

DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2020.10.026

羊骨多肽酶法制备工艺优化及抗氧化活性研究

Optimization enzymatic preparation process and antioxidant activity of sheep bone polypeptide

李晓叶¹ 张珍¹ 王琼² 王雪琦¹

LI Xiao-ye¹ ZHANG Zhen¹ WANG Qiong² WANG Xue-qi¹

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 平凉市产品质量监督检验中心, 甘肃 平凉 744000)

(1. Gansu Agricultural University, School of Food Science and Engineering, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Pingliang City Product Quality Supervision and Inspection Center, Pingliang, Gansu 744000, China)

摘要:以羊骨粉为原料,用碱性蛋白酶进行酶解制备具有抗氧化活性的酶解多肽液。以水解度为指标,优化了羊骨多肽酶法制备工艺条件,并对酶解液的抗氧化能力进行了测定。结果表明,碱性蛋白酶制备羊骨多肽的最佳制备工艺条件为酶解时间5 h,酶解温度45 ℃,加酶量8 200 U/g,酶解pH值10,该条件下羊骨粉的水解度为(28.36±0.02)%。羊骨粉酶解液与对照组(未被碱性蛋白酶酶解的羊骨粉溶液)的抗氧化能力均随着溶液浓度的增加而上升,当酶解液浓度达到2.5 mg/mL时对DPPH自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基清除率和还原力均达最大值,分别为(65.42±0.11)%,(82.30±0.27)%,(79.83±0.22)% ,0.484±0.007,显著高于对照组(P<0.05)。说明碱性蛋白酶水解羊骨粉得到的酶解多肽液具有体外抗氧化活性。

关键词:羊骨粉;碱性蛋白酶;酶解;抗氧化性

Abstract: Herein, the enzymatic hydrolysis polypeptide solution with antioxidant activity was prepared by enzymatic hydrolysis with alkaline protease using sheep bone powder as raw material. Taking hydrolysis degree as index, response surface optimization was carried out on the basis of single factor tests of enzymolysis time, enzymolysis temperature, enzyme dosage and enzymolysis pH. Taking sheep bone meal solution which has not been hydrolyzed by alkaline protease as the control group, the antioxidant capacity of the hydrolysate was determined. The results showed that the highest degree of hydrolysis of alkaline protease was

(28.36±0.02)% when the enzymolysis time was 5 h, the enzymolysis temperature was 45 ℃, the enzyme dosage was 8 200 U/g, and the enzymolysis pH value was 10. The antioxidant capacity of the enzymolysis solution and the control group both increased with the increase of solution concentration. When the concentration of the solution reached 2.5 mg/mL, the scavenging rate and reducing power of 1, 1- diphenyl -2- trinitrophenylhydrazine (DPPH), hydroxyl radical (\cdot OH), superoxide anion radical ($O_2^- \cdot$) of sheep bone enzymatic hydrolysate reached the maximum values, which were (65.42±0.11)%, (82.30±0.27)%, (79.83±0.22)%, 0.484±0.007 respectively, significantly higher than those of the control group (P<0.05). Therefore, the enzymolysis polypeptide liquid obtained by hydrolyzing sheep bone meal with alkaline protease has antioxidant activity in vitro.

Keywords: sheep bone powder; alkaline protease; enzymatic hydrolysis; antioxidant activity

羊骨中的蛋白质含量高达18.6%,其中胶原蛋白占骨蛋白的90%左右^[1]。但目前羊骨主要以非深加工方式用于鱼类、禽类等非反刍动物饲料的添加,利用率很低。

寻找一种天然、高效、低毒的抗氧化剂是现代科研中的一个热门课题^[2]。国内外研究^[3]发现,蛋白酶可将各类动植物源蛋白序列中具有抗氧化活性的片段(即抗氧化肽)酶解分离出来。这些用天然食品制备的抗氧化肽具有分子量小、易被机体吸收、高活性的特点,可以广泛应用于医药、食品、保健品等行业^[4]。目前已有学者对羊骨胶原蛋白肽的酶解工艺及单酶水解羊骨粉效果比较等进行了研究,但未对其酶解液的抗氧化性进行深入研究。傅鑫森等^[5]发现优化酶解工艺后得到的羊骨酶解物具有体外抗氧化活性,但未测定酶解物的还原力。

研究拟以羊骨为原料,用碱性蛋白酶对其进行酶解,

基金项目:甘肃省科技厅重点研发项目(编号:17YF1WA166);甘肃省高等学校创新能力提升项目(编号:2019B-077)

作者简介:李晓叶,女,甘肃农业大学在读硕士研究生。

通信作者:张珍(1971—),女,甘肃农业大学副教授,博士。

E-mail: 332037918@qq.com

收稿日期:2020-03-05

优化酶解工艺,并对酶解液的抗氧化性进行测定,旨在为羊骨的深加工利用提供有效的参数支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

新鲜羊骨:来源于甘肃省甘南藏族自治州玛曲县欧拉乡的藏绵羊;

碱性蛋白酶:200 U/mg,上海源叶生物科技有限公司;

DPPH 标准品:梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;

四硼酸钠:分析纯,天津市光复科技发展有限公司;

十二烷基硫酸钠、焦性没食子酸、菲洛嗪:分析纯,上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

pH 计:PHS-3C 型,上海宁隆仪器有限公司;

分析天平:FA2004B 型,上海越平科学仪器有限公司;

台式高速冷冻离心机:H-1850R 型,长沙湘仪离心机仪器有限公司;

恒温搅拌水浴锅:HH-4A 型,常州金坛精达仪器制造有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 羊骨多肽的制备工艺流程

羊骨→冲洗→剔除大块肉筋→预煮(95 ℃,1 h)→高压蒸煮(120 ℃,1 h)→烘干(60 ℃,5 h)→脱脂(无水乙醇浸泡 24 h)→脱钙(0.5 mol/L 盐酸,浸泡 24 h)→蒸馏水冲洗→烘干(60 ℃,5 h)→冷却→粉碎(过 80 目筛)→羊骨粉→羊骨粉加水预混合(45 ℃,10 min)→调节 pH 值→加入碱性蛋白酶酶解(酶解过程中每隔 1 h 调节一次酶解液的 pH 值,使其保持稳定)→灭酶(95 ℃,15 min)→离心(1 500 r/min,15 min)→上清液(酶解液)→测定水解度^[6-7]

抗氧化试验中的对照组:不添加碱性蛋白酶,其他处理同羊骨粉的酶解处理。

1.3.2 碱性蛋白酶酶解羊骨粉的工艺优化 称取 10 g 羊骨粉与蒸馏水以 1:10 (g/mL)的比例在恒温磁力搅拌器上混合均匀展开羊骨粉酶解试验,操作如下:

(1) 酶解温度:固定酶解 pH 为 9.0,酶添加量为 8 000 U/g 羊骨粉,分别在 30,35,40,45,50 ℃下水解 5 h,考察酶解温度对羊骨粉水解度的影响。

(2) 加酶量:在确定温度的基础上,调节 pH 为 9.0,加酶量分别为 4 000,6 000,8 000,1 0000,12 000 U/g,水解 5 h,考察加酶量对羊骨粉水解度的影响。

(3) 酶解时间:在确定酶解温度、加酶量的基础上,调节 pH 为 9.0,设置酶解时间 2,3,4,5,6 h,考察酶解时间

对羊骨粉水解度的影响。

(4) 酶解 pH:在确定酶解温度、加酶量、水解时间的基础上,设置 pH 为 8.5,9.0,9.5,10.0,10.5 进行酶解,考察酶解 pH 对羊骨粉水解度的影响。

(5) 响应面试验:根据单因素结果,选择酶解的时间、温度、加酶量和 pH 为影响因素,以水解度(DH)为响应值,利用四因素三水平响应面优化分析法优化工艺参数。

1.3.3 水解度的测定 采用 OPA 法^[8]。

1.3.4 抗氧化性的测定

(1) DPPH 自由基清除率:参照 Tai 等^[9]的方法,修改如下:吸取 2 mL 样品与 DPPH—95%乙醇溶液相互混合,避光反应 0.5 h,以 3 000 r/min 离心 15 min,517 nm 波长处测其吸光度,按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$C = \frac{A_s - A_c}{A_b} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C——DPPH 自由基清除率,%;

A_s ——2 mL 样品与 DPPH 溶液的吸光度;

A_c ——2 mL 样品与 2 mL 95%乙醇溶液的吸光度;

A_b ——2 mL 样品与 DPPH—95%乙醇溶液的吸光度。

(2) 羟自由基清除率:依据 Zhang 等^[10]的方法,修改如下:取 1.0 mL 样品置于试管内,先后加入邻二氮菲—乙醇、磷酸盐缓冲液、0.03%过氧化氢和 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,混匀,在 37 ℃恒温条件下水浴 1 h,冷却至室温,以 4 000 r/min 离心 10 min,于 532 nm 处检测吸光度为 A_s ,按式(2)计算羟自由基清除率。

$$C = \frac{A_s - A_n}{A_b - A_n} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

C——羟自由基清除率,%;

A_s ——样品组吸光度;

A_b ——空白组吸光度;

A_n ——损伤组吸光度(去离子水代替 H_2O_2 溶液)。

(3) 超氧阴离子自由基清除能力:参照文献^[11]。

(4) 还原能力:参照文献^[12]。

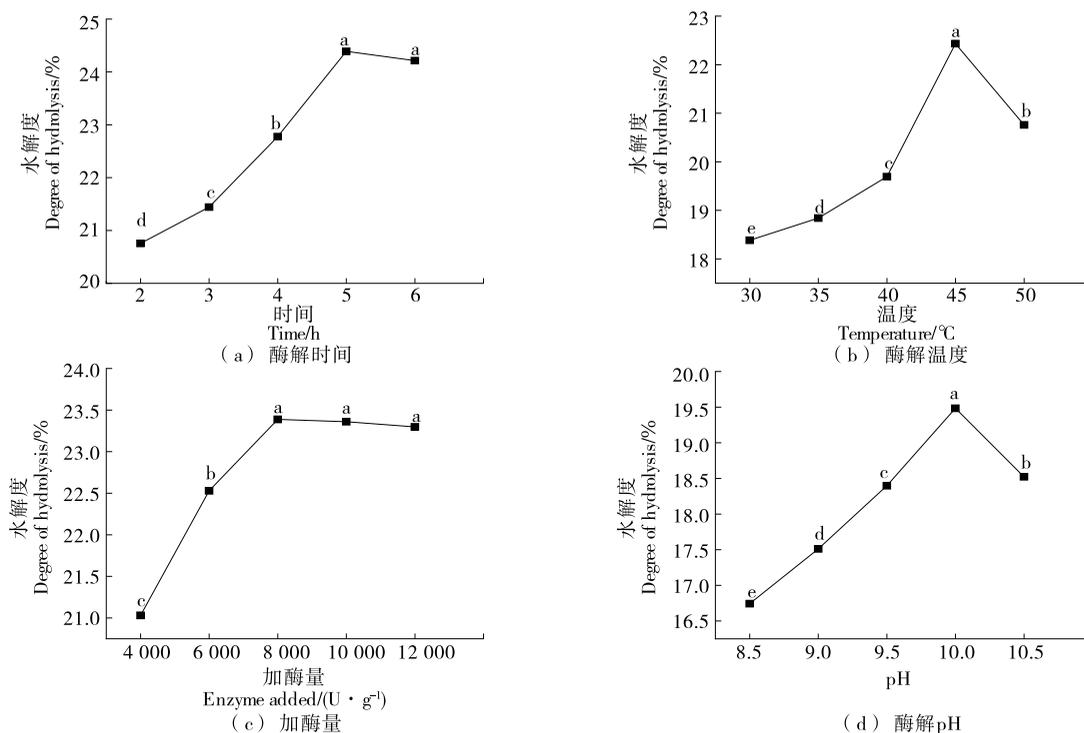
1.4 统计分 析

采用 Design-Expert 8.0.6 开展响应面试验的设计及结果分析,利用 IBM SPSS statistics 22.0 软件统计分析,借助 Origin 8.5 绘制图形。

2 结果与分 析

2.1 单因素试验

如图 1 所示,酶解时间选择 5 h,反应温度选择 45 ℃,考虑经济效益,加酶量选择 8 000 U/g,酶解 pH 选择 10 较为适宜。



字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 1 单因素对水解度的影响

Figure 1 The influence of single factor on the degree of hydrolysis

2.2 响应面实验

2.2.1 响应面实验设计及结果分析 由单因素试验结果,选择酶解的时间、温度、加酶量和 pH 值四因素(见表 1),利用 Box-Behnken 中心组合原理设计四因素三水平的响应面实验,设计及结果见表 2。

利用 Design-Expert 8.0.6 软件对水解度与各响应量进行回归拟合后得各因素与响应值关系的函数:

表 1 Box-Behnken 试验因素水平表

Table 1 Factors with actual and coded levels used in Box-Behnken design

水平	A 时间/h	B 温度/°C	C 加酶量/(U · g ⁻¹)	D pH
-1	4	40	6 000	9.5
0	5	45	8 000	10.0
1	6	50	10 000	10.5

表 2 响应面实验的设计及结果

Table 2 Design and results of response surface test

试验号	A	B	C	D	水解度/%	试验号	A	B	C	D	水解度/%
1	-1	-1	0	0	18.32	16	0	1	1	0	22.19
2	1	-1	0	0	20.46	17	-1	0	-1	0	21.64
3	-1	1	0	0	23.34	18	1	0	-1	0	21.84
4	1	1	0	0	23.03	19	-1	0	1	0	22.34
5	0	0	-1	-1	20.13	20	1	0	1	0	25.16
6	0	0	1	-1	23.42	21	0	-1	0	-1	17.78
7	0	0	-1	1	24.07	22	0	1	0	-1	23.86
8	0	0	1	1	23.85	23	0	-1	0	1	23.79
9	-1	0	0	-1	20.12	24	0	1	0	1	23.52
10	1	0	0	-1	21.30	25	0	0	0	0	26.08
11	-1	0	0	1	22.45	26	0	0	0	0	28.89
12	1	0	0	1	23.32	27	0	0	0	0	28.50
13	0	-1	-1	0	17.62	28	0	0	0	0	27.71
14	0	1	-1	0	24.01	29	0	0	0	0	27.86
15	0	-1	1	0	22.84						

$$R = 27.81 + 0.58A + 1.60B + 0.87C + 1.20D - 0.61AB + 0.66AC - 0.77AD - 1.76BC - 1.59BD - 0.88CD - 3.09A^2 - 3.41B^2 - 2.37C^2 - 2.55D^2. \quad (3)$$

对模型进行方差分析,结果见表3。

由表3可知,试验所用的二次回归模型极显著($P < 0.0001$),表明该方程中的因变量及自变量存在显著的线性关系;失拟项不显著($P > 0.05$),表明与实际拟合相近;模型的调整系数 $R_{adj}^2 = 0.9318$,表明93.18%的响应值发生变化时,可以利用模型来进行阐述;相关系数 $R^2 = 0.9659$,表明该模型与实际相吻合,不存在较多的误差,模型较为合理;离散系数 $CV = 3.30\% < 10.00\%$,信噪比 $27.24 > 4.00$,说明比值理想。

由图2、3可知,酶解时间和酶解温度以及酶解时间和加酶量的交互作用均对水解度影响显著;酶解pH和酶解时间的交互作用对水解度的影响不显著;酶解温度和加酶量以及酶解温度和酶解pH的交互作用均对水解度影响极显著($P < 0.01$);加酶量和酶解pH的交互作用对水解度的影响显著。

2.2.2 模型验证 通过响应面软件分析得到碱性蛋白酶酶解羊骨粉的优化工艺参数为酶解时间5.09 h,酶解温度45.80 °C,加酶量8 213.17 U/g,酶解pH值为10.08,该条件下水解度预测值为28.11%。考虑到试验的可行性,调

整最优工艺条件为酶解时间5 h,酶解温度45 °C,加酶量8 200 U/g,酶解pH 10,并进行验证实验($n = 3$),其实测水解度为 $(28.36 \pm 0.02)\%$ 。说明采用响应面法优化碱性蛋白酶水解羊骨粉工艺模型可行。

2.3 羊骨酶解物的抗氧化性

2.3.1 DPPH自由基清除能力 由图4可知,随着酶解液质量浓度的增加,其DPPH自由基所具有的清除能力也逐渐提升。酶解液与对照组的 IC_{50} 分别为0.90, 10.75 mg/mL,说明酶解液DPPH自由基清除能力相比羊骨粉溶解液(对照组)有明显提升($P < 0.05$),可能与羊骨酶解形成的小分子多肽相关。根据相关研究^[13]可知,在溶液和溶质或固相与气相的界面,小分子多肽将会产生一种薄膜,从而对目标物加以隔离和保护。

2.3.2 羟自由基清除能力 由图5可知,随着酶解液质量浓度的增加,其羟自由基清除能力逐渐增强,由 $(61.29 \pm 0.21)\%$ 升高至 $(82.30 \pm 0.27)\%$,升高了34.28% ($P < 0.05$)。酶解液与对照组的 IC_{50} 分别为0.45, 0.97 mg/mL,表明经酶解后溶液的羟自由基清除力显著上升。试验结果与甄润英等^[14]报道的鲶鱼骨酶解物的抗氧化活性研究中羟自由基清除效果一致。

2.3.3 超氧阴离子自由基清除能力 由图6可知,羊骨酶解液与对照组的超氧阴离子自由基清除力存在显著差

表3 二次回归方程模型的方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance of quadratic regression equation model of alkaline protease

方差来源	总方差	自由度	均方差	F值	P值	显著性
模型	230.08	14	16.43	28.35	<0.0001	**
A	3.97	1	3.97	6.84	0.0203	*
B	30.53	1	30.53	52.66	<0.0001	**
C	9.17	1	9.17	15.82	0.0014	**
D	17.26	1	17.26	29.76	<0.0001	**
AB	1.50	1	1.50	2.59	0.1300	
AC	1.72	1	1.72	2.96	0.1074	
AD	2.40×10^{-2}	1	2.40×10^{-2}	4.10×10^{-2}	0.8416	
BC	12.39	1	12.39	21.37	0.0004	**
BD	10.08	1	10.08	17.39	0.0009	**
CD	3.08	1	3.08	5.31	0.0370	*
A ²	61.89	1	61.89	106.75	<0.0001	**
B ²	75.38	1	75.38	130.02	<0.0001	**
C ²	36.29	1	36.29	62.95	<0.0001	**
D ²	42.27	1	42.27	72.91	<0.0001	**
残差	8.12	14	0.58			
失拟项	3.47	10	0.35	0.30	0.9449	
纯误差	4.65	4	1.16			
总和	238.19	28				

† **表示差异极显著($P < 0.01$); *表示差异显著($P < 0.05$)。

异($P < 0.05$)。酶解液的 IC_{50} 为 0.35 mg/mL,对超氧阴离子自由基的清除属浓度依赖型。羊骨粉溶解液(对照)的 IC_{50} 为 0.86 mg/mL,对超氧阴离子清除率随溶液质量浓度上升变化不明显($P > 0.05$)。这是由于歧化反应和一些其他的反应可以产生过氧化氢和羟自由基^[15-16],使

清除力增强,且碱性蛋白酶能够显著提高羊骨酶解水解度,使羊骨粉水解彻底,因而小分子量肽段产量增加,酶解液的抗氧化性增强^[17]。

2.3.4 还原力 由图 7 可知,酶解液还原力随着酶解液质量浓度的增加而增大。酶解组相对对照组,其还原力

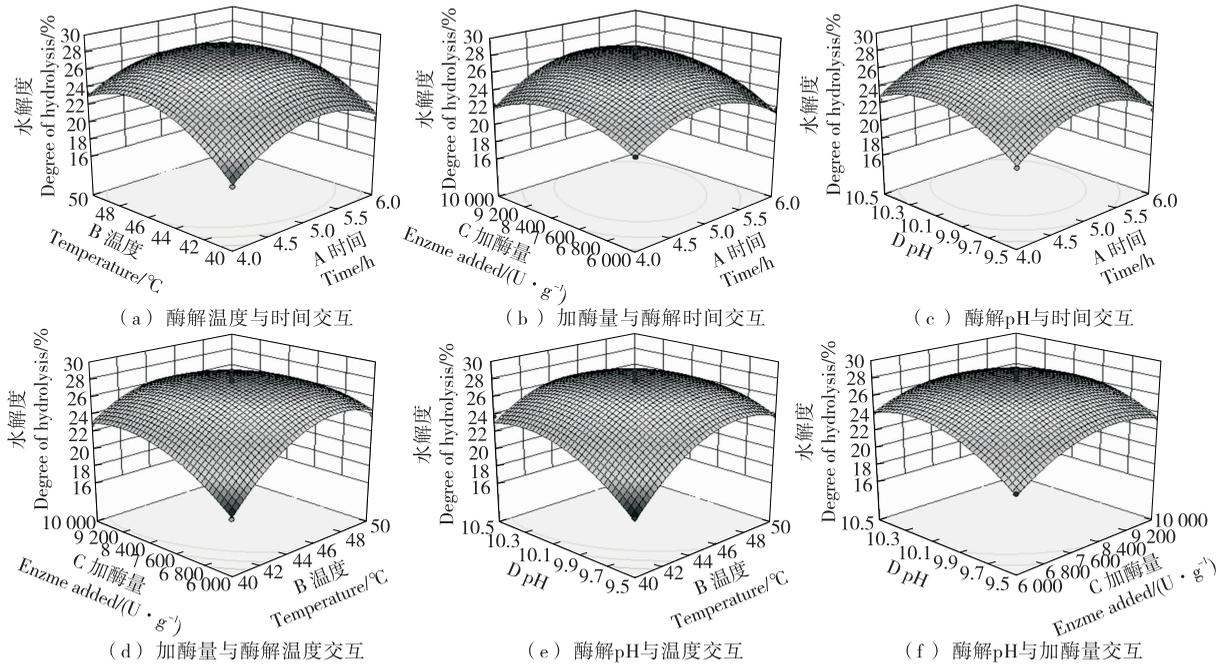


图 2 各因素的交互作用对水解度影响的响应面图

Figure 2 The response surface diagram of the influence of the interaction of various factors on the degree of hydrolysis

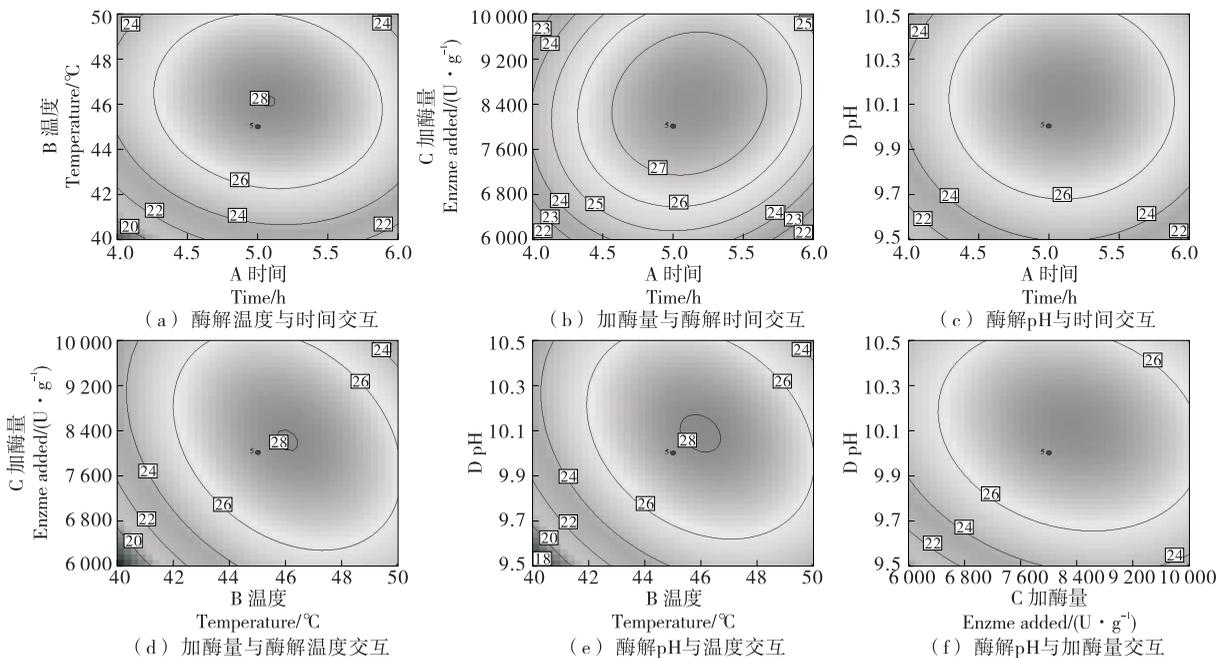
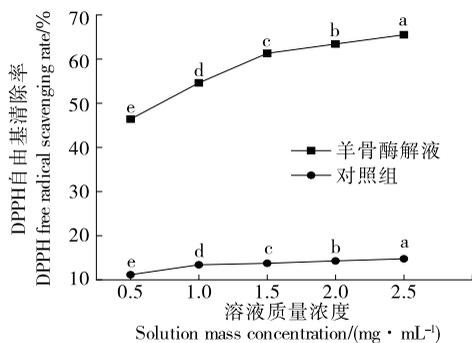


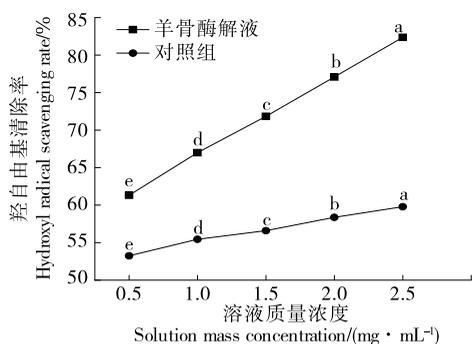
图 3 各因素的交互作用对水解度影响的等高图

Figure 3 Contour plot of the effect of the interaction of various factors on the degree of hydrolysis



字母不同表示差异显著(P<0.05)
图4 酶解液对DPPH自由基的清除能力

Figure 4 Effect of solution mass concentration on DPPH free radical scavenging ability



字母不同表示差异显著(P<0.05)
图5 酶解液对羟自由基的清除能力

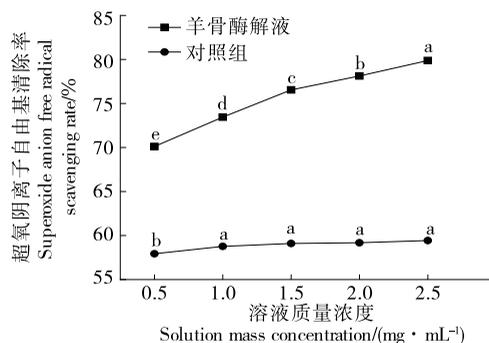
Figure 5 Effect of solution mass concentration on hydroxyl free radical removal capacity

显著提升,酶解液与对照组的 IC_{50} 分别为 2.27, 1.78 mg/mL,但峰值(OD 值)分别为 0.689 和 0.091。还原力在初始浓度下,由 0.022 ± 0.001 提高至 0.247 ± 0.002 ($P < 0.05$),在最高浓度下,由 0.077 ± 0.001 提高至 0.484 ± 0.007 ($P < 0.05$)。说明酶解可以有效提升酶解液的还原力,主要与其中形成的还原性氨基酸残基相关^[13]。试验结果与刘倩霞等^[18]报道的酶解曲拉干酪素研究中还原力效果一致。

3 结论

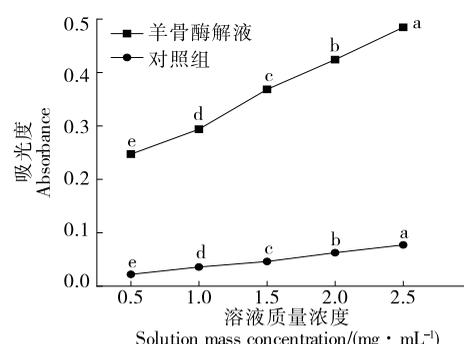
采用响应面法对碱性蛋白酶酶解羊骨粉的工艺进行优化,并且对其酶解液的抗氧化活性进行了探究。结果表明,在酶解时间 5 h,酶解温度为 45 °C,加酶量 8 200 U/g,酶解 pH 值 10 的工艺条件可以较彻底地酶解羊骨粉,提高多肽得率。经酶解后的羊骨碱性蛋白酶解液具有良好的抗氧化性,其 DPPH 自由基清除率、羟自由基清除能力、超氧阴离子自由基清除率以及还原力相对未被酶解的羊骨粉溶解液均显著上升。

试验仅研究了酶解工艺优化及酶解液的抗氧化性,后续将在此基础上分离、纯化和鉴定分子量不相同的



字母不同表示差异显著(P<0.05)
图6 酶解液对超氧阴离子自由基的清除能力

Figure 6 Effect of solution mass concentration on superoxide anion free radical removal capacity



字母不同表示差异显著(P<0.05)
图7 酶解液的还原能力

Figure 7 Effect of solution mass concentration on reducing ability

肽段,并探求其序列,探究肽段的结构及其内在抗氧化机制。

参考文献

- [1] 李桂星. 羊骨素及其衍生化产品提取制备工艺研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2012: 1-3.
- [2] 厉望. 带鱼蛋白酶解制备抗氧化活性肽的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013: 1.
- [3] SARMADI B H, ISMAIL A. Antioxidative peptides from food proteins: A review[J]. Peptides, 2010, 31(10): 1 949-1 956.
- [4] 裴小平, 唐道邦, 肖更生, 等. 抗氧化肽制备的应用现状及趋势[J]. 食品工业科技, 2009, 30(2): 319-322.
- [5] 傅鑫森, 李秀华, 王凯, 等. 高短肽得率羊骨酶解物的制备及其体外抗氧化活性[J]. 山西农业科学, 2017, 45(7): 1 157-1 161.
- [6] 甄守艳. 羊骨胶原肽的酶法制备及肽钙螯合研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2015: 11.
- [7] 王雪琦, 张珍, 徐红艳, 等. 双酶分步酶解提取羊骨中可溶性钙[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(15): 143-149.

(下转第 142 页)

- ability on HepG2 of polyphenols from lotus seed epicarp[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 129: 472-479.
- [9] BINELLO A, CRAVOTTO G, BOFFA L, et al. Efficient and selective green extraction of polyphenols from lemon balm[J]. Comptes Rendus Chimie, 2017, 20(9): 921-926.
- [10] EL KANTAR S, RAJHA H N, BOUSSETTA N, et al. Green extraction of polyphenols from grapefruit peels using high voltage electrical discharges, deep eutectic solvents and aqueous glycerol[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 165-171.
- [11] HUANG Hao, XU Qin, BELWAL T, et al. Ultrasonic impact on viscosity and extraction efficiency of polyethylene glycol: A greener approach for anthocyanins recovery from purple sweet potato [J]. Food Chemistry, 2019, 283: 59-67.
- [12] AHMED H M, TAVASZI-SAROSI S. Identification and quantification of essential oil content and composition, total polyphenols and antioxidant capacity of *Perilla frutescens* (L.) Britt[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 730-738.
- [13] SHEN Ying-bin, ZHANG Hui, CHENG Li-ling, et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1 003-1 012.
- [14] LIM S, CHOI A H, KWON M, et al. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components [J]. Food Chemistry, 2019, 278: 178-184.
- [15] PANDEY A, BELWAL T, SEKAR K C, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM) [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 119: 218-225.
- [16] ROZI P, ABUDUWAILI A, MUTAILIFU P, et al. Sequential extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 97-106.
- [17] 王婧, 郭阳, 包怡红, 等. 仙人掌多酚超声辅助醇提工艺优化及抗氧化、降脂能力分析[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 177-182.
- [18] 张雪春, 刘江, 吴鑫, 等. 响应面法优化提取文冠果壳中多酚类物质及其体外抗氧化能力分析[J]. 中国油脂, 2018, 43(5): 117-122.
- [19] FANG Xin-sheng, WANG Jian-hua, WANG Ying-zi, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of wedelolactone and antioxidant polyphenols from *Eclipta prostrate* L using response surface methodology [J]. Separation and Purification Technology, 2014, 138: 55-64.
- [20] KAZEMI M, KARIM R, MIRHOSSEINI H, et al. Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids[J]. Food Chemistry, 2016, 206: 156-166.
- [21] 盛亚男, 王长远, 张舒, 等. 绿豆多酚提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(10): 193-196.
- [22] 王根女, 苏平, 黄恺婷, 等. 响应面法优化微波提取紫苏叶多酚物质[J]. 中国食品学报, 2009, 9(5): 87-92.

(上接第 135 页)

- [8] 林虬, 黄薇, 宋永康, 等. 棉籽蛋白水解物水解度 3 种测定方法的比较[J]. 福建农业学报, 2011, 26(6): 1 076-1 080.
- [9] TAI A, IOMORI A, ITO H. Structural evidence for the DP-PH radical-scavenging mechanism of 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2017, 25(20): 5 303-5 310.
- [10] ZHANG Yu-feng, DUAN Xiu, ZHUANG Yong-liang. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin[J]. Peptides, 2012, 38(1): 13-21.
- [11] LI Xi-can. Improved pyrogallol autoxidation method: A reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(25): 6 418-6 424.
- [12] GU Feng-lin, ABBAS S, ZHANG Xiao-ming. Optimization of Maillard reaction products from casein-glucose using response surface methodology [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(8): 1 374-1 379.
- [13] 于慧, 刘海梅, 李蒙蒙, 等. 响应面法优化龙须菜蛋白酶解工艺及酶解液的抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2017, 38(12): 157-163.
- [14] 甄润英, 李晓雁, 高巍. 鲑鱼骨酶解物的抗氧化活性研究[J]. 天津农学院学报, 2011, 18(4): 13-15, 19.
- [15] MOURE A, DOMÍNGUEZ H, PARAJÓ J C. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(2): 447-456.
- [16] GHRIBI A M, SILA A, PRZYBYLSKI R, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 516-525.
- [17] 郑志强, 李宝林, 郝利民, 等. 不同蛋白酶对小麦蛋白酶解物抗氧化活性的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38(7): 161-166.
- [18] 刘倩霞, 刘东, 张俊, 等. 2 种蛋白酶酶解曲拉干酪素条件优化及抗氧化性比较[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 225-234.