

绿鳍马面鲈鱼皮蛋白抗氧化肽模拟胃肠消化制备*

周存山¹ 秦晓佩¹ 余筱洁¹ 杨华² 胡佳丽¹ 马海乐¹

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013; 2. 浙江万里学院生物与环境学院, 宁波 315100)

摘要: 为研究绿鳍马面鲈鱼皮蛋白体外消化产物的抗氧化作用及相关特征, 采用二酶三阶段体外模拟胃、肠消化过程, 分析产物的抗氧化作用(还原力、·OH清除率、O₂⁻清除率、DPPH·清除率)和相关特征(游离氨基酸组成和含量、分子量分布)。结果表明: 绿鳍马面鲈鱼皮中富含29.6%的抗氧化特征氨基酸; 底物质量浓度在8 mg/mL时, 具有较高的抗氧化活性; 抗氧化肽产生于模拟胃肠消化的十二指肠阶段, 此时DPPH·清除率为83.29%; 该阶段产物中游离氨基酸比原料中多出7种, 各种游离氨基酸含量也明显增加; 同时, 产物中多肽分子量分布集中在200~5 000 Da, 其中主要多肽的分子量为2 152 Da和1 352 Da。

关键词: 绿鳍马面鲈鱼皮 模拟胃肠消化 抗氧化肽

中图分类号: TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2015)08-0211-06

Antioxidant Activity and Characteristics of Simulated Gastrointestinal Digestion Hydrolysate from Filefish *Navodon septentrionalis* Skin Protein

Zhou Cunshan¹ Qin Xiaopei¹ Yu Xiaojie¹ Yang Hua² Hu Jiali¹ Ma Haile¹

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China)

Abstract: To evaluate the antioxidant activity and the characteristics of hydrolysate from gastrointestinal digestion (in vitro simulated gastric, intestinal digestion) of filefish *Navodon septentrionalis* skin protein, the antioxidant activity of digestive products (reducing power, OH radical-scavenging rate, O₂⁻ radical-scavenging rate, DPPH· radical-scavenging rate) and product characteristics (amino acids composition, molecular weight distribution) were analyzed. The results showed that: the antioxidant characteristics of amino acids of the fish skin protein was rich in 29.6%; the substrate concentration was 8 mg/mL, the hydrolysate had higher antioxidant activity; the antioxidant peptides produced mainly in the simulated duodenal digestion phase, DPPH radical-scavenging rate was 83.29%, and in this phase, seven more kinds of free amino acids in the product were found than those of raw materials. All kinds of free amino acid content were increased significantly, at the same time, molecular peptides product weight distribution concentrated in the 200~5 000 Da, and the main peptides were at 2 152 Da and 1 352 Da which might be responsible for its antioxidant activity. The oligopeptide fraction of molecular size of 200~5 000 Da, revealed the highest potential capacity to scavenge free radicals and binding irons. It appears as promising ingredient to formulate functional foods with antioxidant activity.

Key words: *Navodon septentrionalis* skin Simulated gastrointestinal digestion Antioxidant peptides

收稿日期: 2014-09-17 修回日期: 2014-10-25

* 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2013AA102203-02)、浙江省宁波市农业支撑资助项目(2012C10030)、江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD2012)、浙江省“生物工程”重中之重学科开放基金资助项目(KF2014006)、江苏大学高级人才启动资助项目(12JDG074)和浙江省青年学科带头人和江苏大学青年学术带头人培育资助项目

作者简介: 周存山, 教授, 博士生导师, 主要从事蛋白功能化物理加工与糖类资源化绿色利用研究, E-mail: cunshanzhou@163.com

通讯作者: 马海乐, 教授, 博士生导师, 主要从事食品物理学加工、功能性食品、活性因子原位分析研究, E-mail: mhl@uj.s.edu.cn

引言

自由基是非常活跃分子,它可以与每个细胞成分反应,并对细胞的功能特性和形态学产生扰动。有证据证明氧自由基是人类许多疾病和衰老过程的重要病理介质,如皮肤老化、骨关节炎、骨质疏松症等^[1]。因此,开发和利用高效无毒的天然抗氧化剂,已成为当今科学发展的趋势^[2]。而抗氧化活性肽具有安全和高效率的特点,已成为国内外学者的研究热点^[3],并在食品行业获得认同。

绿鳍马面鲀(*Navodon septentrionalis*),因鱼皮较厚且硬,加工过程中鱼皮通常被剥除丢弃。目前马面鱼的主要应用包括:鱼肉的食用和食品加工,鱼皮提取氨基酸、制胶、制革、提取食用水溶性蛋白质,鱼肝制取肝油等^[4]。近年来,胶原蛋白肽的抗氧化活性在许多不同的氧化系统中已被证明^[5]。但由于鱼皮蛋白难消化,并且在体内如何进一步发挥抗氧化活性尚不清楚。随着体外模拟胃肠消化的发展,其绿色、高效、安全和不具有伦理限制的特点受到广泛应用。在最近几年,该方法已被开发应用于蛋白质的生物利用度和生物活性的评价。

本文以绿鳍马面鲀鱼皮为原料,通过模拟胃肠消化研究其消化产物的抗氧化特性及产物特征(游离氨基酸组成和含量、分子质量分布),以期绿鳍马面鲀鱼皮的再利用提供理论支持,也为鱼皮蛋白抗氧化肽的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

绿鳍马面鲀鱼皮,宁波远大海洋生物科技有限公司提供。

胃蛋白酶(酶活力1 200 U/g以上,实验测得活力为1 400 U/g),国药集团化学试剂有限公司;胰蛋白酶(酶活力50 000 U/g以上,实验测定酶活力为51 000 U/g),国药集团化学试剂有限公司;L-亮氨酸,国药集团化学试剂有限公司;DPPH 购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;TNBS 购于美国 Sigma 公司;其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 主要仪器与设备

HH-6 型数显恒温水浴锅(江苏金坛市亿通电子有限公司);LD5-2A 型离心机(长春博盛量子科技有限公司);H1650 型台式高速离心机(湘仪离心机仪器有限公司);FD-8 中型真空冷冻干燥机(西安特普讯仪器设备有限公司);SQP 型实验室电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);UV-1801 型紫外分光光度计(立特电子科技有限公司);VIS-

7220N 型可见分光光度计(北京北分瑞利分析仪器有限公司);PXS-450 型精密离子计(上海大普仪器有限公司);RVC 2-18 型离心浓缩仪(北京博励行仪器有限公司);Sykam-433D 型全自动氨基酸分析仪(德国 SYKAM 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 鱼皮蛋白体外模拟胃、肠道消化

1.3.1.1 模拟消化条件

(1) 胃消化条件^[6]:模拟胃消化液(称取0.20 g NaCl,0.32 g 胃蛋白酶,加入7 mL 蒸馏水,加入0.7 mL 3 mol/L 盐酸,再用盐酸调 pH 值至1.2,加蒸馏水定容至100 mL。现用现配),温度37℃,最大排空时间4 h。

(2) 十二指肠消化条件^[7]:模拟肠消化液(称取0.70 g 磷酸二氢钾溶于25 mL 蒸馏水中,振荡使之完全溶解,加入19 mL 0.2 mol/L NaOH 和40 mL 蒸馏水,加入1.0 g 胰蛋白酶,用0.2 mol/L NaOH 调 pH 值至6.4±0.1,蒸馏水定容至100 mL。现用现配),温度37℃,消化时间1 h。

(3) 小肠消化条件^[7]:模拟肠消化液(称取0.70 g 磷酸二氢钾溶于25 mL 蒸馏水中,振荡使之完全溶解,加入19 mL 0.2 mol/L NaOH 和40 mL 蒸馏水,加入1.0 g 胰蛋白酶,用0.2 mol/L NaOH 调 pH 值至7.5±0.1,蒸馏水定容至100 mL。胰蛋白酶酶活力50 000 U/g 以上。现用现配),温度37℃,消化时间6 h。

1.3.1.2 模拟消化过程

在100 mL 锥形瓶中加入25 mL 模拟胃消化液,37℃恒温水浴5 min。加入一定质量的鱼皮粉,迅速涡旋振荡并快速置于37℃水浴,准确记录时间,搅拌酶解4 h。然后加入模拟肠消化液,调节 pH 值至6.4,37℃恒温条件下酶解1 h。加入0.2 mol/L NaOH 调 pH 值至7.5,37℃恒温条件下酶解6 h。

分别在模拟消化过程1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 h 取样;沸水浴10 min 终止反应;4 500 r/min 离心10 min,取上清液调节 pH 值至4.2,4 500 r/min 离心30 min 去除大分子蛋白;得到样品酶解液。

1.3.2 测定方法

1.3.2.1 总氨基酸测定

通过酸水解法测定鱼皮总氨基酸含量。将50 mg 鱼皮与10 mL 6 mol/L 盐酸在安瓿瓶中混合,将安瓿瓶密封后,于110℃充氮气水解24 h,水解液经滤纸过滤,用去离子水定容至50 mL,取0.5 mL 于1.5 mL 离心管中浓缩至干,可用去离子水重复蒸干1~2次。然后,加入1 mL 样品稀释液,充分混匀后用0.22 μm 滤膜(水膜)过滤至样品瓶中,上样到

S-433D型氨基酸分析仪进行氨基酸测定。

1.3.2.2 水解度测定

水解度参照文献[8-10]方法中游离氨基与2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)的反应修改测定,在420 nm处测定吸光度。游离氨基含量根据L-亮氨酸含量标准曲线来确定($y=8.178x+0.008$, 决定系数 $R^2=0.991$)。水解度 C_{DH} 计算公式为

$$C_{DH} = \frac{A_h - A_0}{A_\infty - A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中 A_h ——样品酶解液中的氨基浓度

A_0 ——原料样品中氨基浓度

A_∞ ——样品完全水解液中氨基浓度

1.3.2.3 还原力测定

采用普鲁士蓝法,根据Taheria等^[11]的方法修改测定。以普鲁士蓝($Fe_4(Fe(CN)_6)_3$)的生成量作为指标,将六氰合铁酸钾($K_3Fe(CN)_6$)还原成 $K_4Fe(CN)_6$,再利用 Fe^{3+} 形成 $Fe_4(Fe(CN)_6)_3$,由700 nm处吸光度变化检测还原力大小。吸光度越高表示样品的还原力也就越强。

1.3.2.4 ·OH(羟自由基)清除率测定

参照Smironff等^[12]的方法,利用 H_2O_2 与 Fe^{2+} 混合产生·OH的原理,在体系内加入水杨酸捕捉·OH,产生有色物质,该物质在波长510 nm处有最大吸收。反应体系中含8.8 mmol/L H_2O_2 1 mL、9 mmol/L $FeSO_4$ 1 mL、9 mmol/L水杨酸-乙醇溶液1 mL,不同消化时间的酶解液1 mL。最后加 H_2O_2 启动反应,37℃反应30 min,以蒸馏水为对照,在510 nm处测定各溶液的吸光度,考虑到样品本身的吸光度,以9 mmol/L $FeSO_4$ 1 mL、9 mmol/L水杨酸-乙醇溶液1 mL、不同消化时间的样品溶液1 mL和1 mL蒸馏水计算样品的本底吸收度。·OH清除率S的计算公式为

$$S = \frac{B_0 - (A_x - A_{x0})}{B_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中 B_0 ——空白对照液的吸光度

A_x ——加入样品溶液后的吸光度

A_{x0} ——不加显色剂 H_2O_2 的样品溶液吸光度

1.3.2.5 O_2^- 清除率测定

采用邻苯三酚自氧化法测定,根据陈美珍等^[13]的方法修改测定。取50 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH值8.2)4.5 mL,置于25℃水浴中保温20 min,分别加入1 mL样品溶液和0.4 mL 25 mmol/L邻苯三酚溶液,混匀后于25℃水浴中反应5 min,加入1 mL 8 mmol/L HCl终止反应,于299 nm处测定吸光度 A_x 。空白对照组以相同体积蒸馏水代替样品,测定吸光度 B_0 。每个试样做3个平行样,取平均

值, O_2^- 清除率C计算公式为

$$C = \frac{B_0 - A_x}{B_0} \times 100\% \quad (3)$$

1.3.2.6 DPPH·清除率测定

样品酶解液DPPH·清除能力根据Shimada等^[14]方法修改测定。2 mL DPPH溶液(在95%乙醇中的浓度为0.1 mmol/L)与2 mL样品溶液混合。混合物在室温(20℃)下避光静置30 min,在517 nm处测定吸光度。使用蒸馏水代替样品作空白对照。DPPH·清除率H计算公式为

$$H = \left(1 - \frac{A_{517\text{sample}}}{A_{517\text{control}}}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式中 $A_{517\text{sample}}$ ——样品溶液在517 nm处的吸光度

$A_{517\text{control}}$ ——空白对照蒸馏水在517 nm处的吸光度

1.3.2.7 游离氨基酸含量测定

通过全自动氨基酸分析仪测定酶解液的游离氨基酸成分和含量。吸取不同消化时间的酶解液0.1 mL于1.5 mL离心管中,加入0.9 mL 1%的磺基水杨酸,沉淀2 h,10 000 r/min离心15 min,取上清液,用0.22 μm微膜(水膜)过滤至样品瓶中,供上机测定。

1.3.2.8 酶解液蛋白质及多肽相对分子质量测定

采用凝胶渗透色谱法测定蛋白质和多肽的相对分子质量分布,参照代春华等^[15]的方法修改测定。色谱条件:色谱柱,TSKgel-G2000 SW_{XL}(7.8 mm×30 cm, Tosoh);流动相,0.1 mol/L Na_2SO_4 + 0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH值6.7);柱温30℃;检测波长220 nm;流速0.5 mL/min;进样量10 μL。

2 结果与分析

2.1 氨基酸组成

绿鳍马面鲷鱼皮的氨基酸组成及含量(质量比)见表1。

氨基酸作为人体营养所需蛋白质的基本构成物质,也是食物经消化后被摄入的主要成分,因此氨基酸均衡对机体健康起到至关重要的作用。由表1可知,绿鳍马面鲷鱼皮中含17种氨基酸,不含色氨酸。其中甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、脯氨酸和精氨酸含量高。而且氨基酸组成中富含29.6%的抗氧化特征氨基酸(酪氨酸、组氨酸、脯氨酸、丙氨酸和亮氨酸),在一定程度上起到抗氧化作用。

2.2 水解度测定

底物质量浓度为8 mg/mL时的水解度如图1所示,水解度随着水解时间延长而增大,说明鱼皮蛋白被逐渐水解成多肽和氨基酸,在消化10~11 h后趋

于水平,此时达到最大消化程度。并且胃消化阶段和肠消化阶段水解度都变化平缓,而从第5小时的十二指肠消化阶段开始出现显著变化,因此该阶段为水解程度变化的最大阶段。同时,DPPH·清除率在十二指肠消化阶段为83.29%,较之后的消化10 h稍低(图1)。水解度与抗氧化活性之间具有怎样的相关性,需要进一步研究。

表1 绿鳍马面鲉鱼皮氨基酸组成和含量

Tab.1 Amino acids composition and content of *Navodon septentionalis* skin

氨基酸	含量/($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)	氨基酸	含量/($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)
天冬氨酸(Asp)	29.12	缬氨酸(Val)	14.19
苏氨酸(Thr)	15.09	异亮氨酸(Ile)	8.09
丝氨酸(Ser)	17.00	亮氨酸(Leu)	12.54
谷氨酸(Glu)	55.88	酪氨酸(Tyr)	4.74
脯氨酸(Pro)	50.35	苯丙氨酸(Phe)	11.01
甘氨酸(Gly)	108.05	组氨酸(His)	14.47
丙氨酸(Ala)	60.67	赖氨酸(Lys)	25.21
半胱氨酸(Cys)	3.77	精氨酸(Arg)	39.51
甲硫氨酸(Met)	12.61		

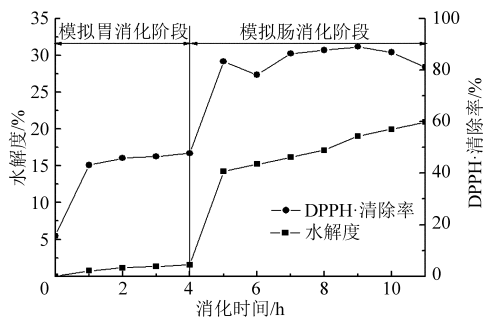


图1 模拟胃肠消化过程的水解度和DPPH·清除率

Fig.1 Hydrolysis degree and DPPH radical-scavenging rate under stimulated gastrointestinal digestion

2.3 抗氧化活性单因素试验

2.3.1 底物质量浓度

2.3.1.1 模拟胃消化阶段

底物质量浓度是影响模拟消化的重要因素之一,它在某种程度上会抑制消化。因此,分别从模拟胃消化和模拟肠消化2个阶段说明底物质量浓度对消化产物的影响。在模拟胃消化阶段,由图2可知,随着底物质量浓度从4 mg/mL增加到8 mg/mL,抗氧化活性有所升高,但从6 mg/mL增加到8 mg/mL时抗氧化活性变化不明显,集中表现在·OH清除率和DPPH·清除率上,说明抗氧化活性与底物质量浓度不呈正相关,在一定的底物质量浓度范围内才能产生最强的抗氧化活性。综合各个抗氧化指标得到底物质量浓度在8 mg/mL时具有较高的抗氧化活性。

2.3.1.2 模拟肠消化阶段

模拟胃消化后,模拟肠消化7 h(十二指肠消化

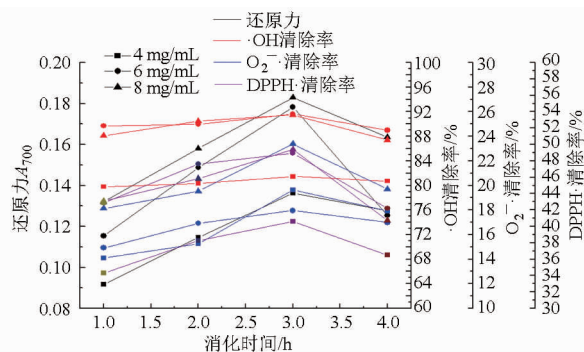


图2 底物质量浓度对模拟胃消化产物抗氧化活性的影响

Fig.2 Effect of substrate concentrations on antioxidant activity of products under simulated gastric digestion

1 h,小肠消化6 h)。随着底物质量浓度的增大,除了 $\text{O}_2\cdot^-$ 清除率在6 mg/mL时大于其他2个质量浓度,还原力、·OH清除率和DPPH·清除率均在8 mg/mL时达到最大。但底物质量浓度与抗氧化活性不呈正相关,在一定底物质量浓度范围内才能产生最强的抗氧化活性。同时,从图3可以看出,在消化1 h,即十二指肠消化期间,还原力、·OH清除率和 $\text{O}_2\cdot^-$ 清除率最高,DPPH·清除率稍微低于小肠消化期间。总体来说,抗氧化活性在十二指肠消化期间达到最高。

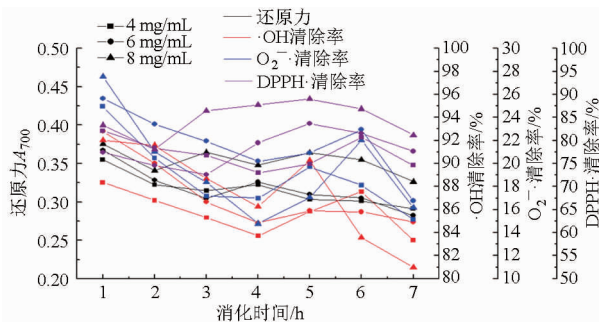


图3 底物质量浓度对模拟肠消化产物的抗氧化活性的影响

Fig.3 Effect of substrate concentrations on antioxidant activity of products under simulated intestinal digestion

2.3.2 消化酶

胃蛋白酶和胰蛋白酶消化产物抗氧化活性的显著差异可能归因于酶的作用位点与作用机理的不同^[16]。胃蛋白酶是一种重要的消化性蛋白酶,它广泛裂解肽上的芳香和酸性氨基酸,将蛋白质分解为胨和一部分酪氨酸和苯丙氨酸等氨基酸;胰蛋白酶是一种重要的蛋白质水解酶,它能裂解肽上的碱性氨基酸、精氨酸或赖氨酸的侧羰基^[17]。因此,在2种酶的作用下产生不同的肽片段,抗氧化活性就不同。

2.4 鱼皮中游离氨基酸和消化终产物游离氨基酸

图1给出了模拟胃肠消化过程的水解度曲线,表2列出了原料样品和消化终产物游离氨基酸的组成和含量(质量比),为进一步了解水解度与游离氨

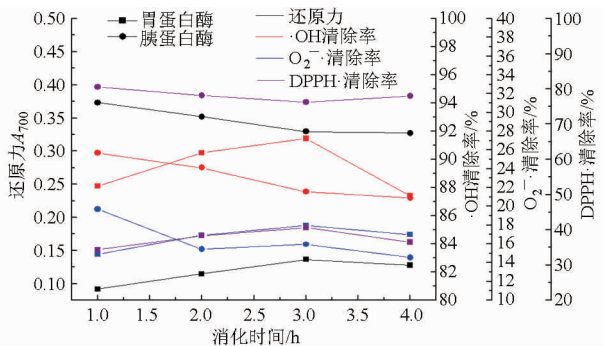


图 4 不同消化酶对消化产物抗氧化活性的影响

Fig. 4 Effect of different digestive enzymes on antioxidant activity of products

表 2 原料样品和消化终产物游离氨基酸的组成和含量

Tab.2 Free amino acids composition and content of raw sample and final digestive hydrolysate

游离氨基酸	消化时间/h		
	0	5	11
磷酸丝氨酸 (Pser)	6.04	64.90	81.00
牛磺酸 (Tau)	7.87	0	0
天冬氨酸 (Asp)	0	0	12.20
苏氨酸 (Thr)	0	0	36.10
丝氨酸 (Ser)	0	0	48.30
天冬酰胺 (Asn)	0	0	42.90
谷氨酸 (Glu)	0	0	68.50
α-氨基己二酸 (α-Aaa)	0	0	19.00
脯氨酸 (Pro)	0	0	24.90
甘氨酸 (Gly)	6.45	14.50	31.60
丙氨酸 (Ala)	3.54	31.80	78.20
瓜氨酸 (Cit)	0	0	24.10
α-氨基丁酸 (α-Aba)	0	0	23.40
缬氨酸 (Val)	0	25.50	91.30
胱氨酸 (Cys)	0	0	0
甲硫氨酸 (Met)	0	32.00	27.40
异亮氨酸 (Ile)	16.80	115.80	76.90
亮氨酸 (Leu)	21.42	168.20	274.50
酪氨酸 (Tyr)	0	0	118.90
苯丙氨酸 (Phe)	0	79.20	182.90
β-丙氨酸 (β-Ala)	0	152.00	253.60
β-氨基异丁酸 (β-Aiba)	0	402.90	599.10
γ-氨基丁酸 (γ-Aba)	0.59	95.40	146.30
组氨酸 (His)	0.84	18.70	63.80
肌肽 (Carnosine)	0	105.40	116.10
色氨酸 (Trp)	0	130.60	235.70
鸟氨酸 (Orn)	26.42	144.80	153.50
赖氨酸 (Lys)	17.63	89.10	116.80
精氨酸 (Arg)	9.20	19.50	31.10

氨基酸之间的关系,从表 2 可以看出,经过 5 h 消化,游离氨基酸多出 7 种,经过 11 h 模拟消化后,游离氨基酸种类有很大改变,由原来的 11 种变为 27 种,尤其是抗氧化性氨基酸有显著增加,其中亮氨酸含

量最高,其次是酪氨酸。前面的抗氧化性单因素实验中,消化 11 h 后的产物表现出较强的抗氧化性,很大程度上是由这些抗氧化特征氨基酸产生的。而消化 5 h 产物中抗氧化性氨基酸的含量远低于消化 11 h 的产物,表明消化 5 h 产物中的多肽的抗氧化作用远高于抗氧化性氨基酸的作用,这为那些具有较强抗氧化活性的多肽分子量测定提供了依据。

2.5 酶解液中蛋白质及多肽相对分子质量分布

十二指肠消化阶段产物中的多肽具有最强的抗氧化活性,这些多肽的分子量分布通过凝胶渗透色谱法 (GPC) 测定。图 5 为标准品和十二指肠消化产物凝胶渗透色谱图,显示出各种物质的出峰顺序,其中标准品谱图 (图 5a) 各标注峰分子质量分别为: 67 000 Da、122 500 Da、204 Da; 十二指肠消化产物 GPC 谱图图 5b 各标注峰分子质量分别为: 2 152 Da、1 352 Da、190 Da。由标准曲线可知,分子质量的对数 (lgM_r) 与保留时间 (t) 呈良好的线性关系,回归方程 lgM_r = -0.203t + 7.779, 决定系数 R² = 0.999。图 5b 所示,十二指肠消化产物的保留时间在 10 ~ 30 min 之间,基本处于所选择的标准物质保留时间范围之内,而且谱图示出了产物中不同分子质量的分布情况,具有抗氧化活性物质的分子量在 200 ~ 5 000 Da 之间。

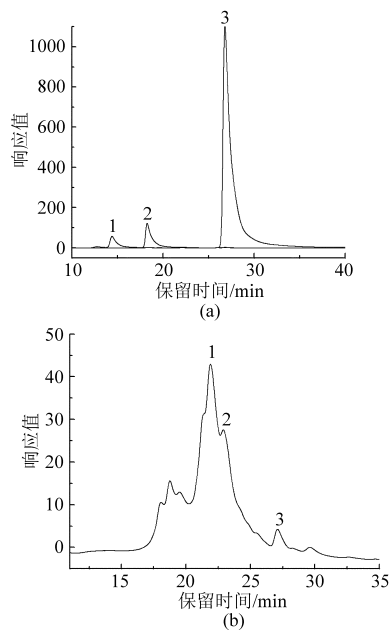


图 5 标准品和十二指肠消化产物凝胶渗透色谱图

Fig. 5 Standard and duodenal digestion products

(a) 标准品 (b) 十二指肠消化产物

3 结论

(1) 通过氨基酸分析,绿鳍马面鲉鱼皮中不含色氨酸,甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、脯氨酸和精氨酸含量高,并且富含 29.6% 的抗氧化特征性氨基酸,可

以成为提取某些氨基酸的丰富来源。

(2) 采用测定还原力、·OH 清除率、O₂⁻·清除率、DPPH·清除率 4 种方法考察了绿鳍马面鲈鱼皮蛋白模拟胃肠道消化过程的抗氧化活性,通过底物质量浓度、模拟胃液消化后不同处理和不同酶处理单因素实验,得出底物质量浓度在 8 mg/mL 时具有最强的抗氧化活性,但底物浓度需限制在一定的范围内,并且在十二指肠消化阶段具有最强的抗氧化

活性,此时 DPPH·清除率为 83.29%。

(3) 通过氨基酸分析得出,十二指肠消化产物中游离氨基酸的种类和含量都有明显增多,抗氧化性氨基酸含量比 11 h 产物的含量低,而抗氧化性却高于 11 h,说明抗氧化肽发挥主导作用,并且具有抗氧化活性的多肽分子量范围在 200 ~ 5 000 Da 之间,其中分子量为 2 152 Da、1 352 Da 的多肽与抗氧化活性可能相关。

参 考 文 献

- 1 Wang L, Liang Q, Chen Q, et al. Hydrolysis kinetics and radical-scavenging activity of gelatin under simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Chemistry, 2014, 163: 1-5.
- 2 贾韶千, 吴彩娥, 范龚健, 等. 银杏抗氧化肽的分离纯化及活性鉴定[J]. 农业机械学报, 2011, 42(6): 152-155.
Jia Shaoqian, Wu Caie, Fan Gongjian, et al. Purification and activity identification of ginkgo antioxidant peptide[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(6): 152-155. (in Chinese)
- 3 张君慧, 张晖, 王兴国, 等. 抗氧化活性肽的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(6): 227-233.
Zhang Junhui, Zhang Hui, Wang Xingguo, et al. Advancement of research on antioxidant peptides[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2008, 23(6): 227-233. (in Chinese)
- 4 徐自勤. 马面鱼综合利用途径的研究[J]. 水产科技情报, 1983(1): 7-9.
Xu Ziqin. Studies on the way of comprehensive utilization of filefish[J]. Fisheries Science and Technology Information, 1983(1): 7-9. (in Chinese)
- 5 Gomez-Guillen M, Gimenez B, Lopez-Caballero M E, et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(8): 1813-1827.
- 6 中华人民共和国农业部 869 号公告-2-2007. 转基因生物及其产品食用安全检测模拟胃肠液外源蛋白质消化稳定性试验方法[S]. 中华人民共和国农业部, 2007.
- 7 王兴, 黄忠明, 王莉, 等. 苦荞蛋白模拟消化产物抗氧化活性及组成研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(6): 10-15.
Wang Xing, Huang Zhongming, Wang Li, et al. The antioxidation activity and composition of tartary buckwheat protein products produced by simulating gastrointestinal digestion[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(6): 10-15. (in Chinese)
- 8 侯虎, 彭喆, 苏世伟, 等. 基于特征粘度的鳕鱼骨胶原蛋白酶解预测模型[J]. 农业机械学报, 2014, 45(3): 227-231.
Hou Hu, Peng Zhe, Su Shiwei, et al. Enzymatic hydrolysis prediction model of bone collagen from pollock based on intrinsic viscosity[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(3): 227-231. (in Chinese)
- 9 Adler-Nissen J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1979, 27(6): 1256-1262.
- 10 Lertittikul W, Benjakul S, Tanaka M. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH[J]. Food Chemistry, 2007, 100(2): 669-677.
- 11 Oyaizu M. Studies on products of browning reaction-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine[J]. Japanese Journal of Nutrition, 1986, 44(6): 307-315.
- 12 Smirnoff N, Cumbes Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 1057-1060.
- 13 陈美珍, 余杰, 龙梓洁, 等. 龙须菜多糖抗突变和清除自由基作用的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 219-222.
Chen Meizhen, Yu Jie, Long Zijie, et al. Studies on antimutagenic and the free radical scavenging effect of polysaccharide from *Gracilaria lemaneiformis*[J]. Food Science, 2005, 26(7): 219-222. (in Chinese)
- 14 Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, et al. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 945-948.
- 15 代春华, 汤坚, 顾小红, 等. 脉冲超声波对黄粉虫幼虫水溶性蛋白结构的影响[J]. 江苏大学学报: 自然科学版, 2012, 33(2): 130-133.
Dai Chunhua, Tang Jian, Gu Xiaohong, et al. Influence of pulse ultrasonic on water soluble protein conformation of *Tenebrio molitor* (L.) larva[J]. Journal of Jiangsu University: Natural Science Edition, 2012, 33(2): 130-133. (in Chinese)
- 16 马海乐, 刘斌, 李树君, 等. 酶法制备大米抗氧化肽的蛋白酶筛选[J]. 农业机械学报, 2010, 41(11): 119-123.
Ma Haile, Liu Bin, Li Shujun, et al. Enzymatic preparation of rice anti-oxidation peptide[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(11): 119-123. (in Chinese)
- 17 马海乐, 耿静静, 骆琳, 等. 超声波预处理对燕麦蛋白制备 ACE 抑制肽的影响[J]. 农业机械学报, 2010, 41(9): 133-137.
Ma Haile, Geng Jingjing, Luo Lin, et al. Oat-seed protein pretreatment by ultrasonic on preparation of ACE inhibitory peptides [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(9): 133-137. (in Chinese)