>[20]</sup>的方法, 取1 g肉样, 加入5 mL的0.2 mol/L磷酸盐缓冲液(pH 7.4)混匀, 在8 000 r/min

条件下匀浆30 s。取0.1 mL匀浆液于离心管中,加入0.9 mL 50 mmol/L磷酸盐缓冲液(pH 7.0, 其中包含8 mol/L的尿素、10 mmol/L的乙二胺四乙酸和0.6 mol/L的氯化钾),再加入0.04 mL 10 mmol/L 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)。混合液在40 °C条件下反应25 min。在10 000×g条件下离心5 min,取上清液在412 nm波长处测其吸光度。用二辛可酸法测蛋白质质量浓度后,以半胱氨酸作标准曲线计算总巯基含量。

#### 1.4 数据统计分析

实验重复3次,所有数据采用SAS 8.0软件进行统计分析,差异显著性分析采用Duncan's Multiple Range Test模式,用Graphpad Prism软件作图,数据表示为 $\bar{x} \pm s$ ,以 $P < 0.05$ 表示差异显著,以 $P < 0.01$ 表示差异极显著。

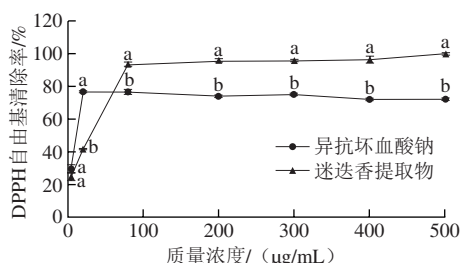
## 2 结果与分析

### 2.1 总酚含量的测定结果

本研究测定的回归方程为: $y = 0.0483x + 0.0026$ ,相关系数为0.9953。将吸光度代入回归方程,计算出迷迭香70%乙醇提取物中总酚含量为197.6 mg/g (19.8%),稍高于Calabrese等<sup>[21]</sup>测得的迷迭香总酚含量(18.5%)。有研究表明,迷迭香提取物中起抗氧化作用的主要成分为酚类物质<sup>[22]</sup>。迷迭香的生长环境和加工贮藏方式等可能会影响迷迭香提取物中总酚含量,提取溶剂和检测方法的不同也会造成总酚含量的差异。

### 2.2 迷迭香提取物体外抗氧化活性评价结果

#### 2.2.1 DPPH自由基清除能力



不同抗氧化剂同一质量浓度小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

图1 迷迭香提取物和异抗坏血酸钠对DPPH自由基的清除效果

Fig. 1 Scavenging effect of rosemary extract and sodium erythorbate on DPPH free radicals

如图1所示,质量浓度在5~500  $\mu\text{g/mL}$ 之间时,迷迭香提取物DPPH自由基清除率为24.63%~100.00%,异抗坏血酸钠DPPH自由基清除率在29.85%~78.44%之间。当质量浓度小于80  $\mu\text{g/mL}$ 时,迷迭香提取物的DPPH自由基清除能力显著低于异抗坏血酸钠( $P < 0.05$ );当质量浓度大于80  $\mu\text{g/mL}$ 时,迷迭香提取物的DPPH自由基清除能力显著高于异抗坏血酸钠( $P < 0.05$ )。这可能是由于DPPH自由基为脂溶性,本实验所提取的迷迭香提取

物也为脂溶性,在质量浓度较高时二者的亲和作用更显著<sup>[23-24]</sup>。而且异抗坏血酸钠在较高质量浓度下可能存在自氧化现象,这会导致其清除率有所下降。张莹<sup>[25]</sup>的研究表明,迷迭香的DPPH自由基清除能力与其酚类物质含量呈正相关。

#### 2.2.2 迷迭香提取物的ORAC

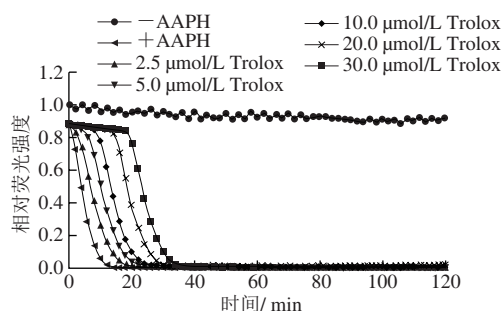


图2 Trolox系列浓度标准溶液的荧光强度随时间衰减曲线

Fig. 2 Attenuation curve of fluorescence intensity of Trolox standard solutions

如图2所示, Trolox系列浓度标准溶液的标准曲线回归方程为 $y = 0.4136x + 3.9547$ ,相关系数为0.9957。迷迭香提取物的ORAC为2 920.3  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ,显著高于异抗坏血酸钠的ORAC (1 746.9  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) ( $P < 0.01$ )。徐维盛等<sup>[26]</sup>对山楂的ORAC与其不同抗氧化活性成分含量进行了相关性分析,结果表明山楂鲜果ORAC与其多酚含量存在正相关关系。迷迭香提取物具有较高的ORAC,可能也与其较高的总酚含量有关。

#### 2.2.3 还原力的测定结果

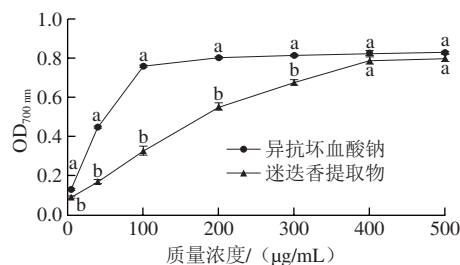


图3 迷迭香提取物和异抗坏血酸钠的还原能力

Fig. 3 Reducing power of rosemary extract and sodium erythorbate

从图3可看出,在5~300  $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,迷迭香提取物的还原力随着质量浓度的升高而显著增强( $P < 0.05$ ),但各个质量浓度下的清除率均显著低于异抗坏血酸钠( $P < 0.05$ )。在质量浓度为400  $\mu\text{g/mL}$ 和500  $\mu\text{g/mL}$ 时,迷迭香提取物的还原力与异抗坏血酸钠无显著差异。说明在达到一定的质量浓度时,迷迭香提取物表现出了较好的还原能力,且还原效果与异抗坏血酸钠相当。

上述3种体外抗氧化评价体系的结果表明,总酚含量为197.6 mg/g的迷迭香提取物具有良好的清除DPPH自由基和活性氧自由基的能力以及还原力。因此,可对迷迭香提取物作为天然抗氧化剂应用在发酵香肠萨拉米中的抗氧化效果进行进一步的研究。实验参考上述体外抗氧化活性结果中质量浓度范围,分别将质量分数为0.01%、0.02%和0.03%的迷迭香提取物应用到萨拉米的制作中,测定其对萨拉米加工过程中脂肪和蛋白质氧化的影响。

## 2.3 迷迭香对萨拉米加工过程中脂肪和蛋白质氧化的影响

### 2.3.1 迷迭香对萨拉米TBARS含量的影响

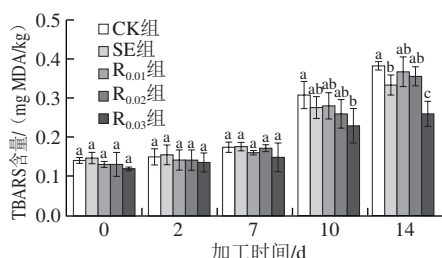


图4 不同质量分数迷迭香提取物对萨拉米加工过程中TBARS含量的影响

Fig. 4 Effects of different amounts of rosemary extract added on TBARS contents of salami during processing

脂肪氧化程度是决定食品质量的重要因素,它能导致食品变色及产生不良气味,影响食品的食用安全<sup>[27]</sup>。TBARS含量是评价脂肪过氧化程度的重要指标,主要反映了脂肪次级氧化产物MDA的含量<sup>[28]</sup>。随着脂肪氧化程度的加深,次级产物不断增多,TBARS含量也不断增大。由图4可知,萨拉米在整个加工过程中TBARS含量总体呈上升趋势,在发酵期间上升缓慢,可能是由于发酵产物的大量生成,而发酵产物本身就具备一定的抗氧化能力<sup>[29]</sup>,干燥后期TBARS含量上升迅速。在第0、2、7天,5个实验组之间的TBARS含量没有显著差异。在第10天,R<sub>0.03</sub>组的TBARS含量显著低于CK组,其他4个实验组之间的TBARS含量无显著差异。第14天,SE组和R<sub>0.03</sub>组的TBARS含量显著低于CK组( $P<0.05$ ),R<sub>0.02</sub>组和R<sub>0.01</sub>组的TBARS含量与CK组无显著差异。说明在加工过程中,R<sub>0.03</sub>组可以显著抑制萨拉米TBARS含量的升高,SE组次之;R<sub>0.02</sub>组与R<sub>0.01</sub>组不能显著抑制萨拉米在加工过程中TBARS含量的升高。在加工结束时,R<sub>0.03</sub>组的TBARS含量显著低于SE组,说明质量分数0.03%的迷迭香提取物可以有效地减轻萨拉米脂肪过氧化情况。有报道认为,迷迭香中的迷迭香酚、鼠尾草酸等酚类物质可以替代自由基与不饱和脂肪酸结合,从而抑制脂肪氧化<sup>[30]</sup>。Lara<sup>[31]</sup>和殷燕<sup>[32]</sup>等的研究表明,添加了迷迭香提取物的猪肉饼在0~3 d的冷藏期间自由基的含量显著高于对照组,说明迷迭香发挥了替代自由基与不饱和脂肪酸结合的作用。

### 2.3.2 迷迭香对萨拉米总巯基含量的影响

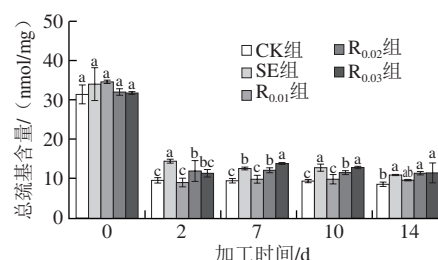


图5 不同质量分数迷迭香提取物对萨拉米加工过程中总巯基含量的影响

Fig. 5 Effects of different amounts of rosemary extract added on total thiol content of salami during processing

所有蛋白质的氨基酸侧链均可被自由基攻击,但不同氨基酸对自由基的敏感程度不同。半胱氨酸具有高度敏感的含硫元素活性中心,因此在所有氨基酸残基中,半胱氨酸最容易被氧化形成二硫键导致巯基消失<sup>[33]</sup>。总巯基含量可以用来反映蛋白质氧化的程度<sup>[34]</sup>,总巯基含量越低表示蛋白质氧化程度越严重<sup>[35]</sup>。从图5可看出,在加工过程中,萨拉米的总巯基含量在0~2 d显著下降( $P<0.05$ )。在第0天时,5个实验组的总巯基含量无显著差异。在第2天时,SE组的总巯基含量显著高于其他4个处理组。在第7天时,R<sub>0.03</sub>组的总巯基含量显著高于SE组,在第10、14天时R<sub>0.03</sub>组的总巯基含量与SE组无显著差异( $P<0.05$ )。在第14天时,添加迷迭香的3个处理组的总巯基含量均与SE组无显著差异,除R<sub>0.01</sub>组外,SE组和其余两个迷迭香处理组的总巯基含量均显著高于CK组( $P<0.05$ )。本实验中,在发酵期间的第0、2天,所有样品的总巯基含量均呈现出快速大幅下降的趋势,这主要是由于发酵期间蛋白质质量浓度迅速提高了3~5倍,蛋白质质量浓度的迅速升高可能是由于发酵初期乳酸菌等发酵菌种大量繁殖,菌体蛋白也会被二辛可酸法检测出,并与肌肉中的蛋白质一起被计入结果,因此导致蛋白质质量浓度的升高。添加的发酵菌种在发酵过程中产生大量乳酸等有机酸,对肌肉中的结缔组织有弱化作用,从而使肌肉中的不可溶性胶原蛋白转化为可溶性胶原蛋白,也可能导致蛋白质质量浓度有所上升<sup>[36]</sup>。另外,pH值下降可能会造成肌原纤维蛋白的解绑以及吸附能力下降,使肌原纤维的结构遭到破坏,提高肌球蛋白和肌动蛋白的溶出能力<sup>[37]</sup>,同时pH值下降也会造成蛋白质水解酶活性下降。研究表明胰蛋白酶的含量下降会导致总巯基含量的下降<sup>[38]</sup>。第7、10、14天的蛋白质质量浓度相对较稳定,因此这3个时间点的总巯基含量变化更具有参考意义。通过第7、10、14天3个时间点的总巯基含量可以看出,添加质量分数为0.02%和0.03%的迷迭香提取物可以显著抑制萨拉米的蛋白质氧化,并且呈现出一定的量效关系,0.03%的迷迭香提取物抑制蛋白质氧化效果与异抗坏血酸钠相当。

### 3 结 论

本研究对迷迭香提取物在体外和萨拉米中抗氧化活性的各项指标进行测定,结果表明:迷迭香提取物在体外具有良好的清除DPPH自由基和活性氧自由基的能力以及还原力;适宜质量分数的迷迭香提取物可以有效抑制萨拉米加工过程中的脂肪氧化,并且效果优于合成抗氧化剂异抗坏血酸钠,其在抑制蛋白质氧化方面也与异抗坏血酸钠效果相当。因此可以考虑在萨拉米等发酵肉制品中将其用于替代合成抗氧化剂,以保证发酵肉制品的安全性。

### 参考文献:

- [1] 曹锦轩, 吕彤, 王颖, 等. 脂肪相关酶类在干腌肉制品风味形成过程中的作用[J]. 现代食品科技, 2015, 31(1): 254-258. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.1.043.
- [2] WANG Y, JIANG Y T, CAO J X, et al. Study on lipolysis-oxidation and volatile flavour compounds of dry-cured goose with different curing salt content during production[J]. Food Chemistry, 2016, 190: 33-40. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.05.048.
- [3] CAMPAGNOL P C B, FRIES L L M, TERRAN N, et al. The influence of *achyrocline satureioides* ("Marcela") extract on the lipid oxidation of salami[J]. Food Science and Technology, 2011, 31(1): 101-105. DOI:10.1590/S0101-20612011000100013.
- [4] 郭月红. 腊肉中脂肪氧化变化及其影响因素研究[D]. 重庆: 西南大学, 2006: 7-8.
- [5] 张玉林, 曹锦轩, 潘道东, 等. 成熟过程中活性氧簇(ROS)对肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 30(9): 26-32; 108. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.09.005.
- [6] ZHANG J, YE K P, ZHANG X, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of black pepper essential oil on meat-borne *Escherichia coli*[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1-10. DOI:10.3389/fmicb.2016.02094.
- [7] JONGBERG S, TØRNGREN M A, GUNVIG A, et al. Effect of green tea or rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork[J]. Meat Science, 2013, 93(3): 538-546. DOI:10.1016/j.meatsci.2012.11.005.
- [8] 孙卫青. 迷迭香对西式切片火腿色泽和氧化稳定效应研究[J]. 食品科技, 2014, 39(4): 116-121. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2014.04.026.
- [9] 殷燕, 张万刚, 周光宏, 等. 迷迭香提取物对真空包装熟猪肉饼抗氧化和抑菌效果的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 236-241. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201506045.
- [10] DOOLAEGE E H A, VOSSSEN E, RAES K, et al. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pates[J]. Meat Science, 2012, 90(4): 925-931. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.11.034.
- [11] 刘寒, 陈璐, 孔保华. 香辛料提取物对冷藏牛肉丸微生物变化和抗氧化效应的影响[J]. 食品科技, 2013, 38(4): 112-120. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2013.04.054.
- [12] NISSEN L R, BYRNE D V, BERTELSEN G, et al. The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis[J]. Meat Science, 2004, 68(3): 485-495. DOI:10.1016/j.meatsci.2004.05.004.
- [13] 谢冬惠. 八角茴香提取物抗氧化活性分析[J]. 热带生物学报, 2012, 3(3): 243-246. DOI:10.15886/j.cnki.rdxwb.2012.03.004.
- [14] HINNEBURG I, DORMAN J D H, HILTUNEN R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices[J]. Food Chemistry, 2006, 97(1): 122-129. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.03.028.
- [15] MIELNIK M B, SEM S, EGELANDSDAL B, et al. By-products from herbs essential oil production as ingredient in marinade for turkey thighs[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(1): 93-100. DOI:10.1016/j.lwt.2007.01.014.
- [16] HUANG Dejian, OU Boxin, HAMPSCHWOODILL M, et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(16): 4437-4444. DOI:10.1021/jf0201529.
- [17] 郑锦晓, 胡亚亚, 邢路娟, 等. 传统工艺和新工艺金华火腿中抗氧化肽的比较[J]. 南京农业大学学报, 2016, 39(2): 312-317. DOI:10.7685/jnau.201508028.
- [18] RAHARJO S, SOFOS J N, SCHMIDT G R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C<sub>18</sub> method for measuring lipid peroxidation in beef[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(11): 2182-2185. DOI:10.1021/jf00023a027.
- [19] WANG B, PACE R D, DESSAI A P, et al. Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity[J]. Journal of Food Science, 2006, 67(8): 2833-2836. DOI:10.1111/j.1365-2621.2002.tb08824.x.
- [20] FU Qingquan, LIU Rui, ZHANG Wangang, et al. Effects of different packaging systems on beef tenderness through protein modifications[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(3): 580-588. DOI:10.1007/s11947-014-1426-3.
- [21] CALABRESE V, SCAPAGNINI G, CATALANO C, et al. Biochemical studies of a natural antioxidant isolated from rosemary and its application in cosmetic dermatology[J]. International Journal of Tissue Reactions, 2000, 22(1): 5-13.
- [22] DORMAN H J D, PELTOKETO A, HILTUNEN R, et al. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs[J]. Food Chemistry, 2003, 83(2): 255-262. DOI:10.1016/S0308-8146(03)00088-8.
- [23] SHEIH I C, WU T K, FANG T J. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(13): 3419-3425. DOI:10.1016/j.biortech.2009.02.014.
- [24] 邢路娟, 胡亚亚, 周光宏, 等. 宣威火腿中粗肽的提取与抗氧化活性鉴定[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(4): 661-666. DOI:10.7685/j.issn.1000-2030.2015.04.021.
- [25] 张莹. 迷迭香抗氧化剂的高效分离与抗氧化活性研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008: 4-8.
- [26] 徐维盛, 马姗姗, 毕焱, 等. 七个不同产地山楂的营养成分分析和抗氧化能力评价[J]. 营养学报, 2014, 36(3): 282-287. DOI:10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2014.03.017.
- [27] 鞠雪, 王秋举, 罗莎, 等. 氧化鱼油对草鱼幼鱼脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(3): 491-496. DOI:10.7685/j.issn.1000-2030.2015.03.021.
- [28] LI J, WANG F, LI S, et al. Effects of pepper (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) leaf extract on the antioxidant enzyme activities of salted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during processing[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 1179-1190. DOI:10.1016/j.jff.2014.07.018.
- [29] 王萍萍, 潘道东, 孙杨赢, 等. 发酵鸭肉香肠的发酵工艺优化及抗氧化性[J]. 食品工业科技, 2015, 36(8): 178-182. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.08.028.
- [30] FADEL O, KIRAT K E, MORANDAT S. The natural antioxidant rosmarinic acid spontaneously penetrates membranes to inhibit lipid peroxidation *in situ*[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2011, 1808(12): 2973-2980. DOI:10.1016/j.bbamem.2011.08.011.
- [31] LARA M S, GUTIERREZ J I, TIMÓN M, et al. Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP[J]. Meat Science, 2011, 88(3): 481-488. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.01.030.
- [32] 殷燕, 张万刚, 周光宏. 迷迭香提取物对冷藏调理猪肉饼品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 287-292. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201422056.
- [33] DEL CAMPO J, AMIOT M J, NGUYEN-THE C. Antimicrobial effect of rosemary extracts[J]. Journal of Food Protection, 2000, 63(10): 1359-1368. DOI:10.4315/0362-028X-63.10.1359.
- [34] 陈茜茜, 黄明, 邹玉峰, 等. 辐照和反复冻融对牛肉蛋白质氧化及食用品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(19): 1-5. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201419001.
- [35] 章林. 鼠尾草(*Salvia Officinalis*)对中式香肠抗氧化和食用品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2013: 9-12.
- [36] YANG Q L, LOU X W, WANG Y, et al. Effect of pH on the interaction of volatile compounds with the myofibrillar proteins of duck meat[J]. Poultry Science, 2016, 96(6): 1963-1969. DOI:10.3382/ps/pew413.
- [37] TONG L, YING W, PAN D D, et al. Effect of trypsin treatments on the structure and binding capacity of volatile compounds of myosin[J]. Food Chemistry, 2016, 214: 710-716. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.07.115.
- [38] 马元婧, 李少英, 李嘉, 等. 发酵香肠发酵过程中羟脯氨酸含量的变化检测[J]. 食品科技, 2013, 38(10): 157-160. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2013.10.049.