

体外模拟消化对酸枣仁蛋白酶解产物 抗氧化活性的影响

Effect of simulated gastrointestinal digestion in vitro on the antioxidant
activity of Semen ziziphi spinosae protein hydrolysates

韩荣欣¹

张红印¹

周光鑫¹

王海东¹

HAN Rong-xin¹ ZHANG Hong-yin¹ ZHOU Guang-xin¹ WANG Hai-dong¹

肖凤琴¹

李光哲^{1,2}

严铭铭^{1,2}

XIAO Feng-qin¹ LI Guang-zhe^{1,2} YAN Ming-ming^{1,2}

(1. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117; 2. 吉林省中药保健食品科技创新中心, 吉林 长春 130117)

(1. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130117, China; 2. Jilin Province

Technology Innovation Center of Traditional Chinese Medicine Health Food, Changchun, Jilin 130117, China)

摘要:目的:以具有良好抗氧化活性的酸枣仁蛋白酶解产物(SZPHs)为研究对象,探究体外模拟胃肠消化对其氨基酸组成及抗氧化活性的影响。方法:通过体外模拟胃肠消化,得到酸枣仁蛋白酶解产物消化物(SZPHs-GD),并分析 SZPHs 消化前后的氨基酸组成以及体外抗氧化活性。结果:体外模拟胃肠消化后,SZPHs-GD 中疏水性氨基酸含量降低了 1.51%,亲水性氨基酸和带负电荷氨基酸含量分别升高了 0.83% 和 2.11%,必需氨基酸含量无显著变化;分子量分布结果表明,SZPHs 及 SZPHs-GD 分子量主要分布在 5 kDa 以下,且体外模拟消化后 <5 kDa 组分比例增加;经体外模拟胃肠消化后,SZPHs-GD 对 DPPH 自由基清除率最高可达 81.25%,对 ABTS⁺ 自由基清除率最高可达 90.40%,对超氧阴离子自由基清除率最高可达 47.51%,对羟基自由基清除率最高可达 32.66%。结论:经模拟体外胃肠消化后,SZPHs-GD 仍具有较好的氨基酸组成以及较高的体外抗氧化活性。

关键词:酸枣仁蛋白;酶解产物;体外模拟消化;氨基酸;抗氧化活性;体外

Abstract: Objective: In this study, semen ziziphi spinosae protein hydrolysates (SZPHs) with good antioxidant activity were used as the research object. **Methods:** By simulating gastrointestinal digestion in vitro, the semen ziziphi spinosae protein hydrolysates gastrointestinal digest (SZPHs-GD) was obtained. The amino acid composition and antioxidant activity of SZPHs before and after digestion were analyzed in order to explore the effect of internal environment on the structure and activity of SZPHs. **Results:** The results showed that after simulated digestion in vitro, the content of hydrophobic amino acids in SZPHs-GD decreased by 1.51%, the content of hydrophilic amino acids and negatively charged amino acids increased by 0.83% and 2.11%, respectively, and the content of essential amino acids had no significant change; the results of molecular weight distribution showed that the molecular weight of szphs and szphs GD were mainly below 5 kDa, and the proportion of <5 kDa components increased after simulated digestion; the results of antioxidant activity test show that, after simulated gastrointestinal digestion in vitro, the highest DPPH radicals scavenging rate of SZPHs-GD was 81.25%, ABTS⁺ radicals scavenging rate was 90.40%, superoxide radicals scavenging rate was 47.51%, hydroxyl radicals scavenging rate was 32.66%.

Conclusion: SZPHs-GD still had good amino acid composition and antioxidant activity after simulating gastrointestinal digestion.

Keywords: semen ziziphi spinosae protein; enzymatic hydrolysate; simulated gastrointestinal digestion in vitro; amino acid; antioxidant activity; in vitro

基金项目:吉林省中药保健食品科技创新中心资助项目(编号:20180623041Tc);吉林省教育厅项目(编号:JKH20210965KJ);长春中医药大学大学生创新创业训练计划支持项目(编号:202010199056)

作者简介:韩荣欣,男,长春中医药大学在读硕士研究生。

通信作者:严铭铭(1968—),女,长春中医药大学教授,博士。

E-mail: yanmm595@yahoo.com.cn

李光哲(1972—),男,长春中医药大学副教授,博士。

E-mail: ligz@nenu.edu.cn

收稿日期:2021-02-23

酸枣仁作为国家颁布的首批药食同源中药材,近年

来在食品及保健食品中的应用日益增加。现代科学研究表明,酸枣仁中富含多种化学成分,如皂苷、黄酮、生物碱、脂肪酸以及蛋白质等化学成分^[1],具有多种药理作用,如镇静催眠、抗焦虑、抗抑郁等对中枢神经系统作用,抗动脉粥样硬化、抗心律失常等对心血管系统作用,以及抗氧化、抗肿瘤、抗炎、改善记忆能力等其他药理作用^[2]。研究^[3]表明,酸枣仁中蛋白质含量约占其干重的 40%,含有 17 种人体所需氨基酸,其组成较为合理,具有较高的营养价值和研究前景。

自由基是人体在进行正常生命活动时产生的中间代谢产物。目前已从多种植物(如黑豆^[4]、绿豆^[5]、核桃^[6]等)中提取分离出蛋白质酶解产物及肽类物质,并且表现出较好的自由基清除活性,这些蛋白酶解产物或抗氧化肽可作为食品添加剂有效地应用于食品加工行业。

课题组^[7]前期研究发现,酸枣仁蛋白具有一定的抗氧化活性,且其功能特性较好,可作为一种潜在的新型功能性蛋白资源应用于食品行业中。采用酶解法对酸枣仁蛋白进行酶解处理得到的酸枣仁蛋白酶解产物,具有比酸枣仁蛋白更好的功能特性^[8]以及体外抗氧化活性。研究拟通过体外模拟胃肠消化,对消化前后酸枣仁蛋白酶解产物的氨基酸组成以及体外抗氧化活性进行比较,探究人体摄入后对酸枣仁蛋白酶解产物的活性变化,为酸枣仁蛋白及其酶解产物在食品和保健食品行业的应用提供依据。

1 试剂与仪器

1.1 试验材料

酸枣仁蛋白:课题组自制;

碱性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶:上海源叶生物科技有限公司;

人工胃液:北京百奥莱博科技有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS⁺):北京索莱宝科技有限公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.2 试验仪器

高速中药粉碎机:HX-400A 型,浙江省永康市溪岸五金药具厂;

数显恒温水浴锅:HH-6 型,金坛市佳美仪器有限公司;

集热式磁力搅拌器:DF-101S 型,金坛市医疗器械厂;

冷冻干燥机:SCIENTZ-50F 型,宁波新芝冻干设备股份有限公司;

紫外分光光度计:UV-1700 型,日本岛津(中国)有限公司;

高效液相色谱仪:2010A 型,日本岛津(中国)有限公司;

台式 pH 计:S220-K-CN 型,梅特勒—托利多国际贸

易(上海)有限公司;

电子分析天平:AB265-S 型,梅特勒—托利多国际贸易(上海)有限公司;

高速离心机:Centrifuge 5840 R 型,德国 Eppendorf 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 酸枣仁蛋白酶解产物制备 根据 Wang 等^[9]的方法并修改。取酸枣仁蛋白,加入蒸馏水配制成质量分数为 5%的蛋白溶液, $m_{\text{酶}}:m_{\text{底物}}$ 为 1:50,加入碱性蛋白酶,调节溶液 pH 为 8.5,酶解时间 3 h,90 °C 水浴灭酶 10 min,冷却后用 1.0 mol/L 的 NaOH 调节溶液 pH 至 7.0,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液,冻干得酸枣仁蛋白酶解产物(SZPHs)。

1.3.2 体外模拟胃肠消化 根据 Zhang 等^[10]的方法并修改。取酸枣仁蛋白酶解产物,加入蒸馏水配制成质量分数为 1%的溶液,与模拟人工胃液按 $V_{\text{酸枣仁蛋白酶解产物}}:V_{\text{模拟人工胃液}}$ 为 1:1 混匀,用浓度为 1 mol/L 的 HCl 调节溶液 pH 至 3.0,向混合溶液中加入胃蛋白酶,使其用量为 2 000 U/mL,37 °C、100 r/min 振荡 2 h,冷却后用 1.0 mol/L 的 NaOH 调节溶液 pH 至 7.5,将消化液与模拟肠液按 $V_{\text{消化液}}:V_{\text{模拟肠液}}$ 为 1:1 混匀,加入胰蛋白酶,使其用量为 100 U/mL,继续消化 2 h,100 °C 水浴灭酶 10 min,冷却后用 1.0 mol/L 的 NaOH 调节溶液 pH 至 7.0,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液冻干得酸枣仁蛋白酶解产物消化物(SZPHs-GD)。

1.3.3 氨基酸组成分析 根据 Wang 等^[9]的方法并修改。取 SZPHs、SZPHs-GD 各 30 mg,加入 4 mL 浓度为 6 mol/L 的 HCl 溶液,110 °C 反应 24 h。由于测定方法为酸水解法,色氨酸在测定过程中大部分被破坏,导致其含量较低,故不进行分析。

1.3.4 分子量分布测定 参照 Zhang 等^[10]的方法。色谱条件:色谱柱为 Shodex OHpak SB-803 HQ GPC 色谱柱;流动相为乙腈—水—三氟乙酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}:V_{\text{三氟乙酸}}$ =20.0:80.0:0.2);流速 0.5 mL/min;柱温 30 °C;紫外检测波长 220 nm;进样量 20 μ L。根据标准品校准曲线计算各样品分子量分布范围:核糖核酸酶 A (13.700 kDa)、人胰岛素 (5.808 kDa)、胸腺肽 α_1 (3.108 kDa)、生长抑素 (1.638 kDa)、甘氨酸—甘氨酸—甘氨酸(0.189 kDa)。

1.3.5 体外抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除能力:根据 Wen 等^[11]的方法并修改。取一定质量的 SZPHs 及 SZPHs-GD,加蒸馏水配制不同质量浓度的溶液;准确称取 4.00 mg DPPH 粉末,加 95%乙醇超声溶解定容至 100 mL,制备 0.04 mg/mL 的 DPPH 溶液。分别吸取 1 mL 样品溶液与 DPPH 溶液混匀,室温下避光反应 30 min,测定 517 nm 处吸光度;以 1 mL 蒸馏水代替样品溶液作为空白对照组,以 0.5 mL

蒸馏水+0.5 mL 95%乙醇混合溶液代替 DPPH 溶液作为样品对照组,以维生素 C 为阳性对照组,并按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$S = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:
S——DPPH 自由基/超氧阴离子清除率,%;
A₀——空白对照组吸光值;
A₁——样品组吸光值;
A₂——样品对照组吸光值。

(2) ABTS⁺ 自由基清除能力:根据 Chang 等^[12]的方法并修改。将 5 mL 浓度为 7.4 mmol/L 的 ABTS⁺ 储备液与 88 μL 浓度为 2.6 mmol/L 的过硫酸钾溶液混匀,静置 12~16 h,配制成 ABTS⁺ 储备液。取 ABTS⁺ 储备液 0.4 mL,用 pH 为 7.4 的 PBS 溶液稀释,使 734 nm 处吸光度为 0.7±0.2,制成 ABTS⁺ 工作液。分别将 200 μL ABTS⁺ 工作液与 10 μL 不同浓度的样品溶液混匀,室温避光反应 6 min,测定 734 nm 处吸光度值。用 10 μL PBS 溶液代替样品溶液作为对照组,以维生素 C 为阳性对照组,按式(2)计算 ABTS⁺ 自由基清除率。

$$S = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:
S——ABTS⁺ 自由基清除率,%;
A₀——空白对照组吸光值;
A₁——样品组吸光值。

(3) 超氧阴离子清除能力:采用邻苯三酚自氧化法^[13]。取 pH 为 8.2 的 Tris-HCl 溶液 3 mL,加入不同质量浓度的样品溶液 0.1 mL,(25.0±0.5) °C 水浴 20 min,加入 25 °C 预热后的邻苯三酚溶液(7 mmol/L)0.3 mL,混匀,25 °C 水浴 4 min,迅速加入浓盐酸 1 mL,混匀,测定

420 nm 处吸光度值;以 0.1 mL 蒸馏水代替样品溶液作为对照组,以 3 mL 蒸馏水代替邻苯三酚溶液作为样品对照组,以维生素 C 为阳性对照组,按式(1)计算超氧阴离子清除率。

(4) 羟基自由基清除能力:采用邻二氮菲法^[14]。取邻二氮菲溶液(0.75 mmol/L)1 mL 于试管中,加入 PBS 溶液(0.2 mol/L,pH=7.4)2 mL,再加入样品溶液 1 mL,混匀,加入 FeSO₄ 溶液(0.75 mmol/L)1 mL,混匀,加入 0.025% H₂O₂ 溶液 1 mL,混匀,37 °C 水浴 1 h,测定 536 nm 处吸光度值;以 1 mL 蒸馏水代替样品溶液作为对照组,以 1 mL 蒸馏水代替 H₂O₂ 溶液作为样品对照组,以维生素 C 为阳性对照组,按式(3)计算羟基自由基清除率。

$$S = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100\%, \tag{3}$$

式中:
S——羟基自由基清除率,%;
A₀——空白对照组吸光值;
A₁——样品组吸光值;
A₂——样品对照组吸光值。

1.3.6 数据分析 所有试验平行测定 3 次,结果取平均值,使用 Origin 2019 和 SPSS 20.0 软件进行数据处理。

2 结果与讨论

2.1 体外模拟消化前后的氨基酸组成变化

由表 1 可知,酸枣仁蛋白酶解产物及其消化物中谷氨酸(分别为 17.66%,19.07%)、天冬氨酸(分别为 7.92%,8.62%)、精氨酸(分别为 6.84%,6.87%)质量分数较高,其中天冬氨酸、谷氨酸等带负电氨基酸(NCAA)为主要氨基酸,质量分数分别为 25.58%和 27.69%,这是由于 NCAA 是种子类植物中主要的氨基酸^[15]。研究^[16]表

表 1 SZPHs 及 SZPHs-GD 的氨基酸组成[†]

Table 1 Amino acid composition of SZPHS and SZPHs-GD %

种类	SZPHs	SZPHs-GD	种类	SZPHs	SZPHs-GD
天冬氨酸(Asp)	7.92	8.62	酪氨酸(Tyr)	1.48	1.67
苏氨酸(Thr)	1.87	1.97	苯丙氨酸(Phe)	2.54	2.58
丝氨酸(Ser)	3.12	3.37	赖氨酸(Lys)	1.97	2.37
谷氨酸(Glu)	17.66	19.07	组氨酸(His)	1.89	2.10
甘氨酸(Gly)	3.53	3.71	精氨酸(Arg)	6.84	6.87
丙氨酸(Ala)	2.63	2.02	HAA	16.13	14.82
半胱氨酸(Cys)	0.49	0.59	AAA	4.02	4.25
缬氨酸(Val)	4.04	3.41	PCAA	10.70	11.34
甲硫氨酸(Met)	0.05	0.06	NCAA	25.58	27.69
异亮氨酸(Ile)	2.02	1.94	EAA	17.34	17.14
亮氨酸(Leu)	4.85	4.81			

[†] HAA. 疏水性氨基酸;AAA. 芳香族氨基酸;PCAA. 带正电氨基酸;NCAA. 带负电氨基酸;EAA. 必需氨基酸。

明,NCAA 可通过提供电子达到有效清除自由基的作用。SZPHs 及 SZPHs-GD 中还具有一定的疏水性氨基酸(HAA,分别为 16.13%,14.82%),HAA 的存在与其脂溶性有关,可通过与脂溶性自由基结合达到清除自由基的作用^[17]。此外,SZPHs 及 SZPHs-GD 中必需氨基酸(EAA)含量较高,且消化前后质量分数无显著变化,分别为 17.34%和 17.14%,各氨基酸含量均达到 WHO/FAO 对成人需求量的要求,表明 SZPHs 具有一定营养价值。体外模拟消化试验表明,SZPHs 经体外模拟胃肠消化后,HAA 含量有所降低,而亲水性氨基酸、芳香族氨基酸(AAA)及 NCAA 含量增加,这种含量变化现象可能会对其体外抗氧化活性造成一定影响。

2.2 体外模拟消化前后分子量分布变化

由表 2 可知,SZPHs 及 SZPHs-GD 分子量主要在 5 kDa 以下,分别占其总比例的 82.06%及 86.79%。SZPHs 经体外模拟消化后,分子量>10 kDa 的比例有所降低,分子量<5 kDa 的比例有所增加,表明 SZPHs 经体外模拟消化后,其肽键被进一步破坏,产生了更多分子量较小的肽段。此外,分子量<1 kDa 的肽因其较低的分子量而表现出更强的抗氧化活性^[18]。SZPHs 及 SZPHs-GD 所含<1 kDa 的肽段分别占总比例的 17.79%和 19.67%,说明 SZPHs 及 SZPHs-GD 具有较好的抗氧化活性。

2.3 体外模拟消化前后的抗氧化活性变化

2.3.1 DPPH 自由基清除活性 由图 1 可知,当质量浓度为 0.5~2.5 mg/mL 时,SZPHs 及 SZPHs-GD 的 DPPH 自由基清除活性与样品浓度呈剂量依赖关系,且在质量浓度为 2.5 mg/mL 时,二者均达到其最大清除率(93.99%和 81.25%)。说明 SZPHs 经模拟胃肠消化后,在 1.0~2.5 mg/mL 质量浓度范围内,DPPH 自由基清除率可达到 72.89%~81.25%,具有较高的 DPPH 自由基清除活性,优于小麦蛋白酶解产物^[19](55.29%)、苦荞蛋白酶解产物^[18](71.91%)、蛋清多肽^[20](69.20%)等。此外,经体外模拟胃肠消化后,当质量浓度为 0.5 mg/mL 时,DPPH 自由基清除率由 73.79%降至 55.45%,可能是由于消化后 HAA 含量降低,其与脂溶性的 DPPH 结合能力降低,故 DPPH 自由基清除能力有所降低,与马勇等^[21]的结果类似。

2.3.2 ABTS⁺ 自由基清除活性 由图 2 可知,当质量浓

度为 0.5~2.5 mg/mL 时,SZPHs 及 SZPHs-GD 对 ABTS⁺ 自由基清除活性随质量浓度的增加而增强,且在质量浓度为 2.5 mg/mL 时,二者均达到最大清除活性(86.59%和 90.40%)。当质量浓度为 1.0~2.5 mg/mL 时,SZPHs-GD 对 ABTS⁺ 自由基的清除率可达到 78.83%~90.40%,具有较好的 ABTS⁺ 自由基清除活性,优于其他蛋白酶解产物或多肽(大豆蛋白酶解物 55.84%^[22],芝麻抗氧化肽 51.26%^[23]等)。SZPHs 经体外模拟胃肠消化后,所得产物 SZPHs-GD 对 ABTS⁺ 自由基的清除能力增强,可能是由于 SZPHs 经模拟胃肠消化后,亲水性的肽和氨基酸含量增加,进而增强了对 ABTS⁺ 自由基的清除能力。综上,SZPHs 经体外模拟消化后,可进一步提升对 ABTS⁺ 自由基的清除活性。

2.3.3 超氧阴离子清除活性 由图 3 可知,当质量浓度为 0.5~2.5 mg/mL 时,SZPHs 及 SZPHs-GD 对超氧阴离子的清除活性与样品浓度呈正相关,二者均在 2.5 mg/mL 时具有最高的清除活性(43.19%和 47.51%)。当质量浓度为 0.5~2.5 mg/mL 时,SZPHs-GD 对超氧阴离子的清除率可达到 30.46%~47.51%,具有较好的超氧阴离子清除活性。此外,SZPHs-GD 的超氧阴离子清除活性较 SZPHs

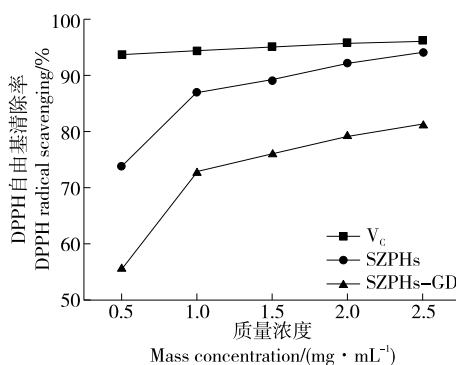


图 1 SZPHs 及 SZPHs-GD 的 DPPH 自由基清除率

Figure 1 DPPH radicals scavenging rate of SZPHs and SZPHs-GD

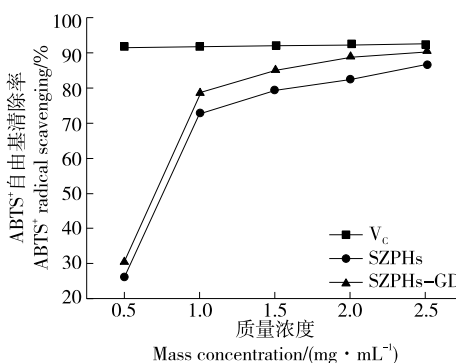


图 2 SZPHs 及 SZPHs-GD 的 ABTS⁺ 自由基清除率

Figure 2 ABTS⁺ radicals scavenging rate of SZPHs and SZPHs-GD

表 2 SZPHs 及 SZPHs-GD 的分子量分布

Table 2 Molecular weight distribution of szphs and szphs GD

组分	>10 kDa	5~10 kDa	1~5 kDa	<1 kDa
SZPHs	3.96	13.97	64.27	17.79
SZPHs-GD	3.59	9.90	67.12	19.67

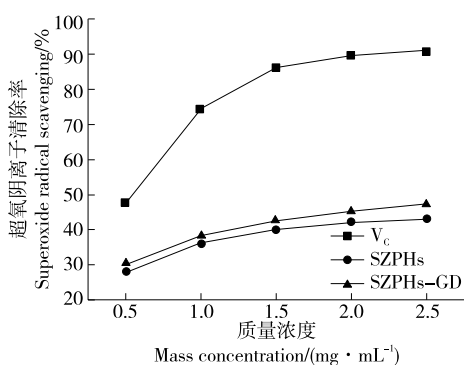


图3 SZPHs及SZPHs-GD的超氧阴离子清除率

Figure 3 Superoxide radicals scavenging rate of SZPHs and SZPHs-GD

略有提高,其中最高可提高近10%,可能是由于模拟胃肠消化后,芳香族氨基酸含量增加,其提供质子能力增强,提高了对超氧阴离子的清除能力^[13]。综上,SZPHs经体外模拟消化后,可进一步提高其对超氧阴离子的清除活性。

2.3.4 羟基自由基清除活性 由图4可知,当质量浓度为0.5~2.5 mg/mL时,SZPHs及SZPHs-GD对羟基自由基的清除活性随质量浓度的增加逐渐增强,且在2.5 mg/mL时达到最大值(50.23%和32.66%)。当质量浓度为0.5~2.5 mg/mL时,SZPHs-GD对羟基自由基清除率可达9.92%~32.66%,具有一定的羟基自由基清除活性。经过体外模拟消化后,SZPHs-GD对羟基自由基的清除活性略有降低,可能是由于消化后产生了对羟基自由基没有清除作用的小肽或者氨基酸,与Barbara等^[24]的结果类似。

3 结论

经体外模拟胃肠消化后,酸枣仁蛋白酶解产物消化物中疏水性氨基酸含量有所降低,而带负电氨基酸和亲水性氨基酸含量升高,必需氨基酸含量无明显变化,可达到WHO/FAO所要求的成人需求量,说明模拟胃肠消化

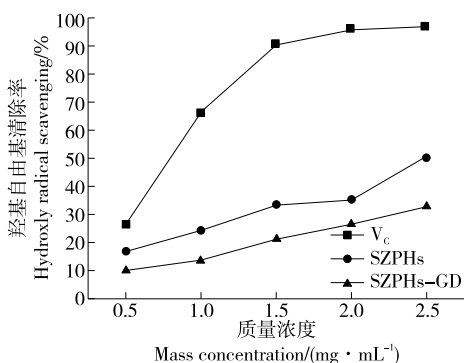


图4 SZPHs及SZPHs-GD的羟基自由基清除率

Figure 4 Hydroxyl radicals scavenging rate of SZPHs and SZPHs-GD

对酸枣仁蛋白酶解产物营养价值影响较小。分子量分布研究表明,酸枣仁蛋白酶解产物经体外模拟消化后,分子量>5 kDa的比例增加,表明模拟胃肠消化后,可进一步降低其分子量。体外抗氧化试验表明,酸枣仁蛋白酶解产物消化物对DPPH自由基清除率最高可达81.25%,对ABTS⁺自由基清除率最高可达90.40%,对超氧阴离子清除率最高可达47.51%,对羟基自由基清除率最高可达32.66%,具有较好的体外抗氧化活性。综上,酸枣仁蛋白酶解产物经模拟胃肠消化后,所得产物酸枣仁蛋白酶解产物消化物仍具有较好的氨基酸组成及良好的抗氧化活性,可作为一种潜在的抗氧化剂应用至食品行业中。后续将对酸枣仁蛋白酶解产物及酸枣仁蛋白酶解产物消化物在细胞试验中的抗氧化作用进行研究,并通过凝胶色谱等技术对酸枣仁蛋白酶解产物及酸枣仁蛋白酶解产物消化物进行分离纯化,以期得到具有高抗氧化活性的肽段。

参考文献

- [1] 谭云龙, 孙晖, 王喜军, 等. 酸枣仁化学成分及其药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1): 186-188.
- TAN Yun-long, SUN Hui, WANG Xi-jun, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of semen ziziphi spinosae[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2014, 25(1): 186-188.
- [2] 王自善, 田春雨, 李继安, 等. 酸枣仁的化学成分、药理作用及开发利用[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(7): 202-205.
- WANG Zi-shan, TIAN Chun-yu, LI Ji-an, et al. Chemical constituents, pharmacological effects and utilization of semen ziziphi spinosae [J]. Asia Pacific Traditional Medicine, 2020, 16(7): 202-205.
- [3] 刘静, 李贞, 刘海英. 酸枣仁氨基酸组成分析及营养评价[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(20): 20-22.
- LIU Jing, LI Zhen, LIU Hai-ying. Amino acid composition analysis and nutritional evaluation of semen ziziphi spinosae[J]. Food Research and Development, 2016, 37 (20): 20-22.
- [4] JARINE A E, NATHAN L V, VANIA Z P, et al. Black bean (Phaseolus vulgaris L.) protein hydrolysates: Physicochemical and functional properties[J]. Food Chemistry, 2017, 214: 460-467.
- [5] XIA Ji-an, SONG Hong-dong, HUANG Kai, et al. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of mungbean protein[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(6): 1 735-1 741.
- [6] 李敏, 罗琳璐. 核桃多肽的抗氧化性测定[J]. 化学工程师, 2020, 34(3): 80-82, 87.
- LI Min, LUO Lin-lu. Determination of antioxidant activity of walnut polypeptide[J]. Chemical Engineer, 2020, 34(3): 80-82, 87.
- [7] ZHANG Hong-yin, SHAO Shuai, YAN Ming-ming, et al. Structural, physicochemical and functional properties of Semen Ziziphi Spinosae protein[J]. RSC Advances, 2020, 10: 29 555-29 566.
- [8] 韩荣欣, 张红印, 严铭铭, 等. 酸枣仁蛋白酶解产物功能特性及

- 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. 蛋清多肽体内外抗氧化活性的研究[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.