

两种饲养方式下苏尼特羊肉的氧化稳定性

罗玉龙, 刘 畅, 李文博, 王柏辉, 窦 露, 杜 瑞, 要 锋, 赵丽华, 苏 琳, 靳 烨*

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 以舍饲、放牧两种饲养方式下的12月龄苏尼特羊股二头肌为实验材料, 分别测定脂质氧化产物含量、硫代巴比妥酸值、抗氧化能力、抗氧化酶活力以及抗氧化酶相关调控基因表达量等指标并进行比较分析, 旨在探索两种饲养方式下苏尼特羊肉的氧化稳定性。结果表明: 放牧饲养苏尼特羊肉TBA值高度显著低于舍饲饲养 ($P < 0.001$) ; 羊肉中主要的脂质氧化产物为己醛、庚醛、壬醛、1-辛烯-3-醇以及2,3-辛二酮, 其含量均在放牧饲养羊肉中显著较低 ($P < 0.05$), 表明舍饲饲养羊肉的脂质氧化程度相比放牧饲养羊肉更严重。放牧饲养羊肉的总抗氧化能力 ($P < 0.01$) 、铜离子还原能力 ($P < 0.05$) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) ($P < 0.001$) 、过氧化氢酶 (catalase, CAT) ($P < 0.05$) 、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidases, GPx) ($P < 0.05$) 活力均显著高于舍饲饲养, 说明放牧饲养羊肉中的抗氧化酶活力较高, 能有效抑制脂质氧化。通过抗氧化酶相关调控基因表达量的分析得出, 舍饲饲养羊肉中脂肪氧化酶基因表达量高度显著高于放牧饲养 ($P < 0.001$), 而SOD ($P < 0.001$) 、CAT ($P < 0.05$) 和GPx ($P < 0.05$) 基因表达量均显著低于放牧饲养, 从分子水平验证了放牧饲养羊肉的抗氧化能力较舍饲饲养好。

关键词: 饲养方式; 苏尼特羊; 脂质氧化; 抗氧化酶; 基因表达

Effects of Two Feeding Patterns on Oxidation Stability of Sunit Sheep Meat

LUO Yulong, LIU Chang, LI Wenbo, WANG Bohui, DOU Lu, DU Rui, YAO Duo, ZHAO Lihua, SU Lin, JIN Ye*

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: The objective of this study was to investigate the oxidative stability of meat from Sunit sheep fed on two different diets: pasture and forage supplemented with concentrate mixture. The amount of lipid oxidation products, thiobarbituric acid (TBA) value, antioxidant ability, antioxidant enzymes activities and the expression of antioxidant genes in *Biceps femoris* muscles from sheep slaughtered at 12 months of age were determined and compared between the two feeding groups. The results showed that TBA value of meat from grazed sheep was significantly lower than that of forage plus concentrate-fed sheep ($P < 0.001$). Hexanal, heptanal, nonanal, 1-octen-3-ol and 2,3-octanedione were the major lipid oxidation products in both meat samples and their values were lower in meat from grazed sheep than in forage plus concentrate-fed sheep ($P < 0.05$), indicating that the latter had a higher degree of lipid oxidation. As for antioxidant properties, total antioxidant capacity (T-AOC, $P < 0.01$) and cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC, $P < 0.05$) of grazed sheep were significantly higher than those of forage plus concentrate-fed sheep. The same was true for the antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD, $P < 0.001$), catalase (CAT, $P < 0.05$) and glutathione peroxidase (GPx, $P < 0.05$). These observations suggest that meat from pasture-fed sheep has higher antioxidant enzymes activities and as a result, its lipid oxidation can be effectively inhibited. Furthermore, the gene expression of SOD ($P < 0.001$), CAT ($P < 0.05$) and GPx ($P < 0.05$) in pasture-fed sheep was significantly higher than in forage plus concentrate-fed sheep, while the opposite was true for the gene expression of lipoxygenase ($P < 0.001$). In conclusion, this study provides molecular evidence that antioxidant capacity in meat from pasture-fed sheep was better than in forage plus concentrate-fed sheep.

Keywords: feeding pattern; Sunit sheep; lipid oxidation; antioxidant enzymes; gene expression

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180727-328

收稿日期: 2018-07-27

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31660439); “十三五”国家重点研发计划重点专项(2016YFE0106200);

内蒙古传统发酵食品加工与安全关键技术研究项目; 内蒙古自然科学基金面上项目(2018MS03050)

第一作者简介: 罗玉龙(1988—) (ORCID: 0000-0001-8475-4464), 男, 博士研究生, 研究方向为食品安全。

E-mail: 18247120609@163.com

*通信作者简介: 靳烨(1964—) (ORCID: 0000-0001-8960-879X), 男, 教授, 博士, 研究方向为畜产品加工安全。

E-mail: jinyeyc@sohu.com

中图分类号: TS251.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2019) 17-0030-06

引文格式:

罗玉龙, 刘畅, 李文博, 等. 两种饲养方式下苏尼特羊肉的氧化稳定性[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 30-35. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180727-328. <http://www.spkx.net.cn>

LUO Yulong, LIU Chang, LI Wenbo, et al. Effects of two feeding patterns on oxidation stability of Sunit sheep meat[J]. Food Science, 2019, 40(17): 30-35. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180727-328. <http://www.spkx.net.cn>

在肌肉组织中, 氧化稳定性是由脂质氧化与抗氧化能力共同决定的。脂质氧化主要是脂肪酸发生链式反应并产生一系列代谢产物, 包括醛、酮、醇、烃等, 在大多数情况下, 脂质过度氧化会产生令人不愉悦的气味^[1-2]。同时, 肉中存在的抗氧化系统能抑制氧化, 使肉质氧化达到平衡; 不合理的饲养方式会使机体过度氧化, 加快苏尼特羊的衰老, 使羊肉的质量下降。肉中的抗氧化系统主要包括抗氧化酶系统与非酶系统: 抗氧化酶系统以超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidases, GPx) 为主; 非酶系统指的是肌肉组织中的生育酚、类胡萝卜素、酚类化合物等抗氧化物质^[3]。但当氧化平衡被破坏后, 肉品会加速氧化并引起品质劣变, 其货架期会大幅缩短^[4]。目前有关抗氧化系统的研究已有报道, 但对肉中脂质氧化产物的研究还比较少。Descalzo等发现肉中抗氧化系统由维生素、酚类物质、抗氧化酶等组成, 这些物质能清除脂质氧化形成的自由基, 达到抑制脂质氧化的作用^[5]。Luciano等发现在肉羊饲料中添加单宁后, 羊肉的抗氧化能力得到了明显提升^[6]。Ponnampalam等发现牧草中的VE能抑制放牧饲养羊肉中的脂质过度氧化^[7]。但以上学者对羊肉的氧化稳定性鲜有系统、全面的研究, 本团队也仅对绒山羊肉的抗氧化系统进行了一定的研究^[8]。因此, 本实验通过对放牧饲养和舍饲饲养苏尼特羊肉的脂质氧化产物含量、抗氧化能力、抗氧化酶活力以及相关调控基因表达量进行测定, 对比两种饲养方式对苏尼特羊肉氧化稳定性的影响; 同时, 分析脂质氧化产物含量与抗氧化能力之间的联系, 为苏尼特羊的科学化饲养提供一定的理论依据和指导方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

从乌拉特中旗畜牧业育种园区内随机选取发育正常、健康无病的放牧饲养和舍饲饲养苏尼特羊各12只 (公母各6只)。放牧饲养羊主要摄食牧草 (包括中间锦鸡儿、芨芨草、蒙古葱、碱韭等); 舍饲饲养羊则以摄食饲草料 (包括玉米秸秆、葵盘粉等) 为主, 并补充玉米精料及育肥饲料。

甲醇、氯仿、三氯乙酸 (均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; CAT试剂盒、SOD试剂盒、GPx试剂盒、总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC) 试剂盒、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒、总蛋白定量试剂盒 南京建成生物工程研究所; 2,2'-联氮基-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS) 美国Amresco公司; 焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate, DEPC) 美国赛默飞世尔科技公司; RNAiso Plus、6×loading buffer、Marker DL2000、Premix *Taq*[®] Version 2.0、PremeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser、SYBR[®] Premix Ex *Taq*TM 大连宝生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

Trace 1300型气相色谱 (gas chromatography, GC) 仪、ISQ型质谱 (mass spectrometer, MS) 仪、固相微萃取 (solid-phase microextraction, SPME) 手柄 美国赛默飞世尔科技公司; SPME萃取头 美国Supelco公司; 5810-R型低温台式冷冻离心机 德国Eppendorf公司; BG-power 5000型稳压稳流电泳仪 北京百晶生物科技有限公司; 水平电泳槽、凝胶成像分析仪、CFX96TM型实时定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR) 仪 美国Bio-Rad公司; 普通PCR仪 美国Applied Biosystems公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

实验羊宰前禁食并停止饮水, 屠宰后从每只羊的股二头肌取约15 g肌肉, 置于无菌无酶冻存管中于液氮中存放, 于-80 ℃冰箱中保存待用。

1.3.2 脂质氧化产物含量的测定

肉样前处理: 将肉样解冻后去筋膜, 切块并用液氮速冻, 用粉碎机粉碎, 称取5 g粉碎肉样放入20 mL样品瓶中, 再将老化过的萃取头插入样品瓶, 距离样品1 cm, 60 ℃水浴吸附40 min后取出萃取头, 插入GC进样口, 在250 ℃下解吸4 min。

GC-MS条件^[9]: TR-5色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 载气为He; 载气流速1.0 mL/min; 进样口、离子源和传输线温度均为250 °C; 进样方式: 不分流进样; 升温程序: 40 °C保持3 min; 以4 °C/min升至150 °C, 保持1 min; 再以5 °C/min升温至200 °C, 以20 °C/min升至230 °C, 保持5 min; 质量扫描范围m/z 30~400; 溶剂延迟时间1 min。MS数据经MEANLIB、NISTDEMO和Wiley Library软件检索, 取正反匹配度大于800数据。用峰面积表示苏尼特羊肉中脂质氧化产物含量(10⁶ AU/g)。

1.3.3 硫代巴比妥酸值、抗氧化酶活力和T-AOC的测定

肉样4 °C解冻后用预冷的生理盐水漂洗, 称取0.5 g, 加9倍体积生理盐水, 在冰水浴中8 000 r/min匀浆30 s, 制成质量分数10%组织匀浆液, 4 °C、4 000 r/min离心10 min, 取上清液, 并按照试剂盒说明书分别测定上清液中蛋白含量、SOD活力、GPx活力、CAT活力、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)值以及T-AOC。

1.3.4 自由基清除率的测定

自由基清除率(radical scavenging ability, RSA)的测定参照文献[10]的方法。将25 mL 14 mmol/L ABTS溶液与等体积的2.45 mmol/L K₂S₂O₈溶液混合, 黑暗条件下反应16 h, 使ABTS完全氧化而形成ABTS阳离子自由基反应液。稀释ABTS阳离子自由基反应液, 使其在734 nm波长处的吸光度为0.750±0.020。取1.3.3节组织提取液50 μL与6 mL ABTS阳离子自由基反应液混合, 30 °C水浴反应6 min后在734 nm波长处测吸光度。用等体积的去离子水代替组织提取液作为空白, RSA按下式计算。

$$RSA/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A₀为空白组吸光度; A₁为样品组吸光度。

1.3.5 铜离子还原能力的测定

参照Apak等^[11]的方法测定铜离子还原能力(cupric reducing antioxidant capacity, CUPRAC), 将50 μL 1.3.3节组织提取液的上清液加入到反应体系(1 mL 10 mmol/L氯化铜溶液、1 mL 1 mol/L乙酸铵溶液、1 mL 7.5 mmol/L新铜溶液(溶剂为体积分数96%乙醇溶液))中, 室温反应1 h, 在450 nm波长处测吸光度。同时, 用等体积的蒸馏水代替肌肉提取物作为空白对照, CUPRAC以抗坏血酸质量计。

1.3.6 基因表达量的测定

1.3.6.1 引物与探针

引物序列如表1所示, 由上海生工生物工程有限公司设计并合成, 以18S rRNA作为内参基因。

表1 qPCR引物

Table 1 Primers used for real-time polymerase chain reaction

基因	引物序列
18S rRNA	F: 5'-GTGGTGTGAGGAAAGCGGACA-3' R: 5'-TGATCACACGTTCCACCTCGTC-3'
SOD	F: 5'-GGCAGAGGTGAAATGAAGAAAGT-3' R: 5'-CAGGGAATGTTACGGGCAAT-3'
CAT	F: 5'-CGTGACCCTCGTGGCTT-3' R: 5'-GACGCAGGCTCCAGAAGT-3'
GPx	F: 5'-GCAGGAGCCAGGGAGTAATG-3' R: 5'-ACACAGCCGTTCTTATCAATCAGG-3'
LOX	F: 5'-GTCACCAACATTACACAGCAT-3' R: 5'-GTATCATAGCAGCCAGGACTCA-3'

注: LOX, 脂肪氧合酶(lipoxygenase)。

1.3.6.2 总RNA的提取与反转录

称取约100 mg肉样, 参照文献[12]中方法进行RNA的提取。测定RNA的吸光度(A_{260 nm}/A_{280 nm})及质量浓度后, 用质量分数1.5%琼脂糖凝胶电泳检测RNA质量。将RNA样品稀释至500 ng/μL, 参照反转录试剂盒说明书的两步法进行反转录, 将得到的cDNA放入-20 °C冰箱内保存。

1.3.6.3 qPCR分析

以cDNA为模板, SYBR为荧光染料, 按照CFX96TM Real-Time PCR Detection System的二步法操作。PCR体系: 12.5 μL SYBR[®] Premix Ex TagTM II、1.0 μL引物F、1.0 μL引物R、2.0 μL cDNA模板、8.5 μL RNase Free dH₂O。PCR程序为: 预变性95 °C、30 s; 变性95 °C、5 s, 退火60 °C、30 s, 延伸72 °C、30 s, 共35个循环; 延伸72 °C、10 min。采用2^{-ΔΔCT}法计算目的基因的相对表达量。

1.4 数据统计与分析

数据用SPSS 20.0软件进行方差分析, 组间显著性检验用Duncan's法多重比较, 数据用平均值±标准差表示, 用Excel软件作图。

2 结果与分析

2.1 氧化指标分析结果

2.1.1 不同饲养方式苏尼特羊肉中脂质氧化程度

羊肉在宰后成熟过程中极易被氧化而产生一些代谢产物, 这不仅能引起羊肉的劣变, 还能加速肉中肌红蛋白的氧化, 造成肉色变差, 通常用TBA值反映肉的脂质氧化程度^[13-14]。舍饲饲养苏尼特羊肉的TBA值高度显著高于放牧饲养(P<0.001), 达到6.10 U/mg, 这表明舍饲饲养苏尼特羊肉的脂质氧化程度更严重。放牧饲养羊肉的TBA值(1.37 U/mg)较低, 这是由于放牧饲养羊长期摄食大量的绿色牧草, 而牧草中含有丰富的抗氧化物质, 能够清除组织内的自由基, 有效阻止脂质氧化, 从而使得放牧饲养羊肉的脂质氧化程度较低^[15]。

2.1.2 不同饲养方式苏尼特羊肉脂质氧化产物比较

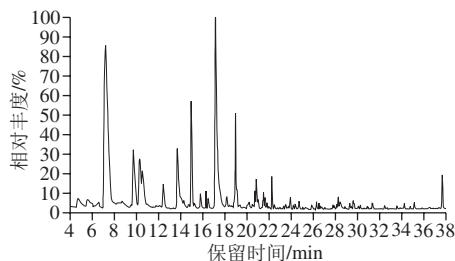


图1 舍饲饲养苏尼特羊肉脂质氧化产物的GC-MS图

Fig. 1 Gas chromatography-mass spectrometric (GC-MS) profile of lipid oxidation products in meat from forage plus concentrate-fed sheep

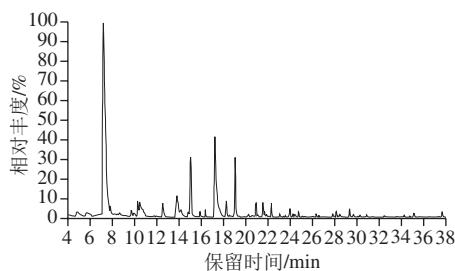


图2 放牧饲养苏尼特羊肉脂质氧化产物的GC-MS图

Fig. 2 GC-MS analysis of lipid oxidation products in meat from grazed sheep

由图1、2可知，共检测到26种脂质氧化产物，分别属于醛类、酮类、醇类和烃类化合物。肉中的脂质氧化可产生醛、醇、酮以及烃类等物质，其含量在适宜的范围内可对羊肉的风味产生积极的影响；含量过高则说明肉中脂质过度氧化，会导致肉的劣变^[16]。

由表2可知，检测到的醛类物质主要包括己醛、庚醛、辛醛、壬醛以及苯甲醛等。己醛主要来源于亚油酸和花生四烯酸的氧化，是评定肉类脂质氧化状态的重要指标^[17]。己醛和壬醛是主要的脂质氧化产物，而少部分的支链醛和芳香醛则由蛋白质降解或与糖类相互作用产生^[18]。在饱和醛中，放牧饲养苏尼特羊肉中的己醛、辛醛和壬醛的含量显著低于舍饲饲养($P<0.05$)；不饱和醛中，舍饲饲养苏尼特羊肉中(E)-2-辛烯醛和(E,E)-2,4-十二碳二烯的含量显著高于放牧饲养($P<0.001$, $P<0.05$)；在芳香醛中，放牧饲养苏尼特羊肉中苯甲醛的含量显著高于舍饲饲养($P<0.05$)。整体上，对脂质氧化程度影响比较大的醛类物质主要有己醛、庚醛、辛醛、壬醛，均在舍饲饲养羊肉中含量较高。

醇类物质也是脂质氧化的产物，其中1-戊醇和1-己醇由棕榈酸和油酸产生，而1-辛烯-3-醇的前体物质为亚油酸和花生四烯酸，由LOX催化产生^[19]。由表2可知，舍饲饲养苏尼特羊肉中1-辛烯-3-醇的含量显著高于放牧饲养($P<0.05$)，但己醇和苯甲醇含量显著低于放牧饲养

($P<0.01$, $P<0.05$)。两种羊肉中含量比较高的醇类物质为1-辛烯-3-醇，是脂质氧化产物中醇类物质的主要组成部分。

表2 两种饲养方式苏尼特羊肉的脂质氧化产物

Table 2 Lipid oxidation products identified in meat from Sunit sheep subjected to two feeding patterns

种类	名称	分子式	含量/(10 ⁶ AU/g)	
			舍饲饲养	放牧饲养
	戊醛	C ₅ H ₁₀ O	7.03±1.58	6.90±2.31
	己醛	C ₆ H ₁₂ O	468.87±108.96	229.40±79.34*
	庚醛	C ₇ H ₁₄ O	37.84±15.70	29.21±5.31
	辛醛	C ₈ H ₁₆ O	29.37±6.66	18.86±6.60*
	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	119.18±33.60	73.70±29.27**
醛类	(E)-2-辛烯醛	C ₈ H ₁₄ O	8.32±2.40	3.36±0.95***
	2,4-庚二烯醛	C ₇ H ₁₀ O	0.51±0.13	0.85±0.37*
	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	1.67±0.34	1.57±0.60
	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	12.22±6.06	23.19±8.14**
	(E)-癸烯醛	C ₁₀ H ₁₈ O	2.95±0.49	2.48±0.93
	(E)-十一烯醛	C ₁₁ H ₂₀ O	2.01±0.35	2.04±0.62
	(E,E)-2,4-十二碳二烯醛	C ₁₂ H ₂₀ O	4.62±1.04	3.24±0.96*
	十四醛	C ₁₄ H ₂₈ O	2.35±0.53	1.74±0.46*
	十六醛	C ₁₆ H ₃₂ O	4.76±1.38	6.63±2.38
醇类	戊醇	C ₅ H ₁₂ O	12.54±3.26	15.05±3.63
	己醇	C ₆ H ₁₄ O	3.20±0.96	5.15±2.27**
	1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	42.36±11.52	28.64±10.77*
	2-乙基-1-己醇	C ₈ H ₁₈ O	1.50±0.28	2.47±0.43***
	庚醇	C ₇ H ₁₆ O	2.93±0.70	3.50±1.34
	辛醇	C ₈ H ₁₈ O	8.07±1.91	7.85±1.51
	反式-2-辛烯醇	C ₈ H ₁₆ O	6.00±1.24	4.23±1.44*
	苯甲醇	C ₇ H ₈ O	1.80±0.52	2.87±0.98*
	2,3-辛二酮	C ₈ H ₁₄ O ₂	91.89±28.7	32.36±8.09***
酮类	4-十二酮	C ₁₀ H ₂₄ O	1.93±0.66	1.40±0.34
	十三烷	C ₁₃ H ₂₈	3.42±0.43	1.73±0.60***
	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	2.47±0.94	—

注：与舍饲饲养组相比，*差异显著($P<0.05$)；**差异极显著($P<0.01$)；***差异高度显著($P<0.001$)。下同。—未检出。

酮类化合物是脂肪氧化的另一种产物，本研究中共检测出2种酮类化合物。其中，舍饲饲养羊肉中2,3-辛二酮含量高度显著高于放牧饲养($P<0.001$)。在脂类物质氧化过程中，烷氧基被另一个烷游离基氧化从而生成2,3-辛二酮，其是酮类中最主要的脂质氧化产物^[20]。

烷烃类化合物主要由脂肪酸烷氧自由基均裂产生，在肉中占的比例较少^[21]。苏尼特羊肉中共检测出2种烃，分别为十三烷和十六烷。其中，放牧饲养羊肉中十三烷的含量显著高于舍饲饲养($P<0.05$)，而十六烷仅在放牧饲养羊肉中被检测到。整体上，烷烃类物质含量较低，不是脂质氧化的主要产物。

综上，脂质氧化的主要产物为己醛、庚醛、辛醛、1-辛烯-3-醇以及2,3-辛二酮。这些物质均在舍饲饲养羊肉中含量较高，进一步反映了舍饲饲养羊肉的脂质氧化程度比较严重。

2.2 两种饲养方式苏尼特羊肉抗氧化能力

表3 两种饲养方式苏尼特羊肉的抗氧化能力

Table 3 Antioxidant properties in meat from Sunit sheep subjected to two feeding patterns

指标	舍饲饲养	放牧饲养
T-AOC/(U/mg)	0.88±0.34	1.61±0.32***
RSA/%	26.115±1.914	27.666±1.920
CUPRAC/(mg/g)	1.690.22±188.24	1.973.19±290.34*

动物机体内存在着一套抗氧化机制，包括非酶与酶类物质，其可清除组织内的自由基，使机体呈现一种动态平衡^[22]。由表3可知，放牧饲养羊肉中的T-AOC高度显著高于舍饲饲养($P<0.001$)，这说明放牧饲养羊肉的抗氧化能力较强。自由基可引发脂质氧化链式反应，而RSA则反映肌肉组织中所有抗氧化物质组成的抗氧化系统对自由基的清除能力^[23]。RSA在饲养方式上没有显著性差异($P>0.05$)。CUPRAC能反映肉中抗氧化物质的含量，放牧饲养羊肉中的CUPRAC显著高于舍饲饲养($P<0.05$)。整体上，放牧饲养羊在抗氧化方面具有优势，这可能与肉中含有丰富的抗氧化成分有关，这些抗氧化成分能减轻肉质的氧化损伤^[24]。

2.3 两种饲养方式苏尼特羊肉中抗氧化酶活力

表4 两种饲养方式苏尼特羊肉的抗氧化酶活力

Table 4 Antioxidant enzymes activities in meat from Sunit sheep subjected to two feeding patterns

指标	舍饲饲养	放牧饲养
SOD活力/(U/mg)	108.03±13.68	132.45±9.06***
CAT活力/(U/mg)	3.74±1.88	7.21±3.87*
GPx活力/(U/mg)	60.87±24.24	80.19±13.42*

肉中抗氧化酶系统通常以SOD、CAT和GPx为代表。SOD是第一个激活酶，它能清除超氧阴离子自由基产生H₂O₂和O₂，随后CAT和GPx清除H₂O₂，其活力能反映肉中抗氧化酶清除自由基的能力^[25]。由表4可知，放牧饲养羊肉的SOD活力高度显著高于舍饲饲养($P<0.001$)；CAT、GPx活力显著高于舍饲饲养($P<0.05$)。CAT可继续将由SOD催化的H₂O₂分解为H₂O和O₂；GPx可清除细胞液和线粒体中的脂质氧化产物、H₂O₂及自由基，避免组织产生氧化损伤^[26]。整体上，放牧饲养羊抗氧化酶活力高于舍饲饲养，一方面，这可能是因为放牧饲养羊摄入了大量的抗氧化活性物质，对抗氧化酶活力有协同促进的作用；另一方面，放牧饲养羊活动范围较广，运动量较舍饲饲养羊大，这也提高了其肌肉中抗氧化酶的活力^[27]。有研究表明，适量的运动可增强抗氧化酶活力，清除组织中的自由基^[28]；而舍饲饲养羊活动范围受限，运动量小，抵抗机体氧化的能力弱，从而导致其抗氧化酶活力较低。

2.4 两种饲养方式苏尼特羊肉的抗氧化酶相关基因表达量

表5 两种饲养方式苏尼特羊肉的抗氧化酶相关基因表达量

Table 5 Antioxidant gene expression in meat from Sunit sheep subjected to two feeding patterns

基因	表达量	
	舍饲饲养	放牧饲养
<i>SOD</i>	1.30±0.46	2.28±0.46***
<i>CAT</i>	0.66±0.22	1.26±0.39*
<i>GPx</i>	0.88±0.17	1.12±0.21*
<i>LOX</i>	6.10±2.29	1.37±0.32***

组织内调控抗氧化酶的相关基因有*SOD*、*CAT*和*GPx*，这些基因的表达量可进一步反映抗氧化酶的活性^[29]；而*LOX*基因能调控*LOX*活性，并反映肉中MDA含量。如表5所示，在两种饲养条件下，4种基因在苏尼特羊肉中均有表达，放牧饲养羊肉中3种抗氧化酶基因的表达量均高于舍饲饲养，其中*SOD*基因的表达量高度显著高于舍饲饲养($P<0.001$)；*CAT*和*GPx*基因的表达量显著高于舍饲饲养($P<0.05$)。抗氧化酶基因的表达量能反映抗氧化酶的活性，进一步从分子水平上验证了放牧饲养羊的抗氧化能力较舍饲饲养好。Vahedi等的研究也证实了羊肉中的抗氧化酶基因(*SOD*、*GPx*)表达量的增加能提高抗氧化酶活性^[29]。脂质的酶促氧化是在*LOX*的作用下进行的，并会产生一些挥发性物质，放牧饲养羊*LOX*基因表达量高度显著低于舍饲饲养羊($P<0.001$)，这说明舍饲饲养羊肉中调控*LOX*的基因非常活跃，从而加速了舍饲饲养羊肉的脂质氧化。

3 结论

舍饲饲养苏尼特羊肉TBA值高于舍饲饲养，并且羊肉中的脂质氧化产物含量较高，这表明舍饲饲养羊肉的脂质氧化程度比较严重。放牧饲养羊的T-AOC、CUPRAC和SOD、CAT、GPx活力均高于舍饲饲养羊，这说明放牧饲养羊肉的抗氧化能力较高，能有效抑制肉中的脂质氧化。进一步分析两种饲养方式下羊肉中的抗氧化酶相关基因表达量，发现舍饲饲养羊肉中*LOX*基因表达量高于放牧饲养，而*SOD*、*CAT*和*GPx*基因表达量均低于放牧饲养，从分子水平验证了舍饲饲养羊肉脂质氧化程度更严重，而放牧饲养羊肉的抗氧化能力较好。

参考文献：

- [1] NAIR M N, SUMAN S P, LI S, et al. Lipid oxidation-induced oxidation in emu and ostrich myoglobins[J]. Meat Science, 2014, 96(2): 984-993. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.08.029.
- [2] CHENG J H. Lipid oxidation in meat[J]. Journal of Nutrition and Food Sciences, 2016, 6(3): 1-3.
- [3] WARREN H E, SCOLLAN N D, NUTE G R, et al. Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages.

- II: meat stability and flavour[J]. Meat Science, 2008, 78(3): 270-278. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.06.007.
- [4] 王兆明, 贺稚非, 李洪军. 脂质和蛋白质氧化对肉品品质影响及交互氧化机制研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(11): 295-301. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201811045.
- [5] DESCALZO A M, SANCHO A M. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina[J]. Meat Science, 2008, 79(3): 423-436. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.12.006.
- [6] LUCIANO G, VASTA V, MONAHAN F J, et al. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of *longissimus dorsi* muscle from lambs fed a tannin-containing diet[J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 1036-1042. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.07.070.
- [7] PONNAMPALAM E N, WARNER R D, KITESSA S, et al. Influence of finishing systems and sampling site on fatty acid composition and retail shelf-life of lamb[J]. Animal Production Science, 2010, 50(8): 775-781. DOI:10.1071/AN10025.
- [8] 罗玉龙, 刘畅, 王柏辉, 等. 两种放牧方式对绒山羊肉抗氧化系统的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(13): 17-21. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201813003.
- [9] 罗玉龙, 王柏辉, 赵丽华, 等. 苏尼特羊和小尾寒羊的屠宰性能、肉品质、脂肪酸和挥发性风味物质比较[J]. 食品科学, 2018, 39(8): 103-107. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201808017.
- [10] WEN W, LUO X, XIA B, et al. Post-mortem oxidative stability of three yak (*Bos grunniens*) muscles as influenced by animal age[J]. Meat Science, 2015, 105: 121-125. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.03.014.
- [11] APAK R, GUCLU K, OZYUREK M, et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(26): 7970-7981. DOI:10.1021/jf048741x.
- [12] 王乐. FoxO1与其调控肌纤维类型相关基因的研究及对羊肉质的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016: 14-16.
- [13] SABOW A B, SAZILI A Q, AGHWAN Z A, et al. Changes of microbial spoilage, lipid-protein oxidation and physicochemical properties during post mortem refrigerated storage of goat meat[J]. Animal Science Journal, 2016, 87(6): 816-826. DOI:10.1111/asj.12496.
- [14] SUMAN S P, JOSEPH P. Myoglobin chemistry and meat color[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2013, 4: 79-99. DOI:10.1146/annurev-food-030212-182623.
- [15] HOWES N L, BEKHIT A E A, BURRITT D J, et al. Opportunities and implications of pasture-based lamb fattening to enhance the long-chain fatty acid composition in meat[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2015, 14(1): 22-36. DOI:10.1111/1541-4337.12118.
- [16] JOHNSON D R, DECKER E A. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: a review[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2015, 6: 171-190. DOI:10.1146/annurev-food-022814-015532.
- [17] VARLET V, KNOCKAERT C, PROST C, et al. Comparison of odoractive volatile compounds of fresh and smoked salmon[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(9): 3391-3401. DOI:10.1021/jf053001p.
- [18] NIETO G, BANON S, GARRIDO M D. Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat[J]. Food Chemistry, 2011, 125(4): 1147-1152. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.09.090.
- [19] LEDUC F, TOURNAYRE P, KONDJOYAN N, et al. Evolution of volatile odorous compounds during the storage of European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 1304-1311. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.09.123.
- [20] MARTÍN L, TIMÓN M L, PETRÓN M J, et al. Evolution of volatile aldehydes in Iberian ham matured under different processing conditions[J]. Meat Science, 2000, 54(4): 333-337. DOI:10.1016/S0309-1740(99)00107-2.
- [21] 徐薇薇, 姚瑞基, 袁维新, 等. 宁夏滩羊后腿肉营养评价及挥发性风味物质分析[J]. 肉类研究, 2017, 31(10): 41-45. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-201710008.
- [22] LARRAÍN R E, SCHAEFER D M, RICHARDS M P, et al. Finishing steers with diets based on corn, high-tannin sorghum or a mix of both: color and lipid oxidation in beef[J]. Meat Science, 2008, 79(4): 656-665. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.10.032.
- [23] 陈骋. 脂质氧化和抗氧化因子对牦牛肉肌红蛋白稳定性及高铁肌红蛋白还原能力的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016: 40-41.
- [24] CHEN C, HAN L, YU Q L, et al. Color stability and antioxidant capacity of yak meat as affected by feeding with pasture or grain[J]. Canadian Journal of Animal Science, 2015, 95(2): 189-195. DOI:10.4141/CJAS-2014-129.
- [25] CHAN K M, DECKER E A. Endogenous skeletal muscle antioxidants[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1994, 34(4): 403-426. DOI:10.1080/10408399409527669.
- [26] ZHANG Y W, LUO H L, CHANG Y F, et al. Effects of liquorice extract on the activity and gene expression level of antioxidant enzymes in *longissimus dorsi* muscle of Tan lamb[J]. Small Ruminant Research, 2017, 154: 23-28. DOI:10.1016/j.smallrumres.2017.06.012.
- [27] GATELLIER P, MERCIER Y, RENERRE M. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat[J]. Meat Science, 2004, 67(3): 385-394. DOI:10.1016/j.meatsci.2003.11.009.
- [28] PETRON M J, RAES K, CLAEYS E, et al. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat[J]. Meat Science, 2007, 75(4): 737-745. DOI:10.1016/j.meatsci.2006.10.010.
- [29] VAHEDI V, LEWANDOWSKI P, DUNSHEA F R, et al. Effect of diet on antioxidant enzyme activity and gene expression in *longissimus* muscle in lambs[J]. Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism, 2014, 1: 15. DOI:10.1016/j.jnim.2014.10.045.