

酸性条件下不同低聚肽稳定蓝莓花色苷的效果比较

王筱阳, 陆雪, 胡淼杰, 余莉莉, 牛丽亚*
(江西农业大学食品科学与工程学院, 江西南昌 330045)

摘要: 为了探究不同低聚肽稳定蓝莓花色苷的效果, 该试验在酸性体系 (pH 值 4.0) 下选用了七种低聚肽 (小麦肽、大米肽、玉米肽、绿豆肽、豌豆肽、米糠肽、鱼胶原蛋白肽), 通过分析加热 (95 ℃, 30 min) 和贮藏 (37 ℃, 光照, 7 d) 后, 其对蓝莓花色苷颜色、花色苷保留率、总酚含量以及肠胃消化后花色苷保留率的影响, 筛选效果最佳的低聚肽, 并借助红外光谱、荧光光谱、扫描电镜等进一步分析其相互作用机制。与对照组相比, 小麦肽在保持蓝莓花色苷热处理后的颜色含量和提高其贮藏稳定性等方面有着良好且突出的效果, 添加了小麦肽的蓝莓花色苷溶液贮藏 7 d 后 ΔE 值降低了 64.27%, 花色苷保留率达 71.60%。且小麦肽能够显著提高胃肠消化后蓝莓花色苷的保留率, 其中胃消化后的保留率提高了 20.39%; 肠消化后的保留率提高了 92.46%。此外, 小麦肽和锦葵色素-3-O-半乳糖苷 (M3G) 之间发生相互结合, 形成了小麦肽-M3G 复合物。综上所述, 酸性条件下添加低聚肽有利于提高蓝莓花色苷的稳定性, 其中小麦肽提高蓝莓花色苷稳定性的效果最显著。

关键词: 蓝莓花色苷; 锦葵色素-3-O-半乳糖苷; 低聚肽; 稳定性; 相互作用
文章编号: 1673-9078(2025)12-71-79 **DOI:** 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.12.1399

Stability of Blueberry Anthocyanins with Different Oligopeptides under Acidic Conditions

WANG Xiaoyang, LU Xue, HU Miaojie, YU Lili, NIU Liya*
(College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: The ability of seven oligopeptides (wheat, rice, corn, mung bean, pea, rice bran, and fish collagen peptides) to stabilize blueberry anthocyanins in an acidic system (pH value 4.0) was investigated. The most effective oligopeptides were identified through the analysis of their effects on blueberry anthocyanin color, anthocyanin retention, total phenolic content, and anthocyanin retention after gastrointestinal digestion, heating (95 ℃, 30 min), and storage (37 ℃, light, 7 d). The interaction mechanisms were further analyzed using infrared spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and scanning electron microscopy. Compared with the control group, wheat peptides demonstrate notable effectiveness in maintaining the color of blueberry anthocyanins after heat treatment and improving storage stability. The ΔE value of the blueberry anthocyanin solution with wheat peptides was reduced by 64.27% after 7 d of storage, and the retention rate of the anthocyanins was 71.60%. Moreover, the retention of blueberry anthocyanosides after gastrointestinal digestion was notably improved by the wheat peptides, as the retention rate increased by 20.39% and 92.46% after gastric and intestinal digestion, respectively. In addition, mutual binding between wheat oligopeptide and mallow pigment-3-O-galactoside (M3G) occurred, thereby resulting in the formation of the wheat oligopeptide-M3G complex. The results show that the

引文格式:
王筱阳,陆雪,胡淼杰,等.酸性条件下不同低聚肽稳定蓝莓花色苷的效果比较[J].现代食品科技,2025,41(12):71-79.
WANG Xiaoyang, LU Xue, HU Miaojie, et al. Stability of blueberry anthocyanins with different oligopeptides under acidic conditions [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(12): 71-79.

收稿日期: 2024-09-19; 修回日期: 2024-12-11; 接受日期: 2024-12-23
基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960458)
作者简介: 王筱阳 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 2075615958@qq.com
通讯作者: 牛丽亚 (1984-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品加工, E-mail: nly8483@163.com

addition of oligopeptides under acidic conditions improved the stability of blueberry anthocyanins, with wheat peptides exhibiting the most pronounced effect in enhancing the stability of blueberry anthocyanins.

Key words: blueberry anthocyanin; mallow pigment-3-O-galactopyranoside; oligopeptide; stability; interaction

蓝莓富含维生素、花色苷、尼克酸等活性成分,有“浆果之王”的美誉^[1-3]。蓝莓中的花色苷含量尤为丰富且种类繁多,其中含量最高的花色苷为锦葵色素-3-O-半乳糖苷(Mallow Pigment-3-O-Galactopyranoside, M3G)。近年来研究表明,蓝莓花色苷具有良好的抗氧化性、抗衰老、缓解视力疲劳、降血压等多种保健和药用功能,在食品、医药等方面有着巨大的应用潜力^[4]。但由于花色苷本身特殊的化学结构,蓝莓花色苷在加工和贮藏过程中会受到外界环境的影响,而发生降解,进而影响产品的外观和营养价值。可见,提高蓝莓花色苷的稳定性,可扩大蓝莓产业的发展以及蓝莓花色苷在食品中的应用范围。

目前用于提高花色苷稳定性的方法有酰基化、酯基化、添加辅色剂、微胶囊包埋等^[5]。研究发现利用食品基质因子,如蛋白、多糖、多酚、氨基酸、有机酸等,使其与花色苷构建复合物,是提高花色苷稳定性的有效途径。如 β -乳球蛋白与M3G的结合可提高M3G的光、热以及氧稳定性^[6]。

低聚肽是以蛋白质为原料,通过蛋白酶水解制得的一类由2~10个氨基酸组成的化合物。肽序列中的氨基酸残基具有不同的化学结构,这种化学结构可以使其利用肽键间的氢键作用以及氨基酸残基之间的氢键作用、静电作用、疏水性作用和 π - π 堆积作用等多种形式实现分子自组装,发挥作用。基于此,近年来,利用肽与其他食品组分相互作用,改善食品功能性质,受到广泛关注。如Niu等^[7]研究发现草鱼蛋白肽通过自组装能有效延缓大米淀粉的老化。但目前针对低聚肽对花色苷稳定性影响效果的研究较少。

课题组前期研究发现小麦低聚肽与紫薯花色苷发生相互作用,提高了紫薯花色苷在酸性条件下的抗氧化性以及中性条件下的稳定性^[8,9]。而肽的种类和结构,如氨基酸序列、氨基酸构型及末端氨基酸、电荷、两亲性等,是影响其与花色苷相互作用的关键基础结构单元,势必影响其调控花色苷稳定性的效果。

为了进一步研究低聚肽对花色苷稳定性的影响,本试验以蓝莓花色苷为原料,选择七种常见的低聚肽(小麦肽、大米肽、玉米肽、绿豆肽、豌豆肽、米糠肽、鱼胶原蛋白肽),探究了在酸性条件下,不同低聚肽对热处理和贮藏7 d后的蓝莓花色苷颜色、含量、总酚和抗氧化性,以及消化过程中蓝莓花色苷保留率的影响,

选出效果最佳的低聚肽,进一步采用紫外光谱、荧光光谱、傅里叶变换红外光谱、扫描电子显微镜等来分析低聚肽与M3G之间的相互作用机制。旨在为蓝莓花色苷在食品饮料中的应用、蓝莓保健饮料的配方研制及工艺研究提供理论参考以及为将来的蓝莓-肽相关产品的研发奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

不同低聚肽(小麦肽,来源:天然食品小麦;相对分子质量范围:≥85%小于1 000 u;大米肽,来源:大米蛋白;相对分子质量范围:≥80%小于2 000 u;玉米肽,来源:天然食物玉米;相对分子质量范围:≥90%小于1 000 u;绿豆肽,来源:绿豆蛋白;相对分子质量范围:≥85%小于1 000 u;豌豆肽,来源:豌豆蛋白;相对分子质量范围:≥85%小于1 000 u;米糠肽,来源:米糠蛋白;相对分子质量范围:≥85%小于1 000 u;鱼胶原蛋白肽,来源:鳕鱼鱼皮;相对分子质量范围:≥85%小于1 000 u;以上七种低聚肽纯度均为93%),中食都庆(山东)生物技术有限公司;蓝莓花色苷提取物(纯度25%),陕西天行健生物化工技术有限公司;锦葵色素-3-O-半乳糖苷(纯度94%),上海沪峥生物科技有限公司;总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;DPPH自由基、ABTS⁺自由基(纯度98%),阿拉丁试剂(上海)有限公司;胃蛋白酶、胰蛋白酶(分析纯),美国sigma公司;猪胆盐(分析纯),北京索莱宝科技有限公司;其余试剂(分析纯),西陇科学股份有限公司。

1.2 仪器设备

ColorQuest XE色差仪,美国HunterLab公司;UV-5200PC紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;970CRT荧光分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;Nolay-20傅里叶变换红外光谱仪,天津诺雷信达科技有限公司;Carl Zeiss EVO 18扫描电子显微镜,德国卡尔蔡司公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备

分别将七种低聚肽(小麦肽、大米肽、玉米肽、

绿豆肽、豌豆肽、米糠肽、鱼胶原蛋白肽) 10 g 溶解于 1 L 蒸馏水中, 调节 pH 值至 4.0, 将 3 g 蓝莓花色苷添加于溶液中, 混合均匀, 配制酸性混合溶液。其中空白对照组为不含低聚肽的蓝莓花色苷溶液 (本试验均在自然光照条件下进行)。

1.3.2 热稳定性及贮藏稳定性的测定

热稳定性: 将样品溶液进行热处理 (95 ℃、30 min), 然后冷却至室温后, 进行后续测量。

贮藏稳定性: 将热处理后的样品溶液在 37 ℃、光照条件下贮藏 7 d 后, 进行后续测量。

1.3.3 色差的测定

观察样品的颜色变化, 使用色差仪测量颜色参数 (亮度 L^* 、红色指数 a^* 、黄色指数 b^*)^[10]。具体操作如下: 色差仪完成校准后, 在透射模式下, 将适量样品加入比色皿中进行测量, 记录颜色参数。根据如下公式计算色差值 ΔE :

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (1)$$

式中:

ΔL ——处理后的样品同初始样品 L^* 的差值;

Δa ——处理后的样品同初始样品 a^* 的差值;

Δb ——处理后的样品同初始样品 b^* 的差值。

1.3.4 花色苷保留率的测定

采用 pH 值示差法测定, 根据齐会娟等^[11]的方法稍作修改。分别移取 2 mL 花色苷溶液到两支具塞试管中, 分别用 pH 值 1.0 的盐酸-氯化钾缓冲液 (0.025 mol/L) 和 pH 值 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液 (0.4 mol/L) 稀释相同倍数, 混匀。室温平衡 20 min 后, 以蒸馏水作为空白对照, 使用可见分光光度计测量溶液分别在 520 nm 和 700 nm 下的吸光度值。根据如下公式计算总花色苷含量:

$$T_{Acy} = \frac{\Delta A \times MW \times DF \times 10^3}{\varepsilon \times L} \quad (2)$$

$$\Delta A = (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH}4.5} \quad (3)$$

式中:

T_{Acy} ——总花色苷含量, mg/L;

$A_{520\text{ nm}}$ ——样品在 520 nm 处的吸光度值;

$A_{700\text{ nm}}$ ——样品在 700 nm 处的吸光度值;

MW ——矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的相对分子质量为 449.2 g/mol;

DF ——稀释倍数;

ε ——矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔消光系数为 26 900 L/(mol·cm);

L ——光程长度为 1 cm。

花色苷保留率的计算公式:

$$ARr = \frac{A_1}{A_2} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

ARr ——花色苷保留率, %;

A_1 ——样品处理后的花色苷含量;

A_2 ——样品处理前的花色苷含量。

1.3.5 总酚含量

总酚含量的测定采用福林酚法, 根据 Wu 等^[12]的方法稍作修改。将 0.5 mL 样品与 2.5 mL 浓度为 1 mol/L 的福林酚试剂混合均匀, 于暗处放置 5 min 后, 加入 2 mL 浓度为 10% 的碳酸钠溶液, 混合均匀, 于暗处放置 1 h 后, 在 765 nm 下测定吸光度。以没食子酸为标准品, 绘制标准曲线, 得到回归方程: $y = 60.564x - 8.1707$, $R^2 = 0.9984$ 。

1.3.6 抗氧化能力

1.3.6.1 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基清除率的测定根据周理红的方法稍作修改^[13]。将样品溶液和 DPPH 溶液按照 1:20 的比例混合均匀, 室温避光反应 25 min 后, 使用酶标仪测量其在 517 nm 下的吸光度。DPPH 自由基清除率按如下公式计算:

$$Cr_{DPPH} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式中:

Cr_{DPPH} ——DPPH 自由基清除率, %;

A_1 ——样品与 DPPH 溶液反应后的吸光度值;

A_2 ——样品与 95% 乙醇反应后的吸光度值;

A_0 ——样品溶剂与 DPPH 溶液反应后的吸光度值。

1.3.6.2 ABTS⁺自由基清除率

ABTS⁺自由基清除率的测定根据邢艳霞等^[14]的方法稍作修改。将 25 μ L 样品和 6 mL ABTS 工作液混合均匀, 室温避光反应 10 min 后, 使用酶标仪测量其在 734 nm 下的吸光度。ABTS⁺自由基清除率按如下公式计算:

$$Cr_{ABTS} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (6)$$

式中:

Cr_{ABTS} ——ABTS⁺自由基清除率, %;

A_1 ——样品与 ABTS 溶液反应后的吸光度值;

A_2 ——样品与 95% 乙醇反应后的吸光度值;

A_0 ——样品溶剂与 ABTS 溶液反应后的吸光度值。

1.3.6.3 总抗氧化能力 (FRAP法)

使用总抗氧化能力测定试剂盒测定样品溶液的总抗氧化能力。取各实验组样品, 按照测定试剂盒说明

书按要求向 96 孔的酶标板的空白孔、标准孔、测定孔中依次添加蒸馏水、不同浓度的标准品溶液、样品、FRAP 工作液, 37 °C 孵育 3~5 min, 波长 593 nm, 酶标仪读取各孔 OD 值。

1.3.7 体外模拟消化

参考 Minekus 等^[15]的方法对蓝莓花色苷进行体外模拟消化。分别测定经热处理后的添加了低聚肽的蓝莓花色苷溶液在消化前、胃消化后和肠消化后的花色苷含量, 并以蓝莓花色苷溶液进行相同消化过程作对照。体外模拟消化一般分为口腔、胃和肠阶段。由于样品中不含淀粉类物质, 且在口腔中停留时间较短, 因此在此消化过程中不考虑口腔消化阶段。该体外模拟消化过程只包括连续的 2 h 胃消化和 2 h 肠消化。分别测定经热处理后的添加了低聚肽的蓝莓低聚肽溶液在消化前、胃消化后和肠消化后的花色苷含量, 并以蓝莓低聚肽溶液进行相同消化过程作对照。每段消化结束后, 消化液均于 1 500 r/min 下离心 10 min 后依照 1.3.4 的方法进行花色苷含量的测定。

1.3.8 小麦肽与M3G相互作用研究

1.3.8.1 紫外光谱分析

配制小麦肽溶液和小麦肽-M3G 复合溶液, 小麦肽的添加量固定在 50 g/L, M3G 的添加量分别为 0、50、100、150 和 200 mg/L。使用紫外可见分光光度计在 200~700 nm 波长范围内测定。

1.3.8.2 荧光光谱分析

配制小麦肽溶液和小麦肽-M3G 复合溶液, 小麦肽的添加量固定在 50 g/L, M3G 的添加量分别为 0、50、100、150 和 200 mg/L。使用荧光分光光度计测定, 激发波长设置为 280 nm, 发射波长为 250~500 nm。 $\Delta\lambda$ 分别为 15 nm 和 60 nm, 波长范围分别为 250~500 nm 和 260~500 nm。获得混合溶液中小麦肽的同步荧光光谱。

1.3.8.3 傅里叶变换红外光谱分析 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR)

将 0.2 g 的小麦肽和 0.01 g 的 M3G 溶于 3 mL 的柠檬酸缓冲液 (pH 值 3.0) 中制得小麦肽-M3G 复合溶液, 将冷冻后的复合溶液冷冻干燥 48 h 后研磨得到小麦肽-M3G 复合物固体粉末。采用傅里叶红外光谱仪分别对小麦肽、M3G、小麦肽-M3G 进行红外光谱扫描, 扫描范围为 4 000~400 cm^{-1} 。

1.3.8.4 微观结构

参考 Liu 等^[16]的方法通过扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) 观察样品微观结构。分别

取适量干燥的小麦肽、M3G 和小麦肽-M3G 固体粉末样品 (小麦肽-M3G 的制备同 1.3.8.3), 使其均匀分布在样品台上, 经真空喷金处理后, 于加速电压 20.00 kV 下扫描, 分别在 100 $\times$ 、400 $\times$ 、3 000 $\times$ 的放大倍数下观察其形态并拍摄具有代表性的图像。

1.4 数据处理和统计分析

每组试验均重复进行三次, 将获得的数据使用 Excel 2019 进行处理。使用 SPSS 进行统计分析, 采用单因素方差分析, 并用 Duncan 进行显著性检验 ($P < 0.05$), 用不同字母表示存在显著性差异。使用 Origin 2022 作图。

2 结果与分析

2.1 不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液颜色的影响

本试验研究设计为酸性条件下 (pH 值 4.0) 的不同低聚肽稳定蓝莓花色苷的效果比较, 而酸性产品的灭菌条件一般为 95 °C, 30 min, 故本试验选择这一热处理条件。不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液颜色参数的影响如表 1 所示。从表格可以看出, 经热处理后, 七种低聚肽的添加使蓝莓花色苷溶液的 ΔE 不同程度的增大, 且除小麦肽、大米肽、鱼胶原蛋白肽外, 添加其他肽的蓝莓花色苷溶液的 ΔE 值明显高于空白对照组。该现象说明溶液中的发色团含量减少, 这可能是因为酸性环境下 (pH 值 4.0) 低聚肽与蓝莓花色苷溶液混合后, 受温度升高的影响, 蓝莓花色苷的黄烊盐阳离子形式转变为蓝紫色的醌型碱形式, 以及水合生成无色的甲醇假碱及查尔酮形式, 从而导致蓝莓花色苷溶液的色差变大^[17], 且除小麦肽、大米肽、鱼胶原蛋白肽外的其余四种低聚肽对该反应的加速效果更显著。

而贮藏 7 d 后, 添加了七种低聚肽的蓝莓花色苷溶液的 ΔE 值均低于未添加低聚肽的蓝莓花色苷溶液, 其中添加了小麦肽和绿豆肽的蓝莓花色苷溶液的 ΔE 值最小, 与空白组相比分别降低了 64.27% 和 64.68%。这可能是在贮藏期间低聚肽能与蓝莓花色苷发生结合, 这种结合通过产生空间位阻保护黄烊盐离子免受水的亲核攻击, 从而使溶液的颜色得到更好的保持。同时, 小麦肽和绿豆肽中含有丰富的酸性氨基酸-谷氨酸和疏水性氨基酸, 能更好地通过氢键和疏水作用与蓝莓花色苷结合, 进而稳定蓝莓花色苷的结构^[18,19]。

表 1 不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液热处理后和贮藏7 d后颜色参数的影响

Table 1 Effects of different oligopeptides on color parameters of blueberry anthocyanins solution after heat treatment and after storage for 7 days

	组别	ΔL	Δa	Δb	ΔE
热处理后	空白组	31.77 ± 0.03^d	19.55 ± 0.10^c	8.15 ± 0.04^d	2.49 ± 0.05^e
	小麦肽	33.26 ± 0.03^a	20.08 ± 0.08^a	9.16 ± 0.13^b	2.58 ± 0.07^{de}
	大米肽	31.31 ± 0.03^f	16.79 ± 0.04^e	7.40 ± 0.11^e	2.58 ± 0.03^{de}
	玉米肽	31.02 ± 0.03^g	16.97 ± 0.09^d	7.09 ± 0.07^f	2.80 ± 0.09^c
	绿豆肽	32.65 ± 0.01^c	19.57 ± 0.07^{bc}	9.10 ± 0.09^b	3.60 ± 0.09^a
	豌豆肽	31.53 ± 0.02^e	16.72 ± 0.05^e	7.28 ± 0.06^e	3.19 ± 0.05^b
	米糠肽	33.26 ± 0.04^a	20.04 ± 0.05^a	9.45 ± 0.11^a	2.65 ± 0.09^d
	鱼胶原蛋白肽	32.73 ± 0.05^b	19.69 ± 0.05^b	8.38 ± 0.04^c	2.61 ± 0.04^{de}
贮藏 7 d 后	空白组	34.13 ± 0.03^c	17.08 ± 0.05^h	11.62 ± 0.03^a	4.87 ± 0.04^a
	小麦肽	33.92 ± 0.02^e	18.57 ± 0.09^b	9.69 ± 0.04^f	1.74 ± 0.08^f
	大米肽	34.04 ± 0.02^d	17.23 ± 0.06^g	10.45 ± 0.10^c	4.12 ± 0.08^b
	玉米肽	33.30 ± 0.02^f	17.86 ± 0.02^d	9.45 ± 0.07^g	3.40 ± 0.05^d
	绿豆肽	33.88 ± 0.02^e	18.85 ± 0.01^a	10.05 ± 0.04^d	1.72 ± 0.01^f
	豌豆肽	34.02 ± 0.05^d	17.68 ± 0.08^e	9.80 ± 0.08^e	3.67 ± 0.07^c
	米糠肽	34.58 ± 0.03^b	18.24 ± 0.05^c	10.78 ± 0.03^b	2.59 ± 0.02^e
	鱼胶原蛋白肽	34.77 ± 0.03^a	17.46 ± 0.03^f	10.49 ± 0.06^c	3.69 ± 0.03^c

注：同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异（ $P<0.05$ ）。

2.2 不同低聚肽对蓝莓花色苷保留率的影响

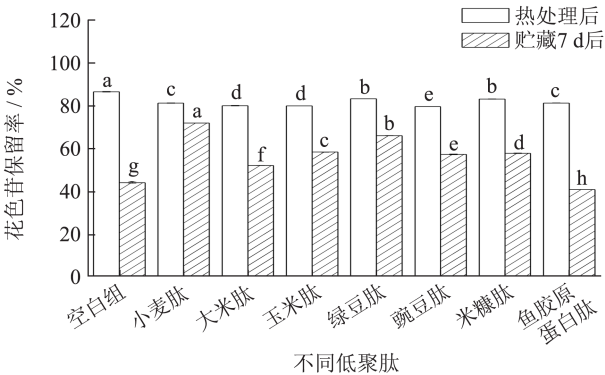


图 1 不同低聚肽对蓝莓花色苷保留率的影响

Fig.1 Effects of different oligopeptides on the retention of blueberry anthocyanins

注：不同的小写字母表示具有显著差异（ $P<0.05$ ）。下同。

不同低聚肽对蓝莓花色苷保留率的影响如图 1 所示。可以看出经热处理后，添加 7 种低聚肽的蓝莓花色苷溶液的花色苷保留率均低于未添加低聚肽的蓝莓花色苷溶液，其中添加了豌豆肽的蓝莓花色苷溶液的花色苷保留率最低，比空白组降低了 8.02%。结合 2.1 中热处理后七种低聚肽的添加均使蓝莓花色苷溶液的 ΔE 增大的结论，可以说明 7 种低聚肽的添加会降低蓝

莓花色苷的热稳定性。这可能是由于在热处理过程中受到高温的影响，蓝莓花色苷本身会降解，且低聚肽还会与其相互作用，生成肽-花色苷复合物衍生物。

经贮藏后，所有组别的花色苷保留率均降低，而除添加鱼胶原蛋白肽外，添加其余六种低聚肽的组别降低幅度与对照组相比偏小，其中添加小麦肽的花色苷保留率最高，达 71.60%。这可能是因为除鱼胶原蛋白肽外，其余六种低聚肽可以通过非共价作用力（如氢键、疏水作用力和范德华力）与蓝莓花色苷相互作用生成复合物，通过这种方式可以提高蓝莓花色苷在贮藏条件下抵抗外界不良环境因子的能力，增强花色苷的稳定性，从而提高其贮藏后的花色苷保留率^[20]。

2.3 不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液总酚含量的影响

不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液总酚含量的影响如图 2 所示。可以看出添加了七种低聚肽的蓝莓花色苷溶液不论在热处理后和贮藏 7 d 后，均比同状态下未添加低聚肽的蓝莓花色苷溶液的总酚含量高，其中添加大米肽和玉米肽的效果显著。这可能是因为蓝莓花色苷同属于酚类物质，其苯环上连有许多羟基，而低

聚肽可与这些酚类物质通过氢键、疏水相互作用发生结合,产生稳定酚类物质的结构^[21]。

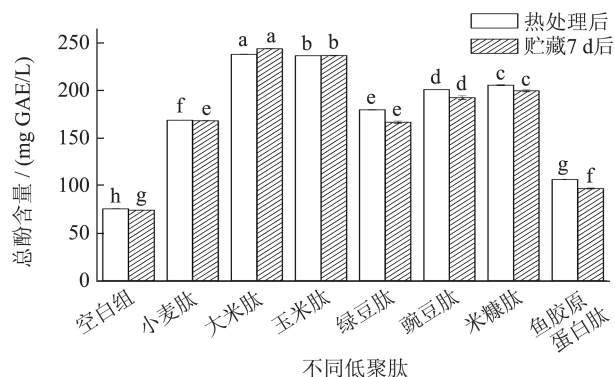


图2 不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液中总酚含量的影响

Fig.2 Effects of different oligopeptides on total phenol content in blueberry anthocyanins solution

2.4 不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液抗氧化能力的影响

不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液抗氧化能力的影响如图3所示。添加七种低聚肽后蓝莓花色苷溶液的DPPH自由基清除能力均明显下降;ABTS⁺自由基清除能力明显升高。添加了小麦肽和大米肽的蓝莓花色苷溶液在热处理和贮藏后的ABTS⁺自由基清除能力保持较稳定。8个样品溶液的总抗氧化能力在热处理和贮藏后均显著降低($P<0.05$)。前期课题组研究发现酸性条件下,添加小麦肽可以显著增强紫薯花色苷的DPPH、ABTS⁺自由基清除率和总抗氧化能力,并随着小麦肽添加量的增加而增强。其可能是小麦肽和紫薯花色苷两者相互作用生成具有较高抗氧化能力的复合衍生物,从而提升了其抗氧化能力^[8]。这也说明了酸性条件下小麦低聚肽和蓝莓花色苷、紫薯花色苷均能相互作用生成衍生物,其对两种花色苷的抗氧化能力均产生影响,但由于两种衍生物本身抗氧化能力的不同,所以小麦肽对蓝莓花色苷和紫薯花色苷抗氧化能力的影响效果不同,小麦肽与紫薯花色苷相互作用生成的衍生物抗氧化能力更强。

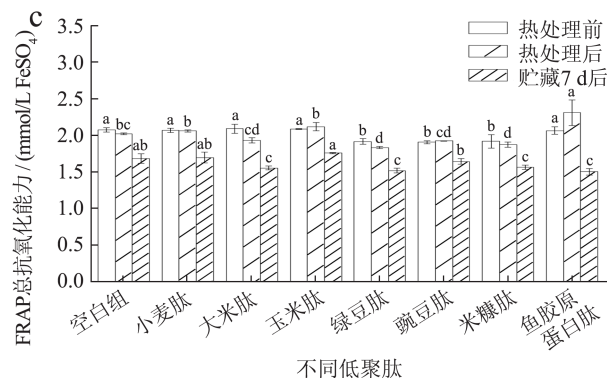
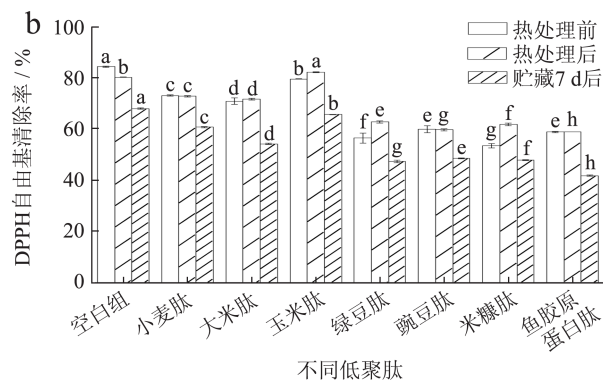
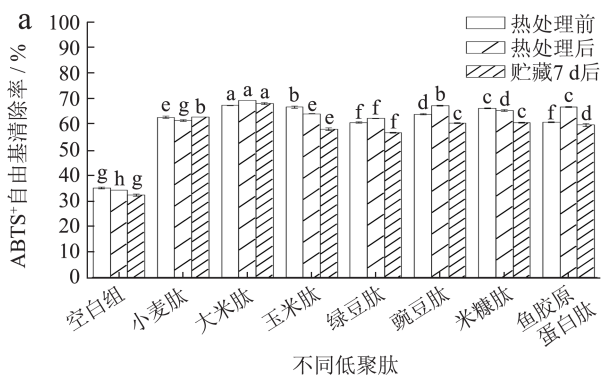


图3 不同低聚肽对蓝莓花色苷溶液抗氧化能力的影响

Fig.3 Effects of different oligopeptides on antioxidant capacity of blueberry anthocyanins solution

2.5 体外模拟消化

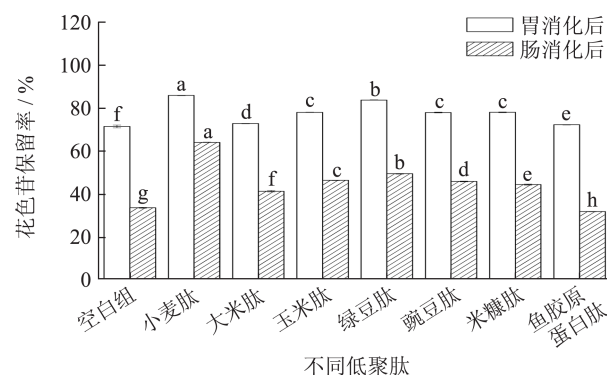


图4 不同低聚肽对体外模拟消化后的蓝莓花色苷保留率的影响

Fig.4 Effects of different oligopeptides on the retention of blueberry anthocyanins after *in vitro* digestion

消化过程中蓝莓花色苷保留率的变化如图4所示。由图可以看出经胃消化后,添加了低聚肽的蓝莓花色苷保留率均显著提高,其中小麦肽效果最为显著,提高了20.39%。经肠消化后,除添加了鱼胶原蛋白肽的蓝莓花色苷溶液的花色苷保留率降低了5.30%外,其余均提高,其中小麦肽效果显著。在体外模拟肠胃消化的过程中,分子质量相对较大的肽段受肠胃刺激会分解成分子质量更小的肽或氨基酸^[22]。推测小麦肽在

经胃蛋白酶、胰蛋白酶酶解后形成小分子质量的肽段或氨基酸，这些肽段或氨基酸发生自组装，从而对花色苷产生保护作用。

2.6 小麦肽与M3G相互作用机制

小麦肽中总蛋白含量（以干基计 %）为 90% 以上，相对分子质量主要分布在 1 000 u 以下，占比 85% 以上。其中氨基酸总量为 93.07%，尤其是谷氨酸含量占比最高，为 40.19%。根据前面的试验结果可知，小麦肽在提高蓝莓花色苷颜色和含量稳定性方面有着良好且突出的效果。这可能是因为小麦肽的氨基酸组成中富含谷氨酰胺，而谷氨酰胺中的酰胺键、羧基及氨基基团，更易于自组装的发生，也为其与花色苷结合提供了有利化学结构基础和驱动力^[23,24]。研究表明蓝莓花色苷 M3G 的含量最多，因此选用小麦肽和 M3G 为对象进一步分析低聚肽与花色苷之间的相互作用机制^[25]。

2.6.1 紫外光谱

图 5 显示在本试验条件下小麦肽在 336 nm 处有最大吸收峰，随着 M3G 的加入，500 nm 附近出现吸收峰。最大吸收波长 $\lambda_{336\text{ nm}}$ 红移至 $\lambda_{338\text{ nm}}$ ， $\lambda_{526\text{ nm}}$ 红移至 $\lambda_{528\text{ nm}}$ ，两处的峰值均增大。Feng 等^[9]研究发现，随着紫薯花色苷浓度的增加，小麦肽的紫外光谱在 527 nm 处的吸收强度逐渐增加，峰位置从 273 nm 移动到 284 nm。这表明小麦肽与 M3G 之间发生了相互作用形成了复合物，影响了小麦肽中的芳香族氨基酸残基。

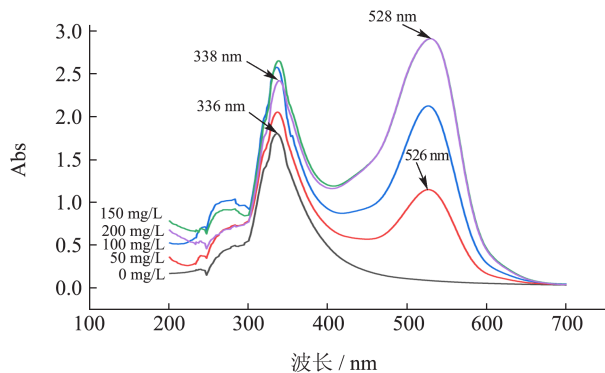


图 5 紫外光谱

Fig.5 Ultraviolet spectrum

2.6.2 荧光光谱

图 6 显示小麦肽的最大荧光发射波长 (λ_{max}) 为 471 nm，随着 M3G 浓度的增加，小麦肽的荧光强度下降，M3G 对小麦肽具有浓度依赖性猝灭作用，说明小麦肽与 M3G 存在相互作用，两者之间形成了小麦肽-M3G 复合物。 λ_{max} 向波长较短的区域移动 (471~395 nm)，出现明显的蓝移，说明在加入 M3G 后，由于小麦肽和 M3G 的相互作用，小麦肽的荧光基团（暴露在更加疏

水的环境里）附近微环境区域亲水性和极性降低，疏水性增强^[26]。

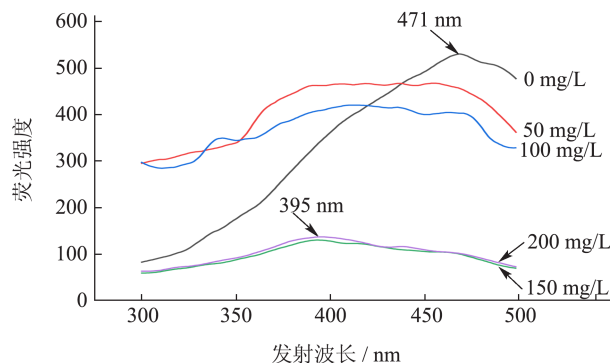


图 6 荧光光谱

Fig.6 Fluorescence spectrum

2.6.3 同步荧光光谱

图 7a 和 7b 分别显示了酪氨酸和色氨酸的荧光强度都随着 M3G 浓度的增加而降低。两种氨基酸的最大荧光发射波长 (λ_{max}) 均向波长较短的区域移动 (405~403 nm、451~438 nm)，发生蓝移。最大发射波长的蓝移表明疏水性增加，极性降低^[27]。Feng 等^[9]研究发现，随着紫薯花色苷浓度的增加， $\Delta\lambda=15\text{ nm}$ 处的同步荧光强度显著降低和蓝移 (298~296 nm)。表明酪氨酸残基和色氨酸残基进入非极性疏水腔，极性降低，疏水性增强^[28]。

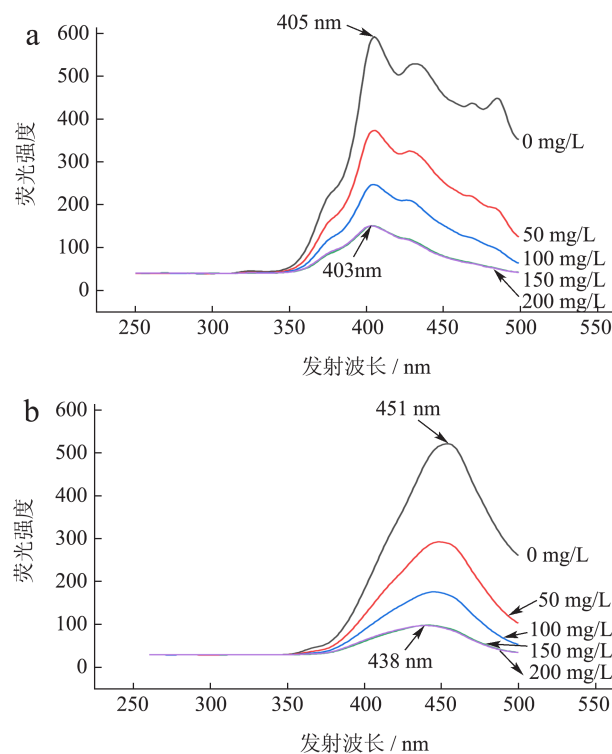


图 7 同步荧光光谱

Fig.7 Synchronous fluorescence spectrum

注：(a) $\Delta\lambda=15\text{ nm}$ ；(b) $\Delta\lambda=60\text{ nm}$ 。

2.6.4 FT-IR分析

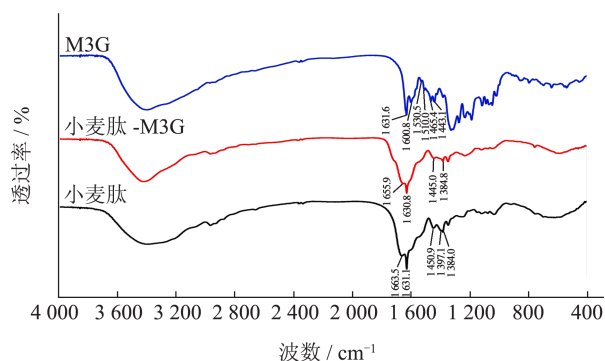


图8 红外光谱

Fig.8 Infrared spectrum

图8显示小麦肽的特征峰为1663、1631、1450、1397、1384 cm^{-1} ；M3G的特征峰为1631、1600、1530、1510、1465、1443 cm^{-1} ，对应M3G中苯并吡喃的芳香环和杂环以及连接在C2位的苯环的骨架振动^[29]；小麦肽-M3G的特征峰为1655、1630、1445、1384 cm^{-1} 。单一M3G在1600、1530、1510、1465 cm^{-1} 处的特征峰没有在小麦肽-M3G体系里出现，表明M3G与小麦肽之间产生了相互作用，两者形成了复合

物，与紫外、荧光结果一致^[30]。与单独的小麦肽相比，添加M3G后酰胺I带1663 cm^{-1} 处的吸收峰减弱，表明小麦肽-M3G复合物中 α -螺旋结构的含量减少，可能是由于M3G上的羟基与小麦肽上的C=O基团通过氢键和疏水相互作用结合。

2.6.5 微观结构

小麦肽、M3G和小麦肽-M3G的微观结构如图9所示。从图9a可以看出，小麦肽呈现明显的球体颗粒状，表面有气孔和不规则褶皱。这可能是因为在酶解过程中，小麦蛋白分子间的作用力被破坏，导致其蛋白质结构被破坏，粒径变小，表面暴露出更多的疏水性基团，因此能更好地与M3G结合。从图9b可以看出，M3G的表面呈现复杂的片层网状结构，存在孔洞，整体为不规则球体。小麦肽与M3G在形态上区别明显。从图9c可以看出，小麦肽与M3G的微观结构发生变化，球状形态的小麦肽和M3G结构解体展开，相互交织，分布错乱，呈现类似细长条晶体的状态。这可能是因为小麦肽与M3G之间产生比它们各自分子内和分子间更强的相互作用，这也证实了前面小麦肽可提高蓝莓花色苷的稳定性以及相互作用的研究。

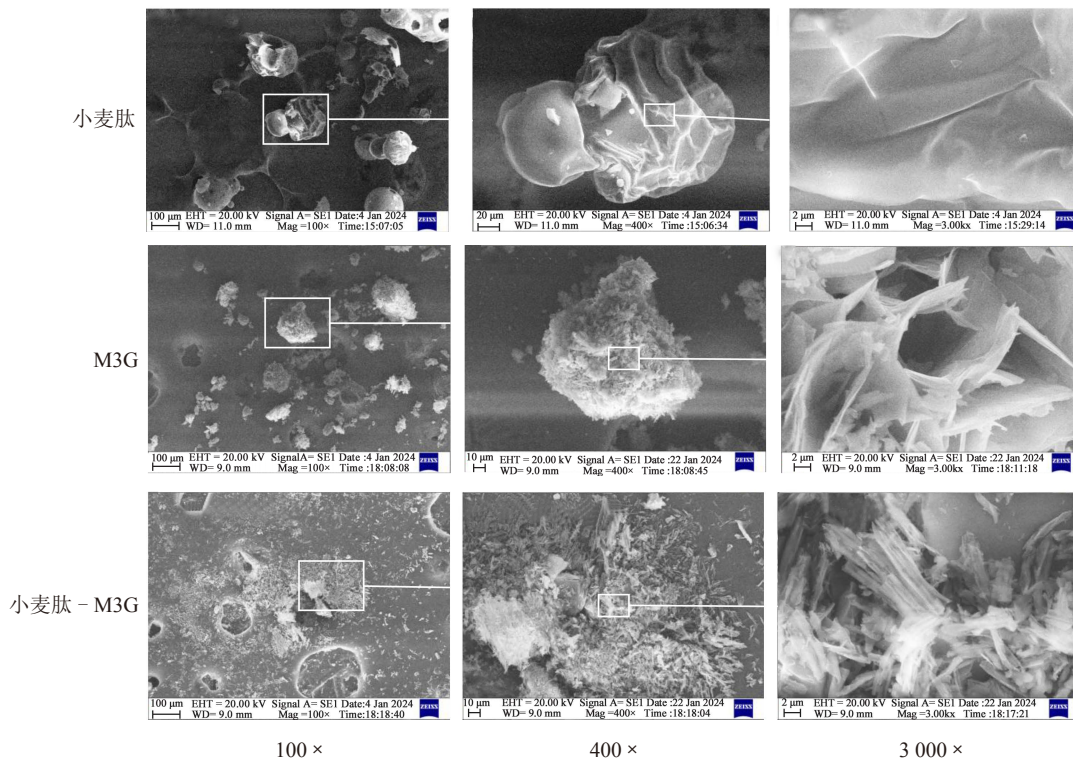


图9 扫描电子显微镜

Fig.9 Scanning electron microscopy

3 结论

在酸性体系下，七种低聚肽的添加均能显著提高贮藏7 d后蓝莓花色苷溶液的颜色稳定性，其中小麦

肽和绿豆肽的效果最好， ΔE 分别降低了64.27%和64.68%；且除了鱼胶原蛋白肽外，其它六种低聚肽均显著提高了经贮藏7 d后的蓝莓花色苷保留率，其中小麦肽的效果最好，花色苷保留率达71.60%，提高了

63.50%。七种低聚肽的加入均能显著提高热处理后以及贮藏 7 d 后蓝莓花色苷溶液的总酚含量以及 ABTS⁺ 自由基清除率。经体外胃肠模拟消化后,除了鱼胶原蛋白肽,其余低聚肽均能显著提高消化过程中蓝莓花色苷保留率,其中小麦肽的效果最好,胃消化后的花色苷保留率提高了 20.39%;肠消化后的花色苷保留率提高了 92.46%。紫外光谱、荧光光谱等结果均表明 M3G 上的羟基与小麦肽上的 C=O 基团通过氢键和疏水相互作用结合,形成了小麦肽-M3G 复合物。因此,在富含蓝莓花色苷食品生产的过程中可以适量添加低聚肽来增加花色苷的稳定性,提高产品感官品质和营养价值。

参考文献

- [1] 尤丽,党娅.蓝莓花青素的代谢及功能特性研究进展[J].食品研究与开发,2021,42(14):193-200.
- [2] 周继芬,兰武,王军,等.蓝莓营养及独特保健功能研究[J].北方园艺,2020,21:138-145.
- [3] 金永学,冯建国,郑淘,等.蓝莓的功能成分、保健作用及其开发利用[J].食品与机械,2020,36(5):231-236.
- [4] BRANDENBURG J P, GILES L V. Four days of blueberry powder supplementation lowers the blood lactate response to running but has no effect on time-trial performance [J]. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 2019, 29(6): 636-642.
- [5] 王二雷,黄佳莹,段海章,等.花色苷稳态化技术研究进展及应用前景[J].食品工业科技,2024,45(18):394-403.
- [6] HE Z, ZHU H, XU M, et al. Complexation of bovine β -lactoglobulin with malvidin-3-O-glucoside and its effect on the stability of grape skin anthocyanins extracts [J]. Food Chemistry, 2016, 209: 234-240.
- [7] NIU L, WU L, XIAO J. Inhibition of gelatinized rice starch retrogradation by rice bran protein hydrolysates [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 175: 311-319.
- [8] 陆雪,乔炳乾,杨思,等.酸性条件下小麦低聚肽增强紫薯花色苷抗氧化性的研究[J].粮油食品科技,2024,32(4):84-90.
- [9] FENG Y, QIAO B, LU X, et al. Wheat protein hydrolysates improving the stability of purple sweet potato anthocyanins under neutral pH after commercial sterilization at 121 °C [J]. Foods, 2024, 13(6): 843.
- [10] HE Z, XU M, ZENG M, et al. Interactions of milk α - and β -casein with malvidin-3-O-glucoside and their effects on the stability of grape skin anthocyanins extracts [J]. Food Chemistry, 2016, 199: 314-322.
- [11] 齐会娟,刘德文,李中宾,等.野生和栽培蓝靛果中花色苷含量的测定及分析[J].特种经济动植物,2019,22(8):42-46.
- [12] WU A, LV J, JU C, et al. Optimized clarification technology of bayberry juice by chitosan/sodium alginate and changes in quality characteristics during clarification [J]. Foods, 2022, 11(5): 671.
- [13] 周理红.蓝莓花青素的抗氧化活性对比及其稳定性分析[J].现代食品科技,2020,36(3):65-71.
- [14] 邢艳霞,回学宽,孙淑琪,等.抗氧化剂对紫薯饼干中花色苷的影响[J].中国果菜,2022,42(10):30-35,75.
- [15] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus [J]. Food & Function, 2014, 5(6): 1113-1124.
- [16] LIU R, SHI C, SONG Y, et al. Impact of oligomeric procyanidins on wheat gluten microstructure and physicochemical properties [J]. Food Chemistry, 2018, 260: 37-43.
- [17] KANG H, KO M, CHUNG M. Anthocyanin structure and pH dependent extraction characteristics from blueberries (*Vaccinium corymbosum*) and chokeberries (*Aronia melanocarpa*) in subcritical water state [J]. Foods, 2021, 10(3): 527.
- [18] 刘文颖,冯晓文,程青丽,等.小麦低聚肽的结构特征及其体外抗氧化活性[J].现代食品科技,2021,37(12):72-79.
- [19] 安宇,冯玉超,王长远,等.绿豆肽功能活性及其在食品中的应用进展[J].现代食品科技,2022,38(2):340-346.
- [20] 苏小洁,陈忠琴,曹文红,等.牡蛎DPP-IV抑制肽的结构特征及其协同花色苷的活性增效作用研究[J].食品与发酵工业,2024, 50(15):87-96.
- [21] 刘丽莉,于影,苏克楠,等.植物多酚-牛血清白蛋白相互作用及对蛋白质结构的影响[J].农业工程学报,2023,39(13):290-298.
- [22] 冯晓文,赵晓涵,潘晓琦,等.体外模拟消化对海洋鱼骨胶原低聚肽结构和抗氧化活性的影响[J].食品与发酵工业,2022,48(5): 173-179.
- [23] 方磊,李诒光,陈亮,等.小麦低聚肽营养成分和特征功能肽段研究[J].食品与发酵工业,2023,49(11):178-182.
- [24] 胡锦.改性淀粉及其衍生物的制备与性能研究[D].武汉:武汉理工大学,2016.
- [25] LI D, LI B, MA Y, et al. Polyphenols, anthocyanins, and flavonoids contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and half-high blueberries [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 62: 84-93.
- [26] 冉旭龙.大豆蛋白和酪蛋白非共价结合蓝莓花色苷稳定性作用机理[D].沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [27] 梁会丽.黄酮类化合物与胃蛋白酶的相互作用及其对酶活性影响的研究[D].郑州:郑州大学,2014.
- [28] LANG Y, LI E, MENG X, et al. Protective effects of bovine serum albumin on blueberry anthocyanins under illumination conditions and their mechanism analysis [J]. Food Research International, 2019, 122: 487-495.
- [29] PAOLA S. Characterization of the medium infrared spectra of polyphenols of red and white wines by integrating FT-IR and UV-Vis spectral data [J]. LWT, 2021, 147: 111604.
- [30] 陈曦.基于蛋白与小分子抗氧化剂协同效应的桑椹花色苷色素稳定化研究[D].无锡:江南大学,2022.