## 体外模拟胃肠消化对缢蛏抗氧化活性的影响

云一卿, 胡虞帆, 杨留明, 马骏骅, 吕春霞, 曹少谦, 杨 华\*

(浙江万里学院生物与环境学院, 宁波 315100)

**摘 要:目的** 基于体外模拟消化系统探究胃肠模拟消化对缢蛏的抗氧化活性的影响以及氨基酸含量的变化。**方法** 以新鲜缢蛏为原料,向体外模拟消化系统加入胃蛋白酶和胰蛋白酶,模拟在胃液和肠液下的胃消化、十二指肠消化和小肠消化过程,研究缢蛏在消化过程中的羟基自由基(·OH)清除率、二苯代苦味酰基自由基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, DPPH·)清除率、还原力、水解度、游离氨基态氮及游离氨基酸含量的变化。结果 整个胃肠消化阶段,加酶组的·OH 清除率、DPPH·清除率、还原力均高于对照组。肠消化产物的·OH 清除率、DPPH·清除率、还原力均高于对照组。肠消化产物的·OH 清除率、DPPH·清除率、还原力均高于对照组。肠消化产物的·OH 清除率、CDPH·清除率、还原力均高于引消化产物中的总游离氨基酸含量及具有抗氧化特征的氨基酸含量均显著高于胃消化产物(P<0.05)。在十二指肠消化阶段,·OH 清除率、DPPH·清除率、还原力值达到最高。结论 体外模拟消化处理能够提高缢蛏的抗氧化活性,其中十二指肠消化阶段产物抗氧化活性最高。

关键词: 缢蛏; 体外模拟消化; 抗氧化活性; 氨基酸含量; 水解度

# Effects of simulated gastrointestinal digestion *in vitro* on the antioxidant activity of *Sinonovacula constricta*

YUN Yi-Qing, HU Yu-Fan, YANG Liu-Ming, MA Jun-Hua, LV Chun-Xia, CAO Shao-Qian, YANG Hua<sup>\*</sup>

(College of Biology and Environment, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the effects of simulated gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of *Sinonovacula constricta* and the change of amino acid content based on the simulated digestive system *in vitro*. **Methods** Fresh *Sinonovacula constricta* was used as material, adding pepsin and trypsin to the the simulated digestive system *in vitro*, digestive processes of stomach, duodenum and small intestine were simulated in gastric juice and intestinal juice, respectively, the changes of hydroxyl radical (·OH) clearance rate, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) clearance rate, reducing power, degree of hydrolysis, free amino nitrogen and free amino acid content of *Sinonovacula constricta* during digestion were studied. **Results** The whole gastrointestinal digestion phase, ·OH clearance rate, DPPH· clearance rate and reducing power in the enzyme group were higher than the control group. The ·OH clearance rate, DPPH· clearance rate, reducing power and degree of hydrolysis were all higher than those of

\*通信作者:杨华,博士,研究员,主要研究方向为食品(水产品)加工保鲜。E-mail: yanghua@zwu.edu.cn

\*Corresponding author: YANG Hua, Ph.D, Professor, College of Biology and Environment, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China. E-mail: yanghua@zwu.edu.cn

**基金项目:** 宁波市科技富民项目(2019C10050)、大学生创新创业训练计划项目(202010876027)、国家海洋局海洋示范项目(NBHY-2017-S4)、 浙江省重点研发计划项目(2019C02071)

**Fund:** Supported by the Science and Technology Enriching People Project of Ningbo (2019C10050), the Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (202010876027), the Ocean Demonstration Project of State Oceanic Administration (NBHY-2017-S4), and the Key Research and Development Project of Zhejiang Province (2019C02071)

the gastric digestion products, moreover, the total free amino acid content and the amino acid content with antioxidant characteristics were significantly higher than that of the gastric digestion products (P<0.05). During the duodenal digestion phase,  $\cdot$ OH clearance rate, DPPH $\cdot$  clearance rate, and reducing power reached the highest. **Conclusion** Simulated digestion *in vitro* can improve the antioxidant activity of *Sinonovacula constricta*, the antioxidant activity of duodenal digestion products was the highest in duodenal digestion stage.

**KEY WORDS:** *Sinonovacula constricta*; simulated digestion *in vitro*; antioxidant activity; amino acid content; degree of hydrolysis

#### 0 引 言

缢蛏(Sinonovacula constricta)属于双壳纲、帘蛤目中 的竹蛏科,从辽宁到广东沿海均有分布,是我国的传统养 殖贝类[1-3],含有苯丙氨酸和酪氨酸等人体需要的必需氨 基酸、多糖等营养成分。人体吸收的蛋白质经过各种存在 于消化道内的酶的作用,分解并释放出一些肽片段。这些 肽片段被肠道吸收后,可以为人体提供营养以促进生长发 育,同时也具有免疫调节等多种生理功能<sup>[4-8]</sup>。近年来,缢 蛏的营养成分及其作用研究较多,如栾晓红<sup>[9]</sup>提取了两种 缢蛏粗多糖(YC-S、YC-J),发现了一种葡聚糖结构。黄瑞 等<sup>[6]</sup>将近江蛏作为研究对象,在水分、蛋白质等方面与经 济蛏类进行比较,结果显示,缢蛏(采自青岛红岛海域)具 有较高的营养价值。张惠婷<sup>[10]</sup>以缢蛏为原料, 酶解法制备 多肽后通过测序、纯化等技术获得序列明确且具有抗氧化 的多肽。国内外基于体外模拟消化对水产品及肉制品的研 究均有报道[11-14],如邹睿等[15]基于体外模拟消化试验发 现胃蛋白酶、胰蛋白酶及胰凝乳蛋白酶连续作用可使翡翠 贻贝副肌球蛋白(paramyosin, PM)有效降解; 马勇等<sup>[16]</sup>以 牡蛎低聚肽为原料,模拟胃肠消化对牡蛎低聚肽抗氧化活 性进行研究,结果显示该肽在消化前后抗氧化能力多项指 标无显著变化(P>0.05)。AHMED 等<sup>[17]</sup>利用人胃模拟器 (human gastric simulator, HGS)进行体外消化, 以氢离子浓 度指数(hydrogen ion concentration, PH)和脂肪代谢变化为 指标,发现鲑鱼基质可以提高不饱和脂肪酸的生物可及性 和生物利用度。SEONMIN等<sup>[18]</sup>以短叶原螯虾和牛肉糜为原 料,在体外消化模型中以体外蛋白消化率为指标进行比较, 结果表明水产品比肉制品有较高的蛋白质含量和消化率。

肉类经人体食用后,其营养成分在人体消化道中被 吸收。然而,在人体消化过程中,消化系统中的消化酶、 无机盐、极端 pH 等环境可能会影响蛋白质和多肽的结构 或活性<sup>[19-21]</sup>。甚至有研究报道:食源性短肽直接服用容易 被胃、肠道消化酶降解,使其本来的生理功能丧失<sup>[22-23]</sup>。 而陈晨等<sup>[24]</sup>研究发现,米发糕经胃、肠消化后蛋白质充分 降解,从而增加了更多具有抗氧化能力的基团暴露在胃、 肠道中的可能性。体外胃肠模拟系统具有操作简单、成本 低、快速等特点,被广泛用于人类健康分析评估<sup>[25-30]</sup>。目 前,关于海洋贝类生物活性肽分离纯化及某些特性及机制 的研究较多,但关于缢蛏胃肠消化、吸收及消化产物抗氧 化活性机制方面的研究较少。本研究考查了体外模拟消化 对缢蛏游离氨基酸含量以及抗氧化活性变化,以期为后期 展开小分子肽在肠道中被吸收利用的研究提供数据支持。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

缢蛏:购于宁波路林市场。

胃蛋白酶、胰蛋白酶(≥250000 U/g, 北京 Solarbio 科 技有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 DPPH(上海阿拉丁 生化科技股份有限公司); 氯化钠、磷酸二氢钾、次氯酸、 过氧化氢、铁氰化钾、硫酸亚铁、三氯化铁、水杨酸(分析 纯,国药集团化学试剂有限公司)。

#### 1.2 仪器与设备

UV-1801 型紫外分光光度计(立特电子科技有限公司); HWS-26 恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司); XW-80A 漩涡混匀器(西宝生物科技有限公司); PL2002 电 子分析天平、FE20 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公 司]; VIS-7220N型可见分光光度计(北京北分瑞利分析仪器 公司); J-26XP 高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特); Sykam-433D 全自动氨基酸分析仪(德国 SYKAM 公司)。

#### 1.3 方法

1.3.1 原料预处理和模拟消化处理
(1)原料预处理
新鲜缢蛏去壳后洗净,搅成肉糜,备用。
(2)模拟胃消化环境

参照秦晓佩等<sup>[31]</sup>的方法并稍做修改, 0.20 g 氯化钠、 0.10 g 胃蛋白酶, 加入 70 mL 蒸馏水, 加入 0.7 mL 3 mol/L 盐酸, 加蒸馏水定容至 100 mL, 用盐酸将 pH 调至 1.2, 密 封避光, 于 37 ℃下恒温消化时间 4 h。对照组为不加胃蛋 白酶, 其余条件均相同。

(3)模拟十二指肠消化环境

参照秦晓佩等<sup>[31]</sup>的方法并稍做修改,称取 0.68 g磷酸 二氢钾,加入 22 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠、0.10 g 胰蛋白酶, 用蒸馏水定容至 100 mL,用氢氧化钠将 pH 调至 6.4,密封 避光,于 37 ℃下恒温消化 1 h。对照组为不加胰蛋白酶,其 余条件均相同。

(4)模拟小肠消化环境

参照秦晓佩等<sup>[31]</sup>的方法并稍做修改,称取 0.68 g 磷酸 二氢钾、加入 22 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠、0.10 g 胰蛋白酶, 用蒸馏水定容至 100 mL,用氢氧化钠将 pH 调至 7.5,密封 避光,于 37 ℃下恒温消化时间 5 h。对照组为不加胰蛋白酶, 其余条件均相同。

(5)模拟胃、肠消化过程

参照秦晓佩等<sup>[31]</sup>的方法并稍做修改,称取适量缢蛏 肉糜,按照本节(2)~(4)的方法依次进行胃消化、十二指肠 消化和小肠消化,在模拟消化过程1、2、3、4、5、6、7、 8、9、10h时取样;在沸水浴条件下持续灭酶15 min;然后 8000 r/min 离心 10 min,样品消化液为提取得到的上层清 液。对照组为不加胃蛋白酶和胰蛋白酶,其余条件均相同。 1.3.2 抗氧化活性测定

(1)羟自由基·OH 清除率测定

参考王兴等<sup>[32]</sup>的方法并稍做修改,反应体系总体积 为4mL,4种均为5mmol/L的过氧化氢、硫酸亚铁、水杨 酸-乙醇溶液以及样品溶液上层清液按照体积比 1:1:1:1 混 合,然后加入过氧化氢启动反应,将恒温水浴锅调至 37℃, 持续 30min。然后测定吸光度,波长选择 510nm。按公式 (1)计算·OH 清除率:

•OH 清除率/%=
$$\frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$
 (1)

式中: A<sub>0</sub>、A<sub>1</sub>和 A<sub>2</sub>分别为空白对照液、样品溶液与反应液 混合液和不加显色剂过氧化氢的样品溶液本底的吸光度。

(2) DPPH·清除率测定

参考王兴等<sup>[32]</sup>的方法并稍做修改,反应体系为 5 mL, 将样品溶液与用 0.1 mmol/L 的 DPPH-乙醇溶液以 4:1 (*V*:*V*) 的比例混合,混匀后避光静置,持续 30 min,然后测定吸 光度,波长选择 517 nm。按公式(2)计算 DPPH·清除率<sup>[32]</sup>:

DPPH ·清除率/%=
$$\frac{A_3 - (A_4 - A_5)}{A_3} \times 100\%$$
 (2)

式中: A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>和 A<sub>5</sub>分别为空白对照液、样品溶液与反应液混合液和样品溶液本底的吸光度。

(3)还原力测定

参考王兴等<sup>[32]</sup>的方法并稍做修改,反应体系为6 mL, 将样品溶液与 0.2 mol/L pH 6.6 的磷酸盐缓冲液、1% (m:V) 的铁氰化钾溶液以体积比 1:1:1 的比例混合均匀,将恒温 水浴锅调至 50 ℃,持续 20 min,然后加入 10% (m:V)的三 氯乙酸,混匀,冷却后离心、3000 r/min 离心 10 min,取上 清液 2 mL,加入 2 mL 蒸馏水和 0.4 mL 10% (m:V)三氯化 铁,混合均匀,室温静置 10 min,然后测定吸光度,波长 选择 700 nm<sup>[32]</sup>。 1.3.3 水解度和氨基酸组成影响

利用凯氏定氮法进行测定,参考谭敬仪等<sup>[33]</sup>的方法; 游离氨基态氮的含量测定参照 GB 5009.235—2016《食品 安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》中的酸度计法; 氨基酸含量参考李丝丝等<sup>[34]</sup>的方法。

1.3.4 数据处理

SPSS Statistics 软件进行显著性分析、单样本 T 检验 (n=3), P<0.05 表示具有显著性差异,用不同小写字母表示, 数据采用 GraphPad 软件作图,所有试验均平行 3 次。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 模拟胃肠消化对抗氧化活性的影响

2.1.1 模拟胃肠消化过程对·OH 清除率的影响

缢蛏模拟胃肠消化过程对·OH清除率的影响如图1所示, 整个消化过程中,胃消化阶段(1-4 h)和十二指肠(4~5 h)消化 阶段, OH 清除率显著上升,进入小肠消化后(5~10 h), OH 清除能力整体较胃蛋白酶(1~4 h)处理更加稳定,与马勇等 <sup>[16]</sup>的研究结果相符。说明缢蛏消化产生的肽在·OH 清除能 力方面具有一定的稳定性,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<sup>[34]</sup>。在整个消化阶段, 经胃蛋白酶及胰蛋白酶处理后的缢蛏·OH 清除率高于未经 蛋白酶处理的缢蛏·OH 清除率。综上,胃蛋白酶和胰蛋白 酶对缢蛏·OH 清除能力均有促进作用,但是对消化过程而 言,缢蛏模拟小肠消化较胃消化和十二指肠模拟消化 对·OH 清除能力的影响较小。



注: a~e: 不同小写字母表示具有显著性差异, P<0.05, 下同。 图 1 缢蛏模拟胃肠消化过程的·OH 清除率变化(n=3)

Fig.1 Changes of OH clearance rate of *Sinonovacula constricta* in simulated gastrointestinal digestion process (*n*=3)

2.1.2 模拟胃肠消化过程对 DPPH·清除率的影响
 缢蛏模拟胃肠消化过程对 DPPH·清除率的影响如图 2
 所示。在整个消化过程当中,用胃蛋白酶对样品进行消化过程中(1~4 h), DPPH·清除能力显著增强,用胰蛋白酶对样品

进行消化过程中(4~5 h), DPPH·清除能力显著增强, 进入小 肠消化后的前 2 h (5~7 h)显著下降, 可能是进入胰蛋白酶消 化初期, 在与胃蛋白酶共同作用下, 随着消化时间的延长, 对 DPPH·清除能力具有促进作用的多肽继续水解, 胰蛋白 酶处理后期(7~10 h), 这些多肽水解成氨基酸。相较未经两 种蛋白酶处理的缢蛏, 经胃蛋白酶和胰蛋白酶共同处理后 的消化产物的 DPPH·清除能力有所增强。综上, 胃蛋白酶和 胰蛋白酶可以增强 DPPH·清除能力。但是对于整个消化过 程而言, 胰蛋白酶对缢蛏 DPPH·清除能力的影响较大。





#### 2.1.3 模拟胃肠消化过程对还原力的影响

消化产生的多肽将反应体系中的 Fe<sup>3+</sup>还原为 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>的强吸收表现在 700 nm 处。还原力随着吸光值增大而 增强。如图 3 所示,在整个消化过程当中,1~4 h 为胃消化 阶段,还原力呈缓慢上升趋势,4~5 h 为十二指肠消化阶段, 还原能力显著增强,可能是胰蛋白酶作用的酶切位点产生 的多肽片段的还原能力较胃蛋白酶作用的酶切位点产生的 多肽片段强。5~10 h 为小肠消化阶段,在进入小肠消化阶 段初期(5~6 h),还原能力显著增强(P<0.05),进入小肠消 化后的第 2 h,还原能力无显著变化(P>0.05),这是由于酶 解产物的累积抑制酶促反应的进行。经胃蛋白酶和胰蛋白 酶处理后的缢蛏还原能力较未经蛋白酶处理的缢蛏还原能 力均有所升高。综上,消化过程中,胃蛋白酶和胰蛋白酶 均有助于提高消化产物还原能力,就整个消化过程而言, 胰蛋白酶对缢蛏还原能力的影响较胃蛋白酶对缢蛏还原能 力的影响大。



图 3 缢蛏模拟胃肠消化过程的还原力变化(n=3)

Fig.3 Changes of reducing power of *Sinonovacula constricta* in simulated gastrointestinal digestion process (n=3)

#### 2.2 模拟胃肠消化对水解度和氨基酸组成的影响

2.2.1 模拟胃肠消化过程对氨基态氮含量及水解度的影响 体外模拟消化过程中,水解度如图 4 所示,在整个消 化过程中, 缢蛏的水解度变化趋势与氨基酸态氮含量的变 化趋势呈现一致性, 在胃消化阶段, 氨基酸态氮的含量呈 上升趋势,水解度也随之上升。消化到达4h时,胃消化阶 段的氨基酸态氮含量达到最高,且水解度也达到最高;十 二指肠消化阶段(4~5 h), 氨基酸态氮含量及水解均显著升 高,多肽在这一阶段被进一步水解为氨基酸。进入小肠消 化阶段, 氨基酸态氮含量又呈现缓慢上升的趋势, 水解度 也随之缓慢上升,随着反应时间的延续,氨基酸态氮含量 和水解度变化趋于稳定,说明在进入小肠消化的后期,多 肽已基本分解为氨基酸,消化过程结束后,水解度达到 63.26%。缢蛏经胃肠模拟消化过程后释放出大量短肽,某 些短肽在胃消化结束时形成,进入肠消化后已很难被分解, 因此在小肠中被直接吸收,而有些较长的多肽片段在肠消 化阶段继续分解,最后被小肠吸收。从胃消化阶段到十二 指肠消化阶段水解度有明显的上升趋势,可能原因是胰蛋 白酶更有易于打断肽链,使其消化更快<sup>[35-36]</sup>。



#### 图 4 缢蛏模拟胃肠消化过程的氨基态氮(A)及水解度(B)变化(n=3)

Fig.4 Changes of amino nitrogen (A) and hydrolysis degree (B) of Sinonovacula constricta in simulated gastrointestinal digestion process (n=3)

#### 2.2.2 氨基酸含量分析

氨基酸是组成蛋白质的重要成分, 也是促进人体健 康的重要营养成分,因此氨基酸对于人体正常的生理功能 起着至关重要的作用。通过对氨基酸研究的不断深入,人 们发现抗氧化能力在许多氨基酸上都有所体现,其中包括 人体必需的一些氨基酸:同时也发现一些含有这些氨基酸 片段的小肽也具有较明显的抗氧化能力,毛小雨[37]发现经 胃肠连续消化,紫花芸豆蛋白水解产物具有较强的抗氧化 能力。缢蛏模拟胃肠消化前后游离氨基酸含量见表 1。缢 蛏蛋白含量丰富,消化之后,具有抗氧化特征的缬氨酸、 赖氨酸、组氨酸、精氨酸的含量均显著升高(P<0.05)。而 亮氨酸和酪氨酸在消化前未被检出,在经过胃消化和胃肠 消化后含量显著升高,可能是胃蛋白酶和胰蛋白酶水解缢 蛏蛋白,从而被释放出来。在胃肠消化后,所有的抗氧化 活性的氨基酸显著高于消化前(P<0.05)。几种呈味氨基酸 如谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸的含量均有显著升高 (P<0.05)。肠消化产物的抗氧化特征氨基酸含量比胃消化 产物的抗氧化特征氨基酸含量显著升高,肠消化促进抗氧 化特征氨基酸的生成进一步表明,多肽在肠消化阶段被水 解成抗氧化特征氨基酸。

before and after	gastionitestina	i simulation (n	-5, μg/ mg)
游离氨基酸	消化前	胃消化	胃肠消化
天冬氨酸(Asp)	-	16.3±0.62ª	$53.44{\pm}0.87^{\text{b}}$
苏氨酸(Thr)	$18.2{\pm}0.57^{a}$	$10.38{\pm}0.14^{\text{b}}$	48.56±0.45°
丝氨酸(Ser)	$36.3{\pm}0.75^{a}$	$57.81 \pm 0.33^{b}$	84.44±0.34°
谷氨酸(Glu)	$37.47{\pm}1.92^{a}$	$67.2{\pm}0.12^{b}$	182.17±0.36°
*脯氨酸(Pro)	$11.2{\pm}0.91^{\text{b}}$	$10.45{\pm}0.20^{a}$	76.13±0.24°
甘氨酸(Gly)	$8.57{\pm}0.17^{a}$	$42.74{\pm}0.18^{\text{b}}$	86.48±0.47°
丙氨酸(Ala)	38.51±2.42ª	$57.16{\pm}0.27^{\text{b}}$	188.1±0.14°
胱氨酸(Cys)	-	-	-
*缬氨酸(Val)	23.3±0.69ª	$72.93{\pm}0.2^{\text{b}}$	105.62±0.82°
甲硫氨酸(Met)	$6.8{\pm}0.58^{a}$	41.97±0.11 <sup>b</sup>	58.4±0.99°
异亮氨酸(Ile)	-	$6.28{\pm}0.25^{a}$	16.08±0.65 <sup>b</sup>
*亮氨酸(Leu)	-	7.3±0.41ª	$19.31{\pm}0.16^{b}$
*酪氨酸(Tyr)	-	$22.4{\pm}0.73^{a}$	112.18±0.20 <sup>b</sup>
苯丙氨酸(Phe)	6±0.12ª	$23.85{\pm}0.52^{\text{b}}$	57.23±0.29°
*赖氨酸(Lys)	$46.7{\pm}1.06^{a}$	$62.72{\pm}0.46^{\text{b}}$	114.82±0.16°
*组氨酸(His)	$6.7{\pm}0.05^{a}$	$32.36{\pm}0.35^{\text{b}}$	60.06±0.69°
*精氨酸(Arg)	42.31±0.64ª	$68.01{\pm}0.08^{\text{b}}$	118.02±0.37°
抗氧化氨基酸含量	$70.38{\pm}0.73^{\text{a}}$	$276.17{\pm}0.33^{\text{b}}$	546.14±0.68°
总游离氨基酸含量	311.79±0.52 <sup>a</sup>	$876.03{\pm}0.26^{\text{b}}$	1321.04±0.41°
抗氧化氨基酸 百分比/%	22.57 <sup>a</sup>	31.53 <sup>b</sup>	41.34°

注:不同小写字母表示具有显著性差异, P<0.05, \*代表抗氧化特征性氨基酸<sup>[38]</sup>; -表示未检测到。

#### 3 结 论

本研究考察了缢蛏模拟胃肠消化前后的·OH 清除率、 DPPH·清除率、还原能力、水解度及游离氨基酸含量的变 化,结果表明:

(1)·OH 清除率随着模拟胃肠消化时间的延长,呈先升 高后下降的趋势,经肠消化阶段产物·OH 清除率显著高于 胃消化阶段产物的·OH 清除率,且胃蛋白酶和胰蛋白酶处 理后的·OH 清除率均高于未经蛋白酶处理的·OH 清除率; DPPH·清除率随着模拟胃肠消化时间的延长,呈先升高后 下降的趋势,肠消化阶段产物的 DPPH·清除率略低于胃消 化阶段产物,且经两种蛋白酶处理后,DPPH·清除率略低于胃消 化阶段产物,且经两种蛋白酶处理后,DPPH·清除率均高于 未经蛋白酶处理;随着模拟胃肠消化试验不断继续,缢蛏还 原能力呈先升高后下降的趋势,经肠消化阶段后的产物还 原能力显著高于胃消化阶段后的还原能力,且胃蛋白酶和 胰蛋白酶处理后的还原能力均高于未经蛋白酶处理的还原 能力;综上,胃蛋白酶和胰蛋白酶对缢蛏抗氧化能力均有促 进作用,但是胰蛋白酶较胃蛋白酶的影响大,即消化产物的 抗氧化能力从十二指肠开始增强,由小肠消化阶段的后期 慢慢减弱;

(2)随着模拟胃肠消化实验的不断进行,水解度整体呈 升高的趋势,经肠消化后的水解度显著高于胃消化后的水 解度,且胃蛋白酶和胰蛋白酶处理后的水解度均高于未经 蛋白酶处理的水解度。经肠消化后的游离氨基酸的含量显著 高于胃消化后,且经胃、肠消化后的游离氨基酸均显著高于 消化前,具有抗氧化活性的氨基酸在胃消化后显著升高。综 上,水解度和氨基酸含量经肠、胃消化后较消化前均有增加, 其中肠消化阶段水解度和氨基酸含量更高。

#### 参考文献

 [1] 丁红兵,李浩宇,陈义华,等.高盐对缢蛏生长存活、Na~(+)/K~(+)-ATPase 活性及能量代谢相关指标的影响[J/OL].上海海洋大学学报:
 1-17. [2021-12-27]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2024. S.20210817.
 1644.002.html

DING HB, LI HY, CHEN YH, et al. Effects of high salinity on growth and survival, Na~(+)/K~(+)-ATPase activity and energy metabolism related indexes of razor clam *Sinonovacula constricta* [J/OL]. J Shanghai Ocean Univ: 1-17. [2021-12-27]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2024.S.202 10817.1644.002.html

- [2] 乔晓静, 张卫卫, 邵铱娜, 等. 缢蛏过氧化氢酶基因的克隆及其功能研究 [J/OL]. 水产学报: 1-12. [2021-12-27]. http://kns.cnki.net/kcms/ detail/31.1283.S.20210810.1702.006.html QIAO XJ, ZHANG WW, SHAO YN, *et al.* Characterization of a catalase gene from razor clam *Sinonovacula constricta* [J/OL]. J Fish China: 1-12. [2021-12-27]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20210810.1702. 006.html
- [3] 安贤惠. 几种缢蛏的营养性和健康性分析评价[J]. 海洋湖沼通报, 2005, (4): 99-103.

AN XH. Analysis and evaluation of the nutrition and healthiness in some

Sinonovacula constricta [J]. Trans Oceanol Limnol, 2005, (4): 99-103.

- [4] 夏保密,侯俊利,赵峰,等. 盐度对日本鳗鲡(Anguilla japonica)渗透压 调节的影响[J]. 生态学杂志, 2016, 35(8): 2182–2188.
  XIA BM, HOU JL, ZHAO F, et al. Effect of salinity on osmo regulation of Anguilla japonica [J]. Chin J Ecol, 2016, 35(8): 2182–2188.
- [5] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 中山大学出版社, 2011.
   LIN HR. Fish physiology [M]. Guangzhou: Sun Yat-sen University Press, 2011
- [6] 黄瑞, 艾春香, 林旭吟, 等. 福建长乐海域近江蛏营养成分分析与品质 评价[J]. 应用海洋学学报, 2014, 33(1): 96–104.
  HUANG R, AI CX, LIN XY, *et al.* Nutritional component analysis and quality evaluation of *Sinonovacula rivularis* from Changle sea area of Fujian [J]. J Appl Oceanogr, 2014, 33(1): 96–104.
- [7] 李太武,林叶,苏秀榕.不同群体缢蛏营养成分的多元性分析[J]. 食品科学,2008,29(11):548-551.

LI TW, LIN Y, SU XR. Multivariation analysis of nutrients of *Sinonovaculla constricta* Lamarck in different populations [J]. Food Sci, 2008, 29(11): 548–551.

[8] 赵艳景,胡虹,王颖. 缢蛏多糖的提取及抗氧化作用研究[J]. 水产科学,2010,29(2):91-94.

ZHAO YJ, HU H, WANG Y. Extraction of polysaccharides from razor clam *Sinonovacula constricta* and their antioxidant activity [J]. Fish Sci, 2010, 29(2): 91-94.

[9] 栾晓红.两种海蛏多糖的提取、分离和结构分析[D].青岛:中国海洋 大学,2015.

LUAN XH. Extraction, separation and structural characterization of polysaccharides from two species of Solenidae [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.

[10] 张惠婷. 缢蛏多肽的制备及其抗氧化性能[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.

ZHANG HT. Preparation of peptides with antioxidative from *Sinonovacula constricta* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2016.

[11] 韦婕妤. 热加工方式对羊肉制品蛋白质氧化及体外模拟消化性的影响 研究[D]. 成都:西南民族大学, 2019.

WEI JY. Effects of thermal processing on protein oxidation and digestive simulation of mutton products *in vitro* [D]. Chengdu: Southwest University for Nationalities, 2019.

- [12] 贺永明. 地衣芽孢杆菌在肉仔鸡模拟消化环境中的活力、代谢物及对 有害菌抑制的研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2004.
   HE YM. Study on the vitality, metabolites and inhibition of harmful bacteria of *Bacillus licheniformis* in the simulated digestive environment of broilers [D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2004.
- [13] 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. [2021-08-29]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210430.1550.024.html
  WANG BB, YU Z, LI Q, et al. Effects of simulated gastrointestinal digestion on antioxidant activity of sheepskin collagen peptides and its digestive protection [J/OL]. Food Sci: 1-15. [2021-08-29]. http://kns. cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210430.1550.024.html
- [14] 胡吕霖, 任思婕, 沈清, 等. 不同烹饪方式及体外模拟消化环境对鲟鱼

蛋白质氧化及消化性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 63-70.

HU LL, REN SJ, SHEN Q, *et al.* Effect of different cooking treatments and *in vitro* digestion on protein oxidation and digestibility of sturgeon fillets [J]. Food Sci, 2018, 39(20): 63–70.

[15] 邹睿,张凌晶,钟婵,等. 翡翠贻贝副肌球蛋白的特性及在模拟胃肠液中的消化[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 1–8. ZHOU R, ZHANG LJ, ZHONG C, et al. The characteristics of

paramyosin of emerald mussel and its digestion in simulated gastrointestinal juice [J]. Food Sci, 2019, 40(6): 1–8.

- [16] 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.
  MA Y, GAO LH, FENG XW, *et al.* Effect of simulated gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of oyster oligopeptides [J]. Food Mach, 2020, 36(11): 133–137.
- [17] AHMED NN, ZHU P, GOLDING M, et al. Salmon food matrix influences digestion and bioavailability of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids [J]. Food Funct, 2021, 12(14): 6588–6602.
- [18] SEONMIN L, KYUNG J, HAE IY, et al. Comparison of the in vitro protein digestibility of Protaetia brevitarsis larvae and beef loin before and after defatting [J]. Food Chem, 2021, 338: 128073.
- [19] 王谢祎, 翟宇鑫, 李倩, 等. 南酸枣在模拟消化过程中抗氧化活性及多 酚含量分析[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 7–11.
  WANG XY, ZHAI YX, LI Q, *et al.* Analysis of antioxidant activity and polyphenol content of *Choerospondias axillaris* in simulated digestion [J]. Food Sci, 2016, 37(11): 7–11.
- [20] 樊梓鸾,柳雅馨,杨蕾玉,等. 3 种浆果.藕复合果丹皮体外消化物抗氧 化研究[J].南京林业大学学报(自然科学版), 2018, 42(3): 86–92. FAN ZL, LIU YX, YANG LY, et al. Antioxidant study on the *in vitro* digestion of three kinds of berry-lotus root compound [J]. J Nanjing Forest Univ (Nat Sci Ed), 2018, 42(3): 86–92.
- [21] CINQ-MARS CD, HU C, KITTS DD, et al. Investigations into inhibitor type and mode, simulated gastrointestinal digestion, and cell transport of the angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptides in Pacific hake (*Merluccius productus*) fillet hydrolysate [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(2): 12–14.
- [22] 曹文红,秦小明,章超桦,等.中国毛虾酶解产物的分子量分布及 ACE 抑制活性[J]. 食品科技, 2007, (5): 145–148.
  CAO WH, QIN XM, ZHANG CH, *et al.* Molecular weight distribution and ace inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of Chinese hair shrimp [J]. Food Technol, 2007, (5): 145–148.
- [23] 阮晓慧, 韩军岐, 张润光, 等. 食源性生物活性肽制备工艺、功能特性及应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(6): 248–253.
  RUAN XH, HAN JQ, ZHANG RG, *et al.* Research progress in the preparation technology, functional properties and application of food-derived bioactive peptides [J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(6): 248–253.

[24] 陈晨, 贾才华, 赵思明, 等. 米发糕的体外模拟胃肠消化特性研究[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(11): 7–13.
CHEN C, JIA CH, ZHAO SM, *et al.* Study on *in vitro* simulated gastrointestinal digestion characteristics of mifa cake [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2018, 33(11): 7–13. [25] 陈责, 贾慧. 体外消化模型的研究进展[J]. 农产品加工, 2017, (9): 61-64, 68.

CHEN Z, JIA H. The advances of digestion simulation *in vitro* [J]. Farm Prod Process, 2017, (9): 61–64, 68.

- [26] 李占明, 俞玥, 梁奕, 等. 体外模拟消化过程中果胶对竹叶黄酮生物可及性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 43-49.
  LI ZM, YU Y, LIANG Y, *et al.* Effect of pectin addition on the bioaccessibility of four bamboo leaf flavonoids during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. Food Sci, 2020, 41(11): 43-49.
- [27] LAMBERTI G, CASCONE S, IANNACCONE M, et al. In vitro simulation of drug intestinal absorption [J]. Int J Pharmaceut, 2012, 439(1-2): 165.
- [28] MOLLY K, WOESTYNE MV, SMET ID, et al. Validation of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME) reactor using microorganism-associated activities [J]. Microb Ecol Health Dis, 2009, 7(7): 191–200.
- [29] HEYMICH ML, NIL L, HAHN D, et al. Antioxidative, antifungal and additive activity of the antimicrobial peptides leg1 and leg2 from chickpea [J]. Foods, 2021, 10(3): 585.
- [30] 杨留明,胡远辉,吕春霞,等.两种前处理对贮藏过程中缢蛏品质的研究[J].浙江万里学院学报,2021,34(2):92–99.
  YANG LM, HU YH, LV CX, *et al.* Study on the quality of *Sinonovacula constricta* during storage with two kinds of pretreatments [J]. J Zhejiang Wanli Univ, 2021, 34(2): 92–99.
- [31] 秦晓佩, 余筱洁, 杨华, 等. 菜籽饼粕蛋白模拟胃肠消化过程抗氧化研 究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(1): 21–26.
  QING XP, YU XJ, YANG H, *et al.* Study on antioxidant of rapeseed meal protein simulating gastrointestinal digestion [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2016, 31(1): 21–26.
- [32] 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 X, HUANG ZM, WANG L, *et al.* Study on antioxidant activity and composition of tartary buckwheat protein simulated digestion products
  [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2009, 9(6): 10–15.
- [33] 谭敬仪, 曹志勇, 黄伟, 等. 利用酸法水解豆粕小肽工艺研究[J]. 饲料 工业, 2019, 40(20): 40-43.

TAN JY, CAO ZY, HUANG W, et al. Study on small peptide production technology of soybean meal hydrolyzed by acid [J]. Feed Ind, 2019, 40(20): 40–43.

[34] 李丝丝,曹少谦,孟珂,等. 鱼粉加工压榨液经酶解发酵后的风味变化
 [J]. 核农学报, 2020, 34(4): 770–778.
 LI SS, CAO SQ, MENG K, *et al.* Flavor changes of fish meal processing

squeezed liquid after enzymatic hydrolysis and fermentation [J]. J Nucl Agric, 2020, 34(4): 770–778.

[35] 张韦唯.发酵菜粕抗氧化肽的提取分离、模拟消化吸收和抗衰老作用研究[D].镇江:江苏大学,2017.

ZHANG WW. Study on extraction, simulated digestion and absorption and anti-aging effect of antioxidant peptides from fermented rapeseed meal [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017.

[36] 李妍花.鸡爪皮胶原蛋白提取、自组装和消化特性研究[D]. 镇江: 江 苏大学, 2017.

LI YH. Behavior of self-assembled and simulated digestion of isolated collagen from the chicken feet skin [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017.

[37] 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.

MAO XY. Effects of simulated digestion on protein structure and antioxidant activity of kidney bean *in vitro* [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2020.

[38] 席丽琴,杨君娜,许随根,等.西式发酵火腿粗肽的制备及抗氧化活性 和氨基酸组成分析[J].肉类研究,2022,36(1):1-6. XI LQ, YANG JN, XU SG, *et al.* Preparation, antioxidant activity and amino acid composition analysis of crude peptides from western-style fermented ham [J]. Meat Res, 2022, 36(1): 1-6.

(责任编辑: 郑 丽 于梦娇)

### 作者简介

云一卿, 主要研究方向为食品科学。 E-mail: 1261518302@qq.com



杨 华,博士,研究员,主要研究方向 为食品(水产品)加工保鲜。 E-mail: yanghua@zwu.edu.cn