

模拟胃肠道消化对玉米低聚肽抗氧化作用的影响

张江涛¹, 张铭皓², 高丽辉³, 冯晓文¹, 谷瑞增¹, 李国明¹, 刘文颖^{*1}

(1. 中国食品发酵工业研究院有限公司/北京市蛋白功能肽工程技术研究中心, 北京 100015; 2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 3. 北京农学院 食品科学与工程学院, 北京 102206)

摘要: 以胃蛋白酶和胰蛋白酶在体外模拟胃肠环境, 测定模拟消化前后玉米低聚肽的相对分子质量分布、DPPH 自由基清除能力、 $\cdot\text{OH}$ 清除能力、ABTS 自由基清除能力、ORAC 值和 ROS 清除能力, 旨在探索模拟胃肠道消化对玉米低聚肽抗氧化活性的影响。结果表明: 玉米低聚肽中大部分肽段相对分子质量低于 1 000。分别模拟胃、肠环境消化后, 重均相对分子质量有所下降, 下降率分别为 1.47%、0.05%, ABTS 自由基清除能力有一定程度的升高, 分别为 25.47%、1.39%。模拟胃环境消化前后, DPPH 自由基清除能力 IC_{50} 值分别约为 1.41、1.50 mg/mL, $\cdot\text{OH}$ 清除能力 IC_{50} 值分别约为 10.3、12.3 mg/mL; 模拟肠环境消化前后, DPPH 自由基清除能力 IC_{50} 值分别约为 1.39、1.48 mg/mL, $\cdot\text{OH}$ 清除能力 IC_{50} 值分别约为 8.1、9.5 mg/mL。模拟胃环境消化后, ORAC 值有所降低, 降幅为 10.4%, 100、400 $\mu\text{g/mL}$ 玉米低聚肽对 ROS 清除能力分别提高了 1.42%、16.78%; 模拟肠环境消化后, ORAC 值提高了 1.4%, 100 $\mu\text{g/mL}$ 玉米低聚肽对 ROS 清除能力降低 1.71%, 而 400 $\mu\text{g/mL}$ 玉米低聚肽对 ROS 清除能力提高 2.61%。

关键词: 玉米低聚肽; 体外消化; 抗氧化; 相对分子质量; 人肝星状细胞

中图分类号: TS 210.1 文章编号: 1673-1689(2021)11-0054-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.11.007

Effect of Simulated Gastrointestinal Digestion on Antioxidant Activity of Corn Oligopeptides

ZHANG Jiangtao¹, ZHANG Minghao², GAO Lihui³, FENG Xiaowen¹,
GU Ruizeng¹, LI Guoming¹, LIU Wenying^{*1}

(1. China National Research Institute of Food and Fermentation Industries Co., Ltd. / Beijing Engineering Research Center of Protein & Functional Peptides, Beijing 100015, China; 2. College of Biological Sciences and Bio-Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3. College of Food Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: The molecular weight distribution, DPPH radical scavenging ability, $\cdot\text{OH}$ scavenging ability, ABTS radical scavenging ability, ORAC value and ROS scavenging ability of corn oligopeptides (COPs) before and after simulated digestion by pepsin and trypsin *in vitro* were measured, in order to explore the effect of simulated gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of COPs. The results showed that the relative molecular weight of most peptides in COPs

收稿日期: 2020-05-28

基金项目: 国家“十三五”重点研发计划项目(2016YFD0400604); 国家自然科学基金项目(31671963); 北京市科技创新基地培育与发展工程专项(Z191100002819001)。

*通信作者: 刘文颖(1984—), 女, 博士, 高级工程师, 硕士研究生导师, 主要从事食源性肽结构与功能研究。E-mail: wenylingliu888@126.com

was less than 1000 u. After simulated gastric and intestinal digestion, the weight average molecular weight decreased by 1.47% and 0.05%, respectively, and the free radical scavenging capacity of ABTS increased to a certain extent, 25.47% and 1.39%, respectively. Before and after digestion in simulated gastric environment, the IC_{50} values of DPPH free radical scavenging capacity were about 1.41 and 1.50 mg/mL, and the IC_{50} values of $\cdot OH$ scavenging capacity were about 10.3 and 12.3 mg/mL, respectively. Before and after digestion in simulated intestinal environment, the IC_{50} values of DPPH free radical scavenging capacity were about 1.39 and 1.48 mg/mL respectively, and the IC_{50} values of $\cdot OH$ scavenging capacity were about 8.1 and 9.5 mg/mL, respectively. After simulated gastric digestion, ORAC value decreased by 10.4%, and ROS scavenging ability of 100 $\mu g/mL$ and 400 $\mu g/mL$ COPs increased by 1.42% and 16.78%, respectively. After simulated intestinal digestion, ORAC value increased by 1.4%, ROS scavenging activity of 100 $\mu g/mL$ COPs decreased by 1.71%, and ROS scavenging activity of 400 $\mu g/mL$ COPs increased by 2.61%.

Keywords: corn oligopeptides, *in vitro* digestion, antioxidant activity, relative molecular weight, human hepatic stellate cells(HSC)

玉米缺乏赖氨酸等人体必需氨基酸,主要作为养殖业和畜牧业的饲料,只有少部分用于食用。玉米蛋白粉、玉米粕、玉米皮和玉米黄粉等均为玉米加工的副产物,深度加工可提高玉米加工副产物的营养价值,促进玉米产业的可持续发展^[1-3]。

玉米蛋白粉因为水溶性较差,目前主要用于生产饲料。玉米蛋白粉中蛋白质含量很高,质量分数达 65%,此外还含有大量的类胡萝卜素和黄色素,具有较强的抗氧化能力等多种生理活性。人体内具有特殊的寡肽吸收系统,其吸收效率高于氨基酸和蛋白质,可减轻小肠负担,有益于人体健康。将玉米蛋白粉经过特定的酶解工序处理,得到玉米低聚肽。玉米低聚肽具有抗氧化、抗疲劳等生理活性^[4-5],若作为食品添加剂添加于食品中或者作为原料做成肽类食品,具有广阔的应用前景。

氧化应激与人体密切相关,当人体收到外源或者内源因素刺激时,会使人体抗氧化体系失衡,导致氧化应激,引发细胞凋亡、氧化损伤和线粒体损伤等,对人体健康产生影响^[6]。玉米低聚肽具有较强的抗氧化活性,但经人体肠道吸收后是否仍影响玉米低聚肽的抗氧化活性的研究鲜有报道,本研究旨在探索体外模拟胃肠道消化对玉米低聚肽抗氧化活性的影响,为玉米蛋白粉的高效持续利用提供可行性依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玉米蛋白粉:北京中食海氏公司产品;JS-1 细胞:上海冠导生物工程公司产品;2',7'-二氢二氯荧光黄双乙酸钠(DCFH-DA)、Fluorescein(荧光指示剂)、Trolox(水溶性维生素 E)、偶氮二异丁脒盐酸盐(AAPH)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、相对分子质量标准品(色谱纯):美国 MCE 公司产品;乙腈(色谱纯):上海麦克林生化科技有限公司产品;ABTS 自由基清除能力检测试剂盒:碧云天生物技术有限公司产品;DMEM 培养基,胎牛血清:Hyclon 公司产品;碱性蛋白酶、中性蛋白酶,胃蛋白酶,胰蛋白酶:南宁东恒华道生物科技有限责任公司产品。

YCP-200 CO₂ 培养箱:长沙华曦电子科技有限公司产品;Spectra MR 多功能酶标仪:北京宏昌信科技有限公司产品;FACSCalibur 流式细胞仪:美国 BD 公司产品;SpectraMax i3x 多功能酶标仪:美国 MD 公司产品;LC-20A 高效液相色谱仪:日本 Shimadzu 公司产品;HH-501 型超级恒温水浴锅:常州国宇仪器制造有限公司产品;9140A 电热恒温鼓风干燥箱:上海一恒科学仪器有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米低聚肽的制备 参照马勇等^[7]的制备方法,详细工艺流程为:取从北京中食海氏公司购买的玉米蛋白粉 100 g,加入碱性蛋白酶(2 500 U/g)酶

解,在 50 ℃,pH 为 8.5 条件下作用 2 h;随后中性蛋白酶(3 000 U/g)酶解,在 50 ℃,pH 为 6 条件下作用 2 h。得到的水解物经 6 000 g 离心后,上清液通过陶瓷膜和超滤膜分离纯化,经过低温浓缩、脱色、净化、喷雾干燥等一系列步骤获得玉米低聚肽粉状样品。

1.2.2 玉米低聚肽体外模拟消化 体外模拟胃环境消化试验:将 5.0 g 玉米低聚肽和 0.2 g NaCl 于超纯水中混合,pH 计调节 pH 值=2.0,水浴温度为 37 ℃,随后加入 0.05 g 胃蛋白酶在 37 ℃下边搅拌边反应 120 min,高温条件下灭酶,待冷却至 27 ℃,调节 pH 值为 7.5,容量瓶定容至 100 mL。空白组除不加胃蛋白酶,其余操作工序不变^[8-9]。

体外模拟肠环境消化试验:将 5.0 g 玉米低聚肽和 0.68 g KH₂PO₄ 于超纯水中混合,pH 值为 7.5,设定水浴温度 37 ℃,立即加入 0.05 g 胰蛋白酶处理 4 h,高温灭酶,待冷却至 27 ℃后继续加超纯水到 100 mL。空白组除不加胰蛋白酶外,其余条件不变^[8,10]。

1.2.3 相对分子质量分布的测定 使用高效液相色谱(HPLC)系统测定玉米低聚肽的相对分子质量,该系统配有 TSKgel G2000SWXL 色谱柱。流动相为体积分数 0.1%三氟乙酸、45%乙腈和 55%水溶液,流量为 1.0 mL/min,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μL,紫外检测波长为 220 nm。用相对分子质量 189(乙氨酰乙氨酰乙氨酸)、451(乙氨酰乙氨酰酪氨酰精氨酸)、12 400(细胞色素 c)、40 000(过氧化物酶)的标准物质建立标准曲线。最后通过氨基酸分析仪分析玉米低聚肽的相对分子质量分布^[11-13]。

1.2.4 DPPH 自由基清除率测定 用无水乙醇配制浓度为 0.1 mmol/L DPPH 无水乙醇溶液,用去离子水将样品稀释为 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、15.0、20.0 mg/mL,在 96 孔板中依次加入 0.1 mL 样品与 0.1 mL DPPH 无水乙醇溶液,此为样品组 A_c;依次加入 0.1 mL 样品与无水乙醇溶液,此为空白组 A₀;依次加入 0.1 mL 蒸馏水与 0.1 mL DPPH 无水乙醇溶液,此为对照组 A₁。混匀,遮光处理,27 ℃反应 0.5 h,517 nm 处测定吸光值^[14]。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = (1 - \frac{A_c - A_0}{A_1}) \times 100\% \quad (1)$$

1.2.5 羟基自由基清除率测定 用去离子水配制 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、15.0、20.0 mg/mL 的样品

溶液,配制 5 mmol/L 水杨酸乙醇溶液,5 mmol/L FeSO₄ 溶液和 0.1 mL 5.6 mmol/L H₂O₂ 溶液。将 0.1 mL 各浓度的样品溶液与 0.2 mL 水杨酸乙醇溶液,0.2 mL FeSO₄ 溶液混匀,以 0.1 mL H₂O₂ 溶液启动反应,此为样品组 A_b;空白组(A₀)以 0.1 mL 蒸馏水启动反应;对照组(A₁)将 0.1 mL 样品溶液更改为 0.1 mL 蒸馏水。晃匀后,37 ℃水浴反应 1 h,然后取各组反应液 0.1~0.2 mL 于 96 孔板中,测定 510 nm 处 A 值^[15]。

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = (1 - \frac{A_b - A_0}{A_1}) \times 100\% \quad (2)$$

1.2.6 ABTS 自由基清除率测定 ABTS 测定采用 Lin 等^[16]的方法进行,但略有修改。将 7 mmol/L ABTS 储备液与 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液混合。让混合物在室温下黑暗中静置 12~16 h 以产生 ABTS·⁺。然后用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)稀释 ABTS·⁺溶液。样品也用相应的缓冲液稀释。在 96 孔微孔板中加入 200 μL 工作液和 10 μL 样品后,在 734 nm 处测定吸光度,用等体积 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液代替样品作为空白。ABTS·⁺用磷酸盐缓冲液稀释,在波长为 734 nm 时,吸光值为 0.70±0.02。以 Trolox 为标准抗氧化剂。计算 ABTS 自由基清除活性,并绘制 Trolox 浓度图,以获得标准曲线。最终样品的抗氧化能力以 mmol/g 表示^[17]。

1.2.7 ORAC 值测定 氧自由基吸收能力(ORAC)测定基于 Coscueta 等^[18]提出的方法。反应在 37 ℃下在 75 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)中进行,最终的分析混合物(200 μL)含有 100 μL 荧光素(0.8 μmol/L)、75 μL AAPH(150 mmol/L)和 25 μL 标准品或 25 μL 样品或 25 μL 75 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)。在 120 min 内记录荧光(5 min/次,共 24 个循环)。使用激发波长 485 nm,发射波长 530 nm 的酶标仪,黑色聚苯乙烯 96 孔微孔板。所有反应混合物制备重复 3 次。最终 ORAC 值表示为 μmol/g Trolox^[19]。

1.2.8 玉米低聚肽对 HSC 增殖影响测定 对 HSC 细胞进行传代培养,待细胞生长至试验所需量,通过消化、离心、稀释得到所需的细胞浓度 1×10⁵ 个/mL,每孔移取接种 0.2 mL 细胞悬液于 96 孔板中。细胞培养箱中培养约 1 d。用完全培养基配制 50、100、200、400 μg/mL 的样品,加入到细胞培养液中,空白对照孔不加样品。细胞培养箱中持续孵育 1 d 后,收

集培养液。各孔加入 0.02 mL 质量浓度为 5 mg/mL 的噻唑蓝,继续在培养箱中反应约 4 h,加入二甲基亚砷,震荡 0.5 h 后,570 nm 处测定吸光值^[20]。

$$X_1 = \frac{A_x}{A_0} \quad (3)$$

式中: X_1 为细胞增殖比; A_x 为样品组吸光值; A_0 为空白对照组吸光值。

1.2.9 HSC 细胞 ROS 测定 将 HSC 细胞于 6 孔板培养,6 个孔分别标记为空白组、模型组、胃(胰)蛋白酶对照组、胃(胰)蛋白酶消化组。2 d 后除空白组以外,将 100、400 $\mu\text{g/mL}$ 的样品加入到 6 孔板中继续培养。1 d 后向 6 孔板中加入 1.0 mL DCFH-DA,于细胞培养箱反应 0.5 h 后加入 1.0 mL AAPH,过 20 min 后用流式细胞仪测定细胞荧光强度的变化^[21]。

$$X_2 = \frac{A_x}{A_0} \quad (4)$$

式中: X_2 为荧光强度比; A_x 为样品组吸光值; A_0 为空白对照组吸光值。

1.2.10 数据分析 每组数据平行测定 3 次,使用 Origin Pro 8.5 软件 (OriginLab Corp., Northampton, MA, USA) 处理数据。试验数据以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 消化前后玉米低聚肽相对分子质量分布

玉米低聚肽的相对分子质量主要集中在 150~1 000,总比例占 90%以上,表明其水溶性好、易吸收^[4]。胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后,玉米低聚肽的相对分子质量分布变化幅度不大,重均相对分子量分别下降 1.47%、0.05%,与未消化组比较,均无显著性变化($P>0.05$)(表 1)。由此看出,玉米低聚肽对胃蛋白酶和胰蛋白酶消化均具有稳定性,小肽尤其是具有抗氧化活性的短肽基本受蛋白酶作用的影响非常小。因此,玉米低聚肽是一种潜在的可能在消化后保持一定抗氧化活性的肽类物质。

表 1 不同处理的玉米低聚肽相对分子质量分布

Table 1 Relative molecular weight distribution of corn oligopeptides with different treatments

相对分子质量	胃蛋白酶消化	胃蛋白酶对照	胰蛋白酶消化	胰蛋白酶对照
>1 0000	0.000 0	0.003 1	0.000 0	0.001 7
5 000~10 000	0.029 2	0.048 8	0.023 3	0.029 8
3 000~5 000	0.161 1	0.146 3	0.131 6	0.134 2
2 000~3 000	0.375 9	0.378 0	0.362 0	0.360 6
1 000~2 000	2.780 1	2.890 3	2.903 4	2.878 1
150~1 000	82.412 9	84.054 9	83.190 6	83.098 2
<150	14.218 2	12.501 3	13.496 6	13.388 0
重均相对分子质量	349.552 6	354.775 3	351.963 0	352.143 8

%

2.2 消化前后玉米低聚肽的 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基清除能力是利用电子转移和电荷中和原理,其非常稳定,被广泛用于测定抗氧化剂的功效^[22]。当 DPPH 自由基含量逐渐变少时,溶液的颜色会由紫色逐渐变为浅黄色^[23]。图 1 显示了胃蛋白酶和胰蛋白酶消化前后对玉米低聚肽的 DPPH 自由基清除能力的变化。玉米低聚肽的 DPPH 自由基清除能力与浓度呈明显的量效关系。模拟消化对玉米低聚肽 DPPH 自由基清除能力无显著性影响($P>0.05$),在质量浓度为 20 mg/mL 时清除率都达到 75%~85%,模拟胃环境消化前后 IC_{50} 值分别约为 1.41、1.50 mg/mL,模拟肠环境消化前后 IC_{50} 值分别

约为 1.39、1.48 mg/mL,说明玉米低聚肽具有较高的 DPPH 自由基清除能力和消化稳定性。王贝贝等^[24]以羊皮胶原肽为试验原料,研究了模拟胃肠消化对羊皮胶原肽抗氧化活性的影响,其 DPPH 自由基清除能力变化趋势与本研究一致。

2.3 消化前后玉米低聚肽的羟基自由基清除能力

羟基自由基作为氧自由基中最活泼的一种,可以对几乎所有邻近的生物分子造成严重损害。图 2 为玉米低聚肽经模拟胃环境和模拟肠环境消化前后的羟基自由基清除能力变化。玉米低聚肽的羟基自由基清除能力在试验浓度范围内与浓度呈正相关。经模拟消化处理后,其羟基自由基清除能力与

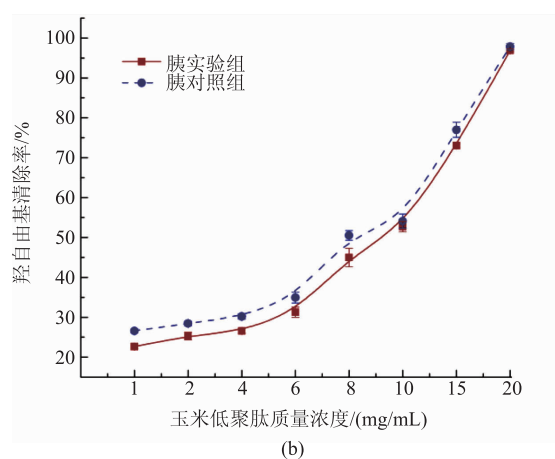
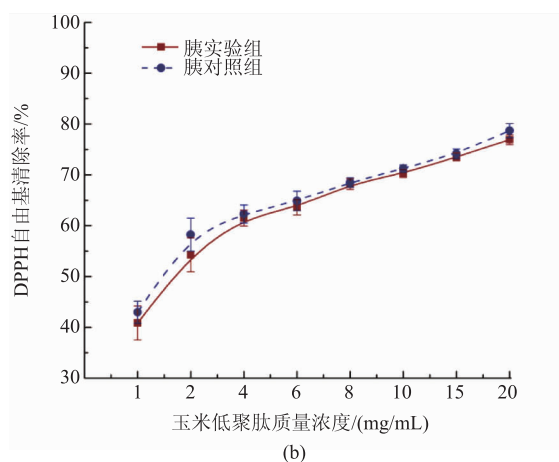
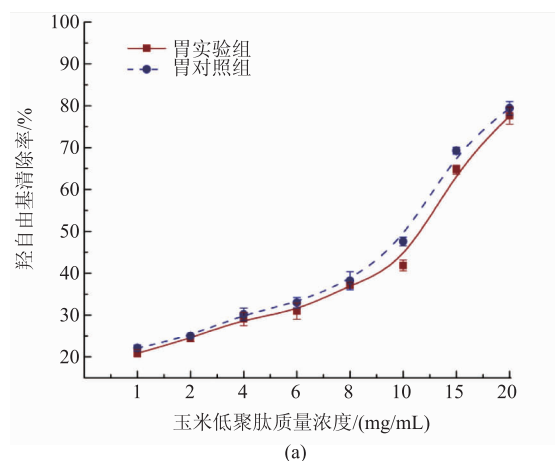
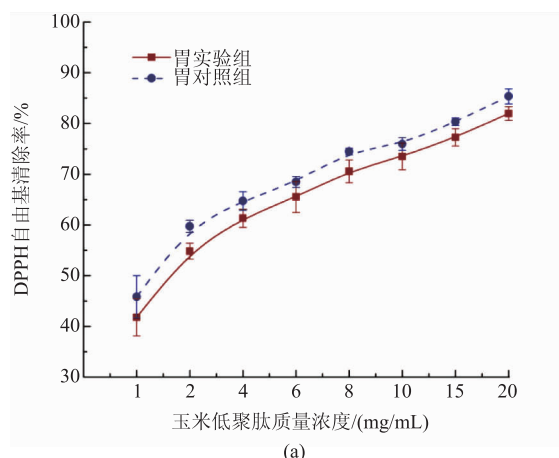


图1 不同处理的玉米低聚肽对DPPH自由基清除作用

Fig. 1 DPPH free radical scavenging effect of corn oligopeptides with different treatments

空白对照组相比,仅有轻微下降,无显著性变化($P>0.05$)。玉米低聚肽在模拟胃环境消化前后 IC_{50} 值分别约为 10.3、12.3 mg/mL,模拟肠环境消化前后 IC_{50} 值分别约为 8.1、9.5 mg/mL,因此,模拟胃肠消化对玉米低聚肽羟基自由基清除能力影响很小,消化后仍具有较高的羟基自由基清除能力。可能是由于玉米低聚肽中存在很少的能被消化酶特异性水解的结构,使得玉米低聚肽水解物羟基自由基清除能力仍保持稳定^[25]。

2.4 消化前后玉米低聚肽的ABTS自由基清除能力

该方法以ABTS为显色引剂,加入抗氧化性物质后ABTS自由基的电荷被中和,颜色变浅,吸光值降低,根据下降趋势可表征出所检测物质抗氧化活性的强弱^[26]。图3为根据Trolox标准品绘制的ABTS标准曲线。表2为消化酶处理前后玉米低聚肽的ABTS自由基清除能力。可以看出模拟胃环境

图2 不同处理的玉米低聚肽对羟基自由基清除作用

Fig. 2 Hydroxyl free radical scavenging effect of corn oligopeptides with different treatments

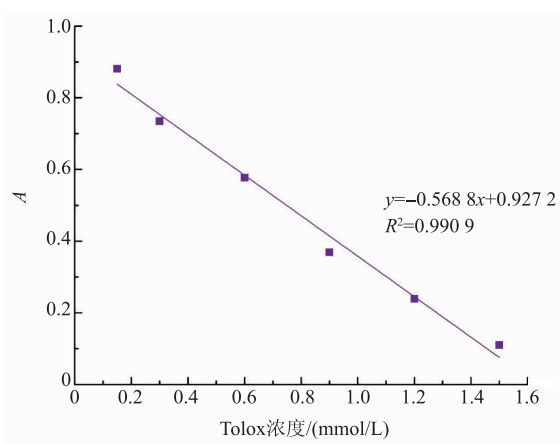


图3 ABTS标准曲线

Fig. 3 ABTS standard curve

消化处理提高了玉米低聚肽的ABTS自由基的清除能力,提高幅度为25.47%;同时模拟肠环境消化处

理也提高了玉米低聚肽的 ABTS 自由基的清除能力,提高幅度为 1.39%。毛小雨^[27]以芸豆蛋白为研究对象,结果表明胃肠道消化提高了芸豆蛋白 ABTS 自由基的清除能力。产生这种现象的原因可能是胃、胰蛋白酶处理使得玉米低聚肽的不同肽段中的抗氧化氨基酸残基更加充分暴露而使总抗氧化活性有了较大幅度提升。

表 2 不同处理的玉米低聚肽对 ABTS 自由基清除作用

Table 2 ABTS free radical scavenging effect of corn oligopeptides with different treatments

处理方法	抗氧化能力/(mmol/g)
胃蛋白酶消化	0.596±0.034
胃蛋白酶对照	0.475±0.038
胰蛋白酶消化	0.804±0.067
胰蛋白酶对照	0.793±0.019

2.5 消化前后玉米低聚肽的 ORAC 值

ORAC 法被译为抗氧化能力指数或氧自由基清除能力,是基于氢原子转移的评价方法,采用荧光定量,灵敏度高。不同浓度 Trolox 标准品的动态荧光衰减曲线见图 4,绘制的标准曲线如图 5 所示,玉米低聚肽消化前后 ORAC 值的变化结果如表 3 所示。模拟胃肠消化使得玉米低聚肽的 ORAC 值降低了 10.4%;而胰蛋白酶消化使得玉米低聚肽的 ORAC 值提高了 1.4%。这与豌豆低聚肽经模拟胃肠消化后的变化规律一致^[20]。可能是由于胃蛋白酶特异性酶解了部分具有高活性的肽段,使得低聚肽的氧自由基清除能力有一定的降低。在模拟肠道消化条件下,一些肽段被胰蛋白酶特异性酶解成如二肽或三肽以及氨基酸,某些相对分子质量越小的肽段抗氧化活性越强,从而提高 ORAC 值^[28]。

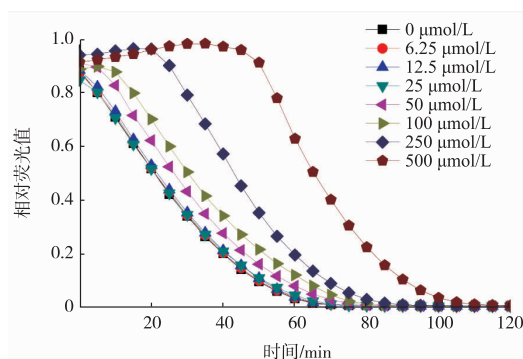


图 4 不同浓度 Trolox 的动态荧光衰减曲线

Fig. 4 Dynamic fluorescence attenuation curve of Trolox at different concentrations

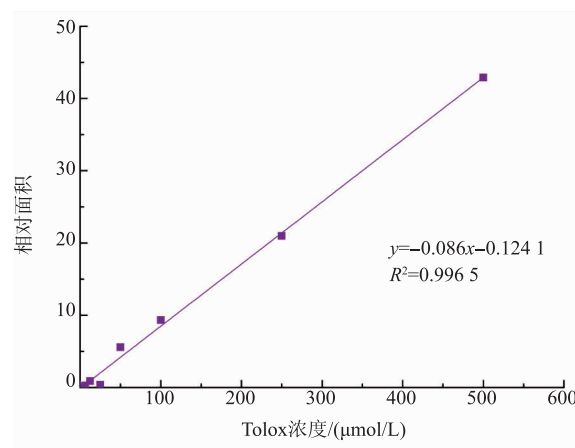


图 5 Trolox 标准曲线

Fig. 5 Trolox standard curve

表 3 不同处理的玉米低聚肽的 ORAC 值

Table 3 ORAC values of corn oligopeptides with different treatments

消化方法	ORAC 值(μmol/g)
胃蛋白酶消化	623.31±54.44
胃蛋白酶对照	695.82±0.88
胰蛋白酶消化	992.26±22.76
胰蛋白酶对照	978.37±56.86

2.6 消化前后玉米低聚肽对 HSC 增殖的影响

以未加入玉米低聚肽的 HSC 为空白对照,经数据处理分析得到结果如图 6 所示。在细胞生长过程中加入不同消化处理、不同质量浓度(50、100、200、400 μg/mL)的玉米低聚肽,均能使得 HSC 细胞增殖速度加快,但量效关系不明显,且与空白对照组增殖速度相比差别不明显($P>0.05$)。说明玉米低聚肽在试验浓度范围内均不会影响 HSC 的正常生长。综合细胞增殖实验结果,选择 100、400 μg/mL 作为测定消化前后玉米低聚肽对细胞 ROS 清除能力的质量浓度。

2.7 消化前后玉米低聚肽对 HSC 中 ROS 生成的影响

ROS 是生物体中内源性和外源性氧自由基的总称,当机体机能正常时,机体内自由基生成和清除能力相平衡;当受到紫外线、金属离子刺激及体内炎症反应发生时,将引起细胞内 ROS 水平的升高,过量的 ROS 会进攻细胞的脂质膜、DNA 等,进而诱发相关疾病^[29-30]。由图 7 可知,相对于空白组,阳性模型组细胞内 ROS 含量显著提高约 40%~60% ($P<0.05$),表明 ROS 阳性模型建立成功。玉米低聚

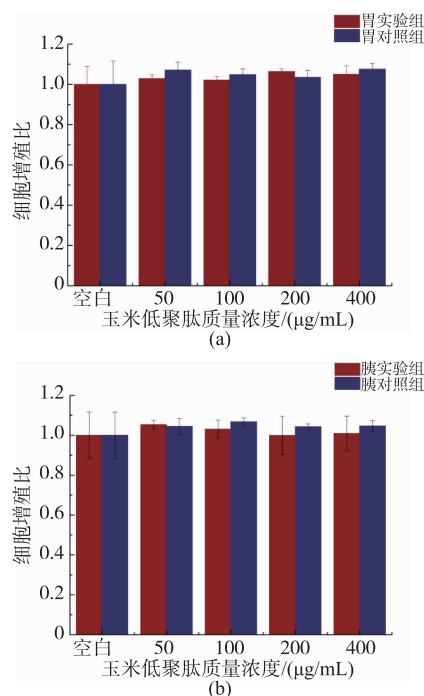


图6 玉米低聚肽对HSC增殖的影响

Fig. 6 Effect of corn oligopeptides on HSC proliferation

肽作用后对细胞内ROS具有明显的清除能力,相对于阳性模型组,降低了约20%~30% ($P < 0.05$)。模拟胃环境消化后,100 µg/mL和400 µg/mL玉米低聚肽的ROS清除能力增强了,分别增强了1.42%、16.78%,模拟肠环境消化后降低了100 µg/mL玉米低聚肽的ROS清除能力,降低了1.71%,而400 µg/mL玉米低聚肽对ROS清除能力提高了2.61%,但模拟胃肠液消化后对其ROS清除能力均没有显著性影响 ($P > 0.05$)。由此可见,不同质量浓度的玉米低聚肽经胃肠消化后对ROS清除能力不同,经模拟胃环境和模拟肠环境消化后玉米低聚肽的抗氧化活性有所不同,可能是因为两种酶的作用位点和作用机理不同,使得肽水解成不同的肽段,从而造成抗氧化作用的不同。

3 结语

以两步酶解法工序加工玉米蛋白粉制备得到玉米低聚肽,通过测定相对分子质量分布、DPPH自由基清除能力、羟基自由基清除能力、ABTS自由基清除能力、ORAC值以及ROS试验,研究了模拟胃

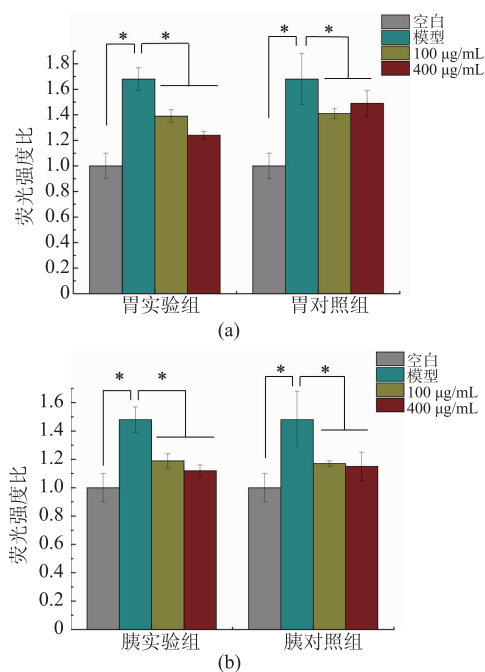


图7 玉米低聚肽对HSC中ROS生成的影响

Fig. 7 Effect of corn oligopeptides on ROS generation in HSC

肠消化对玉米低聚肽抗氧化作用的影响。结果表明,玉米低聚肽的主要成分为相对分子质量低于1 000的短肽,模拟胃环境、模拟肠环境消化后重均相对分子质量分别降低1.47%、0.05%。模拟胃环境消化前后,DPPH自由基清除能力 IC_{50} 值分别约为1.41、1.50 mg/mL,模拟肠环境消化前后, IC_{50} 值分别约为1.39、1.48 mg/mL;模拟胃环境消化前后,羟基自由基清除能力 IC_{50} 值分别约为10.3、12.3 mg/mL,模拟肠环境消化前后, IC_{50} 值分别约为8.1、9.5 mg/mL;模拟胃环境和肠环境消化后,ABTS自由基清除能力分别增加了25.47%、1.39%;模拟胃环境消化后ORAC值降低了10.4%,模拟肠环境消化后ORAC值增加了1.4%;模拟胃环境消化后,100 µg/mL和400 µg/mL玉米低聚肽对ROS清除能力分别提高1.42%、16.78%,模拟肠环境消化后,100 µg/mL玉米低聚肽对ROS清除能力降低1.71%,而400 µg/mL玉米低聚肽对ROS清除能力提高2.61%。本试验证明玉米低聚肽在经模拟胃肠液消化后仍具有较强的抗氧化活性。

参考文献:

- [1] 刘金,韩涛.我国玉米产业发展存在的问题及对策[J].现代农业科技,2021,(1):50-51.
- [2] 崔爱民,张久刚,张虎,等.我国玉米生产现状及发展变革[J].中国农业科技导报,2020,22(7):10-19.
- [3] 董玮.玉米及其后加工产品的营养价值分析[J].粮食流通技术,2019,(15):83-85.
- [4] 陆启明,陈志成,何爱丽.玉米淀粉加工副产物玉米蛋白粉的应用与开发[J].食品安全质量检测学报,2018,9(3):15-22.
- [5] 刘义凤,侯占群,田巧基,等.添加玉米低聚肽的紫苏籽油乳液及其微胶囊的制备[J].食品科学,2021,42(2):36-45.
- [6] 卫兰兰.外界因素导致人体氧化应激和肠道菌群代谢物变化的研究[D].南京:东南大学,2019.
- [7] 马勇,高丽辉,冯晓文,等.模拟胃肠消化对牡蛎低聚肽抗氧化活性的影响[J].食品与机械,2020,36(11):133-137+176
- [8] MINEKUS M,ALMINGER M,ALVITO P. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus[J]. **Food & Function**,2014,5(6):1113-1124.
- [9] ALVITO P,MCCLEMENTS D J,KARAKAYA S,et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus[J]. **Food & Function**,2014,5(6):1113-1124.
- [10] 刘文颖,张铭皓,高丽辉,等.体外消化对三文鱼皮胶原低聚肽抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2021,42(1):317-321.
- [11] LIU W Y,LU J,GAO F,et al. Preparation, characterization and identification of calcium-chelating Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) ossein oligopeptides[J]. **European Food Research and Technology**,2015,241(6):851-860.
- [12] HE K,ZENG Y,TIAN H,et al. Macrophage immunomodulatory effects of low molecular weight peptides from *Mytilus coruscus* via NF- κ B/MAPK signaling pathways[J]. **Journal of Functional Foods**,2021,83:104562.
- [13] 王雨辰,高丽辉,韩涛,等.豌豆低聚肽在模拟胃肠消化体系中的抗氧化作用[J].粮食与油脂,2021,34(4):146-150.
- [14] PENG X,XIONG Y L,KONG B. 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] LIN Z,ZHAO M,XIAO C,et al. Practical problems when using ABTS assay to assess the radical-scavenging activity of peptides: Importance of controlling reaction pH and time[J]. **Food Chemistry**,2016,192:288-294.
- [17] CORSETTO P A,MONTORFANO G,ZAYA S,et al. Characterization of antioxidant potential of seaweed extracts for enrichment of convenience food[J]. **Antioxidants**,2020,9(3):249-264.
- [18] COSCUETA E R,CAMPOS D A,OSÓRIO H,et al. Enzymatic soy protein hydrolysis: A tool for biofunctional food ingredient production[J]. **Food Chemistry**,2019(1):100006.
- [19] 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.
- [20] 黄进.大豆活性成分的结构与功能评价[D].武汉:华中农业大学,2003.
- [21] 张瑞雪,崔欣悦,马勇,等.枸杞发酵液抗氧化和免疫调节作用研究[J].食品研究与开发,2019,40(10):55-60.
- [22] PATRIK C E,OTTO K L,JOHAN P W,et al. Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans[J]. **Organic & Biomolecular Chemistry**,2005,3(18):3336-3347.
- [23] MAZUMDER K,NABILA A,AKTAR A,et al. Bioactive variability and *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity of unprocessed and processed flour of nine cultivars of Australian lupin species: a comprehensive substantiation [J]. **Antioxidants**,2020,9(4):282-305.
- [24] 王贝贝,于哲,李强,等.模拟胃肠消化对羊皮胶原肽抗氧化活性的影响及其消化保护分析 [J/OL].食品科学:1-15[2021-10-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210430.1550.024.html>.
- [25] 秦修远,陆路,曹珂璐,等.豌豆低聚肽的体外抗氧化作用[J].食品工业,2018,39(12):181-185.
- [26] FERNANDO C D,SOYSA P. Evaluation of hepatoprotective activity of *eriocaulon quinquangulare* *in vitro* using porcine liver slices against ethanol induced liver toxicity and free radical scavenging capacity [J]. **BMC Complementary and Alternative Medicine**,2016,16(1):74-84.
- [27] 毛小雨.体外模拟消化对芸豆蛋白结构特征及抗氧化活性的影响研究[D].大庆:黑龙江八一农垦大学,2020.
- [28] 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.
- [29] 马玉荣.加热及模拟胃肠道消化处理对豆浆活性成分和抗氧化能力的影响[D].广州:华南理工大学,2014.
- [30] 赵吉春.植物乳杆菌抗氧化评价及抗氧化机制研究[D].无锡:江南大学,2018.