

禽蛋蛋白质功能成分在抗氧化方面的研究进展

佟 平¹, 臧 凤^{1,2}, 陈红兵^{1,3}, 高金燕^{*2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室,南昌大学,江西 南昌 330047;2. 南昌大学 食品学院,江西 南昌 330047;
3. 南昌大学 中德联合研究院,江西 南昌 330047)

摘要:我国是禽蛋生产大国,禽蛋物美价廉且营养丰富,深受人们喜爱。目前在禽蛋蛋白质及衍生物中均发现有抗氧化活性物质。因此,作者就禽蛋蛋白质功能成分在抗氧化方面的研究进展进行汇总,总结了抗氧化研究的各种模型,包括体外化学模型、细胞模型、大鼠/小鼠模型和秀丽隐杆线虫模型,对研究趋势和应用前景进行了展望,以期后续禽蛋源生物活性物质的研究和开发应用提供参考。

关键词:禽蛋;蛋白质;功能成分;抗氧化

中图分类号:TS 253 文章编号:1673-1689(2023)04-0016-08 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.04.002

A Comprehensive Review on Antioxidant Activity of Functional Ingredients Derived from Egg Proteins

TONG Ping¹, ZANG Feng^{1,2}, CHEN Hongbing^{1,3}, GAO Jinyan^{*2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 2. College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 3. Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: China is a large country in the production of eggs. Eggs are very popular because they are cheap, high in quality and nutritious. Antioxidant active substances have been found in egg protein and protein derivatives. Therefore, in this review, the research progress on the antioxidant activity of functional components derived from egg protein and the corresponding product development were introduced, and the various models used to study the antioxidant activity of egg components were summarized, including *in vitro* chemical models, cell models, rat/mouse models and *caenorhabditis elegans* models. The future research trend and practical application were prospected to provide a reference for the research and development of bioactive substances from egg sources.

Keywords: egg, protein, functional ingredients, antioxidant

氧化应激是自由基引起的氧化与抗氧化失衡的负面反应,是衰老和多种疾病的导火索。氧化应激会引发、伴随并促进多种与神经系统有关的疾

病^[1]。已有研究表明,氧化损伤在神经元丢失和老年病进展中起着关键作用^[2]。氧化应激还被认为是在动脉粥样硬化、心力衰竭、心律失常、缺血再灌注损

收稿日期:2021-08-30

基金项目:国家自然科学基金项目(32072339)。

作者简介:佟平(1984—),女,博士,研究员,硕士研究生导师,主要从事食品营养与安全研究。E-mail:tongping@ncu.edu.cn

*通信作者:高金燕(1967—),女,硕士,教授,硕士研究生导师,主要从事食品营养与安全研究。E-mail:gaojy2013@ncu.edu.cn

伤等多种心血管疾病的发生发展中起重要作用^[3]。此外,氧化性 DNA 损伤是导致癌症发生的刺激因素之一,活性氧通过刺激肿瘤发生并支持癌细胞的转化、增殖,由氧化应激决定的染色体异常和癌基因激活可以推动和促进癌症的发生。清除体内积累的自由基,抑制自由基的产生,是减少氧化应激发生的有效途径。目前,丁基羟基茴香醚(BHA)、丁基羟基甲苯(BHT)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)和没食子酸丙酯(PG)等合成抗氧化剂已被用于食品和医药应用^[4-6]。这些合成抗氧化剂比胡萝卜素和生育酚等天然抗氧化剂具有更强的抗氧化活性,但由于其潜在的健康风险和毒性,这些化合物的使用已开始受到人们的质疑。因此,安全、天然的抗氧化物质替代合成抗氧化剂是目前理想选择。

禽蛋是优质蛋白质、脂溶性和 B 族维生素、矿物质和胆碱的良好来源,同时与其他动物蛋白质来源相比,每克提供的饱和脂肪相对较少。虽然禽蛋通常不被认为是抗氧化食品,但它们的蛋白质功能组分,如卵白蛋白(OVA)及其衍生物、卵转铁蛋白(OVT)及其衍生物和溶菌酶(LYS)及其衍生物都显示出抗氧化特性^[7]。因此,近年来它们作为营养物质和功能性成分的使用越来越多,引起了食品和生物制药行业的关注。在此,作者就禽蛋蛋白质组分的抗氧化功能研究现状进行综述。

1 禽蛋中主要的蛋白质及其衍生物

禽蛋由 3 个部分组成:蛋壳与膜、蛋清和蛋黄。蛋清主要由蛋白质组成,其中卵白蛋白含量最丰富,其次是卵转铁蛋白、卵类黏蛋白和溶菌酶。此外,还鉴定出抗生物素、胱抑素、卵巨球蛋白、卵黄素蛋白和卵糖蛋白等。蛋黄的主要成分是脂类,同时,蛋黄也是蛋白质的良好来源。蛋清中的一些蛋白质本身具有抗氧化特性,但从它们衍生的肽,通常是 2~20 个氨基酸残基的片段,具有更高的抗氧化活性^[8]。出现这种情况的原因可能是小肽的官能团侧链更易接近活性物质,因此更易发挥抗氧化功能^[9]。不仅肽的长度与抗氧化的活性有关,氨基酸的组成似乎也有重要的作用。含硫氨基酸如半胱氨酸和蛋氨酸,由于其 S 基团与活性基团反应形成稳定的氧化产物而易于氧化。谷氨酰胺和天冬酰胺等酸性氨基酸以及疏水性脯氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸

和色氨酸等氨基酸对抗氧化活性也有很强的正向影响^[10]。从蛋清中获得生物活性肽的主要方法是使用各种微生物、植物或动物来源的酶对蛋清进行酶解,也可以应用加热、超声等处理技术辅助酶解^[11-12]。

2 禽蛋蛋白质抗氧化活性物质

2.1 卵白蛋白

卵白蛋白是蛋清中最丰富且具有优良营养和加工性能的蛋白质,它含有 1 个二硫键和 4 个游离巯基,可以作为金属螯合剂发挥氧化还原调节的作用。卵白蛋白水解物能够预防长时间的汞暴露对大鼠雄性生殖系统的影响,是一种有效的体外抗氧化剂^[13]。研究发现,当卵白蛋白与其他物质共价结合后,其抗氧化能力增加。如 Awatsuhara 等人将卵白蛋白分子与芦丁相互作用产生复合物,与单独的卵白蛋白相比,芦丁-卵白蛋白复合物有更强的自由基清除活性和 DNA 保护免受由羟基自由基引起的嘌呤/嘧啶基位点的形成,具有更强的抗氧化活性^[14]。Yang 等人将高强度超声与糖基化方法相结合,证明经过超声波预处理的甘露糖在 0~600 W 时改善了卵白蛋白的特性,显著增强了卵白蛋白-甘露糖结合物的抗氧化活性^[15]。Estefanía Bueno-Gavilá 等人使用洋蓟花(*Cynara scolymus* L.)提取物中存在的天冬氨酸蛋白酶获得鸡蛋卵白蛋白水解产物,并评估其体外抗氧化和抗菌活性,结果从水解物中鉴定出 4 种具有生物活性的肽:IAAEVYEHTEGSTTSY,HLFGPPGKKDPV,PIAAEVYEHTEGSTTSY 和 YAEERYPIL,它们均显示出抗氧化活性^[16]。

2.2 卵转铁蛋白

蛋清中的卵转铁蛋白具有多种生物活性和功能特性,使其成为获得生物活性肽的重要蛋白质。除了较强的抗菌活性外,卵转铁蛋白还具有较强的抗氧化活性。Lee 等人通过 ABTS 自由基清除实验评价卵转铁蛋白抗氧化活性,证明了卵转铁蛋白水解产物比天然卵转铁蛋白显示出更强的自由基清除活性和更强的抗氧化活性^[17]。You 等人将卵转铁蛋白与儿茶素结合,通过荧光分析、超高效液相色谱、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱和液相色谱在线耦合到串联质谱仪进行分析,证明卵转铁蛋白与儿茶素偶联具有抗氧化活性^[18]。Yutaro 等人评估卵转铁蛋白在葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠

炎小鼠模型中的抗炎作用,也证明了卵转铁蛋白具有抗氧化活性^[19]。

2.3 溶菌酶

溶菌酶是蛋清中发现的另一种重要蛋白质,含有 129 个氨基酸,相对分子质量为 14 300,有 4 个二硫键,它能抑制活性氧的产生^[20]。与其他蛋白一样,在与化合物结合后抗氧化性能增加。溶菌酶与瓜尔豆胶结合,其抗氧化性能从 DPPH 抑制率 2% 提高到 35%^[21]。溶菌酶-黄原胶偶联物显示出抗氧化性能,并显著抑制了金黄色葡萄球菌和大肠杆菌且呈剂量依赖性^[22]。这些发现可能会扩大溶菌酶在食品或制药行业中作为功能成分或天然抗氧化剂的应用范围。

2.4 蛋清肽

蛋清是膳食中抗氧化肽的重要来源之一,已有研究证明,蛋清经水解制备的水解产物具有良好的抗氧化能力^[23]。如 Zhan 等人从蛋清水解产物中鉴定出 4 个与卵转铁蛋白匹配的多肽,分别为 LAPYK、SVIRW、PKSVIRW 和 ADWAK,其中 LAPYK 活性最强,ABTS 清除 IC₅₀ 为 (5.29±0.24) μmol/L,ORAC 为 (1.50±0.04) μmol/L^[24]。Escobar 等人通过实验证明蛋清水解产物可防止 HgCl₂ 暴露后血压升高和血管功能障碍,并抑制 HgCl₂ 诱导的氧化应激和炎症途径,具有抗氧化活性^[25]。Chen 等人模拟体外胃肠道消化,证明在 65 °C 处理的蛋清水解液具有较高的抗氧化性,通过质谱和生物信息学分析鉴定了 24 个潜在的抗氧化肽,后经实验证明 ACPECPK 具有最优的抗氧化性能,并具有较低的细胞毒性和致敏性^[26]。Rao 等人模拟胃肠道(GI)消化蛋清粉,分别将蛋清粉样品进行热处理,结果表明,热处理是改善 GI 消化后蛋白质消化率和释放具有抗氧化活性的肽的关键因素^[27]。Zheng 等人使用肽组学方法鉴定蛋清中天然存在的低分子肽,并确定了其潜在的抗氧化活性^[28]。Yang 等人从鸭血浆水解产物中提取并鉴定了 7 种新型抗氧化肽:LDGP、TGVGTK、EVGK、RCLQ、LHDVK、KLGA 和 AGGVPA,它们的相对分子质量分别为 400.43、561.63、431.48、260.14、610.71、387.47 和 527.57^[29]。此外,Yuan 等人利用响应面优化了用糜蛋白酶和胃蛋白酶从蛋清中提取高效抗氧化肽的水解条件,并利用建立的氧化损伤模型证实其具有较高的抗氧化活性和较低的致敏性^[30]。Thammasena^[31]等人用胃

蛋白酶、芽孢杆菌和纳豆激酶 3 种蛋白酶水解脱盐鸭蛋清粉,结果表明,来自胃蛋白酶的脱盐鸭蛋清粉水解产物具有更高的 DPPH 自由基清除活性,且具有较低的亚铁离子螯合活性。

3 禽蛋蛋白质的抗氧化产品

目前对禽蛋蛋白质抗氧化活性物质的研究已经比较深入,对抗氧化产品的研发也提上日程。吴琦将蛋清抗氧化肽包裹在脂质体中,开发了一种抗氧化蛋清肽纳米脂质体果汁饮料,满足了人们在饮用饮料的过程中蛋白质的摄入^[32]。孙郡优化了水解蛋液的加工工艺,提高了蛋体水解液的抗氧化能力,并将得到的蛋体水解发酵液喷雾制粉,得到高含钙量、低胆固醇、风味良好且富含小分子肽的创新性保健佳品,可以作为一种直接饮用的风味较好的功能性食品^[33]。当前,基于禽蛋蛋白质功能成分研发的产品还不够全面,但基于其他物质的抗氧化产品有很多报道。诸如王宝琴以榛子抗氧化肽为原料,研发出一款营养美味的榛子抗氧化肽果冻^[34]。项莹将林蛙骨抗氧化肽制备成林蛙骨咀嚼片,营养丰富、方便携带且具有抗氧化功能,提高了林蛙骨肽的附加值^[35]。马诗文对绿豆蛋白质的酶解产物进行调配,研制出绿豆抗氧化肽糯米酒,不仅口感好而且具有较好的抗氧化活性^[36]。抗氧化肽加入食品中能够有效减缓食品氧化变质的速率,延长食品保质期,此外,被人体摄入后也会减少氧化损伤的伤害,在保护细胞组分免受潜在破坏、维持体内平衡方面起着关键作用^[37]。另外,抗氧化成分加入化妆品中也具有很好的保湿和提高皮肤弹性的功效^[38]。

4 抗氧化研究的模型及技术

目前国内外对抗氧化的研究主要是在体外化学和细胞抗氧化评价的基础上再建立大鼠或小鼠、果蝇和秀丽隐杆线虫等实验模型^[39-44],由此更准确、快速显示该功能性成分在生物体内所起到的抗氧化作用。细胞、大鼠或小鼠和秀丽隐杆线虫实验模型是目前研究抗氧化的经典模型,在研究抗氧化的历程中具有重要意义。

4.1 体外化学模型

体外抗氧化功能评价发展至今,已经形成了一个比较系统的体系,多采用 DPPH、ABTS、ORAC 等清除自由基的方法测定抗氧化活性。自由基清除的

作用是在活性自由基攻击生物必需分子之前通过提供氢原子或电子然后进行质子转移来清除活性自由基,从而产生稳定的化合物和抗氧化剂衍生的自由基^[45]。Liu 等人使用 DPPH 和 ORAC 化学分析法证明去除卵黏蛋白的蛋清水解产物仍具有抗氧化和抗炎活性^[46]。有人研究了不同酶水解咸鸭蛋清,结果用中性蛋白酶水解的产物显示出对 DPPH 自由基、羟基自由基、过氧化氢和亚铁离子自由基的良好清除能力^[47]。脉冲电场会引起蛋白质聚集,研究者利用脉冲电场技术处理蛋清蛋白肽,并对其 DPPH 自由基清除能力进行了研究,结果显示脉冲电场技术处理后蛋清蛋白肽的自由基清除能力增加了 28.44%^[48]。Thaha 等人通过 DPPH、ABTS 自由基清除能力实验得出蛋清肽具有良好的抗氧化活性,可防止牛奶脂肪氧化,是防止食物来源的酪氨酸酶氧化的抗褐变源^[49]。体外化学抗氧化评价方法相对于体内抗氧化方法费用低廉、周期较短,适用于抗氧化性添加剂的初筛工作。

4.2 细胞模型

细胞抗氧化活性 (cellular antioxidant activity, CAA) 测定是一种基于细胞的抗氧化活性定量方法,于 2007 年建立。CAA 方法的基本原理如图 1 所示。细胞用抗氧化提取物 (AOx) 和 2,7,-二氯荧光黄双乙酸盐 (DCFH-DA) 预处理。抗氧化剂结合到细胞膜并通过细胞膜进入细胞,DCFH-DA 扩散进入到细胞中,细胞酯酶裂解 DCFH-DA 形成更极性的还原型二氯荧光素 (DCFH),DCFH 被困在细胞内。细胞用 2,2,-偶氮二异丁基脒二盐酸盐 (ABAP) 处理,ABAP 能扩散到细胞内自发分解形成过氧化物自由基 $ROO\cdot$ 。这些过氧化自由基攻击细胞膜产生更多的自由基或活性氧 ($ROS\cdot$),并将细胞内的 DCFH 氧化成荧光物氧化型二氯荧光素 (DCF)。抗氧化剂阻止 DCFH 的氧化,从而减少 DCF 的形成^[50]。相比于传统方法进行抗氧化剂活性测定,CAA 法通过观察抗氧化物质在肝癌细胞中的摄取、代谢和定位等情况,更贴近人体代谢,优于传统方法。DNA 碱基、脂质和蛋白质的过氧化物损伤后会导致细胞凋亡或死亡。因此,DNA 碱基、脂质和蛋白质的过氧化产物都能够作为氧化应激的指示剂,检测抗氧化活性的大小^[51]。体内活性氧自由基产生过多时,细胞内的大分子物质氧化损伤,导致组织损伤,加快机体的氧化衰老。

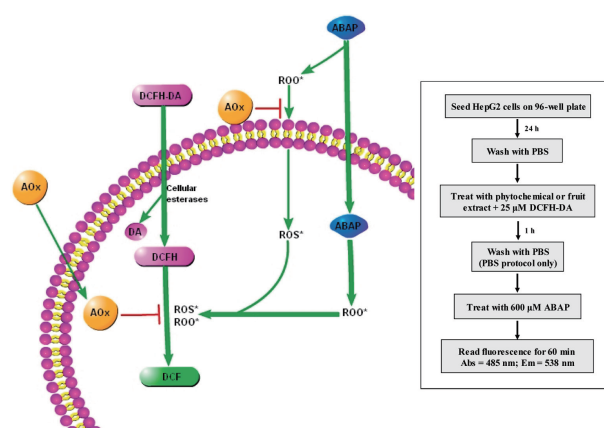


图1 CAA原理图

Fig. 1 Proposed principle of CAA assay

自细胞抗氧化活性测定方法建立以来,科研人员不断研究并且建立了许多细胞相关模型。Lee 等人建立体外化学和细胞模型,在细胞模型的研究中,卵黄膜水解产物显著抑制 RAW264.7 巨噬细胞产生一氧化氮,风味酶处理的卵黄膜可抑制脂多糖刺激的 RAW264.7 细胞中促炎细胞因子的上调,证明了卵黄膜水解产物具有抗氧化性^[52]。马思彤等人构建过氧化氢损伤 HepG2 细胞模型,以碱性蛋白酶酶解蛋清蛋白,证明相对分子质量小于 1 000 的碱性蛋白酶酶解产物能有效抑制过氧化氢诱导的 HepG2 细胞内活性氧的产生,阻止细胞的氧化应激损伤和凋亡^[53]。张燕等人构建过氧化氢诱导损伤的 HEK293 细胞模型,发现蛋清源五肽 WNWAD 能够在一定程度恢复过氧化氢诱导损伤的 HEK293 细胞中 CAT 酶、SOD 酶和 GSH-PX 酶的蛋白质表达水平,表明 WNWAD 具有一定的抗氧化性^[54]。由以上可看出,细胞模型实验相比于化学分析法更具有生物相关性,是研究天然产物抗氧化活性的重要手段。

4.3 大鼠/小鼠模型

目前,国内外用小鼠或大鼠模型研究抗氧化的应用范围较广,通过测定模型动物的 GSH-PX、CAT 和 SOD 等抗氧化酶类以及 MDA 等诱导过氧化物质的指标并同空白对照组比较,从而得出受试物在生物体内的抗氧化能力^[55-57]。霍永久等人选取 2 月龄雄性小鼠建立小鼠模型,连续灌喂蛋清水解物 4 周,检测发现小鼠血清中的谷丙转氨酶、葡萄糖和总胆固醇含量和肝脏的 MDA 含量均显著低于对照组,小鼠肝脏的 T-SOD 和 GSH-PX 活力显著高于对照组,从而证明蛋清水解物具有抗氧化活性^[58]。

Chairuk 等人采用 Wistar 大鼠模型研究食用全蛋和蛋清对成年大鼠心血管疾病的影响,结果显示摄入指定剂量的全蛋或蛋黄会导致高血压,而蛋清能够有效降低血浆胆固醇和体内脂肪的积累,对心血管系统有益,具有良好的抗氧化活性^[59]。Rizzetti 等用氯化汞刺激大鼠,验证了卵白蛋白水解产物是一种有效的天然抗氧化剂。大鼠、小鼠抗氧化活性实验的周期较长,费用昂贵,检测指标多而且复杂,一般适用于经体外筛选后的活性化合物^[13]。

4.4 秀丽隐杆线虫模型

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)简称线虫,是一种自由生活的无脊椎动物,具有体型小、寿命短、繁殖迅速、基因组测序完整、与人类相关的基因超过 65%等优点^[60]。所有这些优点使秀丽隐杆线虫广泛应用于抗氧化方面研究^[61-63]。

在秀丽隐杆线虫作为抗氧化模型的研究中,百草枯^[64]和胡桃醌^[65]均能使机体产生 ROS,故一般用百草枯或胡桃醌构建氧化应激损伤模型,用以评价天然产物抗氧化组分效果。研究者通过百草枯构建氧化损伤模型,以木瓜蛋白酶制备金乌贼水解物,并对其进行进一步分析,得到新的多肽 SEPS,该多肽可提高氧化损伤线虫体内 SOD 酶活性,降低 ROS 和 MDA 水平,证明了该多肽能够有效减轻线虫氧化应激和脂肪积累^[66]。有人从毛蚶中鉴定出两个新的多肽 D2-G1s-1 和 D2-G1s-2,在百草枯诱导的氧化胁迫增加的情况下,这两种新的多肽能减少线虫体内 ROS、脂肪和脂褐素的积累,下调 *age-1* 基因,上调应激诱导基因 *mtl-1*、*sod-3*、*ctl-1* 和 *hsp16.2*,延长线虫寿命^[67]。Chen 等人从蓝圆鲟酶解产物中分离纯化了多肽 Ile-Leu-Gly-Ala-Thr-Ile-Asp-Asn-Ser-Lys,该多肽对线虫的热休克和百草枯诱导的氧化应激具有明显的保护作用,使线虫寿命延长,SOD、CAT 活性升高,活性氧降低^[68]。在秀丽隐杆线虫中,大豆分离蛋白的新型抗氧化肽 FDPAL 可以上调与抗氧化相关基因的表达^[69]。Jia 等人从文蛤中

提取了 3 个新的抗氧化肽 MmP4 (LSDRLTEETGASS)、MmP11 (KEGCREPETEKGHR) 和 MmP19 (IVTNWDDMEK),并发现它们能增强秀丽隐杆线虫对百草枯的抗性,实时定量 PCR 分析 *daf-16* 靶基因发现,*sod-3* 被 MmP4、MmP11 和 MmP19 上调,*ctl-1* 和 *ctl-2* 也被 MmP4 上调,结果表明秀丽隐杆线虫对氧化应激的多肽增强的抵抗力依赖于 *daf-16*,证明了文蛤多肽的抗氧化活性^[70]。秀丽隐杆线虫被广泛用来研究抗氧化抗衰老,在诸多海洋生物抗氧化肽的研究中选择秀丽隐杆线虫为模型验证生物活性肽的抗氧化活性,但是,利用秀丽隐杆线虫模型研究禽蛋组分的抗氧化效果还未见报道。

5 展望

禽蛋中功能性成分因其独特的生物活性和潜在的营养价值引起了越来越多的关注。目前,禽蛋蛋白源抗氧化肽的制备研究已开展不少工作,但抗氧化肽的得率不高、利用抗氧化肽研发的产品较少,如何利用酶解前的预处理使禽蛋蛋白源抗氧化肽得率增加、开发出更多禽蛋蛋白源相关的产品仍需探索。在进行禽蛋组分抗氧化研究时多用到细胞和小鼠/大鼠模型,但利用秀丽隐杆线虫模型研究禽蛋功能性成分还未有报道。以秀丽隐杆线虫为体内抗氧化活性评价生物模型,综合评价禽蛋蛋白质组分与线虫氧化应激信号转导之间的关联。以氧化应激常规指标应答以及与氧化应激相关的秀丽隐杆线虫寿命、ROS 水平和脂褐素积累为评价指标对禽蛋组分的抗氧化活性进行综合评价,可为禽蛋组分抗氧化研究提供全新的参考方案。随着现代科技的不断发展,相关生物技术也日益成熟,通过建立秀丽隐杆线虫相关氧化应激模型,利用 CRISPR/Cas9 技术、微流控技术和代谢组学技术,更加深入地研究禽蛋功能性成分,将为研究新型抗氧化功能食品提供理论依据。

参考文献:

- [1] PATEL M D. Targeting oxidative stress in central nervous system disorders[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2016, 37 (9): 768-778.
- [2] TSENG N, LAMBIE S C, HUYNH C Q, et al. Mitochondrial transfer from mesenchymal stem cells improves neuronal metabolism after oxidant injury *in vitro*: the role of Miro1[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2020, 41: 761-770.

- [3] LIGUORI I, RUSSO G, CURCIO F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases[J]. **Clinical Interventions in Aging**, 2018, 13: 757-772.
- [4] BAMPIDIS V, AZIMONTI G, BASTOS M, et al. Safety of butylated hydroxy anisole (BHA) for all animal species[J]. **EFSA Journal**, 2019, 17(12): 5913.
- [5] ZENG X P, LI X J, ZHANG Q, et al. Tert-butylhydroquinone protects liver against ischemia/reperfusion injury in rats through Nrf2-activating anti-oxidative activity[J]. **Transplantation Proceedings**, 2017, 49(2): 366-372.
- [6] WANG Y, WU C, ZHOU X, et al. Combined application of gallate ester and -tocopherol in oil-in-water emulsion; their distribution and antioxidant efficiency[J]. **Journal of Dispersion Science and Technology**, 2020, 41(6): 909-917.
- [7] NIMALARATNE C, BANDARA N, WU J. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed chicken egg white[J]. **Food Chemistry**, 2015, 188(1): 467-472.
- [8] MARTINEZ-VILLALUENGA C, PENAS E, FRIAS J. Bioactive Peptides in Fermented Foods: Production and Evidence for Health Effects[M]. London: Academic Press, 2017: 23-47.
- [9] BENEDE S, MOLINA E. Chicken egg proteins and derived peptides with antioxidant properties[J]. **Foods**, 2020, 9(6): 735.
- [10] UDENIGWE C C, ALUKO R. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates[J]. **International Journal of Molecular Sciences**, 2011, 12(5): 3148-3161.
- [11] JUN S, YAOYAO M, HUI J, et al. Effects of single- and dual-frequency ultrasound on the functionality of egg white protein[J]. **Journal of Food Engineering**, 2020, 277: 109902.
- [12] JOVANOVI J R, STEFANOVI A, EKULJICA N, et al. Ultrasound pretreatment as an useful tool to enhance egg white protein hydrolysis; kinetics, reaction model, and thermodynamics[J]. **Journal of Food Science**, 2016, 81(11): C2664-C2675.
- [13] RIZZETTI D A, MARTINEZ C S, ESCOBAR A, et al. Egg white-derived peptides prevent male reproductive dysfunction induced by mercury in rats[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 2017, 100: 253-264.
- [14] AWATSUHARA. Antioxidative activity of the buckwheat polyphenol rutin in combination with ovalbumin[J]. **Molecular Medicine Reports**, 2010, 3(1): 121-125.
- [15] YANG W, TU Z, WANG H, et al. Glycation of ovalbumin after high-intensity ultrasound pretreatment; effects on conformation, immunoglobulin (Ig) G/IgE binding ability and antioxidant activity[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2018, 98(10): 3767-3773.
- [16] BUENO-GAVILÁ E, ABELLÁN A, GIRÓN-RODRÍGUEZ F, et al. Bioactivity of hydrolysates obtained from chicken egg ovalbumin using artichoke (*Cynara scolymus* L.) proteases[J]. **Foods**, 2021, 10(2): 246.
- [17] LEE J, MOON S H, KIM H, et al. Antioxidant and anticancer effects of functional peptides from ovotransferrin hydrolysates[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2017, 97(14): 4857-4864.
- [18] YOU J, LUO Y, WU J. Conjugation of ovotransferrin with catechin shows improved antioxidant activity[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2014, 62(12): 2581-2587.
- [19] YUTARO, KOBAYASHI, PRITHY, et al. Oral administration of hen egg white ovotransferrin attenuates the development of colitis induced by dextran sodium sulfate in mice[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2015, 63(5): 1532-1539.
- [20] WU T, JIANG Q, WU D, et al. What is new in lysozyme research and its application in food industry? [J]. **Food Chemistry**, 2019, 274: 698-709.
- [21] HAMDANI A M, WANI I A, BHAT N A, et al. Effect of guar gum conjugation on functional, antioxidant and antimicrobial activity of egg white lysozyme[J]. **Food Chemistry**, 2018, 240: 1201-1209.
- [22] HASHEMI M M, AMINLARI M, MOOSAVINASAB M. Preparation of and studies on the functional properties and bactericidal activity of the lysozyme-xanthan gum conjugate[J]. **LWT – Food Science and Technology**, 2014, 57(2): 594-602.
- [23] GROMIHA M, YUGANDHAR K, JEMIMAH S. Protein-protein interactions; scoring schemes and binding affinity[J]. **Current Opinion in Structural Biology**, 2017, 44: 31-38.
- [24] ZHANG B, LIU J, LIU C, et al. Bifunctional peptides with antioxidant and angiotensin - converting enzyme inhibitory activity *in vitro* from egg white hydrolysates[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 2020, 44(9): e13347.
- [25] ESCOBAR A, RIZZETTI D A, PIAGETTE J T, et al. Antioxidant properties of egg white hydrolysate prevent mercury-induced vascular damage in resistance arteries[J]. **Frontiers in Physiology**, 2020, 11: 595767.

- [26] CHEN Y, HAN P, MA B, et al. Effect of thermal treatment on the antioxidant activity of egg white hydrolysate and the preparation of novel antioxidant peptides[J]. **International Journal of Food Science & Technology**, 2021.
- [27] RAO P S, NOLASCO E, HANDA A, et al. Effect of pH and heat treatment on the antioxidant activity of egg white protein-derived peptides after simulated in-vitro gastrointestinal digestion[J]. **Antioxidants**, 2020, 9(11): 1114.
- [28] ZHENG J, BU T, LIU L, et al. Naturally occurring low molecular peptides identified in egg white show antioxidant activity[J]. **Food Research International**, 2020, 138: 109766.
- [29] YANG J, HUANG J, DONG X, et al. Purification and identification of antioxidant peptides from duck plasma proteins[J]. **Food Chemistry**, 2020, 319: 126534.
- [30] YUAN J, ZHENG Y, WU Y, et al. Double enzyme hydrolysis for producing antioxidant peptide from egg white: optimization, evaluation, and potential allergenicity[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 2020, 44(2): e13113.
- [31] THAMMASENA R, LIU D C. Antioxidant and antimicrobial activities of different enzymatic hydrolysates from desalted duck egg white[J]. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 2020, 33(9): 1487-1496.
- [32] 吴琦. 抗氧化蛋清肽脂质体的制备及其产品的研发[D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- [33] 孙郡. 全蛋体水解液的益生菌发酵工艺优化及产品开发[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2019.
- [34] 王宝琴. 榛子抗氧化肽的制备及产品开发[D]. 长春: 吉林大学, 2019.
- [35] 项莹. 林蛙骨抗氧化肽的制备及产品研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [36] 马诗文. 复合酶法制备绿豆抗氧化活性多肽及其应用研究[D]. 鞍山: 辽宁科技大学, 2020.
- [37] PAN M, LIU K, YANG J, et al. Advances on food-derived peptidic antioxidants—A review[J]. **Antioxidants**, 2020, 9(9): 799.
- [38] RESENDE D I S P, FERREIRA M S, SOUSA-LOBO J M, et al. Usage of synthetic peptides in cosmetics for sensitive skin[J]. **Pharmaceuticals**, 2021, 14(8): 702.
- [39] HEMMERYCKX B, HOHENSINNER P, SWINNEN M, et al. Antioxidant treatment improves cardiac dysfunction in a murine model of premature aging[J]. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, 2016, 68(5): 374-382.
- [40] CASTANEDA O A, LEE S C, HO C T, et al. Macrophages in oxidative stress and models to evaluate the antioxidant function of dietary natural compounds[J]. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2017, 25(1): 111-118.
- [41] AN J, YANG C, LI Z, et al. In vitro antioxidant activities of *Rhodobacter sphaeroides* and protective effect on Caco-2 cell line model[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2018, 103: 917-927.
- [42] RANGSINTH P, PRASANSUKLAB A, DUANGJAN C, et al. Leaf extract of *Caesalpinia mimosoides* enhances oxidative stress resistance and prolongs lifespan in *Caenorhabditis elegans*[J]. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2019, 19: 164.
- [43] RUANGCHUAY S, WANG Q Q, WANG L Y, et al. Antioxidant and antiaging effect of traditional Thai rejuvenation medicines in *Caenorhabditis elegans*[J]. **Journal of Integrative Medicine**, 2021, 19(4): 362-373.
- [44] LAZZARI F D, SANDRELLI F, WHITWORTH A, et al. Antioxidant therapy in parkinson s disease: insights from drosophila melanogaster[J]. **Antioxidants**, 2020, 9(1): 52.
- [45] JO Y J, CHO H S, CHUN J Y. Antioxidant activity of β -cyclodextrin inclusion complexes containing trans-cinnamaldehyde by DPPH, ABTS and FRAP[J]. **Food Science and Biotechnology**, 2021, 30: 807-814.
- [46] LIU Y F, OEY I, BREMER P, et al. Pulsed electric fields treatment at different pH enhances the antioxidant and anti-inflammatory activity of ovomucin-depleted egg white[J]. **Food Chemistry**, 2019, 276: 164-173.
- [47] VENKATACHALAM K, NAGARAJAN M. Assessment of different proteases on degree of hydrolysis, functional properties and radical scavenging activities of salted duck egg white hydrolysate[J]. **Journal of Food Science and Technology –Mysore–**, 2019, 56(6): 3137-3144.
- [48] KE, WANG, JIA, et al. Effects on DPPH inhibition of egg-white protein polypeptides treated by pulsed electric field technology [J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2012, 93(7): 1641-1648.
- [49] THAHA A, WANG B S, CHANG Y W, et al. Food-derived bioactive peptides with antioxidative capacity, xanthine oxidase and tyrosinase inhibitory activity[J]. **Processes**, 2021, 9(5): 747.
- [50] ZHOU J, GAO G, ZHANG S, et al. Influences of calcium and magnesium ions on cellular antioxidant activity (CAA) determination[J]. **Food chemistry**, 2020, 320: 126625.
- [51] ZHANG Y, LI C, ZHANG X, et al. Development of oxidation damage base-based fluorescent probe for direct detection of DNA

- methylation[J]. **Analytical Chemistry**, 2020, 92(15): 10223-10227.
- [52] LEE D, BAMDAD F, KHEY K M W, et al. Antioxidant and anti inflammatory properties of chicken egg vitelline membrane hydrolysates[J]. **Poultry Science**, 2017, 96(9): 3510-3516.
- [53] 马思彤, 刘静波, 张婷, 等. 体外模拟胃肠消化及碱性蛋白酶处理后蛋清肽抗氧化活性差异及肽序列解析[J]. **食品科学**, 2020, 41(21): 113-120.
- [54] 张燕, 陈志飞, 赵颂宁, 等. 蛋清源抗氧化肽对 HEK293 细胞氧化应激损伤的抑制作用及机制[J]. **中国食品学报**, 2019, 19(10): 11-22.
- [55] SIRACUSA R, FUSCO R, PERITORE A F, et al. The antioxidant and anti-Inflammatory properties of *Anacardium occidentale* L. Cashew Nuts in a Mouse Model of Colitis[J]. **Nutrients**, 2020, 12(3): 834.
- [56] LI W S, VEERARAGHAVAN V, MA W. Effects of boldine on antioxidants and allied inflammatory markers in mouse models of asthma[J]. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, 2020, 39(3): 225-234.
- [57] ZOU Z, GAL K L, ZOWALATY A E E, et al. Antioxidants promote intestinal tumor progression in mice[J]. **Antioxidants**, 2021, 10(2): 241.
- [58] 霍永久, 占今舜, 金晓君, 等. 蛋清酶水解工艺优化及水解物对小鼠生理指标的影响[J]. **食品与生物技术学报**, 2016, 35(8): 855-863.
- [59] CHAIRUK P, ZAMAN R U, NAPATHTHALUNG J, et al. Effect of consumption of whole egg and egg fractions on cardiovascular disease factors in adult rats[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2020, 101: 3942-3951.
- [60] PIR G J, CHOUDHARY B, MANDELKOW E. *Caenorhabditis elegans* models of tauopathy[J]. **The FASEB Journal**, 2017, 31: 5137-5148.
- [61] MA L, ZHAO Y, CHEN Y, et al. *Caenorhabditis elegans* as a model system for target identification and drug screening against neurodegenerative diseases[J]. **European Journal of Pharmacology**, 2018, 819: 169-180.
- [62] LIANG J, MCKINNON I A, RANKIN C. The contribution of *C. elegans* neurogenetics to understanding neurodegenerative diseases[J]. **Journal of Neurogenetics**, 2020, 34: 527-548.
- [63] WANG Y A, KAMMENG J, HARVEY S. Genetic variation in neurodegenerative diseases and its accessibility in the model organism *Caenorhabditis elegans*[J]. **Human Genomics**, 2017, 11(1): 1-10.
- [64] XIE X, SHANG L, YE S, et al. The protective effect of adenosine-preconditioning on paraquat-induced damage in *Caenorhabditis elegans*[J]. **Dose-Response**, 2020, 18(2): 1-7.
- [65] ASTHANA J, YADAV A, PANT A, et al. Specioside ameliorates oxidative stress and promotes longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology: CBP**, 2015, 169: 25-34.
- [66] YU X, SU Q, SHEN T, et al. Antioxidant peptides from *Sepia esculenta* hydrolyzate attenuate oxidative stress and fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*[J]. **Marine Drugs**, 2020, 18(10): 490.
- [67] HUI S, XH A, HANG Z A, et al. Two novel antioxidant peptides derived from *Arca subcrenata* against oxidative stress and extend lifespan in *Caenorhabditis elegans*[J]. **Journal of Functional Foods**, 2021, 81: 104462.
- [68] CHEN H, WANG S, ZHOU A, et al. A novel antioxidant peptide purified from defatted round scad (*Decapterus maruadsi*) protein hydrolysate extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*[J]. **Journal of Functional Foods**, 2020, 68: 103907.
- [69] MA H, LIU R, ZHAO Z, et al. A novel peptide from soybean protein isolate significantly enhances resistance of the organism under oxidative stress[J]. **PLoS ONE**, 2016, 11(7): e0159938.
- [70] JIA W, PENG Q, SU L, et al. Novel bioactive peptides from meretrix meretrix protect *Caenorhabditis elegans* against free radical-induced oxidative stress through the stress response factor DAF-16/FOXO[J]. **Marine Drugs**, 2018, 16(11): 444.

(责任编辑:李春丽)