

泥鳅蛋白多肽的抗氧化活性

吕新河¹, 朱云龙^{*1,2}

(1. 南京旅游职业学院 烹饪与营养学院, 江苏 南京 211100; 2. 扬州大学 旅游烹饪学院·食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要: 为进一步促进泥鳅蛋白及其加工食品的开发, 通过体内以及体外抗氧化实验, 对泥鳅蛋白多肽抗氧化能力进行了研究。实验表明, 泥鳅蛋白多肽在体外具有一定的抗氧化能力。体内抗氧化实验中, 多肽高剂量组中血清、肝脏、心脏的 SOD 活性与模型对照组相比分别提升 36.6%、28.1%、22.3%, GSH-Px 活性分别提升 43.2%、132.2%、92.5%, MDA 水平分别降低了 16.2%、18.3%、26.2%。实验说明, 泥鳅蛋白多肽具有提高小鼠血清、肝脏以及心脏组织 SOD 活性以及 GSH-Px 活性, 同时能够降低组织 MDA 水平的作用。肝脏组织切片表明泥鳅蛋白多肽对降低小鼠肝脏因氧化应激而产生的损伤具有一定效果。实验结果说明泥鳅蛋白多肽一定程度上可抑制氧化造成的损伤, 并提升机体的抗氧化能力, 对泥鳅蛋白及其深加工产品开发提供了参考。

关键词: 泥鳅; 多肽; 抗氧化活性

中图分类号: TQ 464.7 文章编号: 1673-1689(2022)01-0022-06 DOI: 10.3969/j.issn.1673-1689.2022.01.003

Study on Antioxidant Activity of Loach Protein Polypeptide

LYU Xinhe¹, ZHU Yunlong^{*1,2}

(1. College of Cooking and Nutrition, Nanjing Institute of Tourism & Hospitality, Nanjing 211100, China; 2. School of Tourism and Cuisine/School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: In this paper, the antioxidant capacity of loach protein polypeptide was studied by antioxidant experiments. Experiments showed that loach protein polypeptide in vitro has a certain ability to antioxidant. In the antioxidant experiment *in vivo*, SOD activity in high-dose group was increased by 36.6%, 28.1% and 22.3%, GSH-Px activity was increased by 43.2%, 132.2% and 92.5%, respectively, while MDA level was decreased by 16.2%, 18.3% and 26.2%, respectively. The experiment showed that loach protein polypeptide could improve the activities of SOD and GSH-Px in serum, liver and heart tissue of mice, and reduce the level of MDA in tissue. Liver tissue section showed that loach protein polypeptide had a certain effect on mice liver from oxidative stress damage. The experimental results showed that loach protein polypeptide could inhibit the damage caused by oxidation to a certain extent, and improve the antioxidant capacity of the body. The results provided reference for loach protein and its deep processing products.

Keywords: loach, polypeptide, antioxidant activity

收稿日期: 2021-07-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC1300200); 江苏省高校面上项目(18KJB350001); 烹饪与营养江苏省文化和旅游重点实验室建设项目。

作者简介: 吕新河(1967—), 男, 硕士, 副教授, 主要从事烹调工艺与营养、烹饪教学和教学管理研究。E-mail: 1143769252@qq.com

*通信作者: 朱云龙(1962—), 男, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事烹饪科学研究。E-mail: 498051574@qq.com

泥鳅作为我国极具特色的淡水鱼类,具有重要的经济以及研究价值^[1]。泥鳅适应环境能力强且营养丰富^[2-3],近年来得到国内外学者的广泛关注以及挖掘研究。目前市场上关于泥鳅蛋白产品的开发研究大多聚焦于泥鳅相关的粗加工品,均未能将泥鳅体内的活性成分深度运用^[4-6]。在上述背景下,作者以泥鳅为原料,提取蛋白多肽并进行体外抗氧化活性以及体内抗氧化活性研究,为泥鳅蛋白的深入研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

泥鳅:购自南京市众彩批发市场;60只5周龄的(20.0±2.0)g SPF级雌性小鼠:购自常州卡文斯实验动物有限公司。

碱性蛋白酶(酶活为120 000 U/g)、GSH-Px试剂盒、MDA试剂盒、SOD试剂盒:购自南京建成公司;其余均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FA3204电子分析天平:上海邦亿精密量仪有限公司产品;723N可见分光光度计:上海佑科仪器有限公司产品;ULT1386-3-V超低温冰箱:美国REVCO公司产品;ALPHA 1-2LD PLUS冻干机:德国Marin Christ公司产品;L4-6KR低温离心机:深圳三利仪器有限公司产品;LM纤维超滤装置:博纳机械设备有限公司产品;高压灭菌锅:山东博科有限公司产品;SYC恒温水浴锅:上海耀特仪器有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 泥鳅蛋白多肽的制备 参考高丹丹等^[7]的制备方法,并稍做修改。称取固定质量的样本,只取样本的肌肉组织进行均质处理,按料液质量体积比1 g:40 mL与去离子水混合,混合均匀后,用1 mol/L的NaOH将pH调节至10.0,加入碱性蛋白酶反应(加酶量1 500 U/g)2 h,沸水浴灭酶8 min,水解产物在6 000 r/min的条件下离心15 min,取上清液并通过可截留相对分子质量为10 000的平板膜,收集相对分子质量小于10 000的酶解液,冷冻干燥24 h后获得泥鳅蛋白多肽。

1.3.2 体外抗氧化活性研究

1) 羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除能力的测定 羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除能力的测定参照李亚会等^[8]方法,并在

此基础上稍做改进。将制得的泥鳅蛋白多肽用蒸馏水调制为不同质量浓度蛋白多肽溶液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL)。取1.0 mL 9.0 mmol/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶液、1.0 mL 9.0 mmol/L水杨酸-乙醇、1 mL泥鳅蛋白多肽,最后加入1 mL 8.8 mmol/L H_2O_2 ,37 °C的条件下水浴加热0.5 h,测定510 nm处的吸光度,记为 A_1 ;以蒸馏水替换过氧化氢以及泥鳅蛋白多肽溶液(受测溶液),重复以上实验,测得吸光度分别记为 A_2 以及 A_0 。按照式(1)计算羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除率 I_1 ,以VC作为对照,评价其消除能力,实验重复3次,并对结果进行统计分析。

$$I_1(\%) = (A_0 - (A_1 - A_2)) / A_0 \times 100 \quad (1)$$

2) ABTS自由基清除能力的测定 ABTS自由基清除能力的测定参照Yap等^[9]方法,并在此基础上稍做改进。实验步骤如下:将制得的泥鳅蛋白多肽用蒸馏水调制为不同质量浓度溶液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL)。取0.2 mL 7.4 mmol/L ABTS和0.2 mL 2.6 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$,室温避光环境中混合静置15 h。取磷酸缓冲溶液(pH 7.4)将混合静置试剂稀释50倍作为ABTS工作液。将0.2 mL体积分数95%乙醇溶液与0.8 mL ABTS工作液混合静置6 min,在734 nm下测定吸光度,记作 A_{10} ;用受测溶液替换体积分数95%乙醇溶液,重复以上实验,记为 A 。按照式(2)计算ABTS自由基清除率 I_2 ,以VC作为对照,实验重复3次,并对结果进行统计分析。

$$I_2(\%) = (A_{10} - A) / A_{10} \times 100 \quad (2)$$

3) DPPH自由基(DPPH \cdot)清除能力的测定 DPPH自由基(DPPH \cdot)清除能力的测定参考刘沙等^[10]的方法,并稍做修改。实验步骤如下:将制得的泥鳅蛋白多肽用蒸馏水调制为不同质量浓度溶液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL)。量取2.0 mL调配好的泥鳅蛋白多肽溶液与2.0 mL DPPH \cdot 乙醇溶液混合,常温下反应0.5 h,测定517 nm的吸光度,记作 A_{20} 。取2.0 mL DPPH \cdot 乙醇溶液与2.0 mL无水乙醇重复以上步骤,测定吸光度记作 A_c 。取2.0 mL泥鳅蛋白多肽溶液与2.0 mL无水乙醇溶液重复以上步骤,测定值记作 A_{30} 。按照式(3)计算DPPH自由基(DPPH \cdot)清除率 I_3 ,以VC作为对照,实验重复3次,并对结果进行统计分析。

$$I_3(\%) = (1 - (A_{20} - A_{30}) / A_c) \times 100 \quad (3)$$

1.3.3 体内抗氧化活性研究

1) 动物实验设计 动物实验设计参考文献

[11~13]实验方法,并作修改。选取 60 只 5 周龄的 SPF 级雌性小鼠,体质量为 (20.0 ± 2.0) g,在温度 $20 \sim 22$ °C、湿度 $40\% \sim 60\%$ 、明暗交替喂养 12 h 的条件下进行喂养,适应性喂养 7 d 后,将实验所选取的 60 只小鼠随机分为以下 6 组:空白对照组、模型对照组、多肽高剂量组、多肽中剂量组、多肽低剂量组、VC 对照组。空白对照组仅每天皮下注射生理盐水,其余各组小鼠每天颈部皮下注射 *D*-半乳糖(200 mg/kg);空白对照组和模型对照组每天灌胃 0.2 mL 0.9 g/dL 生理盐水;在每天灌胃 0.2 mL 0.9 g/dL 生理盐水的基础上,分别用质量分数为 200、400、800 mg/kg 的泥鳅蛋白多肽进行灌喂小鼠,分别作为多肽低剂量组、多肽中剂量组和多肽高剂量组;VC 对照组每天按 300 mg/kg 剂量的 VC 进行灌喂。连续注射、灌胃 6 周,每周对小鼠进行一次体质量称量,以调整注射量以及灌胃量。

2) 样品采集 参考文献[14~16]实验方法,并作修改。实验期结束后,禁食不禁水 12 h 后对小鼠进行眼球取血,在 4 °C、 $3\ 500$ r/min 条件下离心 10 min 用于制备血清。对小鼠进行断颈处死,取出小鼠肝脏以及心脏,清洗干净后,称取适量肝脏组织及心脏组织加入生理盐水,快速制备质量浓度为 10 g/mL 的组织匀浆,在 4 °C、 $3\ 500$ r/min 的条件下离心 10 min 获取组织上清液。

3) 生化指标的测定 小鼠的血清、肝脏及心脏中的 SOD 活性、MDA 水平以及 GSH-Px 活性测定参考试剂盒说明书。

4) 肝脏 HE 染色切片 参照文献[17~20]对动物组织切片的处理方法,小鼠肝脏组织取样后放入固定液中完成固定,肝脏 HE 染色切片制作由扬州大学医学院完成。

1.4 数据处理

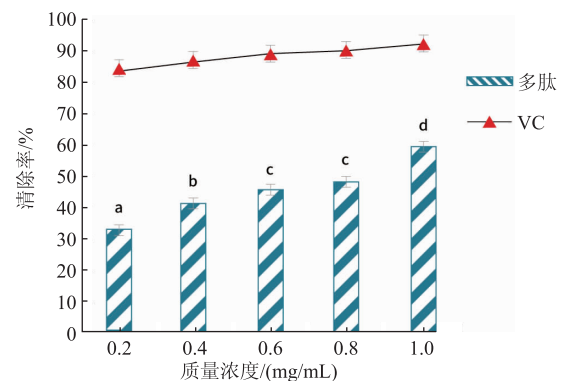
本实验中检测数据以均数 \pm 标准差表示,数据分析运用 SPSS 19.0 软件。运用 Microsoft Excel 2003 软件绘制统计图。

2 结果与分析

2.1 泥鳅蛋白多肽的体外抗氧化活性研究

2.1.1 泥鳅蛋白多肽对·OH 清除能力的影响 大量实验证据表明,体外·OH 清除能力的强弱能有效反映抗氧化物抗氧化能力^[21-22]。以 VC 作为对照组,测定不同质量浓度受测溶液对·OH 的清除效果,结

果见图 1。当受测溶液质量浓度在 0.2 mg/mL 时,泥鳅蛋白多肽·OH 的清除率为 33.2%,与 VC 的·OH 的清除率相比差异性显著;当受测溶液质量浓度高于 1.0 mg/mL 时,泥鳅蛋白多肽的·OH 清除率与 0.2 mg/mL 受测溶液的清除率相比显著提升,达到 59.6%,与同质量浓度的 VC 相比,达到了其清除率的 64.4%。这说明泥鳅蛋白多肽具有一定的清除·OH 的能力。

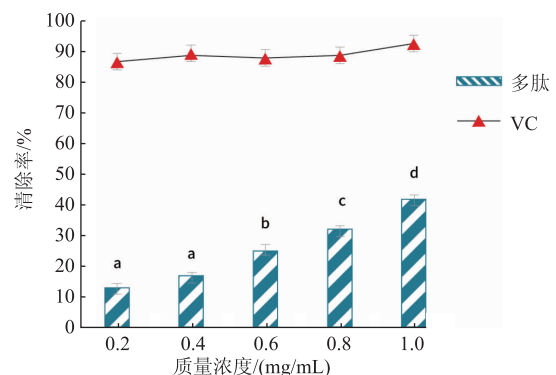


不同字母表示泥鳅蛋白多肽各质量浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。

图 1 泥鳅蛋白多肽对·OH 清除能力的影响

Fig. 1 Scavenging effect of the antioxidant activity of the polypeptide of the loach extract on·OH

2.1.2 泥鳅蛋白多肽对 ABTS 自由基清除能力的影响 清除 ABTS 自由基的能力是总抗氧化能力的重要体现^[23-25]。以 VC 作为对照组,测定不同质量浓度受测溶液对 ABTS 自由基的清除能力,结果见图 2。当受测溶液质量浓度低于 0.4 mg/mL 时,对 ABTS 自由基清除率较低且清除率的提升不明显,其中质量浓



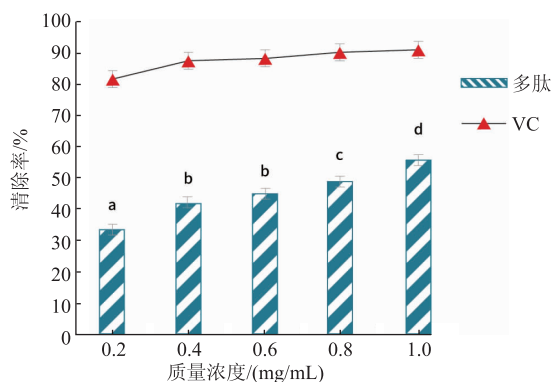
不同字母表示泥鳅多肽各质量浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。

图 2 泥鳅蛋白多肽对 ABTS 自由基清除能力的影响

Fig. 2 Scavenging effect of the antioxidant activity of polypeptide of the loach extract on ABTS

度在 0.4 mg/mL 时对 ABTS 自由基的清除率为 16.3%;当受测溶液质量浓度为 0.6 mg/mL 时,对 ABTS 自由基的清除率出现显著提高,清除率达到 24.9%;当受测溶液质量浓度达到 1.0 mg/mL 时,对 ABTS 自由基的清除率为 41.6%。这表明当质量浓度在 0.2~1.0 mg/mL 时,泥鳅蛋白多肽对 ABTS 自由基的清除能力与 VC 相比仍然有限。

2.1.3 泥鳅蛋白多肽对 DPPH·清除能力的影响
DPPH·清除率是衡量抗氧化物质体外抗氧化能力最为重要的指标之一^[26-28]。将 VC 作为对照组,测定不同质量浓度受测溶液对 DPPH·的清除效果,结果见图 3。VC 的清除率在质量浓度达 0.4 mg/mL 时,已经开始趋于稳定,并接近于最大清除率;当质量浓度处于 1.0 mg/mL 时 VC 的清除率高达 91.1%,这说明 VC 的 DPPH·清除率已基本趋于稳定并接近清除率的极限。当受测溶液的质量浓度低于 0.2 mg/mL 时,DPPH·清除率相对比较低;当达到 0.4 mg/mL 及以上质量浓度时,受测溶液的 DPPH·清除率开始呈现出显著变化;当受测溶液质量浓度达到 1.0 mg/mL 时,DPPH·清除率明显增高(清除率为 55.6%),并出现显著差异。虽然受测溶液与 VC 相比 DPPH·清除率具有显著的差异性,但实验结果表明泥鳅蛋白多肽仍具有一定的清除 DPPH·的能力。



不同字母表示泥鳅蛋白多肽各质量浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。

图 3 泥鳅蛋白多肽对 DPPH·清除率的影响

Fig. 3 Scavenging effect of the antioxidant activity of the polypeptide of the loach extract on DPPH·

2.2 泥鳅蛋白多肽体内抗氧化活性分析

2.2.1 泥鳅蛋白多肽对小鼠血清的影响 由表 1 可得,小鼠血清的测定中空白对照组与模型对照组各指标均存在极显著差异。SOD 活性的测定中,模

型对照组与泥鳅蛋白多肽低剂量组之间具有明显差异($P < 0.05$),其中与模型对照组相比,多肽低剂量组 SOD 活性在数值上提升了 19.2%;而多肽中剂量组与高剂量组之间的差异并不明显,在数值与模型对照组相比上分别提升了 31.8%和 36.6%,这可能是由于泥鳅蛋白多肽对小鼠血清的影响已经基本达到了最大化。结果表明泥鳅蛋白多肽对小鼠血清 SOD 活性有影响,并且在 800 mg/(kg·d)时接近最佳效果。MDA 活性测定中,对比模型对照组,泥鳅蛋白多肽中、高剂量组均能够有效抑制小鼠血清脂质过氧化物的发生,其中泥鳅多肽中剂量组对比模型对照组 MDA 降低了 11.4%,具有显著降低效果;泥鳅多肽高剂量组则降低了 16.2%,具有极显著降低效果。GSH-Px 活性的测定中,泥鳅多肽低、中、高剂量组的活性均显著高于模型对照组($P < 0.05$),随着剂量的增加,活性显著增强。

表 1 泥鳅蛋白多肽对小鼠血清的影响

Table 1 Loach polypeptide extracts on mice

组别	SOD 活性/(U/mL)	MDA 浓度/(nmol/mL)	GSH-Px 活性/(U/mL)
空白对照组	109.98±2.57**	4.53±0.28**	1 698.12±77.42**
模型对照组	70.12±2.18	7.02±0.33	1 041.32±52.28
多肽低剂量组	83.56±2.02*	6.58±0.18	1 218.37±66.11*
多肽中剂量组	92.38±2.91**	6.22±0.19*	1 317.82±71.18*
多肽高剂量组	95.76±3.69**	5.88±0.31**	1 491.61±76.25**
VC 对照组	108.88±4.02**	5.28±0.19**	1 688.73±68.22**

注:*说明与模型对照组有显著差异($P < 0.05$),**说明与模型对照组有极显著差异($P < 0.01$)。

2.2.2 泥鳅蛋白多肽对小鼠肝脏的影响 受测小鼠肝脏中 SOD 活性、MDA 水平以及 GSH-Px 活性相关结果见表 2。肝脏的测定结果中空白对照组与模型对照组各指标均存在显著差异。SOD 活性测定中,模型对照组与多肽低剂量组之间不存在显著差异($P > 0.05$)。在多肽中、高剂量组中可看出随着泥鳅蛋白多肽质量分数的升高 SOD 活性出现明显提升($P < 0.01$),其中多肽高剂量组与模型对照组相比数值提升了 28.1%,说明泥鳅蛋白多肽能够明显提升小鼠肝脏中 SOD 活性,但剂量要达到一定数值。MDA 活性测定中,泥鳅蛋白多肽的中、高剂量组数值均明显低于模型对照组,其中多肽高剂量组有效降低了 18.3%,说明泥鳅蛋白多肽能够显著的抑制肝脏组织脂质过氧化物的发生。与模型对照组相比各

剂量组的多肽均能有效提升小鼠肝脏 GSH-Px 活性,与模型对照组相比较,多肽低、中、高 3 个剂量组分别提升了 40.8%、88.9%、132.2%,并且有很好的剂量效应关系。实验结果中的泥鳅蛋白多肽高剂量组能够显著提升 GSH-Px 活性。

表 2 泥鳅蛋白多肽对小鼠肝脏的影响

Table 2 Loach polypeptide on mice with the effect in the liver

组别	SOD 活性/ (U/mg)	MDA 质量 摩尔浓度/ (nmol/mg)	GSH-Px 活性/ (U/mg)
空白对照组	210.02±5.82**	6.12±0.28**	63.41±4.62**
模型对照组	138.28±3.92	8.36±0.31	22.67±3.03
多肽低剂量组	141.37±4.99	8.05±0.33	31.93±3.06*
多肽中剂量组	158.24±3.92**	7.65±0.22*	42.83±2.86**
多肽高剂量组	177.13±6.66**	6.83±0.28**	52.64±4.33**
VC 对照组	200.33±3.82**	6.11±0.35**	57.33±3.32**

注:* 说明与模型对照组有显著差异 ($P<0.05$),** 说明与模型对照组有极显著差异 ($P<0.01$);测定结果均以蛋白质质量计。

2.2.3 泥鳅蛋白多肽对小鼠心脏的影响 受测小鼠心脏中 SOD 活性、MDA 水平以及 GSH-Px 活性相关结果见表 3。小鼠心脏的测定结果中空白对照组与模型对照组的各指标均存在显著差异。SOD 活性的测定中,与模型对照组相比,多肽高、中、低 3 个剂量组均能不同程度地提升 SOD 活性(分别提升 22.3%、12.5%、7.5%),其中多肽中、高剂量组能极显著提高小鼠心脏组织 SOD 活性。模型对照组小鼠心脏的 MDA 水平高于多肽中、高剂量组,多肽中、高剂量组对比模型对照组在 MDA 水平上分别有效降

低了 21.1%以及 26.2%,这表明泥鳅蛋白多肽能够在一定程度上减弱心脏组织的脂质过氧化反应带来的致衰效果。GSH-Px 活性的测定中,从多肽低剂量组开始与模型对照组之间呈现出上升趋势,多肽低、中、高 3 个不同剂量组数值上分别提升了 24.6%、66.9%、92.5%,这表明多肽中、高剂量组能够有效提升小鼠心脏 GSH-Px 活性。

表 3 泥鳅蛋白多肽对小鼠心脏的影响

Table 3 Loach polypeptide on mice with the effect in the heart

组别	SOD 活性/ (U/mg)	MDA 质量 摩尔浓度/ (nmol/mg)	GSH-Px 活性/ (U/mg)
空白对照组	231.66±4.97**	4.41±0.26**	42.31±5.72**
模型对照组	151.98±7.08	6.82±0.18	15.11±2.12
多肽低剂量组	163.32±6.21*	5.98±0.12	18.83±3.06
多肽中剂量组	171.02±5.57**	5.38±0.19*	25.22±2.17*
多肽高剂量组	185.81±6.26**	5.03±0.21**	29.09±4.24**
VC 对照组	198.82±7.43**	4.81±0.29**	38.22±3.18**

注:* 说明与模型对照组有显著差异 ($P<0.05$),** 说明与模型对照组有极显著差异 ($P<0.01$);测定结果均以蛋白质质量计。

2.2.4 泥鳅蛋白多肽对小鼠肝脏组织结构的影响 小鼠肝脏组织染色切片(HE 染色,200×)如图 4 所示。由图可见,空白对照组中的肝脏细胞肝索排列有序且肝窦大小正常,细胞凋亡情况不明显。模型对照组中肝窦大小出现异常情况,肝索排列混乱,其中出现了明显的细胞凋亡现象。不同剂量的泥鳅蛋白多肽组与模型对照组比较可以看出,肝窦扩大的情况趋于减少,肝索随着剂量的增加趋于正常,

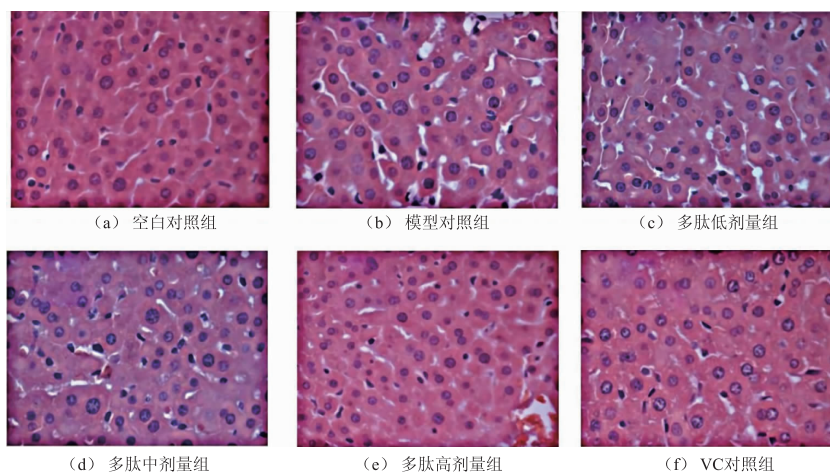


图 4 小鼠肝脏组织切片

Fig. 4 Histopathology of liver

细胞凋亡情况有所缓解。这再次表明泥鳅蛋白多肽对减少肝脏因氧化应激而产生的损伤具有一定的作用。

3 结 语

实验表明,当泥鳅蛋白多肽质量浓度达到 1.0 mg/mL 时,·OH、ABTS 自由基和 DPPH·清除率分别达到了 59.6%、41.6%以及 55.6%。这说明泥鳅蛋白多肽在体外具有有效的清除·OH、ABTS 自由基以及 DPPH·的能力。体内抗氧化实验中,多肽高剂量

组中血清、肝脏、心脏的 SOD 活性与模型对照组相比分别提升 36.6%、28.1%以及 22.3%,GSH-Px 活性分别提升 43.2%、132.2%以及 92.5%,MDA 水平分别降低了 16.2%、18.3%以及 26.2%。实验说明,泥鳅蛋白多肽具有提高小鼠血清、肝脏以及心脏组织 SOD 活性和 GSH-Px 活性,同时能够抑制小鼠 MDA 水平的作用。肝脏组织切片表明泥鳅蛋白多肽对小鼠肝脏免受因氧化应激而产生的损伤具有一定效果。本实验结果对泥鳅蛋白多肽以及其深加工产品提供了参考。

参考文献:

- [1] 王梦杰,王海华,陈建华. 泥鳅营养成分和营养需求研究进展[J]. 江西水产科技,2018(6):10-13.
- [2] 李艳华,胡佳,冉光强,等. 泥鳅主要养殖模式及其新形势下产业发展趋势探讨[J]. 科学养鱼,2020(1):4-6.
- [3] 郭霄旭,姜启兴,陈晓东,等. 鳊鱼与泥鳅营养成分分析[J]. 轻工学报,2017,32(1):13-20.
- [4] 党晓妍,王茵,吴成业,等. 泥鳅高值化开发利用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2017,8(1):20-26.
- [5] 周美玉,韩财安,李达,等. 江西省两地野生泥鳅营养成分分析[J]. 安徽农学通报,2021,27(19):77-79.
- [6] 王玉,时月,凌去非,等. 泥鳅粉及其加工副产品的营养学评价[J]. 水产养殖,2012,33(4):20-24.
- [7] 高丹丹,程浩,马忠仁,等. 泥鳅蛋白抗氧化肽的 Plastein 反应修饰研究[J]. 浙江农业学报,2018,30(8):1312-1320.
- [8] 李亚会,李积华,吉宏武,等. 远东拟沙丁鱼抗氧化肽的分离纯化及结构解析[J]. 中国食品学报,2021,21(2):229-238.
- [9] YAP P, GAN C Y. Multifunctional tyrosinase inhibitor peptides with copper chelating, UV-absorption and antioxidant activities: kinetic and docking studies[J]. *Foods*, 2021, 10(3):33-39.
- [10] 刘沙,肖建辉,涂瑾,等. 小麦肽协同有机酸对花生红衣原花青素抗氧化稳定性的影响[J]. 中国油脂,2020,45(9):12-16.
- [11] 杨珊珊,刘会平,张璐,等. 蛋清多肽体内外抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技,2019,40(22):40-43.
- [12] 刘丹. 秋刀鱼蛋白抗氧化肽的分离纯化及其抗疲劳功效研究[D]. 广州:华南理工大学,2015.
- [13] 李珍. 苹果皮渣多酚提取、纯化及抗氧化活性研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014.
- [14] 张翀. 大黄色蛋白源抗氧化肽的制备、性质及抗氧化机理研究[D]. 福州:福建农林大学,2016.
- [15] 王雪芹. 鲑鱼多肽的抗氧化活性与抗疲劳作用研究[D]. 青岛:中国科学院海洋研究所,2014.
- [16] 陈日春. 鲑鱼鱼鳞胶原蛋白肽的制备及其抗氧化活性的研究[D]. 福州:福建农林大学,2013.
- [17] 曲长庆,邹伟,张叶军. 一种制作高质量动物组织石蜡切片的方法[J]. 实验室科学,2018,21(2):75-78.
- [18] 苗中秋. 动物石蜡切片制作常见问题及改进措施[J]. 黑龙江畜牧兽医,2013(20):41-42.
- [19] 柏美玲,宋昱,林群凡,等. 实验动物肝组织石蜡切片制作中易发问题探讨[J]. 中国现代药物应用,2012,6(20):121-122.
- [20] 何书海,陈宏智. 一种快捷安全的动物病理组织石蜡切片制作技术[J]. 中国兽医杂志,2012,48(1):15-17.
- [21] 潘继生,邓家云,张棋翔,等. 羟基自由基高级氧化技术应用进展综述[J]. 广东工业大学学报,2019,36(2):70-77.
- [22] 戴晓红. DNA 分子中碱基甲基化及羟基化损伤的理论研究[D]. 桂林:广西师范大学,2008.
- [23] 梁红敏,任继波,李彦奎,等. 改良的 DPPH 与 ABTS 自由基法评价不同葡萄籽油抗氧化能力[J]. 中国粮油学报,2018,33(1):85-91.
- [24] 邹焯. 猪脑多肽的制备、分离及其生物活性研究[D]. 镇江:江苏大学,2015.
- [25] 蔡俊,陈季旺,王茹,等. 多肽体外抗氧化活性测定方法的比较[J]. 食品科学,2016,37(11):52-57.
- [26] LIU D D, GUO Y T, WU P, et al. The necessity of walnut proteolysis based on evaluation after *in vitro* simulated digestion, ACE inhibition and DPPH radical-scavenging activities[J]. *Food Chemistry*, 2020, 311:1-9.
- [27] SIVA S, LI C Z, CUI H Y, et al. Encapsulation of essential oil components with methyl- β -cyclodextrin using ultrasonication: solubility, characterization, DPPH and antibacterial assay[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020, 64:42-56.
- [28] MEZA A, ROJAS P, CELY-VELOZA W, et al. Variation of isoflavone content and DPPH· scavenging capacity of phyto-hormone-treated seedlings after *in vitro* germination of cape broom (*Genista monspessulana*) [J]. *South African Journal of Botany*, 2020, 130:64-74.