

干酪中生物活性肽的研究进展

Research progress on bioactive peptides in Cheese

陈森怡^{1,2} 刘振民¹ 焦晶凯¹

CHEN Sen-yi^{1,2} LIU Zhen-min¹ JIAO Jing-kai¹

(1. 光明乳业股份有限公司研究院乳业生物技术国家重点实验室, 上海 200436;

2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

(1. State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Dairy Research Institute, Bright Dairy & Food Co., Ltd., Shanghai 200436, China; 2. China College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

摘要:文章阐述了干酪中生物活性肽的产生,归纳了干酪中常见的几种生物活性肽的类型及研究进展,综述了干酪中生物活性肽在生物利用度以及对肠道菌群影响方面的研究进展,并对干酪中生物活性肽的研究前景进行了总结与展望。

关键词:干酪;生物活性肽;生物利用与转化;肠道菌群

Abstract: This study reviewed the production of bioactive peptides in cheese, and summarized the types and research progress of several bioactive peptides commonly found in cheese. The research progress of bioactive peptides in bioavailability and the effects on the intestinal flora was described, and the research prospects of bioactive peptides in cheese were summarized and prospected.

Keywords: cheese; bioactive peptide; bioavailability and transformation; intestinal flora

干酪俗称奶酪,又称芝士、起司。它是一种以新鲜牛乳为原料,经过巴氏杀菌,添加凝乳酶、发酵剂,发酵凝乳切割,成熟等工序制成的新鲜或成熟乳制品^[1]。干酪含有丰富的蛋白质、脂肪、氨基酸、维生素、矿物质等成分,是一类营养价值极高的发酵乳制品^[2]。

干酪中乳蛋白经过分解会产生一系列具有活性的水解产物——生物活性肽。生物活性肽是指对人体具有积极影响并最终影响其健康的特定蛋白质片段^[3],其实这些多肽在亲本蛋白质分子的序列中并无活性,但是可以通过肠胃消化、发酵剂发酵或者来自微生物或植物的

蛋白酶水解释放出有活性的肽组分^[4-6]。它主要是含有 2~22 个氨基酸残基的片段,而且不同类型的干酪表现出的生物活性也不同,如免疫调节、抗高血压、抗菌、抗氧化和阿片类药物活性等,这些都与成熟过程蛋白质的水解作用息息相关。多肽不仅可以在成熟阶段获得,而且在人体食用干酪时,胃肠道中的一些蛋白酶会继续水解产生新的肽组分,并对机体发挥一定作用,如对肠道微生物平衡的改善^[7]。

1 干酪多肽的产生

干酪的蛋白质含量约 25%~35%,且以酪蛋白为主,约占总蛋白含量 80%^[8],其中酪蛋白包括 α -酪蛋白(α s1-酪蛋白、 α s2-酪蛋白)、 β -酪蛋白、 k -酪蛋白;在干酪的制作过程中,酪蛋白的营养价值没有发生改变,但在干酪发酵和成熟过程中发生了蛋白质消化/水解作用,消化率近 100%。通过蛋白质的水解产生了很多分子量大小不一的多肽以及游离的氨基酸,这些水解产物对干酪消化性的改善、降低过敏性以及特色风味的形成有很大的贡献^[9-11]。

在干酪成熟阶段,蛋白质的水解过程大致分为两步:①一级蛋白质水解, α s-酪蛋白、 β -酪蛋白在凝乳酶以及牛乳中原蛋白酶(纤溶酶和组织蛋白酶)的作用下初步水解产生许多大(水不溶性)和中等大小(水溶性)的肽^[12];②来自发酵剂和非发酵剂的蛋白酶降解中等肽,细胞外、细胞包膜相关蛋白酶有助于水解较大的肽,形成小肽;而肽酶(细胞内)在细胞裂解后释放,并负责短肽的降解和游离氨基酸的产生^[13]。像 Prato(普拉托)干酪蛋白初始水解的主要特征是残留的凝乳酶作用于 α s1-酪蛋白的 Phe23-Phe24 键的, β -酪蛋白在成熟过程中较慢降解^[14]。不同类型的酪蛋白有不同的水解模式,不同的蛋白酶作用于不同的水解位点,由此释放出功能各异的生物活性肽^[15-17]。

基金项目:上海领军人才项目(编号:2015087)

作者简介:陈森怡,女,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:刘振民(1974—),男,光明乳业股份有限公司教授级高级工程师,博士。E-mail:liuzhenmin@brightdairy.com

收稿日期:2018-09-28

2 干酪多肽的生物活性

2.1 ACE 抑制肽

高血压是心脑血管疾病(CVD)最重要的危险因素^[18],它已经成为威胁人们生命健康的“无形的杀手”,因此高血压的治疗已是迫在眉睫。

人体血压的调节依赖于肾素-血管紧张素和激肽-激肽释放酶系统,血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)是两体系中的关键性酶,它是一种与膜结合的二肽羧基酶,其含维持活性的 Zn^{2+} 与 Cl^{-} ^[19-20]。ACE 可催化血管紧张素 I(无活性的十肽)向血管紧张素 II(血管收缩因子)的转化,而使血管收缩;另外 ACE 可使舒缓激肽(血管舒张因子)转变为无活性的缓激肽,两体系协同作用导致人体血压的升高^[21]。若能抑制 ACE 的活性,即可达到降血压的效果。目前临床合成降压药物有卡托普利、赖诺普利等,但这些药物副作用大,因此当今世界卫生保健部门面临的主要挑战之一是从天然资源中获取 ACE 抑制剂。而干酪已被广泛地用于研究 ACE 抑制肽。

1985 年,Maruyama 等^[22]从酪蛋白胰蛋白酶水解物中分离出具有 ACE 抑制活性的十二肽(CEI12),以及起源于 β -酪蛋白七肽和五肽,它们在鼠的子宫和回肠的收缩中增强了缓激肽的作用,且其增强效果持续超过 90 min。采用不同的分离鉴定方法获得氨基酸序列结构各不相同,但同样具有降压效果的抑制肽。Bütikofer 等^[23-24]借助 HPLC-MS³ 技术研究发现硬质、半硬质、软质奶酪中均含具有 ACE 抑制活性的三肽 VPP 和 IPP,但是平均浓度存在一定的差异,且提出牛奶预处理、热烫条件和成熟时间可能是影响这 2 种天然多肽浓度的关键因素。Stephanie 等^[25]的研究验证了成熟期对肽浓度的影响,成熟期越长显示了更高的 ACE 抑制活性,另外还指出不同分子量的肽组分 IC_{50} 值存在差异,相较分子量 >10 , >5 kDa 的组分, <5 kDa 的肽组分具有更强的 ACE 抑制活性。Hernández 等^[26]通过凯氏定氮法(Kjeldahl method),每周取样以确定酸可溶性氮(ASN)、非蛋白氮(NPN)和乙醇可溶性氮(EtOH-SN)指数,结合分光光度法和 HPLC,发现墨西哥 Cotija 硬质干酪在成熟结束后达到了 100% ACE 抑制作用,ACE 抑制肽活性与每种氮级分中存在的肽的类型高度相关。众多 α s1-酪蛋白衍生肽以及 β -酪蛋白衍生肽(如 AYFYPEL、LHLPLP)在不同的干酪(如帕玛森、布里、高达、哥瑞纳干酪)中被鉴定出^[27-28]。目前众多 ACE 抑制肽的结构序列陆续被鉴定,但是仍需要进行体内研究以验证抗高血压作用。

2.2 抗氧化肽

人体内自由基的产生和清除处在动态平衡状态,当体内自由基过量时,就会发生氧化反应导致机体发生多

种疾病。研究^[29]表明,通过膳食供应是降低机体氧化应激水平的一种现实可行的方法。食源性抗氧化肽由于天然安全、抗氧化性高的特点备受人们的关注,是目前研究较热的多肽。而干酪由于其富含优质的蛋白质也成为人们研究抗氧化肽的一个极好的出发点。

Maria 等^[30]制作干酪时分别添加植物、动物、微生物凝乳酶,发现添加植物凝乳酶的干酪有更高的抗氧化活性,而且这些抗氧化肽段的 N 末端中存在更多的疏水性氨基酸(如 Val 或 Leu),这也可能是造成更高抗氧化性的原因之一。有学者^[31-33]在研究抗氧化肽的构效关系中也得出了疏水性的氨基酸是抗氧化肽的特征结构,对自由基清除活性的贡献更大。对抗氧化肽活性的评估常用 DPPH、ABTS 自由基清除法。Stephanie 等^[25]对切达奶酪水溶液进行分级处理得到不同分子量肽组分,发现分子量 >10 kDa 的肽组分有更高的 DPPH 自由基的清除力,其清除率达到 13% 左右。有研究^[34]评估菲达干酪、佩科里诺干酪和洛克福干酪,ABTS 自由基清除率为 32%~45%,但只有洛克福干酪显示了 DPPH 自由基清除活性,而且其抗氧化肽与先前已鉴定的肽有共享序列。Mushtaq 等^[35]发现冷藏和室温条件下对 Himalayan 奶酪的抗氧化性有显著性提高,而冷冻条件下无任何的影响,这也间接证明 Himalayan 奶酪具有潜在的营养功能性,但是其生物利用度有待进一步的研究。

2.3 抗菌肽

抗菌肽是微生物发酵、酶消化或体外蛋白水解的产物。它们来源安全、无公害,较少会引起细菌的耐药性,因此广受国内外研究者的青睐,更加能被消费者所接受。Lima 等^[36]研究了来自巴西伯南布哥州的 Coalho 干酪的粗提物,发现其对粪肠球菌 ATCC 6057、枯草芽孢杆菌 ATCC 6633、大肠杆菌 ATCC 25922 和铜绿假单胞菌 ATCC 27853 有抗菌效果;并指明大约 5 g 的干酪便能够抑制这些病原微生物生长。另研究^[37]发现 Coalho 干酪中,免疫调节和抗菌肽多为 α s1-酪蛋白衍生肽(f1-23),这被确定为巴西奶酪权威性的标志。Fialho 等^[38]借助 MALDI-TOF / TOF、MASCOT Daemon 与 UniProt 数据库结合对肽进行分析,发现 2 种新的 β -酪蛋白衍生的抗菌肽序列 HQPHQPLPPT 和 MHQPHQPLPPT,但其生物活性未知。Théolier 等^[39]评估了 5 种干酪(马苏里拉、高达、瑞士、中期、长期成熟切达干酪)的水溶性提取物(WSE)对几种食源性病原体的抗菌性,在脱盐和有机酸之前,不同干酪对李斯特菌 *ivanovii*、单增李斯特氏菌、大肠杆菌 MC4100 和大肠杆菌 O157:H7 有不同程度抗菌效果。但经脱盐纯化后,只有马苏里拉和高达干酪对李斯特菌 *ivanovii* 和大肠杆菌 MC4100 有明显的抗菌效果,说明 WSE 的纯化处理对干酪抗菌性有一定影响。另有研究^[40-42]发现肽的疏水性对抗菌活性也有一定的贡献,

而且处理条件(温度、pH、离子浓度)对抗菌肽活性有显著影响。目前,关于干酪水溶性提取物的抗菌肽研究颇多,但有关直接食用干酪在体内显示抗菌效果的研究并不多。

3 干酪活性肽的生物利用与转化

生物活性肽需经过胃肠道的消化吸收后才能在机体内有效发挥作用,但胃肠道中的一些蛋白酶的存在是限制其吸收的重要阻碍。生物利用度是指摄取的营养物质或活性物质能够用于发挥生理功能或者能够在体内储藏,它是评价营养有效性的一个关键指标。现在很多关于多肽提取分离、氨基酸序列鉴定及构效关系的研究^{[40][43]89-90},但是人体摄入的多肽如何在胃肠道中保持稳定,并被人体吸收以发挥其功能性,是当前研究的重要课题。

Regazzo 等^[44]研究了牛乳 β -酪蛋白具有免疫功能的 f(193~209)十七肽,通过 Caco-2 细胞模型的单层转运发现,仅有 1% 的肽组分能够被吸收。有些多肽是能够经胃肠道到达血液发挥作用。有学者^[27,45]对不同类型的干酪进行了体外胃肠道消化试验,通过消化前后肽谱的对比发现 ACE 抑制肽的类型和总量发生很大变化,且 IC_{50} 值降低,说明其抗高血压活性提高。而且通过 Caco-2 细胞模型试验发现部分 ACE 抑制肽可被部分吸收。对生物活性肽的研究不仅仅局限于体外模拟试验,体内研究更加重要,但是有关体内研究数据相对较少。Caira 等^[46]进行人体试验,受试者每天摄入 100 g 奶酪(1 g 酪蛋白磷脂肽, CPPs)1 周,并在血浆中检测到酪蛋白磷脂肽 CPPs。用含酪蛋白配方食物喂食小鼠 2 周和 4 周后,在血浆中检测到 β -酪啡肽(BCM)。

Giacomo 等^[47]对“Stracchino”软质奶酪进行了体外消化试验,通过半制备反相液相色谱(RPLC)分离消化物,发现释放的肽中含 2 种丰富的六肽(EAMAPK 和 AVYPYQ)在减少氧化细胞应激、抑制 ROS 释放和增加抗氧化反应方面表现出显著的作用。王波^{[43]31-88}利用 Caco-2 细胞模型研究了肽组分子量的大小、电荷性、疏水性对多肽生物利用度以及消化吸收中跨转运路径的影响,发现肽组分是弱疏水性时,它的吸收率和抗氧化性保留率值高,而且生物利用度显著。深入研究经小肠上皮细胞吸收后的生物利用度对多肽的利用有重要的意义。

目前为止,有文献^[48]报道了口服给予分离的蛋白质或肽的耐受性良好,没有观察到副作用,因此口服耐受性肽是生成新的营养保健品作为药物替代品的关键点。

4 干酪生物活性肽与肠道菌群关系

胃肠道菌群与机体的健康以及免疫调节功能息息相关。干酪中的生物活性肽在胃肠道中可作为氮源供微生物利用,对于肠道菌群而言是促进作用还是抑制作用需

深入研究发现,目前已有关于干酪肽对肠道有益菌影响的报道^[49]。

明珠等^[50]利用个体化基因组测序系统,发现乳源酪蛋白糖巨肽 CGMP 促进了溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠肠道菌群的多样性。其他研究^[51]也证实了 CGMP 可以作为乳源的生物活性肽应用于肠道菌群的调节剂或促进剂,对肠道有益菌的生理状态具有显著影响。Charlet 等^[52]使用嗜热链球菌和瑞士乳杆菌制作干酪时,发现两者之间有一定的生长互惠关系,但是未指明这种互利关系的关键物质。此后程志才等^[53]结合流式细胞术研究得出不具有空间构象的 QEPV 肽能够很好地被嗜热链球菌所吸收,一定质量浓度的 QEPV (0.50 mg/mL)能够显著促进嗜热链球菌的生长和发酵,也因此证实了 QEPV 肽是嗜热链球菌和瑞士乳杆菌互惠关系的桥梁物质之一。Basiricò 等^[28]研究了 Parmigiano Reggiano 干酪消化后的肽组分对双歧杆菌和乳酸杆菌的影响,结果发现多数肽可被 2 种菌体特异性地消耗,且双歧杆菌对肽组分的消耗更加多样化且消耗量更大,这些肽组分作为氮源能够有效促进大多数乳酸杆菌和双歧杆菌的生长。但 Sedaghatia 等^[40]在研究 β -酪蛋白的纤溶酶消化物的抗菌特性时发现消化物中的肽组分除了对 2 种致病菌有抑制作用外,2 种益生菌(干酪乳杆菌和嗜酸乳杆菌)对抗菌肽也较为敏感,所以多肽对有益菌的增殖具有一定的选择性,并不是促进所有细菌的生长。因此在食品工业生产中需要考虑生物活性肽对多种益生菌是促进还是抑制影响。

5 总结及展望

肽是 21 世纪生物应用的前沿课题,在功能保健食品和特殊医药食品方面具有广阔的前景。因此含高营养蛋白质的干酪是研究多肽的关键点。

干酪生物活性肽经蛋白质的水解而产生,并表现出多种生物活性,其对未来功能性产品的研发具有重要意义。新序列的干酪多肽不断被发现,但是很多研究^[21,30,38]并未考虑到小肠吸收的问题,即使通过肠道模拟试验。人体真实水解环境以及肠道微生物之间强烈且不可预测的竞争,需要更加深入的研究与讨论。

研究者未来可借助多种分析手段分离干酪生物活性肽和追踪肽在体外消化吸收过程中或人和动物血浆中的变化轨迹,以此增加对特定活性肽的分子机制和药物动力学性质的科学认识,并将完善对健康的影响机理。

参考文献

- [1] 杨伟民,韩蒙.中国奶酪的市场现状与营销建议[J].中国乳业,2014(4):8-11.
- [2] 牛婕.牦牛乳软质干酪加工工艺技术及其成熟过程中风味物质的研究[D].兰州:甘肃农业大学,2010:1.

- [3] KITTS D D, WEILER K. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2003, 9(16): 1 309-1 323.
- [4] KORHONEN H, PIHLANTO A, KORHONEN H, et al. Bioactive peptides: production and functionality[J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16(9): 945-960.
- [5] CORRÊA A P F, DAROIT D J, COELHO J, et al. Antioxidant, antihypertensive and antimicrobial properties of ovine milk caseinate hydrolyzed with a microbial protease[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2011, 91(12): 2 247-2 254.
- [6] LOTTI E, OLIVIA M. Update on bioactive peptides after milk and cheese digestion[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2017, 14: 116-121.
- [7] CONDEZO-HOYOS L, NORATTO G D. Aged american cheddar cheese as source of protein derived compounds that modulate obese mice fecal bacteria and colon inflammation in vitro[J]. *J Nutrition Health Food Sci*, 2016, 4(5): 1-10.
- [8] CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, PIOVESANA S, et al. Recent trends in the analysis of bioactive peptides in milk and dairy products[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(11): 2 677-2 685.
- [9] BAPTISTA D P, GALLI B D, CAVALHEIRO F G, et al. *Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptide during Prato cheese ripening[J]. *International Dairy Journal*, 2018, 87: 75-83.
- [10] CLAUDIA A, STEFANO S, PAOLA P, et al. Tolerability of a Fully matured cheese in cow's milk allergic children: biochemical, immunochemical, and clinical aspects[J]. *Plos One*, 2012, 7(7): e40945.
- [11] SFORZA S, CAVATORTA V, LAMBERTINI F, et al. Cheese peptidomics: a detailed study on the evolution of the oligopeptide fraction in Parmigiano-Reggiano cheese from curd to 24 months of aging[J]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95(7): 3 514-3 526.
- [12] VERDINI R A, ZORRILLA S E, RUBIOLO A C. Characterisation of soft cheese proteolysis by RP-HPLC analysis of its nitrogenous fractions: Effect of ripening time and sampling zone[J]. *International Dairy Journal*, 2004, 14(5): 445-454.
- [13] SOUSAAM J, ARDOB Y, SWEENEY P L H MC. Advances in the study of proteolysis during cheese[J]. *International Dairy*, 2001(11): 327-345.
- [14] BAPTISTA D P, ARAÚJO F D S, EBERLIN M N, et al. A survey of the peptide profile in prato cheese as measured by MALDI-MS and capillary electrophoresis[J]. *Journal of food science*, 2017, 82(2): 386-393.
- [15] SHANMUGAM V P, KAPILA S, SONFACK T K, et al. Antioxidative peptide derived from enzymatic digestion of buffalo casein[J]. *International Dairy Journal*, 2015, 42: 1-5.
- [16] NORRIS R, POYARKOV A, O'KEEFFE M B, et al. Characterisation of the hydrolytic specificity of *Aspergillus niger* derived prolyl endoproteinase on bovine β -casein and determination of ACE inhibitory activity[J]. *Food Chemistry*, 2014, 156: 29-36.
- [17] WANG Zhan-li, ZHANG Sai-sai, WANG Wei, et al. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from the milk casein: virtual screening and docking studies[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10(3): 463-467.
- [18] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2015》概要[J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(6): 521-528.
- [19] IBRAHIM H R, AHMED A S, MIYATA T. Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk[J]. *Journal of Advanced Research*, 2017, 8(1): 63-71.
- [20] 王娟. 酶法制备羊乳酪蛋白 ACE 抑制肽及分离纯化[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014: 2.
- [21] LU Yang, GOVINDASAMY S, LUCEY J A. Angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory peptides in commercial wisconsin cheddar cheeses of different ages[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(1): 41-52.
- [22] MARUYAMA S, NAKAGOMI K, TOMIZUKA N, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II. Isolation and bradykinin-potentiating activity on the uterus and the ileum of rats[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1985, 49(5): 1 405-1 409.
- [23] BÜTIKOFER U, MEYER J, SIEBER R, et al. Quantification of the angiotensin-converting enzyme-inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in hard, semi-hard and soft cheeses[J]. *International Dairy Journal*, 2007, 17(8): 968-975.
- [24] BÜTIKOFER U, MEYER J, SIEBER R, et al. Occurrence of the angiotensin-converting enzyme inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in different cheese varieties of Swiss origin[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(1): 29-38.
- [25] PRITCHARDS R, PHILLIPS M, KAILASAPATHY K, et al. Identification of bioactive peptides in commercial cheddar cheese[J]. *Food Research International*, 2010, 43(5): 1 545-1 548.
- [26] HERNÁNDEZ-GALÁN L, CARDADOR-MARTÍNEZ A, PICQUE D, et al. ACEI and antioxidant peptides release during ripening of Mexican Cotija hard cheese[J]. *Journal of Food Research*, 2016, 5(3): 85-89.
- [27] STUKNYTE M, CATTANEO S, MASOTTI F, et al. Occurrence and fate of ACE-inhibitor peptides in cheeses and in their digestates following in vitro, static gastrointestinal digestion[J]. *Food Chemistry*, 2015, 168: 27-33.

- [28] BOTTARI B, QUARTIERI A, PRANDI B, et al. Characterization of the peptide fraction from digested Parmigiano Reggiano cheese and its effect on growth of lactobacilli and bifidobacteria[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 255: 32-41.
- [29] 于洋, 祁艳霞, 靳艳. 乳源生物活性肽研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(9): 259-266.
- [30] TIMÓN M L, PARRA V, OTTE J, et al. Identification of radical scavenging peptides (< 3 kDa) from Burgos-type cheese[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 57: 359-365.
- [31] FARVIN K H S, BARON C P, NIELSEN N S, et al. Antioxidant activity of yoghurt peptides Part 2: Characterisation of peptide fractions[J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(4): 1 090-1 097.
- [32] ZHU Chao-zhi, ZHANG Wan-zhi, ZHOU Guang-hong, et al. Isolation and identification of antioxidant peptides from jinhua ham[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2013, 61(6): 1 265-1 271.
- [33] BAMDAD F, CHEN Ling-yun. Antioxidant capacities of fractionated barley hordein hydrolysates in relation to peptide structures[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2013, 57(3): 493-503.
- [34] MEIRA S M M, DAROIT D J, HELFER V E, et al. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay[J]. *Food Research International*, 2012, 48(1): 322-329.
- [35] MUSHTAQ M, GANI A, MASOODI F A, et al. Himalayan cheese (Kalari/Kradi): Effect of different probiotic strains on oxidative stability, microbiological, sensory and nutraceutical properties during storage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 67: 74-81.
- [36] LIMA M S F, SILVA R A, LIMA FILHO J L, et al. Artisanal "coalho" cheese: alternative source of antimicrobial peptides[J]. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2017, 20: 2-5.
- [37] FONTENELE M A, BASTOS M D S, SANTOS K M O, et al. Peptide profile of Coalho cheese: a contribution for protected designation of origin (PDO)[J]. *Food Chemistry*, 2017, 219: 382-390.
- [38] FIALHO T L, CARRIJO L C, JÚNIOR M J M, et al. Extraction and identification of antimicrobial peptides from the Canastra artisanal minas cheese[J]. *Food Research International*, 2018, 107: 406-413.
- [39] THÉOLIER J, HAMMAMI R, FLISS I, et al. Antibacterial and antifungal activity of water-soluble extracts from Mozzarella, Gouda, Swiss, and Cheddar commercial cheeses produced in Canada[J]. *Dairy Science & Technology*, 2014, 94(5): 427-438.
- [40] SEDAGHATI M, EZZATPANAH H, BOOJAR M M A, et al. Isolation and identification of some antibacterial peptides in the plasmin-digest of β -casein [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 68: 217-225.
- [41] SEDAGHATI M, EZZATPANAH H, BOOJAR M M, et al. Plasmin digest of κ -casein as a source of antibacterial peptides[J]. *Journal of Dairy Research*, 2014, 81(2): 245-251.
- [42] 吴琼英, 茅妍. 乳源抗菌肽的抑菌活性及其影响因素[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2010: 184-187.
- [43] 王波. 酪蛋白抗氧化肽结构特征对其生物利用度的影响及其跨膜转运机制的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016.
- [44] REGAZZO D, MOLLÉ D, GABAI G. The (193-209) 17-residues peptide of bovine β -casein is transported through Caco-2 monolayer [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2010, 54(10): 1 428-1 435.
- [45] BASIRICO L, CATALANI E, MORERA P. Release of angiotensin converting enzyme-inhibitor peptides during in vitro gastrointestinal digestion of Parmigiano Reggiano PDO cheese and their absorption through an in vitro model of intestinal epithelium[J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(11): 7 595-7 601.
- [46] CAIRA S, PINTO G, VITAGLIONE P, et al. Identification of casein peptides in plasma of subjects after a cheese-enriched diet[J]. *Food Res. Int.*, 2016, 84: 108-112.
- [47] GIACOMO P, EDUARDO S, GIOVANNI V. Antioxidant peptides released from gastrointestinal digestion of "Stracchino" soft cheese: Characterization, in vitro intestinal protection and bioavailability[J]. *Journal of Functional Food*, 2016, 26: 494-505.
- [48] CICERO A F, FOGACCI F, COLLETTI A. Potential role of bioactive peptides in prevention and treatment of chronic diseases: a narrative review[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(11): 1 378-1 394.
- [49] 李春慧, 蒲万霞, 吴润, 等. 微生物制剂应用研究概况[J]. *动物医学进展*, 2013, 34(11): 114-118.
- [50] 明珠, 陈庆森, 刘雪姬, 等. 乳源酪蛋白糖巨肽对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群多样性的影响[J]. *食品科学*, 2016, 37(5): 154-161.
- [51] 曹晋宜, 陈庆森, 王友湘, 等. 酪蛋白糖巨肽(CGMP)对小鼠肠道菌群消长规律的影响[J]. *食品科学*, 2007(11): 536-540.
- [52] CHARLET M, DUBOZ G, FAURIE F, et al. Multiple interactions between *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* strongly affect their growth kinetics during the making of hard cooked cheeses[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 131(1): 10-19.
- [53] 程志才, 陈静, 李婉如, 等. 嗜热链球菌对生物活性肽 QEPV 吸收和利用的研究[J]. *中国乳品工业*, 2016, 44(11): 4-7.