

乌饭树树叶蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性研究

Study on the α -glucosidase inhibition of the dark blue pigment from the leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.

包正宇^{1,2}

樊铭聪^{1,2}

李 言^{1,2}

钱海峰^{1,2}

BAO Zheng-yu^{1,2}

FAN Ming-cong^{1,2}

LI Yan^{1,2}

QIAN Hai-feng^{1,2}

张 晖^{1,2}

齐希光^{1,2}

王 立^{1,2}

ZHANG Hui^{1,2}

QI Xi-guang^{1,2}

WANG Li^{1,2}

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 食品科学与工程国家重点实验室, 江苏 无锡 214122)

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:目的:研究乌饭树树叶蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶活性的影响以验证其对调节餐后血糖的有益作用。方法:通过富集乌饭树树叶中环烯醚萜苷化合物与外源游离氨基酸化合物反应制备蓝黑色素,探究其对 α -葡萄糖苷酶活性的影响,采用 Lineweaver-Burk 双倒数曲线法和荧光发射光谱法分析其抑制动力学及其相互作用。结果:乌饭树树叶蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶活性具有较好的抑制作用,抑制活性随色素浓度的增加逐渐升高, IC_{50} 值为 0.373 mg/mL。抑制动力学研究表明蓝黑色素属于竞争性和非竞争性的混合抑制类型,荧光光谱结果分析表明色素可导致 α -葡萄糖苷酶分子结构解折叠而使其失活。结论:乌饭树树叶蓝黑色素表现出的 α -葡萄糖苷酶抑制活性可辅助调节餐后血糖。

关键词:乌饭树树叶;蓝黑色素; α -葡萄糖苷酶;抑制活性

Abstract: Objective: The α -glucosidase inhibition (α -GI) activity of dark blue pigment from the leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb. (VBTL) was investigated to confirm the benefits of regulation of postprandial blood sugar. Methods: The dark blue pigment prepared by purified iridoid compounds and exogenous amino compound was used to study the inhibition effect and the inhibition kinetic by Lineweaver-Burk reciprocal curve method. Fluorescence emission spectrum was used to analyze the interac-

tion between the pigment and α -glucosidase. Results: The VBTL dark blue pigment had higher inhibitory effect on α -glucosidase. The α -GI activity increased with the increasing concentration of dark blue pigment and the IC_{50} value was 0.373 mg/mL. The inhibition kinetic analysis showed that the α -glucosidase inhibitory effect of dark blue pigment was competitive and non-competitive mixed inhibition types. Fluorescence spectrum analysis showed that the static quenching model was happened between α -glucosidase and pigment molecules, and this interaction caused the unfolding of the α -glucosidase molecule structure. Conclusion: The α -GI activity of dark blue pigment from VBTL was verified its beneficial effect on regulating postprandial blood glucose, and provided the scientific basis for the development and utilization of pigment of VBTL.

Keywords: *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves; dark blue pigment; α -glucosidase; inhibition activity

人体餐后血糖的变化与消化酶体系中淀粉类消化酶的活性密切相关(如胰腺 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶),其活性越强可导致小肠内的葡萄糖吸收量增加^[1]。以此为作用靶点利用酶抑制剂降低酶活,则可有效降低餐后高血糖的发生。目前天然来源的消化酶抑制剂成为研究的主流,而从日常食用的果蔬、谷物等植物性食物以及中草药中寻找天然的淀粉类消化酶抑制剂成为研究的热点^[2]。乌饭树是一种历史悠久的药用植物资源,其树叶含有丰富的活性成分,具有多种药用功效及良好的染色性能^[3]。中国民间传统谷物食品——乌米饭便是以乌饭树树叶为原料染制,蓝黑色素赋予了乌米饭亮丽的色泽

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:31671890)

作者简介:包正宇,男,江南大学在读本科生。

通信作者:王立(1978—),男,江南大学教授,博士生导师,博士。

E-mail: wl0519@163.com

收稿日期:2021-04-06

和清香的风味,更使其营养价值远超其大米原料。中医认为乌米饭具有补益脾肾、安神明目、止咳乌发的功效^[4],经研究团队调研发现,常食乌米饭可改善 2 型糖尿病患者血糖水平。与普通大米相比,乌米饭中的蓝黑色素是其潜在的活性物质。

结合国内外乌饭树树叶色素的研究进展发现,现阶段的研究一直存在误区:将粗提物中的类黄酮作为色素量化指标来衡量色素的优劣。这类物质在氧化后转化成黑色的醌类化合物,所得色素则是醌类和黄酮化合物的混合物,而制备的色素粗提物与实际乌米表面的蓝黑色并不相符,因此该评价方法并不准确^[5]。Fan 等^[6]通过对比染色体系中活性成分的变化情况发现形成蓝黑色素的前体物质为环烯醚萜苷类化合物,并进一步确证其呈色条件。该化合物经 β -葡萄糖苷酶水解后释放苷元,苷元在酸性条件下可与伯胺基亲核侧链($R-NH_2$)共价结合形成有色络合物^[7],以该类有色络合物为底物继续聚合,可形成含有大量发色团的复杂混合物,即乌米饭染色后所呈现的蓝黑色物质^[8]。基于上述色素呈色机理,Lian 等^[9]进一步优化了色素反应条件,并提出了蓝黑色素的制备方法,与传统乌米饭制备方法相比克服了染色工艺可控性差的缺点。此外,Fan 等^[10]还证实了利用该方法制备的蓝黑色素对猪胰 α -淀粉酶具有较好的抑制性,其 IC_{50} 值为 2.92 mg/mL,但尚未对该色素的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行研究。试验拟针对乌饭树树叶蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性进行探究,以期对乌饭树蓝黑色素的调节血糖功能提供更多的科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

乌饭树树叶:产地江苏省溧阳市;

α -葡萄糖苷酶:酶活 25.4 U/mg,上海源叶生物技术有限公司;

β -葡萄糖苷酶:酶活 20~40 U/mg,上海源叶生物技术有限公司;

葡聚糖凝胶:G-25 型,上海源叶生物技术有限公司;

对硝基苯酚、对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷:纯度 >98%,美国 Sigma 公司;

甘氨酸、无水乙醇、PBS 缓冲盐溶液:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

真空旋转蒸发器:R-100 型,瑞士 Buchi 公司;

离心机:CR21GIII 型,日本日立公司;

冷冻干燥机:FreeZone-6 型,美国 Labcone 公司;

紫外分光光度计:T-9 型,北京普析通用仪器有限公司;

荧光光谱仪:F-7000 型,日本日立公司。

1.3 试验方法

1.3.1 乌饭树树叶蓝黑色素的制备 参照文献^[9]。

1.3.2 对硝基苯酚标准曲线绘制 采用对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(pNP-G)水解法测定 α -葡萄糖苷酶活性^[11]²²⁻²³。pNP-G 经水解后生成对硝基苯酚,在 405 nm 处可检测其最大吸收值,由此可计算 α -葡萄糖苷酶的催化速率及活性。配制对硝基苯酚标准溶液,质量浓度依次为 2,6,10,14,18 μ g/mL,于 405 nm 处检测,根据结果计算回归曲线,得到回归方程: $Y=21.35X+0.028$,其中 $R^2=0.995$ 。

1.3.3 蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用 参照王晓婷^[11]²²的方法。利用 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液(pH 6.9)配制 α -葡萄糖苷酶溶液(0.2 U/mL)和 pNP-G 溶液(1.0 mmol/L),分别取 α -葡萄糖苷酶溶液和色素溶液各 1.0 mL 混匀后 37 $^{\circ}$ C 水浴 10 min。在混合溶液中加入 1.0 mL pNP-G 溶液,37 $^{\circ}$ C 反应 20 min 后,再加入 1.0 mL 无水乙醇以终止酶解反应,定容至 5.0 mL 后利用 405 nm 处吸光值计算酶的活性。测定样品分 4 组:样品组、样品空白组、对照组和空白组,每组 3 个平行。按式(1)计算抑制率。

$$P = \left(1 - \frac{A_s - A_{sb}}{A_c - A_b}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

P ——抑制率,%;

A_s ——样品组吸光度值;

A_{sb} ——样品空白组吸光度值;

A_c ——对照组吸光度值;

A_b ——空白组吸光度值。

1.3.4 蓝黑色素抑制动力学研究 分别配制不同浓度的对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷溶液(0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mmol/L),每个底物浓度溶液中分别加入 1.0 mL α -葡萄糖苷酶溶液(0.2 U/mL)和 1.0 mL 不同浓度的色素溶液进行反应,反应速率由 37 $^{\circ}$ C 条件下 20 min 内 pNP 生成量计算。测得反应速率后以底物 pNP-G 浓度($[S]$)与反应速率(V)作 Lineweaver-Burk 双倒数曲线方程,计算公式:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]}, \quad (2)$$

式中:

v ——初始反应速率, μ g/min;

$V_{\max}$ ——最大初始反应速率, μ g/min;

$[S]$ ——pNP-G 浓度,mmol/L;

K_m ——米氏常数。

混合抑制型和竞争抑制型的 Dixon 方程:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot \alpha}{K_m \left(1 + \frac{i}{K_{ic}}\right) + \alpha \left(1 + \frac{i}{K_{iu}}\right)}, \quad (3)$$

$$v = \frac{V_{\max} \cdot a}{K_m \left(1 + \frac{i}{K_{ic}}\right) + a}, \quad (4)$$

式中:

i ——色素质量浓度, mg/mL;

a ——pNP-G 浓度, mmol/L;

K_{ic} ——竞争性抑制常数;

K_{iu} ——非竞争性抑制常数。

Dixon 曲线不能直接推导出 K_{iu} , 但通过变化不同底物浓度参数可推导 Cornish-Bowden 方程, 即 v/a 和 i 之间的关系。非竞争性抑制或混合抑制可通过该方程反映:

$$\frac{v}{a} = \frac{V_{\max}}{K_m \left(1 + \frac{i}{K_{ic}}\right) + a \left(1 + \frac{i}{K_{iu}}\right)}. \quad (5)$$

将式(5)两侧取倒数, 可转化为 a/v 与 i 之间的线性回归方程, 不同 pNP-G 浓度下各 Cornish-Bowden 曲线相交的横轴截距即为 K_{iu} 。

1.3.5 蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶荧光特性的影响 采用日立荧光光谱仪进行 α -葡萄糖苷酶的荧光光谱测定, 参照 Fan 等^[10]的方法在 300~400 nm 范围内记录光谱变化情况。

可用 Stern-Volmer 方程表示荧光淬灭:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{FQ} [Q] = 1 + K_q \tau_0 [Q], \quad (6)$$

式中:

F_0 、 F —— α -葡萄糖苷酶与色素相互作用前后的荧光强度;

$[Q]$ ——色素质量浓度, mg/mL;

τ_0 ——荧光物质在无淬灭剂影响下的平均寿命, 生物大分子的 τ_0 值一般为 10^{-8} s;

K_q ——淬灭速率常数;

K_{FQ} ——Stern-Volmer 淬灭常数。

式(6)表征荧光动态淬灭时 F_0/F 与 $[Q]$ 的线性关系, 而 F_0/F 与 $[Q]$ 呈指数关系时表示为静态淬灭^[12]。通过修正的 Stern-Volmer 方程式^[7]描述静态淬灭。

$$\frac{F_0}{F} = e^{K_{FQ}[Q]}. \quad (7)$$

可用式(8)描述混合体系中小分子与蛋白分子相互作用的平衡状态^[13]:

$$\lg\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = \lg K_a + n \lg [Q], \quad (8)$$

式中:

K_a ——色素与 α -葡萄糖苷酶之间的结合常数;

n ——结合位点数。

1.3.6 统计分析 每组试验重复 3 次, 数据以平均数士标准差的形式表示, 样品平均值之间的显著性差异以 $P <$

0.05 表示, 使用 Origin 2019 绘图。

2 结果与讨论

2.1 蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

由图 1 可以看出, 当色素质量浓度 > 0.1 mg/mL 时, 蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶具有明显的抑制作用 ($P < 0.05$), 抑制率随着色素质量浓度的增加而增加, 其 IC_{50} 为 0.373 mg/mL。继续增大色素质量浓度, 抑制效果增长速率变缓。众多研究表明植物活性成分对糖苷消化酶具有较好的抑制活性, 徐丛玥等^[14]报道了绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 分别为 0.42, 3.63, 19.63 mg/mL, 李波等^[15]发现红松松鳞片多酚提取物具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其 IC_{50} 为 0.71 mg/mL, 而阿卡波糖的 IC_{50} 为 0.62 mg/mL。而刘杰超等^[16]发现苹果多酚提取物对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 为 0.72 mg/L, 抑制率最高可达到 96.62%。由此可知, 乌饭树树叶蓝黑色素的 α -葡萄糖苷酶抑制作用要优于阿卡波糖及红松松鳞片多酚, 较苹果多酚则略有不足。目前, 阿卡波糖被广泛应用于治疗 2 型糖尿病及耐糖量降低时的餐后高血糖, 但服用后会伴随着肠胃胀气、腹泻、腹胀等副作用^[17]。因此, 作为天然植物色素, 乌饭树树叶蓝黑色素对人体的安全性更高, 其 α -葡萄糖苷酶抑制活性可在调节血糖方面具有良好的应用前景。

2.2 蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶的抑制动力学分析

根据酶活速率的双倒数曲线, 可推算出酶反应体系的米氏常数 K_m 和最大反应速率 $V_{\max}$, 比较曲线变化后可判断色素抑制类型。图 2、图 3 分别为 α -葡萄糖苷酶的 Dixon 和 Cornish-Bowden 曲线。由图 2 可知, Dixon 曲线中不同 pNP-G 浓度的拟合曲线在第二象限无交点。而在 Cornish-Bowden 曲线中(图 3), 各拟合曲线相交于第二象限, 可推算出非竞争抑制常数 $K_{iu} = 0.338$ (表 1)。反应体系中不同 pNP-G 浓度为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mmol/L, 拟合常数 R^2 分别为 0.963, 0.993, 0.987, 0.987, 0.998。保持

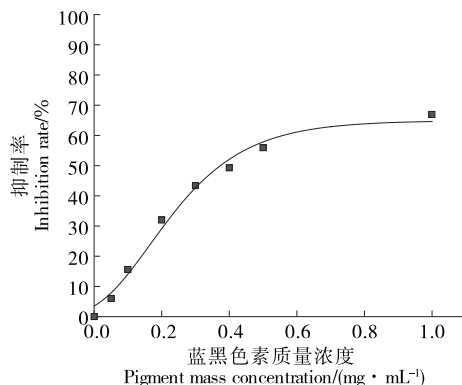


图 1 乌饭树树叶蓝黑色素的 α -GI 活性

Figure 1 The α -glucosidase inhibition activity (α -GI) by VBTL blue pigment

α -葡萄糖苷酶浓度不变,在添加和不添加色素的条件下,改变底物 pNP-G 浓度(0.2~1.0 mmol/L),测定酶反应速率,经回归分析得到 α -葡萄糖苷酶的 Lineweaver-Burk 曲线。对于竞争性可逆抑制,抑制剂浓度变化不会影响 $V_{\max}$ 值, $V_{\max}$ 值恒定,而对于非竞争性可逆抑制,抑制剂浓度的增加对 K_m 值无影响, K_m 值恒定。根据图 4 中的各曲线方程计算,有色素存在时,米氏常数 K_m 值为 2.88 mmol/L,最大反应速率 $V_{\max}$ 为 0.5 $\mu\text{g}/\text{min}$,无色素存在时, K_m 值为 1.58 mmol/L, $V_{\max}$ 为 1.5 $\mu\text{g}/\text{min}$ 。当色素浓度增大时, α -葡萄糖苷酶的酶促反应 K_m 逐渐降低、 $V_{\max}$ 逐渐增大,说明乌饭树树叶蓝黑色素与上述两种典型的抑制类型不同。由图 4 可知,不同色素浓度条件下的 Lineweaver-Burk 曲线方程在第二象限有交点,符合竞争性与非竞争性混合的双倒数曲线图像^[18],因此色素对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型属于竞争性与非竞争性相混合的抑制类型。

在众多植物提取物中,大部分植物提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制类型均属于非竞争性抑制,如:苹果多酚提取

物、红松松球多酚提取物、茶花粉黄酮提取物、大豆异黄酮提取物等^[15-16,19-20],少部分属于竞争性抑制,如葛根素提取物^[21]、栀子黄等^[22],也有一些属于混合型可逆抑制类型,如杨梅^[23]、红旱莲^[24]中的类黄酮提取物,这取决于其中主要活性成分的结构差异。研究人员^[25]还发现,黑莓、树莓等越橘属植物提取物均具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,推测其主要成分为单宁类和花色苷类。最新研究^[7]发现,除多酚类化合物以外,乌饭树树叶中还含有较多的环烯醚萜苷类化合物,该类化合物是形成蓝黑色素的主要前体物质。陈静文等^[26]研究发现多种环烯醚萜苷类化合物均具有良好的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,这是乌饭树树叶蓝黑色素具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的化学物质基础,但其中是何种化合物发挥抑制作用还需进一步筛选分析。

2.3 蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶荧光特性的影响

荧光光谱分析被广泛用来表征荧光发色团分子与淬灭分子之间的相互作用情况。图 5 显示了不同浓度蓝黑色素与 α -葡萄糖苷酶混合溶液在 300~400 nm 范围内的荧光发射光谱变化情况。由图 5 可知, α -葡萄糖苷酶分子的荧光强度峰值位于 339.2 nm,其荧光强度随色素浓度

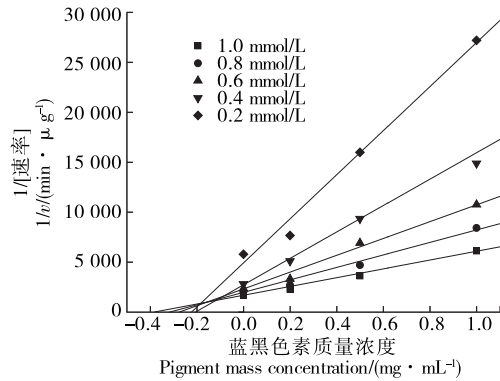


图 2 乌饭树树叶蓝黑色素 α -GI 的 Dixon 曲线
Figure 2 Dixon plots for α -GI of VBTL dark blue pigment

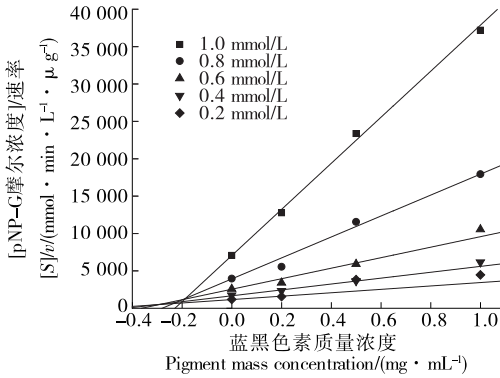


图 3 乌饭树树叶蓝黑色素 α -GI 的 Cornish-Bowden 曲线
Figure 3 Cornish-Bowden plots for α -GI of VBTL dark blue pigment

表 1 乌饭树树叶蓝黑色素的 α -葡萄糖苷酶抑制动力学常数

质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	K_m	$V_{\max}$	K_{iu}	抑制类型
0.0	1.58	1.5		
0.2	1.79	1.2		
0.5	2.42	0.8	0.338	混合型抑制
1.0	2.88	0.5		

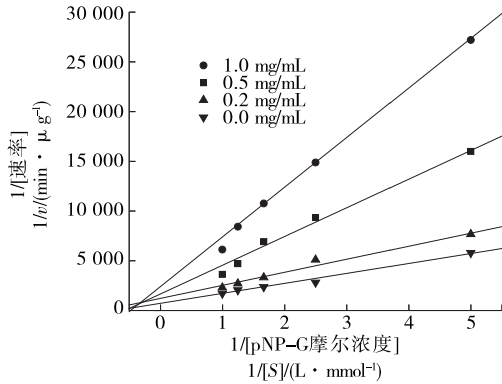


图 4 乌饭树树叶蓝黑色素 α -GI 的 Lineweaver-Burk 双倒数曲线
Figure 4 Lineweaver-Burk double-reciprocal plots for α -GI of VBTL dark blue pigment

的增加而逐渐降低($P<0.05$),色素的加入使 α -葡萄糖苷酶的荧光光谱峰发生红移现象,说明蓝黑色素分子与 α -葡萄糖苷酶发生了相互作用^[27]。

表 2 显示了 α -葡萄糖苷酶荧光强度对比色素浓度的关系,图 6 显示了 α -葡萄糖苷酶荧光淬灭的 Stern-Volmer 曲线,曲线呈正指数增长($P<0.05$),曲线方程为 $y=1.49e^{1.50[Q]}$, R^2 为 0.996,说明色素与 α -葡萄糖苷酶的相互作用模式属于静态淬灭类型。因此,选取修正的

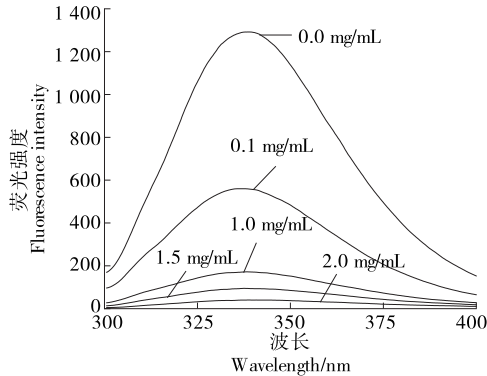


图 5 乌饭树树叶蓝黑色素作用 α -葡萄糖苷酶后的荧光曲线

Figure 5 Fluorescence spectra of α -glucosidase by VBTL dark blue pigment

表 2 乌饭树树叶蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶的荧光参数[†]

Table 2 Fluorescence parameters of α -glucosidase by VBTL dark blue pigment

质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	F_0/F	$K_{FQ}/$ (L · mol ⁻¹)	$K_q/$ ($\times 10^{10}$ L · mol ⁻¹ · s ⁻¹)	$K_a/$ ($\times 10^4$ L · mol ⁻¹)	n
0.0	1.000 $\pm$ 0.000				
0.1	2.292 $\pm$ 0.025				
1.0	7.416 $\pm$ 0.069	648	6.48	2.5	0.991
1.5	13.324 $\pm$ 0.130				
2.0	30.464 $\pm$ 0.553				

[†] 乌饭树树叶蓝黑色素的理论摩尔质量为 431 g/mol。

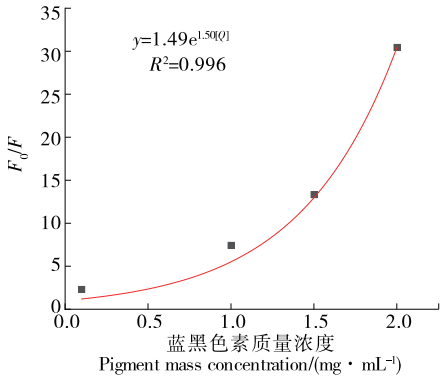


图 6 α -葡萄糖苷酶荧光淬灭的 Stern-Volmer 曲线

Figure 6 Stern-Volmer plots for fluorescence quenching of α -glucosidase

Stern-Volmer 曲线描述荧光淬灭现象,经分析得到 Stern-Volmer 修正方程的拟合曲线斜率为 1.504 mg/mL,基于质谱分析推测出的色素分子量^[9],计算出其 K_{FQ} 值为 648 L/mol。可由生物大分子 τ_0 (10^{-8} s) 推算出 K_q 为 6.48×10^{10} L/(mol · s)。常数 K_q 可以反映荧光淬灭的效率或荧光基团对淬灭剂的可结合水平,其 K_q 值大于生物大分子的最大扩散碰撞淬灭常数 2×10^{10} L/(mol · s)^[13],表明蓝黑色素对酶的荧光淬灭作用是由于色素与酶分子间形成基态复合物引起的静态淬灭现象。

根据式(8), $\lg[(F_0 - F)/F]$ 和 $\lg[Q]$ 呈线性相关性, $R^2=0.919$, 该拟合曲线斜率表示结合位点数(n),而曲线的截距可计算出结合常数(K_a),得到 K_a 为 2.5×10^4 L/mol,结合位点为 0.991,约等于 1。由此可知,乌饭树树叶色素对 α -葡萄糖苷酶具有较好的结合作用,存在一个结合位点。但是,该色素对于不同来源酶的作用效果并不相同。研究团队前期研究^[10]发现,乌饭树树叶蓝黑色素与 α -淀粉酶的理论结合位点存在两个,其抑制作用并没有表现出极强的效果, IC_{50} 为 2.92 mg/mL,而阿卡波糖抑制 α -淀粉酶的 IC_{50} 为 0.87 mg/mL,可能是因为色素与 α -淀粉酶的理论结合位点较多,导致其抑制效率降低,其中的具体机制仍需进一步探究。

3 结论

乌饭树树叶蓝黑色素表现出较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性作用, IC_{50} 值为 0.373 mg/mL。通过抑制动力学分析发现蓝黑色素对 α -葡萄糖苷酶呈竞争性与非竞争性的混合型抑制关系。荧光光谱分析可知色素对 α -葡萄糖苷酶荧光基团的淬灭模式主要以静态淬灭为主,酶分子荧光光谱峰值发生红移,表明色素可破坏 α -葡萄糖苷酶分子的结构稳态,使正常构象解折叠导致酶分子失活。后续将继续探讨蓝黑色素在加工过程中的变化规律及其在其他消化酶体系中的潜在作用。

参考文献

[1] LEE B H, ESKANDARI R, JONES K. Modulation of starch diges-

- tion for slow glucose release through “Toggling” of activities of mucosal α -glucosidases [J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(38): 31 929-31 938.
- [2] CHAPEL C, GARCIA C, ROINGEARD P, et al. Antiviral effect of α -glucosidase inhibitors on viral morphogenesis and binding properties of hepatitis C virus-like particles[J]. Journal of General Virology, 2006, 87: 861-871.
- [3] 屈晶, 陈霞, 牛长山. 南烛化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(4): 684-688.
- QU J, CHEN X, NIU C S, Chemical constituents from *Vaccinium Bracteatum*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(4): 684-688.
- [4] 谭小丹, 陈涵, 王淑娜, 等. 乌饭树的营养价值及其开发利用[J]. 农产品加工, 2016(8): 59-62.
- TAN X D, CHEN H, WANG S N, et al. The nutritional value and its development and utilization of *Vaccinium bracteatum* Thunb[J]. Agricultural Products Processing, 2016(8): 59-62.
- [5] 魏国华, 邵斌, 许新德. 关于乌饭树黑色素制备的新思路[J]. 中国食品添加剂, 2011(4): 135-138.
- WEI G H, SHAO B, XU X D. New research on the preparation of the black pigment from *Vaccinium bracteatum* thunb[J]. Chinese Food Additives, 2011(4): 135-138.
- [6] FAN M C, FAN Y H, HUANG W P, et al. Tentative characterization of precursor compounds and co-factors of pigment formation in production of 'Wu mi' from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves[J]. Food Chemistry, 2018, 262: 199-205.
- [7] FAN M C, LIAN W J, LI T T, et al. Metabolomics approach reveals discriminatory metabolites associating with the blue pigments from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves at different growth stages[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 147: 112252.
- [8] FAN M C, FAN Y H, RAO Z M, et al. Comparative investigation on metabolite changes in 'Wu mi' production by *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves based on multivariate data analysis using UPLC-QToF-MS[J]. Food Chemistry, 2019, 286: 146-153.
- [9] LIAN W J, FAN M C, LI T T, et al. A novel green synthesis approach for natural bluish-violet pigments derived from water extracts of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 142: 111862.
- [10] FAN M C, LIAN W J, LI T T, et al. Characterization of promising natural blue pigment from *Vaccinium bracteatum* thunb. leaves: Insights of the stability and the inhibition of α -amylase[J]. Food Chemistry, 2020, 326: 126962.
- [11] 王晓婷. 蛹虫草多糖分子结构与 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2017.
- WANG X T. Study of the molecular structure of polysaccharide of *Cordyceps Militaris* and inhibitory of α -glucosidase activity[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2017: 22-23.
- [12] YAO Y, SANG W, ZHOU M, et al. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(2): 770-774.
- [13] DELAVARI B, SABOURY A A, ATRI M S, et al. Alpha-lactalbu-
- min: A new carrier for vitamin D₃ food enrichment [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 45: 124-131.
- [14] 徐丛玥, 林款, 熊琪, 等. 三种提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及其复方软胶囊制备工艺[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 260-267.
- XU C Y, LIN K, XIONG Q, et al. Inhibitory effects of three kinds of extracts on α -glucosidase and the preparation of compound soft capsules[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 260-267.
- [15] 李波, 包怡红, 高峰, 等. 红松球鳞片多酚对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(1): 63-65, 69.
- LI B, BAO Y H, GAO F, et al. Inhibitory effect of polyphenols from Korean pine cone lamella on α -amylase and α -glucosidase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(1): 63-65, 69.
- [16] 刘杰超, 焦中高, 王思新. 苹果多酚提取物对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 果树学报, 2011, 28(4): 553-557.
- LIU J C, JIAO Z G, WANG S X. Inhibitory effects of apple polyphenol extracts on α -amylase and α -glucosidase [J]. Journal of Fruit Science, 2011, 28(4): 553-557.
- [17] HEDRINGTON M S, DAVIS S N. Considerations when using α -glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes[J]. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2019, 20(18): 229-235.
- [18] 肖会芝. 天然多酚对胰蛋白酶和 α -葡萄糖苷酶抑制机制的研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2016: 9.
- XIAO H Z. Comparative evaluation of natural polyphenols inhibiting α -glucosidase and trypsin[D]. Chongqing: Chongqing University, 2016: 9.
- [19] 赖小燕, 姜泽东, 倪辉, 等. 茶花粉黄酮对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 348-352.
- LAI X Y, JIANG Z D, NI H, et al. Study on α -glucosidase inhibitory activity of the flavonoids extract from *Camellia* bee pollen[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(5): 348-352.
- [20] 全吉淑, 尹学哲, 柳明珠, 等. 大豆异黄酮对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的研究[J]. 中草药, 2005, 36(9): 101-103.
- QUAN J S, YIN X Z, LIU M Z, et al. Study on the inhibitory activity of the soybean isoflavones on the α -glucosidase[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005, 36(9): 101-103.
- [21] 徐婷, 褚江洪, 丁萍英, 等. 葛根素对 α -葡萄糖苷酶抑制作用机理的探讨[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(1): 49-51, 54.
- XU T, CHU J H, DING P Y, et al. Study of the inhibitive mechanism of puerarin on α -glucosidase[J]. Chinese Journal of Biochemical and Pharmaceutials, 2015, 35(1): 49-51, 54.
- [22] 李春英, 夏依拉·艾尼, 毛建卫, 等. 栀子黄对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(24): 107-109, 114.
- LI C Y, SHAHILA A, MAO J W, et al. Study on the inhibitory effect of Gardenia Yellow on α -glucosidase activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(24): 107-109, 114.
- [23] 刘合生, 柳余莉, 陈秋平, 等. 杨梅黄酮类化合物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用[J]. 核农学报, 2018, 32(1): 70-77.
- LIU H S, LIU Y L, CHEN Q P, et al. Inhibitory activity of flavonoids from *Myricarubra* on α -glucosidase[J]. Journal of Nuclear Agricultural Science, 2018, 32(1): 70-77.

(下转第 176 页)

- 抗疲劳活性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(2): 1-7.
- HAN Rong-xin, ZHANG Hong-yin, YAN Ming-ming, et al. Studies on the functional properties and anti-fatigue activity of enzymatic hydrolysates from semen ziziphi spinosae[J]. Food Research and Development, 2021, 42(2): 1-7.
- [9] WANG Ying-ying, WANG Chen-ying, WANG Shuang-tong, et al. Physicochemical properties and antioxidant activities of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed protein hydrolysates obtained with different proteases[J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128765.
- [10] ZHANG Xiao-gang, PARINYA N, JIRAWAT Y. Chemical and cellular antioxidant activities of in vitro digesta of tilapia protein and its hydrolysates[J]. Foods, 2020, 9(6): 833.
- [11] WEN Chao-ting, ZHANG Ji-xian, FENG Yu-qin, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from watermelon seed protein hydrolysates and their cytoprotective effects on H₂O₂-induced oxidative stress[J]. Food Chemistry, 2020, 327: 127059.
- [12] CHANG Chiung-yueh, JIN Jinner-der, CHANG Hsiao-li, et al. Physicochemical and antioxidative characteristics of potato protein isolate hydrolysate[J]. Molecules, 2020, 25(19): 4 450.
- [13] XIE Jian-hua, DU Meng-xia, SHEN Ming-yue, et al. Physicochemical properties, antioxidant activities and angiotensin-I converting enzyme inhibitory of protein hydrolysates from Mung bean (*Vigna radiate*) [J]. Food Chemistry, 2019, 270: 243-250.
- [14] 于斐, 孙晓萍, 李建军, 等. 光度法研究怀山药清除羟自由基活性[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2006(2): 214-216.
- YU Fei, SUN Xiao-ping, LI Jian-jun, et al. Spectrophotometric study on hydroxyl radical scavenging activity of dioscorea opposita [J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2006(2): 214-216.
- [15] GAO Lei-le, LI Ying-qiu, WANG Zhao-sheng, et al. Physicochemical characteristics and functionality of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed protein[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 980-988.
- [16] ABRAHAM T G, RONG H, FIDA M H, et al. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of a cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysate and peptide fractions[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 652-659.
- [17] JA M K, KYUNG Y Y. Functional properties and biological activities of perilla seed meal protein hydrolysates obtained by using different proteolytic enzymes[J]. Food Science and Biotechnology, 2020, 29: 1-10.
- [18] 郑志强, 李宝林, 郭顺堂, 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.
- ZHENG Zhi-qiang, LI Bao-lin, GUO Shun-tang, et al. Effects of different proteases on antioxidant activity of wheat protein hydrolysates[J]. Food Science, 2017, 38(7): 161-166.
- [19] 吴伟菁, 纪美茹, 李再贵. 不同苦荞蛋白酶解产物抗氧化活性研究[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(5): 6-10.
- WU Wei-jing, JI Mei-ru, LI Zai-gui. Antioxidant activity of different protein hydrolysates from tartary buckwheat[J]. Cereals, Oils and Food Science and Technology, 2018, 26(5): 6-10.
- [20] 杨珊珊, 刘会平, 郑萍, 等. 蛋清多肽体内抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(22): 40-43, 48.
- YANG Shan-shan, LIU Hui-ping, ZHENG Ping, et al. Antioxidant activity of egg white polypeptide in vitro/vivo[J]. Food Industry Science and Technology, 2019, 40(22): 40-43, 48.
- [21] 马勇, 高丽辉, 刘文颖, 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, 176.
- MA Yong, GAO Li-hui, LIU Wen-ying, et al. Effect of simulated gastrointestinal digestion in vitro on the antioxidant activity of oyster oligopeptides[J]. Food & Machinery, 2020, 36(11): 133-137, 176.
- [22] 佟晓红, 王欢, 江连洲, 等. 生物解离大豆蛋白酶解物体外模拟消化抗氧化活性变化[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 50-56.
- TONG Xiao-hong, WANG Huan, JIANG Lian-zhou, et al. Changes in antioxidant activity of soybean protein hydrolysates from enzyme-assisted aqueous extraction of oil under simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Science, 2019, 40(15): 50-56.
- [23] 芦鑫, 姜梦楠, 黄纪念, 等. 制备芝麻抗氧化肽的蛋白酶筛选[J]. 中国油脂, 2018, 43(11): 28-33.
- LU Xin, JIANG Meng-nan, HUANG Ji-nian, et al. Screening of protease for preparing antioxidant peptide from sesame protein[J]. China Oil, 2018, 43(11): 28-33.
- [24] BARBARA T, CARLA P, MARIA L N, et al. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from Cape hake by-products[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(12): 2 528-2 536.
- (上接第 170 页)
- [24] 周佳, 张国文, 潘军辉, 等. 红旱莲总黄酮对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及抗氧化研究[J]. 分析试验室, 2013, 32(12): 17-21.
- ZHOU J, ZHANG G W, PAN J H, et al. Studies on the α -glucosidase inhibitory effect and antioxidant activity of total flavonoids from *Hypericum Ascyron* L[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2013, 32(12): 17-21.
- [25] MCDUGALL G J, SHIRO F, DOBSON P, et al. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(7): 2 760-2 766.
- [26] 陈静文, 林芳, 金冠, 等. 睡菜环烯醚萜苷类成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2021, 55(1): 76-81.
- CHEN J W, LIN F, JIN G, et al. Iridoid glycosides from *Menyanthes trifoliata* L. and their α -glucosidase inhibitory activity[J]. Journal of Central China Normal University (Nat Sci), 2021, 55(1): 76-81.
- [27] 刘雪锋, 夏咏梅, 方云, 等. 三种香豆素类中药小分子与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 化学学报, 2004, 62(16): 1 484-1 490.
- LIU X F, XIA Y M, FANG Y, et al. Interaction between natural pharmaceutical homologues of coumarin and bovine serum albumin[J]. Acta Chemica Sinica, 2004, 62(16): 1 484-1 490.