

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.11.026

模拟胃肠消化对牡蛎低聚肽抗氧化活性的影响

Effect of simulated gastrointestinal digestion *in vitro*
on the antioxidant activity of oyster oligopeptides

马 勇^{1,2,3} 高丽辉⁴ 冯晓文^{2,3}

MA Yong^{1,2,3} GAO Li-hui⁴ FENG Xiao-wen^{2,3}

谷瑞增^{2,3} 韩 涛⁴ 刘文颖^{2,3}

GU Rui-zeng^{2,3} HAN Tao⁴ LIU Wen-ying^{2,3}

(1. 浙江省动物蛋白食品精深加工技术重点实验室, 浙江 宁波 315832; 2. 中国食品发酵工业研究院有限公司, 北京 100015; 3. 北京市蛋白功能肽工程技术研究中心, 北京 100015; 4. 北京农学院食品科学与工程学院, 北京 102206)

(1. Key Laboratory of Animal Protein Food Deep Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo, Zhejiang 315832, China; 2. China National Research Institute of Food and Fermentation Industries Co., Ltd., Beijing 100015, China; 3. Beijing Engineering Research Center of Protein and Functional Peptides, Beijing 100015, China; 4. College of Food Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

摘要:以去壳牡蛎肉为原料通过酶解法制备牡蛎低聚肽, 并通过体外模拟消化试验, 对比消化前后牡蛎低聚肽分子量分布、DPPH 自由基清除能力、羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除能力、ABTS 自由基清除能力、氧自由基吸收能力(ORAC)变化, 探究牡蛎低聚肽经模拟胃、肠道消化后抗氧化活性的变化。试验结果显示, 牡蛎低聚肽的相对分子量主要在 1 000 Da 以下, 胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后重均分子量下降不超过 8.2%; 胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后, DPPH 自由基清除率降低分别不超过 7.9%, 8.7%; 胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后, $\cdot\text{OH}$ 清除率降低分别不超过 9.3%, 3.8%; 胃蛋白酶消化后, ABTS 自由基清除率降低 9.2%, 胰蛋白酶消化后, ABTS 自由基清除率提高 3.6%; 胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后, ORAC 值分别提高 11.5%, 1.3%。胃肠消化对牡蛎低聚肽的抗氧化活性评

价各指标均无显著性影响($P > 0.05$)。说明牡蛎低聚肽具有较好的综合抗氧化活性和稳定性。

关键词:牡蛎; 牡蛎低聚肽; 体外消化; 抗氧化

Abstract: Oyster oligopeptides were prepared by enzymolysis from shelled oyster meat. The molecular weight distribution, DPPH radical scavenging capacity, hydroxyl free radical ($\cdot\text{OH}$) scavenging capacity, ABTS free radical scavenging capacity and oxygen radical absorption capacity (ORAC) of oyster oligopeptides were compared before and after digestion *in vitro*. The changes of antioxidant activity of the oligopeptides after digestion in simulated stomach and intestine were explored. The experimental results showed that the relative molecular weight of oyster oligopeptides was mainly under 1 000 Da, and the average molecular weight of pepsin and trypsin decreased by no more than 8.2%; after pepsin and trypsin digestion, the DPPH free radical scavenging rate decreased by no more than 7.9% and 8.7%, respectively; after pepsin and trypsin digestion, the $\cdot\text{OH}$ scavenging rate decreased by no more than 9.3% and 3.8%, respectively; after pepsin digestion, and the ABTS free radical scavenging rate decreased by 9.2% and after trypsin digestion, the ABTS free radical scavenging rate increased by 3.6%; after pepsin and trypsin digestion, ORAC increased by 11.5% and 1.3%, respectively. Gastrointestinal digestion had no significant effect on the antioxidant activities of oyster oligopeptide ($P > 0.05$). The results showed that oyster oligopeptides had good comprehensive

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(编号: 2016YFD0400604); 国家自然科学基金(编号: 31671963); 浙江省动物蛋白食品精深加工技术重点实验室开放基金(编号: ZJAP-2019-01)

作者简介:马勇, 男, 中国食品发酵工业研究院有限公司高级工程师, 硕士。

通信作者:刘文颖(1984—), 女, 中国食品发酵工业研究院有限公司高级工程师, 硕士。E-mail: wenylingliu888@126.com

韩涛(1963—), 男, 北京农学院教授。

E-mail: taolhan@yahoo.com.cn

收稿日期:2020-05-07

antioxidant activity and stability.

Keywords: oyster; oyster oligopeptides; *in vitro* digestion; antioxidant activity

牡蛎(*Ostrea*)又名生蚝,是世界上第一大养殖贝类,是中国四大养殖贝类之一。牡蛎营养价值高,蛋白质含量高,氨基酸含量丰富且均匀,有“海洋牛奶”之称。通过生物酶解、分离纯化、喷雾干燥等技术制备牡蛎肽,是牡蛎高值化利用的有效途径^[1-2]。研究^[3-6]表明,牡蛎肽具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血糖和抑制 ACE 活性等生理作用。

牡蛎低聚肽主要成分为短肽,相对分子量小。与氨基酸相比,人体对短肽的吸收利用率更高且不易饱和,例如二肽和三肽的吸收速度高于相同组成的氨基酸^[7]。但经口服进入人体后,受胃肠道中各种消化酶的作用,可能会造成生物活性的降低^[8-9]。目前,关于牡蛎低聚肽消化前后抗氧化活性的研究未见报道。

研究拟以去壳牡蛎肉为原料,经蛋白提纯、酶解、分离纯化等步骤制得牡蛎低聚肽,采用胃蛋白酶和胰蛋白酶对其进行体外模拟消化,通过对比消化前后牡蛎低聚肽分子量分布、DPPH 自由基清除能力、羟自由基(\cdot OH)清除能力、ABTS 自由基清除能力以及氧自由基吸收能力(ORAC)变化,验证牡蛎低聚肽消化前后抗氧化能力的变化,以期对牡蛎低聚肽在抗氧化功能性食品的开发方面提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

冷冻去壳牡蛎肉:北京中食海氏生物技术有限公司;

碱性蛋白酶($\geq 4.0 \times 10^5$ DU/g)、中性蛋白酶($\geq 1\ 600$ AU/g):杜邦丹尼斯克公司;

胃蛋白酶: ≥ 250 Units/mg,美国 Sigma 公司;

胰蛋白酶: ≥ 250 NFU/mg,美国 Solarbio 公司;

偶氮二异丁脒盐酸盐(AAPH)、Fluorescein(荧光指示剂)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、Trolox(水溶性维生素 E)、分子量标准品:分析纯,美国 Sigma 公司;

乙腈、三氟乙酸:色谱纯,美国 Fisher 公司;

ABTS 自由基清除率检测试剂盒:碧云天生物技术研究所;

其他试剂:分析纯,北京化工厂;

恒温水浴锅:HH-501 型,常州国宇仪器制造有限公司;

电子天平:SI-114 型,美国 Denver Instrument 公司;

喷雾干燥机:GZ-5 型,无锡市阳光干燥设备厂;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9075A 型,北京陆希科技术有限公司;

多功能酶标仪:Spectra MR 型,美国 Dynex 公司;

高效液相色谱仪:LC-20A 型,日本 Shimadzu 公司;

多功能酶标仪:SpectraMax i3x 型,美国 MD 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 牡蛎低聚肽的制备 将冷冻去壳牡蛎肉先用蒸馏水洗净,然后称取 600 g 绞碎,加入蒸馏水搅拌均匀成浆。控温(50 ± 2) °C,调节 pH 至 8.5,以每克原料 2 500 单位的酶量加入碱性蛋白酶,酶解 2 h,使用 0.1 mol/L 的 HCl 调节水解液 pH 为 6.5,以每克原料 3 000 单位的酶量加入中性蛋白酶,酶解 2 h。酶解过程中用 0.1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 调节水解液使 pH 保持不变。酶解结束后,100 °C 沸水浴灭酶,10 000 \times g 下离心 20 min,取上清液,利用孔径为 200 nm 的陶瓷膜进行过滤,取滤过清液,再用超滤膜超滤(截留分子量 1 000 Da),取分子量 < 1 000 Da 的滤过液进行喷雾干燥,进料温度 25 °C,进料速度 14 mL/min,进风温度 135 °C,进风压力 20 kPa,制备出牡蛎低聚肽干粉。

1.2.2 牡蛎低聚肽体外模拟消化

(1) 体外模拟胃液消化试验:准确称取 5.0 g 牡蛎低聚肽和 0.2 g NaCl 加入到 50 mL 去离子水中,用 1.0 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 2.0,37 °C 水浴,加入 0.05 g 胃蛋白酶消化 2 h,消化完毕后 100 °C 沸水浴灭酶,待冷却至室温,用 1.0 mol/L NaOH 溶液将 pH 调至 7.5,最后定容至 100 mL。空白对照同上述处理方法,不加胃蛋白酶^[10-12]。

(2) 体外模拟肠液消化试验:准确称取 5.0 g 牡蛎低聚肽和 0.68 g KH_2PO_4 加入到 50 mL 去离子水中,用浓度为 1.0 mol/L NaOH 将 pH 调至 7.5,37 °C 水浴,加入 0.05 g 胰蛋白酶恒温消化 4 h,消化完毕后 100 °C 沸水浴灭酶,冷却至室温后,加去离子水定容至 100 mL。空白对照同上述处理方法,不加胰蛋白酶^[10-12]。

1.2.3 分子量分布的测定 采用反相高效液相色谱法进行分子量分布分析。流动相:乙腈-水-三氟乙酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}:V_{\text{三氟乙酸}}=45:55:0.1$);色谱柱:TSKgel G2000 SWXL 300 mm \times 7.8 mm;流速:0.5 mL/min;样品浓度:1.0 mg/mL;进样体积:10 μ L;检测器:紫外检测器;检测波长:220 nm;柱温:30 °C。用孔径 0.2 μ m 的聚四氟乙烯滤膜将样品溶液过滤后,上机进行凝胶过滤。将乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸、杆菌酶和细胞色素 C 配制成 0.1 g/100 mL 的溶液,用于制作相对分子量标准曲线^[13]。

1.2.4 牡蛎低聚肽消化前后的 DPPH 自由基清除率测定

依次加入 100 μ L 0.1 mmol/L DPPH-无水乙醇溶液和 100 μ L 不同浓度的样品溶液,室温避光放置 30 min,于 517 nm 处测定吸光值;将 100 μ L 不同浓度的样品溶液与 100 μ L 无水乙醇混合,测定吸光值;以蒸馏水代替样品作为空白对照,与 100 μ L 0.1 mmol/L DPPH-无水乙醇溶液混合,测定吸光值^[14]。按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$S = \left(1 - \frac{A_x - A_0}{A_1}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

S——自由基清除率, %;

A_x ——样品组吸光值;

A_0 ——空白组吸光值;

A_1 ——对照组吸光值。

1.2.5 牡蛎低聚肽消化前后的·OH清除率测定 采用水杨酸法,其原理是 H_2O_2 和 Fe^{2+} 反应生成·OH,再加入水杨酸后能够捕捉·OH显色。依次加入 100 μL 不同浓度的样品溶液,200 μL 5 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液,200 μL 5 mmol/L $FeSO_4$ 溶液,试验组以 100 μL 5 mmol/L H_2O_2 启动反应;对照组以等体积蒸馏水启动反应。空白组以等体积蒸馏水代替样品。涡旋震荡,反应 1 h 后取 200 μL 反应液在 510 nm 处测定吸光值^[15]。按式(1)计算·OH清除率。

1.2.6 牡蛎低聚肽消化前后的 ABTS 自由基清除率测定 将 2.45 mmol/L 高硫酸钾溶液加入到 7 mmol/L ABTS 储备液中,室温避光静置 16 h,制备成 ABTS⁺ 自由基储备液。用磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)将 ABTS⁺ 自由基储备液稀释 35 倍后作为工作液。每个孔中加入 200 μL 稀释 35 倍的工作液。向标准曲线检测孔中加入 10 μL 不同浓度的 Trolox(水溶性维生素 E)标准溶液,向样品检测孔中加入样品 10 μL ,轻轻混匀后室温孵育 6 min,于 734 nm 处测定吸光值。同时制作 Trolox 溶液标准曲线,最终样品的抗氧化能力以 mmol/g Trolox 表示^[16]。

1.2.7 牡蛎低聚肽消化前后的 ORAC 值测定 将 25 μL 样品溶液和 100 μL 的 Fluorescein(荧光指示剂, 0.8 $\mu mol/L$) 于 96 孔板中混合,然后加入 75 μL 150 mmol/L 偶氮类化合物 AAPH 启动反应,此为试验组。分别用 25 μL Trolox 标准品(6.25, 12.50, 25.00, 50.00, 100.00, 250.00, 500.00 $\mu mol/L$)代替样品作为阳性对照(制作标准曲线)、25 μL 磷酸缓冲液(pH 7.4, 75 mmol/L)代替样品为空白对照,于 37 $^{\circ}C$ 保温 20 min,荧光酶标仪激发波长 485 nm,发射波长 530 nm,每隔 2 min 测定一次,测定 150 min。同时以磷酸缓冲液代替

AAPH 作为对照。以样品和标准品的荧光衰退曲线的保护面积之比计算样品的 ORAC 值,结果表示为 $\mu mol/g$ Trolox^[17-18]。

1.2.8 数据处理 试验平行测定 3 次,结果以平均值±标准偏差表示。使用 Origin 8.0 软件处理数据。

2 结果与分析

2.1 消化前后牡蛎低聚肽分子量分布

分子量分布分析结果(表 1)表明,牡蛎低聚肽的分子量主要在 1 000 Da 以下,占总比例的 89% 以上,具有较好的水溶性、消化吸收性。研究^[19]表明,肽的抗氧化作用与其分子量大小有关,分子量低的短肽往往表现出较高的抗氧化活性。因此,牡蛎低聚肽是一种具有潜力的天然抗氧化物质。胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后,牡蛎低聚肽的重均分子量略微减少,这是由于低聚肽经蛋白酶消化后,部分肽段会被酶切降解,进一步生成小肽,将一些活性基团暴露出来,增加低聚肽与自由基发生反应的机会^[20]。但是消化前后重均分子量变化不超过 8.2%,因此牡蛎低聚肽具有一定的消化稳定性。

2.2 消化前后牡蛎低聚肽的 DPPH 自由基清除能力

在体外模拟胃蛋白酶和胰蛋白酶消化前后,牡蛎低聚肽对 DPPH 自由基清除能力的变化如图 1 所示。由图 1 可知,在浓度为 1~20 mg/mL 时,消化前后的牡蛎低聚肽对 DPPH 自由基清除率与浓度呈明显的剂量关系。与消化前相比,消化后的牡蛎低聚肽对 DPPH 自由基清除能力稍有下降。胃蛋白酶消化前后, IC_{50} 值分别约为 6.1, 7.8 mg/mL,在试验浓度范围内,最高降低 7.9%;胰蛋白酶消化前后, IC_{50} 值分别约为 6.3, 6.6 mg/mL,最高降低 8.7%。但胃肠消化对 DPPH 自由基清除能力均无显著性影响($P > 0.05$)。因此,经模拟消化后,牡蛎低聚肽仍可保持较高的抗氧化活性。王熙等^[21]的研究中也报道了相似的结果,条浒苔抗氧化肽模拟胃肠消化后,其 DPPH 自由基清除能力稍有下降,但没有显著性影响。

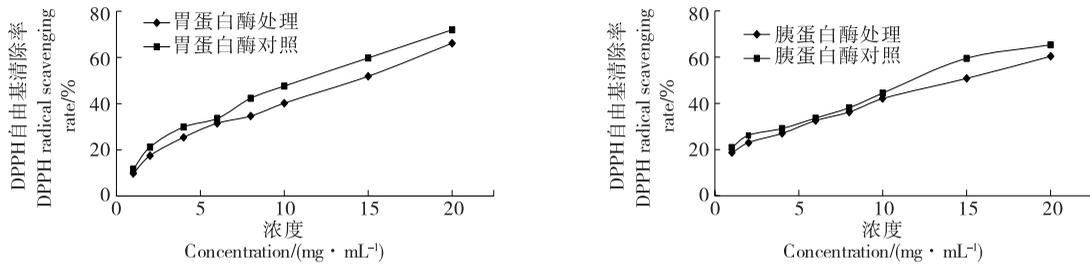
2.3 消化前后牡蛎低聚肽的·OH清除能力

经胃蛋白酶和胰蛋白酶消化前后牡蛎低聚肽对·OH清除能力的变化如图 2 所示。牡蛎低聚肽的

表 1 不同处理的牡蛎低聚肽分子量分布

Table 1 Molecular weight distribution of oyster oligopeptides with different treatments %

消化方法	分子量/Da							重均分子量
	>10 000	5 000~10 000	3 000~5 000	2 000~3 000	1 000~2 000	150~1 000	<150	
胃蛋白酶处理	0.013 6	0.227 0	0.777 1	1.446 5	6.148 5	57.626 0	33.761 3	390.365 9
胃蛋白酶对照	0.034 5	0.413 3	1.119 1	1.766 3	6.464 9	55.608 7	34.593 2	425.258 3
胰蛋白酶处理	0.013 0	0.301 3	0.907 8	1.593 3	6.385 3	56.663 0	32.982 2	407.085 2
胰蛋白酶对照	0.027 3	0.285 5	0.902 4	1.592 3	6.392 5	56.110 5	33.294 0	402.582 4



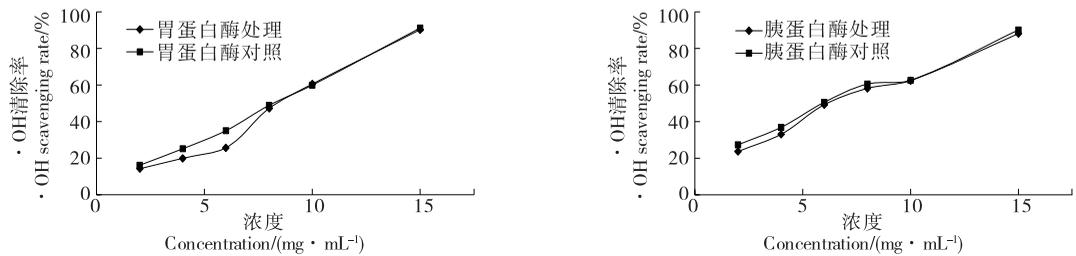
(a) 胃蛋白酶消化前后牡蛎低聚肽对DPPH自由基清除作用 (b) 胰蛋白酶消化前后牡蛎低聚肽对DPPH自由基清除作用
图 1 不同处理的牡蛎低聚肽对 DPPH 自由基清除作用

Figure 1 DPPH free radical scavenging effects of oyster oligopeptides with different treatments

·OH 清除能力在试验浓度范围内呈浓度依赖趋势。徐兆刚等^[22]制备的河蚌蛋白肽在浓度 31.32 mg/mL 时, ·OH 清除率为 82.29%, 低于试验中牡蛎低聚肽的 ·OH 清除率。胃蛋白酶消化前后, 浓度 6 mg/mL 时 ·OH 清除率变化最大, 降低 9.3%, 在 8~15 mg/mL 范围内, 牡蛎低聚肽的 ·OH 清除能力与未处理的基本相同, 消化前后 IC_{50} 值分别约为 8.1, 8.3 mg/mL。胰蛋白酶消化前后, 整体 ·OH 清除能力较胃蛋白酶处理更加稳定, 浓度 4 mg/mL 时 ·OH 清除率变化最大, 降低 3.8%, 其余浓度下变化很小, 消化前后 IC_{50} 值分别约为 5.9, 6.0 mg/mL。胃肠消化对 ·OH 清除能力均无显著性影响 ($P>0.05$), 说明牡蛎低聚肽在 ·OH 清除能力方面具有一定的消化稳定性, 可能是具有 ·OH 清除能力的肽类因其结构不符合消化酶的特异要求从而能够抵抗消化酶水解, 使整体保持较高的抗氧化活性^[21]。

2.4 消化前后牡蛎低聚肽的 ABTS 自由基清除能力

以 Trolox 标准品绘制的 ABTS 标准曲线如图 3 所示, 根据标准曲线计算消化前后牡蛎低聚肽的 ABTS 自由基清除率, 结果如表 2 所示。胃肠消化对 ABTS 自由基清除能力均无显著性影响 ($P>0.05$), 胃蛋白酶消化后, 牡蛎低聚肽对 ABTS 自由基的清除能力降低了 9.2%; 胰蛋白酶消化后, 对 ABTS 自由基的清除能力提高了 3.6%。这与 Schmelzer 等^[23]研究的 β -酪蛋白和刘珊珊等^[20]研究的酪蛋白肽经模拟胃肠消化后的降解规律一致。推测是由于胃蛋白酶将部分高活性肽段酶切降解, 阻碍了低聚肽与 ABTS 自由基的反应, 使低聚肽对自由基的清除能力略有下降。在随后的模拟肠道消化阶段, 胰蛋白酶消化后, 进一步生成小肽, 暴露更多活性基团, 大大增加与 ABTS 自由基反应的机会, 从而增强对自由基的清除能力^[24]。



(a) 胃蛋白酶消化前后牡蛎低聚肽对 ·OH 清除作用 (b) 胰蛋白酶消化前后牡蛎低聚肽对 ·OH 清除作用

图 2 不同处理的牡蛎低聚肽对 ·OH 清除作用

Figure 2 ·OH free radical scavenging effects of oyster oligopeptides with different treatments

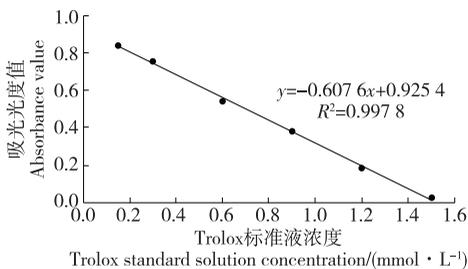


图 3 ABTS 标准曲线

Figure 3 ABTS standard curve

表 2 不同处理的牡蛎低聚肽对 ABTS 自由基清除作用

Table 2 ABTS free radical scavenging effects of oyster oligopeptides with different treatments

mmol/g Trolox	
处理方法	ABTS 自由基清除能力
胃蛋白酶消化	2.632±0.103
胃蛋白酶对照	2.900±0.035
胰蛋白酶消化	2.167±0.039
胰蛋白酶对照	2.091±0.118

2.5 消化前后牡蛎低聚肽的 ORAC 值

不同浓度 Trolox 绘制标准曲线如图 4 所示,根据标准曲线计算最终牡蛎低聚肽消化前后的 ORAC 值变化,结果如表 3 所示。胃肠消化对牡蛎低聚肽的 ORAC 值均无显著性影响($P>0.05$),经胃蛋白酶消化后,ORAC 值提高了 11.5%;经胰蛋白酶消化后,ORAC 值提高了 1.3%。顾敏^[25]对青养蛋白抗氧化肽凝胶过滤色谱分离的组分 B 的胃肠道消化特性进行了研究,结果与试验一致,体外胃肠道消化体系均提高了其抗氧化活性。产生这种结果可能是因为经胃、胰蛋白酶处理后,牡蛎低聚肽的部分肽段被酶解,生成小肽段(三肽或二肽)和氨基酸,而某些分子量越小的肽段抗氧化活性越强^[19]。另据报道^[24],某些氨基酸,如蛋氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、半胱氨酸等,因其特殊的结构而具有抗氧化作用。这些都可能是牡蛎低聚肽消化之后 ORAC 值提高的原因。

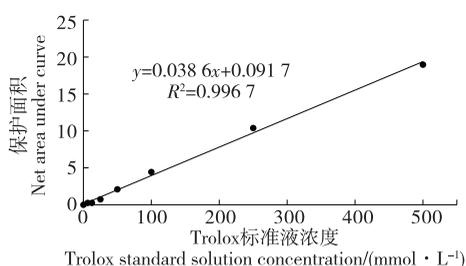


图 4 Trolox 标准曲线

Figure 4 Trolox standard curve

表 3 不同处理的牡蛎低聚肽的 ORAC 值变化

Table 3 Changes of ORAC values of oyster oligopeptides with different treatments $\mu\text{mol/g}$ Trolox

消化方法	ORAC 值
胃蛋白酶处理	501.45±61.09
胃蛋白酶对照	449.61±31.86
胰蛋白酶处理	605.87±60.19
胰蛋白酶对照	598.10±34.80

3 结论

试验以去壳牡蛎肉为原料,通过两步酶解法制备牡蛎低聚肽,并以其为研究对象,模拟胃肠道消化试验,通过对比体外消化前后的分子量分布、DPPH 自由基清除能力、·OH 清除能力、ABTS 自由基清除能力和 ORAC 值,探讨胃肠道消化对其抗氧化活性的影响。结果表明,牡蛎低聚肽的相对分子量主要在 1 000 Da 以下,胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后重均分子量下降不超过 8.2%;胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后,DPPH 自由基清除率降低分别不超过 7.9%,8.7%;胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后,·OH 清除率降低分别不超过 9.3%,3.8%;胃蛋白酶消化后,

ABTS 自由基清除率降低 9.2%,胰蛋白酶消化后,ABTS 自由基清除率提高 3.6%;胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后,ORAC 值分别提高 11.5%,1.3%。胃肠消化对牡蛎低聚肽的抗氧化活性评价各指标均无显著性影响($P>0.05$),证明牡蛎低聚肽经模拟胃肠道消化后仍保持较高的抗氧化活性,个别抗氧化评价指标有所提高。这表明牡蛎低聚肽具有较好的综合抗氧化活性和稳定性,此外,由于牡蛎低聚肽具有很高的安全性,长期食用不会产生毒副作用,因此可用于抗氧化功能性食品的开发应用。后续将通过凝胶色谱、离子交换色谱、反相高效液相色谱等方法分离筛选高活性的抗氧化肽片段,进一步探讨牡蛎低聚肽发挥抗氧化作用的机理和具体功效成分。

参考文献

- [1] 方磊, 李国明, 徐姗姗, 等. 牡蛎生物活性肽的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(7): 1 548-1 553.
- [2] 王再扬, 曹玉惠, 赵元晖, 等. 类蛋白反应修饰的牡蛎肽锌结合物的生物利用性[J]. 中国食品学报, 2020, 20(3): 46-51.
- [3] 叶昱辉. 近江牡蛎多肽的分离纯化及其抗氧化、抗光老化活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018: 58-59.
- [4] 余杰, 杨振国, 陈美珍, 等. 牡蛎活性肽体外诱导 HeLa 细胞凋亡及其作用机制[J]. 食品科学, 2012, 33(21): 290-294.
- [5] 郝更新, 曹文红, 郝记明, 等. 超滤法浓缩富集牡蛎蛋白抗氧化活性肽[J]. 食品工业科技, 2013, 34(11): 77-80.
- [6] LIU Zun-ying, ZENG Ming-yong, DONG Shi-yuan, et al. Effect of an antifungal peptide from oyster enzymatic hydrolysates for control of gray mold (*Botrytis cinerea*) on harvested strawberries[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 46(1): 95-98.
- [7] RUTHERFURD-MARKWICK K J. Food proteins as a source of bioactive peptides with diverse functions[J]. British Journal of Nutrition, 2012, 108(S2): S149-S157.
- [8] 于亚莉, 王立军, 宋雪梅, 等. 生物酶解法制备玉米胚芽醇溶蛋白抗氧化肽的工艺研究[J]. 农业科学, 2017, 7(1): 44-53.
- [9] 李理, 罗贤慧, 张静. 体外消化对大豆多肽性质和 ACE 抑制活性的影响[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2014, 42(3): 125-130.
- [10] 张森. 玉米蛋白及其水解物模拟体外消化产物抗氧化活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016: 17-18.
- [11] 赵荣, 张英雪, 单春乔, 等. 酶解对豆粕营养成分及体外消化率的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2019(1): 41-43.
- [12] 熊文, 吴婷, 曹伟伟, 等. 体外消化对藜蒿叶多酚含量及抗氧化活性的影响[J]. 现代食品科技, 2020, 36(1): 78-83, 287.
- [13] LIU Wen-ying, LU Jun, GAO Fei-fei, et al. Preparation, characterization and identification of calcium-chelating Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) ossein oligopeptides[J]. European Food Research and Technology, 2015, 241: 851-860.

(下转第 176 页)

- [4] HAN Chuan-wu, MA Meng, ZHANG Hai-hua, et al. Progressive study of the effect of superfine green tea, soluble tea, and tea polyphenols on the physico-chemical and structural properties of wheat gluten in noodle system[J]. Food Chemistry, 2020, 308: 125676.
- [5] 刘悦强, 周惠明. 超微茶粉对麦胚固体饮料抗氧化性的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(6): 31-36.
- [6] 李季. 超微茶粉理化分析及红茶巧克力饼干的开发[D]. 重庆: 西南大学, 2017: 5-33.
- [7] 孙峰. 超微绿茶粉的制备及其茶饮料开发研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012: 7-10.
- [8] 舒阳. 不同粒径绿茶粉理化性质及体外消化研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 42-51.
- [9] YAN Shuai-shuai, SHAO Hong-jun, ZHOU Zhi-hao, et al. Non-extractable polyphenols of green tea and their antioxidant, anti- α -glucosidase capacity, and release during in vitro digestion[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 42: 129-136.
- [10] CHEN Guan-lin, HU Kun, ZHONG Nan-jing, et al. Antioxidant capacities and total polyphenol content of nine commercially available tea juices measured by an in vitro digestion model[J]. European Food Research and Technology, 2013, 236(2): 303-310.
- [11] TENORE G C, CAMPIGLIA P, GIANNETTI D, et al. Simulated gastrointestinal digestion, intestinal permeation and plasma protein interaction of white, green, and black tea polyphenols[J]. Food Chemistry, 2015, 169: 320-326.
- [12] GURSOY N, SARIKURKCU C, CENGIZ M, et al. Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(9): 2 381-2 388.
- [13] 杨晓萍. 茶叶深加工与综合利用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2019: 9-13.
- [14] KOO S, NOH S. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids; Potential mechanism for its lipid-lowering effect[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(3): 179-183.
- [15] DONLAO N, OGAWA Y. The influence of processing conditions on catechin, caffeine and chlorophyll contents of green tea (*Camelia sinensis*) leaves and infusions[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 116: 108567.
- [16] ZUO Yue-gang, CHEN Hao, DENG Yi-wei. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector[J]. Talanta, 2002, 57(2): 307-316.
- [17] CABRERA C, GIMÉNEZ R, LÓPEZ M C. Determination of tea components with antioxidant activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(15): 4 427-4 435.
- [18] 吴迪. 芦丁鼠李糖苷酶的酶性质及异槲皮苷的纯化精制[D]. 大连: 大连工业大学, 2012: 2-9.
- [19] 王秋月. 高效异槲皮素产生菌的选育及转化条件优化[D]. 保定: 河北大学, 2015: 6-7.
- [20] 韩彩静, 金磊, 林新明, 等. 蓝莓不可萃取多酚的纯化及组分分析[J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(1): 50-54.
- [21] PÉREZ-JIMÉNEZ J, DÍAZ-RUBIO M E, SAURA-CALIXTO F. Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects[J]. Nutrition Research Reviews, 2013, 26(2): 118-129.

(上接第 137 页)

- [14] PENG Xin-yan, XIONG You-ling L, KONG Bao-hua. Antioxidant activity of peptide fractions from whey protein hydrolysates as measured by electron spin resonance[J]. Food Chemistry, 2008, 113(1): 196-201.
- [15] 佟立涛, 陈倩倩, 钱海峰, 等. 大米蛋白体外消化产物抗氧化活性的研究[J]. 现代食品科技, 2015(9): 99-104.
- [16] 庞忠莉, 郑建仙. 双酶法制备牡蛎干酶解液及其体外抗氧化活性评价[J]. 食品与机械, 2020, 36(4): 151-156.
- [17] BIER M C J, MEDEIROS A B P, KIMPE N D, et al. Evaluation of antioxidant activity of the fermented product from the biotransformation of R-(+)-limonene in solid-state fermentation of orange waste by *Diaporthe* sp.[J]. Biotechnology Research and Innovation, 2019, 3: 168-176.
- [18] 严欢, 韩飞, 李慕春. ORAC 法对薰衣草非精油组分的抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2018, 43(12): 277-280.
- [19] QIU Xiu-yuan, ZHANG Jiang-tao, LI Guo-ming, et al. Structure and composition of a potential antioxidant obtained from the chelation of pea oligopeptide and sodium selenite[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 64: 103619.
- [20] 刘珊珊, 敖静, 谢宁宁, 等. 酪蛋白抗氧化肽的胃肠消化稳定性研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(2): 47-54.
- [21] 王熙, 刘晓攀, 刘冰, 等. 酶解法制备条浒苔抗氧化肽工艺优化及其消化稳定性研究[J/OL]. 食品工业科技. [2020-05-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200310.1728.025.html>.
- [22] 徐兆刚, 董周永, 徐敏, 等. 响应面优化酶法制备河蚌蛋白抗氧化肽[J]. 中国食品学报, 2017, 17(3): 120-126.
- [23] SCHMELZER C E, SCHÖPS R, REYNELL L, et al. Peptic digestion of β -casein: Time course and fate of possible bioactive peptides[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1 166(1/2): 108-115.
- [24] 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.
- [25] 顾敏. 青养蛋白抗氧化肽的分离纯化及胃肠道消化特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014: 26-29.