

白玉花胶消化液理化性质及抗氧化活性研究

冯 瑞¹ 黄达荣¹ 钟碧銮¹ 张 宇¹ 梁结桦¹
唐晓姝² 陈雪梅² 田柬昕¹

(1. 广东官栈营养健康科技有限公司, 广东 广州 510277; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: [目的] 探究消化时间对白玉花胶消化液理化性质和抗氧化活性的影响。[方法] 利用模拟胃液与模拟小肠液进行体外消化, 结合凝胶渗透色谱、氨基酸分析仪和 Zeta 电位仪对消化液的相对分子质量、Zeta 电位和氨基酸组成进行测定, 并对白玉花胶消化液的体外抗氧化能力进行评价。[结果] 胃液消化 1.5 h 与小肠液消化 4 h 组合处理后, 白玉花胶消化液的消化率即寡肽与多肽含量占比总和、氨基酸总量以及 Zeta 电位绝对值最大, 分别为 96.47%、88.95 g/100 g 以及 21.65 mV; 该时间下的抗氧化活性最强, 2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH) 自由基清除率达 68.33%、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS⁺) 自由基清除率达 71.68%、羟自由基清除能力为 293.25 U/mL 消化液、铁离子还原能力为 0.73 mmol/L。[结论] 白玉花胶以胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4.0 h 组合处理效果最佳, 所得消化液的营养、稳定性及抗氧化活性较好。

关键词: 白玉花胶; 体外模拟消化; 胶原蛋白; 抗氧化; 理化性质; 消化液

Study on the physicochemical properties and antioxidant capacity of fish maw digestive juices from *Pangasianodon hypophthalmus*

FENG Rui¹ HUANG Darong¹ ZHONG Biluan¹ ZHANG Yu¹ LIANG Jiehua¹
TANG Xiaoshu² CHEN Xuemei² TIAN Jianxin¹

(1. Guangdong Guanzhan Nutrition and Health Technology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510277, China;
2. College of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to investigate the impact of digestion time on the digestibility, physicochemical properties, and antioxidant activity of *Pangasianodon hypophthalmus* fish maw. [Methods] *In vitro* digestion was performed with simulated gastric fluid and simulated small intestine fluid. The relative molecular weight, Zeta potential and amino acid composition of the digestive fluid were determined by gel permeation chromatography (GPC), amino acid analyzer and Zeta potentiometer, and the antioxidant capacity of the digestive fluid was evaluated. [Results] After the combined treatment of 1.5 h gastric fluid digestion and 4 h small intestinal fluid digestion, the digestibility, i.e. the total ratio of oligopeptide and polypeptide content, the total amino acid and the absolute value of Zeta potential of the digestible solution of *P. hypophthalmus* were the highest, which were 96.47%, 88.95 g/100 g and 21.65 mV, respectively. The highest antioxidant activity was obtained at this time with the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH) radical scavenging rate of 68.33%, 2,2'-bis(4-ethylbenzothiazol-5-yl)-5,5'-bibenzothiazole-4,4'-disulphonic acid (ABTS⁺) radical scavenging rate of 71.68%, hydroxyl radical scavenging capacity of 293.25 U/mL of digestion solution and ferrous iron ion reducing the capacity of 0.73 mmol/L. [Conclusion] *P. hypophthalmus* fish maw was best treated with a combination of gastric fluid digestion for 1.5 h and small intestinal fluid digestion for 4.0 h. The resulting digestive solution had better nutrition, stability, and antioxidant activity.

Keywords: *Pangasianodon hypophthalmus* fish maw; *in vitro* simulated digestion; collagen; antioxidant; physicochemical property; digestive juices

花胶是鱼鳔的干制品, 富含胶原蛋白, 因此又称鱼 胶, 是名贵的传统滋补品, 具有抗氧化^[1]、抗衰老^[2]、抗疲

通信作者: 田柬昕(1988—), 女, 硕士。E-mail: tianjx@gnlifetech.cn

收稿日期: 2023-12-04 改回日期: 2024-05-23

劳^[3]、美容修复^[4]、抗冻^[5]等多种生理功效。近年来,随着新式滋补经济的兴起,花胶需求量不断上升,传统石首鱼类的鱼鳔无法满足产量要求,限制了鱼胶产品及其行业的快速发展。荣华等^[6-7]探究了促进鱼鳔胶原蛋白沉积的方法,以期帮助养殖业提高鱼鳔的产量及品质。查鱼,别名低眼无齿鱼芒(*Pangasianodon hypophthalmus*),其养殖业在过去 10 年间发展迅猛^[8]。查鱼鱼鳔被称为“白玉花胶”。白玉花胶因资源丰富、价格亲民且营养密度较高而成为花胶产业新原料。目前,国内外已在查鱼的生物学特性^[9]、养殖^[10]及繁育^[11]领域取得进步,但在查鱼的综合开发利用方面尤其是白玉花胶的基础研究上尤为不足,仅有关于其肌肉营养成分^[12]及质构^[13]的报道,需进一步探究其理化性质、结构特征及功效等。

研究拟对白玉花胶进行不同时间的体外消化,对消化液进行相对分子质量、氨基酸组成和 Zeta 电位测定,并检测白玉花胶消化前后的体外抗氧化活性差异,为白玉花胶的高值化、扩大化应用提供依据,同时据此对白玉花胶及其产品进行增强或缓释吸收处理,以期获得活性较强的花胶消化液,促进花胶产业的良性发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

查鱼鱼鳔干品:产地越南,市售;

胃蛋白酶(酶活力 $\geq 1\ 100\ \text{U/mg}$)、胰蛋白酶(酶活力 $\geq 1\ 000\ \text{U/mg}$):诺维信酶制剂有限公司;

猪胆盐、LA1950 型羟自由基试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;

氯化钾、氯化钙、氯化钠、碳酸氢钠、醋酸钠、氢氧化钠、硫酸亚铁、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、三氯化铁、三氯乙酸、铁氰化钾、水杨酸、无水乙醇、盐酸溶液、磷酸盐缓冲溶液:分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司;

氨基酸混合标准品:北京默克有限公司;

邻二氮菲:上海源叶生物科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

万分位电子天平:FA214 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

紫外分光光度计:UV-1100 型,上海美谱达仪器有限公司;

氨基酸分析仪:LA8080 型,上海日立仪器有限公司;

激光粒度分析仪:PA15 型,美国布鲁克海文仪器有限公司;

恒温磁力搅拌器:JB-2 型,上海新泾仪器有限公司;

恒温水浴锅:HH-8 型,上海析达仪器有限公司;

pH 计:PHS-3E 型,上海仪电科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 白玉花胶营养成分测定

(1) 蛋白质:按 GB 5009.5—2016 执行。

(2) 灰分:按 GB 5009.4—2016 执行。

(3) 水分:按 GB 5009.3—2016 执行。

(4) 脂肪:按 GB 5009.6—2016 执行。

1.2.2 白玉花胶消化液制备 将查鱼鱼鳔干品清洗干净,按 $m_{\text{鱼鳔}}:m_{\text{水}}$ 为 1:3 浸泡 6 h,打碎后备用。取 1.0 g 鱼鳔与 10.0 mL 的人工模拟胃液混匀,调 pH 至 3.0,消化时间参照文献^[14]并于 37 ℃水浴下培育 1.0, 1.5, 2.0 h。消化过程中,反应溶液 pH 保持在 2.0。消化完成后,使用 1 mol/L 的 NaOH 调溶液 pH 至 5.0,使蛋白酶失活;将 10 mL 胃液与 5.0 mL 模拟小肠液混匀,调 pH 至 7.0 且容器上方充入氮气,消化时间参照文献^[14]并修改,盖紧瓶塞后于 37 ℃水浴摇床孵育 2, 3, 4, 5 h。消化完成后,沸水加热 10 min 结束酶反应,置于 -80 ℃冷冻备用。

(1) 模拟胃液制备:参照 Wang 等^[15]的方法并修改。将 0.62 g NaCl、0.22 g KCl、0.05 g CaCl_2 和 0.12 g NaHCO_3 溶解至 200 mL 蒸馏水中,用 0.1 mol/L HCl 溶液将 pH 调至 2.0,得到胃电解质溶液;将 1.0 mL CH_3COONa (1.0 mol/L, pH 5) 和 23.6 g 胃蛋白酶加入到 100 mL 胃电解质溶液中,用 0.1 mol/L HCl 溶液将 pH 调至 2.0,得到模拟胃液。

(2) 模拟小肠液制备:参照 Chen 等^[16]的方法并修改。将 0.54 g NaCl、0.065 g KCl 和 0.033 g CaCl_2 溶解至 100 mL 蒸馏水中,用 0.1 mol/L NaOH 溶液将 pH 调至 7.0,得到小肠电解质;将 200.0 g 猪胆盐(4%) 和 50.0 g 胰蛋白酶溶液(7%) 加入到 50.0 g 小肠电解质溶液中,用 0.1 mol/L NaOH 溶液将 pH 调至 7.5,得到模拟小肠液,减压浓缩至溶液质量浓度为 5 mg/mL。

1.2.3 白玉花胶消化液的相对分子质量分布测定 以白玉花胶消化液的相对分子质量分布评估样品的降解率,并对胃液消化时间和小肠液消化时间进行优化。模拟胃液固定消化 1.5 h,随后模拟小肠液分别消化 2, 3, 4, 5 h;此外,模拟胃液分别消化 1.0, 1.5, 2.0 h,然后固定小肠液消化 4 h,测定所得消化液的相对分子质量分布以优化最佳消化时间。

参照马涛等^[17]的方法稍作修改,使用凝胶渗透色谱法检测白玉花胶消化液的相对分子质量分布情况。样品制备:取消化液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,用流动相稀释至刻度,超声 5 min,离心,微孔过滤膜过滤后进样,色谱条件:TSKgel 2000 S WXL 色谱柱(300 mm $\times$ 7.8 mm),检测波长 220 nm,柱温 30 ℃,流速 0.5 mL/min;相对分子质量校正曲线标准品:细胞色素 C(MW 12 384)、抑肽酶(MW 6 500)、杆菌肽(MW 1 422)、乙氨酸—乙氨酸—酪氨酸—精氨酸(MW 451)、乙氨酸—乙氨酸—乙氨酸(MW 189)。

得到寡肽占比(2~10个氨基酸,相对分子质量 $\leq 1\ 200$)、多肽占比(10~50个氨基酸,相对分子质量1 200~6 000)和蛋白质占比(50个以上氨基酸,相对分子质量 $> 6\ 000$),以此评估不同酶解组合时间的降解效率(蛋白质不属于降解产物,不作考虑)。

1.2.4 白玉花胶消化液的氨基酸组成分析 按 GB 5009.124—2016 执行。混合氨基酸标准工作液和样品待测液分别以相同体积注入氨基酸分析仪,以外标法通过峰面积计算样品测定液中氨基酸浓度,检测波长为 440, 570 nm。

1.2.5 白玉花胶消化液的 Zeta 电位测定 参照齐宝坤等^[18]的方法。

1.2.6 白玉花胶消化液体外抗氧化能力测定

(1) DPPH 自由基清除能力:参照佟晓红等^[19]的方法。按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$R_1 = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R_1 ——DPPH 自由基清除率,%;

A_1 ——样品组于 517 nm 测得的吸光值;

A_2 ——无水乙醇空白组测得的吸光值;

A_0 ——蒸馏水对照组测得的吸光值。

(2) 羟自由基清除能力:根据羟自由基试剂盒说明书测定。按式(2)计算羟自由基清除率。

$$R_2 = [(A_1 - A_2)/(A_3 - A_4)] \times (C_1/V_1) \times B_1 \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_2 ——羟自由基清除率,%;

A_1 ——对照组的吸光值;

A_2 ——样品组的吸光值;

A_3 ——标准品组的吸光值;

A_4 ——空白组的吸光值;

C_1 ——标准品浓度,8.824 mmol/L;

V_1 ——取样量,mL;

B_1 ——样品测试前稀释倍数。

(3) ABTS 自由基清除能力:参照张双等^[20]的方法。按式(3)计算 ABTS 自由基清除率。

$$R_3 = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

R_3 ——ABTS 自由基清除率,%;

A_0 ——空白组的吸光值;

A_1 ——样品组的吸光值。

(4) 亚铁离子总还原能力:参照王莹等^[21]的方法。按式(4)计算还原力。

$$R_4 = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

R_4 ——FRAP 还原力,%;

A_0 ——空白组的 FRAP 还原力吸光值;

A_1 ——样品组的 FRAP 还原力吸光值。

1.3 数据处理

试验结果以均值 $\pm$ 标准差表示,使用 SPSS 24.0 软件对数据进行 Tukey 检验与单因素方差分析。 $P < 0.05$ 代表差异显著且具有统计学意义; $P < 0.01$ 代表差异极显著。采用 GraphPad Prism 8.0 进行数据图绘制。

2 结果与分析

2.1 白玉花胶的基本营养成分

由表 1 可知,白玉花胶与其他鱼种的花胶一样,具有较高的蛋白质含量(高达 78.67%),水分、灰分与脂肪分别占 12.31%,0.78%,1.10%,表明白玉花胶是一种低脂肪、高蛋白含量的优质食物。

表 1 白玉花胶的基本成分

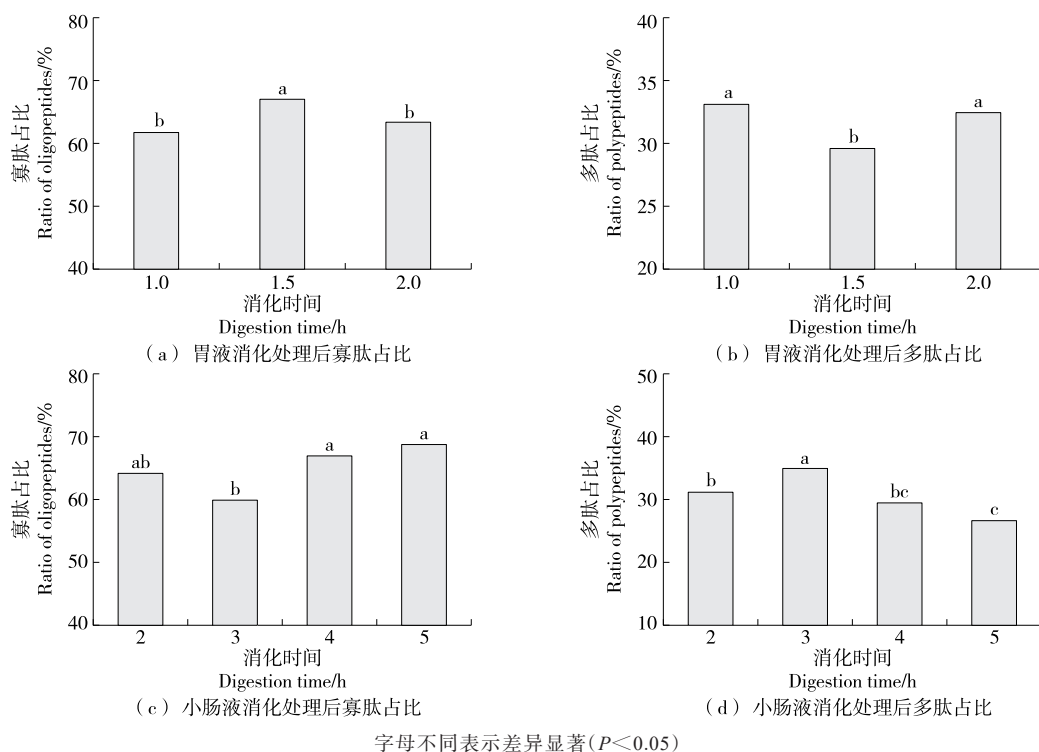
%			
水分	蛋白质	脂肪	灰分
12.31	78.67	1.10	0.78

2.2 白玉花胶消化液的相对分子质量分布

由图 1(a)、图 1(b)可知,随着胃液消化时间的增加,寡肽占比先升高后降低,多肽占比先下降后回升。胃液消化 1.5 h 时,寡肽与多肽占比相对于其他消化时间的差异显著;而胃液消化 1.5 h 后,寡肽与多肽占比之和高达 96.47%,高于消化 1.0、2.0 h 的,且 1.5 h 的寡肽占比更高,说明其消化效率较佳,可以将 1.5 h 的胃液消化时间作为优化工艺点。此外,消化 3.0 h 后,白玉花胶的消化率接近 95%,其中寡肽占比约 2/3,消化液内大部分为小分子胶原蛋白肽。研究^[22]显示,口服胶原蛋白肽在 6 h 内能吸收 90%。因此,推测口服白玉花胶的消化吸收量比较可观,但稍低于口服胶原蛋白肽。

由图 1(c)、图 1(d)可知,随着小肠液消化时间的增加,消化液中寡肽占比总体上升,而多肽占比先上升后下降。对比其他消化时间,小肠液消化 3 h 的寡肽与多肽占比差异显著,消化 4、5 h 的寡肽占比较高且两者间无显著性差异,但小肠液在消化 4 h 后寡肽与多肽占比之和为 96.47%,高于消化 2、3、5 h 的,说明 4 h 是小肠液高消化效率的时间点。

酶解时间中,经胃液消化 1.5 h 与小肠液消化 4 h 的小分子产物(寡肽与多肽含量之和)占比高且酶解产物总占比最大,说明其消化效率较高,推测是因为酶解时间的上升会使蛋白质更为彻底地解离,而酶解时间过长会导致解离出来的小分子酶解产物被氧化损害,从而导致胃液消化 1.5 h—小肠液消化 5 h 时间组合的酶解产物得率最低。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 酶解时间对白玉花胶消化液产物的影响

Figure 1 Effects of different combination enzymatic hydrolysis times on the digestive solution products of *P. hypophthalmus* fish maw

2.3 白玉花胶消化液的氨基酸组成及含量

由表 2 可知, 6 种不同胃液—小肠液处理时间组合所得消化液中均检出 18 种氨基酸, 而色氨酸和谷氨酰胺未检出, 这是因为色氨酸在酸性条件下会被完全破坏, 需要单独进行检测。随着胃液与小肠液处理时间的延长, 氨基酸总量大致呈上升趋势, 其中胃液消化 1.5 h—小肠液消化 5 h 的氨基酸总量最低, 为 (71.01 ± 0.66) g/100 g, 而胃液消化 2 h—小肠液消化 4 h 所得氨基酸总量最高, 为 (89.07 ± 0.93) g/100 g, 说明适当的消化时间才能提高氨基酸得率; 而胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4 h 的氨基酸得率显著高于胃液消化 1.5 h—小肠液消化 5 h 的, 表明过长的酶解时间会导致氨基酸损失; 胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4 h 与胃液消化 2.0 h—小肠液消化 4 h 之间无显著性差异, 为节省能源, 胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4 h 为较佳的处理时间, 这与鳕鱼鱼鳔的体外消化时间相当, 但酶解产物得率远高于鳕鱼鱼鳔^[23]和鲟鱼鱼鳔^[24], 可能是两种鱼胶胶原蛋白类型差异导致的, 例如羟脯氨酸含量较高的鱼胶抵抗体外消化液的能力较强。

必需氨基酸(EAA)是评价蛋白质营养价值的重要指标, 胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4 h 时, EAA 含量为 (16.19 ± 0.15) g/100 g, 与黄鱼胶酶解液的 EAA、TAA 含

量相近^[25], 除了胶原蛋白特有的脯氨酸外, 含量前 5 的氨基酸为甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、精氨酸及天冬氨酸, 分别占样品质量的 $(22.44 \pm 0.31)\%$, $(10.94 \pm 0.08)\%$, $(10.91 \pm 0.15)\%$, $(7.64 \pm 0.11)\%$, $(5.37 \pm 0.07)\%$ 。甘氨酸是血红素合成底物之一, 有很好的造血功能, 并能促进肌肉生长、改善免疫^[26]; 丙氨酸通过参与白细胞的代谢影响免疫功能, 促进肌肉增长及伤口愈合^[27-28]; 谷氨酸能够在肝脏中转化为葡萄糖, 提供给身体细胞所需的能量, 提高机体免疫功能^[29]; 精氨酸具有免疫调节作用, 也能够增加精子数量与活力^[30]; 作为胶原蛋白特征组分, 脯氨酸可以帮助软骨愈合同时促进肌肉生长, 并调节免疫细胞活性^[27]。综上, 白玉花胶消化液的活性氨基酸含量高, 对机体健康有积极影响。

鲜味氨基酸包括谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸、天冬氨酸和苯丙氨酸, 苦味氨基酸包含精氨酸、组氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸^[31]。胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4 h 时, 除精氨酸外的优势氨基酸均为鲜味氨基酸, 含量高达 (52.72 ± 0.68) g/100 g, 同时不可忽略的是苦味氨基酸含量约 18 g/100 g, 与花胶消化液复杂的鲜腥风味有关, 但具体风味分析需要对其化合物进行气质联用鉴定, 并与其他鱼种的风味化合物进行对比^[32]。

表2 不同酶解时间组合的白玉花胶消化液氨基酸组成[†]

Table 2 Amino acid composition of *P. hypophthalmus* fish maw digestive solution with different enzymatic hydrolysis time combinations g/100 g

种类	胃液消化 1.0 h— 小肠液消化 4 h	胃液消化 1.5 h— 小肠液消化 2 h	胃液消化 1.5 h— 小肠液消化 3 h	胃液消化 1.5 h— 小肠液消化 4 h	胃液消化 1.5 h— 小肠液消化 5 h	胃液消化 2.0 h— 小肠液消化 4 h
脯氨酸	10.11±0.10 ^a	9.53±0.08 ^b	9.88±0.09 ^c	10.27±0.12 ^a	8.86±0.09 ^c	10.24±0.09 ^a
天冬氨酸	5.46±0.04 ^b	4.88±0.05 ^d	5.22±0.06 ^c	5.37±0.07 ^b	4.35±0.05 ^c	5.62±0.03 ^a
天冬酰胺	0.73±0.02 ^{ab}	0.70±0.02 ^{ab}	0.78±0.01 ^a	0.75±0.01 ^a	0.65±0.01 ^b	0.78±0.08 ^a
组氨酸	0.52±0.01 ^a	0.48±0.01 ^b	0.53±0.01 ^a	0.53±0.02 ^a	0.44±0.01 ^c	0.54±0.01 ^a
精氨酸	7.81±0.09 ^a	6.88±0.08 ^c	7.48±0.09 ^b	7.64±0.11 ^{ab}	6.23±0.07 ^d	7.84±0.07 ^a
酪氨酸	0.73±0.02 ^b	0.73±0.02 ^b	0.80±0.02 ^a	0.80±0.01 ^a	0.70±0.02 ^b	0.79±0.01 ^a
丝氨酸	2.81±0.01 ^{ab}	2.46±0.02 ^c	2.36±0.01 ^d	2.70±0.09 ^b	1.99±0.02 ^c	2.91±0.04 ^a
谷氨酸	10.13±0.15 ^c	9.02±0.07 ^e	9.36±0.11 ^d	10.91±0.15 ^a	7.87±0.08 ^f	10.57±0.15 ^b
甘氨酸	21.84±0.19 ^b	19.62±0.18 ^d	20.92±0.33 ^c	22.44±0.31 ^{ab}	17.63±0.21 ^e	22.61±0.29 ^a
丙氨酸	10.07±0.07 ^c	9.04±0.09 ^e	9.66±0.12 ^d	10.94±0.08 ^a	8.11±0.06 ^f	10.45±0.11 ^b
苯丙氨酸*	2.25±0.03 ^a	2.05±0.03 ^b	2.28±0.03 ^a	2.26±0.06 ^a	1.89±0.02 ^c	2.34±0.01 ^a
半胱氨酸	0.34±0.01 ^d	0.35±0.01 ^d	0.67±0.01 ^a	0.41±0.01 ^c	0.53±0.01 ^b	0.21±0.01 ^e
苏氨酸*	2.67±0.01 ^b	2.41±0.03 ^c	2.53±0.02 ^d	2.65±0.01 ^b	2.14±0.01 ^e	2.74±0.03 ^a
缬氨酸*	2.38±0.02 ^c	2.24±0.03 ^d	2.58±0.02 ^a	2.46±0.01 ^b	2.18±0.02 ^c	2.47±0.01 ^b
蛋氨酸*	0.85±0.01 ^{ab}	0.76±0.02 ^c	0.82±0.02 ^b	0.84±0.01 ^b	0.68±0.01 ^d	0.88±0.01 ^a
异亮氨酸*	1.72±0.01 ^b	1.56±0.01 ^c	1.69±0.01 ^b	1.71±0.02 ^b	1.41±0.01 ^d	1.77±0.01 ^a
亮氨酸*	2.91±0.03 ^b	2.66±0.02 ^c	2.87±0.04 ^b	2.93±0.02 ^b	2.43±0.01 ^d	3.04±0.02 ^a
赖氨酸*	3.29±0.05 ^b	3.01±0.05 ^c	3.53±0.06 ^a	3.34±0.02 ^b	2.92±0.03 ^c	3.26±0.06 ^b
鲜味氨基酸(FAA)	50.48±0.50 ^b	45.34±0.44 ^c	48.24±0.67 ^d	52.72±0.68 ^a	40.55±0.44 ^c	52.38±0.60 ^a
必需氨基酸(EAA)	16.07±0.16 ^a	14.69±0.19 ^b	16.30±0.20 ^a	16.19±0.15 ^a	13.65±0.11 ^c	16.50±0.15 ^a
非必需氨基酸(NAA)	70.55±0.61 ^b	63.69±0.55 ^c	67.66±0.77 ^b	72.76±0.86 ^a	57.36±0.54 ^d	72.44±0.80 ^{ab}
氨基酸总量(TAA)	86.62±0.81 ^b	78.40±0.76 ^d	83.96±0.92 ^c	88.95±0.89 ^{ab}	71.01±0.66 ^c	89.07±0.93 ^a

[†] 同行字母不同表示差异显著($P<0.05$);*表示必需氨基酸。

2.4 白玉花胶消化液的 Zeta 电位

胶原蛋白是典型的两性蛋白质,其侧链带有羧基、氨基、羟基等极性基团,溶于水后会使胶原蛋白表面带电^[18]。由表2可知,消化液中酸性氨基酸即谷氨酸与天冬氨酸含量较碱性氨基酸多,消化液中负电基团即羧酸根数量较多,因此较多粒子表面携带负电,导致 Zeta 电位为负值。

由图2可知,胃液处理时间对消化液中 Zeta 电位影响较小肠液的大,其中胃液消化 1.5 h 后,消化液的电位绝对值显著高于其余组;而小肠液消化 4 h 后,消化液的电位绝对值最高,但各组电位值之间无显著性差异;胃液消化 1.5 h—小肠液消化 4 h 的消化液具有较好的稳定性,其溶液分子不容易絮凝,均匀地分散在溶质中,结合该时间组合所得消化液的寡肽含量最高,推测该消化液具有良好的消化吸收特性,因为机体在消化花胶后,不仅以游离氨基

酸形式进行吸收,寡肽也会被小肠上皮细胞主动吸收^[33]。

2.5 白玉花胶消化液的体外抗氧化能力

2.5.1 DPPH 自由基清除率 由图3可知,随着胃液与小肠液消化时间的上升,白玉花胶消化液对 DPPH 自由基的清除率先上升后下降,在胃液消化 1.5 h 与小肠液消化 4 h 时达到最高($P<0.05$),稍高于鲑鱼鱼鳔的^[23]。

2.5.2 ABTS 自由基清除率 由图4可知,白玉花胶消化液的 ABTS 自由基清除率变化趋势与 DPPH 自由基的相同,随着酶消化时间的延长,白玉花胶消化液对 ABTS 自由基的清除率先上升后下降,在胃液消化 1.5 h 与小肠液消化 4 h 时的最高,为(71.68±5.02)%,明显高于体外模拟消化的鲑鱼皮胶原蛋白的^[33]。

2.5.3 羟自由基清除能力 羟自由基能够与生物大分子发生氧化反应,导致细胞损伤、衰老、炎症以及免疫系统紊乱。由图5可知,胃液消化 1.5 h 与小肠液消化 4 h 所得

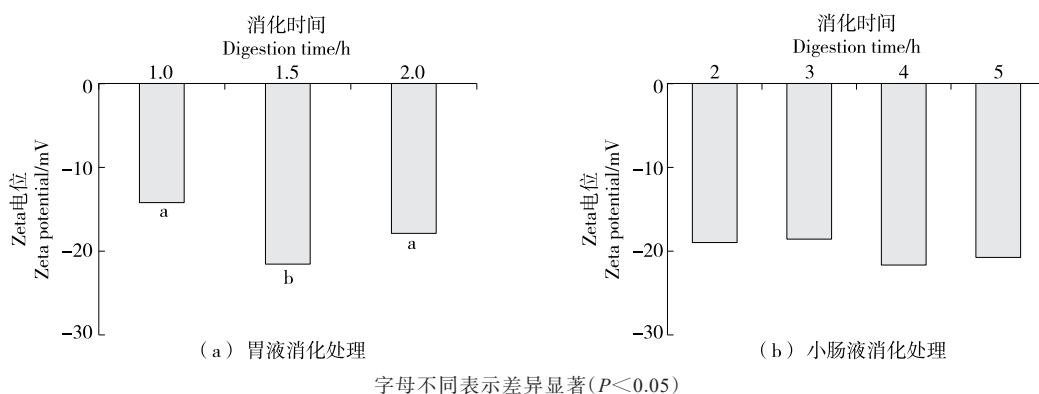


图2 酶解时间对白玉花胶 Zeta 电位的影响

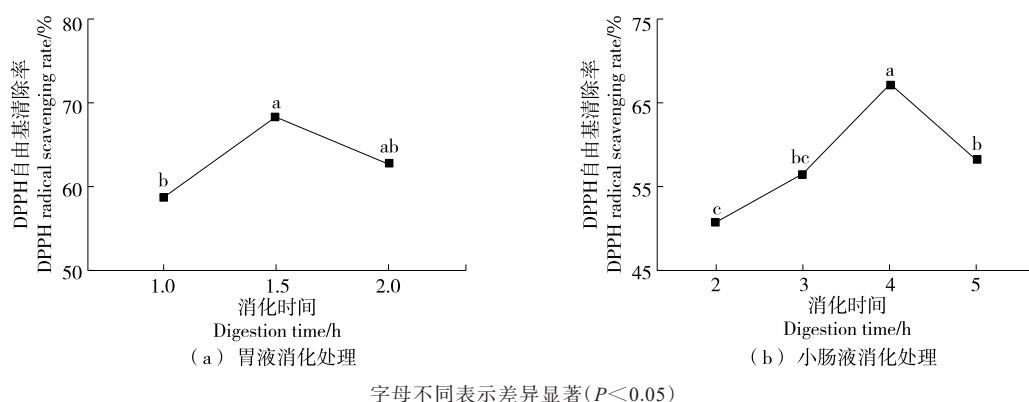
Figure 2 Effects of enzymatic hydrolysis time on Zeta potential of *P. hypophthalmus* fish maw

图3 白玉花胶消化液对 DPPH 自由基的清除能力

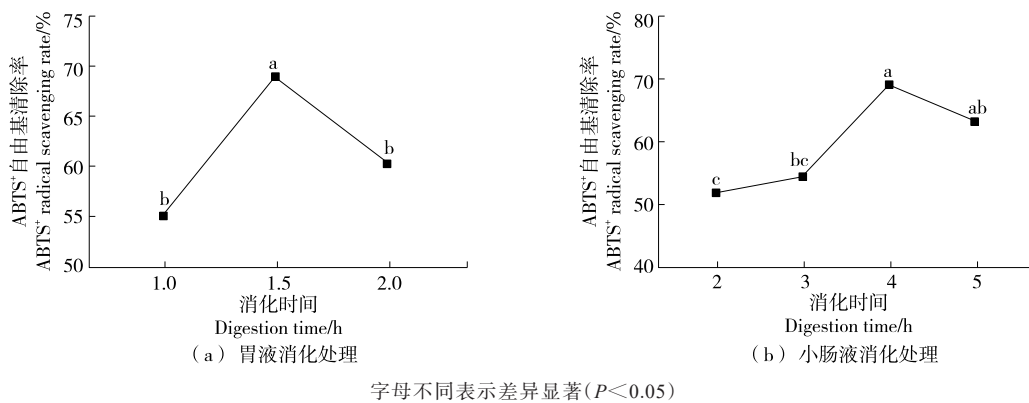
Figure 3 DPPH radical scavenging activity of *P. hypophthalmus* fish maw digestive solution

图4 白玉花胶消化液对 ABTS 自由基的清除能力

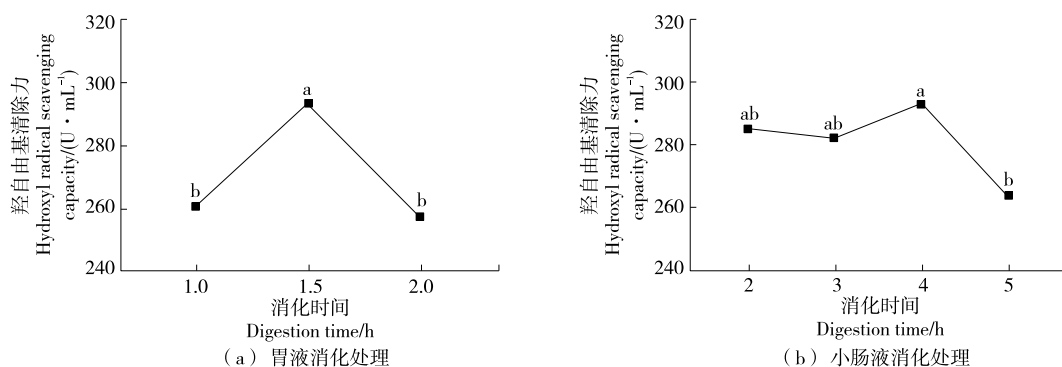
Figure 4 ABTS radical scavenging activity of *P. hypophthalmus* fish maw digestive solution

消化液的羟自由基清除力最强,为 (293.25 ± 9.75) U/mL 消化液。

2.5.4 铁离子还原能力 由图6可知,胃液消化2 h与小肠液消化4 h的消化液中铁离子还原力最强,此时消化液还原铁离子后亚铁离子浓度可达 (0.73 ± 0.02) mmol/L,远高于鳕鱼皮胶原蛋白的^[34]。胃液消化1.5、2.0 h的还原

力无显著差异,为节省消化时间,选择胃液消化1.5 h进行酶解。

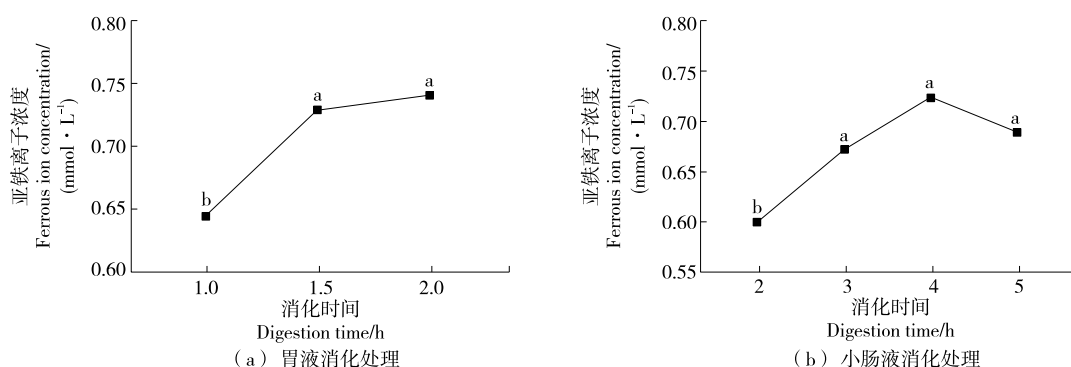
综合 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基清除率以及铁离子还原力,白玉花胶消化液的抗氧化能力较强,且胃液消化1.5 h与小肠液消化4 h为最佳酶解组合时间。此外,3项自由基清除试验中,随着酶解时间的延长,消化



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图5 白玉花胶消化液对羟自由基的清除能力

Figure 5 Hydroxyl radical scavenging activity of *P. hypophthalmus* fish maw digestive solution



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图6 白玉花胶消化液对铁离子的还原能力

Figure 6 Reduction ability of *P. hypophthalmus* fish maw digestive solution to iron ion

液的抗氧化活性下降,是因为酶解时间是影响肽段长度、抗氧化性强弱的关键因素^[35]。如酶解时间过短,则肽段过长,具有抗氧化性的氨基酸未能断裂而呈现在肽段的N末端和C末端,未能体现出消化液的抗氧化性;酶解时间过长,具有抗氧化活性的结构将被进一步水解,抗氧化性则降低。同时,具有抗氧化性能的甘氨酸含量在小肠液处理时间过长后显著下降,与上述结果一致。

3 结论

采用模拟胃液与模拟小肠液对白玉花胶进行体外消化,并分析了不同消化时间所得消化液的相对分子质量、氨基酸组成及含量、Zeta电位以及体外抗氧化能力。结果表明,白玉花胶在正常人体消化时间范围内即胃液消化1.0 h与小肠液消化2 h后仍有94.73%的分解消化率,且短肽占比达2/3,推测其易于消化吸收,但要证实其真正的吸收消化率则需要进行人体消化试验;而胃液消化1.5 h与小肠液消化4 h后,白玉花胶的消化率、Zeta电位绝对值与综合抗氧化能力最大。综上,白玉花胶以胃液消化1.5 h—小肠液消化4 h组合处理效果最佳,所得消化液的营养、稳定性及抗氧化活性较好。后续可结合细胞或动物试验

进一步研究白玉花胶消化液的相关机制。

参考文献

- [1] 郑婷婷,涂宗财,唐平平,等.鱼鳔胶原肽抗氧化稳定性研究[J].食品与机械,2017,33(9):9-14.
ZHENG T T, TU Z C, TANG P P, et al. Study on antioxidation stability of collagen peptides prepared from swimming bladders[J]. Food & Machinery, 2017, 33(9): 9-14.
- [2] 任宇涵.鲟鱼鳔胶原蛋白肽延缓衰老作用研究及应用[D].镇江:江苏大学,2022:6-8.
REN Y H. Anti-aging effect and application of sturgeon bladder collagen peptides[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2022: 6-8.
- [3] 田柬昕,钟碧鑫,梁杉,等.红鲮鱼胶对秀丽隐杆线虫的体内抗衰老作用[J].现代食品科技,2023,39(3):37-44.
TIAN J X, ZHONG B L, LIANG S, et al. *In vivo* anti-aging effect of red slate cod croaker isinglass on caenorhabditis elegans[J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(3): 37-44.
- [4] WANG L, QU Y, LI W J, et al. Effects and metabolism of fish collagen sponge in repairing acute wounds of rat skin[J].

- Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11: 1087139.
- [5] 李军, 符禹婷, 俞健, 等. 两条鲢鱼小清蛋白源抗冻肽的活性及作用机制比较[J]. 食品与机械, 2024, 40(4): 7-12, 58.
- LI J, FU Y T, YU J, et al. Comparison of the activities and cryoprotective mechanism of two antifreeze peptides derived from silver carp parvalbumin[J]. Food & Machinery, 2024, 40(4): 7-12, 58.
- [6] 荣华, 李德强, 马敏伟, 等. TGF- β /Smads 信号通路介导脯氨酸促进浅色黄姑鱼鱼鳔胶原蛋白沉积[J]. 水生生物学报, 2022, 46(11): 1 649-1 657.
- RONG H, LI D Q, MA M W, et al. TGF- β /Smads signaling pathway regulates pro to promote collagen deposition in the swim bladder of chu's croaker (*Nibea coibor*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2022, 46(11): 1 649-1 657.
- [7] 刘国权. 杜仲、蚕豆及其提取物对浅色黄姑鱼生长性能、抗氧化能力和鱼鳔胶原蛋白沉积的影响[D]. 汕头: 汕头大学, 2022: 10-11.
- LIU G Q. Effects of eucommia ulmoides, faba bean and their extracts on the growth performance, antioxidation ability and collagen deposition in the swim bladder of the *Nibea coibor*[D]. Shantou: Shantou University, 2022: 10-11.
- [8] THANH N M, JUNG H, LYONS R E, et al. A transcriptomic analysis of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in response to salinity adaptation: de novo assembly, gene annotation and marker discovery[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2014, 10: 52-63.
- [9] PHAN L T T, KALS J, MASAGOUNDER K, et al. Energy utilisation efficiencies of digested protein, fat and carbohydrates in striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*) for whole body and fillet growth[J]. Aquaculture, 2021, 544: 737083.
- [10] BANO S, KHAN N, ARSLAN M, et al. Impact of various dietary protein levels on the growth performance, nutrient profile, and digestive enzymes activities to provide an effective diet for striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*) [J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2023, 23(7): 36-48.
- [11] WISE A L, LAFRENTZ B R, KELLY A M, et al. A review of bacterial co-Infections in farmed catfish: components, diagnostics, and treatment directions[J]. Animals, 2021, 11(11): 3 240.
- [12] 韦玲静, 叶香尘, 莫飞龙, 等. 不同规格苏氏圆腹(鱼芒)肌肉营养成分分析[J]. 养殖与饲料, 2020, 19(7): 15-20.
- WEI L J, YE X C, MO F L, et al. Analysis of nutritional components in different specifications of sou's round abdominal muscles[J]. Animals Breeding and Feed, 2020, 19(7): 15-20.
- [13] 韦玲静, 叶香尘, 甘宝江, 等. 不同规格苏氏圆腹(鱼芒)生长性状和肌肉质构特性分析[J]. 水产养殖, 2020, 41(8): 22-25.
- WEI L J, YE X C, GAN B J, et al. Analysis of growth characteristics and muscle texture characteristics of different sizes of sou's round belly[J]. Journal of Aquaculture, 2020, 41(8): 22-25.
- [14] CHEN G J, XIE M H, WAN P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation *in vitro* by human intestinal microbiota of polysaccharides from Fuzhuan brick tea[J]. Food Chemistry, 2018, 244: 331-339.
- [15] WANG L, LI C, HUANG Q, et al. *In vitro* digestibility and prebiotic potential of a novel polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt fruit[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 52: 408-417.
- [16] CHEN C, ZHANG B, FU X, et al. The digestibility of mulberry fruit polysaccharides and its impact on lipolysis under simulated saliva, gastric and intestinal conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58: 171-178.
- [17] 马涛, 林峰, 陈亮, 等. 酶解时间、分子量分布对于花生致敏蛋白含量的影响[J]. 食品科技, 2014, 39(4): 54-58.
- MA T, LIN F, CHEN L, et al. Effects of hydrolysis time and molecular weight distribution on the allergen level of peanut protein[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(4): 54-58.
- [18] 齐宝坤, 李杨, 王中江, 等. 不同品种大豆分离蛋白 Zeta 电位和粒径分布与表面疏水性的关系[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 114-118.
- QI B K, LI Y, WANG Z J, et al. Relationship between surface hydrophobicity and zeta potential as well as particle size distribution of soybean protein isolates from different varieties [J]. Food Science, 2017, 38(3): 114-118.
- [19] 佟晓红, 王欢, 刘宝华, 等. 生物解离大豆蛋白酶解物体外模拟消化抗氧化活性变化[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 50-56.
- TONG X H, WANG H, LIU B H, et al. Changes in antioxidant activity of soybean protein hydrolysates from enzyme-assisted aqueous extraction of oil under simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Science, 2019, 40(15): 50-56.
- [20] 张双, 韩荣欣, 王欣, 等. 酸枣仁蛋白的不同蛋白酶解产物功能特性及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 31-39.
- ZHANG S, HAN R X, WANG X, et al. Study on the functional properties and antioxidant activities of different enzymatic hydrolysates of *ziziphi spinosae* semen protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 31-39.
- [21] 王莹, 朱鑫燕, 曾祥辉, 等. 响应面法优化迷迭香脂溶性抗氧化成分提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(11): 148-154.
- WANG Y, ZHU X Y, ZENG X H, et al. Optimization of extraction technology and antioxidant activity of lipid-soluble

- antioxidant components from *Rosmarinus officinalis* by response surface methodology[J]. China Food Additives, 2022, 33(11): 148-154.
- [22] OESSER S, ADAM M, BABEL W, et al. Oral administration of ^{14}C labeled gelatin hydrolysate leads to an accumulation of radioactivity in cartilage of mice (C57/BL)[J]. The Journal of Nutrition, 1999, 129(10): 1 891-1 895.
- [23] 李娜, 周德庆, 刘楠, 等. 鳕鱼鱼鳔抗氧化肽制备工艺研究[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(2): 191-199.
- LI N, ZHOU D Q, LIU N, et al. Research on preparation of antioxidant peptides from cod swim bladder[J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(2): 191-199.
- [24] 蒋玉. 鲟鱼鳔胶原蛋白延缓皮肤自然衰老作用及分子机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2019: 19-21.
- JIANG Y. Effect and molecular mechanism of collagen from sturgeon bladder on delaying natural skin aging[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019: 19-21.
- [25] 邹泽斌, 赖玉健, 梁杉, 等. 响应面优化黄鱼胶酶解工艺及其基本成分分析[J]. 食品科技, 2022, 47(4): 152-160.
- ZOU Z B, LAI Y J, LIANG S, et al. Response surface optimization of enzymatic hydrolysis and analysis of basic components of yellow croaker swim bladder[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(4): 152-160.
- [26] ALVES A, BASSOT A, BULTEAU A L, et al. Glycine metabolism and its alterations in obesity and metabolic diseases [J]. Nutrients, 2019, 11(6): 1 356.
- [27] LI P, YIN Y L, LI D F, et al. Amino acids and immune function [J]. British Journal of Nutrition, 2007, 98(2): 237-252.
- [28] GIARDINA G, PAIARDINI A, MONTIOLI R, et al. Radiation damage at the active site of human alanine: glyoxylate aminotransferase reveals that the cofactor position is finely tuned during catalysis[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 11704.
- [29] VANSADELHOFF J H J, WIERTSEMA S P, GARSEN J, et al. Free amino acids in human milk: a potential role for glutamine and glutamate in the protection against neonatal allergies and infections[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 1 007.
- [30] 孙皓岩, 胡淑曼, 魏宝红, 等. 鱼鳔与驴皮的化学成分及对环磷酰胺所致贫血小鼠的改善作用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(3): 338-345.
- SUN H Y, HU S M, WEI B H, et al. Chemical components of swim bladder and donkey skin and their improvement effects on cyclophosphamide-induced anemia mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(3): 338-345.
- [31] 师丰丰, 尹欣, 张海峰, 等. 尼勒克县新疆黑蜂蜂蜜游离氨基酸的测定及分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 276-283.
- SHI F F, YIN X, ZHANG H F, et al. Determination and analysis of free amino acid composition of Xinjiang black bee honey in nilka[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(11): 276-283.
- [32] 封池, 张森, 胡俊生, 等. 4种品牌银鳕鱼品质分析与比较[J]. 食品与机械, 2023, 39(5): 150-158.
- FENG C, ZHANG M, HU J S, et al. Quality analysis and comparison of four brands of silver cod[J]. Food & Machinery, 2023, 39(5): 150-158.
- [33] OHARA H, MATSUMOTO H, ITO K, et al. Comparison of quantity and structures of hydroxyproline-containing peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates from different sources[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(4): 1 532-1 535.
- [34] 周先艳. 鳕鱼皮胶原蛋白水解液体外模拟消化研究及抗氧化肽的分离纯化[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2017: 56-57.
- ZHOU X Y. Study on *in vitro* simulated digestion of cod skin collagen hydrolysate and separation and purification of antioxidant peptides[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2017: 56-57.
- [35] 刘姝, 余勃. 发酵法制备鱼鳔多肽及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 332-334.
- LIU S, YU B. Peptides from variegated carp (*Aristichthys mobilis*) swim bladder: fermentation production and assessment of antioxidant properties[J]. Food Science, 2009, 30 (21): 332-334.